

การพัฒนาและประเมินคุณค่าของเตตานิส์ที่ออกซอยด์ไมโครแคปซูล

นายเรืองชัย นิกษ์อัสกุล



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเภสัชกรรม

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2531

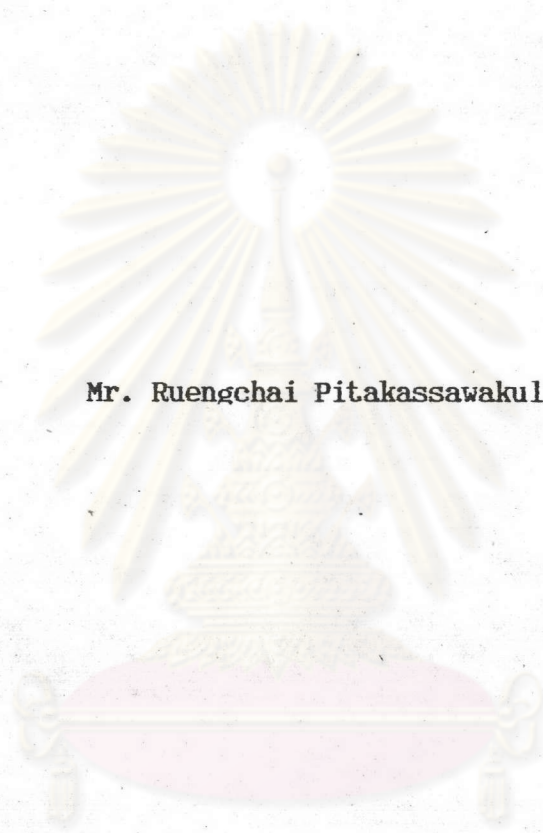
ISBN 974-569-274-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

014546

117.111654

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF TETANUS TOXOID MICROCAPSULES



Mr. Ruengchai Pitakassawakul

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements  
for the degree of Master of Science in Pharmacy  
Department of Pharmacy  
Graduate School  
Chulalongkorn University  
1988

ISBN 974-569-274-3



หัวข้อวิทยานิพนธ์

การพัฒนาและประเมินคุณค่าของเตตรานีสที่ออกซอยด์ไมโครแคปซูล

โดย

นายเรืองชัย พัทธอักษรกุล


ภาควิชา

เภสัชกรรม

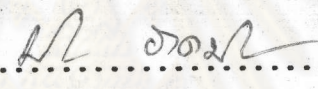
อาจารย์ที่ปรึกษา

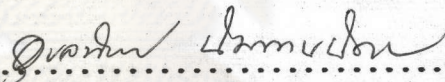
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุบลทิพย์ นิมมานนิตย์

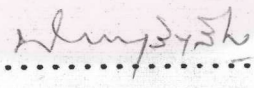
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของ  
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

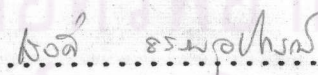
  
.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชรากิจ, Ph.D)

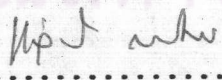
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา อาตมยะนันท์, Docteur en Pharmacie)

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุบลทิพย์ นิมมานนิตย์, Ph.D.)

  
.....กรรมการ  
(ศาสตราจารย์นายแพทย์นิกธ คุสติสิน, พ.บ.)

  
.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ เรวัต ธรรมอุปกรณ์, วศ.ม. (นิวเคลียร์เทคโนโลยี) )

  
.....กรรมการ  
(สัตวแพทย์หญิงแก้วมณี กongsamrit, สพ.บ.)





พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

เรื่อง ชัย พัทธ์ชัยศัควกุล : การพัฒนาและประเมินคุณค่าของ เตตตานีสที่ออกชอยด์ไมโครแคปซูล  
( DEVELOPMENT AND EVALUATION OF TETANUS TOXOID MICROCAPSULES. )

อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.อุบลทิพย์ นิมมานนิตย์, 82 หน้า

การวิจัยนี้ได้นำเทคนิคการทำไมโครแคปซูลมาใช้ผลิตเตตตานีสที่ออกชอยด์ที่ออกฤทธิ์ได้นานและลดจำนวนครั้งในการให้ภูมิคุ้มกันปฐมภูมิ ให้เหลือเพียงครั้งเดียว โดยใช้เตตตานีสที่ออกชอยด์ซึ่งเป็นยาฉีดแขวนตะกอนมาเตรียมเป็นไมโครแคปซูลโดยวิธีโคคา เซอร์ เวชั่น เปรียบเทียบกับวิธีอินเตอร์เฟลเชียลโพลีเมอร์ไรเซชั่น เตตตานีสที่ออกชอยด์ไมโครแคปซูลที่ได้จากการเตรียมโดยวิธีโคคา เซอร์ เวชั่นนั้นใช้เอทิลเซลลูโลสเป็นผนังของไมโครแคปซูล ไมโครแคปซูลที่ได้มีขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ย 24.99 ไมครอน ส่วนเตตตานีสที่ออกชอยด์ไมโครแคปซูลที่เตรียมได้จากวิธีอินเตอร์เฟลเชียลโพลีเมอร์ไรเซชั่นนั้น ได้จากปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชั่นระหว่างเลซีทินบริสุทธิ์จากไข่แดงและคาร์บอกซีเมทิลโคกิน ไมโครแคปซูลที่ได้มีขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ย 2.69 ไมครอนซึ่งเล็กกว่าขนาดของเตตตานีสที่ออกชอยด์ไมโครแคปซูลที่เตรียมได้จากวิธีโคคา เซอร์ เวชั่น ในการวิจัยนี้ได้กระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคบาดทะยักในหนูถีบจักร โดยฉีดเตตตานีสที่ออกชอยด์เข้าใต้ผิวหนัง และเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างแอดลอร์บเตตตานีสที่ออกชอยด์ (I) ส่วนผสมของเตตตานีสที่ออกชอยด์ไมโครแคปซูลกับแอดลอร์บเตตตานีสที่ออกชอยด์ (II) และเตตตานีสที่ออกชอยด์ไมโครแคปซูลเพียงอย่างเดียว (III) พบว่า (I) สามารถป้องกันบาดทะยักในหนูถีบจักรได้เพียงสัปดาห์ที่ 4 หลังการให้ที่ออกชอยด์ แต่เมื่อสัปดาห์ที่ 12 สามารถป้องกันได้เพียงร้อยละ 50 (อัตราการตาย 5 ใน 10 ตัว ) ส่วน (II) สามารถป้องกันบาดทะยักในหนูถีบจักรได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 จนถึงที่ 12 สำหรับ (III) นั้นไม่สามารถป้องกันบาดทะยักได้ไม่ว่าในสัปดาห์ที่ 4 หรือ 12.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ..... เกษษกรรม .....  
สาขาวิชา ..... เกษษกรรม .....  
ปีการศึกษา ..... 2530 .....

ลายมือชื่อนิสิต 1377 พัทธ์ชัยศัควกุล  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา @อุบลทิพย์ นิมมานนิตย์



พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมเพียงแผ่นเดียว

RUENGCHAI PITAKASSAWAKUL : DEVELOPMENT AND EVALUATION OF TETANUS TOXOID MICROCAPSULES. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. UBONTHIP NIMMANNIT, Ph.D. 82 PP.

In this study, microencapsulation technique was developed in attempt to produce long-acting tetanus toxoid and decrease the course of primary immunization to single dose. Parenteral suspension of adsorbed tetanus toxoid was microencapsulated by coacervation techniques compared with interfacial polymerization techniques. In the coacervation technique the tetanus toxoid microcapsules were prepared by using ethyl cellulose as wall material. The mean diameter of particle size was 24.99 microns. The tetanus toxoid microcapsules obtained from interfacial polymerization techniques using the polymerization reaction between purified egg yolk lecithin and carboxymethyl chitin, showed the mean diameter of particle size of 2.69 microns which were smaller than that obtained from the coacervation techniques. In this study the efficiencies of various tetanus toxoid i.e. the adsorbed tetanus toxoid (I), the mixture of tetanus toxoid microcapsules and the adsorbed tetanus toxoid (ratio 1:1) (II), and the tetanus toxoid microcapsules alone (III), were compared by subcutaneous injection for inducing the immune against tetanus in mice. It was found that (I) can protect the mice against tetanus from the fourth week after immunization. Only 50% of mice were protected in the twelfth week after immunization. On the other hand, (II) can protect the mice against tetanus for the whole period from the fourth to the twelfth week after immunization. But (III) cannot protect the mice even in the fourth week and thereafter.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ..... เกษษกรรม .....  
สาขาวิชา ..... เกษษกรรม .....  
ปีการศึกษา ..... 2530 .....

ลายมือชื่อนิติ ..... 13/11/80 .....  
.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....  
.....

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ผู้ทำวิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร. อุบลทิพย์ นิยมานันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่าง ๆ ทำให้งานวิจัยสำเร็จ ลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์สุมาลี แสงธีระบัติกุล รองศาสตราจารย์ประนอม โพธิยานนท์ ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในการวิจัย ขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์นายแพทย์นิกร คูสัตตสิน ที่ช่วยแนะนำแนวทางในการวิจัย ครั้งนี้ ขอขอบพระคุณสัตวแพทย์สละ กองสมิคร ผู้อำนวยการศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ สัตวแพทย์หญิงรัชณี อัครดิ สัตวแพทย์หญิงสุนีย์ หิมะทองคำ ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ ผลทางชีวภาพในสัตว์ทดลอง และขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ดร. สุกัญญา เจษฎานนท์ ที่ได้อนุญาตให้ใช้เครื่องพิมพ์คอมพิวเตอร์

ทำยที่ส่นนี้ขอขอบคุนภัณฑวิทิตยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

ศูนย์วิทยพัทยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ญ

### บทที่

1. บทนำ.....	1
2. วิธีดำเนินการวิจัย.....	32
3. ผลการวิจัย.....	47
4. อภิปรายผลการทดลอง.....	59
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	65
เอกสารอ้างอิง.....	67
ภาคผนวก.....	73
ประวัติ.....	82

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อัตราการตายด้วยโรคบาดทะยักจากประเทศต่าง ๆ	4
2	อัตราการตายด้วยโรคบาดทะยัก จากรายงานของกองระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข (ต่อประชากร 100,000 คน) ประเทศไทย ปี พ.ศ. 2512-2526	5
3	แสดงถึงการนำโมโนเมอร์ชนิดต่าง ๆ มาทำปฏิกิริยากันแล้วเกิด โพลีเมอร์ชนิดต่าง ๆ	20
4	สูตรโครงสร้างของสารประกอบที่นิยมนำมาใช้เตรียมไลโปโซม	28
5	อัตราส่วนต่าง ๆ ของเอทิลเซลลูโลส, เอทิลอะซิเตทคลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 1:1) และเอทิลีนไกลคอลที่ใช้ในการทำ Ternary Phase Diagram	39
6	แสดงการแบ่งกลุ่มของหนูกีบจักรที่ใช้ในการทดสอบความแรงของ เตตรานีสที่ออกซอยด์ไมโครแคปซูล	44
7	Contingency Table	45
8	แสดงผลการทดลองโดยใช้โคอาเซอร์เวชันเทคนิค และ Ternary Phase Diagram	51
9	แสดงขนาดและการกระจายของเตตรานีสที่ออกซอยด์ไมโครแคปซูล โดยวิธีอินเตอร์เฟรียลโพลีเมอร์ไรเซชัน ตามวิธีในข้อ 1.2	52
10	แสดงขนาดและการกระจายของเตตรานีสที่ออกซอยด์ไมโครแคปซูล โดยวิธีโคอาเซอร์เวชัน ตามวิธีในข้อ 2.1.1, 2.1.2, 2.1.3 และ 2.1.4	53
11	จำนวนหนูกีบจักรที่ตายและค่าการคำนวณ ในการหา LD <sub>50</sub> ของ เตตรานีสที่ออกซอิน	56
12	แสดงจำนวนหนูกีบจักรที่รอดจากเตตรานีสที่ออกซอินหลังการได้รับการ ฉีดที่ออกซอยด์ 4 สัปดาห์	57
13	แสดงจำนวนหนูกีบจักรที่รอดจากเตตรานีสที่ออกซอินหลังการได้รับการ ฉีดที่ออกซอยด์ 12 สัปดาห์	57
14	แสดงจำนวนหนูกีบจักรที่รอดจากเตตรานีสที่ออกซอินหลังการได้รับการ ฉีดที่ออกซอยด์ 24 สัปดาห์	58



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
15	Contingency Table ของจำนวนหนูถีบจักรที่รอดจาก เตตานีสที่อกซิม หลังจากได้รับการฉีดที่อกซอสต์ 4 สัปดาห์	77
16	Contingency Table ของจำนวนหนูถีบจักรที่รอดจาก เตตานีสที่อกซิม หลังจากได้รับการฉีดที่อกซอสต์ 12 สัปดาห์	77
17	Contingency Table ของจำนวนหนูถีบจักรที่รอดจาก เตตานีสที่อกซิม หลังจากได้รับการฉีดที่อกซอสต์ 24 สัปดาห์	78

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	รูปร่างของไมโครแคปซูลชนิดต่าง ๆ	9
2	แผนภูมิแสดงการเกิดไมโครแคปซูลโดยวิธีโคอาเชอร์เวชัน	13
3	แสดง Ternary Phase Diagram ของโคอาเชอร์เวก เชิงซ้อนระหว่างเจลาตินกับอะเคเซีย	17
4	เครื่องมือที่ใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลโดยวิธีโคอาเชอร์เวชัน แบบทั่ว ๆ ไป	18
5	แผนภูมิแสดงการเกิดไมโครแคปซูลโดยวิธีอินเตอร์เฟเชียล โพลีเมอร์ไรเซชัน	19
6	รูปแบบของไลโปโซมชนิดต่าง ๆ	27
7	แสดง Ternary Phase Diagram ของเอทิลเซลลูโลส, เอทิลอะซิเตท - คลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 1:1), และ เอทิลีนไกลคอล ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และจุดต่าง ๆ ที่ ใช้ในการเตรียมเตตรานัลที่ออกซอดีไมโครแคปซูล	38
8	แสดง Ternary Phase Diagram ของเอทิลเซลลูโลส เอทิลอะซิเตท - คลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 1:1) และ เอทิลีนไกลคอล ศึกษาที่อุณหภูมิ 4 °C	49
9	แสดง Ternary Phase Diagram ของเอทิลเซลลูโลส เอทิลอะซิเตท - คลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 1:1) และ เอทิลีนไกลคอล ศึกษาที่อุณหภูมิห้อง	50
10	แสดงการกระจายขนาดของเตตรานัลที่ออกซอดีไมโครแคปซูล ที่ได้จากการเตรียม โดยวิธีอินเตอร์เฟเชียลโพลีเมอร์ไรเซชัน	54
11	แสดงการกระจายขนาดของเตตรานัลที่ออกซอดีไมโครแคปซูล ที่ได้จากการเตรียม โดยวิธีโคอาเชอร์เวชัน 4 วิธี	55
12	โครงสร้างเตตรานัลที่ออกซอดีไมโครแคปซูล ที่เตรียมได้ จากวิธีอินเตอร์เฟเชียลโพลีเมอร์ไรเซชัน	61