52354801: MAJOR: PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY
KEY WORDS: CHITOSAN / ALUMINUM MONOSTEARATE / WOUND DRESSING / ASIATICOSIDE
KOTCHAMON YODKHUM : CHITOSAN-ALUMINUM MONOSTEARATE COMPOSITE SPONGES CONTAINING ASIATICOSIDE FOR PROMOTING ANGIOGENESIS IN CHRONIC WOUND. THESIS ADVISOR: ASSOC.PROF. THAWATCHAI PHAECHAMUD, Ph.D. 141 pp.

The main factors that delay wound healing of chronic wounds are low level of growth factors and high level of exudate containing high amount of tissue destructive enzymes. This study aimed to develop exudate absorbent-medical dressing that could solve these problems. Composite sponge of chitosan and aluminum monostearate (Alst) containing asiaticoside (wound healing agent) was developed. Alst was proved to be able to dissociate in acidic aqueous medium therefore had possibility to form ionic complex with chitosan. Chitosan-Alst composite dispersions were prepared in 2% w/v lactic acid solution and evaluated an effect of chitosan to Alst ratio and mixing time on the properties of the dispersions namely pH value, viscosity and rheology, morphology and particle size of the dispersant. The pH value and viscosity of the dispersion increased by chitosan amount. Particle size of the dispersant of the system containing higher chitosan ratio was larger than that containing lower chitosan ratio, and the size increased by mixing time. Chitosan-lactate (CL) and chitosan-Alst sponges (CLA) were fabricated using lyophilization technique. The sponges were further stabilized by dehydrothermal treatment (DHT). The functional group alteration (amidation) caused by DHT was confirmed by FT-IR. Hydrophobicity/hydrophilicity of the sponges was evaluated by contact angle measurement. Swelling behavior was studied in three buffers; pH 4, 7.4 and 10. Water sorption, erosion and asiaticoside release were evaluated in PBS pH 7.4. Alst enhanced hydrophobicity of the prepared sponges. Swelling behavior of the sponges was pH-dependent. Alst delayed swelling and decreased water sorption and erosion of the sponges which eventually sustained the drug release for 2 days. The release mechanism was analyzed as first-order kinetic. The sponges were further constructed as wound dressing. N-methyl-2-pyrrolidine (NMP) was added into the system in order to improve homogeneity of the drug and the polymer matrix. Wound dressing properties such as porosity, fluid handling ability, oxygen permeability, bio-adhesion, and asiaticoside release were evaluated. Porosity of the prepared dressings was higher than 85% v/v. Fluid absorbency and water vapor transmission rate (WVTR) of the dressings decreased when the Alst amount increased. Oxygen permeability of all the prepared dressings was apparently high. Alst reduced bio-adhesive property of the dressings. NMP increased homogeneity of asiaticoside in the matrix which induced the retardation of the substance release for 7 days. Cytotoxicity to normal human dermal fibroblast (NHDF) and normal human keratinocyte (NHEK) was investigated using MTT assay. Lactic acid and NMP exhibited dose-dependent toxicity to the both cell types. CL exhibited stimulating effect on NHDF and NHEK proliferation. Asiaticoside also promoted NHDF proliferation but with lesser effect than CL. Dressing extractions were non-toxic to both cell types. Moreover, they exhibited a stimulating effect on the cells proliferation especially for NHDF. Angiogenic activity of asiaticoside was evaluated using chick chorio-allantoic membrane (CAM) assay. The results indicated dose-dependent angiogenic activity of asiaticoside raw material. The asiaticoside-contained dressings seemed exhibit angiogenic activity. However, this might be a false positive effect due to high fluid absorption of the materials. Therefore, other evaluation methods should be performed to further confirm their angiogenic activities.

Program of Pharmaceutical Technology Graduate School, Silpakorn University
Student's signature ..... Academic Year 2013
Thesis Advisor's signature .....

52354801 : สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม
คำสำคัญ : ไคโตซาน / อะลูมินัมโมโนสเตียเรท / วัสดุตกแต่งบาดแผล / อะเซียติโคไซด์

กชมน ยอดขำ : โครงสร้างความพรุนสูงร่วมของไคโตซานและอะลูมินัมโมโนสเตียเรตบรรจุอะเซียติโคไซด์สำหรับกระตุ้นการสร้างเส้นเลือดฝอยในแผลเรื้อรัง. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ภก.รศ.ดร.ธวัชชัย แพชมัด. 141 หน้า.

ปัจจัยหลักที่มีผลชะลอการหายของแผลเรื้อรังคือ ปริมาณของสารเร่งการเจริญเติบโตที่ลดลง และมีของเหลวในแผลปริมาณมาก ซึ่งของเหลวนี้ประกอบด้วยเอนไซม์ทำลายเนื้อเยื่อในปริมาณที่สูง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวัสดุตกแต่งบาดแผลที่สามารถดูดซับของเหลวในแผล และบรรจุสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นการฟื้นฟูเนื้อเยื่อบาดแผล ด้วยระบบโครงสร้างความพรุนสูงร่วมของไคโตซานและอะลูมินัมโมโนสเตียเรท (Alst) บรรจุอะเซียติโคไซด์ Alst สามารถแตกตัวได้ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ทำให้มีโอกาสในการก่ออนุภาคสารประกอบไอออนิกเชิงซ้อนกับไคโตซานได้ ระบบของเหลวผสมของไคโตซานและ Alst ถูกเตรียมขึ้นโดยใช้สารละลายกรดแลคติก (2% w/v) เป็นตัวกลาง แล้วทำการประเมินผลของอัตราส่วนของไคโตซานต่อ Alst และระยะเวลาที่ใช้ในการผสม ที่มีต่อคุณสมบัติของระบบได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความหนืดและพฤติกรรมการไหล และรูปร่างและขนาดอนุภาคของอนุภาคแขวนลอยในระบบ พบว่า ค่า pH และความหนืดของระบบเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณไคโตซานเพิ่มขึ้น ขนาดอนุภาคที่แขวนลอยของระบบที่มีอัตราส่วนของไคโตซานสูงกว่าจะมีขนาดอนุภาคที่ใหญ่กว่า และขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการผสมเพิ่มขึ้น โครงสร้างความพรุนสูงไคโตซาน-แลคเตท (CL) และไคโตซาน-อะลูมินัมโมโนสเตียเรท (CLA) ถูกเตรียมขึ้นโดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และทำให้ระบบมีความคงตัวโดยใช้ความร้อนสูงภายใต้ภาวะสุญญากาศ (DHT) แล้วตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชั่นของระบบเนื่องมาจาก DHT (การเกิดพันธะเอไมด์) โดยใช้ เอฟที-ไออาร์ วิเคราะห์ความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำของระบบโดยวัดการเปลี่ยนแปลงของมุมสัมผัส ศึกษาพฤติกรรมการพองตัวของโครงสร้างในระบบบัฟเฟอร์ตัวกลาง 3 ชนิดที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็น 4, 7.4 และ 10 ศึกษาค่าการดูดซับน้ำ การกร่อน และการปลดปล่อยอะเซียติโคไซด์ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) พบว่า Alst เพิ่มความไม่ชอบน้ำของระบบ พฤติกรรมการพองตัวของโครงสร้างขึ้นอยู่กับ pH ของตัวกลาง Alst ทำให้การพองตัวของระบบช้าลงและมีค่าการดูดซับน้ำและการกร่อนตัวลดลง นำมาซึ่งการชะลอการปลดปล่อยอะเซียติโคไซด์ได้เป็นเวลา 2 วัน โดยกลไกการปลดปล่อยยาเป็นไปตามจลศาสตร์อันดับหนึ่ง จากนั้นนำระบบมาขึ้นรูปเป็นแผ่นวัสดุสำหรับใช้ตกแต่งแผล โดยเติม เอ็น-เมทิล-2-ไพโรลิโดน (NMP) ลงในโครงสร้างเพื่อเพิ่มความเป็นเนื้อเดียวกันของอะเซียติโคไซด์กับพอลิเมอร์ ทำการประเมินคุณสมบัติของแผ่นวัสดุปิดแผลได้แก่ ความพรุนของโครงสร้าง คุณสมบัติการจัดการกับของเหลว ค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน คุณสมบัติการยึดเกาะกับเนื้อเยื่อ และการปลดปล่อยอะเซียติโคไซด์ พบว่าโครงสร้างของทุกระบบที่ทำการศึกษามีความพรุนสูงกว่า 85% ความสามารถในการดูดซับของเหลวและค่าการซึมผ่านของไอน้ำมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณของ Alst ทุกระบบมีค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนที่สูงอย่างชัดเจน Alst ส่งผลให้การยึดเกาะเนื้อเยื่อของวัสดุลดลง NMP ช่วยเพิ่มความเป็นเนื้อเดียวกันของอะเซียติโคไซด์กับพอลิเมอร์ ส่งผลให้ช่วยการชะลอการปลดปล่อยยาได้ยาวนานถึง 7 วัน การทดสอบค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังสองชนิดคือไฟโบรบลาสต์ (NHDF) และคีราติโนไซต์ (NHEK) ใช้การทดสอบด้วยวิธี MTT ผลการทดสอบพบว่าความเป็นพิษต่อเซลล์ของกรดแลกติกและ NMP ที่มีต่อเซลล์ทั้งสองชนิดเป็นแบบแปรผันตรงกับความเข้มข้น CL สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ทั้งสองชนิด อะเซียติโคไซด์ก็มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ NHDF ได้เช่นกัน แต่ให้ผลชัดเจนน้อยกว่า CL สารสกัดที่ได้จากแผ่นวัสดุปิดแผลที่พัฒนาขึ้นไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทั้งสองชนิด และสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้ โดยเฉพาะ NHDF และทำการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการสร้างหลอดเลือดของอะเซียติโคไซด์ โดยใช้โมเดลเนื้อเยื่อ chorio-allantoic ของไข่ไก่ฟัก (CAM assay) ผลการทดสอบพบว่าฤทธิ์กระตุ้นการสร้างหลอดเลือดของอะเซียติโคไซด์แปรผันตรงกับปริมาณของสาร และพบว่าวัสดุปิดแผลที่บรรจุอะเซียติโคไซด์ก็แสดงฤทธิ์กระตุ้นการสร้างหลอดเลือดเช่นกัน แต่ทั้งนี้อาจเป็นผลบวกลวงเนื่องมาจากคุณสมบัติการดูดซับของเหลวที่สูงของวัสดุ ดังนั้นจึงควรการทดสอบด้วยวิธีอื่นๆ เพื่อยืนยันฤทธิ์การสร้างหลอดเลือดของระบบต่อไป

เทคโนโลยีเภสัชกรรม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา..... ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

ACKNOWLEDGEMENTS

First and foremost I offer my sincerest gratitude to my thesis advisor, Assoc. Prof. Dr. Thawatchai Phaechamud for giving me the great opportunity to be a part of graduated school students. This thesis would not have been completed or written without his supervision. I would like to thank him for his kindness support, encouragement and valuable suggestion throughout my study at Faculty of Pharmacy, Silpakorn University. He has been supported me in diverse way that considerably help me to improve my skills in doing research and also for daily living. My deepest gratitude also goes to Assist. Prof. Dr. Juree Charoenteeraboon for her kindness and helpful support. She has been given me the valuable comments to my works especially for the biological evaluation parts. My sincere gratitude also goes to Assoc. Prof. Dr. Sontaya Limmatvapirat, Assist. Prof. Dr. Wiwat Pichayakorn, and Dr. Parichat Chomto for the creative guidance encouragement and valuable comments to this work.

My grateful gratitude also goes to Prof. Dr. Yasuhiko Tabata for giving me the great opportunity in doing part of my research in his laboratory; Department of Biomaterials, Field of tissue engineering, Institute for frontier medical science, Kyoto University, Kyoto, Japan. I would like to thank him for his kindness and precious support, valuable comments and sharing the great attitude in my research work and also in my living in Japan. I also would like to express my gratitude to Assist. Prof. Dr. Masaya Yamamoto for the documentary management, his kindness and patient in training me the cell culture and cell-based assays and also sharing me the valuable attitude to my work. Moreover, I would like to thank all the members of Prof. Tabata's lab for their warm welcoming, fellowship and precious helps during my staying in Japan.

I gratefully acknowledge the Thailand Research Funds through the Golden Jubilee Ph.D. Program (Grant No. PHD/0074/2551) and Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, for the scholarship, laboratory equipment and other facilities to conduct my research and publications.

I would like to express my love towards all of my teachers, staffs, and friends in Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, for their support, assistance, and friendship over the years. Special thanks to my lovely sisters, Miss Jongjan Mahadlek, Miss Sureewan Duangit, and Dr. Arissarakorn Sirinamarattana for helping me in everything anytime and for their generous support. Special thanks to Miss Pitikarn Karnjanapruk for her kind downloading many online papers for me. I would like to thank and express my love to all the Primpri Island members, Hist gang members, the PDGIG members and the PBIG members for their helps, precious support, encouragement, valuable friendship and memorable moments. I am very appreciated with all of you. I love you all.

Special thanks to all of my beloved family especially mom, dad and my brother for their invaluable love, encouragement, care, and always beside me, understand and support me in everything. I love you all. Finally, an apology is offered to those whom I cannot mention personally one by one here.