การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินจากเม็ดบีดไคโตซาน

The Release of Tetracycline from Chitosan Beads

ภัทรวดี พิเชฐบวรกุล

Pattarawadee Phichetbovornkul

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Engineering in Chemical Engineering

Prince of Songkla University

2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินจากเม็ดบีดไคโตซาน

ผู้เขียน นางสาวภัทรวดี พิเชฐบวรกุล

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์)

คณะกรรมการสอบ

……ประธานกรรมการ

(ดร.สุรัสวดี กังสนันท์)

……กรรมการ

(ดร.พินทุ์สุดา วีรวัฒน)

……กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

……กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

……

(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินจากเม็ดบีดไคโตซาน

ผู้เขียน นางสาวภัทรวดี พิเชฐบวรกุล

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ปีการศึกษา 2554

บทคัดย่อ

วัสดุผสมระหว่างพอลิเมอร์และสารอนินทรีย์ได้กลายเป็นสิ่งสำคัญในการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ ตั้งแต่อุปกรณ์การวินิจฉัยโรค การรักษาโรค การสร้างเนื้อเยื่อ และระบบนำส่งยา งานวิจัยนี้ได้นำไฮดรอกซีแอพาไทต์ (HA) และไคโตซาน (CS) มาเตรียมเม็ดบีดโดยการครอสลิ้งก์แบบไอออนิกกับไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) เพื่อจุดประสงค์ในการนำส่งยาไปยังกระดูก ตรวจสอบอันตรกิริยาระหว่างไคโตซาน ไฮดรอกซีแอพาไทต์ และไตรพอลิฟอสเฟตที่เกิดขึ้นโดยเทคนิค SEM และ FTIR และพัฒนาเพื่อให้ได้โครงสร้างที่เหมาะสมในการปลดปล่อยยาที่นานขึ้น พบว่ายาเตตร้าไซคลินไฮโดรคลอไรด์ (TCH) ถูกห่อหุ้มอยู่ในแมทริกซ์พอลิเมอร์ระหว่างกระบวนการครอสลิ้งก์ และค่อย ๆ ถูกปลดปล่อยออกมาเนิ่นนานอย่างน้อย 1 สัปดาห์ในความเข้มข้นของช่วงการรักษา และไม่พบการปลดปล่อยของยาอย่างรวดเร็วในช่วงแรก ในการประยุกต์ใช้งานที่จำเพาะเจาะจงมากขึ้นนั้นข้อมูลทางชีวภาพเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้แน่ใจว่าโครงสร้างสามมิติที่เตรียมนั้นมีสมบัติทางชีวภาพที่ดี จึงทำการศึกษาการเกิดแอพาไทต์ในหลอดทดลอง เพื่อยืนยันประสิทธิภาพดังกล่าวก่อนนำไปทดสอบในสิ่งมีชีวิตต่อไป

Thesis Title	The Release of Tetracycline from Chitosan Beads
Author	Miss Pattarawadee Phichetbovornkul
Major Program	Chemical Engineering
Academic Year	2011

ABSTRACT

Polymer-inorganic composites have become important in the development of biomedical applications ranging from diagnostic and therapeutic devices, tissue regeneration, and drug delivery systems. In this work, bio-composite consisting of hydroxyapatite (HA) and chitosan (CS) were prepared by ionic crosslinking with tripolyphosphate (TPP). The polymer matrices are proposed to be used as a drug carrier to bone. Interactions between CS and HA, as well as CH and TPP were monitored by SEM and FTIR for achieving proper structures and sustained release property. Tetracycline hydrochloride (TCH) was encapsulated in the matrices simultaneously during the crosslinking process. The release of drug was sustained for at least 1 week with concentrations above therapeutic range. By increasing content of the entrapped drug, however, burst release was not observed. In specific applications, greater biological information is needed to fully understand the in vitro and in vivo performance of such 3D-structure. Once obtained, it will provide a rationale in designing and optimization of the efficient drug delivery system.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จไปได้ด้วยดี โดยได้รับความอนุเคราะห์จาก บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ ที่จัดสรรเงินทุน ให้การสนับสนุนการศึกษาและการวิจัย

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คอยชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหา และให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา อีกทั้งยังช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.สุรัสวดี กังสนันท์ กรรมการผู้แทนคณะวิศวกรรมศาสตร์ และ ดร.พินทุ์สุดา วีรวัฒน์ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการปฏิบัติการงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาที่ให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคน ที่มีส่วนช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้การทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้เสร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ภัทรวดี พิเชฐบวรกุล

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(8)
รายการภาพประกอบ	(10)
บทที่ 1 บทนำและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	3
โรคติดเชื้อในกระดูก (Osteomyelitis)	3
การเลือกใช้ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic)	5
พอลิเมอร์กับระบบนำส่งยา	8
ไคตินและไคโตซาน	9
เตตร้าไซคลิน (Tetracycline)	12
โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (Sodium triphosphate (STPP))	19
ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (Hydroxyapatites (HA))	20
การเกิดสารเชิงซ้อนของไคโตซานกับพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ	22
การส่งยาเฉพาะที่	25
การปลดปล่อยยา (Drug releasing)	25
สมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของยา ที่มีอิทธิพลต่อการออกแบบระบบนำส่งยา	32
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	34
ขอบเขตงานวิจัย	34
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	35
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	36
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	36
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	42
วัสดุและสารเคมี	42
อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์	43

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง		หน้า
	วิธีดำเนินการทดลอง	44
	การวิเคราะห์ตัวอย่าง	50
บทที่ 4	ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	52
	หาอัตราส่วนระหว่างไคโตซานและ TPP ที่เหมาะสมในการเกิดครอสลิงก์เพื่อเตรียมเม็ดบีด	52
	หาอัตราส่วน HA ที่เหมาะสมในการเตรียมเม็ดบีด	53
	การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ โดยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrometry	57
	ผลการทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของเม็ดบีดหลังการแช่ในสารละลาย PBS	60
	ศึกษาการบวมตัวของเม็ดบีด	61
	ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (entrapment efficiency) ของเม็ดบีดที่เตรียมได้	62
	ผลการศึกษาการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซาน	63
บทที่ 5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	71
	สรุปผล	71
	ข้อเสนอแนะ	73
บรรณานุกรม		75
ภาคผนวก		81
	ภาคผนวก ก ทฤษฎีเพิ่มเติม	82
	ภาคผนวก ข ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง	88
	ประวัติผู้เขียน	97

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	อนุพันธ์ของยาเตตร้าไซคลิน	14
1.2	ค่าเอ็มไอซีร้อยละ 90 (MIC_{90}) ของยาเตตร้าไซคลินต่อเชื้อจุลชีพ	19
3.1	อัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตซานและสารละลาย TPP ที่ใช้ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน	45
3.2	อัตราส่วนต่าง ๆ ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์	46
3.3	อัตราส่วนต่าง ๆ ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลินโดยผสมผงยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน	47
3.4	อัตราส่วนต่าง ๆ ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน โดยผสมผงยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA	48
3.5	อัตราส่วนต่าง ๆ ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน โดยดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ	48
4.1	เปอร์เซ็นต์การบวมตัวเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)	62
4.2	การเปรียบเทียบ %entrapment efficiency ระหว่างเม็ดบีดที่เตรียมได้แบบต่าง ๆ	63
4.3	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดที่เตรียมโดยผสมยากับ HA ก่อน แล้วนำไปรวมกับสารละลายไคโตซาน	65
4.4	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดที่เตรียมโดยผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนแล้วค่อยเติมผง HA	67
4.5	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ	70
ข.1	เปอร์เซ็นต์การบวมตัวเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)	92
ข.2	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:3.3:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับ HA ก่อน แล้วนำไปรวมกับสารละลายไคโตซาน	92
ข.3	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:6.6:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับ HA ก่อน แล้วนำไปรวมกับสารละลายไคโตซาน	93

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ข.4	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:13.3:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับ HA ก่อน แล้วนำไปรวมกับสารละลายไคโตซาน	93
ข.5	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:1.6:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนแล้วค่อยเติมผง HA	94
ข.6	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:3.3:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนแล้วค่อยเติมผง HA	94
ข.7	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:6.6:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนแล้วค่อยเติมผง HA	95
ข.8	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:0.5:2 ที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ	95
ข.9	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:1:2 ที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ	96
ข.10	ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:1.5:2 ที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ	96

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่	หน้า
1.1 พยาธิสภาพการทำลายกระดูกสันหลังและการเกิดหนองกดทับไขสันหลัง	5
1.2 โครงสร้างทางเคมีของไคติน	10
1.3 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน	10
1.4 โครงสร้างทางเคมีของยาเตตร้าไซคลิน	13
1.5 สูตรโครงสร้างของยาเตตร้าไซคลิน	14
1.6 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเตตร้าไซคลินและ polyvalent metal	15
1.7 โครงสร้างทางเคมีของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (Sodium triphosphate (STPP))	19
1.8 โครงสร้างของไฮดรอกซีแอพาไทต์	20
1.9 โครงสร้างโมเลกุลของตัวเชื่อมที่มีประจุลบ	23
1.10 การเกิดเจลของไคโตซาน	24
1.11 โครงข่ายการเชื่อมโยงระหว่างไคโตซานและไตรพอลิฟอสเฟต	25
1.12 ระดับความเข้มข้นของยาในเลือดเมื่อให้ยาขนาดปกติซ้ำกันหลาย ๆ ครั้ง	31
1.13 ระดับยาในเลือดเมื่อควบคุมการปลดปล่อยยาในแบบอุดมคติ	32
3.1 การเตรียมเม็ดบีดไคโตซานโดยวิธีการครอสลิ้งก์กับ TPP	44
3.2 การแช่เม็ดบีดในสารละลาย PBS เพื่อศึกษาการปลดปล่อยยาในช่วงเวลาต่างกัน	50
4.1 ภาพ SEM แสดงลักษณะโครงร่างสัณฐานของเม็ดบีดไคโตซานที่กำลังขยาย 6000 เท่า (ก) CS:TPP = 1:4.28 (w/w) (ข) CS:TPP = 1:2.1(w/w) (ค) CS:TPP = 1:3 (w/w)	53
4.2 เม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ปริมาณต่าง ๆ	54
4.3 ภาพ SEM แสดงลักษณะโครงร่างสัณฐานของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สัดส่วนต่าง ๆ	56
4.4 FTIR สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w)	58
4.5 FTIR สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:26.6:2 (w/w/w)	58
4.6 FTIR สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:20:2.1 (w/w/w)	59
4.7 FTIR สเปกตรัมของเม็ดบีดไคโตซานที่อัตราส่วนต่าง ๆ	59

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
4.8 ภาพ SEM แสดงการเกิดผลึกแอพาไทต์บนเม็ดบีดไคโตซาน ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน	60
4.9 เปอร์เซ็นต์การบวมตัวของเม็ดบีดในสารละลาย PBS	61
4.10 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซาน ที่ผสมยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลาย ไคโตซาน	64
4.11 ปริมาณยาเตตร้าไซคลินที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซาน ที่ผสมยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลาย ไคโตซาน	65
4.12 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซาน ที่ผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA	66
4.13 ปริมาณการปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซาน ที่ผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA	67
4.14 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซาน ที่ดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ	69
4.15 ปริมาณการปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซาน ที่ดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ	69
ก.1 ภาพจำลองการทำงานของเครื่อง Scanning Electron Microscope	82
ก.2 แผนภูมิระบบ The Michelson Interferometer	83
ก.3 แถบสเปคตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	85
ก.4 อิเล็กตรอนภายในโมเลกุลที่เปลี่ยนระดับชั้นพลังงานเมื่อได้รับพลังงานเพียงพอ	85
ก.5 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงเดี่ยว	86
ก.6 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงคู่	87
ข.1 ผลการวิเคราะห์ SEM ของเม็ดบีดไคโตซาน (CS)	88
ข.2 ผลการวิเคราะห์ SEM ของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)	89
ข.3 ผลการวิเคราะห์ SEM ภายในเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)	90
ข.4 ผลการวิเคราะห์ SEM ภายในเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน (CS-HA-TC) หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 1 สัปดาห์	91

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันนี้ประชากรต้องเผชิญกับปัญหาโรคกระดูกติดเชื้อ ซึ่งอาจเกิดจากการติดเชื้อที่กระดูกเอง หรือการติดเชื้อที่แพร่มาจากอวัยวะหรือเนื้อเยื่อใกล้เคียง โดยเชื้อสามารถเข้าสู่กระดูกทางกระแสเลือด และเมื่อเชื้อเข้าไปอยู่ในส่วนของไดอะไฟซิส (diaphysis) ของกระดูกยาว (long bones) จะทำให้เกิดการติดเชื้อรุนแรง มีการสะสมของหนองบริเวณผิวของกระดูกและเกิดเป็นหนองใต้เยื่อหุ้มกระดูก ข้อต่อ กระดูกที่มีการติดเชื้อจะเกิดการทำลายกระดูกอ่อนบริเวณข้อต่อ ส่งผลทำให้เกิดความพิการของข้อต่ออย่างถาวร โดยโรคติดเชื้อในกระดูกส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่กระดูกขา แขน และกระดูกสันหลัง [1,2] นับเป็นโรคหนึ่งที่ยากต่อการรักษา กล่าวคือแพทย์อาจต้องทำการผ่าตัดหลายครั้ง หรือรับประทานยาปฏิชีวนะจำนวนมากเป็นระยะเวลายาวนาน โดยการผ่าตัดนั้นจะทำเพื่อระบายหนองจากโพรงใต้เยื่อหุ้มกระดูกและในกระดูกออกไป เมื่อเริ่มศักราชของยาปฏิชีวนะ การผ่าตัดเพื่อระบายหนองถูกลดความนิยมลง อย่างไรก็ตามการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะมักให้ผลดีเมื่อเริ่มต้นการรักษาเร็วหลังจากผู้ป่วยเริ่มมีอาการ แต่ถ้าเริ่มทำการรักษาหลังจากที่ผู้ป่วยมีอาการไประยะหนึ่งแล้วการรักษาจะมีประสิทธิภาพลดลง ทั้งนี้เนื่องจากภายในกระดูกมีเส้นเลือดน้อยจึงจำกัดความสามารถของร่างกายที่จะขนส่งยาปฏิชีวนะไปยังกระดูกที่มีการติดเชื้อ เมื่อยาปฏิชีวนะไม่สามารถเข้าสู่บริเวณที่มีการติดเชื้อ หรือน้อยกว่าปริมาณที่จะฆ่าเชื้อได้ แบคทีเรียจึงเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว [3] อีกทั้งยังทำให้แบคทีเรียดื้อต่อยาด้วย ทำให้ผู้ป่วยต้องได้รับการผ่าตัดเพื่อระบายหนองออกซ้ำ นอกจากจะสร้างความเจ็บปวดให้กับผู้ป่วยแล้วยังต้องเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะถือว่าเป็นสิ่งจำเป็นมาก จึงมีแนวคิดที่จะนำส่งยาไปยังกระดูกที่ติดเชื้อโดยตรงด้วยสารพอลิเมอร์ การรักษาด้วยวิธีนี้ที่น่าสนใจคือสามารถนำส่งยาปฏิชีวนะเข้าสู่ตำแหน่งเฉพาะที่กระดูกมีการติดเชื้อ เพิ่มประสิทธิภาพของยาที่ถูกส่งเข้าไปเพื่อรักษาตรงตำแหน่งที่มีการติดเชื้อ มีการปลดปล่อยยาออกมาในปริมาณที่เหมาะสมและในระยะเวลาที่ยาวนานเพียงพอต่อการฆ่าเชื้อได้สมบูรณ์ สามารถลดอัตราการดื้อยาของเชื้อลงได้ อีกทั้งยังสามารถลดจำนวนยาและปริมาณยาที่ใช้ได้อีกด้วย

เพื่อให้ประสิทธิภาพการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะดีขึ้น จึงจำเป็นที่จะต้องปรับปรุงระบบนำส่งยาโดยมุ่งเน้นให้มีปริมาณยาในบริเวณที่ต้องการรักษาเพียงพอและนานขึ้น โดยระบบนำส่งยาต้องปลดปล่อยยาออกมาอย่างช้า ๆ และต่อเนื่องในปริมาณที่เหมาะสมภายในช่วงเวลาที่ต้องการ ซึ่งการนำสารพอลิเมอร์มาใช้เพื่อควบคุมการปลดปล่อยยาจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ปัจจุบันมีพอลิเมอร์หลายชนิดทั้งที่สกัดได้จากธรรมชาติและที่ได้จากการสังเคราะห์ที่นำมาใช้เพื่อประโยชน์ดังกล่าว อย่างไรก็ตามพอลิเมอร์จากธรรมชาติถือว่ามีความปลอดภัยมากกว่า

ไคโตซานเป็นสารพอลิเมอร์ธรรมชาติ จัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต มีปริมาณมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส แต่เป็นพอลิเมอร์ที่มี amino sugar เป็นองค์ประกอบที่พบในธรรมชาติมากที่สุด สกัดได้จากเปลือกกุ้ง ปู และแกนในของปลาหมึก ผนังเซลล์ของเห็ด รา และสาหร่ายบางชนิด [4] มีสมบัติพิเศษคือ สามารถทำหน้าที่ทางเคมีหรือทางชีวภาพบางอย่างได้ด้วยตัวเอง (functional materials) เข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatible) คือไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต สามารถสลายตัวได้ทางชีวภาพ (biodegradable) และโมเลกุลมีส่วนที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ด้วยสมบัติเหล่านี้ทำให้สามารถนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น ด้านการเกษตร ด้านอาหาร ด้านการจัดการคุณภาพน้ำ การทอ การแยกสาร และด้านการแพทย์ ยา และเครื่องสำอาง รวมทั้งใช้เป็นอาหารสัตว์เป็นต้น ในทางการแพทย์นั้นไคโตซานได้รับความสนใจเป็นอย่างมากที่จะพัฒนาและนำไปใช้อย่างกว้างขวาง เช่น ใช้รักษาแผลผ่าตัดและไฟไหม้ ซึ่งช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น ใช้เป็นแคปซูลบรรจุยา ใช้เป็นสารป้องกันการตกตะกอนของเลือด ใช้เป็นตัวจับและตกตะกอนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ใช้ผลิตผิวหนังทียม ใช้เป็นสารลดโคลเลสเตอรอล ใช้เป็นระบบนำส่งยาประเภทควบคุมอัตราการปล่อยตัวยา และช่วยกระตุ้นการสร้างกระดูกใหม่ โดยเฉพาะลักษณะที่เป็นพอลิเมอร์ประจุบวกของไคโตซานทำให้สามารถเกิดการเชื่อมขวางกับสารที่มีประจุลบ เช่น tripolyphosphate (TPP), sulfate, citrate และ genipin ได้ สารเหล่านี้เป็นตัวเชื่อมที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย จึงมีความปลอดภัยที่จะนำมาใช้ คาดว่าโครงสร้างที่เกิดขึ้นใหม่สามารถหน่วงการปลดปล่อยยาให้นานขึ้นได้ [5] ด้านระบบนำส่งยา ได้มีการพัฒนาโมเลกุลของไคโตซานให้พร้อมที่จะรับโมเลกุลอื่น โดยการเชื่อมต่อกับหมู่ฟังก์ชันแบบมีขั้วและไม่มีขั้วอย่างเหมาะสม พบว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์ (hydroxyapatites) ซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้เป็นสารทดแทนกระดูก สามารถทนต่อการกัดกร่อนจากของเหลวภายในร่างกาย ซึ่งโดยปกติจะมีสภาพเป็นกรดอ่อน ๆ จึงได้นำมาใช้เป็นส่วนหนึ่งของระบบนำส่งยาเพื่อเพิ่มสมบัติของไคโตซานให้ดีขึ้น เมื่อนำเข้าสู่ร่างกายสามารถช่วยป้องกันตัวยาจากการถูกทำลายโดยระบบย่อยสลายต่าง ๆ ในร่างกายได้ ทำให้มีการใช้ยาในปริมาณที่น้อยลงแต่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

โครงงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะใช้หลักการดังที่กล่าวมาข้างต้น เพื่อเตรียมเม็ดบีดของไคโตซานที่บรรจุยาเตตร้าไซคลิน ด้วยวิธีครอสลิ้งก์กับ TPP โดยศึกษาการปลดปล่อยยาเตตร้า-ไซคลินจากเม็ดบีดของไคโตซานที่ผสมกับไฮดรอกซีแอพาไทต์

1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 โรคติดเชื้อในกระดูก (Osteomyelitis) [6]

คือการอักเสบของกระดูก และไขกระดูก โดยทั่วไป หมายถึง การอักเสบเนื่องจากการติดเชื้อ การติดเชื้ออาจเกิดขึ้นเฉพาะที่กระดูกเท่านั้น (primary osteomyelitis) หรือ อาจเกิดขึ้นเนื่องจากเป็นภาวะแทรกซ้อนของการติดเชื้อที่อวัยวะอื่น (secondary osteomyelitis) เชื้อที่ก่อให้เกิดโรค อาจเป็นชนิดใดก็ได้ เชื้อที่พบบ่อยและเป็นสาเหตุของการเกิดโรค ได้แก่ เชื้อ pyogenic bacteria และเชื้อ mycobacteria ชนิดของการติดเชื้อมี 2 ชนิดคือ ชนิดเฉียบพลัน (acute) เช่น หมอนรองกระดูกติดเชื้อแบคทีเรียจากทางเดินปัสสาวะอักเสบ และชนิดเรื้อรัง (chronic) เช่น วัณโรคกระดูกสันหลัง เชื้อไข้รากสาดน้อย (salmonella-typhoid)

โรคข้อและกระดูกอักเสบติดเชื้อ เป็นโรคที่พบได้พอสมควรในเวชปฏิบัติทั่วไป และเป็นโรคที่สามารถรักษาให้หายได้ถ้าได้รับการรักษาอย่างถูกต้องรวดเร็วและได้รับยาปฏิชีวนะที่เหมาะสม โรคข้อและกระดูกอักเสบติดเชื้อยังคงเป็นปัญหาทางสาธารณสุข แม้ว่าในปัจจุบันนี้จะมีการพัฒนาทางด้านสุขอนามัยและความก้าวหน้าทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์แล้วก็ตาม ปัญหาของโรคข้อและกระดูกอักเสบติดเชื้อในปัจจุบัน เป็นผลสืบเนื่องจากการปรับตัวของเชื้อให้มีความสามารถในการก่อโรคและการดื้อยามากขึ้น นอกจากนี้อาจเกี่ยวข้องกับความล่าช้าในการวินิจฉัยและรักษาที่เหมาะสม ส่งผลให้การดำเนินโรคแย่ลง ซึ่งเชื้อโรคเกือบทุกชนิดสามารถก่อให้เกิดปัญหาข้อและกระดูกอักเสบติดเชื้อได้ เชื้อแต่ละชนิดมีแนวโน้มในการก่อให้เกิดข้ออักเสบและกระดูกอักเสบแตกต่างกันไป [7]

1.2.1.1 Pyogenic osteomyelitis

Pyogenic osteomyelitis คือ การอักเสบเป็นหนองภายในกระดูกเนื่องจากการติดเชื้อ ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เชื้อโรคสามารถเข้าสู่กระดูกได้ 3 วิธีคือ 1. มาตามกระแสเลือด ซึ่งเกิดขึ้นบ่อยครั้งมาก 2. ลุกลามมาจากบริเวณข้างเคียงและ 3. ทะลุเข้ามาโดยตรงจากภายนอก เนื่องจากมีบาดแผล เช่นในภาวะกระดูกหัก

กระดูกที่พบว่ามีการติดเชื้อบ่อยที่สุดในผู้ใหญ่ ได้แก่กระดูกสันหลัง ส่วนในเด็กได้แก่กระดูกท่อนยาว โดยลักษณะทางพยาธิวิทยา จะขึ้นกับระยะของโรคว่าเป็นแบบเฉียบพลันหรือเรื้อรัง ในระยะแรกจะพบ “หนอง” และ อาจพบ “sequestrum” ซึ่งคือเนื้อกระดูกที่ตายและหลุดแยกออกเป็นชิ้นเดี่ยว ๆ หนองจะประกอบด้วย เซลล์อักเสบชนิด neutrophils เป็นจำนวนมากปะปนกับเชื้อแบคทีเรีย และเนื้อกระดูกที่ตาย บางครั้งหนองอาจลุกลามออกสู่เนื้อเยื่อนอกผิวกระดูก และ ทะลุแตกออกสู่ผิวหนัง เกิดเป็นรูที่มีหนองไหลออกมาตรงผิวหนัง (draining sinus) อาจพบ sequestrum ออกมาจากไซนัสได้

การดำเนินโรค ผู้ป่วยมักปวดบริเวณกระดูกที่อักเสบ และมีไข้ ร่วมกับอาจมีอาการของการติดเชื้อที่อวัยวะอื่น ภาพถ่ายทางรังสีพบว่าบริเวณที่ติดเชื้อมีเนื้อกระดูกบางลง และถูกล้อมรอบด้วยเนื้อกระดูกที่เข้มขึ้น การรักษาทำได้โดยการให้ยาปฏิชีวนะร่วมกับการผ่าตัดเอาหนองออกประมาณ 5-25 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยที่เป็นกระดูกอักเสบติดเชื้อแบบเฉียบพลัน จะไม่หายจากโรค และกลายเป็นโรคเรื้อรัง (chronic osteomyelitis)

1.2.1.2 วัณโรคกระดูก (Tuberculous osteomyelitis)

การติดเชื้อวัณโรคที่กระดูกสันหลัง พบได้บ่อยในประเทศไทย การแพร่กระจายของเชื้อส่วนใหญ่มาตามกระแสโลหิต โดยมีปอดและทางเดินปัสสาวะเป็นแหล่งแพร่กระจายเชื้อ เมื่อเชื้อกระจายมาที่กระดูกสันหลังจะมีการทำลายกระดูกสันหลัง เชื้ออาจกระจายไปยังบริเวณข้างเคียงของกระดูกสันหลังและเกิดเป็นหนองกดทับไขสันหลังและเส้นประสาท การติดเชื้อบริเวณส่วนกระดูกสันหลังพบประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของโรควัณโรค และพบประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของวัณโรคที่แพร่กระจายมายังกระดูกส่วนต่าง ๆ เกิดจากเชื้อ Mycobacterium tuberculosis มักเกิดโรคในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ โดย 1-3 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยที่เป็นวัณโรคปอดจะเป็นวัณโรคในกระดูกร่วมด้วย การแพร่กระจายของเชื้อโรคจากปอดมายังกระดูกเกิดจาก เชื้อโรคแพร่กระจายมาทางกระแสเลือดซึ่งเกิดขึ้นบ่อยครั้ง เชื้อโรคลุกลามมาที่กระดูกโดยตรงจากอวัยวะข้างเคียง เช่น จากปอดมาที่กระดูกซี่โครง และเชื้อโรคแพร่กระจายทางน้ำเหลือง ดังรูปที่ 1.1 ซึ่งแสดงกระดูกที่ถูกเชื้อโรคกัดกินไปบางส่วน [6,8]

กระดูกชิ้นที่มีความเสี่ยงสูงในการเกิดวัณโรค ได้แก่ กระดูกสันหลังช่วงอกและหลังซึ่งพบบ่อยที่สุด กระดูกบริเวณสะโพก เข่า และกระดูกท่อนยาว เช่น กระดูกต้นขา (femur) หรือ กระดูกหน้าแข้ง (tibia)

การดำเนินโรค ผู้ป่วยจะมีอาการปวดบริเวณที่ติดเชื้อ อาจมีไข้ หรืออาการของวัณโรคที่อวัยวะอื่น ในรายที่เป็น Pott's disease กระดูกสันหลังอาจยุบตัวลง ทำให้เกิดความพิการผิดรูป หรือกดทับเส้นประสาท การรักษาทำได้โดยให้ยาต้านเชื้อวัณโรค

รูปที่ 1.1 พยาธิสภาพการทำลายกระดูกสันหลังและการเกิดหนองกดทับไขสันหลังจากวัณโรค [8]

1.2.2 การเลือกใช้ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ที่ถูกต้อง [9]

กรณีที่ไม่สามารถตรวจเพาะเชื้อ organisms หรือการทำ Gram stain หาเชื้อจากสารเหลวหรือเนื้อเยื่อที่เจาะดูดได้จากรอยโรคที่สงสัย การเลือกใช้ยาปฏิชีวนะ จึงจำเป็นต้องอาศัยการคาดคะเนจากสถิติการเกิดโรค อายุที่น่าจะเป็นโรค รวมถึงสภาวะภูมิต้านทาน ความเป็นโรคเรื้อรังบางอย่างของผู้ป่วย ย่อมเป็นผลให้เกิดภาวะการณ์ติดเชื้อได้ต่างชนิดกัน

1.2.2.1 แนวทางการใช้ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic delivery)

ปัจจุบันได้มีการพัฒนายาปฏิชีวนะเป็นจำนวนมากและหลากหลาย อย่างไรก็ตามเกณฑ์การเลือกใช้ยาต้องประกอบด้วยวัตถุประสงค์ ชนิด วิธีการให้ และคุณภาพของยา ประเภทของเชื้อ organism ที่ต้องการกำจัด ความต้านทานและการยอมรับได้ต่อยาปฏิชีวนะของผู้ป่วยเอง รวมถึงการติดตามผลของยาที่ใช้รักษา เกณฑ์ทั่วไปที่จะใช้พิจารณาเลือกยาปฏิชีวนะประกอบด้วย

1. ควรให้ยาปฏิชีวนะเข้าสู่ร่างกายทางไหน กินหรือฉีด

2. ยาปฏิชีวนะที่ให้จะสามารถเข้าสู่ตำแหน่งที่มีเชื้อโรคหรือไม่ และเพียงพอต่อการทำลายเชื้อ organism หรือไม่
3. จะต้องให้ยาปฏิชีวนะนานเท่าใด
4. ยาปฏิชีวนะสามารถทำลายเชื้อที่เกิดได้หรือไม่
5. ภาวะความเป็นพิษจากยา
6. ประวัติการแพ้ยาของผู้ป่วย

แนวทางการใช้ยาจึงต้องประกอบด้วยกระบวนการตรวจให้ทราบว่าจะใช้กับเชื้อ organism ตัวใดที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เชื้อนั้นมีความไวต่อยาหรือดื้อต่อยาปฏิชีวนะตัวไหน รวมถึงระยะเวลาที่ต้องให้ยาว่าจะนานเท่าใด เพราะบางตัวถ้าใช้นานอาจทำให้เกิดภาวะยาเป็นพิษหรืออาการข้างเคียงจากยาเพิ่มขึ้น

1.2.2.2 แนวทางการให้ยาปฏิชีวนะเข้าสู่ร่างกาย (Route of Antibiotic administration)

การอักเสบติดเชื้อที่กระดูกและข้อ โดยทั่วไปจะเริ่มให้ยาปฏิชีวนะเข้าสู่ร่างกายทางเส้นเลือด (intravenous) ข้อดี คือ ได้ปริมาณยาเข้าสู่ร่างกายมากเพียงพอ และรวดเร็ว ข้อเสีย คือ การให้มีความยุ่งยากโดยเฉพาะในเด็กที่ไม่ค่อยให้ความร่วมมือและราคายาค่อนข้างแพง ส่วนการให้ยาโดยการกินมักไม่มีความแน่ใจว่าปริมาณที่ให้ไปจะสามารถซึมผ่านเข้าสู่กระแสเลือดได้มากเพียงพอต่อการกำจัดเชื้อ organism หรือไม่ โดยเฉพาะระยะแรกที่ยังไม่ทราบประเภทของเชื้อ การใช้ยาปฏิชีวนะ ประเภทให้โดยการกิน ถ้าจะให้ได้ผลดีต้องปฏิบัติให้ถูกต้องตามหลักเกณฑ์การใช้ยา เช่น ต้องให้ระดับความเข้มข้นของยาในกระแสเลือดสูงพอ โดยทั่วไปต้องได้ปริมาณยาในเลือด blood titer อย่างน้อยประมาณ 1:8 หรือมากกว่า ถ้าผู้ป่วยมีความสามารถในการดูดซึมยาได้น้อยกว่าปกติ ตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ต้องปรับปริมาณยาที่ให้กินให้มากขึ้น ปัญหาอีกอย่างของการให้ยาโดยการกิน โดยเฉพาะในเด็ก คือ ความสม่ำเสมอในการกินยา (compliance)

1.2.2.3 ประสิทธิภาพและความสามารถเข้าถึงเชื้อของยาปฏิชีวนะ (Penetration and efficacy of antibiotic)

ยาปฏิชีวนะบางกลุ่มสามารถซึมแทรกเข้าไปในเนื้อกระดูกที่ติดเชื้อได้ดี แต่พบว่ายาปฏิชีวนะไม่สามารถซึมผ่านเข้าไปในเนื้อกระดูกที่ตายได้ ในด้านประสิทธิภาพ (efficacy) ของยาปฏิชีวนะ ต้องให้ยาที่ตรงกับความไวต่อเชื้อ ในปริมาณที่เหมาะสมเพียงพอ

1.2.2.4 ระยะเวลาที่ต้องให้ยาปฏิชีวนะ (Duration of administration)

สมัยก่อนนิยมให้ยาปฏิชีวนะทางหลอดเลือดนาน 6 สัปดาห์ และต้องขึ้นกับอาการของผู้ป่วย ซึ่งแต่ละรายจะมีลักษณะเฉพาะ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระยะเวลาของการให้ยาปฏิชีวนะขึ้นกับ ระยะเวลาของการติดเชื้อ กระดูกที่ติดเชื้อถูกทำลายไปมากหรือน้อย ประสิทธิภาพของการผ่าตัด ภูมิต้านทานและความแข็งแรงของผู้ป่วย

1.2.2.5 ยาปฏิชีวนะที่ผสมในรูป Bead chain

การใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาการติดเชื้อที่กระดูก มีทั้งที่เป็นแบบฉีดและแบบกิน ปัจจุบันได้พัฒนาให้ยาที่สามารถฝังอยู่ ณ บริเวณที่มีอาการอักเสบติดเชื้อและยาจะค่อย ๆ ถูกปลดปล่อยหรือซึมผ่านวัตถุตัวกลางเข้าสู่บริเวณบาดแผล เชื่อว่าจะสามารถเพิ่มความเข้มข้นของยา ณ บริเวณที่เกิดการติดเชื้อได้ โดยมีระดับยาในกระแสเลือด (serum) ต่ำ

ในปี ค.ศ. 1970 Buchholz และ Engelbrecht รายงานผลการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อหลังการผ่าตัด ทำ total hip arthroplasty ด้วยยาปฏิชีวนะที่ผสมอยู่ใน bone cement ฝังไว้บริเวณแผลภายในโพรงกระดูกที่เกิดการติดเชื้อ พบว่า ความเข้มข้นของระดับยาที่ตรวจพบในกระแสเลือดสูงกว่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าเชื้อได้ อีกทั้งระดับยาบริเวณที่ได้รับการฝังยาอยู่ได้นานกว่า

ที่ BG.Trauma clinic ในปี ค.ศ. 1973, Voorhoeve A. และ Stoehr C. จาก Frankfurt ประเทศเยอรมันใช้ gentamicin ผสมใน polymethy methacrylate acrylic bone cement (G-PMMA) ใส่ในโพรงกระดูกที่เกิด osteomyelitis หลังทำการผ่าตัดขูดล้างหนอง ซึ่งไม่ค่อยประสบความสำเร็จ เนื่องจาก bone cement ได้ผลักเอาวัตถุติดเชื้อ (infected material) เข้าไปในชั้นของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ที่ยาปฏิชีวนะเข้าไปไม่ถึง และยังพบว่า bone cement ไปอุดตันทำให้การไหลออกของสารเหลวเกิดขึ้นได้มาก ซึ่งระหว่างปี ค.ศ. 1972, Wahling และ Buchholz ใช้ gentamicin bead วางเข้าไปในโพรงกระดูกที่เป็นหนอง หลังจากได้รับการขูดล้าง ผลการวางอย่างหลวม ๆ ไม่ก่อให้เกิดการอุดตัน อย่างเช่น bone cement plug ที่เคยทำก่อนหน้านี้ มีผลทำให้สารเหลวต่าง ๆ ภายในโพรงไหลออกได้ และง่ายต่อการผ่าตัดเอาออกเมื่อไม่ต้องการใช้ ในปัจจุบัน ค.ศ. 1976 บริษัท Emerck ได้พัฒนาเป็นยา gentamicin ที่ผสมใน acrylic bone cement แล้วร้อยเป็นเส้นคล้ายลูกประคำทำให้สะดวกเมื่อต้องการใช้ ต่อมาปี ค.ศ. 1974 Klemm ได้พัฒนาเป็น gentamicin bead chain และรายงานถึงข้อดีของรูปแบบยาใหม่นี้ จนกระทั่งบริษัท Emerck จากเยอรมันได้นำมาผลิตขายในรูปแบบของ gentamicin chain เมื่อปี ค.ศ. 1976

- Gentamicin bead

วัตถุประสงค์ของการใช้วิธีนี้เพื่อต้องการให้ยาค่อย ๆ ซึมออกมาออกฤทธิ์อย่างช้า ๆ และนาน โดยยังคงประสิทธิภาพการทำลายเชื้อแบคทีเรียอยู่ได้

- ข้อดีของ gentamicin bead ได้แก่

1. ทำให้ยาซึมออกมาอยู่รอบ ๆ บาดแผลการติดเชื้อได้อย่างต่อเนื่อง
2. ช่วยเสริมโครงสร้างของเนื้อเยื่อ (soft tissue maintenance)
3. ไม่ต้องการขั้นตอนการรักษามากมายช่วยลดระยะเวลาของการที่ต้องอยู่โรงพยาบาลให้สั้นลง
4. เกิดภาวะเป็นพิษจากยาน้อย เพราะมีระดับความเข้มข้นของยาในกระแสเลือดต่ำ

- ข้อเสียของ gentamicin bead ได้แก่

1. G-PMMA bead ไม่สามารถย่อยสลายได้เองในร่างกาย (non Biodegradable) เกิดเป็นวัตถุแปลกปลอมที่ค้างอยู่ในร่างกาย ทำให้มีโอกาสติดเชื้อซ้ำได้
2. บางครั้งต้องผ่าตัดเพื่อเอา gentamicin bead ออก
3. เนื่องจากไม่ควรใช้เครื่องดูดระบายเลือดที่ค้างในแผลผ่าตัด เมื่อใช้ยา gentamicin bead จึงทำให้เกิดการคั่งของเลือดในแผลได้
4. ไม่สามารถใช้กับ organism ที่ยากลุ่ม Aminoglycoside ไม่สามารถทำลายได้

1.2.3 พอลิเมอร์กับระบบนำส่งยา [10]

ระบบนำส่งยา (drug delivery system) คือ การเตรียมยาในรูปแบบต่าง ๆ ที่สามารถควบคุมให้ปลดปล่อยยาในอัตราและปริมาณที่กำหนด และสามารถนำยาไปยังอวัยวะ หรือบริเวณเป้าหมายในร่างกายได้ตามต้องการ เพื่อทำให้เกิดผลสูงสุดในการรักษาและลดผลข้างเคียงพอลิเมอร์นับเป็นองค์ประกอบสำคัญอันหนึ่งในระบบนำส่งยาที่ช่วยควบคุมให้การปลดปล่อยยาให้เป็นไปตามต้องการ โดยทำหน้าที่หลักคือ เป็นสารช่วยควบคุมให้การปลดปล่อยเกิดขึ้นช้า ๆ และคงที่ในปริมาณที่ต้องการ เป็นตัวช่วยป้องกันและนำส่งยาไปยังบริเวณเป้าหมายในร่างกาย โดยไม่ทำให้ยาเกิดการปลดปล่อย หรือถูกทำลายไปก่อน ทั้งนี้พอลิเมอร์ที่เลือกใช้ ต้องมีสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญคือ มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย (biocompatible) สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย (biodegradable) โดยไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

โดยทั่วไประบบควบคุมการปลดปล่อย (controlled release system) ที่ใช้พอลิเมอร์เป็นตัวควบคุม จะต้องคำนึงถึงชนิด และสมบัติพื้นฐานของพอลิเมอร์ ชนิดของยาและระบบที่ใช้ควบคุมการปลดปล่อยยา การควบคุมการปลดปล่อยให้อยู่ในอัตราและปริมาณที่ต้องการนั้น มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าตัวยาที่ใช้ในการรักษา เพราะการเตรียมยาในรูปแบบควบคุมการปลดปล่อย จะทำให้ระดับของยาในพลาสมาคงที่เป็นเวลานานตลอดช่วงการรักษา สามารถลดความถี่ในการใช้ยาได้

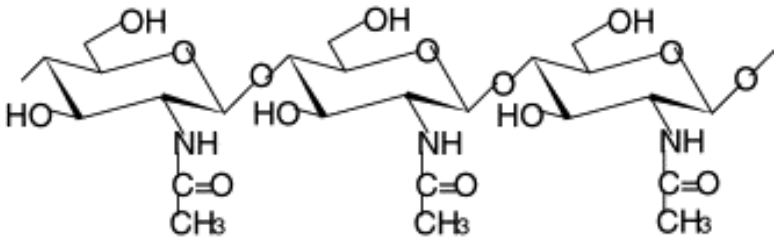
1.2.4 ไคตินและไคโตซาน [11]

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีมากในโลกเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส สร้างความแข็งแรงให้แก่ผนังเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยจะพบในโครงสร้างเปลือกนอกของพวกกุ้ง ปู และแกนปลาหมึก นอกจากนี้ยังพบในผนังเซลล์ของเห็ดรา และสาหร่ายบางชนิด ซึ่งมักพบในรูปสารประกอบ เป็นสารพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายยาวที่มีคาร์บอน 47.29 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจน 6.45 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจน 6.89 เปอร์เซ็นต์ และออกซิเจน 39.37 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก เนื่องจากไคตินเป็นสารพอลิเมอร์ที่ไม่มีประจุ จึงไม่ละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว

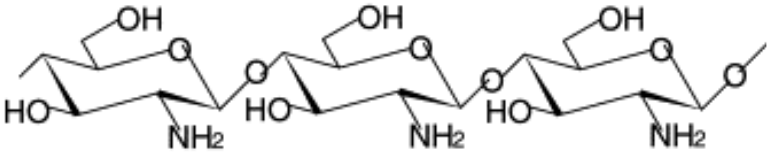
ไคโตซาน เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีหมู่อะมิโน ($-NH_2$) เรียกว่า polyamino glucose $(C_6H_{12}O_4N)_n$ เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีติล (deacetylation) ของไคตินด้วยด่างเข้มข้น เพื่อให้เกิดพอลิเมอร์ที่สามารถละลายในกรดอินทรีย์หลายชนิดได้ เช่น กรดอะซิติก กรดซิตริก และกรดแลคติก เป็นต้น ปัจจุบันจึงมีการนำไคโตซานไปประยุกต์ใช้ในรูปแบบต่าง ๆ มากกว่าไคติน แต่ยังไม่สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ น้ำและเบสได้ [12]

1.2.4.1 โครงสร้างเคมีของไคตินและไคโตซาน

ไคตินเป็นพอลิเมอร์เส้นตรง ที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายเซลลูโลส ต่างกันตรงที่หน่วยย่อยของเซลลูโลสเป็น D-glucose ส่วนของไคตินเป็น N-acetyl-D-glucosamine (รูปที่ 1.2) ไคโตซาน คือ ไคตินในรูปที่มีหมู่อะซีติลต่ำเกิดจากปฏิกิริยาดีอะซีทิเลชั่น ทำให้โครงสร้างเปลี่ยนไป โดยหมู่อะซิตามิโด ($-NHCOCH_3$) เปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่สอง (รูปที่ 1.3) ดังนั้นไคโตซานคือพอลิเมอร์ของ D-glucosamine



รูปที่ 1.2 โครงสร้างทางเคมีของไคติน [13]



รูปที่ 1.3 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน [13]

1.2.4.2 ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยา

ไคโตซานประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชัน 3 หมู่ที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา คือ หมู่อะมิโน ($-NH_2$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 หมู่ primary alcohol ($-CH_2OH$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และหมู่ secondary alcohol (-CHOH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 โดยการปรับปรุงโครงสร้างทางเคมีของหมู่ฟังก์ชันนี้ก่อให้เกิดวัสดุที่ใช้งานแตกต่างกันไป

1.2.4.3 โครงสร้างโมเลกุล

ไคโตซานเป็น cationic polyelectrolyte เนื่องจากในสารละลายกรด หมู่อะมิโนในสายโซ่โมเลกุลจะรับโปรตรอน แล้วอยู่ในรูป $-NH_3^+$ conformation โดยใช้ค่า Mark Houwink exponent (a) เพื่อบ่งชี้ลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลได้ กล่าวคือ ถ้า a มีค่าประมาณ 0, 0.5-0.8 หรือ 1.8 จะบ่งชี้ว่าพอลิเมอร์ขดตัวเป็นทรงกลม (sphere) มีลักษณะเป็น random coil หรือมีลักษณะเป็นแท่ง (rod) ตามลำดับ โดย conformation ที่แตกต่างกันในสารละลายขึ้นอยู่กับความแรงไอออนิก ค่า pH อุณหภูมิ และความเข้มข้นของยูเรีย น้ำหนักโมเลกุล และ degree of deacetylation

1.2.4.4 การละลายน้ำ (Solubility)

ไคโตซานไม่ละลายในน้ำ ด่าง และตัวทำละลายอินทรีย์ แต่สามารถละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรดอินทรีย์เกือบทุกชนิดที่มี pH น้อยกว่า 6 และกรดอนินทรีย์บางชนิด เช่น กรด

ไนตริก กรดไฮโดคลอริก กรดเปอร์คลอริก และกรดฟอสฟอริก ซึ่งสารละลายไคโตซานจะมีความเหนียว ใส มีพฤติกรรมแบบ non-newtonian ในสารละลาย

1.2.4.5 น้ำหนักโมเลกุล

ไคตินในธรรมชาติมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 1×10^{6} ดาลตัน ในขณะที่ไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 1×10^{5}-1.2×10^{6} ดาลตัน ขึ้นกับขั้นตอนการผลิต

1.2.4.6 ระดับการกำจัดหมู่อะซีติล (Degree of deacetylation, DD%)

เป็นปัจจัยพื้นฐานทางโครงสร้างที่มีความสำคัญต่อสมบัติของไคโตซาน เช่น การละลาย ความหนืด และการดูดความชื้น ซึ่งมีผลต่อการนำไปประยุกต์ใช้ เนื่องจากไคติน และไคโตซานนั้นเป็นโคพอลิเมอร์ระหว่างสองโมโนเมอร์ของ N-Acetyl-D-Glucosamine และ D-Glucosamine ระดับการกำจัดหมู่อะซีติลจึงเป็นตัวบ่งชี้ความเป็นไคติน และไคโตซาน ซึ่งถ้าสัดส่วนของโมโนเมอร์ที่สองมากกว่า คือมีค่าระดับการกำจัดหมู่อะซีติลสูง จะแสดงสมบัติเด่นของไคโตซาน [1,12]

1.2.4.7 การเสื่อมสลาย (Degradation)

คือเมื่อเกิดการเสื่อมสลายจะให้สายโซ่โมเลกุลที่สั้นลงเป็นโอลิโกเมอร์ (oligomer) หรือโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (oligosaccharide) หรือเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดคือ โมโนเมอร์ (monomer) หรือโมโนแซคคาร์ไรด์ (monosaccharide)

1.2.4.8 ความหนืด (Viscosity)

การไหลของพอลิเมอร์สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดขนาดของสายโซ่พอลิเมอร์ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากหากสายโซ่พอลิเมอร์มีความยาวมากจะแสดงสมบัติการไหลที่ช้า โดยค่าของความหนืดจะผันแปรไปตามมวลโมเลกุลของพอลิเมอร์ชนิดนั้น ๆ ค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น สภาวะการกำจัดหมู่อะซีติล มวลโมเลกุล ความเข้มข้น ความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิ โดยทั่วไปแล้วความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้ชนิดของกรดที่ใช้ในการปรับค่า pH ยังส่งผลต่อค่าความหนืดที่แตกต่างกันด้วย เช่น ความหนืดของไคโตซานในกรดอะซิติกจะเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมีค่า pH ลดลง ในขณะที่ความหนืดของไคโตซานในกรดไฮโดรคลอริกจะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH สูงขึ้น [12]

1.2.4.9 สมบัติทางชีวภาพของไคโตซาน

ไคโตซานมีสมบัติชอบน้ำ ไม่มีพิษ ไม่กระตุ้นให้เกิดการต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย สามารถสลายตัวได้ในร่างกายสิ่งมีชีวิต โดยผลิตผลที่ได้คือน้ำตาลอะมิโน สลายได้ทางชีวภาพ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ มีความยึดติดทางชีวภาพ (bioadhesion) ไม่ก่อให้เกิดมะเร็ง มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านเชื้อราได้ [14]

1.2.4.10 การนำไคตินและไคโตซานไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่าง ๆ

ปัจจุบันนี้ได้มีการนำไคตินและไคโตซานมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เพื่อใช้ประโยชน์ในหลากหลายรูปแบบมากขึ้นดังนี้

ด้านเครื่องสำอาง เนื่องจากไคโตซานมีสมบัติในการอุ้มน้ำและต่อต้านจุลินทรีย์ จึงใช้เป็นส่วนผสมของสารที่ให้ความชุ่มชื้นในครีมบำรุงและโลชั่น ต่าง ๆ

ด้านอาหาร ใช้ทำฟิล์มห่อหุ้มเพื่อถนอมอาหาร เนื่องจากมีสมบัติต่อต้านแบคทีเรียและเชื้อรา รวมทั้งมีความสามารถในการเก็บความชื้นของอาหาร

ด้านการแพทย์และเภสัชกรรม ใช้เป็นวัตถุปิดบาดแผล เช่น พลาสติกปิดแผล ไหมเย็บแผล โดยมีสมบัติป้องกันการติดเชื้อจึงทำให้แผลหายเร็วขึ้น ใช้เป็นส่วนผสมของเม็ดยา เพื่อควบคุมการแพร่และการซึมผ่านของยา

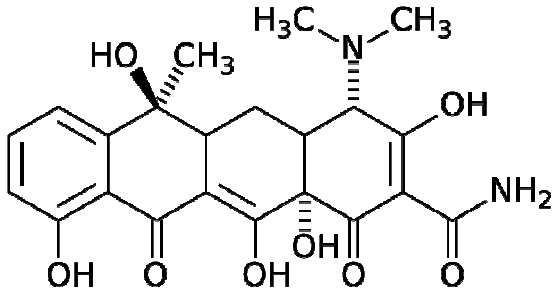
ด้านการเกษตร สามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมของสารปรับสภาพดินสำหรับเพาะปลูก ช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ด ใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าว และสารต้านทานโรคพืช เช่น เชื้อราของต้นข้าวโพด โดยใช้เป็นส่วนผสมของสารฉีดพ่น

ด้านการบำบัด ใช้เป็นสารตกตะกอนชีวภาพในการแยกโปรตีน และไขมันออกจากน้ำเสีย ใช้กำจัดสีในน้ำทิ้ง ใช้เป็นตัวจับไอออนโลหะ เช่น ปรอท ทองแดง สามารถลดความขุ่น ปริมาณตะกอนแขวนลอย และใช้กำจัดโลหะหนักจากน้ำทิ้ง ได้แก่ ทองแดง โครเมียม แคดเมียม แมงกานีส โคบอลต์ ตะกั่ว เหล็ก เงิน ไซยาไนด์ นิกเกิล และสังกะสี [12]

1.2.5 เตตร้าไซคลิน (Tetracycline) [15]

เป็นยาปฏิชีวนะระงับการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ออกฤทธิ์ยับยั้งจำเพาะเจาะจงต่อขบวนการสังเคราะห์โปรตีนของจุลชีพมากกว่าของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถใช้รักษาโรคติดเชื้อในท่อทางเดินปัสสาวะ ลำไส้อักเสบ หลอดลมอักเสบ รักษาโรคบิดมีตัว รักษาแผล ฝีหนอง อาการอักเสบต่าง ๆ เนื่องจากการติดเชื้อ มีปริมาตรการกระจายยาไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดี ในตับและไต มีระดับยาสูงเท่ากับในซีรั่มหรือสูงกว่า สามารถผ่านเข้าน้ำไขสันหลังได้น้อย แต่

ผ่านรกได้และขับออกทางน้ำนม มีข้อควรระวังคือไม่ควรทานยาเตตร้าไซคลินร่วมกับยาหรืออาหารที่มีอะลูมิเนียม แคลเซียมหรือแมกนีเซียมเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากยาจะเกิดคีเลชัน (chelation) กับธาตุดังกล่าว เกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้การผ่านเยื่อบุที่ทางเดินอาหารลดลง การดูดซึมยาลดลง และลดประสิทธิภาพของยาได้ จากข้อมูลทางเภสัชจลนพลศาสตร์พบว่า ยามีครึ่งชีวิตของการกำจัดออกที่ 6-11 ชั่วโมง โดยขับออกทางอุจจาระ และไต [16,17]



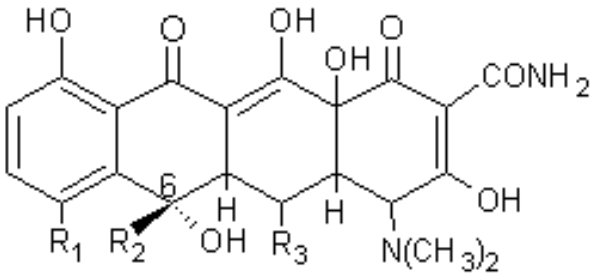
รูปที่ 1.4 โครงสร้างทางเคมีของยาเตตร้าไซคลิน ($C_{22}H_{24}N_2O_8$, MW 444.435 g/mole) [17]

1.2.5.1 การดูดซึม

ยาเตตร้าไซคลินดูดซึมจากกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นเมื่อให้โดยการรับประทาน ซึ่งจะละลายได้ดีใน pH เป็นกรด ถ้า pH เป็นด่าง ยาจะละลายได้น้อยลงทำให้การดูดซึมลดลง [16]

1.2.5.2 ยาในกลุ่มเตตร้าไซคลิน

ยาในกลุ่มเตตร้าไซคลินทุกชนิดมีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ มีนิวเคลียสพื้นฐานเป็น polycyclic naphacenecaboxamide และมี side chain ที่ตำแหน่ง 5, 6 และ 7 (รูปที่ 1.5) แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 1.1



รูปที่ 1.5 สูตรโครงสร้างของยาเตตร้าไซคลิน

ตารางที่ 1.1 อนุพันธ์ของยาเตตร้าไซคลิน [15]

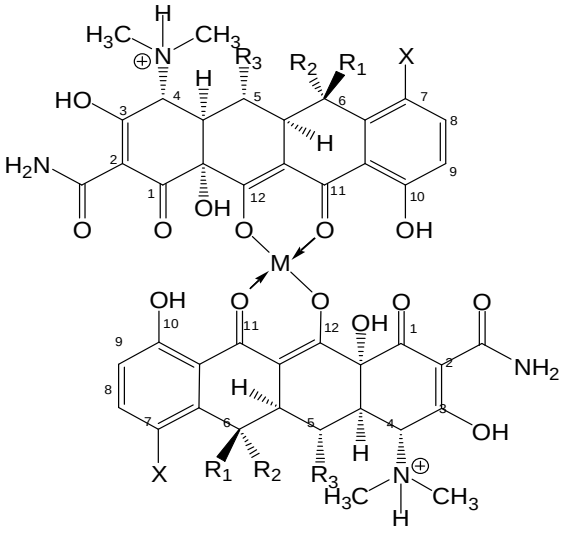
อนุพันธ์ของยาเตตร้าไซคลิน	R_1	R_2	R_3
เตตร้าไซคลิน (tetracycline)	-H	$-CH_3$	-H
คลอเตตร้าไซคลิน (chlortetracycline)	-Cl	$-CH_3$	-H
ออกซีเตตร้าไซคลิน (oxytetracycline)	-H	$-CH_3$	-OH
ดีเมโคลไซคลิน (demeclocycline)	-Cl	-H	-H
มิโนไซคลิน (minocycline)	$-N(CH_3)_2$	$-H^*$	-H
ด็อกซีไซคลิน (doxycycline)	-H	$-CH_3{}^*$	-OH
เมธาไซคลิน (methacycline)	-H	$=CH_2{}^*$	-OH

*คือ ที่ตำแหน่ง C_6 ไม่มี -OH

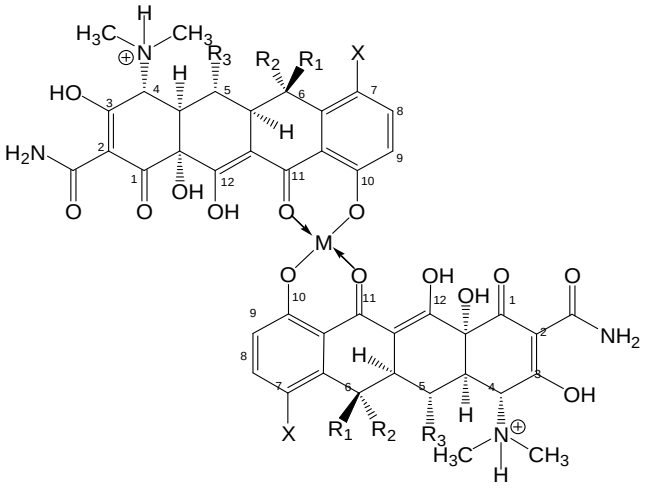
1.2.5.3 สมบัติทางเคมีของยา

ยาในกลุ่มนี้โดยทั่วไปมีสีเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น มีรสขมเล็กน้อย ละลายน้ำได้น้อย แต่ถ้าเตรียมในรูปเกลือไฮโดรคลอไรด์จะละลายน้ำได้ดีขึ้น ตัวยาเมื่ออยู่ในสภาพผงแห้งมีความคงตัวดี แต่ถ้าอยู่ในรูปสารละลายจะสลายตัวง่าย ยาในกลุ่มนี้ทุกตัวสามารถจับตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับอนุมูลโลหะที่มีวาเลนซี 2 และ 3 เช่น อะลูมิเนียม แคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็กได้ ดังนั้นจึงไม่ควรใช้ยานี้ร่วมกับยาหรือสารอื่น ๆ ที่มีอนุมูลโลหะเหล่านี้ เช่น ยาลดกรด นม เป็นต้น

ความเป็นกรดของยาเตตร้าไซคลินทำให้แตกตัวเป็นประจุลบและจับกับ polyvalent metal ion เช่น Fe^{3+} Al^{3+} Ca^{2+} และ Mg^{2+} ได้สารประกอบเชิงซ้อนดังรูปที่ 1.6



ที่ตำแหน่ง 11 กับ 12



ที่ตำแหน่ง 10 กับ 11

รูปที่ 1.6 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเตตร้าไซคลินและ polyvalent metal [18]

1.2.5.4 การละลาย (Solubility)

ผงยาละลายน้ำได้น้อยและไม่ละลายในอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม แต่ละลายในแอลกอฮอล์ 50 ส่วน และในกรดเจือจาง เมื่ออยู่ในสภาพสารละลายยาเตตร้าไซคลินจะสลายตัวได้ง่าย

1.2.5.5 ค่าคงที่ในการแตกตัว (Ionization constant)

มีค่า pKa 3 ค่าคือ 3.3, 7.7 และ 9.7 ที่ 25°C

1.2.5.6 ความเป็นกรด (Acidity)

สารละลายแขวนตะกอนที่ได้จากการเขย่าผงยา 100 มิลลิกรัมกับน้ำ 10 มิลลิลิตร มี pH ในช่วง 3.5-6

1.2.5.7 ปริมาณความชื้น (Humidity)

เมื่อวิเคราะห์โดยการอบที่ 105°C พบว่ามีปริมาณความชื้นไม่เกิน 13 เปอร์เซ็นต์

1.2.5.8 ความคงตัว (Substantivity)

เมื่อผงยาเตตร้าไซคลินและเตตร้าไซคลินไฮโดรคลอไรด์ อยู่ในที่ที่มีอากาศชื้นและถูกแสงอาทิตย์จะทำให้มีสีดำคล้ำ แต่เมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็นน้ำ จะสลายตัวโดยอีพิเมอไรเซชัน (epimerization) เกิดเป็น 4-epitetracycline, anhydrotetracycline, 4-epianhydrotetracycline และสารอื่น ๆ ซึ่งสารสลายตัวที่สำคัญคือ 4-epitetracycline จะมีฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลชีพต่ำมาก เตตร้าไซคลินจะสลายตัวเร็วมากที่ pH ต่ำกว่า 2 แต่จะสลายตัวได้ช้าที่ pH 7 หรือสูงกว่า และอัตราการสลายตัวจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีกรดซิตริก

1.2.5.9 ฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพ (Antimicrobial effect)

เตตร้าไซคลินเป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดกรัมบวกและกรัมลบ

1.2.5.10 กลวิธานในการออกฤทธิ์ (Mechanism of action)

ยาเตตร้าไซคลินจะรวมกับ 30S ไรโบโซม ทำให้เชื้อไม่สามารถสังเคราะห์พอลิ-เพปไทด์ (polypeptide) ได้ เป็นการขัดขวางการสร้างโปรตีนของเซลล์ ส่งผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ยายังยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase) ที่สร้างจากเม็ดเลือดขาว จึงเพิ่มความต้านทานของร่างกาย และยับยั้งการสลายตัวของกระดูก

1.2.5.11 เภสัชจลนศาสตร์ของยา (Pharmacokinetics)

ยาถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารได้ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ มีทั้งในรูปแบบยากิน ยาสำหรับฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) หรือฉีดเข้าหลอดเลือด (intravascular injection) การดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะที่ลำไส้เป็นไปอย่างรวดเร็ว มีบางส่วนที่ไม่ดูดซึมจะตกค้างอยู่ในลำไส้ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเชื้อในลำไส้ เกิดการติดเชื้อสำทับ (super infection) ได้ ยาจับกับอัลบูมิน (albumin) ในพลาสมา 40-80 เปอร์เซ็นต์ และสะสมในตับ กระดูก และฟันที่กำลังเจริญเติบโต ยากระจายตัวได้ดีในเนื้อเยื่อและของเหลวในร่างกาย ยาเกือบทั้งหมดถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับ และส่วนใหญ่ถูกขับออกทางปัสสาวะในรูปเดิม มีเพียงส่วนน้อยที่ถูกขับออกทางอุจจาระ ยาสามารถผ่านออกทางรกและน้ำนมได้

เตตร้าไซคลิน คลอเตตร้าไซคลิน และออกซีเตตร้าไซคลิน ใช้กินขนาด 250 มิลลิกรัม ทุก 6 ชั่วโมง ทำให้ระดับยาในเลือดสูงพอที่จะทำลายเชื้อได้ภายใน 2-4 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิต (half life:t) 6-10 ชั่วโมง ดังนั้นภายใน 24 ชั่วโมง ยาจะเหลือเพียงเล็กน้อย ส่วนความเข้มข้นสูงสุดของยาในซีรัมเท่ากับ 2-2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.2.5.12 อาการไม่พึงประสงค์ของยา (Side/adverse effect)

- ต่อระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน จุกเสียดและแสบร้อนที่ลำไส้ ปวดแน่นท้อง ท้องร่วง ท้องเดิน
- ถ้าขนาดของยามากเกินไป จะเป็นอันตรายต่อตับ และเกิดอาการตัวเหลือง
- ยาเป็นพิษต่อหญิงตั้งครรภ์ โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของกระดูกในทารกที่เกิดก่อนกำหนด
- การใช้ยาในทารก (infant) ทำให้กระหม่อมโป่งพอง (bulging fontanelles) พบในบางรายเท่านั้น และอาการนี้จะหายไปเองเมื่อหยุดยา
- อาการแพ้ยา ได้แก่ เป็นลมพิษ ผื่นแดง ผิวหนังมีอาการปวดแสบปวดร้อนคล้ายถูกแดดเผา ปากและลิ้นอักเสบ ลิ้นดำ แพ้ต่อแสงแดด
- เมื่อใช้ยานาน ๆ อาจทำให้ดื้อยาได้

1.2.5.13 ปฏิกิริยาระหว่างยา (Drug interaction)

- ไม่ควรรับประทามพร้อมนม ยาลดกรด ซึ่งขัดขวางการดูดซึมของยา โดยยาจะจับกับไอออนของแคลเซียม แมกนีเซียม อะลูมิเนียม เหล็ก เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนโดยเฉพาะยา

จับกับแคลเซียมไอออนในกระดูกและฟันที่กำลังเติบโตของเด็กอายุ 2 เดือนถึง 5 ปี และหญิงตั้งครรภ์ตั้งแต่ 4-6 เดือน ทำให้เด็กมีฟันเหลืองและสีน้ำตาลดำ

- ลดฤทธิ์ของยาเพนิซิลลินเมื่อใช้ร่วมกัน
- ลดฤทธิ์ของยาคุมกำเนิดเมื่อใช้ร่วมกัน
- เสริมฤทธิ์ของยากันเลือดแข็งตัวเมื่อใช้ร่วมกัน

1.2.5.14 ประโยชน์ในการรักษา

การอักเสบและติดเชื้อของกระดูก (osteomyelitis)

1.2.5.15 ขนาดและวิธีการใช้

รับประทามยาขนาด 250-500 มิลลิกรัม ทุก 6 ชั่วโมง ควรให้ยา 1 ชั่วโมงก่อนอาหาร หรือ 2 ชั่วโมงหลังอาหาร เป็นเวลา 7-14 วัน และดื่มน้ำมาก ๆ เพื่อไม่ให้เกิดแผลที่หลอดอาหารและลดการระคายเคืองกระเพาะอาหาร

ฉีดเข้าหลอดเลือดในโรคติดเชื้อรุนแรง (slow intravenous infusion) 1-2 กรัมต่อวัน

ฉีดยาเตตร้าไซคลินไฮโดรคลอไรด์เข้ากล้ามเนื้อ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 200-300 มิลลิกรัม และสูงสุด 600 มิลลิกรัมต่อวัน การฉีดเข้ากล้ามเนื้อจะปวดมาก โดยมากจะให้ยาชาโพรเคลน (proclain) ร่วมด้วย

1.2.5.16 ข้อควรระวัง

- ไม่ควรใช้ในผู้ป่วยที่ตับ ไต ทำงานผิดปกติหรือผู้ป่วยโรคเบาหวาน
- ไม่ควรใช้ยาในหญิงตั้งครรภ์ หญิงระยะให้นมบุตร เด็กที่มีอายุต่ำกว่า 8 ปี เพราะยาสามารถถูกสะสมในกระดูกและฟันที่กำลังเจริญเติบโต มีผลทำให้ฟันเกิดสีดำ

ค่า MIC_{90} ของยาเตตร้าไซคลินที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (MIC_{90}) ได้ แสดงดังตารางที่ 1.2 โดยเอ็มไอซี 90 เปอร์เซ็นต์ คือความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าเชื้อได้ 90 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมด

ตารางที่ 1.2 ค่าเอ็มไอซี 90 เปอร์เซ็นต์ (MIC_{90}) ของยาเตตร้าไซคลินต่อเชื้อจุลชีพ [15]

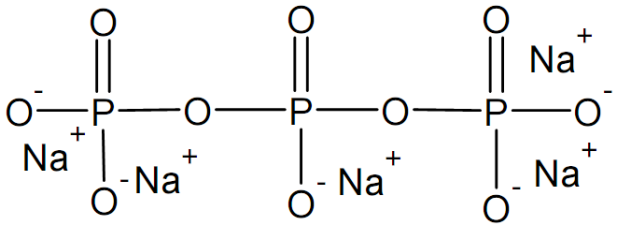
ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย	เอ็มไอซี 90 เปอร์เซ็นต์ของยาเตตร้า-ไซคลิน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
พอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส	1
พรีโวเทลลา อินเตอร์มีเดีย	2
แบคทีรอยตีส ฟอร์ไซทัส	<1
แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมีแทนส์	8
เพปโทเตร็ปโทค็อกคัส (Peptostreptococcus sp.)	8
แอกทิโนไมซีส (Actinomyces sp.)	8

1.2.5.17 ความคงทนของยาเตตร้าไซคลินไฮโดรคลอไรด์

ยาเตตร้าไซคลินสามารถจับตัวกับอนุมูลโลหะที่มีวาเลนซี 2 และ 3 ได้ดี (potent chelators) และสามารถจับกับไฮดรอกซีแอพาไทต์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเตตร้าไซคลิน แคลเซียม-ออร์โทฟอสเฟต ซึ่งจะเห็นเป็นแถบสีเหลืองผ่านแสงฟลูออเรสเซนส์ (fluorescence)

1.2.6 โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (Sodium triphosphate (STPP)) [19]

มีลักษณะเป็นผงสีขาว ไม่มีกกลิ่น สูตรโมเลกุลคือ $Na_5O_{10}P_3$ น้ำหนักโมเลกุล 367.9 มีจุดหลอมเหลว/จุดเยือกแข็ง 622°C ละลายในน้ำ และมีความเป็นด่างที่ pH = 9.7-9.8 มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1.7 ไม่สามารถเข้ากันได้กับสารออกซิไดส์ น้ำ ความชื้น และสารเคมีอันตรายที่เกิดจากการสลายตัวได้แก่ ฟอสฟอรัสออกไซด์ ฟูม/ก๊าซ โลหะออกไซด์

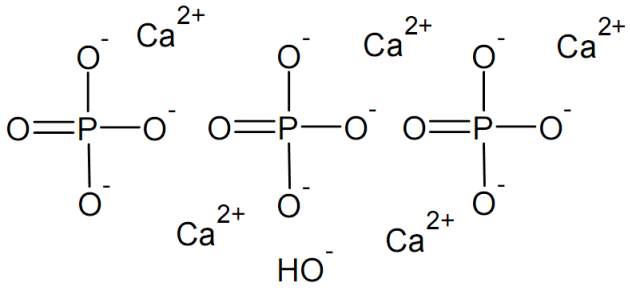


รูปที่ 1.7 โครงสร้างทางเคมีของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (Sodium triphosphate (STPP))

1.2.7 ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (Hydroxyapatites (HA)) [20,21]

กระดูกในร่างกายของมนุษย์ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก ๆ 3 ส่วน ได้แก่ น้ำ คอลลาเจน (collagen) และไฮดรอกซีแอพาไทต์ (hydroxyapatite, HA) โดย HA มีอยู่ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักร่างกาย โดยเฉพาะกระดูกซึ่งเป็นอวัยวะที่มีชีวิต (living organism) ประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นแร่ธาตุ (สารอนินทรีย์) มีในสัดส่วนประมาณ 69 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักกระดูก ประกอบด้วย ไฮดรอกซีแอพาไทต์เป็นหลัก ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่นิยมนำ HA มาใช้เป็นสารทดแทนกระดูกสำหรับส่วนที่เหลือเป็นเนื้อเยื่อเรียกว่า สารอินทรีย์ ประกอบไปด้วยเซลล์ สารจำพวกไขมัน และพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น พอลิแซคคาไรด์ (polysaccharides) คอลลาเจน (collagen) พอลิฟอสเฟต (polyphosphates) เป็นต้น

HA เป็นสารในกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) มีสูตรทางเคมีเป็น $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (รูปที่ 1.8) มีอัตราส่วนโดยโมลของ Ca:P เป็น 10:6 หรือ 1.67:1 น้ำหนักโมเลกุล 502.31 กรัม/โมล จุดหลอมเหลว 1100 ^{o}C เป็นเซรามิกที่ย่อยสลายได้ ถูกนำมาใช้มากที่สุดชนิดหนึ่ง [21,22]



รูปที่ 1.8 โครงสร้างของไฮดรอกซีแอพาไทต์

1.2.7.1 ความสามารถในการละลายของไฮดรอกซีแอพาไทต์

HA สามารถละลายได้ในสารละลายกรด และละลายได้เล็กน้อยในน้ำกลั่นแต่ไม่สามารถละลายได้ในสารละลายอัลคาไลน์ ความสามารถในการละลายในน้ำกลั่นจะเพิ่มขึ้นเมื่อเติมสารอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) ลงไป แต่การละลายของ HA จะเปลี่ยนแปลงเมื่อมีกรดอะมิโน โปรตีน เอนไซม์ และสารอินทรีย์อื่น ๆ อยู่ด้วย สมบัติด้านการละลายนี้สัมพันธ์กับความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) กับเนื้อเยื่อ และปฏิกิริยาเคมีกับสารประกอบอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม อัตราการละลายยังขึ้นอยู่กับความแตกต่างของรูปร่าง ความมีรูพรุน ขนาดผลึก ความ

เป็นผลึก และการเสียรูปเนื่องจากความเครียด (strain defects) เมื่อนำ HA ไปเผาที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ความสามารถในการละลายลดลง สำหรับในเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังนั้น HA จะมีอัตราการละลายประมาณ 0.1 มิลลิกรัม/ปี

1.2.7.2 การประยุกต์ใช้งานของไฮดรอกซีแอพาไทต์

การนำ HA มาใช้ในทางการแพทย์ มีหลายลักษณะแตกต่างกันตามวัตถุประสงค์การใช้งานและสมบัติที่ต้องการ แบ่งได้ดังนี้

ไฮดรอกซีแอพาไทต์แบบผง (Powder hydroxyapatite)

สำหรับใช้เพื่อเคลือบลงบนโลหะ ที่เป็นส่วนประกอบหลักของข้อสะโพกเทียม หรือรากฟันเทียม เพื่อให้โลหะทนทานต่อการกัดกร่อนจากของเหลวภายในร่างกาย และสามารถเกิดการยึดติดระหว่างวัสดุชีวภาพและเนื้อเยื่อหรือกระดูกภายในร่างกายได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังนำไปผสมกับวัสดุชนิดอื่น เช่น พอลิเมอร์เพื่อใช้ทำกระดูกหูเทียม ซึ่งช่วยผู้ป่วยที่สูญเสียการได้ยินให้สามารถได้ยินเสียงดีขึ้น

ไฮดรอกซีแอพาไทต์แบบเป็นชิ้นเนื้อแน่น (Dense hydroxyapatite)

มีสมบัติเชิงกลดีกว่าแบบรูพรุน คือสามารถรับน้ำหนักได้มากกว่า การนำไปใช้งานมักนำไปทดแทนในส่วนกระดูกสันหลังของผู้ป่วย และมีการนำไปใช้เป็นกระดูกเสริมช่องว่างทางด้านศัลยกรรมกระดูกและใบหน้าโดย HA จะเป็นตัวเร่งให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อมาเกาะ และทำให้เกิดการยึดติดได้ดีขึ้น

ไฮดรอกซีแอพาไทต์แบบรูพรุน (Porous hydroxyapatite)

นิยมใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูก เป็นตัวเติมทางด้านศัลยกรรมกระดูกและใบหน้า HA ชนิดนี้มีพื้นที่ผิวมาก เนื่องจากมีรูพรุนสูงจึงมีสมบัติเชิงกลต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับชนิดเนื้อแน่น โดยเฉพาะด้านความแข็งแรง ดังนั้นจึงต้องมีการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของ HA ชนิดนี้ก่อนที่จะนำไปปลูกถ่ายอวัยวะ ซึ่งสามารถทำได้โดยการนำไปทำวัสดุประกอบ (composite)

จากการสำรวจความต้องการจากแพทย์พบว่า HA แบบรูพรุน เป็นที่ต้องการมากที่สุดในขณะนี้ เพื่อใช้เป็นตัวเติมแทนกระดูกของผู้ป่วย สำหรับบริเวณต่าง ๆ ของร่างกายที่มีการสูญเสียกระดูกไม่ว่าจะเนื่องมาจากโรคมะเร็ง การติดเชื้อ หรืออุบัติเหตุก็ตาม โดยอาศัยความเป็นรูพรุนทำให้เซลล์และเลือดนำพาแร่ธาตุต่าง ๆ เข้าไปได้อย่างทั่วถึง ช่วยทำให้เกิดการสร้าง

กระดูกเชื่อมต่อได้ดี ทั้งนี้ การนำไปใช้งานในส่วนใดของร่างกายนั้น ขึ้นอยู่กับลักษณะของการรับน้ำหนักของกระดูกส่วนนั้นด้วย

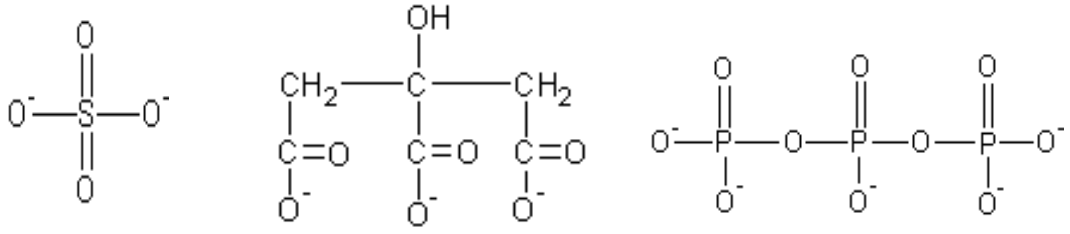
1.2.7.3 ลักษณะการนำวัสดุทางการแพทย์ไปใช้งาน

การนำไปใช้งานในส่วนใดของร่างกายนั้น ขึ้นอยู่กับลักษณะในการรับน้ำหนักของกระดูกในส่วนนั้น โดยทั่วไปลักษณะการนำวัสดุทางการแพทย์ไปใช้งานจะมีลักษณะดังนี้คือ

- วัสดุการแพทย์ที่ใส่เข้าไปในร่างกายจะทำหน้าที่ทดแทนอวัยวะนั้น ๆ โดยไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบเนื้อเยื่อส่วนอื่น ๆ ของร่างกาย
- วัสดุการแพทย์ที่ใส่เข้าไปในร่างกายจะต้องมีส่วนร่วมหรือมีหน้าที่สัมพันธ์กับอวัยวะหรือส่วนต่าง ๆ ที่อยู่ในร่างกาย แต่ต้องไม่เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อในร่างกาย

1.2.8 การเกิดสารเชิงซ้อนของไคโตซานกับพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ (Polyelectrolyte complexation) [23]

ไคโตซานสามารถเกิดเป็นไฮโดรเจล (hydrogels) ซึ่งเป็นโครงข่ายของโมเลกุลขนาดใหญ่ที่เกิดการพองตัวในน้ำหรือของเหลวชีวภาพในร่างกายได้ โครงสร้างของไคโตซานไฮโดรเจลแบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ ไฮโดรเจลเชิงเคมีและไฮโดรเจลเชิงกายภาพ โดยที่ไฮโดรเจลเชิงเคมีจะมีการเชื่อมต่อของโครงข่ายของไฮโดรเจลแบบถาวรด้วยพันธะโควาเลนท์ ซึ่งจะได้ไฮโดร-เจลที่มีความแข็งแรงในเชิงกลและเกิดการละลายได้ยาก ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีความหนาแน่นของประจุบวกที่สูงมากส่งผลให้เกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับสารที่มีประจุลบในตัว เช่น amino acid, pectin, sodium carboxymethyl cellulose เป็นต้น เรียกปฏิกิริยานี้ว่า polyelectrolyte complexation ซึ่งเป็นคำที่ใช้ในกรณีที่ไคโตซานทำปฏิกิริยากับพอลิเมอร์ที่มีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลในช่วงที่กว้างและไม่สามารถระบุน้ำหนักโมเลกุลที่แน่ชัดลงไปได้ แต่ถ้าสามารถระบุน้ำหนักโมเลกุลของสารประจุลบนั้นได้ เช่น ไอออนหรือโมเลกุลที่รู้น้ำหนักแน่นอนจะเรียกปฏิกิริยานี้ว่า ionic cross-linking สารที่ทำปฏิกิริยาด้วยนี้เรียกว่าตัวเชื่อม cross-linker จะมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าพอลิเมอร์ที่เกิดการเชื่อมต่อกัน และมีหมู่ฟังก์ชั่นอย่างน้อย 2 หมู่ ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาและเชื่อมต่อสายพอลิเมอร์ได้ ตัวอย่างตัวเชื่อมที่มีประจุลบ เช่น sulfate, citrate, genipin and tripolyphosphate (TPP) ดังรูปที่ 1.9



sulfate **citrate** **tripolyphosphate**

รูปที่ 1.9 โครงสร้างโมเลกุลของตัวเชื่อมที่มีประจุลบ

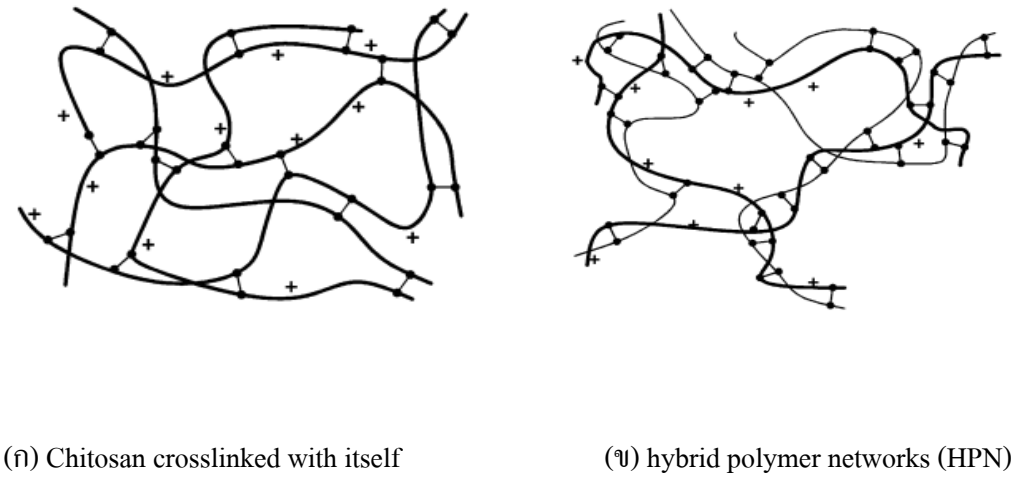
ไฮโดรเจลเชิงเคมีแบ่งได้ 3 ประเภทตามโครงสร้าง ดังรูปที่ 1.10 ได้แก่ ชนิดที่สายไคโตซานเชื่อมกันเอง (chitosan crosslinked with itself) ชนิดลูกผสมที่เกิดจากไคโตซานและพอลิเมอร์อื่น (hybrid polymer networks (HPN)) และชนิดที่มีการเติมพอลิเมอร์ชนิดอื่นลงในสารละลายไคโตซานก่อนที่จะมีการเติมสารเชื่อมลงไป ซึ่งจะทำให้เกิดการเก็บกักพอลิเมอร์ที่ไม่มีการทำปฏิกิริยานี้ไว้ภายใน (semi-interpenetrating network) ในการเตรียมไฮโดรเจลเชิงเคมีที่นิยมใช้กับไคโตซานคือ glutaraldehyde และ glyoxal โดยหมู่ aldehyde จะเกิดพันธะกับหมู่อะมิโนของไคโตซาน แต่ข้อเสียของตัวเชื่อมนี้คือมีความเป็นพิษต่อร่างกาย แม้ว่าจะมีการทำให้ไฮโดรเจลเชิงเคมีมีความบริสุทธิ์ขึ้นก็ตามแต่ก็อาจมีสารตกค้างได้

ไฮโดรเจลเชิงกายภาพจะใช้สารเคมีเพียงไม่กี่ชนิด วิธีการนี้มีข้อดีคือสามารถทำได้ง่ายและไม่มีการใช้ตัวเชื่อมที่อาจเป็นพิษต่อร่างกายเหมือนไฮโดรเจลเชิงเคมี แต่มีข้อจำกัดคือเจลที่ผลิตได้จะไม่แข็งแรง การเพิ่มความแข็งแรงของเจลสามารถทำได้โดยเติมพอลิเมอร์ชนิดอื่นลงไปเกิดไฮโดรเจลชนิด semi-interpenetrating network ขึ้น

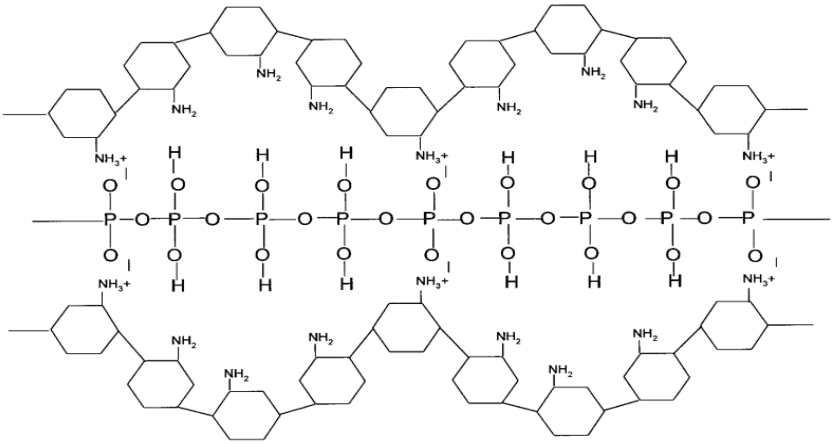
ไฮโดรเจลเชิงกายภาพของไคโตซานสามารถพองตัวได้ แต่ถ้าขั้นตอนการเตรียมไฮโดรเจล มีความหนาแน่นของการเชื่อมโยงโครงสร้างในระดับที่สูงจะส่งผลให้ความสามารถในการพองตัว ค่า pH-sensitivity และการปลดปล่อยตัวยามีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างมีความคงตัวมากขึ้น การพองตัวนี้สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งสภาวะที่เป็นกรดและด่าง การพองตัวเมื่อ pH มีค่าลดลง เกิดจากการที่ความหนาแน่นของประจุของตัวเชื่อมมีค่าลดลง ส่งผลให้ความหนาแน่นในการเชื่อมของโครงสร้างเจลมีค่าลดลงและมีหมู่ ammonium อิสระเพิ่มขึ้นส่งผลให้เกิดแรงผลักกัน ยิ่งถ้าสภาวะแวดล้อมมี pH ลดลงมาก พันธะไอออนิกจะแตกออก และโครงข่ายจะเกิดการละลายและเกิดการปลดปล่อยตัวยาออกมา

การผลิตเม็ดเจลที่อาศัยหลักการของ ionic crosslinking หรือ polyelectrolyte complexation ทำได้โดยหยดสารละลายพอลิเมอร์ผ่านรูเล็ก ๆ ให้ตกลงไปในสารละลายของไอออน

โมเลกุลหรือพอลิเมอร์ที่มีประจุตรงกันข้ามกับสารละลายจะเกิดการเชื่อมกันของพอลิเมอร์ (รูปที่ 1.10) [24]



รูปที่ 1.10 การเกิดเจลของไคโตซาน [23]



รูปที่ 1.11 โครงข่ายการเชื่อมโยงระหว่างไคโตซานและไตรพอลิฟอสเฟต [24]

1.2.9 การส่งยาเฉพาะที่ [25]

กว่าสามทศวรรษที่ผ่านมาได้มีความสนใจในการบริหารของยาปฏิชีวนะเฉพาะที่ในกรณีการติดเชื้อของกระดูก ซึ่งมีข้อได้เปรียบอย่างเห็นได้ชัดถึงระบบนำส่งเฉพาะที่ สำหรับความเข้มข้นที่สูงของยาปฏิชีวนะเฉพาะที่นั้นสามารถบริหารยาโดยตรงไปยังตำแหน่งของการติดเชื้อ โดยปราศจากความเป็นพิษของระบบและยาปฏิชีวนะ เป็นการเพิ่มข้อได้เปรียบเพราะสามารถลดความเสี่ยงของการเกิดแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะได้ นอกจากนี้ระบบดังกล่าวยังทำให้ยาปฏิชีวนะส่งไปถึงบริเวณที่มีเลือดมาเลี้ยงอย่างจำกัด ระดับของยาที่สูงเฉพาะที่นี้อำนวยความสะดวกต่อการส่งยาปฏิชีวนะโดยการแพร่กระจายไปยังบริเวณที่ไร้หลอดเลือดของแผลที่ยาไม่สามารถเข้าถึงได้ นอกจากนี้แบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะจะไวต่อยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของยาเฉพาะสูงขึ้น

การปลูกถ่ายกระดูกนั้นจะมีความได้เปรียบของความสามารถในการนำส่งยาปฏิชีวนะเฉพาะที่ ขณะที่มีส่วนร่วมในกระบวนการเกิดกระดูกใหม่ เป็นการเพิ่มข้อได้เปรียบที่มากกว่าเพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงของการติดเชื้อโรค ในขณะที่การปลูกถ่ายถูกนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาปฏิชีวนะ ซึ่งการใช้ HA เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับการศึกษาอย่างมากเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาสำหรับรักษากระดูกอักเสบ (osteomyelitis**)**

1.2.10 การปลดปล่อยยา (Drug releasing) [26]

ระบบควบคุมการปลดปล่อยยาหมายถึง ระบบที่มีการควบคุมการนำส่งยาโดยนำเทคโนโลยีมาใช้เพื่อทำให้ยาถูกปลดปล่อยและดูดซึมในตำแหน่งที่ต้องการ

มีงานวิจัยและการพัฒนาทางด้านเภสัชกรรมที่จะสร้างวัสดุที่สามารถตอบสนองต่อการรักษาทางการแพทย์ได้ด้วยการใช้ระบบยาที่มีการควบคุมการนำส่งยา (control drug delivery system) ไปยังตำแหน่งที่ต้องการในเวลาที่กำหนดและมีปริมาณที่สามารถรักษาโรคได้ ซึ่งการควบคุมดังกล่าวทำได้โดยควบคุมอัตราเร็ว (rate) และระยะเวลาในการปลดปล่อย (duration) โดยวิธีทางกายภาพ (physical) หรือทางเคมี (chemical) ดังนั้นสมบัติของพอลิเมอร์จึงมีความสำคัญ

พอลิเมอร์เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่าง ๆ กัน สามารถนำมาใช้ในการกำหนดอัตราการปลดปล่อยยาได้ วัสดุที่นำมาใช้อาจเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (hydrophobic) หรือไม่ชอบน้ำ (hydrophilic) ความมีประจุหรือไม่มีประจุและขนาดของโมเลกุลล้วนมีผลต่อการปลดปล่อยยาทั้งสิ้น

1.2.10.1 ตัวควบคุมการปลดปล่อยยา (Control release devices)

1) ตัวกักเก็บ (Reservior devices)

พอลิเมอร์เมมเบรนที่ไม่มีรูพรุน (Nonporous polymeric membrane)

ลักษณะที่ active agent มีภาวะความเข้มข้นอิ่มตัวอยู่ภายใน reservoir และสามารถแพร่ผ่านเนื้อเยื่อที่มีลักษณะเป็น amorphous หรือ homogeneous

เมมเบรนที่มีรูพรุนขนาดเล็ก (Microporous membrane)

ลักษณะที่ active agent จะผ่านมาทางของเหลวที่อยู่ตามรูพรุนของ membrane ที่เป็นพอลิเมอร์มากกว่าตัวพอลิเมอร์เอง

ไมโครเอนแคปซูเลชั่น (Microencapsulation)

ลักษณะที่ตัว active agent จะถูกห่อหุ้มอยู่ภายในพอลิเมอร์ โดยอาจอยู่ในรูปของแข็ง (solid particle) หรือรูปของเหลว (liquid droplets) ตัว active agent จะมีผลต่ออัตราการปลดปล่อย และการปลดปล่อยนั้นมีผลมาจากการกร่อนละลาย (erosion) ของพอลิเมอร์ที่หุ้มอยู่หรืออาจมีผลมาจากการแพร่ผ่านพอลิเมอร์ที่หุ้มอยู่หรืออาจมาจากทั้งการกร่อนและการแพร่

ระบบออสโมซิส (Osmotic pumps)

ลักษณะที่ตัว active agent ส่วนแกนมักเป็นของแข็งและสามารถละลายน้ำได้ ถูกห่อหุ้มไว้ด้วยพอลิเมอร์ที่ให้น้ำสามารถผ่านได้แต่ตัวยาไม่สามารถผ่านได้ โดยยังมีรูเปิดเล็ก ๆ อยู่ เมื่อสัมผัสกับน้ำหรือของเหลวในร่างกาย น้ำสามารถผ่านเข้าไปและละลายออกมาพร้อมกับตัวยาตามรูเปิดเนื่องจาก hydrostatic pressure ที่เกิดขึ้นภายใน

2) ตัวแมทริกซ์ (Matrix devices)

ระบบนี้มี active agent ละลาย (dissolve) หรือกระจาย (disperse) ภายในพอลิเมอร์ การขนส่ง (transport) สารหรือตัวยาจะเกิดโดยเกี่ยวข้องกับขบวนการแพร่ (diffusion) ไปตามส่วนต่าง ๆ ของพอลิเมอร์ สามารถแบ่ง devices ได้ดังนี้

แมทริกซ์ที่ถูกหุ่มด้วยเมมเบรน (Membrane enclosed matrices)

เป็นระบบที่นำแมทริกซ์วางเป็นแกนกลางและล้อมลอบด้วย polymeric membrane

แมทริกซ์ที่เสื่อมทางชีวภาพ (Biodegradable matrices)

ขบวนการเกิด biodegradable เกี่ยวข้องกับการเกิด hydrolysis ของพันธะ covalent เพื่อให้มีการละลายตัวของแมทริกซ์ชิ้นเล็ก ๆ อีกด้านหนึ่งจะมีขบวนการ bioerosion เข้ามาเกี่ยวข้องกับการสลายของแมทริกซ์โดยการละลายของห่วงโซ่แมทริกซ์พอลิเมอร์

สำหรับ biodegradable polymer matrices ที่ active agent มีการกระจายในตัวแมทริกซ์ อัตราการปลดปล่อยสารขึ้นกับอัตราการแพร่หรืออัตราการสลายตัว (degradable) ซึ่งการสลายตัวของพอลิเมอร์สามารถเกิดได้ 2 ขบวนการดังนี้ heterogeneous degradation คือการสลายตัวจะเกิดบริเวณผิวของแมทริกซ์โดยกระบวนการการละลายของแมทริกซ์ โดยที่บริเวณผิวของแมทริกซ์ มีการสลายเร็วกว่าการแพร่ และอีกกระบวนการหนึ่งคือ homogeneous degradation คือการเกิด hydrolysis จะเกิดทั่วทั้งก้อนของแมทริกซ์ ซึ่งขบวนการนี้จะเกิดร่วมกันทั้งการแพร่และการกร่อน (erosion)

เวลาที่ใช้ในการเกิด degradation (biodegradation times) ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น ขนาดน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ พันธะของพอลิเมอร์ (cross-linking) ความพรุน (porosity) พื้นที่ผิวของ device และ reactive group

การปลดปล่อยภายในตัวแมทริกซ์ (Inwardly releasing matrix devices)

รูปทรงของ devices ที่ใช้กันมากคือ ทรงกลม ทรงกระบอก และแผ่นกลม โดยพื้นผิวการปลดปล่อยจะอยู่ภายในแมทริกซ์

แมทริกซ์ที่อาศัยความแตกต่างของสารตัวกลาง (Active agent gradient matrix devices)

เป็นการปลดปล่อยที่อาศัยความเข้มข้นของสารที่ต้องการปลดปล่อย ทำให้มีการแพร่ออกมาจากส่วนแกน (core) ที่มีความเข้มข้นสูงกว่า

แมทริกซ์พอลิเมอร์ที่มีการบวมตัว (Swellable polymer matrix)

มีการปลดปล่อยสารออกมาขณะที่วัสดุที่ใช้เป็นแมทริกซ์มีการบวมน้ำ ซึ่งทำให้ค่าคงที่ของการแพร่ (diffusion coefficient) เพิ่มขึ้นและอัตราการปลดปล่อยลดลงเมื่อเทียบกับ non swelling matrix devices ดังนั้นสามารถปรับระดับและอัตราการบวมน้ำของแมทริกซ์เพื่อให้ได้อัตราการปลดปล่อยที่ต้องการ

3) ระบบนำส่ง (Carrier systems)

ระบบนี้จะมี active agent จับกับ (bound) หรือเป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้างพอลิ-เมอร์ ข้อดีของระบบนี้คือ สามารถลดความเป็นพิษของสารที่เป็น bioactive เพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา (therapeutic efficiency) และเข้าถึงตำแหน่งที่ต้องการได้มากขึ้น พอลิเมอร์ที่ละลายน้ำจับกับสารหรือตัวยาสามารถออกฤทธิ์ได้นานขึ้นเมื่อเทียบกับ free bioactive agent

มีหลายวิธีในการผสม active agent เข้าไปใน polymeric carrier system โดยที่ active agent เปลี่ยนไปเป็น polymerizable moiety และผสมรวมเข้าไปใน main chain ของพอลิ-เมอร์โดยการเกิด homopolymerization หรือการเกิด copolymerization in block โดยที่เป็นแบบ random form หรือบางที active agent อาจถูกผสมเข้าไปในพอลิเมอร์โดยทำปฏิกิริยากับ reactive group ที่อยู่บน side chain หรือ end group ของตัว carrier

1.2.10.2 กลไกควบคุมการปลดปล่อยยา [14,26]

1) ใช้หลักการแพร่ (Diffusion)

การแพร่ผ่านเมมเบรน (membrane permeation-controlled drug delivery system)

ระบบนำส่งยาแบบนี้ตัวยาจะถูกปลดปล่อยโดยอาศัยแรงขับดันทางเทอร์โม-ไดนามิกส์ซึ่งอาศัยความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของยาภายในและภายนอกระบบ ทำให้ยาที่อยู่ในรูปสารละลายแพร่ผ่านเมมเบรนสู่นอกระบบที่มีความเข้มข้นของตัวยาต่ำกว่า โดยตัวยาจะถูกกักเก็บอยู่ในส่วนกักเก็บยา (drug-reservoir) ซึ่งผิวหน้าของส่วนกักเก็บยานี้จะถูกห่อหุ้มด้วยเมมเบรนพอลิเมอร์ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาออกสู่ภายนอก

การแพร่ผ่านแมทริกซ์ (matrix diffusion-controlled drug delivery system)

ระบบนำส่งยารูปแบบนี้มีส่วนกักเก็บยาที่ประกอบด้วยตัวยากระจายเป็นเนื้อเดียวอย่างสม่ำเสมอในสารพอลิเมอร์ ยาถูกปลดปล่อยโดยขบวนการแพร่ของตัวยาผ่านแมทริกซ์ อัตราเร็วในการปลดปล่อยขึ้นอยู่กับรูปร่างของแมทริกซ์

2) ใช้หลักการละลาย (Dissolution)

การละลายของเมมเบรน (membrane dissolution-controlled drug delivery system)

ระบบนี้ตัวยาถูกปลดปล่อยโดยการละลายออกมาอย่างช้า ๆ การควบคุมอัตราเร็วในการละลายนั้นขึ้นกับความหนาและอัตราการละลายของสารเคลือบ

หลักการละลายของแมทริกซ์ (matrix dissolution-controlled drug delivery system)

ระบบนี้ทำโดยการผสมสารพอลิเมอร์ที่สลายได้เข้าไปในยาเม็ด ตัวยาจะละลายออกมาอย่างช้า ๆ พร้อมกับการกร่อน (erosion) ของพอลิเมอร์ โดยอัตราในการปลดปล่อยยาขึ้นกับอัตราการแพร่ผ่านของสารละลายเข้าสู่แมทริกซ์พอลิเมอร์และอัตราเร็วในการเสื่อมสลายของแมทริกซ์พอลิเมอร์ ซึ่งแมทริกซ์ที่ใช้ควรมีสมบัติชอบน้ำ สามารถพองตัวได้ (swell) และเกิดการเสื่อมทางชีวภาพได้

3) ใช้แรงดันออสโมซิส

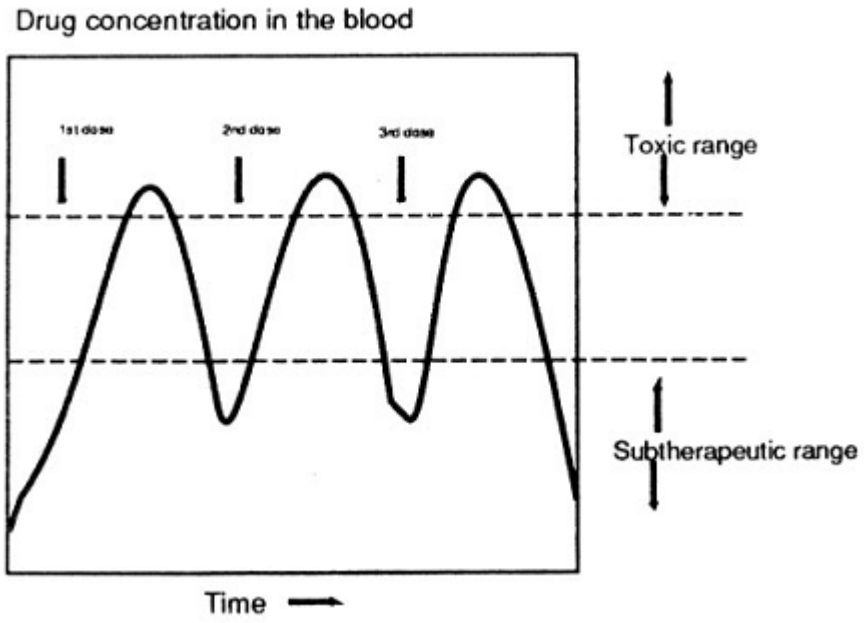
ระบบนำส่งยาแบบนี้อาศัยแรงดันออสโมซิสขับเคลื่อนตัวยาให้ปลดปล่อยออกมาในอัตราเร็วคงที่ ส่วนกักเก็บยา (drug reservoir) จะหุ้มล้อมรอบด้วยเยื่อเลือกผ่านหรือเมมเบรน (semi-permeable membrane) โดยเมมเบรนนี้ไม่ละลายน้ำ และไม่ยืดหยุ่น แต่ยอมให้น้ำซึมผ่านได้

ส่วนเกลือหรือตัวยาไม่สามารถซึมผ่านได้ เมื่อน้ำซึมผ่านเมมเบรนเข้ามาจะละลายเกลือในส่วนกักเก็บยา ทำให้เกิดแรงดันออสโมซิสดันตัวยาในรูปสารละลายผ่านออกมาทางช่องเล็ก ๆ

4) ใช้การแลกเปลี่ยนไอออน

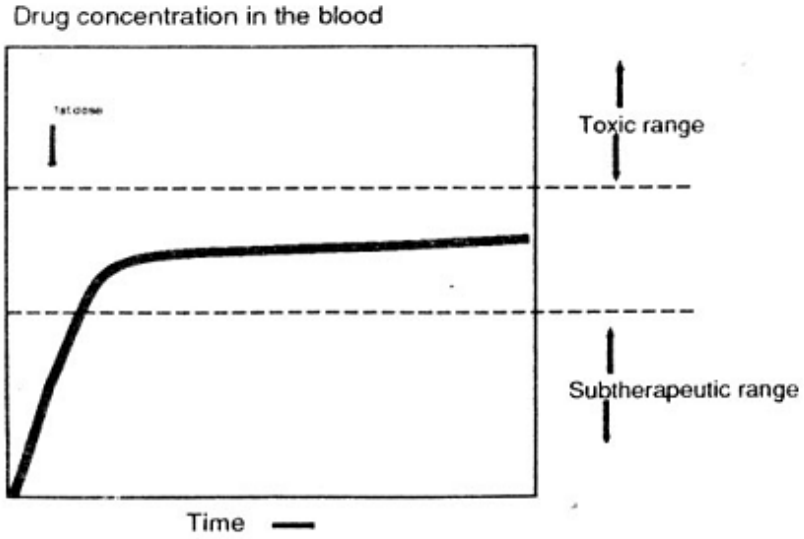
ระบบนี้จะเป็นการใช้เรซินในการแลกเปลี่ยนไอออน มีข้อดีคือ อัตราการปลดปล่อยยาไม่ขึ้นกับค่าความเป็นกรด-ด่าง การมีอยู่ของเอนไซม์ อุณหภูมิ หรือปริมาตรของเหลวในสิ่งแวดล้อม แต่จะขึ้นกับสภาพของไอออนในสิ่งแวดล้อมและสมบัติของเรซิน โดยอัตราการแพร่จะขึ้นกับพื้นที่ผิว ระยะทางในการแพร่ และระดับการเกิดครอสลิ้งก์ของเรซิน

โดยสิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการรักษาโดยใช้ยาคือ ช่วงการรักษา (therapeutic range) และระยะเวลาที่ออกฤทธิ์ (duration action) การควบคุมความเข้มข้นของยาให้อยู่ในช่วงการรักษาอาจทำได้โดยการใช้ยาในขนาดสูง ๆ เพื่อยืดเวลาให้ยาอยู่ในร่างกายได้นานขึ้น แต่วิธีนี้ไม่เหมาะสม เนื่องจากยาอาจเกิดพิษต่อร่างกายได้ ส่วนทางเลือกอื่น ๆ เช่น ให้ยาหลาย ๆ ครั้ง ในขนาดปกติซึ่งจะทำให้ระดับความเข้มข้นของยาอยู่ในช่วงการรักษา โดยระดับจะไม่สม่ำเสมอ แต่จะขึ้น ๆ ลง ๆ เกิดจุดสูงสุดและต่ำสุดเป็นแบบฟันเลื่อยได้ และทุกครั้งที่ให้ยาขนาดต่อไปแก่ผู้ป่วย ปริมาณยาที่ให้เข้าไปใหม่จะไปรวมกับปริมาณที่เหลืออยู่ ซึ่งยังถูกขับออกมาไม่หมด ผลก็คือทำให้เกิดการสะสมของยาในร่างกาย เนื่องจากยาส่วนใหญ่จะสะสมในร่างกายเป็นแบบ first-order ถ้าให้ช่วงเวลาที่เท่า ๆ กัน ระดับความเข้มข้นของยาในร่างกายหลังจากที่มีการให้ยาซ้ำ ๆ กันหลาย ๆ ครั้งจะขึ้น ๆ ลง ๆ อยู่ในช่วงคงที่เรียกว่า steady state ดังแสดงในรูปที่ 1.12 อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อเสียคือ [27] ยาที่มีครึ่งชีวิตในร่างกาย (biological half-life) สั้น ช่วงเวลาของการให้ยาจะต้องสั้นลงไปอีก นั้นหมายถึงการที่ผู้ป่วยจะต้องรับประทานหรือฉีดยาบ่อยครั้งขึ้น และถึงแม้ว่าความเข้มข้นของยาจะอยู่ในช่วงรักษาก็ตาม แต่ก็มีลักษณะที่ขึ้น ๆ ลง ๆ ซึ่งถ้าช่วงของการให้ยายาวเกินไป อาจทำให้ความเข้มข้นของยาออกนอกช่วงการรักษาได้



รูปที่ 1.12 ระดับความเข้มข้นของยาในเลือดเมื่อให้ยาขนาดปกติซ้ำกันหลาย ๆ ครั้ง [27]

ระบบยาทางทฤษฎีนั้น จะสามารถปลดปล่อยยาออกมายังบริเวณอวัยวะเป้าหมาย โดยที่ปริมาณการปลดปล่อยสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามความต้องการของร่างกายในขณะนั้น ปัจจุบันความรู้และวิทยาการเกี่ยวกับระบบนำส่งยายังมีไม่เพียงพอ รวมถึงความเข้าใจเกี่ยวกับความต้องการยาของร่างกายยังไม่ชัดเจน จึงไม่สามารถสร้างระบบนำส่งยาที่สมบูรณ์แบบได้ ระบบยาที่ใช้กันอยู่ ส่วนใหญ่เป็นเพียงสามารถทำให้ยาในกระแสเลือดหรือเนื้อเยื่อ อยู่ในระดับที่คงที่ตลอดช่วงเวลาของการรักษาเท่านั้น (รูปที่ 1.13)



รูปที่ 1.13 ระดับยาในเลือดเมื่อควบคุมการปลดปล่อยยาในแบบอุดมคติ [27]

1.2.11 สมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของยา ที่มีอิทธิพลต่อการออกแบบระบบนำส่งยา [27]

ลักษณะการปลดปล่อยยาจากระบบนำส่งยา และการออกฤทธิ์ของยาในร่างกายล้วนแต่ขึ้นอยู่กับสมบัติของยา สมบัติเหล่านี้บางครั้งก็เป็นอุปสรรคในการผลิตยาในรูปแบบยาออกฤทธิ์เนิ่น ทำให้ผลิตยายากขึ้น ซึ่งจะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไปนี้

ขนาดยา (Dose Size)

ปัญหาที่พบมากคือ ปริมาตรของยาที่ต้องให้ ยาในรูปแบบของแข็งที่ให้โดยการรับประทานมักมีข้อจำกัดด้านปริมาตรที่ผู้ป่วยจะยอมรับได้ พบว่ายาเดี่ยวที่มีขนาดมากกว่า 0.5 กรัม ไม่เหมาะที่จะผลิตในรูปแบบออกฤทธิ์เนิ่น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของตัวยา ระยะเวลาที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์และกลไกการปลดปล่อยยา ปกติการพิจารณาขนาด (dose) แบบง่าย ๆ สามารถดูได้จากเวลาที่ให้ยาแบบธรรมดาและแบบปลดปล่อยอย่างช้า ๆ ตัวอย่างเช่น ยาที่ปกติให้ขนาด 0.5 กรัม วันละ 2 ครั้ง ก็อาจจะให้เป็น 1.0 กรัม เพียงวันละครั้งได้ ในรูปแบบยาออกฤทธิ์เนิ่น โดยที่ยาที่มีขนาด (dose) สูง ๆ นั้น อาจเตรียมในรูปแบบยาน้ำได้ แต่ยาออกฤทธิ์เนิ่นที่ใช้รับประทานในรูปแบบยาน้ำนั้นทำได้ยากมาก อีกวิธีหนึ่งโดยการเลือกให้โดยทางอื่นที่ไม่ใช่การรับประทานเพื่อว่าจะสามารถให้ยาในขนาด (dose) สูง ๆ ได้ ซึ่งปัจจัยอื่นที่มีอิทธิพลต่อขนาด

(dose) เช่น ฤทธิ์ของยา ค่าครึ่งชีวิตในร่างกาย ระยะเวลาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์และการสูญเสียยาในระหว่างทางก่อนเข้าสู่กระแสเลือด

ค่าการละลาย (Solubility)

ค่าการละลายของยาเป็นสิ่งสำคัญมาก ที่บอกถึงลักษณะการออกฤทธิ์ของยาพอ ๆ กับการเตรียมยานั้นในรูปแบบยาออกฤทธิ์เนิ่น โดยทั่วไปแล้วยาที่ละลายน้ำได้ดี ไม่เหมาะที่จะเตรียมในรูปแบบยาออกฤทธิ์เนิ่น เหตุผลสำคัญเนื่องมาจากยามีอัตราเร็วในการละลายสูง ค่าการละลายของยามีส่วนควบคุมการดูดซึมได้ 2 แนวทางคือ

1. อิทธิพลที่มีต่ออัตราเร็วในการละลายของยา ทำให้ความเข้มข้นสูงขึ้น ซึ่งเป็นแรงขับดัน (driving force) ให้ยาผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อได้

2. ผลจากความสามารถของยาที่จะซึมผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อได้เอง ซึ่งบางส่วนถูกกำหนดโดยขีดการละลายของยาในเนื้อเยื่อ ความสามารถของยาในการซึมผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อส่วนใหญ่จะเป็นผลมาจากสัมประสิทธิ์การแบ่งภาค (partition coefficient) ระหว่างน้ำมันกับน้ำ

อย่างไรก็ตามยาที่มีขีดการละลายที่ต่ำเกินไปก็อาจนำมาเตรียมในรูปแบบยาออกฤทธิ์เนิ่นได้ยาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่กลไกของการแพร่เป็นตัวกำหนดการปลดปล่อยยา เพราะแรงขับของการแพร่คือความเข้มข้นของยาในสารละลาย ยาที่ละลายได้น้อยย่อมมีความเข้มข้นต่ำ ทำให้อัตราเร็วในการปลดปล่อยยาออกจากระบบต่ำเกินไป หรือยาที่มีค่าการละลายขึ้นอยู่กับ pH เป็นต้น

สัมประสิทธิ์การแบ่งภาค (Partition Coefficient)

ในช่วงเวลาระหว่างการให้ยาและก่อนที่ยาจะถูกกำจัดออกจากร่างกายนั้น ยาจะต้องผ่านเมมเบรนต่าง ๆ เพื่อที่จะให้ไปถึงบริเวณที่ออกฤทธิ์ และมาตราวัดที่จะบอกถึงความสามารถในการผ่านสิ่งกีดขวางได้ก็คือ สัมประสิทธิ์การแบ่งภาค พบว่าสัมประสิทธิ์การแบ่งภาคมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการซึมผ่านเมมเบรนในช่วงที่กำหนด โดยทั่วไปแล้วยาที่มีค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งภาคสูงจะซึมผ่านเมมเบรนได้ดี แล้วไปสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อ โดยมีการกำจัดออกช้า ๆ หรือไม่ก็สะสมในไขมัน (lipid phase) เนื่องจากยาเมื่อผ่านเนื้อเยื่อจะต้องผ่านสิ่งกีดขวางที่เป็นทั้งน้ำและน้ำมัน ดังนั้นยาที่มีค่าการละลายในน้ำมันสูงอาจเป็นปัญหา เพราะจะสามารถซึมผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ดีจริงแต่ไม่สามารถเคลื่อนที่ต่อไปได้ แต่ถ้ายามีค่าการละลายน้ำสูงก็ไม่เป็นที่ต้องการเช่นกัน เพราะยาไม่สามารถซึมผ่านเมมเบรนได้

ค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัว (pKa)

สมมติฐานในการแบ่งภาคขึ้นกับ pH โดยโมเลกุลของยาในรูปแบบที่ไม่มีประจุ (uncharged form) จะสามารถถูกดูดซึมผ่านเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกายได้ดีกว่า เนื่องจากสัดส่วนระหว่างโมเลกุลที่มีและไม่มีประจุมีความสัมพันธ์กับ pH นอกจากนี้หากความเข้มข้นของยาสูงจะมีแรงดันออสโมซิส (osmotic pressure) เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ซึ่งอาจมีผลต่อการดูดซึมยา โดยที่ pH = 7.4 เป็น pH ทางสรีระที่เหมาะสมกับการทำงานของชีวโมเลกุลต่าง ๆ หมู่ที่มีค่า pKa สูงกว่าค่า pH ทางสรีระมาก ๆ ก็มักจะแตกตัวได้น้อยมาก หรืออาจจะมีประจุบวก ดังนั้นประจุของชีวโมเลกุลจึงอาจเปลี่ยนแปลงตามค่า pH ของสารละลายและค่า pKa ของหมู่ที่แตกตัวได้

ขนาดโมเลกุล (Molecular Size)

โดยทั่วไปอัตราการซึมผ่านของยาผ่านเมมเบรน จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับสองตัวแปรคือ ความแตกต่างของความเข้มข้นภายในเมมเบรน และสัมประสิทธิ์การแพร่ (diffusion coefficient) ของยา ซึ่งสัมประสิทธิ์การแพร่จะบ่งบอกถึงแรงที่ต่อต้านการแพร่ของโมเลกุลผ่านเมมเบรน ผลของตัวกลางที่ยาแพร่ผ่านดูได้จากค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ในตัวกลางต่าง ๆ ขนาดโมเลกุลของยามีบทบาทต่ออัตราเร็วในการซึมผ่านยาด้วย

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.3.1 เพื่อเตรียมเม็ดบีดไคโตซานในการกักเก็บยาเตตร้าไซคลินด้วยการครอสลิ้งก์กับไตร-พอลิฟอสเฟต

1.3.2 เพื่อศึกษาผลของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มีต่อเม็ดบีดไคโตซาน

1.3.3 เพื่อศึกษาอัตราส่วนของไคโตซาน ไตรพอลิฟอสเฟต และไฮดรอกซีแอพาไทต์ ต่อการเกิดเม็ดบีดไคโตซาน

1.3.4 เพื่อศึกษาการปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินจากเม็ดบีดไคโตซาน

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

1.4.1 เตรียมเม็ดบีดไคโตซานโดยวิธีการครอสลิ้งก์กับไตรพอลิฟอสเฟต (TPP)

1.4.1.1 เตรียมเม็ดบีดไคโตซาน

1.4.1.2 เตรียมเม็ดบีดไคโตซานที่ผสม HA (hydroxyapatite)

1.4.1.3 เตรียมเม็ดบีดไคโตซานที่ผสม HA และยาเตตร้าไซคลิน

1.4.2 หาสภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน ได้แก่ อัตราส่วนของไคโตซาน TPP, HA และยาเตตร้าไซคลินที่ใช้ในการเตรียมเม็ดบีด

1.4.3 ทดสอบสมบัติทางกายภาพ

1.4.3.1 ศึกษาโครงสร้างของเม็ดบีดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM)

1.4.3.2 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นของสารองค์ประกอบในเม็ดบีดด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectrometry (FTIR)

1.4.4. ศึกษาการกักเก็บและกลไกการปลดปล่อยของยาเตตร้าไซคลิน จากเม็ดบีดไคโตซาน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1.5.1 ได้เม็ดบีดไคโตซานที่บรรจุยาเตตร้าไซคลินเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาสู่กระดูก

1.5.2 ได้ข้อมูลพื้นฐานของการเตรียมเม็ดบีดไคโตซานและปลดปล่อยยาออกจากเม็ดบีด

1.5.3 สามารถนำข้อมูลจากงานวิจัยนี้ มาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาระบบนำส่งยาทางชีวภาพต่อไป

บทที่ 2

ตรวจสอบเอกสาร

2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

N.G.R.Rao และคณะ (2010) [28] ได้ทำการเตรียมอนุภาคไมโครของไคโตซาน (CS) ที่บรรจุยา aceclofenac โดยวิธีการเกิดเจลระหว่างประจุ และใช้ไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) เป็นตัวเชื่อมขวาง จากการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการบรรจุยาจะลดลงเมื่อเวลาที่ใช้เพื่อการครอสลิ้งก์เพิ่มขึ้น เนื่องจากโอกาสการสัมผัสกันระหว่างโมเลกุลไคโตซานในสารละลายไตรพอลิฟอสเฟตมีสูงกว่า แต่ประสิทธิภาพการบรรจุจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไตรพอลิฟอสเฟตเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเชื่อมขวางของแมทริกซ์พอลิเมอร์ไคโตซานมีความหนาแน่นมากกว่า จากการศึกษาการปลดปล่อยยาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 พบว่ายาถูกปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วในชั่วโมงแรกจากนั้นจะค่อย ๆ ลดลงในช่วงเวลา 7 ชั่วโมง เนื่องจากเกิดการแพร่อย่างรวดเร็วของยา ตรงบริเวณผิวหน้าของอนุภาค ส่วนยาที่อยู่ภายในแมทริกซ์พอลิเมอร์จะถูกปลดปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ จากการเชื่อมขวางที่เกิดขึ้นซึ่งขัดขวางการปลดปล่อยยา อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่ามีอันตรกิริยาระหว่างยาและ พอลิเมอร์เกิดขึ้น

C.Fernando และคณะ (2010) [29] ได้ทำการเตรียมอนุภาคไคโตซาน (CS) ระดับไมโครโดยการครอสลิ้งก์กับสารละลายไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) 10% (w/v) หรือ กลูตารอลดีไฮด์ (GLU) 0.75% (w/w) ที่บรรจุเอ็นไซม์ papain พบว่ารูปแบบการปลดปล่อยของเอนไซม์อยู่ในช่วง 0.006-0.011 มิลลิโมลต่อนาที อนุภาค CS-GLU ระดับไมโครนั้นเป็นรูปทรงสม่ำเสมอ มีลักษณะพื้นผิวที่เรียบกว่าอนุภาคไคโตซานที่ไม่เกิดการครอสลิ้งก์ ส่วนอนุภาค CS-TPP ระดับไมโครมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยรูเล็ก ๆ พบว่าอนุภาคที่เกิดการครอสลิ้งก์มีความเหมาะสมสำหรับการปลดปล่อยที่มีอัตราเร็วในการปลดปล่อยช้า อย่างไรก็ตามอัตราการปลดปล่อยของ papain อาจถูกจำกัดจากการถ่ายโอนมวลของเอ็นไซม์ในอนุภาคไมโครได้ ซึ่งปริมาณของ papain ที่ถูกดูดซับโดยอนุภาค CS-GLU และ CS-TPP เท่ากับ 0.03 และ 0.04 กรัมต่อกรัมของอนุภาคไมโคร พบว่าการครอสลิ้งก์ทั้งสองวิธีมีรูปแบบการปลดปล่อยเอ็นไซม์ที่คล้ายคลึงกัน

M.G.Ahmed และคณะ (2009) [30] ได้ทำการเตรียมฟิล์มไคโตซานที่มียาเตตร้า-ไซคลิน (TC) ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 30% โดยน้ำหนัก โดยวิธีการหล่อ (casting) จากการศึกษาพบว่ายามีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในแมทริกซ์พอลิเมอร์ ซึ่งยาจะถูกปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วในช่วงวันแรก เป็นการระเบิด (burst) ออกมาของตัวยาบริเวณผิวนอกของฟิล์ม และจากการตัดขอบของเมทริกซ์พอลิเมอร์ นอกจากนี้ยังมีการเตรียมฟิล์มไคโตซานที่มียา 30% w/w และครอสลิ้งก์ด้วย GLU 2% เพื่อขยายช่วงเวลาและควบคุมปริมาณการปลดปล่อยยา พบว่าสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้นานถึง 2 วัน

N.Praphairaksit และคณะ (2008) [31] ได้ทำการเตรียมบีดไคโตซานที่ครอสลิ้งก์ด้วยไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) และใช้โซเดียมไดโคลฟีแนคเป็นยาต้นแบบ ศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บยาและลักษณะทางกายภาพของบีดไคโตซาน โดยเปรียบเทียบปริมาณการกักเก็บยาเมื่อเตรียมเม็ดบีดในสัดส่วนไคโตซานต่อไดโคลฟีแนคต่าง ๆ กัน แปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมเม็ดบีด และปรับความเข้มข้นของสารละลาย TPP พบว่าสัดส่วนของไคโตซานต่อยาที่มีประสิทธิภาพการกักเก็บยาสูงสุดคือ 2 ต่อ 1 โดยเตรียมที่อุณหภูมิห้องและครอสลิ้งก์ด้วย TPP ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยพื้นผิวของเม็ดบีดมีลักษณะขรุขระ ภายในเป็นโพรง พื้นผิวภายในมีรูพรุนทั่วไป

E.C.Shen และคณะ (2008) [32] ทำการเตรียมฟองน้ำไคโตซาน (chitosan sponge) โดยมีไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) เป็นตัวเชื่อมขวาง และบรรจุยาเตตร้าไซคลิน (TC) ศึกษาการปลดปล่อยยาออกจากฟองน้ำไคโตซาน โดยแช่ในน้ำกลั่น พบว่ายาถูกปลดปล่อยออกจากฟองน้ำที่มีการเชื่อมขวางตลอดช่วงเวลา 11 วัน ซึ่งนานกว่าการปลดปล่อยออกจากฟองน้ำที่ไม่มีการเชื่อมขวางที่พบในช่วงเวลาเพียง 7 วัน ทั้งนี้เนื่องมาจากอันตรกิริยาระหว่างประจุลบของ TPP และประจุบวกของไคโตซาน ทำให้ช่องว่างภายในฟองน้ำไคโตซานลดลงจึงจำกัดการปลดปล่อยยา นอกจากนี้ยังพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ไม่บุบสลายแม้จะบรรจุยา TC ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น

N.Praphairaksit (2007) [33] ได้เตรียมเม็ดบีดแอลจิเนต-ไคโตซาน โดยหาองค์ประกอบที่เหมาะสมในการเตรียมเม็ดบีดจากสูตรผสมของแอลจิเนตและไคโตซานสำหรับปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลินภายใต้สภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร (pH 1.2 อุณหภูมิ 37^{o}C) โดยเตรียมบีดแอลจิเนต-ไคโตซาน 3 สูตรผสมคือ บีดแอลจิเนต-0.25% ไคโตซาน บีดแอลจิ-เนต-0.5% ไคโตซาน และบีดแอลจิเนต-1% ไคโตซาน ผลการทดลองพบว่าบีดมีการบวมตัวเล็กน้อย การบวมตัวของบีดทั้ง 3 สูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และบีดไม่มีการแตกเมื่อเวลาผ่านไป

24 ชั่วโมง ที่นาทีที่ 10 บีดแอลจิเนต-0.25% ไคโตซานปลดปล่อยยาได้ 80.51 ± 3.40% บีดแอลจิเนต-0.5% ไคโตซานปลดปล่อยยาได้ 73.79 ± 2.10% และบีดแอลจิเนต-1% ไคโตซานปลดปล่อยยาได้ 89.49 ± 1.71% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าบีดแอลจิเนต-0.5% ไคโตซานสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้ดีที่สุด ส่วนประสิทธิภาพในการยึดเกาะเยื่อเมือกพบว่าเปอร์เซ็นต์ที่บีดแอลจิเนต-0.25% ไคโตซานสามารถยึดเกาะเยื่อเมือก = 74.33 ± 5.0% บีดแอลจิเนต-0.5% ไคโตซาน = 80.33 ± 2.2% และบีดแอลจิ-เนต-1% ไคโตซาน = 82.33 ± 1.5% สรุปได้ว่าบีดแอลจิเนต-0.5% ไคโตซานมีสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาอะม็อกซิซิลลินเพื่อใช้รักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร

K.C.Gupta และ F.H.Jabrail (2006) [34] ได้ทำการเตรียมไมโครสเฟียร์จากไคโตซานที่มีระดับ deacetylation ที่ 48, 62 และ 75% พบว่าระดับการเชื่อมขวาง การบวมตัว และลักษณะการปลดปล่อย centchroman ออกจากไมโครสเฟียร์ขึ้นอยู่กับระดับ deacetylation และระดับการเชื่อมขวาง รูปแบบการปลดปล่อย centchroman ออกจากไมโครสเฟียร์ มี 2 ขั้นตอน ในขั้นตอนแรก centchroman ถูกปลดปล่อยแบบระเบิดออกมาอย่างรวดเร็ว ส่วนในขั้นตอนที่สองอัตราการปลดปล่อย centchroman เป็นจลนศาสตร์อันดับศูนย์ นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดของไมโครสเฟียร์ลดลงจาก 110 ไมครอนเป็น 27.28 ไมครอน เมื่อระดับการเชื่อมขวางเพิ่มขึ้นจาก 2 เปอร์เซ็นต์ เป็น 12 เปอร์เซ็นต์ ค่าการบรรจุสารสูงสุดมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับการเชื่อมขวางสูงขึ้น เนื่องจากขนาดรูพรุนลดลง และจากการเพิ่มขึ้นของสมบัติความไม่ชอบน้ำของไมโครสเฟียร์

Z.X.Xue และคณะ (2006) [35] ได้ทำการเตรียมไมโครสเฟียร์ไคโตซานโดยเทคนิคการครอสลิ้งก์ และ water-in-oil emulsion เพื่อบรรจุ Luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) ศึกษารูปร่างลักษณะ ปริมาณความจุน้ำ ความจุของการแลกเปลี่ยนไอออน ผลของขนาดอนุภาค ระดับการเชื่อมขวาง และระดับ deacetylation ของไคโตซาน ที่มีต่อพฤติกรรมการดูดซับและการปลดปล่อย LH-RH ออกจากไมโครสเฟียร์ พบว่าความสามารถในการดูดซับจะเพิ่มขึ้นเมื่อเติมไกลซีนเป็นส่วนผสมในไมโครสเฟียร์ ทั้งนี้เนื่องจากไกลซีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีหมู่ carboxyl ในโมเลกุลจะไปเพิ่มแรงดึงดูดระหว่างไมโครสเฟียร์และสารที่บรรจุอยู่ ทำให้การดูดซับมีค่าสูงขึ้น และยังพบว่าเมื่อเพิ่มระดับการเชื่อมขวางทำให้โครงสร้างมีความคงตัวมากขึ้น แต่ระดับการพองตัว และการปลดปล่อยตัวยาจะมีค่าลดลง

S.Govender และคณะ (2006) [36] ได้ทำการบรรจุยาเตตร้าไซคลิน (TC) ในไมโคร-สเฟียร์ไคโตซานโดยวิธีการก่อเจลแบบอาศัยประจุ พารามิเตอร์ที่ทำการศึกษาได้แก่ รูปแบบเกลือของ

ยา pH ของสารละลายไคโตซาน โครงสร้างไอออนลบ และวิธีการเตรียม โดยพบว่าปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการกักเก็บยาในไมโครสเฟียร์ในส่วนของโครงสร้างไอออนิกจะใช้ sulphate, citrate และ TPP เพื่อทำให้เกิดการครอสลิ้งก์ พบว่าไอออนลบของ citrate ให้ค่าการกักเก็บยามากที่สุด แต่ไมโครสเฟียร์ที่ได้มีรูปร่างไม่เป็นทรงกลม การเตรียมไมโครสเฟียร์ด้วยวิธีที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าวิธีการผสมยากับไคโตซานก่อนการครอสลิ้งก์มีประสิทธิภาพในการบรรจุยาลดลง เนื่องจากไมโครสเฟียร์ที่ได้มีขนาดที่เล็กกว่าวิธีการเติมยาลงในสารละลายไตรพอลิฟอสเฟตที่ใช้ทำการครอสลิ้งก์

D.R.Bhumkar และ V.B.Pokharkar (2006) [37] ได้เตรียมอนุภาคไคโตซานด้วยวิธีการก่อเจลแบบอาศัยประจุ และใช้ไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) เป็นตัวเชื่อม ศึกษาผลของ pH ของสารละลายไคโตซานต่อการเกิด deprotonation ทำการปรับ pH ของสารละลาย TPP ให้เท่ากับ 3 และ 9 จากการศึกษาพบว่าที่ค่า pH ต่ำ ไคโตซานจะถูกครอสลิ้งก์แบบไอออนิกกับ TPP ส่วนที่ค่า pH สูงจะเกิด deprotonation ของไคโตซาน พฤติกรรมการบวมตัวของไคโตซานขึ้นอยู่กับค่า pH ของสารละลาย TPP พบว่าไคโตซานที่ถูกครอสลิ้งก์แบบไอออนิกมีการบวมตัวสูงกว่าการเกิด deprotonation

Y.Boonsongrit และคณะ (2006) [38] ได้เตรียมอนุภาคไมโคร/นาโนไคโตซานที่บรรจุยาอินซูลิน ไดโคลฟีแนค โซเดียม และ salicylic acid โดยวิธีเกิดอันตรกิริยาแบบไอออนิก จากการศึกษาพบว่าจำนวนยาที่ถูกกักเก็บมีอิทธิพลต่อศักย์ซีตาและประจุที่ผิวหน้าของอนุภาคไมโคร ซึ่งประสิทธิภาพที่สูงที่สุดในการกักเก็บไม่ได้เกิดขึ้นในช่วงไอออไนเซชันที่สูงที่สุดของโมเดลยา และสังเกตว่าการปลดปล่อยยาจากอนุภาคไมโคร จะปลดปล่อยยาออกมาแบบระเบิดที่สูง แสดงว่ามีอันตรกิริยาระหว่างยาและไคโตซานต่ำและเป็นระบบควบคุมการปลดปล่อยยาที่มีประสิทธิภาพต่ำ

A.K.Bajpai และ A.Mishra (2005) [39] ได้ทำการบรรจุยาเตตร้าไซคลิน (TC) ในโครงข่ายชนิดสอดประสาน (IPNs) ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และเชื่อมขวางกับ poly(acrylic acid) (PAA) ศึกษาสัดส่วนการปลดปล่อยยา ค่า pH ของสารละลาย และอุณหภูมิของตัวกลางที่ศึกษาการปลดปล่อย และเสนอว่าการดูดซับน้ำจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของ CMC และ PAA เพิ่มขึ้น และยาจะถูกกักเก็บไว้ภายในแมทริกซ์พอลิเมอร์ สัดส่วนการปลดปล่อยของยาจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณยาที่บรรจุลงใน IPNs เพิ่มขึ้น การบรรจุยาในปริมาณที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดแรงผลักภายในแมทริกซ์พอลิเมอร์ส่งผลให้ห่วงโซ่ IPNs คลายตัวออก อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณการบรรจุยาที่สูงกว่า 13.4% (w/w) จะทำให้การปลดปล่อยยาลดลง เนื่องจากการหดตัวของ IPNs ทำให้น้ำแพร่เข้ามาภายใน IPNs ได้น้อยลง ตัวกลางที่เหมาะสมต่อการปลดปล่อยควรมี pH ใกล้ความเป็นกลาง (pH 6.5) นอกจากนี้ยังพบว่าการ

ปลดปล่อยยาขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของตัวกลางด้วย โดยการปลดปล่อยยาจะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น แต่จะลดลงเมื่ออุณหภูมิของตัวกลางสูงกว่า 23°C

Y.Wu และคณะ (2005) [40] ได้ทำการเตรียมอนุภาคนาโนไคโตซานที่บรรจุ ammonium glycyrrhizinate (AGR) โดยวิธีการเกิดเจลระหว่างประจุกับไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) และศึกษาผลของความเข้มข้นของไคโตซาน และ AGR ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของอนุภาคนาโน พบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บจะลดลง เมื่อความเข้มข้นของทั้ง AGR และไคโตซานเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการบรรจุจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ AGR เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีอันตรกิริยาแบบไอออนิกระหว่างกลุ่มคาร์บอกซิลของ AGR และกลุ่มอะมิโนของไคโตซาน การปลดปล่อย AGR ออกจากอนุภาคนาโนมี 2 ขั้นตอนโดยจะปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วในตอนแรกโดยการแพร่ และปลดปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ ในตอนหลัง ซึ่งถูกกำหนดโดยการเสื่อมสลายของแมทริกซ์พอลิเมอร์

P.L.Granja และคณะ (2004) [41] ได้เตรียมไมโครสเฟียร์ของไคโตซาน (CS)-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (HA) และใช้ TPP เป็นตัวเชื่อมขวาง ไมโครสเฟียร์ที่เตรียมขึ้นมี HA ระหว่าง 5-30 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาพบว่าอนุภาค HA กระจายเป็นเนื้อเดียวกันภายในแมทริกซ์พอลิเมอร์ การดูดซับน้ำของไมโครสเฟียร์จะลดลงเมื่อ HA เพิ่มขึ้น การเพิ่มปริมาณ HA ยังช่วยให้การกระจายของขนาดไมโครสเฟียร์เกิดได้ดีขึ้นด้วย ขนาดเพิ่มขึ้น และมีพื้นผิวที่เรียบกว่าที่มีปริมาณ HA น้อย

F.L.Mi และคณะ (2003) [42] ได้เตรียมเจลบีดของไคโตซานโดยใช้ตัวเชื่อม 2 ชนิด คือไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) เป็นตัวเชื่อมไอออนิก และใช้ genipin เป็นตัวเชื่อมขวางทางเคมี จากการศึกษาพบว่ากลไกร่วมของการเชื่อมขวาง TPP/genipin ขึ้นอยู่กับ pH ของสภาวะที่ทำการครอสลิ้งก์ พบว่าในสภาวะกรด (pH 1, 3 และ 5) จะได้รับอิทธิพลจากการครอสลิ้งก์แบบไอออนิกมากกว่า ในขณะที่ในสภาวะที่เป็นกลางหรือเบส จะได้รับอิทธิพลจากการครอสลิ้งก์ทางเคมีมากกว่า สมบัตินอกจากนี้ เช่น การบวมตัว และการย่อยสลายทางชีวภาพของเจลบีดยังขึ้นอยู่กับ pH ของการครอส-ลิ้งก์ร่วมอีกด้วย

X.Z.Shu และ K.J.Zhu (2002) [43] ได้เตรียมบีดของไคโตซาน/เจลาตินโดยวิธีการครอสลิ้งก์ที่อุณหภูมิต่ำระหว่างไคโตซาน/เจลาตินกับซัลเฟต ซิเตรท และไตรพอลิฟอสเฟต (TPP) โดยใช้ไรโบฟลาวิน (riboflavin) เป็นโมเดลยา จากการศึกษาพบว่าบีดซัลเฟต/ไคโตซานและบีดซิเตรท/ไคโตซานมีลักษณะทรงกลมพื้นผิวเรียบและมีโครงสร้างภายในสมบูรณ์ ซึ่งพบว่าขบวนการครอสลิ้งก์

กับประจุลบของซัลเฟตและซิเตรทต่อไคโตซานจะเร็วกว่า TPP เนื่องจากขนาดโมเลกุลที่เล็กกว่า แต่บีด TPP/ไคโตซานจะมีความแข็งแรงทนต่อแรงแตกหักได้มากกว่าประมาณสิบเท่าของบีดซัลเฟต/ไคโตซาน และบีดซิเตรท/ไคโตซาน ซึ่งสมบัติการปลดปล่อยยาของบีดถูกควบคุมโดยอิทธิพลของ pH ของตัวกลางและความแข็งแรงไอออนิกระหว่างประจุลบและไคโตซาน พบว่าบีดซัลเฟต/ไคโตซานและบีดซิเตรท/ไคโตซานจะบวมตัวและแตกตัวในของเหลวจำลองในกระเพาะอาหารและปลดปล่อยยาออกมาภายใน 5 ชั่วโมง ขณะที่ในของเหลวจำลองในลำไส้ บีดก็ยังคงหดตัวและปลดปล่อยยาออกมาอย่างช้า ๆ ภายใน 24 ชั่วโมง เนื่องจากบีด TPP/ไคโตซานปกติจะไม่ไวต่อค่า pH ของตัวกลาง จึงได้ทำการครอสลิ้งก์บีดไคโตซานโดยการรวม TPP กับซิเตรท หรือซัลเฟตเข้าด้วยกัน ซึ่งพบว่าไม่เพียงแต่มีรูปทรงที่ดียังมีการพัฒนาสมบัติการปลดปล่อยยาที่ตอบสนองต่อค่า pH ด้วย โดยอันตรกิริยาของซิเตรทและซัลเฟตกับไคโตซานทำให้บีดเกิดการบวมตัวและปลดปล่อยยา ซึ่งบีด TPP/ไคโตซานไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยาดังกล่าว จึงอาจนำไปใช้ในการขนส่งยาในกระเพาะได้

X.Z.Shu และ K.J.Zhu (2000) [44] ได้พัฒนาความแข็งแรงของบีดไตรพอลิฟอสเฟต (TPP)/ไคโตซานโดยการเตรียมบีดภายใต้การแข็งตัวที่ 4^{o}C และมีเจลาตินร่วมด้วยในสารละลายไคโต-ซาน จากการศึกษาพบว่าโครงสร้างแมทริกซ์พอลิเมอร์ภายในเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอและบีดมีความแข็งแรงมากขึ้นกว่าสิบเท่า นอกจากนี้ยังใช้โซเดียมแอลจิเนตที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับไคโตซานเพื่อฟอร์มฟิลม์พอลิอิเล็กโทรไลต์ (polyelectrolyte) บนผิวบีดเพื่อหน่วงการปลดปล่อยยา โดยโมเดลยาที่ใช้ในการทดลองนี้คือ brilliant blue และ FITC-dextran พบว่าสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้ในสารละลาย (0.9% Nacl, 10 mM PBS pH 7.4) และประสิทธิภาพในการบรรจุยาในบีดมีค่าสูง นอกจากนี้เวลาในการครอสลิ้งก์และค่า pH ของสารละลาย TPP ที่ใช้ในการเตรียมบีดก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดด้วย

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและสารเคมี

3.1.1 ผงไคโตซาน (Chitosan) ที่ผลิตมาจากกระดองปู deacetelation 85% สำหรับเป็นพอลิ-เมอร์ที่ใช้ในการ cross-linking ของเม็ดบีด (Sigma-Aldrich, Japan)

3.1.2 ผงโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (Sodium tripolyphosphate, $Na_5P_3O_{10}$) techn.85% สำหรับเป็นสารที่ใช้เป็น crosslinker ของเม็ดบีด (Sigma-Aldrich)

3.1.3 กรดอะซิติก (Acetic acid, CH_3COOH) สำหรับเป็นตัวทำละลายไคโตซาน และโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (Guangdong Guanghua Chemical Factory Co., Ltd, China)

3.1.4 ผงยาเตตร้าไซคลิน (Tetracycline)

3.1.5 ผงไฮดรอกซีแอพาไทต์ (Hydroxyapatites) สำหรับเป็นสารที่ผสมในเม็ดบีด (Fluka-analytical)

3.1.6 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ใช้ในการทดลองทั้งหมด

3.1.7 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) สำหรับเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Lab-scan: Labscan Asia Co., Ltd., Thailand)

3.1.8 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4) สำหรับเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (PBS) (Univar: Ajax Finechem Pty Ltd., Australia)

3.1.9 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride, KCl) สำหรับเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (PBS) (Seelze-Hannover เกรดวิเคราะห์)

3.1.10 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4) สำหรับเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (PBS) (J.T.Baker: Mallinckrodt Baker, Inc., Phillipsburg, NJ, USA)

3.1.11 กรดไฮโดรคลอริก 6 M (Hydrochloric acid ยี่ห้อ Lab-scan เกรดวิเคราะห์) สำหรับใช้ปรับค่าพีเอช

3.1.12 โซเดียมไฮดรอกไซด์ 6.5 M (Sodium hydroxide, NaOH ยี่ห้อ Lab-scan เกรดวิเคราะห์) สำหรับใช้ปรับค่าพีเอช

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์

3.2.1 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.2 แท่งแม่เหล็กคน (Magnetic bar)

3.2.3 เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer) ยี่ห้อ Harmony รุ่น MGS-1001

3.2.4 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.2.5 เครื่องชั่งสาร (Balance) ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler รุ่น AE 200, ทศนิยม 3 ตำแหน่งยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS 323 S

3.2.6 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 100 มิลลิลิตร

3.2.7 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

3.2.8 หลอดทดลอง (Test tube) ขนาด 15 และ 10 มิลลิลิตร

3.2.9 ปิเปต (Pipette) ขนาด 1, 2 และ 5 มิลลิลิตร

3.2.10 กระบอกฉีดยา (Syringe) พลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร

3.2.11 เข็มฉีดยา (Hypodermic needle) ขนาด 23Gx1" (0.6 x 25 mm)

3.2.12 เครื่องยูวี-วิส สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer) ยี่ห้อ Hewlett รุ่น HP 8453

3.2.13 เครื่องทำแห้ง (Freeze-dryer) ยี่ห้อ FTS Systems รุ่น Flexi-Dry

3.2.14 กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscpoe, SEM) ยี่ห้อ FEI รุ่น Quanta 400 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3.2.15 เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrometry, FTIR) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Spectrum one ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์

3.2.16 เครื่องวัดค่าพี-เอช (pH Meter) ยี่ห้อ Schott รุ่น CG-842

3.2.17 เครื่องเขย่าสาร (Vortex-2 Genie) ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G-560E

3.2.18 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Hettich รุ่น D-7200 tuttlingen

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 เตรียมเม็ดบีดด้วยวิธีการครอสลิ้งก์

3.3.1.1 เตรียมเม็ดบีดไคโตซาน (CS)

- เตรียมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.3, 0.5, 0.7 และ 1% w/v ตามลำดับ โดยนำไคโตซานละลายในกรดอะซิติก (3% v/v) คนด้วยแท่งคนแม่เหล็กจนกระทั่งไคโตซานละลายหมด

- เตรียมสารละลาย TPP ที่ความเข้มข้น 0.4, 0.7 และ 1% w/v ตามลำดับในสารละลายในกรดอะซิติก (3% v/v)

- ทำการครอสลิ้งก์โดยบรรจุสารละลายไคโตซานลงในกระบอกฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร ต่อเข้ากับเข็มฉีดยาเบอร์ 23 ค่อย ๆ หยดลงไปในสารละลาย TPP (รูปที่ 3.1) ซึ่งทำการเตรียมที่อัตราส่วนต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.1

- หลังจากตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการครอสลิ้งก์อย่างสมบูรณ์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณภูมิห้อง ล้างบีดไคโตซานที่ได้ ด้วยน้ำปราศจากไอออนจน pH เป็นกลาง และทำแห้งด้วยเครื่อง freeze drying

รูปที่ 3.1 การเตรียมเม็ดบีดไคโตซานโดยวิธีการครอสลิ้งก์กับ TPP

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนระหว่างสารละลายไคโตซานและสารละลาย TPP ที่ใช้ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน

อัตราส่วนที่ใช้เตรียมเม็ดบีดไคโตซาน*		
ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน (%w/v)	**ความเข้มข้นของสารละลาย TPP (%w/v)**	**CS:TPP (w/w)**
0.3	0.4	1:4
	0.7	1:7
	1	1:10
0.5	0.4	1:1.4
	0.7	1:4.2
	1	1:6
0.7	0.4	1:17
	0.7	1:3
	1	1:4.28
1	0.4	1:1.2
	0.7	1:2.1
	1	1:3

* อัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่างสารละลายไคโตซานและสารละลาย TPP ควบคุมให้คงที่ที่ 100 มิลลิลิตร/300 มิลลิลิตร

3.3.1.2 เตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)

- เตรียมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.7, 1 และ 1.5% w/v ตามลำดับ เช่นเดียว กับข้อ 3.3.1.1

- เติมผงไฮดรอกซีแอพาไทต์ลงในสารละลายไคโตซานที่เตรียมไว้โดยคงปริมาตรของสารละลายไคโตซานให้คงที่ที่ 100 มิลลิลิตร และเพิ่มปริมาณไฮดรอกซีแอพาไทต์ตามตารางที่ 3.2

- ทำการหยดสารผสมไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ ลงในสารละลาย TPP ตามที่แสดงในขั้นตอน 3.3.1.1 โดยควบคุมปริมาตรของสารละลาย TPP ให้คงที่ที่ 300 มิลลิลิตร

- หลังจากตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ล้างเม็ดบีด และทำแห้งด้วยวิธี freezy drying

ตารางที่ 3.2 อัตราส่วนต่าง ๆ ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์

ความเข้มข้นสารละลายไคโตซาน * (%w/v)	**ปริมาณ HA (กรัม)**	**ความเข้มข้นสารละลาย TPP * (%w/v)**	**CS:HA:TPP (w/w/w)**
0.7	10	1	1:14.3:4.28
	20		1:28.6:4.28
1	10	0.7	1:10:2.1
	20		1:20:2.1
	10	1	1:10:3
	20		1:20:3
1.5	30	1	1:20:2
	40		1:26.6:2

* อัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่างสารละลายไคโตซานและสารละลาย TPP ควบคุมให้คงที่ที่ 100 มิลลิลิตร/300 มิลลิลิตร

จากการเตรียมเม็ดบีดที่สัดส่วนต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 พบว่าสัดส่วนที่ทำให้เม็ดบีดมีความแข็งแรงและมีลักษณะเป็นเม็ดกลมดี คือสัดส่วนไคโตซาน:ไฮดรอกซีแอพาไทต์:ไตรพอลิฟอสเฟตเท่ากับ 1:26.6:2 โดยน้ำหนัก ซึ่งจะใช้เป็นสัดส่วนในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลินในขั้นตอนต่อไป

3.3.1.3 เตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน (CS-HA-TC) ที่ผสมผงยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน

- เตรียมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 1.5% w/v เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.1

- เติมผงไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ผสมกับยาเตตร้าไซคลินลงในสารละลายไคโตซานที่เตรียมไว้ โดยคงปริมาตรของสารละลายไคโตซานให้คงที่ที่ 100 มิลลิลิตร และเพิ่มปริมาณไฮดรอกซีแอพาไทต์กับยาเตตร้าไซคลินตามตารางที่ 3.3

- ทำการหยดสารผสมไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน ลงในสารละลาย TPP ตามที่แสดงในขั้นตอน 3.3.1.1 โดยควบคุมปริมาตรของสารละลาย TPP ให้คงที่ที่ 300 มิลลิลิตร

- หลังจากตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ล้างเม็ดบีด และทำแห้งด้วยวิธี freezy drying

ตารางที่ 3.3 อัตราส่วนต่าง ๆ ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน โดยผสมผงยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน

CS:HA:TPP (w/w/w)	ปริมาณยาเตตร้าไซคลินที่เติม (กรัม)	CS:HA:TPP:TC (w/w/w/w)
1.5:40:1	5	1:26.6:2:3.3
	10	1:26.6:2:6.6
	20	1:26.6:2:13.3

3.3.1.4 เตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน (CS-HA-TC) ที่ผสมผงยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA

- เตรียมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 1.5% w/v เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.1

- เติมผงยาเตตร้าไซคลินลงในสารละลายไคโตซานที่เตรียมไว้ โดยคงปริมาตรของสารละลายไคโตซานให้คงที่ที่ 100 มิลลิลิตร คนจนกระทั่งผงยาละลายจนหมดในสารละลาย ไคโต-ซาน จากนั้นจึงค่อยเติมผง HA ลงในสารละลายดังกล่าวข้างต้น และเพิ่มปริมาณไฮดรอกซีแอ-พาไทต์กับยาเตตร้าไซคลินตามตารางที่ 3.4

- ทำการหยดสารผสมไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน ลงในสารละลาย TPP ตามที่แสดงในขั้นตอน 3.3.1.1 โดยควบคุมปริมาตรของสารละลาย TPP ให้คงที่ที่ 300 มิลลิลิตร

- หลังจากตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ล้างเม็ดบีด และทำแห้งด้วยวิธี freezy drying

ตารางที่ 3.4 อัตราส่วนต่าง ๆ ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน โดยผสมผงยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA

CS:HA:TPP (w/w/w)	ปริมาณยาเตตร้าไซคลินที่เติม (กรัม)	CS:HA:TPP:TC (w/w/w/w)
1.5:40:1	2.5	1:26.6:2:1.6
	5	1:26.6:2:3.3
	10	1:26.6:2:6.6

3.3.1.5 เตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน (CS-HA-TC) ที่ดูดซับสารละลายยาโดยใช้ความดันสุญญากาศ

- เตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA) ที่อัตราส่วน CS:HA:TPP = 1:26.6:2 w/w/w เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.2

- ละลายยาเตตร้าไซคลินในน้ำกลั่น และเพิ่มปริมาณยาเตตร้าไซคลินตามตารางที่ 3.5

- นำเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA) ที่เตรียมได้ดังกล่าวแช่ในสารละลายยาที่เตรียมไว้ แล้วนำไปอบสุญญากาศเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

- หลังจากอบด้วยสุญญากาศแล้ว ทำแห้งด้วยวิธี freezy drying

ตารางที่ 3.5 อัตราส่วนต่าง ๆ ในการเตรียมเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน โดยดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ

CS:HA:TPP (w/w/w)	ปริมาณยาเตตร้าไซคลินที่เติม (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	CS:HA:TPP:TC (w/w/w/w)
1.5:40:1	5	1:26.6:2:0.33
	10	1:26.6:2:0.6
	15	1:26.6:2:1

3.3.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน phosphate buffer saline (PBS)

สารละลาย PBS ปริมาตร 1 ลิตร ประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 80 กรัม ไดโซเดียม-ไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 14.4 กรัม โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 2 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจน-ฟอสเฟต (KH_2PO_4) 2.4 กรัม โดยทำการละลายสารทั้ง 4 ชนิด ในน้ำกลั่นปริมาตรประมาณ 800 มิลลิลิตร ปั่นกวนจนละลายหมด ทำการปรับค่า pH ให้ได้เท่ากับ 7.4 จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

3.3.3 การศึกษาการบวมตัวของเม็ดบีด

ชั่งน้ำหนักเม็ดบีดที่เตรียมได้ก่อนแช่สารละลาย PBS (น้ำหนักแห้ง) จากนั้นนำไปแช่ในสารละลาย PBS ให้สารละลายท่วมเม็ดบีด แล้วแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน โดยจะทำการชั่งน้ำหนักเม็ดบีดที่แช่สารละลาย PBS (น้ำหนักเปียก) ตามช่วงเวลาดังนี้คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน ตามลำดับ และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบวมตัวได้จากสูตร

$$\%\text{Swelling} = \frac{\text{น้ำหนักเม็ดบีดหลังแช่} - \text{น้ำหนักเม็ดบีดก่อนแช่}}{\text{น้ำหนักเม็ดบีดก่อนแช่}} \text{ x } 100$$

3.3.4 การหาประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (entrapment efficiency) ของเม็ดบีดที่เตรียมได้

- ชั่งเม็ดบีดที่เตรียมได้ประมาณ 2.7 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ทำการบดเม็ดบีดให้แตกละเอียดเป็นผงด้วยแท่งแก้วคน

- เติมกรดอะซิติก (3% v/v) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองดังกล่าว นำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex เพื่อให้ยาเตตร้าไซคลินละลายออกมา

- นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายใสส่วนบนปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยกรดอะซิติก (3% v/v) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตรวจวัดความเข้มข้นของยาเตตร้าไซคลินด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณยาที่กักเก็บไว้ในเม็ดบีด (%entrapment efficiency) ตามสมการ

$$\%\text{entrapment efficiency} = \frac{\text{ปริมาณยาที่มีจริงในเม็ดบีด}}{\text{น้ำหนักเม็ดบีด}} \times 100$$

3.3.5 ศึกษาการปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินจากเม็ดบีดที่เตรียมได้

- ชั่งเม็ดบีดที่เตรียมได้ประมาณ 2.7 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร

- เติมสารละลาย PBS ปริมาตร 2 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองดังกล่าว (รูป 3.2) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดตามช่วงเวลาดังนี้คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน เมื่อครบกำหนดแต่ละช่วงเวลาดูดสารละลายมาวิเคราะห์หาปริมาณยาเตตร้าไซคลินด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร (A_1^1 = 417a, absorbence 417 มีความเข้มข้นยาเตตร้าไซคลิน 1 กรัม/100 มิลลิลิตร) คำนวณปริมาณยาและเปอร์เซ็นต์ของยาที่ถูกปลดปล่อยออกมาตามช่วงเวลาที่กำหนดดังกล่าว พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยาที่ถูกปลดปล่อยตามช่วงเวลา และระหว่างเปอร์เซ็นต์ของยาที่ถูกปลดปล่อยตามช่วงเวลาตามลำดับ

รูปที่ 3.2 การแช่เม็ดบีดในสารละลาย PBS เพื่อศึกษาการปลดปล่อยยาในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน

3.3.6 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.3.6.1 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของเม็ดบีด

3.3.6.1.1 หาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเกิดเม็ดบีดไคโตซาน เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยเครื่อง SEM

3.3.6.1.2 หาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเกิดเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ และศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยเครื่อง SEM

3.3.6.1.3 หาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเกิดเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-เตตร้าไซคลิน และศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยเครื่อง SEM

3.3.6.1.4 สังเกตลักษณะทางกายภาพของเม็ดบีดหลังการแช่ในสารละลาย PBS ด้วยเครื่อง SEM

3.3.6.2 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นของสารองค์ประกอบในเม็ดบีด

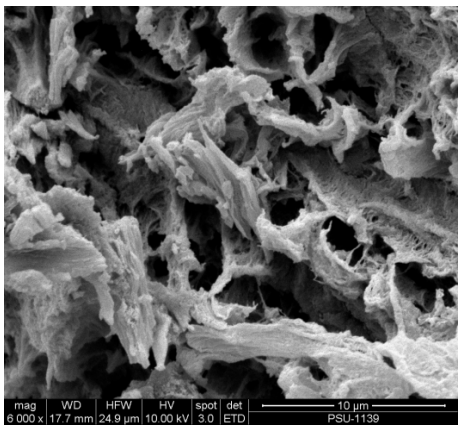
วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ โดยหลักการ Fourier transform infrared spectrometry (Spectrum One FTIR Spectrometer (Perkin Elmer)) ของภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยบันทึก FTIR สเปกตรัมในช่วง 4000-500 cm^{-1}

บทที่ 4

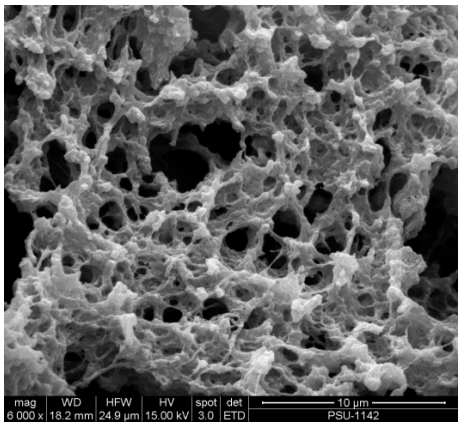
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 หาอัตราส่วนระหว่างไคโตซานและ TPP ที่เหมาะสมในการเกิดครอสลิงก์เพื่อเตรียมเม็ดบีด

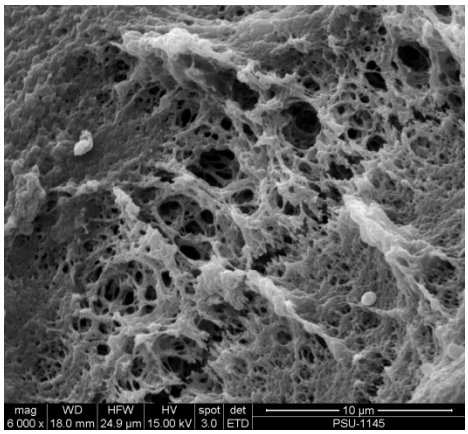
ทำการเตรียมเม็ดบีดไคโตซานเพื่อศึกษาความเหมาะสมในการครอสลิงก์ โดยได้ทำการเปลี่ยนความเข้มข้นของไคโตซานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.3, 0.5, 0.7 และ 1% (w/v) และความเข้มข้นของ TPP ได้แก่ 0.4, 0.7 และ 1% (w/v) ในกรดอะซิติกความเข้มข้น 3% (v/v) ตามลำดับ เพื่อทำให้เกิดการครอสลิงก์ โดยใช้ปริมาตรไคโตซานต่อปริมาตร TPP ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 3 และศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 4.1) พบว่าเมื่อปริมาณไคโตซานเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ความหนาแน่นในการเชื่อมขวางเพิ่มขึ้น สังเกตได้จากรูป 4.1 (ก) และ (ค) อีกทั้งยังพบว่า TPP ที่เพิ่มขึ้นยังส่งผลให้ความหนาแน่นในการเชื่อมขวางเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน สังเกตได้จากรูป 4.1 (ข) และ (ค) ซึ่งจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไคโตซานและ TPP พบว่าที่ CS:TPP = 1:3 (w/w) จะมีโครงสร้างการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานและ TPP ที่หนาแน่นกว่า CS:TPP = 1:4.28 และ 1:2.1 (w/w) เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีหมู่อะมิโน ($-NH_2$) จำนวนมากแตกตัวเป็นประจุบวก ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยาแบบไอออนิกกับไอออนประจุลบฟอสเฟต (PO^{3-}_4) ของ TPP [35] ทั้งนี้การเพิ่มความเข้มข้นของไคโตซานและ TPP จะมีจำนวนไอออน NH_3^+ และไอออน $P_3O_{10}^{5-}$ ที่แตกตัวเพิ่มขึ้นตามลำดับ ส่งผลให้อัตรกิริยาระหว่างไอออนเกิดขึ้นได้มากจึงรวมตัวกันเป็นโครงสร้างที่หนาแน่นกว่า [31]



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.1 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงลักษณะโครงร่างสัณฐานของเม็ดบีดไคโตซานที่กำลังขยาย 6000 เท่า (ก) CS:TPP = 0.7:1 %w/v (1:4.28 (w/w)) (ข) CS:TPP = 1:0.7 %w/v (1:2.1(w/w)) (ค) CS:TPP = 1:1 %w/v (1:3 (w/w))

4.2 หาอัตราส่วน HA ที่เหมาะสมในการเตรียมเม็ดบีด

ทำการเตรียมเม็ดบีดไคโตซานที่เติมไฮดรอกซีแอพาไทต์ลงไปด้วยเพื่อหาอัตราส่วนของ HA ที่เหมาะสม โดยสามารถฟอร์มเป็นเม็ดบีดได้ ด้วยการเติมผง HA ในปริมาณ 10-40 กรัมลงในสารละลายไคโตซานปริมาตร 100 มิลลิลิตรที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันคือ

0.7, 1 และ 1.5%w/v ตามลำดับ และใช้ความเข้มข้นของ TPP ที่ 1%w/v เพื่อทำให้เกิดการครอสลิงก์ ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณ HA เข้าไปในขั้นตอนการครอสลิงก์ จะทำให้เม็ดบีดที่เตรียมได้มีความเป็นทรงกลม ขนาดเม็ดบีดที่ได้ จะมีขนาดเฉลี่ยอยู่ที่ 2 มิลลิเมตร และมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นดังแสดงในรูปที่ 4.2 จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 4.3) พบว่าเมื่อปริมาณ HA เพิ่มขึ้นจะทำให้เม็ดบีดที่ได้มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น สังเกตได้จากภาพตัดขวางของเม็ดบีด (รูปที่ 4.3 (ก) (ค) และ (จ)) นอกจากนี้ยังพบว่าอนุภาค HA ฝังตัวในแมทริกซ์พอลิเมอร์ไคโตซานโดยกระจายตัวเป็นอย่างดี ขนาดรูพรุนภายในโครงสร้างแมทริกซ์พอลิเมอร์ของเม็ดบีดมีขนาดลดลงเมื่อปริมาณ HA เพิ่มขึ้น [41] (รูปที่ 4.3 (ข) (ง) และ (ฉ)) ทั้งนี้พบว่าสัดส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมเม็ดบีดที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไปคือ CS:HA:TPP = 1:26.6:2 (w/w/w)

(ก)

(ข)

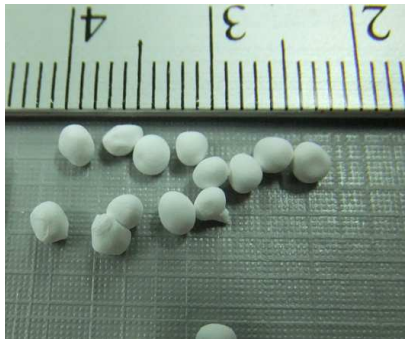
(ค)

(ง)

(จ)

(ฉ)

(ช)



(ซ)

รูปที่ 4.2 เม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ปริมาณต่าง ๆ

(ก) CS:HA:TPP = 1:14.3:4.28 (w/w/w)

(ข) CS:HA:TPP = 1:28.6:4.28 (w/w/w)

(ค) CS:HA:TPP = 1:10:2.1 (w/w/w)

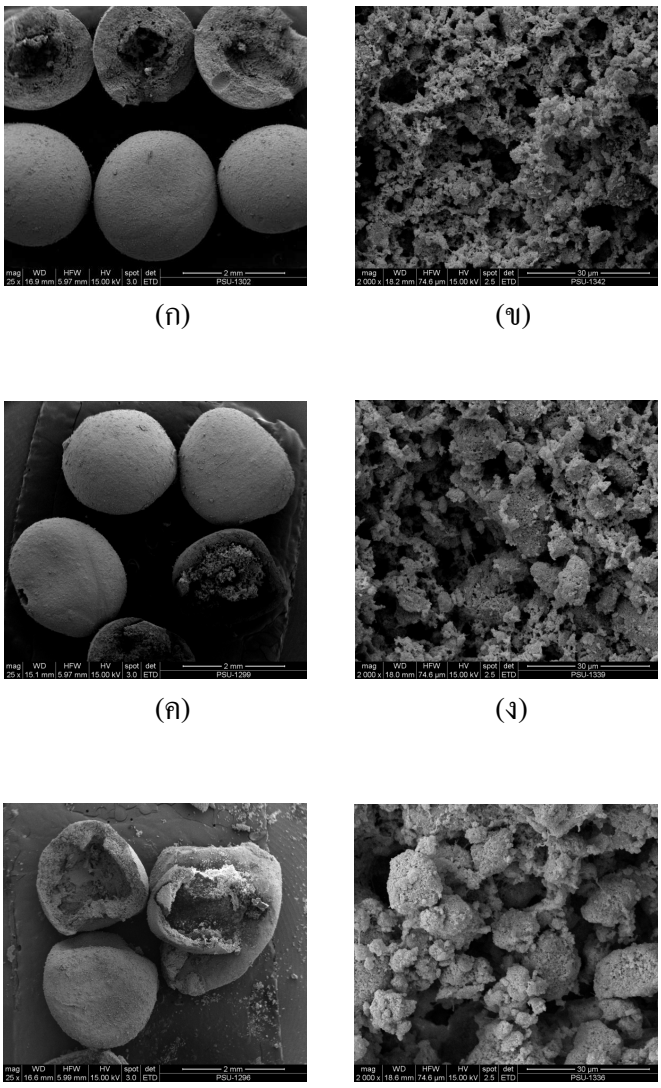
(ง) CS:HA:TPP = 1:20:2.1 (w/w/w)

(จ) CS:HA:TPP = 1:10:3 (w/w/w)

(ฉ) CS:HA:TPP = 1:20:3 (w/w/w)

(ช) CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w)

(ซ) CS:HA:TPP = 1:26.6:2 (w/w/w)



(ก) (ข)

(ค) (ง)

(จ) (ฉ)

รูปที่ 4.3 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงลักษณะโครงร่างสัณฐานของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สัดส่วนต่าง ๆ

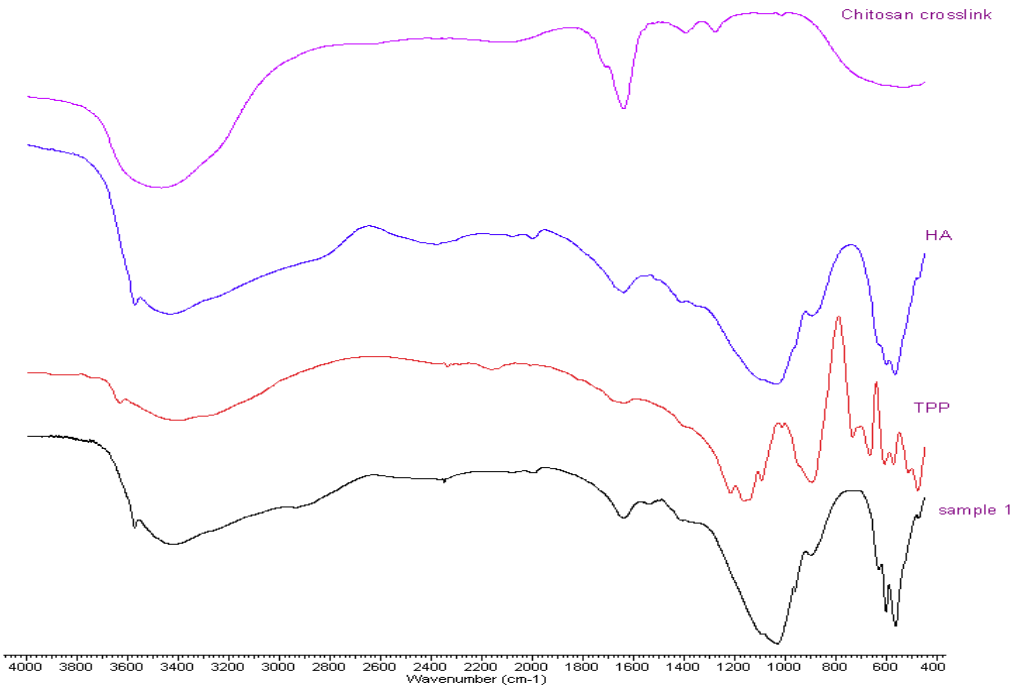
CS:HA:TPP = 1:26.6:2 (w/w/w) (ก) ภาพเม็ดบีดและภาพตัดขวาง (ข) ภาพโครงสร้างภายในเม็ดบีดกำลังขยาย 2000 เท่า

CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w) (ค) ภาพเม็ดบีดและภาพตัดขวาง (ง) ภาพโครงสร้างภายในเม็ดบีดกำลังขยาย 2000 เท่า

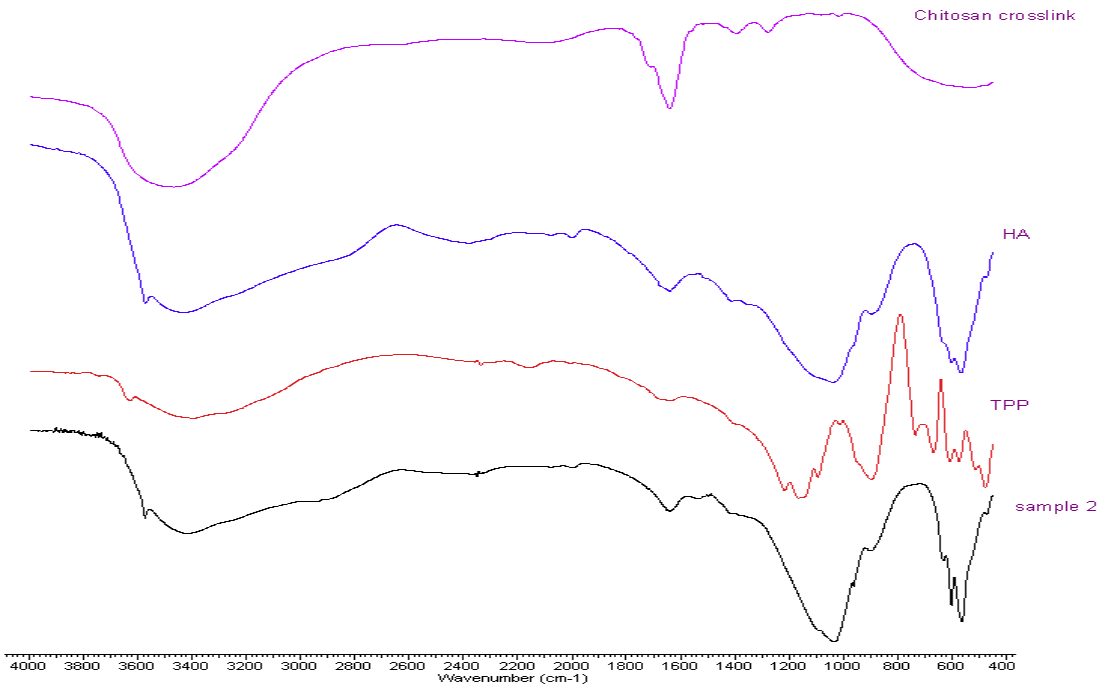
CS:HA:TPP = 1:20:2.1 (w/w/w) (จ) ภาพเม็ดบีดและภาพตัดขวาง (ฉ) ภาพโครงสร้างภายในเม็ดบีดกำลังขยาย 2000 เท่า

4.3 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ โดยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrometry

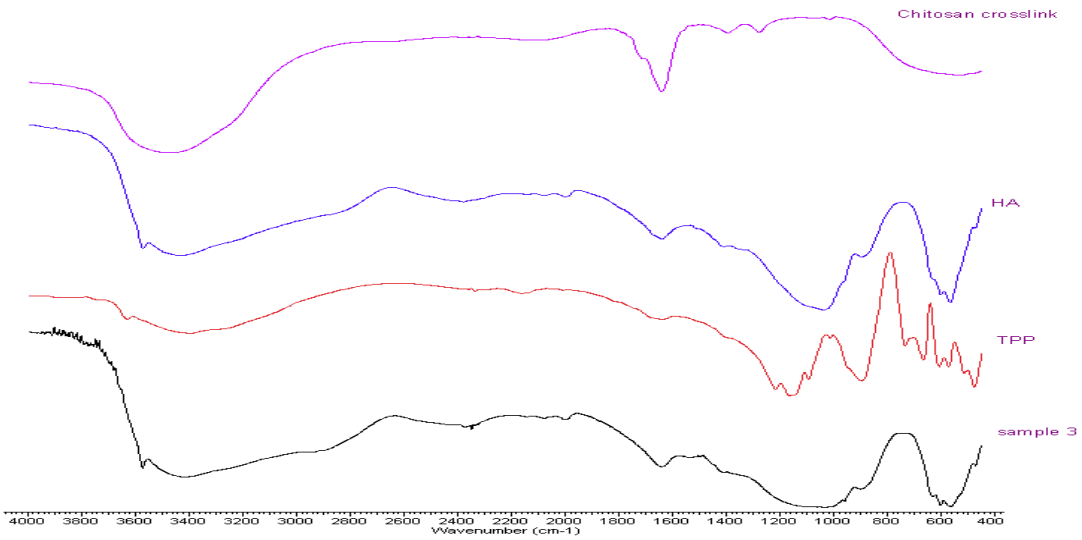
จากการวิเคราะห์เม็ดบีดโดยเทคนิค FTIR พบว่าไคโตซานครอสลิงก์ (รูปที่ 4.4-4.6) มีแถบดูดกลืนแสงจากการยืดของพันธะ $–NH_2$ และ O-H ที่ 3466 cm^{-1} และปรากฏแถบดูดกลืนของพันธะ amide I ที่ 1656 cm^{-1} และ amide III ที่ 1321 cm^{-1} ซึ่งเป็นพันธะที่แสดงลักษณะเด่นของไคโตซาน [41] แสดงว่าสัดส่วนของไคโตซานที่ใช้ในการครอสลิงก์มีมากพอ ซึ่งเมื่อเกิดครอสลิงก์จะไม่ปรากฏแถบดูดกลืนที่ 1155 cm^{-1} ซึ่งเป็นแถบที่แสดงแถบดูดกลืนแสงของพันธะ P=O ใน TPP [37] แสดงให้เห็นถึงการครอสลิงก์กันระหว่างไอออนฟอสฟอริกใน TPP และไอออนแอมโมเนียมในไคโตซาน เมื่อทำการเพิ่ม HA ในโครงสร้าง (รูปที่ 4.4-4.6, sample 1-3) พบว่าแถบดูดกลืนของพันธะ amide I ที่ 1656 cm^{-1} ของไคโตซานลดลงและปรากฏแถบการดูดกลืนที่เหมือนกับ HA โดยเฉพาะแถบการดูดกลืนของหมู่ฟอสเฟตที่ปรากฏชัดเจนขึ้น แสดงถึงการเกิดการซ้อนของพีคของ HA บนแถบดูดกลืนแสงของไคโตซาน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า HA ไม่ได้เกิดการครอสลิงก์ด้วยเพียงแต่แทรกตัวในโครงสร้างแมทริกซ์พอลิเมอร์ของไคโตซานครอสลิงก์ พันธะที่แสดงแถบดูดกลืนแสงของไฮดรอกซีแอพาไทต์ใน sample 1-3 คือพันธะ O-H ที่ 3572 และ 632 cm^{-1} [45] และการยืดของพันธะของหมู่ฟอสเฟต ที่ประมาณ 906-1089 cm^{-1} แถบดูดกลืนแสงเนื่องจากการงอของพันธะของหมู่ฟอสเฟตที่ประมาณ 601 และ 571 cm^{-1} และพบว่าพีคของ sample 3 ในช่วง 900-1200 cm^{-1} จะมีลักษณะที่กว้างขึ้นเมื่อเทียบกับพีคของ sample 2 และ sample 1 ซึ่งมีสเปกตรัมคล้ายกัน (รูปที่ 4.7) แสดงให้เห็นถึงสัดส่วนไคโตซานและ TPP ที่ใช้ในการเกิดครอสลิงก์ที่มีมากเกินพอ จึงปรากฏพีคของ HA ไม่ชัดเจนเพราะไคโตซานครอสลิงก์ปกคลุมเอาไว้



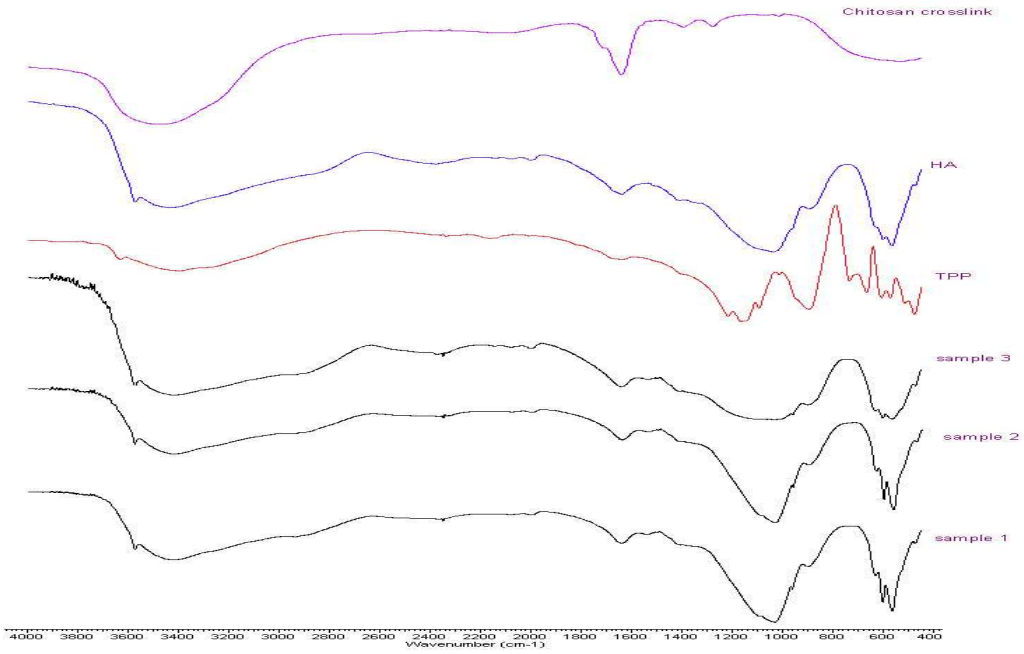
รูปที่ 4.4 FTIR สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w) (sample 1)



รูปที่ 4.5 FTIR สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:26.6:2 (w/w/w) (sample 2)



รูปที่ 4.6 FTIR สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:20:2.1 (w/w/w) (sample 3)



รูปที่ 4.7 FTIR สเปกตรัมของเม็ดบีดไคโตซานที่อัตราส่วนต่าง ๆ โดย

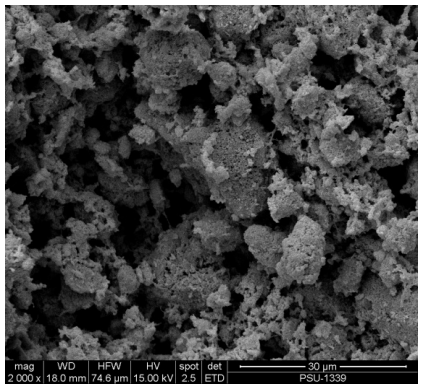
Sample 1 คือ สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w)

sample 2 คือ สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:26.6:2 (w/w/w)

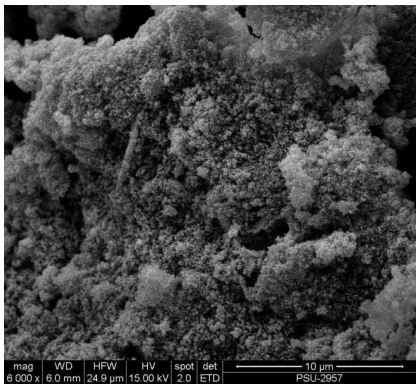
sample 3 คือ สเปกตรัมของเม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:20:2.1 (w/w/w)

4.4 ผลการทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของเม็ดบีดหลังการแช่ในสารละลาย PBS

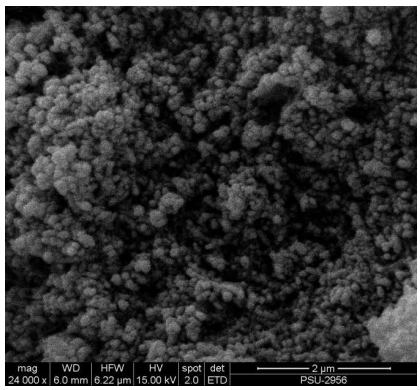
ทดสอบสมบัติทางชีวภาพของเม็ดบีดโดยแช่เม็ดบีดในสารละลาย PBS pH 7.4 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ (รูปที่ 4.8) โดยสารละลาย PBS ที่มีทั้งปริมาณและชนิดของไอออนใกล้เคียงกับของเหลวในร่างกาย พบว่ามีผลึกแอพาไทต์เกิดขึ้นซึ่งแสดงให้เห็นถึงสมบัติทางชีวภาพของเม็ดบีดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณ HA



(ก)



(ข)

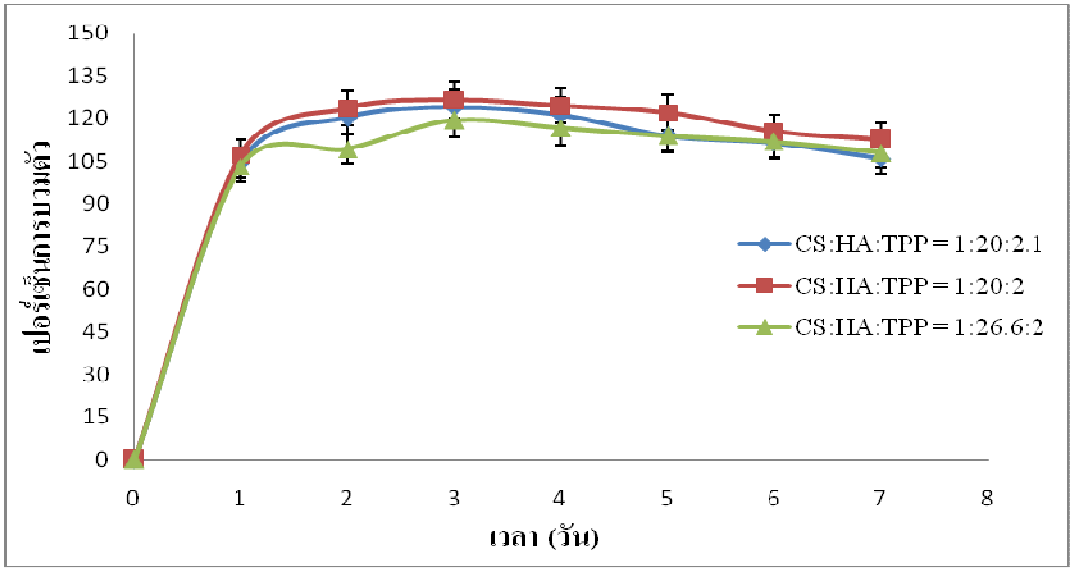


(ค)

รูปที่ 4.8 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงการเกิดผลึกแอพาไทต์บนเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน โดย (ก) เม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w) ก่อนแช่สารละลาย PBS, (ข) เม็ดบีด CS:HA:TC:TPP ที่สัดส่วน 1:20:0.6:2 (w/w/w) แช่ในสารละลาย PBS ระยะเวลา 1 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย 6,000 เท่า และ (ค) ที่กำลังขยาย 24,000 เท่า

4.5 ศึกษาการบวมตัวของเม็ดบีด

ศึกษาการบวมตัวของเม็ดบีดโดยแช่เม็ดบีดในสารละลาย PBS pH 7.4 ที่อุณหภูมิห้องในช่วงเวลา 7 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัวของเม็ดบีดค่อนข้างคงที่ (รูปที่ 4.9) การบวมตัวที่เพิ่มขึ้นในช่วงแรกนั้นเนื่องมาจากโครงข่ายเม็ดบีดและการแทรกซึมของสารละลายตัวกลาง พบว่าในวันที่ 7 เม็ดบีดที่สัดส่วน CS:HA:TPP = 1:20:2 มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัว 112.76 และเม็ดบีดที่สัดส่วน CS:HA:TPP = 1:26.6:2 มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัว 108.06 ซึ่งพบว่าเมื่อสัดส่วน HA เพิ่มขึ้นจะมีการบวมตัวของเม็ดบีดที่ลดลง สังเกตได้จากรูปที่ 4.9 ที่ CS:HA:TPP = 1:20:2 จะมีเปอร์เซ็นต์การบวมตัวที่มากกว่าที่ CS:HA:TPP = 1:26.6:2 เนื่องจากปริมาณ HA ที่เพิ่มขึ้นจะเข้าไปเพิ่มในโครงข่ายโมเลกุลไคโตซานทำให้มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น การซึมผ่านของสารละลายตัวกลาง เข้าไปในเม็ดบีดยากขึ้น เพราะขนาดช่องว่างระหว่างแมทริกซ์พอลิเมอร์แคบลงและการคลายตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ถูกจำกัด [30] และพบว่าที่สัดส่วน CS:HA:TPP = 1:20:2.1 จะมีการบวมตัวที่ต่ำกว่าที่ CS:HA:TPP = 1:20:2 เล็กน้อยเนื่องจากการบวมตัวของเม็ดบีดขึ้นอยู่กับสมบัติไฮเดรชันและอันตรกิริยาแบบไอออนิกระหว่างสายโซ่ของไคโตซาน [46] ซึ่งที่ CS:HA:TPP = 1:20:2 จะมีแรงผลักระหว่างประจุของกลุ่มอะมิโนภายในสายโซ่และระหว่างสายโซ่ของไคโตซานที่มากกว่า CS:HA:TPP = 1:20:2.1 จึงส่งผลให้โครงสร้างแมทริกซ์พอลิเมอร์คลายตัวได้มากกว่าจึงบวมตัวได้มากกว่า



รูปที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์การบวมตัวของเม็ดบีดในสารละลาย PBS

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การบวมตัวเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)

	เปอร์เซ็นต์การบวมตัว		
เวลา (วัน)	**CS:HA:TPP = 1:20:2.1**	**CS:HA:TPP = 1:20:2**	**CS:HA:TPP = 1:26.6:2**
1	104.21±0.26	107.25±3.75	103.06±1.53
2	120.23±0.87	123.70±1.43	109.31±1
3	123.98±1.64	126.44±0.3	119.41±0.18
4	121.34±0.81	124.47±0.92	116.57±0.38
5	114.02±1.19	121.88±0.69	113.96±0.48
6	111.45±1.09	115.38±2.75	111.93±1.81
7	105.91±0.68	112.76±0.28	108.06±2.19

4.6 ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (entrapment efficiency) ของเม็ดบีดที่เตรียมได้

การศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บยาเตตร้าไซคลินของเม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้ โดยทำการเปลี่ยนแปลงปริมาณยาที่ค่าต่าง ๆ ได้แก่ 0.05, 0.1 และ 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยทำการผสมผงยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน ที่ปริมาณ 0.025, 0.05 และ 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการผสมผงยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA และที่ปริมาณ 0.005, 0.01 และ 0.015 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยการดูดซับสารละลายยาเตตร้าไซคลินด้วยความดันสุญญากาศ ซึ่งเตรียมเม็ดบีดในสัดส่วน CS:HA:TPP = 1:26.6:2

จากผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาจะทำให้ค่าประสิทธิภาพในการกักเก็บยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากอนุภาคยากระจายตัวเข้าไปแทรกตัวในช่องว่างระหว่างแมทริกซ์ของโครงข่ายร่างแหไคโตซานที่เกิดจากการครอสลิ้งก์กับ TPP [47] นอกจากนี้ปริมาณยาที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ยาเข้าไปแทรกตัวในช่องว่างระหว่างแมทริกซ์พอลิเมอร์เกิดขึ้นได้มาก และเกิดอันตรกิริยาทางไอออนขึ้นระหว่างโมเลกุลของยาเตตร้าไซคลินและแคลเซียมไอออนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ [48] ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของเม็ดบีดเพิ่มขึ้นด้วย แต่ในส่วนของเม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาเตตร้าไซคลินด้วยความดันสุญญากาศ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาจะทำให้ค่าประสิทธิภาพในการกักเก็บยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากอนุภาคยากระจายตัวและสะสมตัวบนเม็ดบีดไคโตซานโดยเฉพาะส่วนผิวหน้าของเม็ดบีดที่เพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณยาที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการกักเก็บยาของเม็ดบีดมีค่าประสิทธิภาพต่ำ ทั้งนี้

อาจเนื่องมาจากการละลายของไคโตซานจะละลายได้ในสารละลายกรด pH < 5.5 เท่านั้น ทำให้ยาเตตร้าไซคลินซึ่งละลายในสารละลายกรดเช่นกันละลายออกมาค่อนข้างมาก

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบ %entrapment efficiency ระหว่างเม็ดบีดที่เตรียมได้แบบต่าง ๆ

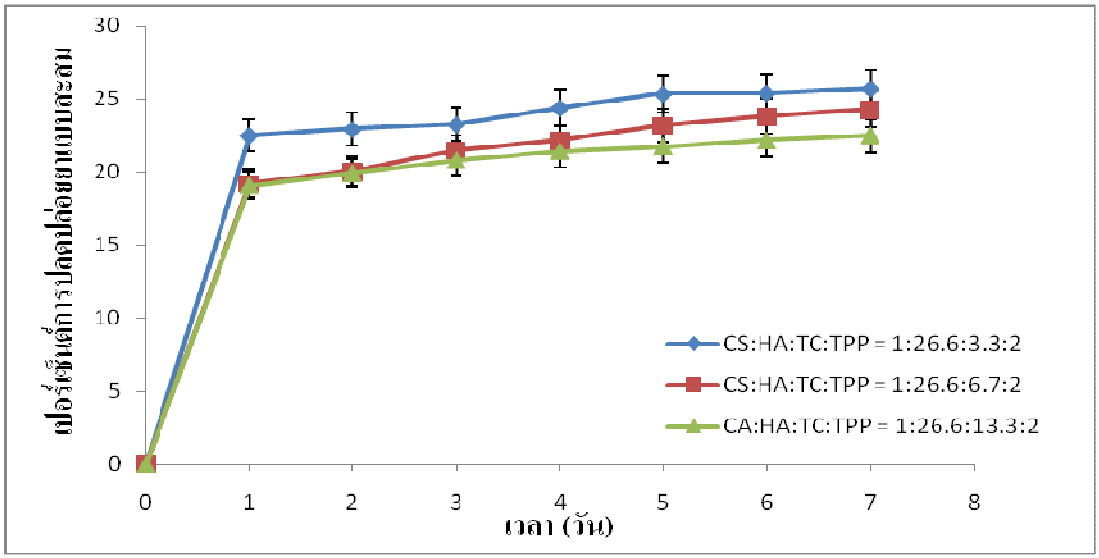
CS:HA:TC:TPP (w/w/w/w)	%entrapment efficiency		
	ผสมเตตร้าไซคลินกับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน	ผสมเตตร้าไซคลินกับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA	ดูดซับสารละลายยาเตตร้าไซคลินด้วยความดันสุญญากาศ
1:26.6:0.33:2	-	-	1.59
1:26.6:0.66:2	-	-	1.99
1:26.6:1.33:2	-	-	2.26
1:26.6:1.6:2	-	1.53	
1:26.6:3.3:2	1.77	1.64	
1:26.6:6.6:2	2.87	1.77	
1:26.6:13.3:2	3.22	-	

4.7 ผลการศึกษาการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซาน

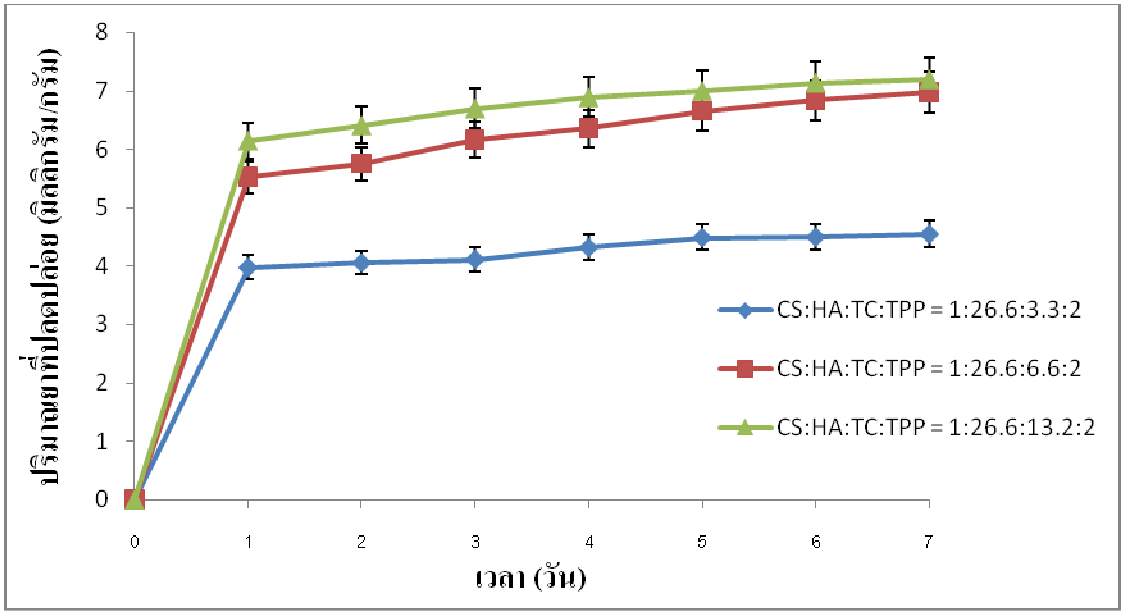
4.7.1 ทดสอบการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซานที่ผสมยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน

ศึกษาการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้ในสารละลาย PBS pH 7.4 ที่อุณหภูมิห้อง โดยเม็ดบีดที่ใช้ในการทดลองนี้มียาเตตร้าไซคลินภายในเม็ดบีดดังนี้ 17.7, 28.7 และ 32.2 มิลลิกรัมยาต่อกรัมเม็ดบีดตามลำดับ ทำการเก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 7 วัน โดยสัดส่วนของ CS:HA:TPP ที่ใช้ในการเตรียมเม็ดบีดในการทดลองนี้คือ 1:26.6:2 ซึ่งทำการเตรียมเม็ดบีดโดยผสมผงยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน จากรูป 4.10 พบว่าการปลดปล่อยยาในช่วงหนึ่งวัน

แรกของยาทุกความเข้มข้นจะมีการปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการชะยาจากด้านนอกของผิวเม็ดบีด หลังจากนั้นการปลดปล่อยยาจะมีลักษณะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ในลักษณะที่ต่อเนื่องและเนิ่นนาน โดยแนวโน้มการปลดปล่อยยาจะมากขึ้นเรื่อย ๆ และค่อย ๆ คงที่เมื่อเวลาผ่านไป เนื่องจากตัวยาจะค่อย ๆ ละลายออกมาจากแมทริกซ์พอลิเมอร์ที่เกิดการเชื่อมขวางพร้อมกับการกร่อน โดยอัตราการปลดปล่อยยานี้ขึ้นกับอัตราการแพร่ผ่านของสารละลาย PBS เข้าสู่แมทริกซ์พอลิเมอร์ของเม็ดบีดไคโตซาน และอัตราเร็วในการเสื่อมสลายของแมทริกซ์พอลิเมอร์ โดยเฉพาะสมบัติชอบน้ำและความสามารถในการบวมตัวของเม็ดบีดไคโตซาน [46] จากผลการทดสอบการบวมตัวของเม็ดบีดในช่วงเวลา 7 วันพบว่ามีอัตราการเพิ่มขึ้นของการบวมตัวเล็กน้อย ส่งผลต่อความสามารถของอัตราการแพร่ผ่านของสารละลาย PBS เข้าสู่แมทริกซ์พอลิเมอร์ และการละลายของยาออกจากแมทริกซ์พอลิเมอร์ และเนื่องจากแรงระหว่างประจุ TPP ที่ถูกครอสลิงก์กับไคโตซาน ทำให้พื้นที่ว่างระหว่างโมเลกุลลดลงจึงหน่วงการปลดปล่อยยา และยืดอายุการสลายตัวของเม็ดบีด นอกจากนี้การบรรจุยาในปริมาณที่มากกว่า เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาจะต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการบรรจุยาเข้าไปในช่องว่างแมทริกซ์พอลิเมอร์เกิดได้ดี ทำให้โครงข่ายพอลิเมอร์หดตัวเนื่องจากการสะสมของโมเลกุลยาภายในแมทริกซ์พอลิเมอร์ และไปยับยั้งการแพร่ของสารละลาย PBS เข้าไปในเม็ดบีด นอกจากนี้ยังพบว่าการบรรจุยาในปริมาณมากจะมีการปลดปล่อยยาออกมาในปริมาณที่มากด้วย (รูปที่ 4.11) เนื่องจากแรงผลักระหว่างประจุของยาภายในโครงข่ายแมทริกซ์พอลิเมอร์ ทำให้โครงข่ายดังกล่าวคลายตัวเร็วกว่าที่มีปริมาณยาต่ำ



รูปที่ 4.10 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซานที่ผสมยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน



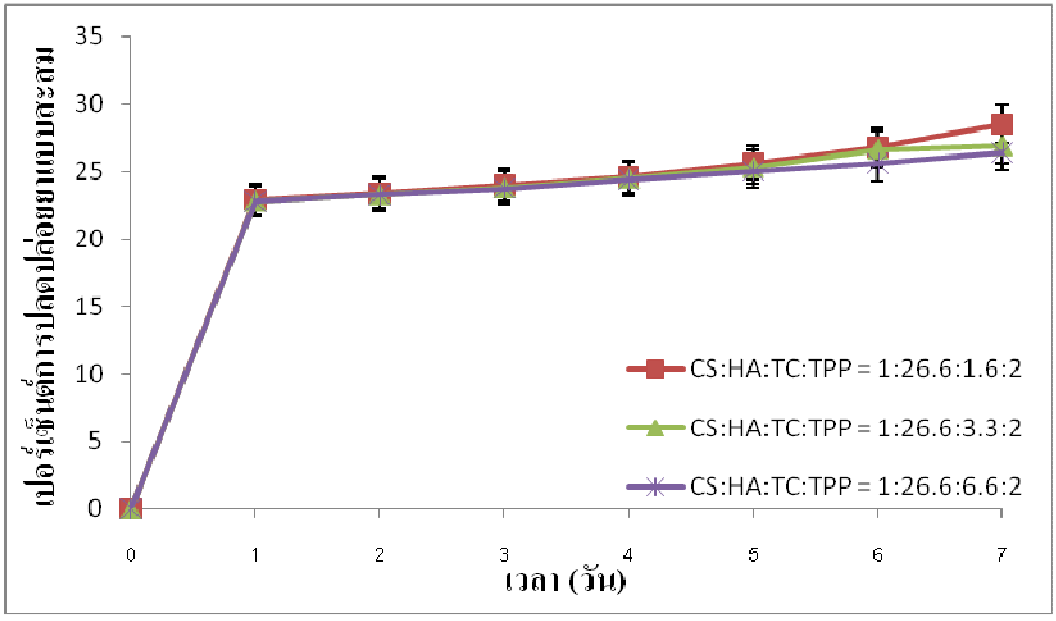
รูปที่ 4.11 ปริมาณยาเตตร้าไซคลินที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซานที่ผสมยากับ HA ก่อนรวมกับสารละลายไคโตซาน

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดที่เตรียมโดยผสมยากับ HA ก่อน แล้วนำไปรวมกับสารละลายไคโตซาน

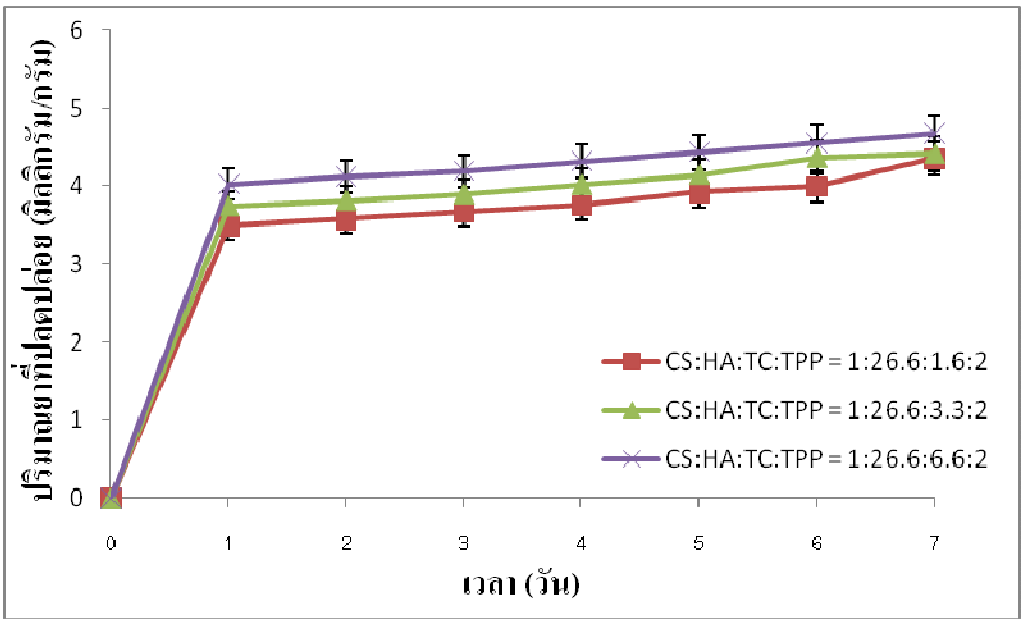
เวลา (วัน)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลิน		
	CS:HA:TC:TPP 1:26.6:3.3:2 (w/w/w/w)	**CS:HA:TC:TPP 1:26.6:6.6:2 (w/w/w/w)**	**CS:HA:TC:TPP 1:26.6:13.3:2 (w/w/w/w)**
1	22.51	19.23	19.09
2	22.93	20.04	19.91
3	23.26	21.47	20.79
4	24.39	22.14	21.40
5	25.34	23.18	21.74
6	25.4	23.79	22.17
7	25.69	24.27	22.50

4.7.2 ทดสอบการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซานที่ผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA

ทดสอบการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้ในสารละลาย PBS pH 7.4 ที่อุณหภูมิห้อง โดยเม็ดบีดที่ใช้ในการทดลองนี้มียาภายในเม็ดบีดดังนี้ 15.3, 16.4 และ 17.7 มิลลิกรัมยาต่อกรัมเม็ดบีดตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทำการเก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 7 วัน โดยสัดส่วนของ CS:HA:TPP ที่ใช้ในการเตรียมเม็ดบีดในการทดลองนี้คือ 1:26.6:2 ซึ่งเตรียมเม็ดบีดโดยทำการผสมผงยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA จากรูป 4.12 พบว่าแนวโน้มการปลดปล่อยยาจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และค่อนข้างคงที่เมื่อเวลาผ่านไป การปลดปล่อยยามีเปอร์เซ็นต์ที่ใกล้เคียงกัน พบว่าการเตรียมเม็ดบีดไคโตซานโดยการผสมตัวยาในรูปผงยากับพอลิเมอร์เหลวหนืดที่อุณหภูมิห้อง ตามด้วยการทำครอสลิ้งก์ จะทำให้อนุภาคตัวยากระจายตัวอย่างสม่ำเสมออยู่ในแมทริกซ์พอลิเมอร์ โดยที่อัตราเร็วของการปลดปล่อยตัวยาออกจากเม็ดบีดถูกควบคุมโดยอัตราเร็วของสารละลายตัวกลางที่แพร่ผ่านโครงสร้างแมทริกซ์พอลิเมอร์ของเม็ดบีด



รูปที่ 4.12 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซานที่ผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA



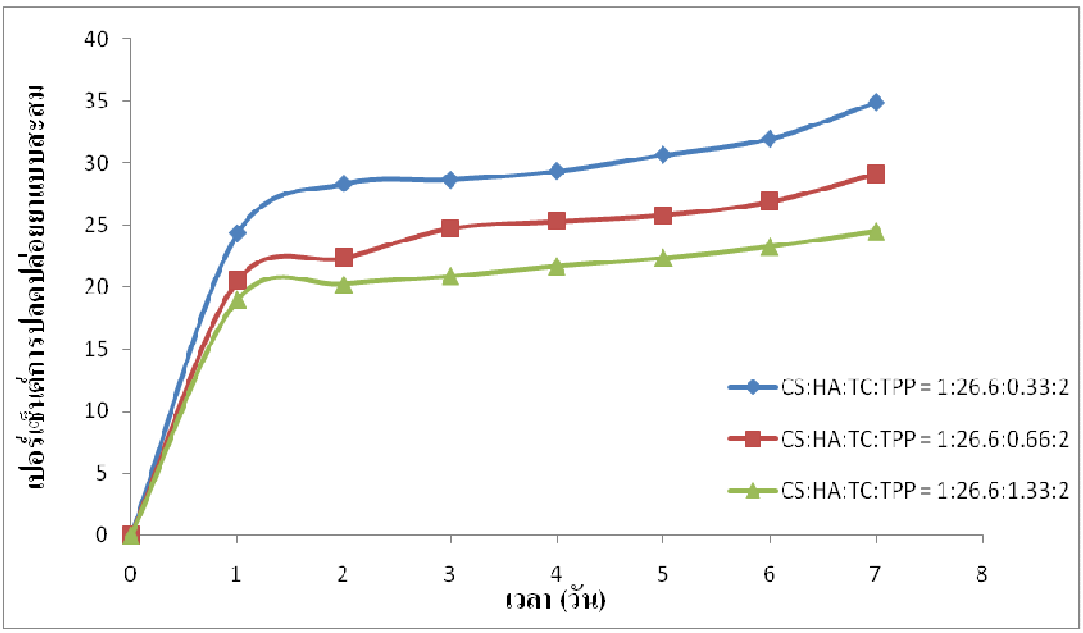
รูปที่ 4.13 ปริมาณการปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซานที่ผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนเติมผง HA

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดที่เตรียมโดยผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนแล้วค่อยเติมผง HA

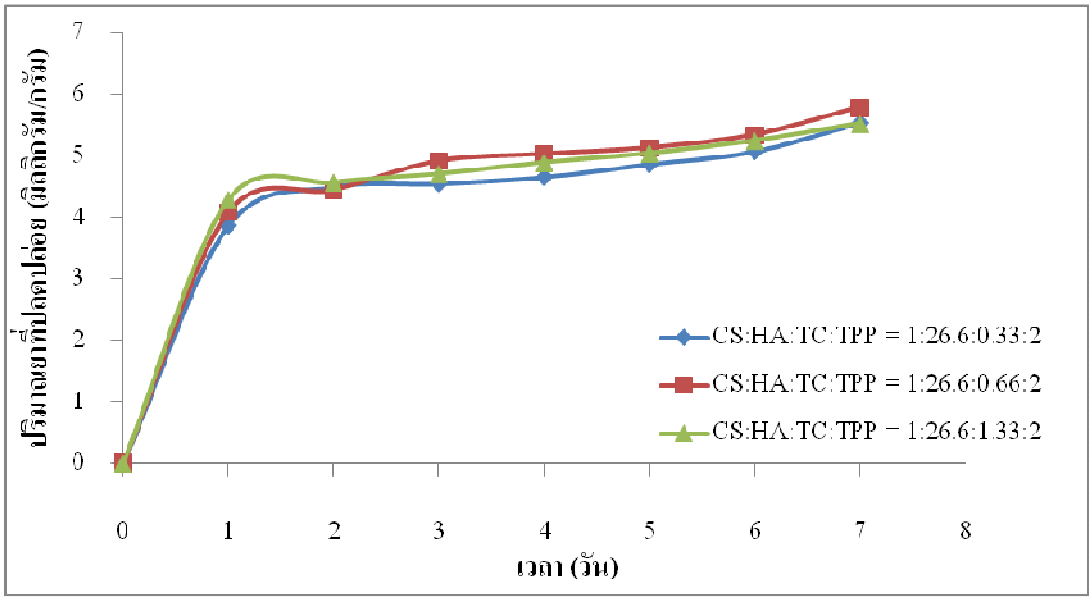
เวลา (วัน)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลิน		
	CS:HA:TC:TPP 1:26.6:1.6:2 (w/w/w/w)	**CS:HA:TC:TPP 1:26.6:3.3:1 (w/w/w/w)**	**CS:HA:TC:TPP 1:26.6:6.6:1 (w/w/w/w)**
1	22.91	22.84	22.79
2	23.4	23.31	23.28
3	24.01	23.79	23.75
4	24.59	24.51	24.42
5	25.64	25.32	25.08
6	26.12	26.67	25.59
7	28.55	26.93	26.44

4.7.3 ทดสอบการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซานที่ดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ

ทดสอบการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้ในสารละลาย PBS pH 7.4 ที่อุณหภูมิห้อง โดยเม็ดบีดที่ใช้ในการทดลองนี้มียาภายในเม็ดบีด 15.9, 19.9 และ 22.6 มิลลิกรัมยาต่อกรัมเม็ดบีดตามลำดับ โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 7 วัน โดยสัดส่วนของ CS:HA:TPP ที่ใช้ในการเตรียมเม็ดบีดในการทดลองนี้คือ 1:26.6:2 ซึ่งเตรียมเม็ดบีดโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ จากรูป 4.14 พบว่าการปลดปล่อยยาในช่วง 1 วันแรกจะมีการปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเม็ดบีดที่เตรียมได้นั้นมีลักษณะเนื้อแน่น จึงทำให้การดูดซับของสารละลายยาเข้าไปภายในเม็ดบีดได้น้อย ทำให้ยาส่วนใหญ่เกาะและแทรกตัวในรูพรุนบริเวณผิวหน้าเม็ดบีด ส่งผลให้การปลดปล่อยยาในช่วงดังกล่าวเกิดจากการชะยาจากด้านนอกของผิวเม็ดบีด หลังจากนั้นการปลดปล่อยยาจะมีแนวโน้มค่อย ๆ เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.14) ในลักษณะที่ต่อเนื่อง และเนื่องจากยาเตตร้าไซคลินสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับแคลเซียมไอออนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ผิวหน้า และตัวยาจะค่อย ๆ ละลายออกมา โดยอัตราการปลดปล่อยยานี้ขึ้นกับอัตราการแพร่ผ่านบริเวณผิวหน้าเม็ดบีดของสารละลาย PBS ความสามารถในการละลายของยา และอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยากับไฮดรอกซีแอพาไทต์ โดยเฉพาะสมบัติความชอบน้ำและโครงข่ายแมทริกซ์พอลิเมอร์ของเม็ดบีดที่เตรียมได้ นอกจากนี้ปริมาณยาที่ปลดปล่อยออกมาจากเม็ดบีดที่เตรียมได้ในแต่ละสัดส่วน มีปริมาณไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 4.15) เนื่องจากการปลดปล่อยยาส่วนใหญ่มาจากการแพ็คตัวของยาบริเวณผิวหน้าของเม็ดบีดและโครงข่ายแมทริกซ์พอลิเมอร์ส่วนนอก และเนื่องจากปริมาณยาที่มากขึ้นทำให้โอกาสในการดูดซับของยาบนเม็ดบีดไคโตซานเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณยาที่ปลดปล่อยออกมาจากเม็ดบีดใกล้เคียงกันเมื่อปริมาณยาที่บรรจุเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยลดลงเมื่อปริมาณยาที่บรรจุในเม็ดบีดเพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณยาที่เพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดการสะสมของโมเลกุลยาบนเม็ดบีดไคโตซานได้มากขึ้น ในขณะที่อัตราการแพร่ของสารละลาย PBS เข้าไปในเม็ดบีดไคโตซาน และการละลายของยาออกมาจากเม็ดบีดไคโตซานไม่ต่างกันมาก



รูปที่ 4.14 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซานที่ดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ



รูปที่ 4.15 ปริมาณการปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลินในสารละลาย PBS ของเม็ดบีดไคโตซานที่ดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ

เวลา (วัน)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาเตตร้าไซคลิน		
	CS:HA:TC:TPP 1:26.6:0.5:1 (w/w/w/w)	**CS:HA:TC:TPP 1:26.6:1:2 (w/w/w/w)**	**CS:HA:TC:TPP 1:26.6:1.5:2 (w/w/w/w)**
1	24.34	20.53	18.98
2	28.29	22.35	20.23
3	28.64	24.73	20.85
4	29.31	25.30	21.67
5	30.63	25.80	22.33
6	31.92	26.87	23.24
7	34.85	29.12	24.47

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการเตรียมเม็ดบีดไคโตซานผสมไฮดรอกซีแอพาไทต์ในการกักเก็บยาเตตร้า-ไซคลินที่สัดส่วนต่าง ๆ และทดสอบการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดในสารละลาย PBS เป็นเวลา 1 สัปดาห์ สามารถสรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะได้ดังนี้

5.1 อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและ TPP ในการเกิดครอสลิงก์เพื่อเตรียมเม็ดบีด

จากการเพิ่มขึ้นของปริมาณไคโตซานและ TPP เม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้มีความหนาแน่นในการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ TPP เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดอันตรกิริยาแบบไอออนิกระหว่างหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ของไคโตซานกับไอออนประจุลบฟอสเฟต (PO^{3-}_4) ของ TPP ที่เพิ่มขึ้น

5.2 อัตราส่วน HA ที่เหมาะสมในการเตรียมเม็ดบีด

เม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้จากการเพิ่ม HA เข้าไปจะทำให้เม็ดบีดที่เตรียมได้มีความเป็นทรงกลม มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น และอนุภาค HA ที่เพิ่มเข้าไปจะฝังตัวในแมทริกซ์พอลิเมอร์ไคโตซานโดยกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ อีกทั้งขนาดรูพรุนภายในโครงสร้างแมทริกซ์พอลิเมอร์ของเม็ดบีดมีขนาดลดลงเมื่อปริมาณ HA เพิ่มขึ้น

5.3 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ โดยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrometry

จากการวิเคราะห์เม็ดบีดโดยเทคนิค FTIR พบว่าไคโตซานครอสลิงก์ปรากฏพันธะที่แสดงลักษณะเด่นของไคโตซาน โดยไม่ปรากฏพันธะ P=O ที่แสดงลักษณะเด่นของ TPP แสดงให้เห็นถึงการครอสลิงก์กันระหว่างไอออนฟอสฟอริกใน TPP และไอออนแอมโมเนียมในไคโต-ซาน เมื่อเพิ่ม HA ในโครงสร้างเม็ดบีดจะปรากฏแถบการดูดกลืนที่เหมือนกับ HA ซึ่งเกิดการซ้อน

ของพีค HA บนแถบดูดกลืนแสงของไคโตซานครอสลิงก์ แสดงให้เห็นว่า HA ไม่ได้เกิดการครอส-ลิงก์เพียงแต่แทรกตัวในโครงสร้างแมทริกซ์พอลิเมอร์ของไคโตซานครอสลิงก์

5.4 การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของเม็ดบีดหลังการแช่ในสารละลาย PBS

จากการทดสอบสมบัติทางชีวภาพพบว่าเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์มีสมบัติทางชีวภาพที่ดี เนื่องจากมีชั้นแอพาไทต์เกิดขึ้นจำนวนมาก

5.5 การบวมตัวของเม็ดบีด

เม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัวของเม็ดบีดค่อนข้างคงที่ โดยบวมตัวเพิ่มขึ้นในช่วงแรกเนื่องจากการคลายตัวของโครงข่ายแมทริซ์พอลิ-เมอร์ของเม็ดบีดจากการแทรกซึมของสารละลายตัวกลาง ซึ่งเมื่อปริมาณ HA ในเม็ดบีดเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้การบวมตัวของเม็ดบีดลดลง เนื่องจากปริมาณ HA ที่เพิ่มขึ้นจะเข้าไปทำให้โครงข่ายแมทริกซ์พอลิเมอร์ไคโตซานมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น การซึมผ่านของสารละลายตัวกลางเข้าไปในเม็ดบีดเกิดได้ยากขึ้น การคลายตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ถูกจำกัด และการดูดซับน้ำจะลดลงเมื่อปริมาณ HA เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การบวมตัวของเม็ดบีดยังขึ้นอยู่กับสมบัติไฮเดรชันและอันตรกิริยาแบบไอออนิกระหว่างสายโซ่ไคโตซานส่งผลให้โครงข่ายพอลิเมอร์คลายตัว

5.6 การศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของเม็ดบีดที่เตรียมได้

ประสิทธิภาพการกักเก็บยาของเม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยา เนื่องจากอนุภาคยาจะกระจายตัวเข้าไปแทรกตัวในช่องว่างระหว่างแมทริกซ์ของโครงข่ายร่างแหไคโตซานที่เกิดจากการครอสลิ้งก์กับ TPP ได้มากขึ้น และเกิดอัตรกิริยาแบบไอออนิกขึ้นระหว่างโมเลกุลของยาเตตร้าไซคลินกับแคลเซียมไอออนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของเม็ดบีดเพิ่มขึ้นด้วย แต่เม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาเตตร้าไซคลินด้วยความดันสุญญากาศนั้นอนุภาคยาจะกระจายตัวและสะสมบนผิวเม็ดบีดไคโตซาน โดยปริมาณยาที่ถูกดูดซับจะเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณยาในสารละลายที่ใช้ดูดซับเพิ่มขึ้น

5.7 การศึกษาการปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซาน

การปลดปล่อยยาจากเม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้ในสารละลาย PBS pH 7.4 ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าในช่วงแรกจะมีการปลดปล่อยยาออกมาอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการชะยาจากด้านนอกของผิวเม็ดบีด หลังจากนั้นการปลดปล่อยยาจะมีลักษณะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ในลักษณะที่ต่อเนื่องและเนิ่นนาน โดยแนวโน้มการปลดปล่อยยาจะมากขึ้นเรื่อย ๆ และค่อย ๆ คงที่เมื่อเวลาผ่านไป เนื่องจากตัวยาจะค่อย ๆ ละลายออกมาจากแมทริกซ์พอลิเมอร์ที่เกิดการเชื่อมขวางพร้อมกับการกร่อนของเม็ดบีด โดยอัตราการปลดปล่อยยานี้ขึ้นกับอัตราการแพร่ผ่านของสารละลาย PBS เข้าสู่บริเวณผิวหน้าของเม็ดบีด และแมทริกซ์พอลิเมอร์ของเม็ดบีดไคโตซาน อัตราเร็วในการเสื่อมสลายของแมทริกซ์พอลิเมอร์ สมบัติชอบน้ำ ความสามารถในการบวมตัวของเม็ดบีดไคโตซาน อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวโมเลกุลยากับแคลเซียมไอออนในไฮดรอกซีแอพาไทต์ และแรงระหว่างประจุ TPP ที่ถูกครอสลิงก์กับไคโตซาน ทำให้พื้นที่ว่างระหว่างโมเลกุลลดลงจึงหน่วงการปลดปล่อยยา และยืดอายุการสลายตัวของเม็ดบีด

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้ ทำให้ได้ข้อเสนอแนะที่น่าสนใจในการทำการวิจัยเพิ่มเติมในเรื่องที่เกี่ยวข้อง ดังต่อไปนี้

1. ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการเตรียมเม็ดบีดไคโตซานโดยผสมไฮดรอกซี-แอพาไทต์เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับเม็ดบีด แต่เนื่องจากสมบัติที่เปราะของไฮดรอกซี-แอพาไทต์ซึ่งส่งผลต่อความเปราะแตกง่ายของเม็ดบีด ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาสารชนิดอื่นเพิ่มเติมเพื่อช่วยปรับปรุงสมบัติด้านความแข็ง และการทนต่อการแตกหักของเม็ดบีดไคโตซาน

2. ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บยาซึ่งพบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บยามีค่าที่ค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงควรทำการปรับปรุงวิธีการกักเก็บยาในเม็ดบีดให้มีประสิทธิภาพการกักเก็บที่มากขึ้น

3. เม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้จากงานวิจัยนี้สามารถนำมาทดลองต่อได้ โดยการเชื่อม antibodies เข้าที่ผิวของเม็ดบีด เพื่อเพิ่มความเฉพาะเจาะจงในการนำยาสู่อวัยวะเป้าหมาย

4. ทำการเพิ่มสารชนิดอื่นเป็นตัวคลอสลิงก์ร่วมเพื่อปรับปรุงสมบัติในการปลดปล่อยยาให้ดีขึ้น

5. ควรนำเม็ดบีดไคโตซานที่ได้ไปทดสอบสมบัติทางชีวภาพ เช่น การเกาะติดของเซลล์ อัตราการย่อยสลายเมื่ออยู่ในสัตว์ทดลอง เป็นต้น

6. เม็ดบีดไคโตซานที่เตรียมได้จากงานวิจัยนี้สามารถพัฒนาต่อเป็นโครงสร้างสามมิติแล้วทดลองการปลดปล่อยยาในสัตว์ทดลองต่อไป

บรรณานุกรม

[1] จุฑาทิพย์ คินทรักษ์. 2552. พยาธิวิทยาของกระดูก ข้อ และ soft tissue. Available online: http://www.med.tu.ac.th/ UserFiles/ File/Data%20microsite/ Clinic/11%20Pathology/e-learning/Pathology%20of%20bone,%20joint%20and%20soft %20tissue.pdf (สืบค้นเมื่อ 10 มกราคม 2554)

[2] นิติพงษ์ ศิริวงศ์ และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์. 2552. การดื้อยาปฏิชีวนะของ Staphylococcus aureus และแนวทางการควบคุม. สงขลานครินทรเวชสาร. 27(4): 348-358: ก.ค.-ส.ค.

[3] อุดม ชมชาญ. 2528. กระดูกติดเชื้อชนิดเฉียบพลันจากการแพร่กระจายของเชื้อมาทางกระแสเลือด. วารสารสงขลานครินทร์เวชสาร 3(1): 19-26: ม.ค.-มี.ค.

[4] ป๊วย อุ่นใจ. ไคติน ไคโตซาน. Available online: http://www.thailabonline.com/news3chitin-chitosan.htm (สืบค้นเมื่อ 3 มกราคม 2554)

[5] ธวัชชัย แพชมัด. 2548. การควบคุมการปลดปล่อยยาจากแคปซูลด้วยระบบ polyelectrolyte complex ระหว่างไคโตแซนและพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ (The Control of Drug Release from Capsule Using Polyelectrolyte Complex System of Chitosan and Anionic Polymers). คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

[6] 2007. โรคติดเชื้อในกระดูก. Available online: http://www.med. cmu.ac.th/ dept/patho/cai/patho_jongkolnee/bones/chapter5.htm (สืบค้นเมื่อ 21 มกราคม 2554)

[7] ยงยุทธ์ ศิริปการ. 2544. ภาวะการอักเสบจากการติดเชื้อในกระดูกและข้อ BONE AND JOINT INFECTION. กรุงเทพฯ: บริษัท บุ๊คเน็ท จำกัด.

[8] ธเนศ วรรธนอภิสิทธ. 2010. วัณโรคกระดูกสันหลัง (Tuberculosis of Spine). Available online: http://www.thaispineclinic.com/articles/tuberculosis-of-spine (สืบค้นเมื่อ 19 มกราคม 2555)

[9] วรวิทย์ เลาห์เรณู. 2549. พยาธิสรีรวิทยาของโรคข้อและกระดูกอักเสบติดเชื้อ. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: โรงพิมพ์แสงศิลป์ เรื่องพยาธิสรี.

[10] กฤษณา ศิรเลิศมุกุล. 2545. พอลิเมอร์กับระบบนำส่งยา. Available online: http://www.material.chula.ac.th/RADIO45/February/radio2-4.htm (สืบค้นเมื่อ 1 มกราคม 2554)

[11] ภาวดี เมธะคานนท์, อศิรา เฟื่องฟูชาติ และก้องเกียรติ คงสุวรรณ. มปป. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับ ไคติน-ไคโตซาน. ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ.

[12] ภควรรณ ปานข่อยงาม. 2552. ประสิทธิภาพของไคโตซานบีดจากเปลือกสัตว์ทะเลในการดูดซับกลิ่นแอมโมเนีย และฟอร์มัลดีไฮด์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, วิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[13] B. Krajewska. 2005. Membrane-based processes performed with use of chitin/chitosan materials. Separation and Purification Technology. 41: 305-312.

[14] นริศา แซ่เตียว. 2551. การปลดปล่อยฟลูออไรด์และโปรตีนจากวัสดุไคโตซานประยุกต์กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[15] ศรีสุดา ถิ่นพังงา. 2544. ความเข้มข้นของยาเตตร้าซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ในน้ำเหลืองเหงือกหลังการฉีดยาในพ็อกเก็ต. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาปริทันตศาสตร์, มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์.

[16] L.A. Mitscher. 1978. The chemistry of the tetracycline antibiotics. MARCEL DEKKER, INC. New York and Basel.

[17] “เตตราไซคลีน”. Available online: http://th.wikipedia.org/wiki/เตตราไซคลีน (สืบค้นเมื่อ 10 ธันวาคม 2554)

[18] ทวีศักดิ์ ธรรมราช. 2551. Tetracycline. Available online: http://cyberclass.msu.ac.th/cyberclass/library/library.php?courseid=YTYwMWFn&pid=16630&lang=th (สืบค้นเมื่อ 10 ธันวาคม 255)

[19] ศูนย์ข้อมูลและวัตถุอันตรายเคมีภัณฑ์. 2544. Sodium triphosphate. Available online: http://msds.pcd.go.th/searchName.asp?vID=1396 (สืบค้นเมื่อ 2 มีนาคม 2554)

[20] ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. 2008. ไฮดรอกซีแอปาไทต์ (Hydroxyapatite). Available online: http://www.mtec.or.th (สืบค้นเมื่อ 2 มีนาคม 2554)

[21] สุภาณี ชนะวงศ์. 2547. การเตรียมวัสดุประกอบระหว่างไฮดรอกซีแอปาไทต์กับพอลิเมอร์ร่วมระหว่างพอลิเอทิลีนอะดิเปตกับพอลิเอทิลีนเทอเรพทาเลต. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีพอลิเมอร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[22] Chemical properties. Available online: http://www.nycominerals.com (สืบค้นเมื่อ 2 ธันวาคม 2554)

[23] กัญญาวดี ขาวสำลี. 2550. การตั้งตำรับและประเมินยาเม็ดชนิดแตกตัวเร็วในปากที่ประกอบด้วยไคโตซานไฮโดรเจลบีดของสารสกัดฟ้าทะลายโจน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[24] F.L. Mi, S.S. Shyu, T.B. Wong, S.F. Jang and S.T. Lee. 1999. Chitosan-polyelectrolyte complexation for the preparation of gel beads and controlled release of anticancer drug. II. effect of pH-dependent ionic crosslinking or interpolymer complex using tripolyphosphste or polyphosphste as reagent. Applied Polymer Science. 74: 1093-1107.

[25] S.W. Shalaby and U. Salz. 2007. Polymeric controlled release systems for management of bone infection. Polymers for dental and orthopedic applications. Taylor & Francis Group, LLC. 396-400.

[26] อารยา ลิมาภรณ์วณิชย์. 2549. การปล่อยโปรตีนจากสารไคโตซานที่ผสมอยู่ในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[27] อานุภาพ ทองธรรมชาติ. 2548. การศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยโปรตีนจากไคโตซานระดับอนุภาคนาโน. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

[28] N.G.R. Rao, U. Kulkarni, A. Deshmukh and D.K. Suresh. 2010. Preparation and characterization of ionotropic cross-linked chitosan microparticles for controlled release of aceclofenac. Pharmaceutical Sciences and Drug Research. 2(2): 107-111.

[29] F.C. Vasconcellos, G.A.S. Goulart and M.M. Beppu. 2010. Production and characterization of chitosan microparticles containing papain for controlled release applications. Powder Technology. 205(1-3): 65-70.

[30] M.G. Ahmed, R.N. Charyulu, N. Harish and P. Prabhu. 2009. Formulation and in-vitro evaluation of chitosan films containing tetracycline for the treatment of periodontitis. Pharmaceutics. 3: 113-119.

[31] N. Praphairaksit, W. Cherdchumalaikit and P. Jaisawang. 2008. The study of encapsulation efficiency and physical appearance of chitosan beads crosslinked with tripolyphosphate. 34th Congress on Science and Technology of Thailand. 1-5.

[32] E.C. Shen, C. Wang, E. Fu, C.Y. Chiang, T.T. Chen and S. Nieh. 2008. Tetracycline release from tripolyphosphate-chitosan cross-linked sponge: a preliminary in vitro study. Periodontal Research. 43: 642-648.

[33] N. Praphairaksit. 2007. Preparation and study of the controlled release of amoxicillin from alginate–chitosan beads. SWU Science. 23(2): 39-52.

[34] K.C. Gupta and F.H. Jabrail. 2006. Effects of degree of deacetylation and cross-linking on physical characteristics, swelling and release behavior of chitosan microspheres. Carbohydrate Polymers. 66: 43-54.

[35] Z.X. Xue, G.P. Yang, Z.P. Zhang and B.L. He. 2006. Application of chitosan microsphere as carriers of LH-RH analogue TX46. Reactive & Functional Polymers. 66: 893-901.

[36] S. Govender, D. Lutchman, V. Pillay, D.J. Chetty and T. Govender. 2006. Enhancing drug incorporation into tetracycline-loaded chitosan microsphere for periodontal therapy. Microencapsulation. 23(7): 750-761.

[37] D.R. Bhumkar and V.B. Pokharkar. 2006. Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: A Technical Note. AAPS PharmSciTech. 7: E1-E6.

[38] Y. Boonsongrit. 2006. Chitosan drug binding by ionic interaction. Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 62: 267-274.

[39] A.K. Bajpai and A. Mishra. 2005. Preparation and characterization of tetracycline-loaded interpenetrating polymernetworks of carboxymethyl cellulose and poly(acrylic acid): water sorption and drug release study. Polymer International. 54: 1347-1356.

[40] Y. Wu, W. Yang, C. Wang, J. Hu and S. Fu. 2005. Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. Pharmaceutics. 295: 235-245.

[41] P.L. Granja, A.I.N. Silva, J.P. Borges, C.C. Barrias and I.F. Amaral. 2004. Preparation and characterization of injectable chitosan-hydroxyapatite microspheres. Key Engineering Materials. 254-256: 573-576.

[42] F.L. Mi, H.W. Sung, S.S. Shyu, C.C. Su and C.K. Peng. 2003. Synthesis and characterization of biodegradable TPP/genipin co-crosslinked chitosan gel beads. Polymer. 44: 6521-6530.

[43] X.Z. Shu and K.J. Zhu. 2002. Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan bead: the influence of anion structure. Pharmaceutics. 233: 217-225.

[44] X.Z. Shu and K.J. Zhu. 2000. A novel approach to prepare tripolyphosphate/chitosan complex beads for controlled release drug delivery. Pharmaceutics. 201: 51-58.

[45] K.R. Mohamed and A. Mostafa. 2008. Preparation and bioactivity evaluation of hydroxyapatite-titania/chitosan-gelatin polymeric biocomposites. Materials Science and Engineering. 28: 1087-1099.

[46] J. Berger, M. Reist, J.M. Mayer, O. Felt, N.A. Peppas and R. Gurny. 2004. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 57: 19-34.

[47] V.R. Sinha, A.K. Singla, S. Wadhawan, R. Kaushik and R. Kumria. 2004. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. Pharmaceutics. 274: 1-33.

[48] D. Wang, S.C. Miller, P. Kopečková and J. Kopeček. 2005. Bone-targeting macromolecular therapeutics. Advanced Drug Delivery Reviews. 57: 1049-1076.

[49] SEM. (1 ธันวาคม 2554). Available online: http://www.nano.kmitl.ac.th/index.php/tool/218-scaning-eletron-microscopysem-.

[50] อรทัย ลีลาพจนาพร. 2546. Fourier Transform InfraRed Spectrometer. สำนักพัฒนาศักยภาพนักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการ.

[51] พรรณทิพย์ ตั้งปรียารักษ์. การวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง. Available online: http://www.mwit.ac.th/~sarawoot/chem40235.htm (สืบค้นเมื่อ 1 ธันวาคม 2554)

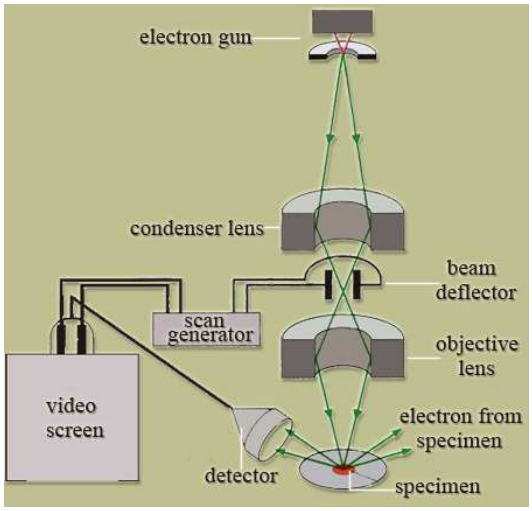
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ทฤษฎีเพิ่มเติม

1 หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope, SEM) [49]

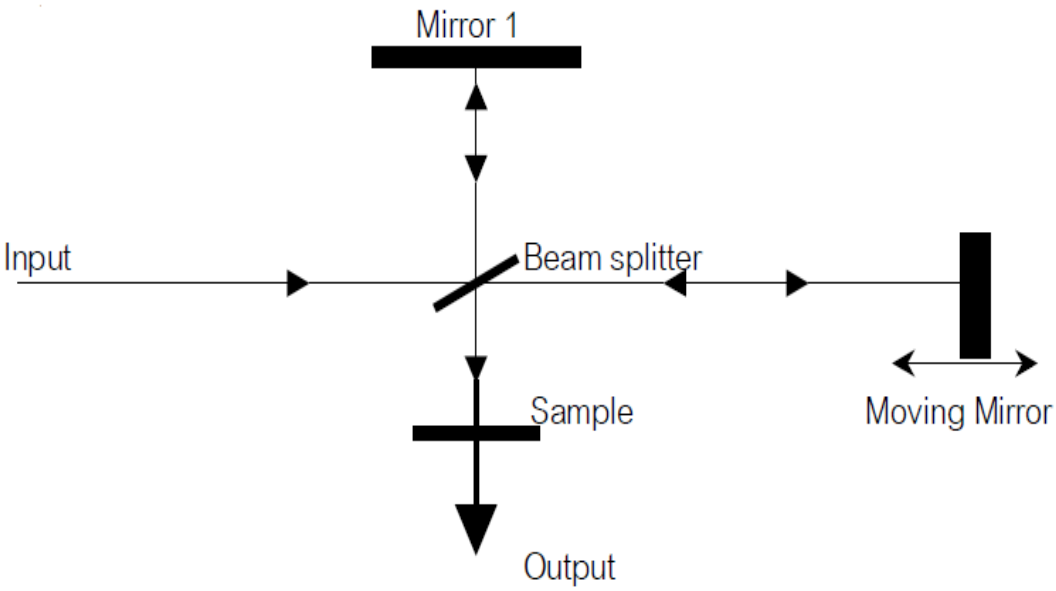
หลักการทำงานของเครื่อง SEM จะประกอบไปด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่ผลิตอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยกลุ่มอิเล็กตรอนที่ได้จากแหล่งกำเนิดนี้จะถูกเร่งด้วยสนามไฟฟ้า ให้เคลื่อนที่ผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนกลายเป็นลำอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถปรับให้ขนาดของลำอิเล็กตรอนใหญ่หรือเล็กได้ตามต้องการ หากต้องการภาพที่มีความคมชัดจะทำได้โดยการปรับให้ลำอิเล็กตรอนมีขนาดเล็ก หลังจากนั้นลำอิเล็กตรอนจะถูกปรับระยะโฟกัสโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ลงไปบนผิวชิ้นงานที่ต้องการศึกษา หลังจากลำอิเล็กตรอนถูกกราดลงบนชิ้นงานจะทำให้เกิดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron) ขึ้นซึ่งสัญญาณจากอิเล็กตรอนทุติยภูมินี้จะถูกบันทึก และแปลงไปเป็นสัญญาณทางอิเล็กทรอนิกส์และ ถูกนำไปสร้างเป็นภาพบนจอโทรทัศน์ต่อไปและสามารถบันทึกภาพจากหน้าจอโทรทัศน์ได้ดังแสดงในรูปที่ ก.1



รูปที่ ก.1 ภาพจำลองการทำงานของเครื่อง Scanning Electron Microscope

2 Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR) [50]

Fourier Transform InfraRed Spectrometer (FTIR) เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่พัฒนามาจากเครื่อง IR Spectrometer เพื่อให้สามารถทำงานได้รวดเร็วขึ้น มีความสามารถในการแยกสูงและสภาพไวสูง สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีในปริมาณน้อย ๆ ได้ แหล่งกำเนิดคลื่นอินฟราเรดของเครื่อง FTIR Spectrometer เป็นแท่งเซรามิกที่เผาด้วยขดลวดความร้อน ทำให้เกิดรังสีอินฟราเรดสู่กระจกเงาที่ทำด้วยโลหะขัดมัน สะท้อนคลื่นแสงสู่ตัวแยกแสง (Beam Splitter) เพื่อที่จะแยกคลื่นแสงออกเป็นสองส่วนที่เท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งจะทะลุผ่านออกไป อีกส่วนหนึ่งจะสะท้อนกลับสู่กระจกเงาที่คลื่นที่ได้ โดยมีแสงเลเซอร์ปรับระยะการเคลื่อนที่ของกระจก ให้มีระยะและทิศทางที่คลื่นแสงทั้งสองส่วนมารวมกันเป็นลำแสงเดี่ยวผ่านไปยังสารตัวอย่าง ซึ่งเรียกระบบนี้ว่า The Michelson Interferometer ดังแสดงในรูปที่ ก.2 โดย FTIR จะวัดความเข้มของแสงที่จำนวนคลื่นต่าง ๆ อย่างต่อเนื่องเทียบกับเวลา แล้วแปลผลด้วยสูตรทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า Fourier transformation นิยมใช้ในการวิเคราะห์ ตรวจสอบและศึกษาเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร นิยมใช้เป็นเทคนิคสำหรับค้นหาโครงสร้างของสารอินทรีย์ เช่น หาหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ การทำปริมาณวิเคราะห์นิยมใช้เทียบกับสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในสถานะที่เป็นของเหลวและของแข็ง



รูปที่ ก.2 แผนภูมิระบบ The Michelson Interferometer

3 การวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (UV-Vis Spectrophotometer) [51]

สารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอนินทรีย์โดยส่วนใหญ่ สามารถดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงยูวี และช่วงความยาวคลื่นที่มองเห็นได้ (หรือแสงขาว) การวิเคราะห์สารดังกล่าวทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณด้วยสมบัตินี้จึงเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวาง เพราะให้ความถูกต้องแม่นยำ และมีความไวสูง

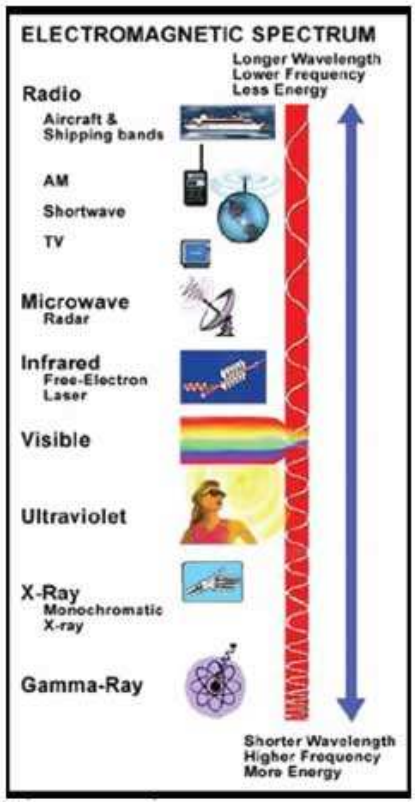
UV-Vis spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงในช่วงรังสียูวีและช่วงความยาวคลื่นที่มองเห็นได้ (แสงขาว) ที่สามารถทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณ และชนิดของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างซึ่งโดยส่วนใหญ่และจะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ในปัจจุบันนี้ได้รับการพัฒนาให้มีขนาดเล็กลง มีความไวมากขึ้น ให้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น รวมไปถึงการพัฒนาโปรแกรมที่ใช้ควบคู่กันกับเครื่องมือในการวิเคราะห์ และการพ่วงต่อ ด้วยเทคนิคอื่นทำให้สามารถนำไปใช้งานได้กว้างขึ้น

3.1 UV-Vis Spectrum

คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามีแถบสเปคตรัมตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (รวมทั้งรังสีแกมมาและรังสีเอ็กซ์) ไปจนถึงช่วงความยาวคลื่นยาว (รวมถึงไมโครเวฟ และคลื่นวิทยุ) รังสียูวีและแสงขาวเป็นเพียงส่วนเล็ก ๆ ส่วนหนึ่งของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าโดยมีความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร

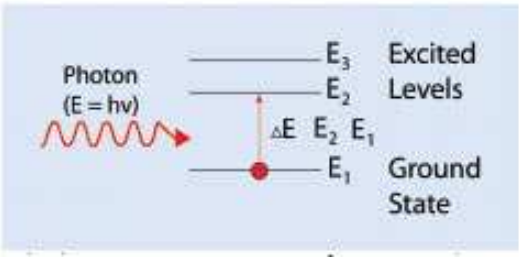
3.2 UV-Vis Spectroscopy

เทคนิค UV-Vis spectroscopy ทำงานบนหลักการพื้นฐานของคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสาร เมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงในช่วงรังสียูวีหรือแสงขาวที่มีพลังงานเหมาะสม จะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นที่มีระดับพลังงานที่สูงกว่า

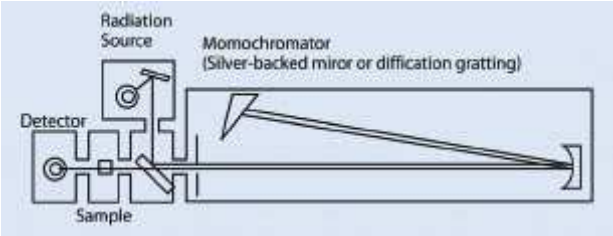


รูปที่ ก.3 แถบสเปคตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

เมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่าง ๆ ตามกฎของ Beer-Lambert ค่า absorbance หรือค่าการดูดกลืนแสงของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถระบุชนิดและปริมาณของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างได้



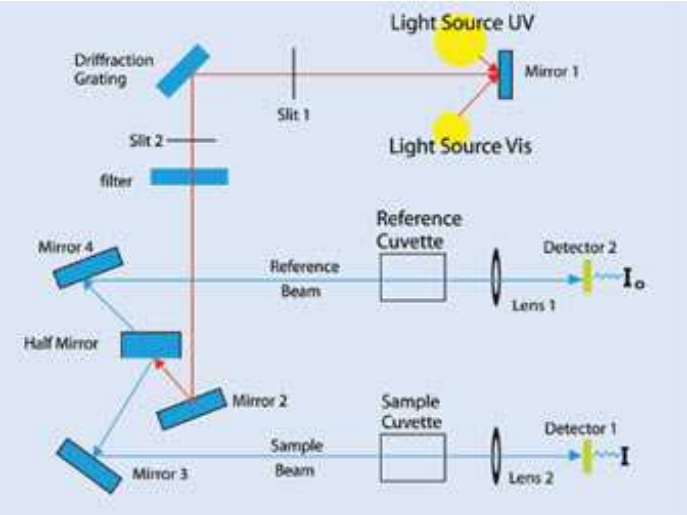
รูปที่ ก.4 อิเล็กตรอนภายในโมเลกุลที่เปลี่ยนระดับชั้นพลังงาน เมื่อได้รับพลังงานเพียงพอ



รูปที่ ก.5 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงเดี่ยว

3.3 UV-Vis Spectrophotometer

เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่นำเทคนิค UV-Vis spectroscopy มาใช้งาน เครื่องมือนี้ทำหน้าที่ในการตรวจวัดความเข้มแสงที่ผ่านหรือสะท้อนจากตัวอย่างเปรียบเทียบกับความเข้มแสงจากแหล่งกำเนิด เครื่อง UV-Vis spectrophotometer โดยทั่วไปแล้วจะมีส่วนประกอบหลัก ๆ ที่เหมือนกัน ได้แก่ แหล่งกำเนิดแสงเกรตติ้ง หรือโมโนโครเมเตอร์ เซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่าง และเครื่องตรวจวัดแหล่งกำเนิดแสงจะต้องให้แสงคงที่อย่างต่อเนื่อง ตัวที่นิยมใช้ คือ หลอดทังสเตนฮาโลเจนซึ่งให้แสงที่มีความยาวคลื่นในช่วง 320-2,500 นาโนเมตร สำหรับแหล่งกำเนิดแสงในช่วงรังสียูวีจะใช้หลอดไฮโดรเจนหรือหลอดดิวทีเรียม ซึ่งให้แสงในช่วงความยาวคลื่น 160-375 นาโนเมตร แต่แสงที่ได้จากแหล่งกำเนิดนั้นจะมีความยาวคลื่นต่าง ๆ ดังนั้นจึงต้องใช้โมโนโครเมเตอร์เป็นตัวกระจายแสงออกเพื่อให้แสงที่จะผ่านไปยังตัวอย่างมีความยาวคลื่นค่าเดียวตามที่ต้องการ หลังจากนั้นแสงความยาวคลื่นค่าเดียวจะผ่านไปยังเซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่าง และสารเปรียบเทียบที่บรรจุสารละลาย (cuvettes) มีรูปร่างต่าง ๆ กันออกไป แต่ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นกล่องทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีความกว้างภายใน 1 เซนติเมตร (ซึ่งค่านี้จะเป็นค่าระยะทางเดินของแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่างตามกฎของ Beer-Lambert) เครื่อง UV-Vis spectrophotometer บางรุ่นสามารถใช้หลอดทดลองเป็น cuvettes ได้ แต่ cuvettes ที่ดีที่สุดนั้น ทำมาจากควอร์ดที่มีคุณภาพสูง สำหรับ cuvettes ที่ทำจากแก้วหรือพลาสติกนั้น ก็เป็นที่นิยมใช้กันทั่วไป แต่สามารถใช้ได้เฉพาะในช่วงแสงขาวเท่านั้น เพราะแก้ว และพลาสติกดูดกลืนแสงในช่วงรังสียูวี แสงในส่วนที่ไม่ถูกดูดกลืนจะเดินทางผ่านตัวอย่างมาถึงเครื่องตรวจวัด เครื่องจะทำการบันทึกค่าความยาวคลื่นร่วมกับค่ามุมของแต่ละความยาวคลื่นที่เกิดการดูดกลืน ผลของสเปคตรัมที่ได้จะแสดงในรูปของกราฟระหว่างค่า absorbance และค่าความยาวคลื่น เครื่อง UV-Vis spectrophotometer สามารถแบ่งได้เป็น 2 ระบบ คือ แบบลำแสงเดี่ยว และแบบลำแสงคู่ สำหรับเครื่องแบบลำแสงเดี่ยวเป็นเครื่องที่ใช้ลำแสงเดียวจากแหล่งกำเนิดผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือนี้ได้รับการออกแบบให้สามารถใช้งานได้ง่ายสะดวก และมีราคาไม่แพงมากนัก



รูปที่ ก.6 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงคู่

สำหรับเครื่องแบบลำแสงคู่นั้น แสงจะถูกแยกออกเป็น 2 ลำก่อนที่จะไปตกลงบนตัวอย่าง โดยแสงลำหนึ่งจะใช้เป็นลำแสงอ้างอิง ขณะที่อีกลำจะผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือที่เป็นแบบลำแสงคู่บางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัด 2 ตัว เพื่อที่จะตรวจวัดแสงอ้างอิงและแสงที่มาจากตัวอย่างได้พร้อมกัน แต่ในบางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัดเพียงตัวเดียว โดยแสงทั้งสองลำจะผ่านตัว beam chopper ซึ่งจะทำหน้าที่กักแสงลำหนึ่งไว้ในช่วงระยะเวลาหนึ่งเครื่องตรวจวัดจึงสามารถตรวจวัดความแตกต่างของแสงทั้งสองลำได้

3.4 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ/ปริมาณ

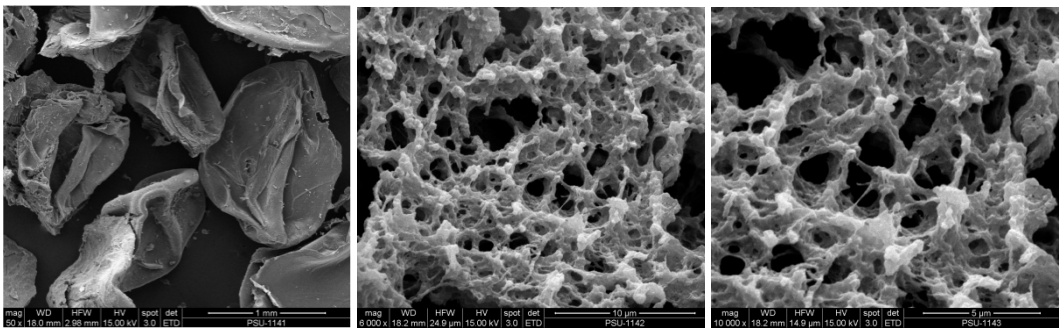
โดยหลักการแล้วสเปคตรัมซึ่งเกิดจากการดูดกลืนแสงในช่วงรังสียูวีและแสงขาวของสารตัวอย่างจะแสดงคุณสมบัติเฉพาะของสารนั้น ๆ ทำให้สามารถนำไปใช้วิเคราะห์สารชนิดต่าง ๆ ได้ แต่ทั้งนี้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้จะให้ผลได้เพียงคร่าว ๆ เพราะลักษณะของสเปคตรัมของสารแต่ละชนิดที่ได้มีความกว้างและรายละเอียดมากจึงต้องใช้เทคนิคอื่น ๆ ร่วมวิเคราะห์ด้วย สำหรับการวิเคราะห์สารในเชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis spectroscopy สามารถทำได้โดยใช้วิธีการทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่า absorbance และค่าความเข้มแสง ดังนั้นเมื่อสามารถวัดค่า absorbance ของสารได้ก็สามารถหาปริมาณของสารที่จะวิเคราะห์ได้จากกราฟ

ภาคผนวก ข

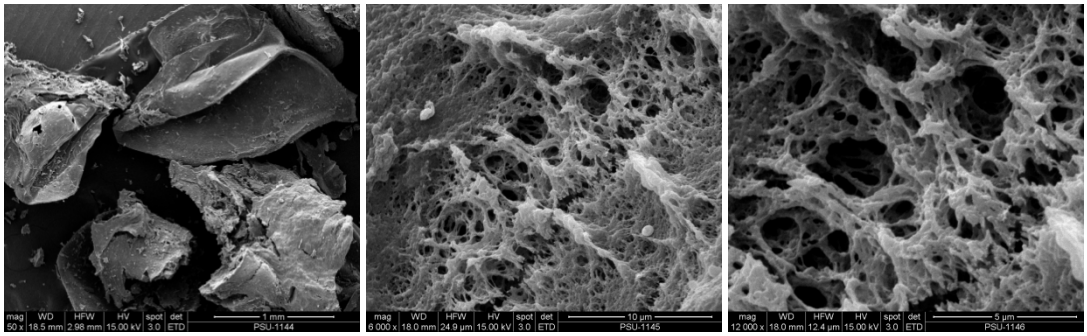
ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ SEM

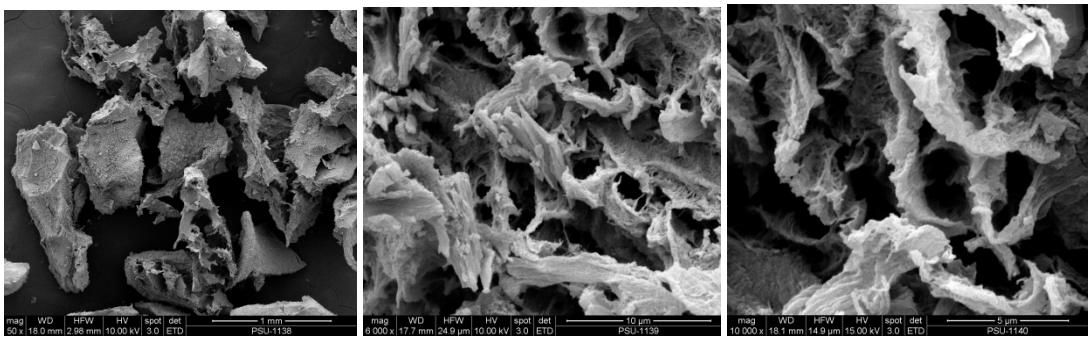
1 ผลการวิเคราะห์ SEM ของเม็ดบีดไคโตซาน (CS)



CS:TPP = 1:2.1 (w/w)



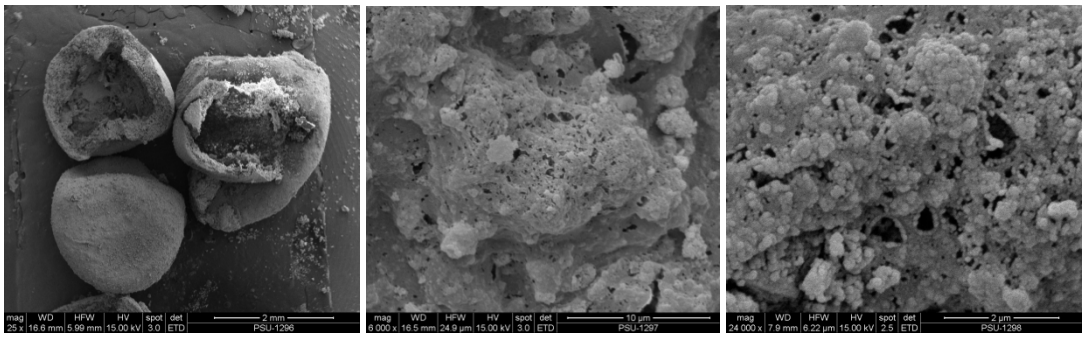
CS:TPP = 1:3 (w/w)



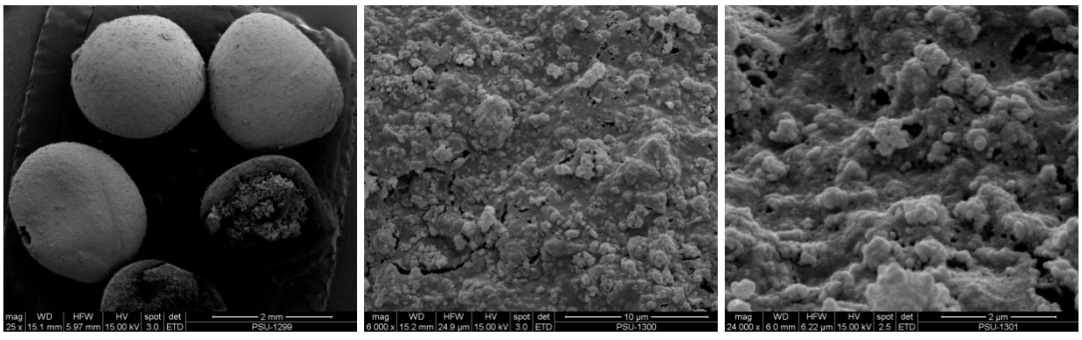
CS:TPP = 1:4.28 (w/w)

รูปที่ ข.1 ผลการวิเคราะห์ SEM ของเม็ดบีดไคโตซาน (CS)

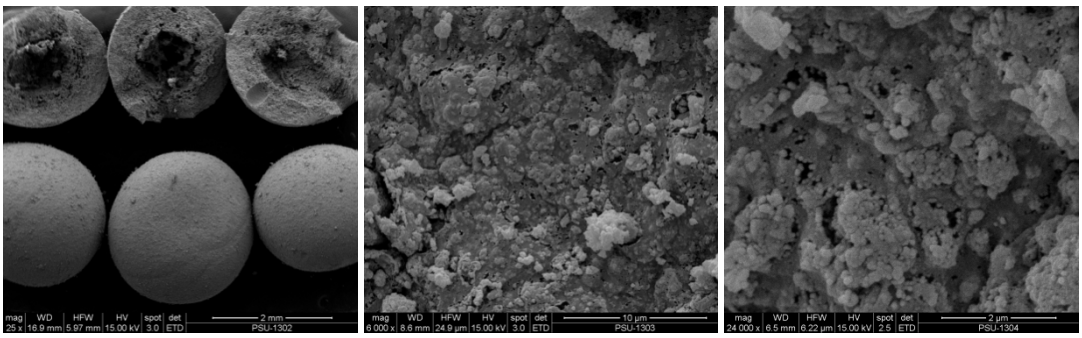
2 ผลการวิเคราะห์ SEM ของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)



CS:HA:TPP = 1:20:2.1 (w/w/w)

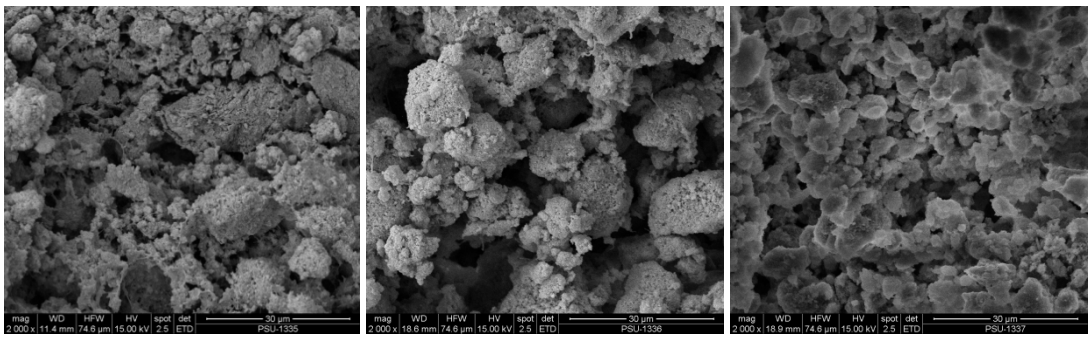


CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w)

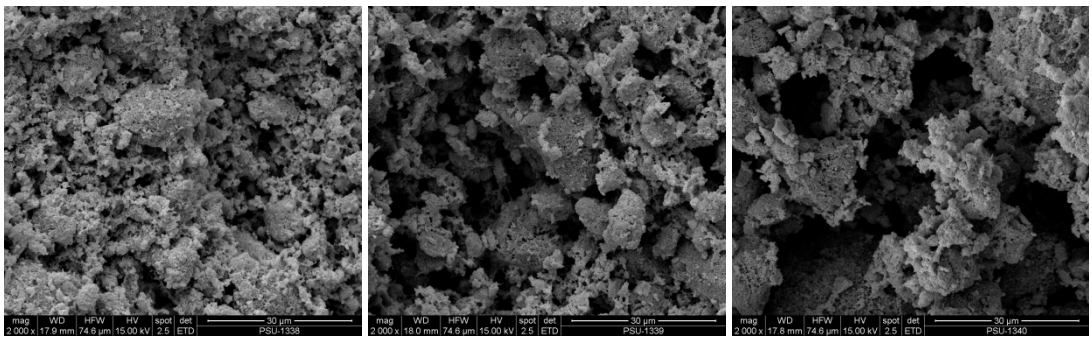


CS:HA:TPP = 1:26.6:2 (w/w/w)

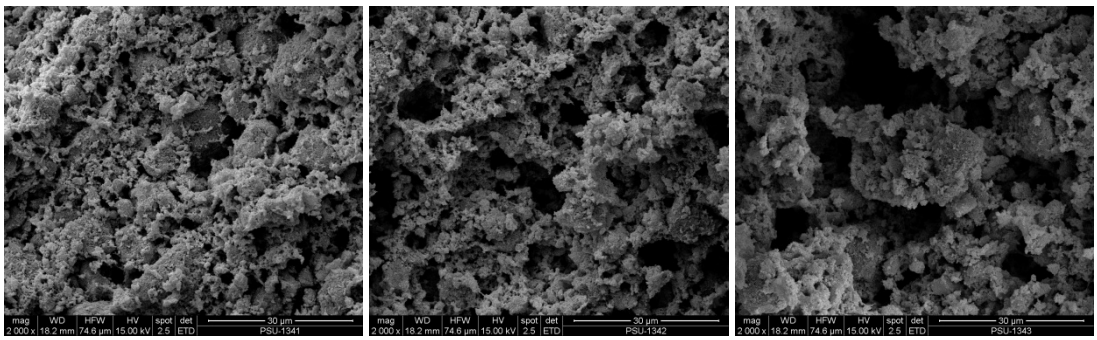
รูปที่ ข.2 ผลการวิเคราะห์ SEM ของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)



CS:HA:TPP = 1:20:2.1 (w/w/w)



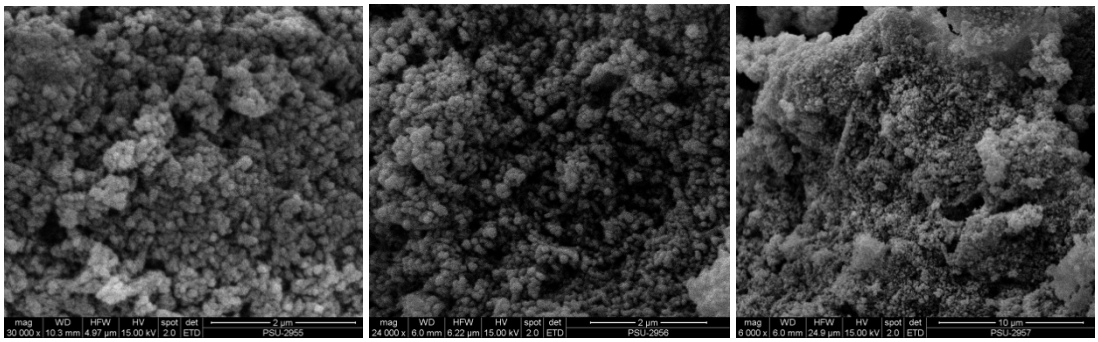
CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w)



CS:HA:TPP = 1:26.6:2 (w/w/w)

รูปที่ ข.3 ผลการวิเคราะห์ SEM ภายในเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)

3 ผลการวิเคราะห์ SEM ของเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน (CS-HA-TC) หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 1 สัปดาห์



เม็ดบีด CS:HA:TPP = 1:20:2 (w/w/w)

รูปที่ ข.4 ผลการวิเคราะห์ SEM ภายในเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์-ยาเตตร้าไซคลิน (CS-HA-TC) หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 1 สัปดาห์

ตารางที่ ข.1 เปอร์เซ็นต์การบวมตัวเม็ดบีดไคโตซาน-ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (CS-HA)

	เปอร์เซ็นต์การบวมตัว		
เวลา (วัน)	**CS:HA:TPP = 1:20:2.1**	**CS:HA:TPP = 1:20:2**	**CS:HA:TPP = 1:26.6:2**
1	104.21±0.26	107.25±3.75	103.06±1.53
2	120.23±0.87	123.70±1.43	109.31±1
3	123.98±1.64	126.44±0.3	119.41±0.18
4	121.34±0.81	124.47±0.92	116.57±0.38
5	114.02±1.19	121.88±0.69	113.96±0.48
6	111.45±1.09	115.38±2.75	111.93±1.81
7	105.91±0.68	112.76±0.28	108.06±2.19

ตารางที่ ข.2 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:3.3:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับ HA ก่อน แล้วนำไปรวมกับสารละลายไคโตซาน

เวลา (วัน)	**ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)**	**เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย**
1	3.99	22.51
2	4.06	22.93
3	4.12	23.26
4	4.32	24.39
5	4.49	25.34
6	4.5	25.4
7	4.55	25.69

ตารางที่ ข.3 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:6.6:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับ HA ก่อน แล้วนำไปรวมกับสารละลายไคโตซาน

เวลา (วัน)	ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย
1	5.52	19.23
2	5.75	20.04
3	6.16	21.47
4	6.35	22.14
5	6.65	23.18
6	6.83	23.79
7	6.97	24.27

ตารางที่ ข.4 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:13.3:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับ HA ก่อน แล้วนำไปรวมกับสารละลายไคโตซาน

เวลา (วัน)	ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย
1	6.15	19.09
2	6.41	19.91
3	6.69	20.79
4	6.89	21.40
5	7	21.74
6	7.14	22.17
7	7.2	22.50

ตารางที่ ข.5 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:1.6:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนแล้วค่อยเติมผง HA

เวลา (วัน)	ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย
1	3.51	22.91
2	3.58	23.4
3	3.67	24.01
4	3.76	24.59
5	3.92	25.64
6	4	26.12
7	4.37	28.55

ตารางที่ ข.6 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:3.3:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนแล้วค่อยเติมผง HA

เวลา (วัน)	ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย
1	3.75	22.84
2	3.82	23.31
3	3.9	23.79
4	4.02	24.51
5	4.15	25.32
6	4.37	26.67
7	4.42	26.93

ตารางที่ ข.7 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:6.6:2 ที่เตรียมโดยผสมยากับสารละลายไคโตซานก่อนแล้วค่อยเติมผง HA

เวลา (วัน)	ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย
1	4.03	22.79
2	4.12	23.28
3	4.2	23.75
4	4.32	24.42
5	4.44	25.08
6	4.53	25.59
7	4.68	26.44

ตารางที่ ข.8 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:0.5:2 ที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ

เวลา (วัน)	ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย
1	3.87	24.34
2	4.50	28.29
3	4.55	28.64
4	4.66	29.31
5	4.87	30.63
6	5.08	31.92
7	5.54	34.85

ตารางที่ ข.9 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:1:2 ที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ

เวลา (วัน)	ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย
1	4.09	20.53
2	4.45	22.35
3	4.92	24.73
4	5.03	25.30
5	5.14	25.80
6	5.35	26.87
7	5.79	29.12

ตารางที่ ข.10 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยจากเม็ดบีด CS:HA:TC:TPP = 1:26.6:1.5:2 ที่เตรียมโดยการดูดซับสารละลายยาด้วยความดันสุญญากาศ

เวลา (วัน)	ปริมาณยาที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม/กรัม)	เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อย
1	4.29	18.98
2	4.57	20.23
3	4.71	20.85
4	4.90	21.67
5	5.05	22.33
6	5.25	23.24
7	5.53	24.47

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวภัทรวดี พิเชฐบวรกุล

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5310120105

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2553

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนสาขาความเป็นเลิศด้านวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์