

การเตรียมและคุณลักษณะของเมตาดาต้าสำหรับคลังปัญญาจุฬาฯ

สำหรับการประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อย



นางสาวนทอร ชูมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PREPARATION AND CHARACTERISTICS OF ALGINATE/HYALURONIC ACID BLENDED BEADS
FOR CONTROLLED RELEASE APPLICATION



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมและคุณลักษณะของเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิค สำหรับการประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อย
โดย	นางสาวนทอร ชูมา
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.จุฑามาศ รัตนวราภรณ์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อนงค์นาฏ สมหวังธนาโรจน์)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร.จุฑามาศ รัตนวราภรณ์)
.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไศรดา กนกพานนท์)
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ วรมงคลชัย)

นทอร ชูมา : การเตรียมและคุณลักษณะของเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก สำหรับการประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อย (PREPARATION AND CHARACTERISTICS OF ALGINATE/HYALURONIC ACID BLENDED BEADS FOR CONTROLLED RELEASE APPLICATION) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ดร.จุฑามาศ รัตนวารภรณ์, 131 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกเพื่อประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยเงินตามัยซิน ซึ่งเตรียมเม็ดปิดผสมในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนัก AL70HA30, AL50HA50 และ AL70HA30 โดยเทคนิคเชื่อมขวางด้วยไอออน และปรับปรุงความคงตัวของเม็ดปิดด้วยเทคนิคการเคลือบชั้นต่อชั้น โดยใช้วัสดุ 2 ชนิดที่มีความแตกต่างกันทางประจุ ได้แก่ เจลาตินชนิดเอที่มีประจุบวก และอัลจิเนตที่มีประจุลบ ที่จำนวนชั้นเคลือบ 1, 2, 4 และ 8 ชั้น จากผลการศึกษาพบว่า เม็ดปิดเปียกมีลักษณะค่อนข้างกลม โดยเม็ดปิดมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกในสารละลายผสมมากขึ้นเนื่องจากความหนืดของสารละลายผสมมาก เมื่อทดสอบความคงตัวของเม็ดปิดโดยเก็บรักษาเม็ดปิดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า เม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกไม่เกินร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้น มีร้อยละน้ำหนักเปียกหายไปน้อยและมีปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกคงเหลือในเม็ดปิดมาก เมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมาก เนื่องจากเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจิเนตมากจะมีค่าศักย์ゼต้าเป็นลบมากส่งผลให้มีโอกาสในการเชื่อมขวางด้วยไอออนและเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตในขั้นตอนการก่อตัวเป็นเม็ดปิดและขั้นตอนการเคลือบที่แข็งแรงกว่าให้กับเม็ดปิด งานวิจัยนี้จึงเลือกเม็ดปิดทั้งสองสูตรข้างต้นไปทำแห้งโดยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็งโดยเม็ดปิดแห้งมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 0.92-1.39 มิลลิเมตร ผลการทดสอบความสามารถในการบวมน้ำของเม็ดปิดแห้ง พบว่า เม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมากจะมีความสามารถในการบวมน้ำมากกว่า โดยเม็ดปิดที่แห้งในสารละลายนอร์มัลซาลินมีความสามารถในการบวมน้ำมากกว่ากรณีแช่ในน้ำปราศจากไอออนหลายสิบเท่า เมื่อทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ พบว่า เม็ดปิดแห้งที่มีสัดส่วนของอัลจิเนตมากจะถูกย่อยสลายช้ากว่าเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมาก เมื่อนำเม็ดปิดแห้งไปดูดซับเงินตามัยซิน พบว่า เม็ดปิดมีประสิทธิภาพในการดูดซับเงินตามัยซินประมาณ 69-89 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณเงินตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ในเม็ดปิดประมาณ 0.26-0.47 มิลลิกรัม/เม็ดปิด 1 มิลลิกรัม โดยเม็ดปิดแห้งที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมากสามารถดูดซับเงินตามัยซินมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญเนื่องจากมีความสามารถในการบวมน้ำสูง เม็ดปิดแห้งนี้สามารถปลดปล่อยเงินตามัยซินภายใต้สภาวะจำลองข้ออักเสบโดยอาศัยกลไกการปลดปล่อยแบบการแพร่และการย่อยสลายของเม็ดปิด ประกอบกับแรงอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างประจุลบของเม็ดปิดและประจุบวกของเงินตามัยซิน ซึ่งเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจิเนตมากสามารถชะลอการปลดปล่อยเงินตามัยซินได้มากกว่าเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมาก ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด *E.coli* และแบคทีเรียแกรมบวกชนิด *S.aureus* ในระดับห้องปฏิบัติการ ของเม็ดปิดที่ดูดซับเงินตามัยซิน พบว่า สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ แสดงถึงความเป็นไปได้ในการใช้เป็นระบบควบคุมการปลดปล่อย

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5670186521 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: ALGINATE, HYALURONIC ACID, GELATIN, IONIC CROSSLINKING, LAYER-BY-LAYER COATING TECHNIQUES

NATHAON CHUMA: PREPARATION AND CHARACTERISTICS OF ALGINATE/HYALURONIC ACID BLENDED BEADS FOR CONTROLLED RELEASE APPLICATION. ADVISOR: ASSOC. PROF. SIRIPORN DAMRONGSAKKUL, CO-ADVISOR: DR.JUTHAMAS RATANAVARAPORN, Ph.D., 131 pp.

This research aimed to develop beads from alginate (AL) blended with hyaluronic acid (HA) for the controlled release of gentamicin. The AL/HA beads at different weight ratios; AL70HA30, AL50HA50 and AL30HA70, were fabricated by ionic crosslinking technique. To stabilize the beads, layer-by-layer coating technique using oppositely charged species; type A gelatin (positive charge) and AL solutions (negative charge), at 1, 2, 4 and 8 layers. The results showed that the AL/HA beads were in relatively spherical form. The average size of obtained beads increased when increasing HA content, due to the higher viscosity of solutions. The stability test of beads at 4 °C showed that the beads containing HA not more than 50wt% with two-layered coating had little wet weight loss (%) and high remaining content of HA contents in the beads. This might be the result of the more negative charge, of stronger attraction ionic crosslinking and electrostatic interaction in the formation and coating process of the beads. After lyophilization technique, the average size of dried beads were 0.92-1.39 mm. The dried beads were swollen more when increasing HA content and immersed in normal saline solution compared to in DI water. It was found that that the beads with high AL content were degraded slower than the one with high HA content. It was observed that gentamicin could be adsorbed into the beads with the entrapment efficiency of 69-89% and the drug loading of 0.26-0.47 mg/1 mg of bead. The bead with higher HA content could absorb more gentamicin due to the greater swelling ability. When the release of gentamicin from the beads in simulated synovial fluid solution was tested, it was found that the beads with high AL content could prolong the release of gentamicin. The release kinetics were governed by diffusion and degradation mechanisms combined with electrostatic interaction between negative charge (beads) with positive charge (gentamicin). The *in vitro* antibacterial susceptibility test showed that the beads effectively inhibited the growth of bacterial, indicating the possibility of applying the beads as controlled release systems.

Department: Chemical Engineering

Field of Study: Chemical Engineering

Academic Year: 2016

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือและการสนับสนุนจากหลายท่าน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. จุฬามาศ รัตนวราภรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม เป็นอย่างสูงสำหรับการให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ รวมถึงการวางแผนการวิจัย แนวทางในการดำเนินงานวิจัย การตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ และการอบรมให้ความรู้ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบ ซึ่งได้แก่ รองศาสตราจารย์ ดร. อนงค์นาฏ สมหวังธนโรจน์ ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ไศรดา กนกพานนท์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ วรมงคลชัย กรรมการ ที่ท่านได้สละเวลาอันมีค่ามาสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำต่างๆ มากมาย

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการวิศวกรรมวัสดุการแพทย์ และห้องปฏิบัติการวิศวกรรมพอลิเมอร์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ และศูนย์เครื่องมือวิเคราะห์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับสถานที่และอุปกรณ์ในการดำเนินการทดลอง รวมทั้งเอื้อเฟื้อเครื่องมือในการวิเคราะห์ข้อมูลที่ใช้ในงานวิจัย

ขอขอบคุณ คุณรุ่งนภา แยมเดช คุณกันยาลักษณ์ แก้วประสิทธิ์ และคุณปิยะรัตน์ สังขพันธุ์ รวมถึงพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ สำหรับกำลังใจ คำแนะนำ และการให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านสำหรับการดำเนินการวิจัย

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวที่คอยให้กำลังใจ คำปรึกษา และสนับสนุนการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา ทำให้ผู้วิจัยก้าวผ่านอุปสรรคต่างๆ และดำเนินงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ.....	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ระบบควบคุมการปลดปล่อย (Controlled release system).....	6
2.1.1 ข้อดีและข้อเสียของระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย.....	7
2.1.2 กลไกที่ใช้ควบคุมการปลดปล่อยยาผ่านพอลิเมอร์เมทริกซ์.....	8
2.1.2.1 กลไกควบคุมการปลดปล่อยโดยการแพร่ (diffusion control release).....	9
2.1.2.3 กลไกควบคุมการปลดปล่อยโดยการบวมตัว (swelling control release) ..	10
2.2 ชีววัสดุ (Biomaterials).....	11
2.2.1 อัลจีเนต (Alginate).....	11
2.2.1.1 โครงสร้างของอัลจีเนต.....	11
2.2.1.2 สมบัติของอัลจีเนต.....	12
2.2.1.3 การเกิดเจลของอัลจีเนตโดยใช้เทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออน (Ionic crosslinking).....	13
2.2.1.4 การประยุกต์ใช้งานของอัลจีเนต.....	16
2.2.2 กรดไฮยาลูรอนิก (Hyaluronic acid, HA).....	17

2.2.2.1	โครงสร้างของกรดไฮยาลูรอนิก	18
2.2.2.2	สมบัติของกรดไฮยาลูรอนิก	19
2.2.2.3	การประยุกต์ใช้งานของกรดไฮยาลูรอนิก	20
2.2.3	เจลาติน (Gelatin).....	21
2.2.3.1	โครงสร้างของเจลาติน	21
2.2.3.2	ประเภทของเจลาติน	21
2.2.3.3	สมบัติของเจลาติน.....	24
2.2.3.4	การประยุกต์ใช้งานของเจลาติน.....	25
2.3	เจนตามัยซิน (Gentamicin)	25
2.3.1	โครงสร้างของเจนตามัยซิน	26
2.3.2	สมบัติโดยทั่วไปของเจนตามัยซิน	27
2.3.3	กลไกการออกฤทธิ์ของเจนตามัยซิน	27
2.3.4	การประยุกต์ใช้เจนตามัยซินในการรักษาโรค	27
2.4	โรคข้ออักเสบติดเชื้อ (Septic Arthritis).....	29
2.4.1	เชื้อก่อโรค	29
2.4.2	สาเหตุของการเกิดโรค	30
2.4.3	แนวทางการรักษา.....	30
2.5	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	34
2.5.1	ระบบที่ประกอบด้วยอัลจินต กรดไฮยาลูรอนิก และเจลาติน สำหรับประยุกต์ใช้ใน งานด้านการแพทย์และระบบนำส่งยา	34
2.5.2	การพัฒนาปีดอัลจินตร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้ในระบบนำส่ง	35
2.5.3	การพัฒนาชีววัสดุเพื่อใช้ในระบบนำส่งเจนตามัยซิน	39
บทที่ 3	วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย	44

3.1 วัสดุและสารเคมี.....	44
3.2 อุปกรณ์.....	45
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	46
3.3.1 การขึ้นรูปเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก.....	47
3.3.2 การวิเคราะห์คุณลักษณะของสารละลายที่ใช้ในการขึ้นรูป	51
3.3.2.1 การวิเคราะห์ความหนืดปรากฏของสารละลาย (Apparent viscosity).....	51
3.3.2.2 การวิเคราะห์ค่าศักย์เซต้าของสารละลาย (Zeta potential).....	51
3.3.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต	51
3.3.3.1 การวิเคราะห์รูปร่างและขนาดของเม็ดปิดเปียก.....	51
3.3.3.2 การวิเคราะห์ความคงตัวของเม็ดปิดเปียก.....	51
3.3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเปียก	52
3.3.3.4 การวิเคราะห์โครงสร้างสัณฐานของเม็ดปิด.....	54
3.3.3.5 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเม็ดปิด.....	54
3.3.4 การวิเคราะห์คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต	55
3.3.4.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการบวมตัวของเม็ดปิดแห้ง.....	55
3.3.4.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (in vitro biodegradability) ของเม็ดปิด.....	55
3.3.4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับเงินตามัยซินของเม็ดปิด	56
3.3.4.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยเงินตามัยซินที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ (Simulated arthritis synovial fluid)	57

3.3.4.5 ประสิทธิภาพของเงินตามยี่ซิงที่ถูกดูดซับบนเม็ดปิดในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ในระดับห้องปฏิบัติการ (In vitro antibacterial susceptibility test).....	58
3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	58
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	59
4.1 คุณลักษณะของสารละลายที่ใช้ในการขึ้นรูป	59
4.1.1 ค่าความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) ของสารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก.....	59
4.1.2 ค่าศักย์เซต้าของสารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก	60
4.2 คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต.....	63
4.2.1 รูปร่างและขนาดของเม็ดปิดเปียก.....	63
4.2.2 ความคงตัวของเม็ดปิดเปียกที่ผ่านการเคลือบ	66
4.2.3 ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเปียกที่ผ่านการเคลือบ.....	74
4.2.4 โครงสร้างสัณฐานของเม็ดปิด.....	77
4.2.5 โครงสร้างทางเคมีของเม็ดปิด.....	79
4.3 คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดแห้งระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต	83
4.3.1 ความสามารถในการบวมตัวของเม็ดปิดแห้ง	83
4.3.2 ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (in vitro biodegradability) ของเม็ดปิด.....	88
4.3.3 ความสามารถในการดูดซับเงินตามยี่ซิงของเม็ดปิด	89

4.3.4 ความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ (Simulated arthritis synovial fluid)	91
4.3.5 ประสิทธิภาพของเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับบนเม็ดปิดในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ แบคทีเรีย ในระดับห้องปฏิบัติการ (<i>In vitro</i> antibacterial susceptibility test) ...	96
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	101
5.1 สรุปผลการทดลอง	101
5.2 ข้อเสนอแนะ	104
รายการอ้างอิง	105
ภาคผนวก ก กราฟมาตรฐานของ N-acetyl-D-glucosamine ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดไฮ ยาลูรอนิกที่คงเหลือในเม็ดปิดเปียกที่ผลิตได้	117
ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐานของเจนนตามัยซินในสารละลาย tri-sodium citrate ที่ใช้ วิเคราะห์ปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ของเม็ดปิดแห้งที่ผลิตได้	119
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานของเจนนตามัยซินในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบ ที่ใช้ วิเคราะห์ปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยออกจากเม็ดปิดแห้งที่ผลิตได้	121
ภาคผนวก ง กราฟการปลดปล่อยสะสมเจนนตามัยซินที่เวลาใดๆ	123
ภาคผนวก จ การประเมินกลไกการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินของเม็ดปิดผสม ระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Higuchi และ Hixson-Crowell	124
ภาคผนวก ฉ การคำนวณปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลือในเม็ดปิดเปียกที่ผลิตได้	125
ภาคผนวก ช เอกสารกำกับยาของเม็ดปิดเจนนตามัยซิน (Herafill beads G) บริษัท Heraeus Medical	128
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	131

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่พบในอวัยวะต่างๆ ของหนู.....	18
ตารางที่ 2.2 น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูรอนิกจากแหล่งต่างๆ.....	18
ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่พบในเจลาตินชนิดเอและบี	23
ตารางที่ 2.4 การเปรียบเทียบสมบัติของเจลาตินชนิดเอและบี.....	24
ตารางที่ 2.5 ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมสำหรับเชื้อก่อโรค	31
ตารางที่ 2.6 สมบัติของน้ำไขข้อจากข้อปกติเทียบกับน้ำไขข้อสภาวะข้ออักเสบติดเชื้อ	33
ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างงานวิจัยในการพัฒนาปิดอัลจินตร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้ในระบบนำส่ง.....	35
ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ระบบควบคุมการปลดปล่อยเอนตามัยซิน	39
ตารางที่ 3.1 เม็ดปิดอัลจินต/กรดไฮยาลูรอนิก ที่อัตราส่วนผสมโดยน้ำหนักและจำนวน ชั้นเคลือบต่างๆ	49
ตารางที่ 4.1 ค่าความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) ของสารละลายอัลจินต สารละลาย กรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรด ไฮยาลูรอนิก โดยมีความเข้มข้นของของแข็งรวม 1% โดยน้ำหนัก ในน้ำปราศจากไอออน (pH~6) อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส	60
ตารางที่ 4.2 ค่าศักย์เสถียรของสารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลาย เจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก โดยมีความเข้มข้นของ ของแข็งรวม 0.5% โดยน้ำหนัก ในน้ำปราศจากไอออน (pH~6).....	62
ตารางที่ 4.3 ขนาดของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่อัตราส่วนการ ผสมโดยน้ำหนักและจำนวนชั้นเคลือบต่างๆ	65
ตารางที่ 4.4 สรุปตำแหน่งพิกัดการส่องผ่านรังสีอินฟราเรดที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะของ อัลจินต กรดไฮยาลูรอนิก และเจลาตินชนิดเอ ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง	82
ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพในการดูดซับเอนตามัยซินและปริมาณเอนตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ใน เม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต ที่ดูดซับเอนตามัย ซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	90

ตารางที่ 4.6 ค่าคงที่สำหรับการปลดปล่อยเงินตามยจีน (Release constant; k) ตัวเลขชี้กำลังการปลดปล่อย (Release exponent; n) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R^2) ภายใต้สภาวะควบคุมการปลดปล่อยจำลองข้ออักเสบ ของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต และดูตซ์บสารละลายเงินตามยจีนความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 95

ตารางที่ 4.7 ขนาดของโซนใส (clear zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) และแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น และดูตซ์บเงินตามยจีนความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (กลุ่มตัวอย่าง)..... 99

ตารางที่ 4.8 ขนาดของโซนใส (clear zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) และแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น และไม่ผ่านการดูตซ์บเงินตามยจีน (กลุ่มควบคุมเชิงลบ) 100

ตารางที่ จ.1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R^2) ภายใต้สภาวะควบคุมการปลดปล่อยจำลองข้ออักเสบ ของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต และดูตซ์บสารละลายเงินตามยจีนความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 124

ตารางที่ ฉ.1 ร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก ในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต เทียบกับกรดไฮยาลูรอนิกที่มีเริ่มต้น 125

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาในร่างกายผู้ป่วยที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการให้ยาด้วย (a) ระบบนำส่งยาแบบทั่วไป (b) ระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย	7
รูปที่ 2.2 กลไกการปลดปล่อยยาโดยการแพร่ผ่านพอลิเมอร์เมทริกซ์	9
รูปที่ 2.3 กลไกการปลดปล่อยยาโดยการย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิเมอร์เมทริกซ์	10
รูปที่ 2.4 กลไกการปลดปล่อยยาโดยการบวมตัวของพอลิเมอร์เมทริกซ์	10
รูปที่ 2.5 สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลในวงศ์ Phaeophyceae	11
รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของอัลจิเนต	12
รูปที่ 2.7 ลักษณะโครงสร้างของ egg-box ที่เกิดจากปฏิกริยาระหว่างแคลเซียมไอออนกับ หมู่คาร์บอกซิลของอัลจิเนตส่วนจีบลิ้อค	14
รูปที่ 2.8 วิธีการเกิดเจลภายนอกของอัลจิเนต (External gelation)	15
รูปที่ 2.9 วิธีการเกิดเจลภายในของอัลจิเนต (Internal gelation)	15
รูปที่ 2.10 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูรอนิค	19
รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของเจลาติน	21
รูปที่ 2.12 ขั้นตอนการผลิตเจลาตินชนิดเอและบี	22
รูปที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของเจนตามัยซิน	26
รูปที่ 3.1 แผนผังการดำเนินงานวิจัย	46
รูปที่ 3.2 อุปกรณ์ขึ้นรูปเม็ดบีดเม็ดบีดอัลจิเนต/กรดไฮยาลูรอนิค	50
รูปที่ 3.3 ปฏิกริยา Elson-Morgan assay	53
รูปที่ 4.1 คุณสมบัติของหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งสายโซ่ข้าง (side chain)	61
รูปที่ 4.2 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงลักษณะรูปร่างของเม็ดบีดเปียกผสม ระหว่างอัลจิเนต และกรดไฮยาลูรอนิคที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักและจำนวนชั้นเคลือบต่างๆ ภายหลังจากขึ้นรูปด้วยวิธีการเชื่อมขวางด้วยไอออน และเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลักับอัลจิเนต	64

รูปที่ 4.3	ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต ภายหลังจากเก็บเม็ดปิดเปียกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0-7 วัน.....	67
รูปที่ 4.4	การเชื่อมขวางด้วยไอออนระหว่างแคลเซียมไอออนกับหมู่คาร์บอกซิลส่วนจับลึกลับของอัลจินเต เกิดการเรียงตัวเป็นชั้นอย่างเป็นระเบียบแบบโครงสร้างกล่องไข่ “egg-box model”	68
รูปที่ 4.5	การเชื่อมขวางด้วยไอออนระหว่างแคลเซียมไอออนกับหมู่คาร์บอกซิลส่วนจับลึกลับของอัลจินเต ที่ส่งผลต่อการเกี่ยวพันกันระหว่างสายโซ่อัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกภายในเม็ดปิดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบในอัตราส่วนการผสมต่างๆ.....	69
รูปที่ 4.6	ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต ภายหลังจากเก็บเม็ดปิดเปียกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน.....	70
รูปที่ 4.7	หมู่ที่เกิดการเชื่อมขวางด้วยไอออนและเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตในขั้นตอนการก่อตัวเป็นเม็ดปิดและขั้นตอนการเคลือบของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิก (ก) เม็ดปิดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ และ (ข) เม็ดปิดที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบชั้นต่อชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต จำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น	72
รูปที่ 4.8	ร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิก ในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต เมื่อเทียบกับกรดไฮยาลูรอนิกที่มีเริ่มต้น.....	74
รูปที่ 4.9	โครงสร้างสัณฐานของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินเตและผสมกรดไฮยาลูรอนิก ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ (AL70HA30_0 และ AL50HA50_0) และผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2 โดยถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หลังผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยเทคนิคแห้งที่สารละลายอินทรีย์ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวภายใต้อุณหภูมิและความดันวิกฤติ (Critical point drying).....	78

รูปที่ 4.10 สเปกตรัมค่าส่องผ่านรังสีอินฟราเรดของเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ไม่เคลือบและเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียรทรานสฟอร์ม อินฟราเรด สเปคโตรสโคปี (FTIR) 81

รูปที่ 4.11 โครงสร้างสัญญาณของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) หลังทำแห้งด้วยกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยถ่ายจากกล้องดิจิตอล และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด 84

รูปที่ 4.12 สัดส่วนการบวมน้ำของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและผสมกรดไฮยาลูรอนิก ที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) เมื่อแช่ในน้ำปราศจากไอออน (pH=6) และสารละลายนอร์มัลซาไลน์ (pH=5.87) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ..... 86

รูปที่ 4.13 ลักษณะทางกายภาพและสัดส่วนการบวมน้ำของเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก ที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) ก่อนและหลังแช่ในน้ำปราศจากไอออน (pH=6) และสารละลายนอร์มัลซาไลน์ (pH=5.87) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 87

รูปที่ 4.14 ร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก ที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) ภายหลังจากแช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาไลน์ 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง 88

รูปที่ 4.15 ร้อยละการปลดปล่อยสะสมเจนนตามัยซินของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต และดูดซับเจนนตามัยซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังจากแช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30

เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาไลน์ 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง.....	93
รูปที่ ก.1 กราฟสแกนหาความยาวคลื่นที่มีค่าดูดกลืนแสงมากที่สุดของสารละลาย N-acetyl-D-glucosamine ความเข้มข้นต่างๆ	117
รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 528 นาโนเมตร ของสารละลาย N-acetyl-D-glucosamine ความเข้มข้นต่างๆ	118
รูปที่ ข.1 กราฟสแกนหาความยาวคลื่นที่มีค่าดูดกลืนแสงมากที่สุดของสารละลาย เจนตามัยซินความเข้มข้นต่างๆ ที่ละลายในสารละลาย tri-sodium citrate ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร	119
รูปที่ ข.2 กราฟมาตรฐานของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 244 นาโนเมตร ของสารละลาย เจนตามัยซินความเข้มข้นต่างๆ ที่ละลายในสารละลาย tri-sodium citrate ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร.....	120
รูปที่ ค.1 กราฟสแกนหาความยาวคลื่นที่มีค่าดูดกลืนแสงมากที่สุดของสารละลาย เจนตามัยซินความเข้มข้นต่างๆ ที่ละลายในสารละลายจำลองสภาวะข้ออักเสบ ซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาไลน์ 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2.....	121
รูปที่ ค.2 กราฟมาตรฐานของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 244 นาโนเมตร ของสารละลาย เจนตามัยซินความเข้มข้นต่างๆ ที่ละลายในสารละลายจำลองสภาวะข้ออักเสบ ซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาไลน์ 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2	122

รูปที่ ง.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเงินตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลา t (M_t) หารด้วยปริมาณเงินตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลานั้น (M_∞) เทียบกับเวลาในการปลดปล่อยเงินตามัยซินของเม็ดปัด ภายใต้สภาวะจำลองข้ออักเสบ ซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาไลน์ 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2..... 123



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของงานวิจัย

ในปัจจุบันระบบนำส่งยา (drug delivery systems) ได้รับความสนใจและนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านการแพทย์และเภสัชกรรมกันอย่างแพร่หลาย โดยมีการพัฒนาระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย (controlled release drug delivery systems) ในรูปแบบของอนุภาคทรงกลม เม็ดปิด แผ่นฟิล์ม เป็นต้น ที่สามารถนำส่งยาสู่อวัยวะเป้าหมายในร่างกายได้ตามต้องการ สามารถควบคุมให้มีการปลดปล่อยยาในอัตราและปริมาณที่กำหนดในระยะเวลาที่นานขึ้น ช่วยรักษาความคงตัวของยา ลดความถี่ในการให้ยา และลดผลข้างเคียงที่เป็นพิษจากการได้รับยาเกินขนาด อีกทั้งช่วยลดค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลให้กับผู้ป่วยอีกด้วย [1-3]

พอลิเมอร์ทางธรรมชาติที่นิยมนำมาใช้เป็นวัสดุในการผลิตระบบนำส่งยา ได้แก่ อัลจิเนต ซึ่งจัดเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านวัสดุชีวภาพเนื่องจากมีความสามารถละลายน้ำได้ ไม่ก่อให้เกิดการแพ้ ไม่เป็นพิษกับร่างกาย มีความเข้ากันได้ดีทางชีวภาพ และสามารถย่อยสลายได้ดีทางชีวภาพ [4] โดยมีรายงานการวิจัย พบว่า อัลจิเนตมีความสามารถในการกักเก็บได้อย่างรวดเร็วในสารละลายที่มีไอออนประจุบวกสองได้ในรูปแบบของเม็ดปิดแคลเซียมอัลจิเนต โดยการใช้การเชื่อมขวางด้วยไอออน (Ionic crosslinking) โดยเม็ดปิดที่ผลิตได้สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุในระบบนำส่งยาที่สามารถกักเก็บหรือดูดซับสารสำคัญไว้ภายในเม็ดปิด โดยมีข้อดี คือ เป็นระบบนำส่งที่เตรียมได้ง่ายโดยใช้เครื่องมือไม่ซับซ้อน [5,6] พอลิเมอร์ธรรมชาติที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง คือ กรดไฮยาลูรอนิก ซึ่งจัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทไกลโคสะมิโนไกลแคน (Glycosaminoglycans) เป็นองค์ประกอบสำคัญที่พบอยู่ในเมทริกซ์นอกเซลล์ที่เรียกว่า extracellular matrix (ECM) ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่างๆ ที่แทรกอยู่ทั่วไปในร่างกาย พบมากบริเวณผิวหนัง กล้ามเนื้อ กระดูกอ่อน จุดเชื่อมต่อบริเวณหัวเข่า และน้ำไขข้อ เป็นต้น โดยกรดไฮยาลูรอนิก ทำหน้าที่หล่อลื่น เพิ่มความต้านทานต่อการเสียดสีและเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับอวัยวะเหล่านั้น มีสมบัติการละลายน้ำและดูดซับน้ำได้ดี ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ เนื่องจากเป็นสารที่ร่างกายมนุษย์สามารถผลิตขึ้นได้เอง แต่มีข้อจำกัด คือ อัตราการย่อยสลายเร็ว ความคงตัวและสมบัติทางกลต่ำ [7] ผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ที่ทำจากกรดไฮยาลูรอนิก ได้แก่

ผลิตภัณฑ์ประเภทสารตัวเติมผิว (Dermal filler) ทั้งรูปแบบครีมทาและยาฉีด คอนแทคเลนส์ แผ่นไฮโดรเจลปิดแผลเพื่อกระตุ้นการหายของแผล ยาฉีดเพื่อรักษาระดับน้ำตาลในเลือดหรือรักษาโรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis) เป็นต้น [8,9] สำหรับเจลาติน จัดเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติประเภทโปรตีน มีสมบัติเด่นทางชีวภาพที่สำคัญ คือ สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ไม่เป็นพิษ ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย ราคาไม่แพง และมีความชอบน้ำ (hydrophilic) [10,11] จากสมบัติของพอลิเมอร์ธรรมชาติที่กล่าวมาข้างต้น พบว่า ชีววัสดุแต่ละชนิดมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป ดังนั้นจึงมีการนำพอลิเมอร์ทางธรรมชาติมาผสมกันทางกายภาพเพื่อปรับปรุงสมบัติบางประการให้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยจำนวนหนึ่ง พบว่าการปรับปรุงสมบัติของเม็ดปิดแผลเซียมอัลจินेटโดยใช้เทคนิคการเคลือบด้วยพอลิเมอร์ที่มีประจุต่างชนิดกัน จะช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับเม็ดปิดมากขึ้น [12] เพิ่มประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญให้สูงขึ้น [13,14] และยังช่วยชะลอการปลดปล่อยสารสำคัญให้ช้าลงและยาวนานขึ้นได้ เนื่องจากมีความคงตัวสูงขึ้น [14] เป็นต้น

เจนนามยชิน จัดเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ที่มีบทบาทสำคัญทางคลินิก เนื่องจากมีคุณสมบัติแตกต่างจากยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่น คือ ความคงตัวสูง ละลายน้ำได้ดี อีกทั้งราคาไม่แพง [15,16] นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เร็ว ครอบคลุมได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก สามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุของอาการอักเสบในอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ระบบไขข้อ ระบบกระดูก ระบบผิวหนัง เป็นต้น อีกทั้งสามารถป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียในระหว่างการผ่าตัดได้อีกด้วย [17-19] ปัจจุบันพบว่าเชื้อโรคทุกชนิดสามารถก่อให้เกิดโรคข้ออักเสบติดเชื้อได้ เชื้อโรคที่พบบ่อยที่สุดคือ เชื้อแบคทีเรีย โรคข้ออักเสบติดเชื้อจัดว่าเป็นภาวะฉุกเฉินทางโรคข้อที่สามารถทำลายข้อได้อย่างรวดเร็วและสร้างความทรมานแก่ผู้ป่วย ถ้าได้รับการรักษาที่ไม่ถูกต้องหรือล่าช้าเกินไปอาจส่งผลให้เยื่อข้อ กระดูกอ่อนผิวข้อ และกระดูกที่อยู่บริเวณใกล้เคียงถูกทำลายได้ [20,21] ดังนั้นจำเป็นต้องได้รับการวินิจฉัยและการรักษาอย่างรวดเร็วโดยการให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสม และระบายน้ำไขข้อที่อักเสบออกให้เพียงพอ ร่วมกับการทำกายภาพบำบัด [22,23] ซึ่งผู้ป่วยควรเข้ารับการรักษอย่างสม่ำเสมอและปฏิบัติตามคำแนะนำจากแพทย์อย่างเคร่งครัดเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความพิการหรือภาวะแทรกซ้อนตามมา

งานวิจัยนี้มีความสนใจพัฒนาระบบเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินेटและกรดไฮยาลูรอนิก โดยเทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออน (ionic crosslinking) และปรับปรุงความคงตัวของเม็ดปิดด้วย

เทคนิคการเคลือบชั้นต่อชั้น (layer-by-layer coating technique) โดยใช้วัสดุ 2 ชนิดที่มีความแตกต่างกันทางประจุ ได้แก่ เจลาตินชนิดเอที่มีประจุบวก และอัลจินตที่มีประจุลบ จากนั้นทำการศึกษาคุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดผสมที่ผลิตได้ รวมทั้งความสามารถในการดูดซับและการควบคุมการปลดปล่อยเงินตามยจีนในระดับห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลในการประยุกต์ใช้เม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกสำหรับควบคุมการปลดปล่อยเงินตามยจีนเพื่อการรักษาทางการแพทย์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อพัฒนาเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ถูกเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต เพื่อประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อย

1.2.2 เพื่อศึกษาคุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ถูกเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต

1.2.3 เพื่อศึกษาความสามารถในการดูดซับและการควบคุมการปลดปล่อยเงินตามยจีน จากเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ถูกเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 การขึ้นรูปเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายอัลจินตสลับกับเจลาตินชนิดเอ โดยมีตัวแปรที่จะศึกษา ได้แก่

-อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักของสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก 3 สูตร คือ AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 ที่ความเข้มข้นของของแข็งรวมที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

-จำนวนชั้นที่เคลือบอนุภาคเม็ดปิด คือ 1, 2, 4 และ 8 ชั้น โดยสารละลายที่ใช้นำมาเคลือบคือ สารละลายอัลจินต เคลือบสลับกับสารละลายเจลาตินชนิดเอ ที่ความเข้มข้นสุทธิ 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

1.3.2 การวิเคราะห์คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดเป็ยกผสมระหว่างอัลจินตและกรด

ไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต ได้แก่

- รูปร่างและขนาดของเม็ดปิดเป็ยก
- ความคงตัวของเม็ดปิดเป็ยกที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ โดยวัดน้ำหนักที่หายไปเมื่อเก็บเม็ดปิดเป็ยก ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลือในเม็ดปิดเป็ยกหลังผ่านขั้นตอนการเคลือบในกระบวนการขึ้นรูป 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยเทคนิค Elson-Morgan assay
- โครงสร้างพื้นฐานของเม็ดที่ผ่านการเคลือบเพื่อยืนยันการปรากฏของชั้นเคลือบเจลาตินเอสลับกับอัลจินตบนพื้นผิวเม็ดปิดเป็ยกเปรียบเทียบกับเม็ดปิดเป็ยกที่ไม่ผ่านการเคลือบ วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)
- โครงสร้างทางเคมีของเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก และเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยอัลจินตสลับกับเจลาตินชนิดเอ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

1.3.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรด

ไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต ได้แก่

- ความสามารถในการบวมตัวของเม็ดปิดแห้ง
- ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (*in vitro* biodegradability) ของเม็ดปิดในระดับห้องปฏิบัติการ ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ (Simulated arthritis synovial fluid)
- ความสามารถในการดูดซับเจนนตามัยซินของเม็ดปิด
- ความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินของเม็ดปิดในระดับห้องปฏิบัติการ ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ
- ประสิทธิภาพของเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับบนเม็ดปิดในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระดับห้องปฏิบัติการ (*In vitro* antibacterial susceptibility test)

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

ต้นแบบเมื่อดัดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นระบบควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน เพื่อช่วยออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในการรักษาโรค ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ



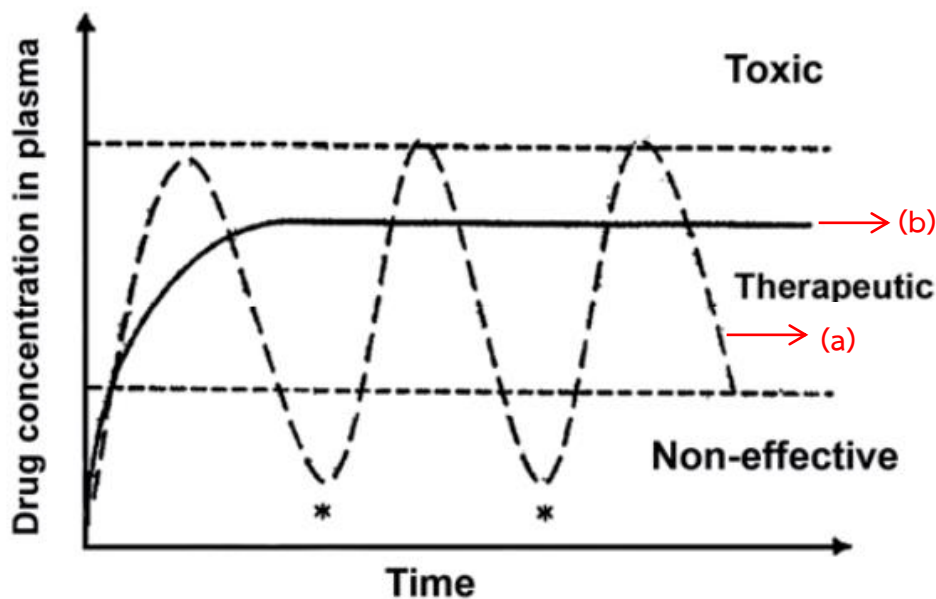
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ระบบควบคุมการปลดปล่อย (Controlled release system)

ในปัจจุบันรูปแบบการให้ยาหรือระบบนำส่งยาแก่ผู้ป่วยทั่วไป (conventional dosage forms) ที่มีการปลดปล่อยยาออกมาอย่างรวดเร็ว โดยมีรูปแบบที่นิยมหลายแบบ เช่น ยาเม็ด ยาแคปซูล ยาน้ำ ยาพ่น ครีม เป็นต้น ซึ่งการให้ยาโดยการรับประทานเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก เนื่องจากมีความสะดวก ยามีความคงตัวสูง และขนาดของยาที่ได้รับคงที่ นอกจากนี้ยาบางชนิดนิยมให้โดยการฉีดให้กับผู้ป่วยเพื่อเพิ่มปริมาณยาให้ไปถึงอวัยวะเป้าหมายได้ตามต้องการ เช่น การฉีดวัคซีน การฉีดยาฆ่าเชื้อ การฉีดยารักษาโรคมะเร็ง เป็นต้น [3,24] รูปที่ 2.1 แสดงการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาในร่างกายผู้ป่วยที่มีการให้ยาดัวยระบบนำส่งยาแบบทั่วไป กับระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย โดยความเข้มข้นของยาในร่างกายหรือในพลาสมาของผู้ป่วยต้องอยู่ในช่วงของการรักษาเพื่อให้ยาเกิดผลในการรักษาที่ดีที่สุด เพราะหากความเข้มข้นของยาสูงกว่าช่วงของการรักษาอาจเกิดอาการข้างเคียงที่เป็นพิษ จากการได้รับยาเกินขนาด และหากความเข้มข้นของยาต่ำกว่าช่วงของการรักษาจะทำให้ไม่มีประสิทธิภาพในการรักษา (non-effective) สำหรับการควบคุมความเข้มข้นของยาในร่างกายจากระบบนำส่งยาแบบทั่วไปเพื่อให้อยู่ในช่วงของการรักษานั้นทำได้โดยให้ยาแก่ผู้ป่วยหลายครั้งต่อวันทำให้ความเข้มข้นของยามีการแกว่ง โดยความเข้มข้นของยาจะสูงเมื่อมีการให้ยาในแต่ละครั้ง ซึ่งบางครั้งอาจทำให้ความเข้มข้นของยาสูงกว่าช่วงของการรักษาจนเกิดอาการข้างเคียงที่เป็นพิษ จากนั้นความเข้มข้นของยาจะค่อยๆ ลดลง ซึ่งบางครั้งอาจมีค่าลดลงต่ำกว่าช่วงของการรักษา [1, 2, 25]

ปัจจุบันจึงมีการพัฒนารูปแบบของการให้ยาหรือนำส่งยาที่สามารถควบคุมให้มีการปลดปล่อยยาในอัตราและปริมาณที่กำหนดโดยความเข้มข้นของยาอยู่ในช่วงของการรักษาตลอดระยะเวลาของการปลดปล่อย และสามารถนำยาไปยังอวัยวะหรือบริเวณเป้าหมายในร่างกายได้ตามต้องการ ลดความถี่ในการให้ยาและลดผลข้างเคียงที่เป็นพิษจากการได้รับยาเกินขนาด ระบบดังกล่าวเรียกว่า “ระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย” (controlled release drug delivery systems) [26-28]



รูปที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาในร่างกายผู้ป่วยที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการให้ยาด้วย
(a) ระบบนำส่งยาแบบทั่วไป (---) (b) ระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย (—) [1]

2.1.1 ข้อดีและข้อเสียของระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย

ข้อดีของระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย [29,30]

- ก. เพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา ซึ่งระบบนำส่งยาที่ดีจะสามารถออกฤทธิ์ในการรักษาหรือสามารถควบคุมโรคได้ทันที เนื่องจากสามารถนำยาสู่อวัยวะเป้าหมายได้โดยตรง
- ข. ลดอาการข้างเคียงของการรักษา เนื่องจากการลดปริมาณยาที่ใช้ทั้งหมดต่อวัน
- ค. ลดการสะสมของยาในร่างกาย และยังสามารถส่งเสริมให้ฤทธิ์ของยาคงที่ในผู้ป่วยที่ต้องใช้ยาเป็นระยะเวลานานๆ
- ง. มีความสะดวกในการใช้ยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากจำนวนครั้งของการรับยาต่อวันลดลง ทำให้โอกาสที่ผู้ป่วยจะลืมรับยาลดลงด้วย
- จ. ลดค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล ในแง่จำนวนวันที่ใช้ในการรักษา

ข้อเสียของระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย [29,30]

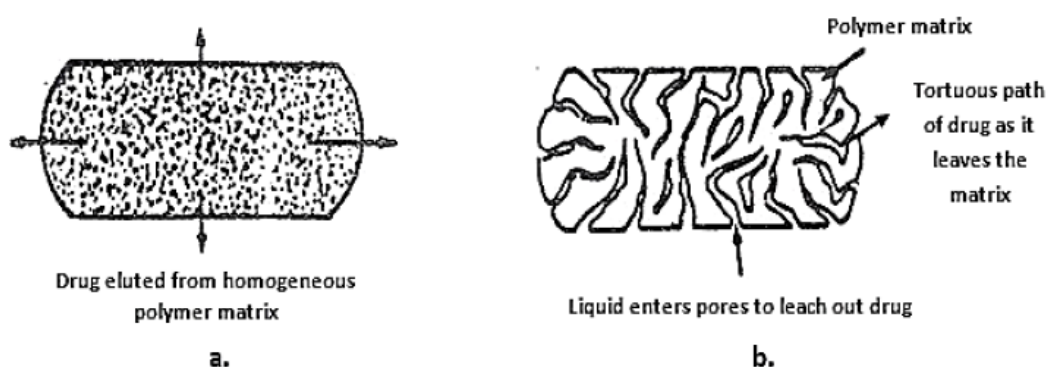
- ก. การหยุดยั้งหรือการระงับการออกฤทธิ์ของยาไม่สามารถทำได้ทันทีหรือกระทำได้ยากกว่ารูปแบบยาทั่วไป ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อผู้ป่วยแพทย์ได้ และอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นจะคงอยู่นานกว่าปกติด้วย
- ข. การปรับขนาดของยาทำได้ยาก เนื่องจากลักษณะการปลดปล่อยของยาถูกกำหนดโดยรูปแบบของผลิตภัณฑ์อยู่แล้ว
- ค. ผลของการใช้ยาในผู้ป่วยแต่ละคนมีความแตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของสภาวะร่างกายของผู้ป่วยแต่ละคน ส่งผลให้ลักษณะการปลดปล่อยยาแตกต่างกันด้วย
- ง. ต้นทุนการผลิตและการรักษาของยาในระบบนำส่งยาออกฤทธิ์สูงกว่ารูปแบบยาทั่วไป

2.1.2 กลไกที่ใช้ควบคุมการปลดปล่อยยาผ่านพอลิเมอร์เมทริกซ์

พอลิเมอร์นับเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่สำคัญในระบบนำส่งยาที่ช่วยควบคุมการปลดปล่อยให้เกิดอย่างช้าๆ และคงที่ในปริมาณที่ต้องการ ช่วยป้องกันและนำส่งยาไปยังบริเวณเป้าหมายในร่างกาย โดยไม่ทำให้ยาเกิดการปลดปล่อยหรือตัวยาถูกทำลายไปก่อน ปัจจุบันมีการนำพอลิเมอร์ที่สลายตัวได้ในร่างกายมาใช้ในระบบการนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยเพื่อใช้ในการรักษาโรค ทั้งนี้พอลิเมอร์ที่เลือกใช้ต้องมีสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญ คือ มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย ไม่เป็นพิษกับร่างกาย มีความชอบน้ำ (hydrophilic) ส่งผลให้อัตราการดูดซึมน้ำและอัตราการปลดปล่อยยาได้ดีขึ้น อีกทั้งสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable) เป็นต้น [24] โดยกลไกที่ใช้ควบคุมการปลดปล่อยยาผ่านพอลิเมอร์เมทริกซ์ แบ่งเป็น 3 กลไก คือ การแพร่ (diffusion) การย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradable) และการบวมตัวของพอลิเมอร์ (swelling) [31,32] ดังนี้

2.1.2.1 กลไกควบคุมการปลดปล่อยโดยการแพร่ (diffusion control release)

กลไกการปลดปล่อยยาโดยการแพร่ผ่านพอลิเมอร์เมทริกซ์ คือ ตัวยาที่กระจายอย่างสม่ำเสมอในพอลิเมอร์เมทริกซ์จะละลายออกมาโดยอาศัยหลักการแพร่ (diffusion) ซึ่งเมทริกซ์อาจเป็นพอลิเมอร์ชนิดชอบน้ำ (hydrophilic) หรือไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ลักษณะการปลดปล่อยยาอาจเกิดจากตัวยาละลายและแพร่ผ่านโครงร่างแหของพอลิเมอร์ แสดงดังรูปที่ 2.2a หรือแพร่ออกมาตามรูพรุนหรือช่องว่างคานิลลารี (capillary) ของเมทริกซ์ แสดงดังรูปที่ 2.2b



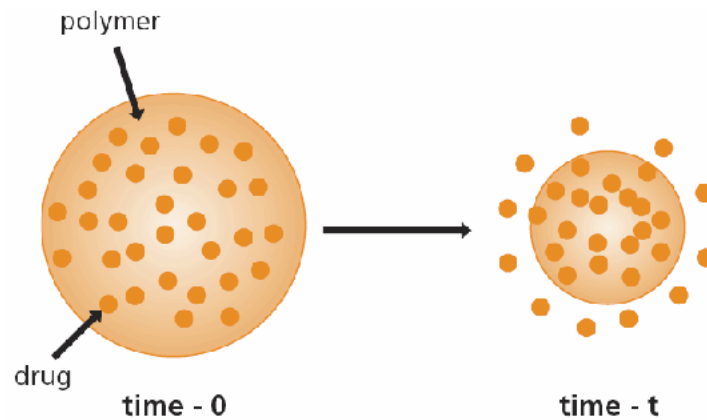
รูปที่ 2.2 กลไกการปลดปล่อยยาโดยการแพร่ผ่านพอลิเมอร์เมทริกซ์ [31]

(a) ตัวยาถูกละลายและแพร่ผ่านโครงร่างแหของพอลิเมอร์

(b) ตัวยาถูกละลายและแพร่ออกมาตามรูพรุนหรือช่องว่างคานิลลารีของเมทริกซ์

2.1.2.2 กลไกควบคุมการปลดปล่อยโดยการย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradable control release)

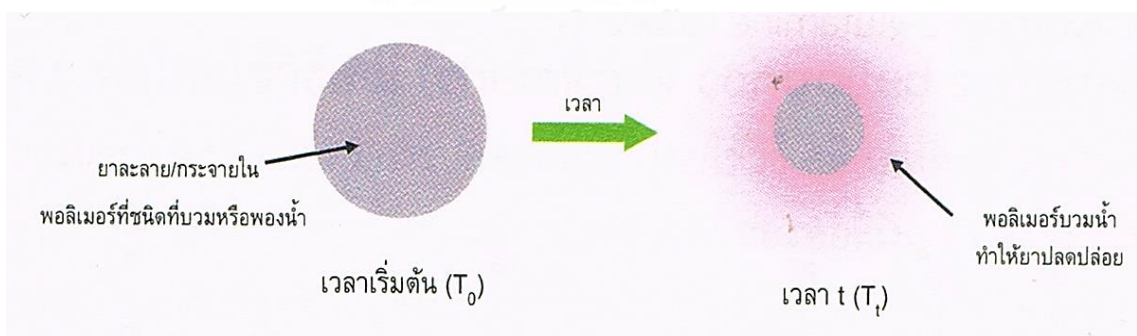
กลไกการปลดปล่อยยาโดยการย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิเมอร์เมทริกซ์ คือ ตัวยาจะละลายออกมาช้าๆ จากเนื้อพอลิเมอร์พร้อมกับการย่อยสลายของพอลิเมอร์เมทริกซ์ให้มีขนาดเล็กลง แสดงดังรูปที่ 2.3 ระบบนำส่งยาแบบนี้มีข้อดี คือ ช่วยเพิ่มเวลาในการออกฤทธิ์ของตัวยาให้นานขึ้นและมีลักษณะการปลดปล่อยที่ต่อเนื่อง นอกจากนี้หลังจากกระบวนการปลดปล่อยยาเสร็จสิ้นไม่จำเป็นต้องผ่าตัดเพื่อนำพอลิเมอร์ออกภายหลังเนื่องจากพอลิเมอร์เมทริกซ์สามารถย่อยสลายได้เองทางชีวภาพภายในร่างกาย



รูปที่ 2.3 กลไกการปลดปล่อยยาโดยการย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิเมอร์เมทริกซ์ [33]

2.1.2.3 กลไกควบคุมการปลดปล่อยโดยการบวมตัว (swelling control release)

กลไกการปลดปล่อยยาโดยการบวมตัวพอลิเมอร์เมทริกซ์ คือ ยาที่กระจายตัวในพอลิเมอร์เมทริกซ์จะไม่สามารถซึมผ่านพอลิเมอร์เมทริกซ์ที่อยู่ในรูปของแข็ง แต่เมื่อพอลิเมอร์เมทริกซ์อยู่ในสารละลายหนึ่งๆ สารละลายนั้นจะซึมผ่านเข้าไปในโครงสร้างของพอลิเมอร์ส่งผลให้พอลิเมอร์บวมตัวและยอมให้ยาซึมผ่านออกมาได้ แสดงดังรูปที่ 2.4 ถ้าเกิดการบวมตัวอย่างไม่จำกัด จะส่งผลให้พอลิเมอร์เมทริกซ์กร่อนและสลายตัวในที่สุด



รูปที่ 2.4 กลไกการปลดปล่อยยาโดยการบวมตัวของพอลิเมอร์เมทริกซ์ [24]

2.2 ชีววัสดุ (Biomaterials)

2.2.1 อัลจิเนต (Alginate)

อัลจิเนต (Alginate) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบมากในธรรมชาติ โดยเฉพาะในสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (brown algae) ในวงศ์ Phaeophyceae ดังแสดงในรูปที่ 2.5 นอกจากนี้อัลจิเนตสามารถผลิตได้โดยวิธีการหมัก (fermentation) แต่วิธีการนี้มีข้อเสียคือต้นทุนสูงกว่าการสกัดอัลจิเนตจากสาหร่ายจากธรรมชาติ ดังนั้นในทางอุตสาหกรรม อัลจิเนตมากกว่าร้อยละ 90 จึงได้มาจากธรรมชาติ [34]

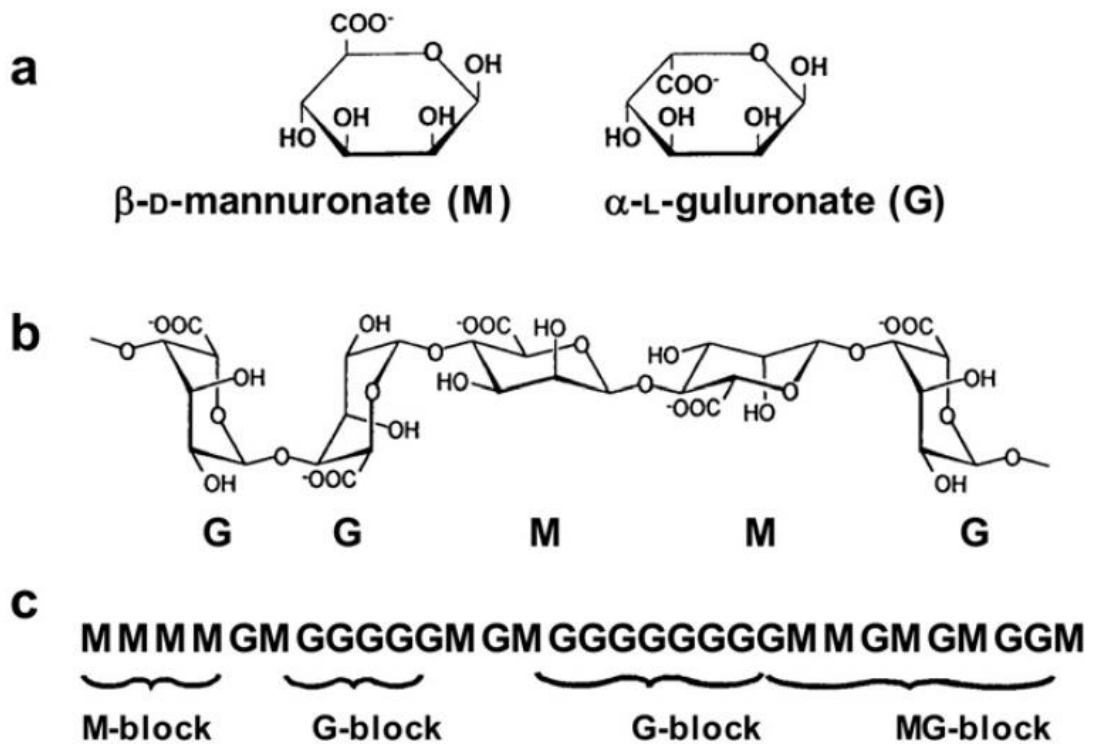


รูปที่ 2.5 สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลในวงศ์ Phaeophyceae [35]

2.2.1.1 โครงสร้างของอัลจิเนต

อัลจิเนตเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่มีมอนอเมอร์ประกอบด้วย β -D-mannuronic acid (M) และ α -L-guluronic acid (G) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (1,4 glycosidic) ในโครงสร้างของอัลจิเนตมีหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group, $-\text{COOH}$) และหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, $-\text{OH}$) อยู่มาก [4] ดังแสดงในรูปที่ 2.6 อัลจิเนตประกอบด้วยส่วนที่เป็น M และ G เพียงอย่างเดียว เรียกว่า เอ็มบล็อก (M block) และจิบล็อก (G block) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีส่วนที่โครงสร้างเรียงตัวสลับกันเป็นเอ็มจิบล็อก (MG block) อีกด้วย โดยทั่วไปอัลจิเนตที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าจะ

ระบุนค่าอัตราส่วนเอ็มบล็อกต่อจีบล็อก (M/G) ในกรณีของอัลจินेटที่มีจีบล็อกสูง (high G-block alginate) จะมีค่าเอ็มบล็อกต่อจีบล็อกน้อยกว่า 1 ในขณะที่อัลจินेटที่มีเอ็มบล็อกสูง (high M-block alginate) มีค่าเอ็มบล็อกต่อจีบล็อกมากกว่า 1 นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งตามเกรดความหนืด (viscosity grade) คือ อัลจินेटเกรดความหนืดสูง แสดงถึงสายโซ่พอลิเมอร์ยาวและมวลโมเลกุลมาก สามารถเกิดไฮเดรชัน (hydration) ได้ดี ทำให้ความหนืดของสารละลายในน้ำสูงตามไปด้วย [36-38]



รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของอัลจินेट [36]

(a) มอนอเมอร์ของอัลจินेट (b) สายโซ่อัลจินेट (c) ลำดับของจีบล็อกและเอ็มบล็อกของอัลจินेट

2.2.1.2 สมบัติของอัลจินेट

สมบัติทั่วไปของอัลจินेट คือ สามารถละลายน้ำได้ ไม่เป็นพิษ มีความเข้ากันได้ดีทางชีวภาพ (biocompatibility) และสามารถย่อยสลายได้ดีทางชีวภาพ จึงถูกนำไปประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในงานด้านวัสดุชีวภาพ (biomaterial) ระบบควบคุมและปลดปล่อยสารสำคัญ ระบบนำส่ง

ยา วิศวกรรมเนื้อเยื่อ และอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น [39,40] ซึ่งสมบัติเฉพาะของอัลจิเนต นอกเหนือจากทางด้านชีวภาพ มีดังต่อไปนี้

ก. สมบัติยึดเหนี่ยวไอออน (ion-binding property) ของอัลจิเนตแสดงถึงพื้นฐานของคุณสมบัติการก่อเจล หมู่คาร์บอกซิลส่วนจิปล็คของอัลจิเนตจะเชื่อมขวางด้วยไอออนกับไอออนประจุบวกสอง (divalent cations) เช่น Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} และ Mn^{2+} เป็นต้น ไอออนประจุบวกสองต่างกันส่งผลต่อสมบัติการเกิดเจลที่ได้แตกต่างกัน โดยความแข็งแรงของการเกิดเจลเพิ่มขึ้นตามลำดับดังนี้ $Mg^{2+} \ll Mn^{2+} < Ni^{2+} < Ca^{2+} < Cu^{2+} < Ba^{2+} < Cd^{2+}$ [41] โดยไอออนประจุบวกสองที่นิยมนำมาใช้ คือ Ca^{2+} และ Ba^{2+} เนื่องจากไอออนชนิดอื่นเป็นไอออนของโลหะหนัก มีความเป็นพิษ จึงไม่นิยมนำมาใช้ [42,43]

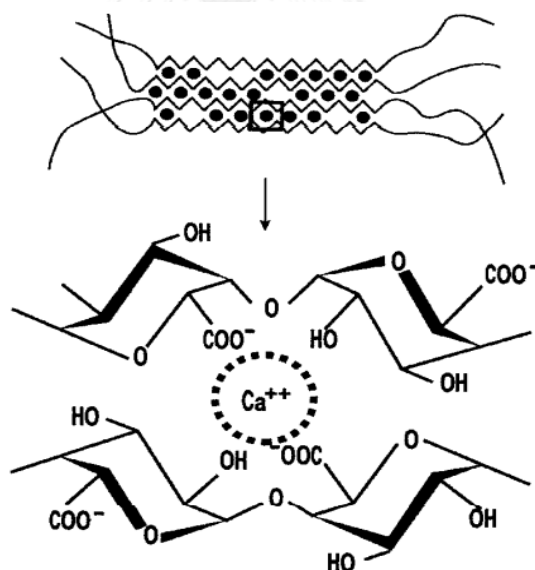
ข. ความสามารถในการละลาย (solubility) เป็นคุณสมบัติของอัลจิเนตที่สำคัญต่อการเตรียมตำรับยาและระบบนำส่งยา ตัวกลางหรือตัวทำละลายที่ใช้ในการละลายอัลจิเนต คือ น้ำ โดยที่อัลจิเนตไม่สามารถละลายและพองตัวในแอลกอฮอล์ อีเธอร์ คลอโรฟอร์ม และสารละลายกรด ค่าความเป็นกรดต่างน้อยกว่า 3 [44]

ค. เสถียรภาพ (stability) อัลจิเนตสามารถเกิดการสลายตัวทางพอลิเมอร์ (depolymerization) ได้ง่าย โดยปัจจัยที่ทำให้เสถียรภาพของอัลจิเนตต่ำลง ได้แก่ ความร้อน มีสาเหตุจากสภาวะอุณหภูมิที่ใช้เก็บสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ดังนั้นควรเก็บผงอัลจิเนตในอุณหภูมิเย็นและในที่แห้ง โดยปราศจากการโดนแสง ซึ่งการเก็บผงอัลจิเนตในอุณหภูมิเยือกแข็งสามารถเก็บได้นานหลายปีโดยมวลโมเลกุลไม่เปลี่ยนแปลง [45] ภาวะความเป็นกรดต่าง โดยค่าความเป็นกรดต่างน้อยกว่า 5 และค่าความเป็นกรดต่างมากกว่า 10 ส่งผลให้เสถียรภาพของอัลจิเนตต่ำลง [5] นอกจากนี้รังสีแกมมา แสงอัลตราไวโอเล็ต และคลื่นเสียงความถี่สูง มีผลทำให้ความหนืดของอัลจิเนตลดลง และความแข็งแรงของเจลที่ได้ลดลงด้วย เป็นต้น

2.2.1.3 การเกิดเจลของอัลจิเนตโดยใช้เทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออน (Ionic crosslinking)

อัลจิเนตสามารถเกิดเป็นเจลได้ในรูปแบบของแคลเซียมอัลจิเนต มีลักษณะเป็นอนุภาคเล็กๆ ค่อนข้างกลมหรือรี เรียกว่าบีด (Bead) โดยทั่วไปมีขนาดใหญ่กว่า 1 มิลลิเมตร สามารถกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญไว้ภายในเม็ดบีดได้ ซึ่งมีประโยชน์ในการเตรียมเป็นวัสดุนำส่งในระบบนำส่งยา

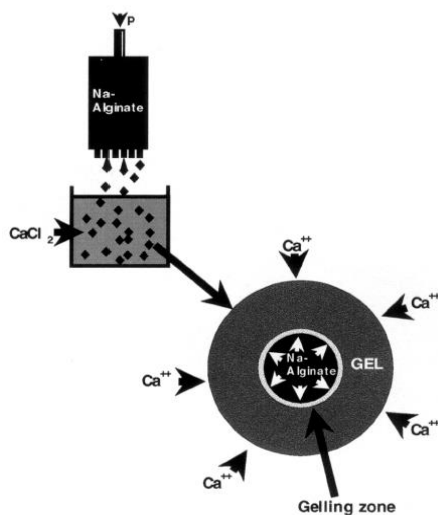
[34] โดยใช้เทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออน เนื่องจากอัลจินเตสามารถเชื่อมขวางกับไอออนประจุบวกหลายวาเลนซ์ได้อย่างรวดเร็ว จึงมีการประยุกต์ใช้ไอออนประจุบวกสอง (divalent cation) เช่น แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และแบเรียมไอออน (Ba^{2+}) มาเป็นสารเชื่อมขวางกับหมู่คาร์บอกซิลของอัลจินเตส่วนจีบล็อค เกิดการเรียงตัวกันเป็นชั้นอย่างเป็นระเบียบ โครงสร้างนี้เรียกว่าโครงสร้างแบบกล่องไข่ “egg-box” แสดงดังรูปที่ 2.7 ทำให้ได้แคลเซียมอัลจินเตที่ไม่ละลายน้ำแต่สามารถพองตัวได้ ซึ่งปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเกิดเจล ได้แก่ ความเข้มข้นและองค์ประกอบของอัลจินเต ความเข้มข้นของไอออนประจุบวก เป็นต้น โดยอัลจินเตที่มีโซเดียมหรือโพแทสเซียมไอออนเป็นไอออนตรงข้าม (counterion) ในสายโซ่พอลิเมอร์ สามารถแลกเปลี่ยนกับแคลเซียมไอออนเพื่อให้สารละลายอัลจินเตกลายเป็นเจลที่ไม่ละลายน้ำ เรียกว่าการเปลี่ยนสภาพเป็นโซลเจล (sol-gel transition) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้สามารถเกิดย้อนกลับได้เมื่อเจลแคลเซียมอัลจินเตอยู่ในภาวะที่มีโซเดียมไอออน รูปแบบเจลก็จะเปลี่ยนเป็นสารละลายอัลจินเตดั้งเดิม



รูปที่ 2.7 ลักษณะโครงสร้างของ egg-box ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมไอออนกับหมู่คาร์บอกซิลของอัลจินเตส่วนจีบล็อค [46]

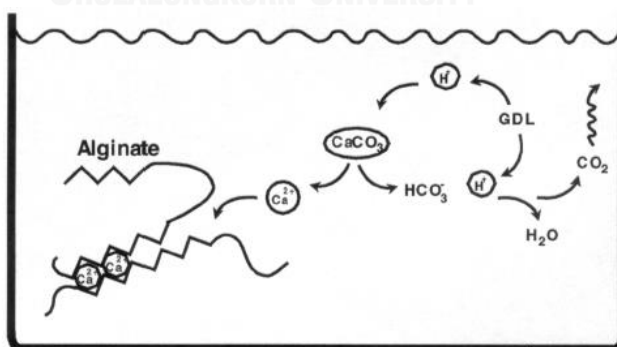
การเกิดเจลของอัลจินเตโดยการเชื่อมขวางด้วยไอออน (Ionic cross-linking) สามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ วิธีการเกิดเจลภายนอก (external diffusion หรือ diffusion method) และวิธีการเกิดเจลภายใน (internal gelation) [5]

ก. วิธีการเกิดเจลภายนอก (External gelation) หรือวิธีการแพร่ (diffusion method) เกิดจากการหยดสารละลายอัลจินตลงในสารละลายแคลเซียมไอออน โดยแคลเซียมไอออนจะแพร่เข้าสู่ผิวด้านนอกของโซเดียมอัลจินตทำให้เกิดเจลอย่างรวดเร็วจากด้านนอกเข้าสู่ด้านใน สายโซ่อัลจินตจะถูกเชื่อมขวางด้วยแคลเซียมไอออนทำให้เกิดอนุภาคขนาดเล็กหรือปิดของเจล แคลเซียมอัลจินตที่ไม่ละลายน้ำ แสดงดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 วิธีการเกิดเจลภายนอกของอัลจินต (External gelation) [5]

ข. วิธีการเกิดเจลภายใน (Internal gelation) เกิดจากการหยดสารละลายแคลเซียมไอออน ซึ่งใช้เป็นสารเชื่อมขวางลงในสารละลายของโซเดียมอัลจินต ทำให้เกิดเจลจากด้านในออกไปยังด้านนอกของเม็ดปิดซึ่งเกิดจากการแพร่ของแคลเซียมไอออน แสดงดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 วิธีการเกิดเจลภายในของอัลจินต (Internal gelation) [5]

2.2.1.4 การประยุกต์ใช้งานของอัลจินต

อัลจินตสามารถนำมาประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรมโดยใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด สารเพิ่มเสถียรภาพของยา รวมทั้งเป็นส่วนประกอบในการเตรียมตำรับยาเม็ด เช่น สารยึดเกาะ (binder) และสารช่วยแตกตัว (disintegrant) เป็นต้น [44] นอกจากนี้ อัลจินตสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นพอลิเมอร์ที่ควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญในระบบนำส่งยา ในรูปแบบแผ่น ปิด ไมโครพาทีเคิล และนาโนพาทีเคิล เป็นต้น โดยเม็ดปิดมีความสามารถในการชะลอการปลดปล่อยยาโดยเมทริกซ์สามารถกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญไว้ภายในเม็ดปิด และนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุในระบบนำส่งยา มีข้อดี คือ เป็นระบบนำส่งที่เตรียมได้ง่ายโดยใช้เครื่องมือไม่ซับซ้อน [6]

การเตรียมเม็ดเคลือบอัลจินตที่บรรจุยา ทำได้โดยอาศัยวิธีการเกิดเจลภายนอก (External gelation) [47] สามารถเตรียมได้ 2 วิธี คือ

ก. การเติมยาลงในสารละลายอัลจินตก่อนกระบวนการเชื่อมขวาง

ซึ่งยาอาจอยู่ในรูปของสารละลายหรือสารแขวนตะกอนในสารละลายอัลจินต ขึ้นอยู่กับค่าความสามารถในการละลายของยานั้นๆ วิธีการนี้นิยมใช้กันมากเนื่องจากเคลือบอัลจินตที่ถูกเชื่อมขวางสามารถกักเก็บยาได้ดี ซึ่งยาอาจอยู่ในรูปของผลึกหรือโมเลกุลยากระจายอยู่ในเมทริกซ์เจลของเม็ดปิด

ข. การบรรจุยาโดยอาศัยกระบวนการดูดซับ (adsorption) โดยนำเม็ด

ที่เตรียมเสร็จแล้วไปแช่ในสารละลายยา ยาสามารถแพร่เข้าไปในเม็ดและถูกดูดซับไว้ในเมทริกซ์ปิดจนถึงจุดสมดุล การเตรียมแบบนี้สามารถบรรจุยาได้มากหรือน้อยขึ้นกับความชอบจับ (affinity) ของยากับเคลือบอัลจินตและความเข้มข้นของยาที่ใช้ ถ้าใช้ความเข้มข้นยามาก ยาจะมีเกรเดียนความเข้มข้น (concentration gradient) สูง ทำให้ยาสามารถแพร่เข้าสู่ภายในเม็ดได้ดีขึ้น [48]

2.2.2 กรดไฮยาลูรอนิก (Hyaluronic acid, HA)

กรดไฮยาลูรอนิกจัดเป็นชีววัสดุประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติ มีชื่อที่ต่างกันไปคือ Hyaluronan, Hyaloron และ Sodium Hyaluronate ซึ่งชื่อเหล่านี้มาจากภาษากรีก คือ “Hyalos” หมายถึง ใสเหมือนแก้ว กรดไฮยาลูรอนิกถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1934 โดย Karl Mayer และ John Plamer นักวิจัยชาวกรีก ซึ่งสกัดได้จากวุ้นลูกตาของวัว ต่อมาในปี ค.ศ. 1942 มีการนำกรดไฮยาลูรอนิกมาใช้ทางการค้าครั้งแรก โดย Endre Balazs นำกรดไฮยาลูรอนิกมาแทนไขขาวในการทำเบเกอรี่ และในช่วงปลายปี ค.ศ. 1950 มีการนำกรดไฮยาลูรอนิกมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์เป็นครั้งแรก โดยใช้ทางด้านจักษุวิทยา [49]

โดยทั่วไปกรดไฮยาลูรอนิกพบได้ตามเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของคนและสัตว์ เป็นสารที่ร่างกายมนุษย์สามารถผลิตขึ้นได้เอง พบได้ทั่วไปบริเวณจุดเชื่อมต่อของอวัยวะและเซลล์ เช่น จุดเชื่อมต่อบริเวณหัวเข่า กระดูกอ่อน สายรก วุ้นตา น้ำไขข้อ ผิวหนัง หรือสายสะดือของทารกแรกเกิด เป็นต้น กรดไฮยาลูรอนิก ทำหน้าที่หล่อลื่น เพิ่มความต้านทานต่อการเสียดสีและเพิ่มความยืดหยุ่น ถ้าขาดกรดไฮยาลูรอนิกจะมีผลทำให้เกิดการเจ็บปวดเนื่องจากการเสียดสีของอวัยวะ [9]

กรดไฮยาลูรอนิกที่พบในอวัยวะต่างๆ มีปริมาณแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1 จะเห็นได้ว่าผิวหนังเป็นอวัยวะที่พบกรดไฮยาลูรอนิกในปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือบริเวณส่วนโครงร่างของระบบกระดูกและส่วนรองรับของร่างกาย นอกจากนี้แหล่งที่พบกรดไฮยาลูรอนิกที่กล่าวมาข้างต้น ยังสามารถพบกรดไฮยาลูรอนิกได้จากแหล่งอื่นๆ เช่น หงอนไก่ตัวผู้ หรือในแคปซูล (capsule) ของแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Streptococcus equi* และ *Streptococcus zooepidemicus* กรดไฮยาลูรอนิกที่สกัดได้จากแบคทีเรียนี้มีร้อยละผลได้มากกว่ากรดไฮยาลูรอนิกที่สกัดได้จากแหล่งอื่น

ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่พบในอวัยวะต่างๆ ของหนู [50]

ระบบอวัยวะ (Organ system)	ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิก ที่พบทั้งหมด (มิลลิกรัม)	เปอร์เซ็นต์
ทุกส่วนของร่างกายหนู (Whole rat)	60.5	100
ผิวหนัง (Skin)	33.8	55.9
กล้ามเนื้อ (Muscles)	4.69	7.8
โครงร่างของระบบกระดูกและส่วนรองรับ (Skeleton and supporting structures)	16.2	26.8
ลำไส้ (Intestines) และกระเพาะอาหาร (stomach)	0.50	0.8
อวัยวะภายในอื่นๆ (Remaining internal organs)	5.25	0.7

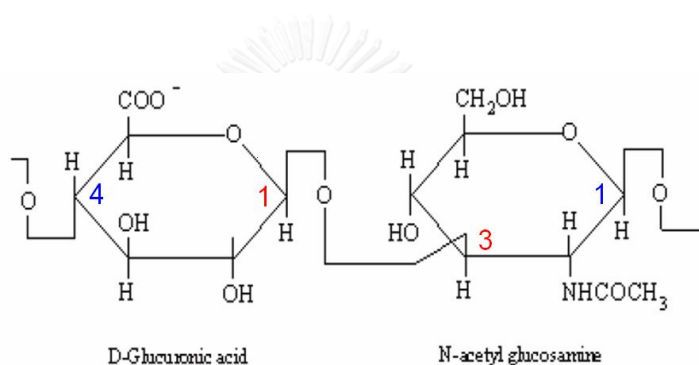
2.2.2.1 โครงสร้างของกรดไฮยาลูรอนิก

กรดไฮยาลูรอนิกเป็นสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรตชนิดมิวโคพอลิแซ็กคาไรด์ (mucopolysaccharide) หรือไกลโคสะมิโนไกลแคน (glycosaminoglycan, GAGs) สายตรง ซึ่งมีความแตกต่างจาก GAGs ตัวอื่นๆ คือ ไม่มีหมู่ซัลเฟต [49,51] มีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$ โดย n มีค่ามากกว่า 1000 ขึ้นไป น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10^4 - 10^7 ดาลตัน แปรผันแตกต่างกันไปตามแหล่งที่มา ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูรอนิกจากแหล่งต่างๆ [52]

แหล่งที่ได้	น้ำหนักโมเลกุล (กิโลดาลตัน)
รกของทารก	3000 - 4000
วุ้นตา	77 - 1700
น้ำไขข้อ	57 - 1300
แบคทีเรีย <i>Streptococcus pyogenes</i>	55

โครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูรอนิกเป็นพอลิเมอร์สายตรงของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 ชนิด คือ N-acetyl-glucosamine (GlcNAc) และ D-glucuronic acid (GlcA) เรียงตัวสลับกัน โดยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั้งสองชนิดภายในหน่วยย่อยของน้ำตาลโมเลกุลคู่ จะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 glycosidic bond ระหว่างคาร์บอนอะตอมที่ 1 ของ N-acetyl-glucosamine กับคาร์บอนอะตอมที่ 4 ของ D-glucuronic acid และหน่วยย่อยของน้ำตาลโมเลกุลคู่จะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,3 glycosidic bond ระหว่างคาร์บอนอะตอมที่ 1 ของ D-glucuronic acid กับคาร์บอนอะตอมที่ 3 ของ N-acetyl-glucosamine โดยมีรูปร่างของสายโซ่โมเลกุลเป็นลักษณะเกลียวแบบสุ่ม (random coil) [7] ดังแสดงในรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูรอนิก [53]

2.2.2.2 สมบัติของกรดไฮยาลูรอนิก

กรดไฮยาลูรอนิกมีลักษณะใส เหนืด คล้ายเจล มีสมบัติทั่วไป คือ ละลายน้ำได้ดี แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากมีหมู่ฟังก์ชันพวกคาร์บอกซิลและเอ็น-อะซิทิล (N-acetyl) ที่มีขั้วในปริมาณสูง โดยหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้จะสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้ดี นอกจากนี้กรดไฮยาลูรอนิกมีความสามารถในการดูดเก็บน้ำได้ดีมากกว่า 1000 เท่าของน้ำหนักตัวมันเอง และสามารถจับกับประจุบวกได้ดี เช่น โซเดียมไอออน (Na^+), โพแทสเซียมไอออน (K^+) และแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) [7]

มีรายงานการวิจัยที่ศึกษาผลของความเป็นพิษต่อเซลล์ของกรดไฮยาลูรอนิก พบว่ากรดไฮยาลูรอนิกมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (non-toxicity) สามารถย่อยสลายได้ (degradation) โดยการย่อยสลายของกรดไฮยาลูรอนิกจะทำให้น้ำหนักโมเลกุลลดลงเนื่องจากสายโซ่โมเลกุลมีขนาดเล็กลง การย่อยสลายสามารถเกิดขึ้นได้

หลายวิธี เช่น วิธีการย่อยสลายโดยใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่สูง (Ultrasonication) [54] โดยเวลาและความถี่ของคลื่นเสียงที่มากขึ้นจะส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูรอนิคลดลง นอกจากนี้กรดไฮยาลูรอนิคสามารถถูกย่อยสลายได้โดยรังสียูวี (UV radiation) โดยที่รังสียูวีจะทำให้ความหนืดและน้ำหนักโมเลกุลของสารละลายกรดไฮยาลูรอนิคลดลง [8] เช่น ดวงตาของเราเมื่อเจอแสงแดดจัดและหมอกควันจะทำให้เกิดการระคายเคืองตา เนื่องจากกรดไฮยาลูรอนิคที่อยู่ในวุ้นโพรงลูกตามีการสลายตัว นอกจากนี้ กรดไฮยาลูรอนิคยังสามารถถูกย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ hyaluronidases (hyases), b-D-glucuronidase และ β -N-acetyl-hexosaminidase ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส [55]

2.2.2.3 การประยุกต์ใช้งานของกรดไฮยาลูรอนิค

เนื่องจากกรดไฮยาลูรอนิคมีคุณสมบัติเด่น คือ มีความหนืดสูง มีความยืดหยุ่น เก็บรักษาความชุ่มชื้นได้ดี ในปัจจุบันจึงได้นำกรดไฮยาลูรอนิคมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ ด้านเภสัชกรรม และด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเป็นจำนวนมาก [8]

- ด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง มีการนำกรดไฮยาลูรอนิคมาใช้เป็นสารตัวเติมผิว (Dermal filler) ทั้งรูปแบบครีมทาและยาฉีด เนื่องจากสมบัติเด่นของกรดไฮยาลูรอนิค คือ มีความสามารถในการอุ้มน้ำ ช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผิวหนัง ทำให้ผิวหนังดูอ่อนเยาว์ และเรียบเนียน สามารถเติมเต็มร่องลึกให้กับผิว และหลุมสิว อีกทั้งยังช่วยสมานแผล และทำให้แผลเป็นนุ่มลง เป็นต้น

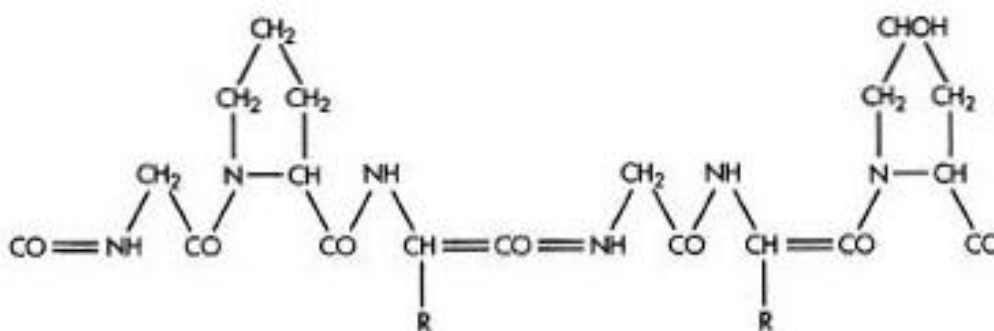
- ด้านการแพทย์และเภสัชกรรม มีการนำกรดไฮยาลูรอนิคมาเป็นส่วนประกอบของคอนแทคเลนส์ ส่วนประกอบในยาหยอดตาที่ใช้รักษาผู้ป่วยที่มีอาการเยื่อตาขาวอักเสบจากภาวะตาแห้ง (Keratitis sicca) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ของกรดไฮยาลูรอนิคที่มีจำหน่ายเชิงพาณิชย์ ได้แก่ HYLARTILB[®] ของบริษัท Pharmacia Inc., HEALON TM[®] ของบริษัท Pharmacia Inc., และ Hyalovet[®] ของบริษัท Trans Bussan เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ในการรักษาบาดแผล (wound healing) ยาฉีดเพื่อรักษาโรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis) รวมถึงการใช้งานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และระบบนำส่งได้อีกด้วย

2.2.3 เจลาติน (Gelatin)

เจลาตินจัดเป็นชีววัสดุประเภทโปรตีนที่สามารถสกัดได้จากคอลลาเจน (Collagen) ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดหรือด่าง ซึ่งคอลลาเจนจัดเป็นองค์ประกอบหลักในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ผิวหนัง เช่น หนังหมู หนังวัว และกระดูกของสิ่งมีชีวิต เช่น กระดูกหมู กระดูกวัว เป็นต้น โดยองค์ประกอบหลักของเจลาตินประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 84-90 น้ำร้อยละ 8-15 และแร่ธาตุร้อยละ 1-2 ซึ่งองค์ประกอบและสมบัติของเจลาตินที่ได้มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของคอลลาเจนและกระบวนการไฮโดรไลซิสที่ใช้ในการสกัด [11]

2.2.3.1 โครงสร้างของเจลาติน

เจลาตินมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10,000 ถึง 400,000 ดาลตัน มีโครงสร้างเป็นเกลียวแบบสุ่ม (random coil) เนื่องจากสายโซ่โมเลกุลของคอลลาเจนเกิดการคลายตัวทำให้สายโซ่โมเลกุลสั้นลง โดยเจลาตินประกอบด้วยกรดอะมิโน 19 ชนิด มีปริมาณกรดอะมิโนหลักที่พบส่วนใหญ่ 3 ชนิด คือ ไกลซีน (Glycine; Gly) โพรลีน (Proline; Pro) และไฮดรอกซีโพรลีน (Hydroxyproline; Hyp) มีการเรียงตัวเป็นหน่วยซ้ำๆ ในรูปแบบ Gly-X-Y ภายในสายโซ่ โดยที่ Gly คือ ไกลซีน ส่วน X และ Y คือ กรดอะมิโนตัวอื่นๆ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นโพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน กรดอะมิโนเหล่านี้เรียงต่อกันเป็นพอลิเปปไทด์สายยาวที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ [11,56] ดังแสดงในรูปที่ 2.11



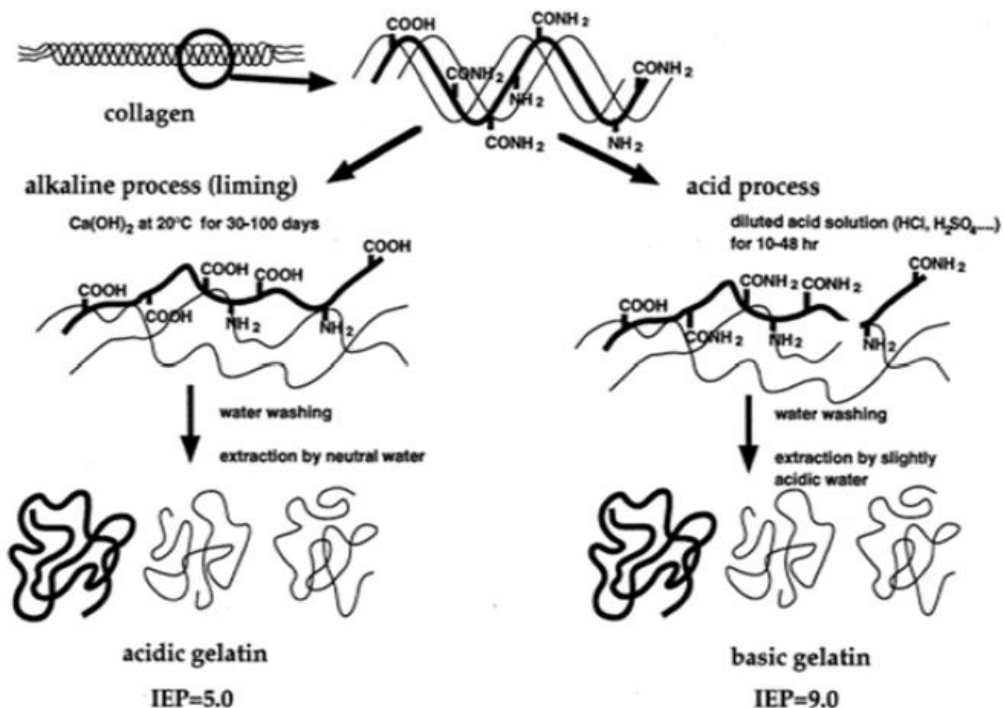
รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของเจลาติน [57]

2.2.3.2 ประเภทของเจลาติน

เจลาติน สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ตามกระบวนการไฮโดรไลซิสและแหล่งที่มา [58,59] ดังแสดงในรูปที่ 2.12 ดังนี้

ก. เจลาตินชนิดเอ (Type A gelatin) หรือ Basic gelatin ส่วนใหญ่สกัดได้จากคอลลาเจนจากหนังหมูผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด โดยกรดที่ใช้คือ กรดซัลฟูริก กรดไฮโดรคลอริก เป็นต้น โดยเจลาตินที่ได้มีค่า Isoelectric point ประมาณ 8-9 ขึ้นอยู่กับระยะเวลาและความรุนแรงของการไฮโดรไลซิสคอลลาเจนด้วยกรด ดังนั้นเจลาตินชนิดเอเหมาะสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในงานควบคุมการปลดปล่อยสารที่มีสมบัติเป็นกรด

ข. เจลาตินชนิดบี (Type B gelatin) หรือ Acidic gelatin ส่วนใหญ่สกัดได้จากหนังวัวและกระดูกผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยเบสที่กลุ่มเอไมด์ของคอลลาเจน โดยเบสที่ใช้คือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ เจลาตินที่ได้มีหมู่คาร์บอกซิลเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้เจลาตินชนิดเอมีประจุเป็นลบ และมีค่า Isoelectric point ประมาณ 4-5 ดังนั้นเจลาตินชนิดบีเหมาะสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในงานควบคุมการปลดปล่อยสารที่มีสมบัติเป็นเบส



รูปที่ 2.12 ขั้นตอนการผลิตเจลาตินชนิดเอและบี [59]

ความแตกต่างของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเจลาตินชนิดเอและบี สามารถสรุป
ได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่พบในเจลาตินชนิดเอและบี [60]

Amino Acid	Type A Gelatin (g/100 g dry gelatin)	Type B Gelatin (g/100 g dry gelatin)
Alanine	8.6	10.1
Arginine	8.3	5.0
Aspartic Acid	6.2	4.6
Cystine	0.1	Trace
Glutamic Acid	11.3	8.5
Glycine	26.4	24.5
Histidine	0.9	0.4
Hydroxylysine	1.0	0.7
Hydroxyproline	13.5	11.0
Isoleucine	1.4	1.3
Leucine	3.1	2.8
Lysine	4.1	2.1
Methionine	0.8	0
Phenylalanine	2.1	1.3
Proline	16.2	13.5
Serine	2.9	3.4
Threonine	2.2	2.0
Tyrosine	0.4	0
Valine	2.5	2.4

2.2.3.3 สมบัติของเจลาติน

สมบัติของเจลาตินที่มักนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม คือ ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้ยังมีราคาไม่แพง เจลาตินมีความเปราะ จุดหลอมเหลว (melting point) ต่ำประมาณ 27-34 องศาเซลเซียส [10,61] สมบัติโดยทั่วไปของเจลาตินชนิดเอและบี สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 การเปรียบเทียบสมบัติของเจลาตินชนิดเอและบี [10]

สมบัติ	เจลาตินชนิดเอ	เจลาตินชนิดบี
pH	3.8 - 5.5	5.0 - 7.5
Isoelectric point (pI)	7.0 - 9.0	4.7 - 5.4
Gel strength (Bloom)	50 - 300	50 - 300
Viscosity (cP)	15 - 75	20 - 75
Ash (%)	0.3 - 2.0	0.5 - 2.0

เจลาตินสามารถพองตัวและละลายได้ในน้ำอุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส สารละลายที่มีขี้ สารละลายพอลิไฮดรอลิกแอลกอฮอล์ (polyhydric alcohol) คือ สารละลายที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) มากกว่า 3 หมู่ เช่น ซอร์บิทอล (sorbital) พรอพิลีนไกลคอล (propylene glycol) และกลีเซอรอล (glycerin) เป็นต้น แต่จะไม่ละลายในสารละลายอินทรีย์ที่มีขี้เล็กน้อย เช่น เบนซีน แอลกอฮอล์ (alcohol) และอะซิโตน (acetone) เป็นต้น [62] โดยสารละลายเจลาตินที่ได้จะไม่มีกลิ่น ไม่มีสี และมีสมบัติแอมโฟเทอริก (Amphoteric) คือสามารถเป็นได้ทั้งกรดและเบส กล่าวคือเมื่อเจลาตินอยู่ในสารละลายที่เป็นกรดจะแสดงประจุเป็นบวก แต่ถ้าเจลาตินอยู่ในสารละลายที่เป็นเบสจะแสดงประจุเป็นลบ

ความหนืดเป็นสมบัติหนึ่งของเจลาตินที่มีความสำคัญ ความหนืดของเจลาตินขึ้นอยู่กับมวลโมเลกุล อีกทั้งความหนืดของเจลาตินจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินสูงขึ้น และอุณหภูมิต่ำลง นอกจากนี้สารละลายเจลาตินยังมีสมบัติการเกิดเจลที่ผันกลับได้ (Thermoreversible gel) เมื่อตั้งสารละลายเจลาตินทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง กล่าวคือ เจลเจลาตินสามารถเปลี่ยนกลับเป็นของเหลวได้เมื่อได้รับความร้อน โดยโอกาสในการเกิดเจลและความแข็งแรงของเจลจะมากขึ้นตามความเข้มข้นและน้ำหนักโมเลกุลที่เพิ่มขึ้น [63]

2.2.3.4 การประยุกต์ใช้งานของเจลาติน

เจลาตินสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลายด้าน โดยเจลาตินถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประมาณร้อยละ 65 เช่น ผลิตภัณฑ์เยลลี่ นม ขนมหัก เป็นต้น ใช้เกี่ยวกับด้านภาพถ่ายประมาณร้อยละ 20 โดยนำเจลาตินมาเคลือบบนฟิล์มถ่ายรูป ใช้ในอุตสาหกรรมยาประมาณร้อยละ 10 เช่น ผลิตภัณฑ์แคปซูลยา และอีกร้อยละ 5 นำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมด้านอื่นๆ ได้แก่ เครื่องสำอาง เช่น โลชั่น ครีม เป็นต้น นอกจากนี้เจลาตินยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้งานทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม เช่น แผ่นปิดบาดแผล วัสดุโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ วัสดุนำส่งเพื่อควบคุมการปลดปล่อยยา เป็นต้น เนื่องจากเจลาตินสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ มีความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพ และไม่เป็นพิษกับเซลล์ของสิ่งมีชีวิต [63]

2.3 เจนตามัยซิน (Gentamicin)

เจนตามัยซิน (Gentamicin) มีชื่อพ้อง คือ Garamycin และ Gentiomycin C เป็นยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycoside) ถูกค้นพบเมื่อปี ค.ศ. 1963 โดย Weinstein และคณะ สังเคราะห์ได้จากเชื้อราจำพวก *Streptomyces species* [64] ตัวอย่างยาในกลุ่ม aminoglycosides ชนิดอื่นๆ ที่ถูกนำมาใช้ทางคลินิก เช่น streptomycin, neomycin, paromomycin, kanamycin, tobramycin และ amikacin เป็นต้น

ในปัจจุบันเจนตามัยซินนิยมนำมาใช้อย่างแพร่หลายเนื่องจากมีคุณสมบัติแตกต่างจากยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่น คือ ความคงตัวสูง ละลายน้ำได้ดี ราคาถูก [65,66] มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี ขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) กล่าวคือ สามารถออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้เป็นส่วนใหญ่และออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเล็กน้อย [17,67] ดังนี้

ก. แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive) เช่น

- Staphylococcus epidermidis*
- Staphylococcus aureus*
- Staphylococcus faecalis*

ข. แบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) เช่น

-*Escherichia coli*

-*Pseudomonas aeruginosa*

-*Citrobacter species*

-*Enterobacter species*

-*Shigella species*

-*Escherichia species*

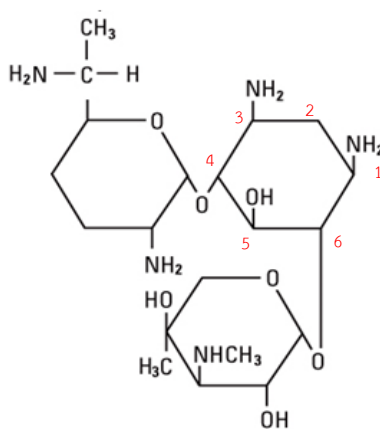
-*Providencia species*

-*Serratia species*

-*Salmonella species*

2.3.1 โครงสร้างของเจนตามัยซิน

เจนตามัยซินมีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนรูปหกเหลี่ยมประกอบด้วยหมู่อะมิโนและหมู่ไฮดรอกซิล เรียกว่าวงแหวน aminocyclitol ชนิด 2-deoxystreptomine โดยตำแหน่งที่ 4 และ 6 ของวงแหวน 2-deoxystreptomine จะเชื่อมต่อกับโมเลกุลของ amino-containing sugar หรือ non-amino-containing sugar ด้วยพันธะไกลโคซิดิก (4,6-Disubstituted 2-deoxystreptomine) สูตรโครงสร้างทางเคมีของเจนตามัยซิน คือ $C_{21}H_{43}N_5O_7$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 477.6 [17,67] แสดงดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของเจนตามัยซิน [68]

2.3.2 สมบัติโดยทั่วไปของเจนตามัยซิน

สมบัติโดยทั่วไปของเจนตามัยซิน [16,69] มีดังต่อไปนี้

- ลักษณะเป็นผงสีขาว
- สามารถละลายได้ดีในน้ำ นอร์มัลซาลิน กรดไฮโดรคลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ แต่ไม่สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ เมทานอล อะซิโตน และตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ
- ความสามารถในการละลายของเจนตามัยซิน (solubility) เท่ากับ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารละลายที่ได้มีลักษณะใส และมีประจุเป็นบวก
- สารละลายเจนตามัยซินที่ละลายในน้ำ มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 3.5-5.5
- อุณหภูมิในการเก็บรักษา เท่ากับ 2-8 องศาเซลเซียส
- จุดหลอมเหลว (Melting point) เท่ากับ 218-237 องศาเซลเซียส

2.3.3 กลไกการออกฤทธิ์ของเจนตามัยซิน

กลไกการออกฤทธิ์ของยาเจนตามัยซิน คือ ยาจะซึมผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยเข้าจับกับ ribosome subunit 30S ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการรบกวนการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย ด้วยกลไกเหล่านี้ทำให้แบคทีเรียหยุดการแพร่พันธุ์และตายในที่สุด นอกจากนี้ การออกฤทธิ์ของเจนตามัยซินยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยา กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นของยาสูงขึ้นสามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ดีขึ้น [15]

2.3.4 การประยุกต์ใช้เจนตามัยซินในการรักษาโรค

เจนตามัยซินเป็นยาปฏิชีวนะที่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุของอาการอักเสบในอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ระบบไขข้อ ระบบกระดูก ระบบทางเดินปัสสาวะ เยื่อหู โพรสมดลูก เยื่อช่องท้อง ลำไส้ อังเชิงกราน ผิวหนัง นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียในระหว่างการผ่าตัดได้อีกด้วย โดยเจนตามัยซินมีรูปแบบเภสัชภัณฑ์ (pharmaceutical dosage form) หลายชนิด เช่น ยากิน ยาฉีด ยาหยอด และยาทา เป็นต้น [19] เนื่องจากเจนตามัยซินสามารถดูดซึม (absorption) ในระบบทางเดินอาหารได้น้อย ดังนั้นจึงนิยมใช้ในรูปแบบยาฉีดมากกว่า โดยรูปแบบสามัญของยาเจนตามัยซิน อยู่ในรูปเจนตามัยซินซัลเฟต (gentamicin sulfate) ซึ่งมีชื่อทางการค้า คือ Garamycin[®], Miramcin[®] และ Ci-domtcin[®] เป็นต้น

ขนาดยาที่ใช้ทางคลินิก (Drug dosage)

ในอดีตการใช้ยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์มีการบริหารยา (administration of drug) แบบวันละหลายครั้ง (multiple daily dosing) จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1994 เริ่มนิยมบริหารยาแบบวันละครั้ง (once-daily dosing หรือ single daily dosing) หรือเพิ่มระยะห่างของการให้ยานานขึ้น (extended-interval dosing) จากการศึกษาพบว่าการบริหารยาแบบ extended-interval dosing มีโอกาสเกิดพิษจากยาน้อยกว่าการบริหารยาแบบ multiple daily dosing ในปัจจุบันจึงมีการบริหารยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์แบบ extended-interval dosing มากขึ้น [18]

เจนตามัยซินมีผลข้างเคียงที่รุนแรงซึ่งทำให้เกิดภาวะเป็นพิษต่อไต (nephrotoxicity) ภาวะเป็นพิษต่อหู (ototoxicity) และทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรงหรือระบบทางเดินหายใจล้มเหลว เป็นต้น ดังนั้นจึงควรระมัดระวังในการใช้และไม่ควรใช้เกินขนาดหรือติดต่อกันเป็นเวลานาน ปัจจุบันจึงมีการบริหารยาเจนตามัยซินแบบ extended-interval dosing มากขึ้น เนื่องจากการบริหารยาแบบ extended-interval dosing มีประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วยดีเทียบเท่าการบริหารยาแบบ multiple daily dosing แต่สามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดพิษจากยา ทำให้การบริหารยาสะดวก ประหยัดเวลา และลดค่าใช้จ่ายอีกด้วย [64] โดยขนาดเจนตามัยซินที่ใช้ในผู้ป่วยที่มีการบริหารยาแบบ multiple daily dosing เท่ากับ 1.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทุก 8 ชั่วโมง เมื่อบริหารยาแบบ extended-interval dosing จะใช้ยาเท่ากับ 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ให้วันละครั้ง [18]

ปัจจุบันพบว่าเชื้อโรคหรือแบคทีเรียเป็นจำนวนมากที่เป็นสาเหตุของการก่อให้เกิดโรคต่างๆ ส่งผลให้ยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ เช่น เจนตามัยซิน มีบทบาททางคลินิกมากขึ้น เนื่องจากมีคุณสมบัติแตกต่างจากยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่น คือ ความคงตัวสูง ละลายน้ำได้ดี ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี ออกฤทธิ์ครอบคลุมได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก ซึ่งการบริหารยาแบบ extended-dosing ช่วยให้บริหารยาได้สะดวกขึ้น ลดค่าใช้จ่าย โดยประสิทธิภาพในการรักษาคงเดิมและปลอดภัย งานวิจัยนี้จึงมีการพัฒนาระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย (Controlled release drug delivery systems) ซึ่งเป็นการเตรียมยาในรูปเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่สามารถควบคุมให้ปลดปล่อยยาในอัตราและปริมาณที่กำหนด และสามารถนำยาไปยังอวัยวะหรือบริเวณตำแหน่งที่มีการติดเชื้อได้ดีและอยู่ได้นานขึ้น ไม่ต้องบริหารยา

บ่อย และลดผลข้างเคียงของยาในบริเวณอื่น เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคข้ออักเสบติดเชื้อต่อไป

2.4 โรคข้ออักเสบติดเชื้อ (Septic Arthritis)

โรคข้ออักเสบติดเชื้อ (Septic Arthritis หรือ Pyogenic arthritis, Suppurative arthritis, Purulent arthritis และ Pyarthrosis) คือ การอักเสบเนื่องจากการติดเชื้อโรคภายในข้อ เชื้อที่เป็นสาเหตุได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย วัณโรค ไวรัส และเชื้อรา เชื้อโรคเหล่านี้ทำให้เกิดการอักเสบของข้อซึ่งก่อให้เกิดอาการปวด บวม แดง ร้อน และกดเจ็บ [20,21] โรคข้ออักเสบเป็นโรคที่พบได้บ่อยจัดเป็นภาวะฉุกเฉินโรคหนึ่งเพราะสามารถทำลายข้อได้อย่างรวดเร็วและมีอัตราการพิการสูง พบประมาณ 2-10 รายต่อประชากร 100,000 คนต่อปี พบเพิ่มขึ้นเป็น 30-40 รายต่อประชากร 100,000 คนต่อปีในผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Rheumatoid arthritis) และพบมากถึง 40-68 รายต่อประชากร 100,000 คนต่อปีในผู้ป่วยที่ใส่ข้อกระดูกเทียม (Prosthetic joint) [70,71] โดยเฉลี่ยของผู้ป่วยโรคข้ออักเสบอยู่ในช่วงอายุน้อยกว่า 15 ปี และมากกว่า 55 ปี [72]

2.4.1 เชื้อก่อโรค

เชื้อโรคทุกชนิดสามารถก่อให้เกิดโรคข้ออักเสบติดเชื้อได้ เชื้อโรคที่พบบ่อยที่สุดคือเชื้อแบคทีเรีย การตรวจทางห้องปฏิบัติการสามารถแสดงเชื้อก่อโรคได้จากน้ำไขข้อ แบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่ เชื้อหนองใน (*Neisseria gonorrhoeae*) และเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช่เชื้อหนองใน สำหรับเชื้อหนองในพบเป็นสาเหตุหลักของโรคข้ออักเสบติดเชื้อกับผู้ป่วยที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์ถึงร้อยละ 20-50 ส่วนกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช่เชื้อหนองในนั้น เชื้อโรคที่พบได้บ่อยที่สุด คือ *Staphylococcus aureus* พบร้อยละ 60-65 รองลงมาคือ *Streptococcus spp.* พบร้อยละ 15-20 แบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative bacilli) พบร้อยละ 15-20 และแบคทีเรียชนิดที่เจริญได้ในภาวะที่ไม่มีอากาศหรือไม่มีออกซิเจน (anaerobe) พบร้อยละ 5 นอกจากนี้สามารถพบเชื้อหลายชนิดพร้อมกันได้ประมาณร้อยละ 5-10 [73,74]

2.4.2 สาเหตุของการเกิดโรค

โรคข้ออักเสบติดเชื้อเกิดจากเชื้อโรคผ่านเข้าสู่ข้อ แบ่งออกเป็น 3 ทาง [23] คือ

2.4.2.1 การติดเชื้อทางกระแสเลือด เป็นทางผ่านของเชื้อเข้าสู่ข้อทำให้เกิดการติดเชื้อในข้อตามมาได้บ่อยที่สุด เนื่องจากเยื่อข้อเป็นเนื้อเยื่อที่มีหลอดเลือดเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเมื่อมีการติดเชื้อในกระแสเลือดจึงมีโอกาสที่เชื้อโรคจะเข้าสู่ข้อได้มากขึ้น เมื่อเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดผ่านเข้าสู่ข้อปัจจัยที่ส่งผลต่อโอกาสของการเกิดข้ออักเสบติดเชื้อตามมาได้มาน้อยเพียงใดขึ้นกับคุณสมบัติเฉพาะของเชื้อ ศักยภาพในการต้านเชื้อจุลชีพของร่างกายผู้ป่วย ความผิดปกติของโครงสร้างภายในข้อและระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้สาเหตุของการติดเชื้อทางกระแสเลือดและนำไปสู่การติดเชื้อของข้อที่พบบ่อย คือ การติดเชื้อทางระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินปัสสาวะ และผิวหนัง เป็นต้น

2.4.2.2 การลุกลามจากการติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อใกล้เคียง เช่น การติดเชื้อของกระดูก (osteomyelitis) และการติดเชื้อของถุงน้ำเยื่อข้อ (septic bursitis) ลามมาสู่ข้อ

2.4.2.3 การผ่านของเชื้อจากภายนอกเข้าสู่ข้อโดยตรง เช่น การได้รับอุบัติเหตุที่มีบาดแผลทะลุเข้าข้อ การผ่านของเชื้อจากการผ่าตัดเปลี่ยนข้อเทียม การเจาะดูดน้ำไขข้อ และการฉีดยาเข้าข้อ เป็นต้น

2.4.3 แนวทางการรักษา

การรักษาโรคข้ออักเสบติดเชื้อมีวัตถุประสงค์หลัก คือ การกำจัดเชื้อก่อโรค การลดอาการปวดข้อและการกลับมาใช้ข้อได้ตามปกติ ดังนั้นหลักสำคัญของการรักษาข้ออักเสบติดเชื้อจึงมี 2 ส่วนซึ่งควรรักษาพร้อมกัน คือ การรักษาแบบเฉพาะเจาะจง (specific treatment) และการรักษาแบบประคับประคองตามอาการ (supportive and symptomatic treatment) [75]

2.4.3.1 การรักษาแบบเฉพาะเจาะจง แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การให้ยาปฏิชีวนะและการระบายหนองหรือน้ำไขข้อ (joint drainage) การรักษาทั้ง 2 ส่วนนี้มีความสำคัญมาก ควรเริ่มต้นให้เร็วที่สุดเพราะการรักษาที่ล่าช้าอาจส่งผลเสียต่อผู้ป่วยได้

ก. การให้ยาปฏิชีวนะ การเลือกให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมมีหลักการที่ต้องพิจารณาได้แก่ ข้อมูลจากประวัติผู้ป่วย อายุ ตำแหน่งข้ออักเสบ ตำแหน่งที่สงสัยเป็นทางเข้าของเชื้อโรค นอกจากนี้ควรพิจารณาตามลักษณะของเชื้อที่ตรวจพบจากการย้อมสีแกรม (Gram stain) และ

เพาะเชื้อร่วมด้วย แสดงดังตารางที่ 2.5 ซึ่งการรักษาโดยการให้ยาปฏิชีวนะร่วมกับการระบายน้ำไขข้อ พบว่าผลการรักษาเป็นที่น่าพอใจมากขึ้นเมื่อเทียบกับการรักษาโดยการระบายน้ำไขข้อเพียงอย่างเดียว อีกทั้งช่วยลดระยะเวลาของการอยู่โรงพยาบาลและลดค่าใช้จ่ายให้กับผู้ป่วยได้อีกด้วย [22]

ตารางที่ 2.5 ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมสำหรับเชื้อก่อโรค [23]

เชื้อก่อโรค	ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสม
Gram-positive	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nafcillin, Clindamycin, Gentamicin,
<i>Methicilin-resistant S. aureus</i>	Vancomycin
<i>Coagulase-negative S. aureus</i>	Vancomycin
<i>Streptococcus spp.</i>	Cefazolin, Clindamycin
<i>Enterococcus spp.</i>	Penicillin G, Ampicillin
Gram-negative	
<i>Hemophilus influenzae</i>	Third-generation cephalosporin
<i>Escherichia coli</i>	Ampicillin, Cefazolin, Gentamicin
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cefepime, Amikacin, Ciprofloxacin
<i>Serratia marcescens</i>	Cefotaxime, Gentamicin

ข. การระบายน้ำไขข้อ (joint drainage) มีความสำคัญมากเช่นเดียวกันกับการให้ยาปฏิชีวนะ มีประโยชน์ในด้านการลดความดันในข้อ ลดความเจ็บปวดของข้อลง ลดจำนวนเชื้อและปริมาณสารพิษ อีกทั้งมีประโยชน์ในการติดตามผลการรักษาซึ่งสามารถสังเกตได้จากปริมาณของน้ำไขข้อ และจำนวนเม็ดเลือดขาวที่จะลดลงเรื่อยๆ ร่วมกับการไม่พบเชื้อจากการย้อมสีแกรมและการเพาะเชื้อ [76]

น้ำไขข้อในสภาวะโรคข้ออักเสบจากการติดเชื้อส่วนใหญ่มีความแตกต่างจากน้ำไขข้อจากข้อปกติ คือน้ำไขข้อมีลักษณะขุ่นคล้ายหนองหรือเป็นหนอง มีความหนืดน้อย เม็ดเลือดขาวในน้ำไขข้อมากกว่า 50,000 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร และมีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิล (neutrophil) มากกว่าร้อยละ 90 อีกทั้งระดับโปรตีนในน้ำไขข้อพบ 30-50 กรัม/ลิตร แสดงดังตารางที่ 2.6

การระบายน้ำไขข้อมีหลายวิธี [75,77] ได้แก่

- **การเจาะข้อ** ควรเจาะน้ำไขข้อทุกวันในระยะแรก โดยพยายามดูดออกให้มากที่สุด พร้อมทั้งวัดปริมาณของน้ำไขข้อ นับจำนวนเม็ดเลือดขาว ย้อมสี Gram stain และส่งเพาะเชื้อทุกครั้งที่เจาะข้อ ในกรณีที่ผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะหรือกรณีของข้ออักเสบติดเชื้อเป็นข้อที่เจาะได้ยากควรพิจารณาทำการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดแทน

- **การผ่าตัดเปิดข้อ (arthrotomy)** มีประโยชน์ในการระบายน้ำไขข้อหรือหนองในข้อเป็นเป็นอย่างมาก เพราะสามารถมองเห็นพยาธิสภาพได้อย่างชัดเจนและสามารถระบายหนองออกจากโครงสร้างที่อยู่รอบข้อได้ด้วย แต่มีข้อเสียคือเป็นการผ่าตัดที่มีความเสี่ยงสูง มีแผลผ่าตัดขนาดใหญ่ซึ่งอาจเกิดการติดเชื้อตามมาได้ และไม่สามารถกระทำซ้ำได้หลายครั้ง ดังนั้นการผ่าตัดเปิดข้อจึงควรกระทำเมื่อผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะร่วมกับการเจาะดูดน้ำไขข้อ หรือบริเวณของข้อที่ตำแหน่งอยู่ลึกและไม่สามารถเจาะดูดได้เพียงพอ เช่น ข้อสะโพก ข้อไหล่ และข้อกระดูกเชิงกราน หรือในกรณีที่ผู้ป่วยสูงอายุ เป็นโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ หรือมีภูมิคุ้มกันผิดปกติ ควรเลือกการผ่าตัดเปิดข้อเป็นวิธีการรักษาแทน

- **การส่องกล้อง (arthroscopic lavage)** เพื่อระบายน้ำไขข้อที่มีการอักเสบหรือหนองในข้อ มีข้อดีคือเกิดภาวะแทรกซ้อนน้อยกว่าการผ่าตัดข้อ และมีแผลผ่าตัดขนาดเล็กกว่าทำให้การบาดเจ็บของเนื้อเยื่อโดยรอบน้อย ส่งผลให้ผู้ป่วยสามารถฟื้นตัวและทำกายภาพบำบัดได้เร็ว อย่างไรก็ตามเนื่องจากการส่องกล้องต้องใช้เครื่องมือราคาสูงและต้องอาศัยผู้ที่มีความชำนาญจึงยังไม่สามารถนำมารักษาได้ในโรงพยาบาลทั่วไป

2.4.3.2 การรักษาแบบประคับประคองตามอาการ [78] แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

ก. **ลดอาการปวด** มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ผู้ป่วยสามารถขยับข้อได้บ้างส่งผลให้การทำกายภาพบำบัดได้ผลดี โดยทั่วไปสามารถให้ยาแก้ปวด เช่น acetaminophen หรือ tramadol ในช่วงแรกควรหลีกเลี่ยงยาแก้ปวดในกลุ่มยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ เพราะอาจส่งผลบดบังอาการของข้ออักเสบ ทำให้ประเมินการรักษาได้ยาก

ข. ทำกายภาพบำบัด ในระยะแรกของการรักษาผู้ป่วยจะมีอาการปวดข้อ มากจนขยับข้อไม่ได้ต้องพยายามอยู่นิ่งและอยู่ในท่าที่เหมาะสม และควรฝึกการเกร็งกล้ามเนื้อรอบข้อ เป็นช่วงๆ เพื่อป้องกันการเกิดข้อยึดติด เมื่อผู้ป่วยปวดข้อน้อยลงจึงเริ่มขยับข้อให้มากขึ้นและลงน้ำหนักเป็นลำดับต่อไป

ตารางที่ 2.6 สมบัติของน้ำไขข้อจากข้อปกติเทียบกับน้ำไขข้อสภาวะข้ออักเสบติดเชื้อ [76,79]

การตรวจน้ำไขข้อ	ข้อปกติ	ข้ออักเสบติดเชื้อ
สี	ไม่มีสี, สีเหลืองซีด	เหลือง, น้ำตาลแดง, แดง
ความขุ่น	ใส	ขุ่น, เป็นหนอง
ความหนืด	ดี	ลดลง
ลิ่มมีวซิม (mucin clot)	ดี	ยุ่ย
ชนิดเซลล์ที่พบมาก	โมโนนิวเคลียร์	นิวโตรฟิล
เซลล์เม็ดเลือดขาว (cells/mm ²)	<200	>50,000
การย้อมสีด้วยวิธีแกรม (Gram stain)	ผลลบ	คือคัส, แบซิลลัส
ปริมาณโปรตีน (g/L)	10-20	30-50
การเพาะเชื้อ	ผลลบ	ผลบวก

โรคข้ออักเสบติดเชื้อจัดเป็นภาวะฉุกเฉินทางโรคข้อที่สามารถทำลายข้อได้อย่างรวดเร็วและสร้างความทรมาณต่อผู้ป่วย ถ้าได้รับการรักษาที่ไม่ถูกต้องหรือช้าเกินไปอาจส่งผลให้เยื่อข้อ กระดูกอ่อนผิวข้อ และกระดูกที่อยู่ใกล้เคียงถูกทำลายได้ ในปัจจุบันมีความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์การแพทย์มากขึ้นส่งผลให้การรักษาดีขึ้นกว่าเดิมมาก ช่วยลดความทุกข์ทรมาณ ลดความพิการ และเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ดังนั้นผู้ป่วยควรมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโรคและยาต่างๆ ที่ใช้รักษาโรค ควรเข้ารับการรักษาอย่างสม่ำเสมอและปฏิบัติตามคำแนะนำจากแพทย์อย่างเคร่งครัดเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความพิการหรือภาวะแทรกซ้อนตามมา

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 ระบบที่ประกอบด้วยอัลจินต กรดไฮยาลูรอนิก และเจลาติน สำหรับประยุกต์ใช้ใน งานด้านการแพทย์และระบบนำส่งยา

ในปี 2006 Zhanfeng D. และคณะ [80] ได้ขึ้นรูปฟิล์มอัลจินตผสมเจลาติน ที่อัตราส่วน อัลจินตต่อเจลาติน 3 สูตร คือ 20/80, 50/50 และ 80/20 โดยน้ำหนัก โดยเทคนิคการอบแห้งที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเชื่อมขวางด้วยแคลเซียมคลอไรด์ที่ระยะเวลาต่างๆ เพื่อนำไป ประยุกต์ใช้เป็นวัสดุนำส่งยาไซโปรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin) ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาและ ป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย จากการศึกษาพบว่า ฟิล์มที่มีสัดส่วนของเจลาตินมากขึ้นจะมีร้อยละการ ปลดปล่อยสะสมของยาไซโปรฟลอกซาซินได้มากขึ้น โดยฟิล์มที่อัตราส่วนอัลจินตต่อเจลาติน 20/80, 50/50 และ 80/20 โดยน้ำหนัก มีร้อยละการปลดปล่อยสะสม 98, 75 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ ระยะเวลาที่ใช้ในการเชื่อมขวางฟิล์มมีผลต่ออัตราการ ปลดปล่อยยาไซโปรฟลอกซาซินจากฟิล์ม โดยฟิล์มที่ใช้เวลาในการเชื่อมขวางมากจะมีความคงตัวมาก ขึ้นและปลดปล่อยช้าลง

ในปี 2014 Singh D. และคณะ [81] ได้ศึกษาประสิทธิภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ผสมระหว่าง อัลจินต กรดไฮยาลูรอนิก และเจลาติน ที่ขึ้นรูปด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dry) และเชื่อมขวางด้วยไอออนกับแคลเซียมคลอไรด์ สำหรับการประยุกต์ใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ กระดูก (bone tissue engineering) พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ผสมดังกล่าวมีความสามารถในการดูดซับ น้ำได้อย่างรวดเร็ว โดยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นถึง 70 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 30 วินาที ส่งเสริมการยึด เกาะ และการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูก รวมถึงชักนำให้เซลล์ต้นกำเนิดเปลี่ยนไปเป็น กระดูกได้ดี งานวิจัยนี้แสดงถึงศักยภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ผสมที่ใช้เทคนิคการเชื่อมขวางกับไอออน ของแคลเซียมคลอไรด์แทนการใช้สารเคมี ที่อาจก่อให้เกิดสารพิษตกค้างได้เมื่อนำไปใช้ในร่างกาย

ในปี 2016 Alemdar N. [82] ได้พัฒนาฟิล์มคอมโพสิทระหว่างอัลจินต กรดไฮยาลูรอนิก และเจลาติน พร้อมทั้งปรับปรุงสมบัติทางกลของฟิล์มคอมโพสิทโดยการผสมกับเถ้ากระดูก (bone ash) เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในระบบนำส่งยา จากการศึกษาพบว่า ฟิล์มคอมโพสิทมีความสามารถในการบวมน้ำและการปลดปล่อยยา 5-Fluorouracil สูง เนื่องจากการบวมน้ำที่สูงส่งผลต่อการแพร่ของ ตัวยาออกจากฟิล์มคอมโพสิท เมื่อทดสอบความเข้ากันทางชีวภาพของฟิล์มคอมโพสิทกับเซลล์ผิวหนัง ของหนู (L929) พบว่า ฟิล์มคอมโพสิทไม่เป็นพิษต่อเซลล์ แสดงให้เห็นว่าฟิล์มคอมโพสิทระหว่าง อัลจินต กรดไฮยาลูรอนิก และเจลาติน สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุสำหรับระบบนำส่งได้ในอนาคต

2.5.2 การพัฒนาปิดอัลจินตร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้ในระบบนำส่ง

งานวิจัยที่มีการพัฒนาปิดอัลจินตร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้ระบบนำส่ง แสดงดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างงานวิจัยในการพัฒนาปิดอัลจินตร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้ในระบบนำส่ง

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	วิธีการขึ้นรูปเม็ดปิด	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
ปิดแคลเซียม อัลจินต	หยดสารละลายอัลจินต ลงในสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ เรียกว่า วิธีการเกิดเจล ภายนอก (External gelation)	1. ปิดแคลเซียมอัลจินต มีขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร 2. สามารถกักเก็บยาเตตรา ไซคลินได้ และมีประสิทธิภาพใน การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (<i>Escherichia coli</i>) และแบคที เรียแกรมบวก(<i>staphylococcus epidermidis</i>) ได้ การนำไปประยุกต์ใช้ ระบบ นำส่งยาเตตราไซคลิน (Tetracycline) ซึ่ง เป็น ยา ปฏิชีวนะที่ใช้รักษาและป้องกัน โรคติดเชื้อ (Infectious disease)	ปี 2016 Emine E.O. และ Alper A. [83]

ตารางที่ 2. 7 ตัวอย่างงานวิจัยในการพัฒนาปิดอัลจิเนตร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้ในระบบนำส่ง (ต่อ)

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	วิธีการขึ้นรูปเม็ดปิด	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
<p>ปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่เคลือบด้วยไคโตซาน</p> <p>ชนิดของอัลจิเนตที่ใช้ในการขึ้นรูป คือ</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. อัลจิเนตชนิดจีบล็อคสูง 2. อัลนิเนตชนิดเอ็มบล็อคสูง 	<p>ขึ้นรูปปิดด้วยวิธีการเกิดเจลภายนอก แบ่งออกเป็น 2 รูปแบบคือ</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซาน ขึ้นรูปโดยหยดสารละลายอัลจิเนตลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 2. ปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่เคลือบด้วยไคโตซาน ขึ้นรูปโดยหยดสารละลายอัลจิเนตลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ผสมไคโตซาน 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ปิดแคลเซียมอัลจิเนต มีขนาดประมาณ 3 มิลลิเมตร 2. การเคลือบปิดแคลเซียมอัลจิเนตด้วยไคโตซานสามารถชะลอการปลดปล่อยโมเดลยาบริลเลียนด์บลู (Brilliant blue) ในฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (pH 6.8) ได้ เนื่องจากปิดมีความคงตัวมากขึ้น รวมทั้งการกร่อนของโมเลกุลอัลจิเนตออกจากปิดลดลง เมื่อเทียบกับปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่ไม่เคลือบ 3. จีเนตจีบล็อคสูง ทำให้ปิดที่ได้มีโครงสร้างที่แข็งแรงและชะลอการปลดปล่อยโมเดลยาได้ดีกว่าอัลจิเนตเอ็มบล็อคสูง 4. การใช้ไคโตซานความเข้มข้นต่ำเพียง 0.02% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรสามารถปรับปรุงการปลดปล่อยยาบริลเลียนด์บลูจากปิดแคลเซียมอัลจิเนตได้ และการใช้ไคโตซานในความเข้มข้นสูงขึ้นสามารถชะลอการปลดปล่อยยามากขึ้น <p>การนำไปประยุกต์ใช้ ระบบนำส่งโมเดลยาบริลเลียนด์บลู</p>	<p>ปี 1993</p> <p>Murata Y. และคณะ [84]</p>

ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างงานวิจัยในการพัฒนาปิดอัลจิเนตร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้ในระบบนำส่ง (ต่อ)

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	วิธีการขึ้นรูปเม็ดปิด	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
<p>ปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่เคลือบด้วยไคโตซาน</p>	<p>ขึ้นรูปปิดด้วยวิธีการเกิดเจลภายนอกนั้นทำแท่งเม็ดปิดด้วยวิธีการฝั่งที่อุณหภูมิห้อง แบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ</p> <p>1. ปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซาน ขึ้นรูปโดยหยดสารละลายอัลจิเนตที่ผสมยาแอมพิซิลินลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์</p> <p>2. ปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่เคลือบด้วยไคโตซาน ขึ้นรูปโดยหยดสารละลายอัลจิเนตที่ผสมยาแอมพิซิลินลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ผสมไคโตซาน</p>	<p>1. ปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่เคลือบและไม่เคลือบด้วยไคโตซาน มีขนาดประมาณ 551 และ 450 ไมโครเมตร ตามลำดับ</p> <p>2. ปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่เคลือบด้วยไคโตซาน มีประสิทธิภาพในการกักเก็บแอมพิซิลิน 46.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซาน ที่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บแอมพิซิลิน เท่ากับ 15.5 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการเคลือบด้วยไคโตซานทำให้เม็ดปิดมีความแข็งแรงมากขึ้น จากการเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างหมู่คาร์บอกซิลของอัลจิเนตกับหมู่อะมิโนของไคโตซาน จึงทำให้แอมพิซิลินแพร่ออกไประหว่างการก่อตัวเป็นเม็ดปิดลดลง</p> <p>การนำไปประยุกต์ใช้ ระบบนำส่งยาแอมพิซิลิน (ampicillin) ในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย</p>	<p>ปี 2005 Anil K.A. และ Willem F.S. [85]</p>

ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างงานวิจัยในการพัฒนาปิดอัลจินตร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้ในระบบนำส่ง (ต่อ)

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	วิธีการขึ้นรูปเม็ดปิด	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
<p>ปิดแคลเซียมอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยไคโตซาน</p>	<p>ขึ้นรูปปิดด้วยวิธีการเกิดเจลภายนอกโดยหยดสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 50 นาที จากนั้นนำเม็ดปิดที่ได้ไปแช่ในสารละลายไคโตซาน ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตรระยะเวลา 1.5 ชั่วโมง</p>	<p>1. ปิดแคลเซียมอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยไคโตซาน มีความคงตัวสูงกว่าปิดที่ไม่ได้เคลือบด้วยไคโตซาน เนื่องจากประจุลบ (หมู่คาร์บอกซิล) ของอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับประจุบวก (หมู่อะมิโน) ของไคโตซาน ซึ่งช่วยเพิ่มแรงดึงดูดจากอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างชั้นเคลือบที่แข็งแรงกว่าให้กับเม็ดปิด</p> <p>2. ความสามารถในการบวมน้ำของปิดแคลเซียมอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยไคโตซาน มีค่าสูงกว่าปิดแคลเซียมอัลจินตที่เคลือบด้วยไคโตซาน ในสภาวะพอสเฟสบัฟเฟอร์ (pH 7.4) เนื่องจากกรดไฮยาลูรอนิกมีสมบัติชอบน้ำสูงและบวมตัวได้ดี</p> <p>การนำไปประยุกต์ใช้ ระบบนำส่งยาและสารสำคัญเพื่อประยุกต์ใช้ทางการแพทย์</p>	<p>ปี 2015 Hu Y. และคณะ [12]</p>

2.5.3 การพัฒนาชีววัสดุเพื่อใช้ในระบบนำส่งเจนตามัยซิน

งานวิจัยที่ใช้ระบบควบคุมการปลดปล่อยเจนตามัยซิน แสดงดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ระบบควบคุมการปลดปล่อยเจนตามัยซิน

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	เทคนิคที่ใช้ ในการขึ้นรูป	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
อนุภาคไมโครจาก อัลจินตและ ไฮดรอกซีอะพา ไทต์	เทคนิคการสังเคราะห์ พอลิเมอร์แบบกระจาย (dispersion polymerization technique)	1. อนุภาคไมโครสามารถดูด ซับเจนตามัยซินได้ 44.13 เปอร์เซ็นต์ 2. เจนตามัยซินถูก ปลดปล่อยออกมา 87.5 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะ เวลา 4 วัน ที่สภาวะจำลองร่างกาย (สารละลาย PBS, อุณหภูมิ 37°C และค่าความเป็นกรดต่าง 7.4) <u>การนำไปประยุกต์ใช้</u> ป้องกัน และรักษากระดูกอักเสบและติด เชื้อ	ปี 2015 Sivakumar M. และคณะ [86]

ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ระบบควบคุมการปลดปล่อยเงินตามัยซิน (ต่อ)

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	เทคนิคที่ใช้ ในการขึ้นรูป	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
เส้นใยพอลิคาร์โพรแลคโตน (polycaprolactone fiber)	การผลิตเส้นใยแบบปั่นเปียก (wet spinning)	<p>1. เส้นใยพอลิคาร์โพรแลคโตนมีประสิทธิภาพในการกักเก็บเงินตามัยซิน 64 เปอร์เซ็นต์ และเงินตามัยซินถูกปลดปล่อยออกมา 30, 60 และ 78 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 1, 10 และ 50 วัน ตามลำดับที่สภาวะจำลองร่างกาย</p> <p>2. เงินตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยออกมามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (<i>staphylococcus epidermidis</i>)</p> <p>การนำไปประยุกต์ใช้ ใช้เป็นวัสดุปิดแผล หรือเนื้อเยื่อทดแทน (tissue substitute) เพื่อรักษาอาการอักเสบและการติดเชื้อบริเวณกล้ามเนื้อหลอดเลือด เป็นต้น</p>	ปี 2007 Chang H.I. และคณะ [87]

ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ระบบควบคุมการปลดปล่อยเงินตามัยซิน (ต่อ)

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	เทคนิคที่ใช้ ในการขึ้นรูป	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
แผ่นโลหะไททาเนียมที่เคลือบด้วยอนุภาคผสมระหว่างอัลจินตและเจลาติน	ปรับปรุงพื้นผิวแผ่นโลหะไททาเนียมโดยเทคนิคการจุ่มเคลือบ (dip-coating) ด้วยอนุภาคผสมระหว่างอัลจินตและเจลาติน	<p>1. เงินตามัยซินถูกปลดปล่อยออกมาอย่างช้าๆ ใน 0.5 ชั่วโมงแรก และปลดปล่อยออกมา 61.7 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 8 ชั่วโมง และการปลดปล่อยสะสมเนิ่นนานถึง 10 วัน ที่สภาวะจำลองร่างกาย</p> <p>2. กลไกการปลดปล่อยยาเป็นไปตามสมการ Power law แบบ non-Fickian diffusion คือ เงินตามัยซิน ปลดปล่อยออกจากอนุภาคผสมโดยการแพร่ และการย่อยสลาย</p> <p>3. แผ่นโลหะผสมไททาเนียมที่เคลือบด้วยอนุภาคผสมระหว่างอัลจินตและเจลาติน มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (<i>Staphylococcus aureus</i>) ได้สูงกว่าแผ่นโลหะผสมไททาเนียมที่ไม่ผ่านการเคลือบ</p> <p>การนำไปประยุกต์ใช้ ป้องกันและรักษากระดูกติดเชื้อ</p>	ปี 2008 Xiao J. และคณะ [14]

ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ระบบควบคุมการปลดปล่อยเงินตามัยซิน (ต่อ)

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	เทคนิคที่ใช้ ในการขึ้นรูป	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
<p>โคโตซานปิดที่เคลือบด้วยกรดไฮยาลูรอนิก สลับกับโคโตซาน</p>	<p>ขึ้นรูปโคโตซานปิดด้วยเทคนิคการตกตะกอน (precipitation) และเคลือบโคโตซานปิดด้วยเทคนิคการเคลือบชั้นต่อชั้น (layer-by-layer) ด้วยกรดไฮยาลูรอนิกสลับกับโคโตซาน</p>	<p>1. โคโตซานปิดที่เคลือบและไม่เคลือบด้วยกรดไฮยาลูรอนิกสลับกับโคโตซาน สามารถดูดซับเงินตามัยซินได้ 62.66 และ 54.49 เปอร์เซ็นต์ และมีประสิทธิภาพในการดูดซับเงินตามัยซิน 55.96 และ 39.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ</p> <p>2. โคโตซานปิดที่เคลือบด้วยกรดไฮยาลูรอนิกสลับกับโคโตซานสามารถปลดปล่อยเงินตามัยซิน 100 เปอร์เซ็นต์ ได้เนิ่นนานถึง 48 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับโคโตซานปิดที่ไม่เคลือบ ซึ่งปลดปล่อยเงินตามัยซินได้เพียง 6 ชั่วโมง ที่สภาวะจำลองร่างกาย</p> <p>3. โคโตซานปิดไม่มีความเป็นพิษเมื่อทดสอบกับเซลล์ผิวหนังหนู</p> <p>การนำไปประยุกต์ใช้ โมเดลระบบนำส่งยาในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (model antibiotic system)</p>	<p>ปี 2008 Grech J. และคณะ [88]</p>

ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ระบบควบคุมการปลดปล่อยเงินตามัยซิน (ต่อ)

รูปแบบ/ ชีววัสดุที่ใช้ เป็นระบบนำส่ง	เทคนิคที่ใช้ ในการขึ้นรูป	ผลการทดลอง และการนำไปประยุกต์ใช้	อ้างอิง
<p>โครงเลี้ยงเซลล์ ไฟโบรอินไหม/ ไคโตซานผสมกับ เม็ดปิดอัลจินต ที่ดูดซับเงินตามัย ซิน</p>	<p>ขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ ไฟโบรอินไหม/ไคโต ซาน ด้วยเทคนิคการ ทำแห้งแบบเยือกแข็ง และผสมกับปิดอัลจิ เนตที่ขึ้นรูปด้วยวิธีการ เกิดเจลภายนอกกับ แคลเซียมคลอไรด์</p>	<p>1. เงินตามัยซินถูก ปลดปล่อยออกมาอย่างช้าๆ ไม่ เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 5 วันแรก และจะปลดปล่อย สูงสุดที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน ระยะเวลา 30 วัน ที่สภาวะ จำลองร่างกาย</p> <p>2. โครงเลี้ยงเซลล์มี ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ แบคทีเรียแกรมบวก (<i>staphylococcus aureus</i>)</p> <p>การนำไปประยุกต์ใช้ ยับยั้งการ อักเสบติดเชื้อ สำหรับผู้ป่วยโรค ข้ออักเสบ (arthritis)</p>	<p>ปี 2015 Abijeet S.M. และคณะ [89]</p>

บทที่ 3

วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและสารเคมี

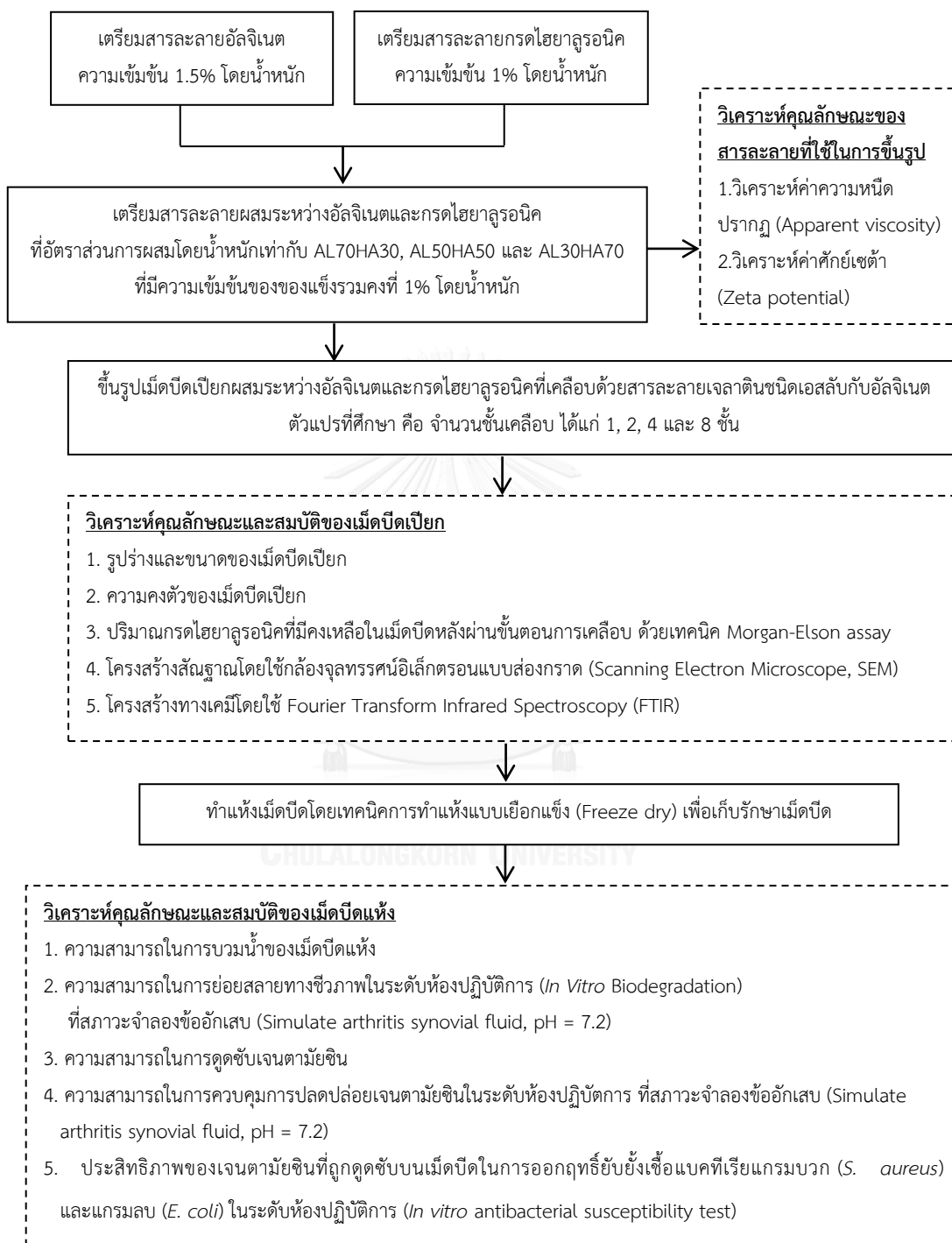
- 3.1.1 โซเดียมอัลจิเนต (Alginic acid sodium salt from brown algae, Na-alginate (A2033), Medium viscosity, M/G ratio = 1.56, Sigma-Aldrich, เยอรมัน)
- 3.1.2 กรดไฮยาลูรอนิก (น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามน้ำหนัก; Mw = 2,400,000 ดาลตัน, น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามความหนืด; Mv = 722,000 ดาลตัน, Namsiang International, ไทย)
- 3.1.3 เจลาตินชนิดเอ (Mw = 100,000 ดาลตัน, pl = 9, Nitta Gelatin Inc., ญี่ปุ่น)
- 3.1.4 แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂, Ajax Finechem, ออสเตรเลีย)
- 3.1.5 น้ำปราศจากไอออน (deionized water)
- 3.1.6 Normal saline (A.N.B. Laboratory co., LTD., ไทย)
- 3.1.7 Gentamicin sulfate (Sigma, เยอรมัน)
- 3.1.8 Fetal bovine serum (FBS, Hyclone, อังกฤษ)
- 3.1.9 Tri-sodium citrate (Na₃Citrate. 2H₂O, Merck, เยอรมัน)
- 3.1.10 กรดไฮโดรคลอริก (HCl 37%, J.T. Baker, สหรัฐอเมริกา)
- 3.1.11 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, Ajax Finechem, Pty, Ltd ออสเตรเลีย)
- 3.1.12 โซเดียมคาร์บอเนต (Na₂CO₃, Ajax Finechem, Pty, Ltd, ออสเตรเลีย)
- 3.1.13 อะซีติลอะซิโตน (Sigma-Aldrich, เยอรมัน)
- 3.1.14 เอทานอล (99.7-100%, VWR International Ltd, อังกฤษ)
- 3.1.15 N- acetyl-D-glucosamine (Sigma-Aldrich, เยอรมัน)
- 3.1.16 *p*-dimethylaminobenzaldehyde (DMAB ,Sigma-Aldrich, เยอรมัน)
- 3.1.17 โซเดียมเอไซด์ (Labchem, APS, ออสเตรเลีย)

3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; FeSEM (JSM-7610), JEOL Ltd., ญี่ปุ่น)
- 3.2.2 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope Nikon, Eclipse 80i, ญี่ปุ่น)
- 3.2.3 เครื่องทำแห้งด้วยความเย็น (Freeze dry, CHRIST®, เยอรมัน)
- 3.2.4 เครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR, Spectrum GX, Perkin Elmer, อังกฤษ)
- 3.2.5 เครื่อง Microplate Reader (FLUOstar Omega, BMG LABTECH, เยอรมัน)
- 3.2.6 เครื่อง Viscometer (Vibro SV-10, ญี่ปุ่น)
- 3.2.7 ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส (NR-BU343, Panasonic, ไทย)
- 3.2.8 ตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส (Haier, จีน)
- 3.2.9 เครื่องวัดพีเอช (pH-meter, Professional meter PP-50, เยอรมัน)
- 3.2.10 เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (Centrifuge, Hettich universal 320R, เยอรมัน)
- 3.2.11 เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (Centrifuge, Eppendorf 5810, เยอรมัน)
- 3.2.12 เครื่อง Zetasizer (650, Malvern, อังกฤษ)
- 3.2.13 เครื่อง Vortex (Chemoscience, ประเทศไทย)
- 3.2.14 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (1235 PC, Shel-Lab, สหรัฐอเมริกา)
- 3.2.15 Micropipette (Pipetman P20, P200, P1000 and P5000, สหรัฐอเมริกา)
- 3.2.16 Magnetic stirrer / Hot plate (RCT Basic, Ika labortechnik, เยอรมัน)
- 3.2.17 96-well polystyrene tissue culture plates (Corning, สหรัฐอเมริกา)
- 3.2.18 96-well NUNC (UV transparent plate, Corning, สหรัฐอเมริกา)
- 3.2.19 กระบอกฉีดยา (20 ml, NIPRO, ญี่ปุ่น)
- 3.2.20 เข็มฉีดยา (30G, NIPRO, ญี่ปุ่น)

3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย สามารถสรุปได้ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การขึ้นรูปเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก

ขึ้นรูปเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกโดยเทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออน (Ionic crosslinking) ซึ่งเกิดจากประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลของอัลจิเนตเชื่อมขวางกับไอออนประจุบวกสองของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ทำให้เกิดเม็ดปิดขึ้น หลังจากนั้นทำการเคลือบเม็ดปิดด้วยสารละลายที่มีประจุตรงข้ามกันเพื่อเพิ่มความคงตัวของเม็ดปิดโดยเทคนิคการเคลือบชั้นต่อชั้น (layer-by-layer coating technique) ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอ (ประจุบวก) สลับกับสารละลายอัลจิเนต (ประจุลบ) โดยขั้นตอนการขึ้นรูป มีดังต่อไปนี้

1. เตรียมสารละลายอัลจิเนต (AL) ในน้ำปราศจากไอออน (Deionized water; DI) ที่ความเข้มข้น 1.5% โดยน้ำหนัก
2. เตรียมสารละลายกรดไฮยาลูรอนิก (HA) ในน้ำปราศจากไอออน ที่ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก
3. เตรียมสารละลายผสมอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก (AL/HA) ที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนัก เท่ากับ AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 ที่มีความเข้มข้นของของแข็งรวมคงที่ 1% โดยน้ำหนัก
4. หยดสารละลายผสม AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผ่านกระบอกฉีดยาที่ต่อเข้ากับหัวเข็มฉีดยาหัวตัดเบอร์ 30 (ตำแหน่ง A โดยใช้อุปกรณ์ขึ้นรูปเม็ดปิดดังรูปที่ 3.2) ลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ผสมสารละลายเจลาตินชนิดเอ ความเข้มข้น 0.1% โดยน้ำหนัก ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร (ตำแหน่ง B) โดยให้ระยะจากปลายเข็มถึงผิวสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ผสมเจลาตินชนิดเอ เท่ากับ 18 เซนติเมตร จากนั้นปรับอัตราเร็วของการกดกระบอกฉีดยาที่บรรจุสารละลายผสมคงที่ 9 ± 1 มิลลิลิตร/นาที (ตำแหน่ง C) สารละลายผสมจะถูกหยดลงมาในบีกเกอร์สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ผสมเจลาตินชนิดเอ (**หมายเหตุ เม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบจะหยดสารละลายผสม AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 ลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร เพียงอย่างเดียว)
5. ปั่นกวนสารละลายในบีกเกอร์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบคงที่ 60 รอบต่อ นาที

6. แยกเม็ดปัดที่เกิดขึ้นออกมา ชับน้ำส่วนเกินออกจากเม็ดปัด และนำไปแช่ในสารละลายอัลจินเต ความเข้มข้น 0.1% โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 1 นาที ชับน้ำส่วนเกินออกจากเม็ดปัด (จะได้เม็ดปัดอัลจินเต/กรดไฮยาลูรอนิกที่ผ่านการเคลือบ 1 ชั้น)

7. นำเม็ดปัดไปแช่ในสารละลายเจลาตินชนิดเอ ความเข้มข้น 0.1% โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 1 นาที ชับน้ำส่วนเกินออกจากเม็ดปัด จากนั้นนำเม็ดปัดไปแช่ในสารละลายอัลจินเต ความเข้มข้น 0.1% โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 1 นาที ชับน้ำส่วนเกินออกจากเม็ดปัด (จะได้เม็ดปัดอัลจินเต/กรดไฮยาลูรอนิกที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้น)

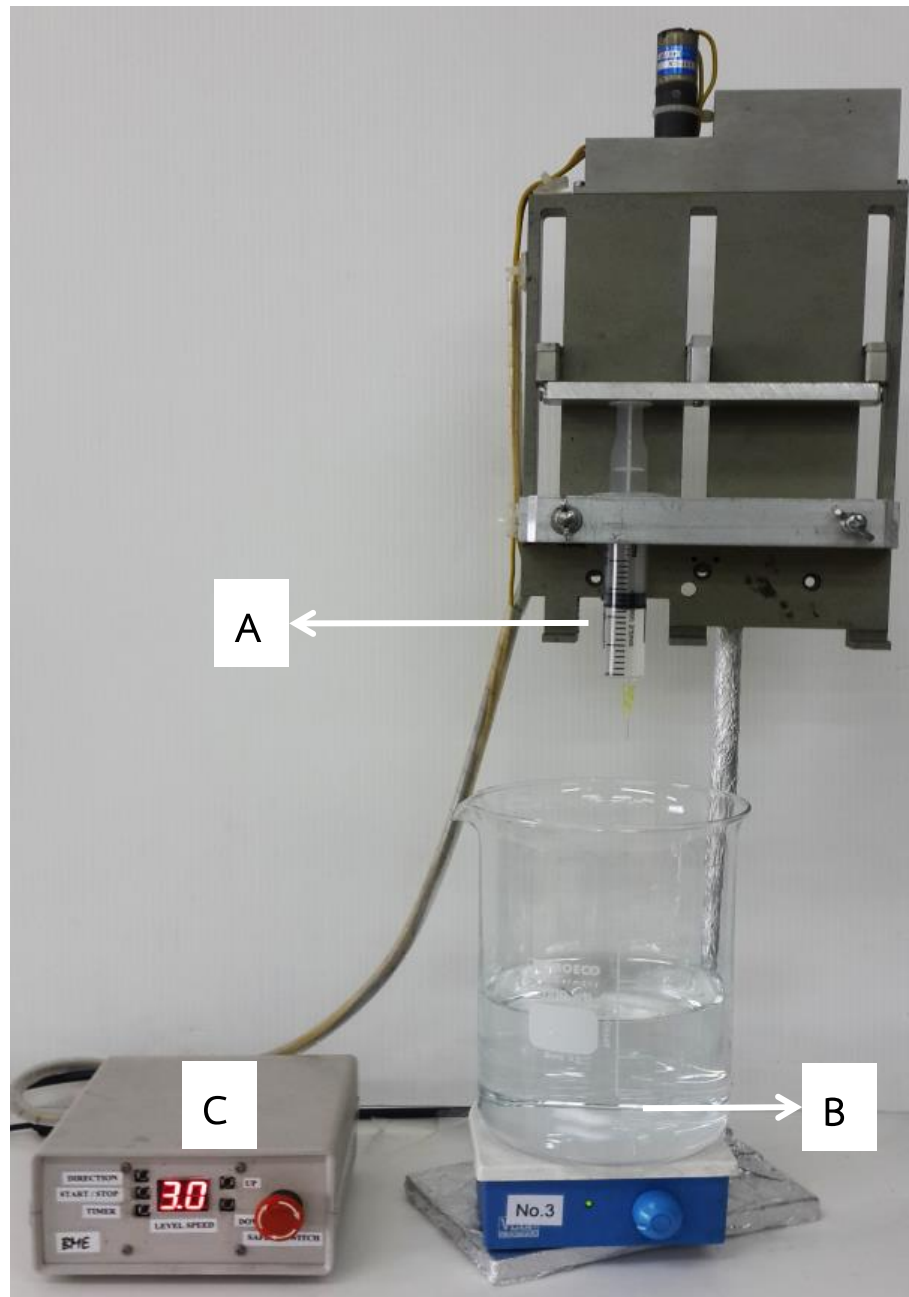
8. ทำการเคลือบโดยการแช่สลับในสารละลายทั้งสองชนิดตามข้อ 7. ให้ได้ชั้นเคลือบจำนวน 4 และ 8 ชั้น

9. เมื่อทำการเคลือบเม็ดปัดตามที่ต้องการแล้ว ล้างเม็ดปัดด้วยน้ำ DI เพื่อกำจัด CaCl_2 ส่วนเกิน จากนั้นชับน้ำส่วนเกินจากเม็ดปัด

10. นำเม็ดปัดไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dry) โดยตัวอย่างเม็ดปัดอัลจินเต/กรดไฮยาลูรอนิกที่มีอัตราส่วนผสมโดยน้ำหนักต่างๆ และผ่านกระบวนการเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอและอัลจินเตด้วยจำนวนชั้นต่างๆ สรุปดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 เม็ดปิดอัลจินต/กรดไฮยาลูรอนิก ที่อัตราส่วนผสมโดยน้ำหนักและจำนวนชั้นเคลือบต่างๆ

ประเภทเม็ดปิด	จำนวนชั้นเคลือบ	สัญลักษณ์
เม็ดปิดอัลจินต/กรดไฮยาลูรอนิก ที่อัตราส่วนผสมโดยน้ำหนัก 70/30	0	AL70HA30_0
	1	AL70HA30_1
	2	AL70HA30_2
	4	AL70HA30_4
	8	AL70HA30_8
เม็ดปิดอัลจินต/กรดไฮยาลูรอนิก ที่อัตราส่วนผสมโดยน้ำหนัก 50/50	0	AL50HA50_0
	1	AL50HA50_1
	2	AL50HA50_2
	4	AL50HA50_4
	8	AL50HA50_8
เม็ดปิดอัลจินต/กรดไฮยาลูรอนิก ที่อัตราส่วนผสมโดยน้ำหนัก 30/70	0	AL30HA70_0
	1	AL30HA70_1
	2	AL30HA70_2
	4	AL30HA70_4
	8	AL30HA70_8



รูปที่ 3.2 อุปกรณ์ขึ้นรูปเม็ดปิดเม็ดปิดอัลจินต/กรดไฮยาลูรอนิก
(A. สารละลายผสมอัลจินต/กรดไฮยาลูรอนิก, B. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ผสมเจลาตินชนิดเอ,
C. อุปกรณ์ปรับอัตราเร็วของการกวดกระบอกฉีดยา)

3.3.2 การวิเคราะห์คุณลักษณะของสารละลายที่ใช้ในการขึ้นรูป

3.3.2.1 การวิเคราะห์ความหนืดปรากฏของสารละลาย (Apparent viscosity)

การวิเคราะห์ความหนืดของสารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิค สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิคที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนัก 3 สูตร คือ AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 ความเข้มข้นของของแข็งรวม 1% โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส จะทำโดยใช้เครื่อง viscometer (Sine-wave Vibro Viscometer SV-10, Tuning-fork Vibration Method, Vibration Frequency 30 Hz, Shear rate 7-420/sec, Japan)

3.3.2.2 การวิเคราะห์ค่าศักย์เซต้าของสารละลาย (Zeta potential)

การวิเคราะห์ค่าศักย์เซต้าของสารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิค สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิคที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนัก 3 สูตร คือ AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 เตรียมความเข้มข้นของของแข็งรวม 0.5% โดยน้ำหนัก ในน้ำปราศจากไอออนที่มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6 อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส จะทำโดยใช้เครื่อง Zetasizer (650, Malvern, England)

3.3.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดเปือกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิคที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต

3.3.3.1 การวิเคราะห์รูปร่างและขนาดของเม็ดปิดเปือก

การวิเคราะห์รูปร่างและขนาดของเม็ดปิดเปือกจะทำการบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Nikon ellipse, TS100, Japan) ที่กำลังขยาย 4 เท่า จากนั้นนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์หาขนาดของเม็ดปิดเปือกเฉลี่ยด้วยโปรแกรม Image J โดยสุ่มจากเม็ดปิดจำนวน 50 เม็ด

3.3.3.2 การวิเคราะห์ความคงตัวของเม็ดปิดเปือก

การวิเคราะห์ความคงตัวของเม็ดปิดเปือกที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบ 1, 2, 4 และ 8 ชั้น โดยวิเคราะห์จากน้ำหนักเม็ดปิดเปือกที่หายไป เมื่อเก็บเม็ดปิดเปือก 50 มิลลิกรัม (W_1) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อครบช่วงเวลาเก็บรักษาที่กำหนด คือ 0, 1,

3, 5 และ 7 วัน ชับของเหลวส่วนเกินออกจากเม็ตบีด จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักเปียกคงเหลือ (W_2) โดย ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไป สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไป} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (3.1)$$

โดยที่ W_1 คือ น้ำหนักเปียกเริ่มต้นของเม็ตบีดหลังการขึ้นรูป

W_2 คือ น้ำหนักเปียกของเม็ตบีดหลังเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ตบีดเปียก

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกคงเหลืออยู่ในเม็ตบีดเปียกที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบ 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยเทคนิค Elson-Morgan assay โดยวิเคราะห์ปริมาณหมู่ N-acetyl-D-glucosamine ที่มีอยู่ภายในโมเลกุลของกรดไฮยาลูรอนิก [90,91] สามารถทำได้ ดังนี้

1. ไฮโดรไลซ์เม็ตบีดเปียกหลังผ่านกระบวนการเคลือบ 50 มิลลิกรัม ในน้ำปราศจากไอออน 1 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 2 N ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 96 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง

2. ปรับค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายที่ถูกไฮโดรไลซ์ ให้มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 4 N จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 9 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

3. นำสารละลายที่ถูกไฮโดรไลซ์แล้ว ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายอะซิติลอะซิโตน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (เตรียมได้จากสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1.25 N ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับอะซิติลอะซิโตน ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร ปั่นกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน) จากนั้นให้ความร้อนกับสารละลายผสมที่ได้ที่อุณหภูมิ 96 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา Acetylation ของสารละลายอะซิติลอะซิโตนกับสารละลายที่ถูกไฮโดรไลซ์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Pyrrole intermediate

4. ตั้งสารละลายที่ได้ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมสารละลาย Ehrlich's reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (เตรียมได้จากการผสม *p*-dimethylaminobenzaldehyde (DMAB) 1.6 กรัม เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาตร 30 มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6 N

ปริมาตร 30 มิลลิลิตร) โดยสารละลายที่ได้หลังจากเติม Ehrlich's reagent จะเปลี่ยนเป็นสีแดง เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Pyrrole intermediate และ DMAB ทำให้มีฟองแก๊ส คาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น และหลังจากที่ตั้งสารละลายทิ้งไว้ 60 นาที สารละลายที่ได้จะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วงอมแดง (Reddish-Purple color) โดยปฏิกิริยาของ Elson Morgan assay สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 3.3

5. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความยาวคลื่น 528 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ N-acetyl-D-glucosamine เพื่อหาปริมาณหมู่ N-acetyl-D-glucosamine ที่มีอยู่ในเม็ดปิดภายหลังขั้นตอนการเคลือบ จากนั้นคำนวณปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่ คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด จากการเทียบสัดส่วนระหว่างจำนวนโมลของ N-acetyl-D-glucosamine ต่อจำนวนโมลของกรดไฮยาลูรอนิก ดังแสดงในสมการ

$$\frac{\text{น้ำหนักของ N-acetyl-D-glucosamine ที่วัดได้}}{M_w \text{ ของ N-acetyl-D-glucosamine 1 หน่วยย่อย}} = \frac{\text{น้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิก}}{M_w \text{ ของกรดไฮยาลูรอนิก 1 หน่วยย่อย}} \quad (3.2)$$

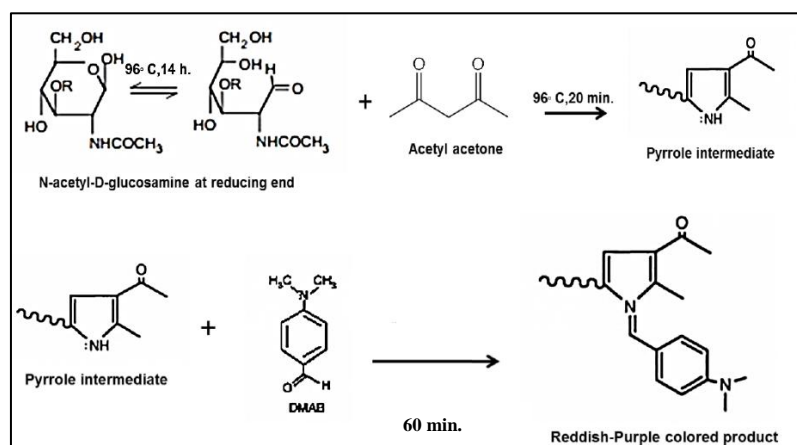
ดังนั้น

$$\text{น้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิก} = \text{น้ำหนักของ N-acetyl-D-glucosamine ที่วัดได้} \times 1.7 \quad (3.3)$$

โดยที่

M_w ของ N-acetyl-D-glucosamine 1 หน่วยย่อย ($C_8H_{15}NO_{11}$)_n มีค่าเท่ากับ 221.21

M_w ของกรดไฮยาลูรอนิก 1 หน่วยย่อย ($C_{14}H_{21}NO_{11}$)_n มีค่าเท่ากับ 379



รูปที่ 3.3 ปฏิกิริยา Elson-Morgan assay [91]

3.3.3.4 การวิเคราะห์โครงสร้างสัณฐานของเม็ดบีด (Morphology)

การวิเคราะห์โครงสร้างสัณฐานของเม็ดบีดที่ผ่านการเคลือบเพื่อยืนยันการปรากฏของชั้นเคลือบเจลาตินเอสลับกับอัลจินเตบนพื้นผิวเม็ดบีดเปรียบเทียบกับเม็ดบีดที่ไม่ผ่านการเคลือบ โดยนำเม็ดบีดไปผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยเทคนิคแทนที่ด้วยเอทานอลเพื่อรักษาสภาพเม็ดบีดเปียก เริ่มจากแช่เม็ดบีดในสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 30% และ 50% โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70% โดยปริมาตร ทิ้งไว้ข้ามคืน ต่อด้วยแช่ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 90%, 95% และ 100% โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเม็ดบีดไปทำแห้งแบบวิกฤต (Critical point dry) โดยสารละลายเอทานอลจะถูกแทนที่ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นแก๊สที่จุดอุณหภูมิและความดันวิกฤต ซึ่งเป็นจุดที่ของเหลวและแก๊สมีความหนาแน่นเท่ากัน จากนั้นนำเม็ดบีดไปเคลือบด้วยแพลตตินัมเพื่อให้ชิ้นงานเกิดการนำไฟฟ้า แล้วนำไปวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; FeSEM (JSM-7610), JEOL Ltd., Japan) เพื่อดูลักษณะรูปร่างของเม็ดบีด (กำลังขยาย 60 เท่า) ลักษณะพื้นผิวภายนอกของเม็ดบีด (กำลังขยาย 2,000 เท่า) และลักษณะภาพตัดขวางของชั้นเคลือบของเม็ดบีด (กำลังขยาย 6,000 เท่า)

สำหรับกรณีวิเคราะห์โครงสร้างสัณฐานของเม็ดบีดแห้ง นำเม็ดบีดไปทำแห้งด้วยกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จากนั้นนำเม็ดบีดไปเคลือบด้วยแพลตตินัมเพื่อให้ชิ้นงานเกิดการนำไฟฟ้า แล้วจึงนำไปวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด เพื่อดูลักษณะรูปร่างของเม็ดบีด (กำลังขยาย 37 เท่า)

3.3.3.5 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเม็ดบีด

การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเม็ดบีดผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ไม่ผ่านการเคลือบและผ่านการเคลือบด้วยเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเตที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง เพื่อตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะของสารในเม็ดบีดก่อนและหลังขั้นตอนการเคลือบ จากสเปกตรัมค่าสองผ่านรังสีอินฟราเรดที่เลขคลื่นต่างๆ โดยการนำตัวอย่างแต่ละชนิดที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งมาบดให้ละเอียดและผสมกับโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) จากนั้นนำมาอัดขึ้นรูปเป็นเหรียญขนาดเล็ก (disc) แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียรทรานสฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FT-IR spectroscopy, Spectrum GX, Perkin Elmer, UK)

3.3.4 การวิเคราะห์คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจิเนต

3.3.4.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการบวมน้ำของเม็ดปิดแห้ง

การวิเคราะห์ความสามารถในการบวมน้ำของเม็ดปิดแห้ง โดยการคำนวณหาสัดส่วนโดยน้ำหนักของเม็ดปิดแห้งที่เพิ่มขึ้น เมื่อนำเม็ดปิดแห้ง 5 มิลลิกรัม (W_d) ไปแช่ในสารละลายนอร์มัลซาลิน (normal saline, 0.9% Sodium Chloride, pH = 5.87) และน้ำปราศจากไอออน (pH = 6) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37°C เก็บผลที่เวลาต่างๆ คือ 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16 และ 24 ชั่วโมง โดยใช้กระดาษไม่มีขุยซับน้ำที่ไม่ได้ถูกดูดซับออกจากเม็ดปิด จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักเปียกของเม็ดปิด (W_w) โดยสัดส่วนการบวมน้ำของเม็ดปิด สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{สัดส่วนการบวมน้ำของเม็ดปิด (เท่า)} = \frac{W_w - W_d}{W_d} \quad (3.4)$$

โดยที่ W_w คือ น้ำหนักเปียกของเม็ดปิดหลังแช่ในสารละลาย

W_d คือ น้ำหนักแห้งเริ่มต้นของเม็ดปิดก่อนแช่ในสารละลาย

3.3.4.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (*in vitro* biodegradability) ของเม็ดปิด

การวิเคราะห์การย่อยสลายทางชีวภาพของเม็ดปิดในระดับห้องปฏิบัติการ ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ (Simulated arthritis synovial fluid) ทำโดยนำเม็ดปิดแห้งน้ำหนัก 5 มิลลิกรัม (W_i) แช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบ 10 มิลลิลิตร (เตรียมได้โดยผสมสารละลาย FBS; fetal bovine serum ความเข้มข้น 30% โดยปริมาตร กับสารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาลิน 0.15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้น 0.01% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย) [92,93] จากนั้นปรับค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายให้เป็น 7.2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก [94] และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เปลี่ยนสารละลายทุกๆ 2 วัน โดยเก็บผลที่ช่วงเวลาต่างๆ คือ 1, 3, 5 และ 7 วัน โดยนำเม็ดปิดมาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน 3 รอบ จากนั้นนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง และชั่งน้ำหนักแห้งคงเหลือของเม็ดปิด (W_f) โดยร้อยละโดยน้ำหนักของเม็ดปิดแห้งที่คงเหลือ สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละโดยน้ำหนักของเม็ดปิดหุ้มที่คงเหลือ} = \frac{W_f}{W_i} \times 100 \quad (3.5)$$

โดยที่ W_f คือ น้ำหนักแห้งของเม็ดปิดหุ้มในสารละลายจำลองสภาวะข้ออักเสบ

W_i คือ น้ำหนักแห้งเริ่มต้นของเม็ดปิดหุ้มในสารละลายจำลองสภาวะข้ออักเสบ

3.3.4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับเงินตามยจีนของเม็ดปิด

1. เตรียมสารละลายเงินตามยจีน ความเข้มข้น 50 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยละลายเงินตามยจีนในสารละลายนอร์มัลซาลิน

2. แห้เม็ดปิดหุ้มน้ำหนัก 5 มิลลิกรัม ลงในสารละลายเงินตามยจีนที่เตรียมไว้ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้สารละลายเงินตามยจีนถูกดูดซับอย่างเต็มที่

3. ดูดสารละลายเงินตามยจีนที่เหลือออก เติมสารละลายความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของ tri-sodium citrate ที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาลิน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อละลายเม็ดปิด จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 244 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่เงินตามยจีนสามารถดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าได้สูงที่สุด [95] เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเงินตามยจีนที่ถูกดูดซับ

4. คำนวณปริมาณเงินตามยจีนที่ถูกดูดซับในเม็ดปิด (Drug loading) และประสิทธิภาพในการดูดซับเงินตามยจีนโดยเม็ดปิด (% Entrapment efficiency) ได้จากสูตร

ปริมาณเงินตามยจีนที่ถูกดูดซับได้ในเม็ดปิด (Drug loading)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเงินตามยจีนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้}}{\text{น้ำหนักเงินตามยจีนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้} + \text{น้ำหนักเม็ดปิด}} \quad (3.6)$$

ประสิทธิภาพในการดูดซับเงินตามยจีนโดยเม็ดปิด (% Entrapment efficiency)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเงินตามยจีนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้}}{\text{น้ำหนักยาเงินตามยจีนเริ่มต้นที่ใช้ในการดูดซับ}} \times 100 \quad (3.7)$$

3.3.4.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ (Simulated arthritis synovial fluid)

1. นำเม็ดปิดที่ดูดซับเจนนตามัยซิน ความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเรียบร้อยแล้ว ปริมาณ 5 มิลลิกรัม แช่ในสารละลายที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ 10 มิลลิลิตร (เตรียมโดยวิธีการที่ระบุในหัวข้อ 3.3.4.5)

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเก็บผลที่ช่วงเวลาต่างๆ คือ 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลาย 200 ไมโครลิตร มาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของเจนนตามัยซินที่ความยาวคลื่น 244 นาโนเมตร จากนั้นทำการเปลี่ยนสารละลายที่เหลือออกแล้วเติมสารละลายใหม่ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไป

3. คำนวณหาปริมาณร้อยละการปลดปล่อยสะสมของเจนนตามัยซินได้จากสูตร

$$C_i = \sum_{i=0}^t M_i$$

$$\text{ร้อยละการปลดปล่อยสะสม} = \frac{C_i}{C_T} \times 100 \quad (3.8)$$

โดยที่ C_i คือ ปริมาณของเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมในแต่ละช่วงเวลา

M_i คือ ปริมาณของเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยในช่วงเวลา i

C_T คือ ปริมาณของเจนนตามัยซินทั้งหมดที่ถูกดูดซับได้จริงโดยเม็ดปิด (ค่าที่ได้จากการทดลอง

ที่ 3.3.4.3 ข้อ 3.)

3.3.4.5 ประสิทธิภาพของเจนตามัยซินที่ถูกดูดซับบนเม็ดปิดในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ในระดับห้องปฏิบัติการ (*In vitro* antibacterial susceptibility test)

การวิเคราะห์ความสามารถของเม็ดปิดที่ดูดซับเจนตามัยซินในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระดับห้องปฏิบัติการ โดยวิธี disc diffusion method ตามมาตรฐานของสถาบันห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์และการแพทย์ ประเทศสหรัฐอเมริกา (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) [96] ส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยทดสอบกับแบคทีเรียมาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (แกรมบวก) และ *Escherichia coli* ATCC 25922 (แกรมลบ) เป็นการจำลองกลุ่มแบคทีเรียที่พบในโรคข้ออักเสบติดเชื้อที่เจนตามัยซินสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ [23] โดยมีขั้นตอนการทดสอบ ดังต่อไปนี้

1. เตรียมแบคทีเรียทดสอบโดยทำการเลี้ยงแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบบนอาหารเลี้ยง nutrient agar (NA) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทดสอบให้ได้เท่ากับ 2×10^6 CFU (Colony forming unit) ต่อมิลลิลิตร
2. ป้ายแบคทีเรียทดสอบลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) โดยทำการป้ายใน 3 ระบาย (swap) ให้ทั่วทั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. นำเม็ดปิดแห้งที่ดูดซับเจนตามัยซิน ปริมาณ 5 มิลลิกรัม มาวางบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีกลุ่มควบคุมคือ เม็ดปิดที่ไม่ได้ดูดซับเจนตามัยซิน
4. วัดขนาดโซนใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นรอบเม็ดปิดที่ดูดซับเจนตามัยซิน แต่ละชนิดด้วย vernier caliper เพื่อดูความสามารถของเม็ดปิดที่ดูดซับเจนตามัยซินในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในงานวิจัยนี้เปรียบเทียบค่าความแตกต่างของข้อมูล โดยเก็บตัวอย่างมา 4 ซ้ำแล้วนำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ย (Average) และค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) เพื่อวิเคราะห์ว่าข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance : ANOVA) ด้วยโปรแกรมมินิแทบ (Minitab 14) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P-value < 0.05)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 คุณลักษณะของสารละลายที่ใช้ในการขึ้นรูป

4.1.1 ค่าความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) ของสารละลายอัลจิเนต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก

ผลการศึกษาค่าความหนืดของสารละลายอัลจิเนต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก โดยมีความเข้มข้นของแข็งรวม 1% โดยน้ำหนัก ในน้ำปราศจากไอออน (pH ~ 6) อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่า สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายอัลจิเนต และสารละลายเจลาตินชนิดเอ มีค่าความหนืดเท่ากับ 411 ± 2.00 , 161 ± 0.58 และ 2.18 ± 0.01 เซนติพอยส์ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ากรดไฮยาลูรอนิกมีค่าความหนืดสูงที่สุดแตกต่างจากสารละลายอัลจิเนตและสารละลายเจลาตินชนิดเออย่างมีนัยสำคัญ

สำหรับสารละลายผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกที่สัดส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ พบว่า เมื่อสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกในสารละลายผสมมีค่ามากขึ้น (AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70) ส่งผลให้ค่าความหนืดมีค่ามากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เข้าใกล้ค่าความหนืดของกรดไฮยาลูรอนิก (171 ± 1.00 , 195 ± 2.00 และ 214 ± 1.53 เซนติพอยส์) สอดคล้องกับรายงานของ Puttipipatkachorn S. และคณะ (2005) [97] ที่พบว่า การเติมพอลิเมอร์ที่มีความชอบน้ำ ประจุเป็นลบ และมีการบวมตัวสูง เช่นเดียวกับกรดไฮยาลูรอนิก คือ sodium starch glycolate (SSG) ลงในสารละลายอัลจิเนต ทำให้ความหนืดของสารละลายอัลจิเนตสูงขึ้นมาก เนื่องจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ทั้งสองชนิด นอกจากนี้ความเข้มข้นของ SSG สูงขึ้นส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายอัลจิเนตผสมสูงขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ค่าความหนืดข้างต้น

ตารางที่ 4.1 ค่าความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) ของสารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก โดยมีความเข้มข้นของของแข็งรวม 1% โดยน้ำหนัก ในน้ำปราศจากไอออน (pH ~ 6) อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ค่าความหนืด (เซนติพอยส์)
AL (Mw ~ 120k Da)	161 ± 0.58 ^a
HA (Mw ~ 2,400k Da)	411 ± 2.00 ^b
GA (Mw ~ 100k Da)	2.18 ± 0.01 ^c
AL70HA30	171 ± 1.00 ^d
AL50HA50	195 ± 2.00 ^e
AL30HA70	214 ± 1.53 ^f

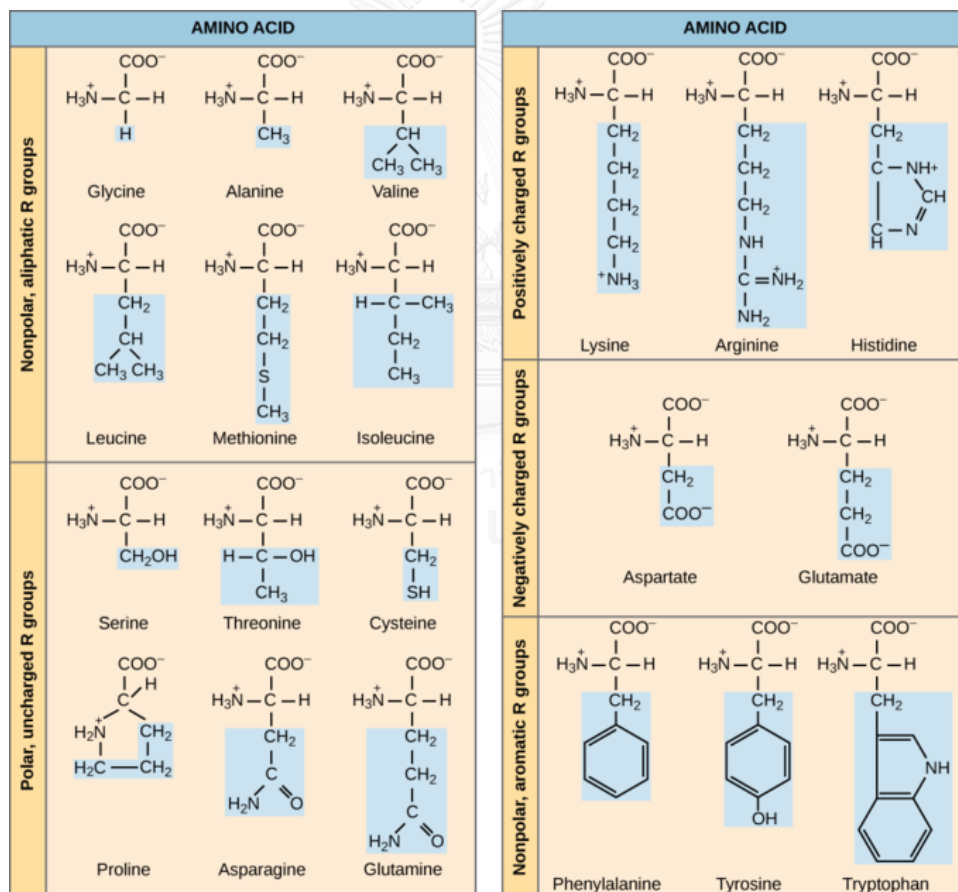
(a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$)

4.1.2 ค่าศักย์ゼต้าของสารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก

การศึกษาค่าศักย์ゼต้าของสารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาตินชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก แสดงถึงค่าความแตกต่างของประจุทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุลของสารกับตัวทำละลาย จากผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่า สารละลายอัลจินต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก และสารละลายเจลาตินชนิดเอ มีค่าศักย์ゼต้าเท่ากับ -113.33 ± 3.54 , -66.60 ± 0.78 และ $+10.8 \pm 0.17$ มิลลิโวลต์ ตามลำดับ สังเกตได้ว่า สารละลายเจลาตินชนิดเอมีค่าศักย์ゼต้าเป็นบวก เนื่องจากอิทธิพลของประจุบวกจากสายโซ่ข้างของกรดอะมิโนชนิดอาร์จินิน (arginine) ไลซีน (lysine) และฮิสติดีน (histidine) ที่เป็นองค์ประกอบในสายโซ่โมเลกุลของเจลาติน [98,99] แสดงดังรูปที่ 4.1

สำหรับค่าศักย์ゼต้าของสารละลายอัลจินตและสารละลายกรดไฮยาลูรอนิก พบว่า สารละลายทั้งสองชนิดมีประจุเป็นลบ โดยเมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของโมเลกุล พบว่าอัลจินต (รูปที่ 2.5) มีโครงสร้างที่แสดงประจุลบมากกว่ากรดไฮยาลูรอนิก (รูปที่ 2.9) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ค่าศักย์ゼต้าข้างต้น เมื่อพิจารณาสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่

สัดส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ พบว่า เมื่อสัดส่วนของอัลจินตในสารละลายผสมมีค่ามากขึ้น ส่งผลให้ค่าศักย์เซต้าที่ได้มีค่าเป็นลบมากขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสารละลายอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก เนื่องจากค่าศักย์เซต้าของสารละลายอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกเป็นลบทั้งคู่ อีกทั้งอิทธิพลของประจุลบจำนวนมากจากหมู่ไฮดรอกซิลและคาร์บอกซิลในโมเลกุลของอัลจินตมีมากกว่าในโมเลกุลของกรดไฮยาลูรอนิก [100,101] ค่าศักย์เซต้าของสารละลายผสมที่ได้จึงมีค่าเป็นลบมากขึ้นเมื่อสัดส่วนของอัลจินตมากขึ้น โดยสารละลายผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักเท่ากับ AL70HA30 แสดงค่าศักย์เซต้าเป็นลบมากที่สุดเท่ากับ -95.55 ± 0.54 มิลลิโวลต์



รูปที่ 4.1 คุณสมบัติของหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งสายโซ่ข้าง (side chain) ของกรดอะมิโนทั้ง 20 ชนิด [102]

ตารางที่ 4.2 ค่าศักย์ゼต้าของสารละลายอัลจิเนต สารละลายกรดไฮยาลูรอนิก สารละลายเจลาติน ชนิดเอ และสารละลายผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก โดยมีความเข้มข้นของของแข็งรวม 0.5% โดยน้ำหนัก ในน้ำปราศจากไอออน (pH ~ 6)

ตัวอย่าง	ค่าศักย์ゼต้า (มิลลิโวลต์)
AL	-113.33 ± 3.54^a
HA	-66.60 ± 0.78^b
GA	$+10.80 \pm 0.17^c$
AL70HA30	-95.55 ± 0.54^d
AL50HA50	-85.75 ± 0.64^e
AL30HA70	-74.15 ± 1.20^f

(a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$)

ในงานวิจัยนี้ สารละลายอัลจิเนตและสารละลายกรดไฮยาลูรอนิกเตรียมได้จากการละลายในน้ำปราศจากไอออน สารละลายทั้งสองชนิดมีค่าประจุเป็นลบ ค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 6 เมื่อนำมาผสมกันในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ สารละลายผสมที่ได้สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่เกิดการตกตะกอน และสามารถนำไปใช้ในกระบวนการขึ้นรูปเม็ดปิดผสมโดยเทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออนกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (ประจุบวก) ได้ อีกทั้งสามารถปรับปรุงความคงตัวของเม็ดปิดโดยเทคนิคการเคลือบชั้นต่อชั้นด้วยพอลิเมอร์ที่มีประจุตรงข้ามกัน คือ สารละลายเจลาตินชนิดเอ (ประจุบวก) เคลือบสลับกับสารละลายอัลจิเนต (ประจุลบ) ซึ่งผลของคุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดที่ผลิตได้จะกล่าวในหัวข้อถัดไป

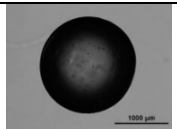
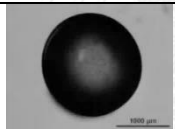
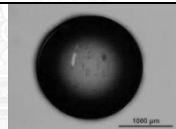
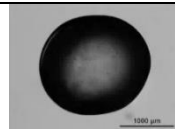
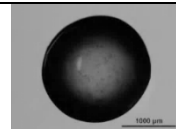
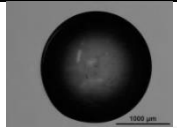
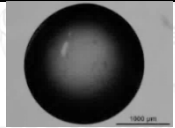
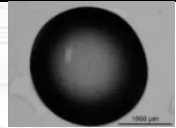
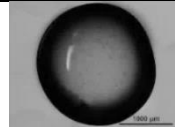
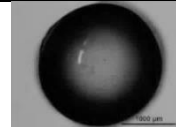
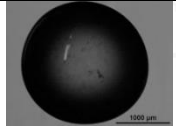
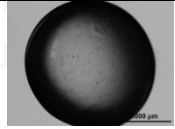
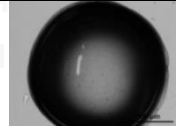
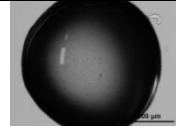
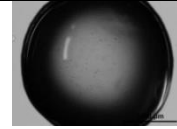
4.2 คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดเป็ยกผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจิเนต

4.2.1 รูปร่างและขนาดของเม็ดปิดเป็ยก

ลักษณะเม็ดปิดเป็ยกผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกภายหลังการขึ้นรูปด้วยวิธีการเชื่อมขวางด้วยไอออน และเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจิเนต ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 4 เท่า แสดงในรูปที่ 4.2 ซึ่งพบว่า เม็ดปิดที่เตรียมได้จากทุกสภาวะมีลักษณะค่อนข้างกลม สำหรับการวิเคราะห์ขนาดของเม็ดปิดเป็ยกทำโดยการวัดขนาดของเม็ดปิดเป็ยกแบบสุ่มด้วยโปรแกรม Image J จำนวน 50 เม็ด ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่า เม็ดปิดเป็ยกผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักและจำนวนชั้นเคลือบต่างๆ มีขนาดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.42-2.46 มิลลิเมตร โดยเม็ดปิดมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกในสารละลายผสมมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากความหนืดของสารละลายผสมที่มากขึ้น (จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.1.1) และเมื่อพิจารณาที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักเดียวกันที่จำนวนชั้นเคลือบแตกต่างกัน พบว่า เม็ดปิดมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อจำนวนชั้นเคลือบเพิ่มมากขึ้นด้วย

ในปี 2557 รุ่งนภา แยมเดช [103] ได้ศึกษาการขึ้นรูปเม็ดปิดอัลจิเนตโดยเทคนิคการเกิดเจลแบบภายนอก (external gelation) โดยใช้อัลจิเนตชนิดความหนืดปานกลาง (medium viscosity, Sigma Aldrich) ความเข้มข้น 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งมีความหนืดเท่ากับ 8.63 ± 0.15 และ 39.45 ± 1.89 เซนติพอยส์ ตามลำดับ ขึ้นรูปโดยพ่นสารละลายผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลต่อลิตร ที่อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน 10 ลิตรต่อนาที ทำให้ได้อนุภาคขนาดเล็กระดับไมโคร จากนั้นแช่เม็ดปิดในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เป็นเวลา 30 นาที พร้อมการปั่นกววนที่ความเร็วรอบคงที่เพื่อให้เม็ดปิดเกิดเจลแข็งทั้งเม็ด พบว่าเม็ดปิดที่ผลิตได้มีลักษณะเป็นทรงกลม ซึ่งเม็ดปิดที่เกิดจากสารละลายอัลจิเนตความเข้มข้น 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (325.00 ± 17.09 และ 415.63 ± 13.09 ไมโครเมตร ตามลำดับ) กล่าวคือ เม็ดปิดมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อความหนืดของสารละลายอัลจิเนตมีค่ามากขึ้น

ในปี 2003 Anil K.A. และคณะ [13] ได้ศึกษาการขึ้นรูปเม็ดปิดอัลจินेटที่เคลือบด้วยไคโตซานโดยเทคนิคการเกิดเจลแบบภายนอกเช่นเดียวกัน โดยหยดสารละลายอัลจินेटผ่านเข็มเบอร์ฉีดยาหัวตัดเบอร์ 27 ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปั่นกวนที่ความเร็วรอบคงที่เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำเม็ดปิดที่ได้ไปเคลือบด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 30 นาที ผลการศึกษาขนาดของเม็ดปิด พบว่า เม็ดปิดอัลจินेटที่ผ่านการเคลือบด้วยไคโตซานมีขนาดใหญ่กว่าเม็ดปิดอัลจินेटที่ไม่ผ่านการเคลือบ (650 ± 35 และ 480 ± 27 ไมโครเมตร ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าความหนืดของสารละลายผสมและจำนวนชั้นเคลือบที่มากขึ้นส่งผลให้เม็ดปิดมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษา

ตัวอย่าง	ลักษณะรูปร่างของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินेटและกรดไฮยาลูรอนิก ที่จำนวนชั้นเคลือบต่างๆ				
	ไม่เคลือบ	เคลือบ 1 ชั้น	เคลือบ 2 ชั้น	เคลือบ 4 ชั้น	เคลือบ 8 ชั้น
AL70HA30					
AL50HA50					
AL30HA70					

รูปที่ 4.2 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 4 เท่า แสดงลักษณะรูปร่างของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินेटและกรดไฮยาลูรอนิกที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักและจำนวนชั้นเคลือบต่างๆ ภายหลังจากขึ้นรูปด้วยวิธีการเชื่อมขวางด้วยไอออน และเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินेट (สเกลบาร์เท่ากับ 1000 ไมโครเมตร)

ตารางที่ 4.3 ขนาดของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่อัตราส่วนการผสม โดยน้ำหนักและจำนวนชั้นเคลือบต่างๆ

ตัวอย่าง	ขนาดของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก ที่จำนวนชั้นเคลือบต่างๆ (มิลลิเมตร)				
	ไม่เคลือบ	เคลือบ 1 ชั้น	เคลือบ 2 ชั้น	เคลือบ 4 ชั้น	เคลือบ 8 ชั้น
AL70HA30	1.42 ± 0.01 ^{a,d}	1.52 ± 0.01 ^{a,e}	1.65 ± 0.01 ^{a,f}	1.85 ± 0.01 ^{a,g}	1.95 ± 0.01 ^{a,h}
AL50HA50	1.96 ± 0.01 ^{b,d}	2.07 ± 0.01 ^{b,e}	2.10 ± 0.01 ^{b,f}	2.19 ± 0.01 ^{b,g}	2.25 ± 0.01 ^{b,h}
AL30HA70	2.07 ± 0.01 ^{c,d}	2.18 ± 0.01 ^{c,e}	2.23 ± 0.01 ^{c,f}	2.26 ± 0.01 ^{c,g}	2.46 ± 0.02 ^{c,h}

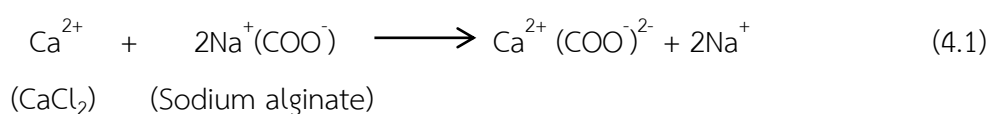
(a, b, c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลขนาดเม็ดปิดเปียกเฉลี่ย โดยเปรียบเทียบจำนวนชั้นเคลือบเดียวกันที่อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักแตกต่างกัน)

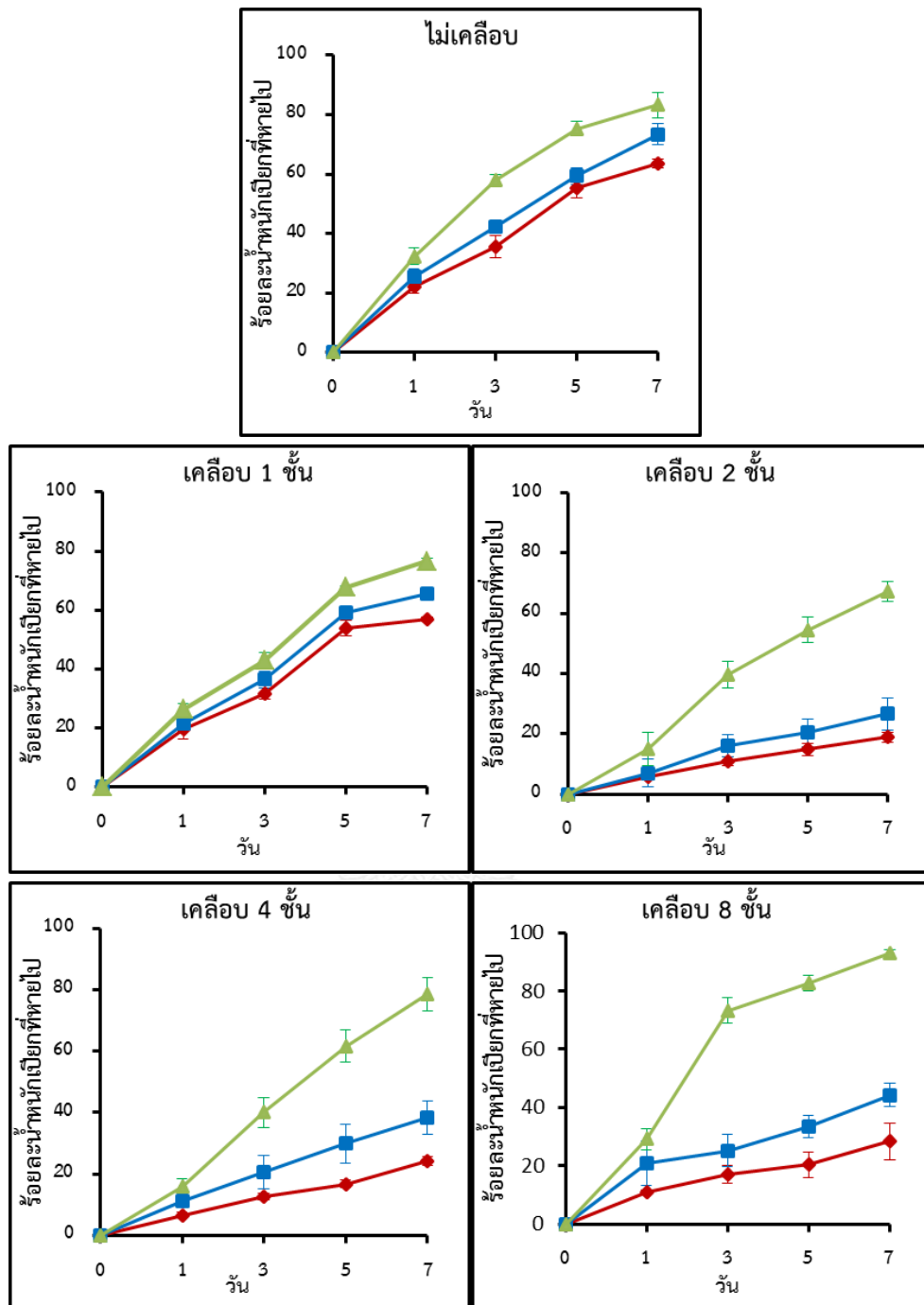
(d, e, f, g, h แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลขนาดเม็ดปิดเปียกเฉลี่ย โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักเดียวกันที่จำนวนชั้นเคลือบแตกต่างกัน)

4.2.2 ความคงตัวของเม็ดปิดเปียกที่ผ่านการเคลือบ

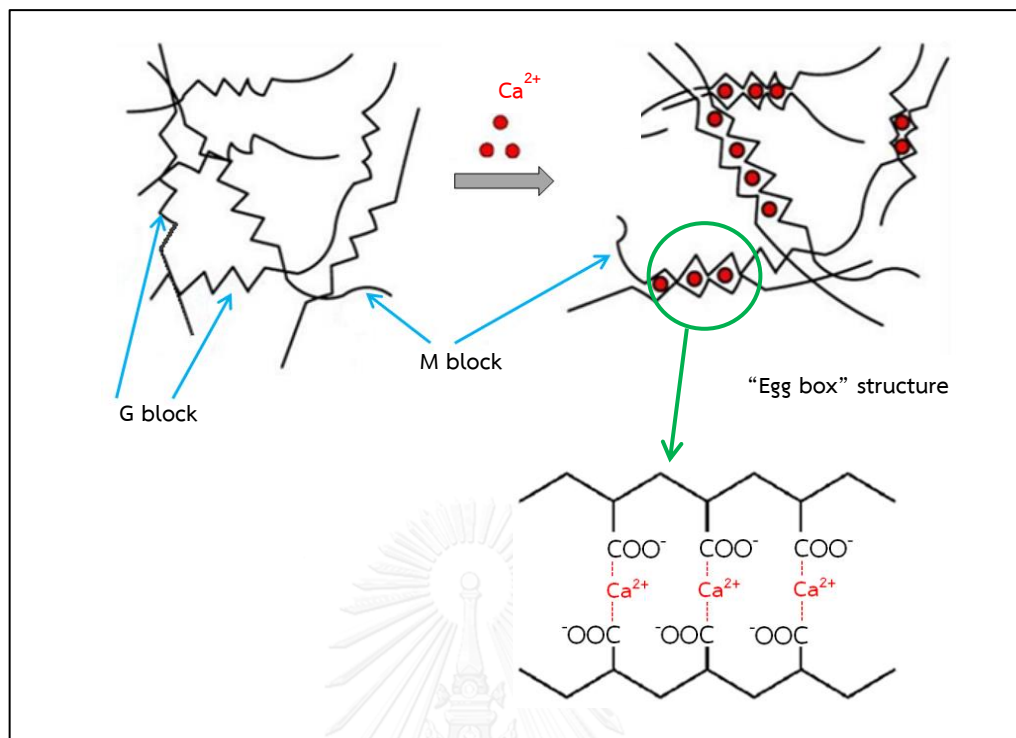
เม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ขึ้นรูปด้วยวิธีการเชื่อมขวางด้วยไอออนมีความคงตัวต่ำ เนื่องจากกรดไฮยาลูรอนิกมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี จึงต้องมีการปรับปรุงสมบัติความคงตัวของเม็ดปิดผสมดังกล่าว ซึ่งโดยปกติการเชื่อมขวางกรดไฮยาลูรอนิกโดยใช้สารเชื่อมขวางทางเคมีที่นิยมใช้กันทั่วไป เช่น กลูตาราลดีไฮด์ และ 1-ethy-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) สามารถเกิดขึ้นได้ยาก หากใช้สารเชื่อมขวางที่ความเข้มข้นต่ำเกินไปจะได้เม็ดปิดที่มีความคงตัวต่ำ แต่หากใช้สารเชื่อมขวางที่ความเข้มข้นสูงอาจก่อให้เกิดสารพิษตกค้างได้เมื่อนำไปใช้ในร่างกาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงขึ้นรูปเม็ดปิดที่มีความคงตัวสูงโดยหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีในการเชื่อมขวาง คือ ใช้เทคนิคการเคลือบชั้นต่อชั้น (layer-by-layer coating technique) โดยใช้วัสดุ 2 ชนิดที่มีความแตกต่างกันทางประจุ ได้แก่ เจลาตินชนิดเอที่มีประจุบวก และอัลจิเนตที่มีประจุลบ ผลการวิเคราะห์ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ภายหลังจากเก็บเม็ดปิดเปียกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0-7 วัน แสดงในรูปที่ 4.3

เมื่อพิจารณาเม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบ พบว่า การก่อตัวเป็นเม็ดปิดเกิดจากการแลกเปลี่ยนไอออนจากพื้นผิวด้านนอกสู่พื้นผิวด้านในของเม็ดปิด (external gelation) จากการที่หยดสารละลายผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกลงไปในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ สายโซ่ของอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกจะเกี่ยวพัน (entangle) กันเป็นร่างแห (network) อยู่ภายในเม็ดปิด จากนั้นสารละลายแคลเซียมไอออนจะแพร่เข้าสู่ผิวด้านนอกของเม็ดปิดทำให้เกิดเจลอย่างรวดเร็วจากผิวด้านนอกเข้าสู่ด้านในเม็ดปิดโดยตรง โดยแคลเซียมไอออนจะจับกับหมู่คาร์บอกซิล (ส่วนจีบล็อก) ของสายโซ่อัลจิเนตสายหนึ่งกับหมู่คาร์บอกซิล (ส่วนจีบล็อก) ของสายโซ่อัลจิเนตอีกสายหนึ่ง [104] แสดงดังสมการที่ 4.1 กล่าวคือ แคลเซียมไอออน 1 โมเลกุล สามารถจับกับหมู่คาร์บอกซิลส่วนจีบล็อก 2 หมู่ ของสายโซ่อัลจิเนตคนละสาย เกิดการเรียงตัวกันเป็นชั้นอย่างเป็นระเบียบแบบโครงสร้างกล่องไข่ “egg-box model” [4,105] ในรูปที่ 4.4



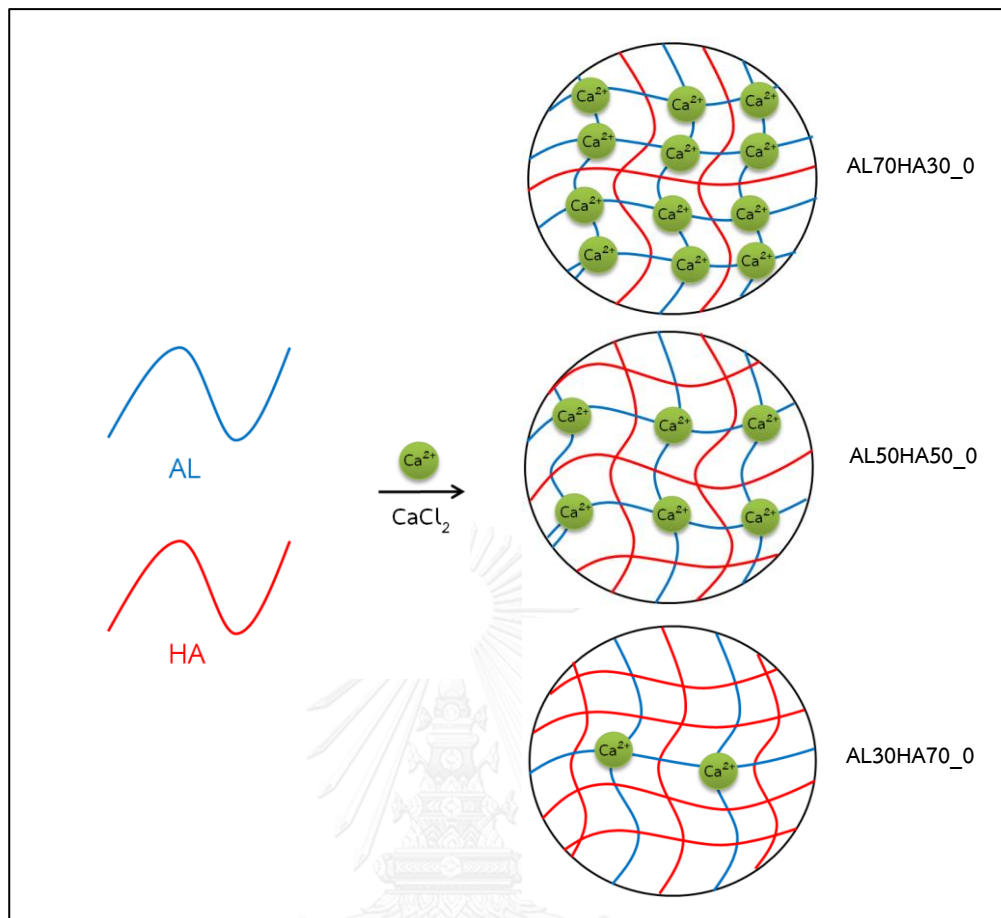


รูปที่ 4.3 ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็บบิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิค ในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต ภายหลังจากการเก็บเม็บบิดเปียกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0-7 วัน (—▲— AL30HA70, —■— AL50HA50 และ —◆— AL70HA30)



รูปที่ 4.4 การเชื่อมขวางด้วยไอออนระหว่างแคลเซียมไอออนกับหมู่คาร์บอกซิลส่วนจีบล็อกของอัลจิเนต เกิดการเรียงตัวเป็นชั้นอย่างเป็นระเบียบแบบโครงสร้างกล่องไข่ “egg-box model”

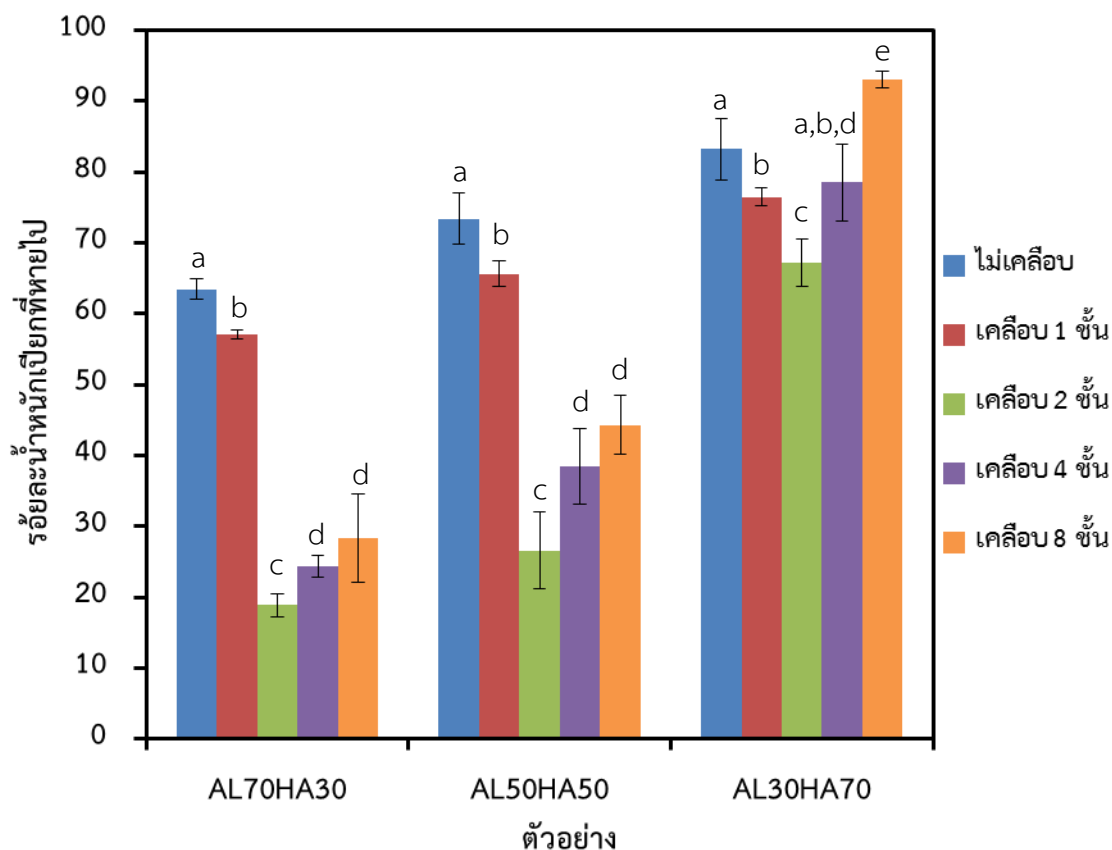
ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบ ในทุกอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนัก พบว่า เมื่อเวลาในการเก็บรักษาเม็ดปิดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปมีค่ามากขึ้นด้วย นอกจากนี้เมื่อสัดส่วนของอัลจิเนตในเม็ดปิดมากขึ้น ส่งผลให้ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดมีค่าลดลง โดยเม็ดปิดสูตร AL70HA30_0 มีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยที่สุด รองลงมา คือ เม็ดปิดสูตร AL50HA50_0 และ AL30HA70_0 ตามลำดับ เนื่องจากสารละลายผสมสูตร AL70HA30_0 ซึ่งมีสัดส่วนของอัลจิเนตมาก มีค่าศักย์เซต่าเป็นลบมากที่สุด (ตารางที่ 4.2) ส่งผลให้หมู่คาร์บอกซิลส่วนจีบล็อกของสายโซ่อัลจิเนตมีโอกาสในการเชื่อมขวางด้วยไอออนกับแคลเซียมไอออนได้ดี ทำให้สายโซ่ของกรดไฮยาลูรอนิกที่ผสมอยู่ถูกเกี่ยวพันอย่างหนาแน่นภายในโครงสร้างที่เป็นระเบียบแบบกล่องไข่ [12] แสดงในรูปที่ 4.5 จึงทำให้เม็ดปิดมีความคงตัวมากกว่าสูตรอื่น แสดงให้เห็นว่าเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจิเนตมากจะมีแนวโน้มความคงตัวมากกว่า และสามารถรักษาสภาพรูปร่างไว้ได้มากกว่าเมื่อได้รับแรงสัมผัสเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมาก



รูปที่ 4.5 การเชื่อมขวางด้วยไอออนระหว่างแคลเซียมไอออนกับหมู่คาร์บอกซิลส่วนจับล็คของอัลจินต ที่ส่งผลต่อการเกี่ยวพันกันระหว่างสายโซ่อัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกภายในเม็ดปิดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบในอัตราส่วนการผสมต่างๆ

จากผลร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดในทุกอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนัก และผ่านการเคลือบ พบว่า เมื่อเวลาในการเก็บรักษาเม็ดปิดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปมีค่ามากขึ้นด้วย โดยเม็ดปิดสูตร AL70HA30_0 มีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยที่สุด รองลงมา คือ เม็ดปิดสูตร AL50HA50_0 และ AL30HA70_0 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินตมากจะมีแนวโน้มความคงตัวมากกว่า เช่นเดียวกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบ เนื่องจากสารละลายผสมสูตร AL70HA30_0 มีค่าศักย์เซต้า เป็นลบมากที่สุด ส่งผลให้หมู่คาร์บอกซิลส่วนจับล็คของสายโซ่อัลจินตมีโอกาสในการเชื่อมขวางด้วยไอออนกับแคลเซียมไอออนได้มากกว่าด้วย

เมื่อพิจารณาผลของจำนวนชั้นเคลือบที่มีต่อร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิด ภายหลังจากเก็บเม็ดปิดเปียกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แสดงในรูปที่ 4.6 พบว่า จำนวนชั้นเคลือบส่งผลต่อความคงตัวของเม็ดปิด ดังนี้



รูปที่ 4.6 ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก ในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจิเนต ภายหลังจากเก็บเม็ดปิดเปียกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

(a, b, c, d, e แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของ ข้อมูลร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไป โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักเดียวกัน ที่จำนวน ชั้นเคลือบแตกต่างกัน)

สำหรับเม็ดปิดที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 1 ชั้น พบว่า มีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบในทุกอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนัก เนื่องมาจากผลของการเชื่อมขวางด้วยไอออนและอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) ในขั้นตอนการก่อตัวเป็นเม็ดปิดและขั้นตอนการเคลือบ แสดงในรูปที่ 4.7 ส่งผลทำให้เม็ดปิดมีความคงตัวมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบ ดังต่อไปนี้

ก) ขั้นตอนการก่อตัวเป็นเม็ดปิด เกิดจากการหยดสารละลายผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิคลงไปในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ผสมสารละลายเจลาตินชนิดเอ ซึ่งแตกต่างจากเม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบที่หยดสารละลายผสมลงไปในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว โดยสายโซ่ของอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิคจะเกี่ยวพันกันอยู่ภายในเม็ดปิด หมู่คาร์บอกซิลส่วนจับลือคของสายโซ่อัลจินเตเชื่อมขวางด้วยไอออนกับแคลเซียมไอออน ส่วนหมู่คาร์บอกซิลของสายโซ่อัลจินเตและสายโซ่กรดไฮยาลูรอนิคจะเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับหมู่อะมิโนของเจลาตินชนิดเอ เกิดการก่อตัวเป็นเม็ดปิดขึ้น

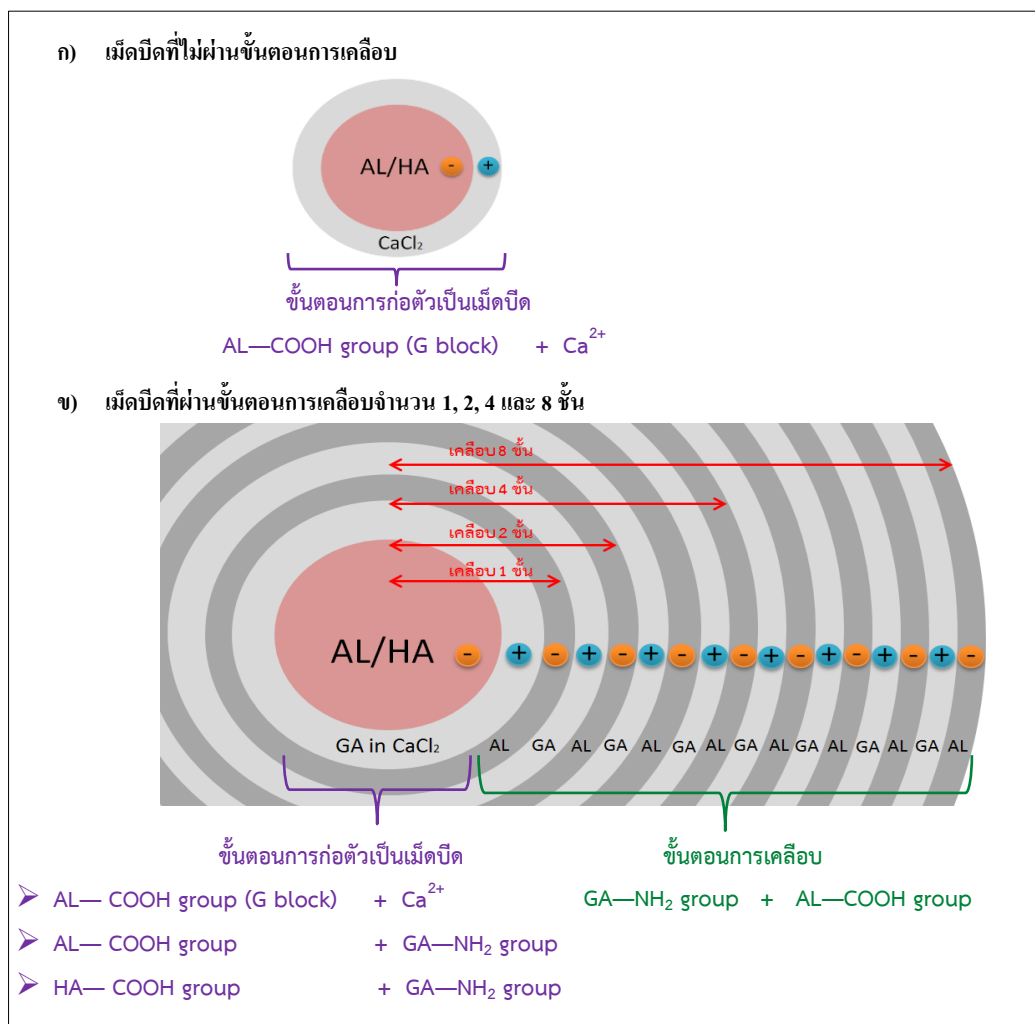
ข) ขั้นตอนการเคลือบ หลังจากนำเม็ดปิดไปเคลือบด้วยสารละลายอัลจินเต จะเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตอีกครั้งระหว่างประจุบวกของหมู่อะมิโนของเจลาตินชนิดเอบนผิวของเม็ดปิดกับประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลของสารละลายอัลจินเต เกิดเป็นชั้นเคลือบพื้นผิวภายนอกของเม็ดปิดไว้อีกชั้นหนึ่ง ส่งผลให้เม็ดปิดมีความคงตัวมากขึ้น

เมื่อเพิ่มจำนวนชั้นเคลือบเม็ดปิดเป็น 2 ชั้น จะเห็นได้ว่า เม็ดปิดที่ทุกอัตราส่วนการผสมมีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่ผ่านการเคลือบ 1 ชั้น โดยเม็ดปิดสูตร AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 มีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยที่สุดเท่ากับ 18.85, 26.58 และ 67.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดทุกสูตรทั้งไม่ผ่านการเคลือบและผ่านการเคลือบ จะเห็นได้ว่าเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินเตมากจะมีความคงตัวสูง ส่งผลให้ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยลง ประกอบกับการเคลือบเม็ดปิดจำนวน 2 ชั้น ช่วยเพิ่มแรงดึงดูดจากอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างชั้นเคลือบที่แข็งแรงกว่าให้กับเม็ดปิด

นอกจากนี้เมื่อเพิ่มจำนวนชั้นเคลือบเม็ดปิดเป็น 4 และ 8 ชั้น พบว่า เม็ดปิดที่ผ่านการเคลือบ 4 และ 8 ชั้น กลับมีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้น อีกทั้งเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิคมากและมีจำนวนชั้นมากถึง 8 ชั้น (AL30HA70_8) มีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปมากที่สุด โดยมากกว่ากรณีเม็ดปิดที่ไม่

ผ่านการเคลือบ อาจเป็นไปได้ว่าอันตรกิริยาระหว่างชั้นเคลือบจับกันด้วยแรงอ่อนๆ ดังนั้นเมื่อเคลือบด้วยจำนวนชั้นที่มากเกินไปจึงไม่สามารถทำให้เม็ดบีดมีความคงตัวอยู่ได้ ประกอบกับเม็ดบีดเสียรูปได้ง่ายเมื่อได้รับแรงสัมผัส

จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่าจำนวนชั้นเคลือบมีผลต่อความคงตัวของเม็ดบีดอย่างมาก โดยเม็ดบีดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกไม่เกินร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก และผ่านการเคลือบ 2 ชั้น จะมีความคงตัวมาก สังเกตได้จากร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดบีดที่ไม่ผ่านการเคลือบ อีกทั้งเม็ดบีดมีความคงรูปเมื่อได้รับแรงสัมผัส



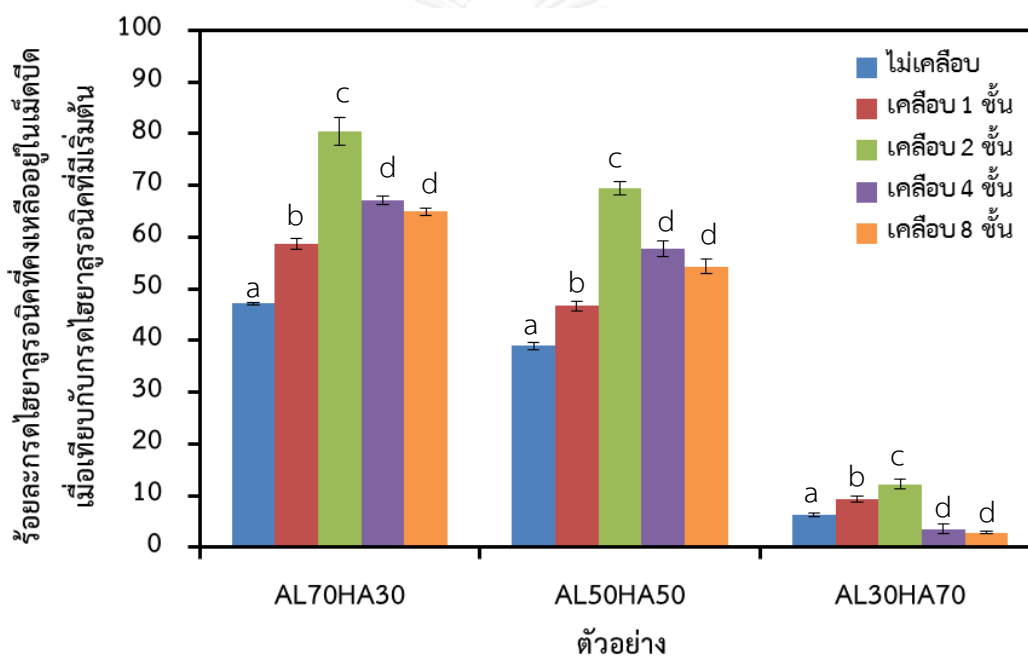
รูปที่ 4.7 หมู่ที่เกิดการเชื่อมขวางด้วยไอออนและเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตในขั้นตอนการก่อตัวเป็นเม็ดบีดและขั้นตอนการเคลือบของเม็ดบีดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก (ก) เม็ดบีดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ และ (ข) เม็ดบีดที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบชั้นต่อชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต จำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น

ในปี 2015 Hu Y. และคณะ [12] ได้ศึกษาการเคลือบเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิคด้วยไคโตซาน ซึ่งไคโตซานมีประจุบวกเช่นเดียวกับเจลาตินชนิดเอทีใช้ในงานวิจัยนี้ โดยพบว่า เม็ดปิดมีความคงตัวมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ เนื่องจากหมู่อะมิโนของไคโตซานสามารถเกิดอันตรกิริยาทั้งหมู่คาร์บอกซิลส่วนของอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิค นอกจากนี้สายโซ่ของอัลจินตอาจเกี่ยวพันกันเป็นร่างแหกับกรดไฮยาลูรอนิคเป็นผลทำให้สายโซ่เกิดการยึดเหนี่ยวกันมากขึ้น จึงสามารถเพิ่มความคงตัวให้กับเม็ดปิดได้

ในปี 2003 Anil K.A. และคณะ [13] ได้ศึกษาการเคลือบเม็ดปิดอัลจินตด้วยไคโตซานที่ใช้ในการกักเก็บ bicine serum albumin (BSA) โดยหดยดสารละลายอัลจินตความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ผสมกับสารละลาย BSA ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผสมกับสารละลายไคโตซาน 0.4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปั่นกวนเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำเม็ดปิดที่ได้ไปแช่ในสารละลายไคโตซานอีกครั้ง เป็นเวลา 30 นาที สลับกับการแช่ในสารละลายอัลจินตเป็นเวลา 30 นาที สุดท้ายนำเม็ดปิดที่ได้ไปเชื่อมขวางอีกครั้งโดยการแช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 10 นาที พบว่า เม็ดปิดอัลจินตที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบมีประสิทธิภาพในการกักเก็บ BSA สูงกว่าเมื่อเทียบกับเม็ดปิดอัลจินตที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบที่เกิดจากการหดยดสารละลายผสมลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ไม่ผสมไคโตซาน (67.3 ± 9 และ 34.8 ± 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เนื่องจากเม็ดปิดที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบจะเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างหมู่คาร์บอกซิลของอัลจินตกับหมู่อะมิโนของไคโตซาน ซึ่งเป็นการเพิ่มแรงยึดเหนี่ยวที่แข็งแรงให้กับชั้นเคลือบ ดังนั้นเม็ดปิดจึงมีความสามารถในการกักเก็บ BSA ไม่ให้แพร่ออกมาในระหว่างขั้นตอนการก่อเจลและในขั้นตอนการเคลือบได้ แสดงให้เห็นว่าการเคลือบส่งผลให้เม็ดปิดมีความคงตัวมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษานี้

4.2.3 ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเปียกที่ผ่านการเคลือบ

เนื่องจากกรดไฮยาลูรอนิกที่เป็นองค์ประกอบในเม็ดปิดสามารถละลายน้ำได้ง่าย ในงานวิจัยนี้จึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดผสมสูตร AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 ที่ผ่านการเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับสารละลายอัลจินตที่จำนวนชั้นเคลือบ 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยเทคนิค Elson-Morgan assay [90,91] เพื่อตรวจสอบว่าเทคนิคการเคลือบเม็ดปิดชั้นต่อชั้นสามารถช่วยกักเก็บกรดไฮยาลูรอนิกให้อยู่ในเม็ดปิดได้มากขึ้นเพียงใดเมื่อเทียบกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบ ผลการศึกษาวิจัยร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสม และผ่านการเคลือบด้วยจำนวนชั้นต่างๆ เมื่อเทียบกับกรดไฮยาลูรอนิกที่มีเริ่มต้น แสดงดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 ร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเปียกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก ในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต เมื่อเทียบกับกรดไฮยาลูรอนิกที่มีเริ่มต้น

(a, b, c, d แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่จริงในเม็ดปิด โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักเดียวกันที่จำนวนชั้นเคลือบแตกต่างกัน)

พิจารณาเม็ดปิดผสมที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบในทุกอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนัก พบว่า ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่ในเม็ดปิดมีค่าน้อยกว่าปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่ใช้เริ่มต้น โดยเม็ดปิดสูตร AL70HA30_0 มีร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลือในเม็ดปิดมากที่สุด (ร้อยละ 47.19 ± 0.21) รองลงมา คือ เม็ดปิดสูตร AL50HA50_0 (ร้อยละ 39.02 ± 0.71) และ AL30HA70_0 (ร้อยละ 6.23 ± 0.33) ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินตมากจะสามารถช่วยกักเก็บกรดไฮยาลูรอนิกไว้ในเม็ดปิดได้มากกว่า อาจเป็นผลมาจากเม็ดปิดมีความคงตัวมากจากสายโซ่อัลจินตที่สามารถเชื่อมขวางด้วยไอออนกับแคลเซียมไอออนได้ดี ส่งผลทำให้สายโซ่ของอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในเม็ดปิดเกี่ยวพันกันหนาแน่นมาก (รูปที่ 4.5)

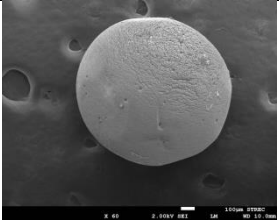
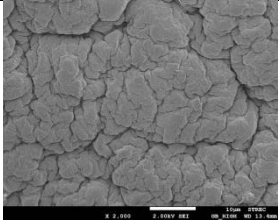
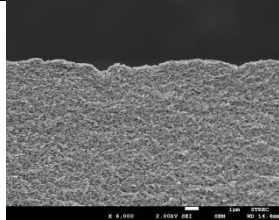
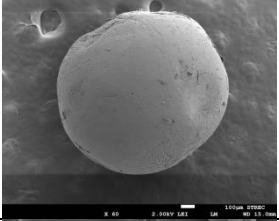
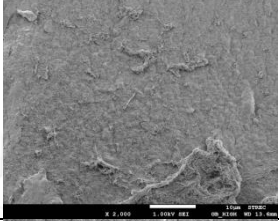
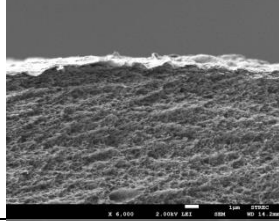

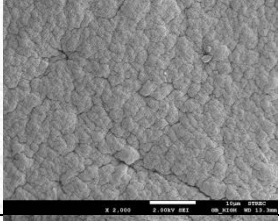
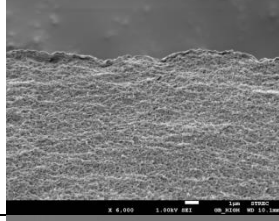
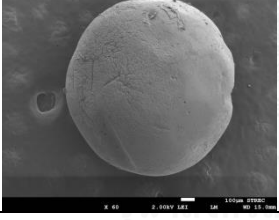
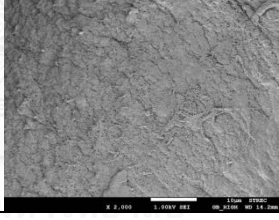
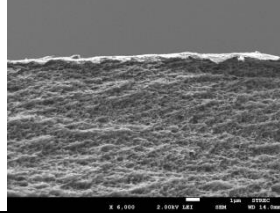
สำหรับเม็ดปิดผสมที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบด้วยจำนวนชั้นที่แตกต่างกัน พบว่าจำนวนชั้นเคลือบส่งผลต่อร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่ในเม็ดปิด สำหรับเม็ดปิดที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 1 ชั้น พบว่า ร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่ในเม็ดปิดทุกสูตรเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ โดยกรณีเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินตมากจะพบร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดมีค่ามากขึ้นด้วย คาดว่าเป็นเพราะผลของการเชื่อมขวางด้วยไอออนและอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตในขั้นตอนการก่อตัวเป็นเม็ดปิดและขั้นตอนการเคลือบ (จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.2.2) ส่งผลทำให้เม็ดปิดมีความคงตัวมากขึ้น จึงสามารถช่วยกักเก็บกรดไฮยาลูรอนิกไว้ในเม็ดปิดได้มากขึ้นด้วย โดยเม็ดปิดที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น พบร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่ในเม็ดปิดมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดสูตรเดียวกันที่ผ่านการเคลือบ 1 ชั้น อีกทั้งเม็ดปิดสูตร AL70HA30_2, AL50HA50_2 และ AL30HA70_2 ยังมีร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกในเม็ดปิดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนชั้นเคลือบอื่นๆด้วย (80.41 ± 2.35 , 69.52 ± 1.77 และ 12.14 ± 1.82 ตามลำดับ) ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับผลการศึกษาในหัวข้อ 4.2.2 ที่พบว่าเม็ดปิดในทุกอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักที่ผ่านการเคลือบสองชั้นมีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยที่สุด อาจเป็นเพราะว่าเม็ดปิดเกิดแรงยึดเหนี่ยวด้วยอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างชั้นเคลือบที่มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มจำนวนชั้นเคลือบเป็น 4 และ 8 ชั้น พบร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่ในเม็ดปิดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น โดยเฉพาะเม็ดปิดสูตร AL30HA70_4 และ AL30HA70_8 พบร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีน้อยกว่าเม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าการเคลือบด้วยจำนวนชั้นที่มากเกินไปไม่สามารถทำให้เม็ดปิดมีความคงตัว

ได้ และเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินเตนน้อยจะมีสายโพรระหว่างอัลจินเตนและกรดไฮยาลูรอนิกภายในเม็ดปิดเกี่ยวพันกันอย่างหลวม ทำให้โมเลกุลของกรดไฮยาลูรอนิกมีโอกาสเกิดการละลายน้ำหายไปได้ง่ายกว่าในระหว่างการเคลือบด้วยจำนวนชั้นที่มากเกินไปและการล้างเม็ดปิดด้วยน้ำปราศจากไอออนในขั้นตอนสุดท้ายเพื่อกำจัดแคลเซียมคลอไรด์ที่อาจตกค้างในกระบวนการขึ้นรูป อีกทั้งร้อยละโดยน้ำหนักเป็ยกที่หายไปมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านการเคลือบ และเม็ดปิดเสียรูปได้ง่ายเมื่อได้รับแรงสัมผัส (จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.2.2)

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการเลือกเม็ดปิดที่เหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นระบบควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินในระดับห้องปฏิบัติการจากเม็ดปิดสูตร AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 ที่ผ่านการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น โดยพิจารณาข้อมูลจากรูปที่ 4.3 ที่แสดงร้อยละน้ำหนักเป็ยกที่หายไปของเม็ดปิดที่ผลิตได้ ภายหลังจากเก็บเม็ดปิดเป็ยกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ประกอบกับผลการศึกษาจากรูปที่ 4.8 ที่แสดงร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่ในเม็ดปิดที่ผลิตได้ภายหลังกระบวนการขึ้นรูป ซึ่งสังเกตเห็นว่า เม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 และ AL50HA50_2 มีความคงตัวมากที่สุดเนื่องจากร้อยละน้ำหนักเป็ยกที่หายไปน้อยที่สุด รูปร่างของเม็ดปิดไม่เสียรูปโดยง่ายเมื่อได้รับแรงสัมผัส อีกทั้งมีร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่อยู่ในเม็ดปิดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบด้วยจำนวนชั้นต่างๆ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกเม็ดปิดผสม 2 สูตร ดังกล่าวไปทำแห่ง โดยการทำแห่งแบบเยือกแข็งเพื่อเก็บรักษาเม็ดปิดก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดแห่งดังแสดงผลในหัวข้อถัดไป

4.2.4 โครงสร้างพื้นฐานของเม็ดบีด (Morphology)

เพื่อยืนยันการปรากฏของชั้นเคลือบเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเตบนพื้นผิวเม็ดบีด จึงทำการวิเคราะห์โครงสร้างพื้นฐานของเม็ดบีดที่ผ่านการเคลือบจำนวน 2 ชั้น (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) เปรียบเทียบกับเม็ดบีดที่ไม่ผ่านการเคลือบ (AL70HA30_0 และ AL50HA50_0) โดยนำเม็ดบีดที่ผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยเทคนิคแทนที่สารละลายอินทรีย์ (เอทานอล) ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวภายใต้อุณหภูมิและความดันวิกฤติ (Critical point drying) เพื่อรักษาสภาพเม็ดบีดเปียก และวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 60 เท่าเพื่อดูลักษณะรูปร่างของเม็ดบีด ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าเพื่อดูลักษณะพื้นผิวภายนอกของเม็ดบีด และที่กำลังขยาย 6,000 เท่าเพื่อดูลักษณะภาพตัดขวางของชั้นเคลือบของเม็ดบีด ดังแสดงในรูปที่ 4.9 พบว่า เม็ดบีดทุกสูตรมีลักษณะค่อนข้างกลม และเมื่อพิจารณาลักษณะพื้นผิวภายนอกของเม็ดบีด พบว่า เม็ดบีดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบจะมีลักษณะของพื้นผิวที่ขรุขระแตกเป็นเส้น เม็ดบีดที่มีสัดส่วนอัลจินเตน้อยจะมีความขรุขระน้อยกว่า เนื่องจากเม็ดบีดมีการหดตัวน้อยกว่า ส่วนเม็ดบีดที่ผ่านการเคลือบมีลักษณะของพื้นผิวที่เรียบมากขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากชั้นเคลือบของเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเตปกปิดบริเวณพื้นผิวที่ขรุขระของเม็ดบีด และเมื่อพิจารณาลักษณะของภาพตัดขวาง พบว่า ไม่สามารถสังเกตเห็นชั้นเคลือบบนเม็ดบีดที่ผ่านการเคลือบ อาจเนื่องจากวิธีการเตรียมตัวอย่างและข้อจำกัดของวิธีการวิเคราะห์ที่ไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างเนื้อเม็ดบีดและชั้นเคลือบได้

ตัวอย่าง	ลักษณะสัณฐานของเม็ดปิด		
	รูปร่างของเม็ดปิด	พื้นผิวภายนอกของเม็ดปิด	ภาพตัดขวางของชั้นเคลือบของเม็ดปิด
AL70HA30_0			
AL70HA30_2			
AL50HA50_0			
AL50HA50_2			

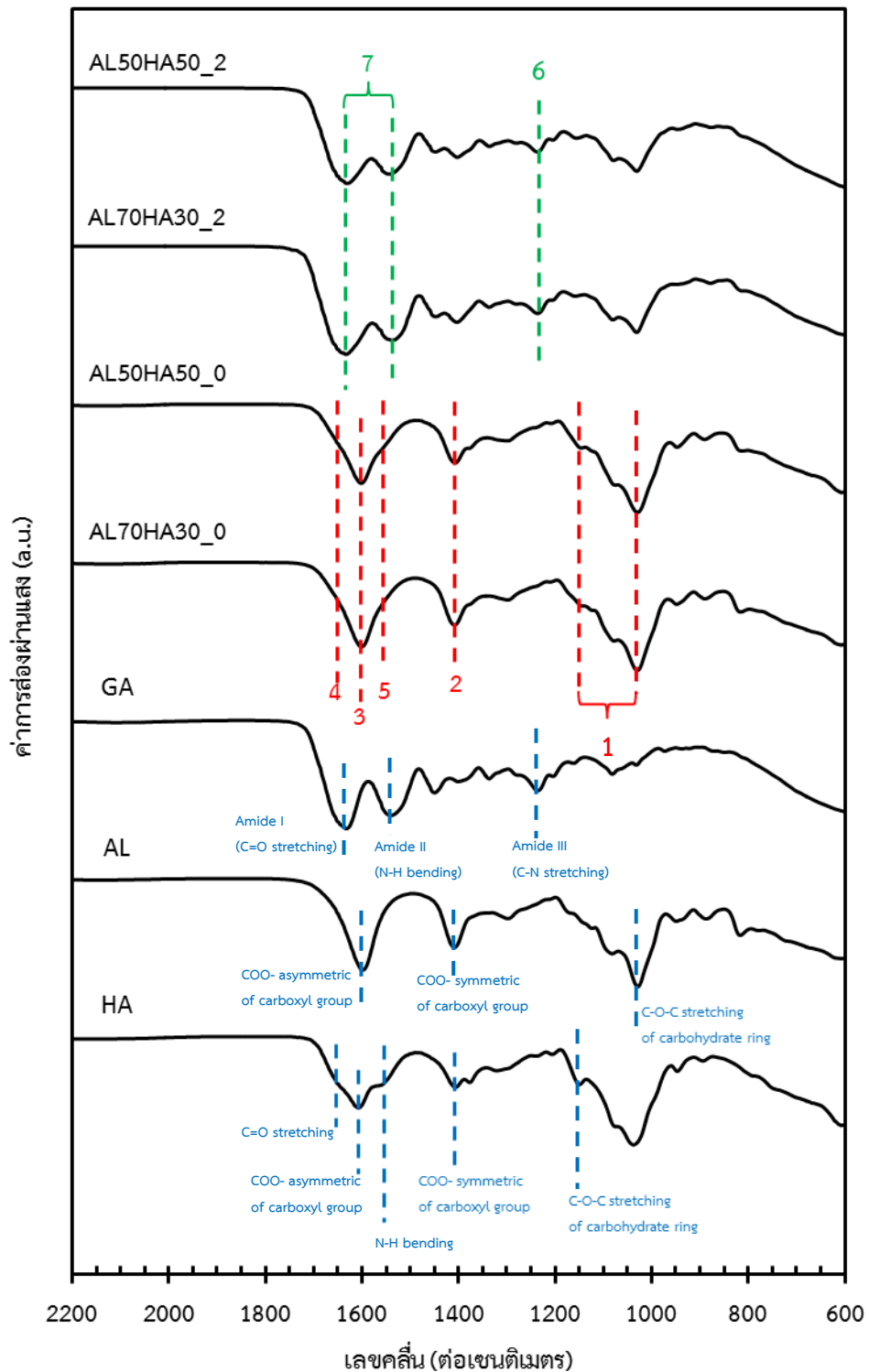
รูปที่ 4.9 โครงสร้างสัณฐานของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจิเนตและผสมกรดไฮยาลูรอนิก ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ (AL70HA30_0 และ AL50HA50_0) และผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจิเนต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2 โดยถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หลังผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยเทคนิคแทนที่สารละลายอินทรีย์ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวภายใต้อุณหภูมิและความดันวิกฤติ (Critical point drying) (สเกลบาร์ของรูปร่างของเม็ดปิดเท่ากับ 100 ไมโครเมตร, สเกลบาร์ของพื้นผิวภายนอกของเม็ดปิดเท่ากับ 10 ไมโครเมตร และสเกลบาร์ของภาพตัดขวางของชั้นเคลือบของเม็ดปิดเท่ากับ 1 ไมโครเมตร)

4.2.5 โครงสร้างทางเคมีของเม็ดบีด

ผลการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของเม็ดบีดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ไม่ได้เคลือบและเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินตที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง วิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียรทรานสฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FT-IR spectroscopy) แสดงในรูปที่ 4.10 เพื่อตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะของสารในเม็ดบีด ผลสเปกตรัม FT-IR แสดงให้เห็นถึงสเปกตรัมของการส่องผ่านรังสีอินฟราเรดที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะของสารเดี่ยวแต่ละชนิด (HA, AL และ GA) อย่างชัดเจน สำหรับกรดไฮยาลูรอนิกที่เป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรต พบสเปกตรัมของการส่องผ่านรังสีอินฟราเรดที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะ 5 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1151 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะ C-O-C ของวงแหวนคาร์โบไฮเดรต (C-O-C stretching of carbohydrate ring) ตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1412 และ 1614 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะที่สมมาตรและไม่สมมาตรของหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิล (COO- symmetric and asymmetric stretching of carboxyl groups) ตามลำดับ ตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1563 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะ N-H (N-H stretching) และตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1653 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะ C=O (C=O stretching) [106]

สำหรับอัลจินตที่เป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรต พบสเปกตรัมของการส่องผ่านรังสีอินฟราเรดที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะ 3 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1029 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะ C-O-C ของวงแหวนคาร์โบไฮเดรต (C-O-C stretching of carbohydrate ring) ตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1408 และ 1598 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะที่สมมาตรและไม่สมมาตรของหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิล (COO- symmetric and asymmetric stretching of carboxyl groups) ตามลำดับ [107]

สำหรับเจลาตินชนิดเอซึ่งเป็นสารประเภทโปรตีน พบสเปกตรัมของการส่องผ่านรังสีอินฟราเรดที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะ 3 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1653 ต่อเซนติเมตร สอดคล้องกับพันธะเอไมด์ I (Amide I) แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะ C=O (C=O stretching) ตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1549 ต่อเซนติเมตร สอดคล้องกับพันธะเอไมด์ II (Amide II) แสดงถึงการสั่นแบบงอของพันธะ N-H (N-H bending) และตำแหน่งพีคที่เลขคลื่น 1236 ต่อเซนติเมตร สอดคล้องกับพันธะเอไมด์ III (Amide III) แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะ C-H (C-H stretching) [80]



รูปที่ 4.10 สเปกตรัมค่าส่องผ่านรังสีอินฟราเรดของเม็ดบีดผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ไม่เคลื่อนและเคลื่อนด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจิเนต ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียทรานสฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FTIR)

ตารางที่ 4.4 สรุปตำแหน่งพิกัดการสั่นผ่านรังสีอินฟราเรดที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะของอัลจินตกรดไฮยาลูรอนิก และเจลาตินชนิดเอ ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

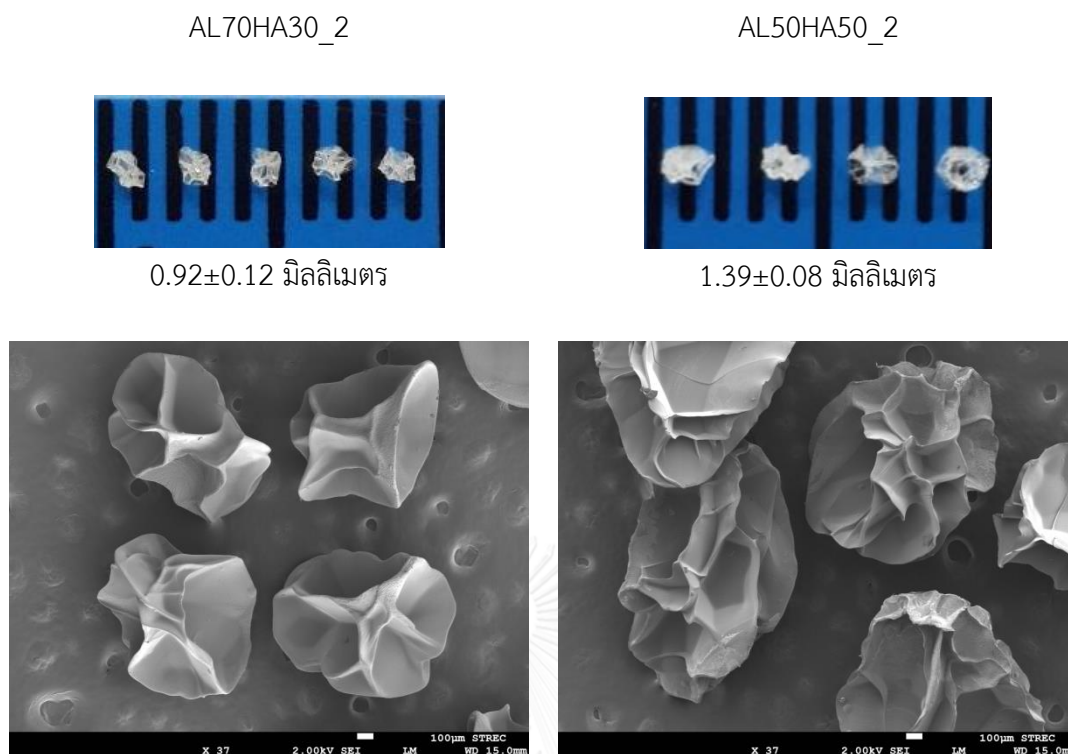
หมู่ฟังก์ชัน	เลขคลื่น (ต่อเซนติเมตร)	ตัวอย่าง
C-O-C stretching of carbohydrate ring	1151	HA
	1029	AL
COO ⁻ symmetric stretching of carboxyl groups	1412	HA
	1408	AL
COO ⁻ asymmetric stretching of carboxyl groups	1614	HA
	1598	AL
C=O stretching	1653	HA
N-H stretching	1563	
amide I (C=O stretching)	1653	GA
amide II (N-H bending)	1549	
amide III (C-N stretching)	1236	

4.3 คุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดแห้งระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต

จากที่กล่าวไว้ข้างต้น งานวิจัยนี้เลือกเม็ดปิดผสม 2 สูตร คือ เม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 และ AL50HA50_2 ไปทำแห้งโดยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็งเพื่อเก็บรักษาเม็ดปิดก่อนที่จะนำไปศึกษาในขั้นต่อไป ซึ่งผลการวิเคราะห์ของคุณลักษณะและสมบัติของเม็ดปิดแห้งมีดังต่อไปนี้

4.3.1 ความสามารถในการบวมน้ำของเม็ดปิดแห้ง

ผลโครงสร้างสัณฐานของเม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 และ AL50HA50_2 หลังทำแห้งเม็ดปิดด้วยกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง วิเคราะห์โดยภาพถ่ายจากกล้องดิจิทัล และกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (กำลังขยาย 37 เท่า) แสดงในรูปที่ 4.11 พบว่า เม็ดปิดแห้งทั้ง 2 สูตรมีการหดตัวอย่างมากและไม่สามารถคงรูปร่างเป็นทรงกลม เนื่องจากโมเลกุลของน้ำถูกกำจัดออกจากเม็ดปิดทำให้เม็ดปิดเกิดการหดตัว โดยเม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 และ AL50HA50_2 มีขนาดเม็ดปิดแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 0.92 ± 0.12 และ 1.39 ± 0.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยพบว่าเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมากกว่าจะมีขนาดของเม็ดปิดใหญ่กว่า ซึ่งสอดคล้องกับผลขนาดและรูปร่างของเม็ดปิดเปียกข้างต้น (ผลการศึกษาในหัวข้อ 4.2.1) โดยทั่วไปการผลิตเม็ดปิดอัลจินเตด้วยเทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออนกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ การเชื่อมขวางจะเกิดเฉพาะที่ตำแหน่งจีบล็อคของอัลจินเตเท่านั้น ดังนั้นเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินเตมากกว่าจึงน่าจะเกิดการเชื่อมขวางกับไอออนแคลเซียมประจุบวกสองได้มากกว่า เกิดโครงข่ายภายในโมเลกุลที่แน่นหนา ทำให้เกิดการหดตัวและมีขนาดเล็กกว่าทั้งสภาวะแห้งและเปียก [109]



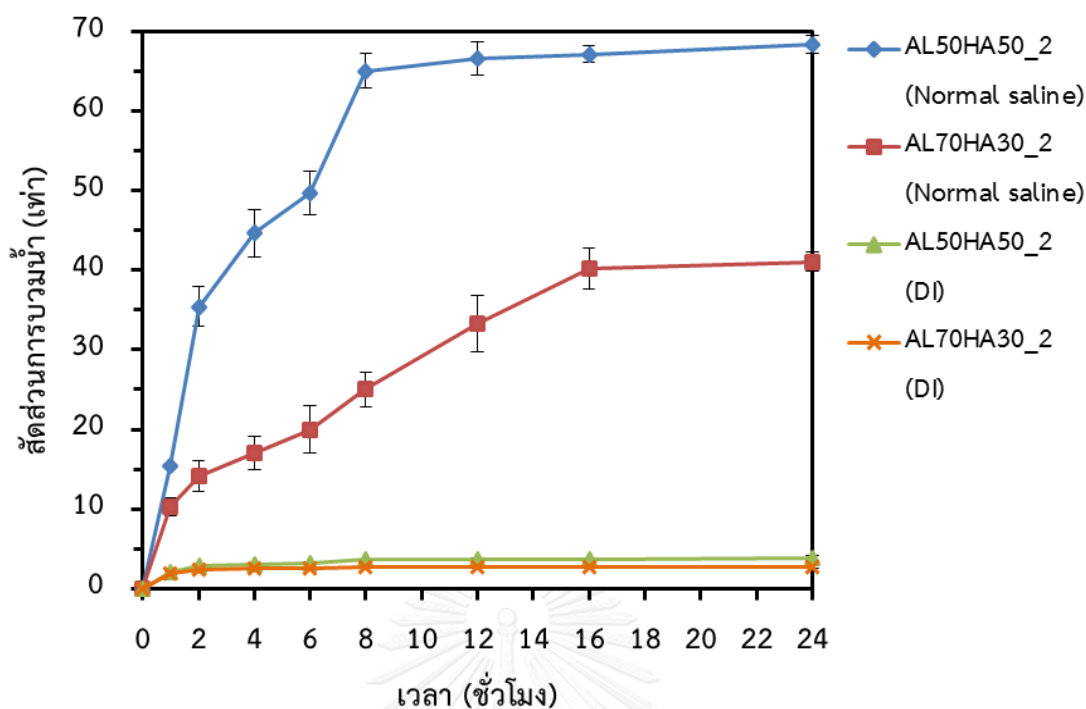
รูปที่ 4.11 โครงสร้างพื้นฐานของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) หลังทำแห้งด้วยกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยถ่ายจากกล้องดิจิตอล (ขีดสเกลเท่ากับ 1 มิลลิเมตร/ช่อง) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (สเกลบาร์เท่ากับ 100 ไมโครเมตร)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาความสามารถในการบวมตัวของเม็ดปิดแห้งที่แช่ในของเหลว 2 ชนิด ได้แก่ สารละลายนอร์มัลซาลิน (normal saline, pH = 5.87) และน้ำปราศจากไอออน (pH = 6) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งวิเคราะห์จากน้ำหนักเปียกที่เพิ่มขึ้นของเม็ดปิด ดังแสดงในรูปที่ 4.12 เมื่อพิจารณาสัดส่วนการบวมที่เพิ่มขึ้นสำหรับเม็ดปิดที่แช่ในน้ำปราศจากไอออน พบว่า เม็ดปิดทั้งสองสูตรมีสัดส่วนการบวมที่เพิ่มขึ้นประมาณ 2.7 เท่า (AL70HA30_2) และ 3.8 เท่า (AL50HA50_2) ของน้ำหนักแห้งเริ่มต้น ภายในระยะเวลา 2 ชั่วโมงแรก และคงที่หลังจากนั้นจนถึงเวลา 24 ชั่วโมงของการศึกษา ซึ่งทั้งอัลจินต กรดไฮยาลูรอนิก และเจลาตินชนิดเอ มีสมบัติที่ชอบน้ำ เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิลและคาร์บอกซิลในโมเลกุล จึงทำให้เม็ดปิดสามารถบวมตัวได้ในน้ำ จะเห็นได้ว่า เม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินตมากจะมีความคงตัวมากด้วย ส่งผลให้มีสัดส่วนการบวมที่น้อย นั่นคือมีร้อยละน้ำหนักเปียกที่เพิ่มขึ้นน้อย


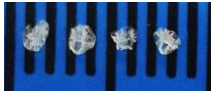




ในทางตรงข้าม เม็ดปิดที่แชในสารละลายนอร์มอลชาไลน์ มีน้ำหนักเปียกที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพบว่า เม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 มีน้ำหนักเปียกเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องช่วงระยะเวลาประมาณ 16 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นจะไม่เปลี่ยนแปลงน้ำหนักจนถึง 24 ชั่วโมง โดยมีสัดส่วนการบวมน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นคงที่ประมาณ 41 เท่าของน้ำหนักแห้งเริ่มต้น ในขณะที่เม็ดปิดสูตร AL50HA50_2 มีน้ำหนักเปียกเพิ่มสูงขึ้นอย่างอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลาประมาณ 6 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นสัดส่วนการบวมน้ำจะค่อนข้างคงที่ประมาณ 68 เท่าของน้ำหนักแห้งเริ่มต้น จนถึงเวลา 24 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าเม็ดปิดสูตร AL50HA50_2 มีความสามารถในการบวมน้ำได้เร็วกว่าเม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้เม็ดปิดทั้งสองสูตรที่แชในสารละลายนอร์มอลชาไลน์มีความสามารถในการบวมน้ำมากกว่ากรณีแชในน้ำปราศจากไอออนหลายสิบเท่า อาจเนื่องมาจากสารละลายนอร์มอลชาไลน์ ในที่นี้คือ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งโซเดียมไอออน (Na^+) ที่อยู่ในสารละลายอาจเกิดการผลึกกับแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ที่เชื่อมขวางอยู่กับสายโซ่ของอัลจินเต ทำให้สายโซ่ภายในเม็ดปิดเกิดการคลายตัว ส่งผลให้เม็ดปิดสามารถบวมน้ำได้มาก

ในปี 2004 Bajpai S.K. และ Sharma S. [110] ได้ศึกษาการบวมน้ำของเม็ดปิดอัลจินเตที่ขึ้นรูปด้วยเทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออนกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่แชในน้ำปราศจากไอออนและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่า เม็ดปิดอัลจินเตเกิดการบวมน้ำเมื่อแชในน้ำปราศจากไอออนเพียงเล็กน้อย แต่เม็ดปิดที่แชในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (มีร้อยละการบวมน้ำถึง 95 ± 12 และ 360 ± 17 ตามลำดับ) จะเห็นได้ว่าโซเดียมไอออนมีผลต่อการบวมตัวของเม็ดปิดอัลจินเต โดยความสามารถในการบวมน้ำขึ้นกับปริมาณไอออนบวกของเกลือที่มีในสารละลาย สอดคล้องกับการวิเคราะห์ผลข้างต้น



รูปที่ 4.12 สัดส่วนการบวมของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและผสมกรดไฮยาลูรอนิก ที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) เมื่อแช่ในน้ำปราศจากไอออน (pH = 6) และสารละลายนอร์มัลซาลิน (pH = 5.87) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

สำหรับลักษณะทางกายภาพและสัดส่วนการบวมที่สมดุล (Equilibrium swelling ratio) ของเม็ดปิดหลังจากแช่ในน้ำปราศจากไอออนและสารละลายนอร์มัลซาลิน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แสดงในรูปที่ 4.13 ซึ่งจะเห็นว่าลักษณะทางกายภาพของเม็ดปิดสอดคล้องกับสัดส่วนการบวม น้ำ กล่าวคือ เม็ดปิดที่แช่ในน้ำปราศจากไอออนจะมีลักษณะบวมตัวขึ้นเล็กน้อย ส่วนเม็ดปิดที่แช่ในสารละลายนอร์มัลซาลินมีลักษณะบวมตัวได้มากและมีรูปร่างกลมใกล้เคียงกับรูปร่างของเม็ดปิดก่อนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกสารละลายนอร์มัลซาลินเป็นตัวทำละลายสำหรับเจนนตามัยซินเพื่อใช้ดูดซับลงในเม็ดปิด ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อถัดไป (หัวข้อ 4.3.3)

ตัวอย่าง	เม็ดบีดแห้งก่อนแช่ ในของเหลว	เม็ดบีดหลังแช่ในของเหลว 24 ชั่วโมง	
		น้ำปราศจากไอออน	นอร์มัลซาไลน์
AL70HA30_2		 การบวมน้ำ 2.7 ± 0.2 เท่า ^a	 การบวมน้ำ 41.1 ± 1.2 เท่า ^c
AL50HA50_2		 การบวมน้ำ 3.8 ± 0.3 เท่า ^b	 การบวมน้ำ 68.3 ± 1.1 เท่า ^d

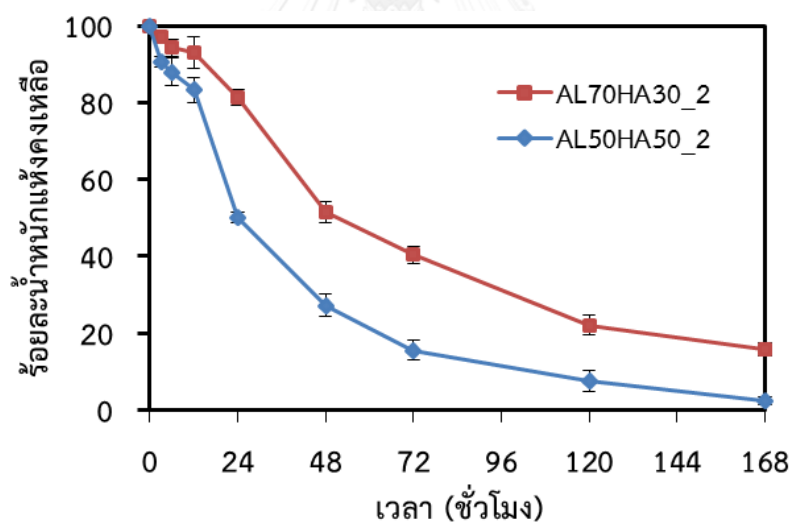
รูปที่ 4.13 ลักษณะทางกายภาพและสัดส่วนการบวมน้ำของเม็ดบีดผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก ที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจิเนต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) ก่อนและหลังแช่ในน้ำปราศจากไอออน (pH = 6) และสารละลายนอร์มัลซาไลน์ (pH = 5.87) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (สเกลบาร์ของลักษณะทางกายภาพของเม็ดบีดเท่ากับ 1 มิลลิเมตร)

(a, b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลสัดส่วนการบวมน้ำของเม็ดบีดแห้งผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้นเมื่อแช่ในน้ำปราศจากไอออน)

(c, d แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลสัดส่วนการบวมน้ำของเม็ดบีดแห้งผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้นเมื่อแช่ในสารละลายนอร์มัลซาไลน์)

4.3.2 ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (*in vitro* biodegradability) ของเม็ดปิด

ผลการศึกษาศามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพของเม็ดปิดในสารละลายจำลองสภาวะข้ออักเสบ (Simulated arthritis synovial fluid) ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส [92,93] แสดงในรูปที่ 4.14 พบว่า ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง เม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 มีร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือ 51.49 ± 2.68 ส่วนเม็ดปิดสูตร AL50HA50_2 มีร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือเพียง 27.23 ± 2.84 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 168 ชั่วโมง เม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 มีร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือ 15.71 ± 1.75 ในขณะที่เม็ดปิดสูตร AL50HA50_2 มีร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือ 2.34 ± 1.04 หรือย่อยสลายเกือบหมด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินตมากจะมีร้อยละของน้ำหนักแห้งคงเหลือภายหลังการแช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะข้อเสบบากกว่า นั่นคือมีการย่อยสลายช้ากว่า เนื่องจากเม็ดปิดมีความคงตัวมากกว่านั่นเอง (จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.2.2)



รูปที่ 4.14 ร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก ที่ผ่านการเคลือบ 2 ชั้นด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) ภายหลังการแช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาไลน์ 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

4.3.3 ความสามารถในการดูดซับเจนนตามัยซินของเม็ดปิด

ผลการศึกษาความสามารถในการดูดซับเจนนตามัยซินสองความเข้มข้น (25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสม โดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต แสดงในตารางที่ 4.5 พบว่า เม็ดปิดสูตร AL50HA50_2 มีประสิทธิภาพในการดูดซับเจนนตามัยซิน (Entrapment efficacy) สูงกว่าเม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 โดยเม็ดปิดสูตร AL50HA50_2 มีประสิทธิภาพในการดูดซับเจนนตามัยซินประมาณร้อยละ 84-89 ในขณะที่เม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 มีประสิทธิภาพในการดูดซับเจนนตามัยซินประมาณร้อยละ 69-73 ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า เม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมาก มีความสามารถในการบวมน้ำสูง (จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.3.4) จึงสามารถดูดซับเจนนตามัยซินซึ่งเป็นยาที่ละลายน้ำได้มากกว่า สอดคล้องกับรายงานของ Chan E.S. และคณะ (2010) [111] ที่ได้ทำการศึกษาเม็ดปิดอัลจินเต 2 ชนิด คือ เม็ดปิดอัลจินเตชนิดจิบส์ลือคสูง และเม็ดปิดอัลจินเตชนิดเอ็มบลือคสูง พบว่า เม็ดปิดอัลจินเตชนิดเอ็มบลือคสูงที่มีความสามารถในการบวมน้ำสูง มีประสิทธิภาพในการดูดซับสารสกัดสมุนไพรได้มากกว่าเม็ดปิดอัลจินเตชนิดจิบส์ลือคที่มีความสามารถในการบวมน้ำต่ำ

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของเจนนตามัยซินที่ใช้ในการดูดซับที่ 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่า เม็ดปิดที่ดูดซับเจนนตามัยซินที่ความเข้มข้นต่างกัน มีประสิทธิภาพในการดูดซับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องมาจากเม็ดปิดมีสมดุของการดูดซับยา ดังนั้น การเพิ่มความเข้มข้นเจนนตามัยซิน จึงไม่เพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับอีก

ปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับไว้ในเม็ดปิดต่อปริมาณเม็ดปิด (Drug loading) ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเจนนตามัยซินที่ใช้ในการดูดซับและขึ้นอยู่กับสูตรของเม็ดปิด โดยพบปริมาณเจนนตามัยซินมากในกรณีที่ใช้เจนนตามัยซินความเข้มข้นสูง (50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ในการดูดซับ และพบปริมาณเจนนตามัยซินมากในเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมาก กล่าวคือ เม็ดปิดสูตร AL50HA50_2 และ AL70HA30_2 ที่ดูดซับเจนนตามัยซิน ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ประมาณ 0.26-0.30 มิลลิกรัม/เม็ดปิด 1 มิลลิกรัม ในขณะที่เม็ดปิดทั้งสองสูตรดูดซับเจนนตามัยซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ประมาณ 0.42-0.47 มิลลิกรัม/เม็ดปิด 1 มิลลิกรัม ทั้งนี้ Sriamornsak P. และ Kennedy R.A. (2010) [48] รายงานว่า เม็ดปิดอัลจินเตที่แช่ในสารละลายโซเดียมฟลูออเรสเซนต์ชนิดละลายน้ำ

(Sodium fluorescein, SF) สามารถดูดซับปริมาณโซเดียมฟลูออเรสเซนได้มากขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมฟลูออเรสเซนที่ใช้ในการดูดซับ โดยเม็ดปิดมีปริมาณโซเดียมฟลูออเรสเซนที่ถูกดูดซับได้ประมาณ 6, 17 และ 53 ไมโครกรัม/เม็ดปิด 1 มิลลิกรัม เมื่อแช่ในสารละลายโซเดียมฟลูออเรสเซน ความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับผลเจนนตามัยซินในงานนี้

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพในการดูดซับเจนนตามัยซินและปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ในเม็ดปิดแห่งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิคในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต ที่ดูดซับเจนนตามัยซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตัวอย่าง	ประสิทธิภาพในการดูดซับเจนนตามัยซิน (Entrapment efficiency) (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ในเม็ดปิด (Drug loading) (มิลลิกรัม/เม็ดปิด 1 มิลลิกรัม)
AL50HA50_2 (25 mg/ml)	84.62 ± 3.97 ^a	0.30 ± 0.01 ^c
AL50HA50_2 (50 mg/ml)	89.23 ± 2.81 ^a	0.47 ± 0.01 ^d
AL70HA30_2 (25 mg/ml)	69.23 ± 3.08 ^b	0.26 ± 0.01 ^e
AL70HA30_2 (50 mg/ml)	73.08 ± 1.99 ^b	0.42 ± 0.01 ^f

(a, b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลประสิทธิภาพในการกักเก็บเจนนตามัยซิน)

(c, d, e, f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ในเม็ดปิด)

4.3.4 ความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยเงินตามัยซิน ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ (Simulated arthritis synovial fluid)

ผลการศึกษาความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยเงินตามัยซิน จากเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต และดูดซับเงินตามัยซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบ (ประกอบด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาไลน์ 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง แสดงในรูปที่ 4.15 พบว่า เม็ดปิดที่ดูดซับเงินตามัยซินที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน มีอัตราเร็วในการปลดปล่อยเงินตามัยซินไม่แตกต่างกันมากนัก

แต่เมื่อพิจารณาเม็ดปิดสูตรต่างกันที่ดูดซับสารละลายเงินตามัยซินที่มีความเข้มข้นเท่ากัน พบว่า เม็ดปิดสูตร AL50HA50_2 (25 mg/ml), AL50HA50_2 (50 mg/ml), AL70HA30_2 (25 mg/ml) และ AL70HA30_2 (50 mg/ml) สามารถปลดปล่อยเงินตามัยซินได้อย่างต่อเนื่องในระยะเวลา 2 ชั่วโมงแรก ประมาณร้อยละ 33, 32, 15 และ 13 ตามลำดับ และปลดปล่อยเงินตามัยซินร้อยละ 50 ที่ระยะเวลาประมาณ 2.5, 3, 9 และ 16 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นเงินตามัยซินถูกปลดปล่อยอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งการปลดปล่อยเริ่มคงที่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง และมีร้อยละการปลดปล่อยสะสมของเงินตามัยซินสูงสุดประมาณ 94, 92, 68 และ 65 ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง

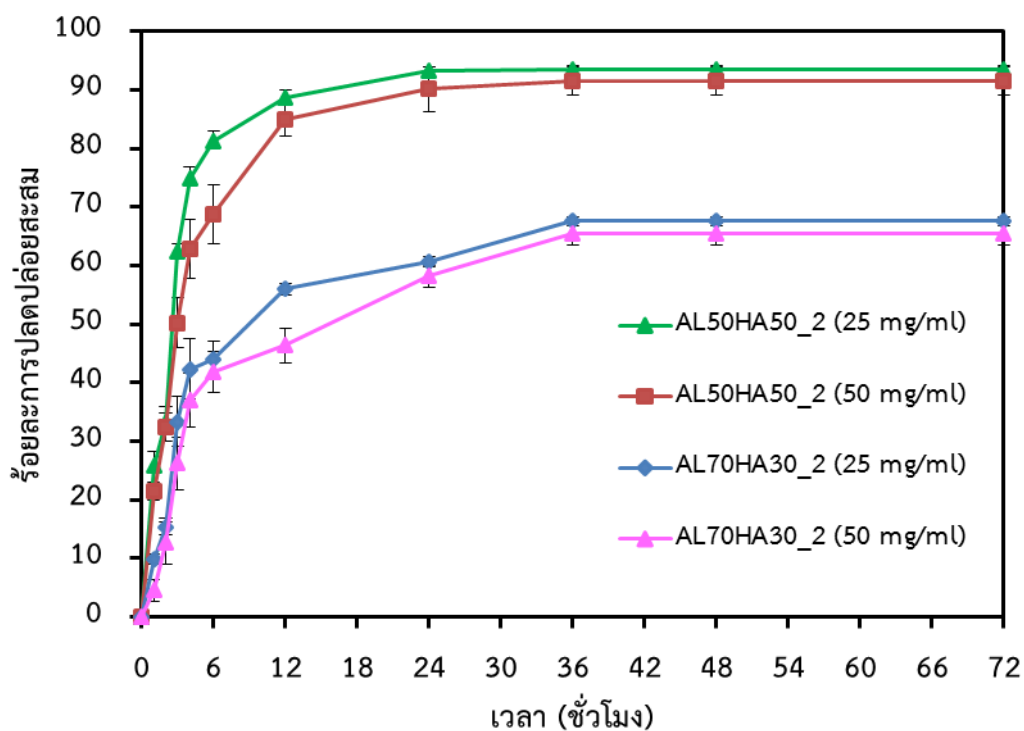
จากผลข้างต้นจะเห็นได้ว่า เม็ดปิดทั้งสองสูตรสามารถปลดปล่อยเงินตามัยซินได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมากกว่า มีร้อยละการปลดปล่อยสะสมของเงินตามัยซินมากกว่า อาจเนื่องมาจากเม็ดปิดสูตรนี้มีความคงตัวน้อยและบวมน้ำได้มาก (จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.2.2 และ 4.3.1 ตามลำดับ) เมื่อเม็ดปิดบวมน้ำมากขึ้นโครงสร้างร่างแหภายในเม็ดปิดจะขยายออกส่งผลให้ยาสามารถแพร่ออกมาจากเม็ดปิดได้ง่ายกว่า อีกทั้งเม็ดปิดย่อยสลายทางชีวภาพได้เร็ว (จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.3.2) ทำให้ยาถูกปลดปล่อยออกมาพร้อมกับเม็ดปิดที่ถูกย่อย ผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Arica A. และคณะ (2002) [112] ที่รายงานว่า

เม็ดปิดอัลจินเนตที่ความเข้มข้นมาก (เตรียมจากสารละลายอัลจินเนตความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) มีอัตราการปลดปล่อยสะสมของยา 5-fluorouracil (5-FU) ช้ากว่าเม็ดปิดอัลจินเนตที่ความเข้มข้นน้อย (เตรียมจากสารละลายอัลจินเนตความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เนื่องจากเม็ดปิดอัลจินเนตที่ความเข้มข้นมาก มีความหนาแน่นของโครงสร้างภายในสูง ทำให้ขัดขวางการแพร่ของยาออกจากเม็ดปิดได้

นอกจากนี้ จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า เม็ดปิดทั้งสองสูตรมีแรงอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างประจุของเม็ดปิดกับเจนนตามัยซินแตกต่างกัน โดยเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินเนตมากมีแนวโน้มปลดปล่อยเจนนตามัยซินได้น้อย อาจเนื่องมาจาก หมู่คาร์บอกซิลของอัลจินเนตทำให้เม็ดปิดแสดงค่าประจุลบมาก (จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.1.2) ซึ่งประจุลบนี้มีโอกาสที่จะเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับประจุบวก (หมู่อะมิโน) ของเจนนตามัยซินได้มากขึ้น [89] แรงอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตที่แข็งแกร่งนี้จะดึงดูดเจนนตามัยซินไว้กับเม็ดปิด ทำให้เจนนตามัยซินถูกปลดปล่อยออกมาจากเม็ดปิดได้อย่างช้าๆ

ในปี 2008 Grech J. และคณะ [88] ได้ทำการศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินจากเม็ดปิดโคโตซานที่ผ่านการเคลือบและไม่เคลือบด้วยกรดไฮยาลูรอนิคสลับกับโคโตซานพบว่า ที่สภาวะจำลองร่างกาย (สารละลาย PBS, pH 7.4) เม็ดปิดโคโตซานที่ไม่ผ่านการเคลือบด้วยกรดไฮยาลูรอนิคสลับกับโคโตซาน ปลดปล่อยเจนนตามัยซินหมดภายในเวลา 6 ชั่วโมง ในขณะที่เม็ดปิดโคโตซานที่ผ่านการเคลือบด้วยกรดไฮยาลูรอนิคสลับกับโคโตซาน ปลดปล่อยเจนนตามัยซินอย่างรวดเร็วถึง 93 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 8 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้นปลดปล่อยคงที่จนถึงระยะเวลา 48 ชั่วโมง เนื่องจากเม็ดปิดที่ผ่านการเคลือบจะมีความคงตัวจากชั้นเคลือบที่เคลือบบริเวณผิวมากกว่าชั้นที่เคลือบเม็ดปิดนี้ช่วยชะลอการแพร่ของเจนนตามัยซินออกจากเม็ดปิด อีกทั้งเจนนตามัยซินซึ่งมีประจุบวก (หมู่อะมิโน) เช่นเดียวกับโคโตซาน สามารถเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับประจุลบ (หมู่คาร์บอกซิล) ของกรดไฮยาลูรอนิคได้ ดังนั้นเม็ดปิดโคโตซานที่ผ่านการเคลือบด้วยกรดไฮยาลูรอนิคสลับกับโคโตซานจึงสามารถช่วยชะลอการปลดปล่อยเจนนตามัยซินให้ช้าลงด้วย เช่นเดียวกับรายงานของ David C.H. และคณะ (2011) [113] ที่ได้ทำการศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินจากแคลเซียมฟอสเฟตซีเมน (calcium phosphate cement, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ที่ผ่านการเคลือบและไม่เคลือบด้วยอัลจินเนต พบว่า ที่สภาวะจำลองร่างกาย แคลเซียมฟอสเฟตซีเมนที่ผ่านการเคลือบด้วยอัลจินเนต สามารถปลดปล่อยเจนนตามัยซินในอัตราที่ช้ากว่าแคลเซียมฟอสเฟตซีเมนที่ไม่ผ่านการเคลือบ

เนื่องจากเจนนตามัยซินไม่เกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับแคลเซียมฟอสเฟตซีเมน ในขณะที่เจนนตามัยซินสามารถเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับหมู่คาร์บอกซิลส่วนที่เหลือของอัลจินเตได้ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ข้างต้น



รูปที่ 4.15 ร้อยละการปลดปล่อยสะสมเจนนตามัยซินของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต และดูดซับเจนนตามัยซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังจากแช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาลีน 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

สำหรับกลไกการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินของเม็ดบีดผสมระหว่าง อัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกสามารถประเมินได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Power law [114-116] ดังแสดงในสมการที่ 4.3 และ 4.4 โดยอาศัยการคำนวณแบบการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression analysis) ซึ่งคำนวณหาค่าคงที่สำหรับการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน (Release constant; k) และตัวเลขชี้กำลังของการปลดปล่อย (Release exponent; n) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลา t หารด้วยปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลาอนันต์ (M_t/M_∞) เทียบกับเวลา (t) กล่าวคือ สัดส่วนของยาที่ปลดปล่อยออกมามีความสัมพันธ์แบบเส้นตรงกับเวลายกกำลัง n (ภาคผนวก ง)

$$M_t / M_\infty = kt^n \quad (4.3)$$

$$\text{Log}(M_t / M_\infty) = n \log t + \log k \quad (4.4)$$

โดย M_t คือ ปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลา t

M_∞ คือ ปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลาอนันต์

k คือ ค่าคงที่สำหรับการปลดปล่อยเจนนตามัยซินของแบบจำลอง Power law

n คือ ตัวเลขชี้กำลังของการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน (Release exponent)

เมื่อ

$n = 0.43$ แสดงลักษณะการปลดปล่อยยาแบบ Fickian diffusion

$n = 0.85$ แสดงลักษณะการปลดปล่อยยาแบบ Case II transport relaxation

$0.43 < n < 0.85$ แสดงลักษณะการปลดปล่อยยาแบบ Non-fickian diffusion

(Anomalous transport)

จากการคำนวณค่าคงที่สำหรับการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน (k) ตัวเลขชี้กำลังของการปลดปล่อย (n) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R^2) ของเม็ดบีดผสมระหว่างอัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจิเนต และดูดซับเจนนตามัยซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะควบคุมการปลดปล่อยจำลองข้ออักเสบ แสดงได้ในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ค่าคงที่สำหรับการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน (Release constant; k) ตัวเลขชี้กำลังการปลดปล่อย (Release exponent; n) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R^2) ภายใต้สภาวะควบคุมการปลดปล่อยจำลองข้ออักเสบ ของเม็ดปิดแห่งผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต และดูดซับสารละลายเจนนตามัยซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตัวอย่าง	ค่าคงที่สำหรับการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน (k)	ตัวเลขชี้กำลังการปลดปล่อย (n)	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2)
AL50HA50_2 (25 mg/ml)	0.40 ± 0.07	0.48 ± 0.06	0.92
AL50HA50_2 (50 mg/ml)	0.34 ± 0.06	0.59 ± 0.05	0.90
AL70HA30_2 (25 mg/ml)	0.20 ± 0.10	0.46 ± 0.08	0.89
AL70HA30_2 (50 mg/ml)	0.13 ± 0.13	0.51 ± 0.11	0.88

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า ค่าตัวเลขชี้กำลังของการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน (n) สำหรับเม็ดปิดทุกสูตรมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง $0.43 < n < 0.85$ แสดงถึงลักษณะการปลดปล่อยเจนนตามัยซินแบบ Non-fickian diffusion (Anomalous transport) คือ เม็ดปิดสามารถควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินด้วย 2 กลไก คือ กลไกการแพร่และกลไกการย่อยสลาย นอกจากนี้จะสังเกตได้ว่า ค่า n สำหรับเม็ดปิดทุกสูตรมีค่าเข้าใกล้ 0.43 มากกว่า 0.85 ซึ่งแสดงถึงเม็ดปิดสามารถควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินด้วยกลไกการแพร่เด่นกว่ากลไกการย่อยสลาย เกิดจากการดูดซับน้ำของเม็ดปิดและเกิดการแพร่ผ่านเมทริกซ์ของเม็ดปิด ซึ่งเม็ดปิดที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้ประกอบด้วยอัลจินเต กรดไฮยาลูรอนิก และเจลาตินชนิดเอ ที่มีสมบัติความชอบน้ำ จึงทำให้เม็ดปิดบวมตัวได้ดี ส่งผลให้เจนนตามัยซินเกิดการแพร่ผ่านเมทริกซ์ของเม็ดปิด และอีกกลไกหนึ่งที่เกี่ยวข้อง คือ กลไกการย่อยสลายของเม็ดปิด ซึ่งเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับบนโมเลกุลของเม็ดปิดจะถูกปลดปล่อยออกมาอย่างช้าๆ เมื่อเม็ดปิดเกิดการย่อยสลาย

จากการวิเคราะห์ผลที่กล่าวมาข้างต้น สามารถสรุปได้ว่า กลไกการปลดปล่อยเจนนตามัยซินของเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ประกอบด้วย 2 กลไก คือ กลไกการแพร่ และกลไกการ

ย่อยสลาย ประกอบกับแรงอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างประจุลบของเม็ดปิดกับประจุบวกของ เจนตามัยซิน

4.3.5 ประสิทธิภาพของเจนตามัยซินที่ถูกดูดซับบนเม็ดปิดในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ใน ระดับห้องปฏิบัติการ (*In vitro* antibacterial susceptibility test)

การศึกษาประสิทธิภาพของเจนตามัยซินที่ถูกดูดซับบนเม็ดปิดในการออกฤทธิ์ยับยั้ง เชื้อแบคทีเรียในระดับห้องปฏิบัติการ โดยวิธี disc diffusion method และวิเคราะห์หาขนาดของ โซนใส (clear zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) และแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ที่เวลา 24 ชั่วโมง [23] ของเม็ดปิดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกใน อัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น และดูดซับเจนตามัยซินความ เข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (กลุ่มตัวอย่าง) แสดงผลในตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบกับเม็ด ปิดที่ไม่ผ่านการดูดซับเจนตามัยซิน (กลุ่มควบคุมเชิงลบ) แสดงผลในตารางที่ 4.8 จากผลการศึกษา พบว่า เม็ดปิดทั้งสองสูตรที่ดูดซับเจนตามัยซินทั้งสองความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรม ลบชนิด *E.coli* และแบคทีเรียแกรมบวกชนิด *S.aureus* ได้ แสดงว่า เจนตามัยซินสามารถแพร่ออก จากเม็ดปิดไปยังเชื้อแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (Mueller Hinton agar) ส่งผลให้เกิด โซนใสบริเวณรอบๆ เม็ดปิด อย่างไรก็ตาม โซนใสที่เกิดขึ้นจากการยับยั้งเชื้อของเม็ดปิดทุกสูตรมี ขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีขนาดโซนใสอยู่ในช่วงประมาณ 3.6-3.9 เซนติเมตร และ เมื่อพิจารณาเม็ดปิดกลุ่มควบคุมเชิงลบทั้งสองสูตรที่ไม่ดูดซับเจนตามัยซิน (ตารางที่ 4.8) พบว่า ไม่เกิดโซนใสขึ้น

จากผลข้างต้นจะเห็นได้ว่า ขนาดของโซนใสของเม็ดปิดทั้งสองสูตรไม่มีความ แตกต่างกันทั้งที่อัตราการปลดปล่อยเจนตามัยซินของเม็ดปิดทั้งสองมีความแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญ ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า การทดสอบการยับยั้งเชื้อนี้ไม่ได้ทำที่สภาวะเดียวกับการทดสอบ การปลดปล่อยเจนตามัยซิน ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ

จากมาตรฐานของสถาบันห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์และการแพทย์ ประเทศ ประเทศสหรัฐอเมริกา (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility) [96] กำหนดว่า ขนาดของโซนใสที่ยอมรับว่า สามารถฆ่าเชื้อได้ (Interpretive Criteria) ของแบคทีเรียแกรมลบชนิด *E.coli* และแบคทีเรียแกรม

บวกชนิด *S. aureus* ด้วยวิธี discs diffusion method แบ่งออกเป็น 3 ระดับ ดังนี้ ขนาดของโซนใสที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มาก (susceptible) คือ มากกว่าหรือเท่ากับ 1.5 เซนติเมตร ขนาดของโซนใสที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้น้อย (intermediate) คือ อยู่ในช่วง 1.3-1.4 เซนติเมตร และขนาดของโซนใสที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เลย (resistant) คือ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1.2 เซนติเมตร ดังนั้น ผลการทดสอบในงานวิจัยนี้ สามารถยืนยันได้ว่าเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น และดูดซับเจนนตามัยซินจัดอยู่ในกลุ่มที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากที่สุดทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ

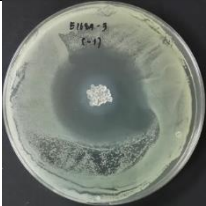
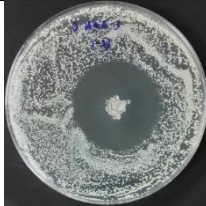
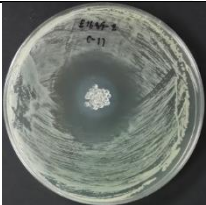
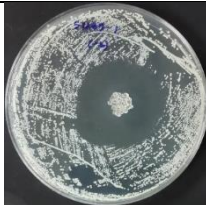
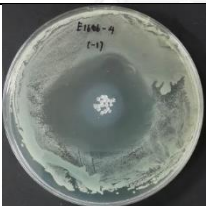
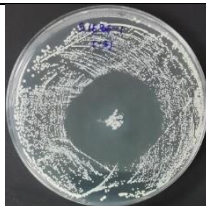
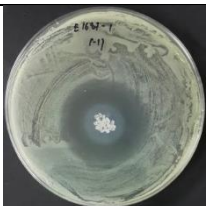

สำหรับการรักษาโรคข้ออักเสบในอดีต มีการนำเม็ดปิดพอลิเมทิลเมทาคริเลต (polymethylmethacrylate; PMMA) ที่กักเก็บเจนนตามัยซินมาใช้ แต่เม็ดปิดชนิดนี้มีข้อด้อย คือ ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จึงจำเป็นต้องผ่าตัดเพื่อนำเม็ดปิดออกหลังการรักษา [117-119] ในปัจจุบัน จึงได้มีการพัฒนาเม็ดปิดชนิดย่อยสลายได้ เช่น Herafill beads G ซึ่งผลิตจากแคลเซียมซัลเฟต (calcium sulphate) แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) และเจนนตามัยซิน (เม็ดปิด 1 เม็ด น้ำหนัก 250 มิลลิกรัม ประกอบไปด้วยเจนนตามัยซิน 2.5 มิลลิกรัม) มาใช้งานแทนเม็ดปิดพอลิเมทิลเมทาคริเลต โดยผ่าตัดใส่เม็ดปิดนี้ในจุดที่ต้องการรักษา (local treatment) เพื่อป้องกันและรักษาการติดเชื้อของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรคกระดูกและข้อของร่างกาย (Orthopaedic) มีขนาดยาที่ใช้เฉพาะที่สูงที่สุด เท่ากับ เจนนตามัยซิน 2.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (เม็ดปิด 1 เม็ด ต่อน้ำหนักตัวผู้ป่วย 1 กิโลกรัม) เม็ดปิดนี้มีความสามารถในการปลดปล่อยเจนนตามัยซินสูงสุดในช่วงแรกที่ระยะเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นอัตราการปลดปล่อยลดลงเรื่อยๆ จนถึงระยะเวลาประมาณ 72 ชั่วโมง [120]

เมื่อเปรียบเทียบเม็ดปิดข้างต้นกับเม็ดปิดที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ จะเห็นได้ว่าที่น้ำหนักของเม็ดปิดเท่ากัน เม็ดปิดที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้มีปริมาณเจนนตามัยซิน (ประมาณ 0.26-0.47 มิลลิกรัม/เม็ดปิด 1 มิลลิกรัม) มากกว่าเม็ดปิดที่ใช้งานทางการแพทย์ข้างต้น (2.5 มิลลิกรัม/เม็ดปิด 250 มิลลิกรัม หรือคิดเป็น 0.01 มิลลิกรัม/เม็ดปิด 1 มิลลิกรัม) ดังนั้น เม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น และดูดซับเจนนตามัยซิน ที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้ น่าจะมีประสิทธิภาพในการนำมาป้องกันและรักษาการติดเชื้อของแบคทีเรียเฉพาะจุดบริเวณกระดูกและข้อของร่างกายที่ต้องการได้ โดยเม็ด

ปิดที่พัฒนาขึ้นมีข้อดี คือ กักเก็บยาได้มากจึงช่วยลดปริมาณของเม็ดปิดที่ใช้ในการรักษา เม็ดปิดย่อยสลายได้ในร่างกายจึงไม่ต้องทำการผ่าตัดเพื่อนำเม็ดปิดออกหลังจากการรักษา นอกจากนี้ เม็ดปิดมีอัตราการปลดปล่อยเจนนตามัยซินที่สอดคล้องกับอัตราการย่อยสลายของเม็ดปิด เมื่อยาถูกปลดปล่อยหมดจึงน่าจะเหลือเม็ดปิดตกค้างอยู่ภายในร่างกายไม่มาก อย่างไรก็ตาม เม็ดปิดผสมนี้มีความคงตัวต่ำและย่อยสลายได้รวดเร็วเกินไป จึงมีข้อเสนอแนะในการปรับปรุงความคงตัวของเม็ดปิดผสม เช่น เปลี่ยนวัสดุที่ใช้ในการเคลือบ เพิ่มความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ในการเชื่อมขวางด้วยไอออน เป็นต้น เพื่อให้เม็ดปิดมีความคงตัวมากขึ้น ย่อยสลายช้าลง ซึ่งน่าจะสามารถปลดปล่อยเจนนตามัยซินได้เนิ่นนานขึ้น



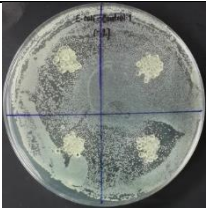
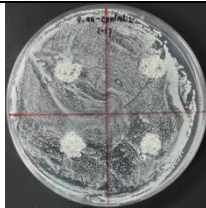
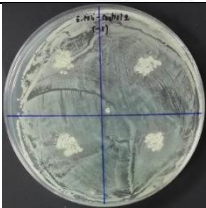
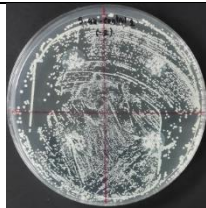
ตารางที่ 4.7 ขนาดของโซนใส (clear zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) และแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ของเม็ดบีดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น และดูดซับเจนนตามยซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (กลุ่มตัวอย่าง)

ตัวอย่าง	ขนาดของโซนใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (เซนติเมตร)	
	แบคทีเรียแกรมลบชนิด <i>E. coli</i>	แบคทีเรียแกรมบวกชนิด <i>S. aureus</i>
AL50HA50_2 (25 mg/ml)	 3.9 ± 0.2^a	 3.9 ± 0.1^b
AL50HA50_2 (50 mg/ml)	 3.8 ± 0.1^a	 3.8 ± 0.2^b
AL70HA30_2 (25 mg/ml)	 3.8 ± 0.2^a	 3.7 ± 0.1^b
AL70HA30_2 (50 mg/ml)	 3.7 ± 0.1^a	 3.6 ± 0.2^b

(a แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลขนาดโซนใสที่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด *E. coli*)

(b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลขนาดโซนใสที่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิด *S. aureus*)

ตารางที่ 4.8 ขนาดของโซนใส (clear zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) และแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ของเม็ดบีดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น และไม่ผ่านการดูดซับเจนตามัยซิน (กลุ่มควบคุมเชิงลบ)

ตัวอย่าง	ขนาดของโซนใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (เซนติเมตร)	
	แบคทีเรียแกรมลบชนิด <i>E. coli</i>	แบคทีเรียแกรมบวกชนิด <i>S. aureus</i>
AL50HA50_2	 <p>ไม่เกิดโซนใส</p>	 <p>ไม่เกิดโซนใส</p>
AL70HA30_2	 <p>ไม่เกิดโซนใส</p>	 <p>ไม่เกิดโซนใส</p>

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการขึ้นรูปเม็ดปิดผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอัตราส่วนผสมโดยน้ำหนักของอัลจินเตต่อกรดไฮยาลูรอนิก 3 สูตร คือ AL70HA30, AL50HA50 และ AL30HA70 ด้วยเทคนิคการเชื่อมขวางด้วยไอออน และปรับปรุงความคงตัวของเม็ดปิดด้วยเทคนิคการเคลือบชั้นต่อชั้น โดยใช้วัสดุ 2 ชนิดที่มีความแตกต่างกันทางประจุ ได้แก่ เจลาตินชนิดเอที่มีประจุบวก และอัลจินเตที่มีประจุลบ ที่จำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ผลการศึกษาสรุปได้ว่า รูปร่างและขนาดของเม็ดปิดเปียกที่ขึ้นรูปได้มีลักษณะค่อนข้างกลม และมีขนาดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.42-2.46 มิลลิเมตร โดยเม็ดปิดมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกในสารละลายผสมมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากความหนืดของสารละลายผสมที่มากขึ้น เมื่อทดสอบความคงตัวของเม็ดปิดเปียกโดยเก็บเม็ดปิดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และวิเคราะห์ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดเปียกผสม สรุปได้ว่า เม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินเตมากขึ้นส่งผลให้ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปของเม็ดปิดมีค่าลดลง โดยเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกไม่เกินร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก และผ่านการเคลือบ 2 ชั้น (AL70HA30_2 และ AL50HA50_2) มีร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดทุกสูตรทั้งไม่ผ่านการเคลือบและผ่านการเคลือบ เนื่องจากเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินเตมากมีค่าศักย์ゼต้าเป็นลบมาก ส่งผลให้มีโอกาสในการเชื่อมขวางด้วยไอออนและอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตในขั้นตอนการก่อตัวเป็นเม็ดปิดและขั้นตอนการเคลือบที่แข็งแรงกว่าให้กับเม็ดปิด ประกอบกับการเคลือบจะช่วยเพิ่มแรงดึงดูดจากอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างชั้นเคลือบของเม็ดปิดด้วย ส่งผลให้เม็ดปิดมีความคงตัวมาก จึงสามารถช่วยกักเก็บกรดไฮยาลูรอนิกให้อยู่ในเม็ดปิดได้มากขึ้น โดยเม็ดปิดทั้งสองสูตรที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้นนี้ มีร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่ในเม็ดปิดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนชั้นเคลือบอื่นๆ โดยการเคลือบด้วยจำนวนชั้นที่มากเกินไปไม่สามารถทำให้เม็ดปิดมีความคงตัวได้ และเม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินเตน้อยจะมีความคงตัวน้อยทำให้โมเลกุลของกรดไฮยาลูรอนิกมีโอกาสเกิดการละลายน้ำหายไปได้ง่ายกว่า ประกอบกับเม็ดปิดเสียรูปได้ง่ายเมื่อได้รับแรงสัมผัส

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการเลือกเม็ดปิดสูตร AL70HA30_2 และ AL50HA50_2 ดังกล่าวไปทำ
 แห่งโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็งเพื่อเก็บรักษาเม็ดปิดก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์คุณลักษณะและสมบัติ
 ของเม็ดปิดแห่งต่อไป เนื่องจากเม็ดปิดมีความคงตัวมากที่สุด ร้อยละน้ำหนักเปียกที่หายไปน้อยที่สุด
 รูปร่างของเม็ดปิดไม่เสียรูปโดยง่ายเมื่อได้รับแรงสัมผัส อีกทั้งมีร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่
 ในเม็ดปิดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดปิดที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบ
 ด้วยจำนวนชั้นต่างๆ

เมื่อพิจารณาสเปกตรัมการส่องผ่านรังสีอินฟราเรดของเม็ดปิดผสมก่อนและหลังเคลือบด้วย
 สารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต เพื่อตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะของ
 สารในเม็ดปิด สรุปได้ว่า กรณีเม็ดปิดก่อนเคลือบ ไม่พบพิกใหม่เกิดขึ้น แต่พบพิกที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะ
 ของสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในทั้งอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิก ในขณะที่เม็ดปิดหลังขั้นตอน
 การเคลือบ พบพิกที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะของเจลาตินชนิดเอ และพิกที่แสดงถึงหมู่คาร์บอกซิลของ
 อัลจินเต (คาร์โบไฮเดรต) ที่สามารถเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับหมู่อะมิโนของเจลาตินชนิดเอ
 (โปรตีน) ผลการวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถยืนยันอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างการเคลือบชั้นต่อชั้น
 ของสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับสารละลายอัลจินเตของเม็ดปิดผสมได้

เมื่อพิจารณาความสามารถในการบวมน้ำของเม็ดปิดแห่งทั้ง 2 สูตร กรณีก่อนแช่ในของเหลว
 พบว่า เม็ดปิดแห่งสูตร AL70HA30_2 มีขนาดเม็ดปิดเฉลี่ย (0.92 ± 0.12 มิลลิเมตร) เล็กกว่าเม็ดปิด
 สูตร AL50HA50_2 (1.39 ± 0.08 มิลลิเมตร) และเมื่อแช่เม็ดปิดในของเหลว จะเห็นได้ว่า เม็ดปิดที่มี
 สัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมากมีความสามารถในการบวมน้ำได้มากกว่าเม็ดปิดสูตรที่มีสัดส่วน
 ของอัลจินเตมาก และเม็ดปิดทั้งสองสูตรที่แช่ในสารละลายนอร์มัลซาไลน์มีความสามารถในการบวม
 น้ำมากกว่ากรณีแช่ในน้ำปราศจากไอออนหลายสิบเท่า ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกสารละลายนอร์มัล
 ซาไลน์เป็นตัวทำละลายสำหรับยาเจตามัยซินเพื่อใช้ดูดัชนีบวมน้ำในเม็ดปิด และเมื่อพิจารณา
 ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ สรุป
 ได้ว่า เม็ดปิดที่มีสัดส่วนของอัลจินเตมากจะมีร้อยละของน้ำหนักแห้งคงเหลือภายหลังการแช่ใน
 สารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบมากกว่า นั่นคือมีการย่อยสลายช้ากว่า เนื่องจากเม็ดปิดมีความ
 คงตัวมากกว่านั่นเอง

เมื่อพิจารณาความสามารถในการดูดซับสารละลายเจนนตามัยซินสองความเข้มข้น (25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) สรุปได้ว่า เม็ดบีดที่ดูดซับเจนนตามัยซินที่ความเข้มข้นต่างกันมีประสิทธิภาพในการดูดซับ (Entrapment efficacy) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่เม็ดบีดสูตร AL50HA50_2 มีประสิทธิภาพในการดูดซับเจนนตามัยซินสูงกว่า (ประมาณร้อยละ 84-89) เม็ดบีดสูตร AL70HA30_2 (ประมาณร้อยละ 69-73) เนื่องจากเม็ดบีดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมากมีความสามารถในการบวมน้ำสูงจึงสามารถดูดซับเจนนตามัยซินได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ และมีปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับไว้ในเม็ดบีด (Drug loading) ประมาณ 0.26-0.47 มิลลิกรัม/เม็ดบีด 1 มิลลิกรัม ซึ่งขึ้นอยู่กับเม็ดบีดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมากและดูดซับสารละลายเจนนตามัยซินที่ความเข้มข้นสูง

เม็ดบีดผสมสามารถปลดปล่อยเจนนตามัยซินได้อย่างต่อเนื่อง ที่สภาวะจำลองข้ออักเสบ โดยกลไกการปลดปล่อยเจนนตามัยซินประกอบด้วย 2 กลไก คือ กลไกการแพร่ และกลไกการย่อยสลายของเม็ดบีด นอกจากกลไกการปลดปล่อยเจนนตามัยซินทั้ง 2 แบบข้างต้น ยังพบว่า เม็ดบีดที่มีสัดส่วนของกรดไฮยาลูรอนิกมากมีแนวโน้มปลดปล่อยเจนนตามัยซินในสภาวะจำลองข้ออักเสบได้มากกว่า นอกจากนี้ เม็ดบีดที่มีสัดส่วนของอัลจินเตตมากมีแนวโน้มปลดปล่อยเจนนตามัยซินได้น้อย เนื่องจากแรงอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างประจุลบของเม็ดบีดที่มากจะดึงดูดประจุบวกของเจนนตามัยซินไว้กับเม็ดบีด ทำให้เจนนตามัยซินถูกปลดปล่อยออกจากเม็ดบีดได้อย่างช้าๆ และเมื่อนำเม็ดบีดที่ดูดซับเจนนตามัยซินไปทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด *E.coli* และแบคทีเรียแกรมบวกชนิด *S.aureus* ในระดับห้องปฏิบัติการ เม็ดบีดสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่า เม็ดบีดผสมทั้งสองสูตรระหว่างอัลจินเตตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ผ่านการเคลือบจำนวน 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเตต สามารถกักเก็บยาได้มากจึงช่วยลดปริมาณของเม็ดบีดที่ใช้ในการรักษา เม็ดบีดสามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย จึงไม่ต้องทำการผ่าตัดเพื่อนำเม็ดบีดออกหลังจากการรักษา นอกจากนี้เม็ดบีดสามารถชะลอการปลดปล่อยเจนนตามัยซินได้อย่างช้าๆ ดังนั้น เม็ดบีดที่ผลิตได้จากงานวิจัยนี้น่าจะมีศักยภาพในการนำมาป้องกันและรักษาการติดเชื้อของแบคทีเรียเฉพาะจุดบริเวณกระดูกและข้อของร่างกายที่ต้องการได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ปรับปรุงความคงตัวของเม็ดบีดผสม เพื่อชะลอเวลาในการปลดปล่อยเจนนตามัยซิน เพื่อเพิ่มเวลาในการย่อยสลายของเม็ดบีดให้นานขึ้น และเพื่อช่วยกักเก็บกรดไฮยาลูรอนิกให้คงเหลือในเม็ดบีดมากขึ้น ซึ่งอาจปรับปรุงโดยเปลี่ยนวัสดุที่เป็นประจุบวกที่ใช้ในการเคลือบเม็ดบีด เช่น โพลี-แอล-ไลซีน (poly-L-lysine) หรือเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ในการเชื่อมขวางด้วยไอออน เป็นต้น

2. ควรทำการทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินของเม็ดบีดผสมในระดับสัตว์ทดลอง (*in vivo*) เพื่อให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอย่างชัดเจน



รายการอ้างอิง

1. Edlund, U. and R.C. Albertsson, *Degradable Polymer Microspheres for Controlled Drug Delivery*. Advances in Polymer Science,, 2002. **157**: p. 72-73.
2. Kinam, P., *Controlled drug delivery systems: past forward and future back*. J Control Release, 2014. **190**: p. 3-8.
3. ณรงค์ สาริสุต, ระบบนำส่งยาแบบใหม่: ความเป็นไปได้ในการพัฒนาและผลิตใช้ภายในประเทศ. 2550, กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ หจก.สามลดา.
4. Hanne, H.T. and J. Karlsen, *Alginate in drug delivery systems*. Drug Dev Ind Pharm, 2002. **28**(6): p. 621-30.
5. Draget, K.I., O. Smidsrød, and G. Skjak-Break, *Alginates from Algae*. Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry. 2005, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH&Co.
6. Patil, J.S., M.V. Kamapur, S.C. Marapur, and D.V. Kadam, *IONOTROPIC GELATION AND POLYELECTROLYTE COMPLEXATION: THE NOVEL TECHNIQUES TO DESIGN HYDROGEL PARTICULATE SUSTAINED, MODULATED DRUG DELIVERY SYSTEM: A REVIEW*. Journal of Nanomaterials and Biostructures, 2010. **5**(1): p. 241-248.
7. Cowman, M.K. and S. Matsuoka, *Experimental approaches to hyaluronan structure*. Carbohydr Res, 2005. **340**(5): p. 791-809.
8. Balazs, E.A. and N.Y. Riverdale, *ULTRAPURE HYALURONIC ACID AND THE USE THEREOF*, U.S. Patent, Editor. 1979.
9. Necas, J., L. Bartosikova, P. Brauner, and J. Kolar, *Hyaluronic acid (hyaluronan): a review*. Veterinarni Medicina, 2008. **53**(8): p. 397-411.
10. Glicksman, M., *Gum Technology in Food Industry*. 1969, New York: Academic Press.
11. Gómez-Guillén, M.C., B. Giménez, M.E. López-Caballero, and M.P. Montero, *Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review*. Food Hydrocolloids, 2011. **25**(8): p. 1813-1827.

12. Hu, Y., M. Zheng, X. Dong, D. Zhao, H. Cheng, et al., *Preparation and characterization of alginate-hyaluronic acid-chitosan based composite gel beads*. Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed., 2015. **30**(6): p. 1297-1303.
13. Anal, A.K., D. Bhopatkar, S. Tokura, H. Tamura, and W.F. Stevens, *Chitosan-alginate multilayer beads for gastric passage and controlled intestinal release of protein*. Drug Dev Ind Pharm, 2003. **29**(6): p. 713-24.
14. Xiao, J., Y. Zhu, Y. Liu, Y. Zeng, and F. Xu, *A composite coating of calcium alginate and gelatin particles on Ti6Al4V implant for the delivery of water soluble drug*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2008. **89**(2): p. 543-50.
15. Urszula, P., B.-W. Monika, and P. Elzbieta, *Gentamicin loaded PLGA nanoparticles as local drug delivery system for the osteomyelitis treatment*. Acta of Bioengineering and Biomechanics, 2015. **17**(3): p. 41-48.
16. Windholz, M., *The Merck index: An encyclopedia of chemicals and drugs, 9th Edition*. 1976, New Jersey: Merck.
17. Gilman, A.G., *The pharmacological basis of therapeutics, 8th Edition*. 1991, New York: Pergamon Press.
18. Mandell, G.L., E.B. John, and D. Raphael, *PRINCIPLES AND PRACTICE OF INFECTIOUS DISEASES*. 7 ed. Vol. 1. 2005, United States: ELSEVIER.
19. กำพล ศรีวัฒนกุล, คู่มือการใช้ยาฉบับสมบูรณ์. พิมพ์ครั้งที่ 4. 2552, กรุงเทพมหานคร: สกายบุคส์.
20. Nade, S., *Septic arthritis*. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 2003. **17**(2): p. 183-200.
21. Priscila, M.C. and S. Alexandrina, *Septic arthritis: immunopathogenesis, experimental models and therapy*. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 2014. **20**(19): p. 1-8.
22. Black, J., T.L. Hunt, P.J. Godley, and E. Matthew, *Oral Antimicrobial Therapy for Adults with Osteomyelitis or Septic Arthritis*. THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, 1987. **155**(5): p. 968-972.
23. Shirtliff, M.E. and J.T. Mader, *Acute Septic Arthritis*. Clinical Microbiology Reviews, 2002. **15**(4): p. 527-544.

24. ประณีต โอปณะโสภิต, ระบบนำส่งยา (*Drug delivery systems*). พิมพ์ครั้งที่ 2. 2556, กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์.
25. ภาควิชา เติ่งอำนาจ, การดูดซึมของยาจากทางเดินอาหารและการเอื้อประโยชน์ในร่างกาย (*Gastrointestinal Drug Absorption and Bioavailability*). 2540: จัดพิมพ์โดย ภาควิชา วิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
26. Leong, K.W. and R. Langer, *Polymeric controlled drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews*. 1, 1998. **3**: p. 199-233.
27. Uhrich, K.E. and M.C. Scott, *Polymeric Systems for Controlled Drug Release*. American Chemical Society, 1999. **99**(11): p. 3181-3198.
28. ปันรสี ฤทธิประวัตติ และคณาจารย์ในสาขาวิศวกรรมชีวการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล, วิศวกรรมชีวการแพทย์ขั้นพื้นฐาน. พิมพ์ครั้งที่ 1. 2553, กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).
29. Debjit, B., H. Gopinath, B.P. Kumar, S. Duraivel, and K.P.S. Kumar, *Controlled Release Drug Delivery Systems*. THE PHARMA INNOVATION, 2012. **1**(10): p. 24-32.
30. จอมใจ พีรพัฒนา, ระบบนำส่งยาแบบมาทริกซ์ (*Matrix Drug Delivery Systems*). 2555, ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
31. ณรงค์ สาริสุต, การผลิตยาออกฤทธิ์เน้นและระบบนำส่งยาแบบต่างๆ. พิมพ์ครั้งที่ 1. 2535, กรุงเทพมหานคร: จัดพิมพ์โดย หจก.ไทยมิตรการพิมพ์.
32. ศรีสกุล สังข์ทองจีน, ระบบนำส่งยา (*Drug Delivery Systems*). 2551: ภาควิชาเทคโนโลยี เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.
33. SIGMA-ALDRICH. *Biomaterials Tutorial [Online]*. Available from: www.sigmaaldrich.com/materials-science/biomaterials/tutorial.html (2016, February).
34. Draget, K.I., *Alginate. Handbook of Hydrocolloids*. 2000, Cambridge: Woodhead Publishing. 379-395.
35. *The Seaweed Site: information on marine algae [Online]*. Available from: <http://www.seaweed.ie/algae/phaeophyta.php> (2016, February).
36. Draget, K.I. and C. Taylor, *Chemical, physical and biological properties of alginates and their biomedical implications*. Food Hydrocolloids, 2011. **25**(2): p. 251-256.

37. Imeson, A., *Thickening and gelling agents for food. Blackie Academic and Professional*. 1992, UK. 258p.
38. Thu, B., P. Bruheim, T. Espevik, O. Smidsrød, P. Soon-Shiong, et al., *Alginate polycation microcapsules I. Interaction between alginate and polycation*. *Biomaterials*, 1996: p. 1031-1040.
39. Jeanie, L.D., G.D. Robert, and J.M. David, *The tensile properties of alginate hydrogels*. *Biomaterials*, 2004. **25**: p. 3187–3199.
40. Mofidi, N., M. Aghai-Moghadam, and M.N. Sarbolouki, *Mass preparation and Characterization of alginate microspheres*. *Process Biochemistry*, 2000. **35**: p. 885-888.
41. Dumitriu, S., *Hydrogels based on polysaccharides: Polysaccharide in medical Applications*. 1996, New York: Marcal Dekker Inc.
42. Jang, L.K., D. Nguyen, and G.G. Geesey, *SELECTIVITY OF ALGINATE GEL FOR Cu vs Co*. *War. Res.*, 1994. **29**(1): p. 307-313.
43. Yoo, I.K., G.H. Seong, H.N. Chang, and J.K. Park, *Encapsulation of Lactobacillus casei cells in liquid-core alginate capsules for lactic acid production*. *Enzyme and Microbial Technology*, 1996. **19**: p. 426-433.
44. Kibbe, H.A., *Handbook of pharmaceutical Excipients. 3rd Edition*. 2000, Washington: American Pharma-ceutical Association.
45. Holme, H.K., K. Lindmo, A. Kristiansen, and O. Smidsrød, *Thermal depolymerization of alginate in the solid state*. *Carbohydrate Polymers*, 2003. **54**(4): p. 431-438.
46. Dupuis, G., O. Chambin, C. Genelot, D. Champion, and Y. Pourcelot, *Colonic drug delivery: influence of cross-linking agent on pectin beads properties and role of the shell capsule type*. *Drug Dev Ind Pharm*, 2006. **32**(7): p. 847-55.
47. ธเนศ พงศ์จรรยากุล, อัลจินต: พอลิเมอร์ธรรมชาติสู่ระบบนำส่งยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. 2555, ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา
48. Sriamornsak, P. and R.A. Kennedy, *Effect of a small molecule on diffusion and swelling properties of selected polysaccharide gel beads*. *Carbohydrate Polymers*, 2010. **79**(1): p. 219-223.

49. Lapcik, L., S.D. Smedt, and J. Demeester, *Hyaluronan: Preparation, Structure, Properties, and Applications*. Chemical reviews 1998. **98**(8): p. 2663-2684.
50. Reed, R.K., *Hyaluronan in the rat with special reference to the skin*. Physiologica Scandinavica, 1988. **134**(3): p. 405-411.
51. Brown, K.K., M. Parkville, L.C. Linda, H.I. Haneohe, N.C. Winston-Salem, et al., *METHOD FOR THE MICROBIOLOGICAL PRODUCTION OF NON-ANTIGENIC HYALURONIC ACID*, U.S. Patent, Editor. 1994.
52. Laurent, T.C., R. Marion, and P. Adolph, *FRACTIONATION OF HYALURONIC ACID*. BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA, 1960. **42**: p. 476-485.
53. Su, W.Y., Y.C. Chen, and F.H. Lin, *Injectable oxidized hyaluronic acid/adipic acid dihydrazide hydrogel for nucleus pulposus regeneration*. Acta Biomater, 2010. **6**(8): p. 3044-55.
54. Chabreek, P., L. Soltes, Z. Kallay, and I. Novak, *Gel Permeation Chromatographic Characterization of Sodium Hyaluronate and Its Fractions Prepared by Ultrasonic Degradation*. Chromatographia, 1990. **30**: p. 201-204.
55. Leach, J.B. and C.E. Schmidt, *Hyaluronan*. Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering. 2008: Taylor & Francis Group, LLC.
56. Schrieber, R. and G. Herbert, *Gelatin Handbook*. 2007, Weinheim: WILEYVCH Verlag GmbH & Co.KGaA.
57. Anil, M. and D.K. Singh, *Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines*. J Nanobiotechnology, 2011. **9**: p. 55.
58. Lüpke, M. and H. Brückner, *Gas chromatographic evaluation of amino acid epimerisation in the course of gelatin manufacturing and processing*. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A, 1998. **206**(5): p. 323-328.
59. Tabata, Y. and Y. Ikada, *Protein release from gelatin matrices*. Advanced Drug Delivery Reviews, 1998. **31**: p. 287-301.
60. Members of Members of The Gelatin Manufacturers Institute of America (GMIA), *Gelatin Handbook*. 2012, Massachusetts: Atlantic Gelatin/Kraft Foods Global Inc.

61. Enamul, H., N. Tamrin, K.Y. Tshai, and N. Norshariza, *GELATIN BASED SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING – A REVIEW*. Polymers Research Journal, 2015. **9**(1): p. 15-32.
62. Segtnan, V.H. and T. Isaksson, *Temperature, sample and time dependent structural characteristics of gelatine gels studied by near infrared spectroscopy*. Food Hydrocolloids, 2004. **11**(1): p. 1-11.
63. Mandal, B.B., A.S. Priya, and S.C. Kundu, *Novel silk sericin/gelatin 3-D scaffolds and 2-D films: fabrication and characterization for potential tissue engineering applications*. Acta Biomater, 2009. **5**(8): p. 3007-20.
64. American Society of Health-System Pharmacists (AHFS), *Drug information*. 2010, American Hospital Formulary Service, Bethesda, Maryland.
65. สมศักดิ์ โล่ห์เลขา, การใช้อยาต้านจุลชีพในโรคติดเชื้อที่พบบ่อยและการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค. พิมพ์ครั้งที่ 2. 2520, กรุงเทพมหานคร: จัดพิมพ์โดยโรงพิมพ์อักษรสัมพันธ์.
66. สุวัฒน์ วิมลวัฒนาภรณ์, ตำราเภสัชวิทยา เล่มที่ 3. พิมพ์ครั้งที่ 4. 2542, กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ หจก.พิทักษ์การพิมพ์
67. American medical Association, *Division of drug and toxicology. Drug evaluation annual*. 1995, USA.
68. *Gentamicin Sulfate [Online]*. Available from: <http://medlibrary.org/lib/rx/meds/gentamicin-sulfate-in-sodium-chloride-2/> (2016, March).
69. Sigma-Aldrich Co. LLC. *Gentamicin sulfate salt [Online]*. Available from: http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/g1264pis.pdf (2016, April).
70. Goldenberg, D.L., *Septic arthritis*. The Lancet, 1998. **351**(9097): p. 197-202.
71. Kaandorp, J.E., J.D. Huibert, M.A. Laar, J.B.M. Hein, A.P. Pieter, et al., *Incidence and sources of native and prosthetic joint infection: a community based prospective survey*. Annals of the Rheumatic Diseases, 1997. **56**: p. 470-475.
72. Gillespie, C.J. and S. Nade, *Musculoskeletal infections*. 1987, Melbourne: Blackwell Scientific Publications.
73. Garcia-De La Torre, I., *Advances in the management of septic arthritis*. Infect Dis Clin North Am, 2006. **20**(4): p. 773-88.

74. Ike, R.W., *Bacterial arthritis: Arthritis and allied conditions*. 14th Edition. 2001, Lippincott Williams & Wilkins. 2567-2592.
75. ไพจิตร อัครนบดี, *Rheumatology for the Non- Rheumatologist*. 2549, สมาคมรูมาติสซั่มแห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: จัดพิมพ์โดยบริษัท ซีดีพีริ้นท์ จำกัด.
76. Mehrnoush, H.Y., S. Touraj, and Q. Mohamad, *Joint Injection (A Current Concept Review)*. JBS Journal, 2015. **2**(2): p. 139-152.
77. Dikranian, A. and M. Weisman, *Principle of diagnosis and treatment of joint infections: Arthritis and allied conditions*. 14th Edition. 2001, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2551-2569.
78. สุรศักดิ์ นิลกานวงศ์, ตำราโรคข้อ. 2538, สมาคมรูมาติสซั่มแห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: จัดพิมพ์โดยโรงพิมพ์เรือนแก้วการพิมพ์.
79. สิทธิชัย อุกฤษฐชน, *Rheumatology for the Non- Rheumatologist*. 2544, สมาคมรูมาติสซั่มแห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: จัดพิมพ์โดยโรงพิมพ์เรือนแก้วการพิมพ์.
80. Zhanfeng, D., Q. Wang, and Y. Du, *Alginate/gelatin blend films and their properties for drug controlled release*. Journal of Membrane Science, 2006. **280**(1-2): p. 37-44.
81. Singh, D., A. Tripathi, S. Zo, D. Singh, and S.S. Han, *Synthesis of composite gelatin-hyaluronic acid-alginate porous scaffold and evaluation for in vitro stem cell growth and in vivo tissue integration*. Colloids Surf B Biointerfaces, 2014. **116**: p. 502-9.
82. Alemdar, N., *Fabrication of a novel bone ash-reinforced gelatin/alginate/hyaluronic acid composite film for controlled drug delivery*. Carbohydr Polym, 2016. **151**: p. 1019-26.
83. Emine, E.O. and A. Akkaya, *Development of a new antibacterial biomaterial by tetracycline immobilization on calcium-alginate beads*. Carbohydr Polym, 2016. **151**: p. 441-51.
84. Murata, Y., T. Maeda, E. Miyamoto, and S. Kawashima, *Preparation of chitosan-reinforced alginate gel beads - effects of chitosan on gel matrix erosion*. International Journal of Pharmaceutics,, 1993. **96**: p. 139-145.
85. Anil, A.K. and W.F. Stevens, *Chitosan-alginate multilayer beads for controlled release of ampicillin*. Int J Pharm, 2005. **290**(1-2): p. 45-54.

86. Sivakumar, M. and K.P. Rao, *Preparation, characterization, and in vitro release of gentamicin from coralline hydroxyapatite-alginate composite microspheres*. J Biomed Mater Res, 2002. **65**: p. 222-228.
87. Chang, H.I., Y.C. Lau, C. Yan, and A.G. Coombes, *Controlled release of an antibiotic, gentamicin sulphate, from gravity spun polycaprolactone fibers*. J Biomed Mater Res A, 2007. **84**(1): p. 230-7.
88. Grech, J.M.R., J.F. Mano, and R.L. Reis, *Chitosan Beads as Templates for Layer-by-Layer Assembly and their Application in the Sustained Release of Bioactive Agents*. Journal of Bioactive and Compatible Polymers, 2008. **23**(4): p. 367-380.
89. Abijeet, S.M., B.K. Singh, N. Singh, D. Archana, K. Snigdha, et al., *Chitosan silk-based three-dimensional scaffolds containing gentamicin-encapsulated calcium alginate beads for drug administration and blood compatibility*. J Biomater Appl, 2015. **29**(9): p. 1314-25.
90. Gunnar, B., *Determination of Hexosamines According to Elson and Morgan*. Acta Chemica Scandinavica, 1948. **2**: p. 467-473.
91. Takahashi, T., M. Ikegami-Kawai, R. Okuda, and K. Suzuki, *A fluorimetric Morgan–Elson assay method for hyaluronidase activity*. Analytical Biochemistry, 2003. **322**(2): p. 257-263.
92. Brandt, J.M., L.K. Briere, J. Marr, S.J. MacDonald, R.B. Bourne, et al., *Biochemical comparisons of osteoarthritic human synovial fluid with calf sera used in knee simulator wear testing*. J Biomed Mater Res A, 2010. **94**(3): p. 961-71.
93. Subir, G., D. Choudhury, T. Roy, A. Bin Mamat, H.H. Masjuki, et al., *Tribological investigation of diamond-like carbon coated micro-dimpled surface under bovine serum and osteoarthritis oriented synovial fluid*. Science and Technology of Advanced Materials, 2016. **16**(3): p. 035002.
94. Norman, A.C. and L.N. Gordon, *Measurement of Synovial Fluid pH in Normal and Arthritic Knees*. ARTHRITIS AND RHEUMATISM, 1966. **9**(1): p. 47-56.

95. Safila, N., W. Nimra, N. Safeena, and Q. Fatima, *Degradation study of gentamicin by UV spectroscopy*. American Journal of Chemistry and Applications, 2014. **1**(4): p. 36-39.
96. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2013: USA.
97. Puttipipatkachorn, S., T. Pongjanyakul, and A. Priprem, *Molecular interaction in alginate beads reinforced with sodium starch glycolate or magnesium aluminum silicate, and their physical characteristics*. Int J Pharm, 2005. **293**(1-2): p. 51-62.
98. Eun, L.M., D. Singh, S.M. Choi, S.M. Zo, S.J. Park, et al., *Novel Alginate-Gelatin Hybrid Nanoparticle for Drug Delivery and Tissue Engineering Applications*. Journal of Nanomaterials, 2014. **2014**: p. 1-7.
99. Meyer, R.R., *Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products: Technology, Applications and Formulations*. 2005, Norwich, NY, U.S.A.: William Andrew Publishing.
100. Archana, D., L. Upadhyay, R.P. Tewari, J. Dutta, Y.B. Huang, et al., *Chitosan-pectin-alginate as a novel scaffold for tissue engineering applications*. Indian Journal of Biotechnology, 2013. **12**: p. 475-482.
101. Varki, A. and R.D. Cummings, *Essentials of Glycobiology*. 2nd edition. 2009, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
102. *Types of amino acids [Online]*. Available from: https://www.boundless.com/biology/textbooks/boundless-biology-textbook/biological-macromolecules-3/proteins-56/amino-acids-303-11436/images/fig-ch03_04_02/ (2016, April).
103. รุ่งนภา แยมเดช, ผลของการดูดซับสารสกัดผลหม่อนบนอนุภาคไมโครอัลจิเนตต่อความคงตัวของสารแอนโธไซยานินที่อุณหภูมิสูง. 2557, สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
104. Ruvinov, E., Y. Sapir, and S. Cohen, *Cardiac tissue engineering : principles, materials, and applications*. 1958, United States.

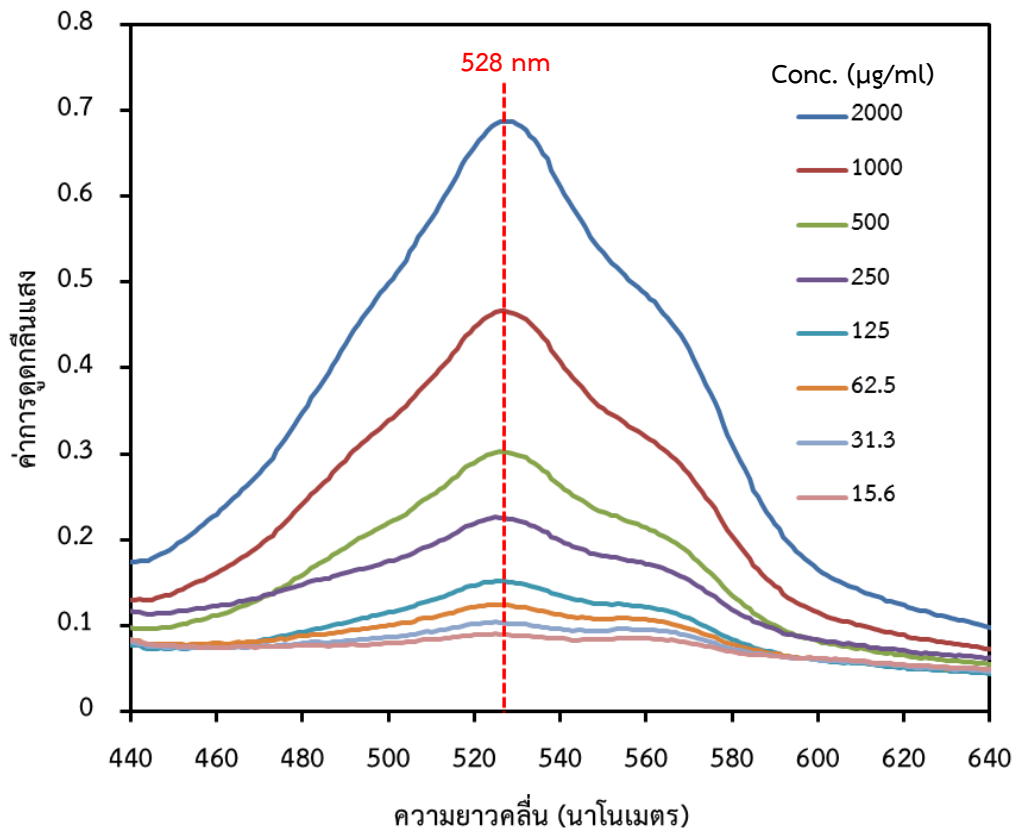
105. Giovanna, G.A., M. Malinconico, and P. Laurienzo, *Marine Derived Polysaccharides for Biomedical Applications: Chemical Modification Approaches*. *Molecules*, 2008. **13**(9): p. 2069-2106.
106. Wu, Y., *Preparation of low-molecular-weight hyaluronic acid by ozone treatment*. *Carbohydr Polym*, 2012. **89**(2): p. 709-12.
107. Lawrie, G., I. Keen, B. Drew, A. Chandler-Temple, L. Rintoul, et al., *Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS*. *Biomacromolecules*, 2007. **8**: p. 2533-2541.
108. Nirmala, D. and D.K. Kakati, *Smart porous microparticles based on gelatin/sodium alginate polyelectrolyte complex*. *Journal of Food Engineering*, 2013. **117**(2): p. 193-204.
109. Chan, E.S., B.B. Lee, P. Ravindra, and D. Poncelet, *Prediction models for shape and size of ca-alginate macrobeads produced through extrusion-dripping method*. *J Colloid Interface Sci*, 2009. **338**(1): p. 63-72.
110. Bajpai, S.K. and S. Sharma, *Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca²⁺ and Ba²⁺ ions*. *Reactive and Functional Polymers*, 2004. **59**(2): p. 129-140.
111. Chan, E.-S., Z.-H. Yim, S.-H. Phan, R.F. Mansa, and P. Ravindra, *Encapsulation of herbal aqueous extract through absorption with ca-alginate hydrogel beads*. *Food and Bioproducts Processing*, 2010. **88**(2-3): p. 195-201.
112. Arica, B., S. Calis, H.S. Kas, M.J. Sargon, and A.A. Hincal, *5-Fluorouracil encapsulated alginate beads for the treatment of breast cancer*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002. **242**: p. 267-269.
113. David Chen, C.-H., C.-C. Chen, M.-Y. Shie, C.-H. Huang, and S.-J. Ding, *Controlled release of gentamicin from calcium phosphate/alginate bone cement*. *Materials Science and Engineering: C*, 2011. **31**(2): p. 334-341.
114. Dash, A.K. and G.C. Cudworth, *Therapeutic Applications of Implantable Drug Delivery Systems*. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 1998. **40**(1): p. 1-12.

115. Dash, S., P.N. Murthy, and P. Chowdhury, *KINETIC MODELING ON DRUG RELEASE FROM CONTROLLED DRUG DELIVERY SYSTEMS*. Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, 2010. **67**(3): p. 217-223.
116. Shaikh, H.K., R.V. Kshirsagar, and S.G. Patil, *MATHEMATICAL MODELS FOR DRUG RELEASE CHARACTERIZATION: A REVIEW*. JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES, 2015. **4**(4): p. 324-338.
117. Fleiter, N., G. Walter, H. Bösebeck, S. Vogt, H. Büchner, et al., *Clinical use and safety of a novel gentamicin-releasing resorbable bone graft substitute in the treatment of osteomyelitis/osteitis*. Bone Joint Res, 2014. **3**(7): p. 223-229.
118. Harle, A. and W. Ritzerfeld, *The Release of Gentamycin into the Wound Secretions from Polymethylmethacrylate Beads*. Arch Orthop Traumat Surg, 1979. **95**: p. 65-70.
119. Wahlig, H., E. Dingeldin, R. Bergmann, and K. Reuss, *The release of gentamicin from polymethylmethacrylate beads*. The journal of bone and joint surgery, 1978. **60**(2): p. 270-275.
120. Heraeus Medical GmbH. Patient information leaflet. *HERAFILL® BEADS G* [Online]. Available from: www.heraeus-medical.com (2016, October).

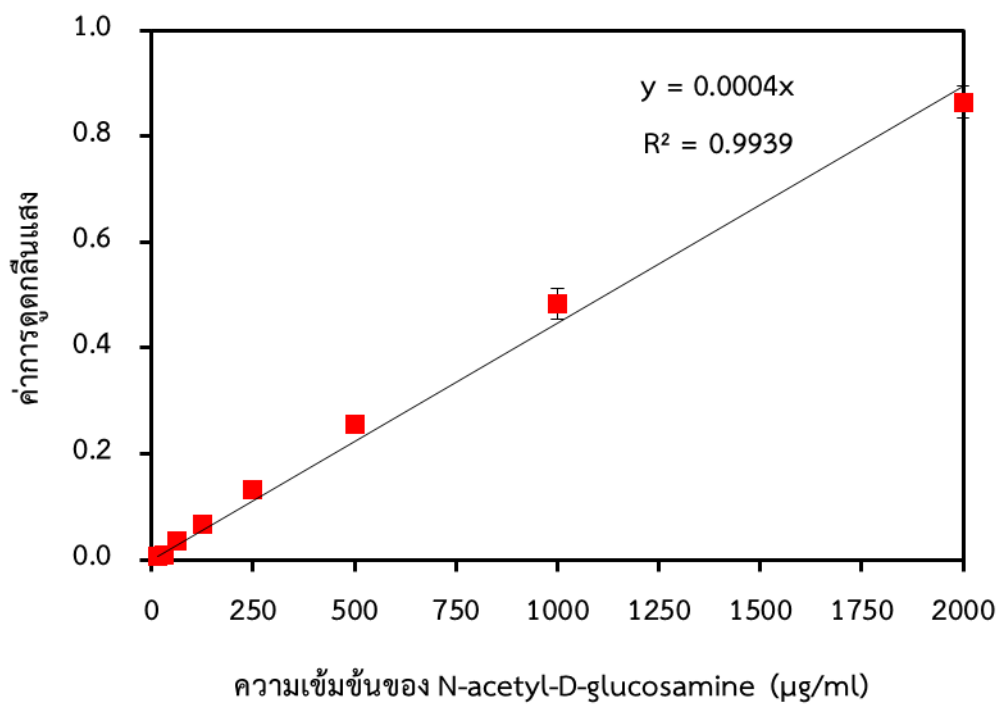


ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐานของ N-acetyl-D-glucosamine
ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลือในเม็ดปิดเปลือกที่ผลิตได้



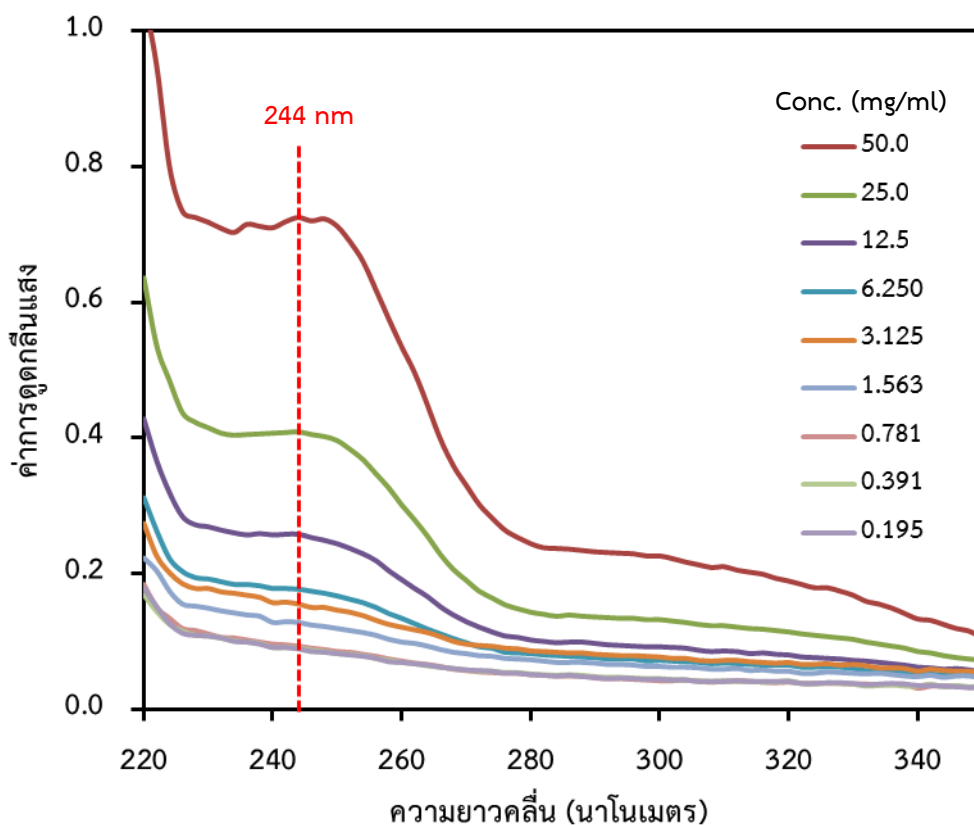
รูปที่ ก.1 กราฟสแกนหาความยาวคลื่นที่มีค่าดูดกลืนแสงมากที่สุดของสารละลาย N-acetyl-D-glucosamine ความเข้มข้นต่างๆ



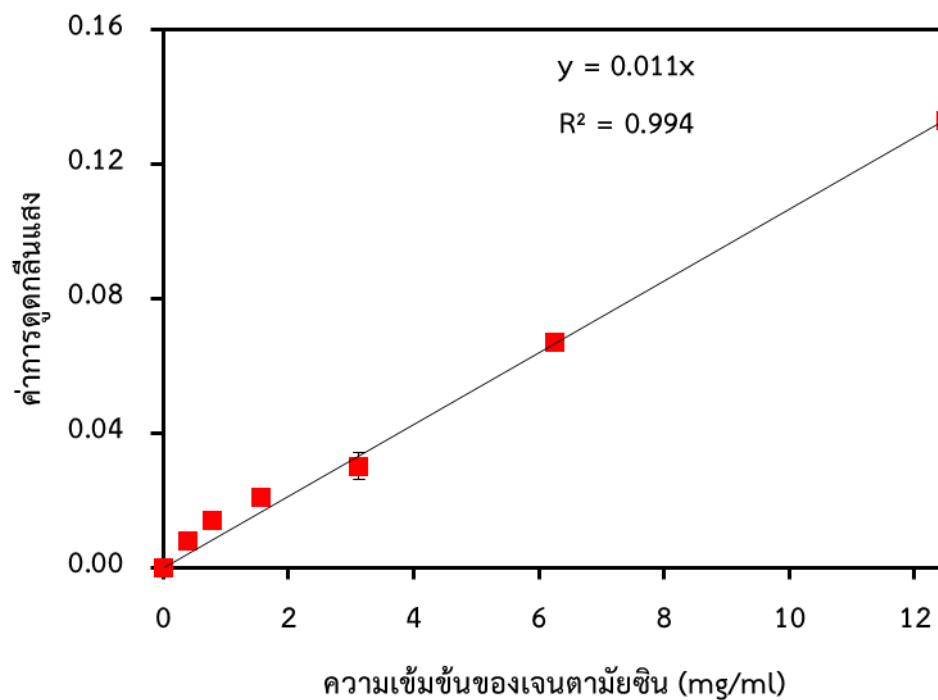
รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 528 นาโนเมตร ของสารละลาย N-acetyl-D-glucosamine ความเข้มข้นต่างๆ

ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานของเจนนตามัยซินในสารละลาย tri-sodium citrate
ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกดูดซับได้ของเม็ดปิดแข็งที่ผลิตได้



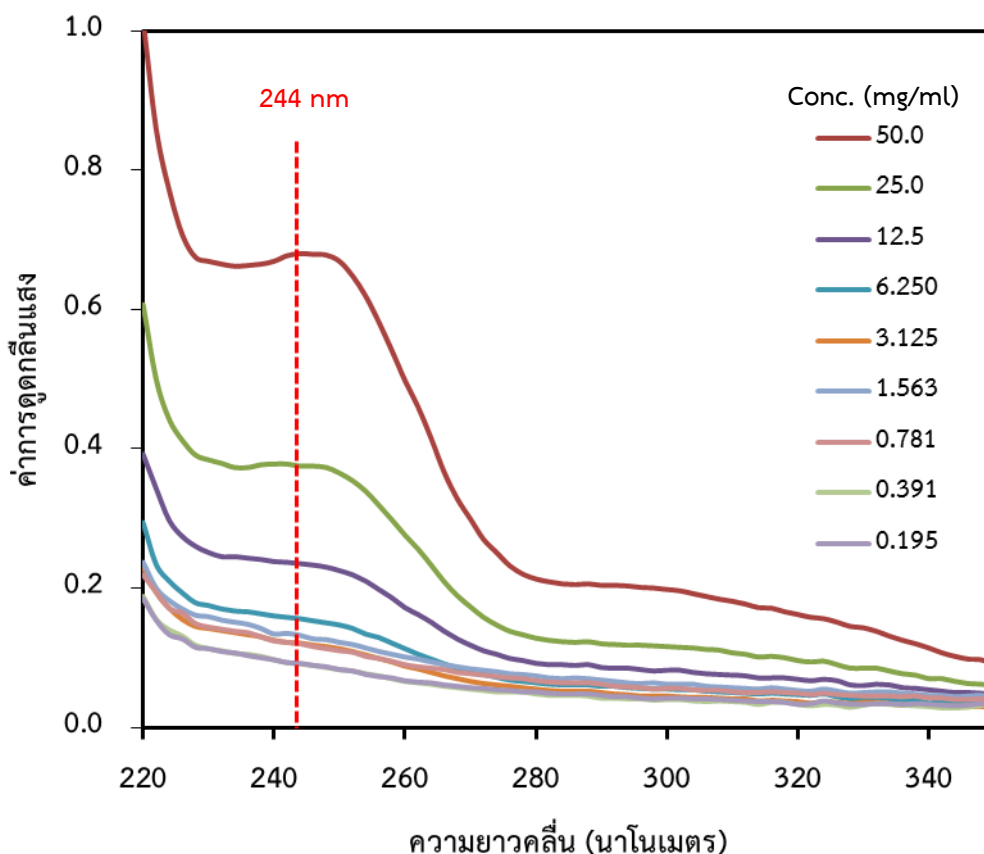
รูปที่ ข.1 กราฟสแกนหาความยาวคลื่นที่มีค่าดูดกลืนแสงมากที่สุดของสารละลายเจนนตามัยซินความเข้มข้นต่างๆ ที่ละลายในสารละลาย tri-sodium citrate ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร



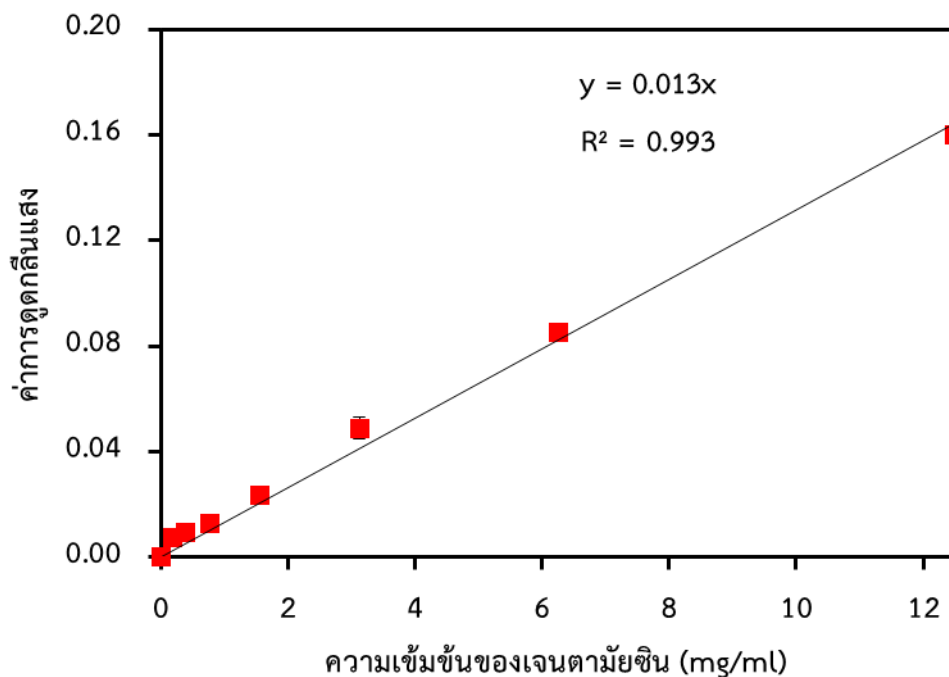
รูปที่ ข.2 กราฟมาตรฐานของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 244 นาโนเมตร ของสารละลายเจนตามัยซินความเข้มข้นต่างๆ ที่ละลายในสารละลาย tri-sodium citrate ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐานของเจนตามัยซินในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบ
ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเจนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยออกจากเม็บบิดแห่งที่ผลิตได้



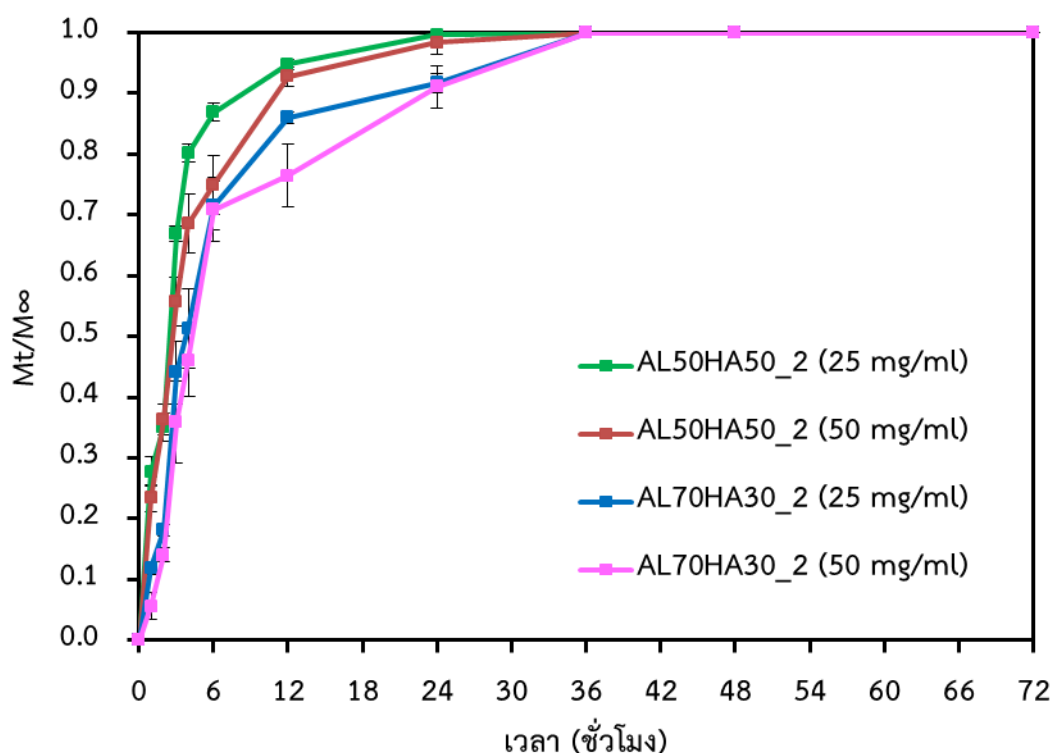
รูปที่ ค.1 กราฟสแกนหาความยาวคลื่นที่มีค่าดูดกลืนแสงมากที่สุดของสารละลายเจนตามัยซินความเข้มข้นต่างๆ ที่ละลายในสารละลายจำลองสภาวะข้ออักเสบ ซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาลิน 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2



รูปที่ ค.2 กราฟมาตรฐานของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 244 นาโนเมตร ของสารละลายเจนตามัยซินความเข้มข้นต่างๆ ที่ละลายในสารละลายจำลองสภาวะซีรัมที่ประกอบด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาลิน 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมเฮไลด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2

ภาคผนวก ง
กราฟการปลดปล่อยสะสมเจนนตามัยซินที่เวลาใดๆ

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลา t หารด้วยปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลานันต์เทียบกับเวลา ของการควบคุมการปลดปล่อยเจนนตามัยซินของเม็บบิดผสมระหว่างอัลจินเตและกรดไฮยาลูรอนิกที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินเต และดูดซับเจนนตามัยซินความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังจากแช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะข้ออักเสบ



รูปที่ ง.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลา t (M_t) หารด้วยปริมาณเจนนตามัยซินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลานันต์ (M_∞) เทียบกับเวลาในการปลดปล่อยเจนนตามัยซินของเม็บบิด ภายใต้สภาวะจำลองข้ออักเสบ ซึ่งประกอบไปด้วยสารละลายผสมระหว่างซีรัมของตัวอ่อนในลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สารละลายกรดไฮยาลูรอนิกที่ละลายในสารละลายนอร์มัลซาลิน 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่สภาวะค่าความเป็นกรดต่าง 7.2

ภาคผนวก จ

การประเมินกลไกการควบคุมการปลดปล่อยเจือตามยจีนของเม็ดบีดผสมระหว่างอัลจินตและ
กรตไฮยาลูรอนิก จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Higuchi และ Hixson-Crowell

ตารางที่ จ.1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R^2) ภายใต้สภาวะควบคุมการปลดปล่อยจำลองข้ออักเสบ ของเม็ดบีดแห้งผสมระหว่างอัลจินตและกรตไฮยาลูรอนิกในอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการเคลือบ 2 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต และดูดซับสารละลายเจือตามยจีนความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตัวอย่าง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2)	
	Higuchi model	Hixson-Crowell model
AL50HA50_2 (25 mg/ml)	0.22	-0.25
AL50HA50_2 (50 mg/ml)	0.46	0.05
AL70HA30_2 (25 mg/ml)	0.67	0.11
AL70HA30_2 (50 mg/ml)	0.78	0.32

Higuchi model

ประเมินจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการปลดปล่อยสะสมของเจือตามยจีน (Q) เทียบกับเวลายกกำลังเศษหนึ่งส่วนสอง ($t^{1/2}$) ดังสมการ

$$Q = kt^{1/2} \quad (จ.1)$$

โดยที่ Q คือ ร้อยละการปลดปล่อยสะสมเจือตามยจีน

k คือ ค่าคงที่สำหรับการปลดปล่อยเจือตามยจีนของแบบจำลอง Higuchi

Hixson-Crowell model

ประเมินจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการปลดปล่อยสะสมของเจือตามยจีนคงเหลือที่เวลาเริ่มต้น ลบด้วยร้อยละการปลดปล่อยสะสมเจือตามยจีนคงเหลือที่เวลา t ($W_0^{1/3} - W_t^{1/3}$) เทียบกับเวลา (t) ดังสมการ

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = kt \quad (จ.2)$$

โดยที่ W_0 คือ ร้อยละการปลดปล่อยสะสมเจือตามยจีนคงเหลือที่เวลาเริ่มต้น

W_t คือ ร้อยละการปลดปล่อยสะสมเจือตามยจีนคงเหลือที่เวลา t

k คือ ค่าคงที่สำหรับการปลดปล่อยเจือตามยจีนของแบบจำลอง Hixson-Crowell

ภาคผนวก ฉ

การคำนวณปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลือในเม็ดปิดเป็ยกที่ผลิตได้

ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลือในเม็ดปิดเป็ยกผสมสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค Elson-Morgan assay ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่ตรวจพบเทียบกับปริมาณกรดไฮยาลูรอนิกที่ใช้ในการเตรียมเริ่มต้น โดยร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเป็ยกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก ในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต แสดงดังตารางที่ ฉ.1

ตารางที่ ฉ.1 ร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเป็ยกผสมระหว่างอัลจินตและกรดไฮยาลูรอนิก ในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่านขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสลับกับอัลจินต เทียบกับกรดไฮยาลูรอนิกที่มีเริ่มต้น

ตัวอย่าง	ร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด เมื่อเทียบกับกรดไฮยาลูรอนิกที่มีเริ่มต้น				
	ไม่เคลือบ	เคลือบ 1 ชั้น	เคลือบ 2 ชั้น	เคลือบ 4 ชั้น	เคลือบ 8 ชั้น
AL70HA30	47.19±0.21 ^a	58.72±1.06 ^b	80.41±2.35 ^c	67.12±0.88 ^d	64.94±0.73 ^d
AL50HA50	39.02±0.71 ^a	46.67±0.88 ^b	69.52±1.77 ^c	57.70±1.48 ^d	54.35±1.39 ^d
AL30HA70	6.23±0.33 ^a	9.34±0.61 ^b	12.14±1.82 ^c	3.53±0.93 ^d	2.82±0.28 ^d

(a, b, c, d แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูลร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไฮยาลูรอนิกที่มีอยู่จริงในเม็ดปิด โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนการผสมโดยน้ำหนักเดียวกันที่จำนวนชั้นเคลือบแตกต่างกัน)

ตัวอย่างการคำนวณร้อยละกรดไฮยาลูรอนิกที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิดเปียกผสมระหว่าง อัลจิเนตและกรดไฮยาลูรอนิก ในอัตราส่วนการผสมต่างๆ ที่ไม่ผ่านขั้นตอนการเคลือบและผ่าน ขั้นตอนการเคลือบจำนวน 1, 2, 4 และ 8 ชั้น ด้วยสารละลายเจลาตินชนิดเอสส์กับอัลจิเนต เมื่อเทียบกับกรดไฮยาลูรอนิกที่ใช้ในการเตรียมเริ่มต้น มีดังต่อไปนี้

สำหรับเม็ดปิดสูตร AL70HA30_0

อัตราส่วนผสม AL70HA30 มี HA เริ่มต้น 30 เปอร์เซ็นต์ มี HA อยู่ 16.05 มก.

แต่ปริมาณ HA ที่คงเหลือในเม็ดปิดหลังขั้นตอนการขึ้นรูป เหลือ HA อยู่ 7.57 มก.

ดังนั้น ร้อยละของ HA ที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด เทียบกับ HA ที่มีเริ่มต้น $(7.57/16.05) \times 100 = 47.19$

สำหรับเม็ดปิดสูตร AL70HA30_1

อัตราส่วนผสม AL70HA30 มี HA เริ่มต้น 30 เปอร์เซ็นต์ มี HA อยู่ 16.05 มก.

แต่ปริมาณ HA ที่คงเหลือในเม็ดปิดหลังขั้นตอนการขึ้นรูป เหลือ HA อยู่ 9.42 มก.

ดังนั้น ร้อยละของ HA ที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด เทียบกับ HA ที่มีเริ่มต้น $(9.42/16.05) \times 100 = 58.72$

สำหรับเม็ดปิดสูตร AL70HA30_2

อัตราส่วนผสม AL70HA30 มี HA เริ่มต้น 30 เปอร์เซ็นต์ มี HA อยู่ 16.05 มก.

แต่ปริมาณ HA ที่คงเหลือในเม็ดปิดหลังขั้นตอนการขึ้นรูป เหลือ HA อยู่ 12.91 มก.

ดังนั้น ร้อยละของ HA ที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด เทียบกับ HA ที่มีเริ่มต้น $(12.91/16.05) \times 100 = 80.41$

สำหรับเม็ดปิดสูตร AL50HA50_0

อัตราส่วนผสม AL70HA30 มี HA เริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ มี HA อยู่ 26.01 มก.

แต่ปริมาณ HA ที่คงเหลือในเม็ดปิด เหลือ HA อยู่ 10.15 มก.

ดังนั้น ร้อยละของ HA ที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด เทียบกับ HA ที่มีเริ่มต้น $(10.15/26.01) \times 100 = 39.02$

สำหรับเม็ดปิดสูตร AL50HA50_1

อัตราส่วนผสม AL70HA30 มี HA เริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ มี HA อยู่ 26.01 มก.

แต่ปริมาณ HA ที่คงเหลือในเม็ดปิดหลังขั้นตอนการขึ้นรูป เหลือ HA อยู่ 12.14 มก.

ดังนั้น ร้อยละ HA ที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด เทียบกับ HA ที่มีเริ่มต้น $(12.14/26.01) \times 100 = 46.67$

สำหรับเม็ดปิดสูตร AL30HA70_0

อัตราส่วนผสม AL70HA30 มี HA เริ่มต้น 70 เปอร์เซ็นต์ มี HA อยู่ 37.52 มก.

แต่ปริมาณ HA ที่คงเหลือในเม็ดปิดหลังขั้นตอนการขึ้นรูป เหลือ HA อยู่ 2.34 มก.

ดังนั้น ร้อยละ HA ที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด เทียบกับ HA ที่มีเริ่มต้น $(2.34/37.52) \times 100 = 6.23$

สำหรับเม็ดปิดสูตร AL30HA70_1

อัตราส่วนผสม AL70HA30 มี HA เริ่มต้น 70 เปอร์เซ็นต์ มี HA อยู่ 37.52 มก.

แต่ปริมาณ HA ที่คงเหลือในเม็ดปิดหลังขั้นตอนการขึ้นรูป เหลือ HA อยู่ 3.50 มก.

ดังนั้น ร้อยละ HA ที่คงเหลืออยู่ในเม็ดปิด เทียบกับ HA ที่มีเริ่มต้น $(3.50/37.52) \times 100 = 9.34$

ภาคผนวก ข

เอกสารกำกับยาของเม็ดปิดเจนตามัยซิน (Herafill beads G) บริษัท Heraeus Medical

EN

HERAFILL® beads G

**Properties**

HERAFILL® beads G are a resorbable bone substitute/bone void filling material containing gentamicin sulphate as a protection against bacterial colonisation. **HERAFILL® beads G** are intended to fill bone voids in non-load-bearing debrided bone areas. **HERAFILL® beads G** are radiopaque. The beads are biodegraded completely in the bone tissue within a few months.

HERAFILL® beads G consist of white to light grey beads of biconvex cylindrical shape. One package of **HERAFILL® beads G** contains either 40 or 20 **HERAFILL® beads G** triple packed. 40 **HERAFILL® beads G** are equivalent to a delivery volume of 10 ml, 20 **HERAFILL® beads G** correspond to 5 ml. The outer, unsterile protective aluminium bag contains a polyethylene paper bag (peel-off) which is unsterile on the outside and sterile on the inside. Inside this is a sterile polyamide polyethylene bag (peel-off) containing the **HERAFILL® beads G**. The **HERAFILL® beads G** are sterilized by gamma irradiation.

Composition

HERAFILL® beads G consist of calcium sulphate dihydrate, calcium carbonate, hydrogenated triglyceride and gentamicin sulphate. **HERAFILL® beads G** each have a weight of 250 mg and contain 1 % (equivalent to 2.5 mg) gentamicin (as gentamicin sulphate).

Intended use

HERAFILL® beads G are intended to fill bone voids that result from a trauma with bone loss or an aseptic surgical intervention due to a potential hazard of an infection onset or a septic surgical defect debridement after post-traumatic, post-operative or haematogenic osteomyelitis/osteitis.

Indications

HERAFILL® beads G as a resorbable bone void filling material is indicated to fill bone voids that result from:

- a trauma with bone loss
- an aseptic surgical intervention due to a potential hazard of an infection onset
- a septic surgical defect debridement after posttraumatic, post-operative or haematogenic osteomyelitis/osteitis

In load-bearing debrided bone areas **HERAFILL® beads G** should only be used if it can be assumed after thorough examination that the present osteosynthesis is sufficient for load-bearing function.

Contraindications

HERAFILL® beads G as a resorbable bone substitute/bone void filling material must not be used in the following cases:

- application of the bone void filling material as a stabiliser for load-bearing bones
- at the surface of joints or in voids directly connected with the joint fluid

- in patients with hypercalcemia
- in patients with known hypersensitivity to the constituents of the bone void filling material
- in patients with hypersensitivity to any aminoglycoside antibiotics
- application of the bone void filling material into/adjacent to an immature epiphysis

Side effects

During the application of **HERAFILL® beads G**, all typical side effects of the antibiotic gentamicin may occur, especially damage to the hearing and the kidneys. In most cases, damage to hearing caused by gentamicin is irreversible, whereas renal damage is reversible.

Nephrotoxicity:

Adverse renal effects have been reported, as demonstrated by the presence of cells or protein in the urine or by rising of serum creatinine or oliguria. They occur more frequently in patients with a history of renal impairment. Application of clinical doses of gentamicin has led to the occasional appearance of Fanconi's Syndrome or a Bartter's-like Syndrome.

Neurotoxicity:

Serious adverse effects on both vestibular and auditory branches of the eighth cranial nerves have been reported, primarily in patients with renal impairment. Symptoms include dizziness, vertigo, tinnitus, roaring in the ears and hearing loss, which, as with the other aminoglycosides, may be irreversible. Other factors which may increase the risk of toxicity include dehydration and previous exposure to other ototoxic drugs.

Other reported adverse reactions possibly related to gentamicin include: respiratory depression, lethargy, confusion, depression, visual disturbances, decreased appetite, weight loss, and hypotension and hypertension; rash, itching, urticaria, generalized burning, laryngeal edema, anaphylactoid reactions, fever, and headache, nausea, vomiting, increased salivation, and stomatitis; purpura, pseudotumor cerebri, acute organic brain syndrome, pulmonary fibrosis, alopecia, joint pain, transient hepatomegaly, and splenomegaly.

As **HERAFILL® beads G** consist mostly of calcium salts, the possibility of hypercalcemia is possible in susceptible patients. However, all available clinical data indicate that calcium sulphate dihydrate and calcium carbonate used as bone void filling material are well tolerated and safe. In association with the use of **HERAFILL® beads G** the occurrence of haematoma and exudate formation is possible. It is also possible, in particular for major bone voids, that bone tissue grows incompletely into the bone void.

Interactions

Interactions of gentamicin have been reported to occur with the following groups of drugs:

Concurrent or sequential use of neurotoxic and/or nephrotoxic pharmaceuticals, including other aminoglycosides, polymyxin B, colistin, cisplatin, ciclosporines, foscarnet, vancomycin, amphotericin B, clindamycin and cephalosporins.

Potent diuretics: Ethacrynic acid, furosemide or other potent diuretics which may themselves cause ototoxicity or enhance aminoglycoside toxicity by altering antibiotic concentrations in serum and tissue.

Muscle relaxants: in particular succinyl choline and tubocurarine, decamethonium, halogenated hydrocarbon inhalation anaesthetics or opioid analgesics. Gentamicin may interact with these medications and result in skeletal muscle weakness and respiratory depression (apnea). Concurrent application of these medications and gentamicin during surgery or in the postoperative period should be monitored with caution, especially if there is a possibility of incomplete reversal of neuromuscular blockade postoperatively.

Simultaneous local application of penicillins and **HERAFILL® beads G** may reduce the action of **HERAFILL® beads G**.

Precautionary measures

The benefit of the use of **HERAFILL® beads G** in premature infants and babies and in patients with serious degenerative bone diseases, therapy resistant diabetes, myasthenia gravis, and Parkinson's disease should outweigh the potential risk. As the expected serum concentration of gentamicin is very low, the concomitant administration of **HERAFILL® beads G** with nephro- or ototoxic pharmaceuticals, the use in patients with pre-existing damage of the inner ear/acoustic nerve and serious renal insufficiency should be carefully weighed due to the well-known side effects of gentamicin such as neurotoxicity/ototoxicity and nephrotoxicity. In case of an infected bone tissue through bacteria resistant against gentamicin it is not recommended to apply **HERAFILL® beads G**.

Pregnancy

There is insufficient data on the use of gentamicin in pregnant women to evaluate any possible risk. Aminoglycosides pass the placental barrier. Ototoxicity in the foetus cannot be excluded. Irreversible, bilateral congenital hearing loss has been reported in children after prenatal exposure to streptomycin. Hearing loss has also been documented for a few other aminoglycosides. In view of the concentration of gentamicin in the foetal kidney, nephrotoxicity is a potential hazard. Animal studies have shown ototoxicity and nephrotoxicity after prenatal exposure to gentamicin/aminoglycosides. For these reasons, the use of **HERAFILL® beads G** is advised against during pregnancy, unless the benefits for the mother outweigh the potential risk to the child.

Lactation

Gentamicin is excreted in small amounts in human breast milk. Because of enhanced intestinal permeability in neonates, accumulation and ototoxicity cannot be excluded. For this reason, the benefits for the mother

should outweigh the potential risk to the child before using **HERAFILL® beads G** during lactation.

HERAFILL® beads G must not be used if the debrided bone cavities are concurrently subject to a suction drainage.

Whenever clinically indicated, additional appropriate systemic antibiotic coverage should be used on the day of surgery in combination with **HERAFILL® beads G** as the gentamicin contained will only protect the medical device and their immediate surroundings from colonisation with gentamicin-susceptible bacteria. Careful consideration should be given to the potential additional safety aspects of the additional antibiotics. Long-term regular follow-up examinations are recommended for all patients.

Prior to using **HERAFILL® beads G**, the protective aluminium bag, the peel-off outer bag and the peel-off inner bag should be inspected for damage.

HERAFILL® beads G must only be used if all bags are intact.

Prior to administering **HERAFILL® beads G**, it must be determined if any contraindications apply to the patient to be treated in order to avoid any side effects, especially with regard to renal and neural functions.

Handling and administration

In case of an infected bone, an antibiogram should be performed to identify micro-organisms causing the infection and to prove or exclude the sensitivity of microorganisms to gentamicin. **HERAFILL® beads G** should only be used as a bone void filler after surgical debridement if the micro-organisms causing the infection are gentamicin-sensitive. An essential requirement for the successful treatment with **HERAFILL® beads G** is the prior surgical debridement of the affected bone areas.

HERAFILL® beads G can be combined with different bone substitutes and/or bone regenerating materials and/or autologous/allogenic bone graft materials. The resorption time of **HERAFILL® beads G** is dependent on implant site, blood flow, patient state and amount of applied materials. After opening the protective aluminium bag, the peel-off outer bag and the peel-off inner bag, the **HERAFILL® beads G** are taken carefully with tweezers and placed individually into the bone void that is to be filled. Attention must be paid that the inserted **HERAFILL® beads G** are not compacted.

The maximum amount of applied beads depends on the body weight of the patient. A maximum of 1 bead should be administered per kilogram body weight.

The following formula must be regarded:
Maximum amount of HERAFILL® beads G
 = body weight in kg x 1 bead

Example:

Body weight of the patient = 60 kg

Maximum amount of **HERAFILL® beads G**
 = 60 kg x 1 bead = 60 beads

That means that a maximum of 2.5 mg gentamicin per kilogram body weight is applied. After insertion of the **HERAFILL® beads G** the wound is closed as usual.

Storage

HERAFILL® beads G do not require any special storage conditions; however, storage below 25°C (77°F) in dry conditions is recommended.

Shelf-life

The shelf-life of the product is 24 months. The expiry date is printed on the folding box, the protective aluminium bag and the inner bag. **HERAFILL® beads G** must not be used after the expiry date.

Sterility

HERAFILL® beads G are sterilized by gamma irradiation and must not be re-sterilized. **HERAFILL® beads G** should only be used if the aluminium protective bag, the outer bag and the inner bag are intact.

HERAFILL® beads G must not be resealed and re-used after opening of the aluminium protective bag, outer bag and inner bag. Each **HERAFILL® beads G** unit is intended for use with one patient only.



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวนทอร ชูมา เกิดเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน พ.ศ. 2534 ภูมิลำเนาจังหวัดพิจิตร เข้าศึกษาชั้นมัธยมศึกษาที่โรงเรียนตะพานหิน จังหวัดพิจิตร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในปีการศึกษา 2555 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2556

ผลงานการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

Chuma N., Ratanavaraporn J., Damrongsakkul S., Preparation Alginate/Hyaluronic Acid Beads by Ionic Crosslinking and Layer-by-layer Coating Techniques, Poster Presentation, International Polymer Conference of Thailand (PCT-6), The Pathumwan Princess Hotel, Bangkok, Thailand, June 30 – July 1, 2016.