

๕4783499



สำนักหอสมุด
สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ



คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

การเตรียมและประเมินฟิล์มปิดแผลร้อนในที่มีส่วนผสม
ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

โดย

นายจตุพร มหานิล

นางสาวธราภรณ์ สมทิพย์

นางสาวนภเกตน์ สิงห์คำ

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

วันลงทะเบียน 26 ก.ค. 2548

เลขทะเบียน 4970175

เลขเรียกหนังสือ T

97367
2548

ปฏิญานีพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

กุมภาพันธ์ 2548

การเตรียมและประเมินฟิล์มปิดแผลร้อนในที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

คณะผู้ดำเนินการวิจัย	นายจตุพร	มหานิล
	นางสาวธรรางกูร	สมทิพย์
	นางสาวนภเกตน์	สิงห์คำ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อัมภางค์	พลนอก
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ. นิสิต	พิศุทธนันท์
ภาควิชา	เทคโนโลยีเภสัชกรรม	
ปีการศึกษา	2547	

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือ การตั้งตำรับเภสัชภัณฑ์สมุนไพรรูปแบบใหม่เพื่อนำไปใช้รักษาแผลร้อนในที่ ปัจจุบันที่ต้องการศึกษาคือ ปริมาณความเข้มข้นของโคโคซานและเจลาตินชนิดเอ ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารกักฟิล์มและเปรียบเทียบชนิดของสารที่ทำหน้าที่เพิ่มความยืดหยุ่นได้แก่ กลีเซอริน ซอร์บิทอล โพลีเอทิลีนไกลคอล 400 และโพรพิลีนไกลคอล รวมทั้งความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อคุณภาพของฟิล์มที่ได้ โดยพิจารณาถึงลักษณะภายนอก ความสม่ำเสมอของฟิล์ม คุณสมบัติการแพร่ผ่านของไอน้ำ และการปลดปล่อยสารของฟิล์มที่มีสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ซึ่งพบว่าตำรับที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมฟิล์มเปล่าประกอบด้วย สารละลายโคโคซาน 2% w/v 10.65 มิลลิลิตร, 4% w/v เจลาตินชนิดเอ 3.75 มิลลิลิตรและกลีเซอริน 0.6 มิลลิลิตร ในปริมาตรทั้งหมดของตำรับ 15 มิลลิลิตร เมื่อได้ตำรับที่เหมาะสมจึงนำมาเติมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดแล้วนำไปอบแห้ง จากการศึกษาพบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด 0.1% w/v ของตำรับ มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยด้านหนึ่งของฟิล์มเปล่าจะถูกเททับด้วย 1% โพลีเมทาโครเลท เพื่อเป็นแผ่นรองหลังของฟิล์ม (backing agent) ผลการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า มีความเป็นไปได้ในการนำฟิล์มโคโคซานที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่เตรียมขึ้นมาใช้ในการรักษาแผลร้อนในที่ เนื่องจากคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและช่วยปกป้องแผล

Preparation and evaluation of chitosan film containing mangosteen peel extract
for Aphthous ulcer treatment.

By : Mr. Jatuporn Mahanil
Miss Tharangkoon Somthip
Miss Noppaket Singkham
Advisor : Assistant Professor Dr. Assadang Polnok
Co-advisor : Assistant Professor Nisit Pisuttanun
Department : Pharmaceutics
Academic Year : 2004

Abstract

The objective of this study is to formulate a novel pharmaceutical dosage form as herbal preparation for treatment of Aphthous ulcer. Several factors affecting film quality were investigated as followed: the concentration of chitosan and gelatin which function as a film forming agent, different types of plasticizers: glycerine, sorbitol, polyethylene glycol 400, propyleneglycol and the concentration of mangosteen peel extract. Physicochemical properties such as physical appearance, regularity of film surface, permeation of vapour, and active ingredient release profile were evaluated. The study reveals the most desirable formulation consisting of 10.65 ml of 2% w/v chitosan, 3.75 ml of 4% w/v gelatin A and 0.6 ml glycerine. Crude extract of mangosteen peel was then incorporated into the film. One side of film was coated with 1% polymethacrylate as backing agent, then followed by hot air oven. The crude extract of mangosteen peel at 0.1% w/v concentration exhibit activity against *Staphylococcus aureus*. Results of this study promised that the prepared chitosan film containing mangosteen peel extract was good candidate for using with Aphthous ulcer owing to its antibacterial and wound protective properties.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผศ.อัษฎางค์ พลนอก อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย และ ผศ.นิสิต พิศุทธานันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม ที่ได้สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา ในการทำวิจัยนี้

ขอขอบคุณ คุณจิราภรณ์ สิงห์กวาง คุณกิตติ ปานมณี คุณปาน สถานทุง คุณพิเชษฐ์ กิตติคุณ และ พี่ๆ นักวิทยาศาสตร์ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ในการวิจัย

ขอขอบคุณ ผศ.อัษฎางค์ พลนอก และ คุณจิราภรณ์ สิงห์กวาง ที่ผลักดันให้เข้าประกวดงาน นวัตกรรมของมหาวิทยาลัยจนได้รับรางวัลที่ 3 สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ ชีวภาพ

ขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือตลอดมาในระหว่างการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ และสถาบันวิจัยทางวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

สุดท้าย ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่สอนให้เราเป็นคนดี และทำให้เรามีวันนี้

คณะผู้ดำเนินการวิจัย



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญตาราง	VI
สารบัญรูป	VII
รายการคำย่อ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์	2
ขอบเขตของการศึกษา	2
วิธีการดำเนินการศึกษา	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การปริทัศน์วรรณกรรม	4
แผลร้อนใน (Aphthous ulcer)	4
มังคุด	5
การใช้ประโยชน์จากเปลือกผลมังคุดในการรักษาโรค	5
สารประกอบทางเคมีในเปลือกมังคุด	6
การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากเปลือกมังคุด	6
Staphylococcus	8
Staphylococcus aureus	8
สารที่ใช้ในสูตรตำรับ	13
ไคโตซาน (chitosan)	13
เจลาติน (gelatin)	17
กลีเซอริน (Glycerin)	18
ซอร์บิทอล (sorbitol)	19
Polymethacrylate (Eudragit [®] L 100)	20
กรดอะซิติก (acetic acid)	22
บทที่ 3 วิธีการที่ใช้ในการศึกษา	24
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	24
การเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด	25

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)	25
การเตรียมสารละลายโคโคซาน ความเข้มข้น 2 % (w/v)	25
การเตรียมสารช่วยในการก่อฟิล์ม	25
การพัฒนาสูตรตำรับโดยใช้สารเพิ่มความยืดหยุ่น	26
การเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโคซาน เจลาติน และกลีเซอริน	27
การเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโคซาน เจลาติน และซอร์บิทอล	30
การเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโคซาน เจลาติน และโพรพิลีนไกลคอล	32
การเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโคซาน เจลาติน และโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	35
การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด	37
การเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด	37
วิธีการเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด	38
การศึกษาลักษณะทางเคมี - ฟิสิกส์ของฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด	39
การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์ม	46
การศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์ม	48
การเตรียมแผ่นรองหลังของฟิล์ม	49
บทที่ 4 รายงานผลและอภิปรายการศึกษา	50
ผลการศึกษาลักษณะทางเคมี - ฟิสิกส์	50
ผลการศึกษาลักษณะภายนอกของฟิล์ม	50
ผลการศึกษาความหนาของฟิล์ม	52
ผลการศึกษาความยืดหยุ่นของฟิล์ม	53
ผลการศึกษาหาความชื้นของฟิล์ม	54
ผลการศึกษาการซึมผ่านของน้ำ (Water permeability test)	55
ผลการศึกษาการยึดติดของฟิล์ม	57
ผลการศึกษาการแยกองค์ประกอบสารด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography	59
ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของฟิล์ม	60
ผลการศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์ม	61
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	66
สรุปผลการศึกษา	66
ข้อเสนอแนะ	66
เอกสารอ้างอิง	IX

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	แสดงคุณสมบัติสำคัญที่ใช้ในการแยกชนิดของเชื้อ staphylococci	9
2-2	แสดงตัวทำละลายของโคตินและโคโตซาน	15
2-3	แสดงคุณสมบัติของเจลลาตินชนิด A และชนิด B	17
3-1	แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และกลีเซอริน	29
3-2	แสดงปริมาณสารในสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และกลีเซอริน	29
3-3	แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และซอร์บิทอล	31
3-4	แสดงปริมาณสารใน สูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และซอร์บิทอล	32
3-5	แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และโพรพิลีนไกลคอล	34
3-6	แสดงปริมาณสารใน ของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และโพรพิลีนไกลคอล	34
3-7	แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	36
3-8	แสดงปริมาณสารในสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	36
4-1	แสดงลักษณะฟิล์มที่เตรียมจากโคโตซาน เจลาตินเอ และกลีเซอริน	50
4-2	แสดงลักษณะฟิล์มที่เตรียมจากโคโตซาน เจลาตินเอ และซอร์บิทอล	51
4-3	แสดงลักษณะฟิล์มที่เตรียมจากโคโตซาน เจลาตินเอ และโพรพิลีนไกลคอล	51
4-4	แสดงลักษณะฟิล์มที่เตรียมจากโคโตซาน เจลาตินเอ และโพลีเอทิลีน ไกลคอล 400	52
4-5	แสดงผลการวัดความหนาของฟิล์มที่ปราศจาก Eudragit [®] เป็นสารรองหลังฟิล์ม	53
4-6	แสดงความยืดหยุ่นของฟิล์ม	54
4-7	แสดงผลการวัดความชื้นของฟิล์ม	55
4-8	แสดงผลการศึกษาการซึมผ่านของน้ำในฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด	55
4-9	แสดงปริมาณของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ทำให้ฟิล์มหลุดจากกระจกใส	57
4-10	แสดงเวลาที่ทำให้ฟิล์มสามารถยึดติดกับกระจกใส	57
4-11	แสดงผลการทดสอบหาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์ม	60
4-12	แสดงความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุด และค่าการดูดซับแสง UV ของแต่ละความเข้มข้น	61
4-13	แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายที่เก็บ ณ เวลาต่างๆหลังการปลดปล่อยสารจากฟิล์ม	62
4-14	แสดงมวลของสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์มที่เวลาต่างๆกัน	64

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2-1	แสดงโครงสร้างทางเคมีของไคติน (chitin)	13
2-2	แสดงปฏิกิริยา deacetylation ของไคโตซาน	13
2-3	แสดงกระบวนการสกัดไคตินและไคโตซานจากเปลือกกุ้ง	14
2-4	แสดงโครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน (chitosan)	15
2-5	แสดงโครงสร้างทางเคมีของเจลาติน	17
2-6	แสดงโครงสร้างของซอร์บิทอล	19
2-7	แสดงสูตรโครงสร้างของ Polymethacrylate	20
3-1	แสดงการตัดฟิล์มในขนาด 1 x 4 เซนติเมตร	39
3-2	แสดงการทดสอบการซึมผ่านของน้ำ (Water permeability test)	41
3-3	แสดงระยะทางการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลายและตัวทำละลาย	43
3-4	แสดงการแยกเชื้อโดยวิธี Streak plate	46
3-5	แสดงการทดสอบการยับยั้งเชื้อโดยวิธี Disc diffusion method	47
3-6	แสดงลักษณะฟิล์มที่เททับด้วยแผ่นรองหลังของฟิล์ม	49
4-1	กราฟแสดงผลการทดสอบการซึมผ่านของน้ำของฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ณ เวลาต่างๆ	56
4-2	แผนภูมิแสดงปริมาตรของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ทำให้ฟิล์มหลุดจากกระจกสไลด์	58
4-3	แผนภูมิแสดงเวลาที่ฟิล์มสามารถยึดติดกับกระจกสไลด์	58
4-4	แสดงผลการแยกสารด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC)	59
4-5	แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายของสารสกัดเปลือกมังคุด	62
4-6	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมาจากฟิล์มกับเวลา	65

รายการคำย่อ

A	=	gelatin A
Abs	=	Absorbance
ALT	=	Alanine transferase
AST	=	Aspartate aminotransferase
C	=	chitosan
CRF	=	coagulase reacting factor
GSH	=	glutathione
hr	=	hour
k	=	kilogram
M	=	Mole
mg	=	milligram
min	=	minute
ml	=	millilitre
mm	=	millimetre
mM	=	millimole
mPas	=	millipascal
MDA	=	Malondialdehyde
MIC	=	Minimum Inhibition Concentration
N	=	Normality
Nm	=	nanometre
PEG400	=	Polyethylene glycol 400
PG	=	Propyleneglycol
ppm	=	part per million
S	=	sorbitol
SSSS	=	Staphylococcal scalded skin syndrome
Std	=	standard
TLC	=	Thin Layer Chromatography
TSST-1	=	Toxin Shock Syndrome toxin-1
α	=	alpha
β	=	beta
γ	=	gamma
w/v	=	weight by volume
w/w	=	weight by weight

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แผลร้อนใน (Aphthous ulcer) เป็นแผลในปากที่ทำให้รู้สึกปวดแสบปวดร้อน ซึ่งก่อให้เกิดความรำคาญขัดขวางการพูดและการรับประทานอาหาร ถ้าแผลสัมผัสกับอาหารรสจัดหรือน้ำเย็นจะเพิ่มเจ็บปวดมากขึ้น อาการของโรคจะรุนแรงขึ้นตามขนาดของแผล ถึงแม้ว่าแผลร้อนในในสามารถหายเองได้ แต่ถ้าแผลมีขนาดใหญ่หรือหายช้าก็อาจทำให้มีการติดเชื้อแทรกซ้อนได้ โดยทั่วไปมักใช้เภสัชภัณฑ์ในรูปขี้ผึ้งหรือเจลในการรักษาซึ่งไม่สะดวกในการใช้และติดอยู่ที่แผลได้ไม่นานทำให้ต้องทายาบ่อย ๆ บางครั้งยังก่อให้เกิดความรำคาญ จากข้อบกพร่องดังกล่าว จึงเกิดแนวคิดที่จะพัฒนาเภสัชภัณฑ์ในรูปฟิล์มของไคโตซานที่มีคุณสมบัติยึดติดกับเยื่อเมือกได้ดี ซึ่งน่าจะได้ฟิล์มที่ปิดแผลได้ง่ายและติดได้นาน โดยทำหน้าที่ป้องกันการสัมผัสระหว่างแผลกับสิ่งที่จะมากระทบกับแผลแล้วทำให้เจ็บปวดหรือติดเชื้อซึ่งจะทำให้แผลหายช้า¹

มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) เป็นผลไม้ในเขตร้อนชื้น เป็นหนึ่งในจำนวนผลไม้หลาย ๆ ชนิดของไทยที่มีรสชาติดี ชวนรับประทาน จนได้รับขนานนามว่า ราชีนีแห่งผลไม้ (Queen of fruits)² การบริโภคมังคุดจะรับประทานเฉพาะเนื้อผลซึ่งมีลักษณะนิ่ม สีขาว แบ่งเป็นกลีบ อัดแน่นหุ้มเมล็ดอยู่ข้างใน เนื้อผลมีรสหวานอมเปรี้ยว เปลือกผลมังคุดเป็นส่วนที่ต้องทิ้งไปหลังจากบริโภคเนื้อผล ในตำรับยาแผนโบราณเปลือกผลมังคุดใช้รักษาอาการท้องร่วง โรคน้ำกัดเท้า และแผลพุพอง เนื่องจากในเปลือกผลมังคุด ประกอบด้วยสารรสฝาด คือ แทนนิน (tannin) 7-14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีฤทธิ์ช่วยสมานแผล ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น แก้อักเสบและท้องร่วง และแซนโทน (xanthone) ช่วยลดการอักเสบและต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเป็นหนอง มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังและกลากได้^{2,3}

ไคโตซาน (chitosan) เป็นโพลีเมอร์ชนิด cationic polysaccharide ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคติน (chitin) ที่ถูกพบเป็นจำนวนมากในเปลือกของสัตว์ทะเล เช่น เปลือกกุ้ง หรือ กระจงปู ประเทศไทยมีการผลิตและส่งออกอาหารทะเลจำนวนมาก โดยเปลือกของสัตว์ทะเลเหล่านี้จะถูกนำมาผ่านกระบวนการทางเคมีโดยการดึงหมู่อะเซทิลออก (Deacetylation) ได้เป็นไคโตซาน เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจึงสามารถเข้ากันได้ดีกับสิ่งมีชีวิต (Biocompatible) และถูกย่อยสลายได้โดยกระบวนการทางชีวภาพ (Biodegradable) ไคโตซานสามารถละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดฟอร์มิกหรือกรดมด (formic acid), กรดอะซิติกหรือกรดน้ำส้ม (acetic acid), กรดทาทาริก (tartaric acid), กรดซิตริก (citric acid) และ กรดแลคติก (lactic acid) และมีคุณสมบัติในการยึดเกาะ (mucoadhesive) ที่ดี มีความเป็นพิษน้อย ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมที่จะนำไคโตซานมาใช้ในการเตรียมฟิล์ม ซึ่งจากการศึกษาเกี่ยวกับกลไก คุณสมบัติการยึดติด และการประเมินทางชีวภาพของฟิล์มไคโตซานที่ใช้ตัวทำละลายต่างกัน พบว่า ไคโตซานที่เตรียมจากกรดแลคติกมีความนุ่ม ยืดหยุ่น ปรับรูปได้ง่าย และยึดติดได้ดีกว่าไคโตซานที่เตรียมจากกรดอะซิติก นอกจากนี้ยังไม่ทำให้เกิดผื่นแดง (erythema) บวม (edema) และพิษทางระบบ (systemic toxicity) แม้ฟิล์มไคโตซานที่เตรียมจากกรดแลคติกจะมีความเหมาะสมในการใช้สมานแผลก็ตาม แต่พบว่าให้รสชาติที่ฝาด⁵ สำหรับการเตรียมฟิล์มจากไคโตซานเพียงอย่างเดียวนั้นอาจได้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติยังไม่ดีพอ จึงมีการนำเจลาตินมาเป็นส่วนประกอบเพื่อพัฒนาให้ได้ฟิล์มที่มีความแข็งแรง ยืดหยุ่น และยึดติดได้ดีขึ้น

จากเหตุผลข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการผลิตฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเพื่อใช้ในการรักษาแผลร้อนใน ซึ่งคาดว่าจะได้เภสัชภัณฑ์ที่ดีมีประสิทธิภาพในการรักษาแผลร้อนใน มีความปลอดภัยในการใช้ นอกจากนี้ยังเป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์สารที่เหลือใช้จากธรรมชาติและสมุนไพรที่ผลิตขึ้นมาเองในประเทศให้เกิดประโยชน์แก่ประเทศชาติและประชาชนสูงสุด

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกมังคุด
2. เพื่อประเมินฟิล์มปิดแผลร้อนในที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกมังคุด
3. เพื่อพัฒนาสร้างสรรครูปแบบเภสัชภัณฑ์ใหม่ที่ใช้ในการรักษาแผลร้อนในให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ขอบเขตของการศึกษา

ทำการศึกษาเพื่อเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่มีสารสกัดเปลือกผลมังคุด และประเมินคุณสมบัติของฟิล์ม

วิธีการดำเนินการศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยสกัดสารจากเปลือกผลมังคุดสดและเปลือกผลมังคุดอบแห้งด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) จะได้สารสกัดที่เป็นของเหลว (liquid extracts) แล้วนำมาเตรียมให้อยู่ในรูปของแข็งแห้งโดยใช้เครื่อง Rotary Evaporator
2. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยนำสารสกัดในรูปของแข็งแห้งมาวิเคราะห์ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด
3. การตั้งตำรับและการเตรียมฟิล์มเปลาที่มีส่วนผสมของโคโคซาน เจลาติน และสารเพิ่มความยืดหยุ่น โดยเลือกสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่มีคุณสมบัติที่ดีในการเตรียมฟิล์ม
4. การประเมินลักษณะทางเคมี - กายภาพของฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด ได้แก่ ลักษณะภายนอกของฟิล์ม เช่น สี ความใส ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความสม่ำเสมอของเนื้อฟิล์ม การประเมินความหนา ความยืดหยุ่น ความชื้น การซึมผ่านของน้ำ และความสามารถในการยึดติดของฟิล์ม
5. การเตรียมฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด จากสูตรตำรับที่ให้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีฟิสิกส์ที่ต้องการ เช่น ฟิล์มที่มีความแข็งแรง ยืดหยุ่น สามารถเกาะติดผิวได้ดี สามารถดูดซับน้ำได้ดี และมีความคงตัวดี มาเตรียมเป็นฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด
6. การประเมินลักษณะทางเคมี - กายภาพของฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด ได้แก่ ลักษณะภายนอกของฟิล์ม เช่น สี ความใส ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความสม่ำเสมอของเนื้อฟิล์ม ความคงตัวของที่มีสารสกัด การประเมินความหนา ความยืดหยุ่น ความชื้น การซึมผ่านของน้ำ ความสามารถในการยึดติดของฟิล์ม
7. การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลชีพของฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด
8. การศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์มที่ผสมสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดโดยใช้เครื่อง UV Spectrophotometry
9. การวิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้แผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติในการรักษาและบรรเทาอาการแผลร้อนใน
2. เพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบที่ผลิตจากวัสดุเหลือใช้แล้ว คือ เปลือกมังคุด กระดองปูและเปลือกกุ้ง
3. พัฒนาการใช้สมุนไพรซึ่งเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้านให้แข่งขันในระดับโลก



บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรม

แผลร้อนใน (Aphthous ulcer) ¹

อาการแผลร้อนในพบมากที่ริมฝีปากด้านใน เหงือก กระพุ้งแก้มหรือบริเวณลิ้น แผลจะเริ่มจากวงกลมหรือวงรีเล็กๆ และมีขนาดใหญ่ขึ้น ตรงกลางจะมีเยื่อสีขาวหรือสีเหลืองบางๆ ขอบมีลักษณะบวมแดงและมีอาการปวด อาจมีขนาดเล็กถึงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางหนึ่งนิ้ว

สาเหตุของแผลร้อนใน ยังไม่ทราบแน่ชัดแต่อาจเกิดจากสาเหตุต่างๆ ดังนี้

1. ความเครียด วิตกกังวล ท้องผูก ทำให้ร่างกายมีภูมิคุ้มกันต่ำ
2. การได้รับบาดเจ็บ เช่นจากการแปรงฟัน การกัดโดนริมฝีปาก กระพุ้งแก้ม
3. การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน เช่น ก่อนมีประจำเดือน
4. การขาดวิตามิน เช่น วิตามิน บี 12 กรดโฟลิก ธาตุเหล็ก
5. เกิดจากการแพ้อาหารบางชนิด
6. เกิดจากโรคแพ้ภูมิ เช่น (Systemic Lupus Erythematosus; SLE)
7. การสูบบุหรี่
8. ใช้ผลิตภัณฑ์สำหรับช่องปากที่มีส่วนผสมของ Sodium lauryl sulphate (SLS) เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็น Detergent
9. จากการใช้ยาบางชนิด เช่น NSAIDs, Alendronate และ nicorandil

สำหรับการรักษา ทำได้โดยพยายามลดความเครียดเพื่อผ่อนคลาย เลือกรับประทานอาหารที่มีกากและดื่มน้ำมากๆ อย่าให้เกิดแผลในช่องปาก ซึ่งอาจเกิดจากอาหารที่แข็ง คม เช่น กระจุกสัตว์ ดังนั้น ควรเคี้ยวอาหารด้วยความระมัดระวังและรักษาสุขภาพในช่องปากให้สะอาด โดยปรกติแล้วแผลลักษณะนี้จะหายได้เองภายใน 7-14 วัน และมักจะไม่เป็นอันตราย แต่ในกรณีที่มีอาการปวดแสบปวดร้อนมาก อาจต้องให้ยาบางชนิดในการรักษา ดังนี้

1. ยาป้ายในช่องปาก กลุ่มสเตียรอยด์ เช่น Triamcinolone 0.1 เปอร์เซ็นต์ ใน orabase
2. ยาชา เช่น 2 เปอร์เซ็นต์ viscous lidocaine, benzocaine
3. ใช้ยา diphenhydramine บ้วนปากห้ามกลืน หรืออมน้ำเกลือ
4. ใช้ยา tetracycline หรือ minocycline บ้วนปาก จะทำให้แผลหายเร็ว แต่ห้ามใช้ในคนท้อง

มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.)^{2,3}

มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) มังคุดเป็นพืชในตระกูล Guttiferae ปลูกมากทางภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศไทย มังคุดเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งในจำนวนผลไม้หลายชนิดของไทยที่มีรสชาติดี จนได้รับการขนานนามว่า ราชีนีแห่งผลไม้ (queen of fruits) การรับประทานมังคุดจะรับประทานเฉพาะเนื้อผลซึ่งมีลักษณะนิ่มสีขาว แบ่งเป็นกลีบอัดแน่นหุ้มเมล็ดไว้ข้างใน เนื้อผลมีรสหวานอมเปรี้ยว ประกอบด้วยน้ำตาล กรดอินทรีย์บางชนิด แคลเซียม ฟอสฟอรัส และเหล็ก เปลือกผลมังคุดมีสีม่วงคล้ำมักเรียกกันว่าสีเปลือกมังคุด ซึ่งเปลือกผลมังคุดนี้เป็นส่วนที่ต้องทิ้งไปหลังจากการบริโภคเนื้อผล ในตำรับยาแผนโบราณ เปลือกผลมังคุดใช้รักษาอาการท้องร่วง โรคน้ำกัดเท้า และแผลพุพอง เนื่องจากในเปลือกผลมังคุดประกอบด้วยสารรสฝาด คือ แทนนิน (tannin) ร้อยละ 7-14 ซึ่งคล้ายกับสมุนไพรรสฝาดอื่นที่มีรสฝาด เช่น ยอดฝรั่ง เปลือกผลทับทิม และเปลือกต้นแค แทนนินมีฤทธิ์ช่วยสมานแผล นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารจำพวกแซนโทน (xanthone) ช่วยลดการอักเสบและต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเป็นหนอง มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังและกลากได้ และสารจำพวกเรซิน (resin)

การใช้ประโยชน์จากเปลือกผลมังคุดในการรักษาโรค⁴

1. ใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย แก้ท้องร่วงเรื้อรัง โรคเกี่ยวกับลำไส้และบิด ซึ่งแทนนินในเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ฝาดสมาน (astringent) ใช้แก้ท้องเสียได้ ตำรับยาพื้นบ้านใช้เปลือกผลตากแห้งครึ่งลูกต้มกับน้ำ หรือย่างไฟแล้วฝนกับน้ำปูนใส รับประทานทุก 2 ชั่วโมง หรือใช้ผงของเปลือกผลแห้ง 1 ช้อนชา ละลายน้ำข้าวหรือน้ำต้มสุกรับประทานทุก 4 ชั่วโมง ถ้าทำเป็นยาดองเหล้าความแรง 1 ใน 10 ให้รับประทานครั้งละ 1 ช้อนชา สารในเปลือกผลมังคุดคือ เมงโกสติน (mangostin) การทดลองทางคลินิกพบว่า สารเมงโกสตินมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคท้องเสีย นอกจากนี้แล้วยังพบว่าเรซินที่ได้จากเปลือกผลมังคุดมีคุณสมบัติเป็นยาสมานแก้โรคบิดและท้องร่วง

2. ใช้รักษาบาดแผล แผลพุพอง แผลเน่าเปื่อย และแผลเป็นหนอง เพราะมีสารแทนนินในเปลือกผลมังคุดที่มีฤทธิ์สมานแผลช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น และสารแซนโทนช่วยลดการอักเสบและต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเป็นหนอง

วิธีใช้ตามตำรับยาพื้นบ้านมีการใช้อยู่ 2 วิธีด้วยกัน คือ

2.1 เปลือกฝนแห้งฝนกับน้ำปูนใสทาบริเวณแผล

2.2 เปลือกผลสดหรือแห้ง 1-2 ผล สับเป็นชิ้นเล็กๆ ต้มกับน้ำ 1 ลิตร ให้เดือดประมาณ 5 นาที เติมน้ำเกลือประมาณ 1 ช้อนชา ใช้ชะล้างบาดแผลเรื้อรัง แผลมีหนอง

3. ใช้รักษาแผลน้ำกัดเท้า โดยฝนเปลือกผลแห้งกับน้ำให้ข้น ทาบริเวณที่เป็นวันละ 3-4 ครั้ง จนกว่าแผลจะหาย ก่อนทาควรทำความสะอาดเท้าด้วยสบู่แล้วล้างน้ำให้สะอาด เช็ดให้แห้ง ทาด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

4. ช่วยระงับการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคกลาก เนื่องจากสารแซนโทนหลายชนิดในเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนัง และกลากได้

สารประกอบทางเคมีในเปลือกมังคุด

Huang YL และคณะได้แยกสกัดสารแซนโทนชนิดใหม่ที่ได้จากเปลือกผลมังคุดเพิ่มอีก 4 ชนิด คือ garcimangosone A, garcimangosone B, garcimangosone C และ garcimangosone D โดยใช้การสกัดด้วยเอทานอล (EtOH)

จากการศึกษาของ Suksamrarn S และคณะ พบว่า ได้แยกสกัดสารแซนโทนชนิดใหม่จากเปลือกผลมังคุดเพิ่มอีก 3 ชนิด คือ mangostenol, mangostenone A และ mangostenone B โดยใช้การสกัดด้วยเมทานอล (MeOH) โดยก่อนหน้านี้มีการแยกสกัดสารแซนโทนได้แล้ว 7 ชนิด คือ trapezifolixanthone, tovophyllin B, α -mangostin, β -mangostin, garcinone B, mangostinone, mangostanol และ flavonoid epicatechin

Asai F และคณะ ได้แยกสกัดสารแซนโทนตัวใหม่จากเปลือกมังคุดคือ mangostinone หลังจากก่อนหน้านี้ได้มีการค้นพบสารแซนโทนแล้ว 7 ชนิด คือ α -mangostin, β -mangostin, γ -mangostin, gartanin, garcinone E, 1,5-dihydroxy-2-(3-methylbut-2-enyl)-3-methoxy และ 1,7-dihydroxy-2-(3-methylbut-2-enyl)-3-methoxyxanthone

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารแมงโกสตินและสารอนุพันธ์ พบว่าสารแมงโกสติน (M) และสารอนุพันธ์อีก 7 ตัว ได้แก่ 3-โอ เมธิล แมงโกสติน (3-O methyl mangostin : MM) 3,6-ได-โอ-เมธิล แมงโกสติน (3,6-di-O-methyl mangostin : DM) 1-ไอโซแมงโกสติน (1-isomangostin : IM) แมงโกสตินไตรอะซีเตต (mangostin triacetate : MT) แมงโกสติน 3,6-ได-โอ-(เตตรา อะซิล) กลูโคไซด์ (mangostin 3,6-di-O-(tetra acetyl) glucoside : MTG) และแมงโกสติน 6,6-ได-โอ-กลูโคไซด์ (mangostin 6,6-di-O-glucoside : MOG) มีฤทธิ์ดังนี้

- สารทุกตัวมีฤทธิ์กดประสาทส่วนกลางยกเว้น DM
- MOG เพียงตัวเดียว ที่มีฤทธิ์กระตุ้นกล้ามเนื้อหัวใจ และเพิ่มความดันเลือด
- สาร M, IM และ MT มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูขาวที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ

จากการศึกษาของ Chairungsrierd N และคณะ ทำให้คาดว่า α -mangostin น่าจะมีคุณสมบัติเป็น histaminergic receptor blocking agent และ γ -mangostin มีคุณสมบัติเป็น serotonergic receptor blocking agent

การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารในเปลือกผลมังคุด พบว่าแมงโกสตินซึ่งเป็นสารหลักที่สกัดได้จากเปลือกผลมังคุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Microsporium gypseum*, dermatophyte *Trichophyto mentagrophytes* และ *Epidermophyton floccosum* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านเชื้อราค่อนข้างสูง คือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่มีผลต่อเชื้อ *Candida albican*

Gopalakrishnan G และคณะ⁶ ได้ทำการศึกษาดังฤทธิ์ในการต้านเชื้อราของสารแซนโทนจากธรรมชาติในเปลือกผลมังคุดเปรียบเทียบกับอนุพันธ์ของสารแซนโทนต่อเชื้อ *Fusarium oxysporum vasinfectum*, *Alternaria tenuis* และ *Dreschlera oryzae* พบว่า สารแซนโทนจากธรรมชาติ ซึ่งได้แก่ mangostin, BR-xanthone A, gartanin, γ -mangostin, garcinone D, xanthone, euxanthone และ xanthione มีความสามารถในการต้านเชื้อราได้ดีกว่าอนุพันธ์ของแซนโทนซึ่งได้แก่ di-o-methylmangostin, di-o-ethylmangostin, di-o-propylmangostin,

di-o-butylmangostin, di-o-isopropylmangostin, di-o-allylmangostin, di-o-methallylmangostin, di-o-acetylmangostin และ 3-isomangostin

Nakatani K และคณะ⁷ ได้ทำการศึกษากฤทธิ์ยับยั้งการปลดปล่อยฮิสตามีน (histamine) โดยใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวของหนู (Rat basophilic leukemia cell : RBL-2H3) และฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin E₂) ของสาร α -mangostin และ γ -mangostin โดยใช้เซลล์สมองของหนู (C6 rat glioma cell) เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารสกัดจากใบของ *Rubus suavissimus* พบว่า สาร α -mangostin และ γ -mangostin จากสารสกัดเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งการปลดปล่อย histamine ใกล้เคียงกับสารสกัดจากใบ *R.suavissimus* และยับยั้งการสังเคราะห์ prostaglandin E₂ แต่ไม่พบฤทธิ์นี้ในสารสกัดจากใบ *R.suavissimus*

นอกจากนี้ Nakatani K และคณะ⁸ ยังได้ทำการศึกษากฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้าง prostaglandin E₂ และการทำงานของ cyclooxygenase-1 (COX-1) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) ของสาร γ -mangostin ผลการทดลองพบว่า γ -mangostin มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ prostaglandin E₂ จาก C6 ray glioma cell โดยมีกลไกยับยั้งการทำงานของ COX-1 และ COX-2

การศึกษามผลของ xanthone ต่างๆที่ได้จากเปลือกผลมังคุดต่อเซลล์มะเร็งตับและเซลล์มะเร็งอื่นที่ได้จากผู้ป่วยอีก 14 ชนิด พบว่า garcinoma E มีฤทธิ์แรงต่อเซลล์มะเร็งตับ กระเพาะอาหาร และปอด ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า garcinoma E อาจนำมาใช้เป็นยารักษามะเร็งต่อไปในอนาคต

Pramyothin P และคณะ⁹ ได้ศึกษาความเป็นพิษต่อตับของสารสกัดแซนโทนที่ได้จากเปลือกมังคุด โดยใช้เซลล์ตับของหนู พิจารณาจากค่า AST, ALT, glutathione (GSH), Malondialdehyde (MDA) และ aminopyrine N-demethylase activity เปรียบเทียบกับสารที่มีความเป็นพิษต่อตับ คือ carbon tetrachloride (CCl₄) พบว่า แซนโทนมีความเป็นพิษต่อตับโดยขึ้นกับขนาดที่ใช้ และพบว่าที่ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร AST และ ALT มีค่าเพิ่มขึ้น MDA และ GSH มีค่าลดลง โดยไม่เปลี่ยนแปลง aminopyrine N-demethylase activity ในขณะที่ CCl₄ 0.03 mM จะให้ผลที่แตกต่าง คือ จะมีการเพิ่มขึ้นของ MDA โดยอาจจะแสดงถึงกลไกการเกิดพิษที่แตกต่างกัน

Sakagami Y และคณะ ได้ศึกษาถึง สาร α -mangostin ที่ได้จากเปลือกผลมังคุดต่อคุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยพบว่า α -mangostin มีฤทธิ์ต้านเชื้อ Enterococci ที่ดื้อต่อยา vancomycin (vancomycin resistant Enterococci) และมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา methicillin (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) ด้วยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimum Inhibition Concentration; MIC) 6.25 และ 6.25-12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Staphylococcus¹⁰

เชื้อ Staphylococci เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปทรงกลม (gram positive cocci) มักอยู่ติดกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ปัจจุบันเชื้อในสกุลนี้มีอยู่ทั้งหมด 27 species และ 7 subspecies ที่พบในคนมี 14 species และ 2 subspecies ชนิดที่พบได้บ่อยที่สุดในการก่อให้เกิดการติดเชื้อในคนได้แก่ *S. aureus* และเป็นเชื้อชนิดที่พบในคนที่สร้างเอนไซม์ coagulase ได้ ส่วน Staphylococci อื่นไม่สร้าง coagulase ดังนั้นจึงมักเรียก Staphylococcus อื่นๆ รวมกันว่า Coagulase negative staphylococci ซึ่งส่วนใหญ่พบเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นตามผิวหนังและเยื่อเมือกของร่างกาย เชื้อ Staphylococci ที่พบว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในคนมี 3 ชนิดคือ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *S. saprophyticus* เชื้อเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาทั่วไป สามารถหมักน้ำตาลได้หลายชนิด และสร้างเม็ดสี (pigment) ได้ ทำให้โคโลนีมีสีต่างๆ เช่น สีขาว สีเหลืองทอง และสีส้ม เป็นต้น เชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคได้ (pathogenic) เมื่อเจริญบน blood agar จะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกและทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์มาก เนื่องจากเป็นเชื้อก่อให้เกิดโรคติดเชื้อที่มีลักษณะเป็นการอักเสบแบบมีหนอง เช่น ก่อให้เกิดฝีตามผิวหนัง เยื่อหุ้มกระดูกอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ปอดอักเสบ หนองในช่องเยื่อหุ้มปอด ข้ออักเสบ และการติดเชื้อในเลือด เป็นต้น นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ ด้วย สำหรับ *S. epidermidis* พบเป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ตามผิวหนังและเยื่อเมือกต่างๆ ของร่างกาย แต่เชื้อก็สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในบางครั้ง โดยเฉพาะในคนที่ภูมิคุ้มกันต่ำ ส่วน *S. saprophyticus* พบได้บ่อยว่าเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะได้

Staphylococcus aureus¹⁰

คุณสมบัติของเชื้อ

เชื้อ Staphylococci เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปทรงกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมโครเมตร ลักษณะการเรียงตัวอาจอยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่เป็นคู่ แต่ส่วนใหญ่มักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มใหญ่บ้างเล็กบ้าง ไม่แน่นอน (irregular cluster) เมื่อย้อมสีแกรม เชื้อที่กำลังเจริญเติบโตและมีอายุน้อยจะติดสีม่วงเข้ม (strong gram positive) แต่หากเลี้ยงเชื้อไว้นานจนเชื้อมีอายุมากขึ้น เชื้อจะติดสีแกรมลบได้ เชื้อนี้ไม่สามารถสร้างสปอร์และไม่สามารถเคลื่อนที่ (non motile) ได้ เชื้อบางสายพันธุ์สามารถสร้างแคปซูลได้ซึ่งจะช่วยให้เชื้อมีคุณสมบัติในการก่อโรครุนแรงขึ้น

การเพาะเชื้อ

เชื้อ Staphylococci เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป และเจริญได้ทั้งในภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน เชื้อเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่เชื้อจะเจริญและสร้างเม็ดสีได้ดีที่อุณหภูมิห้องโดยจะสร้างได้ดีขึ้นเมื่อเจริญในที่มืดและในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าปกติ แต่เชื้อจะไม่สร้างเม็ดสีเมื่อเจริญในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนหรือในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง มีลักษณะกลม หนูน ผิวมันเป็นเงา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-4 มิลลิเมตร มีสีเหลืองทองหรือเหลืองอ่อน หรือในบางครั้งอาจพบว่ามีสีขาวได้ เมื่อเจริญบน blood agar เชื้อสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงแตกจึงเห็นลักษณะเป็นวงใส (β -hemolysis) รอบโคโลนี ส่วน *S. epidermidis* มีโคโลสีขาว และมักไม่มีการทำลายเม็ดเลือดแดงจึงไม่พบ hemolysis รอบๆ โคโลนี เชื้อในกลุ่ม Staphylococci สามารถหมักน้ำตาล

ได้หลายชนิด เช่น กลูโคส มอลโตส แลคโตส ซูโครส และแมนนิทอล เกิดเป็นกรด แต่ไม่เกิดแก๊ส โดย *S. aureus* สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสและแมนนิทอลได้ ส่วน *S. epidermidis* และ *S. saprophyticus* ไม่สามารถหมักน้ำตาลแมนนิทอลได้ จึงใช้ปฏิกิริยาหมักน้ำตาลแมนนิทอลร่วมกับคุณสมบัติอื่นๆ ในการแยกชนิดของเชื้อ staphylococci ดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 คุณสมบัติสำคัญที่ใช้ในการแยกชนิดของเชื้อ staphylococci

Test	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Coagulase	+	-	-	-
Heat stable nuclease	+	-	-	-
Novobiocin resistance (5 mg)	-	-	-	+
Pyrrolidyl	-	-	+	-
Acid form				
D-Trehalose	+	-	+	+
D-mannitol	+	-	d	d

ความทนทานต่อสิ่งแวดล้อม

โดยทั่วไปเชื้อ staphylococci ทนทานต่อสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ด้วยกัน เชื้อทนทานต่อความร้อนและความแห้งแล้งได้ดี เช่น ทนต่อความร้อนสูงถึง 60 องศาเซลเซียส ได้นาน 60 นาที และมีชีวิตอยู่ในที่เย็น เช่น 4 องศาเซลเซียส ได้นานหลายเดือน นอกจากนี้เชื้อยังทนต่อสารเคมีฆ่าเชื้อต่างๆ เช่น ฟีนอล (Phenol) และ mercuric chloride ได้ค่อนข้างดีกว่าแบคทีเรียอื่นๆ และสามารถเจริญในที่ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงๆ ได้ เช่น 6.5 เปอร์เซ็นต์ sodium chloride ได้ ซึ่งต่างจากแบคทีเรียทั่วไป แต่เชื้อ staphylococci ไวต่อสปีบางชนิด ที่มีคุณสมบัติฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น gentian violet ที่เจือจาง 1 ต่อ 100,000 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ นอกจากนี้เชื้อยังไวต่อยาซัลโฟนาไมด์ (sulfonamide) และยาต้านจุลชีพหลายชนิด แต่ก็มี *S. aureus* หลายสายพันธุ์ที่ต่อยาเพนิซิลลิน (Penicillin) พบว่าสายพันธุ์ดังกล่าวสามารถสร้างเอนไซม์ penicillinase (β - lactamase) ได้

การทำให้เกิดโรค

เชื้อ Staphylococcus เป็นเชื้อก่อโรคในคน โดยแหล่งของเชื้อมาจากธรรมชาติและบาดแผลที่ติดเชื้อหรือคนปกติที่เป็นพาหะของ *S. aureus* ซึ่งพบได้ถึงร้อยละ 25 โดยส่วนใหญ่พบเชื้อได้ในบริเวณระบบทางเดินหายใจส่วนต้น ในคนที่เป็นพาหะอาจพบเชื้อได้ถึง 10^3 - 10^4 ตัว และอาจพบเชื้อได้มากกว่า 1 สายพันธุ์ในคนเดียวกัน เชื้อสามารถปนเปื้อนตามร่างกายของคนปกติได้ตั้งแต่แรกเกิดจนถึงผู้ใหญ่ โดยพบเชื้อที่บริเวณส่วนของคอหอยส่วนปาก (oropharynx) ทางเดินอาหาร (gastrointestinal tract) ระบบอวัยวะเพศและทางเดินปัสสาวะ (urogenital tract) ปัญหาการระบาดของโรคติดเชื้อมักเกิดขึ้นในโรงพยาบาล โดยเฉพาะหออภิบาลผู้ป่วย ไอ ซี ยู ห้องผ่าตัด และห้องดูแลเด็กอ่อน การระบาดดังกล่าวเกิดจากการติดต่อระหว่างผู้ป่วยเอง การปนเปื้อนจากญาติ หรือบุคลากรทางการแพทย์ ซึ่งพบว่าผู้ป่วยในโรงพยาบาล บุคลากรทางการแพทย์ ผู้ที่เป็นผิวหนังอักเสบออกผื่น (eczematous skin disease) และผู้ที่ต้องใช้เข็มฉีดยา (ผู้ที่เสพยา หรือผู้ที่ต้องรักษาด้วยยาฉีด) จะเป็นพาหะของเชื้อได้มากกว่าคนปกติ

ปัญหาสำคัญเมื่อมีการระบาดของเชื้อ คือ ปัญหาการติดยาของเชื้อ ซึ่งทำให้ไม่สามารถทำลายแหล่งเพาะเชื้อได้ นอกจากนี้ยังพบปัญหาการกลับเป็นซ้ำ เนื่องจากเชื้อ *S. aureus* มีความคงทนสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานในที่แห้ง เช่น เสื้อผ้า ผ้าปูที่นอน ปลอกหมอน เป็นต้น

เชื้อ *S. aureus* ก่อให้เกิดโรคที่มีลักษณะจำเพาะ คือ ทำให้เกิดอาการอักเสบเป็นหนอง (suppurative) และมักจะเป็นการอักเสบเฉพาะที่ โดยบริเวณที่พบได้บ่อยที่สุด คือ ผิวน้ำ การติดเชื้ออาจเริ่มที่ต่อมไขมันหรือรูขุมขน เนื่องจากเชื้อสร้างสารที่ทำให้เนื้อเน่าตายได้และสร้างสาร coagulase ซึ่งสามารถทำให้ไฟบริน (fibrin) แข็งตัวจับอยู่รอบบาดแผล ส่งผลให้เกิดเป็นผนังกันไม่ให้เชื้อลุกลามต่อไป ในขณะที่เดียวกันก็มีการคั่งของเซลล์ต่างๆ เช่น เซลล์อักเสบ (inflammatory cell) และเกิดเป็น fibrosis tissue มาล้อมรอบ ต่อมาเกิดการย่อยเหลว (liquefy) ของเนื้อเยื่อที่ตายเกิดเป็นหนองขึ้น ซึ่งภายในนั้นประกอบด้วยเซลล์จับกินพวก phagocyte แบบที่เรียกทั้งที่ตายแล้วและยังมีชีวิตอยู่ และน้ำเหลือง เมื่อเจาะเอาหนองตรงกลางออกจะเกิดเป็นช่องว่างและต่อมากจะเกิดเป็น granulation tissue ขึ้น จากนั้นแผลจะหายไปเอง

ถึงแม้ว่าเชื่อนี้จะก่อให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวน้ำ ซึ่งพบได้บ่อยแต่ส่วนใหญ่ก็ไม่มีอาการรุนแรง พบน้อยมากที่ก่อให้เกิดอาการรุนแรงในคนทั่วไป ส่วนใหญ่การติดเชื้อที่มีอาการรุนแรง เช่น การติดเชื้อในเลือด มักพบในทารกแรกเกิด ซึ่งอาจเป็นผลมาจากมีแผล (trauma) หรือจากแผลผ่าตัด แผลไฟไหม้ หรือมีแผลติดเชื้ออย่างรุนแรงที่ผิวน้ำ หรืออาจพบได้ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน โรคมะเร็ง หรือผู้ป่วยด้วยโรค cystic fibrosis เป็นต้น

กลไกของการเกิดโรคขึ้นอยู่กับทอกซินและเอนไซม์ต่างๆที่เชื้อสร้างขึ้น ซึ่งเชื่อกันว่า alpha toxin ที่มีฤทธิ์ทำให้สัตว์ทดลองตาย มีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดการติดเชื้อในเลือดอย่างรุนแรง อีกทั้ง hemolysin และ leucocidin สามารถทำลายเม็ดเลือดขาวของคนได้ รวมทั้ง lipase ก็อาจมีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดการอักเสบที่ผิวน้ำ และ coagulase สามารถทำให้ไฟบรินแข็งตัวจับอยู่รอบๆ แผล ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้ phagocyte เข้าไปทำลายเชื้อ นอกจากนี้เอนไซม์พวก hyaluronidase และ staphylokinase ยังช่วยให้เชื้อแพร่กระจายไปได้

Toxin และ Enzymes

เชื้อ *S. aureus* สามารถทำให้เกิดโรคติดเชื้อได้โดยการที่เชื้อสามารถเจริญแบ่งตัวและแพร่กระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อของร่างกายได้ รวมทั้งเชื้อสามารถสร้างทอกซินและเอนไซม์ชนิดต่างๆ ซึ่งขับออกมาออกเซลล์ได้ ได้แก่ Hemolysin ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติทางเคมี และทางโลหิตวิทยาต่างๆ กัน โดยเชื้อสายพันธุ์หนึ่งอาจสร้าง hemolysin ได้มากกว่าหนึ่งชนิด hemolysin ทุกชนิดเป็นสารโปรตีน ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ด้วยปฏิกิริยา hemolysis แต่กลไกในการออกฤทธิ์นั้นแตกต่างกันไป โดยมีความจำเพาะต่อชนิดของเม็ดเลือดแดงนั้นๆ สาร hemolysin นี้ยังมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนและถูกสะเทินได้ นอกจากนี้ยังสามารถทำลายเซลล์อื่นๆ เช่น เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด และแมคโครฟาจได้ สาร hemolysin นี้ทำให้เนื้อเยื่อเน่าตายหรือบางชนิดทำให้สัตว์ทดลองตายได้

alpha hemolysin เป็น hemolysin ชนิดที่พบเป็นส่วนใหญ่จากเชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากคน เป็นสารพวกโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุล 33,000 สารนี้มีฤทธิ์ทำให้เม็ดเลือดแดงของกระต่ายแตก และทำลายเกล็ดเลือดของคนได้ และเมื่อนำไปฉีดเข้าใต้ผิวน้ำของกระต่ายจะทำให้เกิดเนื้อตายตรงบริเวณที่ฉีด แต่ถ้าฉีดเข้าหลอดเลือดจะทำให้สัตว์ทดลองนั้นตายได้ นอกจากนี้ยังมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว โดยเฉพาะกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเล็กๆ มีผลทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นเน่าตาย

beta hemolysin เป็น hemolysin ชนิดที่เชื้อสายพันธุ์ที่แยกได้จากสัตว์ ส่วนเชื้อสายพันธุ์ที่แยกได้จากคนมีเพียงร้อยละ 10-20 เท่านั้นที่สร้าง hemolysin โดยสารนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดต่างๆ และเป็นพิษต่อสัตว์ทดลองด้วย

นอกจากนี้ยังมี gamma และ delta hemolysin ซึ่งทั้งสองชนิดนี้เป็นสารพวก phospholipase และเป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาวและเนื้อเยื่ออื่นๆ หลายชนิด

Leucocidin ทอกซินนี้ประกอบด้วย F component และ S component ทั้งสอง component นี้ออกฤทธิ์ร่วมกันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เยื่อหุ้มเซลล์และรูปร่าง ทำให้มีการซึมผ่าน (permeability) เพิ่มขึ้น แบคทีเรียที่สร้างสารนี้จะมีความต้านทานต่อการถูกจับกิน โดยเชื้อ *S. aureus* เกือบทุกสายพันธุ์สร้างทอกซินนี้ได้ ทอกซินนี้มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนและถูกสะเทินได้โดยแอนติบอดี (antibody) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติทำให้เกิดการแตกสลายของแกรนูลของเม็ดเลือดขาวของคนและกระต่ายได้ และของแมคโครฟาจได้

Exfoliatin ของเชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้ประมาณร้อยละ 5 ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ใน phage group II ที่สามารถสร้างทอกซินนี้ได้ ทอกซินเป็นสารพวกโปรตีนที่ทนความร้อนได้แต่ไม่ทนต่อกรด ทอกซินนี้เรียกว่า epidermolytic toxin มีฤทธิ์ทำให้ชั้นของ stratum granulosum แยกหลุดออกจากผิวหนัง เนื่องจากสารนี้ไปย่อย intracellular bridge (desmosomes) ซึ่งเชื่อมระหว่างเซลล์ของผิวหนังชั้นนี้ เป็นลักษณะที่พบได้ในโรค Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) โดยโรค SSSS นี้พบได้บ่อยในเด็กเล็ก ส่วนเด็กโตและผู้ใหญ่พบน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องจากมี protective antibody หรือที่ผิวหนังของผู้ใหญ่ไม่ไวต่อทอกซินนี้

เชื้อ *S. aureus* ประมาณร้อยละ 30-50 สามารถ Enterotoxin ได้ ทอกซินนี้มีความแตกต่างทางโลหิตวิทยา แยกได้เป็น 5 ชนิด ได้แก่ type A, B, C, D และ E ส่วนใหญ่ทอกซินนี้โดยเฉพาะ type A และ D ก่อให้เกิดอาการของอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการกินอาหารที่มีทอกซินนี้ที่สร้างจากเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหาร การนำอาหารที่มีทอกซินนี้ไปอุ่นหรือทำให้ร้อนไม่สามารถป้องกันอาการดังกล่าวได้ เนื่องจากทอกซินนี้ทนต่อความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 30 นาที และนอกจากนี้ยังทนต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ในกระเพาะอาหารและลำไส้ เช่นทนต่อฤทธิ์ของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin) ได้ สำหรับ enterotoxin A นั้นพบได้บ่อยที่สุดในการก่อให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ ส่วน type C และ D มักพบจากผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนเชื้อ ส่วน enterotoxin B นั้นพบว่า ก่อให้เกิด Staphylococcal pseudomembranous enterocolitis ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ของทอกซินนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

Toxin Shock Syndrome toxin-1 (TSST-1) เป็นทอกซินที่ก่อให้เกิดอาการมีไข้ ความดันโลหิตต่ำ มีผื่นขึ้นตามผิวหนังและมีผลต่ออวัยวะหลายระบบ เดิมรู้จักกันในชื่อของ pyrogenic exotoxin C และ enterotoxin F เป็นทอกซินที่เชื้อ *S. aureus* บางสายพันธุ์ปล่อยออกมาระหว่างการเจริญ TSST-1 นั้นแยกได้จากเชื้อ *S. aureus* ที่ได้จากผู้ป่วยทุกรายที่มีอาการของ Toxin Shock Syndrome แต่อย่างไรก็ตามเชื้อที่แยกได้แต่ไม่สร้าง TSST-1 ก็มีรายงานว่าสามารถสร้าง enterotoxin B สำหรับการพบ TSST-1 จากเชื้อชนิดอื่นนอกจาก *S. aureus* ยังเป็นข้อโต้แย้งกันอยู่ อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบแน่ชัดแล้วว่า เชื้อ Coagulase negative staphylococci และ group A streptococci สามารถก่อให้เกิดอาการของ TSS ได้

เชื้อ *S. aureus* ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ coagulase ได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติสำคัญที่ใช้ในการแยกชนิดของเชื้อ staphylococci ถึงแม้ว่ามี *S. aureus* บางสายพันธุ์อาจไม่สร้างเอนไซม์นี้ก็ตามเอนไซม์ coagulase เป็นสารโปรตีนที่มีคุณสมบัติคล้ายเอนไซม์ สามารถทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ *S. aureus* สามารถสร้างเอนไซม์

coagulase ได้ 2 ชนิด ได้แก่ bound coagulase หรือ clumping factor และ free coagulase โดย bound coagulase ที่จับอยู่ที่ผนังเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* สามารถทำปฏิกิริยาโดยตรง โดยการเปลี่ยนไฟบริโนเจน (fibrinogen) ให้เป็น fibrin ทำให้เชื้อ staphylococci จับกลุ่มกัน ส่วน free coagulase ก่อให้เกิดปฏิกิริยาดังกล่าว โดยทำปฏิกิริยากับ coagulase reacting factor (CRF) ในพลาสมาซึ่งสารนี้อาจเป็นโปรทรอมบิน (prothrombin) หรืออนุพันธ์ของ prothrombin ยังผลให้เกิดสารที่มีคุณสมบัติคล้ายทรอมบิน (thrombin like factor) ไปเปลี่ยน fibrinogen เป็น fibrin การสร้างไฟบรินและการแข็งตัวของพลาสมา มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการก่อให้เกิดโรคของเชื้อ *S. aureus* ทั้งนี้เนื่องจากไฟบรินที่เกิดขึ้นจะไปหุ้มรอบตัวแบคทีเรีย ทำให้เม็ดเลือดขาวไม่สามารถจับกินและทำลายเชื้อได้ นอกจากนี้ ยังล้อมรอบบริเวณที่มีการติดเชื้อเกิดขึ้น เป็นการป้องกันการลุกลามของเชื้อไม่ให้แพร่กระจายออกไป ดังนั้นเอนไซม์ coagulase จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ

เชื้อ Staphylococci ทุกตัวสร้างเอนไซม์ catalase ซึ่งเป็น protective enzyme ที่ช่วยเปลี่ยนสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ สารนี้เกิดสะสมระหว่างเมแทบอลิซึมหรือปล่อยออกมาหลังจากการจับกินเชื้อ (phagocytosis) ไปเป็นน้ำและออกซิเจน

เอนไซม์ Hyaluronidase ซึ่งไปย่อย hyaluronic acid ที่เป็นสารพวก acidic mucopolysaccharide พบใน matrix ของ connective tissue เอนไซม์นี้ช่วยให้เชื้อแพร่กระจายไปในเนื้อเยื่อ พบว่าเชื้อ *S. aureus* มากกว่าร้อยละ 90 สร้างเอนไซม์นี้ได้

Fibrinolysin หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าเอนไซม์ staphylokinase สร้างโดยเชื้อ *S. aureus* ทุกตัวสามารถละลายก้อนไฟบรินได้ เอนไซม์ staphylokinase นี้ต่างจาก fibrinolytic enzyme ที่สร้างจากเชื้อ streptococci

เชื้อ *S. aureus* ทุกตัวและเชื้อ coagulase negative Staphylococci มากกว่าร้อยละ 30 สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสได้หลายชนิด เอนไซม์นี้ไปย่อยลิปิด (lipid) ได้จึงมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของ *S. aureus* ที่อยู่ในร่างกายบริเวณที่มีต่อมไขมัน (sebaceous gland) เชื่อว่าการติดเชื้อที่ผิวหนัง และเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังของเชื้อ *S. aureus* จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์นี้ในการบุกรุกบริเวณดังกล่าว

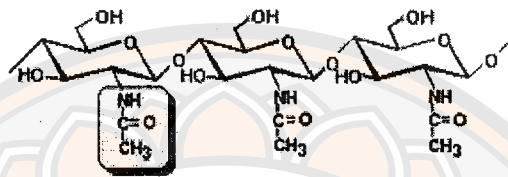
เชื้อ *S. aureus* สร้างเอนไซม์ nuclease ซึ่งเป็นสารพวก phosphodiesterase มีคุณสมบัติสามารถย่อยโมเลกุลของ DNA และ RNA ได้ สารนี้ทนต่อการทำลายด้วยความร้อน (thermostable nuclease) แต่บทบาทในการก่อให้เกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด

เมื่อเริ่มนำเพนิซิลลินมาใช้ในการรักษาเชื้อ Staphylococci มากกว่าร้อยละ 90 มีความไวต่อยานี้ อย่างไรก็ตามต่อมาพบมีการดื้อยานี้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จากการที่เชื้อสร้างเอนไซม์ penicillinase ซึ่งสามารถทำลายฤทธิ์ของ penicillin การแพร่กระจายของเอนไซม์นี้เกิดขึ้นได้อย่างกว้างขวางเนื่องจากมี plasmid ที่สามารถถ่ายทอดได้ยีนดื้ออย่างง่าย

สารที่ใช้ในสูตรตำรับ

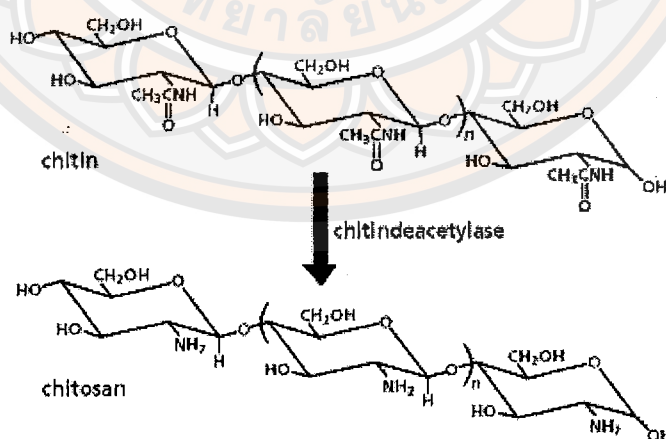
ไคโตซาน (chitosan)¹¹

ไคตินและไคโตซานเป็นสารประกอบพอลิเมอร์ไฮเดรต มีโครงสร้างคล้ายเซลลูโลสที่มีโมเลกุลเป็นสายโซ่ยาวของ (1 - 4) linked glycans ไคตินเป็นโพลีเมอร์ชีวภาพ (biopolymer) ชนิดหนึ่งที่ธรรมชาติสร้างขึ้นเพื่อเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น กุ้ง ปู แกนปลานมึก หอยมุก แมลง และผนังเซลล์ของพวกรา ยีสต์ และจุลินทรีย์ โครงสร้างของไคตินประกอบด้วย N - acetyl - D glucosamine ร้อยละ 70 ถึง 90 และ D - glucosamine ร้อยละ 10 ถึง 30 โดยมีหน่วยย่อยเป็น 2 - amino - deoxy - β - D - glucose และเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β (1 - 4)



รูปที่ 2-1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของไคติน (chitin)

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงไคติน (chitin) ด้วยปฏิกิริยา deacetylation ทำให้จากเดิมโมเลกุลเดี่ยวของไคตินที่เคยเป็น N - acetyl - D glucosamine กลายเป็นไคโตซานที่มี glucosamine โดยโครงสร้างของไคโตซานยังคงเป็นเส้นตรง ไคตินที่ผ่านการ deacetylated อย่างเพียงพอจะได้ไคโตซานในรูป soluble amine salts และ degree of acetylation ที่ต้องการต้องมากกว่าร้อยละ 80 ถึง 85 โดยไม่ได้กำหนดระบบเรียกชื่อของไคตินและไคโตซานที่มี degree of acetylation ต่างกัน และเนื่องจากการหายไปของหมู่ hydroxy (- OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และ 6 ทำให้ไคโตซานพร้อมที่จะเกิดปฏิกิริยากับสารอื่นได้ง่าย จึงมีการนำมาดัดแปลงโครงสร้างของไคโตซานเพื่อให้ได้มาซึ่งคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ที่ต้องการ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในทางเภสัชกรรม



รูปที่ 2-2 แสดงปฏิกิริยา deacetylation ของไคโตซาน

ขั้นตอนการผลิตโคโตซานเริ่มจากการสกัดโคตินออกจากเปลือกกุ้ง กระดองปู และแกนกลางของปลาหมึก โดยนำวัตถุดิบดังกล่าวมาบดย่อยขนาดให้เล็กลง นำไปกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) แล้วล้างด้วยน้ำ หลังจากนั้นนำไปกำจัดเกลือต่างๆ เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) และแคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) เมื่อนำไปล้างด้วยน้ำ แล้วกำจัดด้วย 0.5 เปอร์เซ็นต์ KMnO_2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ oxalic acid หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งจะได้โคติน ออกมา เมื่อโคตินถูก deacetylated ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นที่อุณหภูมิสูงจะได้โคโตซาน ออกมา

เปลือกกุ้ง กระดองปู และแกนกลางของปลาหมึก



กำจัดโปรตีน โดยใช้ 2 % w/v NaOH

อัตราส่วน เปลือกกุ้ง: สารละลาย เท่ากับ 1 : 10



กำจัดแร่ธาตุ โดยใช้ 1.25 N HCl

อัตราส่วน เปลือกกุ้ง: สารละลาย เท่ากับ 1 : 10



ฟอกสี กำจัดคาโรทีนอยด์ (carotenoids)

ใช้ acetone หรือ H_2O_2



กำจัดหมู่อะซีทิล โดยใช้ 50 % w/w NaOH

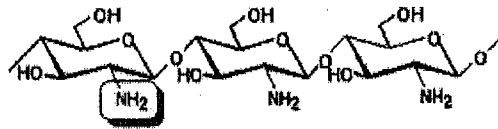
อัตราส่วน โคติน: สารละลาย เท่ากับ 1 : 15

รูปที่ 2-3 แสดงกระบวนการสกัดโคตินและโคโตซานจากเปลือกกุ้ง

ที่มา: ดัดแปลงจาก สุทรวัดมน เบญจกุล

โคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ตั้งแต่ 10,000 ถึง 1,000,000 ดาลตัน และระดับการเกิดปฏิกิริยา acetylation ตั้งแต่ร้อยละ 20 ขึ้นไป ส่วนใหญ่กรดของโคโตซานที่มีจำหน่ายในท้องตลาดประกอบด้วย glucosamine ร้อยละ 75 ถึง 95 และ N - acetylglucosamine ร้อยละ 5 ถึง 25 โคโตซานมีคุณสมบัติถูกย่อยสลายได้ในสิ่งมีชีวิต (biodegradable) เข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิต (biocompatible) ไม่เป็นพิษ (nontoxic) และไม่ระคายเคือง (nonirritant)

โคโตซานมีคุณสมบัติเป็น linear polyelectrolyte ที่เกิดปฏิกิริยากับหมู่ hydroxy (- OH) และหมู่ amino ถ้าพบหมู่อะมิโนจำนวนมาก จะทำให้โคโตซานเกิดปฏิกิริยากับระบบที่เป็นประจุลบ ทำให้ลักษณะทางเคมีฟิสิกส์ของโคโตซานเปลี่ยนแปลงได้ ในโตรเจนในโครงสร้างของโคโตซาน มักจะอยู่ในรูป aliphatic amino group ทำให้ปฏิกิริยาทั่วไปเหมือนกับ amine เช่น N - acetylation และ schiff reaction คุณสมบัติทางหน้าของโคโตซานเกือบทั้งหมดขึ้นอยู่กับความยาวของสายโพลิเมอร์ ความหนาแน่นของประจุ และการกระจายประจุ นอกจากนี้ยังมีหลายการศึกษาที่แสดงว่าการเกิดเกลือ (salt) น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) และ degree of deacetylation มีผลมากพอกับความแตกต่างของโคโตซาน



รูปที่ 2-4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน (chitosan)

ลักษณะทางกายภาพของไคโตซานคือ ไม่มีกลิ่น เป็นผงสีขาว หรือครีมสีขาว หรือเป็นเกล็ด ไคโตซาน อาจเกิดเส้นใย (fiber) ในระหว่างการตกตะกอน และดูคล้าย cottonlike ไคโตซานสามารถดูดซับความชื้นจากบรรยากาศได้ โดยปริมาณที่ดูดซับขึ้นอยู่กับความชื้นเริ่มต้นและอุณหภูมิ นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์กับความชื้นของอากาศในสิ่งแวดล้อมนั้น แม้ว่าไคโตซานจะมีคุณสมบัติ hydroscopic แต่ผงไคโตซานก็มีความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง และควรเก็บในภาชนะปิดสนิท ที่เย็นและแห้ง โดย PhEur 2002 แนะนำให้เก็บที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8 องศาเซลเซียส

ไคโตซานมีความเป็นกรดต่าง (1% w/v solution) 4.0 ถึง 6.0 และความหนาแน่น 1.35 ถึง 1.40 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ไคโตซานไม่ละลายในน้ำหรือสารละลายต่างที่มีค่า pH สูงกว่า 6.5 แต่จะละลายได้ในสารละลายกรดอินทรีย์เจือจาง เช่น acetic acid, formic acid, lactic acid, malic acid, propionic acid, succinic acid, tartaric acid และ citric acid ทำให้ได้โพลีเมอร์ที่มีประจุบวก (cationic polyamine) มีความหนาแน่นของประจุสูงที่ pH น้อยกว่า 6.5 ดังนั้นจึงสามารถเพิ่มประจุลบบริเวณผิวและ chelates metal ions นอกจากนี้ไคโตซานสามารถละลายได้บ้างในกรดอินทรีย์เจือจาง ยกเว้น phosphoric acid และ sulfuric acid

ตารางที่ 2-2 แสดงตัวทำละลายของไคตินและไคโตซาน

ตัวทำละลายของไคติน	ตัวทำละลายของไคติน
1, 2 - Chloroethanol, Sulfuric acid	Acetic acid, water
Dimethylformamide, Lithium chloride	Formic acid, water
Diethylformamide, Lithium chloride	Glutamic acid, water
Hexafluoroisopropanol	Lactic acid, water
Hexafluoroacetone sesquihydrate	

อัตราส่วนความเข้มข้นระหว่างไคโตซานและกรดจะมีผลต่อความหนืดของสารละลายที่ได้ ซึ่งแตกต่างกันในกรดแต่ละชนิด เช่น ไคโตซาน 1 ส่วน ละลายใน glacial acetic acid 1 ส่วน และน้ำ 99 ส่วน สารละลายที่ได้จะมีความหนืดมากกว่า 2,000 mPas การที่หมู่อะมิโนจะกลายเป็นประจุบวกได้ขึ้นอยู่กับกรดละลาย (RNH⁺₃) ซึ่งเป็นผลมาจาก degree of acetylation โดยการละลายจะลดลงจากการมีเกลือมากเกินไป (salting - out effect) หรือมีความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์สูงๆ ทำให้เกิดการตกตะกอนของไคโตซาน แม้ว่าการละลายของไคโตซานจะจำกัดอยู่ในสถานะที่เป็นกรด แต่ก็ได้มีการนำไคโตซานมาใช้ในทางเครื่องสำอางและทางเภสัชกรรม ซึ่งข้อดีของไคโตซานที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์คือ ความสามารถในการเกิดฟิล์มกับโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบกับโพลีเมอร์สังเคราะห์พบว่า ฟิล์มที่ได้จากไคโตซานให้ความคงทนมากกว่าแม้ในสถานะที่มีความชื้นสูง

เนื่องจากไคโตซานมีมวลโมเลกุลที่สูงและโครงสร้างโมเลกุลเป็นเส้นตรง ไม่แตกแขนง ทำให้ไคโตซานเป็นตัวให้ความหนืดที่ดีในสภาวะที่เป็นกรด ปฏิกริยาระหว่างไคโตซานกับ multivalent anion เป็นผลให้เกิด crosslinking ระหว่างโมเลกุลของไคโตซาน ร่างแหที่เกิดขึ้นสามารถเก็บน้ำได้มากกว่าร้อยละ 95 การเกิด crosslinking สามารถทำได้ในสภาวะกรด กลาง หรือต่าง ขึ้นอยู่กับวิธีการที่ใช้ ฟิสิกส์ที่เตรียมโดยการระเหยน้ำออกจากสารละลายไคโตซานจะเป็นเจลบางๆ ที่มีปริมาณน้ำน้อยกว่าเจลชนิดอื่น

ประโยชน์และการประยุกต์ใช้ไคตินและไคโตซาน

1. สารให้ความคงตัว (stabilizer)
2. สารให้ความข้นหนืด (thickener)
3. สารหุ้มเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (encapsulator)
4. การบำบัดน้ำเสีย (wastewater treatment) เพื่อตกตะกอนโปรตีนและจับโลหะหนัก
5. การป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียและราหลังการผ่าตัด (inhibit mold and bacteria)
6. การยืดอายุผักและผลไม้ (extend the shelflife of fruits and vegetables)
7. การทำให้น้ำผักและผลไม้ใส (clearing agent)
8. เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ยาฆ่าแมลง ยากำจัดศัตรูพืช
9. เป็นสารแยกสิ่งเจือปนในกระบวนการผลิตเอ็นไซม์ (enzyme) โปรตีน (protein) สำหรับงานด้านเทคโนโลยีอาหาร เทคโนโลยีชีวภาพ วิศวกรรมชีวเคมี เป็นต้น

ในปัจจุบัน มีการนำไคโตซานมาใช้ในทางเครื่องสำอางและการศึกษาจำนวนมาก สำหรับควบคุมระบบ

การนำส่งยา (controlled drug delivery) การเตรียมตำรับรูปแบบยาที่มีการยึดติด (mucoadhesive) การปลดปล่อยตัวยารวดเร็ว การย่ำงแปปไทด์ ระบบการนำส่งยาที่มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อน (colonic drug) และการนำส่งยีนส์ ไคโตซานที่นำมาใช้ในกระบวนการทางเทคโนโลยีเภสัชกรรมเพื่อเตรียมรูปแบบเจล (gel), ฟิสิกส์ (film), bead, microspher, tablet, และ coating สำหรับ liposome รวมถึงระบบนำส่งยาที่ใช้เทคนิค spray - drying, coaceration, direct compression และ conventional granulation

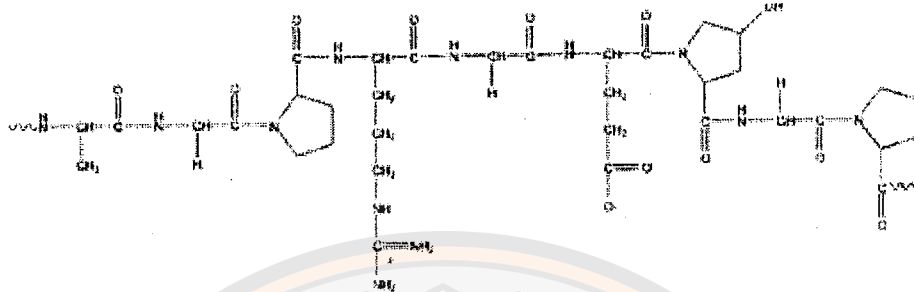
เนื่องจากไคโตซานสามารถติดไฟได้ จึงควรหลีกเลี่ยงการใช้เปลวไฟ และไคโตซานยังมีความไวต่ออุณหภูมิ จึงไม่ควรใช้ความร้อนมากเกินไป 200 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ไคโตซานอาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง ดวงตา เนื้อเยื่อ และระบบทางเดินหายใจ

ไคโตซานที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มี degree of acetylation 94 เปอร์เซ็นต์ และมีมวลโมเลกุล

290,000

เจลาติน (Gelatin)¹²

เจลาตินเป็น heterogeneous product ประกอบด้วย α , β และ γ peptides สายโปรตีน ประกอบด้วยกรดอะมิโนเกือบทั้งหมดเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอไมด์ เป็นโพลิเมอร์สายตรง น้ำหนักโมเลกุลของเจลาตินอยู่ในช่วงประมาณ 15,000 ถึง 250,000 โดยอัตราส่วนและน้ำหนักโมเลกุลขึ้นกับธรรมชาติและกระบวนการทางเคมี



รูปที่ 2-5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเจลาติน

เจลาตินเตรียมได้จากโปรตีนคอลลาเจนจากธรรมชาติ เช่น กระดูกสัตว์ หนังสัตว์ และ connective tissue ซึ่งเจลาตินที่เตรียมจากกระดูกสัตว์นั้นสามารถหาซื้อได้ทั่วไป เจลาตินมีคุณสมบัติเป็นสารก่อฟิล์มที่ดี (good film forming material) สามารถละลายเข้ากับของเหลวในร่างกาย (biocompatible) ย่อยสลายได้ในร่างกาย (biodegradable) มีความปลอดภัย และไม่เป็นพิษ

เจลาตินมีอยู่ด้วยกันสองชนิดคือ ชนิด A และชนิด B ซึ่งมีกระบวนการเตรียมและคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ในกระบวนการเตรียมเจลาตินนั้นจะใช้วิธี partial hydrolysis โดยเจลาตินชนิด A เตรียมจาก acid treated precursor และเจลาตินชนิด B เตรียมจาก alkali treated precursor

ตารางที่ 2-3 แสดงคุณสมบัติของเจลาตินชนิด A และชนิด B

คุณสมบัติ	เจลาตินชนิด A	เจลาตินชนิด B
pH (1% w/v aqueous solution T 25 °C)	3.8 – 6.0	5.0 – 7.4
isoelectric point	pH 9	pH 4.7 – 5.3
ความหนาแน่น (g / cm ³)	1.325	1.283
ประจุ	บวก	ลบ

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเจลาตินขึ้นอยู่กับ

1. แหล่งที่มาของคอลลาเจน (parent collagen) : เจลาตินที่ทำจากกระดูกสัตว์จะให้ฟิล์มที่แข็งเปราะง่าย สีทึบเนื่องจากมีสาร calcium phosphate ส่วนเจลาตินที่ทำจากหนังหมูจะมีลักษณะใสและมีความยืดหยุ่น
2. วิธีการสกัด (method of extraction)
3. ความเป็นกรดต่าง (pH)
4. การสลายด้วยความร้อน (thermal degradation)
5. จำนวนอิเล็กโตรไลต์ที่มีอยู่

ลักษณะทางกายภาพของเจลาตินมีสีอำพันใส หรือสีเหลืองอ่อน เป็นของแข็งเปราะ ไม่มีกลิ่น ไม่มีรสชาติ สามารถนำไปใช้ได้ทั้งรูปแบบผง หรือเกรนูล หรือแผ่นใสโปร่ง (translucent sheet) เจลาตินจะดูดความชื้นร้อยละ 9 ถึง 11 และมีความหนืดอยู่ในช่วง 4.3 ถึง 4.7 millipoise (6.67% w/v aqueous solution ที่อุณหภูมิ 60 °C) และอยู่ในช่วง 18.5 ถึง 20.5 millipoise (12.5% w/v aqueous solution ที่อุณหภูมิ 60 °C)

เมื่อละลายเจลาตินในน้ำ หรือน้ำและกลีเซอรอล แล้วจะสามารถเกิดสภาวะที่ผันกลับของเจลาตินจากสารละลายเป็นเจล (reversible phase change from a sol to a gel) เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งง่ายต่อการนำมาเตรียม เมื่อเทียบกับสารก่อฟิล์มอื่น เนื่องจากสารก่อฟิล์มบางชนิดต้องใช้สารละลายอินทรีย์ที่มีความดันไอต่ำ (volatile organic solvent) หรือมีช่วงอุณหภูมิของการเปลี่ยนสภาพจากสารละลายเป็นเจลที่กว้างกว่าเจลาตินมาก

ผงเจลาตินจะคงตัวในอากาศ ถ้าเตรียมให้อยู่ในรูปสารละลายจะมีความคงตัวเป็นระยะเวลาสั้น เมื่อเก็บไว้ในที่เย็นและปราศจากเชื้อ ที่อุณหภูมิมากกว่า 50 องศาเซลเซียส สารละลายเจลาตินจะเกิด depolymerization และ reduction ใน gel strength ซึ่งปฏิกิริยา depolymerization จะเกิดเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิมากกว่า 65 องศาเซลเซียส และ gel strength จะลดลงครึ่งหนึ่งเมื่อให้ความร้อนถึง 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยอัตราและปริมาณการเกิด depolymerization ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของเจลาติน

เนื่องจากเจลาตินเป็น amphoteric material ที่ทำปฏิกิริยาได้ทั้งกรดและด่าง และยังเป็นโปรตีนที่ยับยั้งคุณสมบัติบางชนิดและทำปฏิกิริยากับ aldehydes, aldehydic sugar, anionic และ cationic polymer, electrolytes, metal ion, plasticizers, preservative และ surfactants นอกจากนี้เจลาตินยังตกตะกอนใน alcohol, chloroform, ether, mercury salts และ tannic acid

เจลาตินถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการตั้งตำรับยาเตรียมโดยเฉพาะในรูปเจลาตินแคปซูลชนิดแข็ง และเจลาตินแคปซูลชนิดอ่อน ซึ่งเป็นรูปแบบยาเตรียมหนึ่งหน่วยบรรจุตัวรับประทาน แม้ว่าเจลาตินจะมีสามารถละลายในน้ำเย็นได้ แต่เจลาตินแคปซูลจะพองตัวในกระเพาะอาหาร และปลดปล่อยตัวยาออกมาอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้เจลาตินยังถูกนำมาใช้ในการเตรียมแบบ microencapsulation โดยตัวยาคจะถูกใส่ไว้ในแคปซูลขนาดเล็กระดับไมโครเมตร ซึ่งตัวยาคตัวแรกที่เตรียมคือ น้ำมันปลา และวิตามินที่ละลายในไขมัน เนื่องจากเจลาตินมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถให้เพิ่มการละลายของยา และเป็นสารเพิ่มความหนืดในยาเตรียมรูปแบบสารละลายและยาเตรียมรูปแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลว ส่วนยาเตรียมในรูปแบบยาเม็ดก็มีการนำเจลาตินมาใช้เป็นสารเคลือบและสารช่วยยึดเกาะ

เจลาตินที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ เจลาติน เอ ที่ได้จากผิวหนังของหมู มีค่า bloom strength 250 กรัม Lot. No. 48724 จากบริษัท Fluka Biochemika

กลีเซอริน (Glycerin)¹³

กลีเซอรินมีน้ำหนักโมเลกุล 92.09 และมีสูตรโครงสร้างเป็น $C_3H_8O_3$ ลักษณะทางกายภาพของกลีเซอรินเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีความหวานประมาณ 0.6 เท่าของ sucrose มีความหนืด และดูดความชื้น

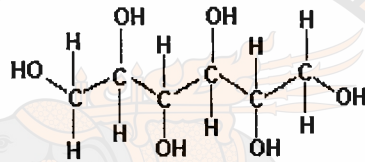
กลีเซอรินถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในยาเตรียมรูปแบบรับประทานจะใช้กลีเซอรินเป็นตัวทำละลาย (solvent) สารให้ความหวาน (sweetening agent) สารเพิ่มความหนืด สารกันบูดที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial preservative) plasticizers และ film coating ยาที่ใช้ภายนอก (ผิวหนัง) และเครื่องสำอาง จะใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติของกลีเซอรินคือ เป็นสารดูดความชื้น (humectant) และสารทำให้นุ่มหรือบรรเทาอาการระคายเคือง

(emollient) และยาชนิดมักใช้กลีเซอรินเป็นตัวทำละลาย ในยาใช้เฉพาะที่ เช่น ยาตา กลีเซอรินใช้เพื่อลดความตึงในลูกตา นอกจากนี้กลีเซอรินยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากมีความปลอดภัย ไม่ระคายเคืองและไม่เป็นพิษ

ซอร์บิทอล (Sorbitol)¹⁴

ซอร์บิทอลเป็น isomer ของแมนนิทอล (mannitol) มีลักษณะเป็นผลึก หรือแกรนูลสีขาว มีรสหวาน และให้ความรู้สึกเย็นในปาก (negative heat of solution) มีความหวานประมาณร้อยละ 50 ถึง 60 ของซูโครส (sucrose)

ซอร์บิทอลถูกนำมาประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรมอย่างกว้างขวาง เป็นสารเพิ่มปริมาณในตำรับยาเม็ด ทั้งในวิธีการทำแกรนูลเปียก และวิธีตอกอัดโดยตรง นิยมใช้ในยาเม็ดอมหรือขบเคี้ยว โดยเฉพาะยาเม็ดที่ไม่ต้องการน้ำตาล แต่ในตำรับยาแคปซูลจะใช้เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ซอร์บิทอลในรูปแบบของเหลวจะนำมาใช้เป็นกระสายยาในตำรับที่มีน้ำตาล ช่วยเพิ่มความคงตัวของยา วิตามิน และยาลดกรดในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน ในเภสัชตำรับรูปแบบยาน้ำเชื่อมจะมีประสิทธิภาพในการป้องกัน หรือการเกิดผลึกรอบๆ ฝาขวด นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ในยาเตรียมรูปแบบยาชนิดและยาใช้เฉพาะที่ ในการรักษาจะใช้เป็น osmotic laxative



รูปที่ 2-6 แสดงโครงสร้างของซอร์บิทอล

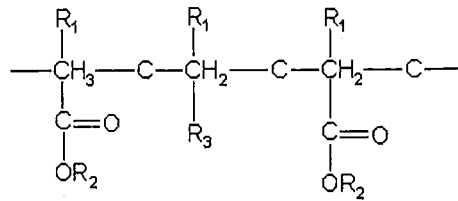
ซอร์บิทอลจะทำปฏิกิริยากับโลหะหนักที่มีประจุ 2+ และ 3+ ในสภาวะกรดแก่และต่างแก่ การเติม polyethylene glycol ที่เป็นของเหลวลงในสารละลายซอร์บิทอล จะได้เจลละลายน้ำที่มีลักษณะเป็นไขแข็ง โดยมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 35 ถึง 40 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ซอร์บิทอลยังทำปฏิกิริยากับ ion oxide กลายเป็นสารไม่มีสี และสามารถเพิ่มอัตราการเสื่อมสลายของยา penicillins ในสารละลายที่มีภาวะเป็นกลาง

ซอร์บิทอลเป็นสารที่มีความเฉื่อยและเข้ากันได้กับสารส่วนใหญ่ มีความคงตัวในอากาศที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยาและในที่เย็น ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และไม่ระเหย แม้ซอร์บิทอลจะทนต่อการหมักของจุลินทรีย์ แต่เมื่ออยู่ในรูปสารละลายควรมีการเติมสารทนอม เนื่องจากซอร์บิทอลสามารถดูดความชื้นได้ จึงควรเก็บในภาชนะปิดสนิทในที่แห้งและเย็น โดยภาชนะที่เก็บรักษาเป็นแก้ว พลาสติก อะลูมิเนียม หรือ stainless steel

Polymethacrylate (Eudragit®)¹⁵

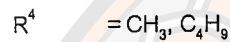
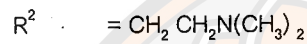
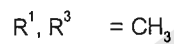
polymethacrylate มีสูตรอย่างง่ายคือ $C_5H_8O_2$ น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 100.13 เป็นโพลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีประจุบวกและประจุลบของ dimethacrylic acid ester ในอัตราส่วนที่ต่างกัน จึงสามารถเป็นสารละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ของแข็ง และกระจายตัวในน้ำ โดย อัตราส่วนของ acetone ต่อ propan - 2 - ol

(60 : 40) เป็นสารละลายอินทรีย์ที่ใช้มากที่สุด นอกจากชนิดของ Eudragit[®] ที่ต่างกันจะละลายได้ในค่า pH ที่แตกต่างกัน

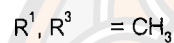


รูปที่ 2-7 แสดงสูตรโครงสร้างของ Polymethacrylate

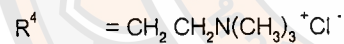
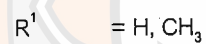
For Eudragit[®] E:



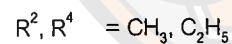
For Eudragit[®] L and Eudragit[®] S:



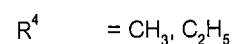
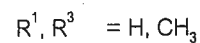
For Eudragit[®] RL and Eudragit[®] RS:



For Eudragit[®] NE 30 D



For Eudragit[®] L 30 D – 55 and Eudragit[®] L 100 – 55, Eastacryl 30 D, Kollicoat MAE 30 D and Kollicoat MAE 30 DP:



Polymethacrylate มีการนำไปใช้ทางเภสัชกรรมและเทคโนโลยี เริ่มแรกนำไปใช้เป็นสารเคลือบ (film-coating agent) ในการเตรียมยาแคปซูลสำหรับรับประทาน ซึ่งความสามารถในการละลายของฟิล์มจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของโพลีเมอร์ที่ใช้ นอกจากนี้ polymethacrylate ยังทำหน้าที่เป็นสารก่อฟิล์ม (film formation) สารยึดเกาะ (tablet binder) และสารเพิ่มปริมาณในยาเม็ด (tablet diluent)

Eudragit® E เป็นโพลิเมอร์ที่มีประจุบวก โดยขึ้นอยู่กับ dimethyl asminoethyl methacrylate และ methacrylic acid ester ที่เป็นกลางตัวอื่นๆ สามารถละลายได้ในของเหลวในกระเพาะอาหาร (gastric fluid) pH ต่ำกว่า 5 ได้ดีเท่ากับสารละลายบัฟเฟอร์ที่เป็นกรดอ่อน เนื่องจากมีหมู่อะมิโน (basic group) ที่เกิดปฏิกิริยากับกรดเกิดเป็นเกลือที่ละลายน้ำได้ แต่เมื่อน้ำย่อยในกระเพาะอาหารมี pH สูงขึ้นเกิน 5 ซึ่งมีสาเหตุมาจากอาหารที่รับประทานเข้าไปหรือน้ำย่อยหลังออกมาน้อยลง ยาเม็ดที่เคลือบด้วยสารนี้จะแตกตัวเนื่องจากแผ่นฟิล์มยอมให้น้ำซึมผ่านยาเม็ดแกนเกิดการพองตัวดันให้แผ่นฟิล์มแตกออก Eudragit® E ที่นำมาใช้ในรูปสารละลายพร้อมใช้ (ready - to - use solution) ร้อยละ 12.5 ใน propane - 2 - ol - acetone อัตราส่วน 60 ต่อ 40 มีสีเหลืองอ่อน และมีกลิ่นของตัวทำละลาย แกรนูลที่ยังไม่มีตัวทำละลายจะมี Eudragit E ประมาณร้อยละ 98 ของน้ำหนักแห้ง

Eudragit® L และ Eudragit® S เป็นผลิตภัณฑ์ copolymer ที่มีประจุลบของ methacrylic acid และ methyl methacrylate อัตราส่วนของหมู่ carboxyl ต่อ ester ใน Eudragit® L และ Eudragit® S ประมาณ 1 : 1 และ 1 : 2 ตามลำดับ โพลิเมอร์ทั้งสองชนิดสามารถละลายได้ในภาวะที่เป็นกลางจนถึงเบสอ่อน โดย Eudragit® L และ Eudragit® S ละลายได้ใน pH มากกว่า 6 และ 7 ตามลำดับ และเกิดเกลือในสภาวะที่เป็นเบส จึงใช้เป็นสารก่อฟิล์มที่ทนต่อกรด (enteric coating agent) แต่สามารถละลายในของเหลวในลำไส้เล็ก (intestinal fluid) สำหรับลักษณะการนำไปใช้นั้น Eudragit® L จะใช้เป็นสารละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ของแข็ง และกระจายตัวในน้ำ ส่วน Eudragit® S จะใช้ในรูปสารละลายในตัวทำละลายอินทรีย์และของแข็ง รูปแบบที่นำมาใช้คือ สารละลาย ซึ่งทั้ง Eudragit® L และ S มีความเข้มข้นร้อยละ 12.5 ใน propan - 2 - ol โดยไม่ใช้สารเพิ่มความยืดหยุ่น (plasticizer) และในรูปสารละลายพร้อมใช้ (ready - to - use solution) ร้อยละ 12.5 ใน propan - 2 - ol ที่มี dibutyl phthalate เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ร้อยละ 12.5 (Eudragit® L 12.5 P และ S 12.5 P) สารละลายไม่มีสีและมีกลิ่นของตัวทำละลาย Eudragit® L - 100 และ Eudragit® S - 100 เป็นผงสีขาวที่มีการไหลอิสระอย่างน้อยร้อยละ 95 ของโพลิเมอร์แห้ง

Eudragit® RL และ Eudragit® RS เป็น copolymer ที่สังเคราะห์จาก acrylic acid และ methacrylic acid ester โดย Eudragit® RL ชนิด A และ Eudragit® RS ชนิด B มีหมู่ quaternary ammonium ร้อยละ 10 และ ร้อยละ 5 ตามลำดับ โดยมีหมู่ ammonium อยู่ในรูปของเกลือ โพลิเมอร์ทั้งสองชนิดนี้ไม่ละลายในน้ำและอัตราการแพร่ผ่านเพิ่มขึ้นได้โดยไม่ขึ้นกับ pH โดยฟิล์มที่เตรียมจาก Eudragit® RS จะมีอัตราการแพร่ผ่านของน้ำได้เล็กน้อย สำหรับรูปแบบที่นำมาใช้เป็นสารละลายพร้อมใช้ (ready - to - use solution) ร้อยละ 12.5 ใน propan - 2 - ol - acetone (60 : 40) สารละลายไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อน อาจใสหรือขุ่นเล็กน้อยและมีกลิ่นของตัวทำละลาย แกรนูลที่ไม่มีตัวทำละลาย (Eudragit® RL 100 และ RS 100) มีปริมาณของโพลิเมอร์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 97 ของน้ำหนักแห้ง

Eudragit® NE 30 D เป็นโพลิเมอร์ของ polymethacrylic acid ที่กระจายตัวในน้ำที่เป็นกลาง และให้ของเหลวที่มีสีขาวคัลลายนม มีความหนืดต่ำและมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ของ aromatic ฟิล์มที่เตรียมจาก lacquer ที่พองตัวในน้ำจะไม่ละลายในน้ำ แต่ยอมให้น้ำแพร่ผ่านได้และปลดปล่อยตัวยาโดยไม่ขึ้นกับ pH

Eudragit® RL, RS และ NE 30 D ใช้ในการก่อฟิล์มที่ไม่ละลายในน้ำสำหรับยาออกฤทธิ์เนิ่น (sustained - release) ฟิล์มของ Eudragit® RL สามารถย่อยสลายให้น้ำผ่านได้มากกว่า Eudragit® RS ซึ่งฟิล์มที่มีคุณสมบัติยอมให้น้ำผ่านมักเกิดจากการผสมสารทั้งสองชนิดพร้อมกัน

Eudragit® L 30 D – 55 เป็น copolymer ที่มีประจุลบ ขึ้นอยู่กับ methacrylic acid และ ethyl acetate ซึ่งกระจายตัวได้ในน้ำ ซึ่งเป็น copolymer ที่เหมือนกับ methacrylic acid copolymer ชนิด C โดยอัตราส่วนของหมู่ carboxyl ต่อหมู่ ester คือ 1 : 1 พิล์มที่เตรียมจะละลายใน pH มากกว่า 5.5 เกิดเป็นเกล็ดในสภาวะต่าง ดังนั้นฟิล์มจึงไม่ละลายในกระเพาะอาหารที่มีสภาวะกรด แต่จะละลายในลำไส้เล็ก จึงนำมาใช้เป็นสารก้อฟิล์มเพื่อควบคุมให้ตัวยาลำคัญปลดปล่อยออกมาเฉพาะที่ลำไส้ (enteric coating)

Eastacryl 30 D, Kollicoat MAE 30 D และ Kollicoat MAE 30 DP เป็น copolymer ประจุลบ ขึ้นอยู่กับ methacrylic acid และ ethyl acrylate กระจายตัวในน้ำคล้ายกับ methacrylic acid copolymer ชนิด C โดยอัตราส่วนของหมู่ carboxyl ต่อหมู่ ester คือ 1 : 1 พิล์มที่เตรียมจะละลายใน pH มากกว่า 5.5 เกิดเป็นเกล็ดในสภาวะต่าง จึงนำมาใช้เป็นสารก้อฟิล์มเพื่อควบคุมให้ตัวยาลำคัญปลดปล่อยออกมาเฉพาะที่ลำไส้ (enteric coating) เท่านั้น

Eudragit® L 100 – 55 เตรียมได้จาก Eudragit® L 30 D – 55 ที่ถูกสเปรย์ให้แห้ง มีลักษณะเป็นผงสีขาวที่มีการไหลลอยอากาศและกระจายตัวกลับในน้ำได้เกิดเป็นยาง (latex) ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ Eudragit® L30 D – 55 Eudragit® L 100 – 55 เป็นอีกทางเลือกของการใช้ Eudragit L 30 D – 55 ในรูปแบบ redispersible powder

สำหรับ Eudragit® ที่เลือกใช้ในการศึกษาคั้งนี้เป็น Eudragit® ชนิด L 100 Lot. No. 1281003102 จากบริษัท Pharma polymer

กรดอะซิติก (Acetic acid)¹⁶

มีสูตรอย่างง่าย คือ $C_2H_4O_2$ และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 60.05

กรดอะซิติกมีลักษณะเป็นมวลผลึก (crystalline mass) หรือสารละลายใส ไม่มีสี ระเหยได้ มีกลิ่นฉุนแหลมแสบจมูก กรดอะซิติกสามารถละลายและเข้ากันได้กับ น้ำ, ethanol, ether, glycerin, fixed หรือ volatile oil แต่ไม่สามารถเข้ากันได้ในส่วนที่เป็นต่าง สำหรับการเก็บรักษากรดอะซิติก ควรเก็บไว้ในที่แห้งและในภาชนะปิดสนิท

คุณสมบัติทั่วไปของกรดอะซิติก มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียสและจุดเดือดที่อุณหภูมิ 118 องศาเซลเซียส สำหรับจุดที่ทำให้เกิดประกายไฟในสภาวะปิดและเปิด คือที่อุณหภูมิ 39 และ 57 องศาเซลเซียส ตามลำดับ กรดอะซิติกมีค่าคงที่ของการแตกตัว (pKa) เท่ากับ 4.76 และความเป็นกรดต่างที่ pH 2.4 (1 M aqueous solution), pH 2.9 (0.1 M aqueous solution) และ pH 3.4 (0.011 M aqueous solution) Refractive Index K^{24}_D เท่ากับ 1.3718 มีความถ่วงจำเพาะคือ 1.045

กรดอะซิติกมีหน้าที่เป็น acidifying agent มีการนำไปใช้เป็นระบบบัฟเฟอร์ร่วมกับ acetate salt เช่น sodium acetate ในผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม นอกจากนี้กรดอะซิติกยังเป็นสารองค์ประกอบที่ไม่ออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ยาแบบฉีด ยาสำหรับใช้ทางจมูก ยาตา และยาขับประทาน

มีการกล่าวอ้างว่ากรดอะซิติกสามารถเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial) และสารต้านเชื้อรา (antifungal) ได้ สารละลายกรดอะซิติกเจือจางที่ประกอบด้วยกรดอะซิติกร้อยละ 10 (w/w) เคยใช้ทางผิวหนังหลังถูกแมงกระพรุนกัด และกรดอะซิติกร้อยละ 5 (w/w) สามารถประยุกต์ใช้ทางผิวหนังเพื่อรักษาแผลไหม้ (burn infected) จากการติดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

เนื่องจากกรดอะซิติกมีการใช้อย่างกว้างขวางในทางเภสัชกรรม การนำมาเพื่อปรับความเป็นกรดต่างของตำรับ ต้องพิจารณาถึงความไม่มีพิษและการระคายเคือง อย่างไรก็ตาม glacial acetic acid หรือสารละลายที่มีส่วนประกอบของกรดอะซิติกมากกว่าร้อยละ 50 (w/w) ในน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ อาจเกิดการกัดกร่อน (corrosive) และทำลายผิวหนัง ตา จมูก และปากได้ หากกลืนเข้าไปอาจเกิดการระคายเคืองกระเพาะอาหารอย่างรุนแรง คล้ายกับการกลืนกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) หากเกิดการกระเด็นของกรดควรล้างด้วยน้ำสะอาดปริมาณมาก

มีรายงาน lethal dose ต่ำสุดของกรดอะซิติก จากการรับประทานในมนุษย์คือ 1,470 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ lethal concentration ต่ำสุดจากการหายใจในมนุษย์คือ 816 ppm อย่างไรก็ตามมีการประมาณว่าปกติคนที่ได้รับกรดอะซิติกจากอาหารประมาณ 1 กรัมต่อวันอยู่แล้ว



บทที่ 3

วิธีการที่ใช้ในการศึกษา

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. เปลือกผลมังคุด
2. Chitosan
3. Gelatin type A
4. Glycerin
5. Sorbitol
6. NaCl
7. สารดูดความชื้น
8. น้ำกลั่น

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. บีกเกอร์ขนาด 5, 10, 50, 100, 250, 600 มิลลิลิตร
2. กระบอกตวงขนาด 10, 25, 50 มิลลิลิตร
3. Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร
4. Petri dish
5. ขวดแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร
6. Magnetic stirrer and magnetic bar
7. กระบอกฉีดของเหลว (syringe)
8. แท่งแก้ว
9. ช้อนชา
10. ปิเปตและจุกยาง
11. ไมโครปิเปต
12. หลอดหยด
13. Descicator
14. TLC plate
15. เครื่องระเหยแห้งโรตารีสุญญากาศ ประกอบด้วย
 - 15.1.1.1 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water evaporator,
 - 15.1.1.2 เครื่องดูดของเหลวออกจากโพรง (aspirator model
 - 15.1.1.3 เครื่องทำความเย็น



สำนักหอสมุด
สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ

T
W4
91369
2548

16. เครื่องวัดความยืดหยุ่น (Instron Series 3342 Single Column Table Top Load Frames)
17. เครื่องวัดความหนา (Micrometer : Meditop limited, Thailand)
18. เครื่องชั่งหาความชื้น (SARTORIUS MA 30)
19. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (7 / 37 – 5103 – 20 (11), mettler, ดีทีแฮร์ส)
20. Hot plate (9 / 38 – 4104 – 30 – 1 (3460 – 002 – 044), เวิลด์โก้)
21. ตู้อบเครื่องแก้ว ใช้อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส (14 / 38 – 4307 – 21 – 19, แบบไทย)

การเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด

1. การเตรียมสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 2 % (w/v)

- 1.1 ชั่งผงโคโตซาน 2.00 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 1.2 เตรียมสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยตวงกรดอะซิติกเข้มข้นมา 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
- 1.3 เตรียมสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ในกรด โดยละลายผงโคโตซานในสารละลายกรดที่เตรียมได้ 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์
- 1.4 ใช้ magnetic stirrer คนจนกระทั่งโคโตซานละลายหมดเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เวลาน้อยประมาณ 30 นาที
- 1.5 เก็บสารละลายโคโตซานที่ได้ปิดด้วยแผ่นอะลูมิเนียม นำไปแช่ในตู้เย็น รอจนฟองอากาศหมด

2. การเตรียมสารช่วยในการก่อฟิล์ม

เนื่องจากฟิล์มที่เตรียมจากสารละลายโคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เพียงอย่างเดียวให้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติไม่ดีนัก จึงพิจารณาเติมสารช่วยก่อฟิล์มเข้าไปในตำรับ โดยเลือกเจลาติน ชนิด A ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ของตำรับ จากเจลาติน ชนิด A ความเข้มข้นร้อยละ 4 (4% gelatin A gel)

การเตรียมสารละลายเจลาติน ชนิด A ความเข้มข้น 4% w / v

- 2.1 ตวงน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จนกระทั่งน้ำเดือด
- 2.2 ชั่งเจลาติน ชนิด A 4.00 กรัม โปรยลงในน้ำกลั่นดังกล่าว
- 2.3 ใช้ magnetic stirrer คนให้เจลาตินละลายจนกระทั่งได้สารละลายใส
- 2.4 ปรับปริมาตรด้วยน้ำเย็น จนครบ 100 มิลลิลิตร รอจนกระทั่งสารละลายเย็นตัว

การคำนวณเจลาติน ชนิด A ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 น้ำหนักต่อปริมาตรของตำรับ จากความเข้มข้นร้อยละ 4 (4% gelatin A gel) โดยในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด 15 มิลลิลิตร

1) เจลาตินชนิด A ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีเจลาติน A	0.5 กรัม
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีเจลาติน A	$\frac{15 \times 0.5}{100} = 0.075$ กรัม

เจลาติน A	4 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	100 มิลลิลิตร
ถ้าเจลาติน A	0.075 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	$\frac{0.075 \times 100}{4} = 1.875$ มิลลิลิตร

2) เจลาตินชนิด A ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีเจลาติน A	1 กรัม
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีเจลาติน A	$\frac{15 \times 1}{100} = 0.15$ กรัม

เจลาติน A	4 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	100 มิลลิลิตร
ถ้าเจลาติน A	0.150 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	$\frac{0.15 \times 100}{4} = 3.75$ มิลลิลิตร

3) เจลาตินชนิด A ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีเจลาติน A	1.5 กรัม
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีเจลาติน A	$\frac{15 \times 1.5}{100} = 0.225$ กรัม

เจลาติน A	4 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	100 มิลลิลิตร
ถ้าเจลาติน A	0.225 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	$\frac{0.225 \times 100}{4} = 5.625$ มิลลิลิตร

4) เจลาตินชนิด A ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีเจลาติน A	2.0 กรัม
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีเจลาติน A	$\frac{15 \times 2.0}{100} = 0.30$ กรัม

เจลาติน A	4 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	100 มิลลิลิตร
ถ้าเจลาติน A	0.30 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	$\frac{0.30 \times 100}{4} = 7.5$ มิลลิลิตร

3. การพัฒนาสูตรตำรับโดยใช้สารเพิ่มความยืดหยุ่น

สารเพิ่มความยืดหยุ่น (plasticizers) ในตำรับที่นำมาทดลองประกอบด้วย sorbitol, glycerin, propylene glycol และ polyethylene glycol 400 โดยความเข้มข้นที่ทดลองคือ ร้อยละ 2, 4 และ 6 ปริมาตรต่อปริมาตรของตำรับ

การคำนวณหาปริมาณของสารเพิ่มความยืดหยุ่นในตำรับที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยในแต่ละตำรับมีปริมาตรทั้งหมด 15 มิลลิลิตร

1) สารเพิ่มความยึดหยุ่นร้อยละ 2 ของตำรับ

สารละลาย 100 ปริมาตร	ใช้สารเพิ่มความยึดหยุ่น	2	ปริมาตร
สารละลาย 15 ปริมาตร	ใช้สารเพิ่มความยึดหยุ่น	$\frac{2 \times 15}{100}$	= 0.3 ปริมาตร

2) สารเพิ่มความยึดหยุ่นร้อยละ 4 ของตำรับ

สารละลาย 100 ปริมาตร	ใช้สารเพิ่มความยึดหยุ่น	4	ปริมาตร
สารละลาย 15 ปริมาตร	ใช้สารเพิ่มความยึดหยุ่น	$\frac{4 \times 15}{100}$	= 0.6 ปริมาตร

3) สารเพิ่มความยึดหยุ่นร้อยละ 6 ของตำรับ

สารละลาย 100 ปริมาตร	ใช้สารเพิ่มความยึดหยุ่น	6	ปริมาตร
สารละลาย 15 ปริมาตร	ใช้สารเพิ่มความยึดหยุ่น	$\frac{6 \times 15}{100}$	= 0.9 ปริมาตร

4. วิธีการเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด

4.1 เตรียมสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 2% w / v

4.2 เตรียมสารละลายเจลาติน A ความเข้มข้น 4% w / v

4.3 เตรียมสารเพิ่มความยึดหยุ่นที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 ของตำรับ

4.4 ผสมส่วนประกอบต่างๆ ในแต่ละตำรับตามที่คำนวณไว้ให้เข้ากัน โดยเรียงลำดับขั้นตอนการใส่สาร คือ เจลาติน A สารเพิ่มความยึดหยุ่น และโคโตซาน โดยร้อยละของโคโตซานในแต่ละตำรับคำนวณจากสมการ

ร้อยละโคโตซาน (ปริมาตรต่อปริมาตร)

$$= \frac{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาตินเอ} + \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยึดหยุ่น}]}{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)}} \times 100$$

4.5 เทลงบนเพลท (petri dish) โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ เนื่องจากอาจทำให้แผ่นแปะที่ได้ไม่มีความทนทาน ขาดง่าย และดูไม่สวยงาม

4.6 นำเข้าตู้อบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส โดยแง้มฝา plate ไว้ เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง

4.7 หลังจากฟิล์มแห้งดีแล้ว ทำการลอกฟิล์มออกจากเพลท ระวังอย่าให้ฟิล์มขาด

4.8 นำฟิล์มที่ได้หุ้มด้วยพลาสติก และเก็บใน desiccator ที่แห้งเพื่อป้องกันความชื้น

4.9 นำฟิล์มไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ

การเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และกลีเซอริน

1. เตรียมสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้น 2% w / v

2. เตรียมสารละลายเจลาติน A ความเข้มข้น 4% w / v

3. เตรียมกลีเซอรินที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 ของตำรับ

4. ผสมส่วนประกอบต่างๆ ในแต่ละตำรับตามที่คำนวณไว้ให้เข้ากัน โดยเรียงลำดับขั้นตอนการใส่สาร คือ เจลาติน A กลีเซอริน และไคโตซาน

5. เทลงบนเพลท (petri dish) โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ เนื่องจากอาจทำให้ฟิล์มที่ได้ไม่มีความหนาแน่น ขาดง่าย และดูไม่สวยงาม

6. นำไปเข้าตู้อบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส โดยแง้มฝา plate ไว้ เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง

7. หลังจากที่ได้ฟิล์มแห้งดีแล้ว ทำการลอกฟิล์มออกจากเพลท ระวังอย่าให้ฟิล์มขาด

8. นำฟิล์มที่ได้หุ้มด้วยพลาสติก และเก็บใน desiccator ที่แห้งเพื่อป้องกันความชื้น

9. นำฟิล์มไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ

การคำนวณปริมาณกลีเซอรินที่ใช้

1) กลีเซอริน ความเข้มข้นร้อยละ 2 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีกลีเซอริน	2	มิลลิลิตร	
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีกลีเซอริน	$\frac{15 \times 2}{100}$	=	0.3 มิลลิลิตร

2) กลีเซอริน ความเข้มข้นร้อยละ 4 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีกลีเซอริน	4	มิลลิลิตร	
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีกลีเซอริน	$\frac{15 \times 4}{100}$	=	0.6 มิลลิลิตร

3) กลีเซอริน ความเข้มข้นร้อยละ 6 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีกลีเซอริน	6	มิลลิลิตร	
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีกลีเซอริน	$\frac{15 \times 6}{100}$	=	0.9 มิลลิลิตร

การคำนวณปริมาณสารละลายไคโตซานที่ใช้

$$\text{ปริมาตรของ 2\% w/v chitosan (ml)} = \frac{\text{ปริมาตรทั้งหมดของตำรับ (ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาติน A (ml)} + \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยืดหยุ่น (ml)}]}{2}$$

โดยร้อยละของไคโตซานในแต่ละตำรับคำนวณจากสมการ

ร้อยละไคโตซาน

$$= \frac{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาตินเอ} + \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยืดหยุ่น}]}{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)}} \times 100$$

ตารางที่ 3 -1 แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และกลีเซอริน

ตำรับที่	% w/v ในตำรับของ 4% w/v gelatin A	% v/v ในตำรับของ glycerin	% v/v ในตำรับของ 2% w/v chitosan
1	0.5	2	85.5
2	0.5	4	83.5
3	0.5	6	81.5
4	1	2	73
5	1	4	71
6	1	6	69
7	1.5	2	60.5
8	1.5	4	58.5
9	1.5	6	56.5
10	2	2	48
11	2	4	46
12	2	6	44

ตารางที่ 3 -2 แสดงปริมาณสารในสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และกลีเซอริน

ตำรับ	ปริมาตรของ 4% gelatin A (ml)	ปริมาตรของ glycerin (ml)	ปริมาตรของ 2% chitosan (ml)	ปริมาตรสุดท้าย (ml)
A _{0.5} G ₂ C _{85.5}	1.875	0.3	12.825	15
A _{0.5} G ₄ C _{83.5}	1.875	0.6	12.525	15
A _{0.5} G ₆ C _{81.5}	1.875	0.9	12.225	15
A ₁ G ₂ C ₇₃	3.75	0.3	10.95	15
A ₁ G ₄ C ₇₁	3.75	0.6	10.65	15
A ₁ G ₆ C ₆₉	3.75	0.9	10.35	15
A _{1.5} G ₂ C _{60.5}	5.625	0.3	9.075	15
A _{1.5} G ₄ C _{58.5}	5.625	0.6	8.775	15
A _{1.5} G ₆ C _{56.5}	5.625	0.9	8.475	15
A ₂ G ₂ C ₄₈	7.5	0.3	7.2	15
A ₂ G ₄ C ₄₆	7.5	0.6	6.9	15
A ₂ G ₆ C ₄₄	7.5	0.9	6.6	15

กำหนดให้ A = 4% w/v gelatin A G = glycerin C = 2% w/v chitosan
 ปริมาตรทั้งหมดในตำรับเท่ากับ 15 มิลลิลิตรต่อแผ่น

การเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโคซาน เจลาติน และชอร์บิทอล

1. เตรียมสารละลายโคโคซาน ความเข้มข้น 2% w / v
2. เตรียมสารละลายเจลาติน A ความเข้มข้น 4% w / v
3. เตรียมชอร์บิทอล ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 ของตำรับ จากความเข้มข้น 70% w/v
 - 3.1 ตวงน้ำกลั่นปริมาตร 70 มิลลิลิตร
 - 3.2 ชั่งชอร์บิทอล 70 กรัม โปรยลงในน้ำกลั่น
 - 3.3 ใช้ magnetic stirrer คนจนกระทั่งละลายหมด
 - 3.4 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร
4. ผสมส่วนประกอบต่างๆ ในแต่ละตำรับตามที่คำนวณไว้ให้เข้ากัน โดยเรียงลำดับขั้นตอนการใส่สารคือ เจลาติน A ชอร์บิทอล และโคโคซาน
5. เทลงบนเพลท (petri dish) โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ เนื่องจากอาจทำให้ฟิล์มที่ได้ไม่มีความทนทาน ขาดง่าย และดูไม่สวยงาม
6. นำไปเข้าตู้อบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส โดยแง้มฝา plate ไว้ เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง
7. หลังจากที่ได้ฟิล์มแห้งดีแล้ว ทำการลอกฟิล์มออกจากเพลท ระวังอย่าให้ฟิล์มขาด
8. นำฟิล์มที่ได้หุ้มด้วยพลาสติก และเก็บใน desiccator ที่แห้งเพื่อป้องกันความชื้น
9. นำฟิล์มไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ

การคำนวณปริมาณชอร์บิทอลที่ใช้

1) ชอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 2 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีชอร์บิทอล	2	มิลลิลิตร	
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีชอร์บิทอล	$\frac{15 \times 2}{100}$	=	0.3 มิลลิลิตร
ชอร์บิทอล	70 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	100 มิลลิลิตร		
ถ้าชอร์บิทอล	0.3 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	$\frac{0.3 \times 100}{70}$	=	0.428 มิลลิลิตร

2) ชอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 4 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีชอร์บิทอล	4	มิลลิลิตร	
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีชอร์บิทอล	$\frac{15 \times 4}{100}$	=	0.6 มิลลิลิตร
ชอร์บิทอล	70 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	100 มิลลิลิตร		
ถ้าชอร์บิทอล	0.6 กรัม	อยู่ในสารละลายปริมาตร	$\frac{0.6 \times 100}{70}$	=	0.857 มิลลิลิตร

3) ซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 6 ของตำรับ

$$\begin{array}{l} \text{ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด} \quad 100 \text{ มิลลิลิตร} \quad \text{มีซอร์บิทอล} \quad 6 \quad \text{มิลลิลิตร} \\ \text{ถ้าปริมาตรทั้งหมด} \quad 15 \text{ มิลลิลิตร} \quad \text{มีซอร์บิทอล} \quad \frac{15 \times 2}{100} = 0.9 \text{ มิลลิลิตร} \\ \\ \text{ซอร์บิทอล} \quad 70 \text{ กรัม} \quad \text{อยู่ในสารละลายปริมาตร} \quad 100 \text{ มิลลิลิตร} \\ \text{ถ้าซอร์บิทอล} \quad 0.9 \text{ กรัม} \quad \text{อยู่ในสารละลายปริมาตร} \quad \frac{0.3 \times 100}{70} = 1.286 \text{ มิลลิลิตร} \end{array}$$

การคำนวณปริมาณสารละลายไคโตซานที่ใช้

$$\begin{aligned} \text{ปริมาตรของ 2\% w/v chitosan (ml)} &= \text{ปริมาตรทั้งหมดของตำรับ (ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาติน A (ml)} \\ &+ \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยืดหยุ่น (ml)}] \end{aligned}$$

โดยร้อยละของไคโตซานในแต่ละตำรับคำนวณจากสมการ

ร้อยละไคโตซาน

$$= \frac{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาตินเอ} + \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยืดหยุ่น}]}{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)}} \times 100$$

ตารางที่ 3 -3 แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยไคโตซาน เจลาติน และซอร์บิทอล

ตำรับที่	% ในตำรับของ 4% w/v gelatin A	% ในตำรับของ 70% sorbitol	% ในตำรับของ 2% w/v chitosan
1	0.5	2	84.647
2	0.5	4	81.787
3	0.5	6	78.927
4	1	2	72.147
5	1	4	69.287
6	1	6	66.427
7	1.5	2	59.647
8	1.5	4	56.787
9	1.5	6	53.927
10	2	2	47.147
11	2	4	44.287
12	2	6	41.427

ตารางที่ 3-4 แสดงปริมาณสารใน สูตรตำรับที่ประกอบด้วยไคโตซาน เจลาติน และซอร์บิทอล

ตำรับ	ปริมาตรของ 4% gelatin A (ml)	ปริมาตรของ 70% sorbitol (ml)	ปริมาตรของ 2% chitosan (ml)	ปริมาตรสุดท้าย (ml)
A _{0.5} S ₂ C _{84.647}	1.875	0.428	12.697	15
A _{0.5} S ₄ C _{81.787}	1.875	0.857	12.268	15
A _{0.5} S ₆ C _{78.927}	1.875	1.286	11.839	15
A ₁ S ₂ C _{72.147}	3.75	0.428	10.822	15
A ₁ S ₄ C _{69.287}	3.75	0.857	10.393	15
A ₁ S ₆ C _{66.427}	3.75	1.286	9.964	15
A _{1.5} S ₂ C _{59.647}	5.625	0.428	8.947	15
A _{1.5} S ₄ C _{56.787}	5.625	0.857	8.518	15
A _{1.5} S ₆ C _{53.927}	5.625	1.286	8.089	15
A ₂ S ₂ C _{47.147}	7.5	0.428	7.072	15
A ₂ S ₄ C _{44.287}	7.5	0.857	6.643	15
A ₂ S ₆ C _{41.427}	7.5	1.286	6.214	15

กำหนดให้ A = 4% w/v gelatin A C = 2% w/v chitosan S = 70% sorbitol

ปริมาตรทั้งหมดในตำรับเท่ากับ 15 มิลลิลิตรต่อแผ่น

การเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยไคโตซาน เจลาติน และโพรพิลีนไกลคอล

1. เตรียมสารละลายไคโตซาน ความเข้มข้น 2% w / v
2. เตรียมสารละลายเจลาติน A ความเข้มข้น 4% w / v
3. เตรียมที่มีโพรพิลีนไกลคอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 ของตำรับ
4. ผสมส่วนประกอบต่างๆ ในแต่ละตำรับตามที่ได้คำนวณไว้ให้เข้ากัน โดยเรียงลำดับขั้นตอนการใส่สารคือ เจลาติน A โพรพิลีนไกลคอล และไคโตซาน
5. เทลงบนเพลท (petri dish) โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ เนื่องจากอาจทำให้ฟิล์มที่ได้ไม่มีความทนทาน ขาดง่าย และดูไม่สวยงาม
6. นำไปเข้าตู้อบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส โดยแง้มฝา plate ไว้ เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง
7. หลังจากฟิล์มแห้งดีแล้ว ทำการลอกฟิล์มออกจากเพลท ระวังอย่าให้ฟิล์มขาด
8. นำฟิล์มที่ได้หุ้มด้วยพลาสติก และเก็บใน desiccator ที่แห้งเพื่อป้องกันความชื้น
9. นำฟิล์มไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ

การคำนวณปริมาณโพรฟีนไกลคอลที่ใช้

1) โพรฟีนไกลคอล ความเข้มข้นร้อยละ 2 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีโพรฟีนไกลคอล	2 มิลลิลิตร
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีโพรฟีนไกลคอล	$\frac{15 \times 2}{100} = 0.3$ มิลลิลิตร

2) โพรฟีนไกลคอล ความเข้มข้นร้อยละ 4 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีโพรฟีนไกลคอล	4 มิลลิลิตร
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีโพรฟีนไกลคอล	$\frac{15 \times 4}{100} = 0.6$ มิลลิลิตร

3) โพรฟีนไกลคอล ความเข้มข้นร้อยละ 6 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีโพรฟีนไกลคอล	6 มิลลิลิตร
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีโพรฟีนไกลคอล	$\frac{15 \times 6}{100} = 0.9$ มิลลิลิตร

การคำนวณปริมาณสารละลายไคโตซานที่ใช้

$$\text{ปริมาตรของ 2\% w/v chitosan (ml)} = \frac{\text{ปริมาตรทั้งหมดของตำรับ (ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาติน A (ml)} + \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยึดหยุ่น (ml)}]}{100}$$

โดยร้อยละของไคโตซานในแต่ละตำรับคำนวณจากสมการ

$$\text{ร้อยละไคโตซาน} = \frac{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาตินเอ} + \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยึดหยุ่น}]}{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)}} \times 100$$

ตารางที่ 3 -5 แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยไคโตซาน เจลาติน และโพรพิลีนไกลคอล

ตำรับที่	% ในตำรับของ 4% w/v gelatin A	% ในตำรับของ propylene glycol	% ในตำรับของ 2% w/v chitosan
1	0.5	2	85.5
2	0.5	4	83.5
3	0.5	6	81.5
4	1	2	73
5	1	4	71
6	1	6	69
7	1.5	2	60.5
8	1.5	4	58.5
9	1.5	6	56.5
10	2	2	48
11	2	4	46
12	2	6	44

ตารางที่ 3 -6 แสดงปริมาณสารใน ของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยไคโตซาน เจลาติน และโพรพิลีนไกลคอล

ตำรับ	ปริมาณของ 4% gelatin A (ml)	ปริมาณของ propylene glycol (ml)	ปริมาณของ 2% chitosan (ml)	ปริมาตร สุดท้าย (ml)
A _{0.5} PG ₂ C _{85.5}	1.875	0.3	12.825	15
A _{0.5} PG ₄ C _{83.5}	1.875	0.6	12.525	15
A _{0.5} PG ₆ C _{81.5}	1.875	0.9	12.225	15
A ₁ PG ₂ C ₇₃	3.75	0.3	10.95	15
A ₁ PG ₄ C ₇₁	3.75	0.6	10.65	15
A ₁ PG ₆ C ₆₉	3.75	0.9	10.35	15
A _{1.5} PG ₂ C _{60.5}	5.625	0.3	9.075	15
A _{1.5} PG ₄ C _{58.5}	5.625	0.6	8.775	15
A _{1.5} PG ₆ C _{56.5}	5.625	0.9	8.475	15
A ₂ PG ₂ C ₄₈	7.5	0.3	7.2	15
A ₂ PG ₄ C ₄₆	7.5	0.6	6.9	15
A ₂ PG ₆ C ₄₄	7.5	0.9	6.6	15

กำหนดให้ A = 4% w/v gelatin A C = 2% w/v chitosan PG = propylene glycol

ปริมาตรทั้งหมดในตำรับเท่ากับ 15 มิลลิลิตรต่อฟิล์ม 1 แผ่น

การเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยไคโตซาน เจลาติน และโพลีเอทิลีนไกลคอล 400

1. เตรียมสารละลายไคโตซาน ความเข้มข้น 2% w/v
2. เตรียมสารละลายเจลาติน A ความเข้มข้น 4% w/v
3. เตรียมโพลีเอทิลีนไกลคอล 400 ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 ของตำรับ
4. ผสมส่วนประกอบต่างๆ ในแต่ละตำรับตามที่คำนวณไว้ให้เข้ากัน โดยเรียงลำดับขั้นตอนการใส่สารคือ เจลาติน A โพลีเอทิลีนไกลคอล 400 และไคโตซาน
5. เทลงบนเพลท (petri dish) โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ เนื่องจากอาจทำให้ฟิล์มที่ได้ไม่มีความหนาแน่น ขาดง่าย และดูไม่สวยงาม
6. นำไปเข้าตู้อบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส โดยแฉะฝา plate ไว้ เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง
7. หลังจากที่ได้ฟิล์มแห้งดีแล้ว ทำการลอกฟิล์มออกจากเพลท ระวังอย่าให้ฟิล์มขาด
8. นำฟิล์มที่ได้หุ้มด้วยพลาสติก และเก็บใน desiccator ที่แห้งเพื่อป้องกันความชื้น
9. นำแผ่นฟิล์มไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ

การคำนวณปริมาณโพลีเอทิลีนไกลคอล 400 ที่ใช้

- 1) โพลีเอทิลีนไกลคอล 400 ความเข้มข้นร้อยละ 2 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	2 มิลลิลิตร
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	$\frac{15 \times 2}{100} = 0.3$ มิลลิลิตร

- 2) โพลีเอทิลีนไกลคอล 400 ความเข้มข้นร้อยละ 4 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	4 มิลลิลิตร
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	$\frac{15 \times 4}{100} = 0.6$ มิลลิลิตร

- 3) โพลีเอทิลีนไกลคอล 400 ความเข้มข้นร้อยละ 6 ของตำรับ

ในตำรับมีปริมาตรทั้งหมด	100 มิลลิลิตร	มีโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	6 มิลลิลิตร
ถ้าปริมาตรทั้งหมด	15 มิลลิลิตร	มีโพลีเอทิลีนไกลคอล 400	$\frac{15 \times 6}{100} = 0.9$ มิลลิลิตร

การคำนวณปริมาณสารละลายไคโตซานที่ใช้

$$\text{ปริมาตรของ 2\% w/v chitosan (ml)} = \text{ปริมาตรทั้งหมดของตำรับ (ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาติน A (ml)} + \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยืดหยุ่น (ml)}]$$

โดยร้อยละของไคโตซานในแต่ละตำรับคำนวณจากสมการ

ร้อยละไคโตซาน

$$= \frac{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)} - [\text{ปริมาตรของเจลาตินเอ} + \text{ปริมาตรของสารเพิ่มความยืดหยุ่น}]}{\text{ปริมาตรสุดท้าย (15 ml)}} \times 100$$

ตารางที่ 3-7 แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และโพลีเอทิลีนไกลคอล 400

ตำรับที่	% ในตำรับของ 4% w/v gelatin A	% ในตำรับของ polyethylene glycol 400	% ในตำรับของ 2% w/v chitosan
1	0.5	2	85.5
2	0.5	4	83.5
3	0.5	6	81.5
4	1	2	73
5	1	4	71
6	1	6	69
7	1.5	2	60.5
8	1.5	4	58.5
9	1.5	6	56.5
10	2	2	48
11	2	4	46
12	2	6	44

ตารางที่ 3-8 แสดงปริมาณสารในสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตซาน เจลาติน และโพลีเอทิลีนไกลคอล 400

ตำรับ	ปริมาตรของ 4% gelatin A (ml)	ปริมาตรของ polyethylene glycol (ml)	ปริมาตรของ 2% chitosan (ml)	ปริมาตรสุดท้าย (ml)
A _{0.5} PEG ₂ C _{85.5}	1.875	0.3	12.825	15
A _{0.5} PEG ₄ C _{83.5}	1.875	0.6	12.525	15
A _{0.5} PEG ₆ C _{81.5}	1.875	0.9	12.225	15
A ₁ PEG ₂ C ₇₃	3.75	0.3	10.95	15
A ₁ PEG ₄ C ₇₁	3.75	0.6	10.65	15
A ₁ PEG ₆ C ₆₉	3.75	0.9	10.35	15
A _{1.5} PEG ₂ C _{60.5}	5.625	0.3	9.075	15
A _{1.5} PEG ₄ C _{58.5}	5.625	0.6	8.775	15
A _{1.5} PEG ₆ C _{56.5}	5.625	0.9	8.475	15
A ₂ PEG ₂ C ₄₈	7.5	0.3	7.2	15
A ₂ PEG ₄ C ₄₆	7.5	0.6	6.9	15
A ₂ PEG ₆ C ₄₄	7.5	0.9	6.6	15

กำหนดให้ A = 4% w/v gelatin A C = 2% w/v chitosan PEG = polyethylene glycol
 ปริมาตรทั้งหมดในตำรับเท่ากับ 15 มิลลิลิตรต่อฟิล์ม 1 แผ่น

การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด

1. ล้างเปลือกผลมังคุดให้สะอาด แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ
2. แบ่งเปลือกผลมังคุดเป็น 2 ส่วน คือ
 - 2.1 เปลือกผลมังคุดสดที่ไม่ผ่านการอบแห้ง
 - 2.2 เปลือกผลมังคุดแห้ง เตรียมโดยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. ชั่งเปลือกผลมังคุดแต่ละส่วนใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยขวดแต่ละใบจะมีเปลือกผลมังคุดหนัก 100 กรัม
 4. แบ่งเปลือกผลมังคุดสดเป็นสองส่วน คือ
 - 4.1 ส่วนแรก หมักด้วยด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ Ethanol ปริมาตร 300 มิลลิลิตร
 - 4.2 ส่วนที่สอง หมักด้วย dichloromethane ปริมาตร 300 มิลลิลิตร
 5. แบ่งเปลือกผลมังคุดแห้งเป็นสองส่วน คือ
 - 5.1 ส่วนแรก หมักด้วยด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ Ethanol ปริมาตร 300 มิลลิลิตร
 - 5.2 ส่วนที่สอง หมักด้วย dichloromethane ปริมาตร 300 มิลลิลิตร
 6. ปิดปากขวดด้วย parafilm และแผ่นอะลูมิเนียม หมักไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เขย่าภายใต้ laminar air flow โดยใช้เครื่องเขย่า
 7. เมื่อครบเวลาแล้วทำการกรองเก็บสารสกัดไว้ และหมักซ้ำกากของเปลือกผลมังคุดที่เหลือ แล้วนำสารสกัดที่กรองแล้วทั้งสองครั้งมารวมกัน
 8. ระเหยด้วยตัวทำละลาย โดยใช้เครื่องระเหยแห้งโรตารีสูญญากาศที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของ water bath เป็น 50 องศาเซลเซียส ความดันเริ่มต้นที่ 300 มิลลิบาร์แล้วปรับความดันตามปริมาตรและความเข้มข้นของสารสกัด จนมีน้ำหนักสารเหลือประมาณ 1 ใน 5 ของน้ำหนักเริ่มต้น
 9. ชั่งน้ำหนักสารสกัด แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด

วิธีการเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด ทำโดยนำตำรับของฟิล์มที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุด มาผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุดในความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อนำไปประเมินลักษณะทางกายภาพของฟิล์ม การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก และการปลดปล่อยสารจากเปลือกมังคุด สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ได้ยังอยู่ในลักษณะที่เป็นของแข็ง จึงต้องนำมาละลายเพื่อให้เกิดเป็นของเหลวก่อนที่จะนำมาผสมในตำรับ การเลือกตัวทำละลายต้องเลือกตัวทำละลายที่เข้ากันได้กับตำรับ ไม่ทำให้ส่วนประกอบอื่นๆ ตกตะกอน และการใช้สารละลายของสารสกัดจากเปลือกมังคุดมากเกินไปอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของตำรับที่มีอยู่ เกิดฟิล์มที่มีลักษณะที่ไม่ต้องการได้

การคำนวณ :

กำหนดให้ปริมาตรสารละลายของสารสกัดจากเปลือกมังคุดทุกความเข้มข้นที่ใช้ในแต่ละตำรับ เท่ากับ 1 มิลลิลิตร โดยเตรียมให้ได้ความเข้มข้นเป็นร้อยละ 0.01, 0.05 และ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของตำรับ

ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ คือ กรดอะซิติกเข้มข้น (glacial acetic acid) เนื่องจากมีความเข้ากันได้กับสารละลายโคโคซานในตำรับ

1) ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 ของตำรับ

ของผสมปริมาตร	100 มิลลิลิตร	มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด	0.01 กรัม
ถ้าของผสมปริมาตร	15 มิลลิลิตร	จะมีสารสกัดจากเปลือกมังคุด	$\frac{15 \times 0.01}{100} = 0.0015$ กรัม

2) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ของตำรับ

ของผสมปริมาตร	100 มิลลิลิตร	มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด	0.05 กรัม
ถ้าของผสมปริมาตร	15 มิลลิลิตร	จะมีสารสกัดจากเปลือกมังคุด	$\frac{15 \times 0.05}{100} = 0.0075$ กรัม

3) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ของตำรับ

ของผสมปริมาตร	100 มิลลิลิตร	มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด	0.1 กรัม
ถ้าของผสมปริมาตร	15 มิลลิลิตร	จะมีสารสกัดจากเปลือกมังคุด	$\frac{15 \times 0.1}{100} = 0.015$ กรัม

วิธีการเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนในที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด

- เตรียมสารละลายโคโคซาน ความเข้มข้น 2% w/v
- เตรียมสารละลายเจลาติน A ความเข้มข้น 4% w/v
- เตรียมสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 ของตำรับ
- ผสมส่วนประกอบต่างๆ ในแต่ละตำรับตามที่คำนวณไว้ให้เข้ากัน โดยเรียงลำดับขั้นตอนการใส่สารคือ เจลาติน A สารเพิ่มความยืดหยุ่น และโคโคซาน
- นำสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่คำนวณได้ ละลายด้วยกรดอะซิติกปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปผสมในแต่ละตำรับซึ่งมีปริมาตรสุดท้าย 15 มิลลิลิตร
- เทลงบนเพลท (petri dish) โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ เนื่องจากอาจทำให้ฟิล์มที่ได้ไม่มีความทนทาน ขาดง่าย และดูไม่สวยงาม
- นำไปเข้าตู้อบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส โดยแฉะฝา plate ไว้ เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง
- หลังจากที่ฟิล์มแห้งดีแล้ว ทำการลอกฟิล์มออกจากเพลท ระวังอย่าให้ฟิล์มขาด
- นำฟิล์มที่ได้หุ้มด้วยพลาสติก และเก็บใน desiccator ที่แห้งเพื่อป้องกันความชื้น
- นำฟิล์มไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก และการปลดปล่อยตัวยาหรือสารสกัดมังคุดออกจากฟิล์มต่อไป

การศึกษาลักษณะทางเคมี - ฟิสิกส์ของฟิล์ม ที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด

การศึกษาลักษณะทางเคมี - ฟิสิกส์ของฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด เพื่อเก็บเป็นข้อมูล
สำหรับการพัฒนาและคัดเลือกตำรับที่เหมาะสมที่สุด

คุณสมบัติทางกายภาพของฟิล์มที่ต้องการ คือ มีความยืดหยุ่นสูง มีความใส เป็นมันเงา เป็นเนื้อ
เดียวกัน มีสีที่ไม่เข้มจนเกินไป ไม่หนาเกินไป มีความสามารถในการดูดน้ำและมีความสามารถในการเกาะติดเยื่อผิว
ซึ่งฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ได้จะต้องนำมาทดสอบคุณสมบัติดังกล่าว เพื่อคัดเลือกตำรับฟิล์มที่มี
ความเหมาะสมที่สุดมาใช้เตรียมฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด

1. การศึกษาลักษณะภายนอกของฟิล์ม

1.1 สี

สังเกตสีของฟิล์มที่ได้

1.2 ความใส

สังเกตลักษณะความขุ่นหรือใสของฟิล์ม

1.3 ความเป็นเนื้อเดียวกัน

สังเกตลักษณะของฟิล์มว่ามีลักษณะที่เข้ากันได้ดีของส่วนผสม

1.4 ความสม่ำเสมอของเนื้อฟิล์ม

สังเกตความสม่ำเสมอของฟิล์ม

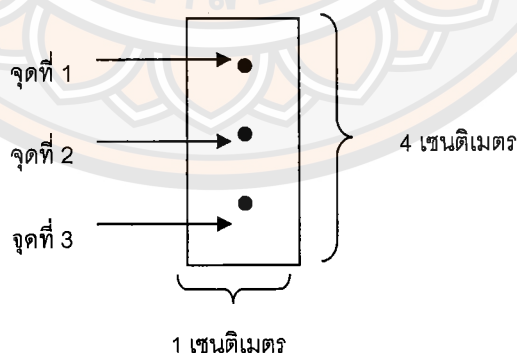
2. การศึกษาความหนาของฟิล์ม

เครื่องมือที่ใช้วัดความหนาของฟิล์ม คือ ไมโครมิเตอร์ (micrometer)

วิธีทดสอบ :

2.1 ตัดฟิล์มในขนาด 1 x 4 เซนติเมตร ดังรูปที่ 3-1

2.2 วัดความหนาเป็นบริเวณ 3 จุดด้วยไมโครมิเตอร์แล้วหาค่าเฉลี่ย



รูปที่ 3-1 แสดงการตัดฟิล์มในขนาด 1 x 4 เซนติเมตร

3. การศึกษาความยืดหยุ่นของฟิล์ม

เครื่องมือที่ใช้วัดความยืดหยุ่นของฟิล์ม คือ Instron Corporation Series IX Automated Materials Testing System

วิธีทดสอบ :

- 3.1 นำฟิล์มที่ทดสอบความหนาแล้วขนาด 1 x 4 เซนติเมตร มาทดสอบความยืดหยุ่น
- 3.2 กำหนดสภาวะของเครื่องมือที่ใช้วัดความยืดหยุ่นของฟิล์ม ดังนี้
 - Interface type : TT
 - Crosshead speed : 10 mm/min
 - Sample rate (pts/secs) : 10 mm/min
 - Temperature : 22 °C
 - Humidity (%) : 78
 - Grip Distance : 20 mm
 - Full scale load range : 0.005 kN
- 3.3 บันทึกผลการทดลองเป็นแรงสูงสุด เวลา และระยะทางที่ทำให้ฟิล์มขาด

4. การศึกษาหาความชื้นของฟิล์ม

การศึกษาหาความชื้นของฟิล์มในแต่ละสูตรตำรับด้วยเครื่องชั่งหาความชื้น (SARTORIUS MA30)

วิธีทดสอบ :

- 4.1 ตัดฟิล์มในแต่ละสูตรตำรับ เป็นรูปสี่เหลี่ยม กว้าง 3 เซนติเมตร และยาว 3 เซนติเมตร
- 4.2 กำหนดสภาวะของเครื่องชั่งหาความชื้น ดังนี้
 - อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส
 - ให้เวลาหยุดเองอัตโนมัติ เมื่อความชื้นคงที่
 - แสดงผลเป็นร้อยละของความชื้นที่หายไป (Moisture loss, 0 – 100 %)

5. การศึกษาการซึมผ่านของน้ำ (Water permeability test)

อัตราการแพร่ผ่านของน้ำของฟิล์มจะถูกประมาณค่าโดยวิธีตาม USP XXII เพื่อประเมินความชื้น (moisture permeability) ของภาชนะบรรจุและสารที่บรรจุ โดยสารที่บรรจุคือ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ซึ่งมีค่าการละลายเท่ากับ 1 กรัม ในน้ำ 2.8 มิลลิลิตร¹⁷

การคำนวณ

น้ำปริมาตร	2.80 มิลลิลิตร	สามารถละลาย NaCl ได้	1 กรัม
ถ้า น้ำปริมาตร	60 มิลลิลิตร	จะสามารถละลาย NaCl ได้	$\frac{1 \times 60}{2.80} = 21.43$ กรัม

เนื่องจากการเตรียมสารละลาย NaCl อิมิตวปริมาตร 60 มิลลิลิตร ต้องใช้ NaCl มากกว่า 21.43 กรัม ในการทดสอบจึงใช้ NaCl 25 กรัม

วิธีทดสอบ

5.1 เตรียมสารละลาย NaCl อิ่มตัวโดย ชั่ง NaCl มา 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร จะได้สารละลายอิ่มตัวที่มีสาร NaCl ตกตะกอนอยู่ก้นบีกเกอร์

5.2 เตรียมฟิล์มในอัตราส่วนต่างๆ 12 ตำรับ แล้วตัดฟิล์มเป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 มิลลิเมตร

5.3 นำสารดูดความชื้นใส่ลงในขวดแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 12 ใบ โดยให้ได้ปริมาตร 3 ใน 4 ของขวดแก้ว

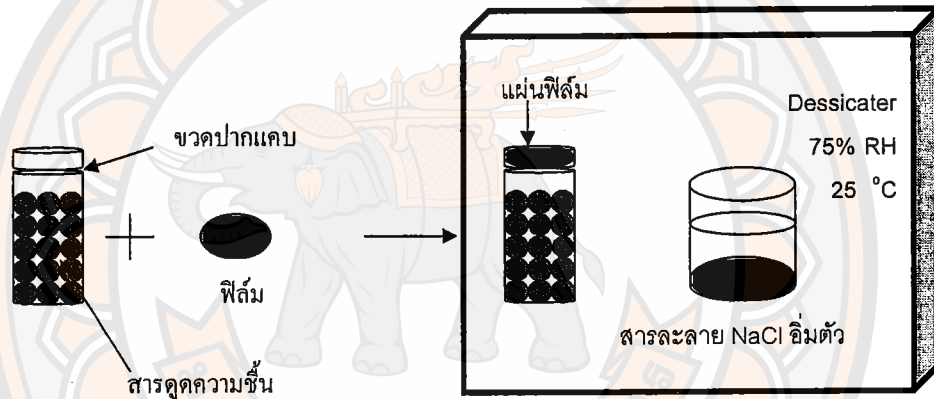
5.4 นำฟิล์มที่ตัดไว้มาติดกับปากขวดให้สนิท แล้วพันด้านข้างด้วย parafilm ให้แน่น

5.5 นำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง เพื่อบันทึกน้ำหนักที่เวลาก่อนเริ่มการทดสอบ

5.6 นำขวดแก้วที่มีฟิล์มปิดอยู่ใน Dessicator ที่มีบีกเกอร์ของสารละลายอิ่มตัว NaCl ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ซึ่งมี Relative humidity (RH) ร้อยละ 75 ± 3 ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

5.7 นำขวดแก้วแต่ละใบออกมาชั่งน้ำหนักที่เวลาเริ่มต้น 15, 30 นาที 1, 2, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง

5.8 น้ำหนักที่ได้จากการทดสอบจะนำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเพื่อหาค่าอัตราการซึมผ่านของน้ำ (Rate of moisture permeability) จาก slope ของกราฟ ซึ่งมีเป็นหน่วยน้ำหนักต่อเวลา



รูปที่ 3 - 2 แสดงการทดสอบการซึมผ่านของน้ำ (Water permeability test)

คำนวณได้จากสมการ

เปอร์เซ็นต์การดูดน้ำ

$$= \frac{(\text{น้ำหนักของฟิล์มหลังวางในระบบปิดที่เวลาต่างๆ} - \text{น้ำหนักของฟิล์มก่อนวางในระบบปิด}) \times 100}{\text{น้ำหนักของฟิล์มก่อนวางในระบบปิด}}$$

6. การศึกษาความสามารถในการยึดติดของฟิล์ม

ดูการยึดติดของฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดเปลือกมังคุด ซึ่งด้านหนึ่งเคลือบด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ โพลีเมทาโครเลท การศึกษาทำได้โดย

1. เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

- ใช้บัฟเฟอร์ชนิดเดียวกับที่ทำการศึกษานหาปริมาณสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์ม
- ชั่ง monobasic potassium phosphate ให้ได้น้ำหนัก 27.22 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 750 มิลลิลิตร จนได้สารละลายใสไม่มีตะกอน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร
- ชั่งเกลือ sodium hydroxide ให้ได้น้ำหนัก 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร จนได้สารละลายใส ไม่มีตะกอน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร
- ใช้เครื่องวัด pH วัดค่า pH ของสารละลาย monobasic potassium phosphate
- ปรับค่า pH โดยการหยดสารละลายของ 5 เปอร์เซ็นต์ sodium hydroxide จนได้เท่ากับค่า pH ในน้ำลายของคน คือ 6.4
- บรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ลงในบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร ที่กัลด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ชนิดเดียวกันแล้ว

2. การเตรียมฟิล์ม

- ตัดฟิล์มในแต่ละตำรับเป็นรูปวงกลม ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 มิลลิเมตร
- วางฟิล์มที่ตัดแล้วบนกระจกใสที่สะอาดและแห้ง ในตำแหน่งเดียวกัน โดยกระจกใส 1 แผ่น สำหรับฟิล์มที่ตัดแล้ว 1 แผ่น
- ใช้ขวดยาหม่องที่มีพื้นผิวหน้าของฝาเรียบเท่ากัน พันด้วยพลาสติกกันการยึดติดของฟิล์ม วางบนฟิล์มที่ติดบนกระจกใสเป็นเวลา 1 นาที โดยน้ำหนักของขวดยาหม่องดังกล่าวเท่ากับ 49.68 กรัม
- วางกระจกใสที่ติดฟิล์มแล้วในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร โดยให้วางเอียงทำมุม 45 องศา กับก้นบีกเกอร์

3. การหาอัตราเร็วของหยดสารละลาย

- หมุน stop cock จนได้หยดของสารละลายที่มีขนาดและความเร็วที่ต้องการ ใช้สิ่เมจิก แสดงตำแหน่งรูของ stop cock ไว้
- หมุน stop cock ให้อยู่ตรงตำแหน่งที่แสดงไว้ จับเวลาที่สารละลายบัฟเฟอร์ 50 มิลลิลิตร ถูกปล่อยให้หยดจนหมด ซึ่งใช้เวลาเท่ากับ 662.5 วินาที

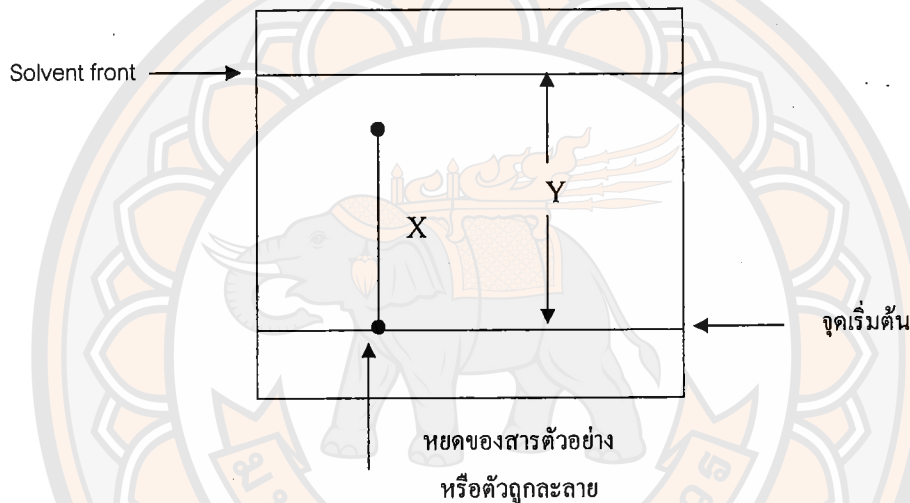
4. การทดลอง

- ปล่อยสารละลายบัฟเฟอร์ให้หยดลงมาโดนกระจกใส ก่อนจะไหลมาที่ฟิล์ม บันทึก ปริมาตรที่หยดของสารละลายทำให้ฟิล์มหลุดจากกระจกใส และคำนวณกลับเป็นเวลา

7. การแยกสารประกอบในสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

Thin Layer Chromatography เป็นการแยกสารออกจากกันโดยอาศัยคุณสมบัติในการถูกดูดซับบนตัวดูดซับ (Adsorbent) ของสารแต่ละตัว สารผสมที่เคลื่อนที่ไปได้ในอัตราเร็วที่ต่างกัน (mobile phase) ที่เหมาะสม เนื่องจากสารต่างชนิดกันจะมีโครงสร้างต่าง ๆ กัน ทำให้มีแรงดึงดูด (retarding force) และแรงผลัก (propelling force) ต่างกัน ดังนั้นสารต่างๆ ย่อมเคลื่อนที่ในอัตราเร็วที่ต่างกัน สารที่ถูกดูดซับได้ดีกว่าจะเคลื่อนที่ได้ช้ากว่าสารที่ถูกดูดซับน้อยกว่า จึงทำให้เกิดการแยกของสาร ซึ่งตัวดูดซับที่ดีต้องไม่ละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ใช้และไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการแยก

Adsorbent ของ TLC จะกระจายตัวอยู่บนพลาสติกหรือโลหะบางชนิด เช่น อะลูมิเนียม โดยจะมี binder เช่น calcium sulfate ทำให้ยึดติดเป็นแผ่น adsorbent ที่นิยมใช้ คือ ซิลิกาเจล (silica gel) หรืออะลูมินา (alumina) และมีขนาดเล็กทำให้การแยกด้วยวิธี TLC ให้ผลดีมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 3-3 แสดงระยะทางการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลายและตัวทำละลาย

การเลือกใช้ mobile phase ในการแยกสารนั้นไม่มีหลักเกณฑ์แน่นอน ส่วนใหญ่ mobile phase ที่เหมาะสมจะได้จากการทดลองโดยอาศัยความรู้เบื้องต้นทางเคมี ซึ่ง mobile phase อาจประกอบด้วยตัวทำละลายบริสุทธิ์หรือตัวทำละลายผสมก็ได้ ก่อนทำการ run chromatogram นั้นต้องทำให้ TLC tank อิ่มตัวด้วย mobile phase ก่อน ระยะเวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับขนาดของ tank ถ้าใส่แผ่นของ adsorbent ลงไปในขณะที่ tank ยังไม่อิ่มตัวด้วยไอระเหยของ mobile phase จะทำให้การเคลื่อนที่ของ mobile phase บนแผ่น adsorbent ไม่สม่ำเสมอ

สารสกัดจากเปลือกมังคุดเป็นสารสกัดหยาบซึ่งประกอบด้วยสารหลายชนิด รวมถึงสารที่นำมาใช้ในการบรรเทาและรักษาแผลร้อนในด้วย การศึกษาด้วยวิธีนี้ทำให้ทราบได้ว่าในสารสกัดหยาบของเปลือกมังคุดนั้นมีสารดังกล่าวอยู่หรือไม่

1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

- ใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดทั้ง 4 ตัวอย่าง ได้แก่

เปลือกมังคุดสด สกัดด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ ethanol

เปลือกมังคุดแห้ง สกัดด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ ethanol

เปลือกมังคุดสด สกัดด้วย Dichloromethane

เปลือกมังคุดแห้ง สกัดด้วย Dichloromethane

- ซึ่งสารตัวอย่างทั้ง 4 อย่างละ 50 มิลลิกรัม

- ละลายสารสกัดด้วย methanol อย่างละ 1 มิลลิลิตร ซึ่งสารตัวอย่างจะมีความเข้มข้นสูง

2. การเตรียมแผ่นซีลิกา

- ตัดแผ่นซีลิกาให้มีขนาดเท่ากับ 5 x 8 เซนติเมตร

- กำหนดจุดที่จะแต้มสารตัวอย่างแต่ละชนิด ให้น้ำจากขอบกระดาษอย่างน้อย 1 เซนติเมตร และแต่ละจุดห่างกันอย่างน้อย 1 เซนติเมตร

- ใช้ดินสอลากเส้น solvent front เบบๆ ให้น้ำจากจุดที่แต้มสารตัวอย่าง 6 เซนติเมตร

3. การหาอัตราส่วนของ mobile phase ที่เหมาะสม

เนื่องจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีทั้งสารที่มีความเข้มข้นสูงและมีขั้วต่ำ จึงต้องใช้อัตราส่วนระหว่างสารที่มีความเข้มข้นสูงและมีขั้วต่ำร่วมกัน

- ระบบที่ใช้ ได้แก่

คลอโรฟอร์ม (CHCl₃) : เฮกเซน (Hexane) (1 : 9)

คลอโรฟอร์ม (CHCl₃) : เฮกเซน (Hexane) (3 : 1)

คลอโรฟอร์ม (CHCl₃) : เมทานอล (MeOH) (9 : 1)

- เตรียมระบบให้มีความอิมตัวภายใน tank

- ใช้หลอดแก้วขนาดเล็ก (capillary tube) จุดสารละลายตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด ลงบนแผ่นซีลิกา

- เมื่อ mobile phase เคลื่อนที่ไปจนถึง solvent front แล้วให้นำแผ่นซีลิกาออกจาก tank เพื่อนำไปตรวจดูด้วยแสง UV

4. การตรวจสอบ (Detection, Visualization)

1) ตรวจดูในแสงอุลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet light; UV) 254 nm

สารที่ถูกแยกบนแผ่นซีลิกาจะบดบังการเกิดฟลูออเรสของตัวดูดซับจากแสงไวโอเล็ต ทำให้เห็นเป็น spot มีดบนแผ่นซีลิกาที่เรืองแสงสีเขียวเหลือง

- ร่าง spot มีดของสารที่แยกได้โดยใช้ดินสอ

2) ใช้สารเคมีฉีดพ่นบนโครมาโตแกรม (Spraying reagent)

- ใช้ universal reagent ที่ประกอบด้วย

Methanol	42	มิลลิลิตร
Conc. H ₂ SO ₄	2.5	มิลลิลิตร
Glacial acetic acid	5	มิลลิลิตร
Anisaldehyde	0.25	มิลลิลิตร

เมื่อเตรียมแล้วใช้กระดาษฟอยล์หุ้มเพื่อป้องกันแสงทำลายสารให้เกิดการเสื่อมสภาพ

- พนสารดังกล่าวลงบนแผ่นซิลิกาที่ run TLC มาแล้ว โดยพ่นภายในตู้ laminar air flow
- ให้เครื่องเป่าลมร้อนทำให้แผ่นซิลิกาแห้ง และร่างดินสอดตามสีของสารที่มองเห็น โดย

ร่างในขณะที่แผ่นซิลิกายังร้อนอยู่

- เลือกอัตราส่วนของ mobile phase ที่มีความเหมาะสมในการแยกสารมากที่สุด คือ แยกสารออกจากกันได้อย่างชัดเจน เพื่อตรวจสอบซ้ำต่อไป

5. เปลี่ยนระบบของ mobile phase

- ระบบที่ใช้ ได้แก่

CHCl_3 : Hexane : MeOH (9 : 1 : 0.5)

CHCl_3 : Hexane (9 : 1)

CHCl_3 : Ethylacetate (1 : 1)

- run TLC หลังทำให้ TLC tank อิ่มตัวด้วย mobile phase แล้ว

- ตรวจสอบการแยกสารตามวิธีการเดิมเพื่อเลือกระบบ mobile phase ที่สามารถแยกสารได้ดีที่สุด

6. ทำการตรวจสอบซ้ำโดยใช้ระบบที่สามารถแยกสารได้ดีที่สุด

- เปลี่ยนขนาดของแผ่นซิลิกาเป็น 5 x 20 เซนติเมตร

- ระบบที่เลือกใช้ คือ CHCl_3 : Hexane : MeOH (9 : 1 : 0.5)

- ตรวจสอบด้วยแสง UV 254 nm และ spraying reagent

การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์ม

การทดสอบโดยวิธี Disc diffusion test

เชื้อที่ทำการทดสอบคือ *Staphylococcus aureus*

1. การเตรียมวัฒนธรรมอาหารเลี้ยงเชื้อ

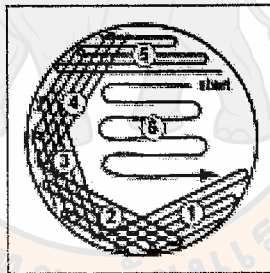
อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบเชื้อ *S. aureus* คือ วัฒนธรรมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด NA มีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

- 1.1 ละลายวัฒนธรรมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด NA 2 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดจนวัฒนธรรมละลายหมด แล้วทิ้งไว้ให้ วัฒนธรรมอาหารเลี้ยงเชื้อเย็น
- 1.2 เทวัฒนธรรมอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ เพลทละ 20 มิลลิลิตร รอให้วัฒนธรรมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว ผิวหน้าแห้งไม่มีหยดน้ำ

2. การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (Isolation of pure culture)

การ Streak plate เป็นการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยว (single colony) ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

- 2.1 ใช้ห่วงเชี่ยเชื้อ (loop) ลนไฟ แล้วเชี่ยเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลองที่บรรจุเชื้อ
- 2.2 ถ่ายเชื้อด้วยวิธี streak ลงบนเพลทเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารแข็ง (agar plate) ให้ได้ระนาบ (plane) โดย streak ให้ได้ 4 หรือ 5 ระนาบ ดังรูปที่ 3-4
- 2.3 คว่ำเพลทเลี้ยงเชื้อและป่มในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

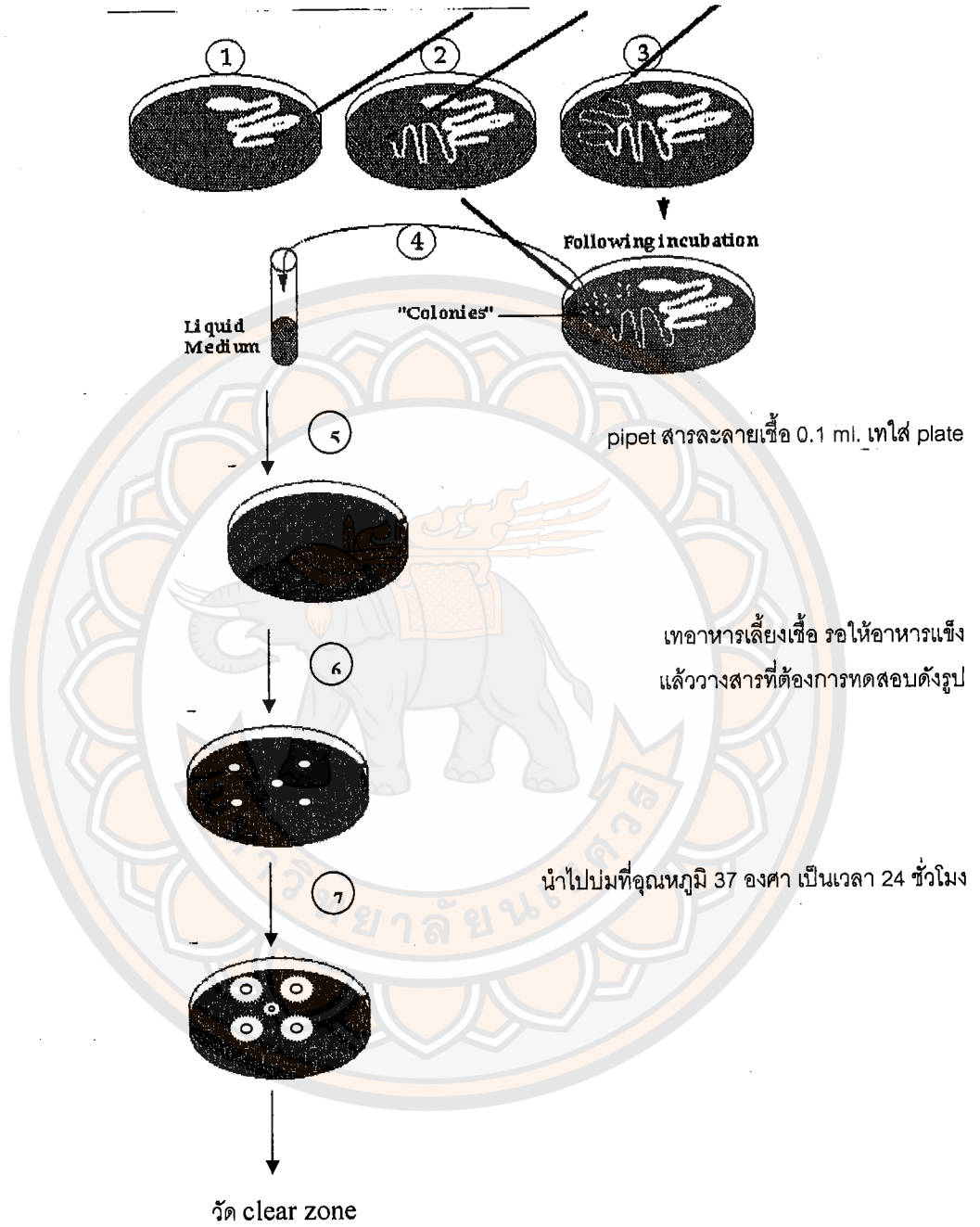


รูปที่ 3-4 แสดงการแยกเชื้อโดยวิธี Streak plate

3. การทดสอบการยับยั้งเชื้อโดยวิธี Disc diffusion method

- 3.1 นำห่วงเชี่ยเชื้อลนไฟ เชี่ยเชื้อโคโลนีเดี่ยว ที่ได้จากการแยกเชื้อมา 1 โคโลนี
- 3.2 เจือจางเชื้อในหลอดทดลองที่บรรจุ sterile water ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ
- 3.3 ใช้ปิเปตดูดสารละลายที่มีเชื้ออยู่ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในเพลทปราศจากเชื้อ
- 3.4 เทวัฒนธรรมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิ 45 – 50 องศาเซลเซียส ลงไปประมาณ 15 มิลลิลิตร รอจนวัฒนธรรมอาหารแข็ง
- 3.5 นำฟิล์มที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากผลเปลือกมังคุด 0, 0.01, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อ ปริมาตร ตัดเป็นรูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 มิลลิเมตร

- 3.6 วางฟิล์มที่ต้องการทดสอบบนวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อเพลทละ 4 จุด และวางฟิล์มเปล่าที่ไม่มีสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดลงบนวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อเพลทละ 1 จุด ดังรูปที่ 3-5
- 3.7 อ่านค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบฟิล์ม (Inhibition zone)



รูปที่ 3-5 แสดงการทดสอบการยับยั้งเชื้อโดยวิธี Disc diffusion method

การศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์ม

เลือกสูตรตำรับของฟิล์มที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุดมา 2 ตำรับ ซึ่งมีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก และมีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสม เพื่อทดสอบการปลดปล่อยปริมาณสาร

วิธีทดสอบ :

1. การเตรียมสารละลายของ monobasic potassium phosphate
 - 1.1 ชั่ง monobasic potassium phosphate ให้ได้น้ำหนัก 27.22 กรัม
 - 1.2 ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 750 มิลลิลิตร จนได้สารละลายใสไม่มีตะกอน
 - 1.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร
2. การเตรียมสารละลายของ 5เปอร์เซ็นต์ sodium hydroxide (NaOH)
 - 2.1 ชั่งเกลือ sodium hydroxide ให้ได้น้ำหนัก 5 กรัม
 - 2.2 ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร จนได้สารละลายใส ไม่มีตะกอน
 - 2.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร
3. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์
 - 3.1 ใช้เครื่องวัด pH วัดค่า pH ของสารละลาย monobasic potassium phosphate
 - 3.2 ปรับค่า pH โดยการหยดสารละลายของ 5เปอร์เซ็นต์ sodium hydroxide จนได้เท่ากับค่า pH ในน้ำลายของคนคือ pH 6.4
 - 3.3 แบ่งสารละลายบัฟเฟอร์ใส่บีกเกอร์ 100 มิลลิลิตร บีกเกอร์ละ 30 มิลลิลิตร
4. การทดสอบการปลดปล่อยด้วยยานหรือสารสกัดจากเปลือกมังคุด
 - 4.1 วางบีกเกอร์ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์บนเครื่องเขย่า
 - 4.2 เลือกตำรับฟิล์มที่ต้องการทดสอบมา 2 ตำรับ และทำการศึกษาตำรับละ 2 ครั้งเพื่อเปรียบเทียบกัน
 - 4.3 ใช้ที่ตัดกระดาษ ตัดฟิล์มในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 มิลลิเมตร จำนวน 20 ชิ้น ใส่ลงในบีกเกอร์ดังกล่าว
 - 4.4 ดูดสารละลายบัฟเฟอร์ 10 มิลลิลิตร ทุก 5 นาที จนครบ 45 นาที เก็บในหลอดทดลองแยกกันไว้ โดยทุกครั้งที่ดูดสารละลายบัฟเฟอร์ออกมาต้องเติมสารละลายบัฟเฟอร์เข้าไปในปริมาตร 10 มิลลิลิตร
 - 4.5 นำสารละลายที่ดูดมาได้ ไปทดสอบหาปริมาณสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์ม โดยใช้เครื่อง UV Spectrophotometry
5. การเตรียมสารละลายของสารสกัดจากเปลือกมังคุด เพื่อนำไปหาค่ากราฟมาตรฐาน (standard curve)
 - 5.1 เตรียม stock solution โดยชั่งสารสกัดจากเปลือกมังคุด 25 กรัม ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 6.4 ดังที่กล่าวมาแล้ว 100 มิลลิลิตร
 - 5.2 ทำ serial dilution จนได้สารละลายจากเปลือกมังคุดในความเข้มข้น 0.001954, 0.003907, 0.007813, 0.015625, 0.031250 และ 0.062500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - 5.3 หาความยาวคลื่นสูงสุดของสารที่อยู่ในสารละลายจากเปลือกมังคุด โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็น blank กำหนดให้ช่วงของความยาวคลื่นอยู่ที่ 200 – 600 nm
 - 5.4 หาค่ากราฟมาตรฐาน
 - 5.5 หาความเข้มข้นของสารที่ถูกปลดปล่อยทุก 5 นาที

การเตรียมแผ่นรองหลังของฟิล์ม

การเตรียมแผ่นรองหลังของฟิล์ม (backing agent) เพื่อป้องกันการเคลื่อนย้ายของฟิล์มออกจากบริเวณแผล โดยพิจารณาเลือกใช้ 1 เปอร์เซ็นต์ Polymethacrylate (Eudragit[®] L 100) เป็นแผ่นรองหลังของฟิล์ม เนื่องจากมีคุณสมบัติสามารถละลายได้ที่ pH 6 ซึ่งมีความใกล้เคียงกับความเป็นกรดต่างในช่องปากคือ pH 6.4 ซึ่งเมื่อนำฟิล์มมาปิดบริเวณแผล แผ่นฟิล์มจะค่อยๆ ปลดปล่อยตัวยาวออกมาช้าๆ

ขั้นตอนการเตรียมแผ่นรองหลังของฟิล์ม

1. ชั่ง Eudragit[®] L 100 มา 1 กรัม
2. ค่อยๆ โปรม Eudragit[®] L 100 ลงใน isopropanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คนให้ละลายโดย magnetic stirrer ประมาณ 2 ชั่วโมง
3. ตวง Eudragit[®] L 100 ปริมาตร 7 มิลลิลิตร เททับลงบนแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง รอให้ฟิล์มแห้ง



รูปที่ 3-6 แสดงลักษณะฟิล์มที่เททับด้วยแผ่นรองหลังของฟิล์ม

บทที่ 4

รายงานผลและอภิปรายการศึกษา

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

1. ผลการศึกษาลักษณะภายนอกของฟิล์ม

ลักษณะภายนอกของฟิล์มที่ทำการสังเกต ได้แก่ สี ความใส ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความสม่ำเสมอของเนื้อฟิล์ม นอกจากนี้การลอกฟิล์มเพื่อให้ได้ฟิล์มที่มีความสวยงามก็มีความสำคัญต่อการคัดเลือกฟิล์ม เช่นเดียวกัน ซึ่งผลการสังเกตของแต่ละสูตรทำเป็นดังนี้

1.1 ผลการเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโตะซาน เจลาตินเอ และกลีเซอริน

ตารางที่ 4-1 แสดงลักษณะฟิล์มที่เตรียมจากโคโตะซาน เจลาตินเอ และกลีเซอริน

สูตรตำรับ	ผลการทดลอง
$A_{0.5}G_2C_{85.5}$	ฟิล์มมีลักษณะบาง สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้ยาก ขาดง่าย
$A_{0.5}G_4C_{83.5}$	ฟิล์มมีลักษณะบาง สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้ยาก
$A_{0.5}G_6C_{81.5}$	ฟิล์มมีลักษณะหนา สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้ ฟิล์มย่น ขาดง่าย
$A_1G_2C_{73}$	ฟิล์มมีลักษณะบาง สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้
$A_1G_4C_{71}$	ฟิล์มมีลักษณะบาง สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลื่น มันเงา ลอกออกเป็นแผ่นได้
$A_1G_6C_{69}$	ฟิล์มมีลักษณะหนา สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้ เหนียวติดกัน
$A_{1.5}G_2C_{60.5}$	ฟิล์มมีลักษณะบาง สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้
$A_{1.5}G_4C_{58.5}$	ฟิล์มมีลักษณะบาง สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้
$A_{1.5}G_6C_{56.5}$	ฟิล์มมีลักษณะหนา สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้ เหนียวติดกัน
$A_2G_2C_{46}$	ฟิล์มมีลักษณะหนา สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลื่น ลอกออกเป็นแผ่นได้
$A_2G_4C_{46}$	ฟิล์มมีลักษณะหนา สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน เหนียวติดกัน ลอกออกเป็นแผ่นได้
$A_2G_6C_{44}$	ฟิล์มมีลักษณะหนา สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน เหนียวติดกัน ไม่แห้งดี ลอกเป็นแผ่น

จากตารางที่ 4-1 แสดงให้เห็นว่าสูตรตำรับที่ใช้กลีเซอรินเป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ทุกอัตราส่วนให้ฟิล์มที่มีสีเหลืองอ่อน มีความใส เป็นเนื้อเดียวกันและลอกเป็นแผ่นได้ แม้ว่าบางอัตราส่วนทำให้สามารถลอกฟิล์มออกมาเป็นแผ่นที่สวยงามได้ยาก เนื่องจากฟิล์มติดเพลทมากเกินไปทำให้ฟิล์มขาดหรือฟิล์มขึ้นมากทำให้ฟิล์มเหนียวติดกันเองและย่น

1.2 ผลการเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโคซาน เจลาตินเอ และซอร์บิทอล

ตารางที่ 4-2 แสดงลักษณะฟิล์มที่เตรียมจากโคโคซาน เจลาตินเอ และซอร์บิทอล

สูตรตำรับ	ผลการทดลอง
$A_{0.5}S_2C_{84.647}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{0.5}S_4C_{81.787}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{0.5}S_6C_{78.927}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_1S_2C_{72.147}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_1S_4C_{69.287}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_1S_6C_{66.427}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{1.5}S_2C_{59.647}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{1.5}S_4C_{56.787}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{1.5}S_6C_{53.927}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_2S_2C_{47.147}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_2S_4C_{44.287}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_2S_6C_{41.427}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้

จากตาราง 4-2 จะเห็นว่า ตำรับที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ทุกอัตราส่วนเกิดฟิล์มที่แห้งติดเพลทจนไม่สามารถลอกออกเป็นแผ่นได้ ซึ่งไม่มีคุณสมบัติตามที่ต้องการ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะไม่นำซอร์บิทอลมาใช้ในการตั้งตำรับฟิล์มปิดแผลอื่นใน

1.3 ผลการเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโคซาน เจลาตินเอ และโพรพิลีนไกลคอล

ตารางที่ 4-3 แสดงลักษณะฟิล์มที่เตรียมจากโคโคซาน เจลาตินเอ และโพรพิลีนไกลคอล

สูตรตำรับ	ผลการทดลอง
$A_{0.5}PG_2C_{85.5}$	ฟิล์มมีลักษณะหยาบแห้ง สีเหลืองเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย
$A_{0.5}PG_4C_{83.5}$	ฟิล์มมีลักษณะหยาบแห้ง สีเหลืองเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย
$A_{0.5}PG_6C_{81.5}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_1PG_2C_{73}$	ฟิล์มมีลักษณะหยาบแห้ง สีเหลืองเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย
$A_1PG_4C_{71}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_1PG_6C_{69}$	ฟิล์มมีลักษณะหยาบ สีเหลืองเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย
$A_{1.5}PG_2C_{60.5}$	ฟิล์มมีลักษณะหยาบ สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย
$A_{1.5}PG_4C_{58.5}$	ฟิล์มมีลักษณะบางแห้ง สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย
$A_{1.5}PG_6C_{56.5}$	ฟิล์มมีลักษณะบางแห้ง สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย
$A_2PG_2C_{48}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_2PG_4C_{46}$	ฟิล์มมีลักษณะหนา หยาบ สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย
$A_2PG_6C_{44}$	ฟิล์มมีลักษณะหนา หยาบ สีเหลืองใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลอกออกได้ ง่ายดาย

จากตารางที่ 4-3 แสดงให้เห็นว่า ตำรับที่ใช้โพรพิลีนไกลคอลเป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น โดยรวมให้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติไม่ดึ๋ง เนื่องจากฟิล์มมีลักษณะแห้ง หยาบ ขาดง่าย และบางอัตราส่วนเกิดฟิล์มที่ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะไม่นำโพรพิลีนไกลคอลมาใช้ในการตั้งตำรับฟิล์มปิดแผลร้อนใน

1.4 ผลการเตรียมสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโคโคซาน เจลาตินเอ และโพลีเอทิลีนไกลคอล

400

ตารางที่ 4-4 แสดงลักษณะฟิล์มที่เตรียมจากโคโคซาน เจลาตินเอ และโพลีเอทิลีนไกลคอล 400

สูตรตำรับ	ผลการทดลอง
$A_{0.5}PEG_2C_{85.5}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{0.5}PEG_4C_{83.5}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{0.5}PEG_6C_{81.5}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_1PEG_2C_{73}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_1PEG_4C_{71}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_1PEG_6C_{69}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{1.5}PEG_2C_{60.5}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{1.5}PEG_4C_{58.5}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_{1.5}PEG_6C_{56.5}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_2PEG_2C_{48}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_2PEG_4C_{46}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้
$A_2PEG_6C_{44}$	ฟิล์มแห้งติดเพลท ไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้

จากตารางที่ 4-4 แสดงให้เห็นว่า ตำรับที่ใช้โพลีเอทิลีนไกลคอล 400 เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ทุกอัตราส่วนให้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติไม่ดี เนื่องจากฟิล์มแห้งจนไม่สามารถลอกเป็นแผ่นได้ จึงเป็นไปได้ที่จะไม่นำโพลีเอทิลีนไกลคอล 400 มาใช้ในการตั้งตำรับฟิล์มปิดแผลร้อนใน

สูตรตำรับที่ใช้ sorbitol และ PEG 400 เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ให้ฟิล์มที่ไม่สามารถลอกได้

สูตรตำรับที่ใช้ propylene glycol เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ให้ฟิล์มที่แห้ง หยาบ และขาดง่าย

สูตรตำรับที่ใช้ glycerin เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ทุกอัตราส่วนให้ฟิล์มที่มีสีเหลืองอ่อน มีความใส และเป็นเนื้อเดียวกัน โดย ให้ฟิล์มที่สวยงาม นำใช้ และลอกเป็นแผ่นได้ จึงนำมาใช้ศึกษาต่อไป

2. ผลการศึกษาความหนาของฟิล์ม

ตำรับที่คัดเลือกเพื่อทำการศึกษา คือตำรับที่ใช้กิลีเซอรินเป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น และผลการวัดความหนาของฟิล์มที่ปราศจากสารรองหลังฟิล์ม เป็นดังนี้

ตารางที่ 4-5 แสดงผลการวัดความหนาของฟิล์มที่ปราศจาก Eudragit[®] เป็นสารรองหลังฟิล์ม

สูตรตำรับ	ความหนาของฟิล์ม (มิลลิเมตร)			ค่าเฉลี่ยความหนาของ ฟิล์ม (มิลลิเมตร)	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	จุดที่ 1	จุดที่ 2	จุดที่ 3		
$A_{0.5}G_2C_{85.5}$	0.130	0.100	0.150	0.127	0.025
$A_{0.5}G_4C_{83.5}$	0.120	0.125	0.140	0.128	0.010
$A_{0.5}G_6C_{81.5}$	0.140	0.220	0.28	0.213	0.070
$A_1G_2C_{73}$	0.115	0.120	0.110	0.115	0.005
$A_1G_4C_{71}$	0.070	0.080	0.070	0.073	0.006
$A_1G_6C_{69}$	0.190	0.230	0.250	0.223	0.031
$A_{1.5}G_2C_{60.5}$	0.138	0.196	0.332	0.222	0.100
$A_{1.5}G_4C_{58.5}$	0.165	0.150	0.135	0.150	0.015
$A_{1.5}G_6C_{56.5}$	0.240	0.270	0.280	0.263	0.021
$A_2G_2C_{48}$	0.23	0.24	0.185	0.218	0.029
$A_2G_4C_{46}$	0.195	0.150	0.115	0.153	0.040
$A_2G_6C_{44}$	0.210	0.230	0.310	0.250	0.053

จากตาราง 4-5 จะเห็นได้ว่าฟิล์มแผ่นเดียวกันมีความหนาไม่เท่ากัน โดยสูตรตำรับที่ใช้เจลาตินเอ ปริมาตร 3.75 มิลลิลิตร กลีเซอรินปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร และโคโคซานปริมาตร 10.65 มิลลิลิตร ($A_1G_4C_{71}$) ให้ฟิล์มบางที่สุดเท่ากับ 0.073 มิลลิเมตรโดยเฉลี่ย และพบว่าตำรับที่ใช้กลีเซอรินร้อยละ 6 ของตำรับ ให้ฟิล์มที่ค่อนข้างหนา กว่าอัตราส่วนอื่น ดังนั้น เป็นไปได้ว่าการเพิ่มปริมาณกลีเซอรินมีผลเพิ่มความหนาของฟิล์มมากขึ้น ซึ่งความหนาของฟิล์มที่ไม่สม่ำเสมอดังกล่าวอาจเนื่องมาจากพื้นที่ผิวของจานแก้วมีระนาบไม่สม่ำเสมอ โดย ความหนาของฟิล์มที่ได้มีผลต่อความยืดหยุ่นของฟิล์มด้วย

3. ผลการศึกษาความยืดหยุ่นของฟิล์ม

การศึกษาค่าความยืดหยุ่นโดยเครื่อง Instron สามารถบันทึกค่าแรงที่ทำให้ฟิล์มขาดเป็นแฉกรวม เนื่องจากการยืดของฟิล์มจนขาดเป็นการยืดด้านความยาวของฟิล์ม ซึ่งถือเป็นระยะทางที่ทำให้ฟิล์มขาด ดังนั้น พื้นที่ของฟิล์ม ณ เวลาที่ฟิล์มขาดจึงสามารถคำนวณโดยนำความหนาของฟิล์มแต่ละตำรับมาคูณระยะทางที่ทำให้ฟิล์มขาด ค่าความยืดหยุ่นที่คำนวณได้จากการทดลองจึงเป็นดังนี้

ตารางที่ 4-6 แสดงความยืดหยุ่นของฟิล์ม

สูตรตำรับ	ระยะทางที่ทำให้ฟิล์มขาด (mm)	ความหนาเฉลี่ยของฟิล์ม (mm)	พื้นที่ของฟิล์ม (mm ²)	แรงที่ทำให้ฟิล์มขาด (N)	Tensile strength (N/mm ²)
A _{0.5} G ₂ C _{85.5}	10.0	0.127	1.270	1.640	1.291
A _{0.5} G ₄ C _{83.5}	14.0	0.128	1.792	2.162	1.206
A _{0.5} G ₆ C _{81.5}	11.0	0.213	2.343	0.413	0.176
A ₁ G ₂ C ₇₃	12.0	0.115	1.380	2.894	2.097
A ₁ G ₄ C ₇₁	10.0	0.073	0.730	0.669	0.916
A ₁ G ₆ C ₆₉	20.0	0.223	4.460	1.345	0.301
A _{1.5} G ₂ C _{60.5}	18.0	0.222	3.996	2.450	0.613
A _{1.5} G ₄ C _{58.5}	14.0	0.150	2.100	0.798	0.380
A _{1.5} G ₆ C _{56.5}	20.0	0.263	5.260	0.352	0.067
A ₂ G ₂ C ₄₈	27.0	0.218	5.886	2.931	0.498
A ₂ G ₄ C ₄₆	22.0	0.153	3.366	1.014	0.301
A ₂ G ₆ C ₄₄	40.0	0.250	10.000	1.403	0.140

จากตารางที่ 4-6 แสดงให้เห็นว่าตำรับที่ประกอบด้วยเจลาตินเอ 3.75 มิลลิลิตร กลีเซอริน 0.3 มิลลิลิตร และ โคโตซาน 10.95 มิลลิลิตร (A₁G₂C₇₃) มีค่า tensile strength สูงที่สุด โดยพบว่าในสูตรตำรับที่มีปริมาณเจลาตินเอคงที่นั้น เมื่อลดปริมาณของกลีเซอรินลง พบว่ามีแนวโน้มทำให้ค่าความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น และเมื่อกำหนดให้ปริมาณกลีเซอรินคงที่ โดยเปลี่ยนแปลงให้ปริมาณของเจลาตินเอเพิ่มขึ้นและปริมาณของโคโตซานลดลง พบว่ามีแนวโน้มทำให้ค่าความยืดหยุ่นลดลงเช่นเดียวกัน

4. ผลการศึกษาหาความชื้นของฟิล์ม

ผลการหาความชื้นของฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด แสดงดังในตารางที่ 4-7 จากตารางที่ 4-7 แสดงให้เห็นว่าตำรับที่มีความชื้นสูงสุด คือตำรับที่ประกอบด้วยเจลาตินเอ 1.875 มิลลิลิตร กลีเซอริน 0.3 มิลลิลิตร และโคโตซาน 12.825 มิลลิลิตร (A_{0.5}G₂C_{85.5}) ความชื้นของตำรับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโคโตซานเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก ตัวทำละลายของโคโตซานมีองค์ประกอบของน้ำเป็นหลัก ดังนั้น ความชื้นของตำรับจึงมาจากปริมาณตัวทำละลายของโคโตซานที่มีในตำรับ

ตารางที่ 4-7 แสดงผลการวัดความชื้นของฟิล์ม

สูตรตำรับ	น้ำหนักเริ่มต้น ของฟิล์ม (กรัม)	ร้อยละความชื้นที่หายไป (Moisture loss, %)	ระยะเวลา ณ ความชื้น คงที่ (นาที)
A _{0.5} G ₂ C _{85.5}	0.157	35.67	5.0
A _{0.5} G ₄ C _{83.5}	0.174	32.76	4.0
A _{0.5} G ₆ C _{81.5}	0.373	20.38	4.5
A ₁ G ₂ C ₇₃	0.135	29.63	3.9
A ₁ G ₄ C ₇₁	0.153	26.80	4.2
A ₁ G ₆ C ₆₉	0.216	24.54	3.7
A _{1.5} G ₂ C _{60.5}	0.127	35.43	4.5
A _{1.5} G ₄ C _{58.5}	0.246	13.41	3.7
A _{1.5} G ₆ C _{56.5}	0.306	19.67	3.7
A ₂ G ₂ C ₄₈	0.132	18.94	2.9
A ₂ G ₄ C ₄₆	0.234	13.25	3.1
A ₂ G ₆ C ₄₄	0.353	13.31	3.2

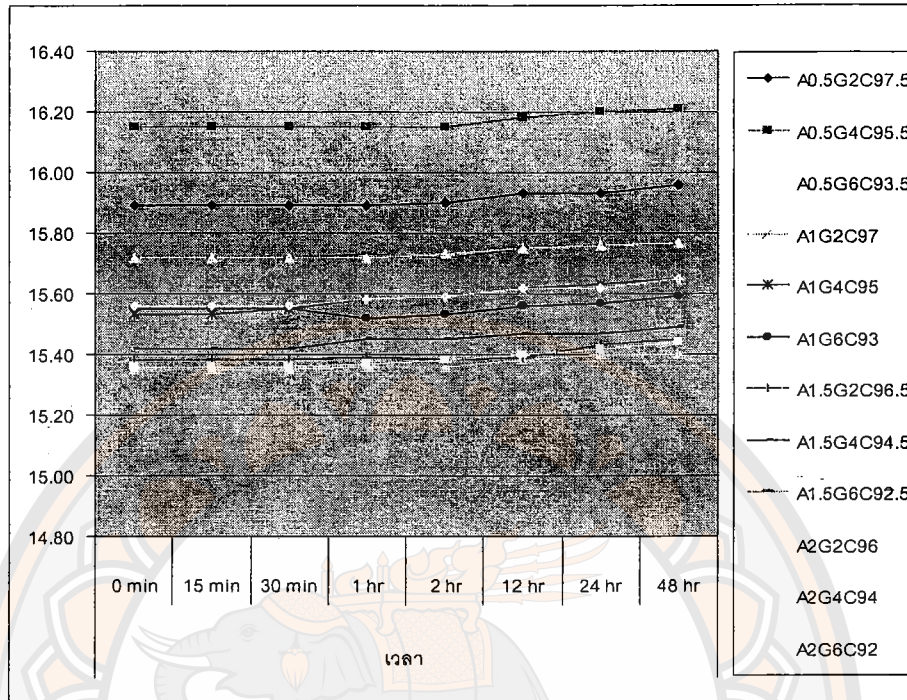
5. ผลการศึกษาการซึมผ่านของน้ำ (Water permeability test)

ฟิล์มที่มีการซึมผ่านของน้ำได้ดี จะส่งผลต่อการพองตัวของฟิล์มและทำให้มีการปลดปล่อยสารออกจากฟิล์มได้ดีขึ้น ผลการศึกษาการซึมผ่านของน้ำในฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดเปลือกมังคุดแสดงให้เห็นในตารางที่ 4-8

ตารางที่ 4-8 แสดงผลการศึกษาการซึมผ่านของน้ำในฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด

สูตรตำรับ	เวลา							
	0 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	12 hr	24 hr	48 hr
A _{0.5} G ₂ C _{85.5}	15.89	15.89	15.89	15.89	15.90	15.93	15.93	15.96
A _{0.5} G ₄ C _{83.5}	16.15	16.15	16.15	16.15	16.15	16.18	16.20	16.21
A _{0.5} G ₆ C _{81.5}	15.35	15.35	15.35	15.36	15.36	15.38	15.40	15.40
A ₁ G ₂ C ₇₃	15.55	15.55	15.55	15.55	15.57	15.59	15.60	15.61
A ₁ G ₄ C ₇₁	15.53	15.53	15.55	15.58	15.59	15.62	15.63	15.65
A ₁ G ₆ C ₆₉	15.55	15.55	15.55	15.52	15.53	15.56	15.57	15.59
A _{1.5} G ₂ C _{60.5}	15.38	15.38	15.38	15.39	15.38	15.39	15.43	15.45
A _{1.5} G ₄ C _{58.5}	15.42	15.42	15.42	15.45	15.45	15.47	15.47	15.49
A _{1.5} G ₆ C _{56.5}	15.72	15.72	15.72	15.73	15.72	15.75	15.76	15.77
A ₂ G ₂ C ₄₈	15.56	15.56	15.56	15.58	15.59	15.62	15.62	15.65
A ₂ G ₄ C ₄₆	15.36	15.36	15.36	15.37	15.38	15.40	15.42	15.44
A ₂ G ₆ C ₄₄	15.72	15.72	15.72	15.72	15.73	15.75	15.76	15.77

จากผลการศึกษาดังกล่าวสามารถนำมาสร้างกราฟเพื่อดูแนวโน้มของความสามารถในการซึมผ่านของน้ำได้ดังแสดงในรูปที่ 4-1



รูปที่ 4-1 กราฟแสดงผลการทดสอบการซึมผ่านของน้ำของฟิล์มที่ปราศจากสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ณ เวลาต่างๆ

จากกราฟจะเห็นได้ว่า ในระยะ 1 ชั่วโมงแรกฟิล์มยอมให้มีการซึมผ่านของน้ำต่ำมากและมีอัตราคงที่ไม่แตกต่างจากตอนเริ่มต้น แต่เมื่อเวลาผ่านไป ณ เวลานั้น ฟิล์มแต่ละตัวรับมีแนวโน้มในการเพิ่มการซึมผ่านของน้ำมากขึ้นและค่อยๆเพิ่มขึ้นที่เวลานานขึ้น

6. ผลการศึกษาการยึดติดของฟิล์ม

ผลของความสามารถของฟิล์มในการยึดติด โดยแสดงเป็นปริมาตรสารละลายที่ทำให้ฟิล์มหลุดและคำนวณกลับเป็นเวลาที่ยึดติดบนกระจกสไลด์ เมื่อทำการทดลองซ้ำจำนวน 6 ครั้งเป็นไปตามตารางที่ 4-9 และ 4-10 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความไม่แน่นอนในการยึดติดของฟิล์ม

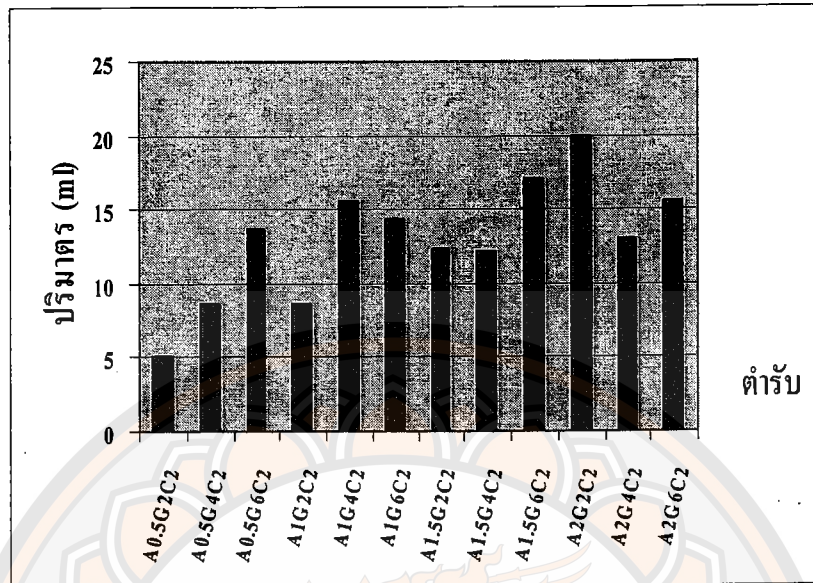
ตารางที่ 4-9 แสดงปริมาตรของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ทำให้ฟิล์มหลุดจากกระจกสไลด์

ตำรับ	ปริมาตรที่ทำให้ฟิล์มหลุด (ml)						เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	
$A_{0.5}G_2C_{85.5}$	5.90	4.20	3.60	9.10	4.50	2.70	5.00
$A_{0.5}G_4C_{83.5}$	9.30	10.20	6.70	7.10	3.20	9.70	7.70
$A_{0.5}G_6C_{81.5}$	23.60	4.30	15.20	10.00	20.0	8.50	13.60
$A_1G_2C_{73}$	7.00	6.90	2.20	5.00	23.40	7.00	8.58
$A_1G_4C_{71}$	8.00	6.10	8.90	15.20	20.50	34.60	15.55
$A_1G_6C_{69}$	17.80	14.30	13.80	19.90	4.50	15.50	14.30
$A_{1.5}G_2C_{60.5}$	11.30	8.00	18.10	7.00	5.80	24.10	12.38
$A_{1.5}G_4C_{58.5}$	23.70	5.50	15.50	8.00	18.00	2.10	12.13
$A_{1.5}G_6C_{56.5}$	12.10	22.00	4.20	23.70	26.30	13.80	17.01
$A_2G_2C_{48}$	25.00	22.40	12.90	21.00	19.20	19.50	20.00
$A_2G_4C_{46}$	23.00	10.00	7.50	19.00	8.20	9.90	12.93
$A_2G_6C_{44}$	25.10	23.40	11.80	4.40	23.70	6.40	15.80

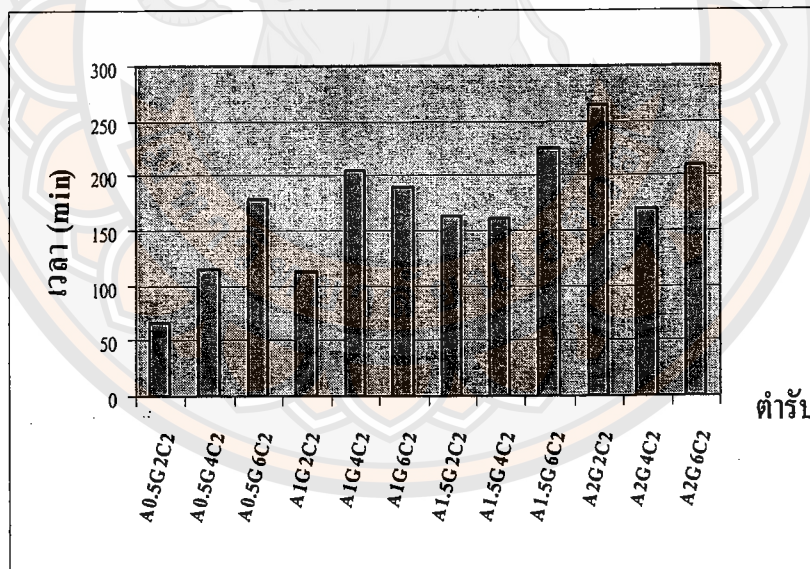
ตารางที่ 4-10 แสดงเวลาที่ทำให้ฟิล์มสามารถยึดติดกับกระจกสไลด์

ตำรับ	เวลาที่ทำให้ฟิล์มหลุด (วินาที)						เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	
$A_{0.5}G_2C_{85.5}$	77.88	55.44	47.52	120.12	59.40	35.64	66.00
$A_{0.5}G_4C_{83.5}$	122.76	134.64	88.44	93.72	42.24	128.04	107.64
$A_{0.5}G_6C_{81.5}$	311.52	56.76	200.64	132.00	264.00	112.20	179.52
$A_1G_2C_{73}$	92.40	91.08	29.04	66.00	308.88	92.40	113.30
$A_1G_4C_{71}$	105.60	80.52	117.48	200.64	270.60	456.72	205.26
$A_1G_6C_{69}$	234.96	188.76	182.16	262.68	59.40	204.60	188.76
$A_{1.5}G_2C_{60.5}$	149.16	105.60	238.92	92.40	76.56	318.12	163.46
$A_{1.5}G_4C_{58.5}$	312.84	72.60	204.60	105.60	237.60	27.72	160.16
$A_{1.5}G_6C_{56.5}$	159.72	290.40	55.44	312.84	347.16	182.16	224.62
$A_2G_2C_{48}$	330.00	295.68	170.28	277.20	253.44	257.40	264.00
$A_2G_4C_{46}$	303.60	132.00	99.00	250.80	108.24	130.68	170.72
$A_2G_6C_{44}$	331.32	308.88	155.76	58.08	312.84	84.48	208.56

จากข้อมูลที่ได้ นำมาสร้างเป็นกราฟแสดงปริมาณของสารละลายที่ใช้และเวลาที่ทำให้ฟิล์มหลุดจากกระจกใส ดังรูปที่ 4-2 และ 4-3



รูปที่ 4-2 แผนภูมิแสดงปริมาณของสารละลายยฟเฟอร์ที่ทำให้ฟิล์มหลุดจากกระจกใส



รูปที่ 4-3 แผนภูมิแสดงเวลาที่ฟิล์มสามารถยึดติดกับกระจกใส

ผลการศึกษาการแยกองค์ประกอบสารด้วย เทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC)

ผลการศึกษาเมื่อทดลองหาระบบของ mobile phase ที่เหมาะสมในครั้งแรก พบว่าเมื่อใช้อัตราส่วนของระบบ mobile phase ซึ่งได้แก่

คลอโรฟอร์ม (CHCl_3) : เฮกเซน (Hexane) (1 : 9)

คลอโรฟอร์ม (CHCl_3) : เฮกเซน (Hexane) (3 : 1)

คลอโรฟอร์ม (CHCl_3) : เมทานอล (MeOH) (9 : 1)

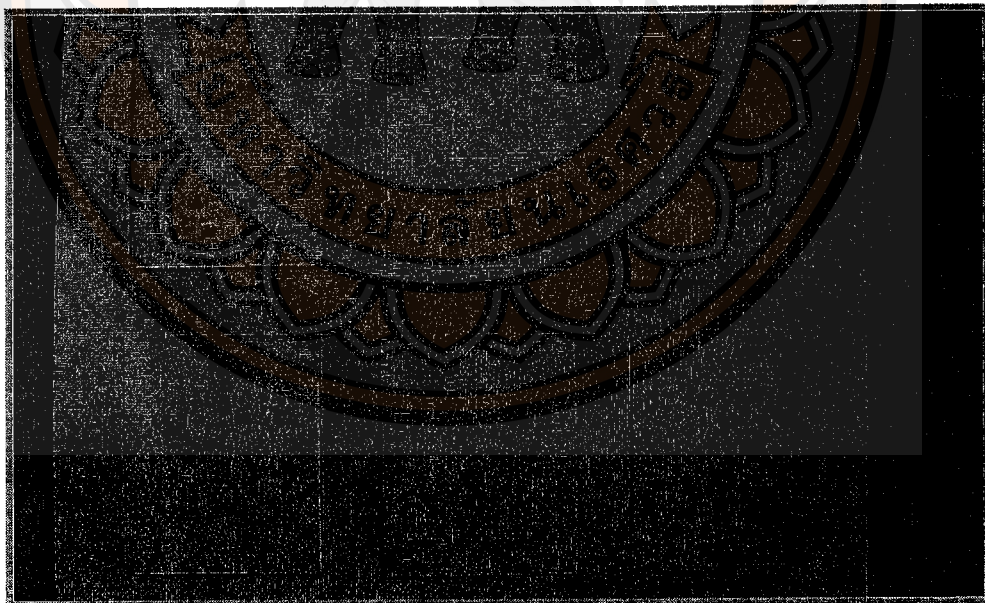
ภายใต้อุณหภูมิห้อง 28 องศาเซลเซียส ให้ผลการแยกสารที่ไม่ชัดเจน spot ที่ได้ค่อนข้างติดกันเป็นกลุ่ม จึงทำการเปลี่ยนแปลงระบบของ mobile phase โดยใช้อัตราส่วนดังนี้

CHCl_3 : Hexane : MeOH (9 : 1 : 0.5)

CHCl_3 : Hexane (9 : 1)

CHCl_3 : Ethylacetate (1 : 1)

เมื่อตรวจสอบด้วยการส่องดูภายใต้แสง UV พบว่าระบบที่สามารถแยกสารออกจากกันได้ชัดเจนที่สุดคือ CHCl_3 : Hexane : MeOH (9 : 1 : 0.5) โดยสารละลายของสารสกัดเปลือกมังคุดที่นำมาทดสอบทั้ง 4 ชนิด มี spot ของสารอยู่ในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกัน และ spot ของสารตัวอย่างแต่ละชนิดแยกออกจากกันได้ชัดเจน ไม่ติดกันเป็นกลุ่ม และเมื่อตรวจสอบด้วยการฉีดพ่นสารเคมีลงบนโครมาโตแกรม พบว่า spot ของสารให้สีที่แตกต่างกัน ออกไปอย่างชัดเจน ดังนั้น ระบบของ mobile phase ดังกล่าวจึงเป็นระบบที่ควรนำมาใช้ run TLC ในครั้งต่อไป ส่วนโครมาโตแกรมที่ได้สามารถใช้เปรียบเทียบตำแหน่งของสารที่แยกได้กับโครมาโตแกรมจากการ run TLC ในครั้งต่อไป



รูปที่ 4-4 แสดงผลการแยกสารด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์ม

จากการทดสอบหาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์ม โดยวิธี Disc diffusion method แล้วอ่านค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบฟิล์ม (Inhibition zone) ที่มีสารสกัดเปลือกผลมังคุดความเข้มข้นแตกต่างกัน และมีกลุ่มควบคุม คือ ฟิล์มเปล่าที่ปราศสารสกัดเปลือกผลมังคุด จากผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4-11

ตารางที่ 4-11 แสดงผลการทดสอบหาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์ม

ความเข้มข้น ของสารสกัด มังคุด(w / v)	เส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone ของฟิล์ม (มิลลิเมตร)					ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง ของ Inhibition zone ของ ฟิล์ม (มิลลิเมตร)
	แผ่นที่1	แผ่นที่2	แผ่นที่3	แผ่นที่4	control	
0.01	6.5	6.5	7.0	6.5	7.0	6.625
0.05	ไม่พบ	6.5	7.0	6.5	7.0	6.67
0.1	6.5	8.5	10.0	9.0	6.5	8.5

จากตารางที่ 4-11 แสดงผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดร้อยละ 0.01 และ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของตัวรับ เกิด Inhibition zone ในขนาดที่ใกล้เคียงกับ Inhibition zone ของกลุ่มควบคุม โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.625, 6.670 และ 6.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 พบว่ามีค่า Inhibition zone เพิ่มขึ้นเป็น 8.5 มิลลิเมตร ซึ่งมากกว่าค่า Inhibition zone ของกลุ่มควบคุม จึงเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุดร้อยละ 0.01 และ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของตัวรับ อาจเกิดการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากฤทธิ์ของ acetic acid หรือ chitosan ในตัวรับได้ เพราะมี inhibition zone ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม แต่ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุดร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของตัวรับ นั้นเป็นไปได้ว่าเกิดจากฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดเอง

ผลการศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์ม

การหาความเข้มข้นของสารที่ปลดปล่อยออกมาจากฟิล์ม ต้องทำการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อทำการเปรียบเทียบก่อน สำหรับสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ใช้หากราฟมาตรฐาน ควรทราบความเข้มข้นล่วงหน้าและทำการหาค่าการดูดซับของแสงอุลตราไวโอเล็ต (UV) ซ้ำ 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย จากตารางที่ 4-12 เป็นการแสดงค่าการดูดซับแสง UV โดยเฉลี่ยและความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาหากราฟมาตรฐาน

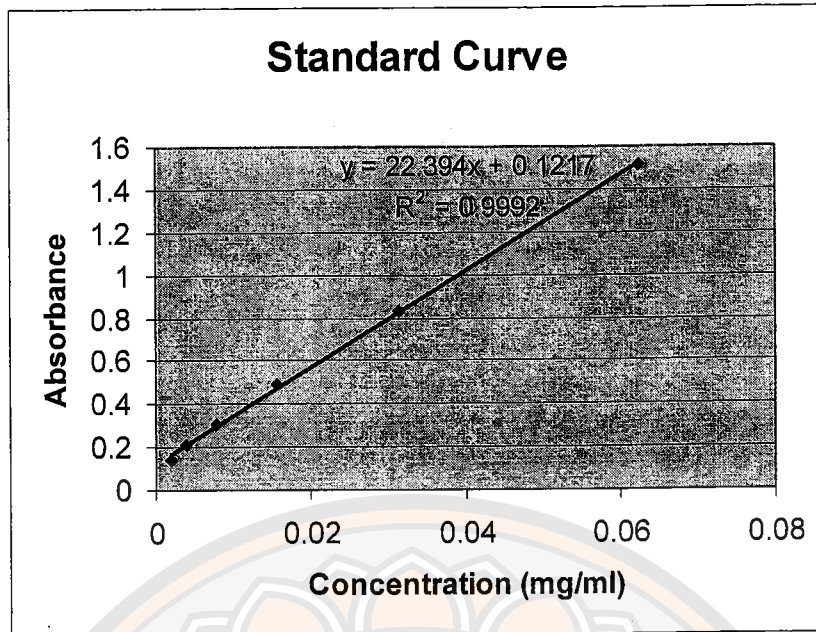
ตารางที่ 4 -12 แสดงความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดและค่าการดูดซับแสง UV ของแต่ละความเข้มข้น

Standard	Concentration (mg/ml)	Mean	Readings
Std 1	0.001954	0.1393	0.1373
			0.1397
			0.1410
Std 2	0.003907	0.2107	0.2100
			0.2108
			0.2112
Std 3	0.007813	0.3065	0.3055
			0.3067
			0.3072
Std 4	0.015625	0.4859	0.4849
			0.4857
			0.4873
Std 5	0.031250	0.8306	0.8304
			0.8304
			0.8309
Std 6	0.062500	1.5127	1.5123
			1.5111
			1.5147

จากตารางที่ 4-12 สามารถสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดกับค่าการดูดซับแสง UV ได้ดังรูปที่ 4-5 โดยสมการของกราฟดังกล่าวเป็นดังนี้

$$\text{Abs} = 22.39400 \times \text{Conc} + 0.12168$$

$$\text{มีค่า Correlation Coefficient (R}^2\text{)} = 0.99915$$



รูปที่ 4-5 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายของสารสกัดเปลือกมังคุด

ผลการปลดปล่อยสารจากฟิล์มผสมสารสกัดเปลือกมังคุด แสดงผลเป็นความเข้มข้นของสารละลายที่เก็บ ณ เวลาต่างๆ ดังตารางที่ 4-13 โดยความเข้มข้นที่ได้คิดจากค่าการดูดซับแสงเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ตารางที่ 4-13 แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายที่เก็บ ณ เวลาต่างๆ หลังการปลดปล่อยสารจากฟิล์ม

Sample	Concentration (mg/ml)	Mean	Readings
(1) A ₁ G ₄ C ₇₁ 5 นาที	0.021171	0.5958	0.5948 0.5957 0.5968
(1) A ₁ G ₄ C ₇₁ 10 นาที	0.016341	0.4876	0.4863 0.4874 0.4891
(1) A ₁ G ₄ C ₇₁ 15 นาที	0.010924	0.3663	0.3664 0.3658 0.3667
(1) A ₁ G ₄ C ₇₁ 20 นาที	0.008414	0.3102	0.3087 0.3101 0.3117

ตารางที่ 4-13 แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายที่เก็บ ณ เวลาต่างๆหลังการปลดปล่อยสารจากฟิล์ม (ต่อ)

Sample	Concentration (mg/ml)	Mean	Readings
(1) A ₁ G ₄ C ₇₁ 25 นาที	0.005469	0.2441	0.2431 0.2445 0.2448
(1) A ₁ G ₄ C ₂ 30 นาที	0.002869	0.1859	0.1847 0.1853 0.1878
(1) A ₁ G ₄ C ₇₁ 35 นาที	0.002757	0.1834	0.1821 0.1834 0.1847
(1) A ₁ G ₄ C ₂ 40 นาที	0.001216	0.1489	0.1476 0.1489 0.1502
(1) A ₁ G ₄ C ₇₁ 45 นาที	-0.000366	0.1135	0.1126 0.1138 0.1140
(2) A ₁ G ₄ C ₇₁ 5 นาที	0.019150	0.5505	0.5503 0.5502 0.5510
(2) A ₁ G ₄ C ₇₁ 10 นาที	0.014623	0.4491	0.4478 0.4495 0.4501
(2) A ₁ G ₄ C ₂ 15 นาที	0.011148	0.3713	0.3704 0.3717 0.3718
(2) A ₁ G ₄ C ₇₁ 20 นาที	0.007988	0.3006	0.3001 0.2996 0.3020
(2) A ₁ G ₄ C ₇₁ 25 นาที	0.005550	0.2460	0.2458 0.2455 0.2446

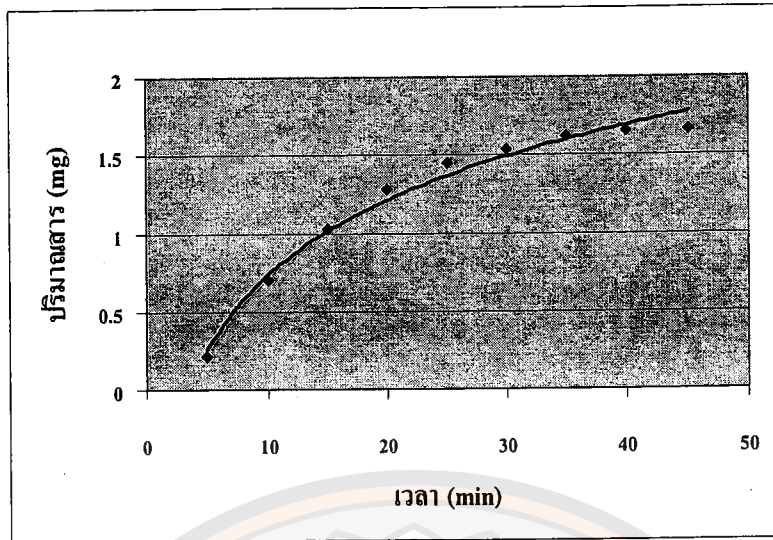
ตารางที่ 4-13 แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายที่เก็บ ณ เวลาต่างๆหลังการปลดปล่อยสารจากฟิล์ม (ต่อ)

Sample	Concentration (mg/ml)	Mean	Readings
(2) A ₁ G ₄ C ₇₁ 30 นาที	0.003312	0.1958	0.1952 0.1961 0.1962
(2) A ₁ G ₄ C ₇₁ 35 นาที	0.001864	0.1634	0.1623 0.1640 0.1640
(2) A ₁ G ₄ C ₇₁ 40 นาที	0.000529	0.1335	0.1321 0.1338 0.1347
(2) A ₁ G ₄ C ₇₁ 45 นาที	-0.000320	0.1145	0.1133 0.1145 0.1158

จากตารางที่ 4-13 จะเห็นได้ว่าทุกตัวรับมีการปลดปล่อยสารจากฟิล์มมากที่สุดภายใน 5 นาทีแรก จากนั้นการปลดปล่อยสารจะค่อยๆลดลง จนกระทั่งสารถูกปลดปล่อยออกจากฟิล์มจนหมดที่เวลา 45 นาที และเมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบระหว่างสูตรตัวรับเดียวกัน พบว่าแม้จะมีการปลดปล่อยสารในช่วง 5 นาทีแรกเหมือนกัน แต่ความเข้มข้นของสารละลายที่เก็บมีความแตกต่างกัน ซึ่งจากข้อมูลข้างต้น สามารถนำมาคำนวณหาค่ามวลรวมของสารที่ปลดปล่อยออกมา และนำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมาได้ ดังตารางที่ 4-14 และรูปที่ 4-6

ตารางที่ 4-14 แสดงมวลของสารที่ปลดปล่อยจากฟิล์มที่เวลาต่างๆกัน

เวลาที่เก็บ	Absorbance	Concentration (mg/ml)	Mass (mg)	Mass remove (mg)	Mass residual (mg)	Cumulative Mass (mg)
5 นาที	0.5958	0.021171	0.63513	0.21171	-	0.63513
10 นาที	0.4876	0.016341	0.49023	0.16341	0.32682	0.70194
15 นาที	0.3663	0.010924	0.32772	0.10924	0.21848	1.02966
20 นาที	0.3102	0.008414	0.25242	0.08414	0.16828	1.28208
25 นาที	0.2441	0.005469	0.16407	0.05469	0.10938	1.44615
30 นาที	0.1859	0.002869	0.08607	0.02869	0.05738	1.53222
35 นาที	0.1834	0.002757	0.08271	0.02757	0.05514	1.61493
40 นาที	0.1489	0.001216	0.03648	0.01216	0.02432	1.65141
45 นาที	0.1135	0.000366	0.01098	0.00366	0.01464	1.66239



รูปที่ 4-6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมาจากฟิล์มกับเวลา

จากกราฟจะเห็นได้ว่า ทุกตัวรับมีการปลดปล่อยสารจากฟิล์มมากที่สุดใน 15 นาทีแรก โดยเริ่มปลดปล่อยตั้งแต่ 5 นาทีแรก จากนั้นการปลดปล่อยจะเพิ่มขึ้นในอัตราที่ลดลง ลักษณะดังกล่าวน่าจะส่งผลดีต่อประสิทธิภาพของฟิล์มที่นำไปใช้ ซึ่งแม้จะมีอัตราการซึมผ่านของน้ำค่อนข้างต่ำก็ตาม

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

สูตรตำรับที่คัดเลือกในการเตรียมฟิล์มปิดแผลร้อนใน น่าจะเป็นสูตรตำรับที่ประกอบด้วยเจลาติน เอ 3.75 มิลลิลิตร กลีเซอริน 0.6 มิลลิลิตร และโคโตซาน 10.65 มิลลิลิตร ($A_1G_4C_{71}$) เนื่องจากให้ตำรับที่มีลักษณะภายนอกสวยงาม คือ มีสีเหลืองอ่อน ใส เป็นเนื้อเดียวกัน ลื่น เป็นมันเงา ลอกจากจานแก้วได้ง่าย และมีความบางกว่าสูตรตำรับอื่น ทำให้เกิดความรำคาญน้อยเมื่อนำไปใช้ปิดแผลร้อนใน แม้จะมีการยึดติดและความยืดหยุ่นของฟิล์มอยู่ในระดับปานกลาง นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุดในตำรับแล้วให้ฟิล์มที่มีความสวยงาม เป็นเนื้อเดียวกัน ลื่น เป็นมันเงา และลอกง่ายเช่นเดิม

เมื่อพิจารณาสูตรตำรับ พบว่าการเพิ่มปริมาณ glycerin มีผลให้ความหนาของฟิล์มเพิ่มขึ้น และความยืดหยุ่นจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อลดความเข้มข้นของ glycerin ในตำรับ ซึ่งผูกพันกับคุณสมบัติการเป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่นของ glycerin ในขณะที่ความชื้นของตำรับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ chitosan เพิ่มขึ้น เนื่องจากขึ้นกับปริมาณน้ำในตำรับซึ่งเป็นตัวทำละลายของ chitosan และความสามารถในการยึดติดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ gelatin A

การเตรียมฟิล์มผสมสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของตำรับสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้และให้ฟิล์มที่มีความสวยงาม นอกจากนี้ฟิล์มยังมีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารสำคัญได้เร็วตั้งแต่ 5 นาทีแรก

สารรองหลังฟิล์มที่ทับด้านบนของฟิล์มจะมีคุณสมบัติในการป้องกันไม่ให้ฟิล์มติดกับเนื้อเยื่ออื่นที่ไม่ใช่แผลร้อนใน ซึ่งอาจทำให้ฟิล์มหลุดได้ง่าย โดยสารรองหลังฟิล์มมีคุณสมบัติละลายได้ที่ค่าละลายใกล้เคียงน้ำลายคน ซึ่งสารรองหลังฟิล์มที่มีความเหมาะสมในตำรับนี้ คือ Eudragit[®] L 100

ฟิล์มปิดแผลร้อนในผสมสารสกัดมังคุดดังกล่าว สามารถนำทรัพยากรที่เหลือใช้แล้วมาทำให้เกิดประโยชน์ได้โดยมีต้นทุนต่ำ

ข้อเสนอแนะ

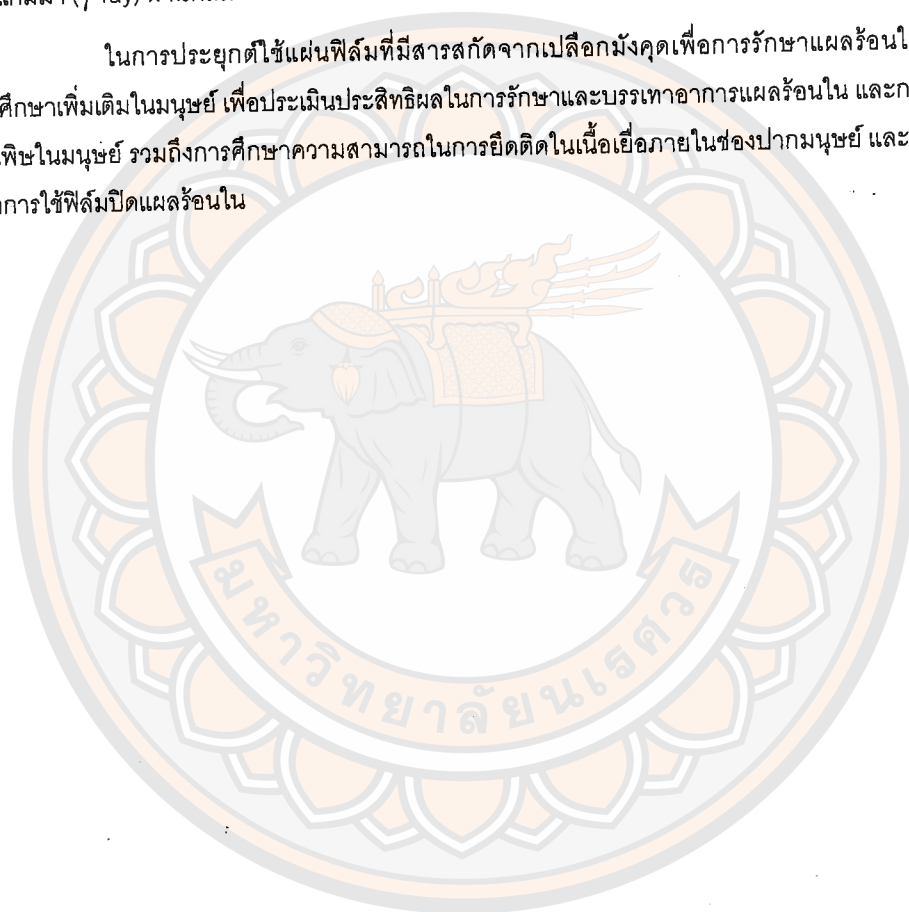
เนื่องจากในสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ต่อสาร cyclooxygenase - 1, 2 ควรศึกษาเพิ่มเติมถึงฤทธิ์ในการต้านการอักเสบที่แน่นอนของสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยการทดสอบดังกล่าวจำเป็นต้องใช้สารสกัดที่บริสุทธิ์แล้วเท่านั้น ซึ่งในการศึกษานี้ไม่สามารถทดสอบได้เพราะสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ได้เป็นสารสกัดหยาบ นอกจากนี้อาจทำการศึกษาศักยภาพต้านการอักเสบที่มีต่อสาร histamine เพิ่มเติม แต่ต้นทุนในการศึกษานั้นสูงและไม่คุ้มค่าหากทดสอบสารจำนวนน้อย

ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดพ แบคทีเรียที่นำมาใช้ทดสอบคือ *S. aureus* ซึ่งมีจำนวนไม่มากนักในช่องปาก จึงควรทำเพิ่มเติมการศึกษาศักยภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่พบมากภายในช่องปาก เช่น เชื้อ *Streptococcus viridans*

polymethacrylate เป็นโพลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีประจุบวกและประจุลบของ dimethacrylic acid ester ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน จึงสามารถเป็นสารละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ของแข็ง และกระจายตัวในน้ำ โดยอัตราส่วนของ acetone ต่อ propan - 2 - ol (60 : 40) เป็นสารละลายอินทรีย์ที่ใช้มากที่สุด นอกจากนี้ชนิดของ Eudragit[®] ที่ต่างกันจะละลายได้ในค่า pH ที่แตกต่างกัน

การพัฒนาารูปแบบยาให้มีความสวยงามน่าใช้ยิ่งขึ้นได้ โดยการใช้บัวเทพลอนที่มีความสม่ำเสมอของระนาบ การลดปริมาณสารในตำรับลงในอัตราส่วนที่เท่ากัน จะทำให้ฟิล์มบางขึ้น และมีความหนาเหมาะสมในการนำไปใช้หลังจากเททับด้วยสารรองหลังฟิล์มแล้ว นอกจากนี้ควรพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ให้มีความเหมาะสมกับแผลร้อนในในแต่ละขนาด และมีความน่าใช้จากการแต่งสี กลิ่น รสชาติที่เข้ากันได้ เช่น อาจผสมเมนทอลลงในสารรองหลังฟิล์ม และเพื่อให้สูตรตำรับมีความปราศจากเชื้อได้ ควรทำการการอบด้วยแก๊สเอทิลีน (ethylene) หรือการฉายรังสีแกมมา (γ -ray) ผ่านฟิล์ม

ในการประยุกต์ใช้แผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อการรักษาแผลร้อนในนั้น จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในมนุษย์ เพื่อประเมินประสิทธิภาพในการรักษาและบรรเทาอาการแผลร้อนใน และการศึกษาความเป็นพิษในมนุษย์ รวมถึงการศึกษาความสามารถในการยึดติดในเนื้อเยื่อภายในช่องปากมนุษย์ และความพึงพอใจจากการใช้ฟิล์มปิดแผลร้อนใน



เอกสารอ้างอิง

1. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic basis of disease. 5th edition, Philadelphia; W.B. Saunders Company. 1994; 736.
2. ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. หลากเรื่อง-หลายรสไม้ผลไทย. กรุงเทพฯ: มาสเตอร์การพิมพ์; 2546
3. สมศักดิ์ วรรณศิริ. มังคุด. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: ศูนย์ผลิตตำราการเกษตรเพื่อชนบท
4. Kan TA, Peh KK, Ch'ng HS. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing. J Pharm Pharmaceut Sci 2000; 3(3): 303-11.
5. Anthony C. A review of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.). Personal care 2004; 15-8.
6. Gopalakrishnan G, Banumathi G, Suresh G. Evaluation of the antifungal activity of natural xanthenes from *Garcinia mangostana* and their synthetic derivatives. J Nat Prod 1997; 60: 519-24.
7. Nakatani K, Nakahata N, Arakawa T, Yasuda H, Ohizumi Y. Inhibition of cyclooxygenase and prostaglandin E₂ synthesis by γ -mangostin, a xanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cells. Biochem Pharmacol 2002; 63: 73-9.
8. Nakatani K, Atsumi M, Arakawa T, Oosawa K, Shimura S, Nakahata N, et al. Inhibition of histamine release and prostaglandin E₂ synthesis by mangosteen, a Thai medicinal plant. Biol Pharm Bull 2002; 25(9): 1137-41.
9. Pramyothin P, Sapwarabol S, Ruangrungsri N. Hepatotoxicity effect of xanthenes extracted from rind of *Garcinia mangostana* in isolated rat hepatocytes. J Pharm Sci 2003; 27(3-4):123-9.
10. สุภาภรณ์ บัวเพิ่มพูนศิริ. Staphylococcus and Micrococcus. ใน: พิพัฒน์ ศรีเบญจลักษณ์, อรุณลักษณ์ ลุฑิตานนท์, บรรณาธิการ. แบคทีเรียวิทยาคลินิก.ขอนแก่น: ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2540. หน้า 1-11.
11. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. Handbook of Pharmaceutical excipients. 4th ed, London; APhA. 2003;132-4.
12. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. Handbook of Pharmaceutical excipients. 4th ed, London; APhA. 2003;252-4.
13. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. Handbook of Pharmaceutical excipients. 4th ed, London; APhA. 2003;257-9.
14. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. Handbook of Pharmaceutical excipients. 4th ed, London; APhA. 2003;596-9.
15. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. Handbook of Pharmaceutical excipients. 4th ed, London; APhA. 2003;462-7.
16. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. Handbook of Pharmaceutical excipients. 4th ed, London; APhA. 2003;15-9.

17. Gennaro AR, editors. Remington: The science and practice of Pharmacy. 9th ed. Easton: MACK publishing company; 1995.

