

การพัฒนาสูตรตำรับครีมโคเอนไซม์คิวเทน
ในรูปการนำส่งแบบไมโครสพอนจ์

นางสาวทิพย์วิมล	จุลหาญกิจ	513 65612 33
นางสาวนฤมล	สุขวชิรล่อง	513 65830 33
นางสาวนลินี	งามโชคชัยเจริญ	513 65847 33

โครงการปริญญาโทขั้นนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

เภสัชศาสตร์บัณฑิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2555

Development of Coenzyme Q10 creams using
microsponges delivery system

Tipwimol	Junhunkit	513 65612 33
Naruemoal	Sukvajeeklong	513 65830 33
Nalinee	Ngamchokchaicharoen	513 65847 33

A Senior Project Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirement for the Bachelor of Pharmaceutical Sciences Program

Chulalongkorn University

2012

หัวข้อโครงการปริญญาโท	การพัฒนาสูตรตำรับครีม โคอเนนไซม์ควเทนในรูปแบบนำส่งแบบไมโครสพอนจ์
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	นางสาวทิพย์วิมล จุลหาญกิจ นางสาวนฤมล สุขวจิตต์อง นางสาวนลินี งามโชคชัยเจริญ
สาขาวิชา	เกสัชกรรมผลิตภัณฑ์ แขนงเทคโนโลยีเภสัชกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท	รองศาสตราจารย์ เกสัชกรหญิง ดร. สุชาดา ชุติมาวรินทร์

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้โครงการปริญญาโทฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต

.....คณบดี

(รองศาสตราจารย์ เกสัชกรหญิง ดร.พิณทิพย์ พงษ์เพ็ชร)

.....ประธานแขนงเทคโนโลยีเภสัชกรรม

(รองศาสตราจารย์ เกสัชกร ดร.ภาควงศ์มิตติ เต็งอำนวย)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท

(รองศาสตราจารย์ เกสัชกรหญิง ดร.สุชาดา ชุติมาวรินทร์)

คำนำ

โครงการปริญญาโทฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อนำเสนอผลการวิจัยในหัวข้อเรื่อง การพัฒนาสูตรตำรับครีม โคนเอนไซม์คิ้วเทนในรูปแบบการนำส่งแบบไมโครสพอนจ์ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทระดับบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2555

จากรายงานสรรพคุณของ โคนเอนไซม์คิ้วเทน ต่อการลดริ้วรอย พบว่าสามารถช่วยลดความลึกของริ้วรอยได้ และในปัจจุบันจะเห็นได้ว่ามีผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหลากหลายยี่ห้อที่มีส่วนผสมของ โคนเอนไซม์คิ้วเทนไม่ว่าจะเป็นในรูปแบบครีม หรือ โลชั่น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนา โคนเอนไซม์คิ้วเทน โดยนำส่งในรูปแบบไมโครสพอนจ์ เพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวทางกายภาพ และทางเคมีให้กับสาร โคนเอนไซม์คิ้วเทน นอกจากนี้ไมโครสพอนจ์นั้นยังมีคุณสมบัติควบคุมการปลดปล่อย จึงช่วยลดการระคายเคืองจากสาร โคนเอนไซม์คิ้วเทนที่ความเข้มข้นสูงๆ โดยไม่ลดประสิทธิภาพของสาร นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความสวยงามนำใช้ให้กับผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

เนื้อหาในปริญญาโทฉบับนี้ ประกอบด้วยการทบทวนวรรณกรรม วิธีการวิจัย และผลการวิจัย ทางคณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า ปริญญาโทฉบับนี้คงเป็นประโยชน์และเป็นแนวทางในการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ โคนเอนไซม์คิ้วเทน เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ของรูปแบบระบบนำส่งทางด้านเครื่องสำอางต่อไป อย่างไรก็ตาม ด้วยข้อจำกัดทางด้านเวลา และทุนสนับสนุน ดังนั้นหากมีข้อผิดพลาดประการใด ทางคณะผู้วิจัยขออภัยมา ณ ที่นี้

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อปริญญาณิพนธ์

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) : การพัฒนาสูตรตำรับครีมโคเอนไซม์คิวเทนในรูปแบบไมโครสฟอนจ์
ชื่อโครงการ(ภาษาอังกฤษ) : Development of Coenzyme Q10 creams using microsponges delivery system
หัวหน้าโครงการ : นางสาวนฤมล สุขวจีคส่อง 513 65830 33
ผู้ร่วมโครงการ : นางสาวทิพย์วิมล จุลหาญกิจ 513 65612 33
: นางสาวนลินี งามโชคชัยเจริญ 513 65847 33
อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร.สุชาดา ชูติมาวรินทร์
ภาควิชา : วิทยาการเกษตรกรรมและเกษตรอุตสาหกรรม

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรตำรับครีมโคเอนไซม์คิวเทนนำส่งในรูปแบบไมโครสฟอนจ์ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารโคเอนไซม์คิวเทนและช่วยเพิ่มความคงตัวต่อแสงและอุณหภูมิของโคเอนไซม์คิวเทนที่สามารถเกิดการสลายตัวได้เมื่อได้รับความร้อนหรือแสง โดยในการวิจัยนี้เตรียมไมโครสฟอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion ใช้เอทิลเซลลูโลส 10 เซนต์พอยต์ เป็นพอลิเมอร์ จากการวิจัยได้ศึกษาปัจจัยของอัตราเร็วในการปั่นผสมที่อัตราเร็ว 1000, 1500 และ 2000 รอบต่อนาที และอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลส 1:1, 2:1 และ 3:1 ที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของไมโครสฟอนจ์ที่ได้ โดยผลิตไมโครสฟอนจ์ที่เตรียมได้ในช่วงร้อยละ 80 – 85 โดยน้ำหนัก เมื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการกักเก็บโดยการวัดการดูดกลืนแสงที่ 275 นาโนเมตรพบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละโดยมวลเท่ากับ 70.36 ± 4.88 และพบว่าถ้าเพิ่มอัตราเร็วในการปั่นผสม และอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลส อนุภาคจะมีขนาดที่เล็กลง จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าขนาดอนุภาคที่ได้อยู่ในช่วงประมาณ 20-60 ไมครอนซึ่งอนุภาคไมโครสฟอนจ์ที่มีขนาด 25-30 ไมครอนไม่ก่อให้เกิดความรู้สึกหยาบเมื่อทาบนผิว นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์การปลดปล่อยด้วยวิธีการวัดการดูดกลืนแสงที่ 275 นาโนเมตรพบว่าในตัวทำละลายที่เป็นโพรพิลีนไกลคอลไมโครสฟอนจ์สามารถปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนออกมาได้ร้อยละมวลต่อปริมาตร 0.94 ± 0.12 ภายใน 24 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบกับผงโคเอนไซม์คิวเทนที่ละลายได้ร้อยละมวลต่อปริมาตร 0.74 ± 0.02 ภายใน 24 ชั่วโมง จะเห็นว่าการเตรียมสารโคเอนไซม์คิวเทนให้อยู่ในรูปแบบไมโครสฟอนจ์นั้นช่วยให้สารโคเอนไซม์คิวเทนมีการละลายและปลดปล่อยออกมาได้ดีขึ้น ในการวิจัยนี้ยังได้มีการคัดเลือกไมโครสฟอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่มีคุณสมบัติที่ดีคือไมโครสฟอนจ์ที่มีขนาดอนุภาค 29.11 ± 0.55 ไมครอน มีร้อยละมวลต่อปริมาตรการปลดปล่อยเท่ากับ 1.20 ± 0.03 มาเตรียมเป็นตำรับครีมซึ่งครีมที่ได้มีลักษณะเนื้อละเอียด สีเหลืองส้ม ทาแล้วไม่รู้สึกหยาบเมื่อทาบนผิว

ฝ่ายวิชาการ คณะเกษตรศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

.....
อาจารย์ที่ปรึกษา

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาโครงการปริญญาโทชั้นนี้ คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ เกษักรหญิง ดร.สุชาดา ชุติมาวรินทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วย ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของโครงการนี้ ตลอดจนให้ความรู้ และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ต่อโครงการนี้

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาการเกษตรกรรม และเกษตรอุตสาหกรรม คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุน และสถานที่ในการวิจัย ขอขอบคุณนิสิตปริญญาโททุกท่าน ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ และให้คำแนะนำต่างๆตลอดการวิจัย นอกจากนี้ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ใน ภาควิชาวิทยาการเกษตรกรรม และเกษตรอุตสาหกรรม ที่กรุณาให้ความสะดวกในการทำโครงการนี้ และทุกท่านที่เป็นส่วนหนึ่งของโครงการปริญญาโทชั้นนี้

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อปริญาานิพนธ์	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์การดำเนิน โครงการ	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการ	2
บทที่ 2 ทัศนัวรรณกรรม	3
2.1 ผิวหนัง	3
2.1.1 ประโยชน์ของผิวหนัง	3
2.1.2 โครงสร้างของผิวหนัง	3
2.1.3 ต่อมต่างๆที่อยู่ในผิวหนัง	5
2.1.4 ไข่ผิว	6
2.1.5 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของผิว	7
2.1.6 ปัจจัยที่ทำให้ผิวแตกต่างกัน	7
2.1.7 ลักษณะของผิว	7
2.2 รื้อรอยเหี่ยวขุ่น	8
2.2.1 กระบวนการเกิดรอยขุ่น	9
2.2.2 ปัจจัยเสริมของกระบวนการเกิดรอยขุ่น	11

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.3 โคนเอนไซม์คิวเทน	12
2.3.1 คุณสมบัติของ โคนเอนไซม์คิวเทน	13
2.3.2 ประโยชน์ของ โคนเอนไซม์คิวเทน	14
2.3.3 ปริมาณ โคนเอนไซม์คิวเทนในร่างกาย	15
2.4 การนำส่งยาทางผิวหนัง	16
2.4.1 การดูดซึมทางผิวหนัง	16
2.4.2 ข้อดีของการนำส่งยาทางผิวหนัง	16
2.4.3 ข้อจำกัดของการนำส่งยาทางผิวหนัง	17
2.4.4 ระบบนำส่งทางผิวหนัง	17
2.4.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการซึมผ่านผิวหนังปกติ	17
2.4.6 ระบบการนำส่งยาที่อาศัยพอลิเมอร์เป็นตัวกลางในการนำส่ง	18
2.5 ไมโครสพอนจ์	18
2.5.1 กลไกในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากไมโครสพอนจ์	19
2.5.2 ประโยชน์ของระบบนำส่งแบบไมโครสพอนจ์	20
2.5.3 ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ไมโครสพอนจ์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ	21
2.5.4 คุณสมบัติของสารที่สามารถเก็บกักไว้ในไมโครสพอนจ์ได้	22
2.5.5 สิ่งที่ต้องพิจารณาในการตั้งตำรับ	22
2.5.6 การเตรียมไมโครสพอนจ์	22
2.5.7 การประเมินคุณสมบัติต่างๆของไมโครสพอนจ์ที่เตรียมได้	23
2.6 ครีမ်เบส	24

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วัสดุและวิธีการวิจัย	26
สารเคมี	26
เครื่องมือ และอุปกรณ์	26
วิธีการวิจัย	28
การศึกษาขั้นต้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์	
ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion	28
1. ศึกษาพอลิเมอร์ที่ใช้	28
2. ศึกษาผลของสารก่ออิมัลชัน	28
3. ศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายใน	29
4. ศึกษาผลของการกลับวัฏภาค (phase inversion)	30
5. ศึกษาผลของการทำให้แห้ง	31
การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของอนุภาคไมโครสพอนจ์ที่	
บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน	32
1. การเตรียมไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน	32
2. การประเมินคุณสมบัติของไมโครสพอนจ์	33
2.1 ผลผลิตไมโครสพอนจ์ที่เตรียมได้ (%yield)	33
2.2 ขนาดและการกระจายของอนุภาคไมโครสพอนจ์	34
2.3 พื้นผิวและรูปร่างของไมโครสพอนจ์	34
2.4 ประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์คิวเทนในไมโครสพอนจ์	
(%Loading Efficiency)	34
2.5 การศึกษาการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนผ่านไมโครสพอนจ์	
(Drug Release)	35

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.6 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของสารโดยใช้ความร้อน (Differential Scanning Calorimetry)	35
การเตรียมสูตรตำรับครีม โคลเอน ไชม์คิวเทนในรูปการนำส่งแบบ ไมโครสพอนจ์	36
1. การพิจารณาเลือกสูตรตำรับไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคลเอน ไชม์คิวเทน ที่เหมาะสมเพื่อนำมาพัฒนาเป็นสูตรตำรับครีม	36
2. การตั้งสูตรตำรับครีม	37
บทที่ 4 ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย	39
การศึกษาขั้นต้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์ ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion	39
1. ศึกษาพอลิเมอร์ที่ใช้	39
2. ศึกษาผลของสารก่ออิมัลชัน	41
3. ศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายใน	43
4. ศึกษาผลของการกลับวัฏภาค(phase inversion)	44
5. ศึกษาผลของการทำให้แห้ง	46
การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของอนุภาคไมโครสพอนจ์ที่บรรจุ โคลเอน ไชม์คิวเทน	49
การประเมินคุณสมบัติของไมโครสพอนจ์	49
1. ผลผลิตไมโครสพอนจ์ที่เตรียมได้ (%yield)	49
2. ขนาดและการกระจายของอนุภาคไมโครสพอนจ์	51
3. พื้นผิวและรูปร่างของไมโครสพอนจ์	55
4. ประสิทธิภาพการกักเก็บโคลเอน ไชม์คิวเทนในไมโครสพอนจ์ (%Loading Efficiency)	57
5. การศึกษาการปลดปล่อยโคลเอน ไชม์คิวเทนผ่านไมโครสพอนจ์ (Drug Release)	61

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
6. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของสารโดย	
การใช้ความร้อน	64
ผลการเตรียมสูตรตำรับครีมโคเอนไซม์คิวเทนในรูปการนำส่ง	
แบบไมโครสพอนจ์	67
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	68
บรรณานุกรม	69
ภาคผนวก ก	72
ภาคผนวก ข	77
ภาคผนวก ค	83

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบของไขผิว	7
ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติต่างๆทางกายภาพและทางเคมี ของผิวหนังระหว่างอายุ 20 ปีกับอายุ 70 ปี	10
ตารางที่ 3 แสดงค่าการละลายของโคเอนไซม์คิวเทนในตัวทำละลายชนิดต่างๆ	13
ตารางที่ 4 แสดงตัวอย่างการประยุกต์ใช้ระบบนำส่งด้วยไมโครสพอนจ์	21
ตารางที่ 5 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาพอลิเมอร์สำหรับใช้เตรียมไมโครสพอนจ์	28
ตารางที่ 6 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาสารก่ออิมัลชันสำหรับใช้เตรียมไมโครสพอนจ์ ...	29
ตารางที่ 7 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายในสำหรับ ใช้เตรียมไมโครสพอนจ์	30
ตารางที่ 8 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาผลของการกลับวัฏภาคสำหรับใช้เตรียม ไมโครสพอนจ์	31
ตารางที่ 9 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาผลของการทำให้แห้งสำหรับใช้เตรียม ไมโครสพอนจ์	32
ตารางที่ 10 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของอนุภาคไมโครสพอนจ์ ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน.....	33
ตารางที่ 11 แสดงผลการทดลองจากการศึกษาพอลิเมอร์สำหรับใช้เตรียมไมโครสพอนจ์ ...	40
ตารางที่ 12 แสดงผลการทดลองจากการศึกษาสารก่ออิมัลชันสำหรับใช้เตรียมไมโครสพอนจ์	42
ตารางที่ 13 แสดงผลการทดลองในการศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายใน สำหรับใช้เตรียมไมโครสพอนจ์	44
ตารางที่ 14 แสดงผลการทดลองจากการศึกษาผลของการกลับวัฏภาคสำหรับใช้เตรียม ไมโครสพอนจ์.....	45
ตารางที่ 15 แสดงผลการทดลองจากการศึกษาผลของการทำให้แห้งสำหรับใช้เตรียม ไมโครสพอนจ์	47
ตารางที่ 16 แสดงสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์	48

ตารางที่ 17 แสดงปริมาณไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่เตรียมได้ในแต่ละ รุ่นการผลิต.....	49
ตารางที่ 18 แสดงขนาด และการกระจายของขนาดอนุภาคไมโครสปอนจ์ที่บรรจุ โคเอนไซม์คิวเทนทั้ง 9 รุ่นการผลิต	52
ตารางที่ 19 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน แบบสองทาง (Two Way ANOVA)	5
ตารางที่ 20 แสดงผลของการ วัดการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน	58
ตารางที่ 21 แสดงประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์คิวเทนในไมโครสปอนจ์ของ แต่ละสูตรตำรับ	59
ตารางที่ 22 แสดงร้อยละของการปลดปล่อยของไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน ทั้ง 9 สูตรตำรับ ในโพรไฟลีน ใกล้เคียงภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง	61
ตารางที่ 23 แสดงผลการทดสอบทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วใน การปั่นผสมและอัตราอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลส กับความสามารถในการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนออกจากไมโครสปอนจ์ ..	63
ตารางที่ 24 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two way ANOVA) สำหรับการศึกษขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของ ไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนทั้ง 9 รุ่นการผลิตด้วยเครื่องวิเคราะห์หา ขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่นMalvern)	77
ตารางที่ 25 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two way ANOVA) สำหรับการศึกษการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนจาก ไมโครสปอนจ์	80

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างของสาร โคนเอนไซม์คิ้วเทน.....	12
รูปที่ 2 ลักษณะของไมโครสปอนจ์ที่ได้จากการศึกษาพอลิเมอร์สำหรับใช้เตรียม ไมโครสปอนจ์.....	40
รูปที่ 3 ลักษณะของไมโครสปอนจ์ที่ได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ Polyvinyl alcohol ร้อยละของมวลต่อปริมาตรเป็น 1, 1.5 และ 2 ตามลำดับ.....	43
รูปที่ 4 ลักษณะของไมโครสปอนจ์ที่ได้จากการศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ละลาย วัฏภาคภายในเป็นอะซิโตนและแอลกอฮอล์.....	44
รูปที่ 5 ลักษณะของไมโครสปอนจ์ที่ได้จากการศึกษาผลของการกลับวัฏภาค เทียบกับการผสมวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอกแบบปกติ.....	46
รูปที่ 6 ลักษณะของไมโครสปอนจ์ที่ได้จากการศึกษาผลของการทำให้แห้ง.....	47
รูปที่ 7 แผนภูมิแท่งแสดงผลผลิตไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคนเอนไซม์คิ้วเทน ที่เตรียมได้ในแต่ละรุ่นการผลิต.....	49
รูปที่ 8 แสดงขนาดอนุภาคไมโครสปอนจ์ของ โคนเอนไซม์คิ้วเทนที่เตรียมได้ใน แต่ละรุ่นการผลิตที่ 1-6.....	50
รูปที่ 9 แสดงขนาดอนุภาคไมโครสปอนจ์ของ โคนเอนไซม์คิ้วเทนที่เตรียมได้ใน แต่ละรุ่นการผลิตที่ 7-9.....	51
รูปที่ 10 แสดงลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของไมโครสปอนจ์เมื่อส่องด้วยกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) ด้วยกำลังขยาย 500X.....	55
รูปที่ 11 แสดงลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของไมโครสปอนจ์เมื่อส่องด้วยกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) ด้วยกำลังขยาย 1000X.....	55
รูปที่ 12 แสดงลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของไมโครสปอนจ์เมื่อส่องด้วยกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM)	

ด้วยกำลังขยาย 2000X.....	56
รูปที่ 13 แสดงลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของไมโครสปอองจ์เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) ด้วยกำลังขยาย 3500X.....	56
รูปที่ 14 แสดงสเปกตรัมของโคเอนไซม์คิวเทนที่ได้จากการสแกนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตรของสารละลายโคเอนไซม์คิวเทนในแอลกอฮอล์สัมบูรณ์.....	57
รูปที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์เส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคเอนไซม์คิวเทน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสง (กราฟมาตรฐาน)	60
รูปที่ 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วในการปั่นผสมกับประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์คิวเทน	60
รูปที่ 17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนระหว่างโคเอนไซม์คิวเทนกับเอทิลเซลลูโลสและประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์คิวเทน	61
รูปที่ 18 แสดงผลการวิเคราะห์สภาพผลึกของโคเอนไซม์คิวเทน	64
รูปที่ 19 แสดงผลการวิเคราะห์สภาพผลึกของไมโครสปอองจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน	65
รูปที่ 20 แสดงผลการวิเคราะห์สภาพผลึกของ Physical mixture ที่ประกอบด้วยโคเอนไซม์คิวเทน เอทิลเซลลูโลสและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์	65
รูปที่ 21 แสดงผลการวิเคราะห์สภาพผลึกของโคเอนไซม์คิวเทน เอทิลเซลลูโลสพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ไมโครสปอองจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน และ Physical mixture	66
รูปที่ 22 แสดงตำรับครีมโคเอนไซม์คิวเทนในรูปแบบการนำส่งแบบไมโครสปอองจ์ที่เตรียมได้	67
รูปที่ 23 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two way ANOVA) สำหรับการศึกษขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของไมโครสปอองจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนทั้ง 9 รุ่นการผลิตด้วยเครื่องวิเคราะห์หา	

ขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่น Malvern)	79
รูปที่ 24 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two way ANOVA) สำหรับการศึกษการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนจาก ไมโครสฟอนจ์	82
รูปที่ 25 กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (OLYMPUS® สหรัฐอเมริกา, รุ่น IX51)	83
รูปที่ 26 แสดงเครื่องกวนสารแบบใบพัด (Propeller type mixer, EUROSTAR digital IKA WERKE)	83
รูปที่ 27 แสดงเครื่องชั่งน้ำหนัก 3 ตำแหน่ง(METTLER TOLEDO® ไทย, รุ่น AG 285)	84
รูปที่ 28 แสดงเครื่องชั่งน้ำหนัก 5 ตำแหน่ง(METTLER TOLEDO® ไทย, รุ่น PG 403-S)	84
รูปที่ 29 แสดงเครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ (DURA-DRY MP® ไทย)	85
รูปที่ 30 เครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่น Malvern)	85
รูปที่ 31 แสดงเครื่องกวนด้วยเครื่องความถี่ (Sonicator, CREST ULTRASONIC, สหรัฐอเมริกา, รุ่น 275DAE)	86
รูปที่ 32 แสดงเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV spectrophotometer, SHIMADZU® ญี่ปุ่น, รุ่น UV-160A)	86

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ

ในปัจจุบันผิวหนังต้องเผชิญกับมลภาวะต่างๆมากมายเช่นแสงแดด ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าแสงแดดนั้นประกอบไปด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ตทั้งชนิดเอ, บี และซีโดยยูวีเอ นั้นสามารถทำให้ผิวหนังเกิดริ้วรอยได้จากการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมาจากกระบวนการoxidation อนุมูลอิสระเหล่านี้จะไปทำลายไขมัน โปรตีน คอลลาเจน และส่วนประกอบอื่นๆที่สำคัญในชั้นผิวหนัง ทำให้ผิวหนังขาดความยืดหยุ่นและเกิดริ้วรอยได้ซึ่งสารที่เรียกว่าโคเอนไซม์คิวเทนหรือโคคิวเทนเป็นสารคล้ายวิตามินสามารถละลายได้ในไขมัน (fat-soluble vitamin-like substance) มีคุณสมบัติเป็น membrane stabilizing และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงหน้าที่สำคัญของโคเอนไซม์คิวเทนคือเป็นเอนไซม์หลักของกระบวนการKreb's cycle ซึ่งเป็นกระบวนการที่ช่วยเปลี่ยนสารอาหารเป็นพลังงานที่ร่างกายนำไปใช้ได้ซึ่งโคเอนไซม์คิวเทนสามารถเข้าไปทำหน้าที่ในการขนส่งอิเล็กตรอนในกระบวนการ oxidative phosphorylation ที่เกิดใน mitochondria ป้องกันการเกิด oxidative stress ที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระจึงกล่าวได้ว่าสาร โคเอนไซม์คิวเทนสามารถที่จะช่วยปกป้องเซลล์จากการถูกอนุมูลอิสระทำลาย นอกจากนี้ได้มีงานวิจัยที่ตีพิมพ์ (Hoppe et al., 1999) เกี่ยวกับผลของโคเอนไซม์คิวเทนต่อการลดริ้วรอย พบว่าสามารถช่วยให้ความลึกของริ้วรอยลดน้อยลง ถึงแม้ว่าร่างกายจะสามารถสังเคราะห์โคเอนไซม์คิวเทนขึ้นมาได้ แต่เมื่ออายุมากขึ้นพบว่า ความสามารถในการสร้างโคเอนไซม์คิวเทนจะลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดปัญหา ริ้วรอยและความเสื่อมขึ้นในระบบต่างๆตามมา

จากคุณสมบัติของโคเอนไซม์คิวเทนทำให้มีผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหลากหลายยี่ห้อที่มีส่วนผสมของโคเอนไซม์คิวเทนไม่ว่าจะเป็นในรูปแบบครีม หรือ โลชั่น คณะผู้วิจัยจึงคิดพัฒนาโคเอนไซม์คิวเทน โดยนำส่งในรูปแบบไมโครสฟอนจ์เพื่อเพิ่มความคงตัวต่อแสงและอุณหภูมิของโคเอนไซม์คิวเทนที่สามารถเกิดการสลายตัวได้เมื่อได้รับความร้อน หรือแสงเนื่องจากไมโครสฟอนจ์มีลักษณะเป็น Porous microspheres ที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 20-60 ไมครอนสามารถกักเก็บสารได้หลายชนิดและนำไปเตรียมเป็นสูตรตำรับต่างๆได้ เช่น ครีม เจลและ โลชั่นไมโครสฟอนจ์ช่วยเพิ่มความคงตัวทางกายภาพ และทางเคมีให้กับสาร มีคุณสมบัติ extended release ช่วยลดการระคายเคืองจากสาร โคเอนไซม์คิวเทนที่มีความเข้มข้นสูงๆ โดยไม่ลดประสิทธิภาพของสาร นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความสวยงามนำไปใช้ให้กับผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์การดำเนินโครงการ

วัตถุประสงค์ทั่วไป

เพื่อพัฒนาโคเอนไซม์คิวเทนนำส่งในรูปแบบไมโครสพอนจ์ที่มีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสาร และมีลักษณะทางกายภาพที่ดี

วัตถุประสงค์เฉพาะ

1. เพื่อศึกษาผลของอัตราเร็วในการปั่นผสมที่มีต่อลักษณะทางกายภาพของไมโครสพอนจ์
2. เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสที่มีต่อลักษณะทางกายภาพของไมโครสพอนจ์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการ

1. สามารถพัฒนาโคเอนไซม์คิวเทนในรูปแบบการนำส่งแบบไมโครสพอนจ์ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ต่อในสาขาต่างๆ โดยอาจนำไปพัฒนาสูตรตำรับเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางต่อไป
2. เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการนำส่งยาในรูปแบบใหม่ ที่แสดงถึงความก้าวหน้าทางเภสัชกรรม และเป็นทางเลือกในการพัฒนารูปแบบยาใหม่ซึ่งอาจนำรูปแบบไมโครสพอนจ์ไปใช้เป็นระบบนำส่งยา หรือสารสำคัญอื่นๆต่อไป

บทที่ 2

ปรีทัศน์วรรณกรรม

1. ผิวหนัง

1.1 ประโยชน์ของผิวหนัง

1. ช่วยปกป้องอันตราย จากฝุ่นละอองเชื้อโรค มลพิษต่างๆหรือการกระแทก เพื่อป้องกันอวัยวะภายในร่างกายไม่ให้ได้รับสิ่งแปลกปลอม หรืออันตราย นอกจากนี้เม็ดสีเมลานินที่อยู่ในผิวหนัง ยังช่วยป้องกันไม่ให้แสงแดดทำอันตรายกับผิวอีกด้วย
2. ช่วยควบคุมอุณหภูมิภายในร่างกาย
3. เป็นอวัยวะที่รับความรู้สึกได้
4. เป็นอวัยวะช่วยขับถ่ายของเสีย
5. เป็นแหล่งในการสังเคราะห์วิตามิน เช่นวิตามินดี เป็นต้น

1.2 โครงสร้างของผิวหนัง

ผิวหนังถือว่าเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดในร่างกายมีเนื้อที่มากถึง 2 ตารางเมตร ผิวหนังตามส่วนต่างๆของร่างกายมีความหนาไม่เท่ากัน เช่นเปลือกตาเป็นส่วนที่บางที่สุด มีความหนาน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร ส่วนที่หลังจะมีความหนามากถึง5มิลลิเมตรแต่โดยทั่วไปผิวหนังจะมีความหนาประมาณ 1-2 มิลลิเมตร โดยโครงสร้างของผิวหนังประกอบด้วย 3 ชั้น คือ

1.2.1.ชั้นหนังกำพรั (Epidermis)

เป็นชั้นบนสุดของผิวหนัง มีความหนาประมาณ 0.04-1.5 มิลลิเมตร หนังกำพรัมีความหนาแตกต่างกันตามส่วนต่างๆของร่างกาย โดยบริเวณตาจะบางที่สุด ส่วนบริเวณฝ่ามือฝ่าเท้าจะมีความหนามากที่สุดในชั้นหนังกำพรันี้ประกอบด้วยเซลล์ต่างๆมากมาย มีหน้าที่และลักษณะที่แตกต่างกันไป โดยเซลล์ส่วนที่อยู่ล่างสุด (Basal Cell) จะทำหน้าที่สร้างเซลล์ใหม่ โดยจะมีการแบ่งตัวอยู่ตลอดเวลา เซลล์ที่ถูกสร้างขึ้นจะดันเซลล์เก่าให้อยู่ชั้นเหนือขึ้นไปจนกระทั่งถึงชั้นบนสุดกลายเป็นเซลล์ที่ตายแล้วและหลุดลอกออกไปเป็นขี้ไคล นอกจากนี้ยังมีเซลล์สร้างเม็ดสี (Melanocyte)ที่ทำหน้าที่สร้างเม็ดสีอยู่ที่บริเวณส่วนล่างสุดของชั้นหนังกำพรั (Gawkrodger, 2002) ทำให้เกิดสีผิวที่แตกต่างกันไปในแต่ละบุคคลโดยผิวหนังชั้นนอกสุดสามารถแบ่งออกเป็น 5 ชั้น คือ

1) Stratum corneum อยู่ชั้นนอกสุด เป็นชั้นที่ขัดขวางการนำส่งยาทางผิวหนัง ประกอบด้วย keratinized cell รูปร่างแบน ไม่มีชีวิต เรียกว่า corneocytes เมื่อชั้น Stratum corneum เปียกน้ำ corneocytes จะสามารถดูดซับน้ำได้ถึง 60-70%W/W ของ Stratum corneum โดย keratinized cell จะถูกแทนที่จากการแบ่งเซลล์ของ viable epidermis จนได้เป็นเซลล์ลักษณะแบนซ้อนทับกัน ประกอบด้วย fibrous keratin และ keratohyalin ล้อมรอบด้วย extracellular lipid matrix ส่วนภายในมี epidermal intercellular lipid matrix ที่มีโครงสร้างค่อนข้างซับซ้อน ประกอบด้วย ส่วนที่เป็น hydrophilic และ hydrophobic สลับกัน โดยมักเรียงตัวในลักษณะ bilayer lipid ในชั้น stratum corneum ประกอบด้วย ceramide type III, ceramide type IV, cholesterol, cholesterol sulfate และ fatty acids หลายชนิดซึ่งแตกต่างกันไปตามความลึกของชั้นผิวหนัง ค่า pK_a ของ lipid ในชั้น stratum corneum มีค่าเท่ากับ 8 ส่วนผิวหนังมี pH ประมาณ 5 ทำให้ head group ของ lipid แสดงประจุลบได้เล็กน้อย และในชั้น stratum corneum ที่ลดลงไป pH จะเพิ่มเป็น 7.4 ซึ่งทำให้ head group ของ lipid แสดงประจุลบได้มากขึ้น นอกจากนี้พบว่าความต้านทานของชั้น stratum corneum จะเพิ่มขึ้นตามความยาวสายของ sphingo-lipid อีกด้วย

2) Stratum lucidum เป็นชั้นที่เซลล์มีลักษณะแบน จะพบเฉพาะตามฝ่ามือ และฝ่าเท้า

3) Stratum granulosum เป็นชั้นถัดลงไป เซลล์ในชั้นนี้จะมีลักษณะเป็นแกรนูลเมื่อสารในเซลล์ถูกขับออกมาออกเซลล์สารจะมาอยู่ระหว่างเซลล์ในชั้นบนสุด และเซลล์จะเปลี่ยนไปเป็น Stratum corneum (Breathnach, 1971)

4) Stratum spinosum เริ่มแรกเซลล์จะมีลักษณะกลมหรือรูปร่างหลายเหลี่ยม หลังจากนั้นเซลล์จะเชื่อมต่อกัน นิวเคลียสจะหดตัวได้เป็นเซลล์รูปร่างแบน และมีการสร้าง keratohyalin

5) Stratum geminativum เป็นชั้นที่มีเซลล์รูปร่างไข่ เรียกว่าชั้นเดียว มีเซลล์ melanocyte ทำหน้าที่สร้างเม็ดสี

1.2.2. ชั้นหนังแท้ (Dermis)

ชั้นนี้มีความหนาแตกต่างกันไปตามตำแหน่งของร่างกายประกอบด้วย (Robert and MacNeal, 2006)

1) เส้นใยคอลลาเจน (Collagen Fiber) มีโปรตีนคอลลาเจนเป็นส่วนประกอบมากถึงร้อยละ 75 ของน้ำหนักแห้งของผิวหนัง ทำให้ผิวหนังเกิดความแน่นและแข็งแรง โดยชั้นหนังแท้ที่หนาที่สุดจะอยู่หลังต้นแขน, หลังต้นขาและหน้าท้องตามลำดับ การเรียงตัวของคอลลาเจนในแต่ละส่วนจะแตกต่างกันทำให้เกิดลายเส้นทั่วร่างกายเรียกว่า Cleavage line

2) เส้นใยอีลาสติก (Elastic fiber) คือโปรตีนอีลาสติน เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ร้อยละ 4 ของน้ำหนักแห้งของผิวหนังทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่นและสามารถคืนสู่สภาพเดิมได้เมื่อถูกดึง และมี ground substance ทำหน้าที่เป็นทางผ่านของน้ำ, อาหาร, ของเสียระหว่างเซลล์และหลอดเลือด ประกอบด้วยสารต่างๆ เช่น glycoprotein, hyaluronic acid, proteoglycan และ chondroitin sulfate เป็นต้น (Deutsch et al., 1975)

3) พอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ร้อยละ 20 ของน้ำหนักแห้งของผิวหนัง โดยพอลิแซคคาไรด์ที่สำคัญคือ chondroitin sulfate, dermatin sulfate และ heparin

4) หลอดเลือด ทำหน้าที่นำอาหารมาเลี้ยงเซลล์ผิวหนังและยังทำหน้าที่ปรับอุณหภูมิในร่างกายและควบคุมความดันเลือด

5) ท่อน้ำเหลือง ทำหน้าที่ควบคุมความดันของน้ำที่อยู่ระหว่างเซลล์และถ่ายเทของเสียออกไปจากผิวหนัง

6) เส้นประสาท

7) ต่อมต่างๆ

1.2.3. ชั้นเนื้อเยื่อไขมัน (Subcutaneous)

ชั้นนี้ทำหน้าที่เป็นฉนวนป้องกันแรงกระแทกจากภายนอก, เก็บสะสมพลังงานไว้ใช้ในเวลาที่จำเป็นหรือขาดแคลนและทำให้ผิวหนังสามารถเคลื่อนไหวได้โดยไม่ติดกับอวัยวะอื่นๆที่อยู่ข้างใต้

1.3 ต่อมต่างๆที่อยู่ในผิวหนังประกอบด้วย

1.3.1 ต่อมเหงื่อ มี 3 แบบคือ

1) ต่อมเหงื่อที่มีรูเปิดออกสู่ผิวหนังโดยตรง (Exocrine gland) มีอยู่ที่ผิวหนังทั่วร่างกาย ยกเว้นที่ริมฝีปาก ใต้เล็บ บริเวณอวัยวะเพศของหญิงและชาย ต่อมเหงื่อนี้มีมากถึง 1.6-4 ล้านต่อม บริเวณฝ่ามือและฝ่าเท้าจะพบได้มากที่สุด ต่อมเหงื่อจะอยู่บริเวณส่วนล่างของหนังแท้ หรือบริเวณรอยต่อของหนังแท้และชั้นไขมันและมีท่อเปิดออกสู่ภายนอกผิวหนัง ต่อมเหงื่อทำหน้าที่ขับเหงื่อและของเสียออกจากร่างกายออกมาประมาณวันละ 700-900 มิลลิลิตร ประมาณร้อยละ 99 ของเหงื่อจะเป็นน้ำ นอกนั้นจะเป็นไขมันเกลือ ยูรีน และอื่นๆ ทำให้อุณหภูมิร่างกายคงที่ นอกจากนี้ยังขับเหงื่อออกมาเมื่อเกิดความเครียดได้ บางคนมีเหงื่อมากอาจใช้ยาทาลดการสร้างเหงื่อ เช่น 5-20% Aluminiumchlorhydrate ใน ethanol

2) ต่อมเหงื่อที่มีรูเปิดอยู่ในรูขุมขน (Apocrine gland) พบได้บริเวณรักแร้ อวัยวะเพศ รอบทวารหนัก เป็นต้น ต่อมเหงื่ออยู่ที่ชั้นไขมันใต้ผิวหนัง และมีท่อเปิดอยู่เหนือท่อเปิดของต่อมไขมัน แต่บางชนิดมีท่อเปิดออกสู่ภายนอกโดยตรง ในสัตว์ต่อมนี้ทำหน้าที่สร้างกลิ่นและควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย ในคนจะมีของเหลวถูกขับออกมามีลักษณะคล้ายน้ำมัน ไม่มีกลิ่น แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับแบคทีเรียที่ผิวหนังแล้วจะทำให้เกิดกลิ่นได้

1.3.2. ต่อมไขมัน (Sebaceous gland)

มีอยู่ทั่วทุกแห่งของร่างกาย ยกเว้นที่ฝ่ามือและฝ่าเท้า มีขนาดไม่เท่ากันตามสัดส่วนต่างๆ ของร่างกาย ต่อมไขมันบริเวณใบหน้าและศีรษะจะมีขนาดใหญ่ที่สุด ต่อมไขมันประกอบด้วยเซลล์ที่สร้างไขมันอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ทำหน้าที่สร้างไขมันหรือไขผิวหนัง (Sebum) ออกมาเคลือบผิวไว้ (Ro and Dawson .,2005) เพื่อลดการสูญเสียน้ำ การเจริญเติบโตของต่อมไขมันขึ้นอยู่กับฮอร์โมนเพศชาย (androgen) ซึ่งจะมีขนาดใหญ่เมื่อแรกเกิดจากนั้นจะเล็กลง และโตอีกครั้งเมื่อย่างเข้าสู่วัยรุ่น ไขมันจะสร้างมากในผู้ชายมากกว่าผู้หญิง และลดลงมากเมื่อย่างเข้าสู่วัยชรา (Robert and MacNeal, 2006) ด้วยเหตุนี้คนชราจะมีผิวก่อนขางแห้ง และไม่เป็นสิ่ว

1.4 ไขมัน

ไขมันช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำความชื้นจากหนังกำพร้า (Robert and MacNeal, 2006) ไขมันจะถูกสร้างมากที่สุดเมื่ออายุได้ 20 ปีและจะสร้างลดลงเรื่อยๆเมื่ออายุมากขึ้น ผู้หญิงเมื่ออายุมากขึ้นจะมีปัญหาผิวแห้งมากกว่าผู้ชาย เพราะผู้ชายจะยังมีปริมาณการสร้างไขมันในปริมาณสูงเมื่ออายุมากขึ้น ดังนั้นจึงมีเครื่องสำอางต่างๆที่มีสารที่เป็นองค์ประกอบของไขมัน เพื่อนำไปทดแทนไขมันที่ลดลง ซึ่งได้แก่ เครื่องสำอางที่มีสารจำพวก Triglyceride และ Fatty acid ซึ่ง Fatty acid ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในไขมัน คือ Palmitoic acid, Palmitic acid และ Linoleic acid จึงมีการนำเอาน้ำมันจากพืชและสัตว์ซึ่งมีส่วนผสมของ Fatty acid ที่คล้ายกับไขมันตามธรรมชาติ มาทำเป็นเครื่องสำอางต่างๆ ยกตัวอย่างเช่น Ba-bassu oil, Coconut oil, Evening Primrose oil, Macadamia oil, Sunflower seed oil และ Wheat germ oil เป็นต้น

ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบของไขมัน

ชื่อสาร	ปริมาณเฉลี่ย(ร้อยละของทั้งหมด)
1.Triglyceride	41.0
2.Wax ester	25.0
3.Fatty acid	16.4
4.Diglyceride	12.0
5.Cholesterol	3.4

1.5 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของผิวหนัง

ผิวหนังภายนอกถูกเคลือบด้วยไขมันแห้ง และ โปรตีนเป็นส่วนหนึ่งของผิวหนังชั้นบนสุด สารต่างๆเหล่านี้ ทำให้ผิวหนังมีสภาพเป็นกรดอ่อนๆ มีค่า pH อยู่ประมาณ 4.5–6.5 ซึ่งเป็นสภาพที่ดีที่สุดของผิวหนัง แต่ถ้าสภาพผิวหนังเปลี่ยนไปจะทำให้ผิวหนังเกิดการระคายเคืองและติดเชื้อได้ง่ายเช่น ผิวหนังมีสภาพเป็นด่างจากการอาบน้ำด้วยสบู่ที่มีความเป็นด่างอยู่เป็นประจำ หรือสภาพเป็นกรดในคนที่มียีสต่อมไขมันมากกว่าปกติ

1.6 ปัจจัยที่ทำให้ผิวแตกต่างกัน

ลักษณะของผิวขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ กรรมพันธุ์ อายุ อาหารและน้ำที่บริโภค การออกกำลังกาย การพักผ่อน ยา เพศ แสงแดด สุขภาพกายและจิตใจ

1.7 ลักษณะของผิว

ลักษณะของผิว แบ่งออกได้ 3 ประเภท คือ

1) ผิวธรรมดา ผิวธรรมดาเป็นผิวที่ดูแลง่ายที่สุดมีน้ำเป็นส่วนประกอบอยู่ประมาณ 15-25% เป็นผิวที่มีความละเอียด มีปริมาณไขมันที่พอเหมาะ มีความชุ่มชื้นและสดใส แต่ในบริเวณ T-Zone คือบริเวณหน้าผาก จมูกและคาง อาจจะมีไขมันมากกว่าส่วนอื่น

2) ผิวแห้ง ผิวแห้งจะมีน้ำเป็นส่วนประกอบน้อยกว่าผิวธรรมดา คือมีปริมาณน้ำอยู่ใน keratin น้อยกว่า 10%ซึ่งอาจเกิดจากต่อมไขมันผลิตไขมันได้น้อยกว่าปกติ ทำให้ผิวสูญเสียน้ำออกไปมาก ผิวจึงแห้งตึงโดยเฉพาะบริเวณ รอบปาก รอบดวงตาจะเห็นรอยข่น แต่หากผิวแห้งมากจะเห็นเป็นขุยหรือแตกได้ และเนื่องจากต้นเหตุของผิวแห้งคือการมีปริมาณน้ำในเซลล์ผิวหนังลดลง ดังนั้นจึง

ควรลดการสูญเสียไขมันออกจากผิวโดยการทาครีมบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของน้ำมัน โดยเฉพาะในหน้าหนาว ที่ความชื้นในอากาศน้อยลง หลีกเลี่ยงน้ำอุ่นในการชำระล้าง หลีกเลี่ยงการใช้สบู่ในการล้างหน้าเพราะ จะทำให้สูญเสียไขมันที่ทำหน้าที่เคลือบผิวมากขึ้น

3) ผิวมัน ผิวมันจะมีปริมาณน้ำใกล้เคียงกับผิวธรรมดา แต่มีน้ำมันมากกว่าปกติ เนื่องจากต่อมไขมันมีการสร้างไขมันมากเกินไป ทำให้เกิดการอุดตันและกลายเป็นสิวได้ง่าย โดยเฉพาะในวัยรุ่น สอร์โมนเพศมีบทบาทมากเกี่ยวกับการกระตุ้นต่อมไขมัน ดังนั้นวัยรุ่นจะพบว่าเป็นสิวมากกว่าคนแก่ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าคนที่ผิวมันจะไม่ค่อยพบเห็นริ้วรอยเหี่ยวย่นเหมือนกับคนผิวแห้งในการดูแลผิวมัน อาจจะต้องล้างหน้าบ่อยขึ้น การล้างหน้าด้วยน้ำธรรมดาอาจจะไม่เพียงพอ การล้างหน้าด้วยสบู่ที่มีสภาพเป็นด่างรุนแรงอาจทำให้เกิดการระคายเคืองได้ จึงควรใช้สบู่ที่อ่อนโยนต่อผิว ควรล้างหน้าด้วยน้ำอุ่น เพราะน้ำอุ่นช่วยละลายไขมันที่เกาะติดบนใบหน้าได้ คนผิวมันมีรูขุมขนกว้างเกิดการอุดตันและเป็นสิวง่าย ควรใช้โลชั่นหรือน้ำยากระชับรูขุมขน (Toner) ช่วยลดความมันบนใบหน้าได้ แต่ผลอาจจะไม่ถาวร ไม่ควรใช้เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของน้ำมัน เพราะจะทำให้ผิวมันมากขึ้นโดยไม่จำเป็น ควรใช้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำมัน (Oil free) หรือมีส่วนผสมของน้ำมันน้อยที่สุด นอกจากนี้การใช้ AHA จะช่วยลดความมันของผิวหน้าได้

2. ริ้วรอยเหี่ยวย่น

ริ้วรอยเหี่ยวย่นที่เกิดขึ้นบนผิวหนังแต่ละคนจะมีลักษณะต้นตอและมากน้อยแตกต่างกัน รอยย่นมักเริ่มเกิดเมื่ออายุประมาณ 25 ปี โดยจะเริ่มเห็นที่ใบหน้าก่อน เช่น บริเวณรอบดวงตาที่เรียกว่ารอยตีนกา (Crow Feet) เกิดขึ้นที่บริเวณหางตา ปาก และ หน้าผาก และจะเปลี่ยนแปลงมากขึ้นตามอายุ เมื่ออายุย่างเข้ามากกว่า 50 ปี ขึ้นไปก็จะเริ่มมีรอยย่นเกิดมากขึ้น เช่นที่คาง โคนจมูก ริ้วรอยที่ริมฝีปาก ร่องแก้ม โดยจะเกิดมากขึ้นและลึกขึ้น ผิวหน้าก็จะเริ่มหยาบกร้าน หย่อนยาน คั้นตัวหยาบ เนื่องจากส่วนประกอบในชั้นต่างๆ ของผิวหนังเริ่มเปลี่ยนไป โดยผิวหนังจะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามวัยและสภาพสิ่งแวดล้อม เนื่องจากผิวหนังเป็นอวัยวะหนึ่งในร่างกายที่ต้องสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมโดยตรง ดังนั้นเมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปจึงมีผลกระทบโดยตรงกับผิวหนังของเรา(Wilhelm KP., 1991)

ลักษณะของผิวหนังที่เกิดจากความชรา (Aging) เชื่อกันว่าเป็นปรากฏการณ์ตามธรรมชาติที่ถูกกำหนดไว้แล้วโดยพันธุกรรม (Genetic) เช่นเดียวกับอวัยวะอื่นๆที่อยู่ภายในร่างกายที่ต้องการมีการเสื่อมสภาพลง (Intrinsic Factor) แต่อย่างไรก็ตามสิ่งแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่ทำให้เกิดการ

เปลี่ยนแปลงขึ้นที่ผิวหนัง อาทิเช่น แสงแดด สารเคมี ความร้อน ความชื้นของสภาพภูมิอากาศ ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ ทำให้กระบวนการของความชราเกิดขึ้นเร็วและอาจก่อให้เกิดโรคต่างๆ ที่ผิวหนังได้อีกด้วย

2.1 กระบวนการเกิดรอยย่น

ผิวหนังของคนเราเป็นอวัยวะที่มีเซลล์มากมายนับล้านๆเซลล์ โดยจะเรียงตัวเป็นชั้นๆคือ ชั้นหนังกำพร้า ชั้นหนังแท้ และชั้นเนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนัง โดยปกติเซลล์ผิวหนังของคนเราจะมีการหลุดลอกออกไป และมีการสร้างเซลล์ขึ้นใหม่ตลอดเวลา เซลล์ชั้นผิวที่หลุดลอกออกไปจะเป็นเซลล์ที่ไม่มีชีวิต ที่เราเรียกว่า ซีไคล เมื่ออายุมากขึ้นทั้งจำนวนและหน้าที่ของเซลล์เหล่านี้จะเปลี่ยนไปในลักษณะที่เสื่อมสภาพไป

1) ชั้นหนังกำพร้า เป็นผิวหนังชั้นนอกสุด เมื่ออายุมากขึ้นเซลล์ผิวหนังในชั้นนี้จะบางลงแต่บริเวณที่ถูกแสงแดดจะหนาขึ้นกว่าเดิมเพราะเซลล์ผิวหนังจะมีการผลิตเซลล์ที่มากกว่าบริเวณอื่นและหลุดลอกได้ง่ายขึ้นเช่น มีแผลลอกง่ายขึ้นและแผลมักจะหายช้า มีโอกาสเกิดเป็นโรคมะเร็งที่ผิวหนังมากขึ้นเนื่องจากเซลล์ผิวหนังมีการเจริญเติบโตผิดปกติ จนเกิดเป็นเนื้องอกหรือมะเร็งได้เซลล์สร้างสีผิวจะมีจำนวนลดลงและมีการจับกลุ่มผิดปกติ ทำให้ผิวหนังบางแห่งเป็นรอยด่างขาว แต่บางแห่งเข้มขึ้นหรือเรียกว่า “กระ”

2) ชั้นหนังแท้ เป็นชั้นผิวหนังที่สึกลงไปถัดจากชั้นหนังกำพร้าจะมีเนื้อเยื่อเป็นส่วนประกอบหลายอย่าง เช่น คอลลาเจนไฟเบอร์ (Collagen Fiber),อีลาสติกไฟเบอร์ (Elastic Fiber) และสารที่เรียกว่า Ground Substance ซึ่งทำหน้าที่เสมือนซีเมนต์คอยเชื่อมองค์ประกอบทั้งสองอย่างเข้าด้วยกันเมื่ออายุมากขึ้นชั้นหนังแท้จะบางลง ส่วนประกอบที่เป็นคอลลาเจนไฟเบอร์จะเปลี่ยนไปทำให้ผิวหนังเปราะบางมากขึ้น ส่วนอีลาสติกไฟเบอร์จะมีลักษณะโครงสร้างและคุณสมบัติไม่เหมือนเดิมทำให้ความยืดหยุ่นของผิวหนังลดลงจึงเกิดเป็นริ้วรอยย่นและหย่อนยานมากขึ้น ในชั้นหนังแท้จะมีต่อมต่างๆมากมายซึ่งต่อมต่างๆเหล่านี้จะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่ออายุมากขึ้นเช่นกัน โดยเมื่ออายุมากขึ้นผิวหนังจะมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้คือ

- ต่อมเหงื่อจะมีจำนวนและมีประสิทธิภาพลดลง ดังนั้นในภาวะอากาศร้อนจะเกิดอาการ Heat Shock ได้ง่ายเนื่องจากเหงื่อออกน้อยลง การระบายความร้อนจึงเกิดได้ไม่ดี

- ต่อมไขมันจะมีจำนวนเท่าเดิม แต่ขนาดใหญ่ขึ้นและมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง ไขมันที่สร้างจากต่อมไขมันจะเปรียบเสมือนเป็นสารเคลือบและสารหล่อลื่นที่ผิวหนัง ถ้าลดลงก็จะทำให้ผิวแห้ง หลุดลอกได้ง่ายและเป็นขุย
- อัตราการเจริญเติบโตของผมจะลดลง รูขุมขนลดลงเซลล์สร้างสีผมที่อยู่บริเวณรูขุมขนจะหายไป ทำให้ผมเปลี่ยนเป็นสีเทาหรือสีขาว ผมจะแข็งและหนาขึ้นในบริเวณที่เคยเป็นขนอ่อน เช่น เหนือริมฝีปากและคางในผู้หญิง และที่จมูกและคิ้วในผู้ชาย
- เล็บจะเจริญช้ากว่าปกติและมีลักษณะบางลง เปราะและหักง่ายไม่เงางามเหมือนเดิม

นอกจากนี้จำนวนเส้นเลือดที่ผิวหนังก็จะลดน้อยลง ทำให้ผิวหนังเย็นและซีดจางด้านทานของผิวหนังจะลดลง ทำให้เกิดการแพ้สารต่างๆ ที่มาสัมผัสมากขึ้นและมีอาการแพ้ยาวนานขึ้น

2) ชั้นไขมันใต้ผิวหนัง ชั้นนี้เปรียบเสมือนเบาะรองผิวหนัง เมื่ออายุมากขึ้นชั้นไขมันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันไปตามบริเวณต่างๆ คือส่วนบริเวณสะโพก และต้นขา จะมีไขมันหนาขึ้น แต่บริเวณใบหน้าจะเหี่ยวแห้ง ไขมันูนวล ไม่มีน้ำมันวลเหมือนตอนเป็นหนุ่มเป็นสาว

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติต่างๆทางกายภาพและทางเคมีของผิวหนังระหว่างอายุ 20 ปี และอายุ 70 ปี

คุณสมบัติของผิวหนัง	อายุ 20 ปี (ซ.ม.)	อายุ 70 ปี (ซ.ม.)	%ความ แตกต่าง
การยุบของผิวเมื่อมีความกดดัน (Indentation)	0.043	0.054	26%
%การคืนตัวหรือความยืดหยุ่น (Elastic Recovery)	80.5	65.5	19%
ความหย่อนยาน (Levanometry)	0.037	0.068	84%
ค่าความเป็นกรด-ด่างของผิว (pH)	5.52	5.61	7%

กระบวนการเกิดรอย่นเกิดขึ้นได้กับทุกคนซึ่งการเกิดเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆหรือผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมรอบๆตัวเราด้วยสภาพแวดล้อมที่ไม่ดี หรือมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ทำให้กระบวนการต่างๆเกิดเร็วขึ้น ปัจจัยเสริมที่ทำให้กระบวนการเกิดรอย่นเร็วขึ้น ได้แก่ อาหาร น้ำ สภาพดินฟ้าอากาศ ความชื้น อุณหภูมิภายนอก แสงแดด และพฤติกรรมของแต่ละคน

2.2 ปัจจัยเสริมของกระบวนการเกิดรอยย่น

1) อาหาร

การขาดไขมัน	ทำให้ผิวหนังแห้ง เนื่องจากมีไขมันเป็นส่วนที่หล่อลื่นร่างกายน้อยลง
การขาดวิตามินเอ	ทำให้ผิวแห้ง แดง ลอกเป็นขุย เสียหายรุนแรง
การขาดน้ำ	เมื่ออากาศมีความชื้นสัมพัทธ์น้อยจะทำให้ผิวหนังระเหยออกไป จึงทำให้ผิวแห้งแตก หรือลอกเป็นขุยได้ การทาครีมบำรุงผิวจะช่วยเคลือบผิว และช่วยป้องกันน้ำไม่ให้ระเหยออกออกไปจากผิวหนังได้

2) แสงแดด เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดรอยย่น เนื่องจากผิวหนังเป็นอวัยวะแรกที่ต้องสัมผัสกับแสงแดด คนที่ทำงานอยู่กลางแจ้งจะมีผิวที่ค่อนข้างหนาและหยาบกร้าน มีริ้วรอยเป็นร่องลึกและมีผิวคล้ำหรือรอยด่างดำเกิดขึ้นได้ง่ายกว่าคนที่ทำงานในที่ร่ม นั่นเป็นเพราะผิวหนังเกิดการเปลี่ยนแปลงจากการถูกแสงแดดนานหรือบ่อยๆ ทำให้เซลล์ผิวหนังต้องปรับตัวให้หนามากขึ้นเพื่อป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต นอกจากนี้แสงแดดยังให้พลังงานความร้อนทำให้ผิวไหม้เกรียมได้ (Garyet al., 2002)

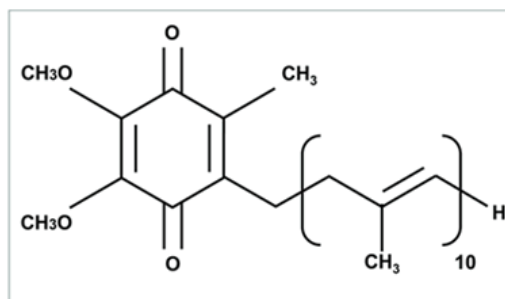
3) สารเคมี สารเคมีหลายชนิดมีผลเสียและเป็นพิษโดยตรงต่อผิวหนัง เช่น สารปรอท ในเครื่องสำอาง, สารตะกั่วในน้ำมันท่อไอเสีย, สารคลอรีนในสระว่ายน้ำฝุนละออง และเชื้อโรคในอากาศ เป็นต้น คนที่สัมผัสกับสารต่างๆดังกล่าวเป็นประจำหรือในปริมาณมากก็จะทำให้ผิวหนังเกิดการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นเกิดริ้วรอยย่นได้มาก และอาจทำให้เกิดอาการแพ้ เช่น ผื่นแดง คัน ตุ่มน้ำใสร่วมด้วย

3. โคเอนไซม์คิวเทน

3.1 คุณสมบัติของโคเอนไซม์คิวเทน

โคเอนไซม์คิวเทนเป็นสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติในร่างกายและร่างกายสามารถผลิตได้เอง พบในเซลล์ทุกเซลล์ที่มีชีวิต โดยจะอยู่ที่ส่วนเยื่อหุ้มของไมโทคอนเดรีย และมีความจำเป็นต่อร่างกาย โดยโคเอนไซม์คิวเทนที่ผลิตในร่างกายนี้ สังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนไทโรซีน (Tyrosine) และฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) โดยกรดอะมิโนทั้ง 2 ตัวนี้ จะสร้างส่วนวงแหวนควิโนน (Quinone ring) ส่วนสายยาว (side chain) สร้างมาจากอะซิติลโคเอ (Acetyl CoA) โดยอาศัยกระบวนการในร่างกายหลายขั้นตอน ร่วมกันกับวิตามิน 7 ชนิด คือ วิตามินบี 2 (Riboflavin) วิตามินบี 3 (Niacinamide) วิตามินบี 6 กรดโฟลิก (Folic Acid) วิตามินบี 12 วิตามินซี และกรดแพนโททีนิก (Pantothenic Acid)

โคเอนไซม์มีชื่อเรียกต่างๆ กัน เช่น Co-enzyme Q 10, Ubiquinone, Ubiquinol, Ubidecarenone, Ubiquitous หรือ Coenzyme quinone และมีชื่อเรียกทางเคมีว่า 2,2-dimethoxy-5-methyl-6-decaprenyl benzoquinone มีสูตร โครงสร้างทางเคมีคือ



Structure of CoQ10

รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของสารโคเอนไซม์คิวเทน

ตารางที่ 3 แสดงค่าการละลายของโคเอนไซม์คิวเทนในตัวทำละลายชนิดต่างๆ (Ondarroa et al., 1986)

Solvent	Dielectric constant (25°C)	P' (Polarity parameter Ref. 11, 12)	R.I. (refractive index, 25°C)	Solvent group (Ref. 13)	Solubility (20°C) (mmol dm ⁻³) ¹	
					Q _{ox}	Q _{red}
n-Dodecane	2.0	—	—	2	65 ³	75
n-Undecane	2.0	—	—	2	65 ³	55
n-Decane	2.0	—	—	2	65 ³	85
n-Hexane	1.9	0.1	1.375 ²	2	105 ³	105
Diethyl ether	4.3 ²	2.8	1.350	2	230 ³	—
Benzene	2.3 ³	2.7	1.498	2	> 270	240
Chloroform	4.8 ²	4.1	1.443	3	> 390	320
Acetone	20.7	5.1	1.356	3	40	100
Ethanol	24.3	4.3	1.359	3	5.8	20
N,N-Dimethyl formamide	36.7	6.4	1.428	3	40	190
N-Methyl formamide	182.4	6.0	1.447	3	2.3	4.0
Formic acid	58.5	—	1.371 ²	1	Insoluble	Insoluble
1,4-Butanediol	—	—	—	1	Insoluble	Insoluble
1,3-Butanediol	28.8	—	1.440 ²	1	Insoluble	Insoluble
1,2-Propanediol	32.0	—	—	1	Insoluble	Insoluble
1,3-Propanediol	35.0	—	1.440 ²	1	Insoluble	Insoluble
Formamide	109.5	9.6	1.447	1	0.2	4.6
2-Amino ethanol	—	—	1.454	1	Insoluble	Insoluble
Water	78.5	10.2	1.333	1	Insoluble	Insoluble

¹ The molar concentration at which a saturated solution is formed at 20°C is calculated from the amount of ubiquinone added to a given volume of solvent taking density of ubiquinone-10 as 1.

² At 20°C.

³ These solubility values are approaching the saturation point.

จากสูตรโครงสร้างของโคเอนไซม์คิวเทนในรูปที่ 1 พบว่าโคเอนไซม์คิวเทนเป็นสารที่มีความเป็นขั้วน้อยและเมื่อดูความสามารถในการละลายของโคเอนไซม์คิวเทนจากตารางที่ 3 พบว่าโคเอนไซม์คิวเทนสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเช่น n-Hexane, Acetone, Alcohol แต่เมื่อตัวทำละลายมีความเป็นขั้วเพิ่มขึ้นเช่นน้ำ, Formamide ปรากฏว่าค่าการละลายของโคเอนไซม์คิวเทนลดลงอย่างมากจนกระทั่งไม่ละลาย

โคเอนไซม์คิวเทนเป็นสารที่มีคุณสมบัติคล้ายวิตามิน สามารถละลายในไขมันหรือน้ำมันได้หลายชนิด โดยจากวิจัยที่ทดสอบหาการละลายในไขมันและน้ำมันหลายชนิดพบว่าโคเอนไซม์คิวเทนมีค่าการละลายในcoconut oil และsafflower oils มากกว่าไขมันหรือน้ำมันชนิดอื่น (Thanatuksorn et al., 2009)

3.2 ประโยชน์ของโคเอนไซม์คิวเทน

โคเอนไซม์คิวเทนที่ร่างกายสังเคราะห์ขึ้นนี้ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์หลักใน Krebs's หรือ Citric Acid Cycle ซึ่งเป็นกระบวนการที่ทำการเปลี่ยนแปลงอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตและไขมันให้อยู่ในรูปของพลังงานที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้ โดยหน้าที่ของเอนไซม์โดยทั่วไป ก็คือจะเข้าไปช่วยเร่งปฏิกิริยาภายในร่างกาย (Franklin et al., 2002) โดยตัวของเอนไซม์เองจะไม่ถูกทำลายหรือถูกเปลี่ยนแปลงเมื่อปฏิกิริยาดังกล่าวสิ้นสุดลง โคเอนไซม์คิวเทนเป็นสารสำคัญที่มีส่วนร่วมในการผลิตพลังงานมักพบในอวัยวะที่ต้องใช้พลังงานสูง (Hoppe et al., 1999) เช่น หัวใจ ตับ ไต (114, 66.5 และ 54.9 ไมโครกรัมต่อ 1 กรัมของเนื้อเยื่อ) เพื่อสร้างความแข็งแรงให้กับเซลล์ และช่วยลดความเมื่อยล้า นอกจากนี้โคเอนไซม์ยังช่วยยับยั้งคอเลสเตอรอลไม่ให้จับตัวอยู่ตามผนังหลอดเลือด ลดการเกิดปัญหาเส้นเลือดอุดตัน บรรเทาอาการปวดร้าวบริเวณหน้าอก อันเกิดจากโรคความดันโลหิตสูงและภาวะแทรกซ้อน ช่วยป้องกันโรคสมองเสื่อมในผู้สูงอายุหรืออัลไซเมอร์ เนื่องจากโคเอนไซม์คิวเทนมีฟิโนลอะลานินเป็นส่วนประกอบสารตัวนี้จะช่วยกระตุ้นการทำงานของต่อมไทรอยด์ซึ่งผลิตฮอร์โมนที่ช่วยทำให้ความจำดีขึ้น ส่วนกรดอะมิโนอีกตัวหนึ่งคือไทโรซีนนั้นจะช่วยให้เซลล์เสื่อมสภาพช้าลงและเป็นตัวควบคุมความรู้สึกหิวในสมองส่วนไฮโปทาลามัสช่วยทำให้เหงือกแข็งแรง ลดอาการอักเสบของเหงือกหรือเหงือกบวมได้

นอกจากนี้โคเอนไซม์คิวเทนยังมีประสิทธิภาพในการลดริ้วรอยก่อนวัยช่วยชะลอความเสื่อมสภาพของเซลล์ผิว และมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Hoppe et al., 1999) สามารถทำงานร่วมกับวิตามินอี ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตัวหนึ่งโดยไม่รบกวนและสามารถเสริมฤทธิ์กันได้ โดยโคเอนไซม์คิวเทนซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจะไปป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่จะให้อนุมูลอิสระซึ่งผลทำอันตรายต่อผิวหนังได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารโคเอนไซม์คิวเทนพบมากที่บริเวณผิวหนังชั้นนอก (Epidermis) มากกว่าที่ผิวหนังชั้นใน (Dermis) ถึง 10 เท่า (Hoppe et al., 1999) ซึ่งเป็นผิวหนังชั้นที่ได้รับความกระทบโดยตรงจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต จึงเป็นข้อดีอีกประการที่จะช่วยขจัดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุของริ้วรอยและความหมองคล้ำนอกจากหน้าที่ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผิวแล้วโคเอนไซม์คิวเทนเปรียบเสมือนแหล่งผลิตพลังงานให้กับเซลล์ผิวหนัง หากเซลล์ผิวหนังได้รับพลังงานไม่เพียงพอก็จะทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติก็จะทำให้ผิวหนังเหี่ยวก่อนวัยอันควรอีกด้วย (Hoppe et al., 1999)

3.3 ปริมาณ โคอเอนไซม์คิวเทนในร่างกาย

แม้ว่าโคเอนไซม์คิวเทนจะเป็นสารที่ร่างกายมนุษย์สร้างขึ้นได้เอง แต่จะสร้างในปริมาณที่ลดลงเมื่ออายุเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีปัจจัยภายนอกที่ทำให้ปริมาณของโคเอนไซม์คิวเทนในร่างกายลดลงได้อีก เช่น ผลกระทบจากสภาพแวดล้อม การพักผ่อนไม่เพียงพอ การได้รับยา หรือสารเคมี หรือแม้แต่ความเครียด ล้วนมีผลทำให้ปริมาณโคเอนไซม์คิวเทนในร่างกายลดลง ภาวะที่พบว่าปริมาณโคเอนไซม์คิวเทนลดลงได้แก่

- การใช้ยาบางชนิด โดยเฉพาะยาลดไขมันคอเลสเตอรอลในเลือด เช่นยาในกลุ่ม statin
- ผู้ป่วยโรคต่างๆ เช่น โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคเอดส์ โรคไต โรคเหงือกอักเสบ โรคสมอง เช่น โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน
- ภาวะที่ร่างกายมีความเครียด เช่น ทำงานหนัก , พักผ่อนน้อย , ขาดอาหาร , มีการติดเชื้อ
- ภาวะที่ร่างกายมีการใช้พลังงานมากเกินไป เช่น การออกกำลังกาย การเผาผลาญที่มากผิดปกติ อาการช็อกเฉียบพลัน
- วัยที่เพิ่มขึ้น พบว่าร่างกายมนุษย์สามารถสร้างโคเอนไซม์คิวเทนได้ในปริมาณสูงสุดเมื่ออายุ 20 ปี หลังจากนั้น ปริมาณจะลดลง เช่น เมื่ออายุ 40 ปี พบเพียง 64% และอายุ 80 ปี พบเพียง 36%
- การได้รับสารโคเอนไซม์คิวเทนจากมื้ออาหารน้อยเกินไป

ดังนั้นร่างกายจึงควรได้รับโคเอนไซม์คิวเทนจากภายนอกด้วย เช่น จากอาหาร โดยแหล่งอาหารที่มีปริมาณของโคเอนไซม์คิวเทนสูงได้แก่ น้ำมันปลา ปลาทะเลลึก สัตว์ทะเลต่างๆ และยังพบมากในอาหารจำพวกพืช เช่น รำข้าว บร็อกโคลี ถั่วเหลือง เป็นต้น นอกจากนี้ร่างกายยังสามารถได้รับโคเอนไซม์คิวเทนที่สังเคราะห์ขึ้นมาใช้เป็นสารสำคัญในอาหารเสริม และเครื่องสำอางต่างๆ ได้อีกด้วย โดยจากงานวิจัย (Hoppe et al., 1999) พบว่าปริมาณโคเอนไซม์คิวเทนที่ใช้ในสูตรตำรับครีมที่มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดริ้วรอยแห่งวัยคือความเข้มข้น 0.5 % ของสูตรตำรับ

4. การนำส่งยาทางผิวหนัง

4.1 การดูดซึมทางผิวหนัง

เมื่อสารสัมผัสกับผิวหนัง สารจะดูดซึม โดยการแพร่ได้ 3 ทาง คือ

1) ผ่านเซลล์ของผิวหนัง (intracellular route) โดยสารที่จะแพร่ได้ดีคือที่จะละลายได้ทั้งในน้ำและในไขมัน เนื่องจากเซลล์ของ stratum corneum มีเส้นใยโปรตีนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นส่วนที่มีขี้และไม่ขี้

2) ผ่านทางช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular route) โดยสารที่จะซึมผ่านได้ดีต้องละลายในไขมันได้บ้าง แต่ไม่ละลายจนเกินไป เนื่องจากช่องว่างเซลล์ในชั้น stratum corneum ประกอบด้วยของเหลวที่เป็นไขมัน ถ้าตัวยาละลายในไขมันได้ดีจนเกินไป ตัวยาจะถูกจับอยู่ในผิวหนัง ไม่สามารถปล่อยผ่านไป ยังชั้นถัดไปได้ ดังนั้นสารที่จะผ่านได้ดีควรมีค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน (partition coefficient) ใกล้เคียง 1

3) ผ่านทางรูเปิด หรือท่อทางผิวหนัง (transappendageal) ได้แก่ ผ่านทางต่อมไขมัน, ต่อมเหงื่อ, รูขุมขน เป็นต้น ซึ่งจะยอมให้สารที่มีขี้และโมเลกุลใหญ่ซึมผ่านได้ดี แต่เนื่องจากพื้นที่ผิวของรูเปิดน้อยมาก จึงไม่ช่วยการดูดซึมมากนัก

4.2 ข้อดีของการนำส่งยาทางผิวหนัง

- หลีกเลี่ยงการทำลายยาจากเอนไซม์หรือกรดในทางเดินอาหาร เพิ่มชีวปริมาณการออกฤทธิ์ของยา และลดการทำลายยาจากกระบวนการ first pass metabolism
- ระบบควบคุมการปลดปล่อยยาสามารถลดความแปรปรวนของระดับยาในกระแสเลือด และช่วยให้ยาออกฤทธิ์นาน ลดจำนวนครั้งในการให้ยา เพิ่มความสะดวกแก่ผู้ใช้ยาได้
- ทำให้ระดับยาในการรักษาคงที่ ลดอาการข้างเคียง หรือการระคายเคืองจากขนาดยาในปริมาณสูงได้

4.3 ข้อจำกัดของการนำส่งยาทางผิวหนัง

- คุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของยาต้องเหมาะสม เช่น ต้องมีค่าการละลายทั้งในน้ำและในไขมันที่เพียงพอ เพื่อให้ถูกละลายและดูดซึมผ่านผิวหนัง โดยผ่านส่วน stratum corneum ที่มีคุณสมบัติค่อนข้างชอบไขมัน และผ่านส่วน viable epidermis และ upper epidermis ที่มีความชอบน้ำสูง
- เหมาะกับยาที่มีฤทธิ์แรง
- เหมาะกับยาที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 500 ดาลตัน
- มีค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน (partition coefficient) อยู่ระหว่าง 10-100
- มีจุดหลอมเหลวค่อนข้างต่ำ

4.4 ระบบนำส่งทางผิวหนัง

สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดหลัก คือ

1) ระบบที่ควบคุมการปลดปล่อยด้วยยาด้วยเมมเบรน ตัวยาจะถูกเก็บอยู่ภายในและแพร่ผ่านเมมเบรน ซึ่งควบคุมการแพร่ผ่านของตัวยาจากภายในออกสู่ผิวหนังบริเวณที่มีการดูดซึมยา ข้อดีของระบบนี้คือสามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาได้ค่อนข้างคงที่ (zero-order kinetic) แต่มีข้อเสียเช่นกันคือถ้าเมมเบรนที่ใช้ควบคุมการปลดปล่อยสึกขาด ตัวยาจะถูกปลดปล่อยออกมาเป็นจำนวนมาก ทำให้เกิดพิษจากยาได้ (Roman et al., 2004)

2) ระบบที่ปลดปล่อยด้วยยาด้วยเมทริกซ์ โดยตัวยาอาจจะละลายหรือกระจายตัวอยู่ในพอลิเมอร์เมทริกซ์ โดยถ้าความเข้มข้นของตัวยาในพอลิเมอร์เมทริกซ์ยังคงอิ่มตัวตลอดเวลา การปลดปล่อยตัวยาออกมาจะมีลักษณะคงที่

4.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการซึมผ่านผิวหนังปกติ

- ความเข้มข้นของยาถ้าความเข้มข้นของยาในกระสวยยาเพิ่มขึ้น ปริมาณยาที่ถูกดูดซึมผ่านผิวหนังต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ต่อหนึ่งหน่วยเวลาจะเพิ่มขึ้น
- ความกว้างของบริเวณที่ให้ยาถ้าความกว้างของบริเวณที่ให้ยาเพิ่มขึ้น ปริมาณยาที่ถูกดูดซึมผ่านผิวหนังจะเพิ่มขึ้น

- คุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของยาควรคล้ายคลึงกับผิวหนังมากกว่าน้ำกระสายยา เพื่อให้ยาสามารถออกจากกระสายยา แล้วเข้าสู่ผิวหนังได้
- สามารถเพิ่มการซึมผ่านของยาได้โดยใช้กระสายยาที่สามารถปกคลุมผิวหนังได้ เข้ากันได้ง่ายกับไขมันหรือใช้กระสายยาที่เพิ่มปริมาณน้ำ (hydration)
- ลักษณะการทา การทาถูนานๆจะมีการดูดซึมดีขึ้น
- บริเวณที่มี stratum corneum บางๆจะดูดซึมได้ง่ายกว่าบริเวณผิวหนังที่หนา
- การทาช้ำหลายๆครั้งสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านมากกว่าการทาครั้งเดียว

4.6 ระบบการนำส่งยาที่อาศัยพอลิเมอร์เป็นตัวกลางในการนำส่ง

สามารถแบ่งชนิดการเกิดปฏิกิริยาได้เป็น 2 ชนิดหลักๆ คือ

- การจับกันทางกายภาพ(physical entrapment) เป็นลักษณะการกักเก็บยาไว้ภายใน เป็นการจับด้วยพันธะที่ไม่ใช่โควาเลนต์
- การเชื่อมโมเลกุลพอลิเมอร์และยา (polymer-drug conjugate) เป็นการเชื่อมสารเข้ากับพอลิเมอร์ โดยตัวยาคจะถูกปลดปล่อยออกมาด้วยปฏิกิริยาทางเคมี หรืออาศัยเอนไซม์ให้ยาหลุดออกจากพอลิเมอร์ได้

5. ไมโครสพอนจ์

ไมโครสพอนจ์เป็นระบบการนำส่งแบบพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยรูพรุน(Nokhodchi et al., 2005)มีลักษณะเป็นฟองน้ำขนาดจิ๋วที่คล้ายอนุภาคทรงกลมที่มีขนาด10-25 ไมครอนแต่ถึงแม้ว่าไมโครสพอนจ์จะมีขนาดเล็กอยู่ในช่วงไมครอน แต่ไมโครสพอนจ์ก็ยังมีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะผ่านชั้น stratum corneumของผิวหนังได้ ดังนั้นจึงช่วยลดผลข้างเคียงจากการที่สารถูกดูดซึมผ่านผิวหนัง ดังตัวอย่างเช่นการใช้ไมโครสพอนจ์ในการนำส่งสารเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์พบว่าสามารถช่วยลดผลข้างเคียงของสารเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ได้ นอกจากนี้จากการที่ไมโครสพอนจ์มีโครงสร้างที่แข็งแรงประกอบด้วยการเชื่อมต่อของเส้นสายพอลิเมอร์ทำให้มีช่องว่างภายในมากมายและมีรูพรุนที่พื้นผิวซึ่งการมีกระบวนการcross-linking สูงนี้ทำให้อนุภาคของไมโครสพอนจ์ไม่ละลายน้ำ เนื้อเยื่อ และแข็งแรงพอที่จะทนแรงเสียดทานในระหว่างกระบวนการผลิตครีม โลชัน และผงแห้ง คุณลักษณะที่สำคัญของไมโครสพอนจ์อีกประการคือไมโครสพอนจ์สามารถดูดซับหรือเก็บกักสารออกฤทธิ์ไว้ในอนุภาค

และบนพื้นผิวที่มีรูพรุนของอนุภาคได้หลากหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นสารให้ความนุ่มชุ่มชื้น น้ำหอม สารกันแดด สารต้านเชื้อรา ยาแก้อักเสบ ฯลฯ โดยพบว่าไมโครสปอนจ์สามารถเก็บกักสารได้ถึงสามเท่าของน้ำหนักและสารที่บรรจุลงในไมโครสปอนจ์ในสูตรตำรับต่างๆจะถูกปกป้องไว้ ไมโครสปอนจ์สามารถลดปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ต้องใส่ในตำรับให้น้อยที่สุด ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ ความคงตัว ความน่าใช้ และลดผลข้างเคียงของสารออกฤทธิ์นั้น ไมโครสปอนจ์เป็นระบบการนำส่งที่ช่วยควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ให้ออกฤทธิ์เฉพาะที่ผิวหนัง (Nokhodchi A., et.al., 2005) โดยสามารถออกแบบให้สารนั้นปลดปล่อยตามระยะเวลา ซึ่งการปลดปล่อยนั้นขึ้นอยู่กับขนาด ความยาวของรูพรุน และปริมาตรของรูพรุน หรือออกแบบให้มีปลดปล่อยเมื่อมีสิ่งมากระตุ้นเช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ pH ความดัน ไมโครสปอนจ์ยังมีความสามารถในการดูดซับสารที่หลั่งออกมาจากผิวเราได้จึงช่วยลดความมันบนผิวได้ระบบการนำส่งแบบไมโครสปอนจ์นี้สามารถใช้ได้กับสูตรตำรับครีม โลชัน เจล จีลิ่ง และผงแป้ง ปัจจุบันจึงมีการนำเทคโนโลยีไมโครสปอนจ์ไปใช้อย่างแพร่หลายทั้งในการผลิตยา เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และผลิตภัณฑ์สำหรับกันแดด โดยผลิตภัณฑ์ที่ใช้เทคโนโลยีนี้มีขายในปัจจุบันส่วนใหญ่จะเป็นพวกเครื่องสำอาง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิว ครีมขนาด โลชัน ควบคุมความมัน ผลิตภัณฑ์ให้ความชุ่มชื้น ดับกลิ่น ลิปสติก แป้งทาหน้า เครื่องสำอางแต่งดวงตา เป็นต้น (Nokhodchi et al., 2005)

5.1 กลไกในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากไมโครสปอนจ์

ไมโครสปอนจ์สามารถถูกออกแบบให้มีการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ตลอดเวลาโดยตอบสนองต่อสิ่งที่มากระตุ้น ได้แก่

- ความดันเมื่อทาถูหรือให้แรงขณะทาสามารถทำให้เกิดการปลดปล่อยสารสู่ผิวได้
- อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงสารออกฤทธิ์บางตัวจะมีความหนืดและการไหลที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยน โดยส่วนมากพบว่าถ้าอุณหภูมิผิวหนังสูงขึ้นสารออกฤทธิ์จะไหลออกมาจากไมโครสปอนจ์
- ค่าการละลายไมโครสปอนจ์ที่บรรจุสารที่ละลายในน้ำ เช่น สารยับยั้งเชื้อ สารยับยั้งเชื้อ จะถูกปลดปล่อยเมื่อเจอกับน้ำ การปลดปล่อยนี้สามารถถูกกระตุ้นโดยการแพร่ซึ่งขึ้นอยู่กับค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ผ่านของสารนั้นๆระหว่างไมโครสปอนจ์กับสิ่งแวดล้อมรอบๆ

5.2 ประโยชน์ของระบบนำส่งแบบไมโครสปอนจ์

- สูตรตำรับแบบดั้งเดิมสำหรับใช้ทาภายนอกจะปลดปล่อยมัลจะปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ในความเข้มข้นที่สูงออกมาทันทีเมื่อทาจึงทำให้มันถูกดูดซึมอย่างรวดเร็ว และก่อให้เกิดการระคายเคือง แต่ระบบไมโครสปอนจ์สามารถป้องกันการสะสมของสารที่มากเกินไปบนผิวหนังได้โดยควบคุมให้สารค่อยๆมีการปลดปล่อยออกมาทีละนิดสามารถควบคุมการปลดปล่อยให้นานหลายชั่วโมง จึงลดการระคายเคืองของสารได้โดยไม่ลดประสิทธิภาพผลของสารนั้น และช่วยเพิ่มระยะเวลาให้สารอยู่บนผิวหนังได้นานขึ้น ช่วยลดการดูดซึมผ่านผิวหนัง จึงลดผลข้างเคียงของสารนั้นได้ (Panwar A et al., 2009)
- จากการcross-linking ของพอลิเมอร์ที่มีในระบบนำส่งแบบไมโครสปอนจ์ในปริมาณสูงนั้น ทำให้อนุภาคของไมโครสปอนจ์มีคุณสมบัติหลากหลายได้ตามที่ต้องการ เช่น ไม่ละลายน้ำ เนื้อเยื่อ และมีความแข็งแรงเพียงพอที่จะทนแรงเสียดสีในระหว่างกระบวนการผลิต โดยการเลือกชนิดของพอลิเมอร์ตามคุณสมบัติที่ต้องการ ดังนั้นไมโครสปอนจ์ที่ได้จึงสามารถนำมาใช้กับสูตรตำรับได้หลายประเภท เช่นสูตรตำรับครีม, โลชัน, เจล, ژی๊ฟี่ และผงแป้ง เป็นต้น
- ไมโครสปอนจ์สามารถเก็บกักสารได้ถึงสามเท่าของน้ำหนักไมโครสปอนจ์ จึงช่วยลดปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ต้องใส่ในตำรับให้น้อยที่สุดได้
- ไมโครสปอนจ์ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทั้งทางเคมีและกายภาพ สารออกฤทธิ์จะมีความคงตัวในหลายสภาวะเนื่องจากสารที่บรรจุลงในไมโครสปอนจ์จะถูกปกป้องอยู่ภายในไมโครสปอนจ์
- ไมโครสปอนจ์ยังช่วยเพิ่มความน่าใช้ให้กับสูตรตำรับได้ ตัวอย่างเช่น ژی๊ฟี่
- ไมโครสปอนจ์มีความสามารถในการดูดซับสารที่หลั่งออกมาจากผิวจึงช่วยควบคุมความมันบนผิวได้ โดยพบว่าไมโครสปอนจ์สามารถดูดซับสารที่หลั่งออกมาจากผิวได้ถึง 6 เท่าของน้ำหนักไมโครสปอนจ์(Panwar A et al., 2009)
- ไมโครสปอนจ์สามารถประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย เนื่องจากสามารถเข้ากันได้และไม่ทำปฏิกิริยากับสารและตัวทำละลายอื่นๆในตำรับ
- สามารถใช้พัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเปลี่ยนจากรูปของเหลวเป็นของแข็งได้
- มีคุณสมบัติปราศจากเชื้อด้วยตัวไมโครสปอนจ์เองเนื่องจากรูพรุนของไมโครสปอนจ์มีขนาดเล็กประมาณ 0.25 ไมครอน ซึ่งทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเข้าไปได้ (Jain V et al., 2010)

- พบว่าไมโครสปอนจ์มีความปลอดภัยไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองและยังไม่ทำให้เกิดการแพ้ ไม่เป็นสารกรกลายพันธุ์ และไม่เป็นพิษ ความปลอดภัยของไมโครสปอนจ์สามารถยืนยันได้ด้วย การศึกษาการระคายเคืองต่อผิวหนัง ตา โดยใช้กระดาษ ศึกษาความเป็นพิษเมื่อบริหารทางปาก ในหนูแรท และความสามารถในการก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย และการกระตุ้นปฏิกิริยาแพ้ใน หนูตะเภา

5.3 ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ไมโครสปอนจ์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ

ไมโครสปอนจ์สามารถใช้ได้ทั้งในผลิตภัณฑ์สำหรับทา หรือรับประทาน สามารถใช้กับตำรับที่ หลากหลายดังที่ได้กล่าวไปแล้ว ไมโครสปอนจ์ถูกออกแบบให้เป็นระบบนำส่งสารที่ใช้สารออกฤทธิ์ ปริมาณน้อยที่สุด เพิ่มความคงตัว ลดผลข้างเคียง และควบคุมการปลดปล่อยของสารออกฤทธิ์ (Shaha et al., 2010) ด้วยข้อดีทั้งหลายเหล่านี้ของไมโครสปอนจ์จึงมีการนำระบบการนำส่งแบบไมโครสปอนจ์ ไปใช้อย่างแพร่หลายทั้งในการผลิตยา เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และผลิตภัณฑ์สำหรับกันแดด ดังตัวอย่างในตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 4 แสดงตัวอย่างการประยุกต์ใช้ระบบนำส่งด้วยไมโครสปอนจ์

สารออกฤทธิ์	การประยุกต์ใช้ระบบการนำส่งด้วยไมโครสปอนจ์
สารกันแดด	ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารกันแดดให้นานขึ้น ลดการระคายเคืองและการแพ้
ยารักษาสิว	ยาที่ใช้ในการรักษาสิว เช่น เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์เรตินอล ก่อให้เกิดการระคายเคืองบนใบหน้าเมื่อใช้มาก ไมโครสปอนจ์สามารถช่วยลดการระคายเคืองนั้นได้
ยาด้านเชื้อรา	ฟลูโคนาโซลเป็นยาฆ่าเชื้อราที่ดีแต่ทำให้เกิดอาการคันเมื่อทา เมื่อบรรจุในไมโครสปอนจ์พบว่าช่วยลดผลข้างเคียงนี้ได้ และยังช่วยให้ยามีการออกฤทธิ์เนิ่น
สารต้านรังแค	ไมโครสปอนจ์ช่วยลดกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ของสารต้านรังแคเช่น ซิงค์ ไพริไทโอน และซีสลิเนียม ซัลไฟด์ได้
สารลดเม็ดสี	ไฮโดรควิโนนเป็นสารที่ไม่คงตัว เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย ไมโครสปอนจ์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพและความคงตัวของไฮโดรควิโนนได้

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดที่ใช้ระบบการนำส่งด้วยไมโครสปอนจ์ ได้แก่ Retin-A-Micro, Retinol cream, Sportscream RS and XS, Micro peel Plus, Lactrex 12% moisturizing cream, Aramis fragrance และ oil free matte block spf20 (Jain et al., 2010)

2.5.4 คุณสมบัติของสารที่สามารถเก็บกักไว้ในไมโครสโพนจ์ได้

สารที่สามารถเก็บกักไว้ในไมโครสโพนจ์ได้ควรจะเป็นของเหลวหรือสารที่ละลายได้ เข้ากันได้กับมอนอเมอร์ ไม่เข้ากับน้ำ ไม่ละลายในน้ำ และไม่ทำปฏิกิริยากับมอนอเมอร์ (Kumar et al., 2012)

2.5.5 สิ่งที่ต้องพิจารณาในการตั้งตำรับ

ไมโครสโพนจ์ที่บรรจุสารออกฤทธิ์สามารถใส่ลงไปผลิตภัณฑ์ที่หลากหลายทั้งครีม โลชัน แป้ง หรือสบู่ เพื่อที่จะให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะตามที่ต้องการควรคำนึงถึงความสามารถในการละลายของสารออกฤทธิ์ในยาพื้นที่จะต้องจำกัดไว้เพื่อป้องกันไม่ให้ยาพื้นละลายไมโครสโพนจ์หมดไปก่อนการใช้งาน และเพื่อป้องกันปัญหาด้านความสวยงามไม่ควรใส่ไมโครสโพนจ์มากเกินไปเกินกว่า 10-12% w/w ในตำรับ

2.5.6 การเตรียมไมโครสโพนจ์

การเตรียมไมโครสโพนจ์มี 2 วิธี คือกระบวนการขึ้นตอนเดียว และกระบวนการสองขั้นตอน ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารนั้น ถ้าสารนั้นเหนียว ไม่มีขี้ สามารถทำให้เกิดโครงสร้างรูพรุนได้เองจะเรียกว่าสารก่อรูพรุน (porogen) จะใช้กระบวนการขึ้นตอนเดียวแต่ถ้าสารนั้นไวต่อปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์จะเลือกใช้กระบวนการสองขั้นตอน

- **Liquid-liquid suspension polymerization**

การเตรียมไมโครสโพนจ์โดยวิธี Liquid-liquid suspension polymerization เป็นการสร้างสายพอลิเมอร์แขวนตะกอนของ สไตรีนหรือเมทิลเมทาอะคลิเลทในระบบที่เป็นของเหลว-ของเหลว โดยเตรียมในฟลากส์ก้นกลม มอนอเมอร์จะถูกละลายเป็นอันดับแรกพร้อมกับสารออกฤทธิ์ที่ไม่มีขี้ในตัวทำละลายที่เหมาะสมและนำไปกระจายในวัฏภาคน้ำที่ประกอบด้วยสารเติมแต่งอื่นๆเช่น สารลดแรงตึงผิว สารแขวนตะกอน การสร้างสายพอลิเมอร์จะเริ่มต้นขึ้นเมื่อเติมตัวเร่งหรือเพิ่มอุณหภูมิ หรือการฉายรังสีการเตรียม ซึ่งขั้นตอนการได้ไมโครสโพนจ์มีดังนี้ เริ่มจากมอนอเมอร์เริ่มต่อกันเป็นสายพอลิเมอร์จากนั้นเกิดการ cross-link กันระหว่างสายพอลิเมอร์กลายเป็นโครงสร้างขึ้นบันไดและเกิดการพับของโครงสร้างขึ้นบันไดนั้นกลายเป็นอนุภาคทรงกลม จากนั้นอนุภาคทรงกลมขนาดจิ๋วนี้จะมารวมกลุ่มกันเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆเป็นกลุ่มๆ จนใน

ที่สุดกลุ่มของอนุภาคทรงกลมแต่ละกลุ่มก็จะมาเชื่อมต่อกันกลายเป็น ไมโครสโพนจ์ที่มีลักษณะ อ่างกักเก็บที่มีรูเปิดบนพื้นผิว (Kumar et.al., 2012)

- **Quasi-emulsion solvent diffusion**

การเตรียมไมโครสโพนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยใช้ปริมาณของพอลิเมอร์ที่แตกต่างกัน เริ่มจากเตรียม internal phase ซึ่งประกอบด้วย สารออกฤทธิ์ พอลิเมอร์ และ ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไคลอโลลมีเทน, acetone โดยการละลายพอลิเมอร์ในตัวทำละลายที่เหมาะสมจากนั้นเติมสารออกฤทธิ์ลงในสารละลายของพอลิเมอร์ละลายให้เข้ากัน โดยการ ultrasonicate และเตรียม external phase ซึ่งประกอบด้วย polyvinyl alcohol (PVA) solution และ distilled water จากนั้น เท internal phase ลงใน external phase คนอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่อง กวนแบบใบพัด จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง ล้างด้วย distilled water และทำให้แห้ง (Kumar et al., 2012) การเตรียมไมโครสโพนจ์ด้วยวิธีนี้ มีปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และความสามารถในการปลดปล่อยของไมโครสโพนจ์มากมาย เช่น อัตราส่วนของ สารออกฤทธิ์ต่อพอลิเมอร์, ปริมาณของวัฏภาคภายใน, อัตราเร็วในการคน, เวลาในการคน, อุณหภูมิในการทำให้แห้ง เป็นต้น

2.5.7 การประเมินคุณสมบัติต่างๆของไมโครสโพนจ์ที่เตรียมได้

- **การหาขนาดอนุภาค (particle size)**

การไหลของไมโครสโพนจ์และความน่าใช้ของผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับควบคุมขนาดอนุภาคของไมโครสโพนจ์พบว่าอนุภาคขนาดใหญ่กว่า 30 ไมครอน เมื่อทาลงบนผิวหนังอาจทำให้รู้สึก ระคายเคืองได้ ดังนั้นขนาดอนุภาคที่เหมาะสมสำหรับทาภายนอกคือขนาด 10-25 ไมครอน โดยขนาดอนุภาคสามารถวิเคราะห์หาได้โดยใช้เครื่อง laser light diffractometer (Mastersizer)

- **รูปร่างและลักษณะพื้นผิวของไมโครสโพนจ์ (shape and surface)**

การศึกษารูปร่างและลักษณะพื้นผิวของไมโครสโพนจ์วิเคราะห์ได้โดยการนำไมโครสโพนจ์ที่เตรียมได้มาเคลือบด้วยทองหรือพลาตาเดียมภายใต้ก๊าซอาร์กอนที่อุณหภูมิห้องหลังจากนั้นนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Jainet al., 2010)

- **ประสิทธิภาพการกักเก็บสาร (Loading efficiency) และผลผลิตที่ได้ (Product yield)**

Loading efficiency (%) สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{Loading efficiency} = \frac{\text{ปริมาณสารที่แท้จริงในไมโครสโปนจ์} \times 100}{\text{ปริมาณสารตามทฤษฎี}}$$

Production yield สามารถหาได้โดยการคำนวณน้ำหนักเริ่มต้นที่แท้จริงของวัตถุดิบ และน้ำหนักสุดท้ายของไมโครสโปนจ์ที่ได้

$$\text{Production yield} = \frac{\text{น้ำหนักของไมโครสโปนจ์ที่ได้}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้นที่แท้จริงของวัตถุดิบ(พอลิเมอร์+สาร)}} \times 100$$

- **ทดสอบการปลดปล่อย (drug release)**

สามารถศึกษาได้โดยใช้เครื่องผสมสารแขวนตะกอน (suspension mixer) โดยตัวอย่างจะถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม ในช่วงเวลาต่างๆ

2.6 ครีมเบส

ครีมเป็นอิมัลชันลักษณะกึ่งแข็งที่เป็นยาเตรียมที่ประกอบด้วยของเหลว 2 ชนิดที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน โดยของเหลวชนิดหนึ่งจะกระจายตัวเป็นหยดเล็กๆอยู่ในของเหลวชนิดหนึ่งซึ่งมีการเติมตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) เพื่อป้องกันไม่ให้หยดเล็กๆที่กระจายตัวอยู่มารวมตัวกัน ซึ่งเมื่อสังเกตลักษณะของเนื้อครีมที่ได้จะเห็นลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันแต่ถ้ามองด้วยกล้องจุลทรรศน์ก็จะเห็นเป็น 2 วัฏภาค คือ หยดเล็กๆของของเหลวชนิดหนึ่งที่เรียกว่าวัฏภาคภายใน (internal or dispersed phase) กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่งที่เรียกว่าวัฏภาคภายนอก (External or continuous phase) โดยทั่วไปหยดของวัฏภาคภายในจะมีขนาดต่างๆกัน ตั้งแต่ขนาดที่เล็กกว่า 0.05 ไมครอนจนถึง 25 ไมครอน ซึ่งขนาดอนุภาคของวัฏภาคภายในมีผลต่อการกระจายแสงได้ต่างกันจึงทำให้อิมัลชันมีลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้แตกต่างกัน ซึ่งชนิดของอิมัลชันแบ่งได้หลายลักษณะเช่น

2.6.1 . แบ่งตามลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้เป็น 2 ชนิดดังนี้

1) แมโครอิมัลชัน (Macroemulsion) มีลักษณะเป็นอิมัลชันเนื้อขุ่นขาวมีขนาดตั้งแต่ 0.25 – 10 ไมครอน (โดยส่วนใหญ่จะใหญ่กว่า 1 ไมครอน) จึงทำให้เกิดความแตกต่างในค่าดัชนีการหักเหของแสงของวัฏภาคทั้งสองและเกิดการกระจายแสงทำให้มองเห็นเป็นลักษณะขุ่นขาว

2) ไมโครอิมัลชัน (Microemulsion) มีลักษณะโปร่งใสและอนุภาคของวัฏภาคภายในเล็กมาก 5- 100 นาโนเมตรซึ่งมีค่าน้อยกว่าหนึ่งในสี่ของความยาวคลื่นแสงที่มองเห็นได้ (Visible light) จึงไม่หักเหหรือกระจายแสง แสงจึงสามารถทะลุผ่านได้ ทำให้ดูโปร่งใส

2.6.2 แบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอก ได้เป็น 3 ชนิด คือ

2.1 อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O Emulsion) อิมัลชันชนิดนี้มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำและวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมัน มีลักษณะโปร่งใสมากกว่าชนิดน้ำมันกระจายตัวในน้ำ แต่เนื่องจากอิมัลชันชนิดนี้ค่อนข้างเหนอะหนะและล้างน้ำออกยากจึงเป็นที่นิยมใช้น้อย

2.2 อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W Emulsion) อิมัลชันชนิดนี้มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำมันและวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ จึงมีความเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายดี ล้างน้ำออกง่ายเป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

2.3 อิมัลชันเชิงซ้อน (Multiple emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกันอยู่ ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เช่น W/O/W หรือ O/W/O

บทที่ 3

สารเคมี เครื่องมือ และวิธีการวิจัย

สารเคมี

1. เอทิลเซลลูโลส (Ethyl Cellulose 46 centipoise, Rama industries)
2. แอมโมนิโอเมทาคริเลตโคโพลิเมอร์ (Ammonio Methacrylate Copolymer, EUDRAGIT[®] RS 100, RöhmPharma Polymers)
3. โคเอนไซม์คิวเทน (Coenzyme Q 10, Ubidecarenone, Cosmic Concord CORP., LTD.)
4. ไตรเอทิลซิเตรท (Triethyl Citrate)
5. พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol)
6. Acetone (Acetone, EMSURE[®], Merck KGaA)
7. น้ำกลั่น (Deionized water)
8. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (95% ethanol)
9. แอลกอฮอล์สัมบูรณ์ (Absolute ethanol, EMSURE[®], Merck KGaA)
10. โพรไพลีน ไกลคอล (Propylene Glycol, บริษัทเอกตรงเคมีภัณฑ์ 1985 จำกัด)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กระบอกฉีดยา 10 mL (syringe, Nipro[®], ประเทศญี่ปุ่น)
2. กระดาษกรองวอชแมน เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร (filter papers, whatman[™] CatNo.1001 125)
3. กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (OLYMPUS[®] สหรัฐอเมริกา, รุ่น IX51)
4. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy, รุ่น JSM-5410LV JAPAN)
5. เครื่องกวนสารแบบใบพัด (Propeller type mixer, Eurostar digital)
6. เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (Sartorius[®] ไทย, รุ่น B310S)
7. เครื่องชั่งน้ำหนัก 3 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO[®] ไทย, รุ่น PG 403-S)
8. เครื่องชั่งน้ำหนัก 5 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO[®] ไทย, รุ่น AX/MX/UMX)
9. เครื่องผสมสารแขวนตะกอน (Suspension Mixer, Ratex)
10. เครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ (DURA-DRY MP[®] ไทย)

11. เครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่น Malvern)
12. เครื่องวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุ (Differential Scanning Calorimetry)
13. ตู้เย็น (Refrigerator)
14. ตู้อบร้อน (Hot air oven, Hotpack, รุ่น 435314)
15. เครื่องกวนด้วยเครื่องความถี่ (Sonicator, CREST ULTRASONIC, สหรัฐอเมริกา, รุ่น 275DAE)
16. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV spectrophotometer, SHIMADZU[®] ญี่ปุ่น, รุ่น UV-160A)
17. คิวเวทท์ควอตซ์ (Cuvette Quartz, Starna Scientific Ltd.)
18. หลอดทดลองขนาด 20mL (Test tube, Pyrex[®])
19. ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL (Volumetric Flask, Pyrex[®])
20. ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL (Volumetric Flask, Pyrex[®])
21. ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL (Volumetric Flask, Pyrex[®])
22. ไมโครปิเปต (Micropipette, SOCOREXswiss)
23. ปิเปตแบบปริมาตรขนาด 1mL (Volumetric Flask, Precicolor HBG , ประเทศเยอรมัน)
24. ปิเปตแบบปริมาตรขนาด 2mL (Volumetric Flask, Precicolor HBG , ประเทศเยอรมัน)
25. ปิเปตแบบปริมาตรขนาด 3mL (Volumetric Flask, Precicolor HBG , ประเทศเยอรมัน)
26. ปิเปตแบบปริมาตรขนาด 4mL (Volumetric Flask, Precicolor HBG , ประเทศเยอรมัน)
27. ปิเปตแบบปริมาตรขนาด 20 mL (Volumetric Flask, Precicolor HBG , ประเทศเยอรมัน)
28. ถ้วยกระเบื้อง (Porcelain dish, BERLIN)
29. แท่งแก้วคน (Stirring Rod)
30. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
31. ช้อนตักสาร (Dispensing Spoons)
32. ขวดน้ำกลั่น (Nalgene)
33. ปีกเกอร์ขนาด 50 mL (Beaker, Pyrex[®], ประเทศสหรัฐอเมริกา)
34. ปีกเกอร์ขนาด 150mL (Beaker, Pyrex[®], ประเทศสหรัฐอเมริกา)
35. ปีกเกอร์ขนาด 250 mL (Beaker, Pyrex[®], ประเทศสหรัฐอเมริกา)
36. ปีกเกอร์ขนาด 600 mL (Beaker, Pyrex[®], ประเทศสหรัฐอเมริกา)
37. หลอดหยด และจุกยาง (Dropper)

วิธีการวิจัย

ก. การศึกษาขั้นต้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion

1. ศึกษาพอลิเมอร์ที่ใช้

เตรียมไมโครสพอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยกำหนดให้ใช้พอลิเมอร์ชนิดต่างกัน ดังนี้คือเอทิลเซลลูโลส 10 เซนติพอยต์,เอทิลเซลลูโลสเอ็น 50 และ ยูดราจิต อาร์เอส100โดยควบคุมปัจจัยอื่นๆดังนี้ ใช้พอลิเมอร์แต่ละชนิดในปริมาณ 1.5 กรัม ละลายในอะซิโตน 50 มิลลิลิตร ใส่ไตรเอทิลซิเตรท 0.3 กรัม เป็นวัฏภาคภายใน ส่วนวัฏภาคภายนอกใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 0.75 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 5 ผสมโดยการหยดวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอกด้วยหลอดหยดที่ละหยดปั่นผสมด้วยอัตราเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงและศึกษาคุณสมบัติของไมโครสพอนจ์ที่เตรียมได้

ตารางที่ 5 แสดงสภาวะที่ใช้ในการศึกษาพอลิเมอร์สำหรับใช้เตรียมไมโครสพอนจ์

สูตรตำรับ	ชนิดพอลิเมอร์	ปริมาณพอลิเมอร์ (g.)	อัตราเร็วในการคน (rpm)	PVA (g.)	TEC (g.)	Acetone (mL)	น้ำกลั่น (mL)
A1	Ethyl cellulose 10 cps.	1.5	1000	1.50	0.3	50	50
A2	Ethyl cellulose N 50	1.5	1000	1.50	0.3	50	50
A3	Eudragit RS100	1.5	1000	1.50	0.3	50	50

2. ศึกษาผลของสารก่ออิมัลชัน

เตรียมไมโครสอปอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยกำหนดให้ใช้ความเข้มข้นของสารก่ออิมัลชันที่แตกต่างกันดังนี้คือ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละของมวลต่อปริมาตรเป็น 1, 1.5 และ 2 ตามลำดับและควบคุมปัจจัยอื่นๆดังนี้คือ ใช้เอทิลเซลลูโลส 10 เซนติพอยต์ในปริมาณ 1.5 กรัม ละลายในอะซิโตน 50 มิลลิลิตร ใส่ไตรเอทิลซิเตรท 0.3 กรัม เป็นวัฏภาคภายใน และใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ตามความเข้มข้นที่กำหนดในตัวทำละลายน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก ดังตารางที่ 6 ผสมโดยการหยดวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอกด้วยหลอดหยดที่ละหยดปั่นผสมด้วยอัตราเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงและศึกษาคุณสมบัติของไมโครสอปอนจ์ที่เตรียมได้

ตารางที่ 6 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาสารก่ออิมัลชันสำหรับใช้เตรียมไมโครสอปอนจ์

สูตรตำรับ	อัตราเร็วในการคน (rpm)	EC10 cps. (g.)	PVA (g.)	TEC (g.)	Acetone (mL)	น้ำกลั่น (mL)
B1	1000	1.5	0.50	0.3	50	50
B2	1000	1.5	0.75	0.3	50	50
B3	1000	1.5	1.00	0.3	50	50

3. ศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายใน

เตรียมไมโครสอปอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยกำหนดชนิดของตัวทำละลายเป็นอะซิโตน และแอลกอฮอล์ในปริมาณ 50 มิลลิลิตร โดยละลายสารเอทิลเซลลูโลส 10 เซนติพอยต์ในปริมาณ 1.5 g. ใส่ไตรเอทิลซิเตรท 0.3 กรัม เป็นวัฏภาคภายในและใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 0.75 กรัมในตัวทำละลายน้ำ 50 มิลลิลิตร เป็นวัฏภาคภายนอก ดังตารางที่ 7 ผสมโดยการหยดวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอกด้วยหลอดหยดที่ละหยดปั่นผสมด้วยอัตราเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30

นาที่ จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงและศึกษาคุณสมบัติของไมโครสโพนจ์ที่เตรียมได้

ตารางที่ 7 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายในสำหรับใช้เตรียมไมโครสโพนจ์

สูตรตำรับ	อัตราเร็วในการคน (rpm)	EC 10 cps (g.)	PVA (g.)	TEC (g.)	Acetone (mL)	Alcohol (mL)	น้ำกลั่น (mL)
C1	1000	1.5	0.75	0.3	50	-	50
C2	1000	1.5	0.75	0.3	-	50	50

4. ศึกษาผลของการกลับวัฏภาค (phase inversion)

เตรียมไมโครสโพนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยเปรียบเทียบวิธีการผสม 2 แบบ คือการผสมวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอก และการผสมวัฏภาคภายนอกลงในวัฏภาคภายใน โดยการหยดสารด้วยหลอดหยดที่ละหยด และควบคุมปัจจัยอื่นๆให้เหมือนกันดังนี้คือ ใช้เอทิลเซลลูโลส 10 เซนต์พอยต์ในปริมาณ 1.5 กรัม ละลายในอะซิโตน 50 มิลลิลิตร ใส่ไตรเอทิลซิเตรท 0.3 กรัม เป็นวัฏภาคภายใน และใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในปริมาณ 0.75 กรัมในตัวทำละลายน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก ดังตารางที่ 8 ผสมโดยการหยดวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอกด้วยหลอดหยดที่ละหยด บั่นผสมด้วยอัตราเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ตารางที่ 8 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาผลของการกลับวัฏภาคสำหรับใช้เตรียมไมโครสพอนจ์

สูตรตำรับ	การผสม	อัตราเร็ว ในการคน (rpm)	EC 10 cps. (g.)	PVA (g.)	TEC (g.)	Acetone (mL)	น้ำกลั่น (mL)
D1	ผสมวัฏภาค ภายใน ลงวัฏภาค ภายนอก	1000	1.5	0.75	0.3	50	50
D2	ผสมวัฏภาค ภายนอก ลงวัฏภาค ภายใน	1000	1.5	0.75	0.3	50	50

5. ศึกษาผลของการทำให้แห้ง

เตรียมไมโครสพอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยเปรียบเทียบวิธีการทำให้แห้งแบบต่างๆ 3 แบบคือ

- นำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- นำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศแล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- ใช้เครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ

ควบคุมปัจจัยอื่นๆให้เหมือนกันดังนี้คือ ใช้เอทิลเซลลูโลส 10 เซนติพอยต์ในปริมาณ 1.5 กรัม ละลายในอะซิโตน 50 มิลลิลิตรใส่ไตรเอทิลซิเตรท 0.3 กรัม เป็นวัฏภาคภายใน และใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในปริมาณ 0.75 กรัมในตัวทำละลายน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก ดังตารางที่ 9 ผสมโดยการหยดวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอกด้วยหลอดหยดที่ละหยดปั่นผสมด้วยอัตราเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ตารางที่ 9 แสดงสถานะที่ใช้ในการศึกษาผลของการทำให้แห้งสำหรับใช้เตรียมไมโครสปอนจ์

สูตร ตำรับ	การทำให้แห้ง	อัตราเร็ว ในการคน (rpm)	EC 10 cps. (g.)	PVA (g.)	TEC (g.)	Acetone (mL)	น้ำกลั่น (mL)
E1	กรองแล้ว นำไปอบที่ 40 °C 1 ชม.	1000	1.5	0.75	0.3	50	50
E2	กรองแล้วทิ้ง ให้แห้งที่ อุณหภูมิห้อง 24 ชม.	1000	1.5	0.75	0.3	50	50
E3	เครื่องทำแห้ง เยือกแข็งชนิด เสียบ	1000	1.5	0.75	0.3	50	50

ข. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของอนุภาคไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน

1. การเตรียมไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน

เตรียมไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยควบคุมปัจจัยในการเตรียมได้แก่ ชนิดของพอลิเมอร์, ปริมาณสารก่ออิมัลชัน, ชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในวัฏภาคภายใน, การกลับวัฏภาค และการทำให้แห้ง ตามผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษาขั้นต้นเพื่อหาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสปอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยเปลี่ยนแปลงอัตราเร็วในการปั่นผสมเป็น 1000, 1500 และ 2000 รอบต่อนาที และเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสเป็น 1:1, 2:1 และ 3:1 เพื่อศึกษาผลของอัตราเร็วการปั่นผสมและอัตราส่วนระหว่างโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสต่อคุณสมบัติของไมโครสปอนจ์ที่เตรียมได้

ตารางที่ 10 แสดงสภาวะที่ใช้ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของอนุภาคไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน

สูตรตำรับ	อัตราเร็วในการคน (rpm)	Coenzyme Q10 (g.)	EC 10 cps (g.)	PVA (g.)	TEC (g.)	Acetone (mL)	น้ำกลั่น (mL)
F1	1000	1.5	1.5	0.75	0.3	50	50
F2	1000	3	1.5	0.75	0.3	50	50
F3	1000	4.5	1.5	0.75	0.3	50	50
F4	1500	1.5	1.5	0.75	0.3	50	50
F5	1500	3	1.5	0.75	0.3	50	50
F6	1500	4.5	1.5	0.75	0.3	50	50
F7	2000	1.5	1.5	0.75	0.3	50	50
F8	2000	3	1.5	0.75	0.3	50	50
F9	2000	4.5	1.5	0.75	0.3	50	50

2. การประเมินคุณสมบัติของไมโครสโพนจ์

2.1 ผลผลิตไมโครสโพนจ์ที่เตรียมได้ (%yield)

นำไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่เตรียมได้ ทำการชั่งน้ำหนักไมโครสโพนจ์แห้งทั้งหมดเทียบกับน้ำหนักของสารที่ใส่ตอนเริ่มต้น (เอทิลเซลลูโลส, Coenzyme Q 10, ไตรเอทิลซิเตรต, และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์) นำมาคำนวณหา % yield โดยใช้สมการที่(1) คำนวณหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง

$$\%yield = M / M_0 \times 100 \quad (1)$$

โดย M คือ น้ำหนักอนุภาคไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่ได้จริง (มิลลิกรัม)

M₀ คือ น้ำหนักของสารที่เป็นผงแห้งในสูตรตำรับตอนเริ่มต้น (มิลลิกรัม)

2.2 ขนาดและการกระจายของอนุภาคไมโครสโพนจ์

นำไมโครสโพนจ์ที่เตรียมได้มาวัดโดยใช้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับเพื่อศึกษาขนาดและการกระจายของอนุภาคในภาพรวมโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางและสังเกตการกระจายขนาดของอนุภาค หลังจากนั้นนำไปวัดขนาดและการกระจายของอนุภาคอย่างละเอียดโดยเครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค (Mastersizer-S รุ่น Malvern) ซึ่งอาศัยเทคนิคการเลี้ยวเบนของแสง (He-Ne gas laser, $\lambda \sim 0.63$ micron) โดยยิงแสงเลเซอร์ไปกระทบกับอนุภาคซึ่งขนาดอนุภาคจะแปรผกผันกับมุมเลี้ยวเบนของแสง ซึ่งจากกลไกนี้ทำให้สามารถวิเคราะห์หาขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของอนุภาคได้

2.3 พื้นผิวและรูปร่างของไมโครสโพนจ์

เลือกไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนรุ่นการผลิตที่มีลักษณะเหมาะสมตามที่ต้องการ ได้แก่ ขนาดอนุภาค และรูปร่างที่เหมาะสม โดยศึกษาได้จากกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ และเครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค นำไปส่องดูลักษณะพื้นผิว และรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) ซึ่งเตรียมตัวอย่างโดยฉาบผิวด้วยทองเพื่อทำให้พื้นผิวมีคุณสมบัตินำไฟฟ้า หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมได้ไปส่องกราดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่ใช้ลำแสงอิเล็กตรอนฉายหรือส่องกราดไปบนผิวของตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบให้ได้ข้อมูลลักษณะพื้นผิวปรากฏเป็นภาพขยายที่สามารถมองเห็นได้ พร้อมบันทึกภาพถ่ายที่ได้ และจดบันทึกลักษณะของรูปร่าง พื้นผิวและการกระจายตัวที่สังเกตเห็น

2.4 ประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์คิวเทนในไมโครสโพนจ์ (%Loading Efficiency)

ทำการสร้างแผนภูมิมาตรฐาน (Standard Curve) โดยชั่งโคเอนไซม์คิวเทน 0.03 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์สัมบูรณ์โดยกวนด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้ความถี่สูง (Sonicator) เพื่อช่วยละลายจนได้สารละลายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร โดยปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร แล้วดูดสารใส่ในขวดปรับปริมาตรมา 20 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปตแบบปริมาตรขนาด 20 มิลลิลิตรใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตรทำจำนวน 3 รุ่น โดยแต่ละรุ่นดูดสารละลายจำนวน 0.3, 0.5, 1, 2, 3, 5 มิลลิลิตรใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตรจำนวน 6 ขวดตามลำดับ หลังจากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตรด้วยแอลกอฮอล์สัมบูรณ์จนครบทุกขวด หลังจากนั้นนำไปวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV spectrophotometer) ที่ 275 นาโนเมตรแล้วสร้างกราฟและหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของโคเอนไซม์คิวเทน

นำไมโครสโพนจ์แต่ละรุ่นที่เตรียมเสร็จซึ่งไมโครสโพนจ์มาจำนวน 0.025 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์สัมบูรณ์โดยกวนด้วยเครื่องเขย่าสารด้วยความถี่สูง (Sonicator) เพื่อช่วยละลายจนได้

สารละลายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรโดยปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลายใส่ในขวดปรับปริมาตรมา 1 มิลลิลิตรโดยใช้ปิเปตแบบปริมาตรขนาด 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยแอลกอฮอล์ต้มบรรจุจนครบ 10 มิลลิลิตร แล้วทำการดูดสารด้วยกระบอกฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร ผ่านหัวกรองโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 กรองจนได้สารละลายใส นำสารที่กรองได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 275 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV spectrophotometer คำนวณ % Loading Efficiency โดยใช้สมการ (2)

$$\% \text{ Loading Capacity} = D/D_0 \times 100 \quad (2)$$

โดย D คือ Drug content ที่ได้จริง (ไมโครกรัม/มิลลิกรัม)

D_0 คือ Drug content ตามทฤษฎี (ไมโครกรัม/มิลลิกรัม)

2.5 การศึกษาการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนผ่านไมโครสปอนจ์ (Drug Release)

นำสารโคเอนไซม์คิวเทนมาจำนวน 0.05 กรัม ละลายในโพรพิลีนไกลคอล ปรับจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 20 มิลลิลิตร และนำไมโครสปอนจ์แต่ละรุ่นที่เตรียมไว้ซึ่งมาจำนวน 0.05 กรัม ละลายในโพรพิลีนไกลคอล ปรับจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 20 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดทดลองแต่ละหลอดที่เตรียมได้ทั้งหมดไปทดสอบการละลายโดยใช้เครื่องผสมสารแขวนตะกอน โดยให้เครื่องผสมหมุนเหวี่ยงต่อเนื่องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ 37 องศาเซลเซียส หลังจากครบกำหนดให้ดูดสารด้วยกระบอกฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตรผ่านหัวกรองโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 กรองจนได้สารละลายใส นำสารที่กรองได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 275 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV spectrophotometer

2.6 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของสารโดยใช้ความร้อน (Differential Scanning Calorimetry)

เตรียมตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่างตัวอย่างละ 5 มิลลิกรัมโดยชั่ง 5 ตัวอย่างดังนี้ ไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน, โคเอนไซม์คิวเทน, เอทิลเซลลูโลส, พอลิไวนิลแอลกอฮอล์, Physical mixture ของโคเอนไซม์เอทิลเซลลูโลสและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ นำตัวอย่างที่ได้มาวางบนจานอุณหภูมินิยม โดยภายในมีจานอ้างอิงซึ่งเป็นจานอุณหภูมินิยมเปล่า โดยภายในเตามีอุปกรณ์ให้ความร้อนชนิดเดียวกัน ซึ่งเมื่อเริ่มทดลองให้ความร้อนแก่ถาดทั้งสอง เครื่องวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุจะควบคุมอัตราการเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราที่คงที่จาก 30°C จนถึง 200°C และอัตราการเพิ่มความร้อนเท่ากันตลอดทั้งการ

ทดลองหลังจากเครื่องทำงานเสร็จ เครื่องจะวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของสารตัวอย่าง ซึ่งสามารถนำมาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของสารได้

ค. การเตรียมสูตรตำรับครีมโคเอนไซม์คิวเทนในรูปการนำส่งแบบไมโครสพอนจ์

1. การพิจารณาเลือกสูตรตำรับไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่เหมาะสมเพื่อนำมาพัฒนาเป็นสูตรตำรับครีม

เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคที่ต้องการเพื่อไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองนั้นอยู่ในช่วง 25-30 ไมครอน พบว่าสูตรตำรับที่มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงนี้มีเพียง 2 สูตรตำรับคือ สูตรตำรับ F8 ที่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 29.111 และ สูตรตำรับ F9 ที่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 23.255

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติอื่นๆของทั้งสองสูตรตำรับพบว่า ประสิทธิภาพการกักเก็บสารโคเอนไซม์คิวเทนในไมโครสพอนจ์ แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อพิจารณาการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนจากไมโครสพอนจ์พบว่าสูตรตำรับ F8 สามารถปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนออกมาได้มากกว่าเมื่อเวลาเท่ากับจากคุณสมบัติที่ได้กล่าวมานั้น ทำให้พิจารณาเลือกสูตรตำรับ F8 ไปพัฒนาเป็นตำรับครีมต่อไป

2. การตั้งสูตรตำรับครีม

เนื่องอิมัลชันชนิดน้ำมันกระจายตัวในน้ำเป็นอิมัลชันที่ทำได้ง่ายและไม่เหนียวเหนอะหนะ เหมาะกับสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยที่มีอากาศร้อน จึงเลือกที่จะพัฒนาสูตรตำรับครีมโคเอนไซม์คิวเทนในรูปการนำส่งแบบไมโครสพอนจ์เป็นรูปแบบครีมชนิดน้ำมันกระจายตัวในน้ำ โดยพิจารณาเลือกระบบครีมที่ใช้สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุเป็นสารก่ออิมัลชันเนื่องจากพบว่า โคเอนไซม์คิวเทนไม่คงตัวในสภาวะที่มีค่า เป็นระบบที่เตรียมได้ง่าย มีความคงตัวดีกว่า เกิดปัญหาความเข้ากันไม่ได้ของประจุน้อย และเลือกส่วนประกอบในตำรับครีมอื่นที่สามารถช่วยเพิ่มการปลดปล่อยของโคเอนไซม์ออกจากไมโครสพอนจ์ได้มากขึ้น ในที่นี้จึงเลือกใช้ไขมันมะพร้าวที่สามารถละลายโคเอนไซม์คิวเทนได้ดี เป็นสารเพิ่มความชุ่มชื้น(emollient) เลือกใช้โพรพิลีน ไกลคอลในปริมาณสูงเพื่อช่วยเพิ่มการละลายของโคเอนไซม์คิวเทนเป็นสารให้ความชุ่มชื้น(humectant) และเลือกใช้ tween เป็นสารก่ออิมัลชันเนื่องจากสามารถเพิ่มการละลายของโคเอนไซม์คิวเทนได้เช่นกัน

จากการศึกษาวิจัยพบว่าปริมาณ โคเอนไซม์คิวเทนที่ให้ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันเพื่อช่วยลดริ้วรอยแห่งวัยนั้นเท่ากับร้อยละ 0.5 ในตำรับครีม ดังนั้นในการพัฒนาสูตรตำรับ

ครีมโคเอนไซม์คิวเทนในรูปแบบไมโครสพอนจ์นี้จึงต้องหาปริมาณไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่จะใส่ลงในตำรับครีมเพื่อให้ได้โคเอนไซม์คิวเทนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ในตำรับ ซึ่งได้จากการคำนวณดังนี้

% Loading efficiency ของตำรับ F8 มีค่าเท่ากับ 64.90

ถ้าต้องการความเข้มข้นโคเอนไซม์ 0.5 % ต้องใส่ไมโครสพอนจ์ทั้งหมด

$$= 0.5 * 100 / 64.9$$

$$= 0.77 \text{ กรัมในสูตรตำรับ 100 กรัม หรือประมาณ } 0.8\% \text{ ในตำรับครีมทั้งหมด}$$

สูตรตำรับ

	Official formula (g.)	working formula (g.)
Microsponges loaded Coenzyme Q10	0.80	0.24
Brij™721	2.50%	0.75
Brij™72	2.50%	0.75
Stearyl alcohol	3.33%	1.00
Cetyl alcohol	3.33%	1.00
Stearic acid	3.33%	1.00
Coconut oil	55.00%	16.50
Propylene glycol	10.00%	3.00
Paraben concentrate	0.20%	0.06
Water qs.to	100.00%	30.00 (5.70)

วิธีเตรียม

1. แยกชั่ง Brij™721 0.75 กรัม, Brij™72 0.75 กรัม, Stearyl alcohol 1.00 กรัม, Cetyl alcohol 1.00 กรัม, Stearic acid 1.00 กรัม และ Microsponge loaded Coenzyme Q 10 0.24 กรัมบนกระดาษชั่งยา ชั่ง Coconut oil 16.50 กรัม, Propylene glycol 3.00 กรัม, และ Distilled water 5.70 กรัมในบีกเกอร์ โดยใช้เครื่องชั่งที่ปรับสมดุลเรียบร้อยแล้ว
2. หลอม Stearic acid, Stearyl alcohol และ Cetyl alcohol โดยใช้ water bath ตามค่าจุดหลอมเหลวจากมากไปน้อย เมื่อหลอมหมด เติม Coconut oil Brij™721 และ Brij™72 ลงไป คนผสมให้เข้ากัน วัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ให้ได้ 75°C แล้วยกลง (Oil Phase)
3. ผสม Propylene glycol ลงในบีกเกอร์น้ำ คนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปอุ่น โดยใช้ water bath วัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ให้ได้ 80°C แล้วยกลง (Water Phase)
4. เท Water Phase ลงใน Oil Phase โดยเทเป็นสาย พร้อมกับคนจน congeal
5. หยด Paraben concentrate และผสม Microsponge loaded Coenzyme Q 10 ลงใน cream base ที่เตรียมได้
6. บรรจุลงภาชนะ ปิดฉลาก

บทที่ 4

ผลและการอภิปรายผลการวิจัย

ก. การศึกษาขั้นต้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์ด้วยวิธี **Quasi-emulsion solvent diffusion**

1. ศึกษาพอลิเมอร์ที่ใช้

ผลการทดลองดังตารางที่ 11 พบว่าเมื่อใช้เอทิลเซลลูโลส 10 เซนติพอยต์ในการเตรียมไมโครสพอนจ์ ได้ไมโครสพอนจ์ที่มีลักษณะเป็นผงและการกระจายขนาดอนุภาคใกล้เคียงกัน โดยมีขนาดอนุภาคประมาณ 50 ไมครอน ซึ่งเป็นขนาดที่ตรงกับความต้องการมากที่สุด ในขณะที่เอทิลเซลลูโลสอื่น 50 ได้ลักษณะไมโครสพอนจ์ที่ไม่เป็นทรงกลม นอกจากนี้ยังมีการกระจายขนาดอนุภาคแตกต่างกันอีกด้วย ส่วนยูคราจิต อาร์ เอส 100 ไม่สามารถกรองได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่ง และเมื่อนำไปอบกลับได้เป็นของแข็งกึ่งเหลว เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับไม่พบอนุภาค ดังนั้นจึงเลือกใช้เอทิลเซลลูโลส 10 เซนติพอยต์เป็นพอลิเมอร์สำหรับการเตรียมไมโครสพอนจ์

ตารางที่ 11 แสดงผลการทดลองจากการศึกษาพอลิเมอร์สำหรับใช้เตรียมไมโครสฟอนจ์

สูตรตำรับ	พอลิเมอร์	ระหว่างปั่นผสม	หลังการกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ	หลังอบที่ 40 องศาเซลเซียส	หลังจากส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ
A1	EC 10 cps.	ได้อิมัลชันสีขาวขุ่น	กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้ผงละเอียดสีขาว	ผงละเอียดสีขาว	อนุภาคขนาดประมาณ 50 ไมครอน ส่วนใหญ่มีลักษณะกลม
A2	EC N 50	ได้อิมัลชันสีขาวขุ่นมีเส้นใยของพอลิเมอร์ลักษณะเป็นเส้นคล้ายปุ๋ยฝ้ายผสมอยู่	กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้เส้นใยสีขาวบนกระดาษกรอง	ได้ลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวเกาะกันเป็นก้อน	เส้นใยที่ได้มีขนาดแตกต่างกัน
A3	Eudragit RS100	ได้อิมัลชันสีขาวขุ่นเหนียว	ไม่สามารถกรองได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่ง	ของเหลวแข็งสีเหลืองใสลักษณะเหนียวหนืด ติดบนกระดาษนาฬิกา	ไม่พบอนุภาค



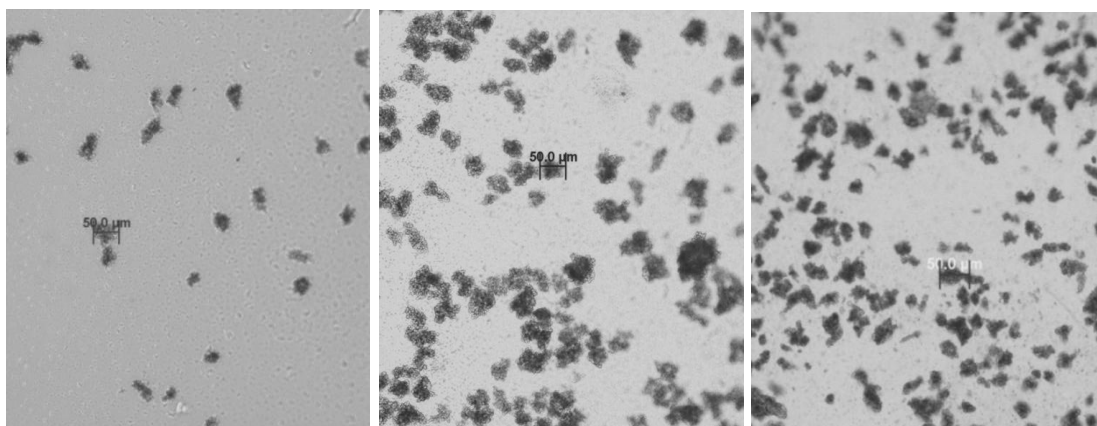
รูปที่ 2 ลักษณะของไมโครสฟอนจ์ที่ได้จากการศึกษาพอลิเมอร์สำหรับใช้เตรียมไมโครสฟอนจ์โดยมี Ethylcellulose 10 cps. (รูปด้านซ้าย) Ethylcellulose N 50 (รูปกลาง) และ Eudragit RS100 (รูปด้านขวา)

2. ศึกษาผลของสารก่ออิมัลชัน

จากผลการทดลองดังตารางที่ 12 จะเห็นได้ว่าทั้ง 3 สูตรตำรับที่ใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ร้อยละของมวลต่อปริมาตรเป็น 1, 1.5 และ 2 ตามลำดับ ผลที่เตรียมได้คือได้อิมัลชันเนื้อหยาบสีขาวขุ่นและกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้ผงละเอียดสีขาวเช่นเดียวกัน แต่เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ หัวกลับพบว่าเมื่อเพิ่มร้อยละของมวลต่อปริมาตรของสารก่ออิมัลชัน (พอลิไวนิลแอลกอฮอล์) ส่งผลให้ได้อนุภาคไมโครสพอนจ์ที่มีขนาดเล็กลง ดังนั้นสูตรตำรับที่ใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ร้อยละของมวลต่อปริมาตรเป็น 2 จึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาใช้สำหรับการเตรียมไมโครสพอนจ์ต่อไป แต่เนื่องจากรูปร่างของอนุภาคไมโครสพอนจ์ที่ได้ ไม่เป็นทรงกลม ซึ่งจากที่กล่าวไปแล้วว่าเมื่อมีปริมาณของสารก่ออิมัลชันสูงขึ้น ทำให้ขนาดอนุภาคที่ได้เล็กลง ช่องว่างที่เกิดขึ้นจากการเชื่อมโยงกันของเส้นสายพอลิเมอร์จึงลดลง ซึ่งส่งผลต่อการจัดเรียงตัวของพอลิเมอร์ ทำให้เกิดเป็นอนุภาคทรงกลมได้ยากขึ้น ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงเลือกร้อยละของมวลต่อปริมาตรของ Polyvinyl alcohol เท่ากับ 1.5 ในการเตรียมไมโครสพอนจ์ ต่อไป

ตารางที่ 12 แสดงผลการทดลองจากการศึกษาสารก่ออิมัลชันสำหรับใช้เตรียมไมโครสโพนจ์

สูตรตำรับ	PVA (%W/V)	ระหว่างปั่นผสม	หลังการกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ	หลังอบที่ 40 องศาเซลเซียส	หลังจากส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ
B1	1	ได้อิมัลชันเนื้อหยาบสีขาวขุ่น	กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้ผงละเอียดสีขาว	ผงละเอียดสีขาว	อนุภาคมีขนาดประมาณ 50 ไมครอน ลักษณะไม่เป็นทรงกลม
B2	1.5	ได้อิมัลชันเนื้อหยาบสีขาวขุ่น	กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้ผงละเอียดสีขาว	ผงละเอียดสีขาว	อนุภาคมีขนาดเล็กกว่า 50 ไมครอน รูปร่างส่วนใหญ่มีลักษณะกลม
B3	2	ได้อิมัลชันเนื้อหยาบสีขาวขุ่น	กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้ผงละเอียดสีขาว	ผงละเอียดสีขาว	อนุภาคมีขนาดเล็กกว่า 50 ไมครอน แต่ละอนุภาคมีขนาดแตกต่างกัน และมีลักษณะไม่เป็นทรงกลม



รูปที่ 3 ลักษณะของไมโครสปอนจ์ที่ได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละของมวลต่อปริมาตรเป็น 1, 1.5 และ 2 ตามลำดับ

3. ศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายใน

จากการกำหนดชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายในเป็นอะซิโตนและแอลกอฮอล์ตามลำดับในปริมาณ 50 มิลลิลิตรเท่ากัน ผลที่เตรียมได้พบว่าตัวรับที่ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายได้มีลักษณะเป็นอิมัลชันขาวขุ่น ส่วนตัวรับที่ใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายได้อ่อนภาคจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดใหญ่ลอยอยู่บนสารละลายใส เนื่องจากความต่างระหว่างขั้วของวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอกมากเกินไป ดังนั้นเมื่อนำเอทิลเซลลูโลสซึ่งมีคุณสมบัติที่ไม่มีขั้วสูง ไปละลายในแอลกอฮอล์ที่เป็นวัฏภาคภายในจึงละลายค่อนข้างยากเมื่อเทียบกับอะซิโตนที่เอทิลเซลลูโลสสามารถละลายได้ทันที และเมื่อนำสารละลายของเอทิลเซลลูโลสในแอลกอฮอล์ผสมเข้ากับน้ำซึ่งเป็นวัฏภาคภายนอก ทำให้แอลกอฮอล์ที่มีความขบ้น้ำมากกว่าเข้ากันได้กับน้ำมากกว่า และเอทิลเซลลูโลสที่มีคุณสมบัติที่ไม่มีขั้วสูง จึงมาจับกันเองเป็นลักษณะกลุ่มก้อน ดังรูปที่ 4 ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงเลือกตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัฏภาคภายในเป็นอะซิโตน

ตารางที่ 13 แสดงผลการทดลองในการศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัสดุภาวภายในสำหรับใช้เตรียมไมโครสโพนจ์

สูตรตำรับ	ตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัสดุภาวภายใน	ผลการทดลองระหว่างปั่นผสม
C1	อะซีโตน	ได้อิมัลชันเนื้อหยาบสีขาวขุ่น
C2	แอลกอฮอล์	อนุภาคจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดใหญ่ลอยอยู่บนสารละลายใส



รูปที่ 4 ลักษณะของไมโครสโพนจ์ที่ได้จากการศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ละลายวัสดุภาวภายในเป็นอะซีโตน (รูปด้านซ้าย) และแอลกอฮอล์ (รูปด้านขวา)

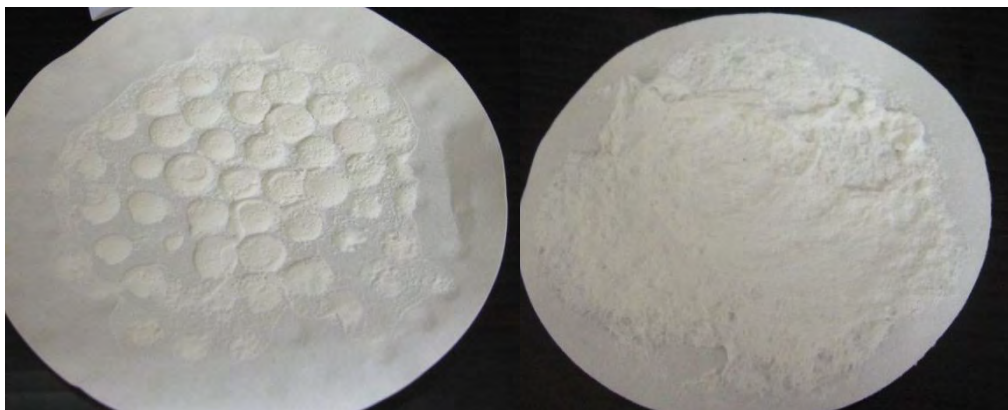
4. ผลของการกลับวัสดุภาว

จากผลการทดลองดังตารางที่ 14 พบว่าชนิดการผสมมีผลต่อลักษณะของอนุภาคไมโครสโพนจ์ที่ได้ โดยเมื่อผสมวัสดุภาวภายในลงในวัสดุภาวภายนอก จะได้อิมัลชันเนื้อหยาบที่มีลักษณะเป็นขุยกระจายตัวอยู่ โดยขุยที่เกิดขึ้น จะเกิดพื้นที่ที่หยดวัสดุภาวในหยดแรกลงไปลงในวัสดุภาวภายนอก และหลังจากนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้ลักษณะขุยสีขาวเชื่อมติดกันเป็นร่างแห ซึ่งเกิดจากสารละลายพอลิเมอร์ที่หยดลงไปถูกเปลี่ยนวัสดุภาวทันที ทำให้พอลิเมอร์เกิดการ crosslink กันอย่างรวดเร็วซึ่งต่างจากการผสมวัสดุภาวภายนอกลงในวัสดุภาวภายใน ที่จะได้อิมัลชันเนื้อหยาบสีขาวขุ่นและกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้ผงละเอียดสีขาว และเมื่อดูขนาดอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับก็พบว่าได้อนุภาคที่มีขนาดประมาณ 50 ไมครอน รูปร่างกลม เนื่องจากเมื่อใช้วิธีการกลับวัสดุภาวทำให้พอลิเมอร์ที่อยู่ในสารละลายค่อยๆถูกเปลี่ยนวัสดุภาวอย่างช้าๆ โดยตอนแรกอิมัลชันที่เกิดขึ้นจะเป็นวัสดุภาวภายนอก

ของน้ำในวัฏภาคภายในที่เป็นอะซีโตน เมื่อปริมาณของวัฏภาคน้ำสูงขึ้นเรื่อยๆจะนำไปให้หยดของวัฏภาคที่มีตัวทำละลายเป็นอะซีโตนใกล้ชิดกันมากขึ้น โดยแต่ละหยดจะมีวัฏภาคของน้ำล้อมรอบ และมีสารก่ออิมัลชันเป็นตัวเชื่อม เมื่อวัฏภาคน้ำมากขึ้นจนเกิดการกลับวัฏภาค วัฏภาคน้ำที่เดิมเป็นหยดจะรวมตัวกันแล้วดันวัฏภาคที่มีตัวทำละลายเป็นอะซีโตนที่เดิมล้อมรอบหยดของวัฏภาคน้ำอยู่นั้น กลายเป็นหยดของวัฏภาคที่มีตัวทำละลายเป็นอะซีโตน ซึ่งการเกิดหยดของวัฏภาคภายในในรูปแบบนี้ทำให้ได้หยดของวัฏภาคภายในที่กลมและเล็กกว่าปกติ ดังนั้นเมื่อนำอิมัลชันที่ได้จากการกลับวัฏภาคไปผ่านการกรองและอบแห้งจึงได้ไมโครสปอนจ์ที่ลักษณะกลมและเล็กกว่าแบบการเตรียมโดยไม่กลับวัฏภาค ดังตารางที่ 14 ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้วิธีเตรียมไมโครสปอนจ์โดยการกลับวัฏภาค

ตารางที่ 14 แสดงผลการทดลองจากการศึกษาผลของการกลับวัฏภาคสำหรับใช้เตรียมไมโครสปอนจ์

สูตรตำรับ	การผสม	ระหว่างปั่นผสม	หลังการกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ	หลังอบที่ 40 องศาเซลเซียส	หลังจากส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ
D1	ผสมวัฏภาคภายในลงวัฏภาคภายนอก	ได้อิมัลชันเนื้อหยาบที่มีอนุภาคลักษณะเป็นขุยกระจายตัวอยู่	กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้อนุภาคลักษณะเป็นขุยเชื่อมติดกันเป็นร่างแหอยู่บนกระดาษกรอง	ขุยสีขาว เชื่อมติดกันเป็นร่างแห	เป็นเส้นใยลักษณะยาวรี
D2	ผสมวัฏภาคภายนอกลงวัฏภาคภายใน	ได้อิมัลชันเนื้อหยาบสีขาวขุ่น	กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่งได้ผงละเอียดสีขาว	ผงละเอียดสีขาว	อนุภาคมีขนาดประมาณ 50 ไมครอน รูปร่างส่วนใหญ่มีลักษณะกลม



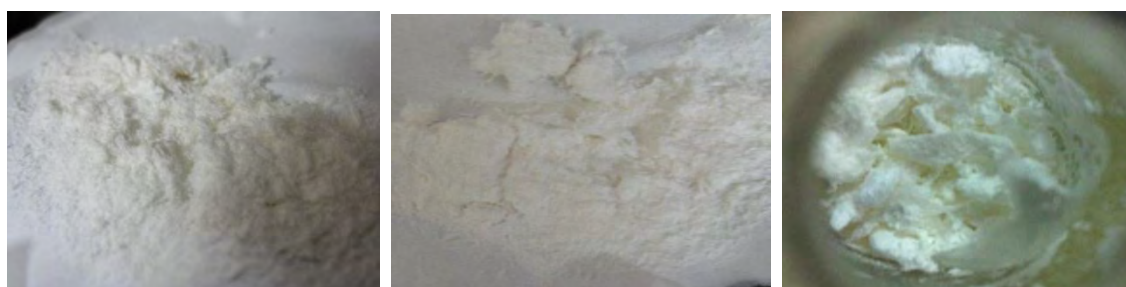
รูปที่ 5 ลักษณะของไมโครสปอนจ์ที่ได้จากการศึกษาผลของการกลับวัฏภาค (ภาพด้านซ้ายมือ) เทียบกับการผสมวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอกแบบปกติ (ภาพด้านขวามือ)

5. ศึกษาผลของการทำให้แห้ง

จากผลการทดลองดังตารางที่ 15 พบว่าวิธีการทำให้แห้งแบบต่างๆมีผลต่อคุณสมบัติของไมโครสปอนจ์ คือเมื่อนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ได้ผงละเอียด ร่วน ผงไม่เกาะรวมกันเป็นก้อน เนื่องจากไม่มีความชื้นหลงเหลืออยู่ในอนุภาค ส่วนการนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศแล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผงละเอียดเช่นเดียวกัน แต่มีลักษณะเกาะกันเป็นก้อน เนื่องจากยังมีความชื้นหลงเหลืออยู่ในอนุภาคอยู่บ้าง และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ พบว่าอนุภาคไมโครสปอนจ์ที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไป ซึ่งเกิดจากผลของการทำให้แห้งโดยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ ที่จะต้องนำอิมัลชันที่เตรียมได้ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C ซึ่งผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นอาจไปทำลายโครงสร้างของไมโครสปอนจ์ได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกการกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงเป็นวิธีในการทำให้แห้งเพราะเป็นวิธีทำให้ได้อนุภาคที่กระจายตัวดีไม่เกาะเป็นกลุ่มก้อนเหมือนวิธีที่ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และไม่ใช้เวลานานหรือเสียรูปร่างไปเหมือนที่นำไปใช้เครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ

ตารางที่ 15 แสดงผลการทดลองจากการศึกษาผลของการทำให้แห้งสำหรับใช้เตรียมไมโครสปอนจ์

สูตรตำรับ	วิธีการทำให้แห้ง	ผลการทดลองหลังทำให้แห้ง	ผลการทดลองหลังจากส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ
E1	อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง	ได้ผงละเอียดสีขาว มีลักษณะร่วน	แต่ละอนุภาคกระจายตัวได้ดี และเกาะกันเป็นก้อน
E2	ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	ได้ผงละเอียดสีขาว มีทั้งลักษณะเป็นผง และเกาะติดกันเป็นก้อน ซึ่งมีความชื้นเหลืออยู่	แต่ละอนุภาคเกาะรวมกันเป็นก้อนขนาดใหญ่
E3	การทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ	ได้ลักษณะเป็นขุย สีขาว เกาะติดบริเวณผนังภาชนะขวด	แต่ละอนุภาคมีลักษณะ irregular



รูปที่ 6 ลักษณะของไมโครสปอนจ์ที่ได้จากการศึกษาผลของการทำให้แห้งระหว่างการการอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง (ภาพด้านซ้ายมือ) ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพตรงกลาง) และการทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ (ภาพด้านขวามือ)

ดังนั้นจากผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษาขั้นต้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์คือเตรียมไมโครสพอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion โดยควบคุมปัจจัยดังนี้คือ ใช้เอทิลเซลลูโลส 10 เซนต์พอยต์ ในปริมาณ 1.5 กรัม ละลายในอะซิโตน 50 มิลลิลิตร ใส่ไตรเอทิลซีเตรท 0.3 กรัม เป็นวัฏภาคภายใน และใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ปริมาณ 0.75 กรัมในตัวทำละลายน้ำ 50 มิลลิลิตร เป็นวัฏภาคภายนอก ผสมโดยหยดวัฏภาคภายนอกลงในวัฏภาคภายในทีละหยด และปั่นผสมเป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา ชั่วโมงดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์

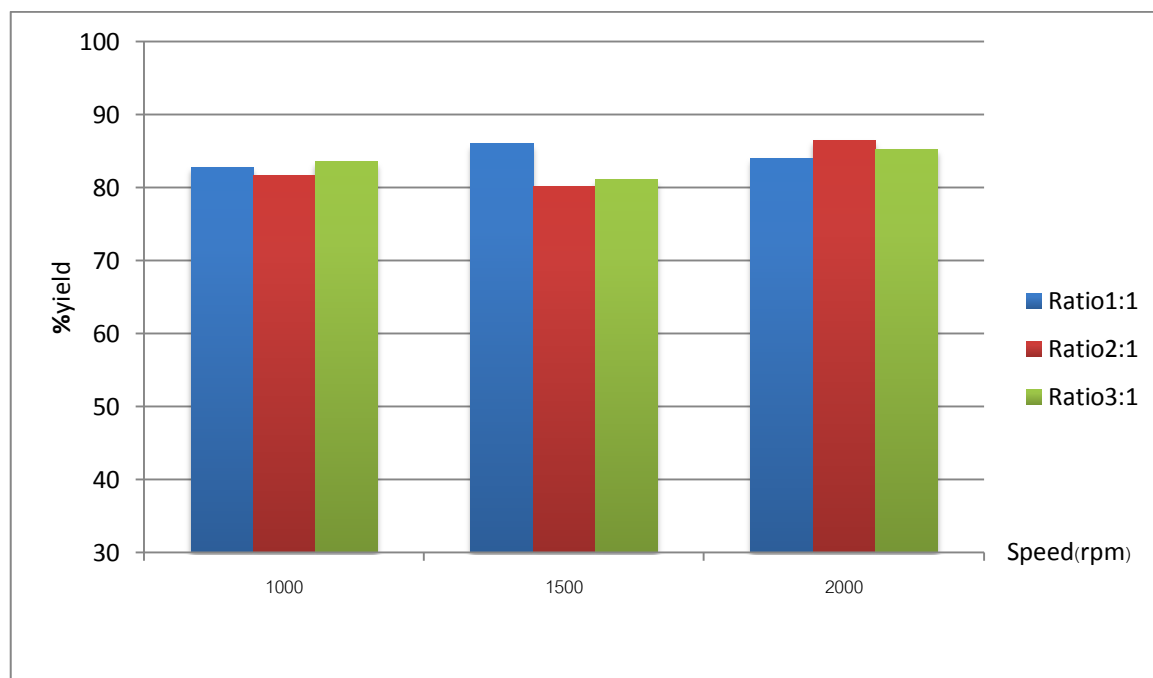
EC (g.)	PVA (g.)	TEC (g.)	Acetone (mL)	น้ำกลั่น (mL)	วิธีการผสม	วิธีการทำให้แห้ง
1.5	0.75	0.3	50	50	ผสมวัฏภาคภายนอกลงในวัฏภาคภายใน	กรอง และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C 1 ชม.

ข. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของอนุภาคไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน การประเมินคุณสมบัติของไมโครสโพนจ์

1. ผลผลิตไมโครสโพนจ์ที่เตรียมได้ (%yield)

ผลผลิตไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่เตรียมได้หลังจากการทำให้แห้งด้วยการอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ให้ผลดังตารางที่ 17 ตารางที่ 17 แสดงปริมาณไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่เตรียมได้ในแต่ละรุ่นการผลิต

ตัวอย่างที่	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
%yield	82.72	81.67	83.52	85.95	80.18	81.08	83.97	86.38	85.25

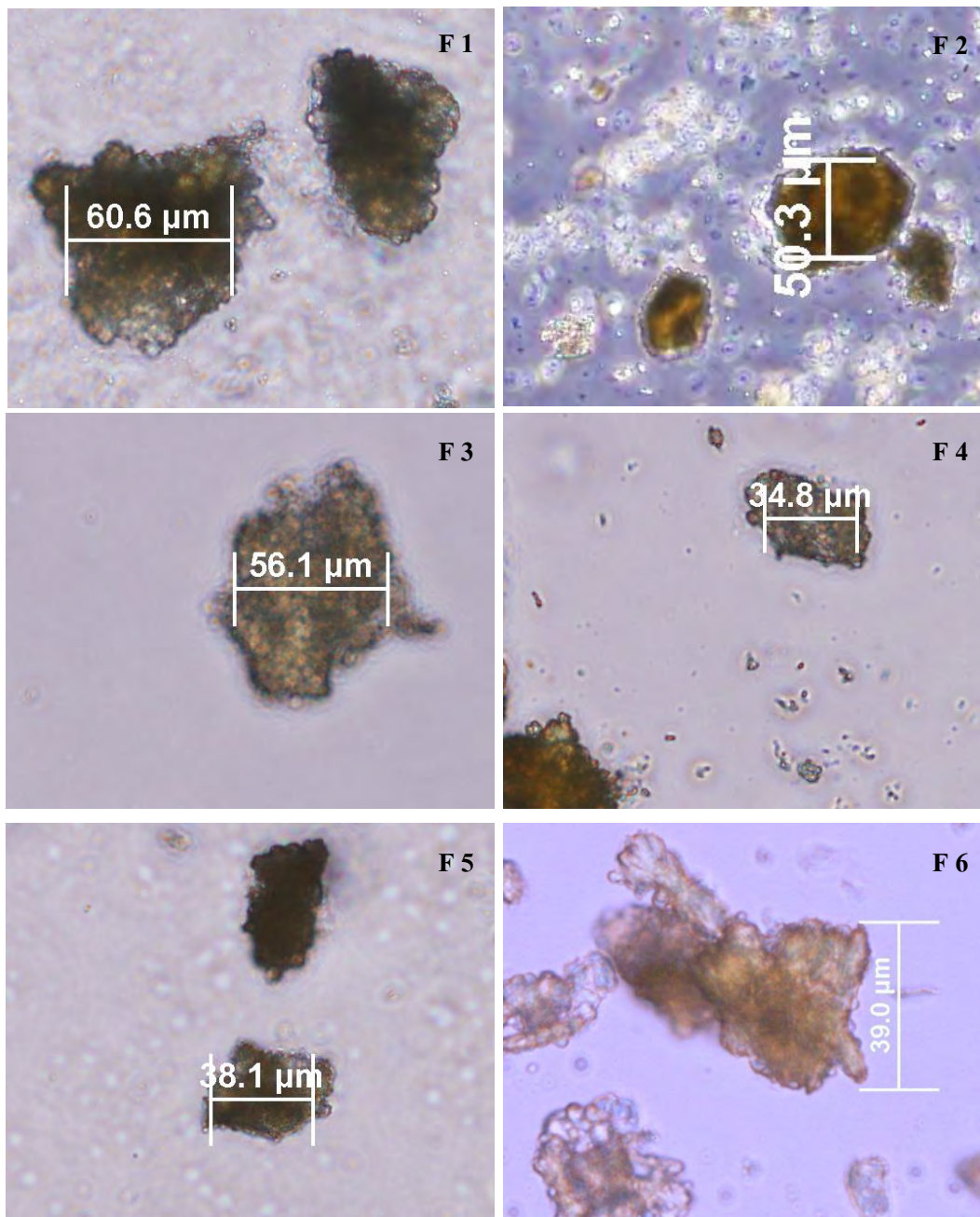


รูปที่ 7 แผนภูมิแท่งแสดงผลผลิตไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนที่เตรียมได้ในแต่ละรุ่นการผลิต

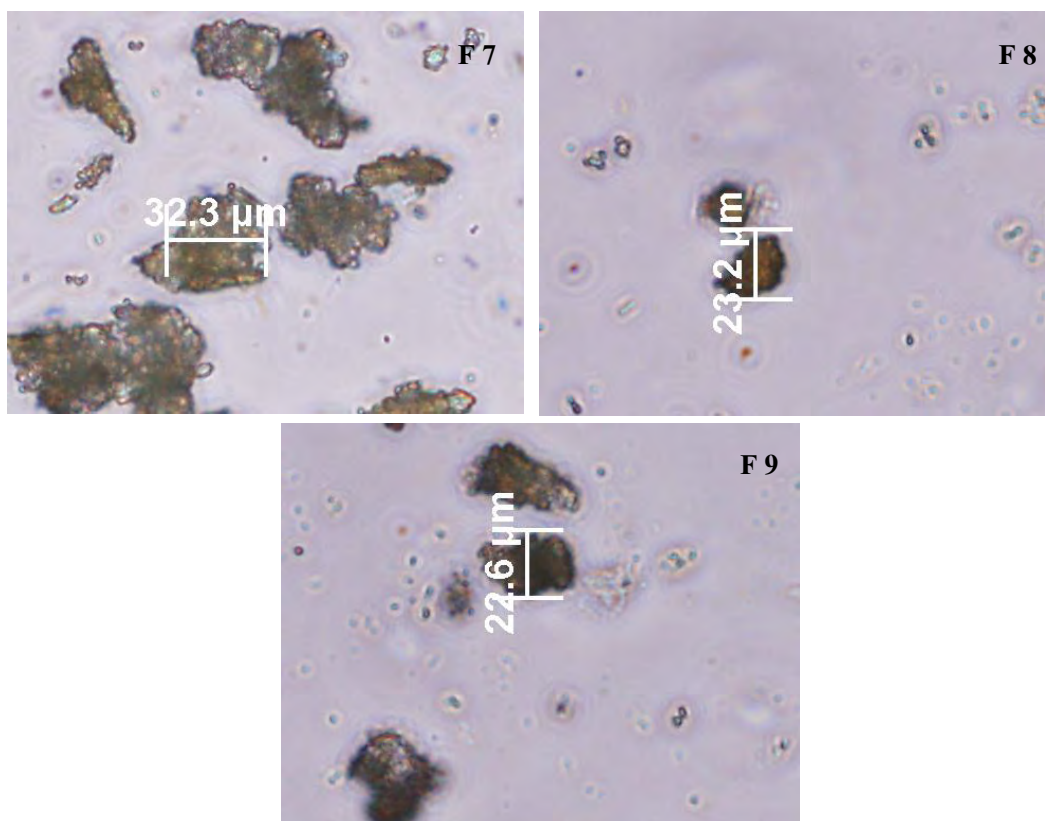
ผลผลิตไมโครสโพนจ์ที่เตรียมได้ในแต่ละรุ่นการผลิต มีค่าอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกัน คือช่วง 80% – 85% โดยการสูญเสียผลผลิตที่ได้ อาจเกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการเตรียมตั้งแต่การขังสารซึ่งสารอาจติดอยู่บนกระดาษขัง, ขั้นตอนการปั่นผสม ที่มีผลผลิตส่วนหนึ่งติดอยู่ที่ผนังบีกเกอร์, ขั้นตอนการกรอง และการอบแห้งที่ผลผลิตส่วนหนึ่งติดอยู่บนผิวของกระดาษกรองเป็นต้น

2. ขนาดและการกระจายของอนุภาคไมโครสปอนจ์

ผลจากกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ



รูปที่ 8 แสดงขนาดอนุภาคไมโครสปอนจ์ของโคเอนไซม์คิวเทนที่เตรียมได้ในแต่ละรุ่นการผลิตที่ 1-6 เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ กำลังขยาย 20X



รูปที่ 9 แสดงขนาดอนุภาคไมโครสโพนจ์ของโคเอ็นไซม์คิวเทนที่เตรียมได้ในแต่ละรุ่นการผลิตที่ 7-9 เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ กำลังขยาย 20X

ผลที่ได้จากการส่องอนุภาคไมโครสโพนจ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ แสดงให้เห็นถึงขนาดอนุภาค และการกระจายขนาดในภาพรวม พบว่าอัตราเร็วในการปั่นผสมมีผลต่ออนุภาคไมโครสโพนจ์ คือ เมื่อเพิ่มอัตราเร็วในการปั่นผสมแล้วทำให้อนุภาคไมโครสโพนจ์ที่ได้มีขนาดเล็กลง ส่วนในด้านการกระจายขนาดอนุภาค พบว่ามีความแตกต่างกันออกไป ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ในระหว่างกระบวนการเตรียมไมโครสโพนจ์ และผลของอัตราส่วนของโคเอ็นไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสที่มีต่อขนาดอนุภาค พบว่าไม่สามารถสรุปความสัมพันธ์ระหว่างกันได้ เนื่องจากขนาดอนุภาคได้มีความใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องนำไมโครสโพนจ์ที่เตรียมได้ไปวัดขนาด และการกระจายขนาดด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่นMalvern) ต่อไป

ผลจากเครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่น Malvern)

จากการหาขนาด และการกระจายของขนาดอนุภาคของไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนทั้ง 9 รุ่นการผลิตด้วยเครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่น Malvern) ได้ผลดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 แสดงขนาดและการกระจายของขนาดอนุภาคไมโครสโพนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนทั้ง 9 รุ่นการผลิต

Sample Name	Uniformity	d (0.1)	d (0.5)	d (0.9)
F1	0.308	33.15	53.948	86.629
F1	0.316	34.442	57.032	93.246
F1	0.351	34.327	59.712	102.108
F1 - Average	0.309	33.095	53.885	86.563
F2	0.335	33.249	56.938	95.715
F2	0.342	33.757	58.082	98.228
F2	0.349	34.438	59.8	101.826
F2 - Average	0.343	33.795	58.248	98.623
F3	0.445	22.931	50.397	95.443
F3	0.445	23.61	51.683	97.869
F3	0.446	24.35	53.316	101.075
F3 - Average	0.446	23.607	51.784	98.148
F4	1.83	15.597	32.177	268.17
F4	4	15.684	32.638	574.939
F4	7.46	17.751	55.749	1280.143
F4 - Average	5.62	16.191	36.009	851.989
F5	1.56	16.21	33.161	124.484
F5	1.03	16.066	32.345	82.745
F5	1.66	16.242	33.558	235.583
F5- Average	1.42	16.173	33.005	112.406

ตารางที่ 18 แสดงขนาดและการกระจายของขนาดอนุภาคไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนทั้ง 9 รุ่นการผลิต (ต่อ)

Sample Name	Uniformity	d (0.1)	d (0.5)	d (0.9)
F6	1.23	7.813	32.007	124.141
F6	1.35	6.797	32.114	136.493
F6	1.7	7.038	35.191	199.932
F6 - Average	1.44	7.206	32.999	148.163
F7	1.11	15.318	31.158	93.057
F7	1.08	15.541	31.601	90.429
F7	1.98	15.556	31.902	118.546
F7 - Average	1.39	15.47	31.551	97.978
F8	1.04	13.975	28.697	88.746
F8	1.11	14.029	28.925	90.013
F8	1.45	14.148	29.752	163.449
F8 - Average	1.2	14.049	29.111	102.972
F9	0.334	13.569	23.188	38.734
F9	0.335	13.594	23.248	38.875
F9	0.334	13.615	23.255	38.825
F9 - Average	0.334	13.593	23.23	38.811

จากผลการทดลองดังตารางที่ 18 พบว่าเมื่ออัตราเร็วในการปั่นผสมเพิ่มขึ้น ขนาดอนุภาคมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากการผสมด้วยอัตราเร็วสูงจะทำให้ระบบสามารถผสมเข้ากันได้ดี และอนุภาคไมโครสปอนจ์ที่เกิดขึ้นจะค่อยๆ ตกตะกอนลงมา ทำให้ได้ขนาดอนุภาคที่เล็กลงและเมื่ออัตราส่วนระหว่างโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสเพิ่มขึ้น อนุภาคจะมีขนาดลดลงเช่นเดียวกัน เนื่องจากเมื่อลดอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสเปรียบเสมือนการลดปริมาณพอลิเมอร์ลง ทำให้ระบบมีปริมาณพอลิเมอร์สำหรับการเกิดอนุภาคไมโครสปอนจ์ลดลง ส่งผลให้ความหนาของผนังพอลิเมอร์ลดลงด้วย จึงทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง นอกจากนี้พบว่าขนาดของอนุภาคทุกสูตรตำรับมีการกระจายค่อนข้างมากอาจเนื่องมาจากเครื่องปั่นผสมมีความเร็วไม่คงที่

เมื่อนำข้อมูลของขนาดอนุภาคที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 50 ไปวิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two Way ANOVA) พบว่าขนาดอนุภาคทั้ง 9 รุ่นการผลิตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-Value} < 0.05$) ดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two Way ANOVA)

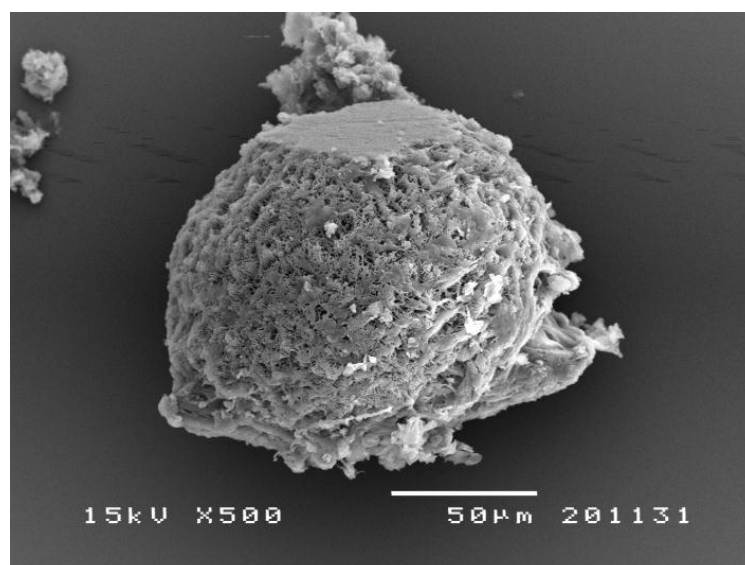
Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: particle_size

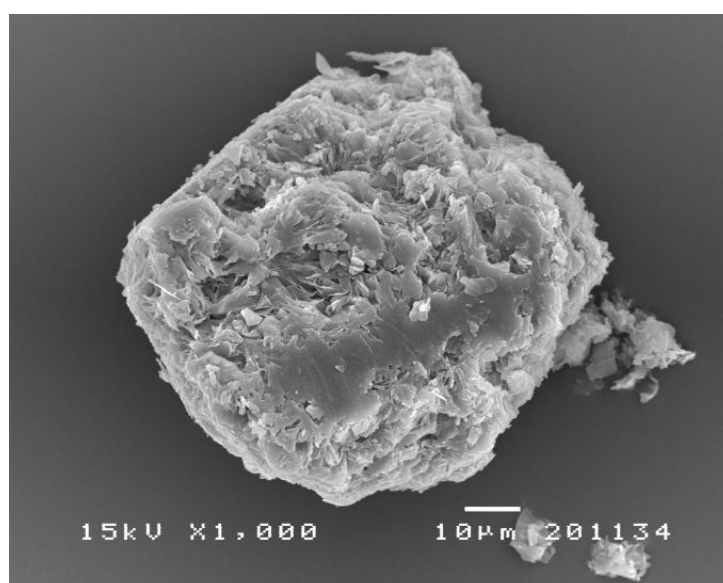
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3974.681 ^a	8	496.835	22.549	.000
Intercept	42528.550	1	42528.550	1930.209	.000
stiring_rate	3693.398	2	1846.699	83.815	.000
drug_and_polymer_ratio	213.004	2	106.502	4.834	.021
stiring_rate * drug_and_polymer_ratio	68.279	4	17.070	.775	.556
Error	396.596	18	22.033		
Total	46899.827	27			
Corrected Total	4371.277	26			

a. R Squared = .909 (Adjusted R Squared = .869)

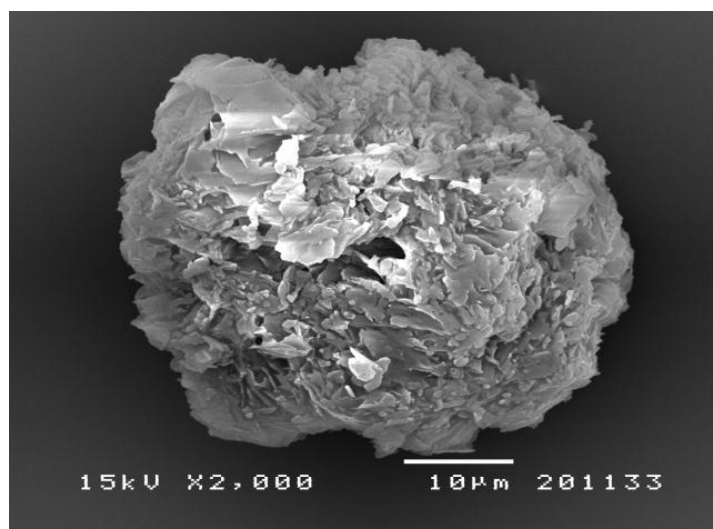
3. พื้นผิวและรูปร่างของไมโครสโพนจ์



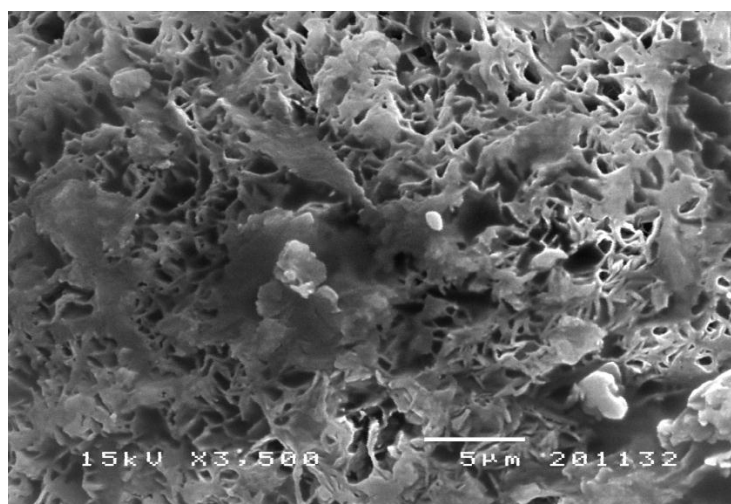
รูปที่ 10 แสดงลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของไมโครสโพนจ์ เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) ด้วยกำลังขยาย 500X



รูปที่ 11 แสดงลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของไมโครสโพนจ์ เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) ด้วยกำลังขยาย 1000X



รูปที่ 12 แสดงลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของไมโครสฟอนจ์ เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) ด้วยกำลังขยาย 2000X

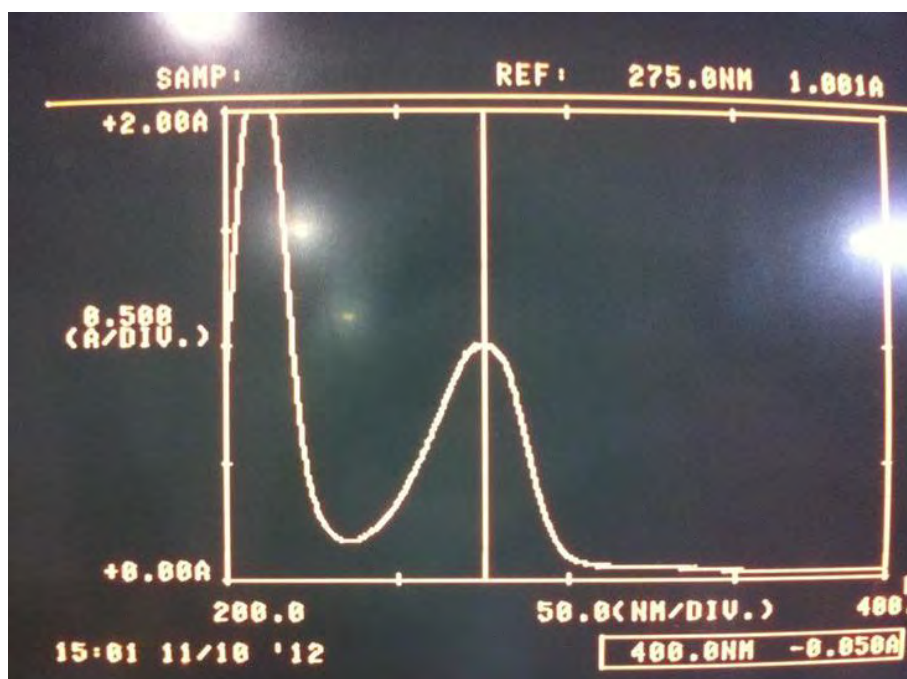


รูปที่ 13 แสดงลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของไมโครสฟอนจ์ เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) ด้วยกำลังขยาย 3500X

4. ประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์คิวเทนในไมโครสโพนจ์ (%Loading Efficiency)

4.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (Standard Curve)

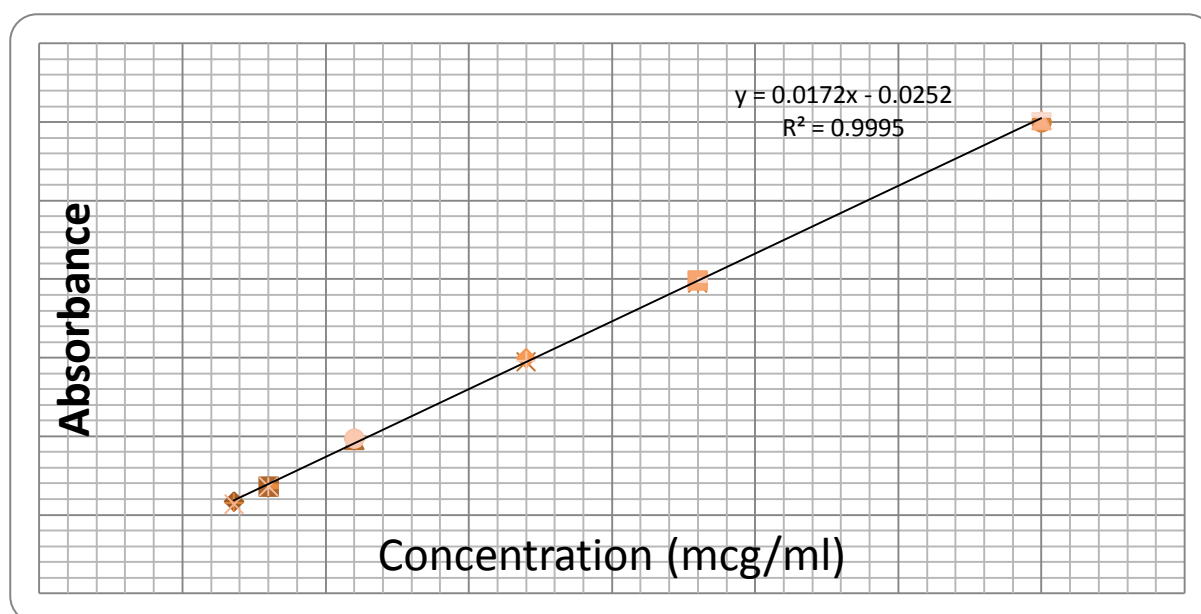
สร้างกราฟมาตรฐาน (Standard Curve) ของสารละลายโคเอนไซม์คิวเทนในแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ โดยสแกนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200-400นาโนเมตรได้สเปกตรัมดังแสดงในรูปที่ 14 พบว่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดสำหรับโคเอนไซม์คิวเทนคือ 275 นาโนเมตร จึงทำการวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน 6 ความเข้มข้น คือ 3, 6, 12, 24, 36 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร ผลของการวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน แสดงไว้ดังตารางที่ 20 และได้กราฟมาตรฐานดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 แสดงสเปกตรัมของโคเอนไซม์คิวเทนที่ได้จากการสแกนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตรของสารละลายโคเอนไซม์คิวเทนในแอลกอฮอล์สัมบูรณ์

ตารางที่ 20 แสดงผลของการวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

ความเข้มข้นของ โคเอนไซม์คิวเทน (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสง		
	3.61	0.034	0.031
6.01	0.072	0.072	0.072
12.02	0.191	0.195	0.194
24.04	0.389	0.399	0.392
36.06	0.591	0.596	0.597
60.10	0.999	1.005	1.018



รูปที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์เส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคเอนไซม์คิวเทน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสง

จากการทดลองนี้ได้สมการความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคเอนไซม์คิวเทนมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสงคือ $y = 0.017x - 0.025$ เมื่อ y คือความเข้มข้นของสารละลายโคเอนไซม์คิวเทน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ x คือค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

4.2. ประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์คิวเทนในไมโครสポンจ์

จากการทดลองหาประสิทธิภาพการกักเก็บสารโคเอนไซม์คิวเทนในไมโครสポンจ์โดยใช้วิธีการละลายไมโครสポンจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนด้วยแอลกอฮอล์สัมบูรณ์และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 275 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV spectrophotometer และคำนวณหา % Loading Efficiency โดยใช้สมการ

$$\% \text{ Loading Capacity} = D/D_0 \times 100$$

โดย D คือ Drug content ที่ได้จริง (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

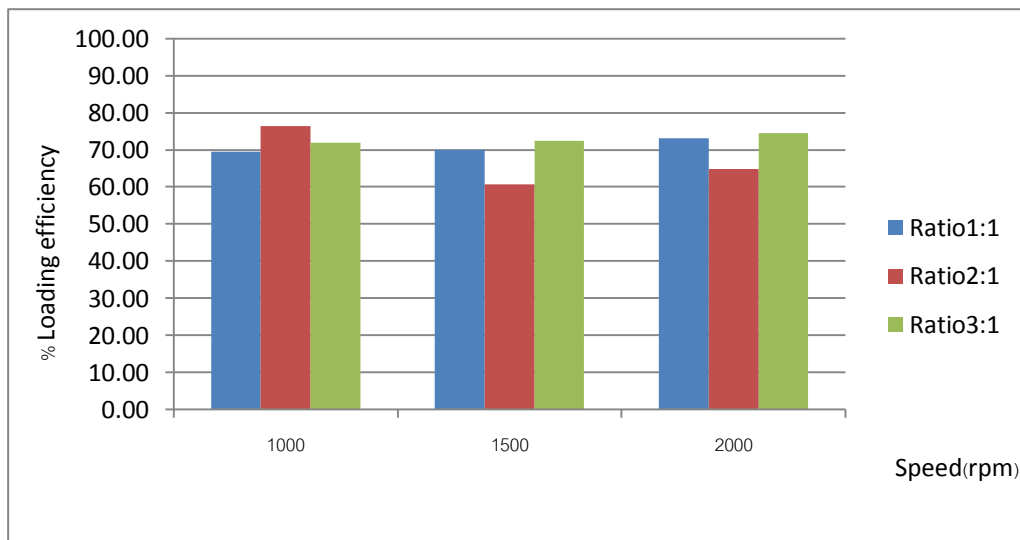
D_0 คือ Drug content ตามทฤษฎี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

ได้ค่าดังแสดงในตารางที่ 21

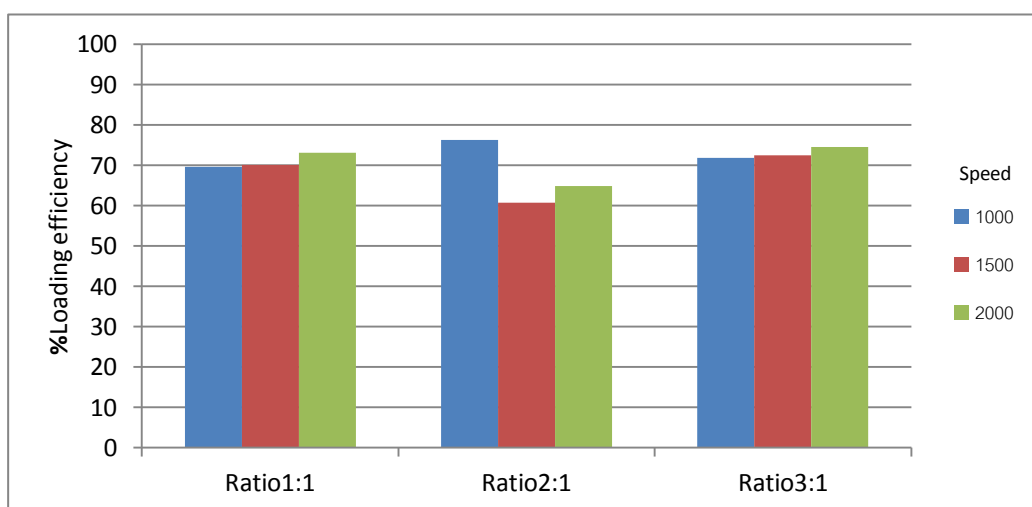
ตารางที่ 21 แสดงประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์คิวเทนในไมโครสポンจ์ของแต่ละสูตรตำรับ

สูตรตำรับ	weight (g.)	Theoretical concentration (mg/100 mL)	Actual concentration (mg/100mL)	% Loading effi- ciency
F1	0.02509	25.09	17.45	69.56
F2	0.02508	25.08	19.14	76.31
F3	0.02501	25.01	17.98	71.88
F4	0.02501	25.01	17.51	70.02
F5	0.02504	25.04	15.19	60.65
F6	0.02499	24.99	18.09	72.40
F7	0.02500	25.00	18.27	73.07
F8	0.02501	25.01	16.23	64.90
F9	0.02500	25.00	18.62	74.47

จากผลการทดลองพบว่า % Loading efficiency ของทั้ง 9 สูตรตำรับมีค่าเฉลี่ยร้อยละโดยมวลเท่ากับ 70.36 ± 4.88 ซึ่งแต่ละตำรับมีความแตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อเปลี่ยนแปลงอัตราเร็วในการคน ดังแสดงในรูปที่ 16 และอัตราส่วนของโคเอนไซม์ควิเทนท์ต่อเอทิลเซลลูโลสดังแสดงในรูปที่ 17 แต่ไม่เห็นแนวโน้มของความแตกต่างนั้น อาจแสดงได้ว่าอัตราเร็วในการคนและอัตราส่วนของโคเอนไซม์ควิเทนท์ต่อเอทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนแปลงมีค่าใกล้เคียงกันไป หรือทั้งสองปัจจัยอาจไม่มีผลต่อ % Loading efficiency ของไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์ควิเทนท์



รูปที่ 16 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วในการปั่นผสมและประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์ควิเทนท์



รูปที่ 17 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของโคเอนไซม์ควิเทนท์ต่อเอทิลเซลลูโลสและประสิทธิภาพการกักเก็บโคเอนไซม์ควิเทนท์

5. การศึกษาการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนจากไมโครสพอนจ์ (Drug Release)

การศึกษาการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนจากไมโครสพอนจ์ทั้ง 9 สูตรตำรับโดยใช้ตัวกลางเป็น Propylene glycol ทำการศึกษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่ามีย้อยละของการปลดปล่อยแสดงดังตารางที่ 22

ตารางที่ 22 แสดงร้อยละของการปลดปล่อยของไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนทั้ง 9 สูตรตำรับ ใน Propylene glycol ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

สูตรตำรับ	Absorbance	% Release
F1	0.583	1.02
	0.592	1.03
	0.572	1.00
F2	0.497	0.79
	0.503	0.80
	0.509	0.81
F3	0.500	0.84
	0.494	0.84
	0.521	0.88
F4	0.502	0.88
	0.515	0.90
	0.511	0.89
F5	0.502	1.01
	0.511	1.02
	0.520	1.04
F6	0.497	0.84
	0.544	0.91
	0.551	0.93

ตารางที่ 22 แสดงร้อยละของการปลดปล่อยของไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน
ทั้ง 9 สูตรตำรับ ใน Propylene glycol ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ต่อ)

สูตรตำรับ	Absorbance	% Release
F7	0.568	0.94
	0.574	0.95
	0.559	0.93
F8	0.625	1.17
	0.642	1.20
	0.661	1.23
F9	0.536	0.88
	0.538	0.88
	0.552	0.90

จากผลการทดลองพบว่าไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนทั้ง 9 สูตรตำรับมีคุณสมบัติในการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนออกจากไมโครสพอนจ์ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.94 ± 0.12 ภายในเวลา 24 ชั่วโมงในตัวทำละลายที่เป็นโพรพิลีนไกลคอล ซึ่งพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% เมื่อวิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two way ANOVA) ตามตารางที่ 23 แต่พบว่าความแตกต่างนั้นไม่ได้แสดงผลของอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทน และอัตราเร็วในการป้อนผสมต่อคุณสมบัติในการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนออกจากไมโครสพอนจ์ เมื่อพิจารณาร้อยละการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนออกจากไมโครสพอนจ์ทั้ง 9 สูตรตำรับเปรียบเทียบกับค่าการละลายของโคเอนไซม์คิวเทนในโพรพิลีนไกลคอลในเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าโคเอนไซม์คิวเทนละลายได้เพียงร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร 0.74 ± 0.02 ซึ่งน้อยกว่าร้อยละการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนออกจากไมโครสพอนจ์ทั้ง 9 สูตรตำรับ 0.94 ± 0.12 แสดงให้เห็นว่าการเตรียมโคเอนไซม์คิวเทนในรูปไมโครสพอนจ์นั้นช่วยทำให้โคเอนไซม์คิวเทนมีการละลาย และการปลดปล่อยที่ดีขึ้น

ตารางที่ 23 แสดงผลการทดสอบทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วในการปั่นผสมและอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสกับความสามารถในการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนออกจากไมโครสฟอนจ์

Tests of Between-Subjects Effects

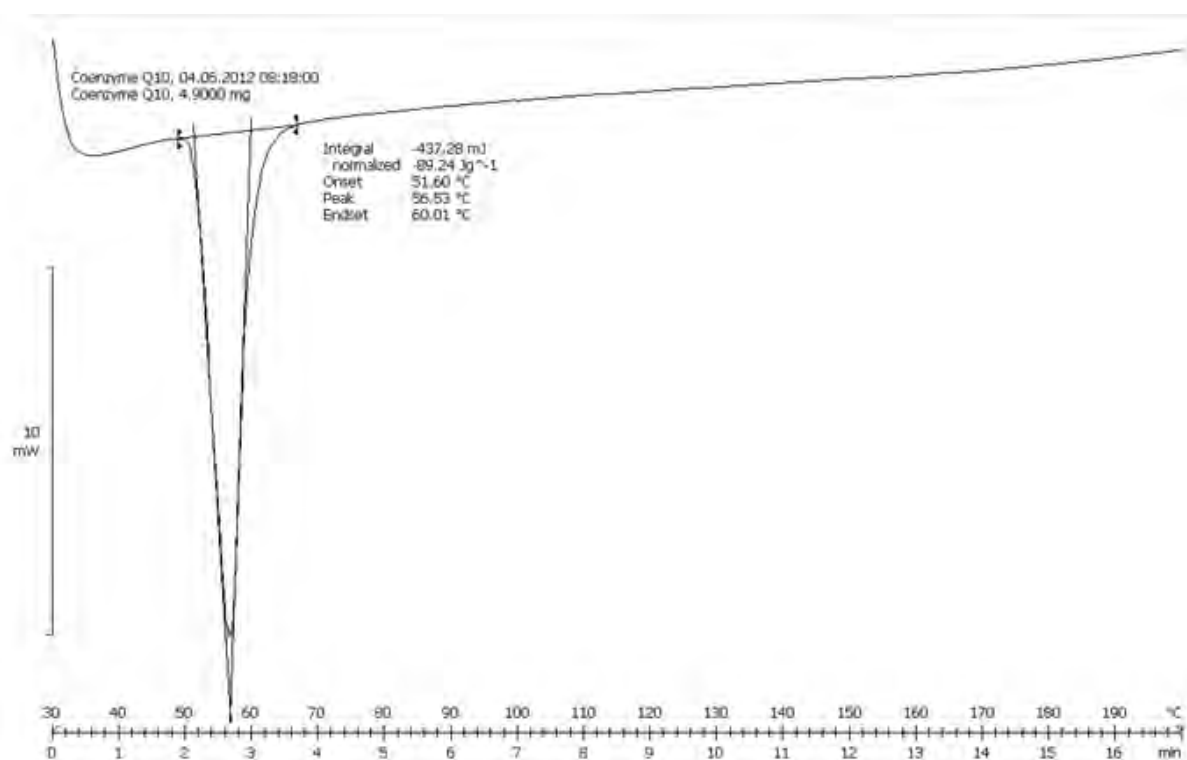
Dependent Variable: Release

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.344 ^a	8	.043	88.354	.000
Intercept	24.086	1	24.086	49544.778	.000
stiring_rate	.061	2	.031	62.894	.000
drug_and_polymer_ratio	.078	2	.039	79.979	.000
stiring_rate * drug_and_polymer_ratio	.205	4	.051	105.271	.000
Error	.009	18	.000		
Total	24.438	27			
Corrected Total	.352	26			

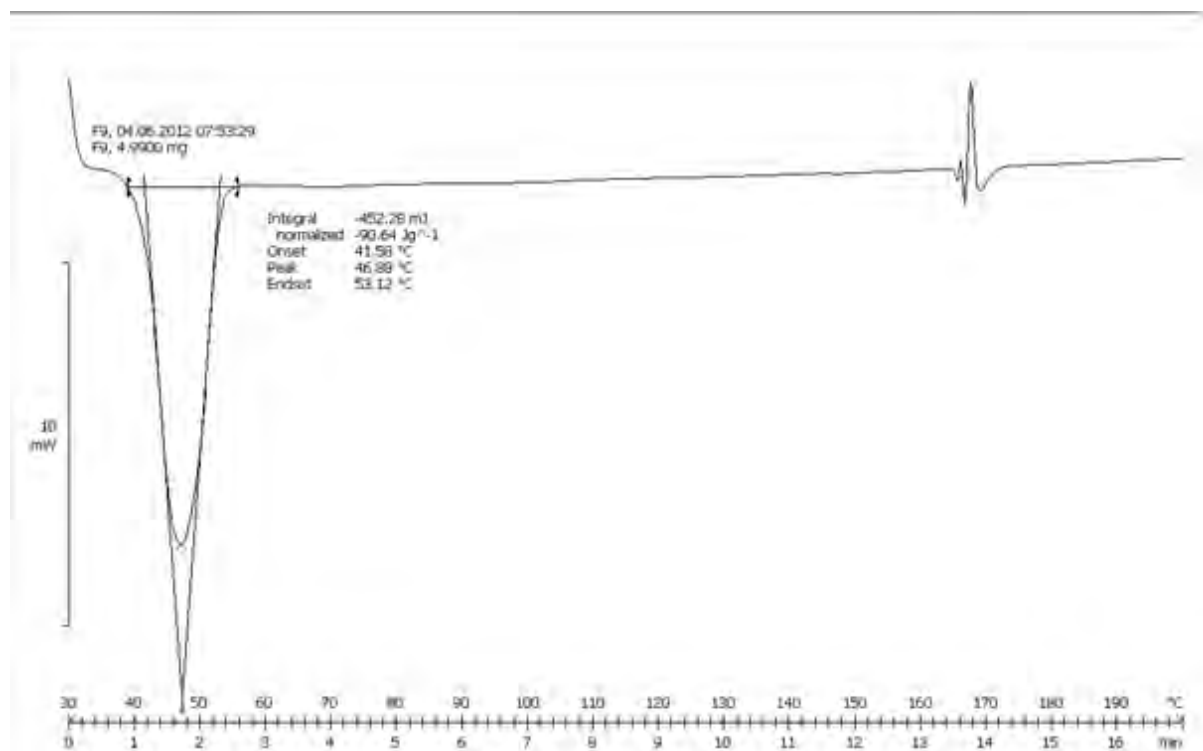
a. R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .964)

6. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของสารโดยใช้ความร้อน (Differential Scanning Calorimeter)

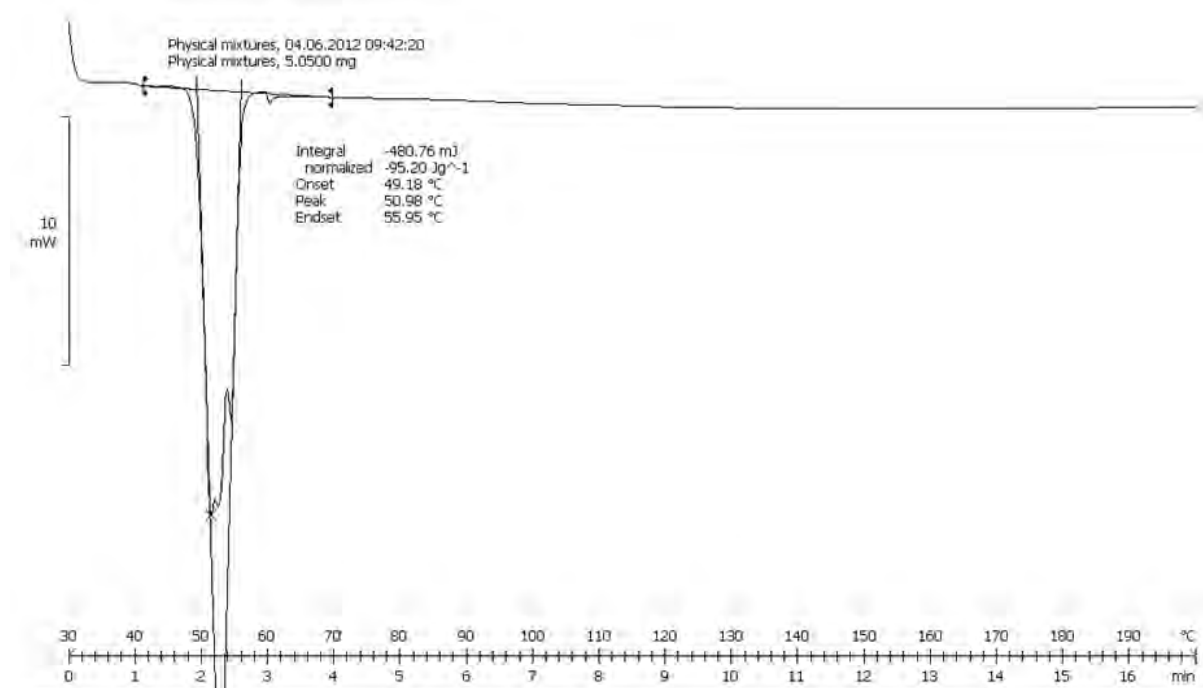
ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพผลึกของสาร โคเอนไซม์คิวเทนเมื่อเตรียมเป็นไมโครสโพนจ์ โดยใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC) ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 18 ถึง 21



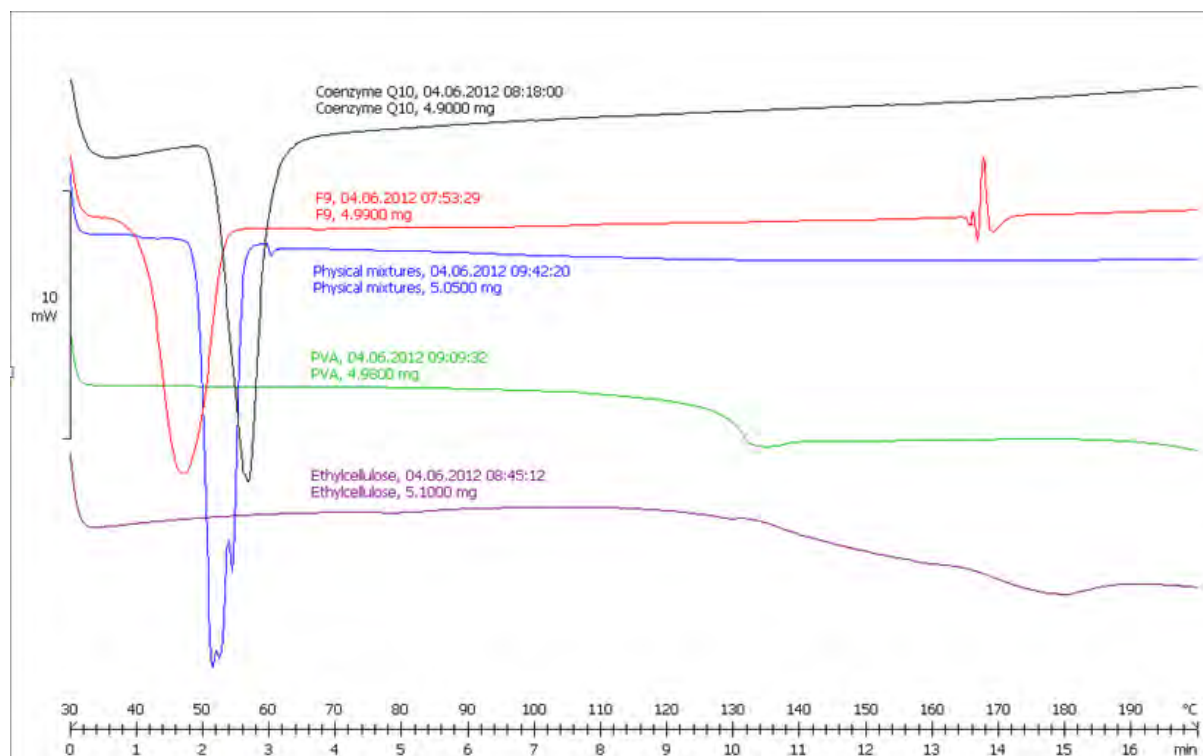
รูปที่ 18 แสดงผลการวิเคราะห์สภาพผลึกของโคเอนไซม์คิวเทน



รูปที่ 19 แสดงผลการวิเคราะห์สภาพผลึกของไมโครสปอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน



รูปที่ 20 แสดงผลการวิเคราะห์สภาพผลึกของ Physical mixture ที่ประกอบด้วยโคเอนไซม์คิวเทนเอทิลเซลลูโลสและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์



รูปที่ 21 แสดงผลการวิเคราะห์สภาพผลึกของโคเอนไซม์คิวเทน, เอทิลเซลลูโลส, พอลิไวนิลแอลกอฮอล์, ไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน และ Physical mixture

จากผลการทดลองพบว่าโคเอนไซม์คิวเทนมีการดูดกลืนพลังงานสูงสุด เป็น sharp endothermic peak ที่ 56.53°C ซึ่งเป็นจุดหลอมเหลวของโคเอนไซม์คิวเทน ในขณะที่เอทิลเซลลูโลสและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ แสดงการเปลี่ยนแปลงเมื่อดูดกลืนพลังงานความร้อน โดยแสดง endothermic peak ที่กว้าง ที่ 180° และ 130°C ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นลักษณะของ glass transition temperature ของสารพอลิเมอร์ทั้งสอง และพบว่า Physical mixture ที่ประกอบด้วยโคเอนไซม์คิวเทนเอทิลเซลลูโลสและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์นั้นมีการดูดกลืนพลังงานความร้อนเพื่อเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของสาร โดยวัดอุณหภูมิได้ที่ 50.98°C (จุดหลอมเหลว) เมื่อเปรียบเทียบกับโคเอนไซม์คิวเทนพบว่า Physical mixture มีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าแสดงว่าเอทิลเซลลูโลสและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีผลทำให้จุดหลอมเหลวของโคเอนไซม์คิวเทนลดต่ำลง ลักษณะของผลที่แสดงใน thermogram ดังกล่าวนี้ สอดคล้องกับผลที่พบว่าการเตรียมให้เป็น physical mixture มีคุณสมบัติการละลายของโคเอนไซม์คิวเทนดีขึ้น และพบว่าไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนมีการดูดกลืนพลังงานสูงสุดที่ 46.88°C เมื่อเปรียบเทียบกับโคเอนไซม์คิวเทนและ Physical mixture แล้วพบว่าไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าแสดงว่าการเตรียมโคเอนไซม์คิวเทนในรูปไมโครสพอนจ์โดยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion นี้มี

ผลเปลี่ยนแปลงลักษณะสภาพผิวของ โคนเอนไซม์คิวเทน จึงมีผลช่วยให้โคนเอนไซม์คิวเทนมีคุณสมบัติในการละลายที่ดีขึ้น

ค. ผลการเตรียมสูตรตำรับครีมโคนเอนไซม์คิวเทนในรูปการนำส่งแบบไมโครสพอนจ์

ครีมที่ได้มีลักษณะสีเหลืองนวล เนื้อครีมเรียบเนียนมีประกายมุกเล็กน้อย โดยมีอนุภาคสีเหลืองของไมโครสพอนจ์กระจายอยู่ในเนื้อครีมดังรูปที่ 22 เมื่อทำให้ความรู้สึกนุ่มลื่นไม่มัน เหนอะหนะน้อย ติดผิวได้ดี สามารถให้ความชุ่มชื้นแก่ผิว ไม่ให้ความรู้สึกกระคายผิวแต่รู้สึกถึงอนุภาคขนาดเล็กซึ่งเมื่ออนุภาคนั้นจะเล็กลงและหายไปอาจเป็นไปได้ว่าระบบการนำส่ง โคนเอนไซม์คิวเทนด้วยไมโครสพอนจ์นี้สามารถควบคุมการปลดปล่อยโดยอาศัยแรงกดได้อีก นอกเหนือจากการปลดปล่อยโดยการแพร่



รูปที่ 22 แสดงตำรับครีม โคนเอนไซม์คิวเทนในรูปการนำส่งแบบไมโครสพอนจ์ที่เตรียมได้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

การเตรียมระบบนำส่งสารในรูปแบบไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทน ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมให้ได้ไมโครสพอนจ์ที่มีลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี สามารถสรุปผลได้ ดังนี้

1. สภาพที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครสพอนจ์ด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion

- ใช้พอลิเมอร์เป็นเอทิลเซลลูโลส 10 เซนติพอยต์ละลายในอะซิโตนเป็นวัฏภาคภายใน และเติมไตรเอทิลซิเตรทช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับไมโครสพอนจ์ที่ได้

- ใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นสารก่ออิมัลชันในปริมาณครึ่งหนึ่งของพอลิเมอร์ละลายในน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก

- การเตรียมใช้เครื่องปั่นผสมชนิดใบพัด 2 แฉกช่วยในการกวน การผสมสองวัฏภาคเข้าด้วยการโดยการหยดวัฏภาคภายนอกลงวัฏภาคภายในนั้นจะให้ไมโครสพอนจ์ที่มีขนาดเล็กและรูปร่างกลม

- การแยกไมโครสพอนจ์ทำโดยการกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. การเตรียมไมโครสพอนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์คิวเทนด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion

พบว่าอัตราเร็วในการคนมีผลต่อขนาดอนุภาค โดยถ้าเพิ่มอัตราเร็วในการปั่นผสมอนุภาคจะมีขนาดเล็กลง และพบว่าอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสมีผลต่อขนาดอนุภาคเช่นกัน โดยเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของโคเอนไซม์คิวเทนต่อเอทิลเซลลูโลสอนุภาคจะมีขนาดเล็กลง แต่ผลของปัจจัยทั้งสองต่อลักษณะอื่นๆของไมโครสพอนจน์ั้นยังไม่เป็นที่แน่ชัด ดังนั้นในการพัฒนาต่อไปนั้นควรมีการศึกษาปัจจัยและลักษณะอื่นๆเพิ่มเติม

3. การเตรียมสารโคเอนไซม์คิวเทนให้อยู่ในรูปแบบไมโครสพอนจ์ ช่วยให้สารโคเอนไซม์คิวเทนมีการละลายที่ดีขึ้น และปลดปล่อยออกมาได้มากขึ้น

4. การเตรียมไมโครสพอนจ์ของโคเอนไซม์คิวเทนด้วยวิธี Quasi-emulsion solvent diffusion นี้สามารถนำไมโครสพอนจ์ที่เตรียมได้ไปพัฒนาเป็นรูปแบบครีม พบว่าได้ไมโครสพอนจ์ที่มีอนุภาคขนาดเล็ก ไม่รู้สึกสากหรือระคายเคืองเมื่อบทาบนผิว

บรรณานุกรม

- Amrutiya N, Bajaj A, Madan M. Development of Microsponges for Topical Delivery of Mupirocin. *AAPS PharmSciTech*. 2009; 10 (2):402-9.
- Aniruddha M, Leena J, Atul C, Sima S, Prabha M. Formulation and Evaluation of microspunge drug delivery system using indomethacin. *Trop J Pharm Res*. 2011; 2(10):64-9.
- Arora S, Ali J, Ahuja A, Khar RK, Baboota S. Floating Drug Delivery Systems: A Review. *AAPS PharmSciTech*. 2005; 6 (3):372-90.
- Breathnach AS. An Atlas of the Ultrastructure of HumanSkin. London: J.&A. Churchill, 1971.
- Farboud, S. E., Nasrollahi, A. S., & Tabbakhi, Z. (2011). Novel formulation and evaluation of a Q10-loaded solid lipid nanoparticle cream: in vitro and in vivo studies. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 611-7.
- Deutsch TA, Esterly NB. Elastic fibers in fetal dermis. *J Invest Dermatol* 1975; 65: 320-3.
- Grammel H, Ghosh R. Redox-State Dynamics of Ubiquinone-10 Imply Cooperative Regulation of Photosynthetic Membrane Expression in *Rhodospirillum rubrum*. *Journal of Bacteriology*. 2008; 190(14):4912-21.
- Hoppe U, Bergemann J, Diembeck W, Enne J, Gohla S, Harris I, et al. Coenzyme Q10, a cutaneous antioxidant and energizer. *BioFactors*. 1999:371-8.
- Jain V, Singh R. Development and Characterization of Eudragit RS 100 loaded microsponges and its colonic delivery using natural polysaccharides. *Polish Pharmaceutical Society*. 2010; 67(4): 407-15.
- Jain V, Singh R. Dicyclomine-loaded Eudragit®-based Microspunge with Potential for Colonic Delivery: Preparation and Characterization. *Trop J Pharm Res*. 2010; 9(1):67.

- Karpin'ska J, Mikołuc' B, Piotro, J. Application of derivative spectrophotometry for determination of coenzyme Q10 in pharmaceuticals and plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1998; 17:1345-50.
- Kumar S, Tyagi LK, Singh D. Microsponge delivery system (MDS): A unique technology for delivery of active ingredients. *IJPSR*. 2012; 2(12):3069-80.
- McDaniel D, Neudecker B, DiNardo J, Lew J, Maibach H. Clinical efficacy assessment in photodamaged skin of 0.5% and 1.0% idebenone. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2005; 4(3):167-73.
- Nokhodchi A, Jelvehari M, Siah MR, Dastmalchi S. The Effect of Formulation Type on the Release of Benzoyl Peroxide from Microsponges. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2005; 1(3):131-42.
- Ondarroa M, Sharma SK, Qu JP. Solvation Properties of Ubiquinone-10 in Solvents of Different Polarity. *Bioscience Reports*. 1986; 6(9):783-96.
- Panwar A, Yadav C, Yadav P, Darwhekar G, Panwar M, Jain D, et al. Microsponge a novel carrier for cosmetics. *Journal of Global Pharma Technology*. 2009; 3(7):15-24.
- Rathi A, Dhamecha D, Maria S, Dehghan, MH. Development of UV Spectrophotometric method of Idebenone in Bulk and Pharmaceutical Formulation. *Asian J. Research Chem*. 2009; 2(2):168-70.
- Required HLB for Oils/Lipids*. Retrieved December 17, 2012, from http://www.theherbarie.com/files/resource-center/formulating/Required_HLB_for_Oils_and_Lipids.pdf
- Sevgi F, Yurdasiper A, Kaynarsoy B, Turunç E, Güneri T, Yalçın A. Studies on Mefenamic Acid Microparticles: Formulation, In Vitro Release, and In Situ Studies in Rats. *AAPS PharmSciTech*. 2009; 10(1):104-12.

Shaha V, Jain H, Krishna J, P P. Microsponge drug delivery: A Review. *Int. J. Res. Pharm. Sci.*2010; 1(2):212-8.

Thanatuksorn P, Kawai K, Hayakaw M, Hayashi M, Kajiwara K. Improvement of the oral bioavailability of coenzyme Q10 by emulsification. *Food Science and Technology.* 2009; 42: 385-90.

Vyas L, Tapar K, Laddha B, Lahoti A. Formulation and development of anti-blemish preparation using microsponge technology. *J. Chem. Pharm. Res.* 2010; 2(5):562-71.

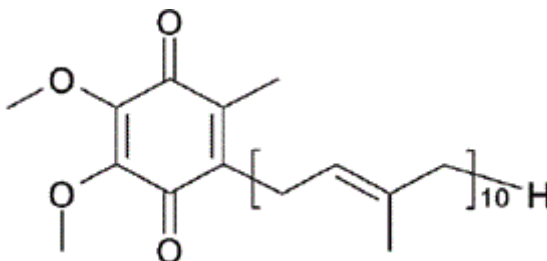
Xia S, Xu S. Improved assay of coenzyme Q10 from liposomes by Tween 80 solubilisation and UV spectrophotometry. *J Sci Food Agric.*2006; 86:2119-27.

นฤมล โพธิ์ศรีทอง. *Coenzyme Q10: Important Information for Pharmacists*. เรียกใช้เมื่อ 12 ธันวาคม 2555 จาก <http://pharmacy.siam.edu/pdf/importantinformationforpharmacists.pdf>

ภาคผนวก ก

Coenzyme Q 10

สูตรโครงสร้าง :



ชื่อพ้อง : Ubidecarenona; Ubidecarenonum; Ubidekarenon; Ubidekarenonas; Ubidekarenoni; Ubiquinone

ชื่อทางเคมี : 2-[(2E,6E,10E,14E,18E,22E,26E,30E,34E)-3,7,11,15,19,23,27,31,35,39-Decamethyltetraconta-2,6,10,14,18,22,26,30,34,38-decaenyl]-5,6-dimethoxy-3-methylcyclohexa-2,5-diene-1,4-dione

CAS Register Number : 303-98-0

สูตรเคมี : $C_{59}H_{90}O_4$

น้ำหนักโมเลกุล : 863.3435 g/mol

หน้าที่ : สารต้านอนุมูลอิสระช่วยชะลอการเสื่อมของเซลล์ผิวหนังจากแสงแดด

ลักษณะทางกายภาพ : ลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองหรือส้ม

ความหนาแน่น : 0.97 g/cm³

จุดเดือด: 869 °C

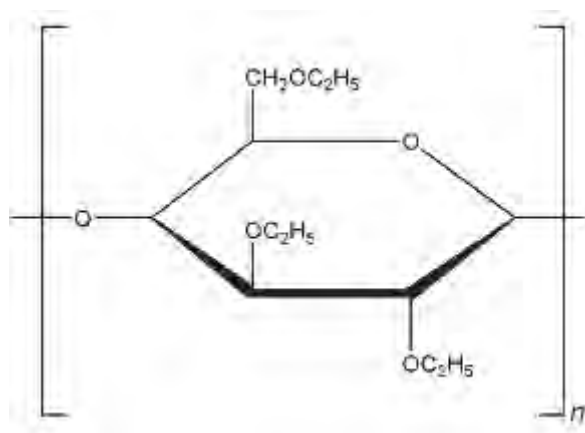
จุดหลอมเหลว : 49-51 °C

การละลาย : เกือบจะไม่ละลายในน้ำ ละลายได้เล็กน้อยในแอลกอฮอล์ที่ขจัดน้ำออกไป และละลายได้ในอะซิโตน และ อีเทอร์

ความคงตัว : ไม่คงตัวต่อแสง และความร้อน ไม่เข้ากันกับสารที่มีเป็น strong oxidizing agents สามารถเกิดการสลายตัว และเปลี่ยนสี โดยมีสีเข้มขึ้นทีละน้อยเมื่อโดนแสง การเก็บรักษาควรเก็บในภาชนะที่ป้องกันอากาศ และป้องกันแสง

Ethyl cellulose

สูตรโครงสร้าง :



ชื่อพ้อง : Aquacoat ECD; Aqualon; Ashacel; E462; Ethocel; ethylcellulosum; Surelease

ชื่อทางเคมี : Cellulose ethyl ether

CAS Register Number : 9004-57-3

สูตรเคมี : $C_{12}H_{23}O_6(C_{12}H_{22}O_5)_n C_{12}H_{23}O_5$

น้ำหนักโมเลกุล : แปรผันตามจำนวน n

หน้าที่ : เป็นโครงสร้างหลักของไมโครสพอนจ์

ลักษณะทางกายภาพ : ผงสีขาวหรือสีเนื้อ ไม่มีรสชาติ

ความหนาแน่น : 0.4 g/cm^3

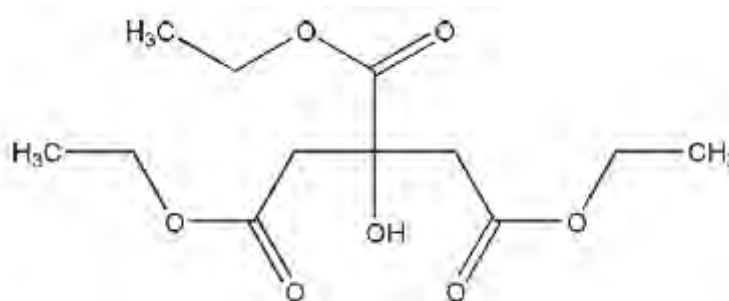
Glass transition temperature : 129–1338C

การละลาย : ไม่ละลายใน glycerin, propylene glycol, และน้ำ Ethylcellulose ที่มีหมู่ ethoxy ไม่ต่ำกว่า 46.5% ละลายใน chloroform, methyl acetate, และ tetrahydrofuran ได้ง่าย Ethylcellulose ที่มีหมู่ ethoxy ไม่ต่ำกว่า 46.5% ละลายได้ง่ายใน chloroform, ethanol (95%), ethyl acetate, methanol, และ toluene

ความคงตัว : มีความคงตัว คุณความชื้นเล็กน้อย ทนด่างได้ดี ไม่ทนกรด จะสลายตัวเมื่อโดนแสงที่อุณหภูมิต่ำ ควรเก็บในที่แห้ง หลีกเลี่ยงความร้อน

Triethyl citrate

สูตรโครงสร้าง :



ชื่อพ้อง : Citric acid ethyl ester; Citroflex 2; Citrofol AI; E1505; ethyl citrate;Hydagen CAT; 1,2,3-propanetricarboxylic acid, 2-hydroxy-,triethyl ester (9CI); TEC; triethylscitras

ชื่อทางเคมี : 2-Hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylic acid triethyl ester

CAS Register Number :77-93-0

สูตรเคมี :C₁₂H₂₀O₇

น้ำหนักโมเลกุล :276.29g/mol

หน้าที่ : plasticizer

ลักษณะทางกายภาพ : ของเหลวใส หนืด ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น

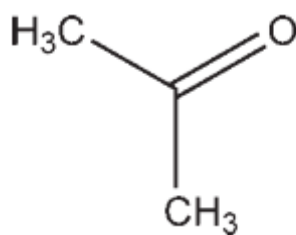
จุดเดือด:249 °C

การละลาย ; ละลายใน peanut oil 1: 125,ในน้ำ 1 : 15 Miscible กับ ethanol (95%), acetone, และ propan-2-ol

ความคงตัว : มีความคงตัวดีเมื่อเก็บในภาชนะที่ปิดสนิท และเก็บในที่เย็น

Acetone

สูตรโครงสร้าง :



ชื่อพ้อง : Acetonum; dimethylformaldehyde; dimethyl ketone; b-ketopro-pane; pyroacetic ether

ชื่อทางเคมี : 2-Propanone

CAS Register Number : 67-64-1

สูตรเคมี : C_3H_6O

น้ำหนักโมเลกุล : 58.08g/mol

หน้าที่ : ตัวทำละลายอินทรีย์

ลักษณะทางกายภาพ : ของเหลวใส ระเหยง่าย ติดไฟได้ มีกลิ่นฉุน

จุดเดือด : 56.2 °C

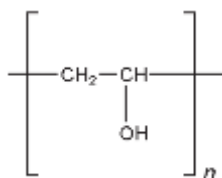
จุดหลอมเหลว : 94.3 °C

การละลาย : ละลายในน้ำ ละลายได้ง่ายใน ethanol 95%

ความคงตัว : ควรเก็บในภาชนะที่เย็น แห้ง และป้องกันแสง

Polyvinyl alcohol

สูตรโครงสร้าง :



ชื่อพ้อง : Airvol; Alcotex; Celvol; Elvanol; Gelvatol; Gohsenol; Lemol; Mowiol; poly(alcohol vinyl-
cus); Polyvinol; PVA; vinyl alcoholpolymer

ชื่อทางเคมี : Ethenol, homopolymer

CAS Register Number : 9002-89-5

สูตรเคมี : $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$

น้ำหนักโมเลกุล : 24000g/mol

หน้าที่ : emulsifying agent

ลักษณะทางกายภาพ : ผลึกสีขาวใส

ความหนาแน่น : 1.19-1.31 g/cm³

จุดหลอมเหลว : 180-190 °C

การละลาย : ละลายในน้ำ, ละลายได้เล็กน้อยใน ethanol (95%); ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์

ความคงตัว : มีความคงตัวดีเมื่อเก็บในภาชนะที่ปิดสนิท ในสถานที่แห้งและเย็น Polyvinyl alcohol
ค่อยๆสลายตัวที่อุณหภูมิ 100 °C และสลายตัวอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 200 °C

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 24 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two Way ANOVA) สำหรับการศึกษขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของไมโครสปีนจ์ที่บรรจุโคเอนไซม์ คิวเทนทั้ง 9 รุ่นการผลิต ด้วยเครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่นMalvern)

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
stiring_rate	1000	9
	1500	9
	2000	9
drug_and_polymer_ratio	1	9
	2	9
	3	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: particle_size

stiring_rate	drug_and_polymer_ratio	Mean	Std. Deviation	N
1000	1	56.89733	2.884359	3
	2	58.27333	1.440561	3
	3	51.79867	1.462933	3
	Total	55.65644	3.443852	9
1500	1	40.18800	13.478192	3
	2	33.02133	.618443	3
	3	33.10400	1.808187	3
	Total	35.43778	7.682597	9
2000	1	31.55367	.374252	3
	2	29.12467	.555118	3
	3	23.23033	.036828	3
	Total	27.96956	3.721899	9
Total	1	42.87967	13.116295	9
	2	40.13978	13.729639	9
	3	36.04433	12.619190	9
	Total	39.68793	12.966343	27

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: particle_size

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3974.681 ^a	8	496.835	22.549	.000
Intercept	42528.550	1	42528.550	1930.209	.000
stiring_rate	3693.398	2	1846.699	83.815	.000
drug_and_polymer_ratio	213.004	2	106.502	4.834	.021
stiring_rate * drug_and_polymer_ratio	68.279	4	17.070	.775	.556
Error	396.596	18	22.033		
Total	46899.827	27			
Corrected Total	4371.277	26			

a. R Squared = .909 (Adjusted R Squared = .869)

Post Hoc Tests

stiring_rate

Multiple Comparisons

Dependent Variable: particle_size

	(I) stiring_rate	(J) stiring_rate	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	1000	1500	20.21867*	2.212747	.000	15.56986	24.86748
		2000	27.68689*	2.212747	.000	23.03808	32.33570
	1500	1000	-20.21867*	2.212747	.000	-24.86748	-15.56986
		2000	7.46822*	2.212747	.003	2.81941	12.11703
	2000	1000	-27.68689*	2.212747	.000	-32.33570	-23.03808
		1500	-7.46822*	2.212747	.003	-12.11703	-2.81941
Dunnett t (2-sided) ^a	1000	2000	27.68689*	2.212747	.000	22.37947	32.99431
	1500	2000	7.46822*	2.212747	.006	2.16080	12.77564

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Dunnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.

drug_and_polymer_ratio

Multiple Comparisons

Dependent Variable: particle_size

	(I) drug_and_polymer_ratio	(J) drug_and_polymer_ratio	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	1	2	2.73989	2.212747	.232	-1.90892	7.38870
		3	6.83533*	2.212747	.006	2.18652	11.48414
	2	1	-2.73989	2.212747	.232	-7.38870	1.90892
		3	4.09544	2.212747	.081	-.55337	8.74425
	3	1	-6.83533*	2.212747	.006	-11.48414	-2.18652
		2	-4.09544	2.212747	.081	-8.74425	.55337
Dunnett t (2-sided) ^a	1	3	6.83533*	2.212747	.012	1.52791	12.14276
	2	3	4.09544	2.212747	.141	-1.21198	9.40287

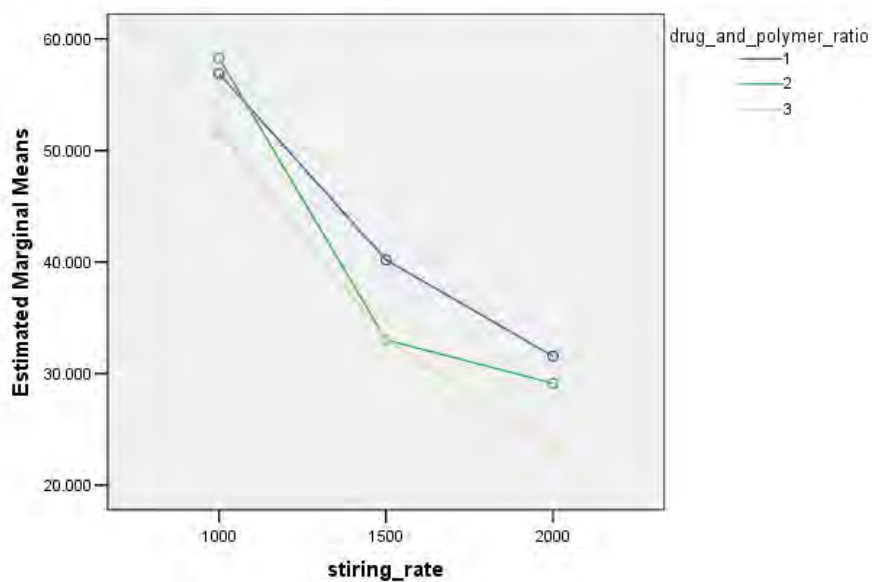
Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Dunnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.

Profile Plots

Estimated Marginal Means of particle_size



รูปที่ 23 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two Way ANOVA) สำหรับการศึกษขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของไมโครสโพนจี้ที่บรรจุโคเอนไซม์ คิวเทนทั้ง 9 รุ่นการผลิต ด้วยเครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่นMalvern)

ตารางที่ 25 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two Way ANOVA) สำหรับการศึกษาการปลดปล่อยโคเอนไซม์คิวเทนจากไมโครสฟอนจ์

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
stiring_rate	1000	9
	1500	9
	2000	9
drug_and_polymer_ratio	1	9
	2	9
	3	9

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Release

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.344 ^a	8	.043	88.354	.000
Intercept	24.086	1	24.086	49544.778	.000
stiring_rate	.061	2	.031	62.894	.000
drug_and_polymer_ratio	.078	2	.039	79.979	.000
stiring_rate * drug_and_polymer_ratio	.205	4	.051	105.271	.000
Error	.009	18	.000		
Total	24.438	27			
Corrected Total	.352	26			

a. R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .964)

Post Hoc Tests

stiring_rate

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Release

	(I) stiring_rate	(J) stiring_rate	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	1000	1500	-.0438*	.01039	.001	-.0657	-.0220
		2000	-.1155*	.01039	.000	-.1373	-.0936
	1500	1000	.0438*	.01039	.001	.0220	.0657
		2000	-.0716*	.01039	.000	-.0935	-.0498
	2000	1000	.1155*	.01039	.000	.0936	.1373
		1500	.0716*	.01039	.000	.0498	.0935
Dunnett t (2-sided) ^a	1000	2000	-.1155*	.01039	.000	-.1404	-.0905
	1500	2000	-.0716*	.01039	.000	-.0966	-.0467

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Dunnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.

drug_and_polymer_ratio

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Release

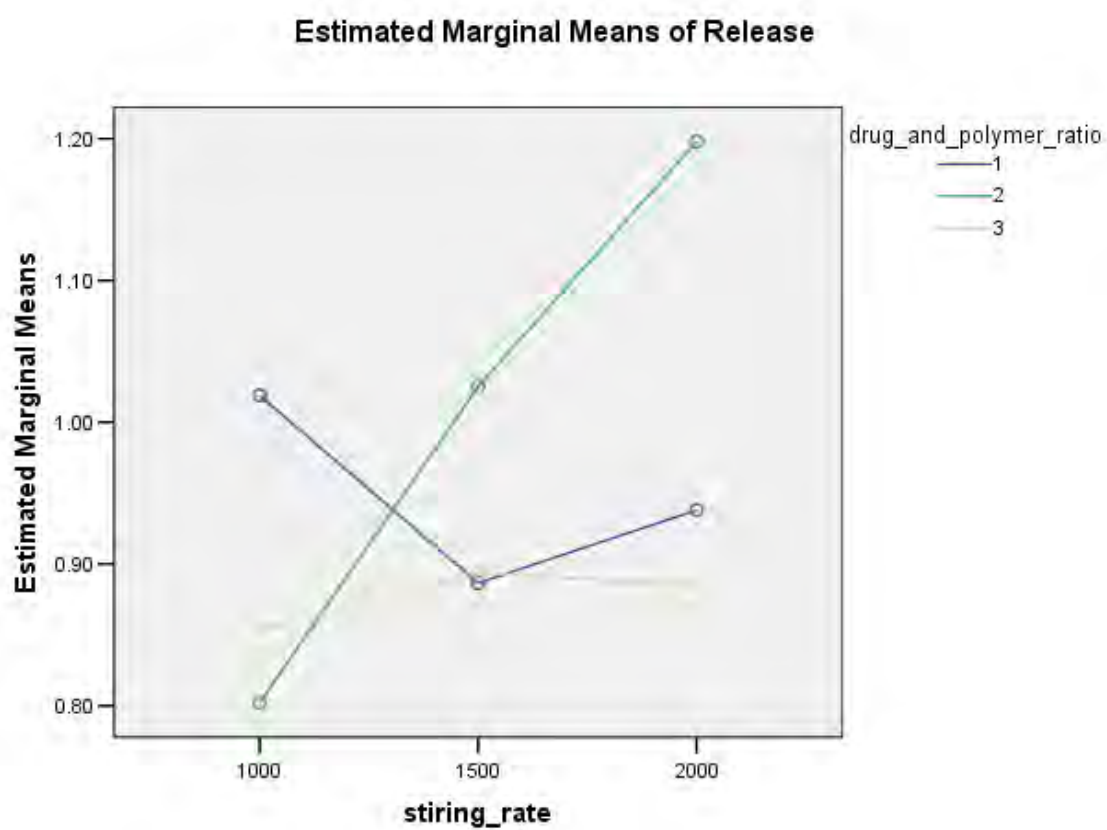
	(I) drug_and_polymer_ratio	(J) drug_and_polymer_ratio	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	1	2	-.0607*	.01039	.000	-.0825	-.0389
		3	.0706*	.01039	.000	.0488	.0925
	2	1	.0607*	.01039	.000	.0389	.0825
		3	.1313*	.01039	.000	.1095	.1532
	3	1	-.0706*	.01039	.000	-.0925	-.0488
		2	-.1313*	.01039	.000	-.1532	-.1095
Dunnett t (2-sided) ^a	1	3	.0706*	.01039	.000	.0457	.0956
	2	3	.1313*	.01039	.000	.1064	.1563

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Dunnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.

Profile Plots



รูปที่ 24 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two Way ANOVA) สำหรับการศึกษการปลดปล่อยโคเอ็นไซม์คิวเทนจากไมโครสพอนจ์

ภาคผนวก ก

เครื่องมือและอุปกรณ์



รูปที่ 25 กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (OLYMPUS® สหรัฐอเมริกา, รุ่น IX51)



รูปที่ 26 แสดงเครื่องกวนสารแบบใบพัด (Propeller type mixer, EUROSTAR digital IKA WERKE)



รูปที่ 27 แสดงเครื่องชั่งน้ำหนัก 3 ตำแหน่ง(METTLER TOLEDO® ไทย, รุ่น AG 285)



รูปที่ 28 แสดงเครื่องชั่งน้ำหนัก 5 ตำแหน่ง(METTLER TOLEDO® ไทย, รุ่น PG 403-S)



รูปที่ 29 แสดงเครื่องทำแห้งเยือกแข็งชนิดเสียบ (DURA-DRY MP[®]ไทย)



รูปที่ 30 เครื่องวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค (Mastersizer-S, รุ่น Malvern)



รูปที่ 31 แสดงเครื่องกวนด้วยเครื่องความถี่ (Sonicator, CREST ULTRASONIC, สหรัฐอเมริกา, รุ่น 275DAE)



รูปที่ 32 แสดงเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV spectrophotometer, SHIMADZU® ญี่ปุ่น, รุ่น UV-160A)