

การเตรียมพอลิเมอร์คอมโพสิตของไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราริน

Preparation of Polymer Composites using Chitosan and Carageenan for Controlled Release of Puerarin



โดย
นายจิรพัฒน์ พงษ์สกุล
นางสาววิรยา สิงห์โต

รายงานเล่มนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

เรื่อง การเตรียมพอลิเมอร์คอมโพสิตของโคโตะซานและคาร์บอนสำหรับควบคุมการปลดปล่อย
พิวรีน

โดย นายจิรพัฒน์ พงษ์สกุล
และนางสาววิริยา สิงห์โต

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ


..... ประธานกรรมการ

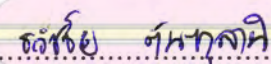
(รองศาสตราจารย์ ดร. นวลพรรณ จันทศิริ)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เหมือนสิน)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม


(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ฌรงค์ ประไพรัชสิทธิ์)


..... กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. วรัชชัย ต้นทุลานี)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี


คณาจารย์
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


..... (รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วัน 22 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2558

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ	การเตรียมพอลิเมอร์คอมโพสิตของไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวรีน		
ชื่อนิติดีในโครงการ	นายจิรพัฒน์ พงษ์สกุล	5433070123	
	นางสาววิรยา สิงห์โต	5433141023	
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช	เหมืองสิน	
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์	ประไพรัชสิทธิ์	
ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ปีการศึกษา 2557		

บทคัดย่อ

การควบคุมการปลดปล่อยพิวรีนโดยใช้บีดไคโตซานและคาราจีแนนเพื่อการศึกษา โดยนำพิวรีน, ไคโตซานและคาราจีแนนมาควนให้เป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิห้อง ทำการขึ้นรูปบีดโดยหยดในสารละลายผสมระหว่างโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตและโพแทสเซียมคลอไรด์ จากนั้นพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี และหาเปอร์เซ็นต์การกักเก็บยา (%Encapsulation) ด้วยเทคนิคยูวีวิซิเบิลสเปกโตรสโคปีทำให้ทราบว่าบีดสามารถกักเก็บยาได้ ที่อัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวรีนเท่ากับ 1:2 ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การกักเก็บยาที่สูงที่สุดเท่ากับ 88.9% จากนั้นนำมาศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยพิวรีนในสภาวะจำลองบริเวณกระเพาะอาหาร (pH 1.2), ลำไส้เล็กตอนต้น (pH 6.4) และลำไส้เล็กตอนปลาย (pH 7.4) พบว่าบีดสามารถยึดระยะเวลาการปลดปล่อยพิวรีนได้มากกว่า 6 ชั่วโมงและปลดปล่อยออกมาจนหมดภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำสำคัญ : ไคโตซาน, คาราจีแนน, พิวรีน, การควบคุมการปลดปล่อยยา

Title Preparation of Polymer Composites using Chitosan and Carrageenan for Controlled Release of Puerarin

Student name Mr. Jirapatt pongskul ID 5433070123
MissWiraya Singhto ID 5433141023

Advisor Associate Professor Dr. Nongnuj Muangsin

Co-advisor Assistant Professor Dr. Narong Praphairaksit

Department of chemistry, Faculty of science, Chulalongkorn University, Academic year 2014

Abstract

The controlled release of Puerarin using Chitosan and Carrageenan have been studied. Chitosan, Carageenan and Puerarin were stirred until becoming homogeneous at room temperature. The mixtures were subsequently dropped into NaOH solution and KCl solution to form beads. These beads were characterized using FT-IR. The optimal formulation was obtained with Chitosan and Carrageenan/Puerarin proportion of 1/2. This formulation yielded the highest percentage of encapsulation of 88.9%. The controlled release of Puerarin in the simulated gastrointestinal condition, Stomach (pH 1.2), Duodenum (pH 6.4) and Ileum (pH 7.4) were investigated. The developed formulation was able to prolong the release of Puerarin for more than 6 hours and can be released completely from the beads within 24 hours.

Keywords: Chitosan, Carageenan, puerarin, Drug controlled release

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำโครงการวิจัยนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เหมืองสินและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์ ประไพรัชสิทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือให้คำปรึกษา และถ่ายทอดประสบการณ์ต่างๆ ตลอดจนเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งเครื่องมือและสารเคมีในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร. รัชชัย ต้นทุลานิและรองศาสตราจารย์ ดร.นवलพรรณ จันทศิริ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าให้เกียรติเป็นกรรมการในโครงการวิจัยครั้งนี้และกรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบการแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลภา เอื่องไมตรีภิมย์ อาจารย์ผู้ประสานงานในรายวิชา senior Project รหัสรายวิชา 2302499 ที่คอยดูแลและให้คำปรึกษาในรายวิชานี้

ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของฝ่ายวิชาการจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และภาควิชาเคมีที่ได้สนับสนุนและให้ทุนอุดหนุนโครงการวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณความช่วยเหลือและกำลังใจที่ดีจากครอบครัวผู้ทำวิจัย เพื่อนๆ ในภาควิชาเคมีทุกคน และขอขอบคุณพี่น้องนิสิตปริญญาโทและปริญญาเอกในกลุ่มวิจัยที่ได้ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคต่างๆ ในการใช้และรักษาเครื่องมือ และคำปรึกษาในด้านต่างๆจนงานวิจัยเสร็จลุล่วงไปด้วยดี

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตารางประกอบ	ช
สารบัญรูปประกอบ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการนำเสนอโครงการ	1
1.2 ทฤษฎีและความรู้ที่เกี่ยวข้อง	
1.2.1 ลักษณะทั่วไปของไคโตซาน คาราจีแนนและพิวราลิน	3
1.2.2 ระบบนำส่งยาและการควบคุมการปลดปล่อยยา	8
1.2.3 เทคนิคยูวีวิสิเบิล-สเปกโตรสโคปี (UV-vis spectroscopy)	11
1.2.4 เทคนิคอินฟราเรด-สเปกโตรสโคปี (IR-spectroscopy)	13
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	15
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	15
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	
2.1 สารเคมี	16
2.2 วิธีการทดลอง	
2.2.1 ขั้นตอนการเตรียมสารเคมี	16
2.2.2 การเตรียมบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อย พิวราลินที่มีอัตราส่วนของไคโตซาน:คาราจีแนน ที่แตกต่างกัน	18
2.2.3 การเตรียมบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อย พิวราลินที่ใช้เวลาในการแช่บีดแตกต่างกัน	19
2.2.4 การเตรียมบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อย พิวราลินที่อัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลินแตกต่างกัน	19
2.2.5 การใช้เทคนิคอินฟราเรด-สเปกโตรสโคปี (IR-Spectroscopy) เพื่อตรวจสอบ หาหมู่ฟังก์ชันบนเม็ดบีด	19

	หน้า
2.2.6 วิธีการทดสอบหาปริมาณการกักเก็บฟิวรีนทั้งหมดใน บีดโคโตซานและคาราจีแนน	20
2.2.7 การทดสอบความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยฟิวรีน	20
2.2.8 วิธีการทดสอบความสามารถในการบวมตัวของบีดโคโตซานและคาราจีแนน สำหรับควบคุมการปลดปล่อยฟิวรีน	22
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	
3.1 ลักษณะของบีดโคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยฟิวรีน	23
3.2 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนเม็ดบีดด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี	27
3.3 การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาปริมาณของฟิวรีน	29
3.4 การหาปริมาณของฟิวรีนที่กักเก็บได้ในบีดโคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนปริมาณของโคโตซาน:คาราจีแนน	30
3.5 การหาปริมาณของฟิวรีนที่กักเก็บได้ในบีดโคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีด	31
3.6 การทดสอบความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยฟิวรีนจาก บีดโคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีด	32
3.7 การหาปริมาณของฟิวรีนที่กักเก็บได้ในบีดโคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของโคโตซานและคาราจีแนน:ฟิวรีน	34
3.8 การทดสอบความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยฟิวรีนจาก บีดโคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของโคโตซาน และคาราจีแนน:ฟิวรีน	35
3.9 การทดสอบความสามารถในการบวมตัวของบีดโคโตซานและคาราจีแนน สำหรับควบคุมการปลดปล่อยฟิวรีน	37
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	39
เอกสารอ้างอิง	40
ประวัติผู้ทำวิจัย	42

สารบัญตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า
1.1 ความสามารถในการละลายของโคโคซานในตัวทำละลายกรดชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	4
1.2 การใช้ประโยชน์ของคาราจีแนนในอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆ	6
2.1 แสดงปริมาณสารละลายโคโคซานและสารละลายคาราจีแนนที่ใช้ในอัตราส่วนต่างๆ	19
3.1 แสดงค่าปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดโคโคซานและคาราจีแนน ในอัตราส่วนโคโคซาน : คาราจีแนน ที่แตกต่างกัน	30
3.2 แสดงค่าปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดโคโคซานและคาราจีแนน อัตราส่วน 1:1 ที่ใช้เวลาในการแช่เม็ดบีดแตกต่างกัน	31
3.3 แสดงค่าปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดโคโคซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโคโคซานและคาราจีแนน:พิวราลิน	34

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปประกอบ

รูปที่	หน้า
1.1 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน	2
1.2 โครงสร้างทางเคมีของคาราจีแนน	2
1.3 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไคตินเป็นไคโตซานด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในสารละลายเบสแก่	3
1.4 โครงสร้างของพิวราริน	7
1.5 การควบคุมการปลดปล่อยยาโดยอาศัยหลักการแพร่ผ่านเมมเบรน ตั้งแต่เวลาเริ่มต้น ($t=0$) ถึงเวลาใดๆ ($t=t$)	9
1.6 การควบคุมการปลดปล่อยยาด้วยหลักการแพร่ผ่านแบบเมตริกซ์ ตั้งแต่เวลาเริ่มต้น ($t=0$) ถึงเวลาใดๆ ($t=t$)	9
1.7 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer	11
1.8 ช่วงความยาวคลื่นของรังสีประเภทต่างๆ โดยรังสีอินฟราเรด ที่ช่วงความยาวคลื่นประมาณ 10^{-6} – 10^{-4} นาโนเมตร	13
1.9 ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR Spectrometer	14
3.1 บีดไคโตซานและคาราจีแนนในอัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนนที่แตกต่างกัน	23
3.2 บีดไคโตซานและคาราจีแนนที่อัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน เท่ากับ 1:1 โดยใช้เวลาในการแช่เม็ดบีดแตกต่างกัน	24
3.3 บีดไคโตซานและคาราจีแนนโดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วน ไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราริน	25
3.4 สเปกตรัมของไคโตซานคาราจีแนน บีดไคโตซานและคาราจีแนน	27
3.5 สเปกตรัมของบีดไคโตซานและคาราจีแนนพิวราริน บีดไคโตซานและคาราจีแนนที่มีพิวราริน	27
3.6 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน	28
3.7 โครงสร้างทางเคมีของคาราจีแนน	28

3.8	โครงสร้างทางเคมีของพิวราริน	29
3.9	กราฟมาตรฐานของสารละลายพิวรารินมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ	30
3.10	กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยมีอัตราส่วน ไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 ที่เวลาในการแช่บีด 0 นาทีและ 10 นาที ที่ pH 1.2	32
3.11	กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยมีอัตราส่วน ไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 ที่เวลาในการแช่บีด 0 นาทีและ 10 นาที ที่ pH 6.4	32
3.12	กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยมีอัตราส่วน ไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 ที่เวลาในการแช่บีด 0 นาทีและ 10 นาที ที่ pH 7.4	33
3.13	กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวรารินโดยใช้เวลาในการ แช่บีด 10 นาที ที่ pH 1.2	35
3.14	กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวรารินโดยใช้เวลาในการ แช่บีด 10 นาที ที่ pH 1.2	36
3.15	กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวรารินโดยใช้เวลาในการ แช่บีด 10 นาที ที่ pH 1.2	36
3.16	กราฟแสดงลักษณะการบวมตัวของบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุม การปลดปล่อยพิวราริน โดยมีอัตราส่วน ไคโตซานและคาราจีแนน:พิวรารินเป็น 1:2 ที่ pH 1.2, 6.4, 7.4	37
3.17	กราฟแสดงลักษณะการบวมตัวของบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับ ควบคุมการปลดปล่อยพิวราริน โดยไม่มีการใส่พิวราที่ pH 1.2, 6.4, 7.4	38
3.18	กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน : ยาพิวราริน โดยใช้เวลาในการแช่บีด 10 นาที ในสภาวะ pH ต่างๆ	39

บทที่ 1

บทนำ

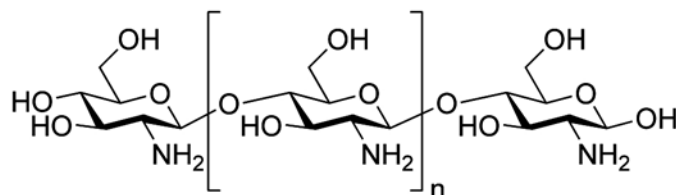
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการนำเสนอโครงการ

ระบบนำส่งยา (Drug delivery system) คือกระบวนการที่สามารถควบคุมการปลดปล่อยของยาบริเวณตำแหน่งต่างๆในร่างกายและมีระยะเวลาการปลดปล่อยที่จำกัด เพื่อลดผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นกับผู้ป่วยประทุษยา โดยกลไกนี้มีการคิดค้นและพัฒนาขึ้นมาเพื่อแทนที่กลไกของยาที่ใช้ในการรักษาแบบเดิม กล่าวคือ ด้วยยาแบบเดิมนั้นเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกปลดปล่อยยาออกมาอย่างรวดเร็วและลดระดับการทำงานลงจนหมดฤทธิ์ไป ผู้รับประทุษยาจำเป็นต้องทานยาเข้าไปใหม่เพื่อให้คงประสิทธิภาพในการรักษาโรคอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ต้องรับประทุษยาบ่อย และเมื่อมียาในร่างกายปริมาณมากอาจส่งผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยประทุษยาด้วย

ในปัจจุบันมีการเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยาโดยการนำพอลิเมอร์ทางชีวภาพหลากหลายรูปแบบมาใช้เพื่อให้เหมาะกับการรักษาโรค โดยพอลิเมอร์ที่ใช้จะต้องคำนึงถึงปัจจัยด้านความปลอดภัยของผู้ใช้เป็นหลัก เช่น สามารถย่อยสลายภายในร่างกายด้วยกระบวนการทางชีวภาพได้ ไม่ก่อให้เกิดผลเสียร้ายแรงต่อร่างกาย รวมถึงปัจจัยอื่นๆในการทำงานของพอลิเมอร์ด้วย เช่น บริเวณจำเพาะสำหรับนำส่งยา, ระยะเวลาในการปลดปล่อยยา สามารถป้องกันไม่ให้ตัวยากถูกทำลายก่อนถึงอวัยวะเป้าหมายได้ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการควบคุมปริมาณยาและผลข้างเคียงที่จะเกิดกับร่างกายของผู้รับประทุษยาได้

ไคโตซาน (Chitosan) เป็นชีวโพลีเมอร์ชนิดหนึ่งที่มีนิยมนำมาใช้ในกระบวนการนำส่งยา เนื่องจากมีกระบวนการยึดติดแบบเมือกได้ดี สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ด้วยเอนไซม์ และไม่เป็นพิษต่อร่างกาย(1) นักวิทยาศาสตร์จึงเริ่มมีการนำไคโตซานมาดัดแปลงและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยากันอย่างกว้างขวาง โดยงานวิจัยที่มีการศึกษาค้นคว้ามาก่อนหน้านี้ได้มีการคิดค้นระบบนำส่งยาที่เรียกว่า Polyelectrolyte Complex (PEC) เป็นระบบที่สามารถควบคุมตำแหน่งและระยะเวลาในการปลดปล่อยยาในร่างกายได้(2) โดยการสังเคราะห์เม็ดบีคินำส่งยาทรงกลมขนาดเล็กจากสารพอลิเมอร์ทางชีวโพลีเมอร์ 2 ชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นประจุ

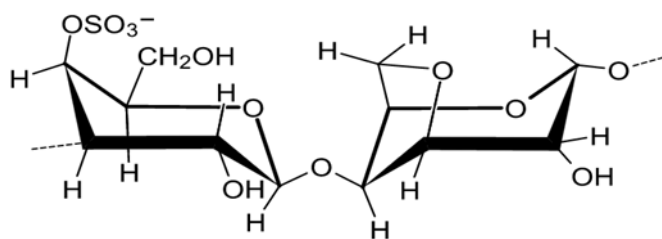
บวกและประจุลบส่งผลให้คุณสมบัติของเม็ดบีตส์มีความแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับสารพอลิเมอร์ทางชีวโมเลกุลที่นำมาใช้ ตัวอย่างของสารชีวโมเลกุลที่ได้มีการนำมาศึกษาในกระบวนการดังกล่าว เช่น แอลจินต/ไคโตซาน(3), ไคโตซาน/เซลลูโลส(4), ไคโตซานที่เคลือบผิวภายนอกด้วยเพกติน(5), ไคโตซาน/สารเชิงซ้อนของกรดโพลีอะครีลิก(6), พอลิเมอร์ของกรดเมทาครีลิกกับเอทิลีนไกลคอล(7)



รูปที่ 1.1 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน (Chitosan)

ในปี ค.ศ. 2002 González-Rodríguez (3) และคณะ ได้ทำการเตรียมพอลิเมอร์คอมโพสิตของไคโตซานและแอลจินตสำหรับควบคุมการปลดปล่อยไซโตคีน ไคโคลฟีแนค โดยจะสามารถควบคุมไม่ให้ยาถูกปลดปล่อยที่พีเอชที่เป็นกรด และจะถูกปลดปล่อยออกมาที่พีเอช 6.4 และ 7.2

ในปี ค.ศ. 2007 Piyakulawat และคณะ (8) ได้ทำการเตรียมพอลิเมอร์คอมโพสิตของไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยไซโตคีน ไคโคลฟีแนค โดยจะสามารถควบคุมการปลดปล่อยได้นาน 8 ชั่วโมง อีกทั้งเมื่อมีการตัดแปลงพื้นผิวของยาด้วยกลูตาราลดีไฮด์ ทำให้ควบคุมการปลดปล่อยได้นานถึง 24 ชั่วโมงซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้เริ่มมีการใช้คาราจีแนนเข้ามาช่วยในเรื่องของการเพิ่มความยึดหยุ่นในเม็ดยา ช่วยให้เม็ดยามีการพองตัวเมื่อสัมผัสกับน้ำในร่างกาย



รูปที่ 1.2 โครงสร้างทางเคมีของคาราจีแนน

คาราจีแนน (Carrageenan) เป็นพอลิเมอร์ทางชีวโมเลกุลอีกชนิดหนึ่งที่มีประจุลบ สามารถสังเคราะห์ได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง มีโครงสร้างเป็นวงโมโนแซคคาไรด์หลายชนิดเรียงต่อกันเป็นพอลิเมอร์แบบเส้นตรง

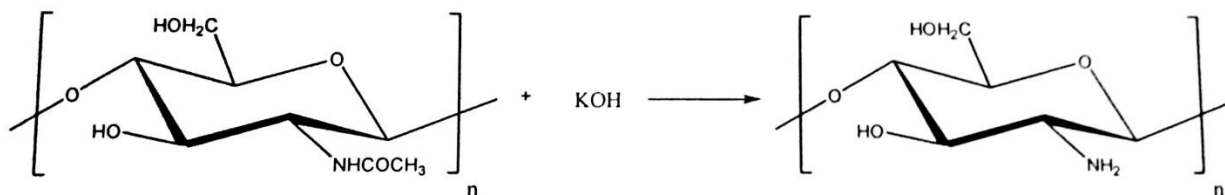
และมีหมู่ซัลเฟต (SO_4^{2-}) ในโครงสร้างทำให้มีลักษณะเป็นเจลและมีความยืดหยุ่น จากการศึกษาค้นคว้าที่ทำให้ทราบว่าคาร์จีแนนไม่เป็นพิษต่อร่างกายและสามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพในร่างกาย (9) ทำให้มีการพิจารณานำคาร์จีแนนมาศึกษาและประยุกต์ใช้เกี่ยวกับระบบนำส่งยาดังกล่าวอีกด้วย

งานวิจัยชิ้นนี้ได้มีการนำไคโตซานและคาร์จีแนนมาพัฒนาด้วยการสังเคราะห์บีดนำส่งยาแบบไฮโดรเจลที่มีลักษณะเป็นทรงกลมและมีระบบการทำงานแบบ Polyelectrolyte Complex (PEC) เพื่อใช้นำส่งพิวราริน (Puerarin) ซึ่งเป็นสารประกอบทางชีวภาพที่สามารถสกัดได้จากรากของต้นกวาวเครือขาว (Radix Puerariae) โดยงานวิจัยได้มุ่งเน้นศึกษาที่สมบัติการกักเก็บตัวของบีด ลักษณะของบีดที่เหมาะสมรวมถึงปริมาณและระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการปลดปล่อยยาของบีดที่ช่วงพีเอชต่างๆของอวัยวะแต่ละส่วนในร่างกายเพื่อนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการต่อยอดและพัฒนาการนำส่งพิวรารินในร่างกายมนุษย์ต่อไป

1.2 ทฤษฎีและความรู้ที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ลักษณะทั่วไปของไคโตซาน คาร์จีแนนและพิวราริน

ไคโตซาน (Chitosan) หรืออนุพันธ์ของไคตินมีสูตรโมเลกุล $(\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N})_n$ ชื่อทางเคมีคือ Poly (β -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose) มีลักษณะทางกายภาพเป็นของแข็งสีขาวขุ่น หรือสีขาวปนเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น เป็นพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทั้งหมดรวมถึงน้ำที่มีค่า pH ที่เป็นกลางหรือด่างแต่สามารถละลายในกรดละลายในกรดอินทรีย์ (ดังแสดงในตารางที่ 1.1) สามารถเตรียมได้จากการทำปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิทิลของไคตินหรือที่เรียกว่าปฏิกิริยา deacetylation โดยการนำไคตินซึ่งพบในเปลือกกุ้งและปูมาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในสารละลายเบสแก่เพื่อกำจัดหมู่เอซิทิลออกเป็นหมู่เอมีนดังสมการแสดงปฏิกิริยาในรูป 1.3



รูปที่ 1.3 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไคตินเป็นไคโตซานด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในสารละลายเบสแก่

ตาราง 1.1 ความสามารถในการละลายของโคโคซานในตัวทำละลายกรดชนิดต่างๆที่ความเข้มข้นต่างๆกัน

ตัวทำละลายกรด	ความเข้มข้นของสารละลายกรด (v/v)				
	1%	5%	10%	50%	>50%
แอสติค	+	+	+	+	*
ไฮโดรคลอริก	+	-	-	*	*
ไนตริก	+	-	-	*	*
ซัลฟูริก	-	-	-	*	*

- หมายเหตุ**
- + แสดงว่าโคโคซานสามารถละลายได้
 - แสดงว่า โคโคซานไม่สามารถละลายได้
 - * แสดงว่า ไม่ได้มีการศึกษา

โคโคซานได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในหลายด้านดังตัวอย่างต่อไปนี้

- อุตสาหกรรมอาหาร
 - การเพิ่มใยอาหารธรรมชาติในผลิตภัณฑ์จากแป้ง
 - การถนอมอาหารเพื่อยืดอายุและป้องกันเชื้อรา
 - การทำครีมและ emulsion ให้คงตัว
 - การผลิตอาหารที่สามารถควบคุมไขมันในร่างกาย
- อุตสาหกรรมและวัสดุการแพทย์
 - การผลิตสารตัวกลางที่จะปลดปล่อยยาออกมาอย่างช้าๆ (Slow Release)
 - การผลิตผิวหนังเทียม
 - การผลิตไหมเย็บแผลที่ละลายได้เอง
 - การผลิตวัสดุห้ามเลือด ชับเลือด ปิดแผล
- อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง
 - อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผม เช่น แชมพู, ครีมนวดผม, ยาสีฟัน
 - อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ดูแลผิว เช่น ครีมอาบน้ำ เจลล้างหน้า ครีมบำรุงผิว ลิปสติก
 - อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปาก เช่น ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก น้ำยาคำจัดคราบหินปูน

- ด้านการเกษตร
 - ใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์เพื่อเพิ่มอัตราการงอกและป้องกันโรค
 - ใช้เคลือบเพื่อควบคุมการสุกของผลไม้และป้องกันการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร
- การบำบัดน้ำเสีย
 - การตกตะกอนในกระบวนการผลิตน้ำประปา
 - การบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม
 - ขจัดคราบไขมัน สี โลหะหนักออกจากอุตสาหกรรมผ้า กระดาษ ฟอกย้อม
- อุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์
 - การทำภาชนะที่ย่อยสลายได้ในธรรมชาติ
 - การทำเป็นฟิล์มถนอมอาหารที่สามารถรับประทานได้
- อุตสาหกรรมเส้นใยและสิ่งทอ
 - การผลิตผ้าที่ย้อมติดสีได้ดี ไม่หดตัวง่าย มีความนุ่มนวลสูง
 - การผลิตผ้าที่สามารถต้านทานแบคทีเรียและเชื้อราได้ดี เช่น เสื้อผ้าสำหรับคนไข้ในโรงพยาบาล
- อุตสาหกรรมกระดาษ
 - การทำกระดาษที่ต้องการคุณภาพของการพิมพ์สูง
 - ใช้เคลือบกระดาษเพื่อคงสภาพของกระดาษไว้ได้นานๆ

คาราจีแนน (Carrageenan) เป็นสารประกอบชนิดหนึ่ง มีสมบัติเป็นไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloid) คือดูดน้ำและแขวนลอยในน้ำ ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (Food additive) คาราจีแนนสกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง (Rhodophyceae) เช่น สาหร่ายผมนาง (Gracilariopsis lemaneiformis) โมเลกุลของคาราจีแนนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ประเภทเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharide) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เป็นพอลิเมอร์ของกาแล็กโทส (Galactose) และ 3,6-anhydrogalactose (3,6-AG) มีทั้งชนิดที่มีหมู่ซัลเฟตและไม่มีหมู่ซัลเฟตซึ่งทำให้คาราจีแนน มีสมบัติด้านต่างๆ เช่น การละลาย (Solubility) การเกิดเจล (Gelation) แตกต่างกัน

การกระจาย แบ่งเป็นประเภทต่างๆ ตามจำนวนและตำแหน่งของหมู่ซัลเฟต ดังนี้

- **Kappa-carrageenan** โมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลกาแล็กโทส (galactose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ชนิด บีตา-1,3 และมีกลุ่มซัลเฟต (sulphate) ที่ตำแหน่งที่ 4
kappa-carrageenan ละลายได้ดีในน้ำร้อน เมื่อเย็นตัวลงจะเกิดเจล (gel) ประเภท thermoreversible gel มีลักษณะใส เนื้อสัมผัส แข็ง แน่น แต่เปราะ และจะคงตัวต่อกรดที่ค่า pH มากกว่า 3.8
- **Iota-carrageenan** มีจำนวนกลุ่มซัลเฟต มากกว่า kappa ประมาณ 25-50% ทำให้ความไวต่อโพแทสเซียมไอออนลดลง มีผลทำให้ได้เจลที่อ่อนนุ่ม และยืดหยุ่นกว่า kappa-carrageenan และทนต่อการแช่เยือกแข็งและการละลายในน้ำแข็งได้ดีกว่า
- **Lambda-carrageenan** มีกลุ่มซัลเฟต ทั้งที่ตำแหน่งที่ 2 และ ที่ตำแหน่งที่ 6 และไม่เกิดการปิดวง ที่คาร์บอนตำแหน่ง 3 และ 6 จึงมีผลทำให้ไม่มีสมบัติในการเกิดเจล (gel)

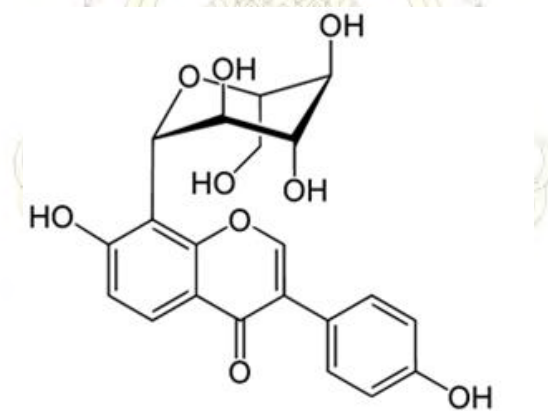
ตาราง 1.2 การใช้ประโยชน์ของการกระจายในอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆ

อาหาร	หน้าที่	ชนิดของการกระจาย	ปริมาณการใช้ (%)
ขนมหวาน	gelling agent	Kappa- + iota-	0.5-1.0
		Kappa- + iota- + locust	
		bean gum	
เจลลี่แคลอรีต่ำ	gelling agent	Kappa- + iota-	0.5-1.0
		Kappa- + galactomannans	
อาหารสัตว์บรรจุกระป๋อง	Emulsifier, thickener, gelling agent	Kappa- + locust bean gum	0.2-1.0
น้ำมันปลา	gelling agent	Kappa- + locust bean gum	0.5-1.0
		Kappa- + iota	
ไซรัป	Bodying	Kappa- + lambda-	0.3-0.5
Fruit drink powders and	Bodying	Sodium kappa-, lambda-	0.1-0.2
frozen concentrates	Pulping effects	Potassium calcium kappa-	0.1-0.2
Relishes, pizza, sauces	Bodying	Kappa-	0.2-0.5

อาหาร	หน้าที่	ชนิดของคาราจีแนน	ปริมาณที่ใช้ (%)
Imitation milk	Bodying, emulsifier	Iota-, lambda-	0.03-0.06
Imitation coffee creams	Emulsifier	Lambda-	0.1-0.2
Whipped toppings (artificial)	Emulsifier	Kappa-, iota-	0.1-0.3
Puddings (nondairy)	Emulsifier	Kappa-	0.1-0.3

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1274/carrageenan-คาราจีแนน>

พิวราริน (Puerarin) เป็นสารประกอบกลุ่มไอโซฟลาโวนอยด์ สามารถสกัดได้จากรากของต้นกวาวเครือขาว (Puerarialobata) มีฤทธิ์ช่วยในการขยายตัวของหลอดเลือด เช่น หลอดเลือดหัวใจ หลอดเลือดในสมอง รวมถึงนิยมใช้เป็นตัวยาในการรักษาโรคเบาหวาน(10) รักษาโรคความดันโลหิตสูง, ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติและภาวะหลอดเลือดแข็งตัว(11) และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง(12)



รูปที่ 1.4 โครงสร้างของพิวราริน

สูตรโมเลกุล

: $C_{21}H_{20}O_9$

ชื่อทางเคมี

: 7-Hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-8-[(3R,4R,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]chromen-4-one

ลักษณะทางกายภาพ

: ของแข็งลักษณะเป็นผงสีเหลือง มีกลิ่นฉุนอ่อนๆ ไม่รุนแรง

ความสามารถในการละลาย

: ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่ำ

1.2.2 ระบบนำส่งยาและการควบคุมการปลดปล่อยยา

การควบคุมการปลดปล่อยยา คือการผลิตยาที่ผ่านการตัดแปลงหรือผ่านกรรมวิธีที่ต่างๆซึ่งสามารถควบคุมและปลดปล่อยออกมาได้ในปริมาณและเวลาตามที่กำหนด สามารถนำไปยังอวัยวะเป้าหมายในร่างกายได้ตามต้องการเพื่อให้เกิดผลประโยชน์สูงสุดในการรักษาและลดผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น องค์ประกอบที่สำคัญที่จะทำให้การปลดปล่อยยาให้ผลเป็นไปตามที่ต้องการคือ พอลิเมอร์ โดยพอลิเมอร์จะทำหน้าที่ 3 ลักษณะใหญ่ๆคือ เป็นสารช่วยควบคุมให้ยาถูกปลดปล่อยอย่างช้าๆ, เป็นตัวป้องกันไม่ให้ตัวยากลายไปก่อนที่ตัวยาจะถึงอวัยวะเป้าหมาย และที่สำคัญคือ ต้องเข้ากับเนื้อเยื่อในร่างกาย (biocompatible) และย่อยสลายในร่างกายได้ (biodegradable) โดยระบบของยาที่มีการทำงานในรูปแบบนี้ เรียกว่า “ระบบนำส่งยา”(Drug delivery system)

ระบบนำส่งยาที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันแบ่งออกเป็น 3 ประเภทตามชนิดกลไกของการปลดปล่อยหรือการนำส่งตัวยาระบบ ดังนี้

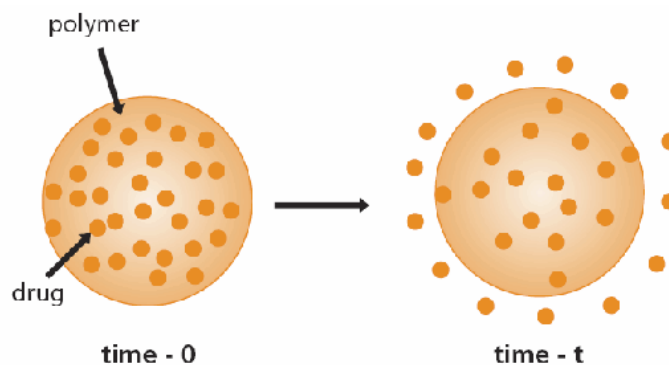
1. ระบบควบคุมการปลดปล่อยยาโดยอาศัยหลักการแพร่ (Controlled Drug Release by Diffusion Process)
2. ระบบควบคุมการปลดปล่อยยาโดยอาศัยหลักการละลาย (Controlled Drug Release by Dissolution Process)
3. ระบบควบคุมการปลดปล่อยยาโดยอาศัยหลักการกระตุ้นจากภายนอก (Controlled Drug Release by Activation Process)

โดยในโครงการวิจัยนี้ได้ศึกษาเฉพาะระบบควบคุมการปลดปล่อยยาโดยอาศัยหลักการแพร่ ดังนั้นจะกล่าวถึงรายละเอียดในหัวข้อนี้เท่านั้น

ระบบควบคุมการปลดปล่อยยาโดยอาศัยหลักการแพร่

1. การแพร่ผ่านเมมเบรน (Membrane Permeation-Controlled Drug Delivery System)

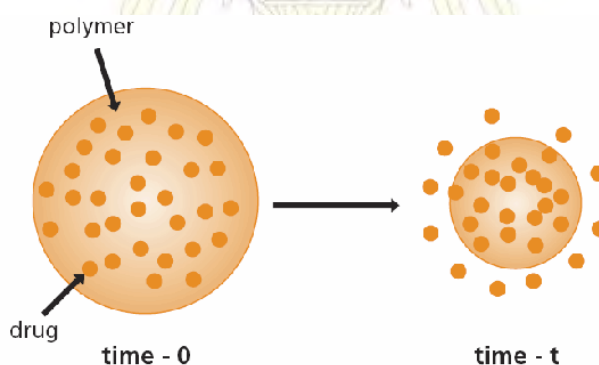
ระบบนำส่งยานี้ สามารถกักเก็บยาได้ทั้งในรูปแบบที่ยาถูกอัดเป็นเม็ดเล็กๆรวมกันอยู่ตรงกลางของตัวกักเก็บ หรืออนุภาคของยามีการกระจายตัวอยู่ทั่วไปในตัวกักเก็บอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งตัวกักเก็บสามารถเป็นได้ทั้งของแข็งและของเหลว ตัวยาคัญทั้งหมดจะถูกกักเก็บไว้ในเม็ดพอลิเมอร์ที่ถูกหุ้มหรือเคลือบด้วยที่ผิวหน้าด้วยสารเมมเบรนพอลิเมอร์ เพื่อช่วยควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาให้เป็นไปตามที่ต้องการ สารที่ใช้เป็นเมมเบรนพอลิเมอร์อาจทำจากพอลิเมอร์เดี่ยวๆหรือพอลิเมอร์ผสมหลายๆชนิดที่ไม่มีรูพรุนหรือมีรูพรุนเล็กๆ เพื่อให้เกิดช่องให้สารในเม็ดยาสามารถซึมออกไปได้



รูปที่ 1.5 การควบคุมการปลดปล่อยยาโดยอาศัยหลักการแพร่ผ่านเมมเบรนตั้งแต่เวลาเริ่มต้น ($t=0$) ถึงเวลาใดๆ ($t=t$)

2. การแพร่ผ่านแบบเมตริกซ์ (Matrix Diffusion-Controlled Drug Delivery System)

ระบบนำส่งยาในรูปแบบนี้ ตัวกลางในการกักเก็บยาที่จะอยู่ในรูปของของเหลว และมีอนุภาคของตัวยาคือเป็นของแข็งกระจายกันอยู่เป็นเนื้อเดียวกันอย่างสม่ำเสมอในพอลิเมอร์ โดยตัวยาคจะออกมาในรูปแบบของผลระหว่างของแข็งกับพอลิเมอร์ของเหลวหนืดหรือกึ่งแข็งกึ่งเหลวที่อุณหภูมิห้อง เมื่อผสมตัวยาคให้เข้ากันและปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยออกไปบางส่วนจะทำให้ยาที่ผสมอยู่ในพอลิเมอร์มีการปลดปล่อยออกมา



รูปที่ 1.6 การควบคุมการปลดปล่อยยาด้วยหลักการแพร่ผ่านแบบเมตริกซ์ตั้งแต่เวลาเริ่มต้น ($t=0$) ถึงเวลาใดๆ ($t=t$)

รูปแบบการปลดปล่อยของยา

รูปแบบการปลดปล่อยของยาสามารถแบ่งได้ตามลักษณะความเข้มข้นของยาในกระแสเลือดหรือเนื้อเยื่อของร่างกายได้ดังนี้

1. ยาในรูปแบบหน่วงการปลดปล่อย (Sustained-release dosage forms) เป็นการปลดปล่อยในรูปแบบที่เมื่อทานยาเข้าสู่ร่างกาย เม็ดยาจะมีการการปลดปล่อยตัวยาคออกมาอย่างรวดเร็วในช่วงแรกเพื่อให้เกิด

ประสิทธิภาพในการรักษา หลังจากนั้นตัวยาก็มีอัตราการปลดปล่อยคงที่อย่างช้าๆหรืออัตราการปลดปล่อยจะลดลง ทำให้มีฤทธิ์ในการรักษาเป็นเวลานานตามที่ต้องการ

2. ยาในรูปแบบออกฤทธิ์ยาวนาน (Prolonged-action dosage forms) ยาที่มีกลไกในรูปแบบนี้จะมีการปลดปล่อยยาออกมาในร่างกายอย่างช้าๆอย่างสม่ำเสมอหรืออาจไม่สม่ำเสมอ ทำให้ผู้รับประทานยาไม่ต้องทานยาซ้ำๆอย่างต่อเนื่อง

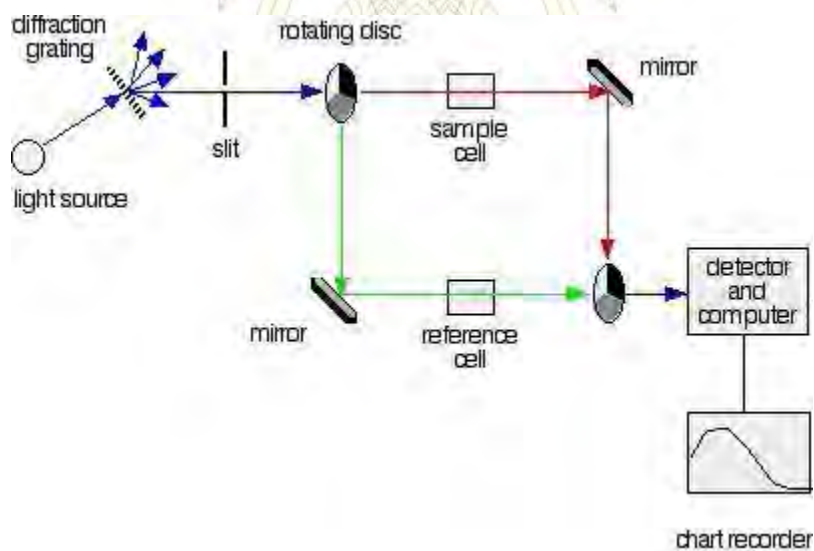
3. ยาในรูปแบบที่ออกฤทธิ์ซ้ำๆกัน (Repeat-action dosage forms) ยาในรูปแบบนี้เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะออกฤทธิ์ซ้ำๆกันในช่วงระยะเวลาหนึ่ง เหมือนการทานยาซ้ำๆกัน

ในการรับประทานยาครั้งหนึ่งๆ ผู้ที่ทานมีความต้องการให้ตัวยาก็ใช้รักษามีการปลดปล่อยยาสู่ร่างกายในระยะเวลาและปริมาณที่เหมาะสม แต่ตัวยางานชนิดเมื่อมีการปลดปล่อยสู่ร่างกายในเวลาอันรวดเร็วและสลายหมดไปหรือได้รับตัวยานในปริมาณที่มากเกินไปจะทำให้เกิดผลข้างเคียงแก่ผู้ที่ทานด้วย จึงมีการแก้ปัญหาด้วยการออกแบบการปลดปล่อยยาในรูปแบบของยาออกฤทธิ์ยาวนาน โดยยาที่ออกฤทธิ์ยาวนานคือระบบการปลดปล่อยยาที่เมื่อตัวยานเข้าสู่ร่างกายจะมีการปลดปล่อยยาออกมาที่อวัยวะเป้าหมายอย่างช้าๆหลังจากผ่านไประยะเวลาหนึ่งการปลดปล่อยจะมีอัตราที่สม่ำเสมอทำให้มีการรักษาระดับของตัวยานให้อยู่ในร่างกายได้อย่างยาวนาน ผู้ที่รับประทานยาจึงไม่จำเป็นต้องทานยานในแต่ละวันเข้าไปในปริมาณมาก ทำให้ลดผลข้างเคียงของตัวยานที่จะเกิดกับร่างกายของผู้ป่วยได้

1.2.3 เทคนิคยูวีวิสิเบิล-สเปกโตรสโกปี (UV-vis spectroscopy)

เป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจวัดปริมาณการดูดกลืนแสงของสารในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ช่วงรังสีอัลตราไวโอเล็ตจนถึงช่วงแสงขาวโดยการฉายแสงทะลุผ่านสารที่วางอยู่ในเครื่องมือและทำการวัดความเข้มของแสงที่ตกกระทบบริเวณช่องรับแสง โดยความยาวคลื่นของแสงที่สารดูดกลืนจะเป็นเอกลักษณ์ของสารแต่ละชนิด ทำให้เราสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิคนี้ได้ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้

หลักการในการดูดกลืนแสงของสารคือ เมื่อโมเลกุลของสารตัวอย่างถูกนำไปฉายแสงที่มีพลังงานที่เหมาะสม อิเล็กตรอนภายในอะตอมจะเกิดการดูดกลืนแสงและเคลื่อนที่ขึ้นไปอยู่ในชั้นระดับพลังงานที่สูงกว่า เมื่อวัดปริมาณของแสงที่ผ่านออกมาจากสารตัวอย่างเทียบกับปริมาณของแสงที่ฉายในตอนเริ่มต้น จะสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงออกมาในรูปของค่า Absorbance โดยตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law) ค่าการดูดกลืนแสงของสารจะแปรผันกับจำนวน โมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในการระบุปริมาณของสารต่างๆที่มีอยู่ในตัวอย่างได้อีกด้วย



รูปที่ 1.7 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer

ส่วนประกอบของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source) แหล่งกำเนิดแสงที่ใช้ในเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย หลอดกำเนิดแสง มีหลายชนิดตามความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมา ซึ่งต้องเลือกใช้ให้ถูกต้องเหมาะสมกับของเหลวที่นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง

ตัวอย่างแหล่งกำเนิดแสง ช่วง UV ใช้หลอด H₂ and D₂ lamp ให้ความยาวคลื่นอยู่ในย่าน 160-380 nm ส่วนในช่วง UV molecular absorption และช่วง visible ใช้หลอด Tungsten/halogen ให้ความยาวคลื่นในช่วง 240-2,500 nm ชนิดของสเปกโตรสโกปีเป็นแบบ UV/visible/near-IR molecular absorption

2. โมโนโครเมเตอร์ (Monochromater) ส่วนประกอบนี้เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสง โดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสงซึ่งเป็นพอลิโครเมติก ให้เป็นแสงโมโนโครเมติก ซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ หรือมีความยาวคลื่นเดียว ใช้ฟิลเตอร์ (กระจกสี), ปริซึม (prism) หรือเกรตติง (grating)

3. เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง (Cuvettes) เป็นเซลล์ที่ใส่สารตัวอย่างรูปแบบที่ใช้กันทั่วไปเป็นเซลล์ที่ทำด้วยแก้วธรรมดาจะใช้ได้เฉพาะช่วงวิสิเบิล เพราะเนื้อแก้วธรรมดาดูดกลืนแสงในช่วงยูวีได้ และเซลล์ที่ทำด้วยซิลิกาและควอร์ตซ์ (quartz) ใช้ได้ทั้งช่วงยูวีและวิสิเบิล

4. จุดตรวจวัดแสง (Detector) ทำหน้าที่ในการวัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืน โดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้า เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อยก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ เครื่องวัดแสงที่ยังนิยมกันอยู่ในปัจจุบัน คือ หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube, PMT) และเครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด (silicon diode detector)

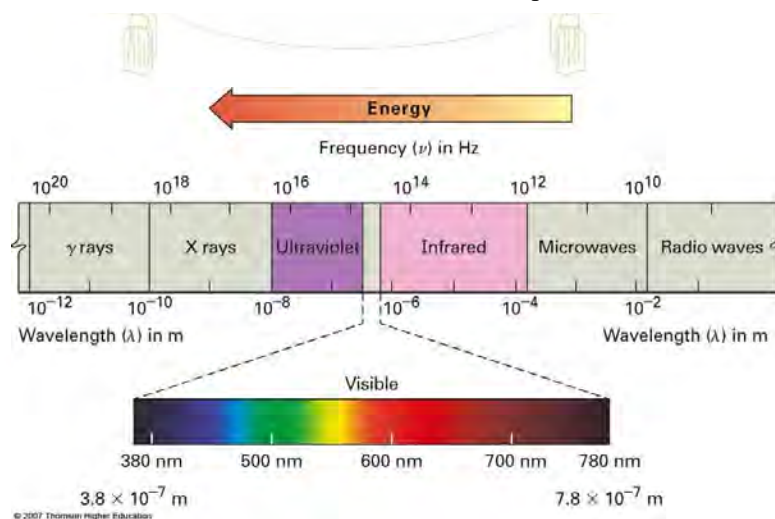
1.2.4 เทคนิคอินฟราเรด-สเปกโทรสโกปี (IR-spectroscopy)

รังสีอินฟราเรด (Infrared radiation) เป็นรังสีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าแต่ให้ความร้อนที่สัมผัสได้ รังสีอินฟราเรดอยู่ระหว่างช่วงคลื่นที่มองเห็นได้ (Visible radiation) กับ คลื่นไมโครเวฟ (Microwave radiation) โดยช่วงของรังสีอินฟราเรดแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ได้แก่

1. Near Infrared ($12800\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) เป็นช่วงที่จะให้สเปกตรัมที่ได้จาก โอเวอร์โทน (Overtone Band)
2. Middle Infrared ($4000\text{-}200\text{ cm}^{-1}$) เป็นช่วงที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์
3. Far Infrared ($200\text{-}10\text{ cm}^{-1}$) สเปกตรัมที่ได้จะเป็นการสั่นทั้งแกนของโครงสร้างโมเลกุลหรือเรียกว่า ช่วงลายพิมพ์นิ้วมือของสาร (Fingerprint Region) ซึ่งมีประโยชน์ในการเปรียบเทียบสาร เนื่องจากลายพิมพ์นิ้วมือของสารเดียวกันจะให้สเปกตรัมที่เหมือนกัน

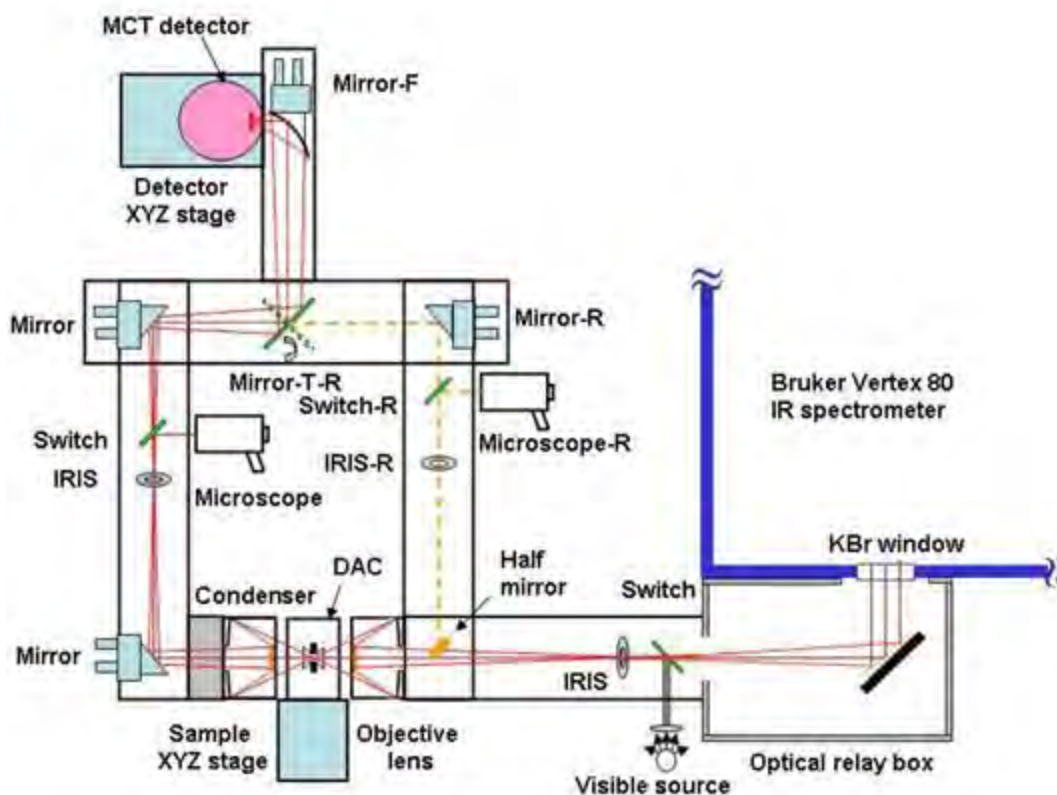


ช่วงของรังสีอินฟราเรดที่ใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์ทางเคมีได้แก่ช่วง Middle IR เนื่องจากรังสีอินฟราเรดมีพลังงานค่อนข้างต่ำ เมื่อโมเลกุลของสารดูดกลืนรังสีอินฟราเรดเข้าไปจะทำให้พันธะในโมเลกุลเกิดการสั่นและการหมุน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุล การที่โมเลกุลจะดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้นั้น ความถี่ของรังสีอินฟราเรดต้องเท่ากับความถี่การสั่นของโมเลกุลของสารนั้นๆ ซึ่งสารอินทรีย์แต่ละชนิดจะมีค่าความถี่ของการสั่นที่จำเพาะและแตกต่างกันไปทำให้สามารถนำเทคนิคนี้มาใช้ในการวิเคราะห์โครงสร้างและชนิดของสารอินทรีย์ได้ การแสดงผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้แสดงเป็นความสัมพันธ์ระหว่าง Wave number กับ %Transmittance ซึ่งเรียกว่า อินฟราเรดสเปกตรัม (Infrared spectrum)



รูปที่ 1.8 แสดงช่วงความยาวคลื่นของรังสีประเภทต่างๆ โดยรังสีอินฟราเรด

จะอยู่ที่ความยาวคลื่นประมาณ $10^6 - 10^4$ นาโนเมตร



รูปที่ 1.9 ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR Spectrometer

เครื่อง FT-IR Spectroscopy มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ เมื่อรังสีอินฟราเรดที่มีหลายความถี่จากแหล่งคลื่นรังสีอินฟราเรด ผ่านเข้าไปยังอินเทอร์โพโมมิเตอร์ ลำแสงจะถูกแบ่งเป็น 2 ส่วนด้วย beamsplitter ดำแสงครึ่งหนึ่งจะผ่านไปยังกระจกที่ตรึงอยู่กับที่ และกระจกที่เคลื่อนที่ได้ด้วยความเร็วคงที่เมื่อลำแสงสะท้อนกลับมาที่ beamsplitter จะเกิดการแทรกสอดแบบเสริมกันหรือการแทรกสอดแบบหักล้างของแต่ละความยาวคลื่น เมื่อแสงผ่านสารตัวอย่างไปยังตัววัดสัญญาณความเข้มของสัญญาณที่เครื่องตรวจวัดได้จะมีลักษณะของ Interferogram เป็นรูปคลื่น sine โดยกราฟจะพล็อตระหว่างการตอบสนองที่เครื่องตรวจวัดบันทึกได้และเวลาที่กระจกมีการเคลื่อนที่หลังจากนั้นใช้ Fourier Transform ซึ่งเป็นฟังก์ชันทางคณิตศาสตร์ในการแปลงผลที่ได้ (ขึ้นกับเวลา) ให้กลายเป็นค่าความเข้มกับความถี่

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ตั้งเคราะห์บีดโคโตซานและการจีแนนเพื่อใช้ควบคุมการปลดปล่อยพิวราริน
2. พัฒนาบีดที่มีคุณสมบัติในการควบคุมการปลดปล่อยพิวรารินได้ในปริมาณและระยะเวลาที่เหมาะสม

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

1. ได้บีดที่มีส่วนผสมของโคโตซานและการจีแนนเพื่อใช้กักเก็บยาพิวราริน
2. ได้พอลิเมอร์เมทริกซ์ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมการปลดปล่อยยาพิวรารินในปริมาณและระยะเวลาที่เหมาะสม
3. สามารถวางแผนการทำงานล่วงหน้าให้เสร็จตามระยะเวลาที่กำหนดและมีการเรียนรู้ในการแก้ไขปัญหาที่ได้รับด้วยตัวเองได้



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 สารเคมี

1. Chitosan (Food grade) บริษัท Seafresh Chitosan (ประเทศไทย) จำกัด
 - M.W. 500,000
 - Deacetylation Degree (%DD) = 81%
2. Carrageenan บริษัท รวมเคมี 1986 จำกัด
3. Sodium tripolyphosphate (NaTPP) บริษัท ซิกม่า-อัลดริช จำกัด
4. Potassium chloride (KCl) บริษัท เมอร์ค (ประเทศไทย) จำกัด
5. Sodium chloride (NaCl) บริษัท เมอร์ค (ประเทศไทย) จำกัด
6. Sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4) บริษัท เมอร์ค (ประเทศไทย) จำกัด
7. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) บริษัท เมอร์ค (ประเทศไทย) จำกัด
8. Puerarin
9. 95% Ethyl Alcohol (Lab Grade) บริษัท รวมเคมี 1986 จำกัด

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 ขั้นตอนการเตรียมสารเคมี

- 1) สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร
ซึ่งไคโตซาน 10.0 กรัม ละลายลงในสารละลายกรดอะซิติก 1% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่ระเหยจนหมด ตั้งคนสารละลาย 24 ชั่วโมง จากนั้นบรรจุในภาชนะที่มีฝาปิด และเก็บไว้ในตู้แช่เย็น

- 2) สารละลายคาร์โบนิกแอมโมเนียมเข้มข้น 2% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร
ชั่งคาร์โบนิกแอมโมเนียม 10.0 กรัม ละลายลงในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิประมาณ 65°C ตั้งคนจนคาร์โบนิกแอมโมเนียมละลายจนหมด เก็บสารละลายที่ได้ในภาชนะที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันเชื้อรา และนำเข้าตู้แช่เย็น
- 3) สารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 1% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร
ตวงกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตรค่อยๆรินลงในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร
- 4) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 M, pH 1.2
ตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 21.5 มิลลิลิตร รินลงในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 2.5 ลิตร จากนั้นนำไปปรับ pH ให้เป็น 1.2 โดยใช้ pH meter
- 5) สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 10.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร
- 6) สารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ความเข้มข้น 5% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
ชั่งโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 10.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร
- 7) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M, pH 6.4
 - ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 80.0 กรัม, โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 2.0 กรัม, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH₂PO₄) 14.2 กรัมและโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH₂PO₄) 2.7 กรัม นำสารที่ชั่งทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
 - ทำการเจือจางสารละลาย 10 เท่า จากนั้นนำไปปรับให้เป็น pH 6.4 ด้วย pH meter
- 8) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M, pH 7.4
 - ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 80.0 กรัม, โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 2.0 กรัม, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH₂PO₄) 2.7 กรัมและโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH₂PO₄) 14.2 กรัม นำสารที่ชั่งทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
 - ทำการเจือจางสารละลาย 10 เท่า จากนั้นนำไปปรับให้เป็น pH 7.4 ด้วย pH meter

2.2.2 การเตรียมเม็ดไคโตซานและการจีแนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวารินที่มีอัตราส่วนของไคโตซาน:การจีแนที่แตกต่างกัน

เตรียมชุดทดลองการสังเคราะห์เม็ดปิดจากไคโตซานและการจีแนเพื่อควบคุมการปลดปล่อยพิวารินโดยสารเคมีที่ใช้แต่ละชนิดทำหน้าที่ดังต่อไปนี้

- พิวาริน ทำหน้าที่เป็นสารออกฤทธิ์ เป็นตัวยาที่ใช้ในกระบวนการเตรียมเม็ดปิด
- ไคโตซาน เป็นสารที่เป็นโครงสร้างสำคัญในการขึ้นรูปเม็ดปิด
- การจีแน ใช้ในการสร้างพันธะกับไคโตซานเกิดเป็นสารประกอบประเภท Poly electrolyte complex และช่วยทำหน้าที่เพิ่มความสามารถในการบวมตัวให้เม็ดปิด
- สารละลายผสมโพแทสเซียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เป็นสารละลายเกลือช่วยให้ผิวหน้าของเม็ดปิดแข็งตัว ทำให้คงรูปของเม็ดได้ง่ายยิ่งขึ้น

อัตราส่วน ไคโตซาน:การจีแนเป็น 1:0

นำสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2% โดยมวลต่อปริมาตร 30 มิลลิลิตรผสมกับพิวาริน 0.60 กรัม กวนให้เข้ากันเป็นเวลา 20 นาที หยดลงในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 5% โดยมวลต่อปริมาตรปริมาตร 100 มิลลิลิตรแช่ปิดไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมากรองและล้างด้วยน้ำ DI จากนั้นนำมาวางไว้ในถาดพลาสติกและตั้งทิ้งไว้ให้บีดแห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อัตราส่วน ไคโตซาน:การจีแนเป็น 1:0.1ถึง1:1

นำสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2% โดยมวลต่อปริมาตร ผสมกับสารละลายการจีแนความเข้มข้น 2% โดยมวลต่อปริมาตรและพิวาริน 0.60 กรัม กวนให้เข้ากันเป็นเวลา 20 นาที หยดลงในสารละลายผสมระหว่างโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 5% โดยมวลต่อปริมาตรและสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 5% โดยมวลต่อปริมาตรอย่างละ 50 มิลลิลิตรรวมเป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตรแช่ปิดไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมากรองและล้างด้วยน้ำ DI จากนั้นนำมาวางไว้ในถาดพลาสติกและตั้งทิ้งไว้ให้บีดแห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยแต่ละอัตราส่วนใช้ปริมาณสารละลายไคโตซานและสารละลายการจีแนที่แตกต่างกันดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณสารละลายโคโคซานและสารละลายคาราจีแนนที่ใช้ในอัตราส่วนต่างๆ

โคโคซาน:คาราจีแนน	ปริมาณสารละลายโคโคซาน (ml)	ปริมาณสารละลายคาราจีแนน(ml)
1:0.1	27	3
1:0.3	23	7
1:1	15	15

2.2.3 การเตรียมบีดโคโคซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลินที่ใช้เวลาในการแช่บีดแตกต่างกัน

ทำการเตรียมเหมือนการเตรียมอัตราส่วนบีดโคโคซาน:คาราจีแนนเป็น 1:1 แต่เปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีดเป็น 0 นาที, 10 นาที, 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ

2.2.4 การเตรียมบีดโคโคซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลินที่อัตราส่วนโคโคซานและคาราจีแนน:พิวราลินแตกต่างกัน

เตรียมเหมือนการเตรียมอัตราส่วนโคโคซาน:คาราจีแนนเป็น 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงปริมาณพิวราลิน โดย

อัตราส่วนโคโคซานและคาราจีแนน:พิวราลิน เป็น 1:2 ใช้พิวราลิน 1.20 กรัม

อัตราส่วนโคโคซานและคาราจีแนน:พิวราลิน เป็น 1:3 ใช้พิวราลิน 1.80 กรัม

อัตราส่วนโคโคซานและคาราจีแนน:พิวราลิน เป็น 2:1 ใช้พิวราลิน 0.30 กรัม

อัตราส่วนโคโคซานและคาราจีแนน:พิวราลิน เป็น 3:1 ใช้พิวราลิน 0.20 กรัม

2.2.5 การใช้เทคนิคอินฟราเรด-สเปกโตรสโกปี(IR-Spectroscopy) เพื่อตรวจสอบหาหมู่ฟังก์ชันบนเม็ดบีด

การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของสารตัวอย่างโดยใช้เทคนิคอินฟราเรด-สเปกโตรสโกปี (IR) ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Nicolet 6700 ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างโดยการนำเม็ดบีดผสมกับโพแทสเซียมโบรไมด์ที่ปราศจากความชื้น ใสลงในครกหินอ่อน บดของผสมให้เข้ากัน ใสของผสมทั้งหมดลงใน FT-IR holder กำหนดช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์ $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ การวิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรม OMNIC

2.2.6 วิธีการทดสอบหาปริมาณการกักเก็บพิววารินทั้งหมดในบีดไคโตซานและคาราจีแนน

1. บดบีดไคโตซานและคาราจีแนนที่ควบคุมการปลดปล่อยยาให้ละเอียด
2. ชั่งบีดไคโตซานและคาราจีแนนข้างต้นด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง 10 มิลลิกรัม ใส่ในเอทานอล 10 มิลลิลิตร
3. นำไปใส่ในเครื่องส่งคลื่นความถี่สูง (Sonication bath) เป็นเวลา 20 นาที
4. นำไปหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี (UV-visible spectroscopy) ที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร
5. ทำการทดลอง 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย

นำค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณพิววารินที่อยู่ในบีดไคโตซานและคาราจีแนน (มิลลิกรัม) และหาค่า %Drug loading และ %Encapsulation

โดย

$$\%Drug\ loading = \left(\frac{\text{Weight of drug in polymer}}{\text{Weight of polymer}} \right) \times 100$$

และ

$$\%Encapsulation = \left(\frac{\text{Actual drug loading}}{\text{Theoretical drug loading}} \right) \times 100$$

2.2.7 การทดสอบความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยพิววาริน

การควบคุมการปลดปล่อยที่ pH 1.2

1. ชั่งบีดไคโตซานและคาราจีแนนด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ให้มีน้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม
2. นำขวดที่มีฝาปิดมิดชิดบรรจุ 50 มิลลิลิตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มี pH 1.2 ไปวางบนเครื่องเขย่า ปรับความเร็วเป็น 50 รอบต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
3. ใส่บีดไคโตซานและคาราจีแนนที่ชั่งไว้ลงในถุงไดอะไลซิส (dialysis bag) และใส่ลงในขวดที่มีฝาปิดมิดชิดที่บรรจุสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มี pH 1.2 จากนั้นเก็บสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณพิววารินที่ปลดปล่อยออกมาโดยใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายในขวดขึ้นมา 3 มิลลิลิตรใส่ใน

หลอดทดลอง และใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายกรดไฮโดรคลอริก pH 1.2 เดิมลงไปปริมาตรเท่าเดิม ที่เวลา 30 นาที, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4,6 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

4. นำสารละลายที่เก็บในหลอดทดลองไปหาปริมาณพิวรารินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี (UV-visible spectroscopy) ที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร
5. ทำการทดลอง 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย

การควบคุมการปลดปล่อยที่ pH 6.4

1. ชั่งบีดโคโตซานและคาราจีแนนด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่งให้มีน้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม
2. นำขวดที่มีฝาปิดมิดชิดบรรจุ 50 มิลลิลิตรของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มี pH 6.4 ไปวางบนเครื่องเขย่า ปรับความเร็วเป็น 50 รอบต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
3. ใส่บีดโคโตซานและคาราจีแนนที่ชั่งไว้ลงในถุงไดอะไลซิส (dialysis bag) และใส่ลงในขวดที่มีฝาปิดมิดชิดที่บรรจุสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มี pH 6.4 จากนั้นเก็บสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณพิวรารินที่ปลดปล่อยออกมาโดยใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายในขวดขึ้นมา 3 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง และใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มี pH 6.4 เดิมลงไปปริมาตรเท่าเดิม ที่เวลา 30 นาที, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4,6 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ
4. นำสารละลายที่เก็บในหลอดทดลองไปหาปริมาณพิวรารินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี (UV-visible spectroscopy) ที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร
5. ทำการทดลอง 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย

การควบคุมการปลดปล่อยที่ pH 7.4

1. ชั่งบีดโคโตซานและคาราจีแนนด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่งให้มีน้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม
2. นำขวดที่มีฝาปิดมิดชิดบรรจุ 50 มิลลิลิตรของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มี pH 7.4 ไปวางบนเครื่องเขย่า ปรับความเร็วเป็น 50 รอบต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
3. ใส่บีดโคโตซานและคาราจีแนนที่ชั่งไว้ลงในถุงไดอะไลซิส (dialysis bag) และใส่ลงในขวดที่มีฝาปิดมิดชิดที่บรรจุสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มี pH 7.4 จากนั้นเก็บสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณพิวรารินที่ปลดปล่อยออกมาโดยใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายในขวดขึ้นมา 3 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง และใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มี pH 7.4 เดิมลงไปปริมาตรเท่าเดิม ที่เวลา 30 นาที, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4,6 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

4. นำสารละลายที่เก็บในหลอดทดลองไปหาปริมาณพิวรารินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี (UV-visible spectroscopy) ที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร
5. ทำการทดลอง 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย

2.2.8 วิธีการทดสอบความสามารถในการบวมตัวของบีดไลโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราริน

1. นำสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 1.2, 6.4 และ 7.4 มาอย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อจำนวน 3 จาน
2. นำบีดไลโตซานและคาราจีแนนมา 3 บีด วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแต่ละบีด
3. นำแต่ละบีดใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีแต่ละ pH อยู่ ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบีดที่ 1, 2, 4, 6 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ
4. ทำการทดลอง 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย



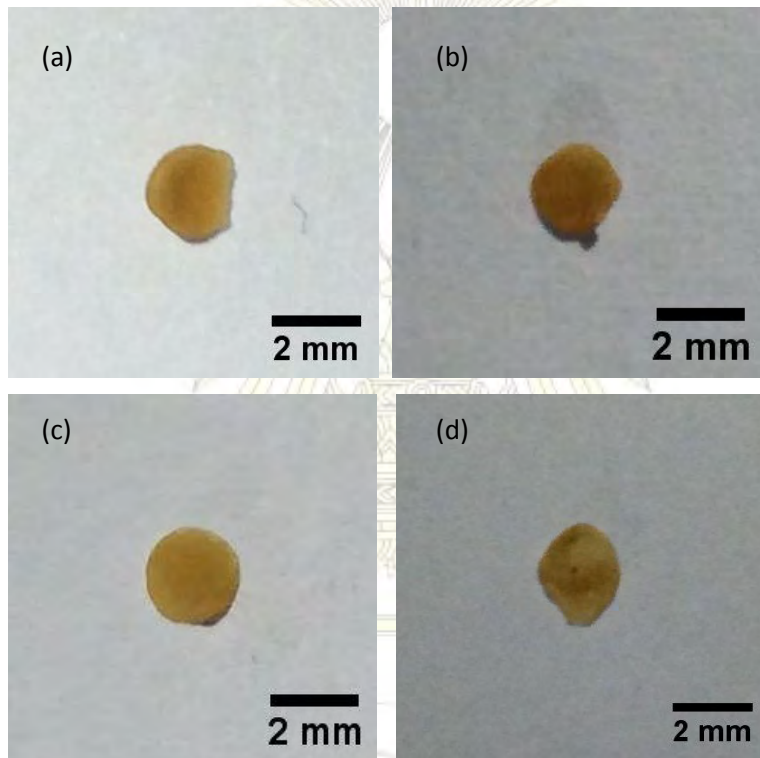
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

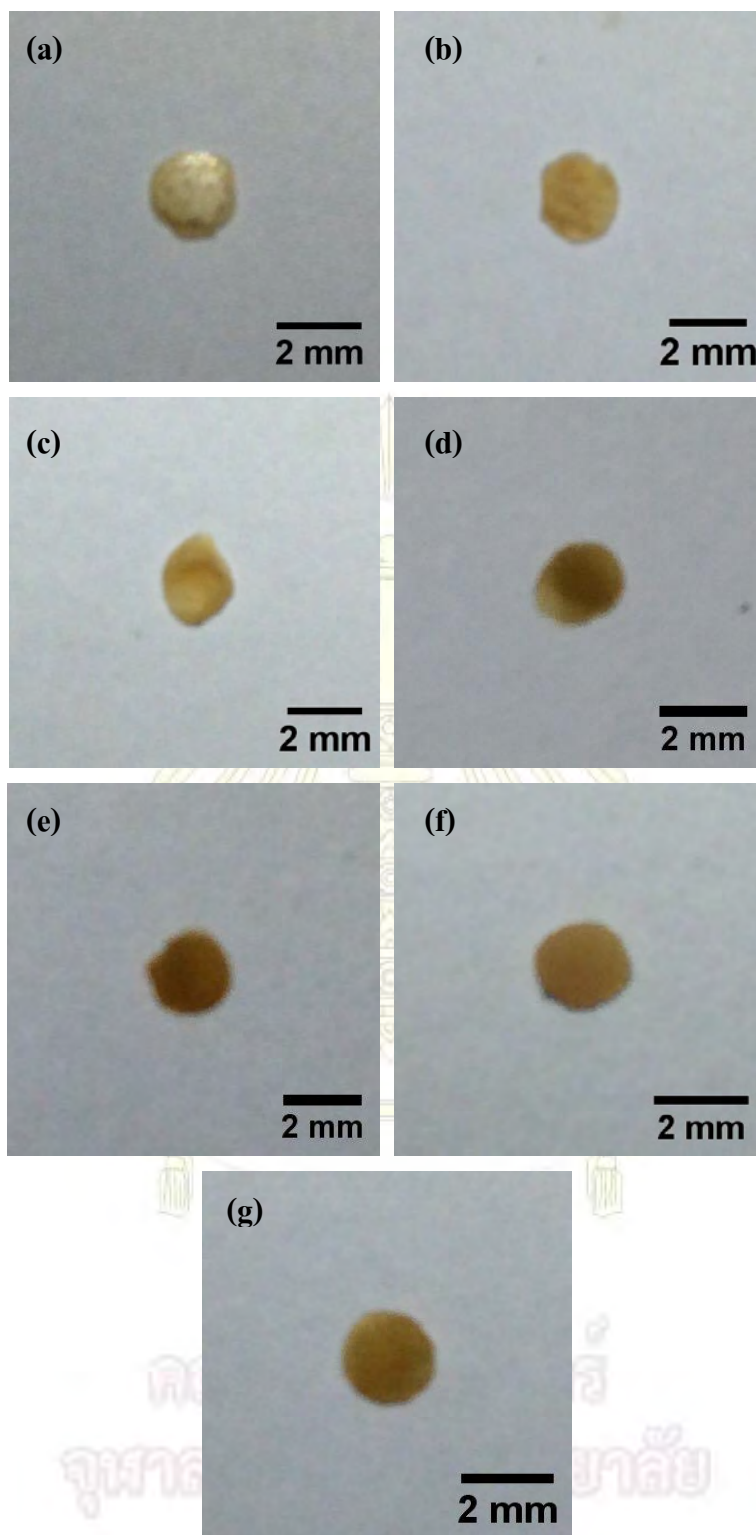
3.1 ลักษณะของบีตไคโตซานและการจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลิน

บีตไคโตซานและการจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลิน มีลักษณะดังนี้



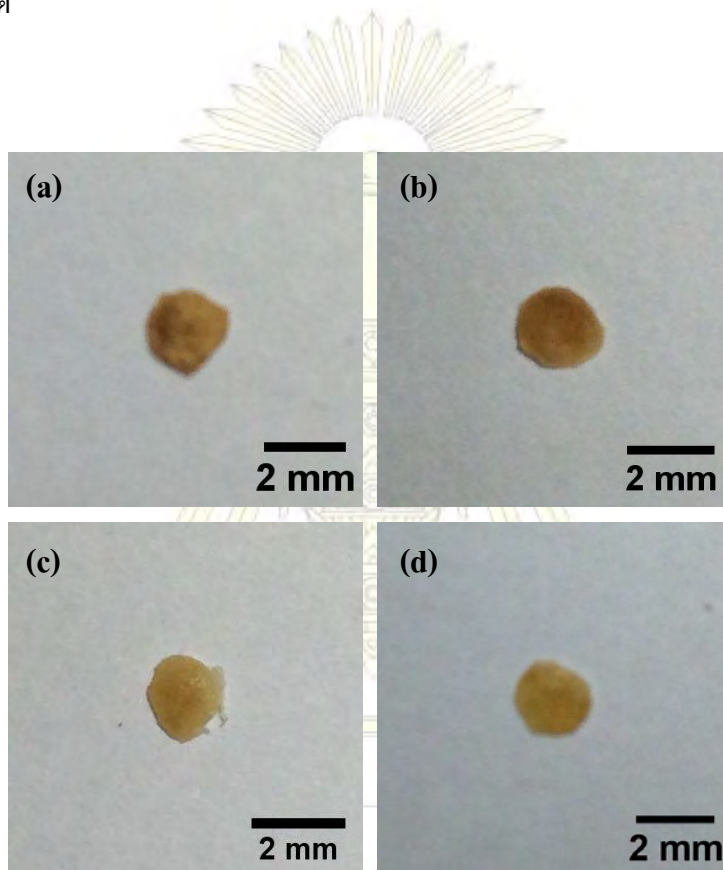
รูปที่ 3.1 บีตไคโตซานและการจีแนนในอัตราส่วนไคโตซาน:การจีแนนที่แตกต่างกัน
(a) อัตราส่วนไคโตซาน:การจีแนน 1:0 (b) อัตราส่วนไคโตซาน:การจีแนน 1:0.1
(c) อัตราส่วนไคโตซาน:การจีแนน 1:0.3 (d) อัตราส่วนไคโตซาน:การจีแนน 1:1

เมื่อพิจารณาลักษณะบีตไคโตซานและการจีแนนในอัตราส่วนไคโตซาน:การจีแนนที่แตกต่างกันจากรูปที่ 3.1 จะเห็นได้ว่าทั้ง 4 ภาพ (a), (b), (c) และ (d) มีสีเหลืองและมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใกล้เคียงกันคือประมาณ 2 มิลลิเมตร โดยที่ภาพ (a), (b) และ (c) จะมีลักษณะค่อนข้างกลม ส่วนภาพ (d) ที่อัตราส่วนไคโตซาน:การจีแนน 1:1 นั้นจะไม่ค่อยกลม กล่าวคือยิ่งอัตราส่วนของการจีแนนสูงขึ้นยังมีแนวโน้มที่จะทำให้บีตกลมน้อยลงแต่เมื่อพิจารณาการกักเก็บพิวราลินในตารางที่ 3.1 นั้นพบว่าที่อัตราส่วนไคโตซาน:การจีแนน 1:1 นั้นมีการกักเก็บพิวราลินได้มากที่สุด

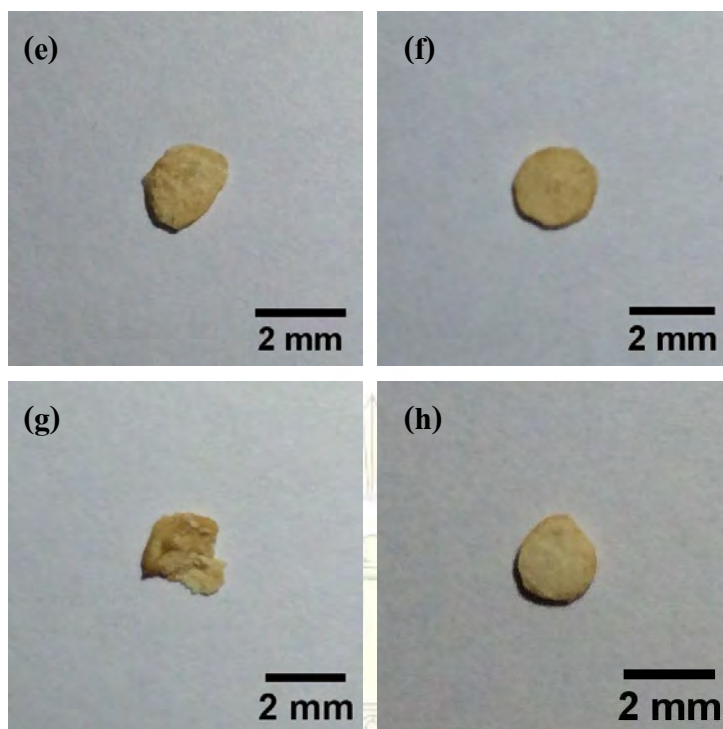


รูปที่ 3.2 บีดไคโตซานและคาราจีแนนที่อัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน 1:1 โดยใช้เวลาในการแช่เม็ดบีดแตกต่างกัน(a) 0 นาที (b) 10 นาที (c)30 นาที (d) 1 ชั่วโมง (e) 2 ชั่วโมง (f) 6 ชั่วโมง (g) 24 ชั่วโมง

พิจารณาบีดโคโตซานและคาราจีแนนที่อัตราส่วนโคโตซาน:คาราจีแนน 1:1 โดยใช้เวลาในการแช่เมล็ดบีดแตกต่างกันจากรูปที่ 3.2 จะเห็นได้ว่าภาพ (a)-(g) บีดที่ได้มีสีเหลืองและมีเส้นผ่านศูนย์กลางที่ใกล้เคียงกันคือประมาณ 2 มิลลิเมตร แต่ลักษณะบีดของภาพ (a)-(c) คือที่ใช้เวลาแช่บีด 0, 10, 30 นาที บีดจะมีพื้นผิวที่ไม่เรียบและไม่ค่อยกลม ส่วนภาพ (d)-(g) บีดจะมีพื้นผิวที่เรียบกว่าและมีความกลมมากกว่า แต่เมื่อพิจารณาการกักเก็บพิวราลินในตารางที่ 3.1 พบว่ายิ่งแช่บีดนานยิ่งทำให้กักเก็บพิวราลินได้น้อยลง เนื่องจากเกิดการสูญเสียไประหว่างการแช่บีดในสารละลายผสมระหว่างโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตและโพแทสเซียมคลอไรด์



รูปที่ 3.3 บีดโคโตซานและคาราจีแนนโดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน (a) อัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน 10 นาที:พิวราลิน 2:1, แช่บีด 0 นาที (b) อัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 2:1, แช่บีด 10 นาที (c) อัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 3:1, แช่บีด 0 นาที (d) อัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 3:1, แช่บีด 10 นาที



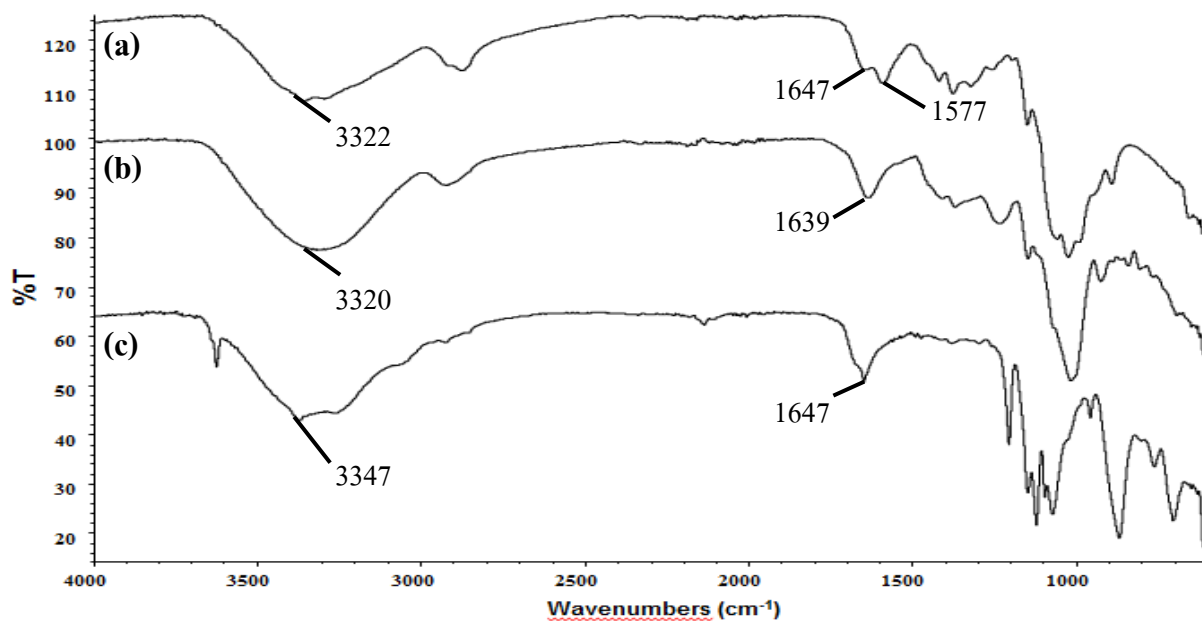
รูปที่ 3.3(ต่อ) บีดโคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน
 (e) อัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 1:2, แช่บีด 0 นาที (f) อัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:
 พิวราลิน 1:2, แช่บีด 10 นาที (g) อัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 1:3, แช่บีด 0 นาที
 (h) อัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 1:3, แช่บีด 10 นาที

พิจารณาบีดโคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโคโตซานและคาราจีแนน:พิวรา
 ลินจากรูปที่ 3.3 พบว่าในทุกภาพเมื่อบีดจะมีสีเหลือง โดยที่ภาพ (b), (d), (f) และ (h) กล่าวคือที่เวลาแช่บีด
 10 นาทีของทุกอัตราส่วนนั้นจะมีความกลมและลักษณะพื้นผิวที่เรียบกว่าบีดที่ใช้เวลาในการแช่ 0 นาที คือ
 ภาพ (a), (c), (e) และ (g)

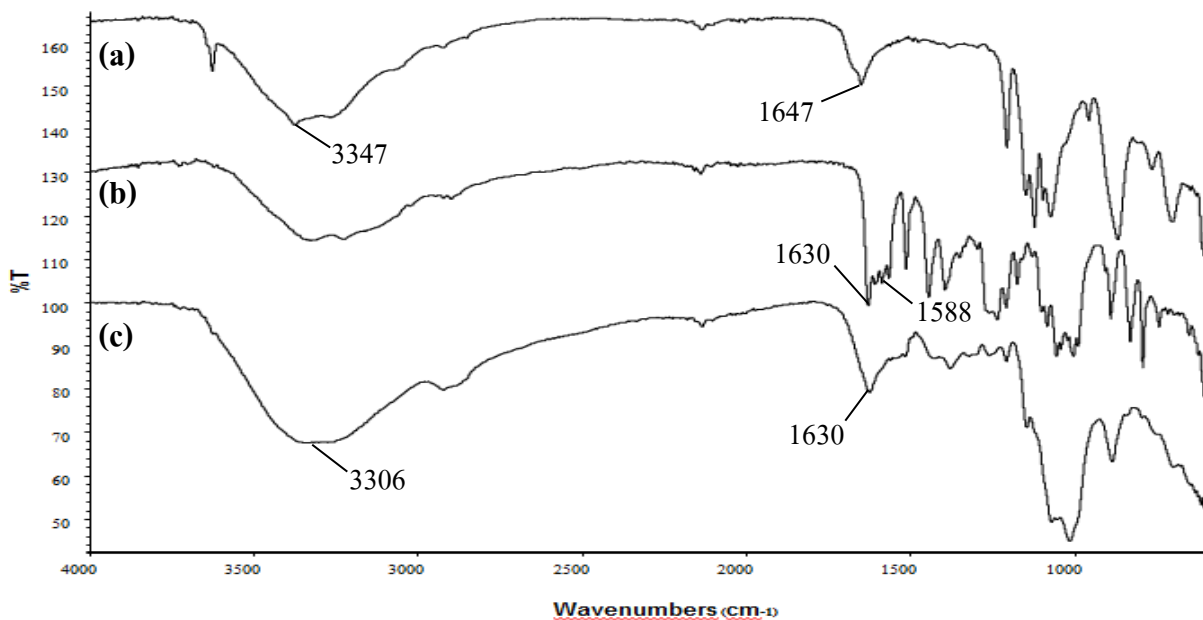
ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนเม็ดปิดด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (IR-spectroscopy)

ในการทดลองครั้งนี้ใช้เทคนิค IR-spectroscopy เพื่อศึกษาหมู่ฟังก์ชันของเม็ดบนไคโตซานและคาราจีแนน โดยกราฟที่ได้มีลักษณะเป็นดังรูปที่ 3.4 และ 3.5

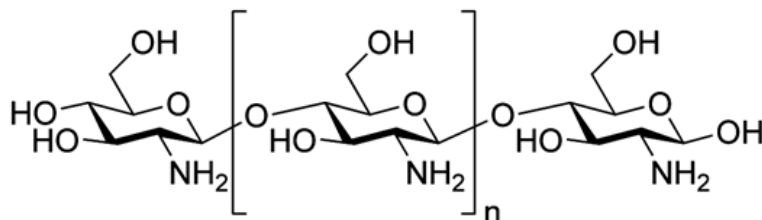


รูปที่ 3.4 สเปกตรัมของ (a) ไคโตซาน (b) คาราจีแนน (c) เม็ดไคโตซานและคาราจีแนน



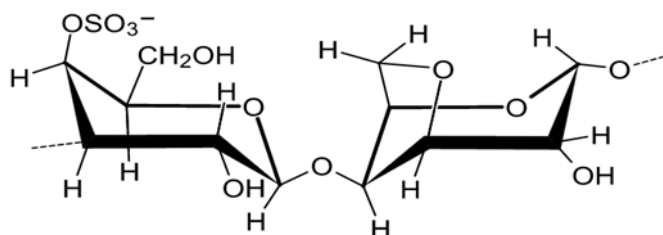
รูปที่ 3.5 สเปกตรัมของ (a) เม็ดไคโตซานและคาราจีแนน (b) พิวราลิน (c) เม็ดไคโตซานและคาราจีแนนที่มีพิวราลิน

พิจารณา IR สเปกตรัมในรูปที่ 3.4 (a) ไคโตซานมีการดูดกลืนรังสีเป็นช่วงกว้างที่ความยาวคลื่นประมาณ 3322 cm^{-1} ซึ่งเป็นพีกของ OH-stretching ที่เข้มและกว้างเนื่องจากไคโตซานมีหมู่ฟังก์ชัน -OH อยู่หลายตำแหน่ง ซึ่งทำให้ซ้อนทับกับสัญญาณของหมู่ฟังก์ชัน -NH ที่ความยาวคลื่นประมาณ 3400 cm^{-1} แต่ยังคงปรากฏสัญญาณของ -NH bending ที่ 1647 cm^{-1} และ 1577 cm^{-1}



รูปที่ 3.6 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

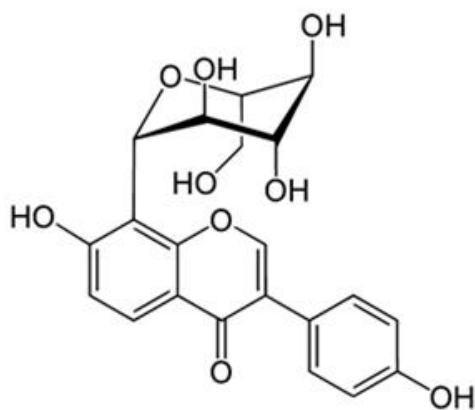
พิจารณา IR สเปกตรัมของคาราจีแนนในรูป 3.4 (b) พบว่ามีการดูดกลืนรังสีในช่วงความยาวคลื่น 3306 cm^{-1} ซึ่งเป็นพีกของ OH-stretching ที่เข้มและกว้างและพีกสัญญาณที่ความยาวคลื่น 1639 , 1372 , 880 และ 811 cm^{-1} เป็นสัญญาณที่เป็นเอกลักษณ์ของโพลีแซคคาไรด์ที่มีหมู่ซัลเฟต (13)



รูปที่ 3.7 โครงสร้างทางเคมีของคาราจีแนน

พิจารณา IR สเปกตรัม (c) ในรูปที่ 3.4 ซึ่งเป็นบีดที่มีส่วนผสมของไคโตซานและคาราจีแนน พบสัญญาณที่ความยาวคลื่น 3347 cm^{-1} ที่เข้มและกว้างซึ่งเป็นพีกสัญญาณของ OH-stretching และที่ความยาวคลื่น 1647 cm^{-1} ซึ่งเป็นหนึ่งในพีกที่เป็นเอกลักษณ์ของโพลีแซคคาไรด์ที่มีหมู่ซัลเฟตซ้อนทับกับพีกสัญญาณของ -NH bending แสดงให้เห็นว่าบีดที่สังเคราะห์ได้ยังมีหมู่ฟังก์ชันหลักของไคโตซานและคาราจีแนนอยู่

พิจารณา IR สเปกตรัม (b) ในรูปที่ 3.5 ของพิวราลิน พบสัญญาณที่ 1630 cm^{-1} เป็นพีกสัญญาณของ C=O stretching vibration ของหมู่ฟังก์ชันแอลดีไฮด์ของกลูโคไซด์ในโครงสร้างที่ 1588 cm^{-1} เป็นพีกสัญญาณของ Benzene skeleton บนโครงสร้างและที่ 1260 cm^{-1} เป็นพีกสัญญาณของ C-O stretching (14)

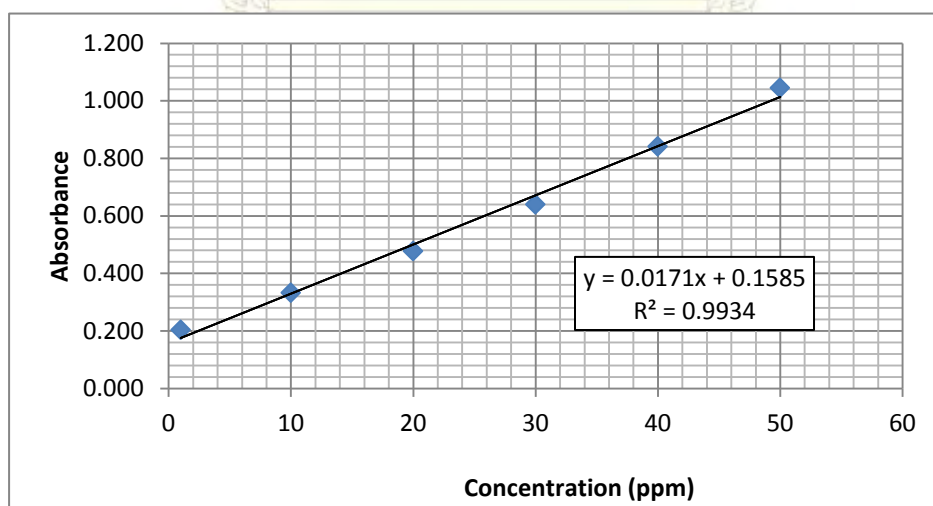


รูปที่ 3.8 โครงสร้างทางเคมีของพิวราริน

พิจารณา IR สเปกตรัม (c) ในรูป 3.5 ซึ่งป็นบีดไคโตซานและคาราจีแนนที่มีพิวรารินผสมอยู่ ซึ่งจากสเปกตรัมแสดงให้เห็นสัญญาณที่เป็นเอกลักษณ์ของพิวรารินอยู่ แสดงให้เห็นว่าพิวรารินไม่สลายตัวระหว่างกระบวนการสังเคราะห์ และที่สัญญาณช่วง 3306 cm^{-1} ซึ่งเป็นสัญญาณที่เข้มและกว้างมากของ -OH stretching ของหมู่ -OH บนพิวรารินเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่ -NH บนไคโตซาน

3.3 การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาปริมาณของพิวราริน

การทดลองนี้เป็นการศึกษาหาปริมาณของพิวรารินจากสารละลายพิวรารินที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาปริมาณของพิวราริน ได้กราฟดังรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.9 กราฟมาตรฐานของสารละลายพิวรารินมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากผลการทดลองสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาปริมาณพิวราลิน พบว่า กราฟมาตรฐานที่ได้มีสมการคือ $Y=0.0171X + 0.1585$ และมีค่า $R^2 = 0.9934$

3.4 การหาปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนปริมาณของไคโตซาน:คาราจีแนน

การทดลองนี้เป็นการศึกษาหาปริมาณของพิวราลินที่สามารถถูกกักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลิน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนปริมาณของไคโตซานและคาราจีแนน ซึ่งมีอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลินเป็น 1:1 โดยแช่บีด 24 ชั่วโมง โดยจะแสดงผลในรูปของ % Encapsulation ได้ผลการทดลองดังตาราง 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงค่าปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนในอัตราส่วนไคโตซาน : คาราจีแนน ที่แตกต่างกัน

อัตราส่วน ไคโตซาน : คาราจีแนน	% Encapsulation
1:0	5.8 ± 0.2
1:0.1	4.8 ± 0.2
1:0.3	4.5 ± 0.1
1:1	9.1 ± 0.1

จากการทดลองหาปริมาณพิวราลินที่สามารถถูกกักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลิน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนปริมาณของไคโตซานและคาราจีแนนโดยใส่พิวราลินเป็น 1 เท่าของไคโตซานและคาราจีแนนโดยแช่บีด 24 ชั่วโมง นั้นพบว่าเมื่อนำมาหาค่า % การกักเก็บยา(%Encapsulation)นั้นจะได้ค่าที่น้อยมาก โดยแต่ละอัตราส่วนนั้นมีค่าน้อยกว่า 10 % อาจเกิดจากวิธีการเตรียมไคโตซานและคาราจีแนนในรูปแบบบีดซึ่งจะต้องแช่ไคโตซานและคาราจีแนนในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตและสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เพื่อให้เกิดบีสต์ จึงทำให้เกิดการสูญเสียพิวราลินไประหว่างการแช่บีด นาน 24 ชั่วโมง โดยที่ในอัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน เป็น 1:0, 1:0.1, 1:0.3 นั้นจะได้ % Encapsulation ที่ใกล้เคียงกันคือ 5.8%, 4.8% และ 4.5% ตามลำดับ โดยที่อัตราส่วนไคโตซาน : คาราจีแนนเป็น 1:1 นั้นจะให้ % Encapsulation ที่สูงที่สุด โดยมีค่า 9.1% อาจเป็นเพราะเมื่อมีคาราจีแนนมากขึ้นนั้นจะยิ่งเพิ่ม electrostatic interactions ระหว่างประจุบวกของหมู่แอมโมเนียม ($-NH_4^+$) ของไคโตซาน และประจุลบของคาราจีแนน ($-SO_3^-$) ทำให้เกิดแรงยึดเหนี่ยวกันมากขึ้นส่งผลให้ได้ %Encapsulation ที่สูงขึ้นด้วย

3.5 การหาปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนโดยเปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีด

การทดลองนี้เป็นการศึกษาหาปริมาณของพิวราลินที่สามารถถูกกักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลิน โดยเปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีด ซึ่งมีอัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน เป็น 1:1 และอัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลินเป็น 1:1 โดยจะแสดงผลในรูปแบบของ % Encapsulation ได้ผลการทดลองดังตาราง 3.2

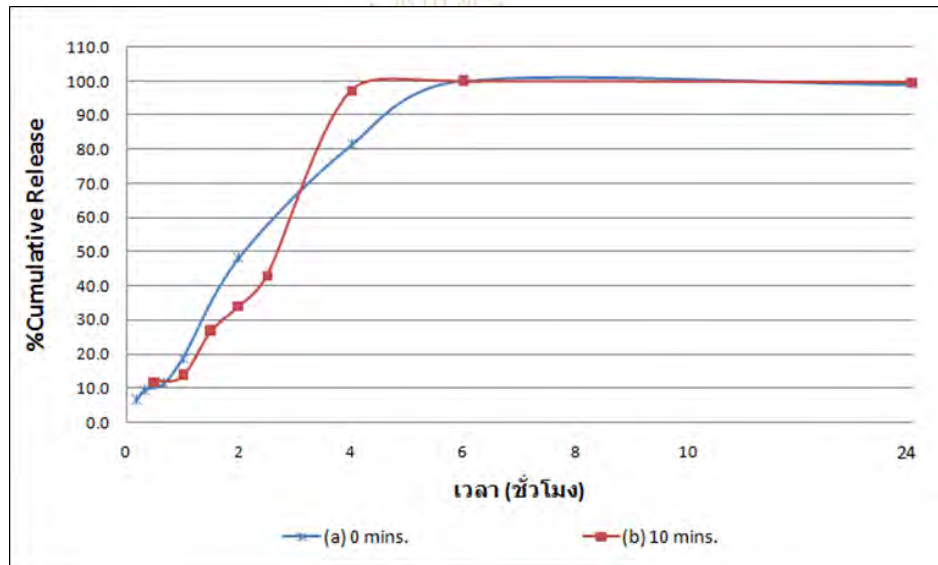
ตาราง 3.2 แสดงค่าปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนอัตราส่วน 1:1 ที่ใช้เวลาในการแช่บีดแตกต่างกัน

เวลาในการแช่บีด	% Encapsulation
0 นาที	30.0 ± 0.7
10 นาที	26.3 ± 0.9
30 นาที	24.9 ± 1.2
1 ชั่วโมง	14.1 ± 0.7
2 ชั่วโมง	12.5 ± 0.2
6 ชั่วโมง	11.5 ± 0.5
24 ชั่วโมง	9.1 ± 0.1

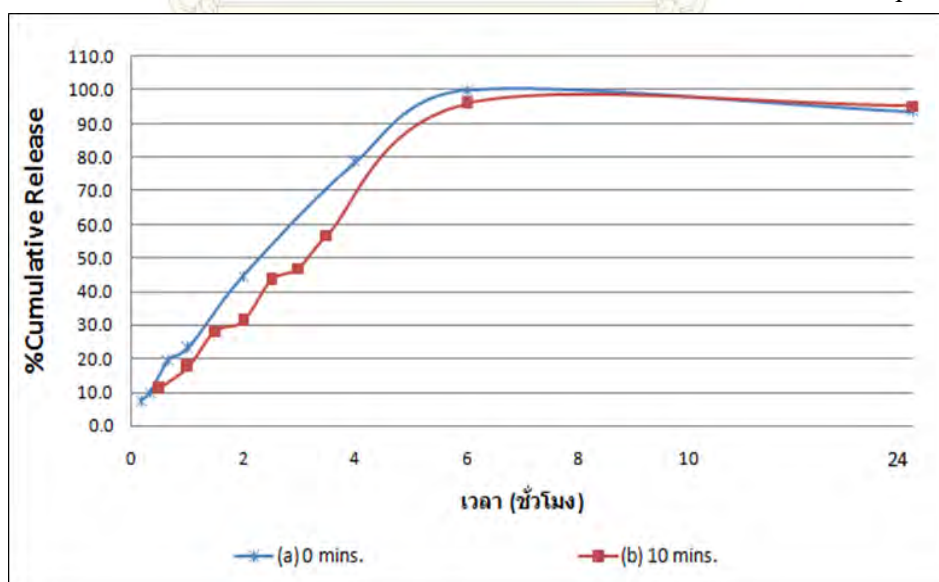
จากการทดลองหาปริมาณพิวราลินที่สามารถถูกกักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลิน โดยเปลี่ยนแปลงเวลาในการแช่บีด ซึ่งมีอัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน เป็น 1:1 และอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลินเป็น 1:1 นั้นพบว่า ยิ่งเพิ่มเวลาในการแช่บีดนาน ยิ่งทำให้ได้ % Encapsulation ที่น้อยลง เนื่องจากสูญเสียยาไปในระหว่างการแช่บีด จากตารางที่ 3.2 พบว่าเมื่อแช่บีดตั้งแต่ 1 ชั่วโมงเป็นต้นไป % Encapsulation ที่ได้จะมีค่าน้อยมาก อยู่ที่ 14.1%, 12.5%, 11.5% และ 9.1% ที่เวลา 1, 2, 6 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และที่เวลา 0, 10 และ 30 นาทีนั้นจะให้ % Encapsulation ที่สูงกว่า และมีค่าใกล้เคียงกันคือ 30%, 26.3% และ 24.9% ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในตอนๆ ที่ 3.3 ที่ใช้เวลาในการแช่บีดนานทำให้สูญเสียปริมาณของพิวราลินไปในระหว่างการแช่บีด

3.6 การทดสอบความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยพิวราลินจากบีดไคโตซานและคาราจีแนนโดยเปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีด

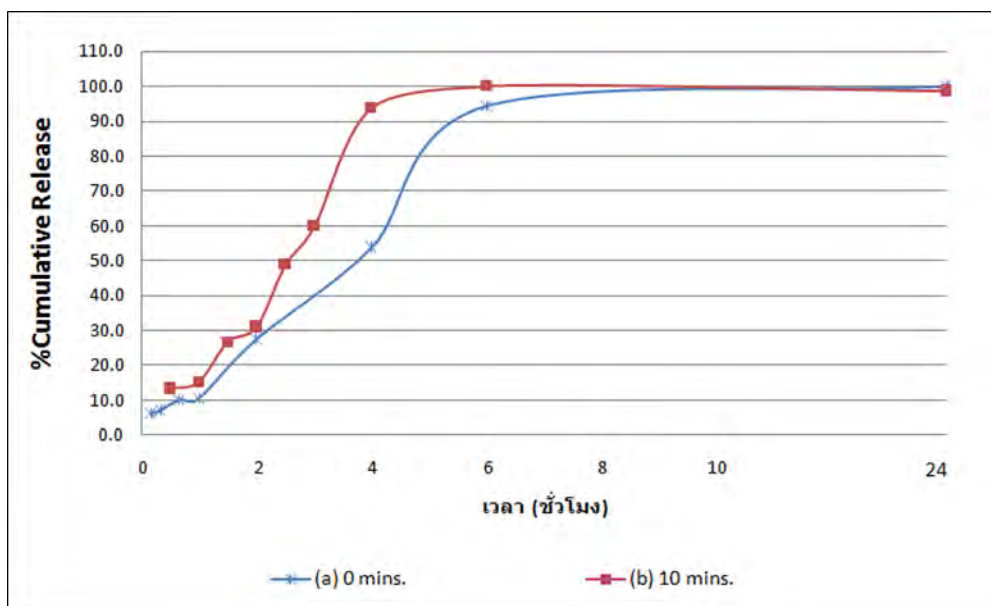
ผลการศึกษาการปลดปล่อยพิวราลินของบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยมีอัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 และมีอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:ยาพิวราลินเป็น 1:1 ที่เปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีด เพื่อศึกษาผลของระยะเวลา 0 นาทีและ 10 นาทีในการแช่อยู่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตและสารละลายละลายโพแทสเซียมคอลไนด์ ที่ pH 1.2, 6.4 และ 7.4 ดังรูปที่ 3.10, 3.11 และ 3.12ตามลำดับ



รูปที่ 3.10 กราฟการปลดปล่อยพิวราลินจากบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยมีอัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 ที่เวลาในการแช่บีด 0 นาทีและ 10 นาทีที่ pH 1.2



รูปที่ 3.11 กราฟการปลดปล่อยพิวราลินจากบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยมีอัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 ที่เวลาในการแช่บีด 0 นาทีและ 10 นาทีที่ pH 6.4



รูปที่ 3.12 กราฟการปลดปล่อยฟิวรีนจากบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยมีอัตราส่วนไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 ที่เวลาในการแช่บีดส์ 0 นาทีและ 10 นาที ที่ pH 7.4

จากผลการทดลองในกราฟรูปที่ 3.10 ในสภาวะ pH 1.2 พบว่ากราฟของชุดข้อมูล a (ใช้เวลาในการแช่บีด 0 นาที) มีการปลดปล่อยฟิวรีนประมาณ 48% และชุดข้อมูล b (ใช้เวลาในการแช่บีด 10 นาที) มีการปลดปล่อยฟิวรีน 35% หลังจากนั้นในช่วงเวลา 3-6 ชั่วโมงจะค่อยๆปลดปล่อยฟิวรีนออกมาจนหมดที่ประมาณ 6 ชั่วโมงเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในกราฟรูปที่ 3.11 ในสภาวะ pH 6.4 พบว่ากราฟของชุดข้อมูล a ที่เวลา 2 ชั่วโมงนั้นมีการปลดปล่อยฟิวรีน 45% และชุดข้อมูล b มีการปลดปล่อย 30% หลังจากนั้นในช่วงเวลา 3-6 ชั่วโมงจะค่อยๆปลดปล่อยฟิวรีนออกมาจนหมดที่ประมาณ 6 ชั่วโมงและที่ภาวะ pH เท่ากับ 7.4 ดังกราฟรูปที่ 3.12 พบว่าที่เวลา 2 ชั่วโมง ข้อมูลชุด a มีการปลดปล่อยฟิวรีนที่ 28% และข้อมูลชุด b มีการปลดปล่อยฟิวรีนที่ 31% ตามลำดับและถูกปลดปล่อยออกมาจนหมดที่ประมาณ 6 ชั่วโมง

จากผลการทดลองในข้างต้นจะเห็นได้ว่าบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยฟิวรีนในชุดการทดลอง a และ b เมื่อเทียบช่วงเวลาที่เหมือนกันของการปลดปล่อยจะพบว่าชุดการทดลอง b ฟิวรีนมีการปลดปล่อยออกมาน้อยกว่าชุดการทดลอง a อีกทั้งบีดที่สังเคราะห์โดยใช้เวลาในการแช่บีด 0 นาที บางเม็ดจะแตกและมีความกลมน้อยกว่า 10 นาที ดังนั้นเวลาที่ใช้ในการแช่บีด 10 นาทีจึงเป็นเวลาที่เหมาะสม

3.7 การหาปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนโดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน

การทดลองนี้เป็นการศึกษาหาสูตรผสมของยาที่เหมาะสมที่สุดเพื่อให้ได้ปริมาณการกักเก็บยา หรือ %Encapsulation ที่สูงที่สุด โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:ยาพิวราลินในอัตราส่วนต่างๆกัน ที่อัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนนเป็น 1:1 โดยแช่บีด 0 นาทีและ 10 นาที โดยจะแสดงผลในรูปของ % Encapsulation ได้ผลการทดลองดังตาราง 3.3

ตาราง 3.3 แสดงค่าปริมาณของพิวราลินที่กักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน

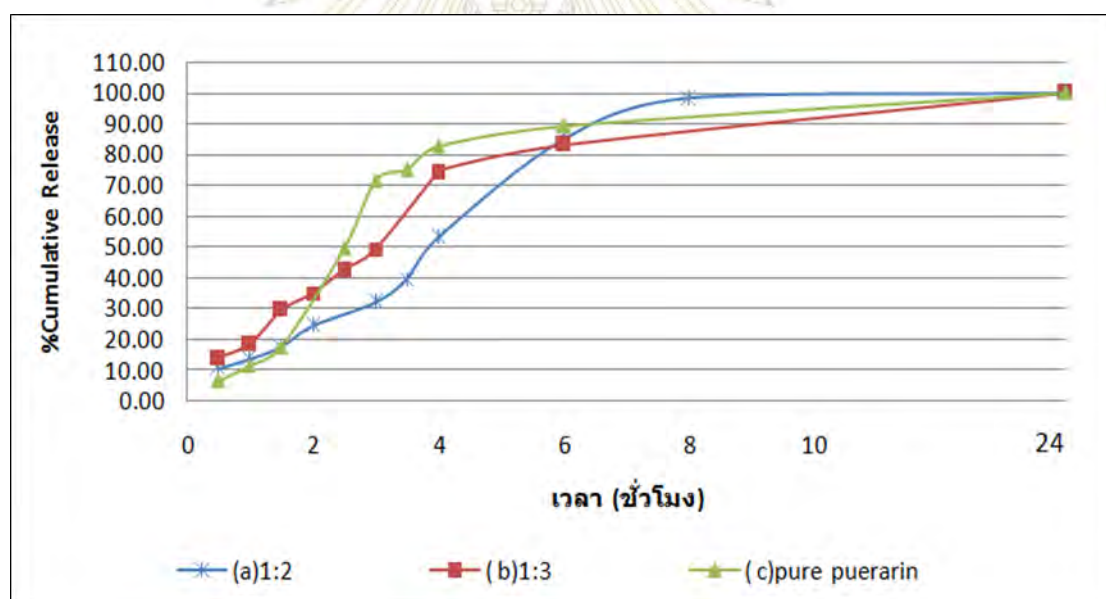
อัตราส่วน ไคโตซานและคาราจีแนน:ยาพิวราลิน	เวลาในการแช่บีด (นาที)	% Encapsulation
2:1	0	23.58 ± 0.03
	10	23.03 ± 0.02
3:1	0	8.72 ± 0.02
	10	5.17 ± 0.01
1:2	0	65.19 ± 0.02
	10	88.94 ± 0.03
1:3	0	55.91 ± 0.00
	10	54.23 ± 0.02

จากการทดลองหาปริมาณพิวราลินที่สามารถถูกกักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวราลิน โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ ไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน ซึ่งมีอัตราส่วนไคโตซาน : คาราจีแนน เป็น 1:1 ที่เวลาในการแช่บีด 0 นาที และ 10 นาที นั้นพบว่า เมื่อลดปริมาณยาลงจะทำให้ได้ % Encapsulation ที่น้อยลง เนื่องจากยังไม่ถึงจุดอิ่มตัวในการใส่ยา โดยจากตารางที่ 3.3พบว่าที่อัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน เป็น 2:1 ที่ 0 นาทีและ 10 นาทีได้ % Encapsulation ลดลงจากอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:ยา 1:1 เหลือ 23.58% และ 23.03% นอกจากนี้เมื่อลดอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน เป็น 3:1 พบว่าได้ค่า % Encapsulation น้อยมาก โดยไม่ถึง 10% และเมื่อทำการเพิ่มอัตราส่วนปริมาณพิวราลินเป็น 1:2 จะได้ % Encapsulation ที่ 0 นาทีและ 10 นาที เพิ่มขึ้นเป็น 65.19% และ 88.94% ตามลำดับ ซึ่งที่ 0 นาทีมี % Encapsulation น้อยกว่า 10 นาทีนั้นอาจเป็นเพราะบีดยังเกิดการพอร์มตัวได้ไม่แข็งแรงที่ 0 นาที ทำให้ที่ 10 นาทีสามารถกักเก็บยาได้ดีกว่า และเมื่อทำการเพิ่มอัตราส่วนปริมาณพิวราลินเป็น 1:3 พบว่า % Encapsulation นั้นลดลงโดยที่ 0 นาทีได้ 55.91% และที่ 10 นาทีได้ 54.23% เป็นเพราะมีปริมาณยาที่มากเกินไปที่บีดไคโตซานและคาราจีแนนจะสามารถกักเก็บได้ โดยจากการทดลองนั้นพบว่าที่อัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 1:3 ที่เวลา

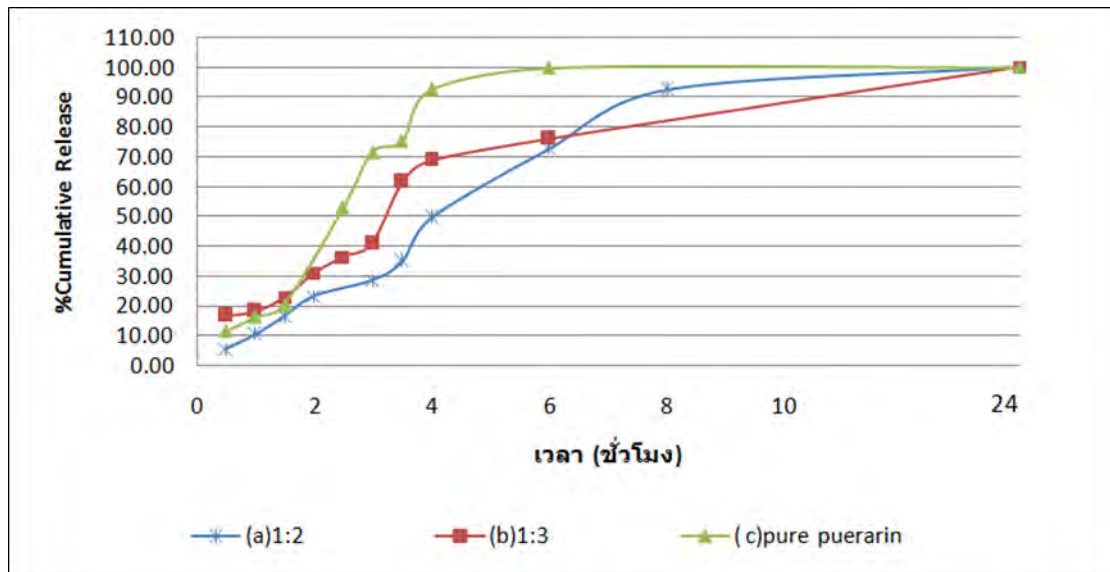
ในการแช่บีด 0 นาทีนั้นบางบีดเกิดการแตกออกทำให้ทำให้ไม่สามารถฟอร์มเป็นเม็ดได้ ดังนั้นจะได้ว่าที่อัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวรารินเป็น 1:2 นั้นจะให้ % Encapsulation ที่สูงที่สุด

3.8 การทดสอบความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซานและคาราจีแนนโดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราริน

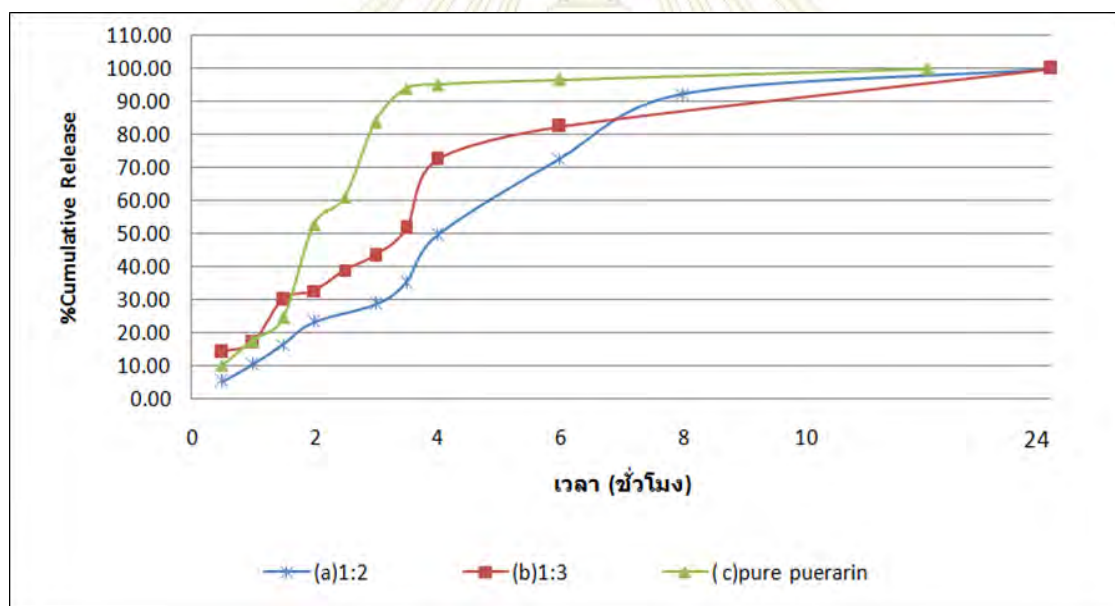
ผลการศึกษาการปลดปล่อยพิวรารินของบีดไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราริน โดยจะศึกษาการปลดปล่อยยาของอัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราริน ที่ 1:2 และ 1:3 เนื่องจากให้ค่า % Encapsulation ที่สูง เพื่อศึกษาผลของระยะเวลา 10 นาทีในการแช่บีดอยู่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตและสารละลายละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เนื่องจากเป็นเวลาที่เหมาะสมในการฟอร์มตัวของบีด โดยที่ไม่ทำให้สูญเสียยาขณะแช่บีดมากเกินไป โดยทำในสภาวะ pH 1.2, 6.4 และ 7.4 ดังรูปที่ 3.13, 3.14 และ 3.15ตามลำดับ



รูปที่ 3.13 กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราริน โดยใช้เวลาในการแช่บีด 10 นาทีที่ pH 1.2



รูปที่ 3.14 กราฟการปลดปล่อยพิวราลินจากไคโตซานและคาราจีแนน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน โดยใช้เวลาในการแช่ปิด 10 นาทีที่ pH 6.4



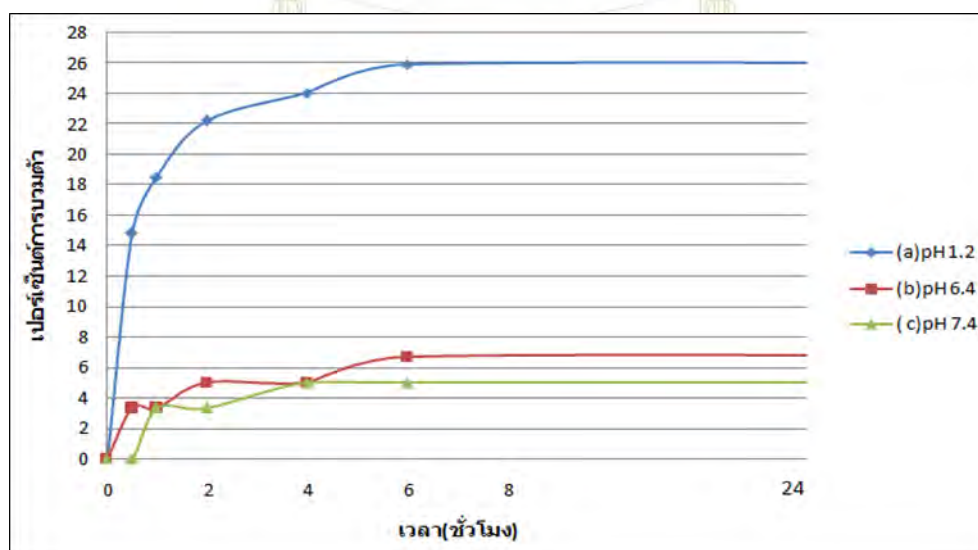
รูปที่ 3.15 กราฟการปลดปล่อยพิวราลินจากบีดไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน โดยใช้เวลาในการแช่ปิด 10 นาทีที่ pH 7.4

จากผลการทดลองในกราฟรูปที่ 3.13 ในสภาวะ pH 1.2 ที่จำลองสภาวะของกระเพาะอาหารพบว่า กราฟของชุดข้อมูล c (pure puerarin) ที่เวลา 2 ชั่วโมงนั้นมีการปลดปล่อยพิวราลินถึง 50% เมื่อพิจารณาชุดข้อมูล a (ที่อัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 1:2) มีการปลดปล่อยพิวราลิน 20% และชุดข้อมูล b (ที่อัตราส่วนไคโตซานและคาราจีแนน:พิวราลิน 1:3) มีการปลดปล่อยพิวราลิน 35% ซึ่งตรงตามวัตถุประสงค์ของการทดลองที่ว่าโดยปกติแล้วจะอยู่ในกระเพาะประมาณ 2 ชั่วโมงก่อนจะเคลื่อนไปยัง

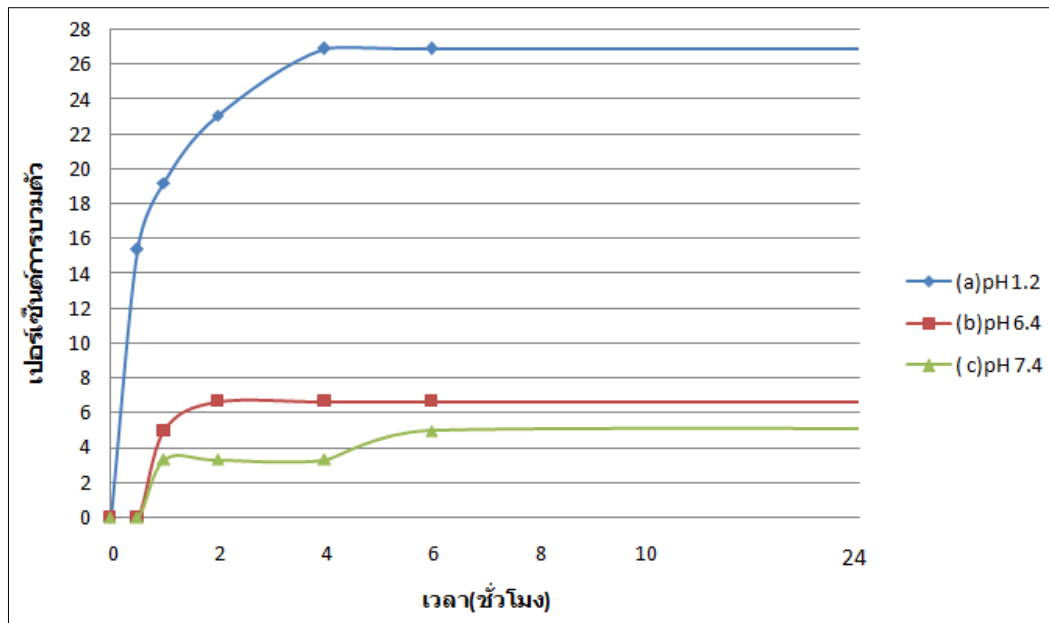
ลำไ้เล็ก ซึ่งจากการทดลองบดที่สังเคราะห์ได้ในชุดการทดลอง a สามารถควบคุมการปลดปล่อยพิวรีน 2 ชั่วโมงแรกได้อย่างมีประสิทธิภาพและเมื่อพิจารณาที่ผลการทดลองในกราฟรูปที่ 3.14 ในสภาวะ pH 6.4 ที่จำลองสภาวะของลำไ้เล็กตอนต้นพบว่ากราฟของชุดข้อมูล c ที่เวลา 2 ชั่วโมงนั้นมีการปลดปล่อยพิวรีน 55% เมื่อพิจารณาชุดข้อมูล a มีการปลดปล่อยพิวรีน 25% และชุดข้อมูล b มีการปลดปล่อยพิวรีน 30% ในขณะที่ภาวะที่ pH เท่ากับ 7.4 ที่จำลองสภาวะลำไ้เล็กตอนปลายดังกราฟรูปที่ 3.15 พบว่ากราฟของชุดข้อมูล c ที่เวลา 2 ชั่วโมงนั้นมีการปลดปล่อยพิวรีน 53% เมื่อพิจารณาชุดข้อมูล a มีการปลดปล่อยพิวรีนประมาณ 23% และชุดข้อมูล b มีการปลดปล่อยพิวรีน 31% ตามลำดับซึ่งในสภาวะนี้ผู้วิจัยต้องการที่จะยืดระยะเวลาการปลดปล่อยพิวรีนให้ได้นานที่สุดเพื่อให้ผู้ป่วยไม่ต้องรับประทานยาบ่อยครั้ง ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าในช่วงเวลาเดียวกันเมื่อเทียบระหว่างชุดการทดลอง a, b และ c นั้นชุดข้อมูล a คืออัตราส่วน ไคโตซานและคาร์ราจีแนน:ยาพิวรีน 1:2 ที่อัตราส่วน ไคโตซาน:คาร์ราจีแนน 1:1 โดยใช้เวลาในการแช่บด 10 นาทีนั้น เป็นสูตรผสมที่เหมาะสมในการสังเคราะห์บด ไคโตซานและคาร์ราจีแนนเพื่อควบคุมการปลดปล่อยพิวรีนมากที่สุด

3.9 การทดสอบความสามารถในการบวมตัวของบดไคโตซานและคาร์ราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวรีน

การทดลองนี้เป็นการศึกษาลักษณะการบวมตัว (swell) ของบดไคโตซานและคาร์ราจีแนน เพื่อศึกษาหาแนวโน้มของการบวมตัวของบดไคโตซานและคาร์ราจีแนนที่ pH 1.2, pH 6.4 และ pH 7.4 โดยทำการทดลอง 2 ชุดการทดลอง คือชุดการทดลองที่ อัตราส่วนไคโตซานและคาร์ราจีแนน:พิวรีนเป็น 1:2 และชุดการทดลองที่มีเฉพาะไคโตซานและคาร์ราจีแนนโดยไม่ใส่พิวรีนเข้าไป เพื่อทำการเปรียบเทียบลักษณะการบวมตัวของพอลิเมอร์ก่อนและหลังการใส่พิวรีน โดยแสดงผลดังกราฟรูปที่ 3.16 และ 3.17



รูปที่ 3.16 กราฟแสดงลักษณะการบวมตัวของบดไคโตซานและคาร์ราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวรีนโดยมีอัตราส่วน ไคโตซานและคาร์ราจีแนน:พิวรีนเป็น 1:2 ที่ pH 1.2, 6.4, 7.4



รูปที่ 3.17 กราฟแสดงลักษณะการบวมตัวของบีคโคโตซานและคาร์จีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวรีน โดยไม่มีการใส่พิวรีนที่ pH 1.2, 6.4, 7.4

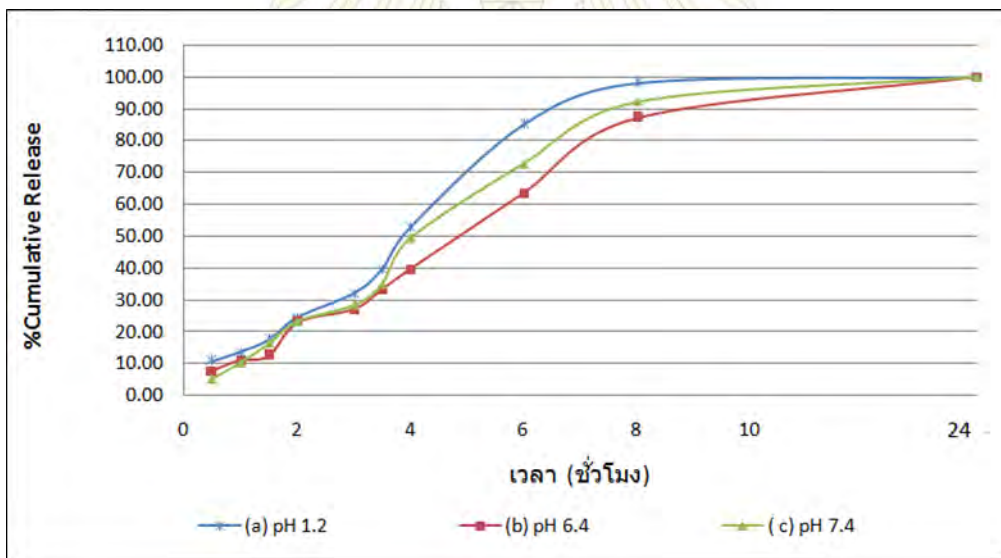
จากผลการทดลองในกราฟรูปที่ 3.16 (โคโตซานและคาร์จีแนน:พิวรีนเป็น 1:2) และ กราฟรูปที่ 3.17 (ไม่มีการใส่พิวรีน) นั้นพบว่าทั้งสองกราฟในสภาวะ pH 1.2 นั้นจะเกิดการบวมตัวได้มากที่สุด และที่ pH 6.4 และ 7.4 นั้นมีลักษณะการบวมตัวที่น้อย และไม่แตกต่างกันมาก แต่ที่ pH 6.4 มีการบวมตัวที่มากกว่าเล็กน้อย อาจเป็นเพราะในสภาวะกรดนั้นที่ตำแหน่ง amine group ของโคโตซานจะถูก protonated ทำให้เกิดเป็นประจุบวก เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีกรดมากก็จะยิ่งถูก protonated ได้มาก ทำให้เกิดการผลักกันของประจุ (electrostatic repulsions) ทำให้เกิดการบวมตัวของบีคโคโตซานและคาร์จีแนนขึ้นทำให้ในสภาวะที่เป็นกรดนั้นจะเกิดการบวมตัวของบีคโคโตซานและคาร์จีแนนได้มากกว่า แต่จากการทดลองการปลดปล่อยพิวรีนนั้นพบว่า แม้ว่าจะมีการบวมตัวใน pH 1.2 มากที่สุด แต่ก็ยังสามารถช่วยยืดเวลาในการปลดปล่อยพิวรีนได้ ซึ่งเป็นการจำลองกับสภาวะในกระเพาะอาหารที่มีความเป็นกรด อีกทั้งในสภาวะ pH 6.4 และ pH 7.4 ซึ่งเป็นการจำลองสภาวะในลำไส้เล็กก็สามารถชะลอการปลดปล่อยของพิวรีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาสูตรผสมที่เหมาะสมที่สุดของกระบวนการนำส่งพิวราริน โดยใช้บีดไคโตซานและคาราจีแนนเพื่อควบคุมการปลดปล่อยยาพิวรารินให้สามารถยืดการปลดปล่อยได้นานขึ้น เพื่อช่วยให้ผู้ป่วยไม่ต้องรับประทานยาหลายครั้งต่อวัน

จากการทดลองหาปริมาณของพิวรารินที่กักเก็บได้ในบีดไคโตซานและคาราจีแนนพบว่าที่อัตราส่วนของไคโตซาน:คาราจีแนนเป็น 1:1 และอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน:ยาพิวรารินเป็น 1:2 นั้นให้ %Encapsulation ที่มากที่สุดกล่าวคือ 88.94% และจากผลการทดสอบความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซานและคาราจีแนนนั้นพบว่าบีดที่สังเคราะห์ได้นั้นสามารถยืดเวลาในการปลดปล่อยพิวรารินได้ในทุกช่วงเวลาเมื่อเทียบกับชุดข้อมูลที่เป็น pure puerarin โดยจะใช้เวลาในการปลดปล่อยจนหมดที่ประมาณ 6 ชั่วโมง



รูปที่ 4.1 กราฟการปลดปล่อยพิวรารินจากบีดไคโตซาน:คาราจีแนน ในอัตราส่วน 1:1 โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไคโตซานและคาราจีแนน : ยาพิวราริน โดยใช้เวลาในการแช่บีด 10 นาที ในสภาวะ pH ต่างๆ

เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการบวมตัวของบีดไคโตซานและคาราจีแนนสำหรับควบคุมการปลดปล่อยพิวรารินพบว่าการบวมตัวในสภาวะ pH 1.2 มากที่สุด รองลงมาคือ pH 6.4 และ pH 7.4 ซึ่งไม่แตกต่างกันมาก และถึงแม้ว่าจะมีการบวมตัวในสภาวะ pH 1.2 มากที่สุด แต่เมื่อดูจากกราฟการปลดปล่อยยานั้นก็พบว่าบีดไคโตซานและคาราจีแนนที่สังเคราะห์ได้นั้นสามารถควบคุมการปลดปล่อยของพิวรารินได้ในทุกสภาวะเมื่อเทียบกับกราฟการปลดปล่อยของพิวรารินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มด้วยบีดไคโตซานและคาราจีแนน ซึ่งส่งผลดีแก่ผู้ป่วยในการลดปริมาณครั้งในการทานยา

เอกสารอ้างอิง

1. Kumar, M. N.; Muzzarelli, R. A. A.; Sashiwa, H.; Domb, A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews*. **2004**, 104, 6017–6084.
2. Sather, H. V.; Hilde, K.; Holmeb; Maurstad, G.; Smidsrød, O.; Bjorn, T.; Stokke. Polyelectrolyte complex formation using alginate and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, **2008**, 74(4), 813-821.
3. González-Rodríguez, M.L.; Holgado, M.A.; Sánchez-Lafuente, C.; Rabasco, A.M.; Fini, A. Alginate/chitosan Particulate Systems for Sodium Diclofenac Release. *Int J Pharm*. **2002**, 232, 225-234.
4. Remuán-López, C.; Lorenzo-Lamosa, M.L.; Vila-Jato, J.L.; Alonso, M.J. Development of New Chitosan-Cellulose Multicore Microparticles for Controlled Drug Delivery. *Eur J Pharm Biopharm*. **1998**, 45, 49-56.
5. Kim, T.K.; Park, Y.H.; Kim, K.J.; Cho, C.S. Release of Albumin from Chitosan-Coated Pectin Beads in Vitro. *Int J Pharm*. **2003**, 250, 371-383.
6. Torre, P.M.; Enobakhare, Y.; Torrado, G.; Torrado, S. Release of Amoxicillin from Polyionic Complexes of Chitosan and Poly(acrylic acid) Study of Polymer/polymer and Polymer/drug Interactions within the Network Structure. *Biomaterials*. **2003**, 24, 1499-1506.
7. Sipahigil, O.; Gursoy, A.; Cakalagaoglu, F.; Okar, I. Release Behavior and Biocompatibility of Drug-loaded pH Sensitive Particles. *Int J Pharm*. **2006**, 311, 130-138.
8. Piyakulawat, P.; Praphairaksit, N.; Chantarasiri, N.; Muangsin, N. Preparation and Evaluation of Chitosan/Carrageenan Beads for Controlled Release of Sodium Diclofenac. *PharmSciTech*. **2007**, 97
9. Gupta, V.K.; Hariharan, M.; Wheatley, T.A.; Price, J.C. Controlled-release Tablets from Carrageenan : Effect of Formulation, Storage and Dissolution Factors. *Eur J Pharm Biopharm*. **2001**, 51, 241-248.

10. Hewei, L.; Ling, D.; Yang, L.; Gang, W.; Lei, Z., Yanjiang, Q. Comparison of two approaches of intestinal absorption by puerarin. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* **2014**, 70, 6-11.
11. Xu, M.E.; Xiao, S.Z.; Sun, Y.H.; Zheng, X.X.; Ou-Yang; Y. and Guan, C. The study of anti-metabolic syndrome effect of puerarin in vitro. *Life Sci.* **2005**,77, 3183-3196.
12. John, I., Baker, Daniel, E., Keyler and Ashok, K.S. Effects of purified puerarin on voluntary alcohol intake and alcohol withdrawal symptoms in P rats receiving free access to water and alcohol. *J Med Food.* **2004**,7(2), 180-186.
13. Badrinathan, S.; Shiju, TM.; Christa, A.S.S.; Arya, R.; Pragasam, V. Purification and structural characterization of sulfated polysaccharide from *Sargassum myricostum* and its efficacy in scavenging free radicals. *Indian journal of Pharmaceutical science*, **2012**, 74(6), 549-555.
14. Hou, J. -Y.; Gao, L.-N.; Meng, F.-Y.; Cui, Y.-L. Mucoadhesive Microparticles for Gastroretentive Delivery: Preparation, Biodistribution and Targeting Evaluation. *Marine drugs* **2014**,12(12) , 5764-5787.



ประวัติผู้ทำวิจัย

นางสาววิริยา สิงห์โต เกิดเมื่อวันที่ 8 ธันวาคม พ.ศ. 2535 ที่จังหวัดนครปฐม สำเร็จการศึกษา ระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย สามัญ แผนก วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ จาก โรงเรียนพระปฐมวิทยาลัย จังหวัดนครปฐม ปีการศึกษา 2553 เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2554 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจากจบการศึกษา ปริญญาตรี 34/2 หมู่ 10 ตำบล โพรงมะเคื่อ อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000

นายจिरพัฒน์ พงษ์สกุล เกิดวันที่ 3 มกราคม พ.ศ. 2536 ที่จังหวัดกาฬสินธุ์ สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย สายสามัญ แผนกวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ จากโรงเรียนจุฬารัตนราชวิทยาลัยมุกดาหาร จังหวัดมุกดาหาร ปีการศึกษา 2553 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2554 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจากจบการศึกษาปริญญาตรี 142 ถนนเกษตรสมบูรณ์ ตำบล กาฬสินธุ์ อำเภอ เมืองกาฬสินธุ์ จังหวัด กาฬสินธุ์ 46000

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีนจากบีดไคโตซานและการจีแนน

เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีนจากบีดไคโตซานและการจีแนนที่สูตรผสมต่างๆ

ตารางที่1 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีนของบีดไคโตซานและการจีแนน โดยมีอัตราส่วนไคโตซานและการจีแนน:ยาฟิวรีนเป็น 1:1 ที่เปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีด ที่เวลา 0 นาที ที่ pH 1.2, pH 6.4 และ pH 7.4

เวลา	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีน		
	pH 1.2	pH 6.4	pH7.4
10 นาที	6.4±0.01	7.5±0.02	6.2±0.02
20 นาที	9.3±0.02	9.9±0.01	7.2±0.01
40 นาที	11.1±0.01	19.7±0.02	10.2±0.03
1 ชั่วโมง	18.7±0.03	23.1±0.02	10.5±0.02
2 ชั่วโมง	48.2±0.02	44.5±0.01	27.6±0.02
4 ชั่วโมง	81.3±0.12	78.7±0.02	53.9±0.06
6 ชั่วโมง	100.0±0.06	100.0±0.02	94.2±0.05
24 ชั่วโมง	99.1±0.02	93.6±0.03	100.0±0.00



ตารางที่2 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีนของบีดโคโตซานและการจีแนน โดยมีอัตราส่วน
โคโตซานและการจีแนน:ยาฟิวรีนเป็น 1:1 ที่เปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการแช่บีด ที่เวลา 10 นาที ที่ pH
1.2, pH 6.4 และ pH 7.4

เวลา	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีน		
	pH 1.2	pH 6.4	pH7.4
30 นาที	11.9±0.03	11.1±0.00	13.3±0.01
1 ชั่วโมง	13.5±0.00	17.4±0.04	15.1±0.01
1.5 ชั่วโมง	26.5±0.03	28.2±0.00	26.7±0.04
2 ชั่วโมง	34.1±0.01	31.2±0.03	31.1±0.01
2.5 ชั่วโมง	43.0±0.04	43.4±0.02	48.9±0.01
3 ชั่วโมง	40.0±0.03	47.0±0.02	59.9±0.00
3.5 ชั่วโมง	56.4±0.02	56.8±0.04	63.5±0.06
4 ชั่วโมง	97.2±0.05	100.0±0.12	93.8±0.02
6 ชั่วโมง	100.0±0.04	96.1±0.19	100.0±0.04
24 ชั่วโมง	99.7±0.02	95.3±0.06	98.8±0.02

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีนของบีดไคโตซานและการจีแนน โดยมีอัตราส่วน
 ไคโตซานและการจีแนน:ฟิวรีน ที่ 1:2 ระยะเวลา 10 นาทีในการแช่บีดที่ pH 1.2, pH 6.4 และ pH 7.4

เวลา	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีน		
	pH 1.2	pH 6.4	pH7.4
30 นาที	10.9±0.04	7.8±0.02	5.4±0.03
1 ชั่วโมง	13.7±0.03	11.2±0.04	10.4±0.01
1.5 ชั่วโมง	17.6±0.08	12.6±0.07	16.5±0.02
2.5 ชั่วโมง	24.5±0.07	23.1±0.04	23.3±0.01
3 ชั่วโมง	32.2±0.02	27.2±0.05	28.6±0.05
3.5 ชั่วโมง	39.6±0.02	33.4±0.02	35.1±0.02
4 ชั่วโมง	53.0±0.04	39.7±0.03	49.5±0.1
6 ชั่วโมง	85.1±0.05	63.6±0.04	72.8±0.04
8 ชั่วโมง	98.1±0.04	87.2±0.02	92.4±0.02
24 ชั่วโมง	100.0±0.05	100.0±0.05	100.0±0.01

ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่4 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีนของบีดไคโตซานและการจีแนน โดยมีอัตราส่วน
 ไคโตซานและการจีแนน:ฟิวรีน ที่ 1:3 ระยะเวลา 10 นาทีในการแช่บีดที่ pH 1.2, pH 6.4 และ pH 7.4

เวลา	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยฟิวรีน		
	pH 1.2	pH 6.4	pH7.4
30 นาที	14.0±0.03	16.4±0.02	14.2±0.03
1 ชั่วโมง	18.6±0.01	18.2±0.02	17.1±0.01
1.5 ชั่วโมง	29.6±0.02	22.8±0.01	30.1±0.02
2 ชั่วโมง	35.0±0.01	31.2±0.02	32.7±0.01
2.5 ชั่วโมง	42.5±0.02	36.4±0.01	38.9±0.01
3 ชั่วโมง	49.2±0.01	41.0±0.01	43.5±0.01
3.5 ชั่วโมง	74.3±0.01	61.6±0.02	51.6±0.02
4 ชั่วโมง	74.7±0.01	68.9±0.01	72.6±0.02
6 ชั่วโมง	83.8±0.01	76.0±0.01	82.5±0.01
24 ชั่วโมง	100.0±0.01	100.0±0.01	100.0±0.02

ตารางที่5 เปอร์เซ็นต์การบวมตัวของบีดไคโตซานและการจีแนน ที่ pH 1.2, pH 6.4 และ pH 7.4 โดยมีชุดการทดลองที่ อัตราส่วนไคโตซานและการจีแนน:พิวรารินเป็น 1:2

เวลา	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพิวราริน		
	pH 1.2	pH 6.4	pH7.4
0 นาที	0±0.00	0±0.00	0±0.00
30 นาที	14.8±0.01	3.3±0.02	0±0.01
1 ชั่วโมง	18.5±0.01	3.3±0.01	3.3±0.01
2 ชั่วโมง	22.2±0.01	5.0±0.00	3.3±0.01
4 ชั่วโมง	24.1±0.00	5.0±0.01	5.0±0.00
6 ชั่วโมง	25.9±0.01	6.7±0.01	5.0±0.01
24 ชั่วโมง	25.9±0.01	6.7±0.01	5.0±0.02

ตารางที่6 เปอร์เซ็นต์การบวมตัวของบีดไคโตซานและการจีแนน ที่ pH 1.2, pH 6.4 และ pH 7.4 โดยมีชุดการทดลองที่ไม่ใส่พิวราริน

เวลา	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพิวราริน		
	pH 1.2	pH 6.4	pH7.4
0 นาที	0±0.00	0±0.00	0±0.00
30 นาที	15.4±0.01	0±0.00	0±0.01
1 ชั่วโมง	19.2±0.00	5.0±0.01	3.3±0.01
2 ชั่วโมง	23.1±0.01	6.7±0.00	3.3±0.01
4 ชั่วโมง	26.9±0.00	6.7±0.01	3.3±0.00
6 ชั่วโมง	26.9±0.01	6.7±0.00	5.0±0.01
24 ชั่วโมง	26.9±0.00	6.7±0.01	5.0±0.02