



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาเจลไคโตซานไวต์ออูณหภูมิจากเปลือกผลมังคุด
Development of fruit hull of mangosteen extract loaded thermosensitivity chitosan gel

โดย

นสภ.ณัฐพร	ถาวรคุณ	รหัส 57210174
นสภ.กฤตภาค	ธัญญามโนรณ	รหัส 57210240
นสภ.อภิชาติ	มนัสเกษมศักดิ์	รหัส 57210258

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2561
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาเจลไคโตซานไวต์ออลูมิเนียม ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด
Development of fruit hull of mangosteen extract loaded thermosensitivity chitosan gel

โดย

นสภ.ณัฐพร	ถาวรคุณ	รหัส 57210174
นสภ.กฤตภาค	ธัญญามโนรณ	รหัส 57210240
นสภ.อภิชาติ	มนัสเกษมศักดิ์	รหัส 57210258

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2561

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

ปัจจุบันมีการนำเจลไวต์อูณภูมิเพื่อประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรมมากขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติที่ไวต์อูณภูมิ ซึ่งสามารถก่อตัวกลายเป็นเจลได้ที่อุณหภูมิร่างกาย และมีคุณสมบัติเกาะติดเนื้อเยื่อได้ดี จึงได้นำเอาคุณสมบัติดังกล่าวมาใช้พัฒนาตำรับเจลไวต์อูณภูมิ เพื่อความสะดวกและเพิ่มความร่วมมือของผู้ป่วย ทั้งนี้มีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์จากสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด เช่น แอลฟาแมงโกสติน ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายฤทธิ์ เช่น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การต้านการอักเสบ ฤทธิ์แก้ปวด และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ เป็นต้น

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการพัฒนาเจลโคโตะซานไวต์อูณภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดสำหรับช่องปาก โดยศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากตำรับ และศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ

คณะผู้วิจัย

วันที่ 30 พฤศจิกายน 2561

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2561

เรื่อง การพัฒนาเจลไคโตซานไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | | |
|----------------|----------------|---------------|
| 1. นสภ.ณัฐพร | ถาวรคุณ | รหัส 57210174 |
| 2. นสภ.กฤตภาค | ธัญญามโนรณ | รหัส 57210240 |
| 3. นสภ.อภิชาติ | มนัสเกษมศักดิ์ | รหัส 57210258 |

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

ภก.ผศ.ดร.ณัฐธัญ เจริญศิริวิไลวัฒน์

ภญ.ดร.สมาวดี เปี้ยนวงษ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์คือการพัฒนาตำรับเจลไวต่ออุณหภูมิโดยการใช้ poloxamer 407 (PLX) และ ไคโตซาน-ethylenediaminetetra acetic acid (CS) ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด (EX) โดยใช้ 16.2% W/W ของ PLX ผสมกับ 0.2% ของ CS (PLX:CS) และนำไปบรรจุ EX 1, 2.5, 5 % W/W (PLX:EX และ PLX:CS:EX) การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพประกอบไปด้วย ลักษณะทางกายภาพ pH การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการเกิดเจล ความหนืด ลักษณะการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากตำรับ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และ คุณสมบัติการฆ่าเชื้อ โดยตำรับที่เตรียมมี pH อยู่ในช่วง 3.35 ถึง 3.44 อุณหภูมิในการเกิดเจลเท่ากับ 35.0 ถึง 36.33 องศาเซลเซียส คุณสมบัติในการปลดปล่อยของตำรับของสูตร PLX:EX ใกล้เคียงกับปฏิริยาอันดับศูนย์ ($R^2 = 0.9365$) และสูตร PLX:CS:EX ใกล้เคียงกับปฏิริยาอันดับหนึ่ง ($R^2 = 0.9863$) พฤติกรรมต้านอนุมูลอิสระของสูตร PLX:CS:EX มากกว่าสูตร PLX:EX อยู่ 1.03 เท่า นอกจากนี้ตำรับสูตร PLX:CS:EX สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida albicans* อย่างไรก็ดีตามตำรับ PLX:CS:EX ยังไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ ดังนั้นพบว่าตำรับ PLX:CS:EX มีคุณสมบัติทางกายภาพเหมาะสมและสามารถพัฒนาตำรับต่อไปเพื่อใช้รักษาในช่องปากได้

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก.....

Senior project academic year 2018

Title: Development of fruit hull of Mangosteen extract loaded thermosensitivity chitosan gel

By

1. Ms. Nuthaporn Thawornkhun ID 57210174

2. Mr. Krittapak Thunyamanorot ID 57210240

3. Mr. Apichat Manatkasemsak ID 57210258

Advisor:

Assistant Prof. Dr.Natthan Charernsriwilaiwat

Dr. Samarwadee Plianwong

.....

Abstract

This research aimed to formulate a thermo sensitive gel using poloxamer 407 (PLX) and chitosan-ethylenediaminetetra acetic acid (CS) loading extract from fruit hull of *Garcinia mangostana* (EX). 16.2% W/W of PLX was mixed with 0.2% W/W (PLX:CS). The PLX and PLX:CS were loaded with 1, 2.5 and 5 % W/W EX (PLX:EX and PLX:CS:EX). The physical properties of all formulation including appearance, pH, gelation temperature and viscosity were characterized. The release profile, antioxidant and antifungal properties were evaluated. The pH of PLX:CS:EX formulation were in the range of 3.35 to 3.44. The gelation of these formulation occurred around 35.0 to 36.33°C. The release profile of PLX:EX fitted the Zero order ($R^2 = 0.9365$) and PLX:CS:EX fitted First order ($R^2 = 0.9863$). The antioxidant property of PLX:CS:EX was 1.03 times higher than PLX:EX. Furthermore PLX:CS:EX was able to inhibit the growth of *Candida albican*. However, it did not show fungicidal effects. In conclusion, the fruit hull of mangosteen extract was successfully incorporated into the thermo sensitivity PLX:CS gel with proper physical properties. These formulations may be developed for using in the oral cavity.

Major advisor.....

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ภก.ผศ.ดร. ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาประจำกลุ่มงานวิจัยที่ให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนชี้แนะเพื่อการแก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี คณะผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริง ความเอาใจใส่ และความทุ่มเทของอาจารย์ จึงกราบขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ภญ.ดร. สมาวดี เปลี่ยนวงษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่คอยให้คำแนะนำเพิ่มเติมระหว่างการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณบุคลากรและอาจารย์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยทุกด้าน และขอขอบพระคุณสำหรับทุนสนับสนุนงานวิจัย

อนึ่ง คณะผู้วิจัยหวังว่า งานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์ด้านเภสัชกรรมไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดให้แก่ คณาจารย์ที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาจนทำให้ผลงานวิจัยเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่เกี่ยวข้อง และสุดท้ายขอขอบพระคุณครอบครัวและทุกคนที่ให้อำลังใจ สนับสนุนในการศึกษาและการทำงานวิจัยเสมอมา

คณะผู้วิจัย

วันที่ 30 พฤศจิกายน 2561

สารบัญ

หน้า

คำนำ.....	๗
บทคัดย่อ.....	๘
Abstract.....	๙
กิตติกรรมประกาศ.....	๑๐
สารบัญ.....	๑๑
สารบัญตาราง.....	๑๒
สารบัญรูปภาพ.....	๑๓
สารบัญภาคผนวก.....	๑๔
สารบัญตารางภาคผนวก.....	๑๕
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	5
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	37
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	49
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย.....	69
เอกสารอ้างอิง.....	71
ภาคผนวก.....	82

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แหล่งที่มาของ ไคโตซาน.....	5
ตารางที่ 2 แสดงตัวอย่างการนำ ไคโตซาน ไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ.....	6
ตารางที่ 3 แสดงการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว	9
ตารางที่ 4 แสดงการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งและความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว	10
ตารางที่ 5 แสดงการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบ แก้แพ้ และแก้ปวด ของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว	12
ตารางที่ 6 แสดงการศึกษาฤทธิ์การฆ่าเชื้อ ของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว	13
ตารางที่ 7 แสดงการศึกษาฤทธิ์ต้านปรสิต ฆ่าพยาธิ และลดความอ้วนของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว	13
ตารางที่ 8 สารประกอบแซนโทนบางชนิดที่แยกได้จากมังคุด.....	15
ตารางที่ 9 แสดงพอลิเมอร์ที่ใช้บ่อยในการใช้เพื่อเป็น mucoadhesive polymers	23
ตารางที่ 10 แสดงคุณสมบัติของสารในสูตรตำรับ	32
ตารางที่ 11 การเตรียมความเข้มข้น standard curve โดยใช้สารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน ..	41
ตารางที่ 12 แสดงลักษณะทางกายภาพในแต่ละอัตราส่วนของไคโตซาน.....	49
ตารางที่ 13 แสดงอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะระหว่างสารละลายและเจล ($T_{sol-gel}$) ของ PLX407 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	50
ตารางที่ 14 แสดงลักษณะทางกายภาพ เมื่อผสม 2%CS และ 14.9%PLX407 ที่ใช้เตรียมใน สัดส่วนต่างๆ ในที่เย็น.....	51
ตารางที่ 15 แสดงผลการต้านอนุมูลอิสระของ ascorbic acid และสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด	52
ตารางที่ 16 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ <i>Candida albicans</i> ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด โดยการหาค่า minimum fungicidal concentration (MFC) ของสารสกัดใน 50% DMSO	53

ตารางที่ 17 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ <i>Candida albicans</i> ของสารสกัดจากเปลือก ผลมังคุด โดยการหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC).....	54
ตารางที่ 18 ตำรับต่างๆของเจลโคโคซานไวต่ออุณหภูมิที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด.....	55
ตารางที่ 19 แสดงภาพถ่ายลักษณะตำรับเจล	56
ตารางที่ 20 แสดงลักษณะทางกายภาพของตำรับเจล	57
ตารางที่ 21 แสดงค่า %content ของตำรับเจล	57
ตารางที่ 22 แสดงความหนืดที่ shear rate 1 s^{-1} ของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศา เซลเซียส.....	61
ตารางที่ 23 แสดงผลการต้านอนุมูลอิสระของตำรับเจล	61
ตารางที่ 24 แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของการปลดปล่อยสะสมของสารแอลฟาแมงโกสติน	63
ตารางที่ 25 แสดง shear viscosity ของตำรับเจลที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ shear rate 1 s^{-1} 37 องศาเซลเซียส	64
ตารางที่ 26 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ <i>Candida albicans</i> ของสารสกัดจากเปลือก ผลมังคุด โดยการหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ของตำรับ	65
ตารางที่ 27 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ <i>Candida albicans</i> โดยการหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ของตำรับ	66
ตารางที่ 28 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ <i>Candida albicans</i> โดยการหาค่า minimum fungicidal concentration (MFC) ของตำรับ	67

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างหลักของสารประกอบแซนโทน	15
รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ เวลาและปริมาณสาร แซนโทน ที่พบ.....	19
รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ และ ความเข้มข้นของ เอทานอล.....	19
รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ ของเวลาในการสกัด และ ความเข้มข้นของ เอทานอล.....	20
รูปที่ 5 แสดงถึงการกระจายตัวของของเหลวที่ยึดติดบนผิวเนื้อเยื่อ	25
รูปที่ 6 แสดงการยึดเกาะกันของ mucoadhesive	26
รูปที่ 7 แสดงภาพตัดขวางของเยื่อภายในช่องปาก.....	29
รูปที่ 8 แสดงการส่งเสริมให้เชื้อ <i>Candida albicans</i> สามารถเกิดเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ได้.....	30
รูปที่ 9 เครื่องมือในการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer)	34
รูปที่ 10 แสดงถึงการทดสอบการยึดติดพื้นผิวของฟิล์ม	34
รูปที่ 11 แสดง 96-well plate ที่บรรจุสารทดสอบ DPPH radical.....	42
รูปที่ 12 แสดง 96-well plate ที่บรรจุสารทดสอบ DPPH radical.....	45
รูปที่ 13 แสดงลักษณะการไหลของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX, PLX : EX 1, PLX : EX 2.5 และ PLX : EX 5	58
รูปที่ 14 แสดงลักษณะการไหลของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX : CS, PLX : CS : EX 1, PLX : CS : EX 2.5 และ PLX : CS : EX 5	58
รูปที่ 15 แสดงลักษณะการไหลเปรียบเทียบระหว่างตำรับเจลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของ ตำรับ PLX, PLX : EX 5, PLX : CS และ PLX : CS : EX 5	59
รูปที่ 16 แสดงลักษณะการไหลของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX, PLX : EX 1 (, PLX : EX 2.5 และ PLX : EX 5	59
รูปที่ 17 แสดงลักษณะการไหลของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX : CS, PLX : CS : EX 1, PLX : CS : EX 2.5 และ PLX : CS : EX 5	60
รูปที่ 18 แสดงลักษณะการไหลเปรียบเทียบระหว่างตำรับเจลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสของ ตำรับ PLX, PLX : EX 5, PLX : CS และ PLX : CS : EX 5	60

รูปที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินที่ปลดปล่อยจากตำรับ PLX : EX 5 และ PLX : CS : EX 5	62
รูปที่ 20 แสดงผลการวัดการยึดติดเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิต่ำ 37 องศาเซลเซียส ของตำรับ Mucin, PLX : mucin, PLX : EX 1 : mucin, PLX : EX 2.5 : mucin และ PLX : EX5 : mucin,	63
รูปที่ 21 แสดงผลการวัดการยึดติดเนื้อเยื่อ ที่อุณหภูมิต่ำ 37 องศาเซลเซียส ของตำรับ Mucin, PLX : CS : mucin, PLX : CS : EX 1 : mucin, PLX : CS : EX 2.5 : mucin และ PLX : CS : EX5 : mucin	64
รูปที่ 22 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ Candida albicans ของตำรับเจล	65

สารบัญภาคผนวก

	หน้า
การตั้งตำรับ.....	83
การทดสอบคุณสมบัติของตำรับเจลไวต์ต่ออุณหภูมิที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด.....	85

สารบัญตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดเปลือกผลมังคุดด้วยตัวทำละลาย 95%v/v เอทานอล	83
ตารางที่ 2 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของ standard alpha-mangostin ที่ความเข้มข้น 200, 100, 75, 50, 25, 10, 5, 1 µg/ml	83
ตารางที่ 3 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัดเปลือกผลมังคุด	84
ตารางที่ 4 แสดงค่า AUC ที่ความยาวคลื่น 320 nm และ %content ของตำรับเจล	85
ตารางที่ 5 แสดงผลการวัดความหนืดของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	86
ตารางที่ 6 แสดงผลการวัดความหนืดของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	90
ตารางที่ 7 แสดงผลการต้านอนุมูลอิสระของตำรับเจล	94
ตารางที่ 8 ปริมาณการปลดปล่อยสารแอลฟาแมงโกสทินของตำรับ 18% poloxamer 407 กับสารสกัด 5 mg/g.....	94
ตารางที่ 9 ปริมาณการปลดปล่อยสารแอลฟาแมงโกสทินของตำรับ 18% poloxamer 407, 2% chitosan (CS) และ สารสกัด 5 mg/g	95
ตารางที่ 10 ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลาต่างๆ ของตำรับ PLX:EX5 และ PLX:CS:EX5	95

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่ได้จากวัตถุดิบจากธรรมชาติกำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีความปลอดภัยกับร่างกายมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่มาจากการสังเคราะห์ จึงมีการทำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากวัตถุดิบจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้หลากหลายประโยชน์ เช่น ยา อาหารเสริม เป็นต้น ซึ่ง chitosan เป็นสารที่ได้จากวัตถุดิบจากธรรมชาติซึ่งมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์มากมาย ในอุตสาหกรรม จากการศึกษาฤทธิ์ของ ไคโตซาน พบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมมากมาย เช่น ฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ระบบนำส่งยา สารช่วยทางเภสัชกรรม ลดความเป็นพิษ รูปแบบเภสัชกรรมแบบออกฤทธิ์เนิ่น ลำไส้ ฟองน้ำ ผ้าพันแผล พลาสเตอร์ फिल्म ไฟเบอร์ สารเปียก (1, 2) โดยมีการศึกษาฤทธิ์การฆ่าเชื้อและนำไปใช้ในโรคปริทันต์ในรูปแบบของฟิล์ม (3) ทั้งนี้ประเทศไทยได้มีการนำเอาวัตถุดิบจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์อย่างหลากหลาย เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมาช้านาน ซึ่งสามารถชี้วัดได้จากปริมาณพื้นที่ที่ใช้ในการเกษตรกรรมภายในประเทศที่มีมากถึง 149,242,393 ไร่ จากพื้นที่ทั้งหมด 320,696,888 ไร่ของประเทศไทยจากการสำรวจในปี พ.ศ. 2558 (4) จึงทำให้มีวัตถุดิบจากธรรมชาติหลากหลายโดยเฉพาะจากพืชและผลไม้ เช่น มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) ซึ่งสร้างมูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ในปี พ.ศ. 2558 ถึง 6,974 ล้านบาท (4) โดยมังคุดเป็นพืชจัด อยู่ในวงศ์ Clusiaceae สกุล *Garcinia* เป็นพันธุ์ไม้ไม่ผลัดใบเขตร้อนชนิดหนึ่ง ซึ่งนำมาจากจังหวัดจันทบุรี บริเวณเปลือกจะมีท่อน้ำยางซึ่งเป็นสารพวกแทนนิน มีรสขมฝาด ซึ่งเป็นตัวช่วยลดการทำลายของแมลงได้ทางหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงวันทองไม่สามารถเจาะเข้าไปทำลายได้ใน 1 ผลมีเมล็ด 1-2 เมล็ด นอกนั้นเป็นเมล็ดที่ไม่เจริญ เมล็ดมีรสขมฝาด สีขาวนี้คือส่วนเนื้อที่ใช้รับประทาน มีรสหวานอมเปรี้ยว เมื่อผลแก่แล้วไม่แตกออก (5) จากการศึกษาพบว่าเปลือกของมังคุดนั้นมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ฤทธิ์ป้องกันโรคหัวใจ เป็นต้น (6) จากคุณสมบัติที่ดีของ ไคโตซาน เปลือกผลมังคุดจึงเป็นที่มาของการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ปัจจุบันประชากรทั่วไปมีอุบัติการณ์การเกิดแผลในช่องปากร้อยละ 5-25 โดยมักเกิดซ้ำๆ

ในทุกๆ 3 เดือนซึ่งมีอัตราการเกิดซ้ำสูงถึงประมาณ 50% (7, 8) ซึ่งส่งผลให้เกิดอาหารเจ็บปวดในช่องปาก จึงเป็นที่มาของงานวิจัยหลายเรื่องที่ศึกษาการนำไปใช้ในการรักษาแผลในช่องปาก

Candida albicans เป็นเชื้อที่เป็นเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่มีอยู่ในช่องปาก 30-50 % โดยคนที่มีภูมิคุ้มกันต่ำลงจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นสามารถก่อโรคได้เช่น ผู้ป่วยติดเชื้อ HIV, ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 60 ปี เป็นต้น (9)

In situ gel เป็นเจลที่ไวต่อสภาพแวดล้อม คือ มีการเปลี่ยนแปลงสถานะจากสารละลายไปเป็นเจลเมื่อเปลี่ยนสภาพแวดล้อม เช่น มีการเปลี่ยนแปลงค่าของความเป็นกรด-เบส, อุณหภูมิ, ชนิดของตัวทำละลาย และ ประจุ เป็นต้น In situ gel เป็นรูปแบบเภสัชภัณฑ์แบบใหม่ที่มีการศึกษาและพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในทางเภสัชกรรมมากขึ้น โดยตัวรับ in situ gel มีความสะดวกในการเตรียมเนื่องจากสามารถเตรียมให้อยู่ในรูปแบบของเหลว และเมื่อทำไปใช้ในสภาวะต่าง ๆ จะเปลี่ยนสถานะเป็นสารที่มีความหนืดมากขึ้น เพื่อยืดเวลาในการปลดปล่อยตัวยาสำคัญได้ยาวนาน จึงนับเป็นระบบการนำส่งยาแบบออกฤทธิ์นานชนิดหนึ่งได้ซึ่งอาศัยคุณสมบัติของพอลิเมอร์ที่สามารถเปลี่ยนสถานะจากสารละลายเป็นเจลได้ที่อุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิในช่องปาก ซึ่งเป็นหนึ่งในส่วนประกอบหลักในตัวรับคือ poloxamer (10) แต่เจลที่ไวต่อสภาพแวดล้อมเมื่อเปลี่ยนเป็นสถานะเจลในช่องปากซึ่งมีพลาสมาเป็นเนื้อเยื่อที่ชุ่มชื้นและมีน้ำลาย (11) ที่ส่งผลให้เจลละลายได้ง่ายและเป็นเหตุที่ทำให้สารสำคัญในตัวรับถูกปลดปล่อยออกมาเร็วส่งผลให้ออกฤทธิ์สั้นจึงมีการใช้พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติในการยึดเกาะกับเนื้อเยื่อได้ (mucoadhesive) คือ ไคโตซาน ร่วมด้วย (1)

คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนาตัวรับเจลที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิเพื่อรักษาแผลในช่องปาก โดยใช้พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติไวต่ออุณหภูมิและมีคุณสมบัติในการยึดเกาะกับเนื้อเยื่อ โดยการประเมินความแตกต่างและสัดส่วนของพอลิเมอร์เพื่อให้ได้ตัวรับที่มีความเหมาะสม และศึกษาฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ คุณสมบัติในการยึดเกาะกับเนื้อเยื่อ เป็นต้น

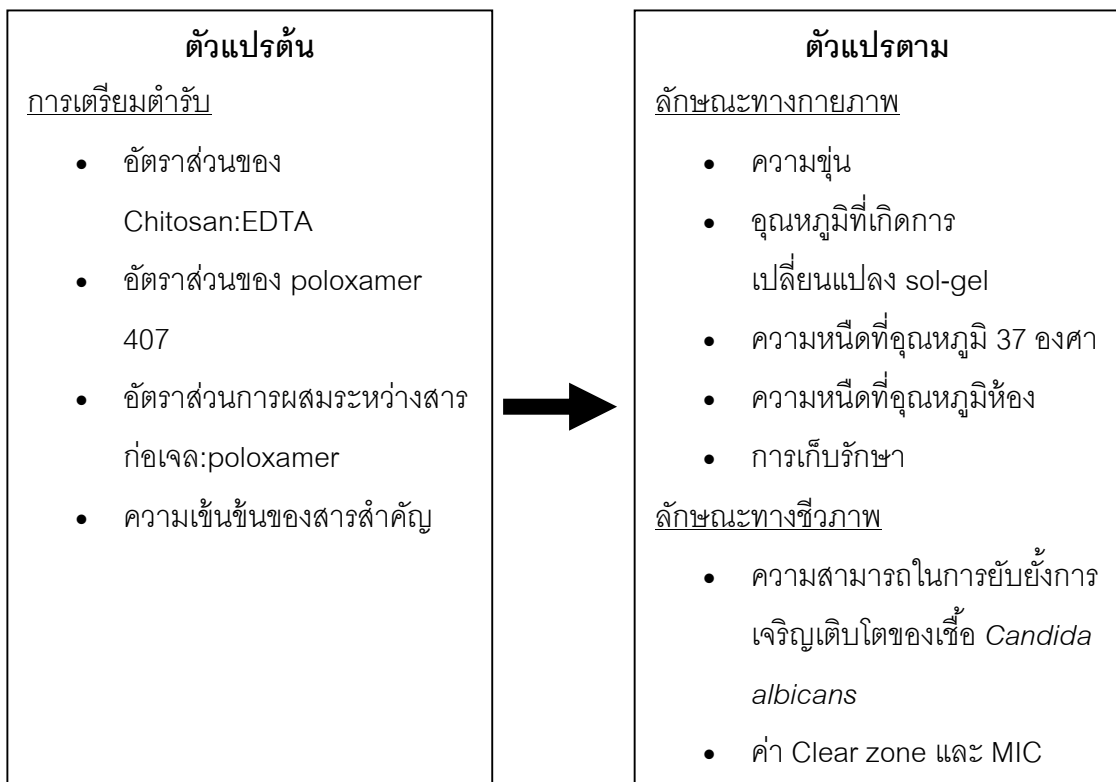
วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาเจลไคโตซานไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด
2. เพื่อตรวจสอบคุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของเจลไคโตซานไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด
3. เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อ *Candida albicans* ของเจลไคโตซานไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถพัฒนาเจลไคโตซานไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด
2. ทราบคุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของเจลไคโตซานไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด
3. ทราบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Candida albicans* ของเจลไคโตซานไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

กรอบแนวคิด



นิยามศัพท์

1. In situ gel เป็นเจลที่ไวต่อสภาพแวดล้อม คือ มีการเปลี่ยนแปลงสถานะจากสารละลายไปเป็นเจลเมื่อเปลี่ยนสภาพแวดล้อม เช่น มีการเปลี่ยนแปลงค่าของความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ชนิดของตัวทำละลาย และ ประจุ เป็นต้น In situ gel เป็นรูปแบบเภสัชภัณฑ์แบบใหม่ที่มีการศึกษาและพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในทางเภสัชกรรมมากขึ้น เช่น ตำรับเพื่อนำส่งทางจมูก ตำรับสำหรับหยอดตา ยาฉีด ยาฝังใต้ผิวหนัง ยาสำหรับฉีดเพื่อรักษาโรคปริทันต์อักเสบ และยาเจลสำหรับช่องคลอด เป็นต้น โดยตำรับ in situ gel มีความสะดวกในการเตรียมเนื่องจากสามารถเตรียมให้อยู่ในรูปแบบของเหลว และเมื่อทำไปใช้ในสภาวะต่าง ๆ จะเปลี่ยนสถานะเป็นสารที่มีความหนืดมากขึ้น เพื่อยืดเวลาในการปลดปล่อยตัวยาสำคัญได้ยาวนาน จึงนับเป็นระบบการนำส่งยาแบบออกฤทธิ์นานชนิดหนึ่งได้ (10)

2. Mucoadhesive drug delivery คือ ระบบนำส่งยาแบบ mucoadhesive ซึ่งเกิดจากการยึดเกาะกันของวัสดุ 2 ชนิด โดยชนิดหนึ่งเป็นวัสดุทางชีวภาพหรือเยื่อเมือก การใช้ mucoadhesive drug delivery นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ยาติดอยู่บริเวณที่จะเกิดการดูดซึมได้นานขึ้น หากเป็นการยึดเกาะกันของวัสดุ 2 ชนิดที่ไม่ใช่เยื่อเมือกจะเรียกว่า bioadhesive (12) ทราบคุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของเจลโคโตะซานไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาดังกล่าว และการประเมินค่ารับของเจลในรูปแบบ In situ gel เพื่อใช้ในการรักษา Candidiasis ในช่องปากสำหรับผู้ป่วยติดเชื้อ HIV ด้วยสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด โดยต้องอาศัยความรู้ ความเข้าใจ เรื่องลักษณะ คุณสมบัติ ชนิดและส่วนประกอบของตำรับเจล สารสกัดที่พบในเปลือกผลมังคุด คุณสมบัติของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด รวมถึงวิธีในการสกัดสาร การตรวจสอบและประเมินค่ารับเจล เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โดย วรรณกรรมที่เกี่ยวข้องมีดังนี้

1. ไคโตซาน

1.1 ลักษณะทางกายภาพและส่วนประกอบของ ไคโตซาน

อุตสาหกรรมและกระบวนการแปรรูป ไคโตซาน จะถูกสกัดจากเปลือกกุ้งโดยการใช้อกรด และนำไปละลายด้วย calcium carbonate และตามด้วย alkaline และนำไปทำให้ ไคโตซาน ไม่มีสี จึงได้ ไคโตซาน มีลักษณะที่ไม่มีสี (13)

ตารางที่ 1 แหล่งที่มาของ ไคโตซาน

Sea animal	Insect	Microorganism
Annelida	Scorpions	Green algae
Mollusca	Spiders	Yeast (β -type)
Coelenterata	Brachiopods	Spores
Crustaceans	Ants	Chytridiaceae
Lobster	Cockroaches	Ascomydes
Crab	Beetles	Blastocladiaceae
Shrimp	Fungi (cell walls)	
Prawn	Mycelia Penicillium	

1.2 การนำไปใช้ของ ไคโตซาน

ไคโตซาน มีความเป็นพิษต่ำและเกิดปฏิกิริยาต่อทางเดินอาหารได้น้อย และสามารถสลายตัวได้เองและยังพบได้ง่ายในธรรมชาติอีกด้วยซึ่งมีกลไกการทำงานของของ ไคโตซาน เป็นการทำงานรูปแบบผสมของทั้ง mucoadhesion และ มีผลต่อการยึดแน่นกับผิวสัมผัสที่ ไคโตซานสัมผัส ซึ่ง ไคโตซาน สามารถนำไปใช้ได้หลายรูปแบบ

ตารางที่ 2 แสดงตัวอย่างการนำ ไคโตซาน ไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ

การนำไปใช้	ตัวอย่าง
ทางการแพทย์ / สัตวแพทย์	ผิวหนังเทียมและหลอดเลือดเทียม การผ่าตัด ศัลยกรรม คอนแทคเลนส์ ไตเทียม รักษาโรคไตวาย รักษา มะเร็ง รักษา มะเร็งเม็ดเลือดขาว(ลูคีเมีย) insulin ในเลือดต่ำ การรักษาบาดแผล การฟื้นฟูกระดูก ใช้ในผู้ป่วยเอดส์ รักษาแผลไฟไหม้ (14)
หมอฟัน	การผ่าตัดและการรักษาในช่องฟัน วัสดุเกี่ยวกับฟัน ครีมนันทกรรม ยับยั้งคราบหินตกกรรม (1)
เภสัชกรรม	ระบบนำส่งยา สารช่วยทางเภสัชกรรม ลดความเป็นพิษ รูปแบบเภสัชกรรมแบบออกฤทธิ์เนิ่น ลำไส้ ฟองน้ำ ผ้าพันแผล พลาสเตอร์ फिल्म ไฟเบอร์ สารเปียก (2)
เครื่องสำอางค์	สารให้ความชุ่มชื้น ครีมบำรุงผิว ครีมอาบน้ำ ครีมบำรุงหน้าและผิวกาย ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวและเส้นผม ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปาก น้ำหอม ผลิตภัณฑ์ในห้องน้ำ (15)
เทคโนโลยีชีวภาพ	ตรึงเซลล์และเอนไซม์ ทำ gel permeation chromatography เพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ การสร้างไบโอเซนเซอร์ การควบคุมการซึมผ่านของ membrane (16)
พันธุวิศวกรรม	การนำส่งยีนและนำส่งวัคซีนและนำส่งDNA ป้องกันการย่อยสลายของ DNA (17)
การเกษตร	การเคลือบเมล็ดและผลไม้ ปุ๋ย สารฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา สารเร่งโต กระตุ้นฮอร์โมนในรากให้กับพืช กระตุ้นการเจริญเติบโตของลำต้น (18)

การนำไปใช้	ตัวอย่าง
อุตสาหกรรมอาหารและ สารเติมแต่งอาหาร	สารกันเสียในอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ อิมัลซิไฟเออร์ สาร ช่วยทำให้ขึ้น สารทำให้คงตัว cryoprotectant ช่วยทำให้ชุ่มน้ำ , สารทำให้เหนียว สารก่อเจล ช่วยขยายรสชาติ เป็นอาหารให้กับ ปลาในปศุสัตว์ (18)
สิ่งแวดล้อมและการ ควบคุมมลพิษ	เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม การรักษาทางอุตสาหกรรม การ ประมวลผลของเสียนิวเคลียร์และอาหาร flocculation การ ตกตะกอน การจับสารมลพิษจากสิ่งปฏิกูลการปนเปื้อนและการ กำจัดของเสียอันตราย มลพิษจากสิ่งแวดล้อมทางทะเล (19)
ฤทธิ์ในการต้านเชื้อ <i>Candida albicans</i>	ไคโตซาน มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ <i>Candida albicans</i> ที่มากกว่า 50 % เมื่อใช้ความเข้มข้นที่ 4.8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ ไคโต ซาน มีค่า MIC > 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (20)
รักษาคุณภาพน้ำ	ช่วยในการจับกับ metal ions, pesticides, phenols, dyes, DTT, PCBs, proteins, amino acids,ล้างสารพิษจากน้ำมัน และ จารบี, ใช้ในการตรวจหา ตะกั่วในน้ำ (15)
การผลิตกระดาษและการ ถ่ายภาพ	ตัวกรองที่ทำให้น้ำบริสุทธิ์ บรรจุภัณฑ์แบบย่อยสลายได้ กระดาษและการตกแต่ง กระดาษทนต่อน้ำและกระดาษชำระ กระดาษ chromatography การพิมพ์ สารเติมแต่ง ฟิล์มสี (21)
อุตสาหกรรมสิ่งทอ	การตกแต่งผ้าขนสัตว์ การย้อมสี การปรับปรุงสิ่งทอ สารกันบูด สารระงับกลิ่นกาย สารฆ่าเชื้อ floccuants กำจัดสีจากน้ำเสีย (22)
อุตสาหกรรมไม้ อื่นๆ	ช่วยในการปกป้องไม้จากการเชื้อรา และ เพิ่มคุณภาพไม้ (23) หนัง พลาสติก บุหรี่ แบตเตอรี่ (24)

2. มังคุด (mangosteen)

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) เป็นพืชจัด อยู่ในวงศ์ Clusiaceae สกุล *Garcinia* เป็นพันธุ์ไม้ไม่ผลัดใบเขตร้อนชนิดหนึ่ง ได้รับความนิยมมากจนได้รับขนานนามว่าเป็น “ราชินีของผลไม้” อาจเป็นเพราะด้วยลักษณะภายนอกของผลที่มีกลีบเลี้ยงติดอยู่ที่หัวขั้วของผลคล้ายมงกุฏของพระราชินี ส่วนเนื้อในก็มีสีขาวสะอาด มีรสชาติที่แสนหวานอร่อยอย่างยากที่จะหาผลไม้อื่นมาเทียบได้ ซึ่งเชื่อกันว่ามีถิ่นที่อยู่ที่เหมาะสมที่หมู่เกาะซุนดาและหมู่เกาะโมลุกกะ แพร่กระจายพันธุ์ไปสู่หมู่เกาะ

อินเดียตะวันตกเมื่อราวพุทธศตวรรษที่ 24 แล้วจึงไปสู่กัวเตมาลา ฮอนดูรัส ปานามา เอกวาดอร์ ไปจนถึงฮาวาย ส่วนในประเทศไทยมีการปลูกมั่งคุดกันมานานแล้ว เพราะมีกล่าวถึงในพระราชนิพนธ์เรื่องรามเกียรติ์ในสมัยรัชกาลที่ 1 (25)

พืชในสกุล *Garcinia* มีการกระจายพันธุ์อยู่ในเขตร้อนของโลกทั้งทวีปเอเชีย อเมริกาใต้ แอฟริกา โดยมีรายงานว่า ในประเทศมาเลเซียมีจำนวนพืชในสกุล *Garcinia* 49 ชนิด ด้วยกัน ในประเทศอินเดีย พบพืชในสกุล *Garcinia* จำนวน 29 ชนิด ขณะที่ทวีปแอฟริกามีพืชในสกุล *Garcinia* อยู่เพียง 2 ชนิด ซึ่งไม่พบในเอเชีย (5)

ในประเทศไทยพบพืชในสกุล *Garcinia* จำนวน 22 ชนิดเดี่ยวด้วยกัน ได้แก่ รงทอง (นครศรีธรรมราช) *G.acuminata* Planch. & Triana., ส้มแขก *G.atroviridis* Griff., มะพัง *G.costata* Hemsl., ชะมวง(ภาคกลาง) *G.cowa* Roxb., มะพุด *G.dulcis* Kurz., มะดันป่า *G.fusca* Pierre., หมักแปม *G.gracilis* Pierre., รงทอง(จันทบุรี,ตราด) *G.hanburyi* Hook.f., วา *G.hombroniana* Pierre., ส้มกุ้งใหญ่ *G.lanessanii* Pierre., มะตะ *G.mckeaniana* Craib., มังคุด *G.mangostana* L., กะนวน *G.merguensis* Wight., มะพุดป่า *G.nervosa* (Miq.), ชะมวง (ตราด) *G.nigrolineata* Planch., ม่วงลาย *G.rostrata* (Miq.), มะดัน *G.schomburgkiana* Pierre., พะวา *G.speciosa* Wall., มะปองต้น *G.succifolia* Kurz., มะตะขีหนอน *G.thorelii* Pierre., ตะพุด *G.villersiana* Pierre., และมะตะหลวง *G.xanthochymus* Hook.f. (5)

ในพืชตระกูล *Garcinia* มีเพียงมังคุด ชนิดเดียวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและปลูกเป็นการค้าขณะที่ชนิดอื่นๆมีการปลูกและบริโภคในท้องถิ่น เช่น ชะมวง มะดัน ส้มแขก เป็นต้น (5)

2.1 ลักษณะทางกายภาพและส่วนประกอบของมังคุด

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) เป็นพืชจัดอยู่ในวงศ์ Clusiaceae สกุล *Garcinia* พืชในสกุลนี้มีลำต้นขนาดเล็กหรือไม้พุ่มไปจนถึงขนาดใหญ่ที่มีความสูงมากกว่า 30 เมตร ลำต้นเป็นลำต้นเดี่ยว มีรูปทรงกรวย มีกิ่งที่แคบ เปลือกลำต้นสีน้ำตาลหรือดำ และลักษณะที่สำคัญของพืชสกุลนี้คือมียางสีเหลืองหรือสีขาว ใบมีผิวเรียบ ใบพายรูปไข่ หรือ รูปวงรีแกมขอบขนาน ปลายใบแหลม ใบคล้ายใบชมพูมะเหมี่ยว หลังใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ท้องใบสีอ่อนกว่า เนื้อใบค่อนข้างหนาและค่อนข้างเหนียว ใบมีขนาดใหญ่ กว้าง 6-11 ซม. ยาว 15-25 ซม. เรียงตัวแบบตรงกันข้าม ไม่มีหูใบ ดอกเป็นดอกเดี่ยว มี 2 ชนิดคือ ดอกสมบูรณ์เพศและดอกตัวผู้ ดอกสมบูรณ์เพศออกดอกเดี่ยวๆ หรือ 2 ดอก ตามซอกใบใกล้ปลายกิ่งหรือลำต้น ดอกตัวผู้ออกดอกที่ปลายกิ่งเป็นกระจุก 3-9 ดอก ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียอยู่แยกต้นกัน ยกเว้นมะพุด (*Garcinia dulcis*) ที่ดอกเพศผู้และดอกสมบูรณ์เพศอยู่บนต้นเดียวกัน ดอกมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกอย่างละ 4 กลีบ กลีบรองกลีบ

ดอกมีสีเขียวและแข็งเหนียวจะคงอยู่และขยายใหญ่ขึ้นเมื่อเป็นผล กลีบดอกมีสีเขียว ดอกเพศเมีย มีรังไข่ขนาดใหญ่ มีช่องของรังไข่ 4-5 ช่อง ผลเป็นลักษณะ berry ค่อนข้างกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.5-7 เซนติเมตร สีเขียวอมขาว เมื่อแก่แล้วเริ่มมีลายสีแดงๆ หรือ ม่วงแดง ชาวสวนเรียกลายนี้ว่า “ลายเลือด” จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงจนถึงม่วงดำภายใน 2-5 วัน เปลือกผลหนา ค่อนข้างแข็งผลเกลี้ยงกลม มีสีม่วงหน้าประมาณ 0.8-1 เซนติเมตร บริเวณเปลือกจะมีท่อน้ำยาง ซึ่งเป็นสารพวกแทนนิน มีรสขมฝาด ซึ่งเป็นตัวช่วยลดการทำลายของแมลงได้ทางหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงวันทองไม่สามารถเจาะเข้าไปทำลายได้ใน 1 ผลมีเมล็ด 1-2 เมล็ด นอกนั้นเป็นเมล็ดที่ไม่เจริญ เมล็ดมีรกลีขาวหุ้ม สีขาวนี้คือส่วนเนื้อที่รับประทาน มีรสหวานอมเปรี้ยว เมื่อผลแก่แล้วไม่แตกออก (5, 26)

2.2 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของมังคุด (6)

2.2.1 คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 3 แสดงการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว

ฤทธิ์	References
แอลฟาแมงโกสทิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระโดยการทดสอบกับ ferric thiocyanate	(27, 28)
เป็นสารที่กำจัด Free radical และป้องกัน LDL จาก oxidative damage	(29)
โครงสร้างที่ถูกดัดแปลงของ แอลฟาแมงโกสทิน สามารถยับยั้งการเกิด oxidation ของ LDL ได้	(30)
มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระโดยการใช้วิธี authentic และ morphosydnimine-derived roxynitrite	(31)
แอลฟาแมงโกสทิน มีฤทธิ์ป้องกันการเกิด lipid peroxidation และฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ระหว่างการเกิด ISO-induced กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด ในหนู rats	(32)
มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ Nitric Oxide (NO) จาก Lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 cells	(33)
มีฤทธิ์ในการป้องกันโรคทางด้านหัวใจที่เกิดจากการใช้ยา β -adrenergic catecholamine ที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดที่สัมพันธ์กับการเกิด Oxidative stress	(32)

ฤทธิ์	References
มีฤทธิ์ในการบรรเทาโรคไตทำงานผิดปกติ , มีฤทธิ์ในการกำจัด ROS และทำหน้าที่เป็น neuroprotective ต่อ 3-nitropropionic acid	(34)
แอลฟาแมงโกสติน ป้องกัน renal tubular cells จากการไปต่อต้าน Cisplatin induced nephrotoxicity (CDDP) ที่เหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ที่เกิดจากการสร้าง ROS และการส่งสัญญาณผ่าน p53	(35)
แอลฟาแมงโกสติน สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดผลการป้องกันในหัวใจหลังการได้รับสารเคมีที่สัมพันธ์กับการป้องกันการเกิด oxidative stress	(36)
2.2.2 Anticancer and cytotoxic properties	
จากการศึกษาฤทธิ์ทางด้านการต้านมะเร็ง (Anticancer) และการเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) ของ แอลฟาแมงโกสติน ซึ่งมีผู้วิจัยที่ค้นพบว่ามีฤทธิ์ดังนี้	
ตารางที่ 4 แสดงการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งและความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว	
ฤทธิ์	References
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ในหนู	(37)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถทำให้เซลล์ PC12 ในหนู เกิดการ apoptosis ผ่านทาง Mitochondria โดยการกระตุ้น Ca^{2+} - ATPase	(38)
สาร แอลฟาแมงโกสติน กระตุ้นให้เกิด การยับยั้งการเกิดวัฏจักรของเซลล์ และ กระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (DLD-1) ในมนุษย์	(39)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม (BC-1) และมะเร็งเยื่อในช่องปาก (KB cell) ได้	(40)
สารแอลฟาแมงโกสติน มีผลต่อ HCT116 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง	(41)

ฤทธิ์	References
สารแอลฟาแมงโกสติน กระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็ง ลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ (DLD-1) ได้ และสามารถช่วยในการเสริม ฤทธิ์ของ 5-FU ในการยับยั้งเซลล์ DLD-1	(42)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถยับยั้งเซลล์ Pc-3 ซึ่งเป็น เซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากในคน โดยการยับยั้ง Matrix Metalloproteinase-2/9 และ urokinase-plasminogen expression ผ่านทาง JNK signaling pathway	(43)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถยับยั้ง phorbol 12-myristate 13-acetate-induced MMP-2/MMP-9 ผ่านทาง avb3 Integrin/FAK/ERK และ NF- κ B ในเซลล์มะเร็งปอด(A549 cell) ของคน	(44)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถยับยั้ง TPA-Mediated MMP-2 and MMP-9 ผ่านทาง ERK signaling pathway ในเซลล์มะเร็ง เต้านม (MCF-7) ของคนได้	(45)
สาร แอลฟาแมงโกสติน มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง หู คอ จมูก (HNSCC)	(46)
สาร แอลฟาแมงโกสติน มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งผิวหนัง (SK-MEL-28)ของคน	(47)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็งลำไส้ ใหญ่ โดยการควบคุม b-catenin gene ผ่านการส่งสัญญาณผ่าน Wnt/cGMP pathway	(48)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถช่วยลดการเจริญของเนื้องอก และการแพร่กระจายของมะเร็งต่อมน้ำเหลือง ในรูปแบบของการ ปลูกถ่ายมะเร็งเต้านมระยะแพร่กระจายที่มีการกลายพันธุ์ของ ยีนส์ P-53	(49)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถกระตุ้นให้เกิดการตายของ canine osteosarcoma D-17 cells	(50)

2.2.3 Anti-inflammatory, anti-allergy analgesic properties

จากการศึกษาฤทธิ์ทางด้านต้านการอักเสบ, ด้านการแก้ และ แก้วปวด ของ แอลฟาแมงโก
สติน ซึ่งผู้วิจัยพบว่ามีฤทธิ์ดังนี้

ตารางที่ 5 แสดงการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ แก้วแก้ และ แก้วปวด ของสารสกัดจากมังคุดที่มี
การศึกษามาแล้ว

ฤทธิ์	References
แอลฟาแมงโกสติน มีฤทธิ์ในการกดระบบประสาทส่วนกลาง ใน หนู mice และ หนู rats , มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดแผลในหนู rats , ป้องกันการเกิดการแพ้แบบรุนแรงเฉียบพลัน และ immunocytadherence ในหนูทดลอง และ ป้องกันการเกิด primary และ secondary ของการตอบสนองต่อ adjuvant ที่ เหนี่ยวนำให้เกิดโรคไขข้อ	(51)
มีฤทธิ์ต่อต้าน Histaminergic และ serotonergic receptor , มีฤทธิ์ในการกด การเหนี่ยวนำให้เกิด การบีบตัวของเส้นเลือด thoracic aorta และ หลอดลมจาก histamine	(52)
ยับยั้ง 12-human lipoxigenase (12-LOX)	(53)
แอลฟาแมงโกสติน มีฤทธิ์ในการระงับการเสื่อมสภาพในการ กระตุ้นของ IgE ของ Ag - mediated receptors ในลูคีเมียที่เกิด ผ่าน basophilic RBL-2H3 cells ของหนู rats ผ่านทาง SYK/PLCs/PKC	(54)
มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการเหนี่ยวนำของการสร้าง Nitric Oxide และ การเกิดพิษของเซลล์ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว (RAW 264.7 cells)	(33)
ฤทธิ์การแก้ปวด	(55)
ฤทธิ์ในการยับยั้งสารก่อการแพ้ในไขกระดูกที่มาจาก mast cell	(56)

2.2.4 Antimicrobial properties

ตารางที่ 6 แสดงการศึกษาฤทธิ์การฆ่าเชื้อ ของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว

ฤทธิ์	References
มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>methicillin-resistant S. aureus</i> (MRSA)	(57)
มีฤทธิ์ยับยั้ง HIV-1 protease	(58)
มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อฟังไจ 3 ชนิดคือ (<i>Fusarium oxysporum</i> <i>vasinfectum</i> , <i>Alternaria tenuis</i> and <i>Dreschlera oryzae</i>)	(59)
ยับยั้งการวัฏจักรการแบ่งตัวของเชื้อ HIV virus	(60)
มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อ <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	(61)
มีฤทธิ์ในการยับยั้ง <i>Vancomycin resistant Enterococci</i> (VRE) และ <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	(62)
มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ <i>Candida albicans</i>	(63)
แอลฟาแมงโกสติน สามารถถูกเมตาบอลิซึมโดยเชื้อฟังไจ 2 ชนิด คือ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (EYL131) และ <i>Neosartorya spathulata</i> (EYR042)	(64)

2.2.5 Anti parasitic , anthelmintic properties and Anti-obesity properties

ตารางที่ 7 แสดงการศึกษาฤทธิ์ต้านปรสิต ฆ่าพยาธิ และลดความอ้วนของสารสกัดจากมังคุดที่มีการศึกษามาแล้ว

ฤทธิ์	References
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถใช้เป็นทางเลือกในการกำจัด เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้	(65)
สาร แอลฟาแมงโกสติน สามารถยับยั้ง sterol carrier protein-2 ในยุงลายได้	(66)
สาร แอลฟาแมงโกสติน มีแนวโน้มที่จะกำจัดพยาธิใบไม้ในเลือด ได้	(67)
สาร แอลฟาแมงโกสติน มีความเป็นพิษต่อ เซลล์ 3T3-L1(เซลล์ไขมัน) ในหลอดทดลอง ซึ่งเทียบได้ว่าสาร แอลฟาแมงโกสติน นั้นสามารถยับยั้งการสังเคราะห์กรดไขมันในร่างกายได้	(68)

2.2.6 Treatment of Alzheimer's disease (AD)

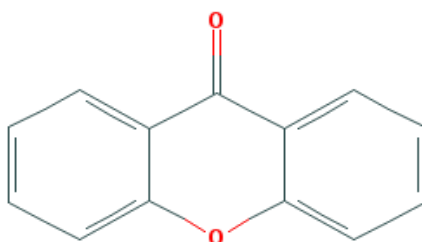
Wang et al. (2012) ค้นพบฤทธิ์ของ แอลฟาแมงโกสติน ทำให้ลดการเกิด neurotoxicity ที่ถูกเหนี่ยวนำโดย $A\beta$ -(1-40) or $A\beta$ -(1-42) oligomers โดยแสดงด้วยค่า EC50 ที่เท่ากับ 3.89 nM และ 4.14 nM ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการทำให้การทำงานของ neurotoxicity ลดลงและรบกวน neurotoxicity ในเปลือกสมองของหนู rats รุ่นแรกในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น โดยประสิทธิภาพของ แอลฟาแมงโกสติน ที่จะจับกับ $A\beta$ และความคงตัวของการสร้าง α -helical แสดงให้เห็นถึงการจำลองแบบโพลีเมอร์และไดนามิก ยังมีการค้นพบอีกว่า แอลฟาแมงโกสติน สามารถแยกออกมาจากการจับกับ $A\beta$ -(1-42) oligomer โดยการถูกจับด้วย oligomer ที่จำเพาะต่อ antibodies นอกจากนี้ความสามารถของ แอลฟาแมงโกสติน ในการยับยั้งการสร้าง fibril และรบกวน pre-formed fibril ซึ่งถูกวิเคราะห์โดยวิธี ThioflavinT fluorescence และ elec-tron microscopy imaging ทั้งหมดในทุกผลลัพธ์ชี้ให้เห็นถึงความสามารถของ แอลฟาแมงโกสติน ในการยับยั้งและแยกตัวออกมาจากการรวมตัวของ $A\beta$ ซึ่งอาจมีบทบาทในการลดทอน $A\beta$ oligomers-induced neurotoxicity

2.2.7 Pharmacokinetics Studies

ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC / MS เพื่อกำหนด แอลฟาแมงโกสติน ในพลาสมาของหนู rats หลังจากการฉีดเข้าทางปากและทางหลอดเลือดดำ (i.v) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์โดยคิดแบบ Non-compartment โมเดล ซึ่งได้ค่า recovery percentage ของ แอลฟาแมงโกสติน เท่ากับ 93.13 % , การสร้างสมการเชิงเส้นตรงเพื่อเปรียบเทียบซึ่งมีค่าในช่วงระหว่าง 20–2000 ng/ml , ใช้เวลาในการทดสอบ 8 นาที , intra variability และ inter variability มีค่าต่ำกว่า 9.32 % และ 9.87 % ตามลำดับ , มีค่า accuracies 15 % ที่ความเข้มข้น 70 , 850 และ 1800 นาโนกรัม/มิลลิลิตร โดยการฉีดเข้าทางปากและทางหลอดเลือดดำ (i.v) , การศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ในหนู rats ถูกวิเคราะห์แบบ Non-compartment ซึ่งจริงๆแล้ว Two compartment เหมาะสมกว่า ซึ่งการวิเคราะห์แบบ Non-compartment มีค่าครึ่งชีวิต 4 นาที และมีค่าชีวประสิทธิผลเพียงแค่ 4.24 % ซึ่งภายหลังพบว่า การฉีด แอลฟาแมงโกสติน เข้าทางหลอดเลือดดำ (i.v) ในหนู rats ซึ่งจะถูกแบ่งเป็น 2 ขั้นตอนอย่างรวดเร็ว นั่นคือ 1. การกระจายของยา 2. การกำจัดอย่างช้าๆ ซึ่งครึ่งชีวิตของการกระจายยามีค่าเท่ากับ 3 นาที ส่วนการกำจัดยามีค่าเท่ากับ 3.5 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่ามีการจับกับเนื้อเยื่อสูง อย่างไรก็ตาม สำหรับการรับประทาน ค่าชีวประสิทธิผลมีค่าต่ำมากจนไม่สามารถหาความสัมพันธ์กับเวลาได้ (Li et al. (2011))

2.3 สารสำคัญของมังคุด (69)

สารสกัดจากมังคุดส่วนใหญ่เป็นสารประกอบแซนโทน ซึ่งเป็นสารสีเหลือง จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งเป็นสารประกอบจำพวกโพลีฟีนอล (polyphenolic compound) ในธรรมชาติจะอยู่ในรูปแบบอิสระ หรือในรูปไกลโคไซด์ (glycoside) พบในส่วนต่างๆของพืช สารประกอบแซนโทน มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น xanthene-9-one ดังรูป



รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างหลักของสารประกอบแซนโทน (70)

สารประกอบแซนโทนที่แยกได้จากมังคุดมีหลายชนิดดังแสดงในตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 8 สารประกอบแซนโทนบางชนิดที่แยกได้จากมังคุด (69)

สารประกอบ	ลักษณะทางกายภาพ
Alpha-mangostin	ของแข็งสีเหลือง $C_{24}H_{26}O_6$ จุดหลอมเหลว 182-183 °C
Beta-mangostin	ของแข็งสีเหลือง $C_{25}H_{28}O_6$ จุดหลอมเหลว 175-176 °C
gamma-mangostin	ของแข็งสีเหลือง $C_{23}H_{24}O_6$ จุดหลอมเหลว 207 °C
gartanin	ของแข็งสีเหลืองรูปเข็ม $C_{23}H_{24}O_6$ จุดหลอมเหลว 167 °C
8-deoxygartanin	ของแข็งสีเหลืองคล้ายขนนก $C_{23}H_{24}O_5$ จุดหลอมเหลว 165.5 °C

สารประกอบ	ลักษณะทางกายภาพ
3-isomangostin	ของแข็งสีเหลือง $C_{24}H_{24}O_6$ จุดหลอมเหลว 155-160 °C
BR-xanthone A	ของแข็งสีเหลืองอ่อน $C_{23}H_{24}O_6$ จุดหลอมเหลว 181-182 °C
BR-xanthone B	ของแข็งสีเหลืองเขียว $C_{14}H_{10}O_6$ จุดหลอมเหลว 308-310 °C
1,5-dihydroxy-2-(3-methylbut-2-enyl)-3-methoxyxanthone	ของแข็งสีเหลือง $C_{19}H_{18}O_5$ จุดหลอมเหลว 242-244 °C
1,7-dihydroxy-2-(3-methylbut-2-enyl)-3-methoxyxanthone	ของแข็งสีเหลือง $C_{19}H_{18}O_5$ จุดหลอมเหลว 200-222 °C
garcinone A	ของแข็งสีเหลือง $C_{23}H_{24}O_5$ จุดหลอมเหลว 224-225 °C
garcinone B	ของแข็งสีเหลือง $C_{23}H_{22}O_6$ จุดหลอมเหลว 190-192 °C
garcinone C	ของแข็งสีเหลือง $C_{23}H_{126}O_7$ จุดหลอมเหลว 216-218 °C
garcinone D	ของแข็งสีเหลือง $C_{24}H_{28}O_7$ จุดหลอมเหลว 202-204 °C

สารประกอบ	ลักษณะทางกายภาพ
garcinone E	ของแข็งสีเหลือง $C_{28}H_{32}O_6$ จุดหลอมเหลว 152.5-155.5 °C
garcimangosone A	ของแข็งสีเหลือง $C_{28}H_{32}O_6$ จุดหลอมเหลว 143-145 °C
garcimangosone B	ของแข็งสีเหลือง $C_{24}H_{24}O_6$ จุดหลอมเหลว 136-138 °C
garcimangosone C	ของแข็งสีเหลือง $C_{23}H_{24}O_7$ จุดหลอมเหลว 260-262 °C

สารสำคัญที่พบมากในมังคุดคือ แอลฟาแมงโกสติน เป็นสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลมังคุด ได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาอาการท้องเสีย การติดเชื้อที่ผิวหนัง และแผลเรื้อรัง ในประเทศทางตะวันออกเฉียงใต้ (71) เนื่องจากมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากมาย รวมถึงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *phytopathogenic fungi*, *Fusarium oxysporum vasinfectum*, *Alternaria tenuis*, *Dreschlera oryzae* (61, 72) และ *Candida albicans* ได้ โดยมีค่า MIC และ MFC ในการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* อยู่ที่ 1 และ 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (73)

2.4 งานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ที่เกี่ยวข้องเปลือกผลมังคุด

เนื่องจากฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีประโยชน์หลายอย่างดังที่กล่าวไว้ข้างต้น จึงมีการนำมาพัฒนาต่อให้เกิดผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในการบรรเทาและรักษาโรค โดยจากการสืบค้นพบว่า สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* จึงมีการพัฒนาทำยาต้านเชื้อในรูปแบบของ ointment (74) มีการศึกษากลไกการต้านการอักเสบของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด พบว่าสามารถยับยั้งการเกิด nitric oxide (NO) และ PGE2 ซึ่งก่อให้เกิดการอักเสบ จึงทำให้สารสกัดจากมังคุดมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบร่วมด้วย จึงมีการนำมาพัฒนาตำรับยาเพื่อลดการอักเสบที่บริเวณต่างๆ (33) การพัฒนานำสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด มาทำผลิตภัณฑ์ในการรักษาสิว ในรูปแบบ gel (75) ต่อมา มีการศึกษาพัฒนาการยับยั้งเชื้อ *P. acne* ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด จึงมีการนำมาทดสอบทำยาเจลรูปแบบ nanoparticles เพื่อเพิ่ม

ความสามารถในการนำส่งยารักษาสิว พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดการเกิดสิวได้ (76) และเนื่องจากมังคุด มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย เช่น *Vibrio*, *Shigella*, *E.coli* และ *Salmonella* จึงมีการนำสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด มาพัฒนาเป็นรูปแกรนูลและนำไปทดสอบผลการรักษาอาการท้องร่วงแล้วได้ผลดี (77) นอกจากนี้สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในช่องปาก จึงมีการพัฒนารูปแบบการนำส่งยาแบบ nanofiber สำหรับป้องกันฟันผุ (78) มีการพัฒนานำสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดที่มีสารประกอบ แซนโทน เช่น แอลฟาแมงโกสติน, เบต้าแมงโกสติน, แกรมม่าแมงโกสติน ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาสร้างตัวรับเส้นใยเพื่อเพิ่มการดูดซึม (79) มีการนำสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมาเป็นส่วนผสมในการทำผ้าปิดแผล ซึ่งแสดงแนวโน้มในการรักษาแผลได้ดี เนื่องจากฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (80)

ดังนั้น สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดจึงมีผลช่วยในรักษาแผลในช่องปากได้เนื่องจากฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งการต้านการอักเสบ ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการปวดบวมแดงร้อน โดยตำรับยาที่ได้รับการพัฒนาส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปยาเจล

2.5 เทคนิคการสกัดเปลือกผลมังคุด (81)

การสกัดสาร แอลฟาแมงโกสติน จากเปลือกผลมังคุดด้วย เอทานอล

2.5.1 Maceration

นำผงเปลือกผลมังคุดแห้ง 5 กรัม ใส่ใน beaker 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 95% เอทานอล 100 มิลลิลิตร หมักทิ้งไว้ 0.5-2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่เขย่าพบว่าได้สาร แซนโทน 28.13 - 31.55 มิลลิกรัม/กรัม

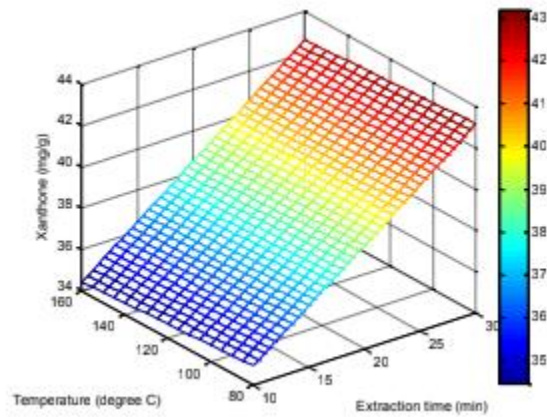
2.5.2 Soxhlet

นำผงเปลือกผลมังคุดแห้ง 5 กรัม ใส่ใน soxhlet apparatus 5 และใส่ 95% เอทานอล 250 มิลลิลิตร ลงใน round bottom flask โดยให้อุณหภูมิที่ 78.1 องศาเซลเซียส พบว่าได้สารกลุ่มแซนโทน 31.26 - 41.41 มิลลิกรัม/กรัม

2.5.3 Subcritical Ethanol Extraction

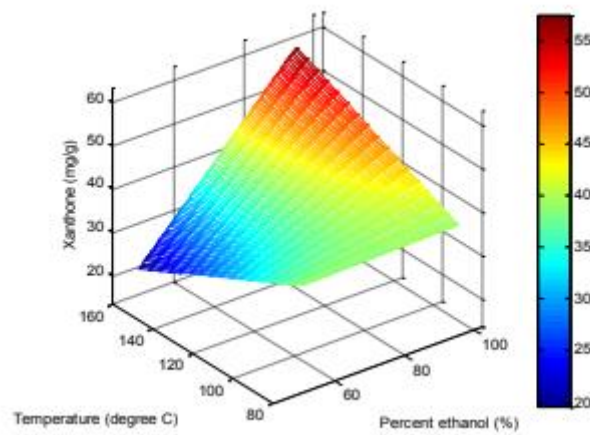
ทำการหาความแตกต่างของสภาวะต่างๆในการสกัด โดยใช้ Box-Behnken design มีตัวแปรคือ ความเข้มข้นของเอทานอล (%) = x_1 , อุณหภูมิ (°C) = x_2 , เวลา (นาที) = x_3

ซึ่งได้ผลสรุปในการสกัดคือ ใช้อัตราส่วนของตัวถูกละลายต่อตัวทำละลาย (แอลฟาแมงโกสติน : 95% เอทานอล) คือ 1:20 และใช้เวลาในการสกัด 2 ชั่วโมง



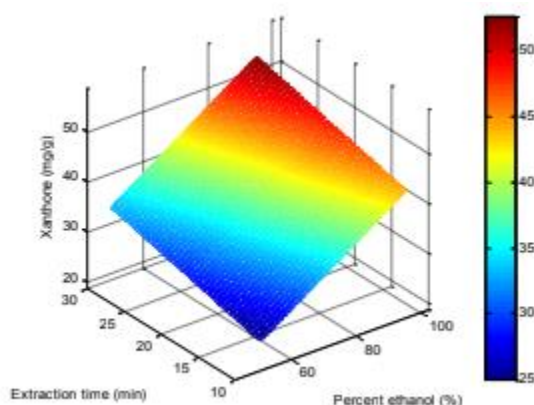
รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ เวลาและปริมาณสาร แซนโทน ที่พบ

จากการสกัดด้วย เอทานอล 75%v/v โดยการเพิ่มอุณหภูมิ และ ร้อยละความเข้มข้นของ เอทานอล จะส่งผลไม่มากเท่ากับ เวลาที่ใช้ในการสกัด



รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ และ ความเข้มข้นของ เอทานอล

ในการสกัดสาร แซนโทน โดยเวลาในการสกัด 20 นาที แต่ผลกระทบต่อการใช้ ร้อยละเอทานอล ที่ต่ำ เพราะการใช้ ร้อยละเอทานอล ต่ำ จะทำให้น้ำเยอะขึ้นซึ่งจะสามารถเกิด oxidizing agent และเกิดความเสียหายต่อ แซนโทน



รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ ของเวลาในการสกัด และ ความเข้มข้นของ เอทานอล

ในการสกัดสารแซนโทนโดยอุณหภูมิในการสกัด 120 องศาเซลเซียส และเมื่อเพิ่ม เปอร์เซ็นต์ของเอทานอล และ เวลาที่ใช้ในการสกัดจะทำให้เพิ่มผลที่ได้จากสารสกัดแซนโทนมากขึ้นโดยการเพิ่มทั้ง ร้อยละเอทานอล อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัด จะยิ่งทำให้แซนโทนมีค่าการละลายใน solvent ดีขึ้นและทำให้ได้ผลจากการสกัดมากขึ้น ซึ่งในวิจัยนี้มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9148 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเป็นทดลองที่มีประสิทธิภาพในการหาปริมาณสารแซนโทน โดยมีค่า adjust R^2 เท่ากับ 0.8676 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าความแปรปรวนของ แซนโทน เท่ากับ 87 % ซึ่ง 13 % เป็นผลมาจากตัวแปรอิสระของความแปรปรวนทั้งหมดซึ่งไม่สามารถอธิบายได้ และมีค่า P-value เท่ากับ <0.05 ซึ่งแสดงว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

2.5.4 Analytical Method for Xanthone

ความเข้มข้นของ แซนโทน จะถูกตรวจสอบด้วย High-Performance Liquid Chromatographic system (UV1000/P2000, Thermo Separation Products, California, USA) ซึ่งสวมอยู่กับเครื่อง UV-detector ที่ ตั้งค่าที่ 319 นาโนเมตร ซึ่งทำในอุณหภูมิห้อง โดยใช้ Alltima® C-18 analytical column (250 mm × 4.6 mm, i.d., Illinois, USA) โดยใช้ injection volume เท่ากับ 20 ไมโครลิตร และใช้ flowrate 1.5 มิลลิลิตร/นาที

2.5.5 Statistic Analysis

การทดลองถูกดำเนินการทั้งหมด 3 ครั้งและหาค่าเฉลี่ยของ แซนโทน การวิเคราะห์ความแปรปรวนซึ่งให้ผลที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2.6 การวิเคราะห์หาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินจากสารสกัดเปลือกผลมังคุด

2.6.1 W. Pothitirat and W. Gritsanapan (82)

ทำการวิเคราะห์สาร แอลฟาแมงโกสติน โดยการใช้ reverse-phase high performance liquid chromatographic (RP-HPLC) เป็นเทคนิคการแยกสารด้วยวิธี Chromatography โดยใช้ วัสดุภาควัสดุคือ column c-18 ที่อุณหภูมิห้อง และวัสดุเคลื่อนที่ คือ 70% acetonitrile ใน 0.1% ortho phosphoric acid ใช้ flow rate 1 มิลลิลิตร/นาที และตรวจวัดด้วยแสง uv ที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร โดยสามารถตรวจพบสาร แอลฟาแมงโกสติน ที่เวลา 16.32 นาที

2.6.2 Edward B. Walker (83)

ทำการวิเคราะห์หาสารประกอบ แซนโทน ในมังคุด ด้วย HPLC โดยใช้ วัสดุภาควัสดุคือ column c-18 RP และวัสดุเคลื่อนที่ คือ 65-90% เมทานอล ใน 0.1% formic acid และ ตรวจวัดด้วยแสง uv ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยสารประกอบ แซนโทน ในมังคุด ได้แก่ แอลฟาแมงโกสติน, 8-desoxygartanin, gartanin, 3-mangostin และ 9-hydroxycalabaxanthone ซึ่งสาร แอลฟาแมงโกสติน นั้นสามารถตรวจพบได้ที่เวลา 21.00 นาที

3. เจล (Gel)

เจลเป็นรูปแบบเภสัชภัณฑ์รูปแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลวที่ประกอบด้วยทั้งรูปแบบแขวนตะกอน (suspension) ซึ่งเกิด 2 วัสดุคือ สารก่อเจล (gelling agent) และ ตัวกลางในการเกิดเจล (Liquid) จากสารอินทรีย์ขนาดเล็กหรือสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ที่กระจายตัวในของเหลว ซึ่งจะทำให้ของเหลวเกิดการเคลื่อนที่ไม่ได้อย่างอิสระซึ่งจะแบ่งประเภทดังนี้

3.1 แบ่งประเภทเจลตามระบบวัสดุ

3.1.1 เจลระบบ 1 วัสดุ (Single-phase gel)

เจลระบบหนึ่งวัสดุ (single-phase gel) คือ โมเลกุลเจลที่มีการกระจายตัวในสารละลายของเหลวที่ไม่เกิดการแยกชั้นระหว่างโมเลกุลเจลและสารละลาย ซึ่งมาจากโมเลกุลขนาดใหญ่ที่สังเคราะห์หรือได้จากธรรมชาติ (synthetic or natural macromolecules) หรือเรียกว่า mucilages

3.1.2 เจลระบบ 2 วัสดุ (Two-phase gel)

เจลระบบสองวัสดุ (two-phase gel) คือ โมเลกุลของเจลที่คุณสมบัติเป็น thixotropic เมื่อมีการเขย่าจะทำให้สารกึ่งของแข็งกลายเป็นสารละลายเรียกว่า magma หรือเกิดเป็นเจลเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ(10, 84)

3.2 แบ่งประเภทเจลตามลักษณะของยาพื้น

3.2.1 Hydrophobic gels หรือ oleogels

คือ เจลที่ไม่ชอบน้ำซึ่งมียาพื้นเป็น liquid paraffin, fatty oils, colloidal silica, aluminum หรือ zinc soaps

3.2.2 Hydrophilic gels หรือ hydrogels

คือ เจลที่ชอบน้ำซึ่งมียาพื้นเป็น น้ำ glycerol หรือ propylene glycol ร่วมกับสารก่อเจล ซึ่งทางกลุ่มวิจัยสนใจรูปแบบเภสัชภัณฑ์เป็นรูปแบบที่สามารถเปลี่ยนแปลงสถานะเมื่อสัมผัสกับเยื่อเมือกในช่องปากได้ซึ่งนั่นก็คือ in situ gel (85)

4. In situ gel (10)

In situ gel เป็นเจลที่ไวต่อสภาพแวดล้อม คือ มีการเปลี่ยนแปลงสถานะจากสารละลายไปเป็นเจลเมื่อเปลี่ยนสภาพแวดล้อม เช่น มีการเปลี่ยนแปลงค่าของความเป็นกรด-เบส , อุณหภูมิ , ชนิดของตัวทำละลาย และ ประจุ เป็นต้น In situ gel เป็นรูปแบบเภสัชภัณฑ์แบบใหม่ที่มีการศึกษาและพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในทางเภสัชกรรมมากขึ้น เช่น ตำรับเพื่อนำส่งทางจมูก ตำรับสำหรับหยอดตา ยาฉีด ยาฝังใต้ผิวหนัง ยาสำหรับฉีดเพื่อรักษาโรคปริทันต์อักเสบ และยาเจลสำหรับช่องคลอด เป็นต้น โดยตำรับ in situ gel มีความสะดวกในการเตรียมเนื่องจากสามารถเตรียมให้อยู่ในรูปแบบของเหลว และเมื่อทำไปใช้ในสภาวะต่าง ๆ จะเปลี่ยนสถานะเป็นสารที่มีความหนืดมากขึ้น เพื่อยืดเวลาในการปลดปล่อยตัวยาสำคัญได้ยาวนาน จึงนับเป็นระบบการนำส่งยาแบบออกฤทธิ์นานชนิดหนึ่งได้

4.1 กลไกการเกิด in situ gel

4.1.1 กลไกทางกายภาพ

1) Diffusion

2) Swelling

4.1.2 กลไกทางเคมี

1) Enzymatic cross-linking

2) Photo-polymerization

3) Ionic cross linking

4) Temperature triggered in situ gel

5) pH triggered in situ gelation

6) Ion activated in situ gelation

5. Mucoadhesive Drug delivery

ระบบทำส่งยาแบบ Mucoadhesive เกิดการการยึดเกาะกันของวัสดุ 2 ชนิด โดยชนิดหนึ่งเป็นวัสดุทางชีวภาพหรือเยื่อเมือก การใช้ mucoadhesive drug delivery นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ยาคืออยู่บริเวณที่จะเกิดการดูดซึมได้นานขึ้น หากเป็นการยึดเกาะกันของวัสดุ 2 ชนิดที่ไม่ใช่เยื่อเมือกจะเรียกว่า Bioadhesive (12)

5.1 Mucoadhesive Materials

โดยทั่วไประบบยาส่งยาแบบ mucoadhesive จะมีพอลิเมอร์เป็นส่วนประกอบหลัก ซึ่งพอลิเมอร์จะเกิดปฏิสัมพันธ์กับส่วนประกอบของเมือกผ่านกลไกต่างๆ เช่น การสร้างพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond formation), แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ, แรงดึงดูดไฟฟ้าสถิต (12) ในปัจจุบัน พอลิเมอร์ที่นำมาใช้เป็น mucoadhesive polymers มักจะเป็นพอลิเมอร์ที่มีขั้ว เช่น สารประกอบที่มีหมู่ hydroxyl ($-\text{OH}$), carboxyl ($-\text{COOH}$), amide ($-\text{NH}_2$), และ sulfate ($-\text{SO}_4\text{H}$) เพื่อให้สามารถทำปฏิกิริยากับ mucin glycoproteins บนชั้นเยื่อเมือกแล้วเกิดการยึดเกาะได้

ตารางที่ 9 แสดงพอลิเมอร์ที่ช่วยในการใช้เพื่อเป็น mucoadhesive polymers

ชนิด	พอลิเมอร์
Anionic polymer	Carbopol
	Polycarbophil
	Sodium alginate
	Sodium carboxymethylcellulose
Cationic polymer	Chitosan
Nonionic polymer	Hydroxypropylmethylcellulose
	Hydroxypropylcellulose
	Methylcellulose
	Polyethylene glycol
	Polyvinylpyrrolidone
	Hydroxyethylcellulose
Stimuli-sensitivity polymer	Ploxamer

5.1.1 ลักษณะพอลิเมอร์ที่ใช้ในการก่อให้เกิด mucoadhesive ในอุดมคติ (12)

- 1) พอลิเมอร์ที่ใช้ต้องไม่มีการดูดซึมและไม่ก่อให้เกิดพิษ
- 2) พอลิเมอร์ที่ใช้ต้องไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองเยื่อเมือก
- 3) พอลิเมอร์ต้องไม่ยึดเกาะกับชั้นเยื่อเมือกแบบ covalent bond
- 4) สามารถยึดเกาะกับเนื้อเยื่อที่ขึ้นได้รวดเร็ว และมีความจำเพาะเจาะจง
- 5) สามารถใช้ในการเตรียมยาได้ง่าย และไม่รบกวนการปลดปล่อยตัวยา
- 6) พอลิเมอร์ต้องไม่เสื่อมสภาพตลอดอายุการใช้งานและการเก็บรักษา
- 7) ราคาสมเหตุสมผล ไม่ราคาสูงเกินหากต้องนำมาใช้ในการเตรียมยา

5.2 ทฤษฎีของ mucoadhesive (12, 86)

มีทฤษฎีต่างๆ หลายทฤษฎีที่อธิบายการทดลองเพื่อการสังเกตของการทดลอง bioadhesion

5.2.1 Wetting theory of mucoadhesion

Wetting theory เป็นทฤษฎีที่ค่อนข้างเก่า ซึ่งสารยึดเกาะจะแทรกตัวเข้าไปในพื้นผิวปกติและซึมซับเข้าไปและเกิดการแข็งตัวและจะผลิตสารยึดเกาะจำนวนมาก และการเคลื่อนที่ของสารยึดเกาะบนพื้นผิวของสารตั้งต้น สารยึดเกาะที่อยู่พื้นผิวของสารตั้งต้นจะเอาชนะความตึงเครียดของพื้นผิวของสารตั้งต้น ซึ่ง ทฤษฎีการเปียก จะคำนวณผ่านมุมการสัมผัสและการทำงานของอุณหภูมิศาสตร์ของการยึดเกาะซึ่งอธิบายได้ตามสมการของ Dupre

$$\omega_A = \gamma_b + \gamma_t - \gamma_{bt}$$

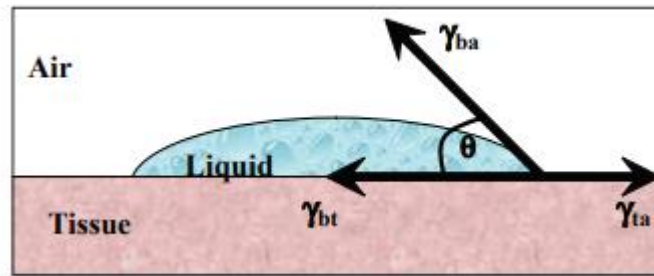
โดยที่ ω_A คือ อุณหพลศาสตร์เฉพาะของการยึดเกาะ

γ_b คือ ความตึงเครียดของพื้นผิว bioadhesive polymer

γ_t คือ ความตึงเครียดของพื้นผิวของสารตั้งต้น

γ_{bt} คือ ความตึงเครียดระหว่างเส้นใย

ซึ่งการเปียกในแนวนอนจะอธิบายด้วยสมการของ Young คือเมื่อมุมของการสัมผัสเข้าใกล้ 0 การเปียกจะสมบูรณ์มากขึ้นและส่งผลให้การยึดเกาะได้สำเร็จมากขึ้น ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 แสดงถึงการกระจายตัวของของเหลวที่ยึดติดบนผิวเนื้อเยื่อ

$$\gamma_{ta} = \gamma_{bt} + \gamma_{ba} \cos \theta$$

โดยที่ θ คือ มุมของการสัมผัส

γ_{bt} คือ ความตึงเครียดระหว่าง tissue และ polymer

γ_{ba} คือ ความตึงเครียดระหว่าง polymer และ อากาศ

γ_{ta} คือ ความตึงเครียดระหว่าง tissue และ อากาศ

ซึ่งสมการนี้อธิบายว่าถ้า γ_{ta} มีค่าสูงกว่า $\gamma_{bt} + \gamma_{ba}$ ทำให้มุมของการสัมผัสมากขึ้นจะส่งผลให้การเปียกจะสมบูรณ์มากขึ้น ดังนั้นต้องกำจัดสิ่งกีดขวางและทำให้สารที่ต้องการให้เปียกกระจายไปทั่วพื้นผิวของเนื้อเยื่อหรือว่าเยื่อเมือกที่ต้องการ โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายสามารถหาได้จากสมการ

$$S_b = \gamma_{ta} - \gamma_{bt} - \gamma_{ba} > 0$$

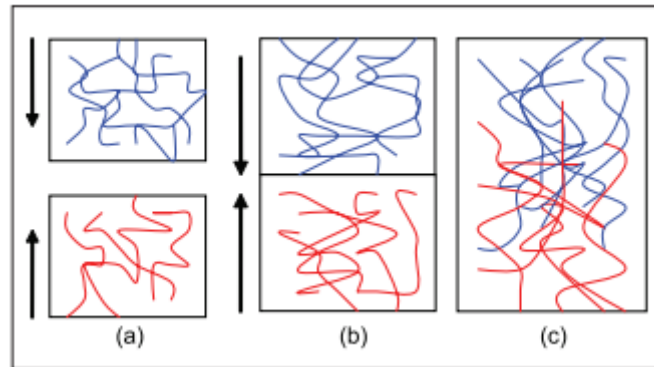
โดยที่ถ้า S_b มีค่าเป็นบวกจะกระจายมาก

5.2.2 Electrostatic Theory of Mucoadhesion

ตามทฤษฎีไฟฟ้าสถิตการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเกิดขึ้นผ่านพื้นผิวของสารยึดเกาะและผิวยึดเกาะนี้จะส่งผลในการจัดเรียงของ electric double layer ที่ระหว่างพื้นผิวและกำลังในการยึดเกาะที่ยึดเกาะระหว่างทั้ง 2 ชั้น

5.2.3 Diffusion Theory of Mucoadhesion

ทฤษฎีการกระจายตัวอธิบายว่า โซ่ของ polymer จาก bioadhesive จะแทรกซึมเข้าสู่ glycoprotein mucin chains และเมื่อความถึงความลึกที่มากพอจะทำให้เกิดพันธะเกิดขึ้นดังรูปที่



รูปที่ 6 แสดงการยึดเกาะกันของ mucoadhesive

หมายเหตุ : a.แผนภาพแสดงทฤษฎีการแพร่ของการยึดเกาะกันของสารชีวภาพ โดยที่ด้านบนคือ polymer และ ด้านล่าง คือ เยื่อเมือก

b.เมื่อ polymer และ เยื่อเมือกสัมผัสกัน

c.การกระจายตัวของสารทั้งสอง เมื่อสัมผัสกันเป็นระยะเวลาหนึ่ง

ซึ่งความลึกที่ต้องการจะเกิดพันธะยังไม่สามารถระบุได้ชัดเจนแต่คาดว่าจะอยู่ในช่วง 0.2-0.5 ไมโครเมตร ซึ่งให้ตัวแปร S เป็นตัวแทนความลึกดังสมการ

$$S = \sqrt{2tD}$$

โดยที่ D คือ diffusion coefficient และ t คือ ระยะเวลาที่สัมผัส ซึ่งระยะเวลาที่สัมผัสจะหาได้ดังสมการ

$$t = \frac{I^2}{D_b}$$

โดยที่ I^2 คือ ความลึกที่สามารถแทรกซึม

D_b คือ diffusion coefficient

5.2.4 Adsorption Theory

ทฤษฎีการเกิดการดูดซับซึ่งอธิบายด้วยการดึงดูดกันโดย ionic bond และ covalents bond ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการเพราะจะทำให้เกิดยึดติดกับเยื่อเมือกอย่างถาวร ในทางตรงกันข้ามพันธะที่อ่อนกว่านั้นก็คือ Van der vaals และ พันธะไฮโดรเจน และ การดึงดูดกันทางไฟฟ้าสถิต และการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งจะให้ผลที่ดีกว่า

5.2.5 Fracture Theory of Adhesion

ทฤษฎีนี้จะอธิบายถึงแรกที่จะใช้แยกระหว่างพื้นผิวทั้งสองจากการยึดเกาะ ซึ่งจะสามารถอธิบายได้ผ่านสมการ

$$\sigma = (E \times \epsilon / L)^{1/2}$$

โดยที่ σ	คือ ความแตกหักของความแข็งแรง
ϵ	คือ ความแตกหักของพลังงาน
E	คือ โมดูลัสของยัง
L	คือ ความยาวของรอยต่อ

5.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิด Mucoadhesion (12)

5.3.1 ความชอบน้ำ

Bioadhesive polymers ที่อยู่ในกลุ่ม hydrophilic เช่น สารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชัน hydroxyl และ carboxyl จะสามารถเกิดปฏิกิริยา hydrogen กับสารอื่นได้ โดยเฉพาะการเกิดการบวมเมื่ออยู่ในตัวกลางที่เป็นของเหลว จึงทำให้เกิดการยึดเกาะได้ดี และในพอลิเมอร์ที่เกิดการบวมจะมีการเพิ่มขึ้นของระยะทางระหว่างโมเลกุล ทำให้มีความยืดหยุ่นและทำให้สารสามารถแทรกซึมเข้าไปอยู่ภายในได้

5.3.2 น้ำหนักโมเลกุล

น้ำหนักโมเลกุลของ mucoadhesive polymer ชนิดของพอลิเมอร์โดยแรง mucoadhesive จะเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น โดยน้ำหนักโมเลกุลที่ทำให้เกิดการยึดเกาะที่ดีที่สุดไม่ควรเกิน 100,000 กรัม/โมล หากน้ำหนักโมเลกุลที่มากกว่านี้จะไม่ส่งผลดีขึ้นมากกว่าเดิม

5.3.3 การเชื่อมโยง และการบวม

การเกิด การเชื่อมโยงของพอลิเมอร์จะแปรผกผันกับการบวม โดยหากการเชื่อมโยงมีความหนาแน่นน้อยจะทำให้มีการยืดหยุ่นและอัตราการเกิด hydration ที่สูงขึ้น มีพื้นที่ผิวของพอลิเมอร์ที่กว้าง ทำให้เกิดการเกาะติดได้ดี แต่หากมีความชื้นที่มากเกินไป จะทำให้พอลิเมอร์เกิดการบวมมากเกินไปทำให้สามารถหลุดออกจากพื้นผิวได้ง่าย อย่างไรก็ตามความสามารถในการยึดเกาะของพอลิเมอร์สามารถเพิ่มขึ้นได้โดยการเพิ่มสัดส่วนของพอลิเมอร์หรือการทำพอลิเมอร์ให้มีลักษณะเป็นโครงข่ายที่ยึดติดกันแน่นได้

5.3.4 รูปแบบการเกาะกันของพอลิเมอร์

การเกาะกันของพอลิเมอร์ ส่งผลให้เกิดความสามารถในการเกาะติดที่แตกต่างกัน เช่น การที่สารขดเป็นเกลียวทำให้มีพื้นที่ในการเกิดการเกาะติดได้น้อยกว่าสารที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง

5.3.5 pH

pH มีผลต่อการเกิดประจุของพอลิเมอร์ที่ใช้ ส่งผลต่อการยึดเกาะกันของพื้นผิว พอลิเมอร์ที่ใช้ส่วนใหญ่เป็น polyanions ซึ่งเป็นสารประกอบ carboxylic acid ถ้า pH ของพื้นผิวมีค่าสูงกว่า

pKa ของพอลิเมอร์ จะทำให้พอลิเมอร์เกิดประจุมากขึ้น หาก pH น้อยกว่า pKa จะเกิดประจุได้ลดลง โดยค่า pKa โดยประมาณของสารกลุ่ม poly(acrylic acid) จะอยู่ระหว่าง 4-5 ทำให้พอลิเมอร์สามารถยึดเกาะกันได้ดีที่สุดเมื่อมี pH 4-5 และจะยึดเกาะกันลดลงเมื่อ pH 6

5.3.6 ความเข้มข้นของพอลิเมอร์

ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ส่งผลต่อความสามารถในการยึดเกาะ จำต้องมีความเข้มข้นที่เหมาะสม หากใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปแรงยึดติดของพอลิเมอร์จะลดลง เมื่อมีปริมาณพอลิเมอร์มากขึ้นพอลิเมอร์จะขัดตัวจับกันเอง ส่งผลให้การแพร่ผ่านของสารเข้าไปได้ยาก ทำให้การยึดติดเกิดได้ยากขึ้นด้วย

5.3.7 ปริมาณยาและสารสำคัญ

ปริมาณยาและสารสำคัญ สามารถรบกวนการยึดเกาะของพอลิเมอร์ได้ โดยความสามารถในการรบกวนจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารนั้นๆ

5.3.8 ปัจจัยอื่นๆที่อาจส่งผลต่อความสามารถในการยึดเกาะ

ปัจจัยอื่นๆที่ส่งผลต่อความสามารถในการยึดเกาะ เช่น ลักษณะทางการรูปที่หลากหลาย, อัตราการผลิตเยื่อเมือก รวมถึงภาวะโรคของแต่ละบุคคล, ลักษณะพื้นผิวที่ใช้ในการยึดเกาะ รวมถึงสถานที่ที่ต้องการบริหารยา มักมีความสามารถในการยึดเกาะที่แตกต่างกันไป อาจส่งผลต่อการยึดเกาะได้

5.4 Oral Mucoadhesive Drug Delivery Systems

การนำส่งยาผ่านเยื่อเมือกในปากได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากสามารถบริหารยาได้ง่าย การบริหารยาทางกระพุ้งแก้มและใต้ลิ้นเป็นช่องทางการบริหารยาที่พบได้บ่อยที่สุด ชั้นเยื่อเมือกที่ไม่มี keratin ในช่องปาก เช่น เพดานปาก ใต้ลิ้น ลิ้น และเยื่อเมือกบริเวณกระพุ้งแก้ม เป็นส่วนที่เป็นทางผ่านของยาสู่ร่างกายได้ดี สาร hydrophilic compounds ขนาดใหญ่และมีขั้วสูงสามารถผ่านเข้าเซลล์ทาง paracellular transport ในขณะที่ transcellular transport มีลักษณะเป็น lipid bilayer จะเป็นช่องทางเข้าของ lipophilic drugs การขนส่งผ่านเยื่อเมือกมีประโยชน์เนื่องจากไม่เกิด hepatic first-pass metabolism ช่วยเพิ่ม bioavailability ของยา เพิ่มการยอมรับการใช้ยาของผู้ป่วยสามารถเข้าถึงยาได้ง่าย และยาสามารถดูดซึมได้ดี การบริหารยาลักษณะนี้สามารถหวังผลได้ทั้งแบบ local และ systemic drug delivery ตัวอย่างการใช้แบบ Local drug therapy เพื่อรักษาโรคต่างๆ ได้แก่ aphthous ulceration gingivitis, periodontal disease และ xerostoma นอกจากนี้ยังพบยาในรูปแบบต่างๆได้หลายหลาย เช่น ยาในรูปแบบ gels, tablets, films, patches, ointments, mouth washes และ pastes

6.Candidiasis

โรค candidiasis ในช่องปาก เป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่พบโดยทั่วไปในช่องปากซึ่งเกิดจากเชื้อกลุ่ม *Candida* ที่เพิ่มขึ้นมากเกินไป โดยเชื้อทั่วไปที่ก่อให้เกิดโรคคือ *Candida albicans* โดยอุบัติการณ์ในการเกิดโรคขึ้นอยู่กับ อายุ และ ปัจจัยเสี่ยงจำเพาะ สามารถแบ่งการเกิดโรคได้เป็น 3 ระยะ ได้แก่ acute candidiasis, chronic candidiasis และ angular cheilitis สำหรับปัจจัยเสี่ยง ได้แก่ การเกิดความผิดปกติของต่อมน้ำลาย ยา ฟันปลอม อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง เบาหวาน Cushing's syndrome, malignancies และ ภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น โรคเอดส์ (11, 87)

6.1 พยาธิสภาพในช่องปาก

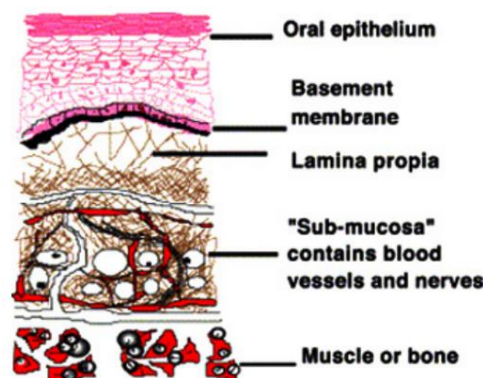


Fig. (1) Cross section through the oral mucosa (3)

รูปที่ 7 แสดงภาพตัดขวางของเยื่อภายในช่องปาก (11)

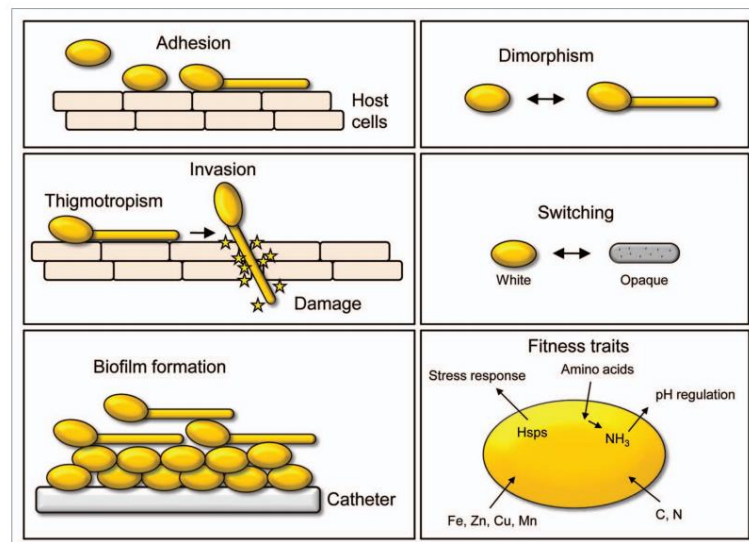
ช่องปาก คือ บริเวณรอบๆ ภายในปาก ตั้งแต่ส่วนที่ยื่นออกมาเป็นริมฝีปาก soft palates และ hard palates ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเพดานปาก ตลอดจนส่วนของลิ้นด้วย ส่วนลึกลงไปชั้นเยื่อจะมีส่วนประกอบต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 7 ช่องปากเป็นส่วนที่มีความซับซ้อนและสภาวะภายในช่องปากจะมีการเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ ซึ่งจะประกอบไปเชื้อจุลินทรีย์หลากหลายชนิด โดยในน้ำลายที่ปกคลุมอยู่บนพื้นผิวสามารถพบเชื้อจุลินทรีย์ได้กว่า 107-108 ชนิด แบคทีเรียส่วนใหญ่มีไว้เพื่อเป็นกลไกการปกป้องตัวเองจากธรรมชาติ เพื่อป้องกันการติดเชื้อโรคจากภายนอก แต่ปัญหาการติดเชื้อส่วนใหญ่ก็มักเกิดกับเชื้อประจำถิ่นพวกนี้เอง ซึ่งสามารถเกิดได้จากการเสียสมดุล แล้วมีการสร้าง biofilm ปกคลุมฟัน และช่องปาก จึงทำให้เกิดความผิดปกติต่างๆ ตามมาได้ (11) ในน้ำลายเอง ยังมีส่วนในการช่วยในการย่อยอาหาร ทำให้รับรู้รสชาติ และยังเป็นตัวช่วยส่งสารสำคัญต่างๆ เพื่อซ่อมแซมเพดานปากและส่วนต่างๆ ภายในช่องปากด้วย นอกจากนี้ น้ำลายยังมีส่วนสำคัญในการช่วยควบคุมสมดุล pH ในช่องปาก เพื่อให้มี pH ที่เหมาะสมและทำให้ช่องปากและฟันไม่เกิดการสูญเสียแร่ธาตุไป โดยค่าเฉลี่ย pH ภายในช่องปากอยู่ที่ 6.78 ± 0.04 (88)

Candidiasis เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อรา โดยเป็นเชื้อใน genus *Candida* โดยมีมากกว่า 20 species ของ *Candida* yeasts ที่สามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ โดยสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคที่พบบ่อยคือ *Candida albicans* โดยปกติแล้วเชื้อ *Candida* มักจะอาศัยอยู่ในลำไส้ สามารถพบได้บ้างในชั้นเยื่อผิวและบนผิวหนัง โดยไม่ก่อให้เกิดโรค อย่างไรก็ตามหากมีการได้รับเชื้อในปริมาณมากๆ อาจเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อ และก่อโรคได้ โรคอาการของโรคจะขึ้นอยู่กับบริเวณที่เป็น (89)

การติดเชื้อ *Candida* แบ่งตามสถานที่เกิดได้ 3 ประเภท ดังนี้ (89)

1. *Candida* infections of the mouth, throat, and esophagus: การติดเชื้อบริเวณช่องปากและทางเดินหายใจส่วนบน
2. Vaginal Candidiasis: การติดเชื้อบริเวณปากมดลูก
3. Invasive Candidiasis: การติดเชื้อในกระแสเลือด

6.2 กลไกการเกิดโรค



รูปที่ 8 แสดงการส่งเสริมให้เชื้อ *Candida albicans* สามารถเกิดเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ได้ (90)

ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อ *Candida albicans* การติดเชื้อมันเกิดได้จากการที่มีการติดเชื้อในปริมาณมาก การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเชื้อจาก yeast เป็น hyphal forms กลไกการยึดติดและบุกรุกเข้าไปยังพื้นผิวเซลล์ การตอบสนองต่อสิ่งสัมผัส การเกิด biofilm การเปลี่ยนแปลง phenotype และการสร้างเอนไซม์มาต่อต้านกลไกการต่อต้านเชื้อของร่างกายโฮสต์ นอกจากนี้เชื้อยังมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงตัวเองให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ให้ทนต่อการเปลี่ยนแปลง pH กระบวนการเผาผลาญพลังงาน การรับแหล่งสารอาหารต่างๆ และกลไกการ

ตอบสนองต่อความเครียดของเชื้อดังรูปที่ 8 (90) โดยปัจจัยที่ได้กล่าวมาข้างต้น เป็นตัวสนับสนุนให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่องปากและสามารถก่อโรค Candidiasis ได้

อาการแสดงของผู้ที่เป็นโรค Candidiasis มีอาการดังนี้ (89)

1. พบฝ้าขาวที่ด้านในของกระพุ้งแก้ม ลิ้น เพดานปาก และลำคอ
2. แดงหรือปวดตึงบริเวณรอยแผล
3. เหมือนมีสะเก็ดบริเวณปาก
4. การรับรู้รสชาติเสียไป
5. มีอาการเจ็บเมื่อกิน หรือ กลืนอาหาร
6. มีรอยแตก หรือ แดงบริเวณมุมปาก
7. อาการของโรคในลำคอบ่อยมีอาการเจ็บเมื่อกลืน หรือ กลืนลำบาก

6.3 การวินิจฉัย (91)

6.3.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างเลือด หรือ ตัวอย่างอื่นๆ ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ เป็นการทดสอบที่ได้รับการยอมรับว่าสามารถใช้ในการวิเคราะห์ที่ดี (92)

6.3.2 Nonculture diagnostic tests ตัวอย่างเช่น antigen, antibody, หรือ (1-3)- β -D-glucan detection assays รวมถึงการทำ polymerase chain reaction (PCR) ได้มีการนำมาใช้เพื่อเสริมประสิทธิภาพในการวินิจฉัยให้มีความเหมาะสมกับการเลือกใช้ยาอย่างเหมาะสม

6.4 แนวทางการรักษา Oropharyngeal candidiasis (93)

ยาหลัก : Clotrimazole oral troches 10 มิลลิกรัม อม 4-5 ครั้ง/วัน นาน 10-14 วัน

ยาทางเลือก : 1. Nystatin 50,000 units soln หยดทางปากวันละ 5 ครั้ง หรือ

2. Fluconazole 100 มิลลิกรัม PO OD หรือ

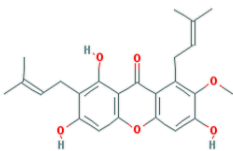
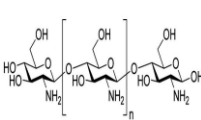
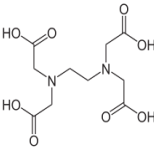
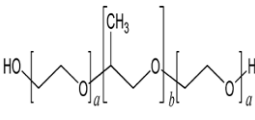
3. Itraconazole susp. 100 มิลลิกรัม PO OD หรือ

4. Amphotericin-B 0.3-0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน IV infusion

1-4 ใช้ระยะเวลาในการรักษา: 7-14 วัน

7. คุณสมบัติของสารในสูตรตำรับ

ตารางที่ 10 แสดงคุณสมบัติของสารในสูตรตำรับ

คุณสมบัติ	แอลฟาแมงโกสติน (94)	ไคโตซาน (95)	EDTA (96)	Poloxamer (97)
โครงสร้าง				
โมเลกุล				
สูตรโมเลกุล	$C_{24}H_{16}O_6$	$C_{56}H_{103}N_9O_{39}$	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	$HO(C_2H_4O)_a(C_3H_6O)_b(C_2H_4O)_aH$ Poloxamer407 (a = 80, b = 27)
น้ำหนักโมเลกุล	410.466 g/mol	1526.464 g/mol	292.244 g/mol	7,680 – 9,510 g/mol
ลักษณะทาง	ผงสีเหลืองอ่อนถึงสีเหลือง	ผงสีเหลืองอ่อนถึงสีเหลือง	ผงแห้งไม่มีสี	ลักษณะเป็นผงสีขาว
กายภาพ	MP : 180-181 °C Solubility: ละลายได้ดีในเมทานอล และ ละลายในน้ำ 2.03×10^{-4} mg/L ที่อุณหภูมิ 25°C		MP : 237 °C Solubility: ละลายในน้ำ 1×10^6 mg/L ที่อุณหภูมิ 25°C	ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส
หน้าที่ในตำรับ	antifungal agent	Antifungal agent	Solubility agent	Dispersing agent, emulsifying agent, solubilizing agent, tablet lubricant, wetting agent
ความคงตัว	คงตัวในสภาวะอุณหภูมิและความดันปกติ	-	มีความคงตัวในสภาวะที่เป็นของแข็งและในรูปแบบสารละลาย	มีความคงตัวในสภาวะที่เป็นของแข็งและในรูปแบบสารละลาย

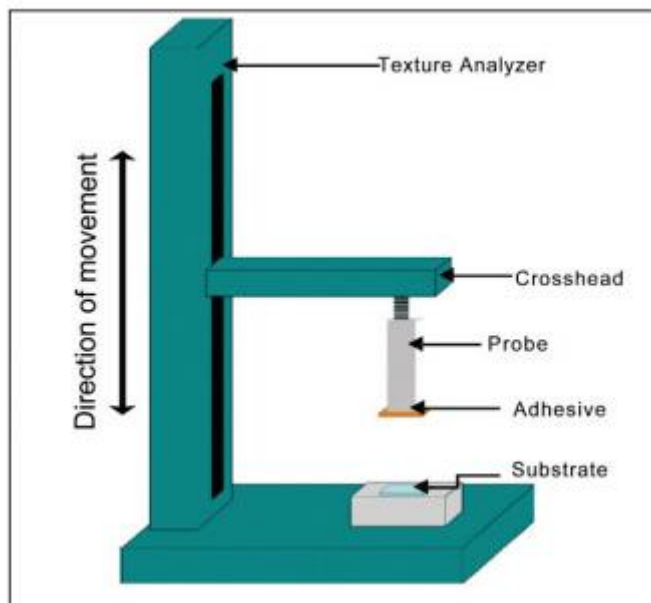
คุณสมบัติ	แอลฟาแมงโกสติน (94)	ไคโตซาน (95)	EDTA (96)	Poloxamer (97)
การเก็บรักษา	เก็บไว้ในอุณหภูมิปกติ	เก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง	เก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง	เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิทมิดชิด ในที่แห้งและเย็น

8. การทดสอบ Mucoadhesive (12)

มีวิธีการมากมายในการพัฒนาสูตรตำรับของ Mucoadhesive เนื่องจากไม่มีอุปกรณ์ที่เป็นมาตรฐานที่จะวัดความแข็งแรงของ bioadhesive ซึ่งอย่างไรก็ตาม 3 การทดสอบหลักที่ได้รับการยอมรับนั้นคือ การทดสอบแรงฉีก (tensile test) และ ความเครียดเฉือน (shear strength) สมบัติการยึดติด (peel strength) เทคนิคที่นิยมใช้ในการกำหนดของแรงในการแยกใน bioadhesive คือการให้แรงในทิศตั้งฉากกับเนื้อเยื่อกับสารที่ยึดเกาะ ซึ่งในระหว่างนั้นจะมีการสร้างสภาวะเค้นแรงดึง แต่ในระหว่างความเครียดเฉือนนั้น ทิศทางของแรงจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเพื่อที่จะทำหน้าที่ระหว่างข้อต่อของการเชื่อม ซึ่งทั้งแรงเฉือน และ ความเครียดเฉือน จะมีแรงกดดันที่เท่ากันคือกระจายผ่านบริเวณที่สัมผัส ซึ่งการวัดสมบัติการยึดติดไม่เหมาะกับการทดสอบเจลแต่จะเหมาะกับการทดสอบการเกิดฟิล์ม

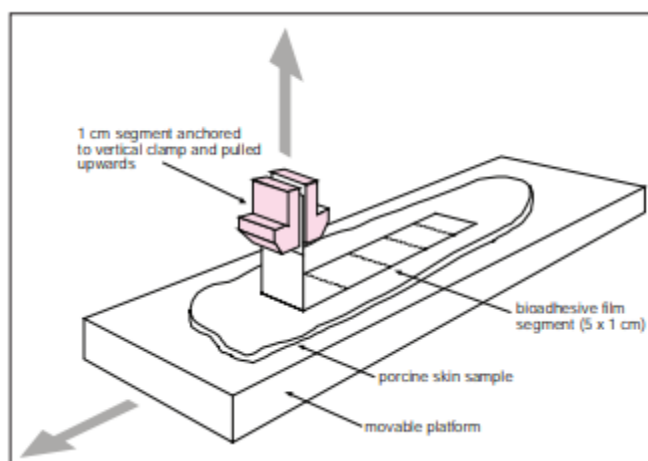
ในการทดสอบแรงเฉือนและความเครียดเฉือนจะกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอผ่านรอยต่อของสารยึดเกาะ ในขณะที่สมบัติการยึดติดจะเน้นไปที่ขอบของรอยต่อ ดังนั้น แรงดึงและแรงเฉือนจะวัดคุณสมบัติทางกลของระบบในขณะที่ การวัดสมบัติการยึดติดเป็นการวัดความต้านทานของด้านนอก

จากการทบทวนวรรณกรรมยืนยันว่าเทคนิคที่พบมากที่สุดคือ tensile strength method (McCarron และคณะ. และ Donnelly) รายงานอย่างมากมายเกี่ยวกับการใช้เครื่องวิเคราะห์ผิวสัมผัส (Texture analyzer) ดังรูปที่ 13



รูปที่ 9 เครื่องมือในการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer)

เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer) จะทำงานในโหมดทดสอบแรงดึงและควบคุมไปกับแพลตฟอร์มนอกจากนี้ยังใช้เพื่อวิเคราะห์สมบัติการยึดติดและความแข็งแรงของรูปแบบเล็ชภัณฑ์ที่คล้ายกัน



รูปที่ 10 แสดงถึงการทดสอบการยึดติดพื้นผิวของฟิล์ม

Rheological techniques ที่ศึกษาเกี่ยวกับการไหลและการเปลี่ยนรูปของวัสดุอาจจะเป็นประโยชน์ในการทำนายความสามารถของ mucoadhesive ซึ่งวิธีอย่างง่ายในการหา การไหล (rheological) ของ gel ได้มีการถูกแนะนำโดย (Hassan and Gallo) ว่าในวิธีนี้ ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง polymer gel และ mucin solutions ถูกกำหนดโดยพบว่า polymer gel ที่ผสมกับ mucin solution นั้นจะมีฤทธิ์ทาง rheological ที่มีขนาดใหญ่ซึ่งการตอบสนองมากกว่าผลรวมของค่าของ polymer

และ mucin อย่างไรก็ตามรูปแบบที่หลากหลายในผลการวิจัยพบได้ในวรรณกรรมที่ใช้วิธีการทาง rheological สำหรับการหาค่า mucoadhesion ซึ่งอาจเป็นเพราะความแตกต่างของชนิดของ mucin และ ความเข้มข้นของ mucin และ ชนิดของ polymer และความเข้มข้นของ polymer ดังนั้น (Hagerstrom) แนะนำว่าการใช้ระบบทาง rheological ซึ่งไม่ควรใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการศึกษาคูณสมบัติ mucoadhesive ของ polymer gel

ซึ่งการทดสอบ *In vivo* ของ mucoadhesive เพิ่งได้รับรายงานเพื่อตรวจสอบ mucoadhesion บนพื้นผิวของเนื้อเยื่อ เช่น gastrointestinal tract (GIT) หรือว่า ช่องปาก อย่างไรก็ตามมีเพียงจำนวนเล็กน้อยเท่านั้นที่มีการทดลองใน *In vitro* เนื่องจากค่าใช้จ่ายและข้อจำกัดทางจริยธรรม โดยการทดลอง *In vivo* ที่พบมากที่สุดของการติดตามผลของ mucoadhesion จะประกอบไปด้วย เวลาในการเคลือบอนุภาคของ bioadhesive และ เวลาในการปลดปล่อยยาออกจาก in situ gel

Hung-Seng Ch'ng et al. (1997) ได้ศึกษา *In vivo* สำหรับเวลาในการขนส่งอนุภาคของ bioadhesive ใน GIT ของหนู rat ซึ่งเขาทำการ ใส่สาร 51Cr ไปที่ bioadhesive ซึ่งทำให้หาเวลาในการขนส่งได้ ซึ่งเขาเอา GIT ของหนู rat มาทำการแบ่งส่วนเป็น 20 ส่วนและนำไปฉายรังสีเพื่อหาเวลาต่อไป

Davis et al, (2001) ได้ศึกษา *In vivo* แบบไม่รุกรานเนื้อเยื่อที่จะตรวจสอบการขนส่งของ mucoadhesive agent โดยใช้รังสีแกมมา ซึ่งตรวจสอบได้โดยการวัดค่า gamma scintigraphy

ในช่วงเวลาที่ผ่านมามีการถ่ายภาพด้วยคลื่นสนามแม่เหล็ก (MRI) คือเทคนิคที่ไม่เป็นอันตรายซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลาย

9. ทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans*

9.1 Disc diffusion method

เป็นการตรวจสอบการมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อที่เราสนใจโดยการวัดจากพื้นที่ๆ ไม่มีเชื้ออยู่ วิธีการคือ การนำเชื้อ *Candida albicans* ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในรูปแบบแข็ง (Sabouraud dextrose agar) จากนั้นนำกระดาษกรองชุบสารที่เราต้องการจะทดสอบฤทธิ์วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ *C. albicans* อยู่ นำไปไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาวัดพื้นที่ๆ เชื้อหายไปเป็นหน่วย มิลลิเมตร (98)

9.2 Broth macrodilution method

เป็นการวัดค่า minimal inhibitory concentration (MIC) และ minimum fungicidal concentration (MFC) โดยใส่สาร แอลฟาแมงโกสติน ที่ทำการเจือจางมาหลายความเข้มข้นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในรูปแบบของเหลว (Sabouraud dextrose broth) ที่มีเชื้อ *C.albicans* อยู่ประมาณ $2-5 \times 10^6$ colonyforming units (CFU)/ml หลังจากนั้นนำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาตรวจสอบเชื้อทางสายตาและวัดความเข้มข้นของสี ที่ ความยาวคลื่น 800 นาโนเมตร โดยที่ค่า MIC คือ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารแอลฟาแมงโกสติน ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ และ ค่า MFC หาจากการนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้รับการบ่มข้างต้นแต่ไม่มีการเจริญของเชื้อ มา 0.01 มิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงลงบน Sabouraud dextrose agar โดยที่ค่า MFC คือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถลดจำนวนของเชื้อลงได้ 99.9% และต้องทำการหาค่า MIC และ MFC ทั้งหมด 3 ครั้ง (73)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง และ วัสดุ อุปกรณ์

1.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 1.1.1 เปลือกผลไม้มังคุด จากจังหวัดปราจีนบุรี
- 1.1.2 Acetonitrile (RCI Labscan Limited)
- 1.1.3 Alpha-mangostin reference standard (Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd.)
- 1.1.4 Chitosan (low molecular weight) (Sigma-Alorich)
- 1.1.5 Clotrimazole (Bangkok lab)
- 1.1.6 Ethanol 99.99% (RCI Labscan Limited)
- 1.1.7 Ethylenediaminetetraacetic acid (Sigma-Alorich)
- 1.1.8 KH_2PO_4 (Potassium Dihydrogen phosphate) (QReC)
- 1.1.9 L-ascobic acid (Sigma-Alorich)
- 1.1.10 Mucin (Sigma-Alorich)
- 1.1.11 Na_2HPO_4 (Di-sodium hydrogen phosphate) (QReC)
- 1.1.12 Phosphoric acid (RCI Labscan Limited)
- 1.1.13 Poloxamer 407 (Sigma-Alorich)
- 1.1.14 Sabouraud Dextrose Agar (HIMEDIA)
- 1.1.15 Sabouraud Dextrose Broth (HIMEDIA)
- 1.1.16 2,2 - diphenyl -1- picrylhydrazyl (Sigma-Alorich)

1.2 วัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

- 1.2.1 กระดาษกรอง 45 ไมโครเมตร (What man)
- 1.2.2 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO)
- 1.2.3 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO)
- 1.2.4 ข้อนเขา

- 1.2.5 อะลูมิเนียมฟอยล์ (Dimond)
- 1.2.6 Autoclave (HICLAVE, WISECLAVE)
- 1.2.7 Beaker ขนาด 10, 50, 100, 250, 400, 600, 1000 ml (Pyrex)
- 1.2.8 Centrifuge (Thermofisher)
- 1.2.9 Compact pH meter (LAQUAtwin)
- 1.2.10 Cylinder ขนาด 10, 25, 50, 100, 1000 ml (Germany diffico)
- 1.2.11 Dropper
- 1.2.12 Hot plate (ISO lab)
- 1.2.13 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Agilant)
- 1.2.14 HPLC vial (Agilant)
- 1.2.15 Magnetic stirrer and stirrer bar 2 cm (ISO lab)
- 1.2.16 Micropipettes (RANIN)
- 1.2.17 Microplate reader (Accur reader)
- 1.2.18 Petri dish (Hycon)
- 1.2.19 Shaking incubator (Hercuvan)
- 1.2.20 Sonicator (Wiseclean)
- 1.2.22 Sittiring rod
- 1.2.23 Test tube (Pyrex)
- 1.2.24 Volumetric flask (SCHOTT)
- 1.2.25 Vortex (ISO lab)
- 1.2.26 Watch glass
- 1.2.27 96-well microplate (Nunclon)

2. ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

- 2.1 การศึกษาข้อมูล ทบทวนวรรณกรรม
 - 2.1.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของไคโตซาน
 - 2.1.2 ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและส่วนประกอบของมังคุด
 - 2.1.3 ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากสารสกัดของเปลือกผลมังคุด
 - 2.1.4 ศึกษาการพัฒนาและนำไปใช้ของมังคุด
 - 2.1.5 ศึกษาเทคนิคการสกัดเปลือกผลมังคุด

2.1.6 ศึกษาความหมายและประเภทของเจลและ in situ gel

2.1.7 ศึกษากระบวนการนำส่งยาแบบ mucoadhesive

2.1.8 ศึกษาทฤษฎีของ mucoadhesive

2.1.9 ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิด mucoadhesion

2.1.10 ศึกษาพยาธิสภาพและการรักษา candidiasis

2.1.11 ศึกษาคุณสมบัติของสารในสูตรตำรับที่ประกอบไปด้วย ไคโตซาน แอลฟาแมงโก
สติน ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) และ poloxamer 407

2.1.12 ศึกษาการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans*

2.1.13 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Candida albicans*

2.1.14 ศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant)

2.2 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ

2.2.1 การเตรียมสารละลายผสมระหว่าง CS และ EDTA ที่สามารถละลายเข้ากันหมด
พอดี

1) เตรียมสารละลาย CS 1.0%, 1.5% และ 2.0% w/w

(1) ชั่ง ไคโตซาน 0.50, 0.75 และ 1 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร

(2) ชั่ง EDTA ตามน้ำหนักที่ต้องการ ใส่ใน beaker ที่มี CS อยู่

(3) ปรับน้ำหนักด้วยน้ำจนครบ 50 กรัม

(4) นำไปผสมด้วย magnetic bar และ magnetic stirrer จนละลายหมด

2.2.2 การศึกษาอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะระหว่างสารละลายเจล
poloxamer 407 แต่ละความเข้มข้น

1) การเตรียมสารละลาย poloxamer 407

(1) ชั่ง poloxamer 407 ตามน้ำหนักที่ต้องการ ใส่ลงใน beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร

(2) ปรับน้ำหนักด้วยน้ำจนครบ 50 กรัม

(3) นำไปผสมด้วยเครื่อง magnetic stirrer ด้วยความเย็นจนใส

(4) นำสารละลาย poloxamer ที่ได้ มาทดสอบการก่อตัวเป็นเจล โดยการค่อยๆ เพิ่ม
อุณหภูมิ

2.2.3 การเตรียม poloxamer 407 ร่วมกับ CS : EDTA

1) การเตรียม poloxamer 407 ร่วมกับ CS : EDTA แต่ละความเข้มข้น

(1) ชั่ง poloxamer 407 ร่วมกับ 1.0%, 1.5% และ 2.0% CS : EDTA

ก. ชั่ง poloxamer 407 ตามน้ำหนักที่ต้องการ

ข. ชั่ง 1.0%, 1.5% และ 2.0% CS : EDTA ตามน้ำหนักที่ต้องการ ลงในปิกรเกอร์เดิม

ค. นำไปผสมด้วย magnetic bar และ magnetic stirrer จนเข้ากันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2.4 เตรียมสารสกัดเปลือกผลมังคุด โดยการสกัดด้วยวิธี soxhlet โดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย

- 1) นำเปลือกผลมังคุดไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จนน้ำหนักไม่เปลี่ยนแปลง
- 2) นำเปลือกผลมังคุดที่อบแห้งแล้วมาบด
- 3) นำผงเปลือกผลมังคุดแห้งที่บดแล้ว 5 กรัมใส่ใน soxlet apparatus และใส่ 95% ethanol 250 มิลลิลิตร ลงใน round bottom flask โดยให้อุณหภูมิที่ 78.1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- 4) ระเหย ethanol ด้วย water bath
- 5) นำสารสกัดหลังจากระเหย ethanol ใส่ภาชนะปิดสนิท
- 6) คำนวณตามสมการที่ (1)

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{ปริมาณสารสกัดที่ได้}}{\text{ปริมาณเปลือกผลมังคุดที่ซั่งจริง}} \times 100 \text{ ---(1)}$$

2.3 การสกัดและการทดสอบคุณสมบัติของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

2.3.1 ทำกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยใช้สารมาตรฐาน แอลฟาแมงโกสติน (standard alpha-mangostin)

- 1) นำสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน 2.0000 กรัม ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย 99%v/v เอทานอล
- 2) เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 200, 100, 75, 50, 25, 10, 5 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ด้วย 99%v/v เอทานอล
- 3) สภาวะที่ใช้
 - (1) Injection volume : 20 ไมโครลิตร
 - (2) Stationary phase : column C18
 - (3) Mobile phase : Acetonitrile : 0.05%v/v Ortho phosphoric acid (80:20)
 - (4) Flow rate : 1.0 ml/min

(5) Room temperature

ตารางที่ 11 การเตรียมความเข้มข้น standard curve โดยใช้สารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน

ความเข้มข้นที่ ต้องการ (µg/ml)	นำมาจากความ เข้มข้น (µg/ml)	ปริมาตรที่นำมา (µl)	เติมเมทานอล (µl)
200	200	1000	0
100	200	500	500
75	200	375	625
50	200	250	750
25	50	500	500
10	50	200	800
5	50	100	900
1	50	20	980

2.3.2 การหาปริมาณสาร แอลฟาแมงโกสติน จากสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

- นำสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด 10 กรัม ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ---(1)
- ปรับปริมาตรด้วย 99%v/v เอทานอล จนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
- ปิเปตสารละลาย (1) มา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรอีกหนึ่งใบ ---(2)
- นำไปเติม เอทานอล 10 มิลลิลิตร
- จะได้สารละลายมีความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในเอทานอล
- นำไปกรองด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
- วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้สภาวะเดียวกับสารมาตรฐาน
- คำนวณปริมาณสารสำคัญแอลฟาแมงโกสติน ที่มีในสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด โดยใช้สมการที่ (2)

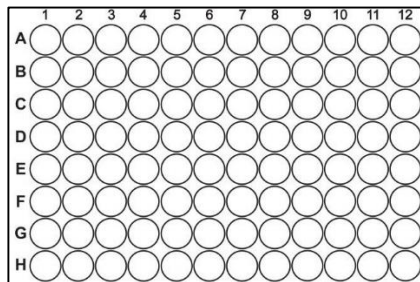
$$y = 180.76x - 69.476 \quad \text{----(2)}$$

y คือ พื้นที่ใต้กราฟ (Area under the curve: AUC)

x คือ ความเข้มข้นของสารสำคัญแอลฟาแมงโกสติน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

2.3.3 การศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกผลมังคุด ด้วยวิธี 2,2 – diphenyl -1- picrylhydrazyl (DPPH) radical assay โดยเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid

- 1) เตรียม DPPH (MW 394.32) ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 7.89 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร (เตรียมแล้วสามารถแช่ตู้เย็นไว้ได้ 2-8 องศาเซลเซียสและป้องกันแสง)
- 2) เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ 99%v/v เอทานอลเป็นตัวทำละลาย เช่น 6.25, 12.5, 25, 50, 75 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
- 3) นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ไปหยอดใน 96-well plate ความเข้มข้นละ 6 หลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร



รูปที่ 11 แสดง 96-well plate ที่บรรจุสารทดสอบ DPPH radical

- 1) โดย 3 หลุมแรก (A-B) จะใส่ DPPH หลุมละ 100 ไมโครลิตร (A1)
- 2) อีก 3 หลุม (D-F) จะใส่ 99%v/v เอทานอล หลุมละ 100 ไมโครลิตร (A2)
- 3) อีก 2 หลุม (G-H) เป็น control ซึ่งแต่ละหลุมจะใส่ DPPH 100 ไมโครลิตร + 99%v/v เอทานอล 100 ไมโครลิตร (A3)

- 4) นำไป incubate อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
- 5) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader
- 6) คำนวณหาค่า %Inhibition ตามสูตรที่ (3)

$$\%inhibition = \frac{(A3) - [(A3) - (A1)]}{(A3)} \times 100 \text{---(3)}$$

- 7) นำ %Inhibition และความเข้มข้นที่ทดสอบไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า IC_{50}

หมายเหตุ: ความเข้มข้นสุดท้ายที่นำไปสร้างกราฟ IC_{50} จะเป็นครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นเริ่มต้น (dilution factor = 2)

2.3.4 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* โดยการหาค่า minimum inhibitor concentration (MIC) และ minimum fungicidal concentration (MFC)

- 1) การเตรียมเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบต้องอยู่
 ในระยะที่เซลล์ทุกๆเซลล์พร้อมที่จะเจริญเติบโตหรือแบ่งเซลล์ได้ มีวิธีเตรียม
 ดังต่อไปนี้
 - (1) เชื้อโคโคเนียของเชื้อที่ใช้ทดสอบที่เพาะเลี้ยงไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอายุ
 ประมาณ 24 ชั่วโมง เชื้อโคโคเนียมาประมาณ 4-5 โคโคเนีย นำมาใส่ Sabouraud
 Dextrose Broth ที่เหมาะสมเขย่าเพื่อให้เชื้อกระจายตัวออกจากกัน
 - (2) นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ (1) ไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
 โดยเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปวัดความขุ่นให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง
 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.5 McFarland
- 2) เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใน DMSO
- 3) ปิเปตสารสกัดลงในหลอดที่ 1 และ 2 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร
- 4) เติมน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อลงในหลอดที่ 2 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้น
 ปิเปตใส่หลอดที่ 3 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร
- 5) ทำซ้ำข้อ 3) จนถึงหลอดที่ 12 จากนั้นปิเปตสารทั้ง 500 ไมโครลิตร
- 6) นำเชื้อที่เตรียมไว้มาปิเปตใส่หลอดทุกหลอด หลอดละ 500 ไมโครลิตร
- 7) นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง สังเกตหาความเข้มข้นต่ำสุดที่พบ
 เชื้อเป็นค่า MIC
- 8) นำหลอดที่เริ่มไม่พบเชื้อไปเพาะลงบนอาหารแข็ง Sabouraud Dextrose Agar
 (SDA) โดยปิเปตความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร spread จนทั่ว plate
- 9) นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง สังเกตหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ไม่
 พบเชื้อเป็นค่า MFC

2.4 การเตรียมและทดสอบคุณสมบัติของเจลโคโคซาน

2.4.1 การบรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ใน PLX : CS

- 1) การบรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ใน 1.0%, 1.5% และ 2.0% CS : PLX
 - (1) ชั่งน้ำหนักสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด 0.1, 0.25 และ 0.5 กรัม
 - (2) ปรับปริมาตรด้วยยาพื้น 1.0%, 1.5% และ 2.0% CS : PLX จนครบ 100 กรัม
 - (3) นำไปผสมด้วย magnetic bar และ magnetic stirrer จนเข้ากัน

2.4.2 การหาปริมาณสาร แอลฟาแมงโกสติน ในตำรับ PLX : CS : EX

- 1) ชั่งตำรับ PLX : CS : EX 0.2 กรัม ละลายใน 99%v/v เอทานอล 2 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
- 2) เจือจางสารละลายในข้อ 1) ด้วย 99%v/v เอทานอลจนได้ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
- 3) ใช้ syringe ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายที่เจือจางมาแล้วในข้อ 2) กรองด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
- 4) วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ สภาวะเดียวกับสารมาตรฐาน
- 5) คำนวณปริมาณสาร แอลฟาแมงโกสตินที่มีในสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดในตำรับ PLX : CS : EX ดังสมการ(4)

$$\%content = \frac{\text{ปริมาณของสารแอลฟาแมงโกสตินที่ได้จากการวิเคราะห์}}{\text{ปริมาณของสารแอลฟาแมงโกสตินที่บรรจุในตำรับ}} \times 100 \text{ ---(4)}$$

2.4.3 วัดค่า pH

- 1) ใช้เครื่อง pH meter (HORIBA (LAQUAtwin)) ในการวัด pH
- 2) นำเครื่องมา Calibrate ที่ pH 4.0, 7.0 และ 9.21
- 3) ปิเปต สารละลายตำรับที่เตรียมได้มา 1.0 มิลลิลิตร หยดลงบนเครื่องวัด pH meter
- 4) อ่านค่าและบันทึกผล
- 5) ล้างช่องหยดสารด้วยน้ำกลั่น และซับให้แห้งด้วยกระดาษชำระ
- 6) ทำซ้ำ 3 ครั้ง แสดงค่าเฉลี่ยของ pH $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

2.4.4 ทดสอบลักษณะความใส และสี ของตำรับเจล

- 1) การทดสอบความใสของตำรับเจล

(1) ประเมินความใสของตำรับหลังจากเตรียมโดยใช้สายตา

โดยกำหนดระดับความใสดังนี้

0	=	ใส
+1	=	ขุ่นเล็กน้อย
+2	=	ขุ่นปานกลาง
+3	=	ขุ่นมาก

(2) เปรียบเทียบความใสของแต่ละตำรับ

- 2) การทดสอบสีของตำรับเจล

(1) ประเมินสีของตำรับหลังจากเตรียมโดยใช้สายตา

โดยกำหนดระดับสีดังนี้

0	=	ไม่มีสี
+1	=	สีเหลืองเล็กน้อย
+2	=	สีเหลืองปานกลาง
+3	=	สีเหลืองมาก

(2) เปรียบเทียบสีของแต่ละตำรับ

2.4.5 การศึกษาอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะระหว่างสารละลายเจล แต่ละตำรับ PLX : CS ที่มีและไม่มีสารสกัด

1) การเตรียมสารละลาย poloxamer 407

(1) ชั่งตำรับ PLX : CS ที่มีและไม่มีสารสกัดตำรับละ 10 กรัม ใส่ลงใน beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร

(2) นำไปผสมด้วยเครื่อง magnetic stirrer และค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิ

2.4.6 ทดสอบการวัดความหนืดของตำรับ PLX : CS ที่มีและไม่มีสารสกัด

1) การวัดความหนืดของเจลโคโคซานไวต่ออุณหภูมิ

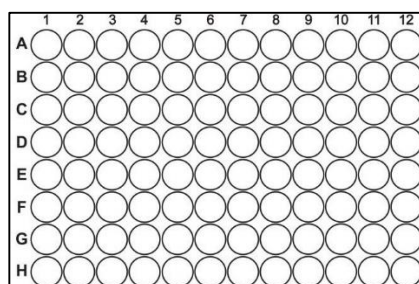
(1) ชั่งแต่ละตำรับ 15 กรัม และนำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Kinexus Rheometer

(2) กำหนด Shear rate $1-100 \text{ s}^{-1}$

(3) วัดที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส วัดซ้ำ 3 ครั้ง ($n=3$)

2.4.7 การศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของตำรับ PLX : CS ที่มีและไม่มีสารสกัด ด้วยวิธี 2,2 – diphenyl -1- picrylhydrazyl (DPPH) radical assay โดยเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid

- เตรียมสารละลายตัวอย่างจากตำรับเจล 25, 50, 75, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยกเว้นตำรับที่มีสารสกัดความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/กรัม สารละลายตัวอย่างจากตำรับเจล 2.5, 5, 7.5, 10, 15 และ 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
- นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ไปหยดใน 96-well plate ความเข้มข้นละ 6 หลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร



รูปที่ 12 แสดง 96-well plate ที่บรรจุสารทดสอบ DPPH radical

- 1) โดย 3 หลุมแรก (A-B) จะใส่ DPPH หลุมละ 100 ไมโครลิตร (A1)
- 2) อีก 3 หลุม (D-F) จะใส่ 99%v/v เอทานอล หลุมละ 100 ไมโครลิตร (A2)
- 3) อีก 2 หลุม (G-H) เป็น control ซึ่งแต่ละหลุมจะใส่ DPPH 100 ไมโครลิตร + 99%v/v เอทานอล 100 ไมโครลิตร (A3)

- 3) นำไป incubate อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
- 4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader
- 5) คำนวณหาค่า %Inhibition ตามสูตรที่ (3)

$$\%inhibition = \frac{(A3) - [(A3) - (A1)]}{(A3)} \times 100 \text{---(3)}$$

- 6) นำ %Inhibition และความเข้มข้นที่ทดสอบไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า IC_{50}

หมายเหตุ: ความเข้มข้นสุดท้ายที่นำไปสร้างกราฟ IC_{50} จะเป็นครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นเริ่มต้น (dilution factor = 2)

2.4.8 การทดสอบการปลดปล่อยของสารสำคัญ แอลฟาแมงโกสติน ด้วยเครื่องมือ shaker incubator ในตำรับเจลในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ

- 1) บรรจุตำรับเจล 5 กรัม ลงขวดแก้ว แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
- 2) นำขวดที่บรรจุยาเจลและน้ำลายเทียม วางบนแท่นของเครื่อง shaking incubator ซึ่งมีสภาวะ คือ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วในการเขย่า 50 rpm และความเร็วในการหมุนของพัดลมระบายอากาศ 1400 rpm
- 3) ใส่น้ำลายเทียมปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วที่บรรจุตำรับเจล แล้วปิดฝาภาชนะทำการจับเวลา
- 4) สุ่มน้ำลายเทียมตัวอย่างครั้งละ 1 มิลลิลิตร และใส่น้ำลายเทียมใหม่กลับคืนในปริมาตรเท่าเดิมที่เวลา 1, 2, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง
- 5) นำน้ำลายเทียมตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ แอลฟาแมงโกสติน ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้สภาวะเดียวกับสารละลายมาตรฐาน

หมายเหตุ: น้ำลายเทียมจะเตรียมจาก สารละลายผสมของ Na_2HPO_4 2.38 กรัม KH_2PO_4 0.19 กรัม และ NaCl 8 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ด้วยสารละลายกรดฟอสฟอริก ให้มีค่า pH 6.8 ± 0.05

2.4.9 การทดสอบการเกาะติดเนื้อเยื่อของตัวรับเจลด้วยวิธี viscometer method โดยใช้

สูตร

$$\eta_{\text{adhesion}} = \eta_{\text{total}} - \eta_{\text{m}} - \eta_{\text{gel}} \quad \text{-----(4)}$$

$$F = \eta_{\text{adhesion}} \sigma \quad \text{-----(5)}$$

$$\sigma = k\gamma^n \quad \text{-----(6)}$$

หมายเหตุ: γ = shear stress (Pa), σ = shear rate (s^{-1})

โดยค่าที่วัดออกมา คือ ความหนืดของ mucin (η_m), ความหนืดของตัวรับเจล (η_{gel}) และ ความหนืดของ ตัวรับเจลที่ผสมกับ mucin (η_{total}) และ นำค่าความหนืดที่ได้มาคำนวณหาแรง ในการเกาะติดเนื้อเยื่อ (F) และ มาคำนวณตามสูตรที่ 4 5 และ 6 ตามลำดับสูตร และ นำค่า η_{adhesion} กับ σ มาสร้างกราฟการทดสอบสมบัติเกาะติดเนื้อเยื่อ

2.4.10 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* โดยการหาค่า minimum inhibitor concentration (MIC) และ minimum fungicidal concentration (MFC)

- 1) การเตรียมเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบต้องอยู่

ในระยะเวลาที่เซลล์ทุกๆเซลล์พร้อมที่จะเจริญเติบโตหรือแบ่งเซลล์ได้ มีวิธีเตรียม ดังต่อไปนี้

- (1) เชื้อโคโลนีของเชื้อที่ใช้ทดสอบที่เพาะเลี้ยงไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอายุ

ประมาณ 24 ชั่วโมง เชื้อโคโลนีมาประมาณ 4-5 โคโลนี นำมาใส่ Sabouraud Dextrose Broth ที่เหมาะสมเขย่าเพื่อให้เชื้อกระจายตัวออกจากกัน

- (2) นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ (1) ไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปวัดความขุ่นให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.5 McFarland

- 2) เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใน DMSO

- 3) ปิเปตสารสกัดลงในหลอดที่ 1 และ 2 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร

- 4) เติมน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อลงในหลอดที่ 2 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตใส่หลอดที่ 3 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร

- 5) ทำซ้ำข้อ 3) จนถึงหลอดที่ 12 จากนั้นปิเปตสารทิ้ง 500 ไมโครลิตร

- 6) นำเชื้อที่เตรียมไว้มาปิเปตใส่หลอดทุกหลอด หลอดละ 500 ไมโครลิตร

- 7) นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง สังเกตหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ พบเชื้อเป็นค่า MIC

- 8) นำหลอดที่เริ่มไม่พบเชื้อไปเพาะลงบนอาหารแข็ง Sabouraud Dextrose Agar (SDA) โดยปีเปตความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร spread จนทั่ว plate
- 9) นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง สังเกตหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ไม่พบเชื้อเป็นค่า MFC

2.4.11 การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองทั้งหมดจะทำซ้ำ 3 ครั้ง จะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และใช้สถิติ ANOVA ในการวิเคราะห์ข้อมูล

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ

1.1 การศึกษาหาอัตราส่วนไคโตซานที่สามารถละลายเข้ากันได้

ตารางที่ 12 แสดงลักษณะทางกายภาพในแต่ละอัตราส่วนของไคโตซาน

อัตราส่วนระหว่าง %w/w CS : %w/w EDTA	ลักษณะทางกายภาพ
1%CS : 0.2%EDTA	+
1%CS : 0.4%EDTA	0
1%CS : 0.8%EDTA	+
1.5%CS : 0.4%EDTA	+
1.5%CS : 0.6%EDTA	+
1.5%CS : 0.8%EDTA	0
2%CS : 0.4%EDTA	+
2%CS : 0.8%EDTA	+
2%CS : 1.2%EDTA	0

หมายเหตุ: 0 = ไม่มีตะกอน

+ = มีตะกอน

จากการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง EDTA และไคโตซานที่สามารถละลายเข้ากันได้พบดี พบว่า ปริมาณของไคโตซานที่ 1%w/w, 1.5%w/w และ 2%w/w จะสามารถละลายเข้ากันได้ดีในน้ำเมื่อผสม EDTA ในปริมาณ 0.4%w/w, 0.8%w/w และ 1.2%w/w ตามลำดับ เนื่องจากไคโตซานเป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่ ละลายน้ำในสภาวะที่เป็นกรด และมีประจุเป็นบวก เมื่อผสมกับ EDTA ที่มีประจุลบ อาจทำให้สามารถจับกับไคโตซานจะเกิดแรงระหว่างโมเลกุล จึงสามารถละลายไคโตซานในน้ำได้ดียิ่งขึ้น

1.2 การศึกษาอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะระหว่างสารละลายและเจล ($T_{\text{sol-gel}}$) ของ Poloxamer 407 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 13 แสดงอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะระหว่างสารละลายและเจล ($T_{\text{sol-gel}}$) ของ PLX407 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Poloxamer407 (%w/w)	$T_{\text{sol-gel}}$ ($^{\circ}\text{C}$)
14	>50
14.5	36.67 ± 0.58
14.75	35.00 ± 0.87
14.9	36.67 ± 1.53
15	32.83 ± 0.29
15.5	31.33 ± 0.76
16	30.17 ± 0.76
17	27.33 ± 0.58
18	26.00 ± 1.00
19	23.00 ± 0.00
20	24.67 ± 2.31

จากการศึกษาอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะจากของสารละลายกลายเป็นเจล ($T_{\text{sol-gel}}$) พบว่า $T_{\text{sol-gel}}$ ของ PLX407 มีค่าขึ้นกับความเข้มข้น กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นของ PLX407 มากขึ้นส่งผลให้ $T_{\text{sol-gel}}$ ของตำรับเจลต่ำลง ดังตารางที่ 11 เนื่องจาก PLX407 ประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ คือ polyoxyethylene ,polyoxypropylene ตามลำดับ เมื่อ สารละลาย PLX407 มีอุณหภูมิสูงขึ้นจนถึงจุด critical micelle concentration (CMC) โครงสร้างของ PLX407 จะมีการเปลี่ยนแปลงโดยส่วนที่ชอบน้ำ (polyoxyethylene) จะหันออกด้านนอกและส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (polyoxypropylene) จะหันเข้าด้านในจับกันเกิดเป็น micelle จากนั้นเมื่ออุณหภูมิสูงถึงจุด critical gelation concentration (CGC) จะเกิดกระบวนการ dehydration ทำให้เกิด micelle เกิดการเกาะกลุ่มกันแน่นขึ้นและเกิดเป็นเจลในที่สุด (99, 100)

1.3 การศึกษาสัดส่วนและปริมาณของ PLX407 ร่วมกับ 2%CS ที่มีผลต่ออุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะระหว่างสารละลายและเจล

ตารางที่ 14 แสดงลักษณะทางกายภาพ เมื่อผสม 2%CS และ 14.9%PLX407 ที่ใช้เตรียมในสัดส่วนต่างๆ ในที่เย็น

ความเข้มข้นของ PLX407	อัตราส่วน 2%CS : PLX407	ลักษณะทาง กายภาพ	T sol-gel (°C)
14.9%	0.5 : 9.5	0	>50
	1 : 9	0	>50
	2 : 8	0	>50
16%	0.5 : 9.5	0	>50
	1 : 9	0	>50
	2 : 8	0	>50
17%	0.5 : 9.5	+	29.67 ± 0.57
	1 : 9	+	38.3 ± 2.08
	2 : 8	0	>50
18%	0.5 : 9.5	0	26.50±0
	1 : 9	0	35.67±0.58
	2 : 8	+	>50

หมายเหตุ: 0 = ไม่มีตะกอน

+ = มีตะกอนเล็กน้อย

จากการทดลองพบว่าเมื่อนำ PLX407 มาผสมกับ 2%w/w CS ทำให้อุณหภูมิที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสถานะจากสารละลายกลายเป็นเจล ($T_{\text{sol-gel}}$) เพิ่มขึ้น จึงพิจารณาเพิ่มความเข้มข้นของ PLX407 เพื่อให้สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะเป็นเจลที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส และไม่มีตะกอน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจนำ 2%w/w CS : 18%w/w PLX407 อัตราส่วน 1 : 9 มาใช้ในการเตรียมตำรับ

2 การสกัดและการทดสอบคุณสมบัติของเปลือกผลมังคุด

2.1 หาปริมาณสารสกัดเปลือกผลมังคุดในตัวทำละลายเอทานอลโดยการหาผลผลิตร้อยละ (% yield)

จากการสกัดเปลือกผลมังคุด ด้วยวิธีการ soxhlet extraction ในตัวทำละลายเอทานอลได้ผลผลิตร้อยละ (% yield) ของปริมาณสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด เท่ากับ 16.37 ± 1.76 (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ซึ่งสามารถอธิบายได้จากกฎของ like dissolve like คือ ตัวถูกละลายจะสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติเหมือนกัน เช่น ตัวทำละลายที่มีขั้วจะสามารถละลายตัวถูกละลายที่มีขั้ว เพราะมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลเป็นแรงไดโพล-ไดโพล (Dipole-dipole force) และในทางตรงกันข้ามตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วก็สามารถละลายตัวถูกละลายที่ไม่มีขั้วได้เช่นกัน ดังนั้นตัวทำละลายเอทานอลจึงสามารถละลายสารสำคัญในเปลือกผลมังคุด คือ สารแอลฟาแมงโกสติน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มแซนโทน ที่เป็นสารมีขั้วต่ำออกมาได้

2.2 การหาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดคำนวณได้จาก linear regression equation ของ standard curve ของกราฟ แอลฟาแมงโกสติน (alpha-mangostin)

$$y = 180.76x - 69.476$$

y คือ พื้นที่ใต้กราฟ (Area under the curve: AUC)

x คือ ความเข้มข้นของสารสำคัญแอลฟาแมงโกสติน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

สารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ในเอทานอล ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะมีสารสำคัญแอลฟาแมงโกสติน (alpha-mangostin) 9.11 ± 0.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกผลมังคุดเปรียบเทียบกับ ascorbic acid ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical assay

ตารางที่ 15 แสดงผลการต้านอนุมูลอิสระของ ascorbic acid และสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

Sample	IC ₅₀ (µg/ml)
Ascorbic acid	7.20 ± 0.53
สารสกัดจากเปลือกผลมังคุด	43.67 ± 4.62

จากการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical assay โดยมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระแบบ scavenging กล่าวคือ สารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะให้โปรตอนแก่ DPPH ทำให้ DPPH ถูกรีดิวซ์เปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ซึ่งส่งผลให้การดูดกลืนแสงได้ลดลง จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดทำให้สารละลาย DPPH เปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง และวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น โดยมีความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (half maximum inhibitory concentration: IC_{50}) เท่ากับ 43.67 ± 4.62 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่า ascorbic acid อยู่ 6.07 เท่า

2.4 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด โดยการหาค่า minimum inhibitor concentration (MIC) และ minimum fungicidal concentration (MFC)

ตารางที่ 16 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด โดยการหาค่า minimum fungicidal concentration (MFC) ของสารสกัดใน 50% DMSO

Minimum fungicidal concentration (MFC) ของสารสกัดใน 50% DMSO



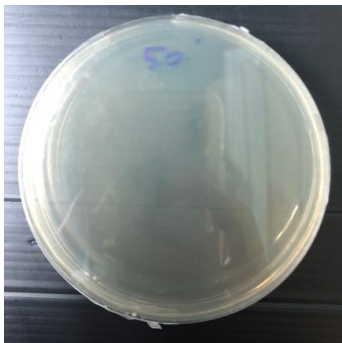
สารสกัด 6.25 mg/ml



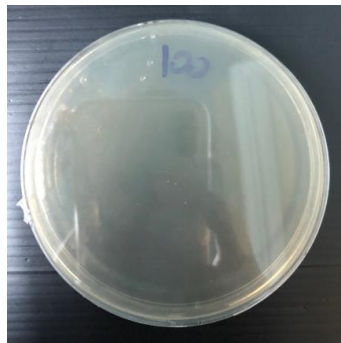
สารสกัด 12.5 mg/ml



สารสกัด 25 mg/ml



สารสกัด 50 mg/ml

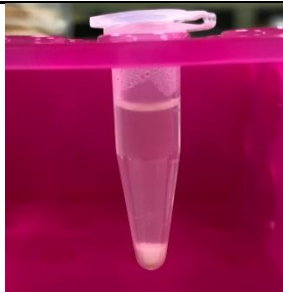


สารสกัด 100 mg/ml

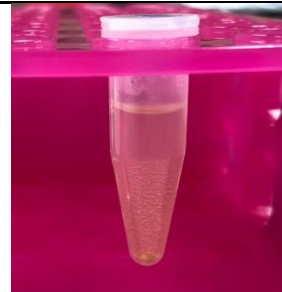
จากการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* ของสารสกัดเปลือกผลมังคุดใน 50%DMSO พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้(MIC) คือ 6.25% และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้(MFC) คือ 50% ดังตาราง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaomongkolgit et al. (2009) ที่ได้ศึกษาว่าสารสำคัญ แอลฟาแมงโกสตินมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* ได้ ตารางที่ 17 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด โดยการหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC)

Minimum inhibitory concentration (MIC) ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดใน

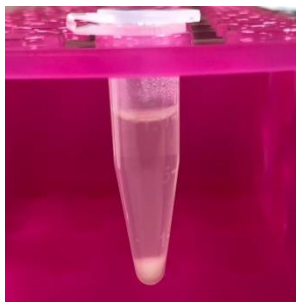
50%DMSO



สารสกัด 0.195 mg/ml



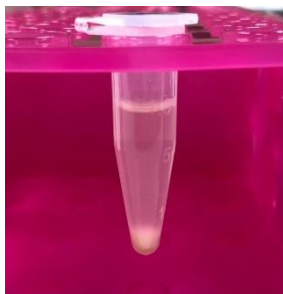
สารสกัด 6.25 mg/ml



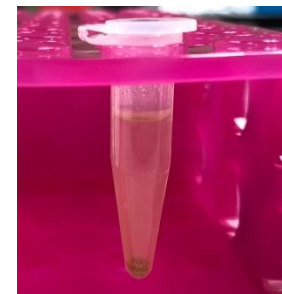
สารสกัด 0.39 mg/ml



สารสกัด 12.5 mg/ml

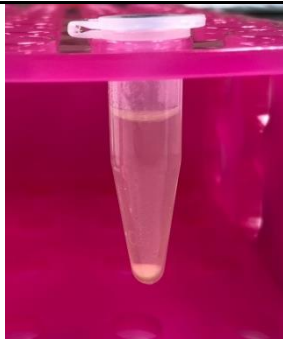


สารสกัด 0.781 mg/ml

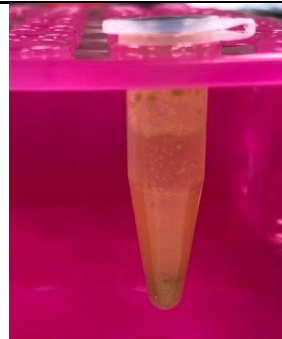


สารสกัด 25 mg/ml

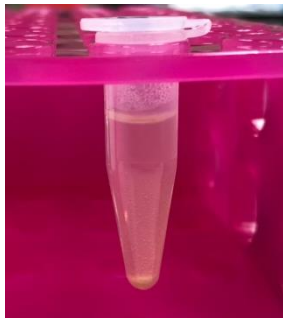
Minimum inhibitory concentration (MIC) ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดใน
50%DMSO



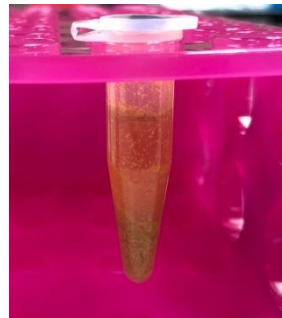
สารสกัด 1.562 mg/ml



สารสกัด 50 mg/ml



สารสกัด 3.125 mg/ml



สารสกัด 100 mg/ml

3. การเตรียมและทดสอบคุณสมบัติของเจลไคโตซานไวต์ต่ออุณหภูมิ

3.1 การเตรียมเจลไคโตซานไวต์ต่ออุณหภูมิที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด
ตารางที่ 18 ตำรับต่างๆของเจลไคโตซานไวต์ต่ออุณหภูมิที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

Rx	ปริมาณ (g)			
	PLX	PLX:CS	PLX:EX1	PLX:CS:EX1
Poloxamer 407	18	16.2	18	16.2
Chitosan	-	0.2	-	0.2
EDTA	-	0.12	-	0.12
Extract	-	-	0.1	0.1
Ethanol	-	-	2	2
Purified water to	100	100	100	100

สาร	ปริมาณ (g)			
	PLX:EX2.5	PLX:CS:EX2.5	PLX:EX5	PLX:CS:EX5
Poloxamer 407	18	16.2	18	16.2
Chitosan	-	0.2	-	0.2
EDTA	-	0.12	-	0.12
Extract	0.25	0.25	0.5	0.5
Ethanol	2	2	2	2
Purified water to	100	100	100	100

3.2 การทดสอบลักษณะความใส สีของตำรับ ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะระหว่างสารละลายและเจล ($T_{sol-gel}$)

ตารางที่ 19 แสดงภาพถ่ายลักษณะตำรับเจล

ลักษณะตำรับเจล



ตำรับ PLX



ตำรับ PLX : EX 1



ตำรับ PLX : EX 2.5



ตำรับ PLX : EX 5



ตำรับ PLX : CS



ตำรับ PLX : CS : EX1



ตำรับ PLX:CS:EX 2.5



ตำรับ PLX : CS : EX5

ตารางที่ 20 แสดงลักษณะทางกายภาพของตำรับเจล

ตำรับเจล	ความใส	ลักษณะสีของตำรับ	pH	T _{sol-gel} (°C)
PLX	0	0	6.87 ± 0.06	22.50 ± 0.50
PLX : EX 1	0	+1	6.81 ± 0.02	23.17 ± 0.29
PLX : EX 2.5	0	+2	6.26 ± 0.05	23.67 ± 0.58
PLX : EX 5	0	+3	5.25 ± 0.11	22.83 ± 0.29
PLX : CS	0	0	3.35 ± 0.03	35.00 ± 0.00
PLX : CS : EX 1	0	+1	3.40 ± 0.08	36.00 ± 0.00
PLX : CS : EX 2.5	0	+2	3.38 ± 0.01	36.33 ± 0.58
PLX : CS : EX 5	0	+3	3.44 ± 0.01	35.00 ± 0.00

หมายเหตุ: ความใส ;0 = ไม่ขุ่น, +1 = ขุ่นเล็กน้อย, +2 = ขุ่นปานกลาง, +3 = ขุ่นมาก

ลักษณะสีของตำรับ 0 = ใส, +1 = มีสีเหลืองอ่อน, +2 = มีสีเหลืองปานกลาง, +3 = มีสีเหลืองเข้ม

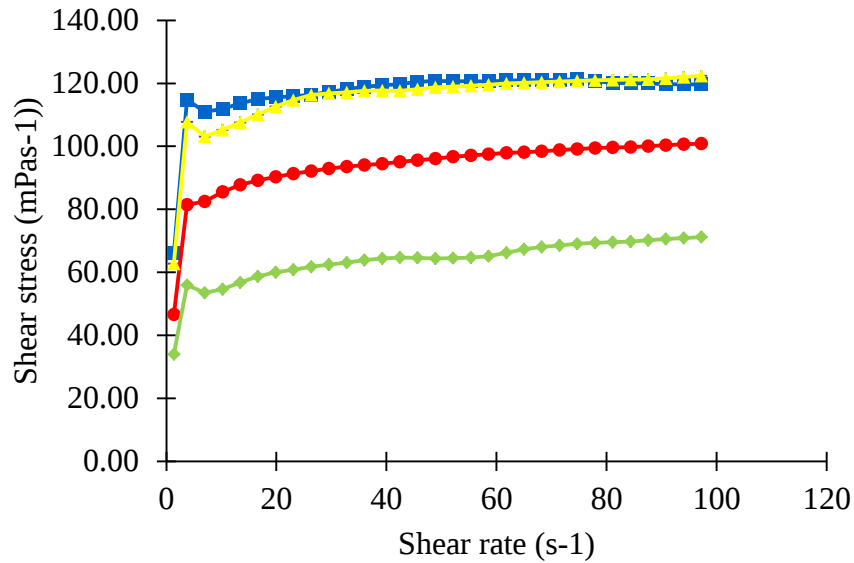
จากการทดลองพบว่า ทุกตำรับมีความใส สีของตำรับจะมีสีเหลืองเข้มขึ้นแปรผันตามความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ในส่วนของค่าความเป็นกรด-ด่าง พิจารณาจากค่า pH ของตำรับพบว่า ในตำรับที่มีไคโตซานทำให้เพิ่มความเป็นกรดมากขึ้น โดยค่าความเป็นกรด-ด่างของตำรับที่มีไคโตซานอยู่ในช่วง 3.35-3.44 และพบว่าไคโตซานมีแนวโน้มในการเพิ่มอุณหภูมิในการเกิดเจล (T_{sol-gel})ของตำรับ

3.3 การหาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน ในตำรับเจล ด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

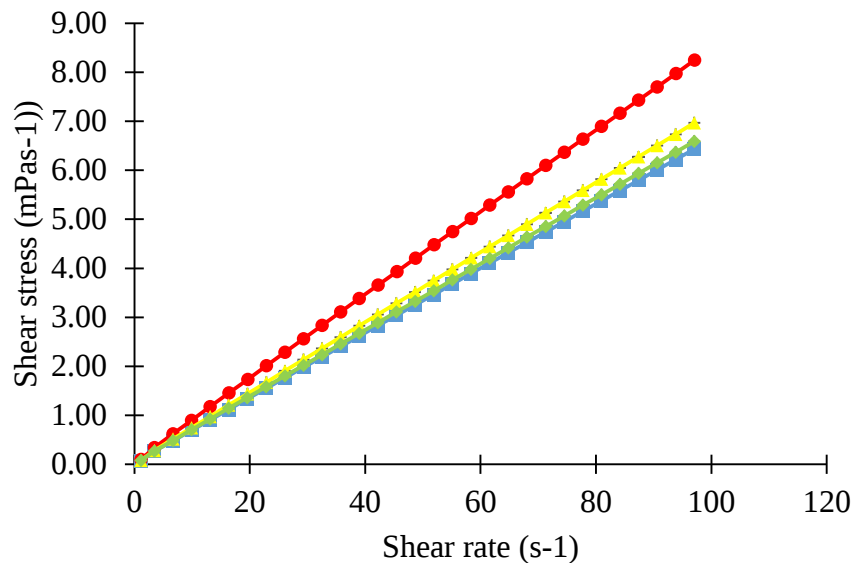
ตารางที่ 21 แสดงค่า %content ของตำรับเจล

ตำรับเจล	%content
PLX : EX 1	124.54 ± 1.76
PLX : EX 2.5	116.57 ± 2.72
PLX : EX 5	103.54 ± 1.74
PLX : CS : EX 1	114.09 ± 2.28
PLX : CS : EX 2.5	84.71 ± 4.60
PLX : CS : EX 5	77.31 ± 1.50

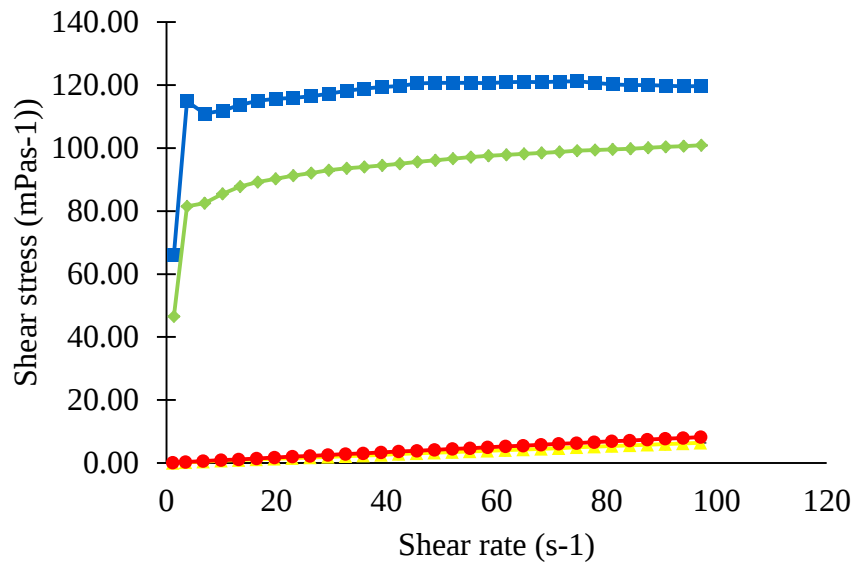
3.4 การศึกษาความหนืดของตำรับเจลไวต์อณูนาโนของ PLX 407 ที่ 18%w/w ร่วมกับ ไคโตซานและ สารสกัดจากเปลือกผลมังคุด



รูปที่ 13 แสดงลักษณะการไหลของตำรับเจลที่อณูนาโน 25 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX (■), PLX : EX 1 (◆), PLX : EX 2.5 (▲) และ PLX : EX 5 (●)

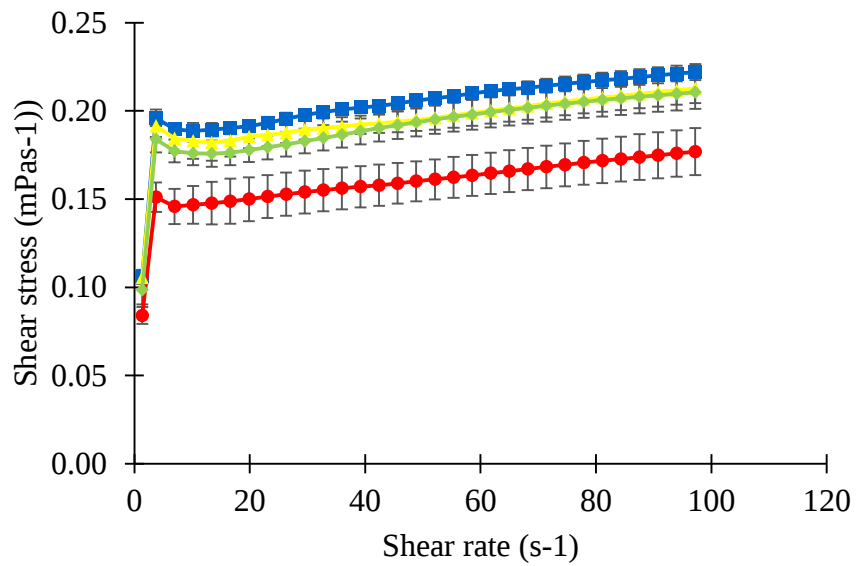


รูปที่ 14 แสดงลักษณะการไหลของตำรับเจลที่อณูนาโน 25 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX : CS (■), PLX : CS : EX 1 (◆), PLX : CS : EX 2.5 (▲) และ PLX : CS : EX 5 (●)



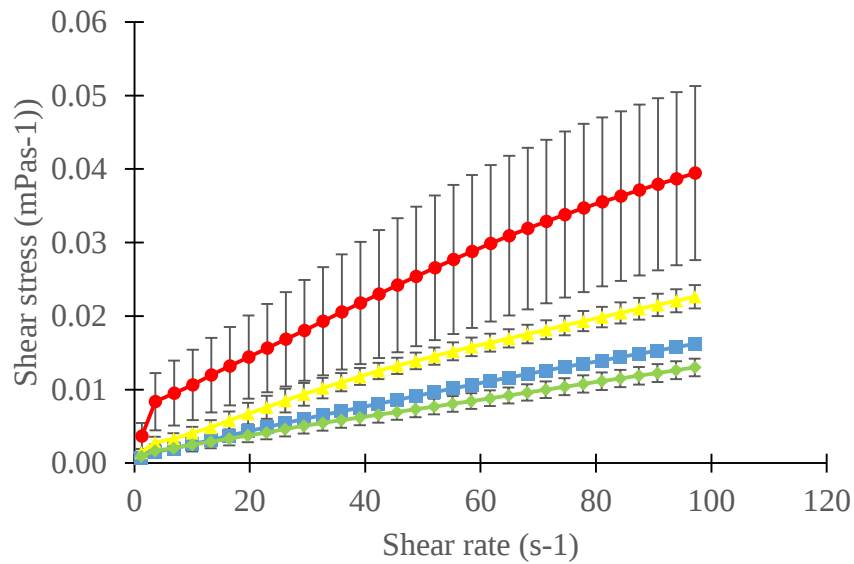
รูปที่ 15 แสดงลักษณะการไหลเปรียบเทียบระหว่างตำรับเจลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของตำรับ

PLX (■), PLX : EX 5 (◆), PLX : CS (▲) และ PLX : CS : EX 5 (●)

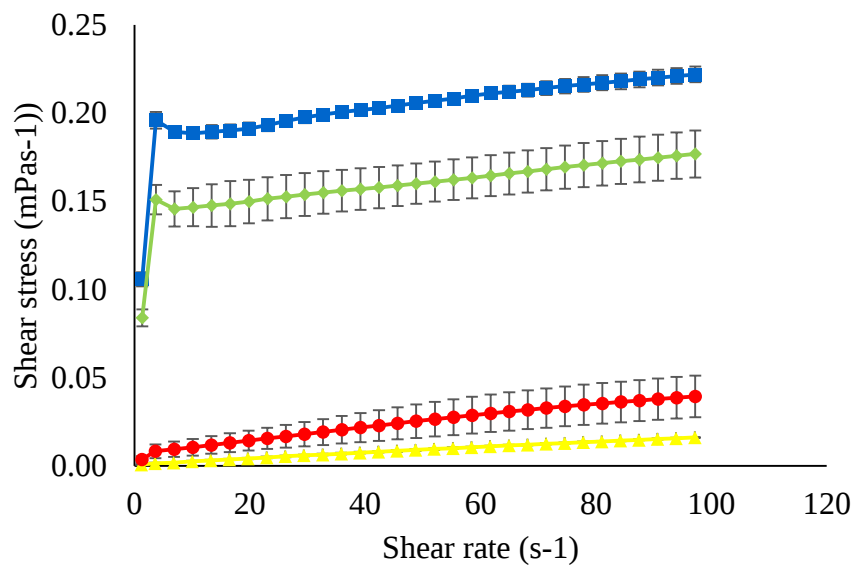


รูปที่ 16 แสดงลักษณะการไหลของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX (■), PLX :

EX 1 (◆), PLX : EX 2.5 (▲) และ PLX : EX 5 (●)



รูปที่ 17 แสดงลักษณะการไหลของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX : CS (■), PLX : CS : EX 1 (◆), PLX : CS : EX 2.5 (▲) และ PLX : CS : EX 5 (●)



รูปที่ 18 แสดงลักษณะการไหลเปรียบเทียบระหว่างตำรับเจลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสของตำรับ PLX (■), PLX : EX 5 (◆), PLX : CS (▲) และ PLX : CS : EX 5 (●)

ตารางที่ 22 แสดงความหนืดที่ shear rate 1 s^{-1} ของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส

สูตรตำรับ	ความหนืดที่ shear rate 1 s^{-1}	
	25 องศาเซลเซียส	37 องศาเซลเซียส
PLX	47766.67 ± 386.82	77026.67 ± 2689.62
PLX : EX 1	24660.00 ± 3591.53	71578.33 ± 1685.12
PLX : EX 2.5	45580.00 ± 2017.03	76803.33 ± 1685.12
PLX : EX 5	33810.00 ± 1285.57	60923.33 ± 3485.53
PLX : CS	57.32 ± 13.21	608.27 ± 176.80
PLX : CS : EX 1	69.67 ± 9.30	2893.33 ± 1352.15
PLX : CS : EX 2.5	71.61 ± 6.34	1179.07 ± 405.27
PLX : CS : EX 5	88.04 ± 6.81	757.60 ± 440.45

จากการทดลองพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะส่งผลให้ทุกตำรับมีความหนืดเพิ่มขึ้น จากคุณสมบัติของ PLX407 ที่สามารถเปลี่ยนสถานะจากสารละลายกลายเป็นเจลเมื่อมีอุณหภูมิที่สูงขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตำรับที่ไม่มีโคไคซานกับตำรับที่มีโคไคซานพบว่า ตำรับที่มีโคไคซานจะให้ความหนืดของตำรับลดลง และจากกราฟแสดงลักษณะการไหลพบว่า ทุกตำรับมีลักษณะการไหลแบบ newtonian

3.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับเจลที่ไวต่ออุณหภูมิที่บรรจุและไม่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical assay

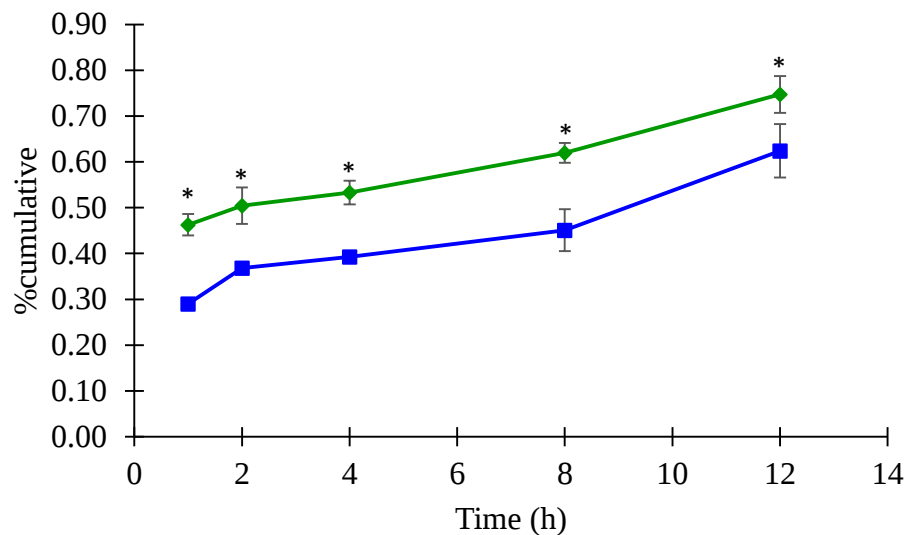
ตารางที่ 23 แสดงผลการต้านอนุมูลอิสระของตำรับเจล

Sample	IC ₅₀ (mg/ml)	P-value
PLX407	N/A	-
PLX407 : CS	N/A	
PLX407 : EX 1	58.67 ± 3.05	<0.05
PLX407 : CS : EX 1	82.33 ± 2.31	
PLX407 : EX 2.5	29.33 ± 1.15	<0.05
PLX407 : CS : EX 2.5	38.33 ± 0.58	

Sample	IC ₅₀ (mg/ml)	P-value
PLX407 : EX 5	13.57 ± 0.21	1.00
PLX407 : CS : EX 5	13.20 ± 0.40	

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตำรับเจลไคโตซานที่ไวต่ออุณหภูมิที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด พบว่า ตำรับที่ไม่มีส่วนประกอบของสารสกัดไคโตซานไม่มียุทธในการต้านอนุมูลอิสระ และพบว่าตำรับที่มีสารสกัดปริมาณสูงขึ้นจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

3.6 การทดสอบการปลดปล่อยของสารสกัดสำคัญ แอลฟาแมงโกสติน (alpha mangostin) ของตำรับเจลที่ไวต่ออุณหภูมิ



รูปที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินที่ปลดปล่อยจากตำรับ PLX : EX 5 (■) และ PLX : CS : EX 5 (◆) P-value < 0.05 (*)

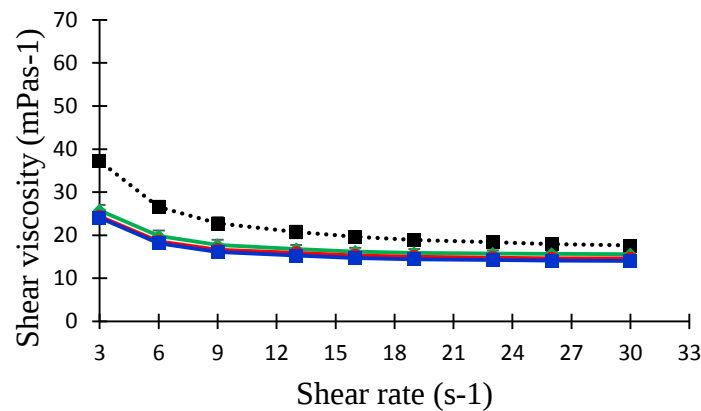
จากการทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญ แอลฟาแมงโกสตินของตำรับเจลไคโตซานและไม่มีไคโตซานที่ไวต่ออุณหภูมิ ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด 5 มิลลิกรัม/กรัม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในน้ำลายเทียม พบว่าเมื่อระยะเวลาขึ้นการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากตำรับจะมีปริมาณมากขึ้นโดยตำรับที่มีไคโตซานจะมีการปลดปล่อยสารสำคัญได้มากกว่าตำรับที่ไม่มีไคโตซานเป็นส่วนประกอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากตำรับเจลที่ไม่มีไคโตซานจะเกิดลักษณะเป็นเจลที่เหนียวมากส่งผลให้มีการปลดปล่อยสารสำคัญออกมาได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับตำรับที่มีส่วนผสมของไคโตซานซึ่งจะเกิดเจลที่มีความเหนียวต่ำกว่าส่งผลให้สามารถปลดปล่อยสารสำคัญออกมาได้มากกว่า

ตารางที่ 24 แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของการปลดปล่อยสะสมของสารแอลฟาแมงโกสติน

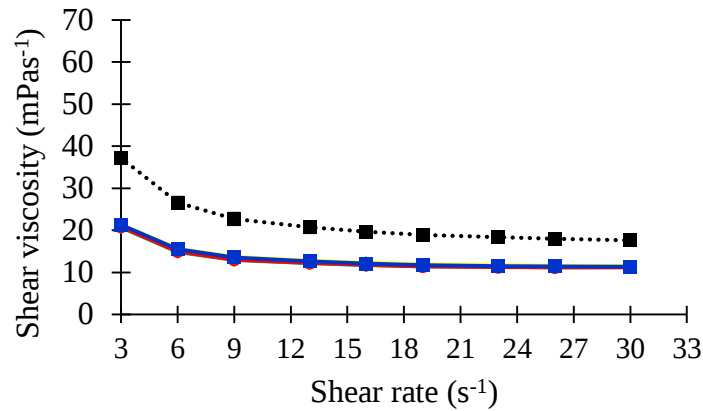
Formula	Curve fitting constant (R^2)				
	Zero order	First order	Kosmeyer-peppas	Hickson-Crowell	Higuchi
PLX : EX 5	0.9365	0.9284	0.8999	0.9351	0.2364
PLX : CS : EX 5	0.9873	0.9925	0.9063	0.9919	-1.6923

การทดสอบการปลดปล่อยของสารสกัดสำคัญแอลฟาแมงโกสตินของตำรับเจลที่ไวต่ออุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียสในช่วงเวลา 1, 2, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง ในน้ำลายเทียม pH 6.8 ± 0.05 พบว่าตำรับ PLX : EX 5 นั้นมีการปลดปล่อยลักษณะของสารสำคัญแอลฟาแมงโกสตินเมื่อพิจารณาจากค่า R^2 ใกล้เคียงกับแบบจำลองปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (Zero order reaction) $R^2 = 0.9365$ ซึ่งการปลดปล่อยในลักษณะนี้จะมีอัตราการปลดปล่อยแบบคงที่โดยไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับ และตำรับ PLX : CS : EX 5 พบว่ามีการปลดปล่อยลักษณะของสารสำคัญแอลฟาแมงโกสตินเมื่อพิจารณาจากค่า R^2 ใกล้เคียงกับแบบจำลองปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First order reaction) $R^2 = 0.9925$ ซึ่งการปลดปล่อยในลักษณะนี้จะมีอัตราการปลดปล่อยแบบขึ้นกับความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับ

3.7 การทดสอบสมบัติการยืดหดเนื้อเยื่อของตำรับเจลที่ไวต่ออุณหภูมิ



รูปที่ 20 แสดงผลการวัดการยืดหดเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ของตำรับ Mucin (---■---), PLX : mucin (◆), PLX : EX 1 : mucin (▲), PLX : EX 2.5 : mucin (●) และ PLX : EX5 : mucin (■),

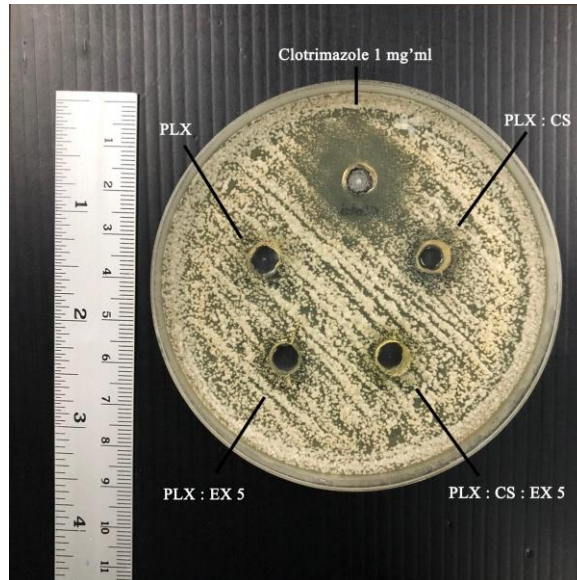


รูปที่ 21 แสดงผลการวัดการยืดหดตัวของเนื้อเยื่อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ของตำรับ Mucin (···■···), PLX : CS : mucin (▲), PLX : CS : EX 1 : mucin (◆), PLX : CS : EX 2.5 : mucin (●) และ PLX : CS : EX 5 : mucin (■), ตารางที่ 25 แสดง shear viscosity ของตำรับเจลที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ shear rate 1 s⁻¹ 37 องศาเซลเซียส

สูตรตำรับ	shear viscosity ที่ shear rate 1 s ⁻¹ 37 °C
PLX	31.17 ± 15.69
PLX : EX 1	36.83 ± 8.32
PLX : EX 2.5	16.40 ± 7.91
PLX : EX 5	24.10 ± 7.21
PLX : CS	27.04 ± 5.91
PLX : CS : EX 1	31.87 ± 14.80
PLX : CS : EX 2.5	19.70 ± 7.55
PLX : CS : EX 5	26.30 ± 13.02

จากการศึกษาการยืดหดตัวของเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าตำรับที่มีส่วนประกอบของไคโตซาน จะมีแรงในการยืดหดตัวของเนื้อเยื่อได้มากกว่าตำรับที่ไม่มีส่วนประกอบของไคโตซานในตำรับที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดที่ 2.5 และ 5 มิลลิกรัม/กรัม

3.8 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* โดยการหาค่า Clear zone



รูปที่ 22 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* ของตำรับเจล

จากการทดลองพบว่าไม่สามารถวัด clear zone ได้ เนื่องจากตำรับเจลไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เป็นวงใส แต่พบว่ารอบๆ เจลเชื้อมีการเจริญเติบโตที่ลดลง เมื่อเทียบกับบริเวณรอบข้าง ในส่วนของ clotrimazole พบว่าสามารถวัด clear zone ได้

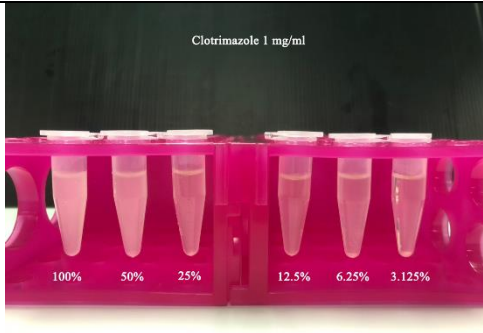
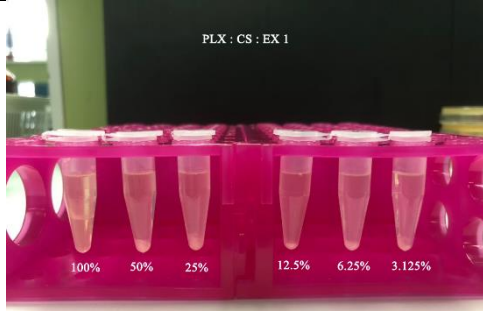
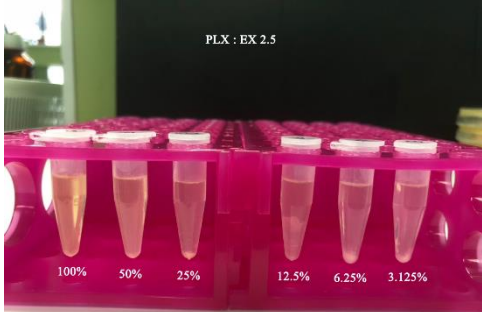
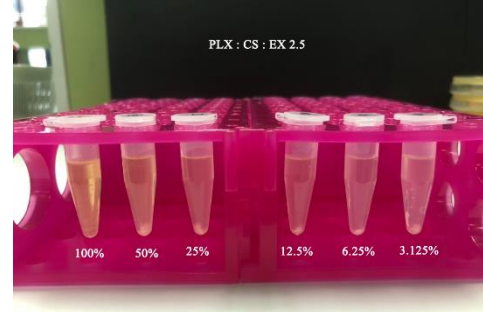
3.9 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* ของตำรับเจล โดยการหาค่า

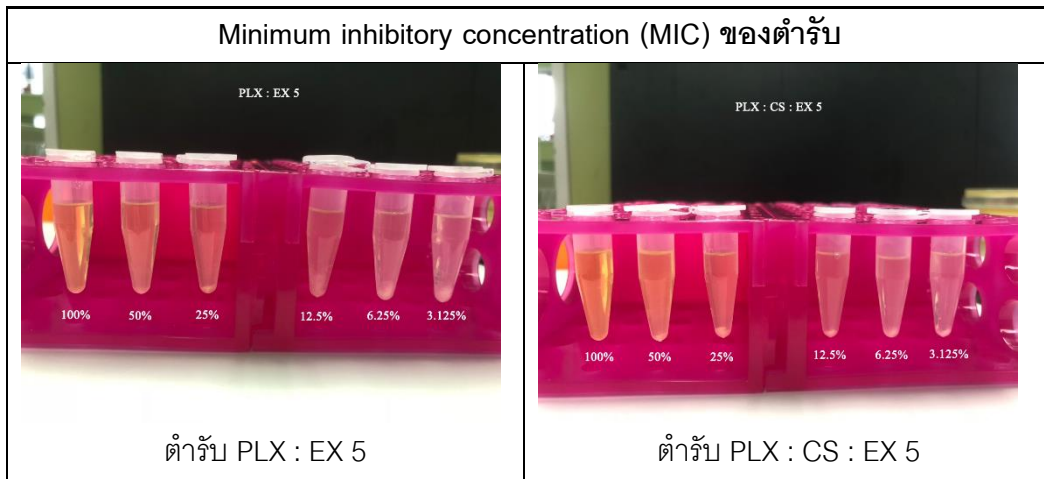
Minimum inhibitor concentration (MIC) และ Minimum fungicidal concentration (MFC)

ตารางที่ 26 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* ของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด โดยการหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ของตำรับ

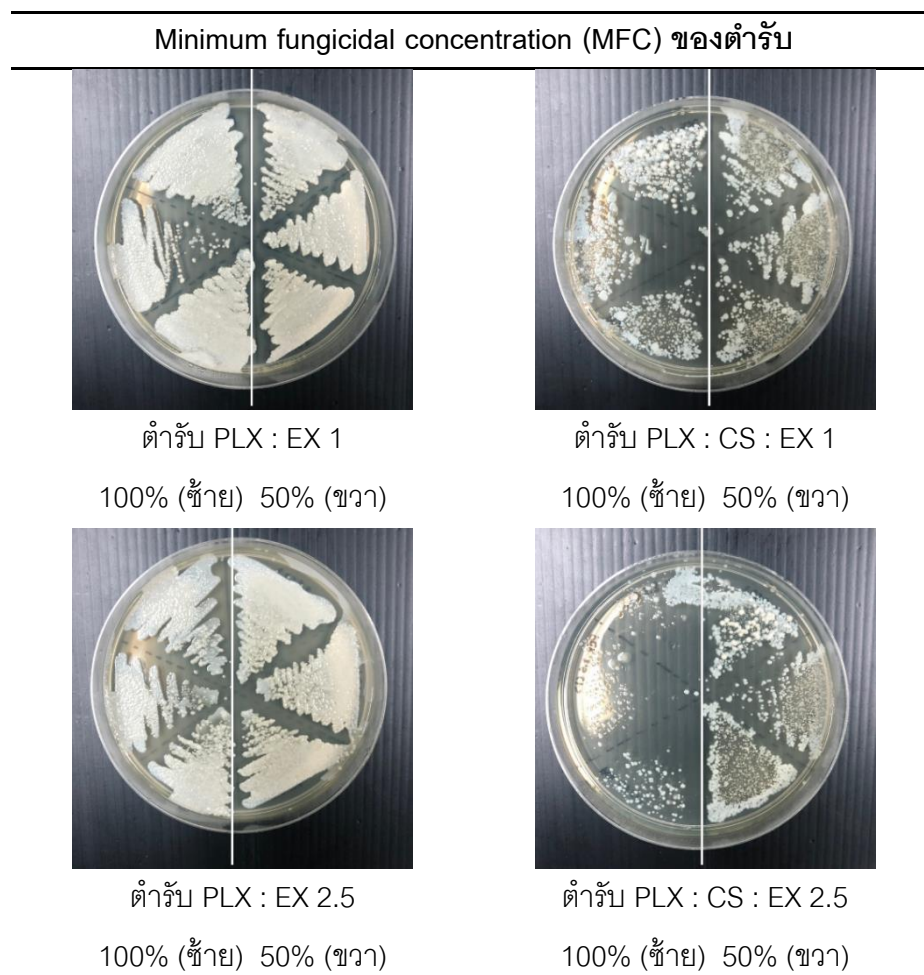
ตำรับ	ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ	ความสามารถในการฆ่าเชื้อ
PLX : EX 1	×	×
PLX : EX 2.5	×	×
PLX : EX 5	✓	×
PLX : CS : EX 1	×	×
PLX : CS : EX 2.5	×	×
PLX : CS : EX 5	✓	×

ตารางที่ 27 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* โดยการหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ของตำรับ

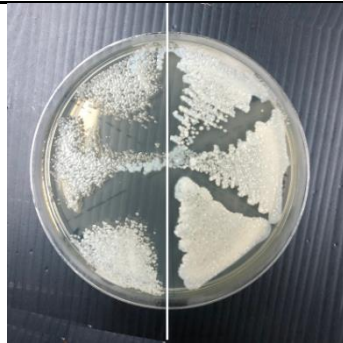
Minimum inhibitory concentration (MIC) ของตำรับ	
Clotrimazole 1 mg/ml  ยา Clotrimazole 1 mg/ml	
PLX + EX 1  ตำรับ PLX : EX 1	PLX : CS : EX 1  ตำรับ PLX : CS : EX 1
PLX : EX 2.5  ตำรับ PLX : EX 2.5	PLX : CS : EX 2.5  ตำรับ PLX : CS : EX 2.5



ตารางที่ 28 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* โดยการหาค่า minimum fungicidal concentration (MFC) ของตำรับ

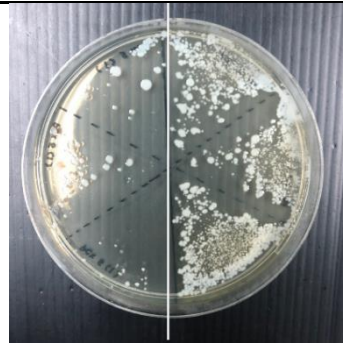


Minimum fungicidal concentration (MFC) ของตำรับ



ตำรับ PLX : EX 5

100% (ซ้าย) 50% (ขวา)



ตำรับ PLX : CS : EX 5

100% (ซ้าย) 50% (ขวา)

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* (MIC) ของตำรับพบว่า ตำรับที่มีปริมาณสารสกัด 5 มิลลิกรัม/กรัม สามารถยับยั้งเชื้อได้ที่มีความเข้มข้น 100% ขณะที่ตำรับอื่นไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ในส่วนของความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *Candida albicans* (MFC) ไม่มีตำรับใดเลยที่สามารถฆ่าเชื้อได้ แต่พบว่าตำรับที่มีส่วนประกอบของโคโคซานและสารสกัดสามารถฆ่าเชื้อได้ดีกว่า และ ความสามารถในการยับยั้งและฆ่าเชื้อขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดในตำรับ

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาการพัฒนาเจลโคโตซานไวต่ออุณหภูมิที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด เพื่อรักษาการติดเชื้อ *Candida albicans* ในช่องปากโดยใช้สารก่อเจลคือ poloxamer 407 ซึ่งความสามารถในการก่อเจลขึ้นกับความเข้มข้นและอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง ทั้งนี้สารละลาย poloxamer สามารถเปลี่ยนสถานะจากสารละลายเป็นเจลได้ในช่องปาก อย่างไรก็ตาม poloxamer มีการเกาะติดเนื้อเยื่อที่ต่ำ จึงมีความจำเป็นต้องใช้พอลิเมอร์ ที่มีคุณสมบัติในการเกาะติดเนื้อเยื่อที่ดีมาช่วยเสริมประสิทธิภาพในการเกาะติดเนื้อเยื่อ โดยพิจารณานำโคโตซานมาเป็นส่วนประกอบในตำรับ พบว่าตำรับเจลที่ไวต่ออุณหภูมิที่สามารถก่อเจลได้ในช่องปากของมนุษย์ ที่มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 35.5-37.5 องศาเซลเซียสคือ 18%PLX : 2%CS อัตราส่วน 9 : 1 โดยบรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/กรัม โดยพบว่าตำรับดังกล่าวมีความเป็นกรดอ่อน และมีลักษณะสีเหลืองใส ซึ่งความเข้มข้นของสีแปรผันตามความเข้มข้นของสารสกัดในตำรับ จากการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH radical assay พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐาน (ascorbic acid) อยู่ 6.67 เท่า ในการตั้งตำรับเจลโคโตซานไวต่ออุณหภูมิที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด พบว่าในตำรับที่มีโคโตซานเป็นส่วนประกอบจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่าตำรับที่ไม่มีโคโตซานและตำรับที่มีความเข้มข้นของสารสกัดมากจะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าด้วย สำหรับการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญในระยะเวลา 12 ชั่วโมงในน้ำลายเทียม พบว่าปริมาณสารสำคัญจะถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น โดยตำรับที่บรรจุโคโตซานจะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้มากกว่าตำรับที่ไม่ได้บรรจุโคโตซาน นอกจากนี้คุณสมบัติในการเกาะติดเนื้อเยื่อที่ 37 องศาเซลเซียส ในน้ำลายเทียมที่ pH 6.8 ± 0.05 ในตำรับที่มีโคโตซานจะสามารถเกาะติดเนื้อเยื่อได้ดีกว่าตำรับที่ไม่มีโคโตซานเป็นส่วนประกอบ และจากการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Candida albicans* พบว่าสารสำคัญสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Candida albicans* ได้ที่ความเข้มข้น 6.25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยตำรับเจลที่บรรจุสารสกัดความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด และถ้าความเข้มข้นต่ำกว่า 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อได้เลย

ข้อเสนอแนะ

หากมีการนำงานวิจัยนี้ไปต่อยอดในอนาคตผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญในการศึกษาด้านความเป็นพิษต่อเซลล์เนื่องจากการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่นำมาใช้ในร่างกายมนุษย์ ศึกษาเพิ่มเติมด้านความคงตัวของตำรับ หรือพัฒนาตำรับให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น การใส่สารช่วยลดลายลงไปในตำรับเพื่อให้สามารถบรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดได้มากยิ่งขึ้น ศึกษาอัตราส่วนของพอลิเมอร์อื่นๆ ที่สามารถช่วยในการเกาะติดเนื้อเยื่อ และการเกิดเจลของตำรับเจลที่ดีกว่าการใช้โคโตะซานเดียว

เอกสารอ้างอิง

1. Ueno H, Mori T, Fujinaga T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001;52(2):105-15.
2. Kim I-Y, Seo S-J, Moon H-S, Yoo M-K, Park I-Y, Kim B-C, et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. *Biotechnology Advances*. 2008;26(1):1-21.
3. Mohammed Gulzar Ahmed, NM Harish, R Narayana Charyulu, Prabhu P. Formulation of chitosan-based ciprofloxacin and diclofenac film for periodontitis therapy. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2009;8(1):33-41.
4. สุทธิไชยา จ. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2559. 2560.
5. ศิริพานิช จ. มังคุด : นวัตกรรมจากงานวิจัย: กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย; 2557.
6. Ibrahim MY, Hashim NM, Mariod AA, Mohan S, Abdulla MA, Abdelwahab SI, et al. α -Mangostin from *Garcinia mangostana* Linn: An updated review of its pharmacological properties. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016;9(3):317-29.
7. Thoppay JR. Aphthous Ulcers: Practice Essentials, Pathophysiology, Epidemiology. 2017 [updated Nov 07, 2017]. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/867080-overview>.
8. Pongissawaranun W, et al. Epidemiologic study on recurrent aphthous stomatitis in a Thai dental patient population. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1991;19(1):52-3.
9. Arun S., Renuka V., Aditi M., Agrawal A. Oral candidiasis: An overview. *Journal of Oral Maxillofacial Pathology*. 2014;18(1):S81–S5.
10. Setthajindalert O, Phaechamud T. Solvent exchanged In Situ forming. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*. 2012;7(3):137-42.
11. Mizrahi B, Domb. AJ. Mucoadhesive polymers for delivery of drugs to the oral cavity. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*. 2008;2(2):108 - 19.
12. Boddupalli BM, Mohammed ZNK, Nath RA, Banji D. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *journal of advanced pharmaceutical technology & research*. 2010;1 (4):381–7.

13. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 2006;31(7):603-32.
14. Kim S-K, Rajapakse N. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers*. 2005;62(4):357-68.
15. Tasker R.A.R., Ross S.J., Dohoo S.E., Elson CM. Pharmacokinetics of an injectable sustained-release formulation of morphine for use in dogs. *journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 1997;20(5):362-7.
16. Akkuş Çetinus Ş, Nursevin Öztıp H. Immobilization of catalase into chemically crosslinked chitosan beads. *Enzyme and Microbial Technology*. 2003;32(7):889-94.
17. Krishnendu R., Hai-Quan M., Huang S-K, Leong KW. Oral gene delivery with chitosan–DNA nanoparticles generates immunologic protection in a murine model of peanut allergy. *Natural medicine* 1999;5:387-91.
18. Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon Y-J. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*. 1999;10(2):37-51.
19. Romano P, Fabritius H, Raabe D. The exoskeleton of the lobster *Homarus americanus* as an example of a smart anisotropic biological material. *Acta Biomaterialia*. 2007;3(3):301-9.
20. Palmeira-de-Oliveira, et al. Anti-candida activity of a chitosan hydrogel: mechanism of action and cytotoxicity profile. *Gynecologic and obsteric investigation*. 2010;70:322–7.
21. Struszczyk MH. Chitin and chitosan. *Polimery*. 2002;47(6):396-403.
22. Lim S-H. Synthesis of a fiber-reactive chitosan derivative and its application to cotton fabric as an antimicrobial finish and a dyeing improving agent *Fiber and polymer science*. 2002.
23. Peshkova S, Li K. Investigation of chitosan–phenolics systems as wood adhesives. *Journal of Biotechnology*. 2003;102(2):199-207.
24. Makoi J., Ndakidemi P. Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*. 2008;7 (3):181-91.

25. ศรีสอาด อ, สำโรงเย็น พ. แนวทางและแบบอย่างการผลิต พุรีเยน มังคุด เงาะ ไม้ผลที่จะกลับมา สร้างเงินล้าน รับ AEC. กรุงเทพฯ: นาคาอินเตอร์มีเดีย; 2556.
26. แพทย์แผนไทย ห. มังคุดต้านมะเร็ง กรุงเทพฯ : ปัญญาชน; 2558.
27. Fan., C.T., Su, J.D. Antioxidative mechanism of isolated components from methanol extract of fruit hulls of *Garcinia mangostana* L. Journal of the Chinese Chemical Society. 1997;35:540-51.
28. Yoshikawa M, Harada E, Miki A, Tsukamoto K, Qian Liang S, Yamahara J, et al. Antioxidant constituents from the fruit hulls of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Originating in Vietnam 1994. 129-33 p.
29. Williams P, Ongsakul M, Proudfoot J, Croft K, Beilin L. Mangostin inhibits the oxidative modification of human low density lipoprotein. Free radical research. 1995;23(2):175-84.
30. Mahabusarakam W, Proudfoot J, Taylor W, Croft K. Inhibition of lipoprotein oxidation by prenylated xanthenes derived from mangostin. Free radical research. 2000;33(5):643-59.
31. Jung HA, Su BN, Keller WJ, Mehta RG, Kinghorn AD. Antioxidant xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). Journal of agricultural and food chemistry. 2006;54(6):2077-82.
32. Devi Sampath P, Vijayaraghavan K. Cardioprotective effect of α -mangostin, a xanthone derivative from mangosteen on tissue defense system against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. 2007;21(6):336-9.
33. Chen L-G, Yang L-L, Wang C-C. Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana*. Food and Chemical Toxicology. 2008;46(2):688-93.
34. Pe´rez-Rojas JM, Cruz, C., Garcı´a-Lo´pez, P., Sa´nchez-Gonza´lez,, D.J. Mn-Mn, C.M., Ceballos, G., Espinosa, M., Mele´ndez-Zajgla J, Pedraza-Chaverri, J. Renoprotectionby α -mangostin is related to the attenuation in renal oxidative/nitrosative stress induced by cisplatin nephrotoxicity. Free Radical Research. 2009;43:1112-32.

35. Sánchez-Pérez Y, Morales-Bárcenas R, M García-Cuellar C, López-Marure R, Calderón M, Pedraza-Chaverri J, et al. The α -mangostin prevention on cisplatin-induced apoptotic death in LLC-PK1 cells is associated to an inhibition of ROS production and p53 induction 2010. 144-50 p.
36. Buelna M, Correa F, Hernández-Reséndiz S, Zazueta C, Pedraza-Chaverri J. Protective effect of α -Mangostin on cardiac reperfusion damage by attenuation of oxidative stress 2011. 1370-4 p.
37. Nabandith V, Suzui M, Morioka T, Kaneshiro T, Kinjo T, Matsumoto K, et al. Inhibitory effects of crude alpha-mangostin, a xanthone derivative, on two different categories of colon preneoplastic lesions induced by 1, 2-dimethylhydrazine in the rat. Asian Pacific journal of cancer prevention : Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2004;5(4):433-8.
38. Sato A, Fujiwara H, Oku H, Ishiguro K, Ohizumi Y. Alpha-mangostin induces Ca^{2+} -ATPase-dependent apoptosis via mitochondrial pathway in PC12 cells. Journal of Pharmacological Sciences. 2004;95(1):33-40.
39. Matsumoto K, Akao Y, Ohguchi K, Ito T, Tanaka T, Iinuma M, et al. Xanthenes induce cell-cycle arrest and apoptosis in human colon cancer DLD-1 cells. Bioorganic & medicinal chemistry. 2005;13(21):6064-9.
40. Suksamrarn S, Komutiban O, Ratananukul P, Chimnoi N, Lartpornmatulee N, Suksamrarn A. Cytotoxic prenylated xanthenes from the young fruit of *Garcinia mangostana*. Chemical & pharmaceutical bulletin. 2006;54(3):301-5.
41. Aisha AFA, Abu-Salah KM, Ismail Z, Majid AMSA. In vitro and in vivo anti-colon cancer effects of *Garcinia mangostana* xanthenes extract. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2012;12(1):104.
42. Nakagawa Y, Iinuma M, Naoe T, Nozawa Y, Akao Y. Characterized mechanism of alpha-mangostin-induced cell death: caspase-independent apoptosis with release of endonuclease-G from mitochondria and increased miR-143 expression in human colorectal cancer DLD-1 cells. Bioorganic & medicinal chemistry. 2007;15(16):5620-8.

43. Hung SH, Shen KH, Wu CH, Liu CL, Shih YW. Alpha-mangostin suppresses PC-3 human prostate carcinoma cell metastasis by inhibiting matrix metalloproteinase-2/9 and urokinase-plasminogen expression through the JNK signaling pathway. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2009;57(4):1291-8.
44. Shih Y-W, Chien S-T, Chen P-S, Lee J-H, Wu S-H, Yin L-T. α -Mangostin suppresses phorbol 12-myristate 13-acetate-induced MMP-2/MMP-9 expressions via $\alpha_v\beta_3$ Integrin/FAK/ERK and NF- κ B signaling pathway in human lung adenocarcinoma A549 cells. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2010;58(1):31-44.
45. Lee Y-B, Ko K-C, Shi M-D, Liao Y-C, Chiang T-A, Wu P-F, et al. α -Mangostin, A novel dietary xanthone, suppresses TPA-mediated MMP-2 and MMP-9 expressions through the ERK signaling pathway in MCF-7 human breast adenocarcinoma cells. *Journal of Food Science*. 2010;75(1):H13-H23.
46. Kaomongkolgit R, Chaisomboon N, Pavasant P. Apoptotic effect of alpha-mangostin on head and neck squamous carcinoma cells. *Archives of Oral Biology*. 2011;56(5):483-90.
47. Wang JJ, Sanderson BJS, Zhang W. Cytotoxic effect of xanthones from pericarp of the tropical fruit mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) on human melanoma cells. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(9):2385-91.
48. Yoo J-H, Kang K, Jho EH, Chin Y-W, Kim J, Nho CW. α - and γ -Mangostin inhibit the proliferation of colon cancer cells via β -catenin gene regulation in Wnt/cGMP signalling. *Food Chemistry*. 2011;129(4):1559-66.
49. Shibata N, Okawa Y. Chemical structure of β -galactofuranose-containing polysaccharide and O-linked oligosaccharides obtained from the cell wall of pathogenic dematiaceous fungus *Fonsecaea pedrosoi*. *Glycobiology*. 2011;21(1):69-81.
50. Krajarng A, Nilwarankoon S, Suksamrarn S, Watanapokasin R. Antiproliferative effect of α -mangostin on canine osteosarcoma cells. *Research in Veterinary Science*. 2012;93(2):788-94.

51. Shankaranarayan D, Gopalakrishnan C, Kameswaran L. Pharmacological profile of mangostin and its derivatives. Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie. 1979;239(2):257-69.
52. Chairungsrikerd N, Furukawa K-I, Ohta T, Nozoe S, Ohizumi Y. Pharmacological properties of α -mangostin, a novel histamine H1 receptor antagonist. European Journal of Pharmacology. 1996;314(3):351-6.
53. Deschamps JD, Gautschi JT, Whitman S, Johnson TA, Gassner NC, Crews P, et al. Discovery of platelet-type 12-human lipoxygenase selective inhibitors by high-throughput screening of structurally diverse libraries. Bioorganic & medicinal chemistry. 2007;15(22):6900-8.
54. Itoh T, Ohguchi K, Iinuma M, Nozawa Y, Akao Y. Inhibitory effect of xanthenes isolated from the pericarp of *Garcinia mangostana* L. on rat basophilic leukemia RBL-2H3 cell degranulation. Bioorganic & medicinal chemistry. 2008;16(8):4500-8.
55. Cui J, Hu W, Cai Z, Liu Y, Li S, Tao W, et al. New medicinal properties of mangostins: Analgesic activity and pharmacological characterization of active ingredients from the fruit hull of *Garcinia mangostana* L. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2010;95(2):166-72.
56. Chae H-S, Oh S-R, Lee H-K, Joo SH, Chin Y-W. Mangosteen xanthenes, α - and γ -mangostins, inhibit allergic mediators in bone marrow-derived mast cell. Food Chemistry. 2012;134(1):397-400.
57. Iinuma M, Tosa H, Tanaka T, Asai F, Kobayashi Y, Shimano R, et al. Antibacterial activity of xanthenes from guttiferaceous plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 1996;48(8):861-5.
58. Chen S-X, Wan M, Loh B-N. Active Constituents Against HIV-1 Protease from *Garcinia mangostana*. Planta Medica. 1996;62(04):381-2.
59. Gopalakrishnan G, Banumathi B, Suresh G. Evaluation of the antifungal activity of natural xanthenes from *Garcinia mangostana* and their synthetic derivatives. Journal of Natural Products. 1997;60(5):519-24.

60. Vlietinck AJ, De Bruyne T, Apers S, Pieters LA. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Planta Medica*. 1998;64(02):97-109.
61. Suksamrarn S, Suwannapoch N, Phakhodee W, Thanuhiranlert J, Ratananukul P, Chimnoi N, et al. Antimycobacterial activity of prenylated xanthenes from the fruits of *Garcinia mangostana*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2003;51(7):857-9.
62. Sakagami Y, Iinuma M, Piyasena KGNP, Dharmaratne HRW. Antibacterial activity of α -mangostin against vancomycin resistant *Enterococci* (VRE) and synergism with antibiotics. *Phytomedicine*. 2005;12(3):203-8.
63. Kaomongkolgit R, Jamdee K, Chaisomboon N. Antifungal activity of alpha-mangostin against *Candida albicans*. *Journal of Oral Science*. 2009;51(3):401-6.
64. Arunrattiyakorn P, Suksamrarn S, Suwannasai N, Kanzaki H. Microbial metabolism of α -mangostin isolated from *Garcinia mangostana* L. *Phytochemistry*. 2011;72(8):730-4.
65. Bullangpoti V, Visetson S, Milne J, Milne M, Sudthongkong C, Pronbanlualap S. Effects of alpha-mangostin from mangosteen pericarp extract and imidacloprid on *Nilaparvata lugens* (Stal.) and non-target organisms: toxicity and detoxification mechanism. *Communications in agricultural and applied biological sciences*. 2007;72(3):431-41.
66. Larson RT, Lorch JM, Pridgeon JW, Becnel JJ, Clark GG, Lan Q. The biological activity of α -mangostin, a larvicidal botanic mosquito sterol carrier protein-2 inhibitor. *Journal of Medical Entomology*. 2010;47(2):249-57.
67. Keiser J, Vargas M, Winter R. Anthelmintic properties of mangostin and mangostin diacetate. *Parasitology International*. 2012;61(2):369-71.
68. Quan X, Wang Y, Ma X, Liang Y, Tian W, Ma Q, et al. Alpha-mangostin induces apoptosis and suppresses differentiation of 3T3-L1 cells via inhibiting fatty acid synthase. *Public Library of Science*. 2012;7(3):e33376.

69. วงษ์นาป่า. พ. การพัฒนานาบบปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ เรื่อง การสกัดและแยกสารประกอบแซนโทนจากผลมังคุด สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จังหวัดจันทบุรี กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม; 2548.
70. Xanthone 2018 [updated 17 Mar. 2018 cited 2018 Mar. 22]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/xanthone#section=Top>.
71. Mahabusarakam W, Wiriyaichitra P, Taylor WC. Chemical constituents of *Garcinia mangostana*. journal of natural products. 1987;50 (3):474–8.
72. Iinuma M, Tosa H, Tanaka T, Asai F, Kobayashi Y, Shimano R, et al. Antibacterial activity of xanthenes from guttiferaceous plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of pharmacy and pharmacology. 1996;48(8):861–5.
73. Kaomongkolgit R, Jamdee K, Chaisomboon N. Antifungal activity of alpha-mangostin against *Candida albicans*. Journal of Oral Science. 2009;51(3):401-6.
74. Lim MASC, Defante MJD, Yniguez CLBUotIC, Fr. Selga St., Davao City (Philippines). Antibacterial activity of formulated ointment from crude mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) leaf extract against *Staphylococcus aureus*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2005.
75. Sukatta U, Rugthaworn P, Pitpiangchan P, Dilokkunanant U. Development of anti-acne gel from mangosteen crude extract. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2008.
76. Pan-In P, Wongsomboon A, Kokpol C, Chaichanawongsaroj N, Wanichwecharungruang S. Depositing α -mangostin nanoparticles to sebaceous gland area for acne treatment. Journal of Pharmacological Sciences. 2015;129(4):226-32.
77. Ingkatawornwong S, Worachotekamjorn K, Sura P, Jongsook P, Phrompool R, Wattanapiromsakul C. Formulation of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) peel extract granules for the treatment of diarrhea. planta medica. 2009(1):75 - PJ35.

78. Samprasit W, Kaomongkolgit R, Sukma M, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Opanasopit P. Mucoadhesive electrospun chitosan-based nanofibre mats for dental caries prevention. *Carbohydrate Polymers*. 2015;117:933-40.
79. Andjani D, Sriyanti I, Fauzi A, Edikresnha D, Munir MM, Rachmawati H, et al. Rotary forcespun polyvinylpyrrolidone (PVP) fibers as a mangosteen pericarp extracts carrier. *Procedia Engineering*. 2017;170:14-8.
80. Panawes S, Ekabutr P, Niamlang P, Pavasant P, Chuysinuan P, Supaphol P. Antimicrobial mangosteen extract infused alginate-coated gauze wound dressing. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2017;41:182-90.
81. Yoswathana N, Eshtiaghi MN. Optimization of subcritical ethanol extraction for xanthone from mangosteen pericarp. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 2015;6(2):115-9.
82. Pothitirat W, Gritsanapan W. HPLC quantitative analysis method for the determination of α -mangostin in mangosteen fruit rind extract. *Thai Journal of Agricultural Science* 2009;42 (1):7-12.
83. Walker EB. HPLC analysis of selected xanthones in mangosteen fruit. *Journal of Separation Science*. 2007;30(9):1229–34.
84. Remington JP, Beringer P. Remington : the science and practice of pharmacy.: Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, ©2006.; 2006.
85. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*. 2004;84(3):329-39.
86. Yu T, Andrews GP, Jones DS. Mucoadhesion and characterization of mucoadhesive properties. *Mucosal Delivery of Biopharmaceuticals*. 2014:35-58.
87. AIDSinfo.nih.gov. AIDSinfo glossary. 8 ed: P.O. Box 4780 Rockville, MD 20849-6303; 2015.
88. Aframian D, Davidowitz T, Benoliel R. The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors. *oral diseases*. 2006;12(4):420–3.

89. Centers for Disease Control and Prevention. Fungal Diseases-Candidiasis 2017 [updated 7 Aug. 2017]. Available from:
<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/index.html>.
90. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Landes Bioscience*. 2013;4 (2):119–28.
91. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;62 (4):e1–e50.
92. กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวี และผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2549-2550: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2550.
93. กระทรวงสาธารณสุข. รายงานผลการดำเนินงาน สำนักโรคเอดส์ วัณโรค และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ปี พ.ศ.2557. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2557.
94. Database PubChem. Mangostin 2018 [updated 5 Feb. 2018; cited 2018 22 Mar.]. Available from:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mangostin#section=Top>.
95. Database PubChem. Chitosan 2018 [updated 5 Feb. 2018; cited 2018 22 Mar.]. Available from:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chitosan#section=Top>.
96. Database PubChem. Edetic Acid 2018 [updated 5 Feb. 2018]. Available from:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/edta>.
97. Database PubChem. Poloxamer 2018 [updated 5 Feb. 2018]. Available from:
https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Poloxamer_188.
98. Naeini A, Khosravi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlinejad M. Anti-*candida albicans* activity of some iranian plants used in traditional medicine. *Journal de Mycologie Médicale*. 2009;19(3):168-72.

99. Dumortier G, Grossiord JL, Agnely F, Chaumeil JC. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. *Pharmaceutical research*. 2006;23(12):2709-28.
100. Upendra C. Galgatte, Chaudhari PD. Preformulation study of poloxamer 407 gels: effect of additives. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014;6(1):130-3.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

1.การตั้งตำรับ

1.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

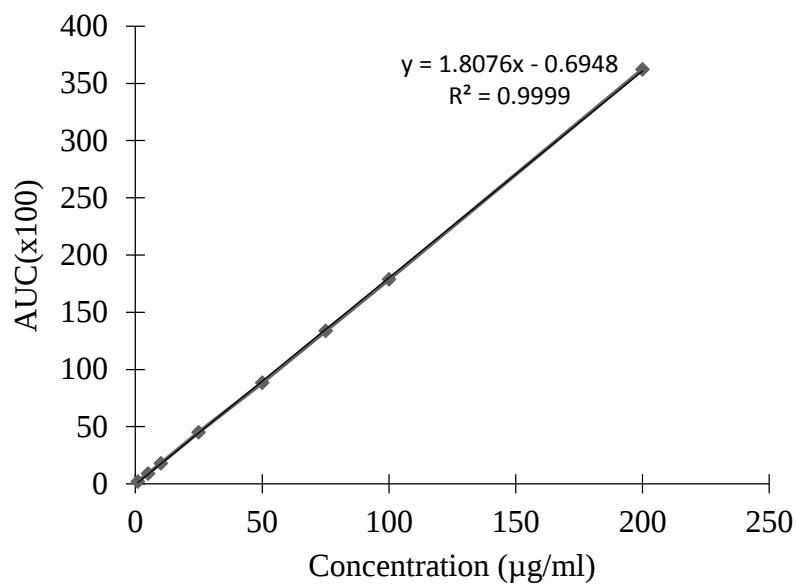
ตารางที่ 1 แสดงปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดเปลือกผลมังคุดด้วยตัวทำละลาย 95%v/v เอทานอล

รายการ	n = 1	n = 2	n = 3
น้ำหนักสารตัวอย่าง (g)	50.0015	50.0008	50.0008
ปริมาตร solvent (ml)	250.00	250.00	250.00
น้ำหนัก Round bottom flask (g)	165.2969	165.9399	165.8038
น้ำหนัก Round bottom flask + สารสกัด (g)	174.4572	173.3877	173.7506
น้ำหนักสารสกัด (g)			
น้ำหนักสารสกัด (g)	9.1603	7.4478	7.9468
%yield	18.32	14.89	15.89
%yield เฉลี่ย±SD	16.37±1.76		

1.2 การหากราฟ standard curve alpha-mangostin

ตารางที่ 2 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของ standard alpha-mangostin ที่ความเข้มข้น 200, 100, 75, 50, 25, 10, 5, 1 µg/ml

Concentration (µg/ml)	พื้นที่ใต้กราฟ (AUC)			
	n = 1	n = 2	n = 3	ค่าเฉลี่ย±SD
200	12031.8	12079.7	12108.4	36219.90 ± 38.70
100	5872.8	6005.1	5984.4	17862.30 ± 71.16
75	4435.6	4484.2	4447.8	13367.60 ± 25.28
50	2978	2862.5	2991.7	8832.20 ± 70.97
25	1531.5	1504.4	1482.8	4518.70 ± 24.40
10	608.4	567.7	608.4	1784.50 ± 23.50
5	309.9	296.3	293.1	899.30 ± 8.92
1	61.7	65.3	65.6	192.60 ± 2.17



รูปที่ 1 กราฟแสดงพื้นที่ใต้กราฟของ standard alpha-mangostin ที่ความเข้มข้น 200, 100, 75, 50, 25, 10, 5, 1 µg/ml

1.3 หาปริมาณของ alpha-mangostin ในสารสกัดเปลือกผลมังคุด

เตรียม stock : สารสกัด 0.0100 g. ปรับปริมาตรจนครบ 100 ml.

ตารางที่ 3 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัดเปลือกผลมังคุด

สารสกัด (µg/ml)	พื้นที่ใต้กราฟ (AUC)				ปริมาณสารแอลฟา แมงโกสทิน (µg/ml)
	n = 1	n = 2	n = 3	ค่าเฉลี่ย±SD	
100	1566.628	1575.676	1588.54	1576.95 ±11.01	9.11±0.06

1.4 หาปริมาณของ alpha-mangostin ในตำรับ

ตารางที่ 4 แสดงค่า AUC ที่ความยาวคลื่น 320 nm และ %content ของตำรับเจล

ตำรับเจล	พื้นที่ใต้กราฟ (AUC)				%content
	n = 1	n = 2	n = 3	ค่าเฉลี่ย±SD	
PLX : EX 1	133.9	135.8	139.6	136.43±2.90	124.54±1.76
PLX : EX 2.5	410.0	403.7	425.6	413.10±11.27	116.57 ± 2.72
PLX : EX 5	803.7	776.7	781.5	787.30±14.40	103.54 ± 1.74
PLX : CS : EX 1	119.6	114.2	118.4	118.40±3.75	114.09 ± 2.28
PLX : CS : EX 2.5	258.0	292.6	288.8	279.80±18.97	84.71 ± 4.60
PLX : CS : EX 5	559.4	581.4	560.7	567.17±12.34	77.31 ± 1.50

2. การทดสอบคุณสมบัติของตำรับเจลไวต่ออุณหภูมิที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

2.1 การศึกษาความหนืดของตำรับเจลไวต่ออุณหภูมิของ PLX 407 ที่ 18% ร่วมกับ ไคโตซาน และ สารสกัดจากเปลือกผลมังคุด

ตารางที่ 5 แสดงผลการวัดความหนืดของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

Shear rate (s ⁻¹)	Shear viscosity(mPaxs) เจล ±SD							
	PLX	PLX:EX5	PLX:EX2.5	PLX:EX1	PLX:CS	PLX:CS:EX5	PLX:CS:EX2.5	PLX:CS:EX1
1.37	47766.67 ± 386.82	33810.00 ± 1285.57	45580.00 ± 2017.03	24660.00 ± 3591.53	57.32 ± 13.21	88.04 ± 6.81	71.61 ± 6.34	69.67 ± 9.30
3.74	30603.33 ± 375.28	21780.00 ± 1052.28	28806.67 ± 1451.80	14943.33 ± 2512.81	77.22 ± 4.74	99.86 ± 5.21	82.68 ± 4.08	78.24 ± 3.86
6.97	15896.67 ± 196.30	11840.00 ± 608.93	14806.67 ± 798.58	7679.00 ± 1108.03	71.73 ± 5.44	93.05 ± 3.82	77.18 ± 4.32	73.06 ± 3.97
10.19	10966.67 ± 109.70	8391.00 ± 464.72	10331.67 ± 593.77	5365.33 ± 587.90	69.91 ± 5.53	90.67 ± 3.36	75.30 ± 4.36	71.26 ± 3.98
13.41	8485.67 ± 71.59	6543.33 ± 384.36	8019.67 ± 460.31	4230.67 ± 494.95	69.05 ± 5.53	89.52 ± 3.15	74.44 ± 4.29	70.40 ± 3.99
16.63	6934.00 ± 48.50	5360.33 ± 313.92	6621.00 ± 372.50	3528.00 ± 432.65	68.49 ± 5.55	88.80 ± 2.96	73.89 ± 4.31	69.87 ± 3.99
19.86	5827.67 ± 36.95	4545.00 ± 255.91	5673.67 ± 326.75	3022.67 ± 371.26	68.15 ± 5.58	88.27 ± 2.87	73.52 ± 4.23	69.55 ± 3.98
23.08	5020.67 ± 49.07	3954.67 ± 224.86	4968.00 ± 297.31	2635.67 ± 325.46	67.88 ± 5.54	87.88 ± 2.82	73.24 ± 4.23	69.25 ± 3.99

26.3	4417.00 ±	3501.67 ±	4419.67 ±	2347.00 ±	67.66 ±			
	48.50	208.28	272.66	284.56	5.55	87.59 ± 2.76	73.02 ± 4.21	69.05 ± 3.99
29.53	3956.33 ±	3147.00 ±	3957.33	2115.00 ±	67.48 ±			
	35.80	201.68	±243.64	260.07	5.55	87.34 ± 2.71	72.85 ± 4.19	68.89 ± 3.99
32.75	3590.67 ±	2856.33 ±	3576.67 ±	1927.33 ±	67.34 ±			
	23.09	188.11	210.09	241.16	5.55	87.13 ± 2.68	72.72 ± 4.18	68.75 ± 3.99
35.97	3283.33 ±	2613.67 ±	3270.33 ±	1775.33 ±	67.22 ±			
	13.28	170.14	202.00	229.67	5.53	86.95 ± 2.65	72.61 ± 4.16	68.65 ± 4.00
39.2	3018.33 ±	2410.67 ±	3003.33 ±	1643.00 ±	67.11 ±			
	2.89	156.67	184.51	218.02	5.52	86.79 ± 2.62	72.50 ± 4.15	68.56 ± 3.99
42.42	2794.67 ±	2240.00 ±	2772.33 ±	1526.67 ±	67.01 ±			
	9.81	148.36	159.51	196.18	5.50	86.64 ± 2.61	72.40 ± 4.13	68.48 ± 3.99
45.64	2614.67 ±	2093.67 ±	2589.67 ±	1416.33 ±	66.93 ±			
	8.08	141.20	148.53	167.22	5.49	86.50 ± 2.57	72.33 ± 4.11	68.40 ± 4.00
48.86	2449.00 ±	1967.33 ±	2431.33 ±	1318.33 ±	66.84 ±			
	10.39	135.08	138.03	137.23	5.46	86.36 ± 2.52	72.27 ± 4.11	68.33 ± 3.99
52.09	2303.00 ±	1856.00 ±	2284.67	1239.00 ±	66.79 ±			
	17.32	129.05	±c131.13	117.58	5.45	86.22 ± 2.52	72.21 ± 4.11	68.28 ± 3.99

55.31	2177.67 ±	1755.67 ±	2156.00 ±	1168.67 ±	66.72 ±			
	9.24	124.02	129.73	105.50	5.43	86.09 ± 2.49	72.16 ± 4.10	68.24 ± 4.00
58.53	2064.33 ±	1666.67 ±	2043.00 ±	1113.33 ±	66.66 ±			
	2.89	118.50	128.50	105.52	5.43	85.93 ± 2.46	72.12 ± 4.09	68.19 ± 3.99
61.76	1961.67 ±	1585.00 ±	1942.33 ±	1072.87 ±	66.62 ±			
	2.89	113.01	125.54	116.65	5.41	85.84 ± 2.42	72.09 ± 4.08	68.16 ± 3.98
64.98	1862.67 ±	1510.67 ±	1849.67 ±	1036.60 ±	66.60 ±			
	2.89	108.01	119.52	128.96	5.39	85.75 ± 2.40	72.04 ± 4.07	68.15 ± 4.00
68.2	1770.67 ±	1443.67 ±	1765.33 ±	997.70 ±	66.53 ±			
	4.62	105.01	111.02	133.11	5.38	85.63 ± 2.36	71.98 ± 4.08	68.10 ± 3.99
71.42	1692.00 ±	1383.33 ±	1688.67 ±	959.97 ±	66.51 ±			
	5.20	101.51	100.52	131.54	5.37	85.56 ± 2.33	72.00 ± 4.07	68.07 ± 3.99
74.65	1619.33 ±	1328.00 ±	1618.33 ±	924.50 ±	66.50 ±			
	7.51	98.06	95.51	127.44	5.37	85.45 ± 2.30	71.97 ± 4.06	68.06 ± 3.99
77.87	1540.67 ±	1276.33 ±	1553.33 ±	890.93 ±	66.46 ±			
	18.48	96.62	91.51	123.30	5.38	85.36 ± 2.28	71.94 ± 4.07	68.05 ± 4.02
81.09	1470.33 ±	1228.00 ±	1492.33 ±	857.87 ±	66.38 ±			
	28.29	94.14	87.56	118.30	5.36	85.24 ± 2.26	71.87 ± 4.08	67.97 ± 4.00

84.32	1416.67 ±	1183.67 ±	1436.67 ±	827.60 ±	66.34 ±			
	27.14	90.67	86.12	114.04	5.34	85.12 ± 2.23	71.83 ± 4.08	67.93 ± 3.99
87.54	1370.67 ±	1143.33 ±	1385.33 ±	801.23 ±	66.30 ±			
	25.40	88.19	84.76	111.48	5.35	85.04 ± 2.21	71.79 ± 4.09	67.91 ± 4.01
90.76	1327.33 ±	1106.00 ±	1339.67 ±	777.23 ±	66.29 ±			
	23.09	85.16	82.40	109.74	5.35	84.99 ± 2.21	71.79 ± 4.10	67.91 ± 4.01
93.98	1285.33 ±	1070.60 ±	1298.33 ±	754.40 ±	66.28 ±			
	21.36	83.23	80.93	108.26	5.34	84.95 ± 2.18	71.78 ± 4.11	67.90 ± 4.02
97.21	1245.33 ±	1037.70 ±	1259.00 ±	732.73 ±	66.29 ±			
	19.63	81.54	79.30	106.70	5.34	84.93 ± 2.16	71.81 ± 4.11	67.90 ± 4.02

ตารางที่ 6 แสดงผลการวัดความหนืดของตำรับเจลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

Shear rate (s ⁻¹)	Shear viscosity(mPaxs) เฉลี่ย±SD							
	PLX	PLX:EX5	PLX:EX2.5	PLX:EX1	PLX:CS	PLX:CS:EX5	PLX:CS:EX2.5	PLX:CS:EX1
1.37	77026.67	60923.33	76803.33	71573.33	608.27 ±	2893.33 ±	1179.07 ±	757.60 ±
	± 2689.62	± 3485.53	± 1685.12	± 5718.95	176.80	1352.15	405.27	440.45
3.74	52376.67	40360.00	51146.67	49160.00	441.30 ±	2299.67 ±	791.77 ±	474.80 ±
	± 1254.96	± 2220.56	± 1695.47	± 2021.56	76.25	1053.29	221.41	233.16
6.97	27200.00	20920.00	26493.33	25446.67	290.87 ±	1385.27 ±	491.80 ±	298.60 ±
	± 75.50	± 1433.56	± 1220.87	± 937.57	46.38	637.58	105.18	120.29
10.19	18503.33	14396.67	17956.67	17263.33	256.87 ±	1054.37 ±	410.40 ± 80.89	251.23 ±
	± 262.74	± 1055.67	± 1006.20	± 657.29	35.66	470.24		90.86
13.41	14120.00	11012.67	13583.33	13110.00	235.80 ±	898.97 ±	366.13 ± 74.50	218.07 ±
	± 285.83	± 897.44	± 770.02	± 555.07	28.93	378.92		66.56
16.63	11433.33	8942.00 ±	11006.67	10600.00	225.17 ±	797.10 ±	352.03 ± 74.38	201.80 ±
	± 205.99	766.51	± 536.31	± 431.39	24.29	320.47		54.38
19.86	9634.33 ±	7548.67 ±	9331.00 ±	8951.00 ±	218.60 ±	729.00 ±	341.57 ± 73.26	190.90 ±
	169.06	623.50	326.12	340.59	20.60	284.40		46.64
23.08	8370.33 ±	6562.00 ±	8077.00 ±	7768.00 ±	212.77 ±	679.47 ±	330.60 ± 69.07	181.93 ±
	147.79	528.34	281.90	293.95	17.85	261.01		40.36

26.3	7435.67 ±	5806.67 ±	7139.33 ±	6883.33 ±	208.53 ±	641.97 ±	324.10 ± 61.36	177.13 ±
	128.24	464.79	232.64	264.47	15.53	244.08		37.83
29.53	6693.33 ±	5213.67 ±	6413.33 ±	6195.00 ±	203.93 ±	612.97 ±	317.93 ± 51.87	171.87 ±
	112.08	411.07	188.81	237.67	13.89	232.09		35.07
32.75	6086.67 ±	4735.33 ±	5809.67 ±	5639.33 ±	199.97 ±	590.50 ±	312.27 ± 42.43	167.20 ±
	90.67	366.62	168.47	218.84	12.92	224.19		32.16
35.97	5582.00 ±	4339.33 ±	5315.33 ±	5185.33 ±	196.53 ±	572.13 ±	306.70 ± 34.84	162.97 ±
	80.89	330.25	145.61	201.93	11.93	217.69		29.58
39.2	5148.67 ±	4005.67 ±	4902.33 ±	4806.00 ±	193.47 ±	556.53 ±	301.30 ± 29.55	159.10 ±
	78.91	299.43	132.00	189.94	10.97	211.56		27.32
42.42	4782.33 ±	3721.33 ±	4548.00 ±	4483.33 ±	190.93 ±	542.90 ±	296.03 ± 26.22	155.73 ±
	60.35	276.77	127.18	179.49	10.18	205.46		25.31
45.64	4476.33 ±	3482.67 ±	4247.00 ±	4206.33 ±	188.67 ±	530.83 ±	290.50 ± 24.34	152.67 ±
	49.54	252.90	129.01	170.57	9.43	199.62		23.41
48.86	4213.33 ±	3276.67 ±	3988.33 ±	3962.67 ±	186.77 ±	520.13 ±	285.07 ± 23.26	150.03 ±
	45.94	232.14	130.58	164.09	8.77	194.01		21.76
52.09	3975.33 ±	3095.00 ±	3764.67 ±	3747.33 ±	185.13 ±	510.27 ±	279.90 ± 22.70	147.90 ±
	42.52	218.63	130.21	157.84	8.06	188.50		20.35

55.31	3767.67 ±	2934.33 ±	3570.33 ±	3555.00 ±	183.53 ±	501.07 ±	275.10 ± 22.26	146.00 ±
	44.88	208.57	128.22	151.81	7.37	182.98		19.21
58.53	3586.67 ±	2791.67 ±	3397.33 ±	3382.00 ±	182.03 ±	492.47 ±	270.37 ± 21.51	144.43 ±
	49.12	198.60	124.36	146.48	6.72	177.59		18.21
61.76	3420.67 ±	2665.67 ±	3242.00 ±	3226.33 ±	180.60 ±	484.27 ±	265.53 ± 19.98	143.10 ±
	50.06	189.23	120.33	141.00	6.24	172.28		17.46
64.98	3265.67 ±	2551.33 ±	3101.67 ±	3086.33 ±	179.17 ±	476.37 ±	261.37 ± 18.83	142.00 ±
	51.98	182.39	116.54	135.43	5.66	167.01		16.91
68.2	3124.67 ±	2448.00 ±	2974.00 ±	2958.33 ±	177.70 ±	468.03 ±	257.60 ± 18.37	140.90 ±
	52.70	175.52	114.25	131.47	5.17	161.04		16.31
71.42	3000.00 ±	2355.33 ±	2858.00 ±	2841.33 ±	176.33 ±	460.23 ±	254.17 ± 18.14	139.93 ±
	54.67	167.57	109.78	125.91	4.86	155.74		15.92
74.65	2884.33 ±	2270.33 ±	2750.67 ±	2733.67 ±	175.07 ±	453.03 ±	251.00 ± 17.85	139.20 ±
	55.10	163.10	105.19	120.79	4.45	151.41		15.57
77.87	2778.67 ±	2190.67 ±	2652.00 ±	2634.67 ±	173.67 ±	445.90 ±	248.07 ± 17.62	138.40 ±
	54.56	160.26	101.17	117.20	4.12	146.90		15.12
81.09	2679.33 ±	2117.33 ±	2559.67 ±	2542.00 ±	172.40 ±	438.27 ±	245.13 ± 17.40	137.50 ±
	53.46	155.53	98.31	114.07	3.83	141.74		14.68

84.32	2587.00 ±	2048.67 ±	2474.00 ±	2455.67 ±	171.13 ±	430.90 ±	242.40 ± 17.18	136.63 ±
	52.72	150.82	96.15	110.65	3.58	136.86		14.19
87.54	2503.67 ±	1985.00 ±	2394.67 ±	2375.67 ±	169.97 ±	424.33 ±	239.90 ± 17.02	135.87 ±
	50.95	147.60	93.29	106.69	3.45	132.88		13.69
90.76	2426.00 ±	1926.00 ±	2321.00 ±	2300.67 ±	168.83 ±	417.97 ±	237.43 ± 16.83	135.10 ±
	48.77	144.01	91.00	103.72	3.31	128.91		13.30
93.98	2352.33 ±	1871.33 ±	2252.67 ±	2231.33 ±	167.73 ±	411.70 ±	235.17 ± 16.64	134.50 ±
	47.60	140.05	87.21	101.04	3.22	125.11		12.86
97.21	2283.67 ±	1819.67 ±	2187.33 ±	2166.67 ±	166.73 ±	405.87 ±	233.00 ± 16.45	133.93 ±
	46.07	136.84	85.14	97.53	3.17	121.83		12.52

2.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับเจลที่ไวต่ออุณหภูมิที่บรรจุและไม่บรรจุสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical assay ตารางที่ 7 แสดงผลการต้านอนุมูลอิสระของตำรับเจล

ตำรับเจล	IC ₅₀ (mg/ml)			ค่าเฉลี่ย±SD
	n = 1	n = 2	n = 3	
PLX	N/A	N/A	N/A	N/A
PLX:EX5	13.8	13.4	13.5	13.57 ± 0.21
PLX:EX2.5	30	28	30	29.33 ± 1.15
PLX:EX1	58	56	62	58.67 ± 3.05
PLX:CS	N/A	N/A	N/A	N/A
PLX:CS:EX5	13.6	13.2	12.8	13.20 ± 0.40
PLX:CS:EX2.5	38	39	38	38.33 ± 0.58
PLX:CS:EX1	81	85	81	82.33 ± 2.31

2.3 การทดสอบการปลดปล่อยของสารสกัดสำคัญ แอลฟาแมงโกสติน (alpha mangostin) ของตำรับเจลที่ไวต่ออุณหภูมิ ตารางที่ 8 ปริมาณการปลดปล่อยสารแอลฟาแมงโกสตินของตำรับ 18% poloxamer 407 กับสารสกัด 5 mg/g

ระยะเวลา (h)	พื้นที่ใต้กราฟ (AUC)			ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน (µg/ml)			ปริมาณสาร แอลฟาแมงโกส ติน (µg/ml)
	n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	
1	10.40	10.00	9.90	0.29	0.29	0.29	0.29 ± 0.00
2	26.38	27.73	23.83	0.37	0.37	0.36	0.37 ± 0.00
4	35.70	30.10	29.20	0.41	0.39	0.39	0.39 ± 0.01
8	61.00	36.70	44.10	0.50	0.41	0.44	0.45 ± 0.05
12	111.50	83.90	86.20	0.69	0.58	0.60	0.62 ± 0.06

ตารางที่ 9 ปริมาณการปลดปล่อยสารแอลฟาแมงโกสตินของตำรับ 18% poloxamer 407, 2% chitosan (CS) และ สารสกัด 5 mg/g

ระยะเวลา (h)	พื้นที่ใต้กราฟ (AUC)			ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน ($\mu\text{g/ml}$)			ปริมาณสาร แอลฟาแมงโก สติน ($\mu\text{g/ml}$)
	n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	
1	58.60	63.40	50.60	0.47	0.48	0.44	0.46 ± 0.02
2	72.00	50.00	59.60	0.55	0.47	0.50	0.50 ± 0.04
4	75.00	62.40	67.00	0.56	0.51	0.53	0.53 ± 0.03
8	93.80	85.00	95.60	0.63	0.59	0.63	0.62 ± 0.02
12	131.40	112.60	130.70	0.77	0.70	0.77	0.75 ± 0.04

ตารางที่ 10 ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินที่ถูกปลดปล่อยสะสมที่เวลาต่างๆ ของตำรับ PLX:EX5 และ PLX:CS:EX5

ระยะเวลา (h)	ปริมาณสาร alpha-mangostin ที่ถูกปลดปล่อยสะสม ($\mu\text{g/ml}$)		P-value
	PLX:EX5	PLX:CS:EX5	
1	0.29 ± 0.00	0.46 ± 0.02	<0.05
2	0.37 ± 0.00	0.50 ± 0.04	<0.05
4	0.39 ± 0.01	0.53 ± 0.03	<0.05
8	0.45 ± 0.05	0.62 ± 0.02	<0.05
12	0.62 ± 0.06	0.75 ± 0.04	<0.05