

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อและฤทธิ์สมานแผลในปากของน้ำยาบ้วนปาก  
curcumin-chitosan ที่ปราศจากแอลกอฮอล์นอกร่างกายและในร่างกาย  
Antiseptic and oral wound healing evaluation of a novel  
alcohol-free curcumin-chitosan mouthwash *in vitro* and *in vivo* studies

### ผู้วิจัย

นางศิริมา มัทธนาตุลย์	คณะเภสัชศาสตร์
นางสุวิภา อึ้งไพบูลย์	คณะเภสัชศาสตร์
นางสุปรียา ยืนยงสวัสดิ์	คณะเภสัชศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์  
ประเภททั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2557

## กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณภาควิชาเภสัชกรรมคลินิก ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ และภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ ที่ให้ความเอื้อเฟื้อในการใช้สถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณสุปรีย์ สังฆรักษ์ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกต่างๆในการทำวิจัย จนทำให้การดำเนินการวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ศิริมา มัทธนาตุลย์

ตุลาคม 2561

## บทคัดย่อ

สาร curcumin เป็นสารจากธรรมชาติที่มีศักยภาพและความน่าสนใจสูงในการใช้รักษาโรคแผลอักเสบในช่องปากเนื่องจากมีความปลอดภัยและมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยามากมายซึ่งรวมถึงฤทธิ์ด้านการอักเสบ ด้านจุลชีพและกระตุ้นการหายของแผล สาร chitosan เป็นที่รู้จักกันดีในคุณสมบัติด้านการยึดเกาะกับ mucus membrane (bioadhesive) ได้ดี ซึ่งจะช่วยคงระดับความเข้มข้นของสาร curcumin ในเยื่อเมือกช่องปากและเพิ่มประสิทธิภาพการกระตุ้นการหายของแผลและประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลชีพของสาร curcumin ดังนั้น สูตรตำรับน้ำยาบ้วนปาก สาร curcumin-chitosan ที่ปราศจากแอลกอฮอล์จึงถูกพัฒนาขึ้นและทำการประเมินศักยภาพของตำรับในการนำไปใช้สำหรับภาวะแผลอักเสบในเยื่อเมือกช่องปาก

ผง commercial curcumin ที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วยสาร curcumin demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin ในสัดส่วน 79 19 และ 2% ตามลำดับ ผลในการต้านเชื้อจุลชีพก่อโรคในช่องปากของผง commercial curcumin ที่ใช้ในการศึกษาสอดคล้องกับผลการศึกษาของสาร curcumin ที่มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้โดยมีผลต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* (MIC: 125 µg/mL) methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) (MIC: 125 µg/mL) *Streptococcus salivarius* (MIC: 62.5 µg/mL) *Escherichia coli* (MIC: 250 µg/mL) *Klebsiella pneumoniae* (MIC: 250 µg/mL) และ *Pseudomonas aeruginosa* (MIC: 125 µg/mL) ค่า MIC ที่ได้จากผง commercial curcumin มีค่าสูงกว่าค่า MIC ของน้ำยาบ้วนปากมาตรฐาน chlorhexidine

สูตรตำรับน้ำยาบ้วนปาก chitosan-curcumin ที่ปราศจาก alcohol และมี pH 5.5 ซึ่งเหมาะสมกับการใช้ในช่องปากถูกพัฒนาขึ้นโดยใช้ polyethylene glycol (PEG) 400 เป็นตัวทำละลาย ตำรับน้ำยาบ้วนปากที่เตรียมได้มีลักษณะสีเหลืองใส มีความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีภายใต้การทดสอบแบบเร่ง รวมทั้งไม่พบการขึ้นของเชื้อจุลชีพภายในระยะเวลาที่ใช้ศึกษา ความคงตัวของตำรับยาเหมาะสมกับการนำไปใช้ในรูปแบบ extemporaneous formulation ในระยะเวลาการรักษา 2 สัปดาห์ ไม่พบการทำให้เกิดพิษต่อเซลล์ human gingival fibroblast cell line การมีส่วนผสมของ 0.1% w/v curcumin และ 0.5% w/v chitosan ทำให้ตำรับน้ำยาบ้วนปากมีข้อได้เปรียบที่โดดเด่นเหนือตำรับน้ำยาบ้วนปากที่มีเพียงสารเดี่ยวของ 0.1% w/v curcumin หรือ 0.5% w/v chitosan ในความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปากทั้งในรูปแบบแขวนตะกอน และ biofilm โดยเฉพาะผลยับยั้งต่อเชื้อรา *Candida albicans* โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อใกล้เคียงกับน้ำยาบ้วนปากมาตรฐาน 0.2% w/v chlorhexidine ผลการศึกษายังพบว่า ตำรับน้ำยาบ้วนปาก chitosan-curcumin ที่เตรียมได้สามารถลดขนาดแผลอักเสบในเยื่อเมือกช่องปากหนูแฮมสเตอร์ที่ถูกชักนำด้วยการแปะแผ่นกระดาษกรองชุ่มด้วย acetic acid ไว้ที่บริเวณเยื่อเมือกช่องปากของหนูเป็นเวลา 60 วินาที ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีประสิทธิภาพในการเร่งการหายของแผลสูงกว่าน้ำยาบ้วนปากมาตรฐานสำหรับรักษาแผลในช่องปาก benzydamine (Diffiam®) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ดังนั้นตำรับน้ำยาบ้วนปาก 0.1% chitosan-curcumin ที่ปราศจาก alcohol ที่พัฒนาขึ้นมีความปลอดภัยและมีศักยภาพในการใช้เป็นยาทางเลือกการรักษาสำหรับภาวะแผลอักเสบในช่องปาก

## ABSTRACT

Curcumin has been characterized as an agent of potential interest for treating oral lesions with its safety profile and numerous pharmacological properties including anti-inflammatory, antimicrobial and wound healing. Chitosan is well known for its bioadhesive property that could be beneficial to maintain curcumin concentration on the oral mucosa and enhance the lesion healing and antimicrobial efficacy of curcumin. Accordingly, an alcohol free chitosan-curcumin mouthwash was developed and determined for its potential topical use in oral mucositis

The percentage content of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in the commercial curcumin powder used in the present study was 79, 19 and 2% respectively. The antimicrobial effects of the commercial curcumin powder obtained from the study were consistent with other previous studies against the oral standard pathogenic strains: *Staphylococcus aureus* (MIC: 125 µg/mL), methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) (MIC: 125 µg/mL), *Streptococcus salivarius* (MIC: 62.5 µg/mL), *Escherichia coli* (MIC: 250 µg/mL), *Klebsiella pneumoniae* (MIC: 250 µg/mL), *Pseudomonas aeruginosa* (MIC: 125 µg/mL). The MIC values of a commercial curcumin powder against all organisms were found to be significantly higher as compared to chlorhexidine.

0.1% alcohol-free chitosan-curcumin mouthwash with pH 5.5 which is in an optimum pH range to use in the human oral cavity was developed using polyethylene glycol (PEG) 400 as a solvent. The developed mouthwash was a clear yellow solution with no sign of physical appearance changes, microbial growth or loss of curcumin content was found during the study period. Its stability was suitable to be used as an extemporaneous formulation for a 2 week period treatment. No cytotoxicity on human gingival fibroblast cell line was observed. The developed mouthwash exerted a distinctive advantage over pure 0.1% w/v curcumin or 0.5% w/v chitosan mouthwash against *Candida albicans* growth both in free floating and biofilm forms with a comparable anticandidal efficacy to that of a standard chlorhexidine mouthwash. It was also found that the mouthwash significantly decreased the buccal mucosal ulcer area induced by topical application of a round filter paper soaked in acetic acid and then pressed onto the buccal mucosa for 60 s in hamster ( $p < 0.05$ ) and with a better ulcer healing efficacy than triamcinolone paste or benzydamine (Difflam<sup>®</sup>) solution ( $p < 0.05$ ). The developed alcohol-free 0.1% chitosan-curcumin mouthwash may serve as a safe and potential alternative therapeutic agent for oral inflammatory ulcer.

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	3
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	4
สารบัญเรื่อง	5
สารบัญตาราง	6
สารบัญรูปภาพ	7
บทที่	
1 บทนำ	8
ความสำคัญและความเป็นมา	8
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	12
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	12
2 ตรวจสอบเอกสาร	13
3 วิธีศดอุปกรณัและวิธีดำเนินการวิจัย	15
วิธีดำเนินการวิจัย	15
การวิเคราะห์ข้อมูล	19
4 ผลการวิจัยและอภิปรายสรุปผล	20
เอกสารอ้างอิง	30

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
1	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ( $\bar{M}_v$ ) และ degree of deacetylation ของ chitosan ที่เตรียมได้	20
2	ประสิทธิภาพของ curcumin และ chitosan ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก	21
3	ลักษณะทางกายภาพและเคมีของตำรับน้ำยาบ้วนปาก chitosan-curcumin หลังจกการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง	23
4	ผล wound healing ใน human gingival fibroblast cell line ของ curcumin chitosan และ ตำรับน้ำยาบ้วนปาก chitosan-curcumin	24
5	% migration rate ของ curcumin chitosan และตำรับน้ำยาบ้วนปาก chitosan-curcumin ต่อความกว้างเฉลี่ยของแผลใน human gingival fibroblast cell line ที่เวลา 7 วัน	24
6	ปริมาณเฉลี่ยของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ หลังจากผสมกับน้ำยาบ้วนปาก นาน 10 นาที	26
7	ผลของตำรับน้ำยาบ้วนปาก chitosan-curcumin ต่อแผลอักเสบในเยื่อช่องปากที่ถูกชักนำโดยวิธี topical acetic acid application ในหนูแฮมสเตอร์	27
8	Site activity score ของการเกิดแผลอักเสบในเยื่อช่องปาก pain score และ patient safety ระหว่างการได้รับการรักษาด้วยตำรับน้ำยาบ้วนปาก chitosan-curcumin	29

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1	25

1 % migration rate ของ curcumin chitosan และตำรับน้ำยาบ้วนปาก chitosan-curcumin ต่อความกว้างเฉลี่ยของแผลใน human gingival fibroblast cell line ที่เวลา 7 วัน