



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกัน
และรักษามะเร็งในช่องปาก

Development of oral dissolving film loaded nanoemulsion
of guava leaf essential oil for oral cancer protection and treatment

โดย

1. นสภ. พรชนก ขุนย้ง รหัสนิสิต 61210116
2. นสภ. ธนภรณ์ โชติพันธ์ รหัสนิสิต 61210147
3. นสภ. รพีพร สุขาจิตร รหัสนิสิต 61210149

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2565
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกัน
และรักษามะเร็งในช่องปาก

Development of oral dissolving film loaded nanoemulsion
of guava leaf essential oil for oral cancer protection and treatment

โดย

1. นสภ. พรชนก ชุนยัง รหัสนิสิต 61210116
2. นสภ. ชนภรณ์ โชติพันธ์ รหัสนิสิต 61210147
3. นสภ. รพีพร สุขาจิตร รหัสนิสิต 61210149

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2565
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

โรคมะเร็งในช่องปาก ถือเป็นมะเร็งที่พบบ่อยอันดับต้น ๆ ของประเทศไทย เนื่องจากอดีตคนไทยนิยมเคี้ยวหมาก การดูแลสุขภาพปากและฟันไม่ดีพอ อีกทั้งการดื่มสุรา สูบบุหรี่ การติดเชื้อเอชพีวี (HPV) ก็เป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งในช่องปากได้ ซึ่งมีรายงานในการวิจัยพบว่าน้ำมันฝรั่ง (Guava oil) มีฤทธิ์ในการป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปากได้ แต่การนำน้ำมันฝรั่งมาใช้ในช่องปาก อาจทำให้ผู้ป่วยรู้สึกเหนอะหนะ ส่งผลทำให้ผู้ป่วยไม่ให้ความร่วมมือในการรักษาได้ การเตรียมน้ำมันฝรั่งในรูปแบบนาโนอิมัลชันจะช่วยเพิ่มการดูดซึมสารสำคัญเข้าสู่ช่องปาก ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และการบรรจุนาโนอิมัลชันลงในแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากเป็นรูปแบบที่บริหารง่าย เพิ่มความร่วมมือในการใช้ยา โดยเฉพาะผู้ป่วยเด็ก ผู้ป่วยสูงอายุ และผู้ที่มีปัญหาการกลืน ช่วยเพิ่มชีวประสิทธิผลของยา คณะผู้จัดทำจึงพัฒนาสูตรแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันฝรั่งขึ้น เพื่อนำไปสู่การพัฒนาต่อยอดสูตรตำรับในอนาคต

คณะผู้จัดทำ

- 1.นสภ.พรชนก ขุนย้ง รหัสนิต 61210116
- 2.นสภ.ธนภรณ์ โชติพันธ์ รหัสนิต 61210147
- 3.นสภ.รพีพร สุขาจิตร รหัสนิต 61210149

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ 2565

เรื่อง การพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปาก

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. นสภ.พรชนก ชุนยัง รหัสนิสิต 61210116
2. นสภ.ธนภรณ์ โชติพันธ์ รหัสนิสิต 61210147
3. นสภ.รพีพร สุชาจิตร รหัสนิสิต 61210149

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. ญญ.ผศ.ดร.สุกรรณิการ์ ทับทิมศรี
2. ภก.รศ.ดร.ยศนันท์ วีระพล

บทคัดย่อ

น้ำมันใบฝรั่งเป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย รวมทั้งมีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปาก แต่การนำน้ำมันใบฝรั่งมาใช้ อาจทำให้ไม่สะดวกในการใช้เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีความหนืดทำให้รู้สึกเหนอะหนะได้ จึงนำมาพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปาก ผลการทดสอบพบว่าอัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่เหมาะสมในการเตรียมนาโนอิมัลชัน คือ 70:30 ไม่มีการแยกชั้นครีม มีขนาดอนุภาคภายในเล็กกว่า 100 นาโนเมตร มีค่าการกระจายของอนุภาคภายในที่ใกล้เคียงกับก่อนเข้าสู่สภาวะร้อนสลับเย็น และเมื่อนำมาเตรียมฟิล์มละลายในช่องปากพบว่าสูตรที่เหมาะสมประกอบไปด้วย 1% Sodium alginate และปริมาณนาโนอิมัลชันที่เหมาะสม คือ 10% เมื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม พบว่าที่สภาวะเริ่มต้น 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 10% มีค่า Tensile strength เท่ากับ 249.72 N/m², % elongation เท่ากับ 53.49 และ young's modulus เท่ากับ 458.85 หลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า Tensile strength เท่ากับ 2033.44 N/m², % elongation เท่ากับ 151.09 และ young's modulus เท่ากับ 1356.54 และเมื่อนำไปศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยเครื่อง SEM พบว่า ในแผ่นฟิล์มมีหยดอนุภาคนาโนอิมัลชันแทรกอยู่ การทดสอบด้วยเครื่อง FTIR พบว่าไม่เกิดอันตรกิริยาระหว่าง β -Caryophyllene กับส่วนประกอบในตำรับ การศึกษาร้อยละการบรรจุยาโดยใช้เครื่อง HPLC พบว่าทั้งก่อนและหลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3

เดือน มีค่า 0.13% ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT assay พบว่าก่อนและหลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ความเข้มข้นของการยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากได้ครั้งหนึ่ง (IC_{50}) เท่ากับ 3.08 และ 6.18 ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งมีแนวโน้มในการเป็นตัวแทนในการรักษาโรคมะเร็งในช่องปาก แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบโดยใช้สัตว์ทดลองและการทดสอบทางคลินิกยังคงจำเป็นในการศึกษาประสิทธิภาพและการเกิดพิษต่อไปในอนาคต

อาจารย์ที่ปรึกษา

ศุภรณการ

Senior Project Academic Year 2022

: Development of oral dissolving film loaded nanoemulsion of guava leaf essential oil for oral cancer protection and treatment

By

- | | |
|-----------------------------|-------------|
| 1. Miss Phonchanok Khunyang | ID 61210116 |
| 2. Miss Tanaporn Chotipun | ID 61210147 |
| 3. Miss Rapeeporn Sukajit | ID 61210149 |

Advisors

1. Assist. Prof. Dr. Sukannika Tubtimsri
 2. Assoc. Prof. Dr. Yotsanan Weerapol
-

ABSTRACT

Guava leaf oil is an essential oil that presents several pharmacological activity as well as anticancer activity. The objective of this study is development of oral dissolving film loaded nanoemulsion of guava leaf essential oil for oral cancer protection and treatment. Because of the viscous nature of the essential oil, it is not popular applied for oral use. Guava leaf oil is incorporated into an oral dissolving film loaded nanoemulsion for the prevention and treatment of oral cancer. The results showed that the optimum ratio of guava leaf essential oil : virgin coconut oil for the preparation of the nanoemulsion was 70:30 with droplet size less than 100 nm with no significant of size distribution before and after accelerated test, the suitable formulation was composed of sodium alginate 1% and nanoemulsion 10%. The mechanical characteristics of the oral dissolving film containing guava leaf oil nanoemulsion before storage at 40°C for 3 months of 1% sodium alginate and nanoemulsion 10% had a value of tensile strength of 249.72 N/m², elongation was 53.49% and young's modulus was 458.85%. After 3 months of storage at 40°C, the tensile strength was 2033.44 N/m², elongation was 151.09% and young's modulus was 1356.54%. It was found that nanoemulsion was contained in film. The result revealed no interaction between β -Caryophyllene and the excipients when determined using FTIR. The percentage drug loading study showed that both before and after storage at 40°C for 3 months had a

value of 0.13%. The IC_{50} value of film before and after storage at 40°C for 3 months were 3.08 mg/ml and 6.18 mg/ml, respectively. In conclusion, oral dissolving film containing nanoemulsion of guava leaf oil is promising as a treatment for oral cancer. However, animal testing and clinical testing are still required to further study for the efficacy and toxicity in the future.

Major Advisor *Sukannika*

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ญญ.ผศ.ดร.สุกรรณิการ์ ทับทิมศรี และภก.รศ.ดร.ยศนันท์ วีระพล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะตลอดระยะเวลาที่ทำโครงการวิจัยครั้งนี้ จึงขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ทั้งสองเป็นอย่างสูง

ผู้จัดทำโครงการวิจัยขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความเอื้อเฟื้อในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือและสถานที่ในการทำโครงการวิจัยนี้ ทำให้สามารถดำเนินงานวิจัยได้อย่างสะดวกและสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยที่ตั้งเอาไว้

คณะผู้จัดทำ

1. นสภ. พรชนก ขุนย้ง รหัสนิสิต 61210116
2. นสภ. ธนภรณ์ โชติพันธ์ รหัสนิสิต 61210147
3. นสภ. รพีพร สุขาจิตร รหัสนิสิต 61210149

สารบัญ

คำนำ	๗
บทคัดย่อ	๘
กิตติกรรมประกาศ	๙
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์	2
สมมติฐาน	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
กรอบแนวคิด	3
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
น้ำมันใบฝรั่ง	5
น้ำมันมะพร้าว	9
แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก (Oral dissolving film)	12
นาโนอิมัลชัน	16
สารช่วยในตำรับ	17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินวิจัย	23
การเตรียมนาโนอิมัลชัน	24
การประเมินสมบัตินาโนอิมัลชัน	25
การเตรียมฟิล์ม	26
การประเมินฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน	26
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย	31
การเตรียมและประเมินนาโนอิมัลชันที่บรรจุน้ำมันใบฝรั่ง	31
การเตรียมและประเมินแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก	35
การประเมินลักษณะทางกายภาพของฟิล์ม	35
Mechanical characteristic	37
การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	40
Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	43
การวิเคราะห์ปริมาณร้อยละการบรรจุสารสำคัญ (drug loading)	45
ด้วยเครื่อง HPLC	
การประเมินความคงตัวของตำรับ	46

การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT	48
การทดสอบ Apoptosis	49
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	50
เอกสารอ้างอิง	52
ภาคผนวก	55

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบน้ำมันใบฝรั่ง	7
ตารางที่ 2 ค่า IC ₅₀ ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากสมุนไพรไทย	9
ตารางที่ 3 สูตรตำรับนาโนอิมัลชันที่เตรียมจากอัตราส่วนน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่แตกต่างกัน	24
ตารางที่ 4 สูตรตำรับฟิล์มละลายในช่องปากที่เตรียมจากปริมาณนาโนอิมัลชันที่แตกต่างกัน	26
ตารางที่ 5 % creaming หลังปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที	33
ตารางที่ 6 ลักษณะภายนอกของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก	36
ตารางที่ 7 ปริมาณร้อยละการบรรจุสารสำคัญ (drug loading) แผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันก่อนและหลังทดสอบที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน	46
ตารางที่ 8 คุณสมบัติของฟิล์มก่อนเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน	46
ตารางที่ 9 ประเมินคุณสมบัติของฟิล์มหลังทดสอบที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน	47
ตารางที่ 10 IC ₅₀ ของฟิล์มละลายในช่องปากก่อนและหลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน	48
ตารางที่ 11 สมบัติของ Sodium alginate	56
ตารางที่ 12 สมบัติของ SCMC	57
ตารางที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและสารละลายมาตรฐาน β - caryophyllene ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	58
ตารางที่ 14 Retention time และ Peak area ของฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชัน 10%	59
ตารางที่ 15 Retention time และ Peak area ของฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชัน 10% ภายหลังการทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน	60

สารบัญภาพ

รูปที่ 1 ลักษณะของดอก ใบและผลของฝรั่ง	6
รูปที่ 2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	8
รูปที่ 3 ลักษณะของมะพร้าว	10
รูปที่ 4 ปริมาณสารคาร์บอน (carvone) ที่แสดงถึงความคงตัวหลังเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C 6 เดือน	11
รูปที่ 5 สูตรโครงสร้าง Sodium alginate	18
รูปที่ 6 สูตรโครงสร้าง SCMC	19
รูปที่ 7 สูตรโครงสร้าง Methylcellulose	20
รูปที่ 8 สูตรโครงสร้าง Glycerin	20
รูปที่ 9 สูตรโครงสร้าง Cremophor RH 40	21
รูปที่ 10 สูตรโครงสร้าง β -Caryophyllene	22
รูปที่ 11 ขนาดวัฏภาคภายในของนาโนอิมัลชันเมื่อเตรียมจากอัตราส่วนน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่แตกต่างกันก่อนและหลังเข้า temp cycle	32
รูปที่ 12 ค่าการกระจายอนุภาคจากอัตราส่วนน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่แตกต่างกันต่อการเกิดนาโนอิมัลชันก่อนและหลังเก็บที่สภาวะเร่ง 45°C 24 ชั่วโมง สลับ 4°C 24 ชั่วโมง (1 รอบ) เป็นเวลา 6 รอบ	33
รูปที่ 13 % creaming หลังปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที	34
รูปที่ 14 ระยะยืดที่จุดขาดของฟิล์ม (Elongation) ที่บรรจุปริมาณนาโนอิมัลชันแตกต่างกัน	37
รูปที่ 15 ความแข็งแรงของฟิล์มเมื่อถูกแรงดึงมากระทำ (Tensile strength) ที่บรรจุปริมาณนาโนอิมัลชันแตกต่างกัน	38
รูปที่ 16 ความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของฟิล์ม (Young's modulus) ที่บรรจุปริมาณนาโนอิมัลชันแตกต่างกัน	39
รูปที่ 17 ภาพตามยาวของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 5% ด้วยกำลังขยาย 5,000 และ 2,000 เท่า ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM	41
รูปที่ 18 ภาพตามยาวของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 10% ด้วยกำลังขยาย 5,000 และ 2,000 เท่า ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM	41
รูปที่ 19 ภาพตัดขวางของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 5% ด้วยกำลังขยาย 5,000	42

และ 2,000 เท่า ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM	
รูปที่ 20 ภาพตัดขวางของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 10% ด้วยกำลังขยาย 5,000 และ 2,000 เท่า ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM	42
รูปที่ 21 โครงสร้าง β -Caryophyllene	43
รูปที่ 22 โครงสร้าง Sodium alginate	43
รูปที่ 23 IR spectrum ของ β -Caryophyllene, Sodium alginate และฟิล์มละลายในช่องปากที่บรรจุปริมาณนาโนอิมัลชันแตกต่างกัน	44
รูปที่ 24 การเกิด nuclear fragmentation ของมะเร็งในช่องปากภายหลังการทดสอบด้วยแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากที่ความเข้มข้นเท่ากับ IC ₆₀ (ขวา) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแบบลบ (ซ้าย)	49
รูปที่ 25 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน β -Caryophyllene	59

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคมะเร็งในช่องปากเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของการพัฒนาเซลล์ในช่องปากจนเกิดการกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรม เริ่มต้นจากเซลล์ปกติชนิดสความัส (squamous cells) ที่พบได้มากในช่องปากและริมฝีปาก กลายมาเป็นเซลล์มะเร็งสความัส (squamous cell carcinomas) ซึ่งการกลายพันธุ์ของเซลล์จนเกิดเป็นเซลล์มะเร็งนี้จะพัฒนาขึ้นเรื่อยๆจนในที่สุดเซลล์มะเร็งในช่องปากอาจกลายเป็นเนื้อร้ายและแพร่กระจายไปสู่ส่วนอื่นๆ เช่น บริเวณศีรษะ หรือลำคอ แม้ว่าการกลายพันธุ์ของเซลล์ดังกล่าวยังไม่ทราบสาเหตุที่ชัดเจน แต่พบว่ามีปัจจัยบางอย่างที่สามารถก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเพิ่มโอกาสในการเกิดมะเร็งช่องปากได้ ซึ่งผู้ป่วยอาจมีอาการเป็นแผลร้อนในเรื้อรัง ก้อนเนื้อบวมโต ชา ปวด หรือมีเลือดออกโดยไม่ทราบสาเหตุ ส่งผลทำให้ผู้ป่วย กลืนหรือเคี้ยวอาหารลำบาก พูดหรืออ้าปากได้น้อย เสียงเปลี่ยน เจ็บในปาก น้ำหนักตัวลดลงอย่างรวดเร็ว การรักษาโรคมะเร็งในช่องปากมีกระบวนการเช่นเดียวกับมะเร็งในตำแหน่งอื่นๆ คือการผ่าตัดรักษาเอาเนื้องอกออก ร่วมกับการฉายรังสีรักษา และอาจใช้เคมีบำบัดร่วมด้วยในบางกรณีเพื่อทำลายเซลล์มะเร็งที่หลงเหลืออยู่ ซึ่งข้อเสียของการใช้ยารักษามะเร็งในช่องปาก คือต้องเสีย ฝัน ผิวกว้าง ลอก ผิวดำต่อแสงแดด อาจทำให้ผู้ป่วยนั้นรู้สึกกังวลและไม่อยากเข้ารับการรักษา รวมถึงมีค่าใช้จ่ายที่สูง (1) ด้วยสาเหตุข้างต้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการหาสารตัวใหม่จากธรรมชาติมาใช้ในการรักษา

น้ำมันใบฝรั่ง (guava leaf oil) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ในช่องปากมีสารสำคัญหลักคือ เบต้าแคโรทีน (β-Caryophyllene) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant), ยับยั้งจุลชีพ (antimicrobial), ยับยั้งเชื้อรา (antifungal properties), ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และยับยั้งมะเร็ง (anticancer) (2) สารสำคัญอื่นที่พบได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เช่น ไมริเซติน (myricetin) และอะพิจีนิน (apigenin) ซึ่งมีรายงานว่าไมริเซติน (myricetin) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ยับยั้งการกลายพันธุ์ (antimutagenic) และมีฤทธิ์ยับยั้งจุลชีพ (antimicrobial), ยับยั้งโรคติดเชื้อลิวมาเนีย (antileishmanial), ยับยั้งมาลาเรีย (antimalarial) และยับยั้งมะเร็ง (anticancer) ที่มีประสิทธิภาพ (3) แต่การนำน้ำมันใบฝรั่งมาใช้ อาจทำให้ไม่สะดวกในการใช้เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีความหนืดทำให้รู้สึกเหนอะหนะได้

แผ่นฟิล์มแตกตัวในช่องปาก (oral dissolving film) เป็นรูปแบบยาเตรียมที่มีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ ที่เตรียมจากพอลิเมอร์และออกแบบให้แตกตัวหรือละลายอย่างรวดเร็วในช่อง

ปากเป็นการเพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคเนื่องจากยาถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดโดยตรง หลีกเลี่ยงการสลายตัวในระบบทางเดินอาหาร ทำให้การนำส่งยาไม่อาศัยการเคี้ยวหรือการดื่มน้ำ จึงเป็นการเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย มีข้อดี คือแผ่นฟิล์มมีลักษณะบาง ทำให้มีพื้นที่ผิวในการแตกตัวและละลายมาก การขนส่งและจัดเก็บได้ง่าย เนื่องจากรูปแบบเภสัชภัณฑ์ไม่มีการแตกหักในการขนส่งเหมือนยาเม็ดแตกตัวในช่องปาก แต่มีข้อเสีย คือ ความจุในการกักเก็บยาคต่ำ ดูดความชื้นได้ง่าย การทำให้แผ่นฟิล์มมีความสม่ำเสมอของขนาดยาได้ยาก ใช้เวลาในการเตรียมนาน (4) การบรรจุน้ำมันใบฝรั่งลงบนแผ่นฟิล์มโดยตรง อาจทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างแผ่นฟิล์มกับน้ำมันหอมระเหย ซึ่งอาจแก้ไขโดยเตรียมน้ำมันใบฝรั่งในรูปแบบเภสัชภัณฑ์ของเหลว โดยเฉพาะรูปแบบนาโนอิมัลชัน ที่มีวิวิธภาพภายในเป็นหยดขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรกระจายตัวในน้ำ ซึ่งเป็นวิวิธภาพภายนอก ทำให้เพิ่มความสามารถในการกระจายตัวลงบนแผ่นฟิล์มและป้องกันการเกิดการแยกชั้น นอกจากนี้การเตรียมในรูปแบบนาโนอิมัลชันยังช่วยเพิ่มให้อัตราการแตกตัว (disintegration rate) การดูดซึม (absorption rate) และช่วยเพิ่มการปลดปล่อยยา (drug release) อีกด้วย แม้ว่าน้ำมันใบฝรั่งจะมีคุณสมบัติเป็นน้ำมันแต่สามารถละลายน้ำได้บางส่วน อาจส่งผลให้นาโนอิมัลชันไม่คงตัว จึงนำน้ำมันมะพร้าวที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำและไม่ระเหยมาร่วมช่วยเพิ่มความคงตัวของตำรับนาโนอิมัลชัน

จากที่กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการเตรียมนาโนอิมัลชันของน้ำมันฝรั่ง บรรจุในแผ่นฟิล์มชนิดละลายในช่องปาก เพื่อใช้ป้องกันและรักษาโรคเหงือกช่องปาก ไม่เพียงแต่เป็นทางเลือกในการรักษามะเร็งช่องปากเท่านั้น แต่ยังเป็นการสร้างองค์ความรู้ เพื่อนำไปใช้ต่อยอดในการพัฒนาตำรับกับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปาก

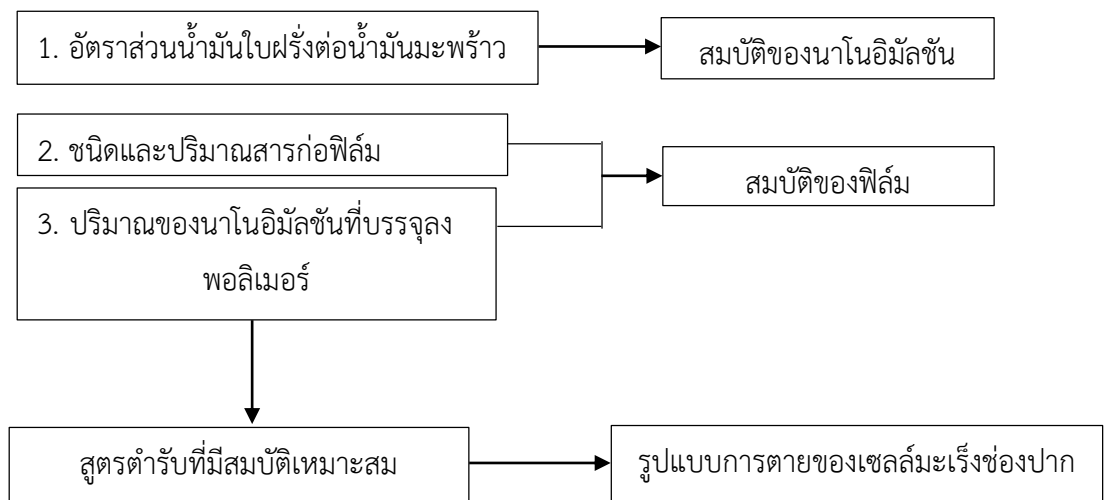
สมมติฐาน

1. อัตราส่วนของน้ำมันมะพร้าวต่อน้ำมันใบฝรั่งส่งผลต่อสมบัติของนาโนอิมัลชัน
2. สัดส่วนของนาโนอิมัลชันต่อสารก่อฟิล์มมีผลต่อสมบัติของฟิล์มละลายในช่องปาก
3. น้ำมันใบฝรั่งมีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งในช่องปากแบบอะพอพโทซิส

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้อัตราส่วนของน้ำมันไบโอฟรังก์ตอ์น้ำมันมะพร้าวที่เหมาะสมในการเตรียมนาโนอิมัลชัน อัตราส่วนของพอลิเมอร์และนาโนอิมัลชันต่อน้ำที่เหมาะสมในการเตรียมแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก
2. นำความรู้ในการพัฒนาสูตรตำรับแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันเพื่อนำไปปรับใช้กับยาชนิดอื่น ๆ ในอนาคต
3. เพื่อเพิ่มทางเลือกในการรักษาและป้องกันมะเร็งในช่องปาก

กรอบแนวคิด



บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. โรคมะเร็งช่องปาก

มะเร็งช่องปาก โดยส่วนใหญ่เกิดจากเซลล์เยื่อบุผิวชนิดสความัส (squamous cell carcinoma: SCC) มะเร็งชนิดนี้มีการกระจายตัวได้ช้า แต่โตเร็ว หากปล่อยทิ้งไว้เพียง 1 เดือน ขนาดสามารถใหญ่ขึ้นได้ถึง 2 เท่า สามารถลุกลามไปยัง เหงือก กราม ต่อม้ำเหลืองที่คอได้ แม้ว่าการกลายพันธุ์ของเซลล์ดังกล่าวยังไม่ทราบสาเหตุแน่ชัด แต่พบว่ามีปัจจัยบางประการที่สามารถก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเพิ่มโอกาสในการเกิดมะเร็งช่องปากได้ ดังนี้ การสูบบุหรี่ การเคี้ยวหมาก การดื่มสุราเป็นประจำ มีประวัติบุคคลในครอบครัวมีโรคมะเร็งในช่องปาก เชื้อไวรัสบางชนิด เช่น Human papilloma virus (5) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

การสูบบุหรี่ทำให้เกิดมะเร็งช่องปากได้เพราะในบุหรี่มีสารก่อมะเร็งที่สำคัญ คือ ไนโตรซามีน (nitrosamine) ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงกระบวนการแบ่งเซลล์ส่งผลให้สายพันธุกรรม (DNA) ถูกทำลายและเกิดมะเร็งหลังจากสัมผัส นอกจากนี้ยังพบว่าการเคี้ยวหมากพลู สามารถทำให้เกิดมะเร็งช่องปากสูงถึงร้อยละ 15-65 ในกลุ่มผู้เคี้ยวหมากในประเทศอินเดียโดยเฉพาะมะเร็งช่องปากบริเวณกระพุ้งแก้ม ส่วนโรคมะเร็งในช่องปากในผู้ที่ดื่มสุราเป็นประจำจะมีมากกว่าผู้ที่ไม่ดื่มสุราถึง 6 เท่า (6) ซึ่งมีสาเหตุเกิดจากการสัมผัสโดยตรงระหว่างเยื่อบุผิวกับแอลกอฮอล์กระตุ้นทำให้เกิดการสร้างเซลล์มะเร็ง (7) และยังพบว่าไวรัสบางชนิดสามารถทำให้เกิดมะเร็งช่องปาก เช่น ไวรัสแพพิลโลมาในมนุษย์ (human papilloma virus; HPV) ไวรัสเฮอร์ปีส์ (herpes viruses) แอดิโนไวรัส (adrenovirus) ไวรัสแพพิลโลมามีหลายจีโนไทป์ (genotype) โดยจีโนไทป์ที่ตรวจพบได้มากที่สุดเพิ่มขึ้นเนื่องจากมะเร็งช่องปาก ได้แก่ HPV16 และ HPV18 นอกจากนี้ยังพบว่า HPV16 มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งของทอนซิล มะเร็งบริเวณโคนลิ้น และมะเร็งช่องปาก (8) ปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ ของโรคมะเร็งช่องปาก ได้แก่ อาหารและภาวะโภชนาการ การขาดวิตามินที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินเอ มีผลในการเกิดแผลร้อนในเรื้อรัง ก้อนเนื้อบวมโต ทำให้เกิดมะเร็งช่องปากภายหลังได้ นอกจากนี้การได้รับแสงอาทิตย์มากจนเกินไป โดยเฉพาะในวัยเด็กมีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งของริมฝีปากเพราะแสงแดดมีรังสีแอกตินิค (actinic radiation) หรือรังสียูวี (UV radiation) พบว่าเพศหญิงมีอัตราการอุบัติการณ์มะเร็งริมฝีปากมากกว่าเพศชาย 3-9 เท่า (8) จากการสำรวจพบว่าอัตราการรอดชีวิตในหนึ่งปีแรกของผู้ป่วยโรคมะเร็งช่อง

ปากและลำคอทุกระยะการดำเนินโรคมะเร็งที่ร้อยละ 81 และอัตราการรอดชีวิตห้าปีแรกและสิบปีแรกอยู่ที่ร้อยละ 56 และ 41 ตามลำดับ (8) อาการแสดงของมะเร็งช่องปาก มีดังนี้ ภายในช่องปากปรากฏรอยสีขาวคล้ายกำมะหยี่แดงหรือรอยต่างสีแดงขาวที่บริเวณริมฝีปากเหงือกหรือส่วนอื่นๆ ในช่องปากเกิดอาการบวมโต มีตุ่ม เป็นก้อนเนื้อหรือมีแผลเกิดขึ้น พบว่ามีเลือดไหลในช่องปากโดยไม่ทราบสาเหตุ (8)

การวินิจฉัยมะเร็งช่องปาก การวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งทำได้จากการตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจตรวจดูการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปต่อมน้ำเหลืองบริเวณลำคอ และตรวจการแพร่กระจายของเซลล์ไปยังอวัยวะอื่น ๆ ร่วมด้วย การรักษามะเร็งช่องปากมี 3 วิธีได้แก่ การผ่าตัด การฉายรังสีรักษา และการให้เคมีบำบัด การให้เคมีบำบัด (chemotherapy) เป็นการให้ยารักษามะเร็ง โดยจะไปทำลายและหยุดยั้งกระบวนการเติบโตของเซลล์มะเร็งในระดับพันธุกรรม การรักษาด้วยการให้เคมีบำบัดสามารถทำร่วมกับฉายรังสีรักษาได้ในกรณีที่เซลล์มะเร็งแพร่กระจายมากหรือมีโอกาสดูแลเป็นมะเร็งสูง อย่างไรก็ตามยาในการให้เคมีบำบัดจะไปทำลายเซลล์ในร่างกายด้วยเช่นกัน ส่งผลทำให้เกิดอาการข้างเคียง อาทิ ความรู้สึกไม่สบายเนื้อสบายตัวอาการเหนื่อยล้าอ่อนเพลีย ผื่นผื่น แผลเปื่อยที่ปาก เจ็บปวด (9)

2. น้ำมันใบฝรั่งและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของน้ำมันใบฝรั่ง

ใบฝรั่งเป็นพืชที่มีการใช้ในทางรักษาสุขภาพมาแต่โบราณ มีการใช้ในยาแผนอายุรเวทเนื่องจากมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น มีคุณสมบัติด้านการอักเสบ, สารต้านอนุมูลอิสระ, ยาต้านจุลชีพ, แก้ปวด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยรักษาความยืดหยุ่นของผิวเพื่อชะลอริ้วรอยก่อนวัย มีสรรพคุณเด่นในเรื่องการใช้งานกับโรคผิวหนังสะเก็ดเงิน กลากและบรรเทาผิวแห้ง บรรเทาอาการคัน กระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นผม ป้องกันรังแคและฟื้นฟูสภาพหนังศีรษะ นิยมใช้น้ำมันฝรั่งในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดช่องปาก เช่น ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของฝรั่ง



รูปที่ 1 ลักษณะของดอก ใบและผลของฝรั่ง

อ้างอิงรูปภาพจาก: http://www.qsbg.org/Database/Botanic_Book%20full%20option/search.asp?txtsearch=ฝรั่ง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Psidium guajava* L.

ชื่อวงศ์: MYRTACEAE

ชื่อสามัญ: Guava

ชื่อเรียกอื่น: มะก้วย มะก้วยกำ มะก่า มะมัน มะจีน สีดา

ลักษณะ: ไม้ต้น สูงถึง 13 เมตร, ใบ มีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้าม รูปรี ขอบขนาน กว้าง 6-12 ซม. ยาว 3.5-6.0 ซม., ดอก มีลักษณะเป็นดอกเดี่ยวหรือออกเป็นช่อกระจุก จำนวน 2-3 ดอก, กลีบดอก สีขาว ยาว 1.0-1.4 ซม. เกสรเพศผู้จำนวนมาก ยาว 6-9 มม. และผล เป็นผลสดแบบมีเนื้อหลายเมล็ด รูปทรงกลม หรือทรงรูปไข่ ยาว 3-8 ซม.

การกระจายพันธุ์: ฟลอริดา เม็กซิโก ทวีปอเมริกาใต้และประเทศไทยมักเป็นพืชปลูก

ประโยชน์: เปลือกต้น บรรเทาอาการปวดท้อง ใช้ร่วมกับพืชอื่นต้มดื่มแก้ท้องเสีย, ยอดและใบ รักษาอาการท้องร่วง แก้อาการปวดท้องในเด็ก รักษาสันเท้าแตก เคี้ยวช่วยลดกลิ่นปาก ต้มรวมกับพืชอื่นอาบแก้คันเนื้อครันตัว ผล แก้วปวดท้อง (10)

2.3 สารสำคัญที่พบ

จากงานวิจัยของ Emad M. Hassan และคณะได้ทำการศึกษาเรื่อง การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันฝรั่งจากแต่ละประเทศที่แตกต่างกันพบว่า มี El-Qanater, White Indian, Early, El-Sabahya El-Gedida และ Red Indian มีปริมาณ β -caryophyllene มากที่สุด

ตารางที่ 1 องค์ประกอบน้ำมันใบฝรั่ง

Table 1. The chemical composition of the *Psidium guajava* essential oils.

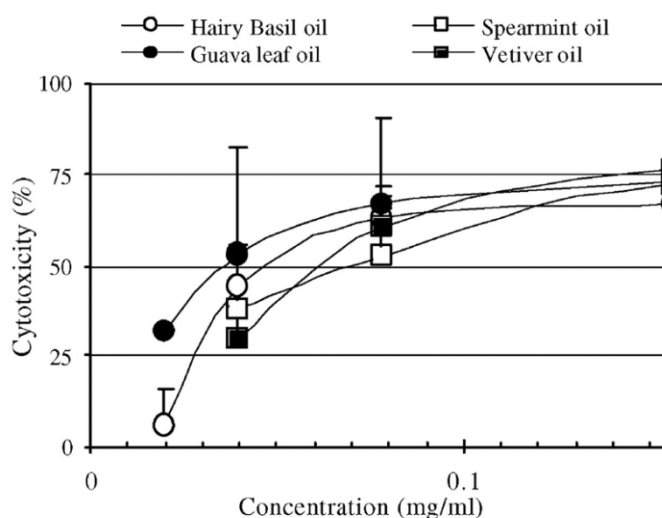
Compound name	Retention index (RI)		Composition ^c (%)		Methods of identification
	Reported	Calculated	Leaves	Fruits	
α -Pinene ^{a,b}	929	929	0.3	0.4	MS, RI, AT
β -Pinene ^a	979	978	0.2	0.2	MS, RI, AT
δ -2-Carene	998	992	0.1	0.3	MS, RI
α -Phellandrene	1007	1011	0.1	0.1	MS, RI, AT
α -Terpinene ^a	1017	1022	0.1	0.2	MS, RI, AT
<i>p</i> -Cymene ^{a,b}	1033	1032	0.1	0.5	MS, RI, AT
Limonene ^{a,b}	1032	1033	0.2	11.0	MS, RI, AT
1,8-Cineole ^{a,b}	1037	1040	5.4	0.8	MS, RI, AT
<i>cis</i> - β -Ocimene ^{a,b}	1037	1041	0.7	0.2	MS, RI
<i>trans</i> - β -Ocimene ^{a,b}	1050	1052	0.2	0.2	MS, RI, AT
γ -Terpinene ^a	1060	1065	0.1	0.1	MS, RI
Terpinolene ^a	1089	1092	0.2	0.3	MS, RI
<i>allo</i> -Ocimene ^a	1132	1135	0.1	–	MS, RI
α -Terpineol ^{a,b}	1207	1208	0.1	0.1	MS, RI, AT
Carvacrol ^a	1313	1316	0.2	0.5	MS, RI, AT
α -Copaene ^{a,b}	1377	1380	1.0	2.1	MS, RI
α -Gurjunene	1410	1412	0.4	0.1	MS, RI
β -Caryophyllene ^{a,b}	1428	1428	16.9	17.6	MS, RI, AT
β -Copaene	1432	1435	1.7	2.1	MS, RI
β -Gurjunene	1434	1438	–	0.2	MS, RI
Aromadendrene ^{a,b}	1445	1447	2.8	2.5	MS, RI
<i>allo</i> -Aromadendrene	1460	1456	–	0.8	MS, RI
α -Humulene ^{a,b}	1466	1466	1.0	1.0	MS, RI
γ -Gurjunene	1460	1470	0.5	0.8	MS, RI
Chamigrene ^a	1478	1482	0.5	–	MS, RI
Muuroladiene ^a	1481	1484	0.5	0.3	MS, RI
Germacrene D ^a	1485	1492	0.3	0.7	MS, RI
β -Selinene ^{a,b}	1495	1501	6.3	6.4	MS, RI
α -Selinene ^{a,b}	1505	1508	6.5	6.6	MS, RI
Valencene	1513	1516	0.6	0.8	MS, RI
δ -Cadinene ^{a,b}	1528	1528	5.3	4.9	MS, RI
α -Calamene	1540	1535	2.4	1.0	MS, RI
α -Calacorene ^a	1546	1544	1.6	0.9	MS, RI
Germacrene B ^a	1560	1569	0.4	0.4	MS, RI
Viridiflorol ^a	1580	1576	1.7	2.2	MS, RI
Spathulenol ^a	1591	1591	2.3	2.1	MS, RI
β -Caryophyllene-oxide ^{a,b}	1606	1596	6.5	6.7	MS, RI
<i>cis</i> -Isolongifolanone	1613	1619	–	1.5	MS, RI
β -Eudesmol ^b	1624	1622	–	3.7	MS, RI
Daucol	1640	1642	4.8	4.6	MS, RI
Cedr-8(15)-en-9-ol		1651	2.0	1.9	MS
Cubenol ^a	1646	1655	4.4	1.8	MS, RI
τ -Cadinol ^{a,b}	1652	1658	–	2.5	MS, RI
δ -Cadinol ^{a,b}	1658	1663	1.8	0.8	MS, RI
Cadalene	1671	1673	0.2	1.2	MS, RI
Selin-7(11)-en-4- α -ol ^a	1675	1678	8.3	0.5	MS, RI
α -Santalol	1683	1689	0.9	0.1	MS, RI
Total			89.7	93.7	

Notes: ^aCompounds previously reported in leaves. ^bCompounds previously reported in fruits. ^cAverage of three analyses. MS, identification based on mass spectral data; RI, identification based on comparison with published retention indices in Wiley Registry of Mass Spectral Data, 8th edition, NIST Mass Spectral Library (December 2005) and other published data (17); AT, identification based on co-chromatography with authentic samples. Specific gravity of both leaf and fruit oils at 25°C are 0.8907 and 0.9023, respectively.

อ้างอิงรูปภาพจาก : <https://www.uniheidelberg.de/institute/fak14/ipmb/phazb/pubwink/2013/08.2013.pdf>

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับน้ำมันจากใบฝรั่ง

จากงานวิจัยของ Manosroi et al. ได้ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากสมุนไพรไทยต่อ human mouth epidermal carcinoma (KB) cell lines และ murine leukemia (P388 cell) cell lines โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่ผ่านการสกัดแบบ steam distillation method 17 ชนิด ได้แก่ กะเพรา, ตะไคร้, กระชาย, ลาเวนเดอร์, หญ้าแฝก, โพล, ตะไคร้หอม, มะขาม, โหระพา, ผลและใบมะกรูด, พลู่, มะรุม, เมล็ดแมงลัก, สะระแหน่ และใบฝรั่ง โดยใช้ MTT assay ในการวิเคราะห์โดยใช้ KB cell line จำนวน 1×10^4 cells/well และ P388 cell line จำนวน 1×10^5 cells/well ในน้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ตั้งแต่ 0.019 ถึง 4.962 mg/ml พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งใน KB cell line สูงที่สุด (ดังแสดงในรูปที่ 2 และตารางที่ 2) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0379 mg/ml (มีความแรงมากกว่า vincristine 4.37 (11))



รูปที่ 2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

อ้างอิงรูปภาพจาก : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15979235/>

ตารางที่ 2 ค่า IC₅₀ ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากสมุนไพรไทย

Group	Samples	IC ₅₀ (mg/ml)
(a) KB cell line		
1	Guava leaf oil	0.0379
1	Hairy Basil oil	0.0424
1	Spearmint oil	0.0647
1	Vetiver oil	0.0676
1	Citronella oil	0.0814
1	Plai oil	0.0944
1	Holy Basil oil	0.0951
1	Kaffir Lime oil	0.0997
1	Lemon Grass oil	0.1154
2	Black Pepper oil	0.215
2	Sweet Basil oil	0.3033
2	Lavender oil	0.4453
2	Lesser Galangal oil	0.7222
2	Turmeric oil	1.0879
2	Kaffir Lime leaf oil	1.1479
3	Betel Vine oil	NA
3	Walnut oil	NA
	Anti-cancer drugs	
	Vincristine	0.166
	5-Fluorouracil (5-FU)	1.77
	Methotrexate (MTX)	NA

อ้างอิงรูปภาพจาก : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15979235/>

อย่างไรก็ตามการนำน้ำมันใบฝรั่งมาใช้อาจทำให้ไม่สะดวกในการใช้เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีความหนืด ทำให้รู้สึกเหนอะหนะได้ จึงนำน้ำมันใบฝรั่งมาเตรียมในรูปแบบนาโนอิมัลชันจากนั้นบรรจุลงในแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากเพื่อเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาให้ผู้ป่วย

3. น้ำมันมะพร้าวและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

3.1 ข้อมูลทั่วไปของน้ำมันมะพร้าว

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมะพร้าว ได้จากการบีบเนื้อ (endosperm) ของผลมะพร้าว หรือที่เรียกว่า copra ซึ่งเป็นไขมัน 60-70 % ไขมันประกอบด้วย กรดลอริก 45-50 %, กรดมัยริสติก 20 %, กรดคาพริลิก (caprylic acid) 9.5 % และกรดคาพรีนิก (caprinic acid) 10 % นอกจากนี้มีกรดไขมันอิสระ 3-5 %, δ - lactone ของ 5-hydroxy fatty acid โดยเฉพาะ δ - octalactone ซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะของมะพร้าว และประโยชน์ทางเครื่องสำอาง น้ำมันมะพร้าวใช้เป็นเบสของซีฟิ้ง ใช้เป็นส่วนผสมที่ให้ cooling effect ในเครื่องสำอางและลูกอมเป็นส่วนประกอบในแชมพูเพื่อให้เส้นผมเป็นเงางามและจัดทรงง่าย ทำให้เส้นผมคงความสะอาดได้นาน เป็นส่วนประกอบในแชมพูต้านรังแค แก่คันศีรษะ เป็นส่วนประกอบในแชมพูที่ช่วยกระตุ้นการงอกของ

เส้นผม เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางสำหรับชำระล้าง และเป็นส่วนประกอบในสารเคลือบผิว ทำให้ผิวนุ่ม และลดการระคายเคืองในผู้ป่วยโรคเรื้อนกวางที่ต้องได้รับการฉายรังสีป้องกันแสงแดด (tanning sunscreen) และประโยชน์ทางยาน้ำมันมะพร้าวกระตุ้นการงอกของเล็บและทำให้เล็บแข็งแรง (12)

3.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะพร้าว



รูปที่ 3 ลักษณะของมะพร้าว

อ้างอิงรูปภาพจาก: http://www.rspg.or.th/plants_data/use/oil-5.htm

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Cocos nucifera*

ชื่อวงศ์: Palmae

ชื่อสามัญ: Coconut

3.3 คุณสมบัติของน้ำมันมะพร้าว

จุดเดือด (boiling point) : $> 450\text{ }^{\circ}\text{C}$

จุดเยือกแข็ง (freezing point) : $- 216\text{ }^{\circ}\text{C}$ (closed cup)

จุดหลอมเหลว (melting point) : $23\text{-}26\text{ }^{\circ}\text{C}$

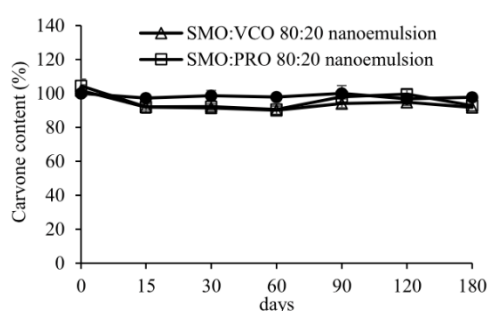
ค่าความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) : $0.918 - 0.923$

Solubility : practically insoluble in water; freely soluble in dichloromethane and in light, soluble in ether, carbon disulfide, and chloroform; soluble at $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ in 2 parts of ethanol (95%) but less soluble at lower temperatures.

ค่าแรงตึงผิว (surface tension) : 33.4 mN/m² (33.4 dyne/cm) at 20°C; 28.4 mN/m² (28.4 dyne/cm) at 80 °C (13)

3.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับน้ำมันมะพร้าว

จากงานวิจัยของ Tubtimsri et al. ได้ทำการศึกษาเรื่องการรวมตัวของน้ำมัน (fixed oils) กับน้ำมันสเปียร์มินต์ (spearmint oil) บรรจุนาโนอิมัลชัน ทดสอบคุณสมบัติเป็นพืชต่อเซลล์มะเร็งในช่องปากของมนุษย์ โดยน้ำมันสเปียร์มินต์ (SMO) ที่ได้จากใบ *Mentha spicata* ในการศึกษาเลือกน้ำมันที่มีโครงสร้างของกรดไขมันต่างกัน ได้แก่ น้ำมันมะพร้าว (virgin coconut oil :VCO), น้ำมันปาล์ม (palm oil :PMO), น้ำมันมะกอก (olive oil :OLO), น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil :SBO) และน้ำมันงาดำ (perilla oil :PRO) นำมาใช้เตรียมนาโนอิมัลชัน จากการทดสอบความคงตัวพบว่านาโนอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันสเปียร์มินต์มี 1 ชนิดที่มีความไม่คงตัว แต่เมื่อนำมาผสมกับน้ำมันระเหยยาก (fixed oils) พบว่าสามารถเพิ่มความไม่คงตัวให้กับนาโนอิมัลชัน และปริมาณสารสำคัญ (คาร์วอน) ในนาโนอิมัลชันลดลงน้อยกว่าร้อยละ 10% ภายหลังเก็บที่สภาวะเร่ง 40°C เป็นเวลา 6 เดือน ดังแสดงในรูปที่ 4 (14)



รูปที่ 4 ปริมาณสารคาร์วอน (carvone) ที่แสดงถึงความคงตัวหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 6 เดือน

อ้างอิงรูปภาพจาก:<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S17732247210>

4. แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก (Oral dissolving film)

แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก (Oral dissolving film) คือระบบนำส่งยาที่มีขนาดเล็กประมาณ 1 - 2 ตารางเซนติเมตร ซึ่งพอดีกับช่องปากเมื่อแผ่นฟิล์มสัมผัสกับของเหลวภายในช่องปากแผ่นฟิล์มจะละลายหรือแตกตัว จากนั้นจึงปลดปล่อยตัวยาสำคัญเพื่อออกฤทธิ์เฉพาะที่ หรือดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดผ่านเส้นเลือดดำในช่องปาก ส่วนประกอบหลักของฟิล์มละลายในช่องปากคือพอลิเมอร์ชนิดที่ชอบน้ำ เพื่อทำให้เกิดการละลายหรือแตกตัวในช่องปากได้ ในปัจจุบันฟิล์มชนิดนี้ได้รับความนิยมจากผู้ป่วยเพิ่มขึ้นเนื่องจากไม่จำเป็นต้องเคี้ยวหรือกลืนและมีข้อดีหลายประการ เช่น พกพาได้สะดวก เหมาะสำหรับคนชรา เด็กเล็กหรือผู้ป่วยที่มีปัญหาการกลืนยาและยังสามารถกำหนดขนาดยาได้ง่าย ไม่ต้องใช้น้ำในการรับประทานยาเมื่อให้ยาผ่านการดูดซึมยาทางกระพุ้งแก้มและใต้ลิ้น สามารถเพิ่มปริมาณออกฤทธิ์ได้เนื่องจากยาไม่ผ่านการเปลี่ยนแปลงของยาโดยตับ

ในปี ค.ศ. 2020 Panraksa et al. ได้พัฒนาตำรับฟิล์มแผ่นบางที่แตกตัวได้อย่างรวดเร็วในช่องปากของตัวยาเฟนิโทอิน (phenytoin) ซึ่งเป็นยากันชักที่ละลายน้ำได้น้อยโดยใช้พอลิเมอร์ที่มีความชอบน้ำ ได้แก่ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol: PVA) และเพกติน (pectin) ที่มีเมทอกซิลสูง (high methoxyl pectin; HMP) เป็นสารก่อฟิล์มในตำรับ จากผลการศึกษาพบว่าในการเตรียมตำรับฟิล์มแผ่นบางที่ตัวยาละลายน้ำได้น้อย จำเป็นจะต้องใช้ระบบตัวทำละลายร่วม (co-solvent system) มาละลายตัวยาก่อนนำไปเตรียมเป็นแผ่นฟิล์มโดยหากไม่มีตัวทำละลายร่วมในการละลายตัวยา จะได้แผ่นฟิล์มที่มีการกระจายของตัวยาไม่สม่ำเสมอและจับตัวเป็นก้อนหลังจากกระบวนการทำให้แผ่นฟิล์มแห้ง ซึ่งการกระจายของตัวยาที่ไม่สม่ำเสมอนี้ ส่งผลต่อความสม่ำเสมอของขนาดยา (drug loading content) ในฟิล์มแต่ละแผ่นซึ่งจะนำไปสู่ผลทางการรักษาโดยหากผู้ป่วยมีระดับยาในเลือดที่สูงเกินไปจะทำให้เกิดพิษจากยาเฟนิโทอินหรือหากมีขนาดยาที่ต่ำเกินไปก็จะได้ผลการรักษาอาการชักได้ (15) อย่างไรก็ตามฟิล์มละลายในช่องปากนี้มีข้อเสียคือมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงในการจัดทำบรรจุภัณฑ์เนื่องจากฟิล์มละลายในช่องปากชนิดที่แตกตัวหรือละลายได้อย่างรวดเร็วในช่องปากไวต่ออุณหภูมิและความชื้น

ช่องทางการให้ยาที่อยู่ในรูปแบบฟิล์มละลายในช่องปากโดยทั่วไปมักจะแผ่นแปะยาทางกระพุ้งแก้มและใต้ลิ้นมากกว่าบริเวณอื่นในช่องปากเนื่องจากบริเวณนี้ยอมให้ยาแพร่ผ่านได้ดีกว่าบริเวณอื่น หากเปรียบเทียบเยื่อบุกระพุ้งแก้มกับผิวหนังพบว่าน้ำสามารถแทรกผ่านเยื่อบุกระพุ้งแก้มได้มากกว่าผิวหนังถึง 10 เท่า และยังพบว่าตัวยาสำคัญชนิดที่ชอบน้ำสามารถแพร่ผ่านเยื่อบุกระพุ้งแก้มได้มากกว่าผิวหนังถึง 4 - 400 เท่า ฟิล์มละลายในช่องปากในอนาคตนั้นควรเก็บกักยา

ได้ในปริมาณที่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์มีอัตราการละลายที่เหมาะสม มีความคงตัวที่ยอมรับได้ ไม่เป็นพิษ เข้ากันได้กับร่างกาย (biocompatible) และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable) หากเปรียบเทียบกับยาในรูปแบบดั้งเดิม เช่น ยาเม็ด, ยาน้ำ फिल्मแผ่นบางได้รับความร่วมมือจากผู้ป่วยมากกว่ายาที่ให้โดยการรับประทานและยาชนิดนี้เนื่องจากการใช้ยาที่อยู่ในรูปแบบ फिल्मแผ่นบางแปะที่ผิวหนังทำได้สะดวกและไม่เจ็บปวดขณะบริหารยา ในแง่ของการใช้งาน फिल्मละลายในช่องปากมีข้อดีที่พกพาได้ง่าย ไม่หกเลอะเทอะ ในแง่ของอุตสาหกรรมการผลิตสามารถควบคุมการผลิตและการขนส่ง फिल्मแผ่นบางได้ง่ายและมีความคุ้มค่าคุ้มทุนในการพัฒนาตำรับยา นอกจากนี้ในปัจจุบันมีพอลิเมอร์หลายชนิดที่เหมาะสมสำหรับพัฒนาเป็น फिल्मละลายในช่องปากรวมถึงมีเทคโนโลยีการผลิตที่ทำให้สามารถพัฒนา फिल्मละลายในช่องปากได้หลากหลาย ดังนั้น फिल्मละลายในช่องปากจึงเป็นที่นิยมมากขึ้นและเป็นยอมรับในทางเภสัชกรรมในแง่ของระบบนำส่งยาในรูปแบบใหม่ โดยสามารถอธิบายในรายละเอียดดังนี้

1.ละลายได้รวดเร็ว फिल्मละลายในช่องปากมีการละลายที่รวดเร็วกว่าเภสัชภัณฑ์รูปแบบดั้งเดิมโดยสามารถออกแบบให้เป็น फिल्मละลายในช่องปากที่มีการแตกตัวหรือละลายที่รวดเร็วซึ่งมักจะใช้กับฟิล์มประเภทที่ใช้งานในช่องปาก ได้แก่ ฟิล์มอมใต้ลิ้น (sublingual films) ตัวอย่างเช่น suboxone sublingual films ซึ่งประกอบด้วยยาบูโพรพ็อน (bupropion) และยานาล็อกโซน (naloxone) ใช้สำหรับรักษาอาการขาดยาในผู้ป่วยติดยาและ Setofilm® ที่มีตัวยาออนดาเซทรอน (ondansetron) ใช้สำหรับป้องกันและรักษาอาการคลื่นไส้อาเจียนในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัด เป็นต้น

2.ง่ายต่อการขนส่งและพกพา फिल्मละลายในช่องปากมีความยืดหยุ่น ไม่เปราะหักง่าย และขนส่งได้ง่าย เมื่อเปรียบเทียบกับยาเม็ดชนิดแตกตัวเร็ว (fast disintegrating tablet) ที่ต้องบรรจุในบรรจุภัณฑ์ออกแบบพิเศษนอกจากนี้ फिल्मละลายในช่องปากยังสามารถบรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบใช้เพียงครั้งเดียว (single dose unit) ทำให้สามารถพกพาได้สะดวก

3.มีความคงตัวดี ตัวยาสำคัญใน फिल्मละลายในช่องปากมีความคงตัวที่ดีกว่ายาน้ำเนื่องจากตัวยาสำคัญใน फिल्मละลายในช่องปากไม่ได้ละลายอยู่ในน้ำเหมือนในยาน้ำจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยน้ำ (hydrolysis) ได้น้อยกว่าและ फिल्मละลายในช่องปากยังมีความแม่นยำของขนาดการให้ยาต่อ 1 ครั้งมากกว่ายาน้ำ เนื่องจากในการรับประทานยาน้ำต้องมีการรินหรือเทออกจากขวดบรรจุซึ่งส่งผลต่อความแม่นยำของขนาดการให้ยาแต่ละครั้งรวมถึงยาน้ำแขวนตะกอนที่ต้องเขย่าขวดทุกครั้งก่อนใช้ยาที่อาจทำให้ผู้ป่วยใช้งานไม่สะดวกและส่งผลกระทบต่อปริมาณยา

ที่ผู้ป่วยได้รับในครั้งเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามความสม่ำเสมอและความแม่นยำของขนาดยาในฟิล์มละลายในช่องปากขึ้นกับกระบวนการเตรียมและการควบคุมการผลิตที่ดีด้วย

4. ข้อดีที่เหนือกว่าผลิตภัณฑ์ในรูปแบบแผ่นแปะ หากเปรียบเทียบกับแผ่นแปะ (dermal และ transdermal patches) ฟิล์มละลายในช่องปากมีข้อดีกว่าตรงที่ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง นอกจากนี้ฟิล์มละลายในช่องปากยังไม่ทำให้อึดเหนียวเหนอะหนะติดผิวหนังอีกด้วย เนื่องจากฟิล์มละลายในช่องปากไม่จำเป็นต้องมีชั้นกาว (adhesive layer) ที่ใช้ในการติดผิวหนังเหมือนในผลิตภัณฑ์รูปแบบแผ่นแปะ อย่างไรก็ตามผลของการปิดกั้นผิวหนังขึ้นกับชนิดและปริมาณของพอลิเมอร์ที่ใช้เตรียมเป็นฟิล์มละลายในช่องปากด้วย

5. ข้อดีต่อผลทางคลินิก นอกจากฟิล์มละลายในช่องปากจะมีรูปลักษณะที่สวยงามและใช้งานได้ง่ายแล้ว ฟิล์มละลายในช่องปากยังมีประโยชน์อย่างมากต่อผู้ป่วยเด็ก, ผู้ป่วยที่มีปัญหาการกลืนยาผู้ป่วยติดเตียง, ผู้ป่วยที่ไม่ให้ความร่วมมือในการรักษาและผู้ป่วยจิตเวช เนื่องจากสามารถบริหารยาในรูปแบบฟิล์มละลายในช่องปากได้ง่าย คายออกได้ยาก ไม่ทำให้ผู้ป่วยสำลักจึงมีความปลอดภัยต่อผู้ป่วย นอกจากนี้ฟิล์มละลายในช่องปากชนิดละลายได้เร็วในช่องปากยังมีความเหมาะสมสำหรับยาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์เร็ว เช่น ยาแก้เมาเรือหรือยารักษาอาการที่เกิดขึ้นกะทันหัน เช่น ภูมิแพ้, ไอ, หลอดลมตีบและหอบหืด

อย่างไรก็ตามฟิล์มละลายในช่องปากยังมีข้อจำกัดบางประการทั้งในแง่ของสมบัติของฟิล์มและการผลิตแผ่นฟิล์มดังต่อไปนี้ ได้แก่

1. ความจุในการเก็บกักยาดำ เช่น ไม่สามารถบรรจุความแรงต่ำ (low potency drug) ที่ต้องให้ยาในขนาดที่สูง เช่น พาราเซตามอล (paracetamol) ที่มีขนาดการให้ยา 10 - 15 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เช่น น้ำหนักตัว 50 กิโลกรัม จะมีขนาดการให้ยาเท่ากับ 500-750 มิลลิกรัม นอกจากนี้ยังมียาอื่นที่มีขนาดการให้ยาสูง เช่น เมทฟอร์มิน (metformin) มีขนาดการให้ยาในผู้ใหญ่ 500 - 850 มิลลิกรัมต่อครั้งหรือไอบูโพรเฟน (ibuprofen) ที่มีขนาดการให้ยา 10 - 15 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อครั้ง,

2. ดูดความชื้นได้ง่าย เนื่องจากฟิล์มละลายในช่องปากสามารถดูดความชื้นได้ง่ายจึงต้องมีค่าเตือนและการเก็บรักษาเฉพาะเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ฟิล์มละลายในช่องปากมีอายุในการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น

3. ทำเป็นรูปแบบยาผสมได้ยาก การพัฒนาเป็นยาในรูปแบบผสมที่มีตัวยาสำคัญสองตัวขึ้นไปในฟิล์มละลายในช่องปากที่รับประทานหรือใช้ภายในช่องปากอาจทำได้ยากเนื่องจากการ

บริหารยาหลายชนิดพร้อมกันในฟิล์มละลายในช่องปากมีผลลดการแตกตัวและการละลายของยาในฟิล์มละลายในช่องปากทำให้มีความสม่ำเสมอของขนาดยาในแผ่นฟิล์มยา ความสม่ำเสมอของขนาดยาในฟิล์มละลายในช่องปากและความสามารถในการผลิตซ้ำ (reproducible) ของกระบวนการผลิตเพื่อที่จะให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เหมือนกันในทุกครั้งการผลิตนั้นทำได้ยากดังนั้นฟิล์มละลายในช่องปากอาจไม่เหมาะสมในการใช้กับยาที่จำเป็นต้องมีขนาดในการให้ยาอย่างแม่นยำโดยเฉพาะยาที่มีดัชนีการรักษาแคบ (narrow therapeutic index) เช่น ยาในกลุ่มยากันชัก, ยาคุมกำเนิด ซึ่งยาเหล่านี้หากผู้ป่วยมีระดับยาในเลือดที่สูงเกินไปจะทำให้เกิดพิษจากยา หรือหากมีขนาดยาที่ต่ำเกินไปก็จะได้ผลการรักษาตามเป้าหมาย

4. ใช้เวลานานในการเตรียม การเตรียมฟิล์มละลายในช่องปากต้องใช้เวลาในการเตรียมนานโดยเฉพาะในขั้นตอนที่ทำให้แผ่นฟิล์มแห้งซึ่งอาจต้องใช้เวลาอย่างน้อย 1 วัน เพื่อให้แผ่นฟิล์มแห้งที่อุณหภูมิห้องซึ่งการใช้ตู้อบลมร้อนในกระบวนการทำให้แห้งมีข้อจำกัดในกรณีของยาละลายตัวได้ง่ายต่อความร้อน (4) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีการนำแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชัน (oral dissolving film loaded nanoemulsion) มาใช้เพื่อพัฒนาการผลิตฟิล์มละลายในช่องปากให้สามารถลดการสลายตัวของยาช่วยให้ผู้ป่วยมีความรู้สึกขณะใช้ที่ดีและแตกตัวหรือละลายอย่างรวดเร็ว

ในปี ค.ศ. 2021 Nurdianti et al. ได้ทำการเปรียบเทียบระหว่าง sodium alginate และ gelatin ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ในฟิล์มแผ่นบางละลายในช่องปากบรรจุ astaxanthin Nanoemulsion พบว่าฟิล์มภายในช่องปากที่มีคุณสมบัติทางกายภาพและกลไกที่ดี ได้รับการพัฒนาโดยใช้ระบบเมทริกซ์โพลิเมอร์ธรรมชาติ ฟิล์มที่ผลิตจากระบบ gelatin ที่ประกอบด้วย astaxanthin nanoemulsion มีความยืดหยุ่นและแข็งแรงกว่าฟิล์มที่ผลิตจากระบบ sodium alginate matrix ซึ่งฟิล์มทั้งหมดมีลักษณะที่ดีสำหรับการใช้ภายในช่องปาก จากผลการทดสอบการปลดปล่อยยาแสดงให้เห็นว่าทั้ง sodium alginate และ gelatin มากกว่า 90% ของยาถูกปล่อยออกมาในเวลา 15 นาที

5. นาโนอิมัลชัน

นาโนอิมัลชันเป็นระบบที่ประกอบด้วยน้ำมัน, น้ำและสารลดแรงตึงผิวในปริมาณสูง มีลักษณะเป็นของเหลวใสที่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์สูง ขนาดของหยดอนุภาคในตำรับมักมีขนาดเล็กกว่า 1,000 นาโนเมตร สามารถคงรูปอยู่ได้จากผิวฟิล์มของสารลดแรงตึงผิว สารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้คือกลุ่มสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (nonionic surfactants) และกลุ่มสารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและลบ (zwitterionic surfactants) สามารถนำส่งตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำได้ สารลดแรงตึงผิวในตำรับสามารถทำปฏิกิริยากับไขมันที่อยู่ระหว่างเซลล์ของผิวหนังทำให้สามารถเพิ่มการซึมผ่านของตัวยาหรือสารสำคัญผ่านผิวหนัง และในส่วนของภูมิภาคไขมันสามารถทำให้เกิดการปกคลุมผิวเมื่otalงบนผิวหนัง โดยทำให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้นสูงขึ้น ส่วนหยดอนุภาคอิมัลชันจะยุบตัวหรือหลอมไปกับส่วนประกอบของผิวหนัง (16)

การเตรียม nanoemulsion ช่วยให้อัตราการละลายและการดูดซึมดีขึ้น สามารถปรับเปลี่ยนการปลดปล่อยยาได้ การวิจัย astaxanthin nanoemulsion ร่วมกับระบบโพลิเมอร์เมทริกซ์เพื่อสร้างเป็นฟิล์มบาง สำหรับใช้ในช่องปาก การวิจัย astaxanthin ถูกห่อหุ้มในน้ำมันในน้ำ o/w โดยวิธี self-nanoemulsifying method และมีพอลิเมอร์ธรรมชาติ 2 ชนิด คือ sodium alginate และ gelatin ซึ่ง gelatin เป็นสารก่อฟิล์มที่ดีที่สุดที่สามารถรวม astaxanthin nanoemulsion เข้าด้วยกัน มีการประเมินทั้งทางด้านกายภาพ ประเมินความเป็นกรด-เบส (pH determination), ทดสอบความหนาฟิล์ม (film thickness), ความสม่ำเสมอของน้ำหนักฟิล์ม (weight uniformity), ระยะเวลาการสลายฟิล์ม (disintegration time), ความทนทานต่อแรงดึง (tensile strength), ความยืดหยุ่นของเปอร์เซ็นต์ (% elongation), และรูปแบบของฟิล์ม (film morphology) พบว่าข้อดีของนาโนอิมัลชันคือมีภูมิภาคภายในเป็นหยดขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรกระจายตัวในภูมิภาคภายนอกคือ น้ำ จะช่วยเพิ่มความสามารถในการกระจายตัวลงบนแผ่นฟิล์มและป้องกันการเกิดการแยกชั้น นอกจากนี้การเตรียมในรูปแบบนาโนอิมัลชันยังช่วยเพิ่มให้อัตราการละลาย (dissolution rate) การดูดซึม (absorption rate) และช่วยเพิ่มการปลดปล่อยยา (drug release) และข้อเสียคือความไม่คงตัวของนาโนอิมัลชันซึ่งเกิดจากความสามารถในการละลายของหยดอนุภาคขนาดใหญ่และเล็กมีความแตกต่างกัน ทำให้เกิดการแพร่ของของเหลวชั้นภายในผ่านไปสู่วงของเหลวชั้นภายนอก เกิดอนุภาคขนาดใหญ่มากขึ้นและอนุภาคขนาดเล็กหายไป วิธีการลดความไม่คงตัวของอิมัลชัน สามารถทำได้โดยการเติมของเหลว

ในวัฏภาคภายในที่ไม่ละลายในของเหลววัฏภาคภายนอก นาโนอิมัลชันมีขนาดหยดที่เล็กมากทำให้ลดแรงโน้มถ่วงของโลกที่มากระทำต่อหยดวัฏภาคภายในอิมัลชันได้อย่างมากและลดการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน (brownian motion) มีผลในการชนะแรงโน้มถ่วงของโลกได้ ทำให้นาโนอิมัลชันไม่เกิดการแยกชั้น (creaming) หรือตกตะกอนระหว่างการเก็บรักษา ขนาดหยดที่เล็กมากทำให้ป้องกันการเกิดการจับกลุ่มกันของหยดภายในอิมัลชันแบบผันกลับได้ (flocculation) และป้องกันการเกิดการจับกลุ่มกันของหยดวัฏภาคภายในแบบผันกลับไม่ได้ (coalescence) นาโนอิมัลชันเป็นระบบนำส่งสารสำคัญผ่านผิวหนังที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากมีพื้นที่ผิว ทำให้ซึมผ่านได้ดี เนื่องจากมีขนาดหยดที่เล็กมากของนาโนอิมัลชันมีลักษณะโปร่งใสและมีความหนืดน้อยมาก ทำให้มีลักษณะที่สวยงาม ให้ความรู้สึกที่ดีต่อผู้ป่วยในการเตรียมนาโนอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (o/w) ที่มีความเข้มข้นของน้ำมัน 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้สารลดแรงตึงผิวในช่วง 5-10 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากขนาดหยดที่เล็กทำให้นาโนอิมัลชันสามารถกระจายตัวบนพื้นผิวได้อย่างสม่ำเสมอจากการมีแรงตึงผิว (surface tension) และแรงตึงระหว่างผิวประจัน (interfacial tension) ต่ำ ช่วยเพิ่มความสามารถในการการเปียก, การแผ่กระจาย และการซึมผ่าน (penetration) ได้ดีขึ้น (17)

ฟิล์มละลายในช่องปากรูปแบบนาโนอิมัลชัน (oral dissolving film loaded nanoemulsion) การบรรจุน้ำมันหอมระเหยลงบนแผ่นฟิล์มโดยตรง อาจทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างแผ่นฟิล์มกับน้ำมันหอมระเหย แก้ไขโดยเตรียมน้ำมันฝรั่งในรูปแบบเกสซัณฑ์ของเหลว โดยเฉพาะรูปแบบนาโนอิมัลชัน ซึ่งมีศักยภาพในการห่อหุ้ม ป้องกันและนำส่งส่วนประกอบทางชีวภาพที่เป็นไขมันผ่านช่องปาก ยังช่วยเพิ่มความสามารถในการกระจายตัวลงบนแผ่นฟิล์มและป้องกันการเกิดการแยกชั้น นอกจากนี้การเตรียมในรูปแบบนาโนอิมัลชันยังช่วยเพิ่มให้อัตราการละลาย (dissolution rate) การดูดซึม (absorption rate) และช่วยเพิ่มการปลดปล่อยยา (drug release) อีกด้วย (18)

6. สารช่วยในตำรับ

6.1 Sodium alginate

IUPAC Name: sodium 3,4,5,6-tetrahydroxyoxane-2-carboxylate

สูตรโมเลกุล: $C_6H_9NaO_7$

มวลโมเลกุล (molecular Weight) : 216.12

pH: ~7.2

ความหนาแน่น (density): 1.0 g/cm³ (Temp: 25 °C)

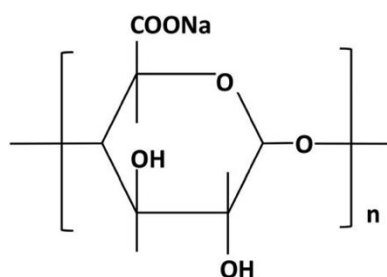
จุดเดือด (boiling Point): 495.2 °C (19)

จุดหลอมเหลว (melting Point): 99 °C (20)

ความสามารถในการละลาย (solubility) : practically insoluble in ethanol (95%), ether, chloroform and ethanol/water, practically insoluble in other organic solvents and aqueous acidic acid solutions in pH less than and slowly soluble in water (13)

สถานะ: ของแข็งสีขาว

สูตรโครงสร้าง



รูปที่ 5 สูตรโครงสร้าง Sodium alginate

อ้างอิงรูปภาพจาก: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-sodium-alginate-which-is-composed-of-consecutive-G-residues_fig5_335696909

6.2 Sodium carboxymethylcellulose (SCMC)

IUPAC Name : sodium carboxymethylcellulose

สูตรโมเลกุล : C₈H₁₅NaO₈

มวลโมเลกุล (molecular Weight) : ~ 90,000 (21)

pH : 6.5-8 1% aq.sol

ความหนาแน่น (density) : 0.52 g/cm³ (bulk), 0.78 g/cm³ (tapped)

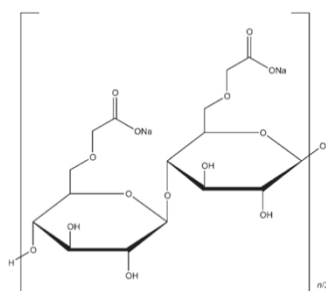
จุดเดือด (boiling Point): 227 °C

จุดหลอมเหลว (melting Point) : 300 °C, 572 °F

ความสามารถในการละลาย (solubility) : practically insoluble in acetone, ethanol (95%), ether และ toluene กระจายตัวในน้ำได้ง่าย (13)

สถานะ : ผงสีขาว powder solid

สูตรโครงสร้าง



รูปที่ 6 สูตรโครงสร้าง SCMC

อ้างอิงรูปภาพจาก: Handbook of Pharmaceutical excipient

6.3 Methylcellulose

เป็น nonionic polymer จึงไม่มีประจุในโครงสร้าง ละลายได้ดีในน้ำเย็น ไม่ละลายในน้ำร้อน

ชื่อพ้อง : benecel; culminal MC; E461; methocel; metolose

ลักษณะภายนอก : เป็นผงหรือผงแกรนูลหรือเส้นใย สีขาว ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น

ความเป็นกรด-เบส : pH 5.0 - 8.0

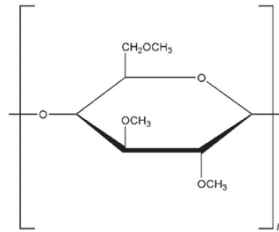
จุดหลอมเหลว (melting Point) : 190 - 200 °C

ความหนาแน่น (density) : 1.341 g/cm

น้ำหนักโมเลกุล (molecular Weight) : 658.7

ความสามารถในการละลาย (solubility) : practically insoluble in hot water, acetone, methanol, chloroform, ethanol (95%)

สูตรโครงสร้าง



รูปที่ 7 สูตรโครงสร้าง Methylcellulose

อ้างอิงรูปภาพจาก : <http://dcms.lib.nu.ac.th/dcms/TDC2552/1021/appendix.pdf>

6.4 Glycerin

ใช้ได้ทั้ง oral, otic, ophthalmic, topical และ parenteral

ชื่อทางเคมี : propane-1,2,3-triol

สูตรทางเคมี : $C_3H_8O_3$

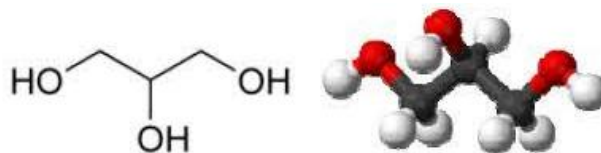
น้ำหนักโมเลกุล : 92.09

จุดหลอมเหลว : $17.8\text{ }^{\circ}\text{C}$

จุดเดือด : $290\text{ }^{\circ}\text{C}$

ความหนาแน่น : 1.2620 g/cm

สูตรโครงสร้าง



รูปที่ 8 สูตรโครงสร้าง glycerin

อ้างอิงรูปภาพจาก : <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/JOSL/10970882>.

6.5 Cremophor RH 40

เป็นสารประกอบที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง hydrogenated castor oil และ ethylene oxide ทำให้มีทั้งส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilie) และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) จึงสามารถเข้าได้กับทั้งน้ำ และน้ำมัน รวมถึงตัวทำละลาย เช่น เอทานอล, โพรพานอล, เอทิลอะซีเตต, คลอโรฟอร์ม และโทลูอิน

ชื่อวิทยาศาสตร์: PEG-40 Hydrogenated castor oil

ความเป็นกรด-เบส (pH) ~ 6-7

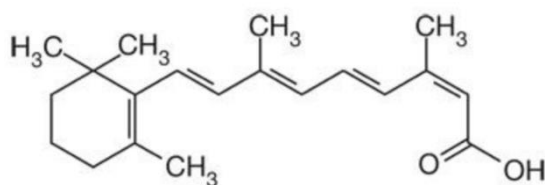
มวลโมเลกุล (molecular weight): 2,500 (22)

ความหนาแน่น (density): 1.04 ก./มล. ที่ 25 °C (23)

ความสามารถในการละลาย: soluble in water, soluble in oils, soluble in ethanol (23)

สถานะ: เป็นของเหลวข้นสีขาวหรือเหลือง

สูตรโครงสร้าง



รูปที่ 9 สูตรโครงสร้าง Cremophor RH 40

อ้างอิงรูปภาพจาก: <https://www.chemipan.com/a/th-th/244-สินค้า/326-เคมีเครื่องสำอาง/9293-cremophor-rh40-สารเพิ่มการละลาย-500g-m.html>

6.6 β - caryophyllene

IUPAC Name : trans-(1S,9R)-4,11,11-trimethyl-8-methylenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene

สูตรโมเลกุล : C₁₅H₂₄

มวลโมเลกุล (molecular Weight) : 204.35

ความหนาแน่น (density) : 0.9075 at 68 °F

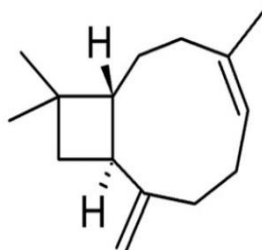
จุดเดือด (boiling Point) : 264 to 266 °F at 14 mm Hg

จุดหลอมเหลว (melting Point) : < 25 °C

ความสามารถในการละลาย (solubility) : insoluble in water; soluble in oils, ether, soluble in ethanol

สถานะ: ของเหลว สีเหลือง

สูตรโครงสร้าง



รูปที่ 10 สูตรโครงสร้าง β - caryophyllene

อ้างอิงรูปภาพจาก: <https://www.mdpi.com/1999-4923/10/4/274/html>

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมี

- 1.1 น้ำมันฝรั่ง (GLO) (บริษัทเคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด, กรุงเทพมหานคร, ไทย)
- 1.2 น้ำมันมะพร้าว (virgincoconut oil, VCO) (บริษัท อำพลฟู้ดส์โปรเซสซิง จำกัด, นครปฐม, ไทย)
- 1.3 Glycerin (Ajax Finechem Pty Ltd, Auckland, New Zealand)
- 1.4 Cremophor RH40 (PCO40) (บริษัท พี.ซี. ดรัก เซ็นเตอร์ จำกัด, กรุงเทพมหานคร, ไทย)
- 1.5 โซเดียม อัลจีเนต (sodium alginate)
- 1.6 โซเดียม คาร์บอกซิลเมทิล เซลลูโลส (sodium carboxymethylcellulose sodium , SCMC) (Fisher Scientific Company, US)
- 1.7 น้ำกลั่น

2. เครื่องแก้ว

- 2.1 ปีกเกอร์ (beaker)
- 2.2 แท่งแก้ว (stirring rod)
- 2.3 กระบอกตวง (graduated cylinder)
- 2.4 โกร่ง และ ลูกโกร่ง (mortar and pestle)
- 2.5 ช้อนเขา (dispensing spoon)
- 2.6 ขวดปริมาตร (volumetric flask)
- 2.7 หลอดหยด (dropper)
- 2.8 ขวด (bottle)
- 2.9 Eppendorf
- 2.10 จานเพาะเชื้อพลาสติก (petri dish)
- 2.11 กรวยกรอง (funnel)
- 2.12 กระจกนาฬิกา (watch glass)
- 2.13 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง

3. เครื่องมือ

3.1 Hot plate

3.2 Thermometer

3.3 Magnetic stirrer

3.4 Zetasizer (ยี่ห้อ Malvern DKSH(Thailand) Limited, Bangkok,Thailand)

3.5 Texture Analyzer (รุ่น TA.XT plusC ยี่ห้อ Stable Micro System Bangkok,Thailand)

3.6 Infrared spectroscopy (FTIR Spectrometer,ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific รุ่น Nicolet 6700, Bangkok,Thailand)

4. การเตรียมนานอิมัลชัน

อุณหภูมิ 65 °C และอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 62-65 °C เติมน้ำมันใบฝรั่งลงอุณหภูมิที่อุณหภูมิแล้วเทลงใน water phase ปั่นผสมเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำนาโนอิมัลชันไปประเมินตาม ข้อ 5 โดยมีองค์ประกอบดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สูตรตำรับนาโนอิมัลชันที่เตรียมจากอัตราส่วนน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่แตกต่างกัน

สาร	อัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าว (GLO : VCO) (%w/w)						หน้าที่ในตำรับ
	100 : 00	90 : 10	80 : 20	70 : 30	60 : 40	50 : 50	
น้ำมันใบฝรั่ง	10	9	8	7	6	5	Anticancer
น้ำมันมะพร้าว	0	1	2	3	4	5	Stabilizing agent
PCO 40	10	10	10	10	10	10	Emulsifying agent
Water	80	80	80	80	80	80	Water phase

5. การประเมินสมบัตินาโนอิมัลชัน

5.1 ทดสอบความคงตัว โดยการทำให้ centrifuge test

นำ nanoemulsion ที่เตรียมจาก น้ำมันใบฝรั่ง:น้ำมันมะพร้าว ในสัดส่วน 100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 ปริมาตร 1 mL มาใส่ใน eppendrof จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง centrifuge ความเร็วรอบในการหมุน 3,000 rpm 10 นาที บันทึก % creaming

$$\% \text{ creaming} = \frac{\text{volume or high of creaming}}{\text{total volume or high of emulsion}} \times 100$$

5.2 ทดสอบความคงตัวที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็น (Temperature cycling test)

นำ nanoemulsion ที่เตรียมจาก GLO:VCO ในสัดส่วน 100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 ปริมาตร 10 mL มาทำการทดสอบความคงตัววิธี Temperature cycling test เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่มีผลต่อความคงตัวของ nanoemulsion โดยเก็บตัวอย่างของ nanoemulsion ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (1 รอบ) ทำการทดลองซ้ำจนครบ 6 รอบ

5.3 ทดสอบขนาด (size) และค่าการกระจายอนุภาค (PDI) ก่อนและหลังทดสอบ Temperature cycle

นำ nanoemulsion ที่เตรียมจาก GLO:VCO ในสัดส่วน 100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 ก่อนและหลังเข้า temp cycle มาวัดขนาดระดับอนุภาคด้วยเครื่อง Zetasizer เพื่อเปรียบเทียบขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดก่อนและหลังทดสอบความคงตัวที่สภาวะเร่งร้อน 45 °C สลับเย็น 4 °C

6. การเตรียมฟิล์ม

6.1 การศึกษาชนิดและปริมาณสารก่อฟิล์ม

ผสมสารก่อฟิล์ม เช่น Sodium alginate, Sodium carboxymethylcellulose กับ น้ำที่ปริมาณ 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 50% จากนั้นเติม glycerin และสารช่วย อื่นๆ ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรจนครบ 100% และเทลงเพลท ระบายน้ำจนฟิล์มแห้ง จากนั้นนำไปทดสอบเวลาการแตกตัวในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ pH 6.75

6.2 การเตรียมฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน

เตรียมฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชันโดยเลือกจากนาโนอิมัลชันที่มีขนาดเล็กและการ กระจายแคบสุด และความคงตัวมากที่สุด มาบรรจุลงฟิล์ม โดยเลือก Sodium alginate เป็น สารก่อฟิล์มที่ความเข้มข้นที่มีการแตกตัวในช่องปากเร็วที่สุด ผสมกับนาโนอิมัลชันที่ 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 50% โดยมีองค์ประกอบดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สูตรตำรับฟิล์มละลายในช่องปากที่เตรียมจากปริมาณนาโนอิมัลชันที่แตกต่างกัน

สาร	อัตราส่วนนาโนอิมัลชัน (%w/w)					
	1%	2%	5%	10%	30%	50%
Nanoemulsion (70:30)	1	2	5	10	30	50
Sodium alginate	1	1	1	1	1	1
Glycerol	2	2	2	2	2	2
Water	q.s. 100 mL					

7. ประเมินตำรับฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน

7.1 การทดสอบน้ำหนัก (Average Weight)

นำแผ่นฟิล์ม ขนาด 2x2 cm จำนวน 3 แผ่น เพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ย

7.2 การทดสอบความหนา (Film Thickness)

นำแผ่นฟิล์มที่บรรจุอยู่ใน Petri dish ลอกฟิล์มออกมาโดยใช้เครื่อง ไมโครมิเตอร์ (Micrometer) นำมาวัดความหนา ทำการวัดค่า 3 ครั้ง มาเฉลี่ยแล้วบันทึกค่าทศนิยม 4 ตำแหน่ง หน่วยมิลลิเมตร

7.3 การประเมินลักษณะทางกายภาพของฟิล์ม

นำมาแผ่นฟิล์มมาประเมินความหนา ความเปราะและความขุ่นด้วยตาเปล่า

7.4 Mechanical characteristic

ตัดตัวอย่างฟิล์มขนาดมาตรฐาน 5 cm x 1 cm เพื่อเตรียมทำการดึงที่อัตราเร็วในการดึง 30 - 65 mm/min จำนวนตัวอย่างละ 3 ชิ้นงาน และหาค่าเฉลี่ย ทดสอบที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการดึงจนชิ้นงานขาดออกจากกัน เพื่อทดสอบหาค่าความต้านทานแรงดึง (tensile strength) และการยืดตัวของฟิล์ม (elongation at break)

7.4.1 Tensile strength

คือ ค่าความต้านทานแรงดึงหรือความทนทานต่อแรงดึงของวัสดุ มีหน่วยเป็น MPa หรือ N/m² ใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) โดยใช้หัววัด tensile Grip วัดแรงดึง (tension) เพื่อศึกษาคุณสมบัติของตัวอย่าง คือ Tensile Strength

ค่าความต้านทานแรงดึงและการยืดตัวคำนวณได้ดังนี้

$$\text{Tensile strength (MPa)} = \frac{F}{L \times d}$$

F คือ the maximum tension of the sample at fracture (N)

L คือ film length (m)

d คือ film width (m)

ค่า Tensile strength ที่สูงมาก แสดงถึงฟิล์มมีความแข็งแรงที่ดี แต่ก็ส่งผลทำให้การปลดปล่อยยาออกจากโพลิเมอร์ไม่ดี Tensile strength จึงควรมีค่าน้อย ยาจึงเกิดการปลดปล่อยออกจากโพลิเมอร์ได้ดี (27)

7.4.2 % Elongation

คือ ร้อยละการยืดตัวของชิ้นทดสอบที่จุดขาดเมื่อเปรียบเทียบกับความยาวเริ่มต้น (24)

$$E (\%) = \left(\frac{L' - L}{L} \right) \times 100$$

E คือ elongation

L คือ the original length (mm)

L' คือ the elongation length (mm)

ค่าที่มากบ่งบอกถึงฟิล์มมีความเหนียวและมีการยืดตัวที่ดี หากมีค่าน้อยบ่งบอกว่าฟิล์มไม่มีความเหนียวและยืดตัวไม่ดี (25)

7.4.3 Young's modulus

คือ ค่าความเค้นที่ทำให้ฟิล์มยืดตัวตามที่กำหนด

$$\text{Young's modulus} = \frac{\sigma}{\epsilon}$$

σ คือ ความเค้น

ϵ คือ ความเครียด

ค่า young's modulus ในฟิล์มละลายในช่องปากควรมีค่าน้อย บ่งบอกถึงฟิล์มมีความยืดหยุ่นที่ดี หากค่า young's modulus มีค่ามาก บ่งบอกถึงฟิล์มมีความแข็งและเปราะ (26)

7.5 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM)

ศึกษารายละเอียดของโครงสร้างภายนอกหรือผิวของตัวอย่างโดยใช้เครื่อง SEM โดยเลือกตำรับ 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 5% และ 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 10% มาทดสอบ

7.6 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

ในการศึกษานี้จะศึกษาการเกิด interaction ระหว่าง β -caryophyllene ในน้ำมันฝรั่ง กับสารช่วยในตำรับโดยใช้เครื่อง FTIR ใช้วิเคราะห์หาพันธะเคมีหรือหมู่ฟังก์ชันเปรียบเทียบกับ Sodium alginate 1%, น้ำมันใบฝรั่ง กับ emulsion 1%, 2%, 5%, 10%, 20% และ 30% ตามลำดับ ตำแหน่งที่พิกัดตรงกันมีโครงสร้างหมู่ฟังก์ชันเหมือนกันจะไม่เกิดอันตรกิริยาระหว่าง β -caryophyllene กับสารช่วยในตำรับ

7.7 การวิเคราะห์ปริมาณร้อยละการบรรจุสารสำคัญ (drug loading) ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

ทดสอบประสิทธิภาพในการบรรจุสารสำคัญ โดยวิเคราะห์ β -caryophyllene ด้วยวิธี HPLC มีวิธีทำได้โดยย่อดังนี้ นำสารละลายมาตรฐาน β -caryophyllene มาหาค่าเฉลี่ย peak area ในแต่ละความเข้มข้น จากนั้นนำแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชัน

ไปศึกษาปริมาณร้อยละการบรรจุสารสำคัญด้วย HPLC ตามวิธีดังนี้ การวิเคราะห์สารสำคัญ ได้แก่ β -caryophyllene โดยใช้ HPLC column Alltima C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 μ m) เป็น stationary phase และใช้ acetonitrile : ethanol (v/v = 70:30) เป็น mobile phase ด้วยอัตราการไหล 2 mL/min ความยาวคลื่นที่ใช้ตรวจวัด (detection wavelength) คือ 210 nm (30) (31) จากนั้นคำนวณ % drug loading โดยใช้สมการ (32)

$$\% \text{ Drug loading} = \frac{\text{ปริมาณของสารสำคัญที่ถูกบรรจุในฟิล์ม}}{\text{น้ำหนักฟิล์ม}} \times 100$$

7.8 เวลาในการกระจายตัวของตัวยา (Disintegration time)

นำฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน ขนาด 2 cm x 2 cm มาใส่ใน phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 10 mL ที่อุณหภูมิ 37 °C ทำการบันทึกเวลาที่ฟิล์มแตกตัวจนหมด (33)

7.9 คุณสมบัติการต้านมะเร็ง

7.9.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากด้วยวิธี MTT assay

โดยมีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้ เริ่มจากขั้นตอน seed cell เริ่มจากจำนวน 10,000 cells/50 μ L ใส่ 96-well จำนวน 50 μ L บ่มในตู้ CO₂ ชำมคืน จากนั้นเติมสารละลายฟิล์มที่ความเข้มข้น 25 – 0.78 mg/mL จนครบ 8 ความเข้มข้น เขย่าเล็กน้อย เก็บในตู้ CO₂ 24 ชั่วโมง เมื่อเวลานำอาหารออกให้หมด เติม MTT ห่อฟอยล์ บ่มในตู้ CO₂ 3 ชั่วโมง แล้วเอา MTT ออกจนหมด เติม DMSO แล้วเขย่าเล็กน้อย นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ 570 nm

7.9.2 Apoptosis

ศึกษาารูปแบบการตายของเซลล์มะเร็งช่องปากด้วยวิธีการย้อมนิวเคลียสด้วย Hoechst 33342 trihydrochloride ดู morphology ของ cell nucleus ของเซลล์เซลล์มะเร็งช่องปาก การตรวจสอบรูปแบบการตายของเซลล์ทำได้โดยผ่านการย้อมสี fluorescent (DAPI : (4, 6-diamidino-2-phenylindole)) โดยมีวิธีการศึกษาโดยย่อ ดังนี้ เลี่ยงเซลล์บน Coverslip หลังจาก 24 ชั่วโมง เติมห่วงสารละลายฟิล์มที่ IC₆₀ ทั้งไว้ 24 ชั่วโมง ทำการล้างเซลล์ด้วย PBS หลังจากนั้น fix ใน 4% formaldehyde ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที จากนั้นใส่ Hoechst 33342 trihydrochloride solution 300 μ L ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาทีภายใต้ที่มืด (dark conditions) และทำการล้างด้วย PBS หลายๆครั้ง เพื่อกำจัดสีย้อมที่

เหลื่อ นำเซลล์ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence microscope) ภายใต้ความยาวคลื่นสำหรับการกระตุ้น (excitation wavelength) ที่ 358 nm และ ความยาวคลื่นสำหรับการปลดปล่อย (emission wavelength) ที่ 461 nm (36)

7.10 การวิเคราะห์เชิงสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Analysis of variance (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 10.0 สำหรับ windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) โดยใช้ Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% confidence level โดยถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ P-value ต่ำกว่า 0.05 โดยการทดสอบของ Tukey ใช้เมื่อมีการเปรียบเทียบมากกว่าสองวิธี โดยปกติการทดสอบของ Tukey จะใช้หลังจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงให้เห็นความแตกต่าง โดยคำนวณการเปรียบเทียบทุกวิธีแบบคู่ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจะแสดงเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสองกลุ่ม (pairwise comparison) คำนวณได้ดังนี้ (37)

$$HSD = q \sqrt{\frac{MS}{n}}$$

MS คือ ค่าเฉลี่ยกำลังสอง (ANOVA)

n คือ จำนวนตัวอย่างของแต่ละกลุ่ม

q คือ กำหนดจากตารางแจกแจงความถี่

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปาก โดยแบ่งออกเป็น 2 ตอน ด้วยกันคือ ตอนที่ 1 เป็นการเตรียมและประเมินนาโนอิมัลชันโดยศึกษาผลระหว่างน้ำมันใบฝรั่งและน้ำมันมะพร้าว และ ตอนที่ 2 เป็นการเตรียมและประเมินแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

1. การเตรียมและประเมินนาโนอิมัลชันที่บรรจุน้ำมันใบฝรั่ง

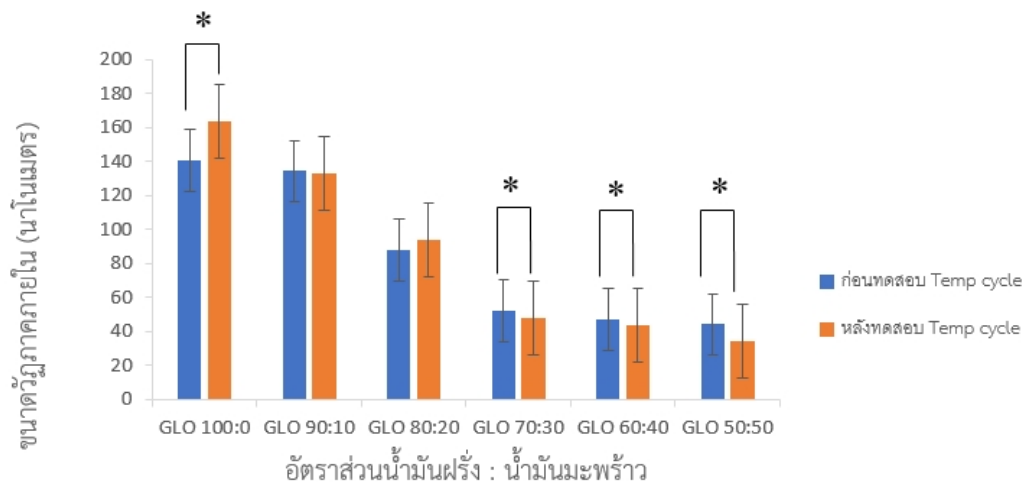
ศึกษาผลของอัตราส่วนน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวโดยประเมินขนาดอนุภาคภายใน การกระจาย ขนาด ลักษณะทางกายภาพก่อนและหลังการเก็บที่สภาวะเร่งดังนี้

1.1 ขนาดอนุภาคภายในและค่าการกระจายอนุภาคของนาโนอิมัลชัน

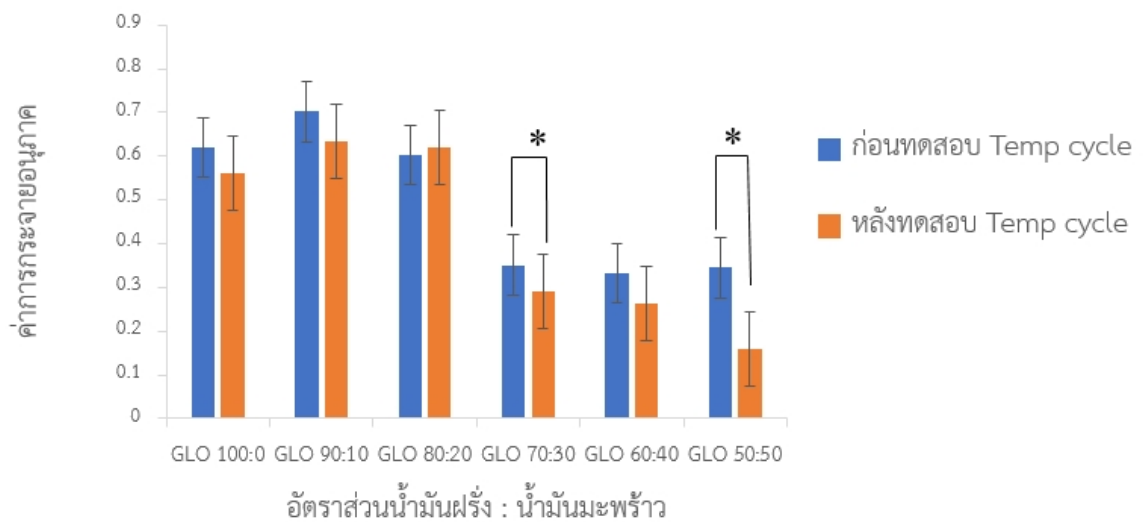
การวัดขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคภายในด้วยเครื่อง Zetasizer มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคภายในของนาโนอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่แตกต่างกัน ผลการศึกษาแสดงในรูป 11 และ 12 น้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่มีอัตราส่วน 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 มีขนาดอนุภาคภายในน้อยกว่า 100 nm โดยอัตราส่วน 50:50 อนุภาคภายในมีขนาดเล็กที่สุด รองลงมาคือ 60:40 และ 70:30 ตามลำดับ และอัตราส่วน 100:0, 90:10 มีขนาดอนุภาคภายในมากกว่า 100 nm อัตราส่วน 100:0 มีขนาดอนุภาคภายในใหญ่ที่สุด ซึ่งมีสาเหตุจากปรากฏการณ์ Ostwald ripening เนื่องจากใน oil phase ของ 100:00 ไม่มีน้ำมันมะพร้าว ซึ่งทำหน้าที่เพิ่มความคงตัวและลดการเกิด Ostwald ripening จึงส่งผลต่อขนาดของอนุภาคภายใน และเมื่อทดสอบความคงตัวที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็น พบว่าอัตราส่วน 100:0 และ 80:20 มีขนาดอนุภาคภายในใหญ่ขึ้น และ 70:30 ถึง 50:50 ขนาดอนุภาคภายในมีแนวโน้มลดลง

เมื่อนำไปวัดค่าการกระจายอนุภาคพบว่าอัตราส่วน 60:40 มีค่าการกระจายของอนุภาคน้อยที่สุด รองลงมาคือ 50:50 และ 70:30 ตามลำดับ อัตราส่วน 90:10 มีค่าการกระจายของอนุภาคมากที่สุด รองลงมาคือ 100:0 หลังจากผ่านความคงตัวที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็น พบว่าทุกอัตราส่วนมีค่าการกระจายของอนุภาคลดลง ยกเว้นอัตราส่วน 80:20 ที่มีการกระจายอนุภาคภายในเพิ่มขึ้น โดยค่าการกระจายตัวของอนุภาคภายในก่อนและหลังผ่านความคงตัวที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ $p=0.042$ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.05 ถือว่า

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งค่าการกระจายของอนุภาคภายในแสดงถึงความสม่ำเสมอของขนาดอนุภาคภายใน โดยค่าที่น้อยแสดงถึงอนุภาคภายในมีขนาดใกล้เคียงกัน ค่ายิ่งมากแสดงถึงอนุภาคภายในมีขนาดแตกต่างกัน ซึ่งมีเพียงอัตราส่วน 70:30 และ 50:50 ที่ค่าการกระจายตัวของอนุภาคภายในก่อนและหลังผ่านความคงตัวที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 11 ค่าการกระจายอนุภาคจากอัตราส่วนน้ำมันไบโอฟรังก์ตอ์น้ำมันมะพร้าวที่แตกต่างกันต่อการเกิดนาโนอิมัลชันก่อนและหลังเข้า Temp cycle
เมื่อ * แทนความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 12 ค่าการกระจายอนุภาคจากอัตราส่วนน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่แตกต่างกันต่อการเกิดนาโนอิมัลชันก่อนและหลังเก็บที่สภาวะเร่ง 45°C 24 ชั่วโมง สลับ 4°C 24 ชั่วโมง (1 รอบ) เป็นเวลา 6 รอบ

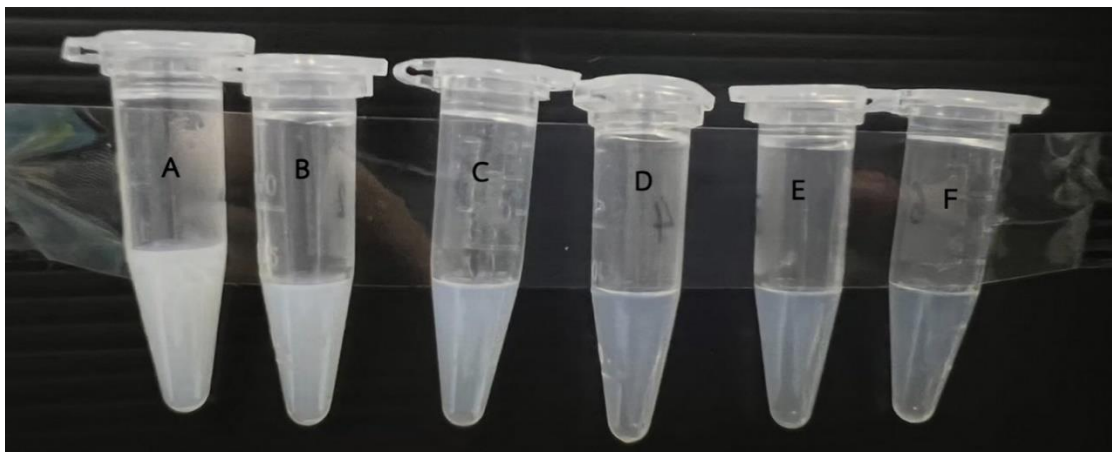
เมื่อ * แทนความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.2 ความคงตัวของนาโนอิมัลชัน ด้วยวิธี Centrifuge test

การศึกษานี้ได้ศึกษาปัจจัยอัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวต่อความคงตัวของนาโนอิมัลชัน

ตารางที่ 5 ผล % creaming หลังปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ของ 100:00, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50

	GLO : VCO (%)					
	100:00	90:10	80:20	70:30	60:40	50:50
creaming (%)	36.67	41.18	100	100	100	100



รูปที่ 13 ภาพ A, B, C, D, E และ F แสดง % creaming หลังปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ของ 100:00, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 ตามลำดับ

จากการศึกษาการแยกชั้นครีม (% creaming) โดยผ่านเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบในการหมุน 3,000 rpm 10 นาที พบว่าอัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่ 100:00 มีค่า 36.67%, 90:10 มีค่า 41.18% และที่ 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 มีค่า 100% ดังตารางที่ 5 โดย 100:00 และ 90:10 มีการแยกชั้นในอัตราส่วนที่ 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 ไม่มีการแยกชั้นเกิดขึ้น ดังรูปที่ 13

จากผลการทดลองดังกล่าวผู้วิจัยได้เลือกอัตราส่วนที่ 70:30 มาบรรจุในแผ่นฟิล์ม เนื่องจากวัสดุภาควัสดุภายในมีขนาดเล็กกว่า 100 nm ค่าการกระจายตัวของวัสดุภาควัสดุภายในเท่ากับ 0.351 ขนาดอนุภาควัสดุภายในและค่าการกระจายของอนุภาคก่อนและหลังผ่านความคงตัวที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นมีความใกล้เคียงกัน มีความคงตัวที่ดีภายหลังทดสอบในสภาวะเร่งร้อนสลับเย็นและเมื่อผ่านเครื่องปั่นเหวี่ยงไม่มีการแยกชั้นเกิดขึ้น นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่มีขนาดน้อยกว่า 100 nm พบว่า 70:30 มีปริมาณน้ำมันใบฝรั่งมากที่สุด จึงเลือกตำรับนี้ไปเตรียมฟิล์มในการศึกษาต่อไป

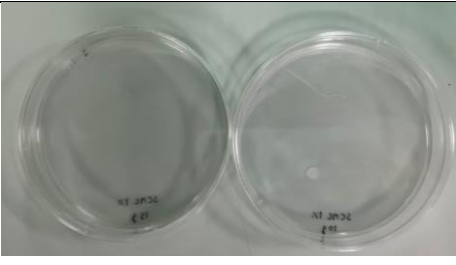
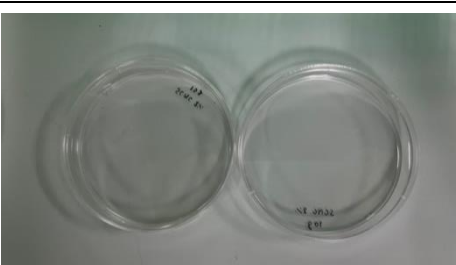
2. การเตรียมและประเมินแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก

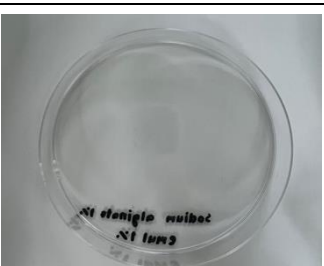
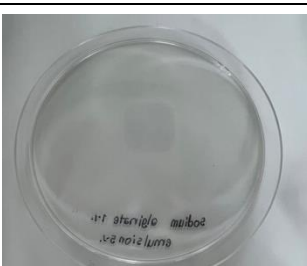
2.1 การประเมินลักษณะทางกายภาพของฟิล์ม (Appearance)

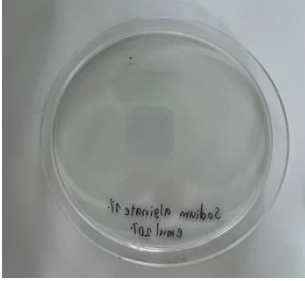
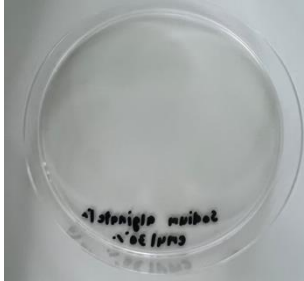
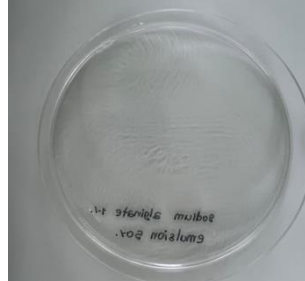
จากการประเมินลักษณะภายนอกของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากด้วยตาเปล่า มีวัตถุประสงค์เพื่อเลือกสารก่อฟิล์มที่เหมาะสมในการบรรจุนาโนอิมัลชัน พบว่าแผ่นฟิล์มที่เตรียมจาก Sodium alginate 1% ปริมาณ 10 และ 15 g มีความบาง เปราะมาก และขุ่น ในขณะที่แผ่นฟิล์มที่เตรียมจาก Sodium alginate 2% ปริมาณ 5 และ 7.5 g ความบาง เปราะมาก และใส, Sodium alginate 2% ปริมาตร 10 และ 15 g ความบาง เปราะมาก และขุ่น Sodium alginate 3% ปริมาตร 5 และ 7.5 g ความบาง (ไม่เต็มแผ่น) เปราะ และขุ่น แผ่นฟิล์ม SCMC 1% ปริมาตร 10 และ 15 g มีความหนา ยืดหยุ่น และใส SCMC 2% ปริมาตร 5 g มีความหนา แต่ฟิล์มไม่เต็มแผ่น มีความยืดหยุ่นและใส SCMC 2% ปริมาตร 7.5 10 และ 15 g มีความหนา ยืดหยุ่นและใส SCMC 3% ปริมาตร 5 g มีความหนา แต่ฟิล์มไม่เต็มแผ่น มีความยืดหยุ่นและใส SCMC 3% ปริมาตร 7.5 g มีความหนา มีความยืดหยุ่น และใส ดังตารางที่ 6

จากงานวิจัยของ Bala et al. ในปี 2013 กล่าวว่า ความหนาของฟิล์มที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 0.005-0.2 mm และ Disintegration time ใน phosphate buffer ปริมาตร 10 mL pH 6.8 ที่ 37°C ควรแตกตัวภายใน 60 วินาที (24) การประเมินลักษณะภายนอกของฟิล์มร่วมกับการประเมินสมบัติสารก่อฟิล์ม ดังตารางที่ 12 (ภาคผนวก) พบว่า Sodium alginate 1% ปริมาตร 10 g Sodium alginate 1% ปริมาตร 15 g และ Sodium alginate 2% ปริมาตร 5 g มีผลการประเมินสมบัติของฟิล์มเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด โดยผู้วิจัยเลือก Sodium alginate 1% ปริมาตร 10 g มาเป็นสารก่อฟิล์มในการบรรจุนาโนอิมัลชันของสูตรตำรับฟิล์มละลายในช่องปาก เนื่องจากแผ่นฟิล์มมีน้ำหนักเบาที่สุด มีหนาหนาน้อยอยู่ในช่วง 0.005-0.2 mm และแตกตัวภายใน 60 วินาที แต่แผ่นฟิล์มมีลักษณะภายนอกที่บาง เปราะมาก และขุ่น จึงใส่ glycerin เข้าไปในตำรับเพื่อทำหน้าที่เป็น plasticizer ให้ฟิล์มมีความนุ่ม และยืดหยุ่นมากขึ้น

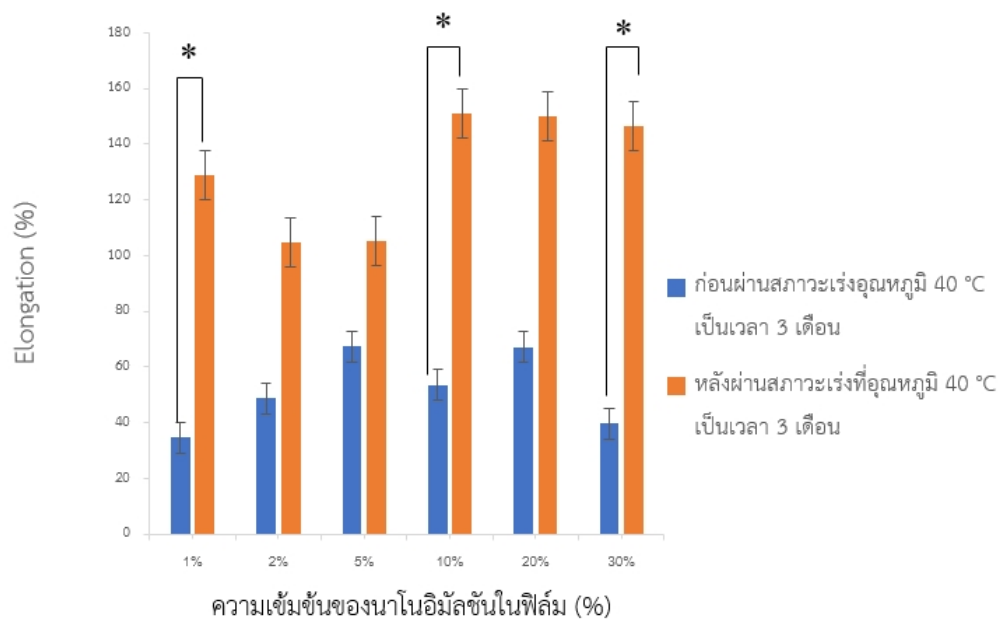
ตารางที่ 6 ลักษณะภายนอกของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก

 Sodium alginate 1%	 Sodium alginate 2%
 SCMC 1%	 SCMC 2%

 Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 1%	 Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 2%	 Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 5%	 Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10%
---	---	--	--

 Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 20%	 Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 30%	 Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 50%	
--	--	---	--

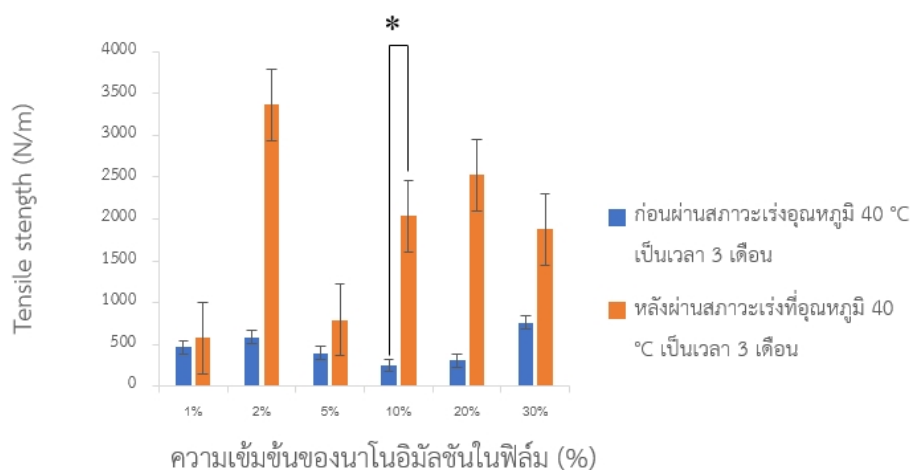
2.2 คุณสมบัติเชิงกล (Mechanical characteristic)



รูปที่ 14 ระยะยืดที่จุดขาดของฟิล์ม (elongation) ที่บรรจุปริมาณนาโนอิมัลชันแตกต่างกัน
เมื่อ * แทนความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาของ Londhe et al. ในปี 2018 กล่าวว่า % elongation เป็นการศึกษาระยะยืดที่จุดขาดของฟิล์ม ใช้ในการประเมินความเหนียวและการยืดตัว ค่าที่มากบ่งบอกถึงฟิล์มมีความเหนียวและมีการยืดตัวที่ดี หากมีค่าน้อยบ่งบอกว่าฟิล์มไม่มีความเหนียวและยืดตัวไม่ดี (25) พบว่าก่อนทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน

ฟิล์ม 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 5% มีค่ามากที่สุด รองลงมา คือฟิล์ม 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 20% และ 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 10% ตามลำดับ ดังรูปที่ 14 บ่งบอกถึงฟิล์มมีความเหนียวและมีการยึดตัวที่ดี หลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า % elongation ของฟิล์มเพิ่มขึ้นทุกความเข้มข้น ซึ่งฟิล์ม 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 10% นั้นมีค่ามากที่สุด บ่งบอกว่าหลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ฟิล์มทุกสูตรมีความเหนียวลดลงและยึดตัวได้น้อยลง

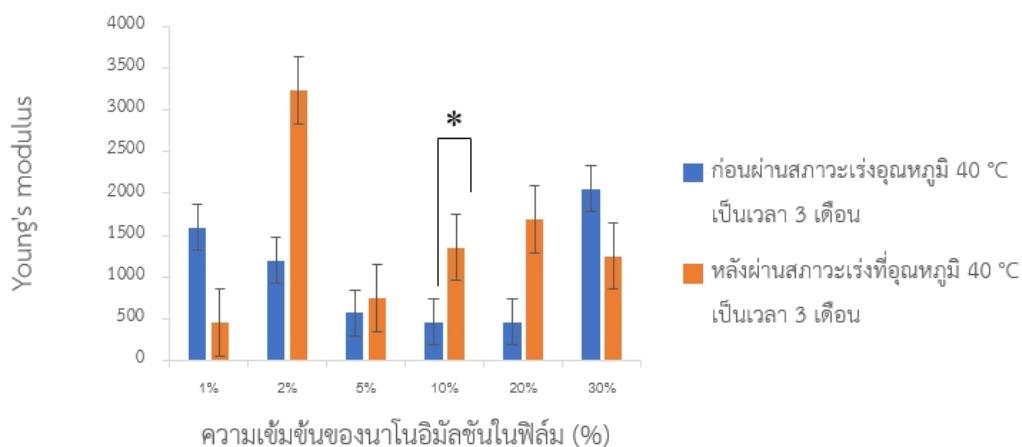


รูปที่ 15 ความแข็งแรงของฟิล์มเมื่อถูกแรงดึงมากระทำ (Tensile strength) ที่บรรจุปริมาณนาโนอิมัลชันแตกต่างกัน

เมื่อ * แทนความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาของ Nair et al. ในปี 2013 กล่าวว่า Tensile strength เป็นการศึกษาความแข็งแรงของฟิล์มเมื่อถูกแรงดึงมากระทำ ค่า Tensile strength ที่สูงมากแสดงถึงฟิล์มมีความแข็งแรงที่ดี แต่ก็ส่งผลทำให้การปลดปล่อยยาออกจากโพลิเมอร์ไม่ดี ค่า Tensile strength จึงควรมีค่าน้อย ยาจึงเกิดการปลดปล่อยออกจากโพลิเมอร์ได้ดี (27) จากการทดสอบพบว่าฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% ก่อนทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน มีค่าน้อยที่สุด ซึ่งถือว่าฟิล์มมีความอ่อนตัวและปลดปล่อยยาออกจากโพลิเมอร์ได้ดี และหลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3

เดือนนั้นมีค่าเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อย ดังรูปที่ 15 ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% มีความแข็งแรงมากขึ้นหลังเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน



รูปที่ 16 ความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของฟิล์ม (Young's modulus) ที่บรรจุปริมาณนาโนอิมัลชันแตกต่างกันที่ความเข้มข้นของนาโนอิมัลชันที่แตกต่างกัน

เมื่อ * แทนความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

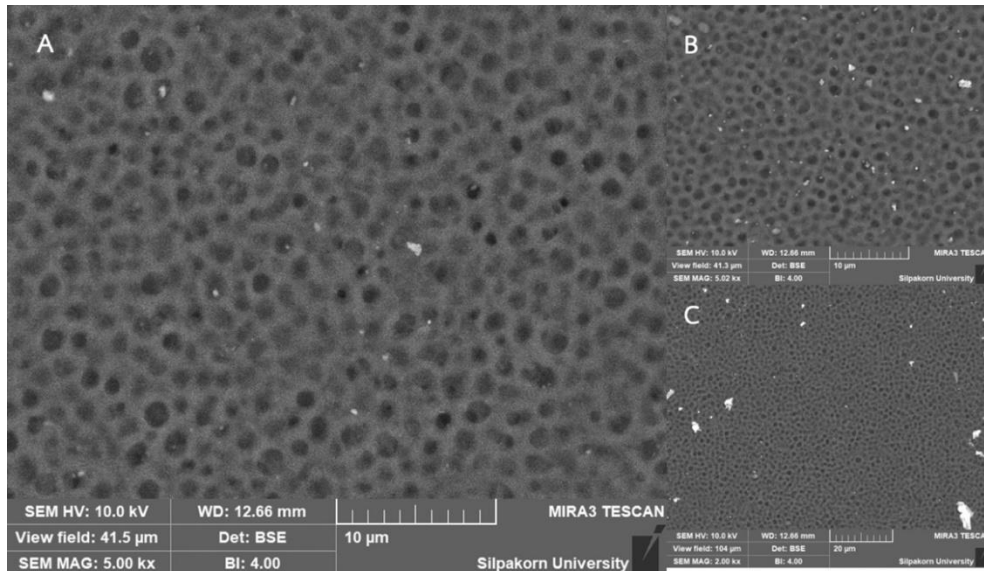
จากการศึกษาของ Robert et al. ในปี 1987 กล่าวว่า young's modulus เป็นการศึกษาความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของฟิล์ม ค่า young's modulus ในฟิล์มละลายในช่องปากควรมีค่าน้อย บ่งบอกถึงฟิล์มมีความยืดหยุ่นที่ดี หากค่า young's modulus มีค่ามาก บ่งบอกถึงฟิล์มมีความแข็งแรงและเปราะ (26) จากการทดสอบพบว่าฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 20% ก่อนทดสอบที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือนพบว่ามีค่าน้อยที่สุด รองลงมาคือ Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% และ Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 5% ตามลำดับ ซึ่งบ่งบอกว่าฟิล์มมีความยืดหยุ่นที่ดี หลังทดสอบที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือนนั้นฟิล์มทุกความเข้มข้นมีค่า young's modulus เพิ่มขึ้นบ่งบอกว่าฟิล์มมีความแข็งแรง ยกเว้น Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 30% ดังรูปที่ 16 บ่งบอกว่าหลังเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ฟิล์มสูตร Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% มีความยืดหยุ่นมากขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากมี nanoemulsion ปริมาณมาก

คุณสมบัติเชิงกลของฟิล์มละลายในช่องปากในอุดมคติ คือ ค่า Tensile strength มีค่าน้อย, % elongation มีค่ามาก และ young's modulus มีค่าน้อย จากผลการทดลองดังกล่าวผู้วิจัยจึงเลือกใช้ฟิล์มสูตร Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% เนื่องจากมีคุณสมบัติเข้าเกณฑ์ดังกล่าวมากที่สุด บ่งบอกว่าฟิล์มมีความเหนียว มีความยืดตัว และยืดหยุ่นได้ดี แข็งแรงน้อย สามารถปลดปล่อยยาออกจากโพลิเมอร์ได้ดี และนำฟิล์มสูตร Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% ไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

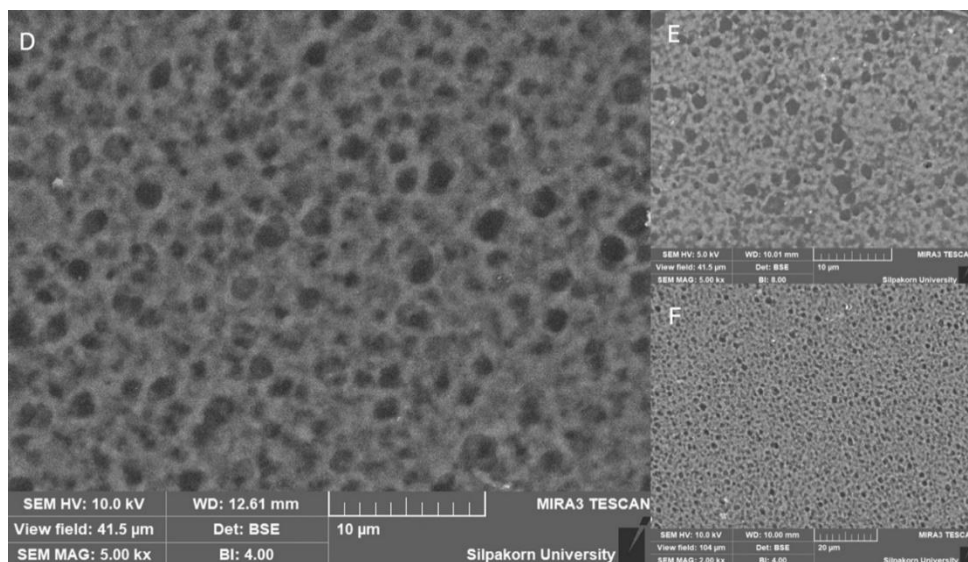
2.3 การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope)

ในการศึกษามีวัตถุประสงค์เพื่อระบุลักษณะของพื้นผิวของตัวอย่าง โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 เป็นลักษณะพื้นผิวดูอย่างตัดตามยาว ส่วนที่ 2 คือ เป็นลักษณะพื้นผิวดูอย่างตัดตามขวาง ผลการศึกษาดังแสดงในรูป 17-20 พบว่า การทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) ด้วยกำลังขยาย 2,000 และ 5,000 เท่า มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบลักษณะของพื้นผิวของฟิล์ม พบว่าภาพตามยาวและภาพตัดขวางของพื้นผิวฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 5% และ Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% มีหยาบผิวภายในลักษณะกลม และมีขนาดที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงพิสูจน์ได้ว่ามีหยดนาโนอิมัลชันแทรกอยู่ในฟิล์ม

2.3.1. ลักษณะพื้นผิวตัวอย่างตัดตามยาว

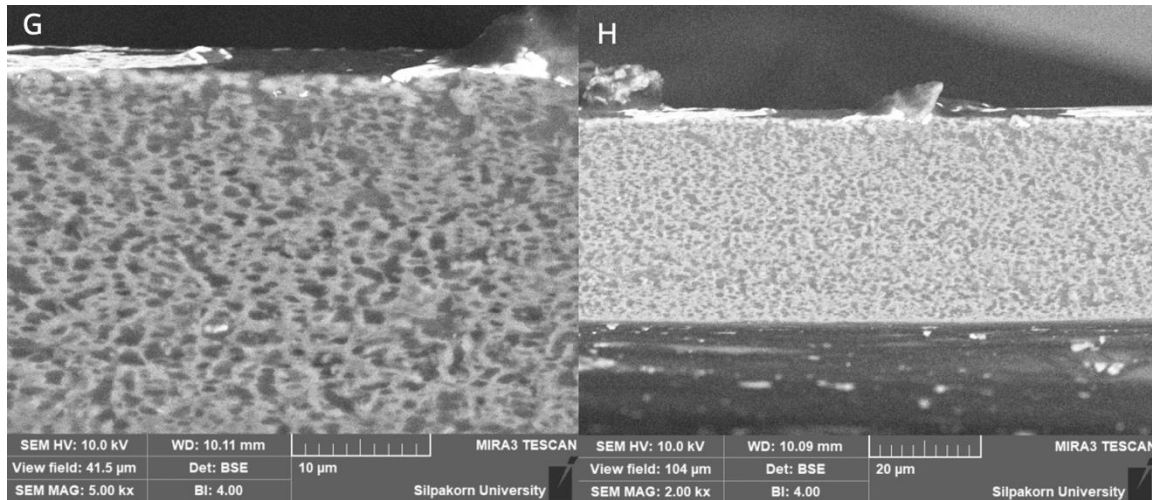


รูปที่ 17 ภาพ A และ B แสดงภาพตามยาวของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 5% ด้วยกำลังขยาย 5,000 ภาพ C แสดงภาพตามยาวของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 5% ด้วยกำลังขยาย 2,000 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM

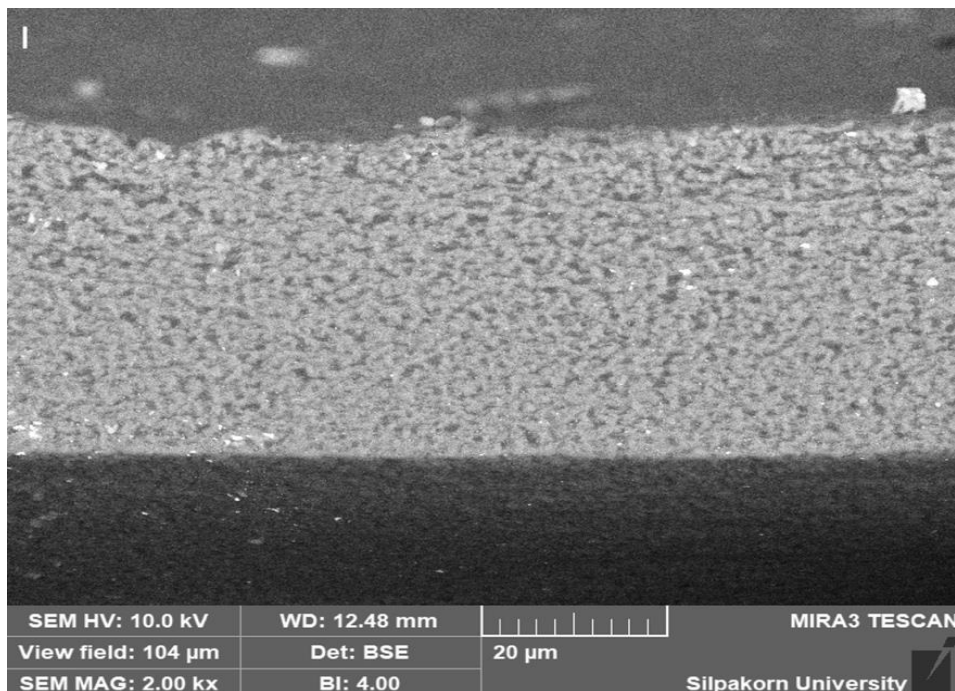


รูปที่ 18 ภาพ D และ E แสดงภาพตามยาวของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 10% ด้วยกำลังขยาย 5,000 ภาพ F แสดงภาพตามยาวของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 10% ด้วยกำลังขยาย 2,000 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM

2.3.2 ลักษณะพื้นผิวตัวอย่างตัดตามขวาง



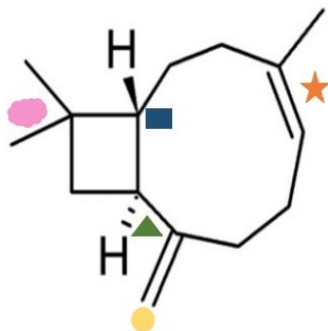
รูปที่ 19 ภาพ G และ H แสดงภาพตัดขวางของพื้นผิวฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน 5% ด้วยกำลังขยาย 5,000 และ 2,000 เท่า ตามลำดับ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM



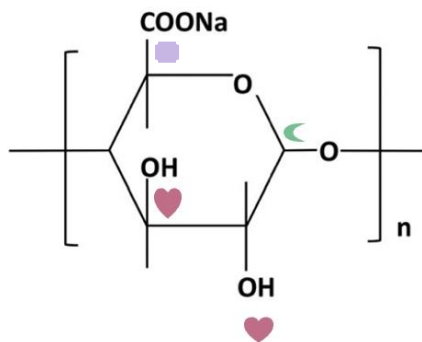
รูปที่ 20 ภาพ I แสดงภาพตัดขวางของพื้นผิวบรรจุนาโนอิมัลชัน 10% ด้วยกำลังขยาย 2,000 เท่า ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM

2.4 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

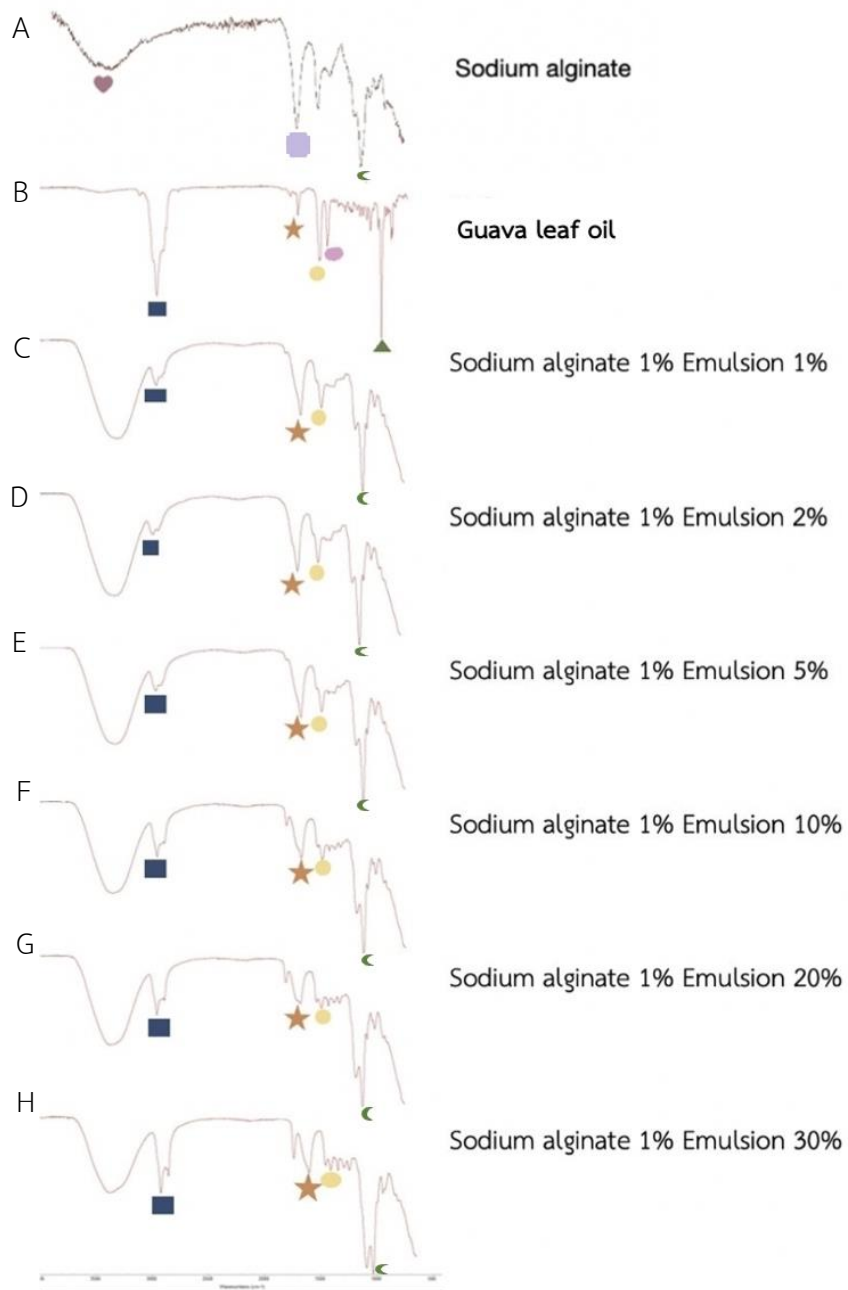
ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการเกิดอันตรกิริยาระหว่างองค์ประกอบในตำรับกับสารสำคัญในน้ำมันฝรั่ง คือ β -caryophyllene ด้วยเครื่อง IR spectroscopy ผลการศึกษาแสดงในรูปที่ 23



รูปที่ 21 โครงสร้าง β - caryophyllene



รูปที่ 22 โครงสร้าง Sodium alginate



รูปที่ 23 IR spectrum ของ β -Caryophyllene, Sodium alginate และฟิล์มละลายในช่องปากที่
บรรจุปริมาณนาโนอิมัลชันแตกต่างกัน

Sodium alginate ในรูป A จะมีพีคที่ตำแหน่ง 3500 cm^{-1} จาก O-H bonds 1649 cm^{-1} จาก Carboxylate salt ion 1107 และ 935 cm^{-1} จาก C-O stretching β -caryophyllene ในรูป B จะมีพีคที่ตำแหน่ง 2915 cm^{-1} จาก =C-H stretching 1650 cm^{-1} จาก trans C=C stretching 1465 cm^{-1} จาก C-H bending of CH_2 1375 cm^{-1} จาก C-H bending of CH_3 และ 885 cm^{-1} จาก =C-H bending (out of plane) เมื่อสังเกตพีคในตำรับฟิล์มบรรจุนาโนอิมัลชัน ในรูป C จะพบพีคของ =C-H stretching, C=C stretching และ C-H bending of CH_2 ในรูป D จะพบพีคของ =C-H stretching, C=C stretching และ C-H bending of CH_2 ในรูป E จะพบพีคของ =C-H stretching, C=C stretching และ C-H bending of CH_2 ในรูป F จะพบพีคของ =C-H stretching, C=C stretching และ C-H bending of CH_2 ในรูป G จะพบพีคของ =C-H stretching, C=C stretching และ C-H bending of CH_2 ในรูป H จะพบพีคของ =C-H stretching, C=C stretching และ C-H bending of CH_2 ที่ตำแหน่งตรงกันกับน้ำมันฝรั่ง ดังรูปที่ 23 ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า น้ำมันฝรั่งไม่เกิดอันตรกิริยากับสารช่วยในตำรับ

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณร้อยละการบรรจุสารสำคัญ (drug loading) ด้วยเครื่อง HPLC

การวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละการบรรจุสารสำคัญ (drug loading) ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณสารสำคัญในน้ำมันใบฝรั่งที่บรรจุลงแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก ซึ่งประกอบด้วยสารสำคัญ ได้แก่ β -caryophyllene พบว่า ฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% ก่อนและหลังทดสอบที่สภาวะแรงที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน มีปริมาณร้อยละการบรรจุสารสำคัญเท่ากันคือ 0.13 ดังตารางที่ 7 ดังนั้นจึงพิสูจน์ได้ว่าแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากมีความคงตัวหลังทดสอบที่สภาวะแรงที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน

ตารางที่ 7 ปริมาณร้อยละการบรรจุสารสำคัญ (drug loading) ในแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุ
นาโนอิมัลชันก่อนและหลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน

ตัวอย่าง	Drug loading (%)
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10%	0.13±0.002
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% after storage 40°C 3 เดือน	0.13±0.001

2.6 การประเมินความคงตัวของตำรับ

ตารางที่ 8 คุณสมบัติของฟิล์มก่อนทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน

ตัวอย่าง	ความหนา (มิลลิเมตร)	น้ำหนัก ขนาด 2x2 เซนติเมตร (กรัม)	Disintegration time (min)
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 1%	0.0413 ± 0.0090	0.0183 ± 0.0028	1.01 ± 1.13
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 2%	0.0440 ± 0.0140	0.0214 ± 0.0030	0.39 ± 0.06
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 5%	0.0607±0.0060	0.0211 ± 0.0030	0.68 ± 0.49
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10%	0.0770 ± 0.0130	0.0292 ± 0.0052	1.53 ± 1.66
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 20%	0.0670 ± 0.0130	0.0508 ± 0.0023	0.93 ± 0.86
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 30%	0.1210 ± 0.0012	0.0386 ± 0.0078	0.91 ± 0.05

ตารางที่ 9 ประเมินคุณสมบัติของฟิล์มหลังทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน

ตัวอย่าง			ความหนา (มิลลิเมตร)	น้ำหนัก ขนาด 2x2 เซนติเมตร (กรัม)	Disintegration time (min)
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 1%		1%	0.1367 ± 0.0544	0.0158 ± 0.0050	0.19 ± 0.046
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 2%		1%	0.0547 ± 0.0067	0.0194 ± 0.0122	0.25 ± 0.17
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 5%		1%	0.0670 ± 0.0272	0.0227 ± 0.0028	1.46 ± 0.52
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10%		1%	0.1233 ± 0.0232	0.0411 ± 0.0125	0.13 ± 0.13
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 20%		1%	0.1717 ± 0.0934	0.0415 ± 0.0040	0.64 ± 0.31
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 30%		1%	0.1230 ± 0.0626	0.0565 ± 0.0126	0.53 ± 0.26

จากการศึกษาการทดสอบความคงตัวของฟิล์มหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน พบว่ามี ความหนาของตัวอย่างฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% มีความหนา 0.1233 ± 0.0232 มีค่า P = 0.66 ซึ่งมีความมากกว่า 0.05 ถือว่าความหนาของแผ่นฟิล์มก่อนและหลังจากเก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีค่าการแตกตัวของฟิล์ม(DT) 0.1270 ± 0.1270 นาที่ มีค่า P= 0.023 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.05 ถือว่าการแตกตัวของฟิล์ม(DT) ของฟิล์มก่อนและหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีน้ำหนักเท่ากับ 0.1270 ± 0.1270 มีค่า P= 0.508 ซึ่งมีความมากกว่า 0.05 ถือว่าความหนาของแผ่นฟิล์มก่อนและหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีค่า % drug loading เท่ากับ 0.13 ± 0.000658 ดังตารางที่ 8 และ 9 ทางคณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้ฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10%

2.7 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT ; 3-[4, 5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide

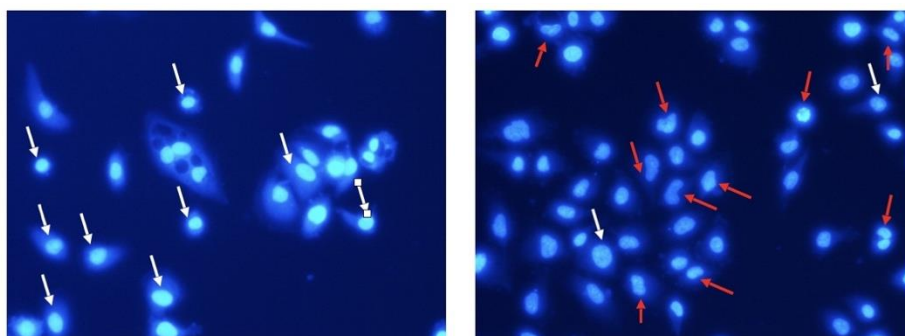
ตารางที่ 10 IC_{50} ของฟิล์มละลายในช่องปากก่อนและหลังทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ $40^{\circ}C$ เป็นเวลา 3 เดือน

ตัวอย่าง	IC_{50} (mg/ml)
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% (before storage $40^{\circ}C$ 3 เดือน)	3.08
Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% (after storage $40^{\circ}C$ 3 เดือน)	6.18

จากการตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันด้วยวิธี MTT assay โดยใช้แผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันพบว่าแผ่นฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% พบว่า ก่อนทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ $40^{\circ}C$ เป็นเวลา 3 เดือน ความเข้มข้นของการยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากได้ครั้งหนึ่ง (IC_{50}) เท่ากับ 3.08 และหลังเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $40^{\circ}C$ เป็นเวลา 3 เดือน ความเข้มข้นของการยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากได้ครั้งหนึ่ง (IC_{50}) เท่ากับ 6.18 ดังตารางที่ 10 จึงสรุปได้ว่าฟิล์มหลังทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ $40^{\circ}C$ เป็นเวลา 3 เดือน มีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ลดลง จึงต้องใช้ความเข้มข้นมากขึ้น ถึงแม้ว่าหลังเข้าสู่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ $40^{\circ}C$ 3 เดือน จะมีร้อยละการบรรจุสารสำคัญเท่าเดิมแต่ความเข้มข้นของการยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากได้ครั้งหนึ่ง (IC_{50}) ลดลง เนื่องจากโครงสร้างของสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากมีการเปลี่ยนแปลงไป

2.8 การทดสอบ Apoptosis

การตายแบบ apoptosis เริ่มที่ DNA ภายใน Nucleus เสียสภาพไม่สามารถซ่อมแซมได้ โดยการตายของเซลล์แบบนี้จะไม่เหนี่ยวนำให้เกิดการการอักเสบ การที่เซลล์ตายแบบ Apoptosis ในระยะแรกรอยต่อระหว่างเซลล์ปกติกับเซลล์ (Intercellular junctions) จะถูกทำลาย เริ่มเกิดการเกาะกลุ่มกันของโครมาติน (Chromatin) ในนิวเคลียส ต่อมาเซลล์ที่เกิด Apoptosis จะหดตัวลงทำให้มีขนาดของเซลล์เล็กลง เมื่อย้อมด้วยสี Hoeast 33342 trihydrochloride solution ทำให้ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินเข้มมากขึ้น และ Chromatin จะเกาะกลุ่มกันที่บริเวณขอบของนิวเคลียส เรียกว่า Nucleus fragmentation พร้อมกับเอนไซม์ Endonuclease จะถูกกระตุ้นให้ทำงานและส่งผลให้นิวเคลียสของเซลล์ที่เกิดการ Apoptosis แตกออกเป็นส่วนเล็กๆ ซึ่งจากการทดสอบพบว่า นิวเคลียสของเซลล์มะเร็งในช่องปาก มีลักษณะกลม และไม่มี Nucleus fragmentation แสดงถึงการไม่เกิด Apoptosis แต่หลังจากให้ฟิล์ม 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 10% ที่ IC_{60} จะเห็นว่านิวเคลียสของเซลล์มะเร็งในช่องปากมีลักษณะไม่กลม มี Nucleus fragmentation เป็นจำนวนมาก บ่งบอกว่าฟิล์ม 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 10% เหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งในช่องปากเกิดการตายแบบ Apoptosis แสดงดังรูปที่ 24



รูปที่ 24 การเกิด nuclear fragmentation ของมะเร็งในช่องปากภายหลังการทดสอบด้วยแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากที่ความเข้มข้นเท่ากับ IC_{60} (ขวา) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแบบลบ (ซ้าย)

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปาก โดยจะศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อสมบัตินาโนอิมัลชัน โดยมีปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ อัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวต่อการเกิดนาโนอิมัลชัน, ขนาดอนุภาคภายใน, ค่าการกระจายอนุภาค, ร้อยละการแยกชั้นของครีม ในการศึกษาได้เลือกบรรจุนาโนอิมัลชันที่มีอัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าวที่แตกต่างกัน ผลการศึกษาพบว่าร้อยละการแยกชั้นของครีม 80:20, 70:30, 60:40, 50:50 ไม่มีการแยกชั้น ขนาดอนุภาคภายในของนาโนอิมัลชันที่มีอัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าว 80:20, 70:30, 60:40, 50:50 มีขนาดเล็กกว่า 100 นาโนเมตรและ 50:50 ขนาดเล็กที่สุด เมื่อเตรียมจากอัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าว 80:20 ขนาดอนุภาคภายในมีขนาดใหญ่ขึ้น มีค่าการกระจาย 70:30, 60:40, 50:50 มีการกระจายใกล้เคียงกัน แต่เมื่อผ่านความคงตัวที่สภาวะร้อนสลับเย็น 70:30 มีค่าการกระจายตัวของอนุภาคใกล้เคียงกับค่าก่อนทดสอบที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นมากที่สุด จึงสามารถสรุปได้ว่าอัตราส่วนของน้ำมันใบฝรั่งต่อน้ำมันมะพร้าว 70:30 มีผลต่อสมบัติทางกายภาพของนาโนอิมัลชัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งขนาดอนุภาคภายในและการกระจายของอนุภาค

การศึกษาต่อมาเป็นการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งด้วยเครื่อง Texture Analyzer ผลการศึกษาระยะยืดที่จุดขาดของฟิล์มหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 10% นั้นมีค่ามากที่สุดบ่งบอกว่าฟิล์มมีการยืดที่ดีที่สุด ค่าความแข็งแรงของฟิล์มเมื่อถูกแรงดึงมากระทำ พบว่าฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% ก่อนทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน มีค่าน้อยที่สุด ค่าความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 20% ก่อนทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือนพบว่า มีค่าน้อยที่สุด รองลงมาคือ Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% และหลังทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือนนั้นฟิล์มทุกความเข้มข้นมีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อนำแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งมาศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยเครื่อง SEM พบว่า ในแผ่นฟิล์มมีหยดอนุภาคนา

โนอิ้มัลชันแทรกอยู่ ผลการศึกษาอันตรกิริยาระหว่าง β -caryophyllene กับส่วนประกอบในตำรับพบว่าไม่เกิดอันตรกิริยาดังกล่าว ผลการศึกษาความคงตัวของฟิล์มหลังจากทดสอบที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าความหนาของตัวอย่างฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% มีความหนา 0.1233 ± 0.0232 มิลลิเมตร ค่าการแตกตัวของฟิล์ม (DT) 0.1270 ± 0.1270 นาที และมีน้ำหนักเท่ากับ 0.1270 ± 0.1270 กรัม ผลการวิเคราะห์ร้อยละการบรรจุสารสำคัญพบว่า 1% Sodium alginate บรรจุ nanoemulsion 10% ทั้งก่อนและหลังทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน มีค่า 0.13 % ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิ้มัลชันด้วยวิธี MTT assay แผ่นฟิล์ม Sodium alginate 1% บรรจุ nanoemulsion 10% พบว่า ก่อนทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ความเข้มข้นของการยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากได้ครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) เท่ากับ 3.08 และหลังทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ความเข้มข้นของการยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากได้ครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) เท่ากับ 6.18 จึงสรุปได้ว่าฟิล์มที่ผ่านการทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือนมีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ลดลง

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิ้มัลชันของน้ำมันใบฝรั่งมีแนวโน้มในการเป็นตัวแทนในการรักษาโรคมะเร็งในช่องปาก แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบโดยใช้สัตว์ทดลองและการทดสอบทางคลินิกยังคงจำเป็นในการศึกษาประสิทธิภาพและการเกิดพิษต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- 1.Bangpakok hospital . ตรวจเช็ค 6 สัญญาณเตือน โรคมะเร็งในช่องปาก. Bangpakok hospital.
- 2.Duraisamy Ramachandhiran CS, Raju Murali , Sukumar Babukumar and Veerasamy Vinothkumar β -Caryophyllene promotes oxidative stress and apoptosis in KB cells through activation of mitochondrial-mediated pathway – An in-vitro and in-silico study. 2019;148-62.
- 3.Di Sotto A, Paolicelli P, Nardoni M, Abete L, Garzoli S, Di Giacomo S, et al. SPC Liposomes as Possible Delivery Systems for Improving Bioavailability of the Natural Sesquiterpene β -Caryophyllene: Lamellarity and Drug-Loading as Key Features for a Rational Drug Delivery Design. *Pharmaceutics*. 2018;10(4):274.
- 4.รศ.ดร.ภญ.เพ็ญศักดิ์ จันทราวุธ. พิล์มแผ่นบางทางเภสัชกรรม. 2565.
- 5.Patel PHMaSG. Cancer of the oral cavity. 2016.
- 6.ศิริข ศักดิ์เดชนนต์. โรคมะเร็งในช่องปาก. 2018.
- 7.พิชัย แสงชาญชัย. สรุกับโรคมะเร็งในปากและช่องปาก.
- 8.ศิริเพ็ญ อรุณประพันธ์. แนวโน้มอุบัติการณ์ของมะเร็งในช่องปากและฟาริงซีในประเทศไทย พ.ศ. 2547-2558.
- 9.สิทธิชัย ตันติภาสวสิน . มะเร็งช่องปาก. 2562; หน้า44.
- 10.ฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์.
- 11.Jiradej Manosroi PDaAM. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. 2006:114-20.
- 12.สยามบรมราชกุมารี . มะพร้าว. 2544.
- 13.Raymond C Rowe PJSaMEQ. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 2009;6.
14. Tubtimsri S, Limmatvapirat C, Limsirichaikul S, Akkaramongkolporn P, Inoue Y, Limmatvapirat S. Fabrication and characterization of spearmint oil loaded nanoemulsions as cytotoxic agents against oral cancer cell. *Asian J Pharm Sci*. 2018;13(5):425-437.

15. Panraksa P, Tipduangta P, Jantanasakulwong K, Jantrawut P. Formulation of Orally Disintegrating Films as an Amorphous Solid Solution of a Poorly Water-Soluble Drug. *Membranes* (Basel). 2020
- 16.มหาวิทยาลัยมหิดล. การพัฒนานาโนแคปซูลและระบบนำส่ง. 2556.
- 17.ดารินี พรหมโยธินและคณะ. กระบวนการเตรียมและตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติของนาโนอิมัลชันจากสารสกัดธรรมชาติ. 2559.
18. McClements DJ. Nanoemulsion-based oral delivery systems for lipophilic bioactive components: nutraceuticals and pharmaceuticals. *Ther Deliv*. 2013
- 19.chemicals Wo. Sodium Alginate Properties. 2022.
- 20.ChemicalBook. Sodium alginate. 2022.
- 21.KGaA M. Sodium carboxymethyl cellulose. 2022.
22. Zeng, Liya and Xin, Xin and Zhang, Yalin Development and characterization of promising Cremophor EL-stabilized o/w nanoemulsions containing short-chain alcohols as a cosurfactant. *RSC Adv*. 2017.
- 23.Hydrogenated Castor Oil PEG -40. 2022.
- 24.Bala R, Pawar P, Khanna S, Arora S. Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system. *Int J Pharm Investig*. 2013.
- 25.Londhe V, Shirsat R. Formulation and Characterization of Fast-Dissolving Sublingual Film of Iloperidone Using Box-Behnken Design for Enhancement of Oral Bioavailability. *AAPS PharmSciTech*. 2018 Apr;19(3):1392-1400.
- 26.R.J. Roberts, R.C. Rowe, The Young's modulus of pharmaceutical materials, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 37, Issues 1–2, 1987, Pages 15-18
27. Nair AB, Al-Dhubiab BE, Shah J, et al. Mucoadhesive buccal film of almotriptan improved therapeutic delivery in rabbit model. *Saudi Pharm J*. 2020;28(2):201-209.
- 28.Sevinç Özakar, Rukiye, and Emrah Özakar. "Current Overview of Oral Thin Films." *Turkish journal of Int J Pharm* vol. 18,1 (2021): 111-121.

28. Sevinç Özakar R, Özakar E. Current Overview of Oral Thin Films. *Turk J Pharm Sci.* 2021;18(1):111-121.
- 29.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . Differential scanning calorimetry (DSC). 2012.
- 30.Elsewedy HS, Aldhubiab BE, Mahdy MA, Elnahas HM. Brucine PEGylated nanoemulsion: In vitro and in vivo evaluation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* 2021;608:125618.
- 31.Zhang M, Zhang T, Zou Y, Han P, Liu K. Self-microemulsifying oral fast dissolving films of vitamin D3 for infants: Preparation and characterization. *Food Sci Nutr.* 2019;7(8):2577-2583.
32. Jaruporn Rakmai, Benjamas Cheirsilp, Juan Carlos Mejuto, Jesús Simal-Gándara, Ana Torrado-Agrasar, Antioxidant and antimicrobial properties of encapsulated guava leaf oil in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, *Industrial Crops and Products*, Volume 111, 2018.
33. Lu R, Liu S, Wang Q, Li X. Nanoemulsions as novel oral carriers of stiripentol: insights into the protective effect and absorption enhancement. *Int J Nanomedicine.* 2015;10:4937-4946. Published 2015 Jul 31.
34. Nurdianti L, Rusdiana T, Sopyan I, Putriana NA, Aiman HR, Fajria TR. Characteristic Comparison of an Intraoral Thin Film Containing Astaxanthin Nanoemulsion Using Sodium Alginate and Gelatin Polymers. *Turkish journal of pharmaceutical sciences.* 2021;18(3):289-95.
35. Dearajopaulomoraes Vhmdhgcds. Metastasis of colon and lung cancer in soft tissue of the oral cavity. 2020;130(3):e122.
36. Poon S, Ailles LE. Modeling the Role of Cancer-Associated Fibroblasts in Tumor Cell Invasion. *Cancers (Basel).* 2022;14(4):962.
37. Ahmed Hassen Elshafeey 1 aRME-D. Formulation and Development of Oral Fast-Dissolving Films Loaded with Nanosuspension to Augment Paroxetine Bioavailability: In Vitro Characterization, Ex Vivo Permeation, and Pharmacokinetic Evaluation in Healthy Human Volunteers. Vitaliy Khutoryanskiy and Hisham Al-Obaidi. 2021.
38. Haynes W. Tukey's Test. 2013.

ภาคผนวก

ตารางที่ 11 สมบัติของ Sodium alginate

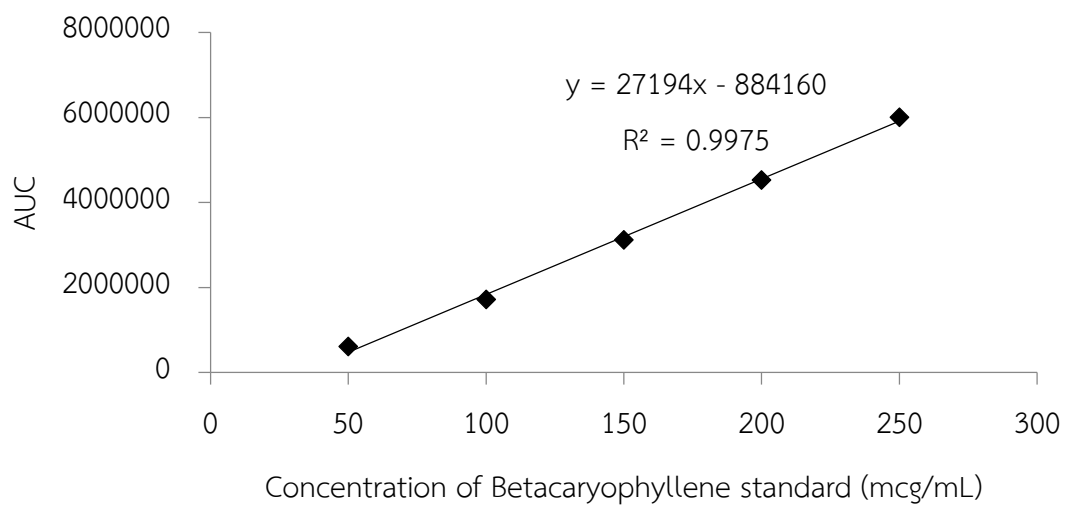
ตัวอย่าง	ความหนา (มิลลิเมตร)	น้ำหนัก ขนาด 2x2 เซนติเมตร (กรัม)	DT ในน้ำกลั่น (วินาที)
Sodium alginate 1% 10 g	0.059	0.0068±0.0015	19.17±5.23
Sodium alginate 1% 15 g	0.098	0.0116±0.0011	34.70±9.17
Sodium alginate 2% 5 g	0.029	0.0095±0.0009	12.03±1.88
Sodium alginate 2% 7.5 g	0.049	0.0133±0.0017	86.58±2.92
Sodium alginate 2% 10 g	0.068	0.0163±0.0053	62.45±19.86
Sodium alginate 2% 15 g	0.078	0.0246±0.0036	195.50±13.05
Sodium alginate 3% 5 g	0.071	0.0195±0.0033	64.82±0.99
Sodium alginate 3% 7.5 g	0.064	0.0224±0.0013	57.55±19.83

ตารางที่ 12 สมบัติของ SCMC

ตัวอย่าง	ความหนา (มิลลิเมตร)	น้ำหนัก ขนาด 2x2 เซนติเมตร (กรัม)	DT ในน้ำกลั่น (min)
SCMC 1% 10 g	0.039	0.0284±0.0071	113.77±5.05
SCMC 1% 15 g	0.112	0.0222±0.0051	71.70±7.27
SCMC 2% 5 g	0.117	0.0137±0.0025	88.74±4.23
SCMC 2% 7.5 g	0.082	0.0213±0.0016	78.41±14.03
SCMC 2% 10 g	0.059	0.0349±0.0064	77.02±16.82
SCMC 2% 15 g	0.141	0.0621±0.0054	248.08±55.80
SCMC 3% 5 g	0.042	0.0209±0.0009	78.78±19.15
SCMC 3% 7.5 g	0.099	0.0409±0.0039	181.47±3.88

ตารางที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและสารละลายมาตรฐาน β - caryophyllene ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	Retention time	Peak area ที่ความยาวคลื่น 210 nm	ค่าเฉลี่ย Peak area แต่ละเข้มข้น
250	11.039	5931510	6004814 $\pm$ 121411.9
	10.835	6144959	
	10.714	5937974	
200	12.029	4519500	4524882 $\pm$ 39644.94
	11.657	4488203	
	11.311	4566943	
150	13.686	3047875	3118359 $\pm$ 161391.3
	13.014	3303004	
	12.461	3004199	
100	15.582	1463192	1569675 $\pm$ 131389.2
	15.138	1529327	
	14.475	1716507	
50	16.941	611050	610410 $\pm$ 905.0967
	16.265	609770	
	16.963	-	
20	17.229	-	1768 $\pm$ 229.1026
	17.098	1606	
	17.020	1930	



รูปที่ 25 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน β -caryophyllene

ตารางที่ 14 Retention time และ Peak area ของฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชัน 10%

ตัวอย่างที่	Retention time	Peak area ที่ความยาวคลื่น 210 nm	ค่าเฉลี่ย Peak area
1	11.585	41911	41911
	-	-	
	-	-	
2	10.799	9367	9677
	10.669	9387	
	10.579	10277	
3	10.514	9319	17300.33
	10.459	8991	
	10.407	33591	

ตารางที่ 15 Retention time และ Peak area ของฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชัน 10% ภายหลังการทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน

ตัวอย่าง	Retention time	Peak area ที่ความยาวคลื่น 210 nm	ค่าเฉลี่ย Peak area
1	10.373	9166	9333.33
	10.340	10064	
	10.315	8770	
2	10.289	8502	16735.67
	10.276	24907	
	10.261	16798	
3	10.247	8770	8688.33
	10.231	8877	
	10.219	8418	

- คำนวณหาปริมาณ β -caryophyllene ของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งปริมาณ 10% ตัวอย่างที่ 1

ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 41911

จากสมการ $y = 27194x - 884160$

ถ้า $y = 41911$ ดังนั้น $x = 34.05 \mu\text{g/mL}$

จาก Stock solution :

สารละลาย 2.5 mL มี β -caryophyllene $34.05 \mu\text{g/mL}$

สารละลาย 10 mL มี β -caryophyllene $136.22 \mu\text{g/mL}$

ดังนั้น แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg มี β -caryophyllene $136.22 \mu\text{g/mL}$

จาก Drug loading (%) = $\frac{\text{ปริมาณสารสำคัญ}}{\text{น้ำหนักฟิล์ม}} \times 100$

น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในองค์ประกอบแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg คือ 1 mg ดังนั้น Drug loading (%) = 0.14

- คำนวณหาปริมาณ β -caryophyllene ของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งปริมาณ 10% ตัวอย่างที่ 2

ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 9677

จากสมการ $y = 27194x - 884160$

ถ้า $y = 9677$ ดังนั้น $x = 32.85 \mu\text{g/mL}$

จาก Stock solution :

สารละลาย 2.5 mL มี β -caryophyllene $32.85 \mu\text{g/mL}$

สารละลาย 10 mL มี β -caryophyllene $131.48 \mu\text{g/mL}$

ดังนั้น แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg มี β -caryophyllene $131.48 \mu\text{g/mL}$

จาก Drug loading (%) = $\frac{\text{ปริมาณสารสำคัญ}}{\text{น้ำหนักฟิล์ม}} \times 100$

น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในองค์ประกอบแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg คือ 1 mg ดังนั้น Drug loading (%) = 0.13

- คำนวณหาปริมาณ β -caryophyllene ของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งปริมาณ 10% ตัวอย่างที่ 3

ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 17300.33

จากสมการ $y = 27194x - 884160$

ถ้า $y = 17300.33$ ดังนั้น $x = 33.15 \mu\text{g/mL}$

จาก Stock solution :

สารละลาย 2.5 mL มี β -caryophyllene $33.15 \mu\text{g/mL}$

สารละลาย 10 mL มี β -caryophyllene $132.60 \mu\text{g/mL}$

ดังนั้น แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg มี β -caryophyllene $132.60 \mu\text{g/mL}$

$$\text{จาก Drug loading (\%)} = \frac{\text{ปริมาณสารสำคัญ}}{\text{น้ำหนักฟิล์ม}} \times 100$$

น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในองค์ประกอบแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg คือ 1 mg ดังนั้น Drug loading (%) = 0.13

- คำนวณหาปริมาณ β -caryophyllene ของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งปริมาณ 10% ภายหลังการทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ตัวอย่างที่ 1

ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 9333.33

$$\text{จากสมการ } y = 27194x - 884160$$

$$\text{ถ้า } y = 9333.33 \text{ ดังนั้น } x = 32.86 \mu\text{g/mL}$$

จาก Stock solution :

สารละลาย 2.5 mL มี β -caryophyllene 32.86 $\mu\text{g/mL}$

สารละลาย 10 mL มี β -caryophyllene 131.43 $\mu\text{g/mL}$

ดังนั้น แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg มี β -caryophyllene 131.43 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{จาก Drug loading (\%)} = \frac{\text{ปริมาณสารสำคัญ}}{\text{น้ำหนักฟิล์ม}} \times 100$$

น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในองค์ประกอบแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg คือ 1 mg ดังนั้น Drug loading (%) = 0.13

- คำนวณหาปริมาณ β -caryophyllene ของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งปริมาณ 10% ภายหลังการทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ตัวอย่างที่ 2

ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 16735.67

$$\text{จากสมการ } y = 27194x - 884160$$

$$\text{ถ้า } y = 16735.67 \text{ ดังนั้น } x = 33.13 \mu\text{g/mL}$$

จาก Stock solution :

สารละลาย 2.5 mL มี β -caryophyllene 33.13 $\mu\text{g/mL}$

สารละลาย 10 mL มี β -caryophyllene 132.51 $\mu\text{g/mL}$

ดังนั้น แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg มี β -caryophyllene 132.51

$\mu\text{g/mL}$

$$\text{จาก Drug loading (\%)} = \frac{\text{ปริมาณสารสำคัญ}}{\text{น้ำหนักฟิล์ม}} \times 100$$

น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในองค์ประกอบแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg คือ 1 mg ดังนั้น Drug loading (%) = 0.13

- คำนวณหาปริมาณ β -caryophyllene ของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งปริมาณ 10% ภายหลังการทดสอบที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 เดือน ตัวอย่างที่ 3

ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 8688.33

$$\text{จากสมการ } y = 27194x - 884160$$

$$\text{ถ้า } y = 8688.33 \text{ ดังนั้น } x = 32.83 \mu\text{g/mL}$$

จาก Stock solution :

สารละลาย 2.5 mL มี β -caryophyllene 32.83 $\mu\text{g/mL}$

สารละลาย 10 mL มี β -caryophyllene 131.33 $\mu\text{g/mL}$

ดังนั้น แผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg มี β -caryophyllene 131.33

$\mu\text{g/mL}$

$$\text{จาก Drug loading (\%)} = \frac{\text{ปริมาณสารสำคัญ}}{\text{น้ำหนักฟิล์ม}} \times 100$$

น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในองค์ประกอบแผ่นฟิล์มละลายในช่องปาก 100 mg คือ 1 mg ดังนั้น Drug loading (%) = 0.13

รายงานสรุปการเงิน

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้ป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปาก

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ภาณุ.ผศ.ดร.สุกรรณิการ์ ทับทิมศรี

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2565 ถึงวันที่ 17 มีนาคม พ.ศ. 2566

ระยะเวลาดำเนินการ 8 เดือน 17 วัน ตั้งแต่วันที่ ตั้งแต่วันที่ 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2565

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 15,000 บาท เมื่อวันที่ 18 มกราคม พ.ศ. 2566

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/ เกิน
1. ค่า β - caryophyllene	12,000	12,000	0
2. ค่าน้ำมันฝรั่ง	400	400	0
3. ค่าส่งกล้อง SEM	800	800	0
4. ค่าโปสเตอร์	600	600	0
5. ค่ารายงาน	1,200	1,200	0
รวม	15,000	15,000	0

(.....สุกรรณิการ์.....)

ภาณุ.ผศ.ดร.สุกรรณิการ์ ทับทิมศรี

อาจารย์ที่ปรึกษา



แบบฟอร์มอนุญาตให้เผยแพร่โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์
 ในฐานข้อมูลเว็บ OPAC ของมหาวิทยาลัย

1.ชื่อ-นามสกุล ญ.ศ.ดร.สุกรรณิการ์ ทับทิมศรี

ตำแหน่ง อาจารย์ที่ปรึกษารายวิชาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากบรรจุนาโนอิมัลชันของน้ำมันใบฝรั่งเพื่อใช้
 ป้องกันและรักษามะเร็งในช่องปาก....(Development....of....oral....dissolving....film....loaded
 nanoemulsion of guava Leaf essential oil for oral cancer protection and treatment)

☒ ๑. อนุญาตให้เผยแพร่โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

☐ ๒. อนุญาตให้เผยแพร่เฉพาะบทคัดย่อ

☐ ๓. ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ผลงานวิจัย เนื่องจาก

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ลงชื่อ..... **สุกรรณิการ์**

(.....ญ.ศ.ดร.สุกรรณิการ์ ทับทิมศรี.....)

อาจารย์ที่ปรึกษารายวิชาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

วันที่ 24 มีนาคม พ.ศ.2566