



## โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

### เรื่อง

การพัฒนาและประเมินระบบก่อกฟิล์มที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปรสำหรับนำส่ง  
สารสกัดพรอพอลิสจากชันโรงทางผิวหนัง

Development and characterization of film forming modified tamarind seed gum  
solutions loaded propolis from Thai stingless bees for topical drug delivery

### โดย

- |                           |                    |
|---------------------------|--------------------|
| 1. นสภ. ธมนวรรณ เชื้อมทอง | รหัสนิสิต 57210037 |
| 2. นสภ. พิณ โตโพธิ์ไทย    | รหัสนิสิต 57210200 |
| 3. นสภ. บุษราคัม รุ่งแจ้ง | รหัสนิสิต 57210232 |

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2561

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

### เรื่อง

การพัฒนาและประเมินระบบก่อกฟิล์มที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปรสำหรับนำส่ง  
สารสกัดพรอพอลิสจากชันโรงทางผิวหนัง

Development and characterization of film forming modified tamarind seed gum  
solutions loaded propolis from Thai stingless bees for topical drug delivery

### โดย

- |                           |                    |
|---------------------------|--------------------|
| 1. นสภ. ธมนวรรณ เชื้อมทอง | รหัสนิสิต 57210037 |
| 2. นสภ. พิณ โตโพธิ์ไทย    | รหัสนิสิต 57210200 |
| 3. นสภ. บุษราคัม รุ่งแจ้ง | รหัสนิสิต 57210232 |

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2561

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## คำนำ

สารสกัดพอลิฟอสฟอรัสจากชั้นโรง คือผลผลิตจากผึ้งที่สำคัญ เป็นส่วนผสมที่มีลักษณะเหนียวข้น เป็นยาง ได้จากยางของเปลือกไม้ที่ผึ้งงานรวบรวมมา โดยนำมาผสมกับไขผึ้งสำหรับใช้ซ่อมแซมรัง อุดรอยรั่ว ตลอดจนรักษาความสะอาด และป้องกันการระบาดของเชื้อโรครภายในรังได้อีกด้วย จากสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของพอลิฟอสฟอรัส นำไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากมาย เช่น สเปรย์จากสารสกัดพอลิฟอสฟอรัสสำหรับฆ่าเชื้อในลำคอ ทางคณะผู้วิจัยเห็นถึงประโยชน์ และช่องทางในการพัฒนาสูตรตำรับสำหรับต้านเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมเป็นระบบก่อกำเนิดฟิล์มเพื่อบริหารยาผ่านทางผิวหนัง โดยนำกัมมะขามดัดแปรมาพัฒนาเป็นโพลิเมอร์สำหรับก่อกำเนิดฟิล์มในตำรับ ซึ่งระบบก่อกำเนิดฟิล์มเป็นรูปแบบการบริหารยาที่ใช้ง่าย สะดวก สามารถบริหารยาได้ด้วยตัวเอง มีข้อดีเหนือกว่าเภสัชภัณฑ์ที่บริหารทางผิวหนังรูปแบบอื่น ๆ คือ ไม่เหนียวเหนอะหนะ แห้งเร็ว ยึดติดผิวหนังได้นาน มีความโปร่งใส จึงไม่สังเกตเห็นเวลาผลิตภัณฑ์อยู่บนผิวหนัง ทำให้เพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของฟิล์มที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร พัฒนาระบบก่อกำเนิดฟิล์มเพื่อนำส่งพอลิฟอสฟอรัสทางผิวหนัง ที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร เพื่อใช้ด้านจุลชีพที่ผิวหนัง ศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลชีพของระบบก่อกำเนิดฟิล์ม นำส่งพอลิฟอสฟอรัสที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร และศึกษาความพึงพอใจต่อการนำผลิตภัณฑ์สเปรย์ก่อกำเนิดฟิล์มนำส่งพอลิฟอสฟอรัสที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร

### คณะผู้วิจัย

|                        |                     |
|------------------------|---------------------|
| นสภ. ธมนวรรณ เชื้อมทอง | รหัสบัณฑิต 57210037 |
| นสภ. พิณ โตโพธิ์ไทย    | รหัสบัณฑิต 57210200 |
| นสภ. บุษราคัม รุ่งแจ้ง | รหัสบัณฑิต 57210232 |

## โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2561

### เรื่อง การพัฒนาและประเมินระบบก่อกฟิล์มที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปรสำหรับ นำส่งสารสกัดพอลิเอสจากชั้นโรทางผิวหนัง

#### ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. นสภ. ธมนวรรณ เชื้อมทอง รหัสนิต 57210037
2. นสภ. พิณ โตโพธิ์ไทย รหัสนิต 57210200
3. นสภ. บุษราคัม รุ่งแจ้ง รหัสนิต 57210232

#### อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. ภาญ.ดร. ธนิกันต์ แสงนัม
2. ภก.ผศ.ดร. กัมปนาท หวลบุตรตา
3. รศ.ดร. วันแข็ง สิทธิกิจโยธิน (คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา)
4. ภก.รศ.ดร. จูตินันท์ เอื้ออำนวย

#### บทคัดย่อ

สารสกัดพอลิเอสเป็นสารสกัดจากผลิตภัณฑ์ของผึ้ง มีลักษณะเหนียวข้นเป็นยาง โดยผึ้งงานจะรวบรวมยางจากเปลือกไม้มาผสมรวมกับน้ำลายและไขผึ้ง เพื่อนำมาซ่อมแซมรัง ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่โดดเด่นของสารสกัดพอลิเอส ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านแผลเปื่อย ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และฤทธิ์ต้านมะเร็ง ซึ่งเหมาะสำหรับนำมาพัฒนาเป็นเภสัชภัณฑ์ที่บริหารผ่านทางผิวหนัง จากฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายของสารสกัดพอลิเอส จึงนำไปสู่การพัฒนาตำรับสารสกัดพอลิเอสโดยมีกัมมะขามดัดแปรเป็นสารก่อกฟิล์ม โดยประเมินหาความเข้มข้นของกัมมะขามดัดแปร และอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดของระบบก่อกฟิล์ม ตำรับที่ประกอบด้วยกัมมะขามดัดแปรร้อยละ 7.5 และ PEG400 ร้อยละ 1 ที่เตรียมในตัวทำละลาย น้ำร้อยละ 55 และ 95% เอทานอลร้อยละ 45 ให้ผลลัพธ์ที่แห้งเร็ว (4.36 นาที) และมีการไหลที่เหมาะสม ตำรับที่มีสารสกัดพอลิเอสสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ นอกจากนี้ผลการประเมินความพึงพอใจพบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่มีความพึงพอใจระดับมาก (3.8 คะแนน จาก 5 คะแนน) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำกัมมะขามดัดแปรและสารสกัดพอลิเอสซึ่งเป็นสารธรรมชาติมาเป็นส่วนประกอบในการพัฒนาระบบก่อกฟิล์มและเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียบนผิวหนังได้

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก \_\_\_\_\_

Senior project academic year 2018

: Development and characterization of film forming modified tamarind seed gum solutions loaded propolis from Thai stingless bees for topical drug delivery By

- |                              |             |
|------------------------------|-------------|
| 1. Miss Thamonwan Choumthong | ID 57210037 |
| 2. Miss Pin Topothai         | ID 57210200 |
| 3. Miss Bussarakum Rungjang  | ID 57210232 |

**Advisor**

1. Tanikan Sangnim, Ph.D
2. Assist.Prof. Kampanart Huanbutta, Ph.D
3. Assist.Prof. Wancheng Sittikijyothin, Ph.D
4. Assist.Prof. Titinun Auamnoy, Ph.D

**ABSTRACT**

Propolis extract is an extraction of resinous mixture of honey bees produced by mixing saliva and bees wax with exudate gathered from tree. The prominent pharmacological activities of propolis extract are antioxidant, antimicrobial, fungicidal, antiviral, antiulcer, immune stimulating, and cytostatic which are very suitable for topical formulation. From its various pharmacological activities, propolis extract was used for formulated in film forming system using modified tamarind seed gum as a solution/gel/ film forming agent. To obtain the optimum the seed gum concentration of the film forming system (solution to film), various tamarind concentrations and solvent ratios were determined. The formulation of 7.5% of modified tamarind seed gum with 1% PEG 400 dissolved in 55% of water and 45% of 95% ethanol provided fast drying time (4.36 min) and flow property. The propolis extract loaded formulation can inhibit *S. aureus* and *S. Epidermidis*. Moreover, the product satisfaction evaluation was in excellent (3.8 from 5).The results indicated the possibility of introducing modified tamarind seed gum and propolis extract to be a component in the development of film-forming systems and increases the effectiveness of antibacterial on the skin.

Major Advisor \_\_\_\_\_

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก  
เภสัชกรหญิง ดร. ธนิกันต์ แสงนิม เภสัชกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กัมปนาท หวลบุตรตา เภสัชกร  
รองศาสตราจารย์ ดร. วิฑูรย์ อื้ออำนวย และรองศาสตราจารย์ ดร. วันแข็ง สิทธิกิจโยธิน ซึ่งเป็น  
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยคอยให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะตลอดระยะเวลาการทำโครงการวิจัยครั้ง  
นี้ จึงกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ทั้งสี่ท่านเป็นอย่างสูง

ผู้จัดทำโครงการวิจัยขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย นางสาวสุณัฐฐา วิงวอน ที่คอยสนับสนุนให้  
คำปรึกษาและข้อเสนอแนะตลอดทำโครงการวิจัยครั้งนี้ให้สามารถดำเนินงานวิจัยได้อย่างสมบูรณ์  
ลุล่วง

คณะผู้วิจัย

นสภ. ธมนวรรณ เชื้อมทอง

รหัสนิสิต 57210037

นสภ. พิณ โตโพธิ์ไทย

รหัสนิสิต 57210200

นสภ. บุษราคัม รุ่งแจ้ง

รหัสนิสิต 57210232

## สารบัญ

|                                        | หน้า |
|----------------------------------------|------|
| คำนำ                                   | ๗    |
| บทคัดย่อ                               | ๘    |
| กิตติกรรมประกาศ                        | ๑๑   |
| 1. บทนำ                                | 1    |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา     | 1    |
| 1.2 วัตถุประสงค์                       | 3    |
| 1.3 กรอบแนวคิดการวิจัย                 | 4    |
| 1.4 สมมติฐานการวิจัย                   | 4    |
| 1.5 ขอบเขตการวิจัยและข้อตกลงเบื้องต้น  | 5    |
| 1.6 ข้อจำกัดในการวิจัย                 | 5    |
| 1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ                    | 5    |
| 1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ          | 5    |
| 2 ทบทวนวรรณกรรม                        | 6    |
| 2.1 โรคผิวหนังอักเสบ                   | 6    |
| 2.2 แบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนัง           | 6    |
| 2.3 พรอพอลิส (Propolis)                | 8    |
| 2.4 ระบบก่อฟิล์ม (Film-forming system) | 12   |
| 2.5 Polyethylene Glycol                | 19   |
| 2.6 Glycerin                           | 21   |

|      |                                                                                                                                           |    |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.7  | กัมมะขามดัดแปร (Modified tamarind seed gum)                                                                                               | 22 |
| 2.8  | การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส                                                                                                                   | 24 |
| 2.9  | การวัดการไหลและความหนืด                                                                                                                   | 26 |
| 2.10 | การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ                                                                                                  | 27 |
| 2.11 | การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย<br>(Minimal inhibitory concentration, MIC)                           | 28 |
| 2.12 | การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี<br>Disc Diffusion Test                                                              | 29 |
| 3    | วิธีการดำเนินการวิจัย                                                                                                                     | 31 |
| 3.1  | อุปกรณ์และสารเคมี                                                                                                                         | 31 |
| 3.2  | วิธีการทดลอง                                                                                                                              | 33 |
| 4    | ผลการวิจัย                                                                                                                                | 46 |
| 4.1  | การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกัมมะขามดัดแปร                                                                                               | 46 |
| 4.2  | การหาอัตราส่วนของตัวทำละลาย                                                                                                               | 48 |
| 4.3  | การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพอลิฟอสฟอรัสที่สามารถยับยั้ง<br>การเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรือ Minimal inhibitory concentration (MIC) | 49 |
| 4.4  | การศึกษาสมบัติทางชีวภาพโดยการทดสอบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อ                                                                           | 50 |
| 4.5  | การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส                                                                                    | 57 |
| 4.6  | การศึกษาสมบัติการไหลของสารตัวอย่างด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์                                                                                  | 61 |
| 4.7  | การหาระยะเวลาการแห้งของสารตัวอย่าง (Time to dry)                                                                                          | 63 |
| 4.8  | การประเมินความพึงพอใจ                                                                                                                     | 64 |
| 5    | สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย                                                                                                                  | 66 |
| 5.1  | การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกัมมะขามดัดแปร                                                                                               | 66 |
| 5.2  | การหาอัตราส่วนของตัวทำละลาย                                                                                                               | 66 |

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.3 การศึกษาสมบัติทางชีวภาพโดยการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย | 66 |
| 5.4 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส                | 67 |
| 5.5 การศึกษาสมบัติการไหลและความหนืด                                       | 70 |
| 5.6 การหาระยะเวลาการแห้งของสารตัวอย่าง ( <i>Time to dry</i> )             | 70 |
| 5.7 การวิเคราะห์ความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ ( <i>In vivo test</i> )     | 71 |
| 5.8 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ                                           | 72 |
| เอกสารอ้างอิง                                                             | 73 |
| ภาคผนวก                                                                   | 82 |

## สารบัญตาราง

|                                                                                     | หน้า |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 1 รายงานการวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของพอลิเมอร์ | 10   |
| ตารางที่ 2 คุณสมบัติในอุดมคติของตัวยาที่เหมาะสมสำหรับระบบกักฟิล์ม                   |      |
| ในรูปแบบแผ่นแปะ                                                                     | 15   |
| ตารางที่ 3 พอลิเมอร์สำหรับระบบกักฟิล์ม                                              | 16   |
| ตารางที่ 4 ตัวทำละลายที่ใช้ในระบบผิวหนัง                                            | 17   |
| ตารางที่ 5 น้ำหนักโมเลกุล                                                           | 20   |
| ตารางที่ 6 อัตราส่วนปริมาณตัวทำละลายที่ใช้                                          | 34   |
| ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของแต่ละสูตรตำรับ                                              | 40   |
| ตารางที่ 8 ส่วนประกอบในตำรับที่มาทดสอบหา time to dry                                | 41   |
| ตารางที่ 9 ลักษณะสารละลายที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปรที่ความเข้มข้นต่างๆ              | 46   |
| ตารางที่ 10 ลักษณะทางกายภาพของสารละลายที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร                    |      |
| ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 อัตราส่วนของตัวทำละลายที่ต่างกัน                              | 48   |
| ตารางที่ 11 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>       | 50   |
| ตารางที่ 12 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i>  | 53   |
| ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารช่วยในตำรับ                       | 57   |
| ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย Breaking strain                     |      |

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| ระหว่างสารช่วยในตำรับที่ต่างกัน                                           | 58 |
| ตารางที่ 15 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย Breaking strain            |    |
| รายคู่ของตำรับต่างๆด้วยวิธีของ LSD                                        | 59 |
| ตารางที่ 16 จำนวนร้อยละและค่าเฉลี่ยข้อมูลส่วนบุคคลของกลุ่มตัวอย่าง        |    |
| ที่ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์ (n=12)                                               | 64 |
| ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ |    |
| ของกลุ่มตัวอย่างจำแนกรายชื่อและภาพรวม (n=12)                              | 65 |

## สารบัญรูปภาพ

|                                                                              | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------|------|
| รูปที่ 1 ลักษณะของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>                         | 7    |
| รูปที่ 2 ลักษณะของเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i>                    | 8    |
| รูปที่ 3 ลักษณะของพรอพอลิส                                                   | 9    |
| รูปที่ 4 แผ่นแปะผิวหน้าที่ใช้ในปัจุบัน                                       | 14   |
| รูปที่ 5 ลักษณะยาขี้ผึ้งหรือครีมที่ใช้ในปัจุบัน                              | 14   |
| รูปที่ 6 โครงสร้าง Polyethylene Glycol                                       | 20   |
| รูปที่ 7 โครงสร้างกลีเซอริน                                                  | 21   |
| รูปที่ 8 โครงสร้างไฮโดรอกซีแคน                                               | 22   |
| รูปที่ 9 โครงสร้าง Carboxymethylated gum                                     | 23   |
| รูปที่ 10 แสดงการไหลแบบเฉือน (ก) และ แบบยืด (ข)                              | 26   |
| รูปที่ 11 วิธีการทดสอบแบบ Broth dilution                                     | 29   |
| รูปที่ 12 วิธีการทดสอบแบบ Agar dilution                                      | 29   |
| รูปที่ 13 แผนภาพสรุปขั้นตอนการปฏิบัติสำหรับ Macro broth dilution technique   | 37   |
| รูปที่ 14 แสดงตำแหน่งที่จะวางแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร |      |
| ทั้งหมด 3 ตำแหน่ง                                                            | 38   |
| รูปที่ 15 สรุปขั้นตอนการดำเนินวิจัย                                          | 44   |

|                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| รูปที่ 16 จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิส<br>ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ | 49 |
| รูปที่ 17 กราฟแท่งแสดงพื้นที่การยับยั้งเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ของสูตรตำรับต่างๆ                          | 56 |
| รูปที่ 18 กราฟแท่งแสดงพื้นที่การยับยั้งเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i><br>ของสูตรตำรับต่างๆ                  | 56 |
| รูปที่ 19 กราฟแท่งแสดงค่า Breaking strain เฉลี่ยของสารช่วยในตำรับที่ต่างกัน                                          | 60 |
| รูปที่ 20 กราฟเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate และ Shear viscosity                                             | 61 |
| รูปที่ 21 กราฟเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Time และ Torque                                                            | 62 |
| รูปที่ 22 กราฟเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Time และ Shear viscosity                                                   | 62 |
| รูปที่ 23 กราฟเส้นแสดงระยะเวลาการแห้งของตำรับที่ 1                                                                   | 63 |
| รูปที่ 24 กราฟเส้นแสดงระยะเวลาการแห้งของตำรับที่ 2                                                                   | 63 |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญและมีขนาดใหญ่ที่สุดของร่างกายมนุษย์ (ประมาณร้อยละ 17 ของน้ำหนักตัว) มีความหนาอยู่ที่ 3-5 มิลลิเมตร ขึ้นอยู่กับบริเวณที่ปกคลุมร่างกาย หน้าที่หลักของผิวหนัง คือ ป้องกันไม่ให้อวัยวะภายในร่างกายถูกทำลายจากสิ่งกระตุ้นภายนอก เช่น การกระแทก รังสี สารเคมี สารพิษหรือเชื้อโรคจากภายนอกร่างกาย นอกจากนี้ผิวหนังยังทำหน้าที่ในการควบคุมสมดุลของอุณหภูมิและความชื้นภายในร่างกาย (1) ดังนั้นหากเกิดความผิดปกติของผิวหนังอาจส่งผลกระทบต่อระบบร่างกายได้ เช่น โรคผิวหนังอักเสบเป็นภาวะความผิดปกติของระบบผิวหนังที่พบได้บ่อยในทางเวชปฏิบัติ พยาธิกำเนิดของโรคเกี่ยวข้องกับการสูญเสียการทำงานด้านการปกป้องของผิวหนังขึ้นนอกพร้อมกับกระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหนังชั้นนอกและผิวหนังชั้นใน โดยพบว่าโรคผิวหนังอักเสบมีความสัมพันธ์กับปัจจัยภายนอก เช่น การติดเชื้อแบคทีเรียบางชนิด ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคที่ผิวหนัง ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ตามแนวทางการรักษาแนะนำให้ใช้ยาปฏิชีวนะสำหรับการรักษาการติดเชื้อ จึงนำมาสู่การพัฒนาเภสัชภัณฑ์เพื่อบริหารยาผ่านทางผิวหนังเพื่อรักษาการติดเชื้อ (2)

อาชีพรักษาผิวหนัง เป็นอาชีพหนึ่งที่สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรได้เป็นอย่างดี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2483 มีการเลี้ยงผึ้งอย่างแพร่หลายในหลายจังหวัด โดยผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการเลี้ยงผึ้ง ได้แก่ น้ำผึ้ง ไขผึ้ง เกสรผึ้ง คณะผู้วิจัยเล็งเห็นว่าการเลี้ยงผึ้งให้ผลผลิตที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือชันโรงหรือพรอพอลิส (Propolis) ซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญทางด้านการแพทย์ ในต่างประเทศมีการนำพรอพอลิสมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง เช่น ในประเทศญี่ปุ่น นำพรอพอลิสผลิตเป็นเครื่องดื่มและอาหารบำรุงสุขภาพ ประเทศในยุโรป ใช้เป็นส่วนประกอบของครีมป้องกันผิว ครีมทาหน้า ยาฆ่าเชื้อและโลชั่น เพราะพรอพอลิสมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายและน่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้าน

ออกซิเดชัน ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ด้านจุลชีพ เป็นต้น โดยพบว่าองค์ประกอบและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพอลิเอสที่ได้จากแต่ละพื้นที่ของประเทศไทยนั้นแตกต่างกัน ขึ้นกับสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และพืชพรรณ เนื่องจากประเทศไทยมีความหลากหลายทางพรรณไม้ จึงมีความเป็นไปได้ว่าพอลิเอสของไทย อาจมีองค์ประกอบและสรรพคุณที่แตกต่างจากพอลิเอสที่ได้จากประเทศหรือทวีปอื่น (3)(4)(5) โดยฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียของพอลิเอสมีการวิจัยกันอย่างแพร่หลาย เช่น งานวิจัยของ Vijay D.Wagh ระบุว่าพอลิเอสมีฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียได้หลากหลายทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* (6)

ระบบนำส่งยาทางผิวหนัง เป็นการนำส่งยาแบบเฉพาะที่และเข้าสู่กระแสเลือดที่ผู้ป่วยสามารถใช้ยาได้อย่างสะดวก โดยตัวยาสาคัญจะไม่ถูกทำลายในระบบทางเดินอาหาร ทำให้มีประสิทธิภาพในการใช้ยาสูง และหากพบผลข้างเคียงจากการใช้ยาสามารถหยุดการให้ยาได้ทันที ซึ่งการนำส่งยาทางผิวหนังมีหลายรูปแบบ เช่น โลชั่น ขี้ผึ้ง เจล ครีม เป็นต้น ซึ่งรูปแบบดังกล่าวมีข้อจำกัดในการควบคุมปริมาณการใช้ยาในแต่ละครั้ง โดยระบบนำส่งยารูปแบบอื่น ๆ ที่สามารถควบคุมปริมาณยาที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ เช่น แผ่นแปะผิวหนัง นอกจากนี้ยังมีระบบนำส่งยาทางผิวหนังรูปแบบใหม่ เช่น ระบบพอลิเมอร์ก่อฟิล์ม (Film-forming polymeric systems) ชนิดของเหลวกระจายตัว ซึ่งเป็นเภสัชภัณฑ์รูปแบบใหม่ที่เตรียมง่าย ใช้งานสะดวก และสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาจากตัวรับได้ 2 ช่วง คือ ปลดปล่อยค่อนข้างเร็วในช่วงแรกจากส่วนของยาที่ละลายในสารละลายพอลิเมอร์ และการปลดปล่อยอย่างช้า ๆ จากแผ่นฟิล์มในช่วงที่พอลิเมอร์เกิดฟิล์มอย่างสมบูรณ์แล้ว (7)(8)

ประเทศไทยมีทรัพยากรธรรมชาติที่หลากหลาย อาชีพหลักของคนไทยจึงเน้นในการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรที่มีอยู่ เช่น การทำเกษตรกรรม มะขามจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย พบว่าปลูกมากในจังหวัดเพชรบูรณ์ ส่วนที่ใช้ประโยชน์คือส่วนเนื้อ ใช้เพื่อการบริโภค อย่างไรก็ตามมีเมล็ดมะขามเหลือทิ้งหลังการแปรรูปมะขามเป็นจำนวนมาก ซึ่งคณะผู้วิจัยพบว่าเนื้อจากเมล็ดมะขามสามารถนำมาใช้ในการเตรียมกัมได้ ซึ่งกัมเป็นสารในกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ ไฮโดรคอลลอยด์ (polysaccharide hydrocolloid) เนื่องจากโครงสร้างที่เป็นสายยาว หรือมีกิ่งก้านมาก ทำให้กัมมีความสามารถในการยึดเกาะ จึงนิยมใช้เป็นสารยึดเกาะ สารก่อเจล สารเพิ่มความหนืด ปัจจุบันนิยมนำกัมที่ได้จากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้มากขึ้น เนื่องจากความเป็นพิษต่ำ พองตัวได้ดีใน

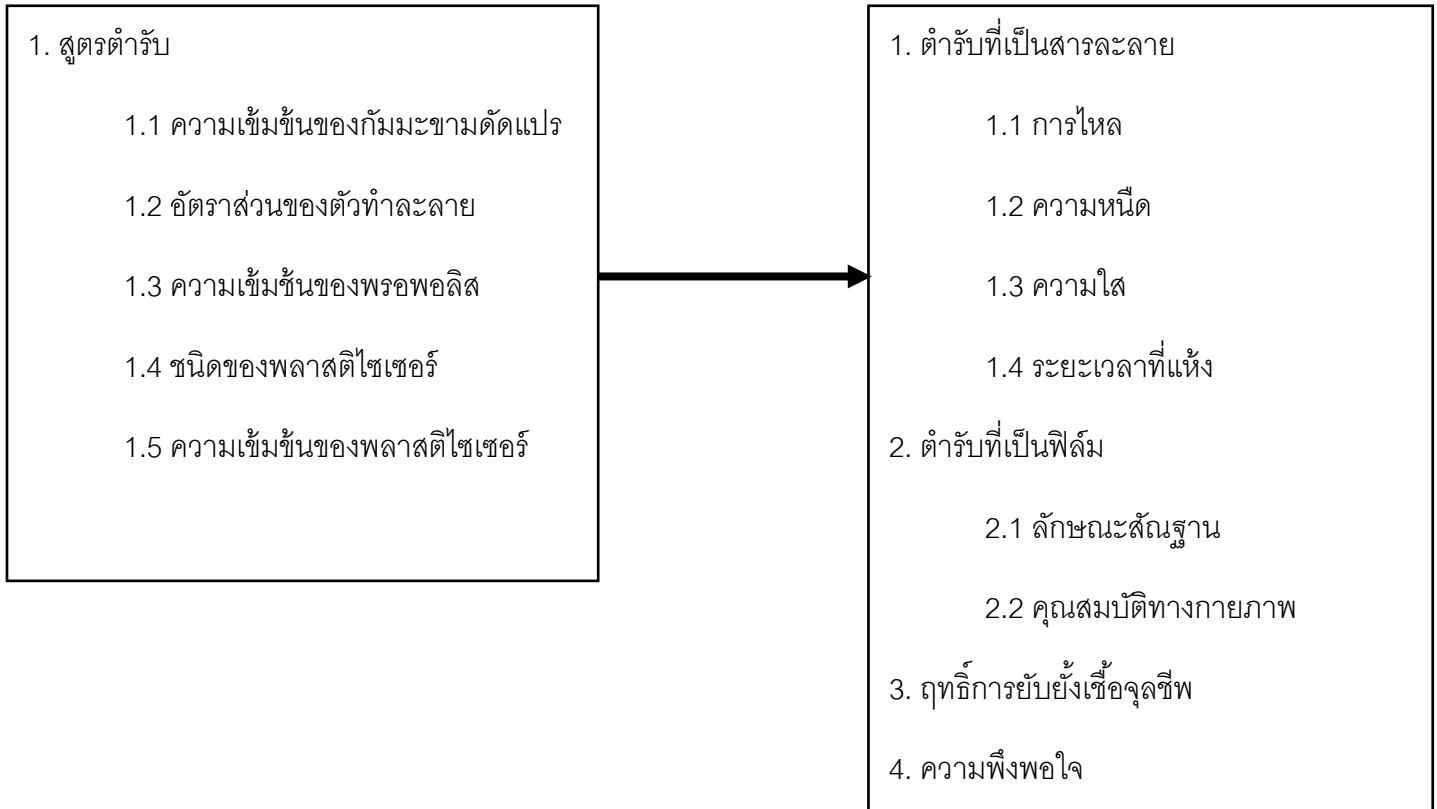
น้ำ และต้นทุนในการผลิตต่ำ อย่างไรก็ตามก็มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำ เพื่อให้สามารถนำกัมจากพืชมาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด จึงจำเป็นต้องปรับปรุงโครงสร้าง เพื่อให้การละลายดีขึ้น ตัวอย่างการปรับปรุงโครงสร้างของกัมเพื่อเพิ่มการละลายน้ำ ได้แก่ การแทนที่หมู่ไฮดรอกซีซึ่งมีจำนวนมากในโครงสร้างของกัมด้วยหมู่คาร์บอกซีเมทิลซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำดีกว่า (9)(10)(11)

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นที่การพัฒนาและประเมินระบบนำส่งทางผิวหนังในรูปแบบระบบกึ่งฟิล์มที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร โดยศึกษาเฉพาะฤทธิ์ด้านจุลชีพของพอลิเมอร์จากประเทศไทย เพื่อเกิดองค์ความรู้ใหม่และเป็นฐานข้อมูลทางความรู้แก่เกษตรกรในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพอลิเมอร์ นอกจากนี้ภาคอุตสาหกรรมโดยเฉพาะอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง และเคมีภัณฑ์ สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์จากผึ้งได้ คณะผู้วิจัยเห็นถึงปัญหาและประเด็นดังกล่าว จึงต้องการพัฒนาระบบนำส่งยาโดยมีสารสำคัญจากพอลิเมอร์จากชันผึ้ง และใช้โพลิเมอร์จากกัมมะขามที่เป็นขยะจากเกษตรกรรม โดยพัฒนาให้มีสรรพคุณของสารสำคัญในทางเภสัชวิทยา และดำรงเป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค

### วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของฟิล์มที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร
2. เพื่อพัฒนาระบบกึ่งฟิล์มเพื่อนำส่งพอลิเมอร์ทางผิวหนัง ที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร เพื่อใช้ด้านจุลชีพที่ผิวหนัง
3. ศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลชีพของระบบกึ่งฟิล์มนำส่งพอลิเมอร์ที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร
4. ศึกษาความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์สเปรย์กึ่งฟิล์มนำส่งพอลิเมอร์ที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร

## กรอบแนวคิดการวิจัย



## สมมติฐานการวิจัย

1. กัมมะขามดัดแปรสามารถใช้เตรียมระบบก่อกำเนิดฟิล์มเพื่อนำส่งพรอพอลิสทางผิวหนังได้
2. ปัจจัยที่สำคัญ ได้แก่ ความเข้มข้นของกัมมะขาม ชนิดและอัตราส่วนของตัวทำละลาย ชนิดและความเข้มข้นสารพลาสติกไฮเซอร์ ความเข้มข้นของพรอพอลิส มีผลต่อสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของฟิล์มที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร
3. ระบบก่อกำเนิดฟิล์มนำส่งพรอพอลิสทางผิวหนังมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลชีพก่อโรคที่ผิวหนัง
4. ผู้ใช้ผลิตภัณฑ์สเปรย์ก่อกำเนิดฟิล์มนำส่งพรอพอลิสที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปรมีความพึงพอใจมากกว่าร้อยละ 80

## ขอบเขตการวิจัยและข้อตกลงเบื้องต้น

เตรียมตำรับระบบก่อฟิล์มโดยใช้กัมมะขามดัดแปรเป็นโพลิเมอร์ในการก่อฟิล์มเพื่อนำส่งพอลิฟอสฟอรัสทางผิวหนัง และประเมินผลของตำรับ ได้แก่ ประเมินการไหลของตำรับ เนื้อสัมผัส ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย และทดสอบความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์

## ข้อจำกัดในการวิจัย

ในงานวิจัยนี้มีข้อจำกัดในเรื่องของเครื่องมือที่ไม่เพียงพอ โดยคณะผู้วิจัยได้รับความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือจากคณะวิทยาศาสตร์ อย่างไรก็ตามอาจมีความล่าช้าในการติดต่อจองเครื่องมือ จึงทำให้ไม่สามารถดำเนินการวิจัยได้ตามแผนที่วางไว้ นอกจากนี้ยังมีปัญหาด้าน การขาดความชำนาญในการใช้งานเครื่องรีโอมิเตอร์เนื่องจากเป็นเครื่องมือใหม่ที่ไม่เคยใช้งานมาก่อน

## นิยามศัพท์เฉพาะ

1. Propolis คือ ชันโรง หรือส่วนผสมที่มีลักษณะเหนียวข้นเป็นยางได้มาจากยางของเปลือกไม้ที่ผึ้งงานรวบรวมมาผสมกับไขผึ้งเพื่อใช้ซ่อมแซมรัง
2. Film-forming system คือ ระบบก่อฟิล์มเพื่อนำส่งสาร
3. Carboxymethylation modification คือ การแทนที่หมู่ไฮดรอกซีซึ่งมีจำนวนมากในโครงสร้างของสาร ด้วยหมู่คาร์บอกซีเมทิล ซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำดีกว่าหมู่ไฮดรอกซี

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำเมล็ดมะขามซึ่งเป็นขยะเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะขาม มาเตรียมกัมมะขามดัดแปร เพื่อใช้เป็นสารช่วยทางเลือกในทางเภสัชกรรมได้
2. นำสารสกัดจากธรรมชาติได้แก่พอลิฟอสฟอรัสที่ได้จากผึ้งมาพัฒนาเป็นตำรับยาใช้ภายนอก ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นการส่งเสริมการใช้สารธรรมชาติที่มีมากในชุมชนภาคตะวันออกของประเทศไทย

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรม

#### 2.1 โรคผิวหนังอักเสบ

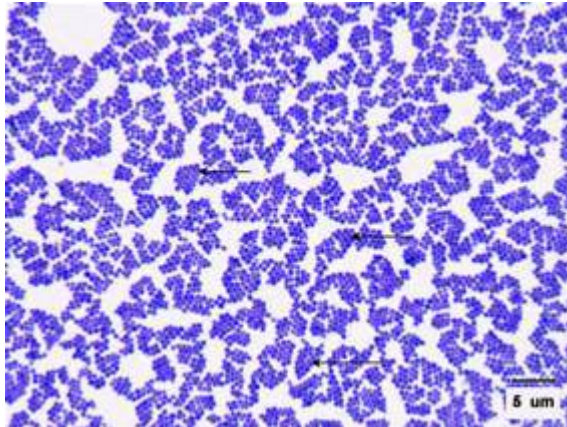
โรคผิวหนังอักเสบเป็นภาวะความผิดปกติของระบบผิวหนังที่พบได้บ่อยในทางเวชปฏิบัติ พยาธิกำเนิดของโรคเกี่ยวข้องกับการสูญเสียการทำงานด้านการปกป้องของผิวหนังชั้นนอก ร่วมกับ กระบวนการอักเสบที่เกิดบริเวณผิวหนังชั้นนอกและผิวหนังชั้นใน โดยพบว่าโรคผิวหนังบางโรคมีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางพันธุกรรม และอาจมีปัจจัยภายนอกส่งเสริมให้เกิดโรค เช่น การสัมผัสสารที่ทำให้เกิดการแพ้หรือระคายเคือง การติดเชื้อรา การรักษาโรคอย่างเหมาะสม โดยผื่นระยะเฉียบพลันมีรอยโรคเบื้องต้นเป็นผื่นแดง ร่วมกับตุ่มน้ำ อาจมีน้ำเหลืองเยิ้มและมีอาการคันมาก ตามแนวทางการรักษาแนะนำให้ใช้ยารับประทานกลุ่มคอร์ติโคสเตียรอยด์ร่วมกับการทำแผลแบบเปียกเพื่อลดการอักเสบและบรรเทาอาการคัน ผื่นระยะกึ่งเฉียบพลันที่เริ่มแห้ง มักมีขุยละเอียดและอาจพบลักษณะผื่นระยะเฉียบพลันร่วมด้วยนั้น อาจพิจารณาให้ยาคอร์ติโคสเตียรอยด์ชนิดทาภายนอกที่มีความแรงและเลือกใช้รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมกับผิวหนังบริเวณรอยโรคเพื่อควบคุมอาการของโรค ส่วนการรักษาผื่นระยะเรื้อรังที่มักพบผิวหนังเป็นปื้นหนา แห้ง มีรอยริ้วผิวหนังที่ชัดเจน และมีอาการคันระดับปานกลางถึงมากควรให้การรักษาด้วยยาคอร์ติโคสเตียรอยด์ชนิดทาภายนอกร่วมกับการทำแผลชนิดปกปิดเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้นบริเวณรอยโรคและทำให้การดูดซึมยาดีขึ้น ยาอื่นที่ใช้ในการรักษาโรคผิวหนังอักเสบ ได้แก่ ยากลุ่มยับยั้งแคลซินูรินที่ลดการอักเสบ โดยลดการเหนี่ยวนำที่ลิ้มโฟไซด์ ยา ยับยั้งตัวรับฮิสตามีนชนิดที่ 1 และยาปฏิชีวนะสำหรับรักษาการติดเชื้อ (2)

#### 2.2 แบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนัง

##### 2.2.1 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างกลม (spherical shape) มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้นๆ เป็นกิ่งหรือเป็นลักษณะพวงองุ่น สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ (facultative anaerobes) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 15-45 องศาเซลเซียสและเจริญ

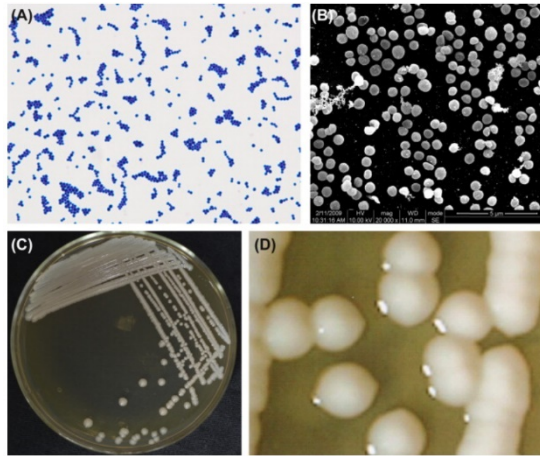
ได้ในระดับความเข้มข้นของเกล็ดสูงถึงร้อยละ 15 โดยเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น การติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อ และโรคอาหารเป็นพิษ มีความรุนแรงตั้งแต่น้อยจนถึงมาก *S.aureus* สามารถเป็น normal flora ที่พบได้บริเวณผิวหนัง ฐานจมูก หรือติดอยู่บนเสื้อผ้า การแพร่กระจายของเชื้อเกิดจากการสัมผัส (12)



รูปที่ 1 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (13)

#### 2.2.2 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

*Staphylococcus epidermidis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาด 0.5-1.5 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก สีขาว สามารถเจริญได้ทั้งภาวะที่มีออกซิเจนหรือออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (14) มักพบบริเวณผิวหนังและเยื่อเมือก (mucosa) เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยที่ใส่สายสวนปัสสาวะเป็นเวลานาน และเป็นสาเหตุการติดเชื้อบริเวณลิ้นหัวใจ (endocarditis) ในผู้ใช้ลิ้นหัวใจเทียม (prosthetic valves) และผู้ติดยาเสพติดชนิดฉีดเข้าเส้น (Intravenous drug abuser) (12)



รูปที่ 2 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* (14)

### 2.3 พรอพอลิส (Propolis)

พรอพอลิส เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากผึ้ง มีลักษณะเป็นยางเหนียว ซึ่งผึ้งเก็บมาจากส่วนต่าง ๆ ของพืชจากแหล่งที่แตกต่างกัน แล้วสะสมไว้ที่รังผึ้ง คำว่า “Propolis” มาจากภาษากรีก โดย pro- หมายถึง ป้องกัน ส่วน -polis หมายถึง เมือง รวมแล้ว หมายถึง ป้องกันเมืองหรือรังผึ้ง หน้าที่ของพรอพอลิส คือ ใช้อุดรูรั่วที่รัง และป้องกันไม่ให้ศัตรูหรือเชื้อโรคเข้ามารุกรานในรังได้ ผึ้งเก็บสะสมสารคัดหลั่งจากส่วนที่เป็นแผล ส่วนที่แตกออกของเปลือกไม้ หรือส่วนใบอ่อน โดยสารดังกล่าวอาจเป็นเรซิน กัม หรือสารอื่น ๆ หลังจากผึ้งนำส่วนที่ได้จากพืชแล้วนำมาผสมกับเอนไซม์ในน้ำลายผึ้งโดยอาจจะมีไขผึ้งและส่วนประกอบอื่น ๆ ปนมาเล็กน้อย ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าพรอพอลิสประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ เรซินของพืช สารคัดหลั่งจากผึ้ง และส่วนประกอบอื่น ๆ ระหว่างกระบวนการผลิตพรอพอลิส (15)(16)(17) มีการนำพรอพอลิสมาใช้รักษาโรคต่าง ๆ ตั้งแต่อดีตจนกระทั่งปัจจุบัน จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิส พบว่าพรอพอลิสที่ได้จากบริเวณที่มีภูมิประเทศแตกต่างกันมักจะมียาองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันด้วย ซึ่งจะส่งผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพของพรอพอลิสแตกต่างกันไป ด้านงานวิจัย พบว่าในทุก ๆ ปีมีวารสารนานาชาติมากมายที่ตีพิมพ์เกี่ยวกับพรอพอลิส เนื่องจากพรอพอลิสมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายและน่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้านเนื้องอก (26)(27) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (28) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (29)(30)(31) และฤทธิ์ต้านจุลชีพ (24)(25) เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ต้านเนื้องอกของพรอพอลิสนั้นอยู่ในความสนใจของนักวิจัยเป็นจำนวนมาก

มาก จนกระทั่งปัจจุบันมีการศึกษาถึงระดับกลไกในการต้านเนื้องอกของสารสำคัญจากพรอพอลิส (26)(27)

ปัจจุบันมีการนำพรอพอลิสมาใช้เป็นสมุนไพร และในบางประเทศทำเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีการกล่าวอ้างว่าสามารถใช้สมานแผล และรักษาโรคผิวหนังต่าง ๆ ได้แก่ สิว (acne) เริม (herpes simplex) และโรคสะเก็ดเงิน (psoriasis) นอกจากนี้ ยังมีฤทธิ์เป็นยาชา (anesthetic) และใช้รักษาโรคเหงือกอักเสบ (gingivitis) ได้ ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเครื่องอุปโภค บริโภค ก็นำพรอพอลิสมาเป็นส่วนประกอบด้วย เช่น ผลิตภัณฑ์รักษาสิว สบู่ ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก หรือยาระดม โดยมุ่งเน้นคุณสมบัติด้านจุลชีพของพรอพอลิสเป็นสำคัญ (16)(17)



รูปที่ 3 ลักษณะของพรอพอลิส (19)

### 2.3.1 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมี

ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสจะแตกต่างกันตามภูมิประเทศที่เป็นแหล่งกำเนิด เนื่องจากชนิดของพืชที่ผึ้งเก็บยางเหนียวมาสร้างพรอพอลิสแตกต่างกันไปตามสภาพภูมิประเทศทำให้สารเคมีที่อยู่ในพรอพอลิสแตกต่างกันไปด้วย ฤดูที่ผึ้งเก็บพรอพอลิสมีส่วนทำให้องค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของพรอพอลิสเปลี่ยนแปลงได้ (20) ซึ่งลักษณะภายนอกที่สังเกตเห็นได้ชัดเจนคือ สี โดยปกติแล้วสีของพรอพอลิสมีความแตกต่างกันไปตั้งแต่สีเหลืองออกเขียวไปจนถึงสีน้ำตาลดำ โดยแตกต่างกันไปตามแหล่งกำเนิดและองค์ประกอบทางเคมี เช่น พรอพอลิสที่ได้จากประเทศไทยมีลักษณะสีน้ำตาลดำ ส่วนพรอพอลิสที่ได้จากประเทศบราซิลมีหลายสีตั้งแต่สีน้ำตาล สีเขียว จนถึงสีแดง เป็นต้น และมีกลิ่นเฉพาะตัว เมื่อนำพรอพอลิสไปเก็บไว้ในที่เย็นจะแข็งและเปราะแตกง่าย หากเก็บในที่ร้อนจะนุ่มและเหนียว (21) สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสนั้น ส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ได้แก่ ฟลาโวนส์ (flavones) และฟลาวาโนนส์ (flavanones) เป็นต้น ซึ่งพบได้มากในพืช เนื่องจากพรอพอลิสได้จากพืช

ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะพบสารที่พบในพืชแล้วมีอยู่ในพรอพอลิสด้วย นอกจากนี้ยังพบอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ ด้วย บางชนิดพบได้ในพืชแต่บางชนิดพบเฉพาะในพรอพอลิส เนื่องจากสารต่าง ๆ ที่ผึ้งเก็บมาจากพืชอาจถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีได้โดยอาศัยเอนไซม์จากน้ำลายของผึ้ง ระหว่างขั้นตอนการเก็บเรซินจากพืช นอกจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ยังพบสารกลุ่มอื่น เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และเทอร์ปีน (terpenes) เป็นต้น (16)(22)

### 2.3.2 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

พรอพอลิสมีองค์ประกอบของสารเคมีที่แตกต่างกันหลายชนิด ดังนั้นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพรอพอลิสที่มีรายงานจึงค่อนข้างหลากหลาย ตัวอย่างเช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) ฤทธิ์ต้านเนื้องอก (antitumor activity) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidative activity) ฤทธิ์ในการปกป้องตับ (hepatoprotective effect) และฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) เป็นต้น (23)

#### 1) ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial activity)

คุณสมบัติสำคัญของพรอพอลิสที่สะสมในรังผึ้ง คือ การป้องกันการรุกรานของแมลงหรือเชื้อจุลชีพ ดังนั้นพรอพอลิสจึงน่าจะมีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพได้ จากการศึกษาพบว่ามีรายงานจำนวนมากที่กล่าวถึงการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของพรอพอลิสจากแหล่งต่าง ๆ พรอพอลิสก็มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย รา โปรโตซัว และไวรัสได้ ตัวอย่างรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลชีพของพรอพอลิสดังแสดงในตารางที่ 1 (24)(25)

ตารางที่ 1 รายงานการวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลชีพของพรอพอลิส

| แหล่งกำเนิดพรอพอลิส | กลุ่มสารที่ออกฤทธิ์                | เชื้อจุลชีพที่ยับยั้งได้         | คณะผู้วิจัย               |
|---------------------|------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| บราซิล              | Phenolic compounds                 | <i>Staphylococcus aureus</i>     | Bankova et al. (1995)     |
|                     | Labdane-type diterpenes            | <i>Staphylococcus aureus</i>     | Bankova et al. (1996)     |
|                     | Phenolic compounds                 | <i>Helicobacter pylori</i>       | Hashimoto et al. (1998)   |
|                     | Phenolic compounds                 | <i>Trypanosoma cruzi</i>         | Macucci et al. (2001)     |
| ชิลี                | Phenolic compounds                 | <i>Mycobacterium spp.</i>        | Valcic et al. (1999)      |
| บัลแกเรีย           | Ester of substituted cinnamic acid | A/H1N1, A/H3N2 (influenza virus) | Serkedjieva et al. (1992) |

## 2) ฤทธิ์ต้านเนื้องอก (Antitumor activity)

นักวิจัยสนใจศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษต่อเซลล์ของพอลิฟีนอล เนื่องจากมีการค้นพบสารสำคัญจากพอลิฟีนอลที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ค่อนข้างมากนั่นก็คือ Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) สารดังกล่าวมีสูตรโครงสร้างไม่ซับซ้อนและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ดี ดังรายงานวิจัย ในปี ค.ศ. 1988 Grunberger และคณะได้สกัดแยกสาร CAPE จากพอลิฟีนอลของประเทศอิสราเอล พบว่าสาร CAPE ที่ได้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด หลังจากงานวิจัยนี้ มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ของสาร CAPE ต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ รวมทั้งศึกษากลไกในการออกฤทธิ์ด้วย ดังรายงานในปี ค.ศ. 1996 ของ Nataranja และคณะที่ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสาร CAPE ต่อ nuclear factor ที่ชื่อ nuclear factor kappa beta (NF- $\kappa$ B) พบว่า สาร CAPE จะกระตุ้นการทำงานของ NF- $\kappa$ B ได้โดยการยับยั้ง tumor necrosis factor (TNF) อย่างสมบูรณ์ ซึ่งจะยับยั้งแบบ dose dependent และ time dependent ต่อมาในปี ค.ศ. 2000 Weyant และคณะพบว่าสาร CAPE มีผลต่อการเกิด expression ของเอนไซม์ focal adhesion kinase (FAK) โดยมีผลลดการเกิดกระบวนการ tyrosine phosphorylation ของเซลล์มะเร็งลำไส้ของมนุษย์ (26) ซึ่ง FAK เป็นเอนไซม์ที่มีผลต่อการเคลื่อนไหวและอยู่รอดของเซลล์ การที่เอนไซม์ชนิดนี้ในเซลล์มะเร็งทำงานได้ดีมีผลทำให้เซลล์มะเร็งมีขนาดใหญ่ขึ้น และแบ่งตัวได้เร็วขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานเพิ่มเติมในปีเดียวกันโดย Na และคณะ พบว่าสาร CAPE สามารถต้านมะเร็งได้โดยการทำให้ gap junctional intercellular communication (GJIC) เป็นปกติ (27)

## 3) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidative activity)

พอลิฟีนอลมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แรง ดังนั้นพอลิฟีนอลจึงมีคุณสมบัติดังกล่าวด้วยเช่นกัน ในปี ค.ศ. 1995 พบว่าสาร CAPE นอกจากจะมีฤทธิ์ต้านเนื้องอกแล้วยังมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ด้วย โดยสามารถยับยั้งการเกิด reactive oxygen species (ROS) ได้อย่างสมบูรณ์ด้วยความเข้มข้นเท่ากับ 10 ไมโครโมลาร์ จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน่าจะมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านเนื้องอก เนื่องจาก ROS มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดมะเร็งได้ โดยทำหน้าที่เป็นตัวนำรหัสลำดับที่สอง (secondary messenger) สำหรับวิถี signal transduction ในการเกิด proliferation ของเซลล์มะเร็ง ซึ่งสารต้านออกซิเดชันจะไปลดปริมาณ ROS ลง (28)

#### 4) ฤทธิ์ด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity)

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ด้านการอักเสบของพอลิฟีนอลอย่างต่อเนื่อง ทั้งแบบ *in vitro* และแบบ *in vivo* ดังรายงานการวิจัย ในปี ค.ศ. 1996 Park และคณะได้ทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยอาศัยแบบจำลองการบวมน้ำของอุ้งเท้าหนูขาวใหญ่ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยคาราจีแนน จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดพอลิฟีนอลสามารถยับยั้งการบวมน้ำของอุ้งเท้าหนูขาวใหญ่ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยคาราจีแนนได้ที่ปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (29) ต่อมาในปี ค.ศ. 1997 Sosa และคณะได้ศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดพอลิฟีนอล โดยใช้แบบจำลองการทำให้หนูขาวเล็ก (mice) บวมน้ำจากการเหนี่ยวนำด้วย croton oil ซึ่งเป็นน้ำมันที่สกัดจาก *Croton tiglium* พบว่าสารสกัดพอลิฟีนอลสามารถออกฤทธิ์ด้านการอักเสบได้เทียบเท่ากับยา indomethacin (30) สำหรับการศึกษาแบบ *in vivo* นั้น ในปี ค.ศ. 1996 Mirzoeva และ Calder ได้นำสารสกัดเอทานอลและสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์เสริมอาหารพอลิฟีนอล ได้แก่ CAPE, caffeic acid, quercetin และ naringenin มาทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ โดยดูจากเมแทบอลิซึมของ arachidonic acid พบว่าสารสกัดเอทานอลของพอลิฟีนอลสามารถยับยั้งเมแทบอลิซึมของ arachidonic acid ในวิถี lipoxigenase ระหว่างกระบวนการอักเสบได้ ส่วนสารสำคัญนั้น พบว่า สาร CAPE ออกฤทธิ์ด้านการอักเสบได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับสารอื่นที่นำมาทดลอง (31)

## 2.4 ระบบก่อฟิล์ม (Film-forming system)

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีขนาดใหญ่ที่สุดของร่างกายมนุษย์ (ประมาณร้อยละ 17 ของน้ำหนักตัว) มีความหนาอยู่ที่ 3-5 มิลลิเมตร ขึ้นอยู่กับบริเวณที่ปกคลุมร่างกาย หน้าที่หลักของผิวหนัง คือ ป้องกันไม่ให้อวัยวะภายในร่างกายถูกทำลายจากสิ่งกระตุ้นภายนอก เช่น การกระแทก รังสี สารเคมี สารพิษ หรือเชื้อโรคจากภายนอกในร่างกาย นอกจากนี้ผิวหนังยังมีหน้าที่ในการควบคุมสมดุลของ อุณหภูมิและความชื้นภายในร่างกาย (1) นอกจากนี้ผิวหนังยังเป็นอวัยวะสำคัญที่ให้นำส่งยาเข้าร่างกาย การนำส่งยาทางผิวหนังได้รับความสนใจเนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกในการบริหารยา ผู้ป่วยสามารถใช้ยาและหยุดยาได้ทันทีด้วยตนเองต่างจากการให้ยาทางอื่น ผู้ป่วยไม่เจ็บตัวเมื่อเทียบกับการให้ยาโดยการฉีด นอกจากนี้การนำส่งทางผิวหนังให้ระดับยาในเลือดค่อนข้างคงที่มากกว่าวิธีการรับประทาน ส่วนหนึ่งเนื่องจากยาไม่ถูกทำลายในระบบทางเดินอาหาร ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการให้ยาลดลง จากข้อดีดังกล่าว

ข้างต้นการให้ยาทางผิวหนังจึงสามารถช่วยเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วยได้ รูปแบบยาที่ใช้ นำส่งทางผิวหนังมีหลายรูปแบบ เช่น ขี้ผึ้ง ครีม เจล อิมัลชัน (32)

#### 2.4.1 กลไกของระบบก่อกฟิล์มและการซึมผ่าน

ระบบก่อกฟิล์ม (Film-forming system) เป็นรูปแบบการนำส่งยาแบบใหม่ ที่ใช้การบริหารยาผ่านทางผิวหนังโดยตรง หลังจากการบริหารไปแล้ว เมื่อเวลาผ่านไปตัวทำละลายในสารละลายจะระเหยออกไป เหลือเป็นฟิล์มบางใส เคลือบอยู่บนผิวหนัง ในขั้นนี้ความเข้มข้นของยาจะเพิ่มมากขึ้นจนถึงจุดอิ่มตัว การที่สารถึงจุดอิ่มตัวเป็นผลทำให้เพิ่มการซึมผ่านยาเข้าสู่ผิวหนังได้มากขึ้น โดยหลักการของสารที่อิ่มตัว สามารถอธิบายได้จาก Fick's law of diffusion (33)

$$J = \frac{DKCv}{h}$$

|                            |                                                               |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------|
| $J$ (mol/m <sup>2</sup> s) | = อัตราการซึมผ่านของยาต่อหน่วยพื้นที่ของผิวหนังต่อเวลา (Flux) |
| $D$ (m <sup>2</sup> /s)    | = ค่า Diffusion coefficient ของยา                             |
| $Cv$ (mol/m <sup>3</sup> ) | = ความเข้มข้นของยา                                            |
| $h$ (m)                    | = ความหนาของผิวหนัง                                           |
| $K$                        | = ค่าคงที่การแพร่กระจาย                                       |

#### 2.4.2 เกสซ์ภักฐ์รูปแบบก่อกฟิล์มและเกสซ์ภักฐ์รูปแบบต่าง ๆ

##### 1) แผ่นแปะผิวหนัง (Patches)

แผ่นแปะผิวหนังเป็นระบบนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง มีข้อดีคือ ตัวยาค่อย ๆ ปลดปล่อยออกมา ทำให้ไม่ต้องให้ยาบ่อย เหมาะกับยาที่ถูกทำลายได้ในระบบทางเดินอาหาร หรือเกิดปฏิกิริยากับอาหาร รวมทั้งผู้ที่ไม่สามารถรับประทานยาได้ แต่อาจทำให้เกิดการระคายเคืองบริเวณที่แปะ หรืออาการแพ้ นอกจากนี้ยังยากต่อการปรับขนาดยาอีกด้วย (34)



รูปที่ 4 แผ่นแปะผิวหนังที่ใช้ในปัจจุบัน (35)

## 2) ยาเตรียมรูปแบบกึ่งของแข็ง (Semisolids)

เป็นยาเตรียมที่ในสภาพปกติจะสามารถคงตัวตามภาชนะบรรจุ แต่เมื่อใช้ทาบนร่างกายจะหลอมตัวเป็นของเหลว ง่ายต่อการถูทาบนผิวหนัง ตัวอย่างยาเตรียมประเภทกึ่งของแข็ง เช่น ยาขี้ผึ้ง (Ointments) ครีม (Creams) เฟสท์ (Pastes) (36)



รูปที่ 5 ลักษณะยาขี้ผึ้งหรือครีมที่ใช้ในปัจจุบัน (37)

### 2.4.3 การนำระบบนำส่งยาแบบกึ่งฟิล์มไปใช้ในทางการแพทย์

ปัจจุบันมีการนำระบบกึ่งฟิล์มไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ที่หลากหลาย เช่น การนำไปใช้เกี่ยวกับด้านการผ่าตัด การรักษาแผล นอกจากนี้ยังนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์เสริมความงาม เช่น การรักษาผิว ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง มาร์คหน้าที่สามารถลอกออกได้ (38) ดังรายงานวิจัยของ Nitin Merubhai Mori ที่พัฒนาระบบกึ่งฟิล์มเพื่อนำส่งยาไวรัสโคโรนาโซล สำหรับรักษาการติดเชื้อไวรัสโควิด-19 (39)

#### 2.4.4 คุณสมบัติของระบบก่อกฟิล์ม

ยาเตรียมรูปแบบระบบก่อกฟิล์มมีคุณสมบัติที่ยืดหยุ่นได้ทำให้สามารถบริหารยาได้ทุกบริเวณของผิวหนัง และสามารถติดทนบนผิวหนังได้ยาวนาน แห้งเร็ว ไม่รู้สึกเหนอะหนะ ลอกออกง่าย ไม่เลอะเทอะเสื้อผ้า ทำให้ไม่ต้องสูญเสียตัวยาสำคัญไปกับเสื้อผ้า (33)

#### 2.4.5 ส่วนประกอบของระบบก่อกฟิล์ม

##### 1) ตัวยาหรือสารสำคัญในการออกฤทธิ์

ตัวยาหรือสารสำคัญในการออกฤทธิ์ในระบบก่อกฟิล์มในรูปแบบแผ่นแปะต้องมีความเหมาะสมกับระบบก่อกฟิล์มนั้น ๆ โดยคุณสมบัติของยาที่นิยมใช้สำหรับระบบนี้มักเป็นยาที่มีความแรงสูง และสามารถซึมผ่านชั้นผิวหนังได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ตัวยาคควรมีการกระจายตัวที่ดี อีกทั้งมวลโมเลกุลของตัวยาก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการซึมผ่านของยาผ่านทางชั้นผิวหนังเช่นกัน โดยโมเลกุลขนาดเล็กจะสามารถซึมผ่านชั้นผิวหนังได้ดีกว่าขนาดใหญ่ สำหรับคุณสมบัติในอุดมคติของตัวยาที่เหมาะสมสำหรับระบบก่อกฟิล์มในรูปแบบแผ่นแปะ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คุณสมบัติในอุดมคติของตัวยาที่เหมาะสมสำหรับระบบก่อกฟิล์มในรูปแบบแผ่นแปะ

| พารามิเตอร์                           | คุณสมบัติของตัวยา         |
|---------------------------------------|---------------------------|
| ขนาดยา                                | น้อยกว่า 10 มิลลิกรัม/วัน |
| ค่าครึ่งชีวิต                         | น้อยกว่า 10 ชั่วโมง       |
| น้ำหนักโมเลกุล                        | น้อยกว่า 500 ดาลตัน       |
| สัมประสิทธิ์การกระจายตัวของยา (Log P) | 1-3                       |
| ปฏิกิริยาต่อผิว                       | ไม่ไวหรือระคายเคืองต่อผิว |
| ค่าชีวประสิทธิผลโดยการบริหารยาทางปาก  | ต่ำ                       |

##### 2) พอลิเมอร์

พอลิเมอร์เป็นส่วนประกอบพื้นฐานของระบบก่อกฟิล์ม เพื่อให้ได้คุณสมบัติของฟิล์มตามที่ต้องการ โดยอาจใช้พอลิเมอร์เพียงตัวเดียวหรือหลายตัวก็ได้ (40) พอลิเมอร์ที่เหมาะสมกับระบบก่อกฟิล์มควรมีลักษณะที่ใสและยืดหยุ่นได้ดีที่อุณหภูมิผิวหนังเมื่อก่อตัวเป็นฟิล์ม

ตารางที่ 3 พอลิเมอร์สำหรับระบบก่อกฟิล์ม

| พอลิเมอร์                                                                         | คุณสมบัติของพอลิเมอร์                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hydroxypropyl                                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• สีส่อน</li> </ul>                                                                                                                                                                 |
| Methylcellulose (HPMC)                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ไม่มีความมันทำให้ฟิล์มมีเนื้อสัมผัสที่ดี</li> </ul>                                                                                                                               |
| HPMC (E4M, E15, E50M, K4M) (41)                                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ไม่ทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบอื่นๆ ในตำรับ</li> <li>• ช่วยทำให้ผิวหน้าของสารออกฤทธิ์ดูดซับน้ำ จึงง่ายต่อการกระจายตัว ลื่น และให้ความรู้สึกสบายเมื่อนำมาใช้บริเวณผิว (42)</li> </ul> |
| Ethyl cellulose (EC)                                                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ไม่มีพิษ, ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง</li> <li>• มีคุณสมบัติเป็นสารก่อกฟิล์มที่ดีและเพิ่มความเหนียว ทนทานแกฟิล์ม (43)</li> </ul>                                                   |
| Hydroxypropyl cellulose (HPC)                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ไม่มีขี้, เป็นพอลิเมอร์ที่ไวต่อค่า pH</li> <li>• สามารถละลายน้ำได้ (44)</li> </ul>                                                                                                |
| Poly vinyl Pyrrolidone (PVP) (PVP K30, PVP VA64)                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• สามารถละลายในน้ำและตัวทำละลายอื่นๆ ได้</li> <li>• มีคุณสมบัติเป็นสารยึดติด</li> <li>• แสดงบทบาทเป็นสารเพิ่มชีวประสิทธิผล (45)</li> </ul>                                          |
| Poly vinyl alcohol (PVA)                                                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• สามารถละลายน้ำได้</li> <li>• เป็นสารก่อกฟิล์มที่ดีเยี่ยมและมีคุณสมบัติเป็นสารยึดติด</li> <li>• ไม่มีพิษ, เข้ากันได้กับสารทางชีวภาพ (46)</li> </ul>                                |
| Chitosan                                                                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• สามารถก่อกฟิล์มได้อย่างดีเยี่ยม</li> <li>• เปิดไทท์ จังหวะของเยื่อเมือก เพื่อช่วยเพิ่มการซึมผ่านของตัวยา (47)</li> <li>• ใช้เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยยาได้ (48)</li> </ul>         |
| Eudragit (polymethacrylates copolymer) Eudragit RS 100, RL 100, NE, RS 30D, S 100 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• มีความใส, ยึดหยุ่น</li> <li>• ยึดเกาะกับผิวได้ดี (49)</li> </ul>                                                                                                                  |

ตารางที่ 3 พอลิเมอร์สำหรับระบบก่อกฟิล์ม (ต่อ)

| พอลิเมอร์                   | คุณสมบัติของพอลิเมอร์                       |
|-----------------------------|---------------------------------------------|
| Silicones                   | ● ใสน้ำสามารถระเหยผ่านฟิล์มได้              |
| Polydimethylsiloxane (PDMS) | ● ช่วยเพิ่มความแข็งแรงทนทานให้แก่ฟิล์ม (50) |
| Acrylates copolymer         | ● เหนียว, ป้องกันการสึกกร่อนของฟิล์ม (51)   |
| Avalue® AC 118, AC 120      |                                             |

## 3) ตัวทำละลาย

ตัวทำละลายเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการก่อกฟิล์ม ตัวทำละลายที่ใช้ในระบบก่อกฟิล์มจะช่วยให้การละลายตัวยาโดยจะส่งผลกระทบต่ออัตราการซึมผ่านของยาด้วย (52) สำหรับตัวทำละลายที่นิยมใช้สำหรับผิวหนังหรือแผ่นแปะ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ตัวทำละลายที่ใช้ในระบบนำส่งทางผิวหนัง

| ประเภทของตัวทำละลาย | ตัวอย่างตัวทำละลาย                                                              |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| ไกลคอล              | Propylene glycols, Polyethylene glycols                                         |
| แอลกอฮอล์           | Ethanol, Butanol, Isopropanol, Benzyl alcohol, Lanolin alcohols, Fatty alcohols |
| ตัวทำละลายอื่น ๆ    | Ethyl acetate, Oleic acid, Isopropyl myristate                                  |

## 4) พลาสติไซเซอร์

พลาสติไซเซอร์ช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นและความทนต่อแรงดึงของฟิล์ม โดยควรเลือกใช้พลาสติไซเซอร์ที่เข้ากันได้กับพอลิเมอร์และมีการซึมผ่านผิวหนังต่ำ พลาสติไซเซอร์ที่นิยมใช้ เช่น glycerine, polyethylene glycol, sorbitol, dibutyl phthalate, propylene glycol, triethyl citrate ฯลฯ (53)

## 2.4.6 การประเมินระบบก่อดัชนี

### 1) การก่อดัชนี

การประเมินการก่อดัชนีจะดูจากความเป็นเนื้อเดียวกันของฟิล์มที่ก่อดัชนีบน petri dish, ดูตะกอนที่เกิดจากพอลิเมอร์ สำหรับความสวยงามของแผ่นฟิล์มจะประเมินจากความใส, ความเหนียวหรือการแห้งของฟิล์ม และผิวสัมผัสของฟิล์ม (54)

### 2) ความยืดหยุ่นของฟิล์ม

ความยืดหยุ่นของฟิล์มจะประเมินจากการแตกและการยึดติดของฟิล์มบนผิวหนัง โดยทำการยึดเหนี่ยวผิวหนัง 2-3 ทิศทาง หากไม่มีการแตกออกของฟิล์มหรือฟิล์มยังมีการยึดติดอยู่บนผิวหนังแปลว่าฟิล์มมีความยืดหยุ่น หากฟิล์มมีการแตกและไม่ยึดติดบนผิวหนังแปลว่าฟิล์มไม่มีความยืดหยุ่น

### 3) ระยะเวลาในการแห้ง

การประเมินระยะเวลาในการแห้งของตัวรับ ทำโดยสเปรย์ฟิล์มลงบนท้องแขนของอาสาสมัคร โดยก่อนหน้าที่จะทำการประเมินในอาสาสมัคร ต้องมีการประเมินระยะเวลาในการแห้งของตัวรับโดยสเปรย์หรือเทตัวรับลงบนแผ่นกระจกในสภาวะที่ปราศจากความดัน โดยทำการกำหนดเวลาหากเมื่อเวลาผ่านไปตามเวลาที่กำหนดแล้ว ตัวรับที่นำมาประเมินมีความแห้งหรือปราศจากของเหลวแสดงว่าตัวรับใช้เวลานั้น ๆ ในการแห้ง (55) หากเมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้วตัวรับยังไม่แห้งหรือยังมีของเหลวปรากฏอยู่ ให้ทำการประเมินซ้ำโดยเพิ่มระยะเวลาที่กำหนดในการแห้งของตัวรับ โดยระบบก่อดัชนีที่ดีควรมีระยะเวลาในการแห้งที่น้อยที่สุด

### 4) ความเหนียว

ความเหนียวของฟิล์มที่ก่อดัชนี ประเมินจากการกดลำลิ้นบนฟิล์มที่แห้งแล้วอย่างเบามือ โดยพิจารณาจากปริมาณเส้นใยลำลิ้นที่ติดอยู่บนฟิล์ม หากมีปริมาณเส้นใยลำลิ้นติดอยู่บนฟิล์มปริมาณมาก แสดงว่าฟิล์มมีความเหนียวมาก หากมีปริมาณเส้นใยลำลิ้นติดอยู่บ้าง ๆ แสดงว่าฟิล์มมีความเหนียวปานกลาง และหากมีเส้นใยติดอยู่บ้างหรือไม่มีปริมาณเส้นใยติดอยู่เลย แสดงว่าฟิล์มมีความเหนียวน้อย โดยการประเมินความเหนียวนี้มีความสำคัญต่อการตั้งตัวรับ เนื่องจากตัวรับที่ได้ไม่ควรมีความเหนียว เพื่อหลีกเลี่ยงการที่ฟิล์มเลอะติดเสื้อผ้าของผู้ป่วย (56)

### 5) สมบัติทางกล

เริ่มจากการเตรียมฟิล์มพอลิเมอร์โดยการระเหยตัวทำละลายออกจากตัวรับที่อยู่ในเพลท จากนั้นตัดฟิล์มที่แห้งด้วยมีดผ่าตัด และวัดความหนาของฟิล์มโดยใช้ digital micrometer สำหรับคุณสมบัติทางกลของฟิล์มจะพิจารณาจากการทดสอบความความต้านทานแรงดึงของฟิล์ม (57)

ความเค้น( $\sigma$ ) คำนวณได้จากสมการ

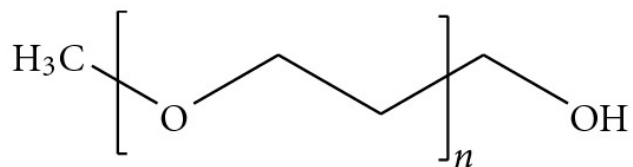
$$\sigma = \frac{F_{\max}}{A}$$

เมื่อ  $F_{\max}$  (นิวตัน) = แรงสูงสุดที่ใช้

A (ตารางเมตร) = พื้นที่หน้าตัด

## 2.5 Polyethylene Glycol

Polyethylene Glycol มีชื่อเรียกอื่น เช่น Carbowax, Lipoxol, PEG, Polyoxyethylene glycol, Macrogol ซึ่ง PEG เป็นชื่อที่รู้จักกันเป็นอย่างดี สูตรโมเลกุล คือ  $H(OCH_2CH_2)_nOH$  (58) นิยมใช้เป็น ยาพื้นชี่ผึ้ง, พลาสติไซเซอร์, ตัวทำละลาย, ยาพื้นยาเหน็บ และสารหล่อลื่นสำหรับยาเม็ดตอก และยาเม็ดแคปซูล น้ำหนักโมเลกุลจะขึ้นอยู่กับสูตรโครงสร้าง ดังแสดงในตารางที่ 2.5 ในทางเภสัชกรรม Polyethylene Glycol (PEGs) นิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการตั้งสูตรตำรับ ทั้งในยาฉีด, ยาทา, ยาหยอดตา และยาสวนทวาร นอกจากนี้ยังใช้ในระบบควบคุมการปลดปล่อยยา (59) และใช้ในการเคลือบฟิล์ม (60) PEG เป็นสารที่มีความคงตัวสูงและมีความชอบน้ำ ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังเนื่องจากสารสามารถละลายน้ำทำให้ง่ายต่อการทำความสะอาด ซึ่ง PEG 200-600 จะมีคุณสมบัติเป็นของเหลวใส ไม่มีสี หรืออาจมีสีเหลืองอ่อน และมีความหนืด มีกลิ่นอ่อน ๆ และรสชาติขมเล็กน้อย สามารถละลายได้ใน อะซีโตน, แอลกอฮอล์, เบนซีน, กลีเซอริน และไกลคอล สำหรับ PEG 1000 ขึ้นไปจะมีคุณสมบัติเป็นของแข็งสีขาว หรือมีสี อยู่ในรูปชี่ผึ้ง สามารถละลายได้ใน อะซีโตน, dichloromethane, เอทานอล 95% และ เมทานอล แต่ไม่ละลายในไขมันและ mineral oil



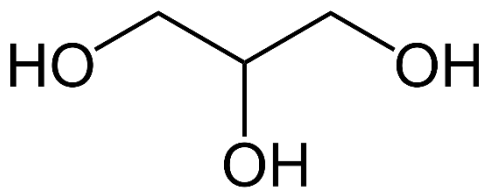
รูปที่ 6 โครงสร้าง Polyethylene Glycol (61)

ตารางที่ 5 น้ำหนักโมเลกุล

| ชนิดของ PEGs | น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย |
|--------------|----------------------|
| PEG 200      | 190-210              |
| PEG 300      | 285-315              |
| PEG 400      | 380-420              |
| PEG 600      | 570-613              |
| PEG 900      | 855-900              |
| PEG 1000     | 950-1050             |
| PEG 1450     | 1300-1600            |
| PEG 1540     | 1300-1600            |
| PEG 2000     | 1800-2200            |
| PEG 3000     | 2700-3300            |
| PEG 3350     | 3000-3700            |
| PEG 4000     | 3000-4800            |
| PEG 4600     | 4400-4800            |
| PEG 8000     | 7000-9000            |

## 2.6 Glycerin

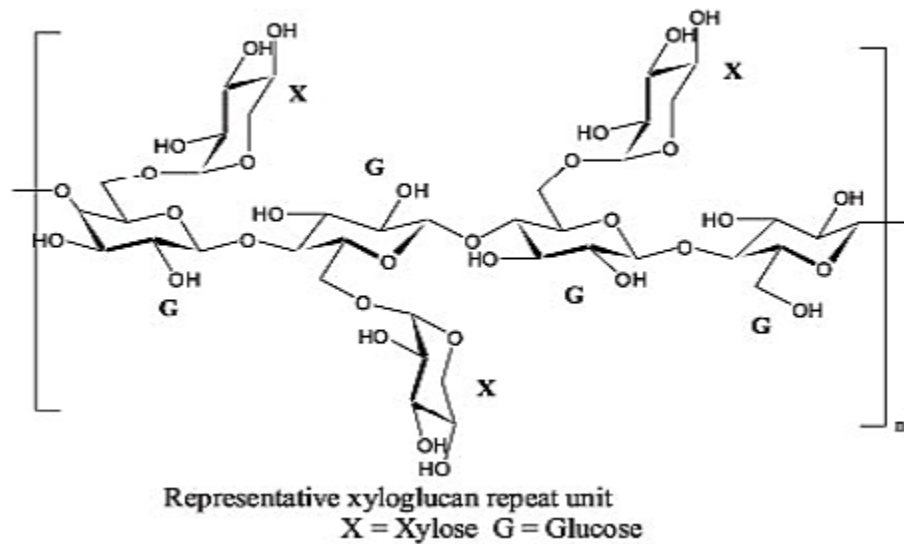
กลีเซอริน มีชื่อเรียกอื่น เช่น glycerine, glycerol, glycerolum, glycerol, 1,2,3-propanetriol, trihydroxypropane glycerol มีชื่อทางเคมีว่า Propane-1,2,3-triol สูตรโครงสร้างเคมีคือ  $C_3H_8O_3$  น้ำหนักโมเลกุล 92.09 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีรสหวาน 0.6 เท่าของน้ำตาลซูโครสและเป็นสารดูดความชื้น กลีเซอรินนิยมใช้ในการตั้งตำรับในทางเภสัชกรรมอย่างแพร่หลาย เช่น ยารับประทาน, ยาหยอดหู, ยาหยอดตา, ยาทา และยาฉีด ในการตั้งตำรับยาทาหรือเครื่องสำอาง นิยมใช้กลีเซอรินเป็นตัวเลือกแรกเนื่องจากคุณสมบัติของกลีเซอรินซึ่งเป็นสารให้ความชุ่มชื้นและช่วยหล่อลื่น นอกจากนี้กลีเซอรินมักใช้เป็นตัวทำละลายหรือตัวช่วยละลายในตำรับครีมและอิมัลชัน (62)(63)(64) กลีเซอรินมักใช้เป็นสารช่วยในตำรับทั้งที่มีน้ำและปราศจากน้ำ นอกจากนี้ยังสามารถใส่ไปในแผ่นแปะได้อีกด้วย (65)(66)(67) สำหรับในตำรับยาฉีดมักใช้กลีเซอรินเป็นตัวทำละลายและตัวช่วยละลายเป็นหลัก (68)(69)(70)(71) สำหรับยาน้ำชนิดรับประทานมักใช้กลีเซอรินเป็นตัวทำละลาย, สารให้ความหวาน, สารกันเสีย และสารเพิ่มความหนืด และมักใช้เป็นพลาสติกไฮเซอรของเจลาตินในยาเม็ดแคปซูลชนิดนิ่มและยาเหน็บ และยังสามารถใช้ในการเคลือบฟิล์มอีกด้วย กลีเซอรินละลายในน้ำ, เอทานอล 95% และ propylene glycol และจะไม่มีผลคงตัวเมื่อละลายกับตัวออกซิไดส์ที่มีความแรง เช่น chromium trioxide, potassium chlorate หรือ potassium permanganate หากมีโลหะปนเปื้อนในกลีเซอรินจะทำให้สารละลายที่มี phenols, salicylates และ tannin มีสีที่เข้มขึ้น นอกจากนี้กลีเซอรินยังไม่ทนในกรดแก่อีกด้วย



รูปที่ 7 โครงสร้างกลีเซอริน

## 2.7 กัมมะขามดัดแปร (Modified tamarind seed gum)

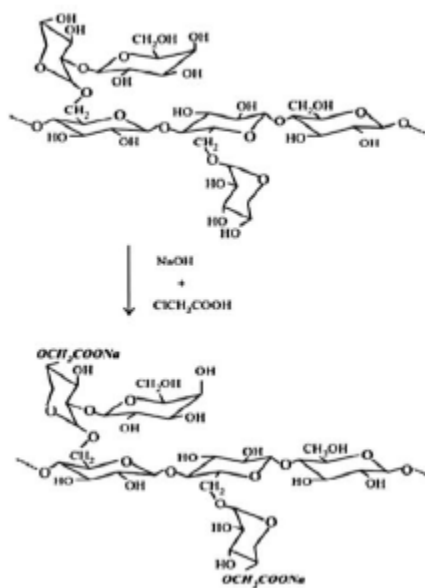
มะขาม (*Tamarindus indica* Linn.) เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ จัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae Caesalpinioideae เป็นไม้ต้นขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่ (72) กัมจากเมล็ดมะขามเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloid) ที่ได้จากธรรมชาติ โครงสร้างเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 3 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโรส และน้ำตาลกาแลคโตส ซึ่งเรียกว่า “ไซโลกลูแคน” โดยกัมสามารถสกัดได้จากสารจำพวกแป้งที่อยู่ในเมล็ดพืชส่วนของเนื้อในเมล็ด (Endosperm) เมื่อนำมะขามมาแยกเปลือกออกแล้วนำเนื้อในเมล็ดมาบดให้ละเอียด จะได้ผงกัมจากเมล็ดมะขาม มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน กัมเป็นสารที่มีคุณสมบัติให้ความหนืดทนต่อสภาวะที่เป็นกรดต่างได้ดี สามารถละลายน้ำได้ดี และเกิดเป็นเจลได้ ซึ่งองค์ประกอบทางเคมี และทางกายภาพของกัมที่ได้จากเมล็ดพืชต่างชนิดกันจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับแหล่งของเมล็ดพืช สิ่งแวดล้อม และกระบวนการต่าง ๆ ในสารสกัด (73)



รูปที่ 8 โครงสร้างไซโลกลูแคน (74)

ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้กัมจากเมล็ดมะขามทางอุตสาหกรรมต่าง ๆ รวมถึงอุตสาหกรรมทางยา เนื่องจากกัมที่ได้จากเมล็ดมะขามเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติทำให้มีความปลอดภัยในการใช้ ตัวอย่างงานวิจัยที่นำกัมจากเมล็ดมะขามมาศึกษา เช่น การนำกัมจากเมล็ดมะขามมาช่วยในการควบคุมการปลดปล่อยยา Verapamil hydrochloride (75) การใช้กัมจากเมล็ดมะขามเป็น

Mucoadhesive เพื่อควบคุมการปลดปล่อยยา Metronidazole (76) แต่พบว่ากัมจากเมล็ดมะขาม มีข้อเสียคือ มีค่าการละลายน้ำต่ำ ดังนั้นโครงงานวิจัยนี้จึงใช้กัมมะขามดัดแปร (Carboxymethylated gum) ซึ่งมีการดัดแปลงโครงสร้างให้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งโครงสร้างของ Carboxymethylated gum ของมะขามได้แสดงไว้ดังรูปที่ 9



รูปที่ 9 โครงสร้าง Carboxymethylated gum

ในการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของกัมทำโดยการสกัดด้วยไฮเดียมไฮดรอกไซด์กับโมโนคลอโรอะซีตีดแอซิด ในอัตราส่วนที่ต่างกัน ก่อนจะนำมาแยกเกลือไอออนิกด้วยเอทานอลและแยกคาร์บอกซีเมทิลเลตกัมด้วยการกรองและล้างด้วย 80% เอทานอล ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งคุณสมบัติการละลายของกัมมะขามดัดแปร จะพิจารณาจาก mass fraction of acetyl group ดังสมการที่ 1 และ 2 (77) โดยจะพบว่ากัมมะขามดัดแปรจะมีคุณสมบัติการละลายน้ำดีกว่ากัมมะขามธรรมชาติ

$$W_A = \frac{C_{NaOH}V_{NaOH} - C_{HCl}V_{HCl}}{m} \quad \text{สมการที่ 1}$$

$$DS = \frac{162W_A}{58(100 - W_A)} \quad \text{สมการที่ 2}$$

## 2.8 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analysis) เป็นวิธีหนึ่งในการศึกษาสมบัติเชิงกลของตำรับซึ่งหมายถึง การวัดเนื้อสัมผัส (texture measurement) และการแปลความหมายของค่าที่วัดได้เป็นค่าสมบัติทางเนื้อสัมผัส (texture properties) การทดสอบเนื้อสัมผัสมีอยู่ 2 ประเภทคือ การทดสอบเนื้อสัมผัสทางวัตถุวิสัยและการประเมินด้วยประสาทสัมผัส (78)(79)(80)

### 2.8.1 ประเภทของการวัดเนื้อสัมผัส

1) การทดสอบเนื้อสัมผัสทางวัตถุวิสัย (objective method) เป็นการทดสอบโดยใช้เครื่อง Texture Analyzer ซึ่งมีความแม่นยำและสามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมของการวัดได้ดี

2) การประเมินด้วยประสาทสัมผัส (sensory evaluation, subjective test) เป็นการทดสอบแบบใช้คนเป็นผู้ประเมิน ใช้ประสาทสัมผัส

### 2.8.2 วิธีการทดสอบเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer

วิธีการทดสอบเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer ได้แก่ การทดสอบแรงกด (Compression test) การทดสอบแรงดึง (Tensile test หรือ Tension test) การทดสอบแรงกดทะลุเจาะ (Penetration test หรือ Puncture test) การทดสอบแรงโค้งงอ (Bending test หรือ Fracture test) การทดสอบแรงตัด (Cutting test หรือ Shearing test) และการทดสอบแรงผลักกัน (Extrusion test) โดยข้อมูลที่ได้จากการทดสอบเนื้อสัมผัส แสดงค่าได้ดังนี้ ความสัมพันธ์ระหว่างแรง (force) กับระยะเวลาการเปลี่ยนรูป (deformation): force-deformation curve ความสัมพันธ์ระหว่างแรง (force) กับเวลา (time): force-time curve และ ความสัมพันธ์ระหว่างความเค้น (stress) กับความเครียด (strain): stress-strain curve

#### 1) การทดสอบแรงกด (Compression test)

(1) การทดสอบแบบกดโดยใช้หัววัดแบบแผ่นแบน (flat plate compression test)

(2) การทดสอบการกดด้วยแผ่นแบนแบบง่าย (simple compression test)

เป็นการทดสอบการตอบสนองของวัสดุเมื่อมีแรงกด (compression force) มากระทำโดยการให้แรงกดหรือแรงอัดในแนวตรงทำให้วัสดุเปลี่ยนรูปร่าง (deformation) มีความสูงหรือความยาวหดสั้นเข้าตามทิศทางของแรงที่กระทำ กราฟที่ได้จะบอกลักษณะเนื้อสัมผัส

(3) การทดสอบการกดแบบง่ายและการทดสอบแบบคืนรูปร่วมกัน (simple compression test and recovery test)

(4) การทดสอบแบบคลายเค้น (relaxation test)

เป็นการทดสอบการกดแผ่นแบนค้ำไว้เมื่อกดลงไปถึงระดับหนึ่งการกดค้างเป็นระยะเวลาหนึ่งจะควบคุมความเครียด (strain) ให้คงที่ ในระยะเวลานั้นตัวอย่างจะคลายความเค้น (stress) ทำให้ระดับของแรงที่หัวกดลดลงไปตามเวลาจนกระทั่งไม่สามารถคลายความเค้นต่อไปได้อีก

2) การทดสอบเพื่อวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis)

ทดสอบโดย กดวัสดุด้วยแผ่นแบน (probe) ขนาดใหญ่กว่าชิ้นวัสดุโดยกดลงในระยะใด ๆ ที่เป็น %ความเครียด (strain) เช่น 50% strain หรือ 75%

3) การทดสอบการโค้งงอ (Fracture Test)

เป็นการทดสอบทางกลด้านเนื้อสัมผัสของวัสดุ วัสดุที่นำมาทำการทดสอบจะถูกวางระหว่างฐาน (span) เช่น การทดสอบแรงโค้งงอแบบ 3 จุด (Three point bending) โดยมีหัวกดแบบใบตัดอยู่

ค่า Flexural stress ( $\sigma_f$ ) คือ ความเค้นโค้งงอที่เกิดตรงกลางชิ้นทดสอบตรงส่วนผิวนอก หาได้ดังนี้

$$\text{Flexural stress } (\sigma_f) = \frac{3FL}{2wt^2}$$

ค่า Flexural strain ( $\epsilon_f$ ) คือ ความเครียดโค้งงอ หาได้ดังนี้

$$\text{Flexural strain } (\epsilon_f) = \frac{6Dt}{L^2}$$

เมื่อ F = แรงที่ทำให้เกิดการแตกของตัวอย่าง

L = ระยะห่างระหว่างจุดสองจุดเพื่อรองรับตัวอย่าง

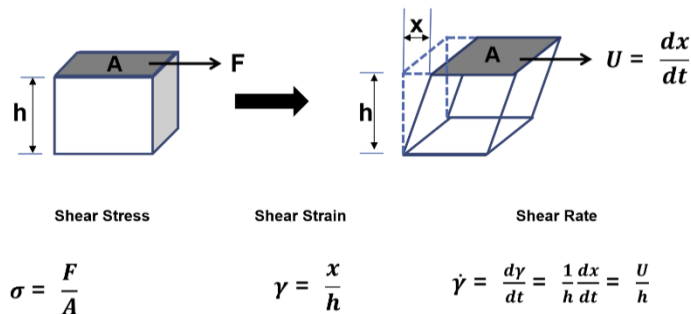
w = ความกว้างของตัวอย่าง

t = ความสูง (หนา) ของตัวอย่าง

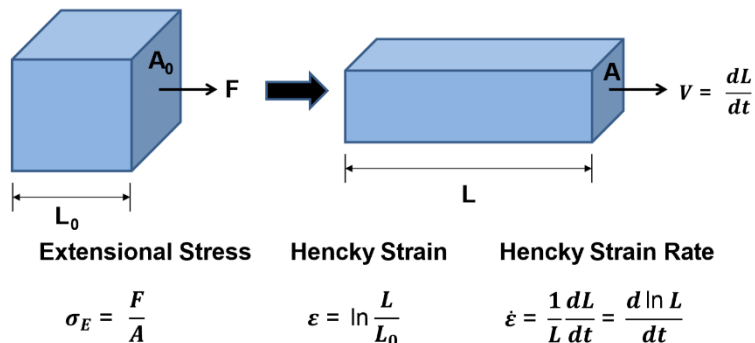
D = ระยะโค้งงอของตัวอย่าง

## 2.9 การวัดการไหลและความหนืด

รีโวลยี (Rheology) มาจากภาษากรีก ซึ่ง รีโอ (Rheo) แปลว่าการไหล รีโวลยีเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการไหลหรือการเปลี่ยนรูปของวัตถุภายใต้แรงที่มากกระทำ โดยเมื่อมีแรงมากกระทำให้อัตราการเปลี่ยนรูป นั้นแสดงว่าเกิด ความเครียด (strain) ขึ้น และหากมีความเร็วเข้ามาเกี่ยวข้องในการเปลี่ยนรูป เรียกว่า อัตราความเครียด เมื่อมีแรงมากกระทำต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ เรียกว่า ความเค้น (stress) ความเครียดโดยทั่วไปมักเกิดจาก 2 ระบบคือ การเฉือน (shear) และการยืด (elongation) โดยจะแสดงตัวอย่างของการไหลแบบเฉือนในรูปที่ 10 ก เมื่อใส่ของเหลวลงบนจานด้านล่างซึ่งเป็นส่วนที่อยู่กับที่เรียบร้อยแล้ว จากนั้นจะให้แรงไปที่จานด้านบนจนกระทั่งจานทั้งสองประกบกันเป็นแซนวิชในรูปแบบขนาน จะเกิดการเฉือนของของเหลวขึ้นเมื่อมีการยกจานด้านบนออก และจะเกิดการยืดเมื่อยกจานด้านบนขึ้น โดยจะแสดงตัวอย่างของการไหลแบบยืดในรูปที่ 10 ข (81)(82)



รูปที่ 10 ก แสดงการไหลแบบเฉือน



รูปที่ 10 ข แสดงการไหลแบบยืด

### 2.9.1 ลักษณะการไหลของของไหลโดยทั่วไป

1) Newtonian Fluid: เป็นลักษณะการไหลของของไหลที่เป็นไปตามการสันนิษฐานของนิวตัน คือ ที่อุณหภูมิหนึ่งๆ ของไหลจะมีค่าความหนืดเป็นค่าคงที่ ไม่เปลี่ยนแปลงขึ้นกับอัตราเฉือน หรือ ความเร็วในการกวน ไม่ว่าจะกวนเร็วหรือกวนช้า ตัวอย่างเช่น น้ำ น้ำมัน น้ำเชื่อม น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง นม กาแฟ กลีเซอริน แอลกอฮอล์ เป็นต้น

2) Non Newtonian Fluid: เป็นลักษณะการไหลของของไหลที่ไม่เป็นไปตามการสันนิษฐานของนิวตัน คือ ที่อุณหภูมิหนึ่งๆ ของไหลมีค่าความหนืดเป็นค่าไม่คงที่ การเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับอัตราเฉือน หรือความเร็วในการกวน ลักษณะการไหลแบบนี้แบ่งเป็น 4 แบบ

(1) Pseudoplastic: ของไหลมีค่าความหนืดลดลง เมื่อเพิ่มอัตราเฉือน หรือยิ่งกวนเร็วยิ่งไหลง่าย พฤติกรรมแบบนี้แสดงคุณสมบัติเป็น shear-thinning ตัวอย่างเช่น น้ำผลไม้เข้มข้น กาวน้ำใส สารช่วยแขวนตะกอน สารละลายพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ สารละลายพอลิเมอร์สังเคราะห์ เป็นต้น

(2) Dilatant: ของไหลที่มีค่าความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราเฉือน หรือยิ่งกวนเร็วยิ่งหนืด พฤติกรรมแบบนี้แสดงสมบัติเป็น shear-thickening ตัวอย่างเช่น น้ำดินขุ่น น้ำแป้ง เป็นต้น

(3) Bingham Plastic: ของไหลที่เมื่อมีแรงกระทำสูงพอจึงจะเกิดลักษณะการไหลแบบ Newtonian Fluid ตัวอย่างเช่น ยาสีฟัน นมช็อกโกแลต เป็นต้น

(4) Plastic: ของไหลที่เมื่อมีแรงกระทำสูงพอเพื่อเอาชนะค่าความเค้น ณ จุดคราก (yield stress) ถึงจะเริ่มไหลได้ และจะไหลแบบ Pseudoplastic หรือ ตามโมเดลของ Herschel-Buckley ตัวอย่างเช่น ซอสมะเขือเทศ สีสดินเหนียว มายองเนส ยาน้ำแขวนตะกอน เป็นต้น (83)

## 2.10 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใหญ่ทำเพื่อการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ที่เรียกว่า Pure Culture ซึ่งหมายถึงกลุ่มของแบคทีเรียที่มีลักษณะเหมือนกันทุกประการ หรืออาจทำเพื่อการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย (Colony count)

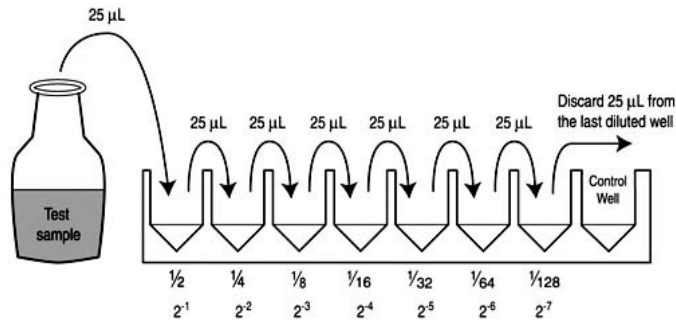
### 2.10.1 วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

1) การขีดเชื้อในจานเพาะเชื้อ (Streak Plate) การขีดเชื้อในจานเพาะเชื้อคือ การทำให้เชื้อที่มีปริมาณมากค่อย ๆ กระจายออกจนแยกเป็น โคโลนี (Colony) เดี่ยว ๆ ซึ่งแต่ละโคโลนีจะเจริญมาจากเซลล์เดียวจึงถือเป็นเชื้อที่บริสุทธิ์ โดยใช้วิธีการในการขีดเชื้อแบบ Four - way cross Streak

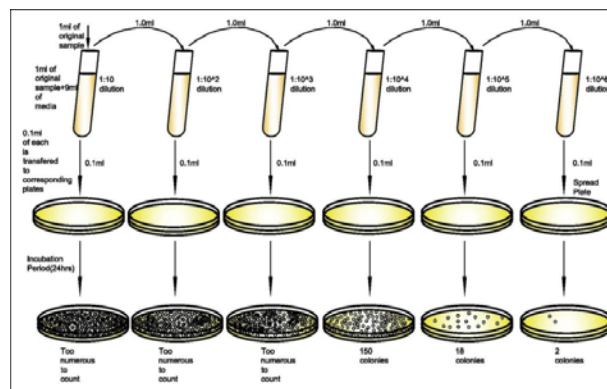
2) การทำให้เชื้อกระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Spread Plate) ทำได้โดยการใช้แท่งแก้วที่ทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีเผาไฟ แล้วเกลี่ยเชื้อที่ทำเป็นสารละลายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นการทำให้เซลล์แยกออกจากกันหลังจากนำไปบ่ม เชื้อจะแยกเป็น โคโลนีเดี่ยว ๆ วิธีการนี้ส่วนใหญ่เป็นวิธีการทำให้เชื้อแยกเป็นโคโลนีที่บริสุทธิ์เพื่อการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย (84)

### 2.11 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC)

MIC เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไป คือ ไมโครกรัม ( $\mu\text{g}$ ) ต่อมิลลิลิตร (ml) หรือหน่วยสากล (IU, international unit) ต่อมิลลิลิตร ค่า MIC นี้สามารถใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่ง ๆ ต่อยาต้านจุลชีพหลาย ๆ ชนิด หรือความไวของเชื้อหลาย ๆ ชนิดต่อยาหนึ่ง ๆ และรวมทั้งเพื่อประเมินค่าอื่นที่เกี่ยวข้องกับยาหรือแปรผลของยาต่อเชื้อ ในการทดสอบเพื่อหาค่า MIC ด้วยวิธีเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่า ไปเรื่อย ๆ (2-fold serial dilution) โดยการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) (85) ทำได้โดยวิธี Broth dilution test หรือ Agar dilution test หลักการโดยทั่วไปของวิธีทดสอบแบบ Broth และ Agar dilution test จะคล้ายคลึงกัน คือ จะเจือจางสารออกฤทธิ์ใน medium ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงใน medium ที่มีสารออกฤทธิ์ ภายหลังการบ่มเพาะ ให้ดูค่า MIC โดยสังเกตความขุ่นหรือใสของ broth และมีหรือไม่มีเชื้อเจริญขึ้นบน agar (86)



รูปที่ 11 วิธีการทดสอบแบบ Broth dilution (87)



รูปที่ 12 วิธีการทดสอบแบบ Agar dilution (88)

## 2.12 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion Test

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นวิธีซึ่งสามารถปฏิบัติได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว รวมทั้งสามารถให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง การทดสอบวิธีนี้ใช้หลักการแพร่โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เติมลงบนกระดาษกรอง (filter paper disc) ซึ่งวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการตรวจสอบไว้ จะแพร่จากจุดเริ่มต้นไปในอาหารเลี้ยงเชื่อนั้น เมื่อระยะทางที่สารแพร่ออกไปเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารนั้นจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่าง ๆ กันรอบแผ่นกระดาษกรอง ในขณะเดียวกันเชื้อแบคทีเรียบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ ณ ความเข้มข้นของสารที่จุดใด ๆ (ไกลกระดาษกรอง) ก็จะเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นจนเห็นได้ชัด แต่บริเวณใกล้กระดาษกรองซึ่งมีความเข้มข้นของสารมากพอที่จะยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ จะไม่มีการเจริญของเชื้อให้เห็นจึงเกิดเป็นโซนใส (inhibition zone) ขึ้น

อัตราการแพร่ของสารออกฤทธิ์ผ่านไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนไฮโดร ซึ่งจะบอกถึงความสามารถของสารที่นำมาทดสอบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้มากน้อยเพียงใด ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียวัดได้จากขนาดของโซนไฮโดร โดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนไฮโดรจะแปรผกผันกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration หรือ MIC) (89)

### บทที่ 3

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

#### 3.1.1 สารเคมี

- 1) กัมจากเมล็ดมะขาม (*Tamarindus indica* Linn.) จังหวัดหนองบัวลำภู
- 2) พรอพริสจากชั้นโรงขนเงิน (*Tetragonula pegdeni* Schwaetz) จังหวัดจันทบุรี
- 3) โพลีเอทิลีนไกลคอล 400 (Polyethylene glycol 400)
- 4) กลีเซอริน (glycerine)
- 5) เอทิลแอลกอฮอล์ 95% (Ethylalcohol, Lot No. AA1/16052560, OXOID®)
- 6) โซเดียมคลอไรด์ 0.85% (Sodium chloride, Lot No. 1108051,
- 7) อิริโทรมัยซิน 15 ไมโครกรัม (Erythromycin, Lot No. 2130587, Univar®)
- 8) คลินดารีนเจล (Clindalin gel, Lot No. 108215)
- 9) โทเมอิก คลินไดเจล (Tomei Clindai Gel, Lot No. 1A 378/53)
- 10) Mueller Hinton Agar (Mueller Hinton Agar, Lot No. 7271779, Difco™)
- 11) Mueller Hinton Broth (Mueller Hinton Broth, Lot No. 7009699, Difco™)

#### 3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิทัลชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balances, MS603S/01, METTLER-TOLEDO, Switzerland)

- 2) เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyzer, TA.XT.Plus, Stable Micro Systems Ltd., UK)
- 3) เครื่องรีโอมิเตอร์ (KINEXUS Lab+, Model : MS603S/01, METTLER-TOLEDO, Switzerland)
- 4) เครื่องบ่มเชื้อ (Incubator, RI115, BINDER, Germany)
- 5) เครื่องล้างความถี่สูง (Ultrasonic Cleaner Set, WUC-D22H, DAIHAN Scientific Co., Ltd., Korea)
- 6) เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic stirrer, UC152D, BioCote<sup>®</sup>, bUK)
- 7) เครื่องเขย่าสาร (Vortex, G560E, Scientific Industries, USA)
- 8) เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำ (Autoclave, HVA-85/110, HIRAYAMA, Japan)

## 3.2 วิธีการทดลอง

### 3.2.1 การเตรียมสารสกัดพรอพอลิส

ล้างทำความสะอาดพรอพอลิสด้วยน้ำกลั่น ตากให้แห้ง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งมา 50 กรัม แล้วเติมเฮกเซน 500 มิลลิลิตรลงไป (อัตราส่วน 1:10) จากนั้นขจัดเอาไขของพรอพอลิสออกด้วยกระบวนการ “Dewaxing” ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (sonication) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเทส่วนใส่ออกให้เหลือเพียงตะกอนของพรอพอลิส แล้วจึงเติมเฮกเซน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร และนำไป Dewaxing อีกครั้งหนึ่ง จากนั้นทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:20) และนำไป Sonicated ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำสารที่ได้ไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที เก็บส่วนใส่ออกมา แล้วนำตะกอนไปเติม เอทานอลปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำไป Sonicated ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และปั่นเหวี่ยงเช่นเดิมอีก 1 รอบ รวบรวมส่วนใส่ออกมาแล้วนำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Vacuum Evaporators)

### 3.2.2 การเตรียมผงกัมดิบ

นำเมล็ดมะขามไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาแกะเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามออก โดยกะเทาะเมล็ดให้แตกเหลือเพียงส่วนที่เป็นสีขาวด้านใน จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร นำผงที่ได้ไปผ่านเครื่องร่อนอัตโนมัติ โดยใช้ตะแกรงขนาด 355 ไมโครเมตร จากนั้นนำผงกัมที่ผ่านร่อนเก็บในตู้ดูดความชื้นเพื่อนำไปปรับแต่งโครงสร้างต่อไป

### 3.2.3 การเตรียม carboxymethylated gum

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในเอทานอลแล้วเติมผงกัมดิบที่ผ่านการร่อนไปพร้อมกับคลอไรด์ของโซเดียมคลอไรด์ บ่มทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นนำไปแช่ในน้ำ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารผสมที่ได้มาปรับค่า pH ให้เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือสารละลายไฮโดรคลอริกตามความเหมาะสม นำไปกรองด้วยเครื่องกรองบูชเนอร์และกรองต่ออีกครั้งโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย 4-5 ครั้ง จะได้ carboxymethylated gum

จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และนำมาบดด้วยโม่กระเบื้องให้เป็นผงละเอียด

#### 3.2.4 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกัมมะขาม

นำผงกัมมะขามละลายในน้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10% โดยการปั่นกวนด้วยเครื่อง Magnetic stirrer จนกัมมะขามพองตัวสมบูรณ์

นำสารที่ทำการปั่นกวนเรียบร้อยแล้วทุกความเข้มข้นมาใส่ในขวดสเปรย์เพื่อทดสอบสมบัติการก่อฟิล์มโดยสเปรย์สารลงบนกระดาษฟอยล์ ให้ปลายขวดห่างจากกระดาษฟอยล์ 10 เซนติเมตร และฉีด 2 ปี้ม

#### 3.2.5 ปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในตำรับ

นำกัมมะขามที่มีความเข้มข้นเหมาะสมจากผลการทดลอง 3.2.4 มาทดสอบหาปริมาณตัวทำละลายที่ใช้คือ น้ำและเอทานอล 95% โดยเตรียมในอัตราส่วน ดังนี้ ตารางที่ 6 อัตราส่วนปริมาณตัวทำละลายที่ใช้

| น้ำ (มิลลิลิตร) | เอทานอล 95% (มิลลิลิตร) |
|-----------------|-------------------------|
| 1               | 9                       |
| 2               | 8                       |
| 3               | 7                       |
| 4               | 6                       |
| 5               | 5                       |
| 5.5             | 4.5                     |
| 6               | 4                       |
| 7               | 3                       |
| 8               | 2                       |
| 9               | 1                       |

เลือกสองอัตราส่วนที่เหมาะสม คือ สารละลายที่ได้มีความหนืดเหมาะสมและไม่พบตะกอน จากนั้นนำทั้งสองอัตราส่วนมาเติมกัมมะขาม 7.5% w/w บั่นกวนทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารที่ได้มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge เป็นเวลา 5 นาที สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้นเพื่อเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสม นั่นคือ อัตราส่วนที่ไม่เกิดตะกอน

### 3.2.6 การหาชนิดและปริมาณ Plasticizer

เลือกสูตรตำรับที่เหมาะสมจากผลการทดลอง 3.2.4 และ 3.2.5 มาเติมพลาสติกไซเซอร์ โดยในการทดลองนี้จะใช้พลาสติกไซเซอร์ 2 ตัว ได้แก่ PEG 400 และกลีเซอริน จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้เทลงบนจานเพาะเชื้อ (petri dish) ให้ทั่ว และตั้งทิ้งไว้พร้อมจับเวลา จนกว่าตัวทำละลายจะระเหยแห้ง จากนั้นสังเกตลักษณะของฟิล์ม พร้อมบันทึกระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเทจนกระทั่งสารแห้ง

### 3.2.7 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

1. การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพหุพอกลิสที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรือ Minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี Macro Broth Dilution Technique

#### 1.1 การเตรียมสารสกัดพหุพอกลิสที่ใช้ในการทดสอบ

เตรียม Stock solution ของสารสกัดพหุพอกลิส โดยชั่งสารสกัดพหุพอกลิส 200 มิลลิกรัม ใส่ Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดพหุพอกลิสความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

#### 1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบจะต้องอยู่ในระยะที่เซลล์พร้อมที่จะเจริญหรือแบ่งเซลล์ได้ ควรเป็นแบคทีเรียที่มีอายุไม่มากนัก โดยทั่วไปควรใช้แบคทีเรียที่มีอายุไม่มากกว่า 24 ชั่วโมง วิธีการเตรียมมีดังต่อไปนี้

เชื้อโคโลนีของเชื้อที่ใช้ทดสอบ คือ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ที่เพาะเลี้ยงไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอายุประมาณ 24 ชั่วโมง ประมาณ 4 - 5 โคโลนี ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton

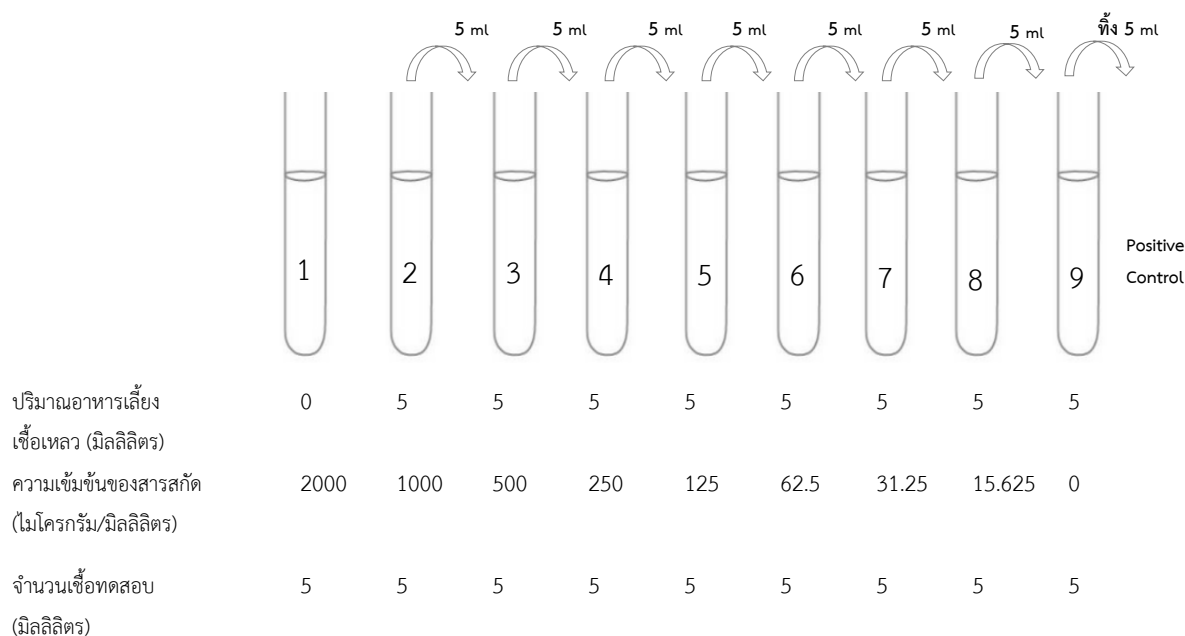
Broth (MHB) เขย่าเพื่อให้เชื้อกระจายตัวออกจากกัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 - 4 ชั่วโมง

1.3 วิธีการทดสอบการหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพรอพอลิสที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Macro broth dilution technique

นำหลอดทดลองจำนวน 9 หลอด ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อและทำให้แห้ง เขียนค่าความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสกำกับไว้ที่หลอดทดลองที่ 1- 8 ได้แก่ 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 และ 15.625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเช่นกัน ใส่ลงในหลอดทดลองที่ 2-8 หลอดละ 5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารสกัดพรอพอลิสจาก Stock Solution ที่ความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 1 และ 2 หลอดละ 5 มิลลิลิตร ผสมสารในหลอดที่ 2 ให้เข้ากัน จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารในหลอดที่ 2 จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่ 3 ทำซ้ำแบบเดิมไปจนถึงหลอดที่ 8 เมื่อผสมสารละลายในหลอดที่ 8 เข้ากันดีแล้วให้ใช้ปิเปตดูดสารละลายทิ้งไป 5 มิลลิลิตร สำหรับหลอดที่ 9 จะมีเพียงอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB เพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัดพรอพอลิสจึงใช้เป็น Positive control จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ในข้อ 1.2 ลงในหลอดทดลองที่ 1-9 จำนวนหลอดละ 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

การอ่านผลการหา Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

เมื่อบ่มเชื้อจนครบ 16-18 ชั่วโมงแล้ว ให้สังเกตหลอดทดลองที่มีความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองจะมีลักษณะที่ไม่ขุ่น อ่านค่าความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสของหลอดทดลองนี้เป็นค่า MIC



รูปที่ 13 แผนภาพสรุปขั้นตอนการปฏิบัติสำหรับ Macro broth dilution technique

#### 1.4 วิธีการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้หรือ

##### Minimal bactericidal concentration (MBC)

จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในอาหารเหลวตามการทดลอง 1.3 สามารถนำมาหาค่า MBC ได้ โดยนำหลอดทดลองที่ทำการทดสอบหาค่า MIC ที่ไม่มีความขุ่นทุกหลอดมา Streak ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสที่สามารถฆ่าเชื้อได้จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสที่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้จะพบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อในลักษณะของโคโลนี

#### 2. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion techniques

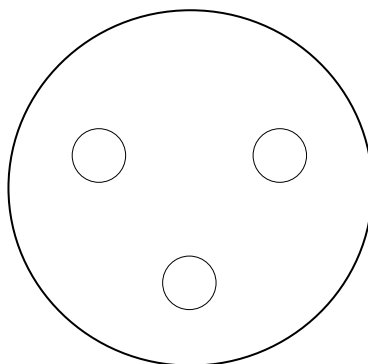
##### 2.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองควรมีอายุไม่เกิน 24 ชั่วโมง และปริมาณความเข้มข้นของเชื้อที่เหมาะสม ประมาณ  $10^8$  CFU/ml โดยมีวิธีการเตรียมดังต่อไปนี้

เชียบโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ (*S. aureus* และ *S. epidermidis*) ที่เพาะเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) ที่มีอายุประมาณ 24 ชั่วโมง ประมาณ 2-3 โคโลนีใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB) ที่เตรียมไว้ในหลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาให้นำเชื้อมาเจือจางให้ได้ประมาณ  $10^8$  CFU/ml โดยเจือจางด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% (Normal saline solution, 0.85% NSS) ให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard (ประมาณ  $1 \times 10^8$  CFU/ml)

## 2.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

เขียนที่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) เพื่อระบุตำแหน่งที่จะวางแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร ทั้งหมด 3 ตำแหน่ง ดังรูปที่ 13



รูปที่ 14 แสดงตำแหน่งที่จะวางแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร ทั้งหมด 3 ตำแหน่ง

จากนั้นใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อชุบแบคทีเรียที่ปรับความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard แล้วกดกับข้างหลอดทดลอง ให้แห้งพอหมาด ๆ จากนั้น Swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) โดยลากเส้นผ่านศูนย์กลางจานเพาะเลี้ยงเชื้อแล้วป้ายเป็นเส้นตั้งฉากผ่านเส้นที่ลากไว้ถี่ ๆ ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร จากนั้นหมุนจานเพาะเชื้อประมาณ 60 องศา แล้วป้ายด้วยวิธีการเดิมทำเช่นนี้ 3 ครั้ง เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียกระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทิ้งไว้ประมาณ 3 – 5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง จากนั้นใช้ปากคีบ (forceps) คีบกระดาษกรองปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ทำการหดยดสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ได้แก่ ตัวทำละลาย+1% PEG400 ,ตัวทำละลาย+2% PEG400 ,Erythromycin, Clindalin<sup>®</sup> gel, Tomei<sup>®</sup> gel ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงแผ่นกระดาษกรองโดยใช้ auto pipette ที่ปราศจากเชื้อ และตัวอย่างแผ่นฟิล์ม ได้แก่ ตัวทำละลาย+พวอพอลิส 250 ไมโครกรัม+1% PEG400 , ตัวทำละลาย+พวอพอลิส 250 ไมโครกรัม+2% PEG400 วางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้น กดเบา ๆ ลงบนตำแหน่งที่กำหนดไว้

ใช้ auto pipette ที่ปราศจากเชื้อหดยดสารตัวอย่างที่จะทดสอบ (ตัวทำละลาย+พวอพอลิส 250 ไมโครกรัม) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้นในตำแหน่งที่กำหนดไว้

จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 – 18 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียเจริญ (inhibition zone) โดยวัดจากขอบโซนข้างหนึ่งไปยังขอบโซนอีกข้างหนึ่ง โดยให้ผ่านจุดศูนย์กลางของแผ่นกระดาษกรอง (paper dish) บันทึกหน่วยเป็นมิลลิเมตร

### 3.2.8 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

เตรียมตัวอย่างสารในการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของแต่ละสูตรตำรับ

| ตัวอย่างที่ | สูตรตำรับ                     |                       |                                   |                         |
|-------------|-------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-------------------------|
|             | ตัวทำละลาย<br>(น้ำ : เอทานอล) | กัมจากมะขาม<br>(%w/w) | พวอพอลิส<br>(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | พลาสติกไซเซอร<br>(%w/w) |
| 1           | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | -                                 | -                       |
| 2           | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | 250                               | -                       |
| 3           | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | 250                               | PEG 0.5%                |
| 4           | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | 250                               | PEG 1%                  |
| 5           | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | 250                               | PEG 2%                  |
| 6           | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | 250                               | PEG 3%                  |
| 7           | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | 250                               | Glycerine 1%            |
| 8           | 5.5 : 4.5                     | -                     | -                                 | PEG 0.5%                |
| 9           | 5.5 : 4.5                     | -                     | -                                 | PEG 1%                  |
| 10          | 5.5 : 4.5                     | -                     | -                                 | PEG 2%                  |
| 11          | 5.5 : 4.5                     | -                     | -                                 | PEG 3%                  |
| 12          | 5.5 : 4.5                     | -                     | -                                 | Glycerine 1%            |

นำสารละลายที่เตรียมได้เทลงใน plate กระจก ขนาด 15 x 15 เซนติเมตร ให้น้ำหนักเท่ากันทุกตัวอย่าง รอจนตัวอย่างแห้งสนิท จากนั้นนำมาตัดแบ่งให้ได้ขนาดเท่ากับ 1 x 10 เซนติเมตร จำนวน 10 ชิ้นต่อตัวอย่างทดสอบ จากนั้นตัดเทปใสติดบริเวณด้านบนและล่างของฟิล์มขนาด 1 เซนติเมตรเท่ากันทุกชิ้น โดยกำหนดให้เหลือพื้นที่ในการวัด 8 เซนติเมตร

### 3.2.9 การทดสอบการไหลและความหนืดของสารตัวอย่าง (Rheological properties)

ทดสอบการไหลและความหนืดของสารตัวอย่างด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ (KINEXUS Lab+ รุ่น Mettler Toledo, Model : MS603S/01) โดยเตรียมสารตัวอย่าง 2 ชนิด ซึ่งแตกต่างกันที่ความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร คือ PEG 1% และ PEG 2% จากนั้นนำไปทดสอบ 3 ตัวแปร คือ พฤติกรรมของสารตัวอย่าง, single frequency และ t-step เริ่มจากตัวอย่างที่

ประกอบไปด้วย PEG 1% เทตัวอย่างลงบนจานวัดด้านล่างในปริมาณที่จานวัดด้านบนจะลงมาประกบทับพอดีในแนวระนาบ จากนั้นเครื่องรีโอมิเตอร์จะทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างโดยผลที่ได้จะแสดงออกมาในรูปแบบของตารางและกราฟ สำหรับ PEG 2% ทำเช่นเดียวกัน เมื่อทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างเรียบร้อยแล้วจึงทำความสะอาดเครื่องรีโอมิเตอร์ให้เรียบร้อย

### 3.2.10 การทดสอบหาระยะเวลาการแห้งของสารตัวอย่าง (Time to dry)

การทดสอบหาระยะเวลาการแห้งของสารตัวอย่างทำได้โดยการนำตัวรับกึ่งฟิล์ม 2 ตัวรับดังแสดงส่วนประกอบในตารางที่ 8 มาเทลงบน petri dish ที่สะอาด ตัวอย่างละ 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำ petri dish ที่มีสารตัวอย่างไปตั้งบนเครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง ทำการจับเวลาและจดน้ำหนักที่ได้ เริ่มต้นจากทุก ๆ 10 วินาที จำนวน 12 ครั้ง จากนั้นทุก ๆ 1 นาที จำนวน 10 ครั้ง ทุก ๆ 10 นาที จำนวน 3 ครั้ง และครั้งสุดท้ายจับเวลาอีก 1 ชั่วโมง เพื่อดูแนวโน้มของน้ำหนักที่ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป

ตารางที่ 8 ส่วนประกอบในตัวรับที่นำมาทดสอบหา time to dry

| ตัวรับที่ | สูตรตัวรับ                    |                       |                                  |                         |
|-----------|-------------------------------|-----------------------|----------------------------------|-------------------------|
|           | ตัวทำละลาย<br>(น้ำ : เอทานอล) | กัมจากมะขาม<br>(%w/w) | พวอพลิส<br>(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | พลาสติไซเซอร์<br>(%w/w) |
| 1         | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | 250                              | PEG 1%                  |
| 2         | 5.5 : 4.5                     | 7.5                   | 250                              | PEG 2%                  |

จากนั้นนำแต่ละตัวอย่าง

### 3.2.11 การประเมินความพึงพอใจ (In vivo test)

หลังจากได้ผลิตภัณฑ์สเปรย์กึ่งฟิล์มนำส่งพวอพลิสที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปรเรียบร้อยแล้ว นำผลิตภัณฑ์มาทดสอบความพึงพอใจกับกลุ่มตัวอย่าง โดยกลุ่มตัวอย่างต้องมีคุณสมบัติ ดังต่อไปนี้

### กลุ่มตัวอย่าง (Samples / Subjects)

อาสาสมัครสุขภาพดี ช่วงอายุระหว่าง 18 – 50 ปี กำหนดขนาดตัวอย่างจำนวน 12 คน โดยคำนวณจำนวนตัวอย่างจากการใช้สถิติมีพารามิเตอร์ (Parametric Statistics) แบบ Paired t-test (กำหนดค่า  $\alpha = 0.05$ ,  $\beta = 0.2$ ,  $U = 1$ , power = 0.8 และ effect size = 0.6) วิธีการได้มาซึ่งกลุ่มตัวอย่างทำโดยวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบบังเอิญ (convenience sampling)

### วิธีการคัดเลือกตัวอย่าง

#### เกณฑ์การคัดเข้า

- 1) ยินยอมเข้าร่วมการวิจัย
- 2) ยินยอมที่จะไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับผิวหนังก่อนการทดสอบ
- 3) สามารถอ่านและเข้าใจภาษาไทยได้เป็นอย่างดี

#### เกณฑ์การคัดออก

- 1) มีโรคประจำตัว โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน เช่น โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคภูมิแพ้ โรคแพ้ภูมิตนเอง
- 2) มีประวัติการแพ้เกสรดอกไม้ หรือผลิตภัณฑ์จากผึ้ง
- 3) มีประวัติการแพ้ผลิตภัณฑ์จากมะขาม
- 4) มีผิวแพ้ง่าย
- 5) มีผื่น แผลเป็น หรือรอยโรคที่ผิวหนังบริเวณที่ทำการทดสอบ
- 6) มีอาการระคายเคือง หรือแพ้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของ

#### แอลกอฮอล์

- 7) ผู้ที่ได้รับยา เช่น ยาทาแก้แพ้ ยาทาสเตียรอยด์ ยากดภูมิคุ้มกัน ที่ไม่สามารถหยุดยาได้อย่างน้อย 14 วัน
- 8) อาสาสมัครขอถอนตัวระหว่างการศึกษหรือไม่สามารถเข้าร่วมการวิจัยได้ตลอดการทดลอง

9) อาสาสมัครมีอาการระคายเคือง หรือแพ้ผลิตภัณฑ์ที่ทำการ

ทดสอบ

### **เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย ประกอบด้วย**

1. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์สเปรย์ก่อกฟิล์มนำส่งพวพอลิสที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปร ที่ผู้วิจัยพัฒนาขึ้น

2. เครื่องมือที่ใช้ในการรวบรวมข้อมูล ได้แก่ แบบสอบถามประเมินความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วย 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1. ข้อมูลบุคคล ได้แก่ อายุ เพศ ระดับการศึกษา อาชีพ โรคประจำตัว ประวัติการแพ้ยาสารอาหาร

ส่วนที่ 2. แบบสอบถามประเมินความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ ที่ผู้วิจัยพัฒนาขึ้น ประกอบด้วยข้อคำถามความพึงพอใจ ด้านความไม่เหนียวเหนอะหนะ ความใสของฟิล์ม ความไม่ระคายเคืองต่อผิว ความยืดหยุ่น กลิ่นของผลิตภัณฑ์ การทำความสะอาดผลิตภัณฑ์ ความสะดวกในการใช้งาน ความติดทนของผลิตภัณฑ์ และความพึงพอใจโดยรวมในการใช้งาน รวมทั้งหมด 10 ข้อ ได้ตรวจสอบความตรงตามเนื้อหาโดยผู้ทรงคุณวุฒิ จำนวน 3 ท่าน ได้ค่า Content Validity Index (CVI) เท่ากับ 1 และนำไปทดลองใช้ ได้ค่าความเชื่อมั่น (Reliability) เท่ากับ 0.81 ลักษณะข้อคำถามเป็นแบบมาตรประมาณค่า 5 ระดับ คือ มากที่สุดให้ 5 คะแนน มาก ให้ 4 คะแนน ปานกลางให้ 3 คะแนน น้อย ให้ 2 คะแนน และ น้อยที่สุด ให้ 1 คะแนน มีเกณฑ์การแปลผลคะแนน ดังนี้

เกณฑ์การแบ่งคะแนนเฉลี่ย ประเมินแบบอิงเกณฑ์ของเบส (Best, 1971) คือ คะแนนสูงสุด-คะแนนต่ำสุด หาค่าด้วยจำนวนชั้น โดยแบ่งคะแนนเป็น 5 ระดับ ดังนี้

คะแนนเฉลี่ย 1.00-1.80 หมายถึง มีความพึงพอใจระดับน้อยที่สุด

คะแนนเฉลี่ย 1.81-2.60 หมายถึง มีความพึงพอใจระดับน้อย

คะแนนเฉลี่ย 2.61-3.40 หมายถึง มีความพึงพอใจระดับปานกลาง

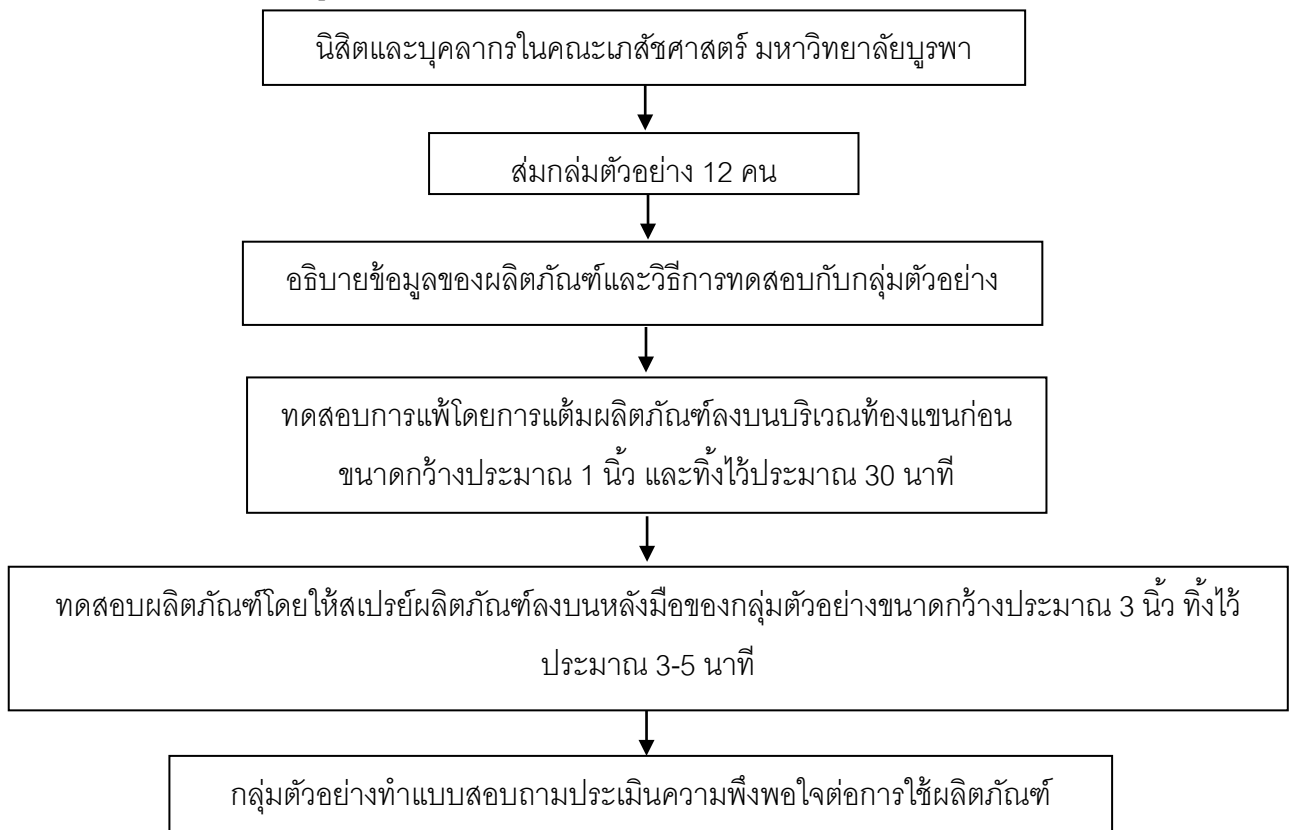
คะแนนเฉลี่ย 3.41-4.20 หมายถึง มีความพึงพอใจระดับมาก

คะแนนเฉลี่ย 4.21-5.00 หมายถึง มีความพึงพอใจระดับมากที่สุด

### **วิธีดำเนินการวิจัย**

ผู้วิจัยทำการสุ่มตัวอย่างอาสาสมัครสุขภาพดี ช่วงอายุระหว่าง 18-50 ปี แบบบังเอิญ จากนั้นสอบถามความสมัครใจในการเข้าร่วมการทดสอบผลิตภัณฑ์และข้อมูลเบื้องต้นที่จำเป็นของ

อาสาสมัคร อธิบายข้อมูลของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทดสอบ ก่อนทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ให้อาสาสมัครทดสอบการแพ้โดยการแต้มผลิตภัณฑ์ลงบนผิวหนังบริเวณท้องแขน ขนาดพื้นที่ 1 ตารางนิ้ว ใช้ผ้าก๊อชปิดทับบริเวณที่ทดสอบเพื่อป้องกันการหลุดหรือการถูกระคายออกของผลิตภัณฑ์ทิ้งไว้ 30 นาที (อ้างอิงวิธีทดสอบจาก European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing) เมื่อครบเวลาหากไม่เกิดอาการระคายเคือง หรือไม่มีอาการแพ้ จึงจะดำเนินการทดสอบผลิตภัณฑ์โดยให้อาสาสมัครสเปรย์ผลิตภัณฑ์ลงบนหลังมือ 1 ครั้ง ขนาดพื้นที่ 3 ตารางนิ้ว ทิ้งไว้ 3-5 นาที จากนั้นผู้วิจัยจะให้กลุ่มตัวอย่างทำแบบสอบถามประเมินความพึงพอใจต่อการแพ้ผลิตภัณฑ์จำนวน 10 ข้อ ซึ่งใช้เวลาในการตอบแบบสอบถามประมาณ 10 นาที และระหว่างทำการทดสอบผู้วิจัยจะจับเวลาตั้งแต่สเปรย์ผลิตภัณฑ์จนกระทั่งอาสาสมัครบอกว่าผลิตภัณฑ์แห้ง (time to dry) และบันทึกข้อมูลไว้



รูปที่ 15 สรุปขั้นตอนการดำเนินวิจัย

### ประเด็นทางจริยธรรมของการวิจัย

การวิจัยนี้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย ของมหาวิทยาลัย  
บูรพา เลขที่ 20/2561 มีการปกปิดข้อมูล ไม่นำเสนอข้อมูลที่เฉพาะเจาะจงของผู้ให้ข้อมูล  
(ชื่อ-สกุล) ในรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ การวิจัยนี้ไม่มีความเสี่ยงต่อการบาดเจ็บและอันตราย  
ต่อร่างกาย หากกลุ่มตัวอย่างเปลี่ยนใจ สามารถออกจากการทดสอบได้โดยไม่มีข้อแม้ และใน  
ระหว่างเข้าร่วมโครงการวิจัย หากกลุ่มตัวอย่างมีข้อสงสัย ผู้วิจัยยินดีตอบข้อสงสัยตลอดเวลา  
การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป วิเคราะห์ด้วยสถิติการแจกแจง  
ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation)

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกัมมะขามดัดแปร

ตารางที่ 9 ลักษณะสารละลายที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปรที่ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้นของกัมมะขามดัดแปร | ลักษณะสารละลายที่เตรียมได้                                                           |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 0.5% w/w                     |   |
| 1% w/w                       |  |
| 2.5% w/w                     |  |

ตารางที่ 9 ผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของกัมมะขามดัดแปร (ต่อ)

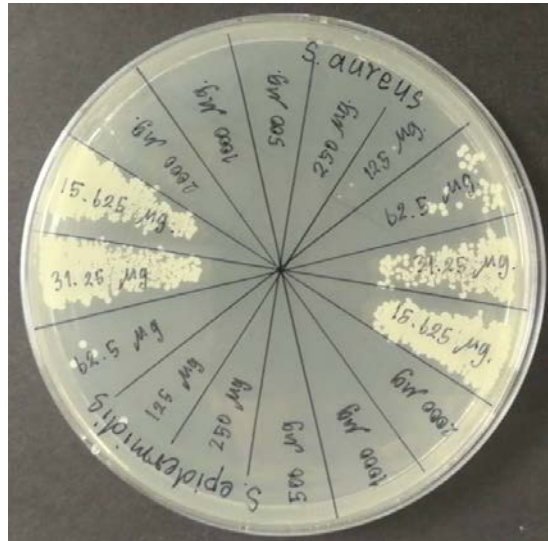
| ความเข้มข้นของกัมมะขามดัดแปร | ภาพประกอบ                                                                            |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 5% w/w                       |    |
| 7.5% w/w                     |   |
| 10% w/w                      |  |

## 4.2 การหาอัตราส่วนของตัวทำละลาย

ตารางที่ 10 ลักษณะทางกายภาพของสารละลายที่เตรียมจากกัมมะขามตัดแปรรูปความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่างกัน

| น้ำ<br>(มิลลิลิตร) | เอทานอล 95%<br>(มิลลิลิตร) | ลักษณะทางกายภาพ             |                  |
|--------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------|
|                    |                            | ก่อนปั่น                    | หลังปั่น         |
| 1                  | 9                          | เหลว, แยกชั้น               | แยกชั้น, ตกตะกอน |
| 2                  | 8                          | เหลว, แยกชั้น               | แยกชั้น, ตกตะกอน |
| 3                  | 7                          | เหลว, แยกชั้น               | แยกชั้น, ตกตะกอน |
| 4                  | 6                          | เหลว, แยกชั้น               | แยกชั้น, ตกตะกอน |
| 5                  | 5                          | หนืดเล็กน้อย                | แยกชั้น, ตกตะกอน |
| 5.5                | 4.5                        | หนืดน้อย, ตะกอนเล็กน้อย     | ไม่เกิดตะกอน     |
| 6                  | 4                          | หนืดเล็กน้อย, ตะกอนเล็กน้อย | ไม่เกิดตะกอน     |
| 7                  | 3                          | หนืดปานกลาง, ตะกอนน้อยมาก   | ไม่เกิดตะกอน     |
| 8                  | 2                          | หนืดมาก, ตะกอนน้อยมาก       | ไม่เกิดตะกอน     |
| 9                  | 1                          | หนืดมาก, ตะกอนน้อยมาก       | ไม่เกิดตะกอน     |

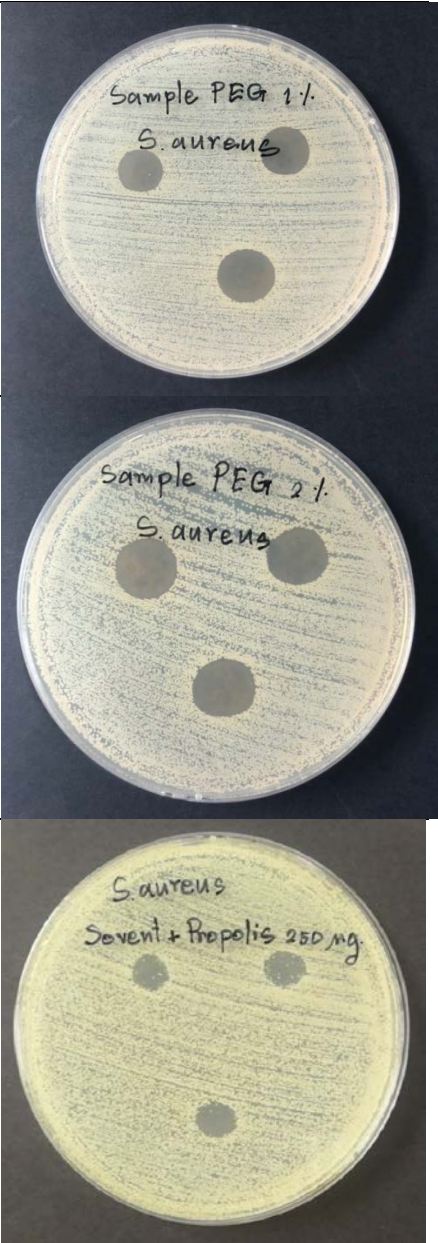
#### 4.3 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพอลิสที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรือ Minimal inhibitory concentration (MIC)



รูปที่ 15 จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดพอลิสที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

#### 4.4 การศึกษาสมบัติทางชีวภาพโดยการทดสอบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อ

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Aureus*

| ตัวอย่างที่วิเคราะห์                                                                          | พื้นที่การยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร) $\pm$ SD | ภาพประกอบ                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ตำรับ 1 : ตัวทำละลาย<br>กัมมะขามดัดแปร 7.5%<br>w/w พรอพอลิส 250<br>ไมโครกรัม และ 1%<br>PEG400 | $13 \pm 1.414$                              |  |
| ตำรับ 2 : ตัวทำละลาย<br>กัมมะขามดัดแปร 7.5%<br>w/w พรอพอลิส 250<br>ไมโครกรัม และ 2%<br>PEG400 | $11.833 \pm 2.137$                          |                                                                                      |
| ตัวทำละลาย และ<br>พรอพอลิส 250<br>ไมโครกรัม                                                   | $9.833 \pm 0.408$                           |                                                                                      |

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Aureus* (ต่อ)

| ตัวอย่างที่วิเคราะห์                       | พื้นที่การยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร) $\pm$ SD | ภาพประกอบ                                                                             |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| ตัวทำลาย และ 1%<br>PEG400                  | ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้                    |    |
| ตัวทำลาย และ 2%<br>PEG400                  | ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้                    |   |
| โซเดียมคลอไรด์ 0.85%<br>(Negative control) | ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้                    |  |

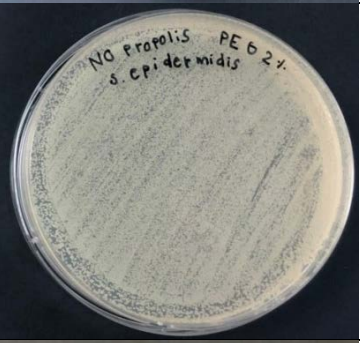
ตารางที่ 11 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Aureus* (ต่อ)

| ตัวอย่างที่วิเคราะห์                               | พื้นที่การยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร) $\pm$ SD | ภาพประกอบ                                                                             |
|----------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| อีริโทรไมซิน 15<br>ไมโครกรัม<br>(Positive control) | $28.667 \pm 1.506$                          |    |
| โทเมอิล คลินได เจล<br>(ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด)        | $30.500 \pm 2.168$                          |   |
| คลินดารีน เจล<br>(ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด)             | $27.833 \pm 1.472$                          |  |

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Epidermidis*

| ตัวอย่างที่วิเคราะห์                                                                          | พื้นที่การยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร) $\pm$ SD | ภาพประกอบ                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| ตำรับ 1 : ตัวทำละลาย<br>กัมมะขามดัดแปร 7.5%<br>w/w พรอพอลิส 250<br>ไมโครกรัม และ 1%<br>PEG400 | 12.833 $\pm$ 0.753                          |    |
| ตำรับ 2 : ตัวทำละลาย<br>กัมมะขามดัดแปร 7.5%<br>w/w พรอพอลิส 250<br>ไมโครกรัม และ 2%<br>PEG400 | 11.667 $\pm$ 1.211                          |   |
| ตัวทำละลาย และ<br>พรอพอลิส 250<br>ไมโครกรัม                                                   | 9.500 $\pm$ 0.548                           |  |

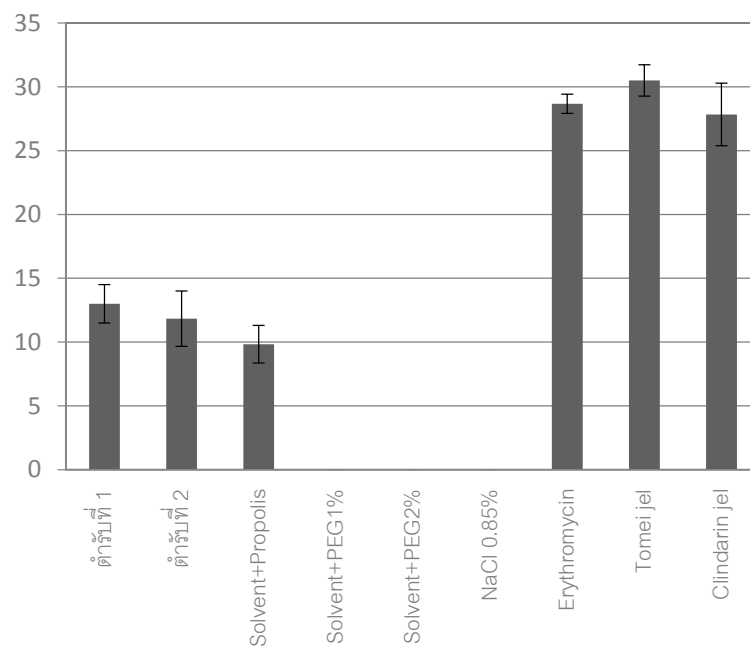
ตารางที่ 12 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Epidermidis* (ต่อ)

| ตัวอย่างที่วิเคราะห์                       | พื้นที่การยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร) $\pm$ SD | ภาพประกอบ                                                                             |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| ตัวทำลาย และ 1%<br>PEG400                  | ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้                    |    |
| ตัวทำลาย และ 2%<br>PEG400                  | ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้                    |   |
| โซเดียมคลอไรด์ 0.85%<br>(Negative control) | ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้                    |  |

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Epidermidis* (ต่อ)

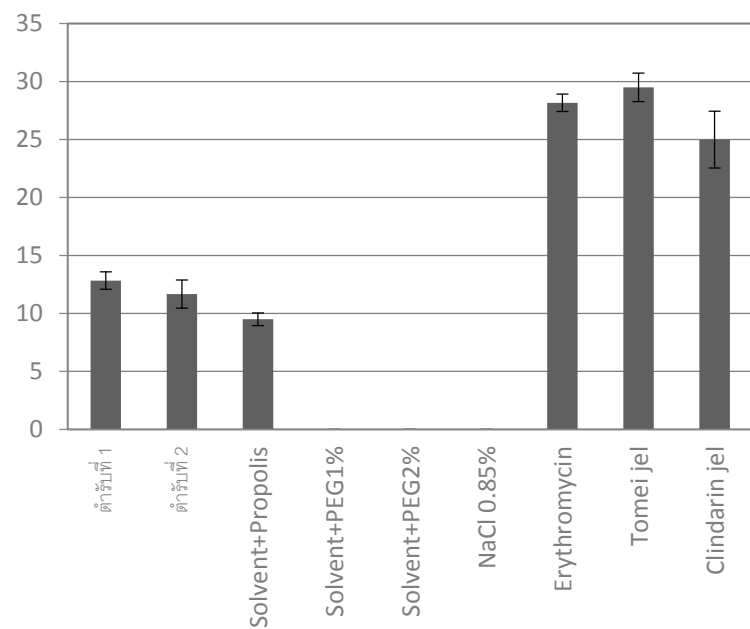
| ตัวอย่างที่วิเคราะห์                             | พื้นที่การยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร) $\pm$ SD | ภาพประกอบ                                                                             |
|--------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| อิริโทรมัยซิน 15 ไมโครกรัม<br>(Positive control) | $28.167 \pm 0.753$                          |    |
| โทเมอิล คลินไค เจล<br>(ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด)      | $29.500 \pm 1.225$                          |   |
| คลินดาร์รินเจล<br>(ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด)          | $25.000 \pm 2.450$                          |  |

พื้นที่ยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร)



รูปที่ 16 กราฟแท่งแสดงพื้นที่การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Aureus* ของสูตรตำรับต่างๆ

พื้นที่ยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร)



รูปที่ 17 กราฟแท่งแสดงพื้นที่การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Epidermidis* ของสูตร ตำรับต่างๆ

#### 4.5 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารช่วยในตำรับ

| สารช่วยในตำรับ                           | n  | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบน<br>มาตรฐาน |
|------------------------------------------|----|-----------|--------------------------|
| กัมมะขามดัดแปร                           | 7  | 169.84    | 2.26                     |
| กัมมะขามดัดแปร + PEG 0.5%                | 10 | 173.44    | 2.94                     |
| กัมมะขามดัดแปร + PEG 1%                  | 10 | 181.51    | 3.09                     |
| กัมมะขามดัดแปร + PEG 2%                  | 8  | 172.05    | 3.50                     |
| กัมมะขามดัดแปร + PEG 3%                  | 5  | 171.17    | 2.72                     |
| กัมมะขามดัดแปร + กลีเซอริน 1%            | 10 | 168.63    | 1.70                     |
| กัมมะขามดัดแปร + พรอพอลิส                | 4  | 165.73    | 3.60                     |
| กัมมะขามดัดแปร + พรอพอลิส + PEG 0.5%     | 3  | 167.75    | 1.24                     |
| กัมมะขามดัดแปร + พรอพอลิส + PEG 1%       | 5  | 175.12    | 1.63                     |
| กัมมะขามดัดแปร + พรอพอลิส + PEG 2%       | 5  | 168.53    | 2.06                     |
| กัมมะขามดัดแปร + พรอพอลิส + PEG 3%       | 5  | 171.12    | 1.01                     |
| กัมมะขามดัดแปร + พรอพอลิส + กลีเซอริน 1% | 3  | 172.14    | 2.31                     |

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย Breaking strain ระหว่างสารช่วยในตำรับที่ต่างกัน

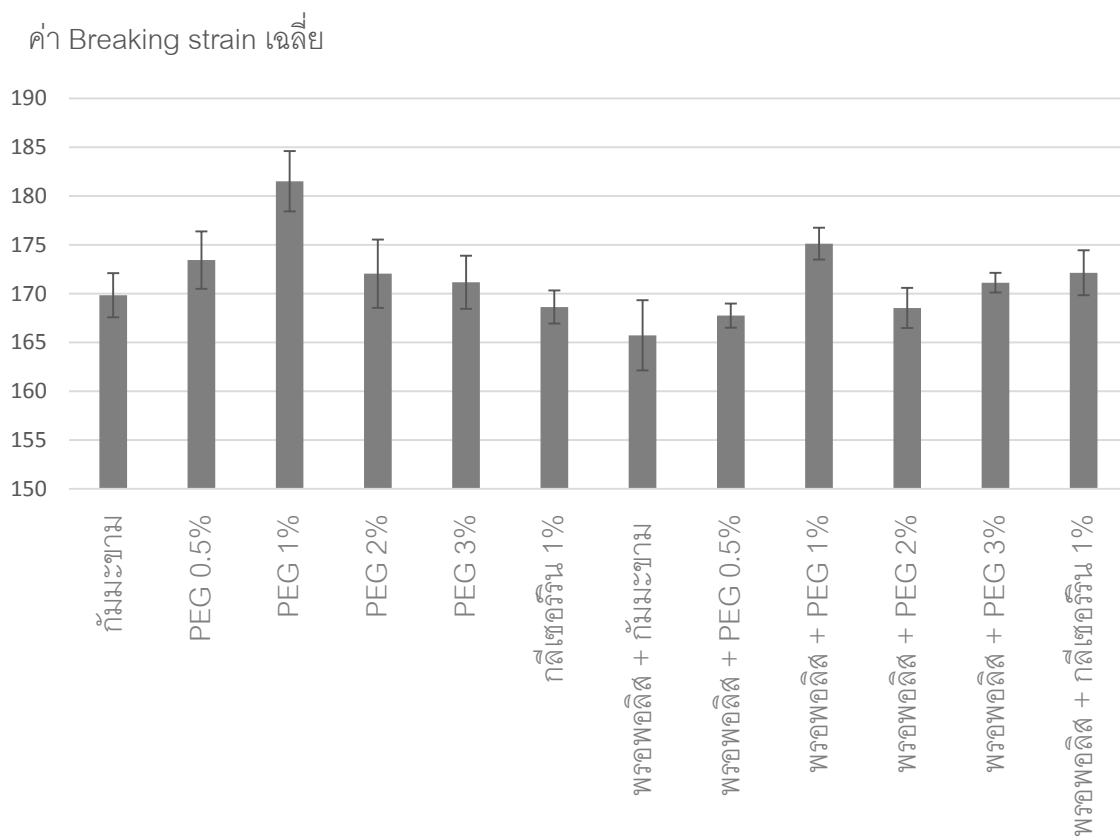
| แหล่งความแปรปรวน<br>(Source) | องศาอิสระ<br>(D.F.) | ผลรวมความ<br>เบี่ยงเบนกำลัง<br>สอง (S.S.) | ค่าเฉลี่ย<br>กำลังสอง<br>(M.S.) | ค่าเอฟ<br>(F) | ระดับ<br>นัยสำคัญ<br>(F Prob) |
|------------------------------|---------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|---------------|-------------------------------|
| ระหว่างกลุ่ม                 | 11                  | 1396.34                                   | 126.94                          | 19.06         | .000*                         |
| ภายในกลุ่ม                   | 63                  | 419.62                                    | 6.66                            |               |                               |
| รวม                          | 74                  | 1815.96                                   |                                 |               |                               |

\*p < .05

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของ Breaking strain รายคู่ของตำรับต่างๆ ด้วยวิธีของ LSD

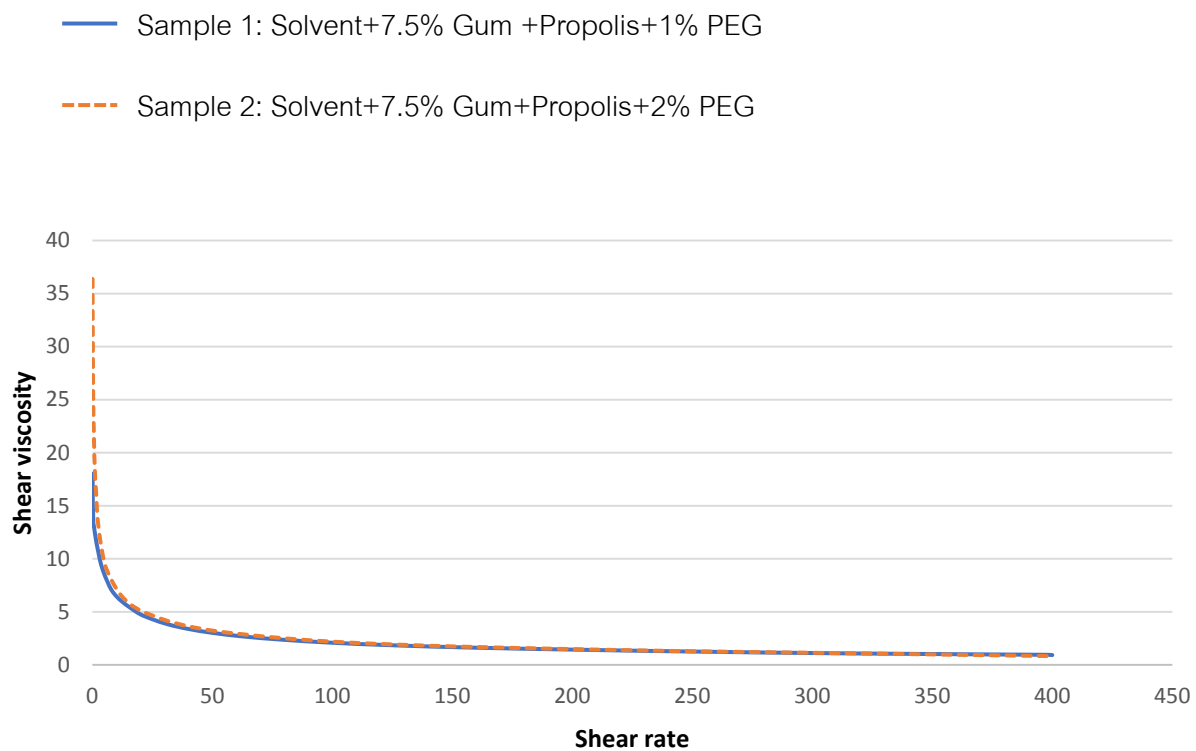
| สารช่วยในตำรับ                     | กัมมะขามตัดแปร | กัมมะขามตัดแปร+PEG 0.5% | กัมมะขามตัดแปร+PEG 1% | กัมมะขามตัดแปร+PEG 2% | กัมมะขามตัดแปร+PEG 3% | กัมมะขามตัดแปร+กลีเซอริน 1% | กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส | กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+PEG0.5% | กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+PEG1% | กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+PEG2% | กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+PEG3% | กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+กลีเซอริน1% |
|------------------------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| กัมมะขามตัดแปร                     | -              | -3.60*                  | -11.67*               | -2.21                 | -1.33                 | 1.21                        | 4.10*                  | 2.09                           | -5.29*                       | 1.31                         | -1.28                        | -2.31                              |
| กัมมะขามตัดแปร+PEG 0.5%            |                | -                       | -8.07*                | 1.39                  | 2.27                  | 4.81*                       | 7.70*                  | 5.69*                          | -1.69                        | 4.91*                        | 2.32*                        | 1.29                               |
| กัมมะขามตัดแปร+PEG 1%              |                |                         | -                     | 9.46*                 | 10.34*                | 12.88*                      | 15.73*                 | 13.76*                         | 6.38*                        | 12.98*                       | 10.39*                       | 9.36*                              |
| กัมมะขามตัดแปร+PEG 2%              |                |                         |                       | -                     | 0.89                  | 3.42*                       | 6.32*                  | 4.31*                          | -3.07*                       | 3.52*                        | 0.93                         | -0.93                              |
| กัมมะขามตัดแปร+PEG 3%              |                |                         |                       |                       | -                     | 2.54                        | 5.43*                  | 3.42                           | -3.96*                       | 2.64                         | 0.05                         | -0.98                              |
| กัมมะขามตัดแปร+กลีเซอริน 1%        |                |                         |                       |                       |                       | -                           | 2.89                   | 0.88                           | -6.49*                       | -0.10                        | -2.49                        | -3.52*                             |
| กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส             |                |                         |                       |                       |                       |                             | -                      | -2.01                          | -9.39*                       | -2.80                        | -5.38*                       | -6.41*                             |
| กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+PEG0.5%     |                |                         |                       |                       |                       |                             |                        | -                              | -7.38*                       | -0.78                        | -3.37                        | -4.40*                             |
| กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+PEG1%       |                |                         |                       |                       |                       |                             |                        |                                | -                            | 6.59*                        | 4.01*                        | 2.98                               |
| กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+PEG2%       |                |                         |                       |                       |                       |                             |                        |                                |                              | -                            | -2.59                        | -3.61                              |
| กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+PEG3%       |                |                         |                       |                       |                       |                             |                        |                                |                              |                              | -                            | -1.03                              |
| กัมมะขามตัดแปร+พวอพลิส+กลีเซอริน1% |                |                         |                       |                       |                       |                             |                        |                                |                              |                              |                              | -                                  |

\*p<0.05

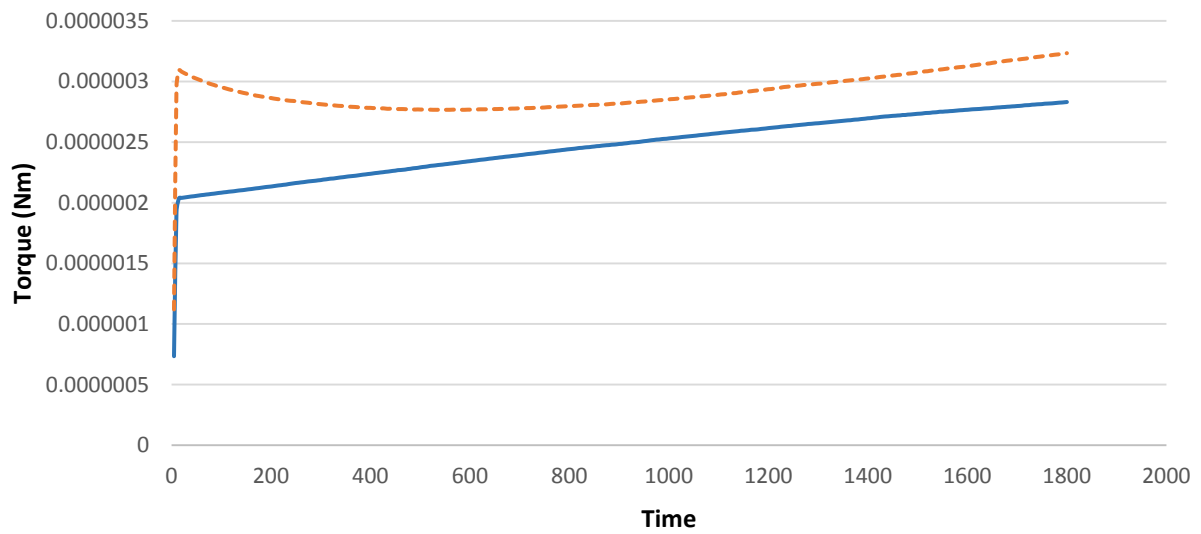


รูปที่ 18 กราฟแท่งแสดงค่า Breaking strain เฉลี่ยของสารช่วยในตำรับที่ต่างกัน

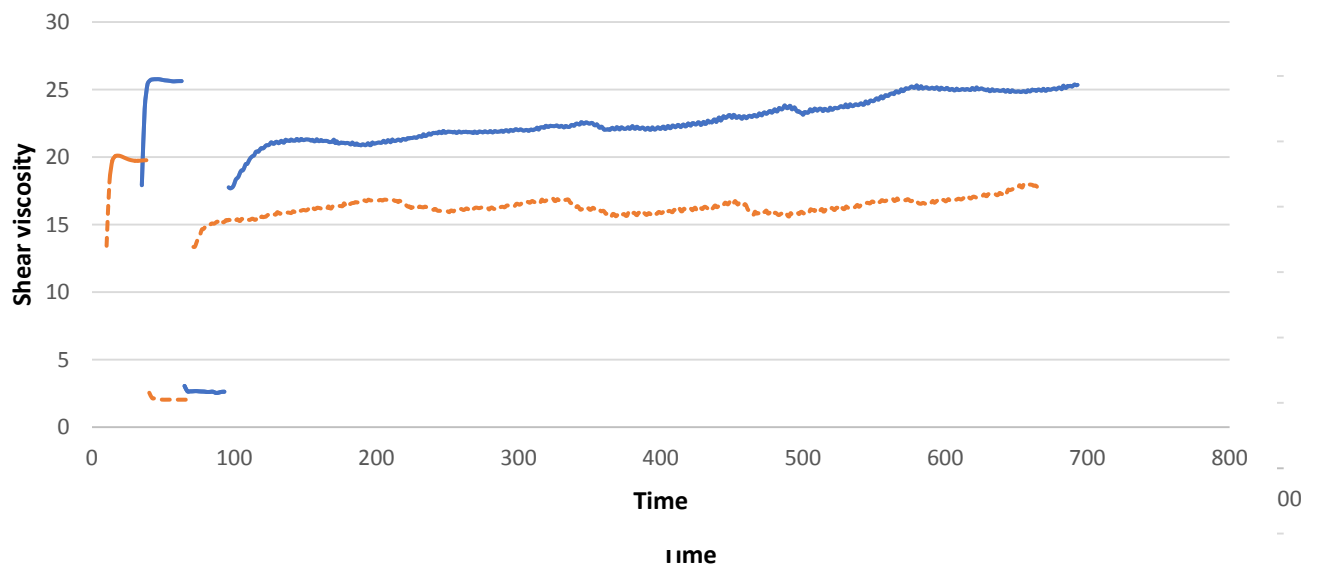
#### 4.6 การศึกษาสมบัติการไหลของสารด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์



รูปที่ 19 กราฟเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate และ Shear viscosity (ช่วง shear rate 0.1-400  $s^{-1}$ )

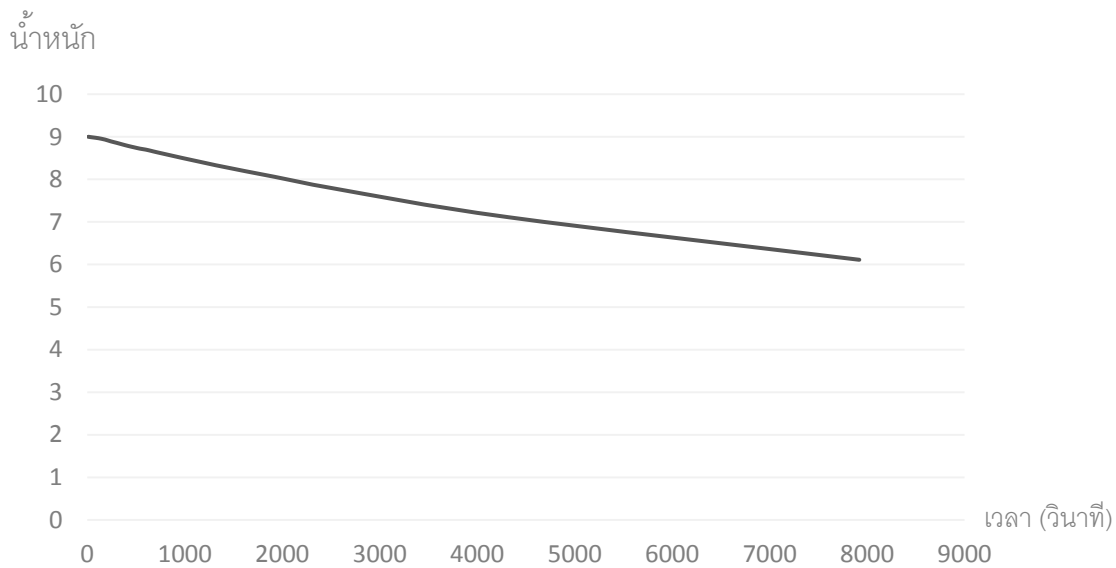


รูปที่ 20 กราฟเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Time และ Torque (Single frequency)

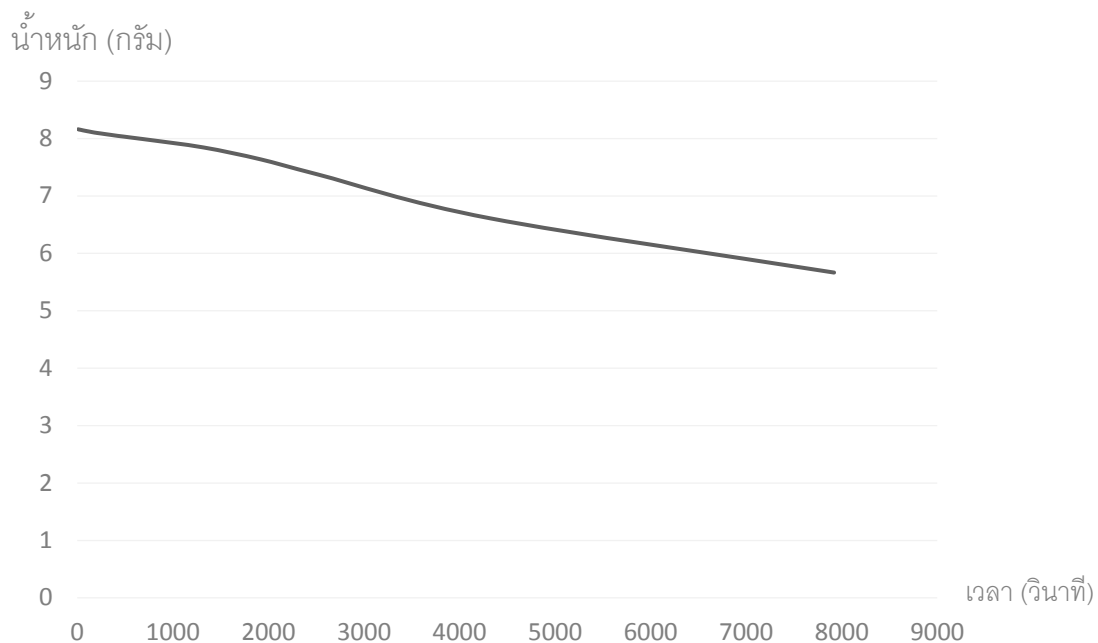


รูปที่ 21 กราฟเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Time และ Shear viscosity (t-step)

#### 4.7 การหาระยะเวลาการแห้งของสารตัวอย่าง (Time to dry)



รูปที่ 22 กราฟเส้นแสดงระยะเวลาการแห้งของตำรับที่ 1 (ตัวทำละลาย + กัมมะขามดัดแปร 7.5% w/w + พรอพอริส 250 ไมโครกรัม + PEG 1%)



รูปที่ 23 กราฟเส้นแสดงระยะเวลาการแห้งของตำรับที่ 2 (ตัวทำละลาย + กัมมะขามดัดแปร 7.5% w/w + พรอพอริส 250 ไมโครกรัม + PEG 2%)

#### 4.7 การประเมินความพึงพอใจวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป วิเคราะห์

ด้วยสถิติการแจกแจงความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation)

##### ผลการวิจัย

##### ส่วนที่ 1 ข้อมูลส่วนบุคคล

ตารางที่ 16 จำนวน ร้อยละและค่าเฉลี่ยข้อมูลส่วนบุคคลของกลุ่มตัวอย่างที่ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์  
(n = 12)

| ข้อมูลส่วนบุคคล          | จำนวน                                             | ร้อยละ |
|--------------------------|---------------------------------------------------|--------|
| อายุ (ปี)                | $\bar{X} = 23.6$ , SD = 2.5, MAX = 31, MIN = 22   |        |
| เพศ                      |                                                   |        |
| ชาย                      | 5                                                 | 41.7   |
| หญิง                     | 7                                                 | 58.3   |
| การศึกษา                 |                                                   |        |
| ปริญญาตรี                | 11                                                | 91.7   |
| สูงกว่าปริญญาตรี         | 1                                                 | 8.3    |
| อาชีพ                    |                                                   |        |
| นักศึกษา                 | 8                                                 | 66.7   |
| อื่นๆ                    | 4                                                 | 33.3   |
| โรคประจำตัว              |                                                   |        |
| ไม่มี                    | 11                                                | 91.7   |
| มี                       | 1                                                 | 8.3    |
| ประวัติการแพ้ยา สารอาหาร |                                                   |        |
| ไม่แพ้                   | 12                                                | 100    |
| ระยะเวลาในการแห้ง (นาที) | $\bar{X} = 4.36$ , SD = 2.7, MAX = 9.5, MIN = 1.3 |        |

## ส่วนที่ 2 การประเมินความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ (*In vivo* test)

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ของกลุ่มตัวอย่าง  
จำแนกรายข้อและภาพรวม (n = 12)

| ข้อความ                          | ค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ |      |           |
|----------------------------------|----------------------|------|-----------|
|                                  | $\bar{X}$            | SD   | ระดับ     |
| 1. ความไม่เหนียวเหนอะหนะ         | 3.33                 | 1.44 | ปานกลาง   |
| 2. ระยะเวลาในการแห้ง             | 3.58                 | 0.79 | มาก       |
| 3. ความใสของฟิล์ม                | 4.33                 | 0.65 | มากที่สุด |
| 4. ความไม่ระคายเคืองต่อผิว       | 4.25                 | 1.14 | มากที่สุด |
| 5. ความยืดหยุ่น                  | 3.75                 | 1.29 | มาก       |
| 6. กลิ่นของผลิตภัณฑ์             | 3.25                 | 0.87 | ปานกลาง   |
| 7. การทำความสะอาดผลิตภัณฑ์       | 4.33                 | 0.65 | มากที่สุด |
| 8. ความสะดวกในการใช้งาน          | 3.92                 | 1.08 | มาก       |
| 9. ความติดทนของผลิตภัณฑ์         | 4.00                 | 1.04 | มาก       |
| 10. ความพึงพอใจโดยรวมในการใช้งาน | 3.83                 | 0.94 | มาก       |
| เฉลี่ยภาพรวม                     | 3.86                 | 0.52 | มาก       |

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

#### 5.1 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกัมมะขามดัดแปร

การเตรียมสารละลายกัมมะขามดัดแปรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการเป็นพอลิเมอร์สำหรับก่อฟิล์มในตำรับ การทดลองทำโดยพ่นสารละลายแต่ละความเข้มข้นลงบนกระดาษฟอยล์ จากนั้นศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยตาเปล่า เช่น ลักษณะการเกิดฟิล์ม ความหนืดขึ้น จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของกัมมะขามดัดแปร 7.5% w/w สามารถก่อตัวเป็นฟิล์มได้ดีที่สุด จึงเลือกความเข้มข้นดังกล่าวมาเตรียมตำรับต่อไป

#### 5.2 การหาอัตราส่วนของตัวทำละลาย

จากการเตรียมตัวอย่างกัมมะขามดัดแปร 7.5% w/w โดยใช้ตัวทำละลาย คือ น้ำและ เอทานอล 95% ในอัตราส่วนต่าง ๆ จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยตาเปล่า เช่น ความหนืดของสารละลาย การตกตะกอน พบว่า อัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดคือ น้ำ : เอทานอล 95% เท่ากับ 55 : 45 ซึ่งมีความหนืดเหมาะสมและไม่พบการตกตะกอนของกัมมะขามดัดแปร

#### 5.3 การศึกษาสมบัติทางชีวภาพโดยการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Aureus* ของสารสกัดพรอพอริส โดยทำการทดสอบแผ่นฟิล์มของสูตรตำรับที่ 1, สูตรตำรับที่ 2, ตัวทำละลายและพรอพอริส, ตัวทำละลายและ PEG 1%, ตัวทำละลายและ PEG 2%, โซเดียมคลอไรด์ 0.85% (Negative control), อิริโทรมัยซิน 15 ไมโครกรัม (Positive control), โทเมอเจล (ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด) และ คลินดามินเจล (ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด) จากผลการทดลองพบว่า positive control สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ และ negative control ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต

ของเชื้อ แสดงให้เห็นว่า วิธีการและสภาวะในการทดลอง สามารถใช้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อได้อย่างถูกต้อง โดยหากพิจารณาตำรับที่ประกอบด้วยสารสกัดพรอพอริสจะเห็นได้ว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ ซึ่งเกิดจากการที่พรอพอริสมีสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ที่มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยไม่ได้มีผลจากแอลกอฮอล์ที่ใช้เป็นตัวทำละลาย ดังเห็นได้จากตำรับที่ประกอบด้วย ตัวทำละลายและ PEG ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าตำรับที่พัฒนาขึ้นนั้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อน้อยกว่า โทเมอิจเอล และ คลินดารีนาเจล ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งคณะผู้วิจัยเห็นว่าในงานวิจัยภายหน้าหากเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอริสในตำรับ จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการยับยั้งดีขึ้น จากตารางที่ 12 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Epidermidis* ของสารสกัดพรอพอริส โดยทำการทดสอบแผ่นฟิล์มของสูตรตำรับที่ 1, สูตรตำรับที่ 2, ตัวทำละลายและพรอพอริส, ตัวทำละลายและ PEG 1%, ตัวทำละลายและ PEG 2%, โซเดียมคลอไรด์ 0.85% (Negative control), อิริโทรมัยซิน 15 ไมโครกรัม (Positive control), โทเมอิจเอล (ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด) และ คลินดารีนาเจล (ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด) โดยผลการทดลองมีลักษณะเช่นเดียวกันกับการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus Aureus* ดังที่ได้อธิบายไปแล้วข้างต้น

#### 5.4 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

จากตารางที่ 1 พบว่า สารช่วยในตำรับที่มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากที่สุด คือ 1% PEG 400 ( $= 181.51$ , S.D.  $= 3.09$ ) รองลงมาคือ 0.5% PEG 400 ( $= 173.44$ , S.D.  $= 2.94$ ) และน้อยที่สุดคือ พรอพอริส + กัมมะขาม ( $= 165.73$ , S.D.  $= 3.60$ ) เมื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของ Breaking strain ด้วยการทำ Simple Main Effect ANOVA และวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว พบว่า สารช่วยในตำรับที่ต่างกันมีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .05 ( $F = 19.06$ ,  $F \text{ Prob} = .000$ ) อย่างน้อย 1 คู่ ดังนั้นจึงต้องวิเคราะห์ต่อว่าคู่ใดที่แตกต่างกัน โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ (Post Hoc Test) ด้วยวิธีของ LSD ได้ผลดังรายละเอียดในตารางที่ 4

จากตารางที่ 2 พบว่า สารช่วยในตำรับ กัมมะขาม มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่า พรอพอริส + กัมมะขาม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ PEG 0.5% มี

ค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่า กัมมะขาม, กลีเซอริน 1%, พรอพอลิส + กัมมะขาม, พรอพอลิส + PEG 0.5%, พรอพอลิส + PEG 2% และ พรอพอลิส + PEG 3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ PEG 1% มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่า กัมมะขาม, PEG 0.5%, PEG 2%, PEG 3%, กลีเซอริน 1%, พรอพอลิส + กัมมะขาม, พรอพอลิส + PEG 0.5% พรอพอลิส + PEG 1%, พรอพอลิส + PEG 2%, พรอพอลิส + PEG 3% และพรอพอลิส + กลีเซอริน 1% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ PEG 2% มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่า กลีเซอริน 1%, พรอพอลิส + กัมมะขาม, พรอพอลิส + PEG 0.5% และพรอพอลิส + PEG 2% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ PEG 3% มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่าพรอพอลิส + กัมมะขาม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ กลีเซอริน 1% ไม่มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่าสารใดในตำรับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05สารช่วยในตำรับ พรอพอลิส + กัมมะขาม ไม่มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่าสารใดในตำรับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ พรอพอลิส + PEG 0.5% ไม่มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่าสารใดในตำรับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ พรอพอลิส + PEG 1% มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่า กัมมะขาม, PEG 2%, PEG 3%, กลีเซอริน 1%, พรอพอลิส + กัมมะขาม, พรอพอลิส + PEG 0.5%, พรอพอลิส + PEG 2% และ พรอพอลิส + PEG 3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ พรอพอลิส + PEG 2% ไม่มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่าสารใดในตำรับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ พรอพอลิส + PEG 3% มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่า พรอพอลิส + กัมมะขาม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05 สารช่วยในตำรับ พรอพอลิส + กลีเซอริน 1% มีค่าเฉลี่ยของ Breaking strain มากกว่า กลีเซอริน 1%, พรอพอลิส + กัมมะขาม และ พรอพอลิส + PEG 0.5% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ .05

[illegible]

## 5.5 การศึกษาสมบัติการไหลและความหนืด

จากรูปที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate และ Shear viscosity (ช่วง shear rate  $0.1-400 \text{ s}^{-1}$ ) จากลักษณะความชันของเส้นกราฟ (Flow curve) แสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างทั้งสองมีพฤติกรรมการไหลที่เหมือนกัน คือ เมื่อให้แรงกระทำจะส่งผลให้ความหนืดของสารตัวอย่างลดลงเรื่อยๆ ในช่วงแรก จนถึงจุดหนึ่งความหนืดจะคงที่ ซึ่งตรงกับสมบัติของของไหลประเภท Pseudoplastic ที่ค่าความหนืดจะลดลง เมื่อเพิ่มอัตราเฉือน หรือ ยิ่งกวนเร็วยิ่งไหลง่าย พฤติกรรมเช่นนี้แสดงคุณสมบัติเป็น shear thinning ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ต้องการจากตำรับ film forming system

รูปที่ 21 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Time และ Shear viscosity (t-step) พบว่าสารตัวอย่างทั้งสองมีพฤติกรรมการคืนรูปที่คล้ายกัน แต่ตัวอย่างที่ 1 จะมีค่า Shear viscosity ที่สูงกว่าตัวอย่างที่ 2 โดยเมื่อพิจารณาในเฟสแรกที่ไม่มีการให้แรงต่อตัวอย่างพบว่าสารตัวอย่างทั้งสองจะมีค่าความหนืดค่าหนึ่ง และเมื่อเข้าสู่เฟสที่ 2 ที่เริ่มให้แรงต่อตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างทั้งสองจะมีความหนืดลดลงอย่างชัดเจน เมื่อเข้าสู่เฟสที่ 3 ที่หยุดให้แรง พบว่าสารตัวอย่างทั้งสองค่อย ๆ มีความหนืดเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับความหนืดก่อนที่จะมีการให้แรงเข้าไป (มีการคืนรูป) โดยตัวอย่างที่มี PEG 1% จะมีการคืนรูปที่เร็วกว่าและมีค่าความหนืดที่ใกล้เคียงกับความหนืดเริ่มต้นมากกว่า PEG 2%

## 5.6 การหาระยะเวลาการแห้งของสารตัวอย่าง (Time to dry)

วัตถุประสงค์ของการทดสอบนี้ ทำเพื่อศึกษาและเปรียบเทียบผลของส่วนประกอบในตำรับต่อระยะเวลาการแห้ง โดยไม่ได้มุ่งที่การจำลองสภาวะการใช้จริง โดยในการทดลองนี้จะใช้การทดสอบลงใน disc ซึ่งความหนาของชั้นฟิล์มที่ได้จะมากกว่าเมื่อสเปรย์บนผิวมาก จากรูปที่ 22 พบว่า เมื่อระยะเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง 22 นาที น้ำหนักของตำรับที่ 1 (ตัวทำละลาย + กัมมะขามดัดแปร 7.5% + พรอพอลิส 250 ไมโครกรัม + PEG 1%) ลดลงจาก 9 กรัม เหลือประมาณ 6 กรัม และจากรูปที่ 23 พบว่า เมื่อระยะเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง 22 นาที น้ำหนักของตำรับที่ 2 (ตัวทำละลาย + กัมมะขามดัดแปร 7.5% + พรอพอลิส 250 ไมโครกรัม + PEG 2%) ลดลงจาก 8 กรัม เหลือประมาณ 5.7 กรัม ผลการทดลองจะเห็นได้ว่า น้ำหนักของตำรับที่ 1 ลดลงมากกว่าตำรับที่ 2 เล็กน้อย ภายในระยะเวลาที่เท่ากัน เนื่องจากเกิดการระเหยของตัวทำละลาย และ PEG มีความเข้ากันได้ดีกับน้ำและเอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายในตำรับทั้งสองตำรับจึงสามารถระเหยไปกับตัวทำละลายได้ และ PEG 2% มีความ

เข้มข้นที่มากกว่าจึงทำให้เกิดการระเหยได้น้อยกว่า จึงสรุปได้ว่า ตำรับที่มีความเข้มข้นของ PEG 1% มีความเหมาะสมกว่าในการตั้งตำรับ

### 5.7 การวิเคราะห์ความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ (In vivo test)

จากการศึกษาข้อมูลส่วนบุคคล พบว่า กลุ่มตัวอย่างมีอายุเฉลี่ย 23.6 ปีส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (ร้อยละ 58.3) การศึกษาระดับปริญญาตรี (ร้อยละ 91.7) อาชีพนักศึกษา (ร้อยละ 66.7) ไม่มีโรคประจำตัว (ร้อยละ 91.7) และไม่มีประวัติการแพ้ยา สารอาหาร (ร้อยละ 100)

ผลการประเมินความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ภาพรวม อยู่ในระดับมาก ( $\bar{X} = 3.86$ ,  $SD = 0.52$ ) เมื่อพิจารณารายข้อ พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจด้านความใสของฟิล์มและด้านการทำความสะอาดผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับมากที่สุด ( $\bar{X} = 4.33$ ,  $SD = 0.65$ ) รองลงมาคือ ด้านความไม่ระคายเคืองผิว อยู่ในระดับมากที่สุด ( $\bar{X} = 4.25$ ,  $SD = 1.14$ ) และกลุ่มตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจน้อยที่สุด คือ ด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ อยู่ในระดับปานกลาง ( $\bar{X} = 3.25$ ,  $SD = 0.87$ ) นอกจากนี้พบว่าระยะเวลาการแห้งของผลิตภัณฑ์มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.6 วินาที ซึ่งถือว่าแห้งได้อย่างรวดเร็ว มีความเหมาะสมในการนำไปใช้

จากผลการศึกษาพบว่ากลุ่มตัวอย่างมีความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ภาพรวม อยู่ในระดับมาก ทั้งนี้เนื่องมาจาก ผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นนี้ มีความใสของฟิล์ม ไม่ระคายเคืองต่อผิว แห้งไว มีความยืดหยุ่น ความติดทน การทำความสะอาดผลิตภัณฑ์ง่าย มีความสะดวกในการใช้งาน ทำให้ผู้ใช้ผลิตภัณฑ์มีความพึงพอใจในระดับมาก

## 5.8 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าระบบก๊อฟิล์มที่เตรียมจากกัมมะขามดัดแปรสำหรับนำส่งสารสกัดพรอพอลิสจากชันโรงทางผิวหนัง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคทางผิวหนังได้ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้เท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร โดยตำรับที่พัฒนาขึ้นใช้กัมมะขามดัดแปร (modified gum) ที่เตรียมด้วยกระบวนการเติมหมู่ carboxy-methyl ในโครงสร้างกัมมะขาม เป็นพอลิเมอร์สำหรับก๊อฟิล์ม โดยคณะผู้วิจัยเลือกใช้ความเข้มข้นกัมมะขามดัดแปร 7.5 % w/w ในตัวทำละลายน้ำและ 95% เอทานอล ในอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด คือ น้ำ : เอทานอล 95% = 55 : 45 โดยเติมสารพลาสติไซเซอร์เพื่อช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ตำรับ ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าการเตรียมระบบก๊อฟิล์ม นิยมใช้ PEG 400 และ glycerin เป็นพลาสติไซเซอร์ในตำรับ โดยเมื่อทำการประเมินผลของชนิดและความเข้มข้นของพลาสติไซเซอร์ต่อสมบัติของฟิล์มด้านเนื้อสัมผัส การไหลและความเหนียว พบว่าตำรับที่ดีที่สุด คือ ตำรับที่ใช้ 1% PEG 400 จากนั้นนำตำรับที่เตรียมได้ไปทดสอบความพึงพอใจในมนุษย์ จากผลการทดสอบพบว่า กลุ่มตัวอย่างมีความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ภาพรวมอยู่ในระดับมาก ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น มีความใส ไม่ระคายเคืองต่อผิว แห้งไว มีความยืดหยุ่น ดีทน ทำความสะอาดง่าย มีความสะดวกในการใช้งาน และแห้งไว

อย่างไรก็ตามคณะผู้วิจัยเห็นว่าหากพิจารณาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของตำรับอาจไม่สูงมากเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด คณะผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะในการพัฒนาตำรับต่อไปในอนาคตโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสให้มากขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- 1) Mary Anne Koda-Kimble et al. Koda-Kimble and Young's applied therapeutics: the clinical use of drugs. 10th ed. Philadelphia: Lippincottwilliams & Wilkins 2013.
- 2) Wells BG, DiPiro JT, Schwinghammer TL, DiPiro CV. Skin and Soft-Tissue Infections. Pharmacotherapy Quick Guide. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2017.
- 3) Martinotti S, Ranzato E. Propolis: a new frontier for wound healing? Burns & Trauma. 2015;3:9.
- 4) [Internet]. Librae.mju.ac.th. 2010 [cited 20 March 2018]. Available from: [http://librae.mju.ac.th/goverment/20111119104834\\_librae/16544.pdf](http://librae.mju.ac.th/goverment/20111119104834_librae/16544.pdf)
- 5) Vongsak B, Kongkiatpaiboon S, Jaisamut S, Machana S, Pattarapanich C. In vitro alpha glucosidase inhibition and free-radical scavenging activity of propolis from Thai stingless bees in mangosteen orchard. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2015;25(5):445-50.
- 6) D Wagh V. Propolis: A Wonder Bees Product and Its Pharmacological Potentials2013. 308249 p.
- 7) Kathe K, Kathpalia H. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017;12(6):487-97.
- 8) User S. ระบบนำส่งนิโคตินทางผิวหนังจากน้ำยางพารากำจัดโปรตีน [Internet]. P2s.psu.ac.th. 2016 [cited 26 March 2018]. Available from: <http://www.p2s.psu.ac.th/index.php/psu-research/2014-09-09-02-01-15/63-2015-07-23-08-30-44>
- 9) กองบก.ฐานเศรษฐกิจ. ตามไปดูโรงงานผลิตแป้งเม็ดมะขาม [Online]. 2555 [เข้าถึงเมื่อ 3 กรกฎาคม 2557]; เข้าถึงได้จาก:  
URL:[http://www.thanonline.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=102200%3A2012-01-13-10-22-34&catid=87%3A2009-02-08-11-23-26&Itemid=423#.U8nqkYmSw4](http://www.thanonline.com/index.php?option=com_content&view=article&id=102200%3A2012-01-13-10-22-34&catid=87%3A2009-02-08-11-23-26&Itemid=423#.U8nqkYmSw4)

- 10) กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. ยุทธศาสตร์กับการพัฒนาอุตสาหกรรมจังหวัดเพชรบูรณ์ [Online]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 20 กรกฎาคม 2557]; เข้าถึงได้จาก:  
URL:<http://www.ssmwiki.org/index.php/ยุทธศาสตร์กับการพัฒนาอุตสาหกรรมจังหวัดเพชรบูรณ์>
- 11) ภาควิชา สนิชโยกิจ, ไมตรี สุทธิจิตต์. คุณสมบัติชีวเคมีและการประยุกต์ใช้ของเมล็ดมะขาม [Online]. 2554 [เข้าถึงเมื่อ 20 กรกฎาคม 2557]; เข้าถึงได้จาก:  
URL:[http://www.researchgate.net/profile/Maitree\\_Suttajit2/publication/257085368](http://www.researchgate.net/profile/Maitree_Suttajit2/publication/257085368)
- 12) Goering RV. Mims' medical microbiology 5th edition. Fifth edition ed. Edinburgh: Elsevier Saunders; 2012.
- 13) Taylor TA, Unakal CG. Staphylococcus Aureus. [Updated 2017 Oct 9]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
- 14) Chapter 3 - Supragingival Microbes. In: Zhou X, Li Y, editors. Atlas of Oral Microbiology. Oxford: Academic Press; 2015. p. 41-65.
- 15) Ghisalberti EL. Propolis: a review. Bee World 1979;60:59-84.
- 16) Macucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie 1995;26:83-99.
- 17) Dobrowolski JW, Vohara SB, Sharma K, et al. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. J Ethnopharmacol 1991;35:77-82.
- 18) Thai Pharm Health Sci J 2008;3(2):286-295 13th year of Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Science
- 19) Aliyazicioglu R, Kanbolat S. Therapeutic Effects of Propolis: Review Article 2018. 1-6 p.
- 20) Bankova V, Boudourova KB, Popov S, Sforcin M, Funari SRC. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. Apidologie 1998;29:361-367.
- 21) Ghisalberti EL. Propolis: a review. Bee World 1979;60:59-84.

- 22) Bankova VS, Popov SS, Marekov NL. A study on flavonoids of propolis. *J Nat Prod* 1983;46:471-474.
- 23) Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res* 2000;15:561-571.
- 24) Bankova V, Christov R, Kujumgiev A, Macucci MC, Popov S. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. *Z Naturforsch* 1995;50:167-172.
- 25) Bankova V, Marcucci MC, Simova S, Nikolova N, Kujumgiev A, Popov S. Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis. *Z Naturforsch* 1996;50:277-280.
- 26) Weyant MJ, Carothers AM, Bertagnolli ME, Bertagnolli MM. Colon cancer chemopreventive drugs modulate integrin-mediated signaling pathways. *Clin Cancer Res* 2000;6:949-956.
- 27) Na HK, Wilson MR, Kang KS, Chang CC, Grunberger D, Trosko JE. Restoration of gap junctional intercellular communication by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in a ras-transformed rat liver epithelial cell line. *Cancer Lett* 2000;157:31-38.
- 28) Basnet P, Matsuno M, Neidlein R. Potent free radical scavenging activity of propolis isolated from Brazilian propolis. *Z Naturforsch* 1997;52:828-833.
- 29) Park EH, Kim SH, Park SS. Anti-inflammatory activity of propolis. *Arch Pharmacol* 1996;19:337-341.
- 30) Sosa S, Baricevis D, Cinco M, Padovan D, Tubaro A, Della LR. Preliminary investigation on the anti-inflammatory and anti-microbial activities of propolis. *Pharmaceut Pharmacol Lett* 1997;7:168-171.
- 31) Mirzoeva OK, Calder PC. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during inflammatory response. *Prostaglandins, Leukotrienes Essent Fatty Acids* 1996;55:441-449.

- 32) Zurdo Schroeder I, Franke P, Schaefer UF, Lehr C-M. Development and characterization of film forming polymeric solutions for skin drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2007;65(1):111-21.
- 33) Mcauley WJ, Caserta F, Hoboken NJ. Film-forming and heated systems. In: Donnelly RF, Singh TRR, editors. *Novel delivery systems for transdermal and intradermal drug delivery*.
- 34) Ding H. Modified-Release Drug Products and Drug Devices. In: Shargel L, Yu ABC, editors. *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*, 7e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2016.
- 35) Product – patch [Internet]. Nicotinell.co.uk. 2018 [cited 29 November 2018]. Available from: <https://www.nicotinell.co.uk/products/nicotinell-patches.html> [Internet].
- 36) Apps.who.int.2018 [cited 14 November 2018]. Available from: <http://apps.who.int/phint/pdf/b/6.2.1.8.Topical-semi-solid-dosage-forms.pdf>
- 37) Penetration testing – consistency analysis in semi-solid products in food, cosmetics and more [Internet]. The Laboratory People. 2018 [cited 29 November 2018]. Available from: <https://camblab.info/wp/index.php/penetration-testing-consistency-analysis-in-semi-solid-products-in-food-cosmetics-and-more/>
- 38) Bajaj H, Kumar T, Singh V. Film forming gels: A review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2016;7(4):2085-91.
- 39) Mori NM, Patel P, Sheth NR, Rathod LV, Ashara KC. Fabrication and characterization of film-forming voriconazole transdermal spray for the treatment of fungal infection. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*. 2017;55(1):41-51.
- 40) Karki S, Kim H, Na SJ, et al. Thin films as an emerging platform for drug delivery, *Asian J Pharm Sci*. 2016;11(5):559–574.
- 41) Chandak AR, Verma PRP, Development and evaluation of HPMC based matrices for transdermal patches of tramadol. *Cli Res Regul Aff*, 2008; 25(1):13–30.

- 42) Vijaya R, Pratheeba C, Anuzvi A, et al. Study of the hydroxy propyl methyl cellulose (hpmc) combinations in the development of transdermal film for amitriptyline HCl and their invitro characterization. *Int J Pharm Chem Biol Sci*, 2015, 5(3), 548-556.
- 43) Patel DP, Setty CM, Mistry GN, et al. Development and evaluation of ethyl cellulose-based transdermal films of furosemide for improved in vitro skin permeation. *AAPS PharmSci Tech*, 2009; 10(2):437–442.
- 44) Klucel <sup>™</sup> hydroxypropylcellulose physical and chemical properties.  
[www.ashland.com](http://www.ashland.com)
- 45) Bühler V. Polyvinylpyrrolidone excipients for pharmaceuticals povidone, crospovidone, and copovidone. Berlin: Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K; 2004.
- 46) Kwon JS, Kim DY, Seo HW, et al. Preparation of erythromycin-loaded poly(vinylalcohol) film and investigation of its feasibility as a transdermal delivery carrier. *Tissue Eng Regener Med*, 2014; 11(3):211–216.
- 47) Sun Y, Cui F, Shi K, et al. The effect of Chitosan molecular weight on the characteristics of spray-dried Methotrexate-Loaded Chitosan Microspheres for nasal administration. *Drug Dev Ind Pharm*, 2009; 35(3):379–386.
- 48) Can A, Erdal M, Güngör S, et al. Optimization and characterization of Chitosan films for Transdermal delivery of Ondansetron, *Molecules*. 2013; 18(5):5455–5471.
- 49) Joshi M. Role of eudragit in targeted drug delivery. *Int J Curr Pharm Res*, 2013; 5(2):58- 62.
- 50) Klykken P, Servinski M Thomas X. Silicone Film-Forming Technologies for Health Care Applications. Dow corning, 1-8.
- 51) Bajaj H, Kumar T, Singh V. Film forming gels: a review. *Res J Pharm Biol Chem Sci*. 2016;7(4):2085-2091.
- 52) Williams AC, Walters KA. Chemical Penetration Enhancement: Possibilities and Problems. In: Walters KA, Roberts MS, editors. *Dermatologic, cosmeceutic, and*

- cosmetic development: Therapeutic and novel approaches, New York: Informa Healthcare, 2007; ISBN: 9780849375897 p. 502.
- 53) Güngör S, Erdal SM, Özsoy Y, Plasticizers in Transdermal drug delivery systems, In: Mohammad Luqman editor. Recent Advances in Plasticizers, Intech, 2012; ISBN: 9789535103639 p. 92-99 Available from: <http://cdn.intechopen.com/pdfs/32871>.
- 54) Frederiksen K, Guy RH, Petersson K. Formulation considerations in the design of topical, polymeric film-forming systems for sustained drug delivery to the skin, Eur J Pharm Biopharm, 2015; 91: 9–15.
- 55) S. Indrè and B. Vitalis, Effect of Film-Forming Polymers on Release of Naftifine Hydrochloride from Nail Lacquers, Int J Polym Sci, 2017.  
<https://doi.org/10.1155/2017/1476270>.
- 56) Vij NN, Saudagar RB. Formulation, development and evaluation of film-forming gel for prolonged dermal delivery of terbinafine hydrochloride. Int J Pharm Sci Res, 2014; 5(9):537- 554.
- 57) Zurdo Schroeder I, Franke P, Schaefer UF, et al. Development and characterization of film forming polymeric solutions for skin drug delivery, Eur J Pharm Biopharm, 2007; 65(1):111–121.
- 58) Team E. poly(ethylene glycol) (CHEBI:46793) [Internet]. Ebi.ac.uk. [cited 19 November 2018]. Available from:  
<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=46793>
- 59) Mohl S, Winter G. Continuous release of rh-interferon alpha-2a from triglyceride matrices. J Control Release 2004; 97(1): 67–78.
- 60) Okhamafe AO, York P. Moisture permeation mechanism of some aqueous-based film coats. J Pharm Pharmacol 1982;
- 61) Polyethylene Glycol (PEG) Selection Guide [Internet]. Sigma-Aldrich. [cited 19 November 2018]. Available from: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/materials-science/polyethylene-glycol-selection-guide.html>

- 62) Viegas TX et al. Evaluation of creams and ointments as suitable formulations for peldesine. *Int J Pharm* 2001; 219(1–2): 73–80.
- 63) SheuMTet al. Simultaneous optimization of percutaneous delivery and adhesion for ketoprofen poultice. *Int J Pharm* 2002; 233: 257–262.
- 64) Barichello JM et al. Combined effect of liposomalization and addition of glycerol on the transdermal delivery of isosorbide 5-nitrate in rat skin. *Int J Pharm* 2008; 357(1–2): 199–205.
- 65) A-Sasutjarit R et al. Viscoelastic properties of carbopol 940 gels and their relationships to piroxicam diffusion coefficients in gel bases. *Pharm Res* 2005; 22(12): 2134–2140.
- 66) Chow TC et al. Formulation of hydrophilic non-aqueous gel: drug stability in different solvents and rheological behaviour of gel matrices. *Pharm Res* 2008; 25(1): 207–217.
- 67) Abu-Huwaij R et al. Potential mucoadhesive dosage form of lidocaine hydrochloride: II in vitro and in vivo evaluation. *Drug Dev Ind Pharm* 2007; 33(4): 437–448.
- 68) Spiegel AJ, NoseworthyMM. Use of nonaqueous solvents in parenteral products. *J Pharm Sci* 1963; 52(10): 917–927.
- 69) Strickley RG. Solubilizing excipients in oral and injectable formula- tions. *Pharm Res* 2004; 21(2): 201–230.
- 70) Powell MF et al. Compendium of excipients for parenteral formula- tions. *PDA J Pharm Sci Technol* 1998; 52(5): 238–311.
- 71) Millard JW et al. Solubilization by cosolvents establishing useful constants for the log-linear model. *Int J Pharm* 2002; 245(1–2): 153– 166.
- 72) Kaur M, Sandhu KS, Kaur J. Pasting properties of Tamarind (*Tamarindus indica*) kernel powder in the presence of Xanthan, Carboxy methylcellulose and Locust bean gum in comparison to Rice and Potato flour. *J Food Sci Technol*. 2013;50(4):809-14.

- 73) WS SN. Study on the Optimization of Extraction and Drying Methods on Physicochemical Properties of Tamarind (*Tamarindus indica* L.) Gum. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2015:1-56.
- 74) Bhalekar M, Sonawane S, Shimpi S. Synthesis and characterization of a cysteine xyloglucan conjugate as mucoadhesive polymer. Brazilian Journal of Pharmaceutical
- 75) Kulkarni D, Dwivedi A, Sarin JS, Singh S. Tamarind seed polyose: A potential polysaccharide for sustained release of verapamil hydrochloride as a model drug. Indian journal of pharmaceutical sciences. 1997;59(1):1.
- 76) Jana S, Lakshman D, Sen KK, Basu SK. Development and evaluation of epichlorohydrin cross-linked mucoadhesive patches of tamarind seed polysaccharide for buccal application.
- 77) Huanbutta K, Sittikijyothin W. Development and characterization of seed gums from *Tamarindus indica* and *Cassia fistula* as disintegrating agent for fast disintegrating Thai cordial tablet. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences.
- 78) Shri. K. Sharma, Steven J. Mulvaney, Syed S. H. Rizvi. 2000. Food Process Engineering: Theory and Laboratory Experiment. A John Wiley & Sons., Publication. USA
- 79) พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนูปนนท์. Texture properties. <http://www.foodnetworksolution.com/> (accessed on Nov 14, 2018)
- 80) ปานมนัส ศิริสมบุญ. Texture Technology of Agricultural Product and Food. 2555 . คณะวิศวกรรมศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ
- 81) Barnes HA, Hutton JF, Walters K. An introduction to rheology. Amsterdam: Elsevier; 1989. p. 13.
- 82) Gabriel C, Munstedt H. Strain hardening of various polyolefins in uniaxial elongational flow. J Rheol 2003;47(3):619-30.

- 83) สุขพงษ์พันธ์ ส, ปฐมชัยอัมพร ว. ความหนืดคุณลักษณะเฉพาะของการไหล [Internet]. 2006 [cited 20 November 2018]. Available from: [http://www.dss.go.th/images/st-article/pep\\_9\\_2549\\_viscosity.pdf](http://www.dss.go.th/images/st-article/pep_9_2549_viscosity.pdf)
- 84) Cappucino, J.G. , Sherman, N. 1992 . Microbiology a Laboratory Manual 3rd ed. The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc. P. 63 - 81.
- 85) Brantner, A., Pfeiffer, K., Brantner, H. 1994. Applicability of diffusion methods required by the pharmacopoeias for testing antibacterial activity of natural compounds. Pharmazie. 49(7): 512–516.
- 86) Alderman, D. J. and Smith, P. 2001. Development of draft protocols of standard reference methods for antimicrobial agent susceptibility testing of bacteria associated with fish diseases. Aquaculture. 196(3-4): 211-243.
- 87) E. Grimes S. A basic laboratory manual for the small-scale production and testing of I-2 Newcastle disease vaccine 2002.
- 88) Neupane K. Bacterial Inhibition in Waste-Water/Fracking Water Using Copper Ion Solution 2016

ภาคผนวก

แบบประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์

**ส่วนที่ 1** ข้อมูลส่วนบุคคล

คำชี้แจง กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่อง ☐ หรือเติมข้อความลงในช่องว่างให้สมบูรณ์

1. อายุ..... ปี

2. เพศ ☐ 1 ชาย ☐ 2 หญิง

3. ระดับการศึกษา

☐ 1 ต่ำกว่าปริญญาตรี ☐ 2 ปริญญาตรี ☐ 3 สูงกว่าปริญญาตรี ☐ 4 อื่น ๆ ระบุ

.....

4. อาชีพ ☐ 1 นักศึกษา ☐ 2 อาจารย์ ☐ 3 อื่น ๆ ระบุ

.....

5. โรคประจำตัว ☐ 1 ไม่มี ☐ 2 มี ระบุ.....

6. ประวัติการแพ้ยา/สาร/อาหาร

☐ 1 แพ้ ระบุชนิด.....อาการ/ระดับความรุนแรง.....

☐ 2 ไม่แพ้

**ส่วนที่ 2** แบบประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์

คำชี้แจง โปรดอ่านข้อความ แล้วทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องที่ตรงกับระดับความพึงพอใจของท่านมากที่สุดเพียงคำตอบเดียว

โดยกำหนดให้คะแนนในแต่ละข้อคำถาม ดังนี้

- |         |                                |
|---------|--------------------------------|
| 5 คะแนน | หมายถึง ท่านพึงพอใจ มากที่สุด  |
| 4 คะแนน | หมายถึง ท่านพึงพอใจ มาก        |
| 3 คะแนน | หมายถึง ท่านพึงพอใจ ปานกลาง    |
| 2 คะแนน | หมายถึง ท่านพึงพอใจ น้อย       |
| 1 คะแนน | หมายถึง ท่านพึงพอใจ น้อยที่สุด |

คำถาม : ท่านรู้สึกพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในแต่ละข้อดังต่อไปนี้ มากน้อยเพียงใด?

| ข้อความ                              | ระดับความพึงพอใจ |     |         |      |            |
|--------------------------------------|------------------|-----|---------|------|------------|
|                                      | มากที่สุด        | มาก | ปานกลาง | น้อย | น้อยที่สุด |
| 1. ความไม่เหนียวเหนอะหนะ             |                  |     |         |      |            |
| 2. ระยะเวลาในการแห้ง                 |                  |     |         |      |            |
| 3. ความใสของฟิล์ม                    |                  |     |         |      |            |
| 4. ความไม่ระคายเคืองต่อผิว           |                  |     |         |      |            |
| 5. ความยืดหยุ่น                      |                  |     |         |      |            |
| 6. กลิ่นของผลิตภัณฑ์                 |                  |     |         |      |            |
| 7. การทำความสะอาด<br>ผลิตภัณฑ์       |                  |     |         |      |            |
| 8. ความสะดวกในการใช้งาน              |                  |     |         |      |            |
| 9. ความติดทนของผลิตภัณฑ์             |                  |     |         |      |            |
| 10. ความพึงพอใจโดยรวมใน<br>การใช้งาน |                  |     |         |      |            |

ข้อมูลความคิดเห็นเพิ่มเติม

.....

### ภาคผนวก ก

ตารางแสดงผลการหาระยะเวลาการแห้ง (Time to dry) ของสารตัวอย่างที่ 1

ตารางแสดงผลการหาระยะเวลาการแห้ง (Time to dry) ของสารตัวอย่างที่ 2

ตารางแสดงผลการหาวะยะเวลาการแห้ง (Time to dry) ของสารตัวอย่างที่ 1

| เวลา (วินาที) | น้ำหนัก |
|---------------|---------|
| 10            | 8.1625  |
| 20            | 8.1566  |
| 30            | 8.1542  |
| 40            | 8.1504  |
| 50            | 8.1467  |
| 60            | 8.1428  |
| 70            | 8.1396  |
| 80            | 8.1361  |
| 90            | 8.1331  |
| 100           | 8.1297  |
| 110           | 8.1268  |
| 120           | 8.1238  |
| 180           | 8.1046  |
| 240           | 8.0905  |
| 300           | 8.076   |
| 360           | 8.0621  |
| 420           | 8.0478  |
| 480           | 8.0358  |
| 540           | 8.0227  |
| 600           | 8.01    |
| 660           | 7.9972  |
| 720           | 7.9843  |
| 1320          | 7.8455  |
| 1920          | 7.6375  |
| 2520          | 7.3735  |
| 4320          | 6.6112  |
| 7920          | 5.666   |

ตัวอย่างที่ 1: Gum 7.5% w/w, Solvent, Propolis 250 mcg/mL, PEG400 1% w/w

ตารางแสดงผลการหาระยะเวลาการแห้ง (Time to dry) ของสารตัวอย่างที่ 2

| เวลา (วินาที) | น้ำหนัก |
|---------------|---------|
| 10            | 9       |
| 20            | 8.997   |
| 30            | 8.993   |
| 40            | 8.99    |
| 50            | 8.987   |
| 60            | 8.984   |
| 70            | 8.981   |
| 80            | 8.978   |
| 90            | 8.975   |
| 100           | 8.971   |
| 110           | 8.968   |
| 120           | 8.964   |
| 180           | 8.935   |
| 240           | 8.893   |
| 300           | 8.858   |
| 360           | 8.82    |
| 420           | 8.784   |
| 480           | 8.752   |
| 540           | 8.721   |
| 600           | 8.698   |
| 660           | 8.666   |
| 720           | 8.633   |
| 1320          | 8.33    |
| 1920          | 8.06    |
| 2520          | 7.79    |
| 4320          | 7.111   |
| 7920          | 6.111   |

ตัวอย่างที่ 2: Gum 7.5% w/w, Solvent, Propolis 250 mcg/mL, PEG400 1% w/w

