



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการ การพัฒนาแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปีนนาโนละลายเร็วในปากที่บรรจุสารสกัด
จากฟ้าทะลายโจร
Development of oral fast dissolving electrospun nanofiber patch
containing *Andrographis paniculata* extract

ภก.ผศ.ดร.ณัฐฉัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๙

รหัสโครงการ -
สัญญาเลขที่ ๑๗/๒๕๕๙

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการ การพัฒนาแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นนาโนละลายเร็วในปากที่บรรจุสารสกัด
จากฟ้าทะลายโจร
Development of oral fast dissolving electrospun nanofiber patch
containing *Andrographis paniculata* extract

ภก.ผศ.ดร.ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยนี้ และสนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย รวมทั้งสถานที่ทำการวิจัย ขอขอบคุณ นายภาสกร ประเสริฐรุ่งพาณิชย์ ผู้ช่วยวิจัย นางสาว อาริรัตน์ ศรีพัฒน์พร ที่ช่วยทำวิจัยในส่วนของความเป็นพิษต่อเซลล์ นายรัฐนันท์ ไทยตรง นิสิตช่วยวิจัย ขอขอบคุณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่เอื้อเพื่ออุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัยในครั้งนี้

คณะผู้ทำวิจัย

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

ข้าพเจ้า ภก.ผศ.ดร. ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์ ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัย
จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล
(งบประมาณแผ่นดิน)
มหาวิทยาลัยบูรพา โครงการวิจัยเรื่อง
(ภาษาไทย) การพัฒนาแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปินนาโนละลายเร็วในปากที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร
(ภาษาอังกฤษ) Development of oral fast dissolving electrospun nanofiber patch containing
Andrographis paniculata extract

รหัสโครงการ-..... / สัญญาเลขที่...17/2559.....ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 450,000 บาท (สี่แสนห้า
หมื่นบาทถ้วน)

ระยะเวลาการดำเนินงาน 3 ปี 4 เดือน (ระหว่างวัน เดือน ปี)

ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม 2558 ถึง 31 มกราคม 2562

บทคัดย่อภาษาไทย

ชื่อโครงการวิจัย การพัฒนาแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปินนาโนละลายเร็วในปากที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

หัวหน้าผู้วิจัย ภก.ผศ.ดร.ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี 4 เดือน

บทคัดย่อ

สารสกัดจากใบฟ้าทะลายโจรใช้เป็นสมุนไพรในสาธารณสุข สำหรับรักษาอาการต่างๆ เช่น ไข้หวัด ไอเจ็บคอ และความผิดปกติในทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามรูปแบบในท้องตลาดของสารสกัดใบฟ้าทะลายโจรมักอยู่ในรูปแบบเม็ดและแคปซูล เนื่องจากสารสกัดมีรสขม วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้เพื่อเตรียมและตรวจสอบคุณลักษณะของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปินนาโนละลายเร็วในปากที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร สารสกัดฟ้าทะลายโจรบรรจุในสารละลาย 10% w/w พอลิไวนิล แอลกอฮอล์: 10% w/w พอลิไวนิล ไพโรลิโดน (80: 20) ที่ความเข้มข้น 1% w/w 5% w/w และ 10% w/w สังเกตแผ่นเส้นใยนาโนที่ได้จากกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์สปินนิ่ง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ตรวจสอบความเป็นผลึกของเส้นใยนาโนโดย powder X-ray powder diffractometer (PXRD) ตรวจสอบเวลาการเปียกของเส้นใยนาโน ปริมาณและการปลดปล่อยสารสกัดจากเส้นใยนาโน ความเป็นพิษต่อเซลล์ของเส้นใยนาโน ประเมินกับ เซลล์ human gingival fibroblast โดยวิธี MTT ผลการวิจัยพบว่า ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปินนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 1% w/w 5% w/w และ 10% w/w อยู่ในช่วง 218 – 257 นาโนเมตร เวลาที่ใช้เปียกของเส้นใยนาโนอยู่ที่ประมาณ 11.67 วินาที สารสกัดในเส้นใยนาโนอยู่ในรูปอสัณฐาน และปลดปล่อยอย่างรวดเร็ว สารสกัดฟ้าทะลายโจรสามารถปลดปล่อยได้ ประมาณร้อยละ 80 ภายใน 15 นาที ค่าประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัดในเส้นใยนาโนอยู่ในช่วงร้อยละ 76 – 83 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปินนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรทุกความเข้มข้นไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ที่ความเข้มข้นของแผ่นเท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สรุปผลการวิจัย สามารถเตรียม แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปินนาโนบรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรได้สำเร็จ และมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้เป็นระบบนำส่งละลายเร็วในช่องปากต่อไป

กุญแจคำ อิเล็กทรอนิกส์สปินนิ่ง, ละลายเร็ว, เส้นใยนาโน, ฟ้าทะลายโจร

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Research title Development of oral fast dissolving electrospun nanofiber patch containing *Andrographis paniculata* extract

Investigator Assistant Professor Dr. Natthan Charernsriwilaiwat

Project period 3 year 4 month

Abstract

The leaves of *Andrographis paniculata* (AP) extract have been traditionally used for the treatment of diseases such as fever, common cold, cough, sore throat and gastrointestinal disorder. However, few of dosage forms such as tablets and capsule can be found in the market due to it is very bitter taste. The goal of this study was to prepare and characterize of oral fast dissolving electrospun nanofiber patch containing AP extract. The AP extract was loaded into 10% w/w polyvinyl alcohol: 10% w/w polyvinyl pyrrolidone (80: 20) solution at 1% w/w, 5% w/w and 10% w/w to a polymer. The nanofibers obtained from electrospinning process were observed under scanning electron microscope (SEM). The crystallinity of nanofibers was characterized by powder X-ray powder diffractometer (PXRD). The wetting time of nanofibers was examined. The content and release profile of AP extract from nanofibers were performed. The cytotoxicity of nanofiber was evaluated with human gingival fibroblast cells using MTT assay. The results show that the average fibers diameters of 1% w/w, 5% w/w and 10% w/w AP extract were ranged from 218 – 257 nm. The wetting time of nanofiber was approximately 11.67 s. The AP extract in nanofibers was amorphous form and rapidly released from nanofibers. The AP extract could release from nanofibers reached to approximately 80% within 15 minutes. The contents of AP extract in nanofibers were a range of 76 – 83%. The electrospun nanofiber patch containing AP extract exhibited non-toxic at 75 mg/ml of patch. In conclusion, AP extract loaded PVA nanofibers was successfully prepared via electrospinning process and may have potential application for oral fast dissolving delivery.

Keywords Electrospinning, Fast dissolving, Nanofibers, *Andrographis paniculata*

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	ii
บทคัดย่อภาษาไทย	iii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iv
สารบัญเรื่อง	v
สารบัญตาราง	vi
สารบัญภาพ	vii
สารบัญตารางภาคผนวก	ix
สารบัญภาพภาคผนวก	xi
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	xii
บทที่ 1 บทนำ	
- ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
- วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 วิธีการดำเนินการวิจัย	
- สารเคมี	3
- อุปกรณ์	4
- ระเบียบวิธีวิจัย	5
บทที่ 3 ผลการวิจัย	10
บทที่ 4 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	22
ผลผลิตที่ได้จากโครงการ	
รายงานการเงิน	
บรรณานุกรม	
ภาคผนวก	
ประวัติคณะผู้วิจัย	

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ค่าร้อยละผลผลิตและปริมาณของ andrographolide จากการสกัดฟ้า ทละลายด้วยเทคนิคและตัวทำละลายต่าง ๆ	9
ตารางที่ 2 ค่า loading efficacy (%) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่มีสารสกัดฟ้าละลายโจริที่ ความเข้มข้น 10% w/w ที่สภาวะต่างๆ	18

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 แสดงกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง (electrospinning)	6
รูปที่ 2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 5000 เท่า ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปิน PVA/PVP ที่อัตราส่วน (a) 70/30, (b) 80/20 และ (c) 100/0	10
รูปที่ 3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 5000 เท่า ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปินที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น (a) 0% w/w, (b) 1% w/w, (c) 5% w/w และ (d) 10% w/w และการกระจายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปินที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น (e) 0% w/w, (f) 1% w/w, (g) 5% w/w และ (h) 10% w/w	11
รูปที่ 4 FT-IR pattern ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 0% w/w และ 10% w/w และสารสกัดฟ้าทะลายโจร	12
รูปที่ 5 PXRD pattern ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น (a) 0% w/w, (b) 1% w/w, (c) 5% w/w, (d) 10% w/w และ (e) สารสกัดฟ้าทะลายโจร	12
รูปที่ 6 การเปียกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 0% w/w	13
รูปที่ 7 การเปียกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 1% w/w	13
รูปที่ 8 การเปียกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 5% w/w	14
รูปที่ 9 การเปียกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 10% w/w	14
รูปที่ 10 แสดงการปลดปล่อยสาร andrographolide ออกจากเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น (■) 1% w/w, (▲) 5% w/w และ (◆) 10% w/w	15
รูปที่ 11 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปินที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	16

	หน้า
รูปที่ 12 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ สปีนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	16
รูปที่ 13 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ สปีนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	17
รูปที่ 14 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ สปีนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	17
รูปที่ 15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 5000 เท่า ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ สปีนที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 0% w/w ที่เวลา 0 เดือน (a), 6 เดือนที่สภาวะปกติ (b) และ 6 เดือนที่สภาวะเร่ง (c) และความเข้มข้น 10% w/w ที่ เวลา 0 เดือน (d), 6 เดือนที่สภาวะปกติ (e) และ 6 เดือนที่สภาวะเร่ง (f)	18

สารบัญตารางภาคผนวก

	หน้า
ตารางที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w	30
ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w	31
ตารางที่ 3 เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w	32
ตารางที่ 4 เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w	33
ตารางที่ 5 ร้อยละการยับยั้งของสาร andrographolide โดยวิธี DPPH assay	33
ตารางที่ 6 ร้อยละการยับยั้งของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w โดยวิธี DPPH assay	34
ตารางที่ 7 ร้อยละการยับยั้งของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w โดยวิธี DPPH assay	34
ตารางที่ 8 ร้อยละการยับยั้งของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w โดยวิธี DPPH assay	34
ตารางที่ 9 ร้อยละการยับยั้งของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w โดยวิธี DPPH assay	35
ตารางที่ 10 การปลดปล่อยสารสำคัญ andrographolide จากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w	35
ตารางที่ 11 การปลดปล่อยสารสำคัญ andrographolide จากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w	36
ตารางที่ 12 การปลดปล่อยสารสำคัญ andrographolide จากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w	36
ตารางที่ 13 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	41
ตารางที่ 14 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	41

	หน้า
ตารางที่ 15 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ โตรสปันที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็น เวลา 24 ชั่วโมง	41
ตารางที่ 16 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ โตรสปันที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็น เวลา 24 ชั่วโมง	42

สารบัญภาพภาคผนวก

	หน้า
รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของสารสกัดใบฟ้าทะลายโจร	29
รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานสาร andrographolide	29
รูปที่ 3 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w บน saliva plate ที่เวลาต่างๆ	37
รูปที่ 4 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w บน saliva plate ที่เวลาต่างๆ	38
รูปที่ 5 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w บน saliva plate ที่เวลาต่างๆ	39
รูปที่ 6 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w บน saliva plate ที่เวลาต่างๆ	40

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

% w/v	Percent weight by volume
% w/w	Percent weight by weight
°C	Degree Celsius
µg	Microgram
µL	Microliter
µm	Micrometer
µM	Micromolar
CFU	<i>Colony-forming unit</i>
cm	Centimeter
DPPH	2,2-di(4- <i>tert</i> -octylphenyl)-1-picrylhydrazyl
DMEM	Dulbecco's modified eagle medium
DMSO	Dimethyl sulfoxide
et al.	and others
EtOH	Ethanol
FBS	Fetal bovine serum
g	Gram
h	Hour(s)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IC ₅₀	The half maximal inhibitory concentration
J	Joule
kDa	Kilodalton
kV	Kilovolt
M	Molar
MBC	Minimum bactericidal concentration
mg	Milligram
MIC	Minimum inhibitory concentration
min	Minute
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mL	Milliliter

mPa	Megapascal
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide
MW	Molecular weight
ng	Nanogram
nm	Nanometer
OD	Optical density
PBS	Phosphate buffer solution
pH	Potentia hydrogenii (lat.)
pKa	$-\log_{10}K_a$
PMS	Phenazonium methyl sulfate
ppm	Parts per million
rpm	Round per minute
s	second
SD	Standard deviation
SEM	Scanning electron microscope
UV	Ultraviolet

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อุตสาหกรรมด้านสุขภาพและการแพทย์ นับได้ว่ามีส่วนสำคัญต่อการพัฒนาประเทศเป็นอย่างมาก โดยส่วนใหญ่แล้วยังต้องมีการนำผลิตภัณฑ์ต่างๆ เข้ามาจากต่างประเทศและราคาสูงมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากค่าใช้จ่ายในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ด้านการแพทย์ขึ้นมาสักอย่างนั้น ต้องอาศัยการดำเนินการวิจัยที่ต่อเนื่อง ด้วยเงินลงทุนจำนวนมาก ซึ่งยังเป็นไปได้ยากสำหรับวงการวิจัยในประเทศไทย ปัจจุบันด้วยนโยบายการพัฒนาและปฏิรูประบบการบริหารการวิจัยที่เอาจริงเอาจังและต่อเนื่อง มีการสนับสนุนการทำวิจัยในประเทศอย่างจริงจัง จึงทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะดำเนินการวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ด้านสุขภาพและการแพทย์ขึ้นมาเพื่อทดแทนการนำเข้า ปัจจุบันตลาดยาและเครื่องสำอางมีการเจริญเติบโตอย่างมาก และนับได้ว่าเป็นหนึ่งในสินค้าที่มีศักยภาพในการเป็นรายได้สำคัญของประเทศ นานาเทคโนโลยีซึ่งได้รับความสนใจและมีการตื่นตัวเป็นอันมากในเรื่องนี้ในปัจจุบัน จะเป็นปัจจัยกระตุ้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงและมีระบบการทดสอบที่ได้มาตรฐาน ซึ่งจะนำไปสู่การได้รับความนิยมนับและเชื่อถือจากประชาชน สามารถใช้สินค้าที่ผลิตได้ในประเทศ การพัฒนายาจากวัตถุดิบที่มีอยู่ภายในประเทศนั้น นอกจากจะช่วยลดการนำเข้าสินค้าจากต่างประเทศปัจจุบันด้วย จึงทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะดำเนินการวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ด้านสุขภาพและการแพทย์ขึ้นมาเพื่อทดแทนการนำเข้า

ปัจจุบันการศึกษาค้นคว้าและวิจัยเพื่อพัฒนาสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรเพื่อใช้เป็นยาและเครื่องสำอางได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง ด้วยความคาดหวังที่จะนำมาใช้แทนสารสังเคราะห์เนื่องจากความปลอดภัยกับร่างกายที่มีมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์ดังกล่าว ส่งผลให้กระแสความนิยมผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมีเพิ่มสูงขึ้น มูลค่าของสมุนไพรและยาในอุตสาหกรรมต่างๆ เพิ่มขึ้น เมื่อมีการนำนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้กับการเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ของสารสกัดจากธรรมชาติ ด้วยการพัฒนาในรูปแบบผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอาง จะทำให้ประสิทธิภาพในการนำส่งสารออกฤทธิ์สูงขึ้น เนื่องจากมีความสามารถที่จะทำการขึ้นรูปเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในระดับนาโนเมตรได้ ซึ่งเส้นใยนาโนนี้ จะมีพื้นที่ผิวสัมผัสมาก ซึ่งอาจช่วยให้การแพร่ผ่านของสารออกฤทธิ์เกิดขึ้นได้ง่ายขึ้น และสามารถส่งผ่านสารออกฤทธิ์ได้ในปริมาณที่มากขึ้นด้วย นอกจากนี้การเตรียมในรูปแบบเส้นใยยังช่วยให้สารออกฤทธิ์มีความคงตัวอยู่ได้นานขึ้น สามารถเก็บกักปริมาณสารออกฤทธิ์ ควบคุมการปลดปล่อยและการออกฤทธิ์ของสารสำคัญได้ตามต้องการ ทั้งยังอาจช่วยลดผลข้างเคียงของสารออกฤทธิ์ได้ นอกจากนี้การนำสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีสารออกฤทธิ์ที่ดี มาผสมกับเส้นใยพอลิเมอร์เพื่อให้เป็นวัสดุควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดเหล่านี้ ยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยเหล่านี้

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ทำให้คณะผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะนำสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร *Andrographis paniculata* ซึ่งสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ดี เช่นฤทธิ์

ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ และ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ เป็นต้น มาใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เพื่อใช้เป็นแผ่นแปะละลายเร็วในช่องปาก (oral fast dissolving patch) ที่สามารถปลดปล่อยสารสำคัญ andrographolide ได้ในปริมาณมากและรวดเร็ว โดยคาดหวังให้สารสำคัญไปออกฤทธิ์ในลำคอเพื่อลดการอักเสบ การศึกษาวิจัยครั้งนี้เลือกใช้พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ ละลายได้เร็วในช่องปาก จากนั้นทำการเตรียมและขึ้นรูปเส้นใยนาโน และศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของแผ่นที่ได้ คือ รูปร่างและขนาดของเส้นใยที่เตรียมได้ ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเตรียมและการบรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร การปลดปล่อยสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร ความเป็นพิษต่อเซลล์ ตลอดจนปริมาณสารสำคัญทั้งก่อนและหลังเตรียมเส้นใยนาโน

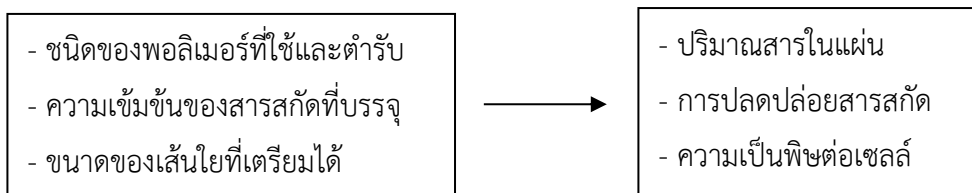
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาระบบเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร ใช้เป็นแผ่นแปะละลายเร็วในช่องปาก
2. ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี และความเป็นพิษของระบบระบบเส้นใยนาโนที่เตรียมได้
3. ศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ จากระบบเส้นใยนาโนที่เตรียมได้

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

พัฒนาผลิตภัณฑ์เส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจร เพื่อใช้เป็นแผ่นแปะละลายเร็วในช่องปากที่มีการปลดปล่อยสารสำคัญได้ในปริมาณมากและรวดเร็ว เส้นใยที่เตรียมได้ มีการตรวจสอบ สันฐานวิทยาของเส้นใยที่ได้ คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของเส้นใยที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจร ความสามารถในการบรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจร การปลดปล่อยสารสกัดฟ้าทะลายโจร จากแผ่นเส้นใยนาโนที่เตรียมได้ ความเป็นพิษต่อเซลล์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความคงตัวของแผ่นที่เตรียมได้ที่เวลาต่างๆ

1.4 ทฤษฎี สมมติฐานและ / หรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย



1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำเสนอรายงานวิจัยในงานประชุมวิชาการระดับหรือนานาชาติอย่างน้อย 1 ครั้ง
2. ตีพิมพ์ผลงานใน proceeding งานประชุมวิชาการหรือนวารสารวิชาการระดับชาติหรือนานาชาติ

บทที่ 2

วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมี

- 2.1.1 ผงใบฟ้าทะลายโจร (Local market at Nakhon Pathom province, Thailand.)
- 2.1.2 Ethanol AR grade (Labscan co.ltd.)
- 2.1.3 Polyvinyl alcohol (Fluka, Switzerland)
- 2.1.4 Polyvinyl pyrrolidone (Sigma, USA)
- 2.1.5 Methanol HPLC grade and AR grade (Labscan co.ltd.)
- 2.1.6 Orthophosphoric acid (Labscan co.ltd.)
- 2.1.7 Dulbecco's modified eagle medium (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.8 Fetal bovine serum (FBS) (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.9 L-Glutamine-200 mM (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.10 Penicillin G sodium for injection (sterile) (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.11 Sodium Pyruvate 100 mM (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.12 Sterile water for irrigation (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.13 Streptomycin sulfate (sterile) (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.14 Trypan blue stain 0.4% w/v (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.15 Trypsin-EDTA (0.25%) solution (GIBCO™, Grand Island, NY, USA)
- 2.1.16 Tryptone soy broth (TSB) (Lab M Limited, Bury, Lancashire, UK)
- 2.1.17 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA)
- 2.1.18 Potassium phosphate (Ajax Finechem Australia, New Zealand)
- 2.1.19 Sodium bicarbonate (BDH AnalaR®, VWR International Ltd. England)
- 2.1.20 Sodium chloride (Ajax Finechem Australia, New Zealand)
- 2.1.21 Sodium hydroxide pellet (Ajax chemicals, New South Wales, Australia)
- 2.1.22 Sodium phosphate (Ajax Finechem Australia, New Zealand)

2.2 วัสดุอุปกรณ์

- 2.2.1 Beaker ขนาด 20 , 50 , 100 , 250 , 400 และ 1,000 มิลลิลิตร (SCHOTT®, Germany)
- 2.2.2 Centrifuge (LEGEND X1R, Thermo Fisher Scientific®, USA)
- 2.2.3 Cylinder ขนาด 10, 25, 50, 100 และ 1000 มิลลิลิตร Micropipettes ขนาด 20-5000 µL (BIOHIT® Proline 100-1000 µL, RAININ® Pipet-Lite XLS)
- 2.2.4 Dropper

- 2.2.5 Electrical balance (New classic MF, MS204, METTLER TOLEDO®, Switzerland)
- 2.2.6 Evaporator (Buchi®, Thailand)
- 2.2.7 Funnel
- 2.2.8 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) instrument (Agilent Technologies, USA)
- 2.2.9 HPLC vial (Duran SCHOTT®, Germany)
- 2.2.10 High voltage power supply (Gamma high voltage research, USA)
- 2.2.11 Hot plate (IKA®C-MAG HS 7, Becthai Bangkok Equipment & Chemical Co., Ltd., Thailand)
- 2.2.12 Magnetic stirrer and stirrer bar (IKA®RO10, Becthai Bangkok Equipment & Chemical Co., Ltd., Thailand)
- 2.2.13 Microplate reader (Accu Reader® Metertech Inc, Taiwan)
- 2.2.14 Scanning electron microscopy (SEM LEO 1450VP, EDAX®, USA)
- 2.2.15 Sonicator (Ultrasonic cleaner set, WiseClean®, Korea)
- 2.2.16 Stirring rod
- 2.2.18 Test tube
- 2.2.19 Volumetric flask ขนาด 10, 25, 50, 100 และ 1,000 มิลลิลิตร (SCHOTT®, Germany)

2.3 การเตรียมสารสกัดจากผงใบฟ้าทะลายโจร

2.3.1 การสกัดใบฟ้าทะลายโจร

การสกัดใบฟ้าทะลายโจรทำด้วยวิธี sonication และ reflux โดยใช้ตัวทำละลายเป็น ethanol : water 50 : 50 และสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียววิธี sonication จะนำผงใบฟ้าทะลายโจรใส่ในตัวทำละลาย ในอัตราส่วน 1:10 แล้ว sonicate เป็นเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ส่วนการสกัดด้วยวิธี reflux จะนำผงใบฟ้าทะลายโจรใส่ในตัวทำละลาย ในอัตราส่วน 1:10 แล้ว reflux เป็นเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส หลังจากสกัดด้วยวิธีทั้งสองนำไปกรองแล้วนำส่วนใส มาระเหยแห้งใน evaporator ภายใต้สภาวะสุญญากาศ (1)

2.3.2 การหาปริมาณสาร andrographolide ในสารสกัดใบฟ้าทะลายโจร

การหาปริมาณสาร andrographolide ในสารสกัดใบฟ้าทะลายโจร ทำด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) ใช้คอลัมน์ C18 column (VertiSep™ UPS C18 column 4.6 × 250 mm, 5 μm, Ligand Scientific, Bangkok, Thailand) mobile phase คือ สารละลายผสมของ methanol และ DI water ที่ปรับ pH เท่ากับ 2.8 ด้วย phosphoric acid ที่อัตราส่วน 6 : 4 ปริมาตรฉีดเท่ากับ 20 ไมโครลิตร อัตราการไหลของ mobile phase ในคอลัมน์ เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ detector เป็น UV spectrometer ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 225 นาโนเมตร (2)

2.3.3 ประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากชั้นชั้นโรงที่ได้ ด้วย DPPH assay

เตรียม DPPH (MW 394.32) ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ โดยชั่งผง DPPH 7.89 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เตรียมสารตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เอทานอล เป็นตัวทำละลาย เช่น 1, 5, 10, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไป incubate อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณหาค่า %Inhibition ตามสมการที่ 1

$$\%Inhibition = \frac{(A3)_{avg} - [(A1)_{avg} - (A2)_{avg}]}{(A3)_{avg}} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

โดยที่ A1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง
A2 = ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank
A3 = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

นำ %Inhibition และความเข้มข้นที่ทดสอบไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า IC₅₀

หมายเหตุ : ความเข้มข้นสุดท้ายที่นำไปสร้างกราฟ IC₅₀ จะเป็นครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นเริ่มต้น

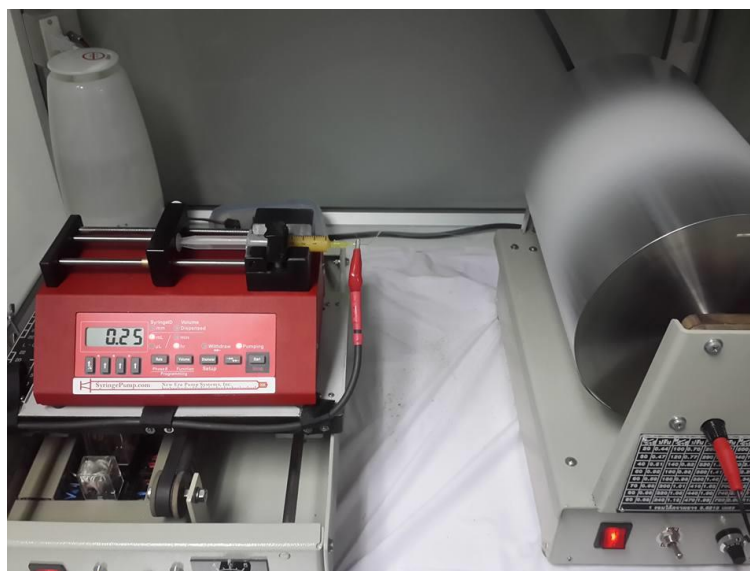
2.4 การเตรียมแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

เตรียมสารละลาย 10% w/w พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และสารละลาย 10% w/w พอลิไวนิลไพโรลิโดน (PVP) นำมาผสมที่อัตราส่วนต่างๆ (PVA/PVP) ได้แก่ 100/0, 80/20, และ 70/30 สารละลายที่ได้ถูกนำไปบรรจุในหลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 5 มิลลิลิตร ที่ต่อเข้ากับเข็มโลหะขนาด 21G นำไปวางบน syringe pump และต่อปลายเข็มโลหะ เข้ากับ high-voltage DC power supply (Gamma High Voltage Research) ให้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 15 กิโลโวลต์ สารละลายถูก pump ด้วยอัตรา 0.25 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ระยะห่างระหว่าง ปลายเข็มถึงส่วนรองรับเส้นใยที่ 15 เซนติเมตร ระยะเวลาในการเตรียมแต่ละครั้งอยู่ที่ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้เส้นใยที่มีความหนาประมาณ 110 – 130 ไมโครเมตร รูปเครื่องมือในการทำเส้นใยนาโนแสดงดังรูปที่ 1 เมื่อได้อัตราส่วนของ PVA/PVP ที่มีความเหมาะสมแล้ว จึงละลายสารสกัดใบฟ้าทะลายโจรลงไปในการเตรียมแผ่นเส้นใยที่ความเข้มข้น 1%, 5%, 10%w/w ปั่นให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

2.5 การตรวจสอบคุณลักษณะของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

2.5.1 การตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเส้นใย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope, SEM)

ตัดแผ่นเส้นใยให้มีขนาด 0.5 X 0.5 cm นำไปติดบน Stub ด้วย carbon tape จากนั้นนำไปเคลือบทอง ด้วยเครื่อง Gold Sputter จากนั้นนำไปส่งภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ถ่ายจำนวน 3 ภาพต่อตัวอย่างด้วยกำลังขยายเท่ากัน เมื่อได้รูปภาพแล้วนำมาวิเคราะห์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยด้วย โปรแกรม Jmicrovision วัดเส้นผ่านศูนย์กลางตัวอย่างละ 100 เส้น นำมาหาค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน สร้างกราฟการกระจายขนาดของเส้นใย (3)



รูปที่ 1 แสดงกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง (electrospinning)

2.5.2 การตรวจสอบคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของแผ่นเส้นใย

การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย ดังนี้

- 1) การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของแผ่นเส้นใยโดยใช้เทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) ใช้เครื่อง FT-IR สแกนความยาวคลื่น 400 – 4,000 cm^{-1}
- 2) การตรวจสอบความเป็นผลึกของเส้นใยด้วยเทคนิค powder x-ray diffractometer (PXRD, Miniflex II, Rigaku, Japan) ใช้ Nickel-filtered Cu radiation generated in a sealed tube operated at 30 kv and 15 mA บันทึก diffraction pattern ที่ the θ range of 5 – 45° อัตราการสแกน เท่ากับ 4 min^{-1}

2.6 การประเมินเวลาในการเปียกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

เวลาในการเปียกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร ทำโดยวางกระดาษกรองบน petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร ทำให้เปียกด้วย น้ำลายเทียม (เตรียมจาก 2.38 กรัม Na_2HPO_4 , 0.19 กรัม KH_2PO_4 , และ 8 กรัม NaCl ต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับ ค่าความเป็นกรดต่างด้วย กรด phosphoric จนได้ pH เท่ากับ $6.8 \pm 0.05(1)$) โดยน้ำลายเทียมส่วนเกินจะดูดออก การเตรียมแผ่นเส้น

ใยสำหรับการประเมินเวลาในการเป็ยก ตัดแผ่นเส้นใยให้มีขนาด 2 x 2 เซนติเมตร แผ่นเส้นใยมีความหนาประมาณ 110 – 130 ไมโครเมตร วางแผ่นเส้นใยบน petri dish ที่เตรียมไว้ บันทึกภาพทุกๆ 1 วินาทีจนแผ่นเส้นใยเป็ยกทั้งแผ่น

2.7 การหาปริมาณสาร andrographolide ในแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

การหาปริมาณสาร andrographolide ในแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร (% loading efficacy) ทำโดยละลายแผ่นเส้นใย 5 มิลลิกรัม ในสารละลาย น้ำลายเทียม:เอทานอล (50:50) 5 มิลลิลิตร ปั่นด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่าน membrane ขนาด 0.45 ไมครอน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ andrographolide ด้วยเครื่อง HPLC สภาวะตามข้อ 2.3.2 จากนั้นนำมาคำนวณหาค่า %loading efficacy ตามสมการที่ 2

$$\% \text{ loading efficacy} = \frac{\text{น้ำหนักสารที่คำนวณได้}}{\text{น้ำหนักสารที่บรรจุลงไป}} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

2.8 การศึกษาการปลดปล่อยสาร andrographolide จากแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

การศึกษาการปลดปล่อยสาร andrographolide จากแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร ทำให้น้ำลายเทียม ชั่งแผ่นเส้นใยให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงในน้ำลายเทียมที่ 37 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เมื่อถึงเวลาที่กำหนด สุ่มตัวอย่าง ออกมาวิเคราะห์หาปริมาณ andrographolide ด้วยเครื่อง HPLC ตามสภาวะในข้อ 2.3.2

2.9 การศึกษาความเป็นพิษของเซลล์ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

ความเป็นพิษต่อเซลล์ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร ต่อ human gingival fibroblast เซลล์ ประเมินโดยใช้ MTT assay ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน (ISO 10993-5 indirect contact) นำแผ่นเส้นใยนาโนไปผ่านแสงอัลตราไวโอเลต เพื่อฆ่าเชื้อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นละลายแผ่นเส้นใยนาโน ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ปราศจากซีรัม (SFM) ที่ประกอบด้วย Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 1% l-glutamine 1% lactalbumin และ 1% antibiotic และ antimycotic ให้ได้ความเข้มข้น Normal human foreskin fibroblast (NHF) เซลล์ใน DMEM ที่มี 10% ซีรัม ที่มีความหนาแน่นของเซลล์ 8000 เซลล์ใน 100 ไมโครลิตร หยอดลงใน 96-well plates นำไปเพาะเลี้ยงจนเซลล์เกาะที่ก้น plate เป็นเวลา 2 วัน ใน incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเซลล์เกาะที่ก้น plate แล้วดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก แล้วแทนที่ด้วยอาหารที่มีแผ่นเส้นใยนาโนละลายอยู่ นำไป incubate เป็นเวลา 1 วัน หลังจากเซลล์ได้สัมผัสกับสารละลายของแผ่นเส้นใยนาโนจนครบเวลาแล้ว จึงดูดสารละลายออก ใส่สารละลาย MTT 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ลงไปแทนที่ incubate เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารละลาย MTT ออก ล้างด้วยสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ pH 7.4 ละลายผลึก formazan ที่ก้น plate ที่ได้จากเซลล์ที่มีชีวิต ด้วย

DMSO 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยเครื่อง microplate reader (Universal Microplate Analyzer, Model AOPUS01 and AI53601, Packard BioScience, CT, USA). คำนวณหา % cell viability โดยหลุมที่ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีแผ่นเส้นใยนาโนไคโตซานละลายอยู่ (SFM) เป็นกลุ่มควบคุม (100% cell viability) (3)

2.10 การศึกษาความคงตัวของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

การศึกษาความคงตัวของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรจะเก็บแผ่นเส้นใยที่ความเข้มข้น 0% w/w และ 10% w/w ที่สภาวะปกติ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60% และที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75% เป็นเวลา 6 เดือน เมื่อครบเวลาศึกษาสัณฐานวิทยาของแผ่นเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนและหารปริมาณของสาร andrographolide ในแผ่นเส้นใย

2.11 การวิเคราะห์ทางสถิติ Statistical analysis

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาจากการทำซ้ำ 3 ครั้ง ข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ใช้สถิติ one-way analysis of variance (ANOVA) สำหรับวิเคราะห์ความแตกต่าง กำหนดระดับนัยสำคัญที่ 0.05 โดยใช้โปรแกรม (SPSS version 10.0 for Windows (SPSS Inc., USA))

บทที่ 3

ผลการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดจากใบฟ้าทะลายโจรและการตรวจสอบคุณลักษณะ

3.1.1 การสกัดใบฟ้าทะลายโจร

ตารางที่ 1 ค่าร้อยละผลผลิตและปริมาณของ andrographolide จากการสกัดฟ้าทะลายด้วยเทคนิคและตัวทำละลายต่าง ๆ

วิธีการสกัด	ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	Yield (%)	Andrographolide (g/100 g)
Reflux	Ethanol : water	50 : 50	18.86 ± 0.30	9.31 ± 0.25
Sonicate	Ethanol : water	50 : 50	17.34 ± 0.88	8.91 ± 0.21
Sonicate	Ethanol : water	0 : 100	14.68 ± 1.78	N/A

N/A คือไม่พบสาร andrographolide ในสารสกัด

ผลการสกัดใบฟ้าทะลายโจรแสดงดังตารางที่ 1 จากผลการทดลองพบว่า การสกัดด้วยวิธี Reflux ด้วย Ethanol : water 50 : 50 มีร้อยละผลผลิตมากที่สุดและมีปริมาณของสาร andrographolide มากที่สุดด้วย และเมื่อสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียวพบว่า ไม่สามารถสกัดสาร andrographolide ออกมาได้ เนื่องจาก andrographolide เป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย (4)

3.1.2 การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วย DPPH assay

เมื่อนำสารสกัดด้วยวิธี Reflux ด้วย Ethanol : water 50 : 50 มาศึกษา ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่า วิธี DDPH ไม่สามารถหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้เนื่องจากสารสกัดมีสีที่รบกวน DPPH assay คณะผู้วิจัยจึงได้ทดลองหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร andrographolide พบว่า ไม่สามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีค่าร้อยละการยับยั้งถึง 50 ได้ ในช่วงความเข้มข้น 1 – 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

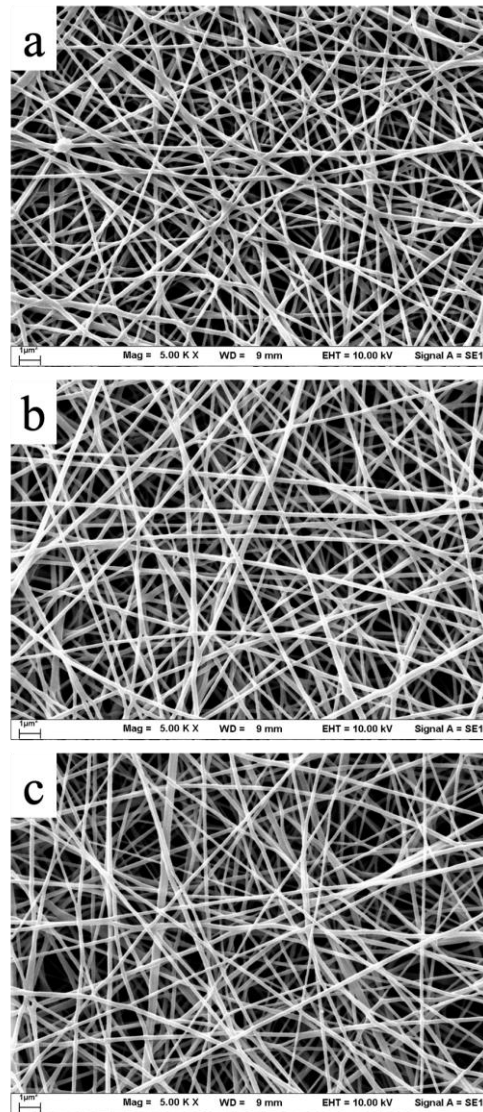
3.2 การเตรียมแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

สูตรตำรับของแผ่นเส้นใยที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ใส่สารเพิ่มความหวาน 2 ชนิด คือ โซเดียมแซคคารินในปริมาณร้อยละ 1 และไซลิทอลร้อยละ 10 เนื่องจากสารสกัดฟ้าทะลายโจรมีรสขมมาก จึงจำเป็นต้องกลบรส เพื่อให้เมื่อเข้าไปในช่องปากแล้วมีรสขมน้อยลง

3.3 การตรวจสอบคุณลักษณะของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

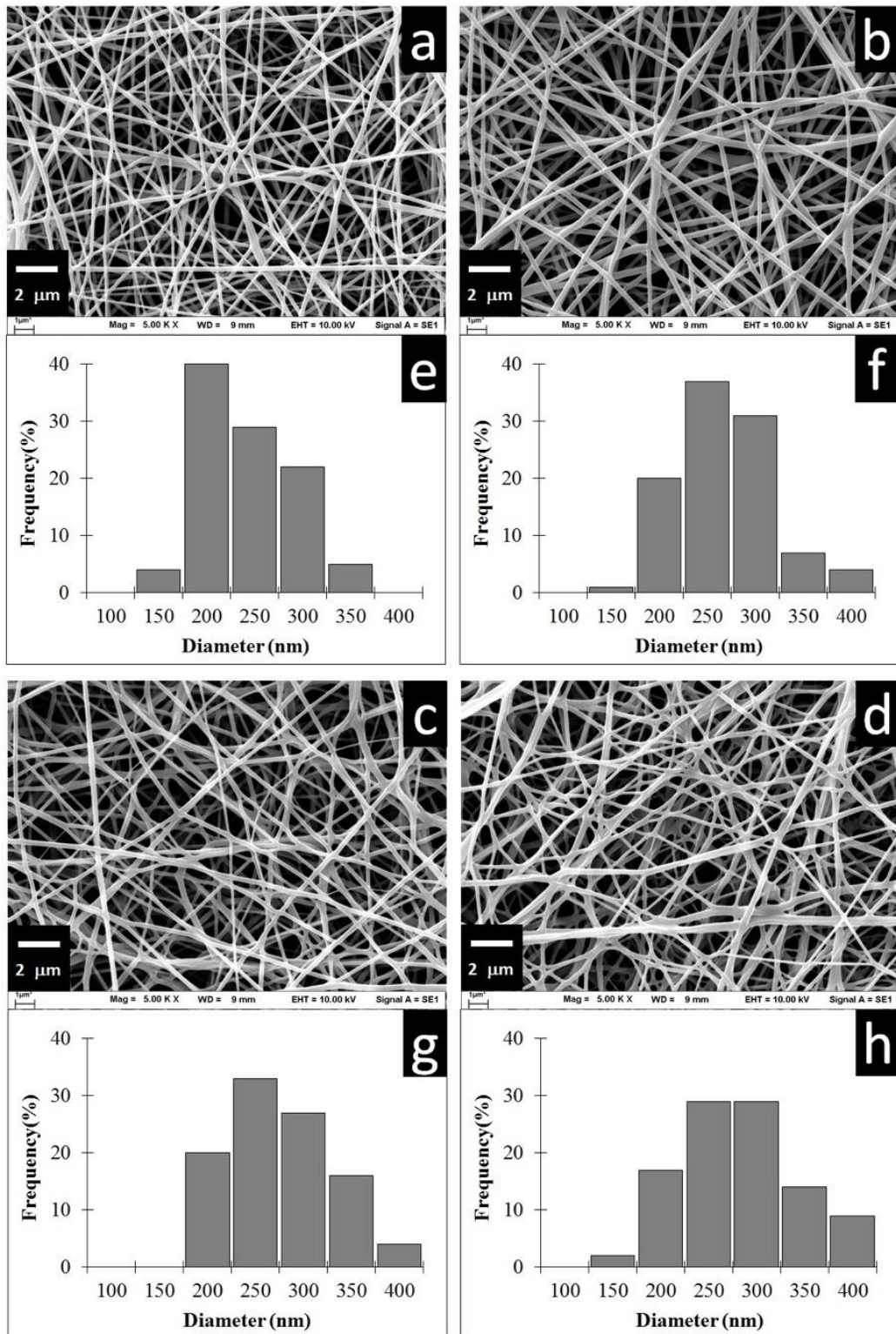
3.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

รูปที่ 2 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนและการกระจายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นเส้นใย PVA/PVP ที่อัตราส่วนต่างๆ



รูปที่ 2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 5000 เท่า ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปิน PVA/PVP ที่อัตราส่วน (a) 70/30, (b) 80/20 และ (c) 100/0

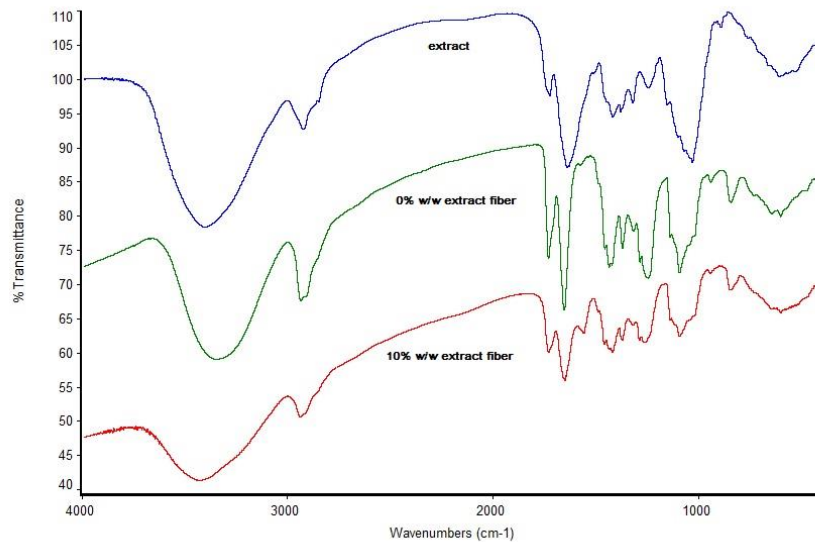
รูปที่ 3 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนและการกระจายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นเส้นใยที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่มีความเข้มข้นต่างๆ พบว่าค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 0, 1, 5 และ 10% w/w เท่ากับ 218.47 ± 50.71 , 243.31 ± 51.57 , 249.77 ± 55.29 และ 256.73 ± 62.17 นาโนเมตร ตามลำดับ



รูปที่ 3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 5000 เท่า ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น (a) 0% w/w, (b) 1% w/w, (c) 5% w/w และ (d) 10% w/w และการกระจายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น (e) 0% w/w, (f) 1% w/w, (g) 5% w/w และ (h) 10% w/w

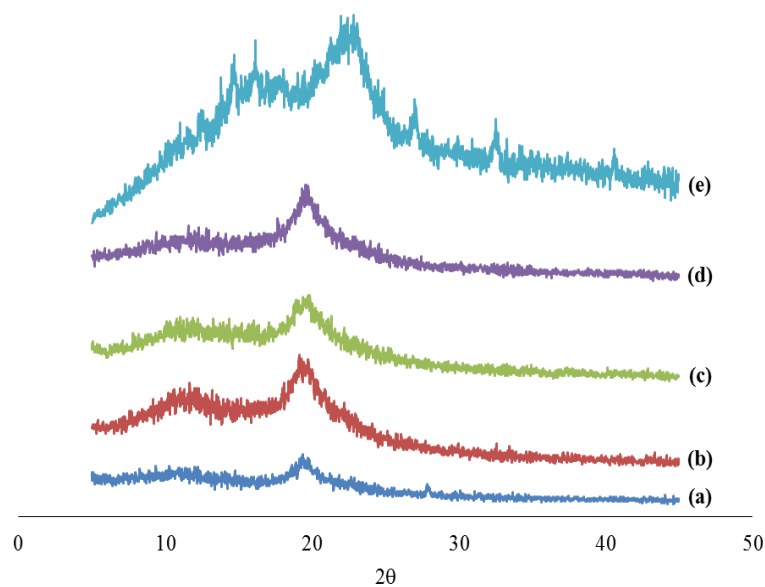
3.4 การประเมินลักษณะของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

FT-IR pattern ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 0% w/w และ 10% w/w และสารสกัดฟ้าทะลายโจร แสดงดัง รูปที่ 4



รูปที่ 4 FT-IR pattern ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 0% w/w และ 10% w/w และสารสกัดฟ้าทะลายโจร

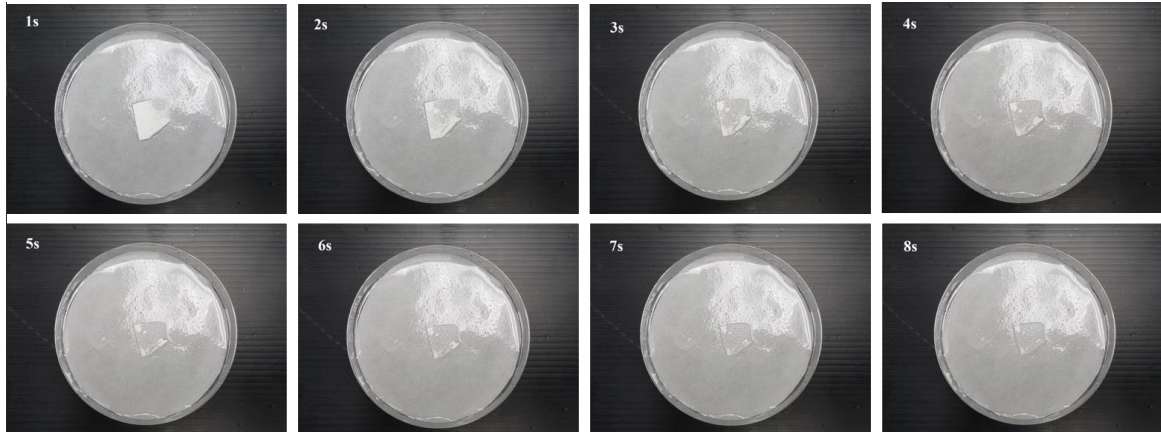
PXRD pattern ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงดัง รูปที่ 5



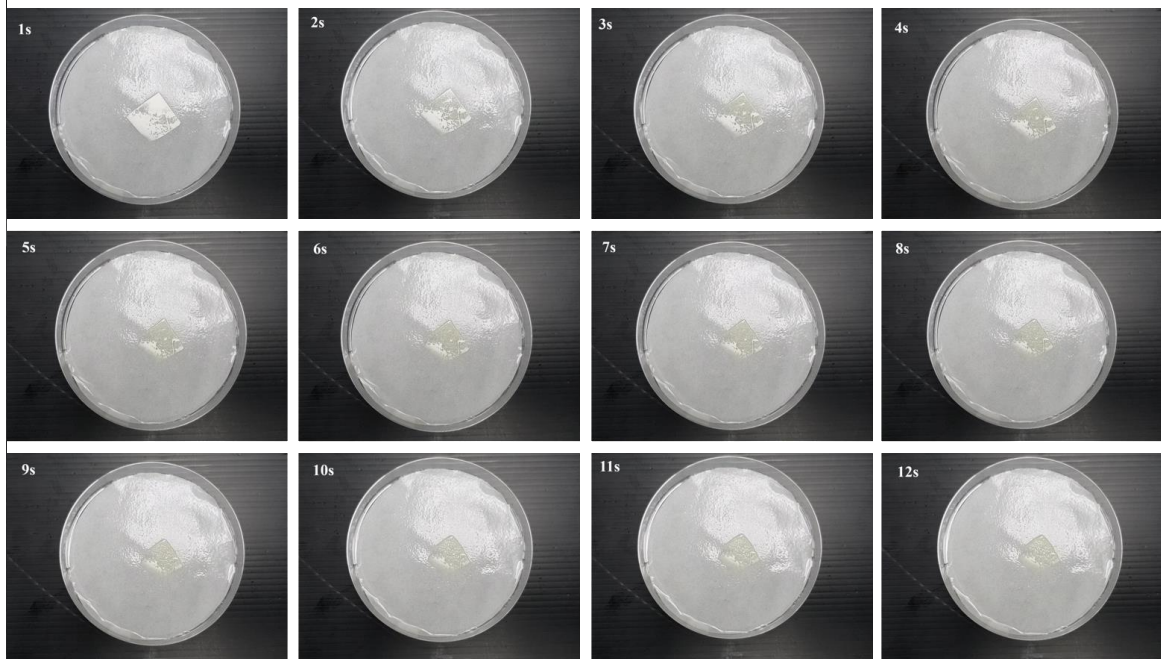
รูปที่ 5 PXRD pattern ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น (a) 0% w/w, (b) 1% w/w, (c) 5% w/w, (d) 10% w/w และ (e) สารสกัดฟ้าทะลายโจร

3.5 การประเมินเวลาในการเป็ยกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

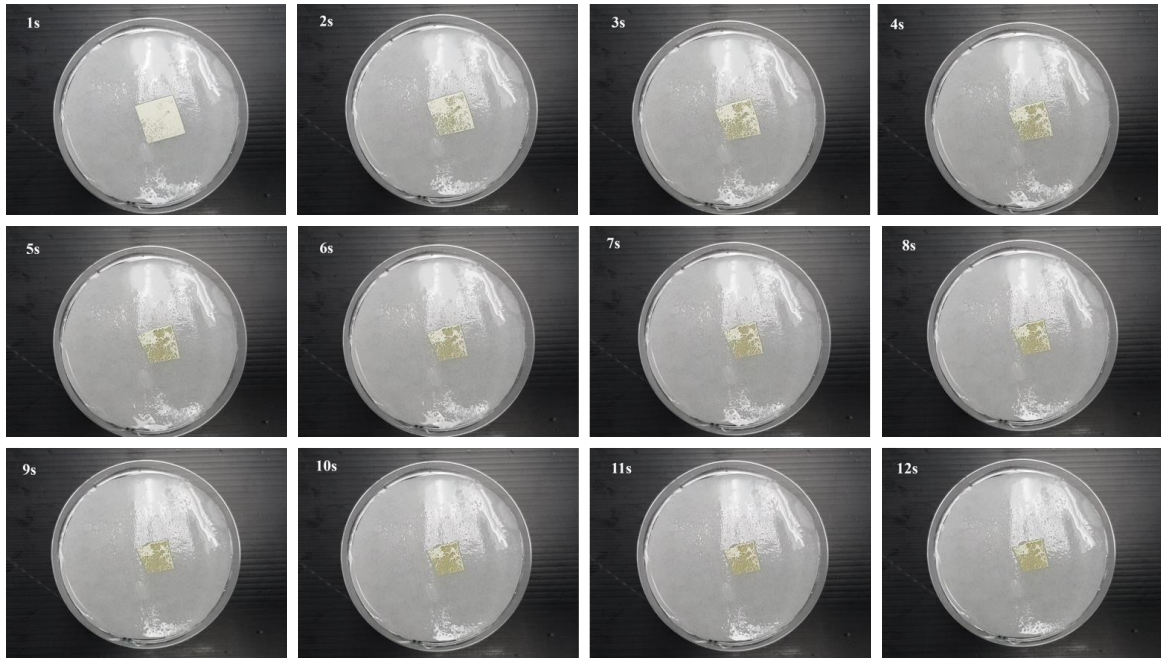
เวลาการเป็ยกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงดังรูปที่ 6 - 9



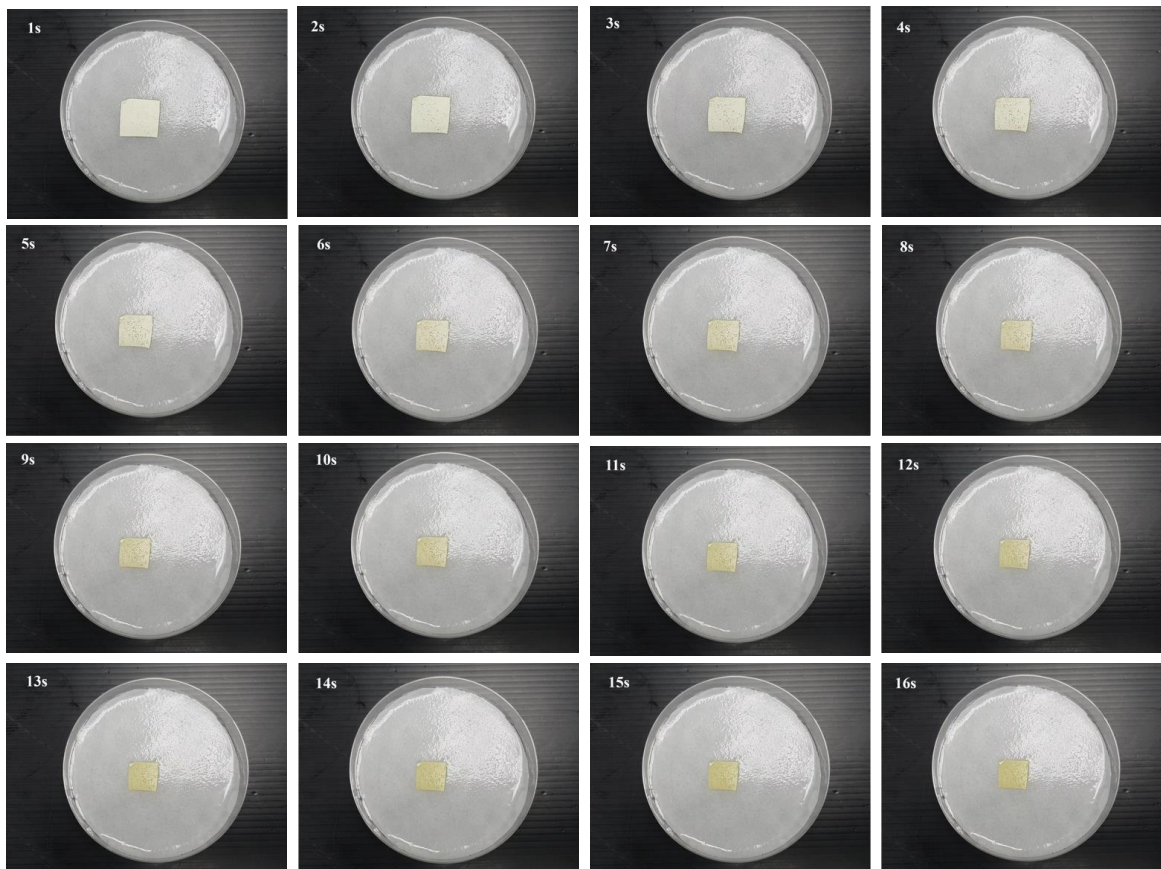
รูปที่ 6 การเป็ยกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 0% w/w



รูปที่ 7 การเป็ยกของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 1% w/w



รูปที่ 8 การเปื่อยของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 5% w/w



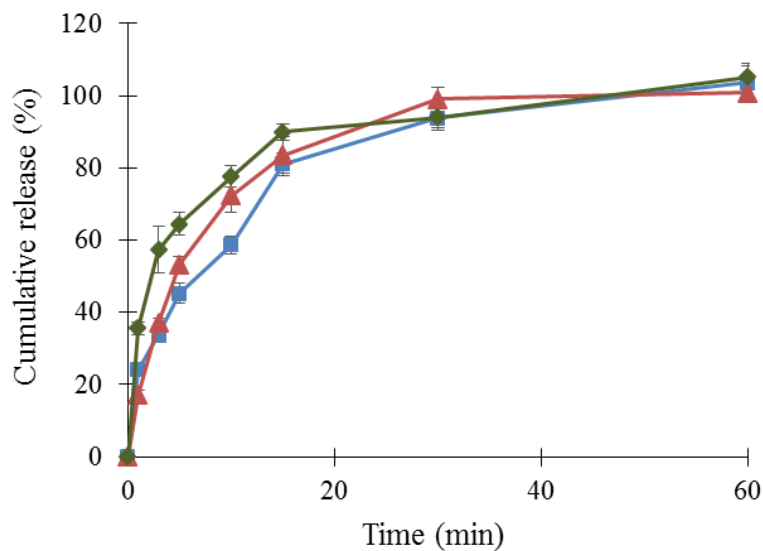
รูปที่ 9 การเปื่อยของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 10% w/w

3.6 การหาปริมาณสาร andrographolide ในแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

การหาปริมาณสาร andrographolide ในแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร พบว่าแผ่นเส้นใยที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 1% w/w, 5% w/w/ และ 10% w/w มีค่า loading efficacy (%) เท่ากับร้อยละ 83.90 ± 2.38 , 76.36 ± 2.13 and $79.03 \pm 2.78\%$ ตามลำดับ

3.7 การศึกษาการปลดปล่อยสาร andrographolide จากแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

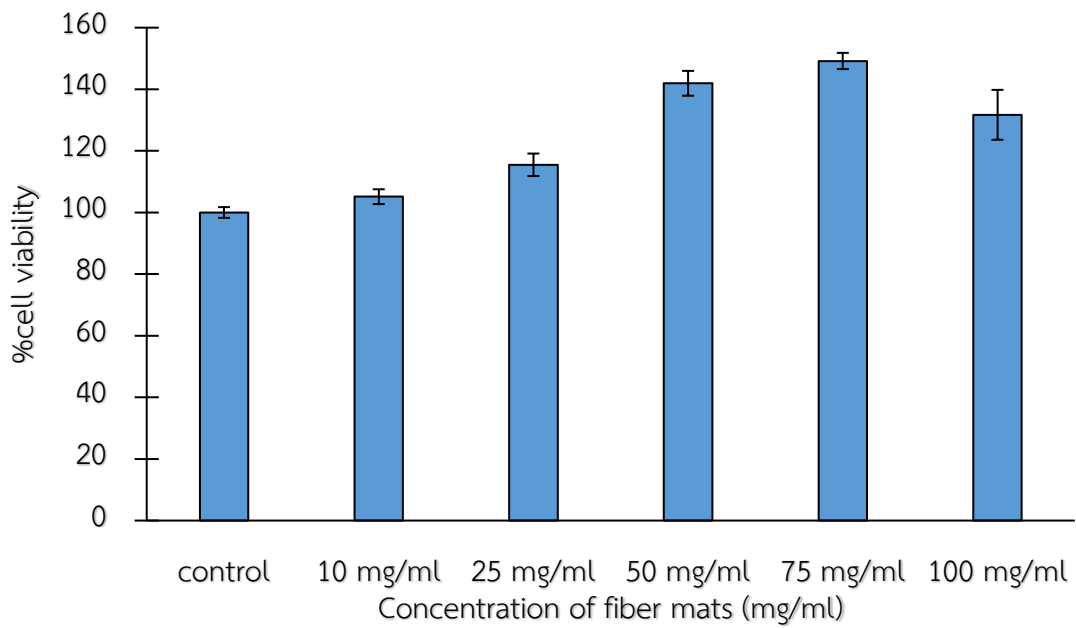
รูปที่ 10 แสดงการปลดปล่อยสาร andrographolide ออกจากเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรความเข้มข้นต่างๆ



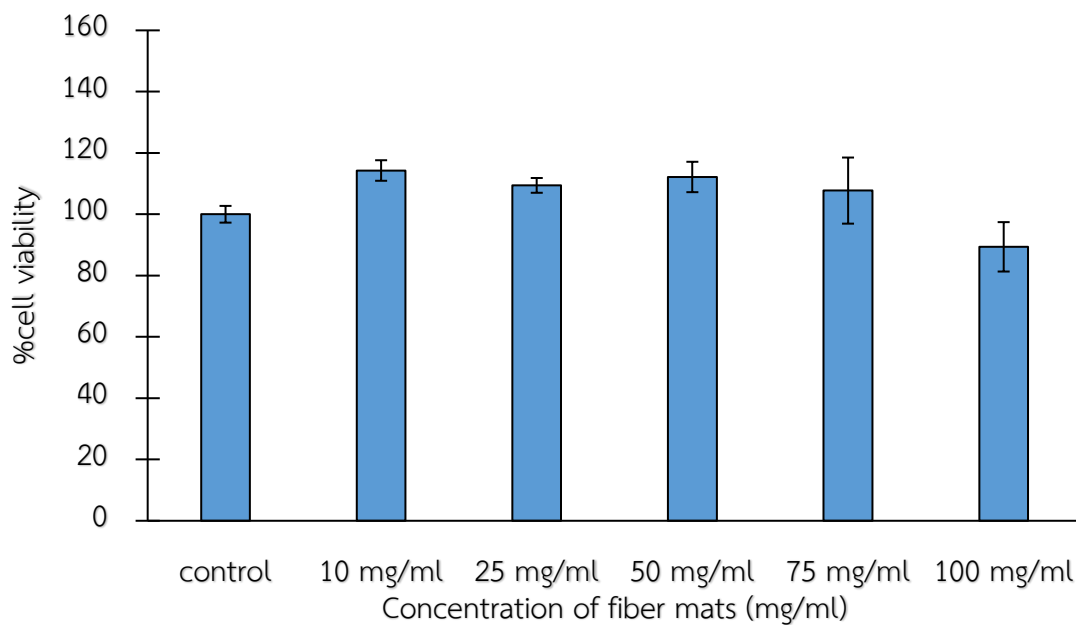
รูปที่ 10 แสดงการปลดปล่อยสาร andrographolide ออกจากเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น (■) 1% w/w, (▲) 5% w/w และ (◆) 10% w/w

2.10 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

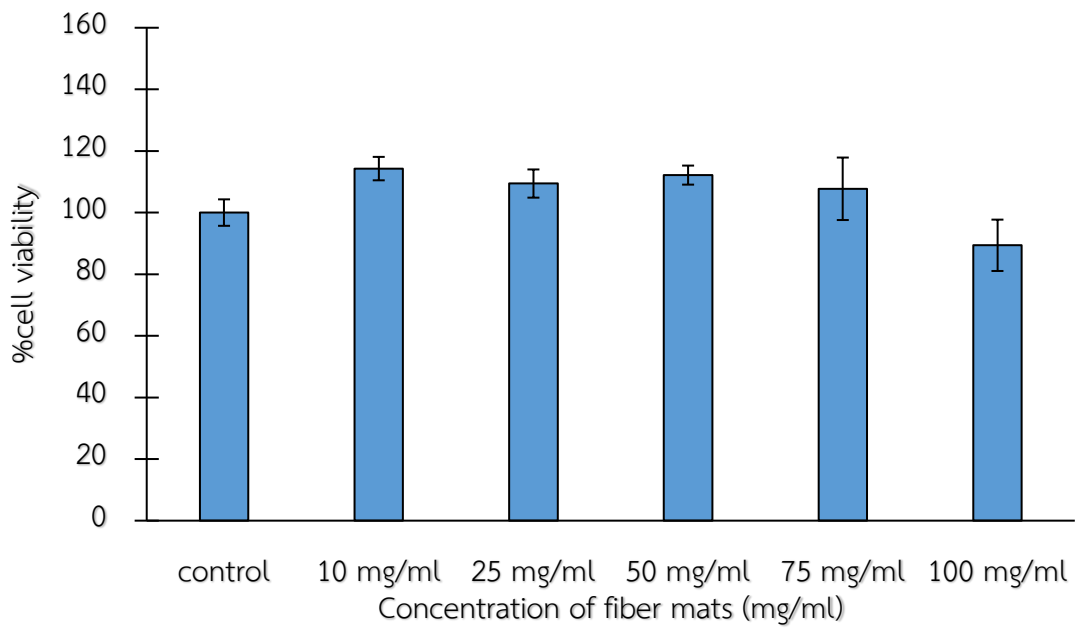
การศึกษความเป็นพิษต่อเซลล์ Human gingival fibroblast ด้วยวิธี MTT assay แผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร ความเข้มข้นต่างๆ นำมาเตรียมเป็นสารละลายใน DMEM (-) ที่ความเข้มข้นต่างๆ และนำสารละลายมาใส่ในเซลล์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 11 - 14



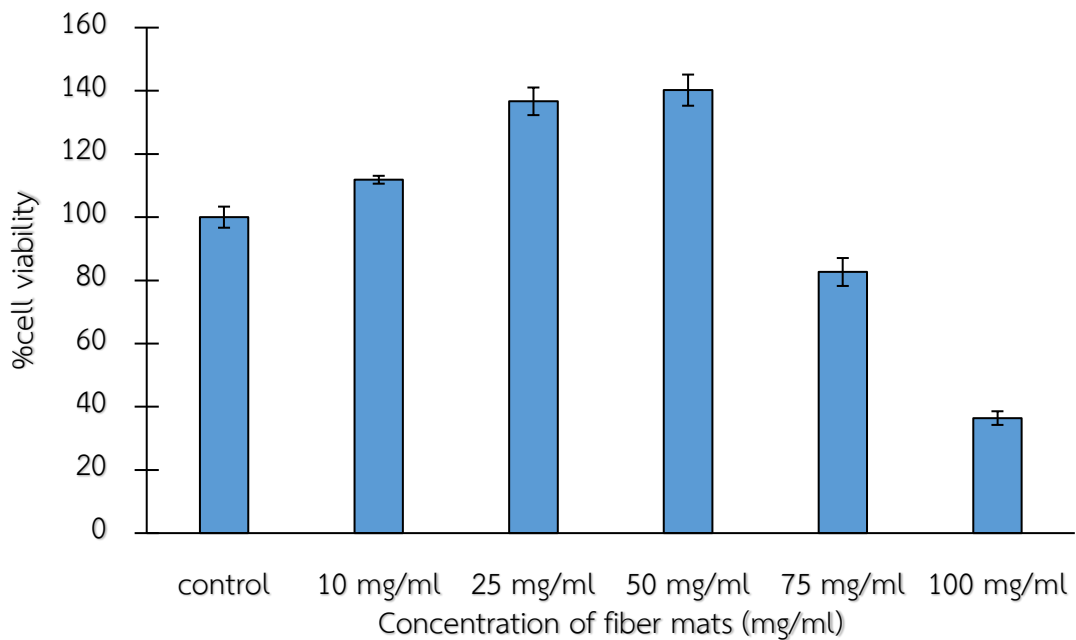
รูปที่ 11 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 12 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



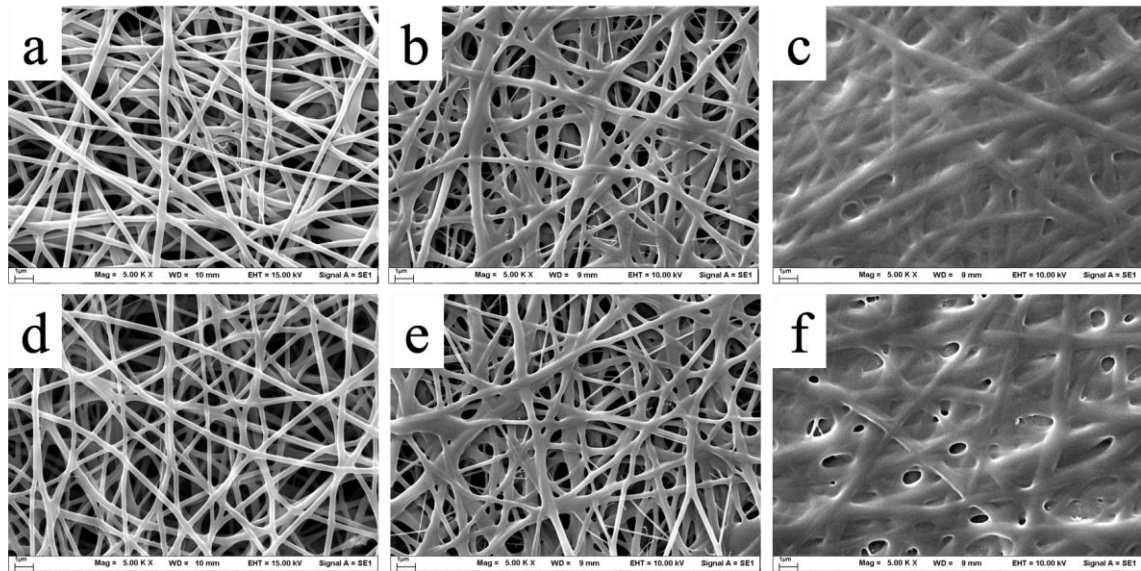
รูปที่ 13 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 14 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.11 การศึกษาความคงตัวของแผ่นเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเส้นใยนาโนที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่เก็บรักษาที่ สภาวะปกติ และสภาวะเร่งเป็นเวลา 6 เดือนแสดงดังรูปที่ 15 และปริมาณสาร andrographolide ที่ยังอยู่ในแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปินที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจร แสดงดังตารางที่ 2



รูปที่ 15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 5000 เท่า ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปินที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 0% w/w ที่เวลา 0 เดือน (a), 6 เดือนที่สภาวะปกติ (b) และ 6 เดือนที่สภาวะเร่ง (c) และความเข้มข้น 10% w/w ที่เวลา 0 เดือน (d), 6 เดือนที่สภาวะปกติ (e) และ 6 เดือนที่สภาวะเร่ง (f)

ตารางที่ 2 ค่า loading efficacy (%) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปินที่มีสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 10% w/w ที่สภาวะต่างๆ

เวลา	loading efficacy (%)
0 เดือน	79.03 ± 2.78
6 เดือนสภาวะปกติ	72.55 ± 2.64
6 เดือนสภาวะเร่ง	56.27 ± 5.08

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

4.1 การเตรียมและการประเมินแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร

จากผลการทดลองศึกษาสัญญาณวิทยาของเส้นใย ในการศึกษาก่อนการตั้งตำรับ พบว่า อัตราส่วนของ PVA/PVP ที่เหมาะสมจะนำมาเตรียมเป็นแผ่นเส้นใยที่ละลายเร็วคือ 80/20 PVA/PVP เนื่องจากได้เส้นใยที่มีลักษณะดี ไม่เยิ้มเหลว หากเพิ่มอัตราส่วนของ PVP จาก 20 เป็น 30 พบว่าเส้นใยจะเยิ้มเหลวได้ง่าย เนื่องจากคุณสมบัติความสามารถในการดูดความชื้นของ PVP เมื่อนำสารละลาย 80/20 PVA/PVP มาบรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 1 – 10% w/w และนำมาผ่านกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ป็นนิงจนได้เป็นเส้นใยพบว่า เส้นใยที่ได้เรียบ ไม่มีเม็ดปิดปรากฏในเส้นใย ในทุกความเข้มข้นของสารสกัด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเส้นใยอยู่ในช่วง 218 – 257 นาโนเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้า (3) จากผลการประเมินเส้นใยด้วย Powder X-ray diffractometer พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรทุกความเข้มข้นแสดงลักษณะออสัญฐาน ซึ่งจะทำให้ละลายได้อย่างรวดเร็วในช่องปาก ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีพบ พีคของสารสกัดในแผ่นเส้นใยที่เตรียมด้วยเทคนิคอิเล็กทรอนิกส์ป็นนิง ซึ่งชี้ให้เห็นว่า สารสำคัญในสารสกัดไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญเมื่อผ่านกระบวนการ เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์ป็นนิง (5)

จากการประเมินเวลาในการเปียกของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 10% w/w พบว่ามีเวลาในการเปียก เท่ากับ 11.67 ± 3.5 วินาที เมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 10% w/w จะเปียกได้หมดในเวลาน้อยกว่า 5 วินาที ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดละลายน้ำได้น้อยทำให้เพิ่มเวลาในการเปียกมากขึ้น ในแผ่นที่มีความเข้มข้นของสารสกัดมาก (6) ผลการศึกษา loading efficacy ของ แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่ามีค่าร้อยละมากกว่า 80 การศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญ andrographolide ออกจากเส้นใยพบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้อย่างรวดเร็ว มากกว่าร้อยละ 80 ในเวลา 15 นาที และเกือบร้อยละ 100 ในเวลา 30 นาที (7)

จากการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ Human gingival fibroblast พบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 0% w/w, 1% w/w และ 5% w/w แสดงค่าร้อยละความอยู่รอดของเซลล์มากกว่าร้อยละ 80 ในความเข้มข้น 10 – 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 10% w/w แสดงค่าร้อยละความอยู่รอดของเซลล์ เท่ากับร้อยละ 36.41 ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงสรุปได้ว่าหากปริมาณของสารสกัดใน

แผ่นเส้นใยมากเกินไปจะทำให้เกิดพิษต่อเซลล์ได้จึงแนะนำให้ใช้ แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้นต่างๆ ไม่เกิน 75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (8)

จากการศึกษาความคงตัวของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 0% w/w และ 10% w/w ที่เวลา 6 เดือนในสภาวะปกติและสภาวะเร่งพบว่า ลักษณะสัญญาณวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบเส้นใยเกิดการเยิ้มเหลว และเยิ้มเหลวมากเมื่อเก็บในสภาวะเร่ง ปริมาณของสาร andrographolide ลดลงเหลือร้อยละ 50 เมื่อเก็บในสภาวะเร่งเป็นเวลา 6 เดือน จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าควรเก็บแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดฟ้าทะลายโจร ให้ปราศจากอากาศและความชื้น

ผลผลิตที่ได้รับจากโครงการวิจัย (Output)

1. ได้ตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัย

Natthan Charensriwilaiwat, Passakorn Prasertrungpanich, Praneet Opanasopit. Preparation and characterization of *Andrographis paniculata* extract loaded polyvinyl alcohol nanofibers via electrospinning process The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences (TJPS), 2017, Vol 41 (Supplement Issue) page 81-84.



Preparation and characterization of *Andrographis paniculata* extract loaded polyvinyl alcohol nanofibers via electrospinning process

Natthan Charernsriwilaiwat^{1,2,*}, Passakorn Prasertprungpanich¹, Praneet Opanasopit²

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Burapha University, Chonburi 20130, Thailand

² Pharmaceutical Development of Green Innovation Group (PDGIG), Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand

* Corresponding author: Tel. +66(0)853145500 E-mail address: natthan@go.buu.ac.th

Keywords: *Andrographis paniculata*, polyvinyl alcohol, nanofiber, electrospinning

Introduction

Andrographis paniculata (AP) is the useful medicinal plant in Southeast Asian. It is known as “King of Bitter” in a family of Acanthaceae¹. AP have been traditionally used for the treatment of disease such as fever, common cold, cough, sore throat and gastrointestinal disorder². The pharmacological effect of AP including anti-inflammation, anti-oxidant, hepatoprotective and hypoglycemic activities³. The major compound in the leaves of AP is andrographolide. Andrographolide is a bitter colourless and crystalline diterpene lactone. The leaves of AP have been available found in the market in dosage forms of tablet or capsule. However, the development of new dosage form of AP has been limited due to its bitter taste. Recently, nanofibers has been popularly used as a tool for carrier herbal substance such as mangosteen extracts⁴, curcumin extract⁵ and asiaticoside extract⁶.

Electrospinning is a process that create fibers with ultrafine diameters. The small fibers obtained from this process exhibit excellent properties such as a high surface area to volume ratio, high density of nanometer sized pores of the mat and surface functionalization. Many polymer solution can be prepared to fibers under high voltage electrical power such as polyvinyl alcohol (PVA), polyethylene oxide (PEO), poly lactic acid (PLA) etc. This process is versatility and has potential for various biomedical applications such as scaffold for tissue engineering, wound healing and carriers for delivery of drugs and substances⁴. Recently, electrospun nanofiber have been investigated as oral fast-dissolving delivery system^{7,8}. In this study, PVA was selected as a carrier for AP extract to prepare nanofiber using electrospinning process. The properties of nanofibers such as morphology, crystallinity, % loading content of extract, wetting time and release profile were examined.

Methods

Reflux extraction and standardization of AP

The leaf powder of *Andrographis paniculata* (AP) was purchased from local market at Nakhon Pathom province, Thailand. The leaf powder of AP was placed in a 150 ml of 50% v/v aqueous ethanol connected with reflux apparatus. The ratio of AP to solvent was 1:10 at temperature of 75 °C for 2 h. After extraction the AP powder residue was filtered and supernatant was collected by centrifugation. The supernatant was dried by a rotary evaporator under vacuum¹. The crude extract of AP was analysed the amount of andrographolide by high performance liquid chromatography (HPLC). A C18 column (VertiSep™ UPS C18 column 4.6 × 250 mm, 5 μm, Ligand Scientific, Bangkok, Thailand) was used. The mobile phase consisted of a mix of methanol and water (pH 2.8 with phosphoric acid) at a ratio of 6:4. The injection volume was 20 μL. The flow rate of the mobile phase was 1 mL/min, and the detector wavelength was fixed at 225 nm⁹.

Preparation of AP loaded PVA nanofiber

Briefly, 10% w/w PVA solution was prepared by dissolving 4 g PVA in 36 g distilled water at 80°C and then allowing the solution to stir with magnetic bar and magnetic stirrer for 4 h. AP crude extract were loaded to PVA solution at various concentration (1%, 5%, 10%wt) and stirred for 2 h. The AP extract loaded solution was taken up in a 5 mL plastic syringe equipped with a 20-gauge, stainless steel needle (diameter = 0.9 mm) at the nozzle. The needle was connected to the emitting electrode of positive polarity of a Gamma High Voltage Research device. The electric potential was fixed at 15 kV. The nanofibers were collected as-spun on an aluminum thin foil that was wrapped on a aluminium plate collector. The solution was electrospun at room temperature, and the collection distance was fixed at 15 cm. The solution feed was driven by a syringe pump, and the feed rate was fixed at 0.25 mL/h. The process duration was fixed at 24 h in each different weight ratios that provide a thickness approximately 110 -130 μm .

Characterization of AP loaded PVA nanofiber

The morphology and average diameter of the nanofibers was observed under scanning electron microscopy (SEM; LEO 1450VP, EDAX®, USA). For this process, a small section of the electrospun nanofiber mats was sputtered with a thin layer of gold prior to SEM observation. The accelerating voltage was fixed at 15 kV. The diameter of nanofibers was measured using software JmicroVision, collected 100 measurements for each sample.

The crystallinity of the nanofiber was characterized by powder x-ray diffractometer (PXRD, Miniflex II, Rigaku, Japan) with Nickel-filtered Cu radiation generated in a sealed tube operated at 30 kv and 15 mA. The diffraction patterns of the nanofiber mats were recorded in the θ range of 5 – 45° at a scanning rate of 4 min^{-1}

The % content of AP extracts in the PVA nanofibers was analyzed by dissolving the nanofibers (5 mg) into 5 mL of distilled water for 24 h. Then, 1 mL of the solution was analyzed using HPLC to determine the amount of andrographolide. The amount of andrographolide was used to calculate the amount of extracts in the nanofiber mats. The % content was calculated using equation 1:

$$\text{Content (\%)} = (\text{La/Lt}) \times 100 \quad (1)$$

where La is the amount of AP extracts that are embedded in the nanofibers and Lt is the theoretical amount of AP extracts (obtained from the feeding condition) incorporated into the nanofibers.

Wetting time of AP loaded PVA nanofiber

Briefly, two layers of absorbent paper were placed on a Petri dish with a diameter of 12 cm. After the paper was thoroughly wetted with artificial saliva (2.38 g Na_2HPO_4 , 0.19 g KH_2PO_4 , and 8 g of NaCl per liter of distilled water adjusted with phosphoric acid to a pH of 6.8 ± 0.05)¹⁰, the excess artificial saliva was completely drained out. The AP extract loaded PVA nanofibers was cut to 2×2 cm that have the thickness approximately 110 -130 μm . Then the nanofibers were placed on the wet paper. The 10% AP extract loaded PVA nanofibers and the picture was recorded every second until the nanofibers completely wet.

Release profile of AP loaded PVA nanofiber

The release profile of AP extract from the PVA nanofiber was investigated in artificial saliva. The pieces of nanofibers were submerged in medium that was incubated at 37 °C under shaking at 100 rpm. At a given time, an aliquot of the release medium solution was analyzed by HPLC.

Results

After extraction, the yield of AP extract in 50% v/v aqueous ethanol was $18.86 \pm 0.3\%$ and the amount of andrographolide in AP extract was 9.31 ± 0.25 g in 100 g of extract. Figure 1 shows the SEM images and diameter distribution of AP extract loaded PVA nanofibers. The average diameter of 0%, 1%, 5% and 10% AP extract loaded PVA nanofibers were 218.47 ± 50.71 , 243.31 ± 51.57 , 249.77 ± 55.29 and 256.73 ± 62.17 nm, respectively. The bead formation could not observe in nanofibers. The PXRD patterns of AP extract loaded PVA nanofibers are shown in figure 2. The strong crystalline peak could not observed in the diffractogram of all nanofibers. This result indicated that AP extract was incorporated into the PVA nanofiber in an amorphous state. The % content of 1%, 5% and 10% AP extract loaded PVA nanofibers were 83.90 ± 2.38 , 76.36 ± 2.13 and $49.03 \pm 2.78\%$, respectively. Figure 3 present the wetting time of 10% AP extract loaded PVA nanofibers. The time for the nanofibers completely wet was 11.67 ± 3.5 seconds.

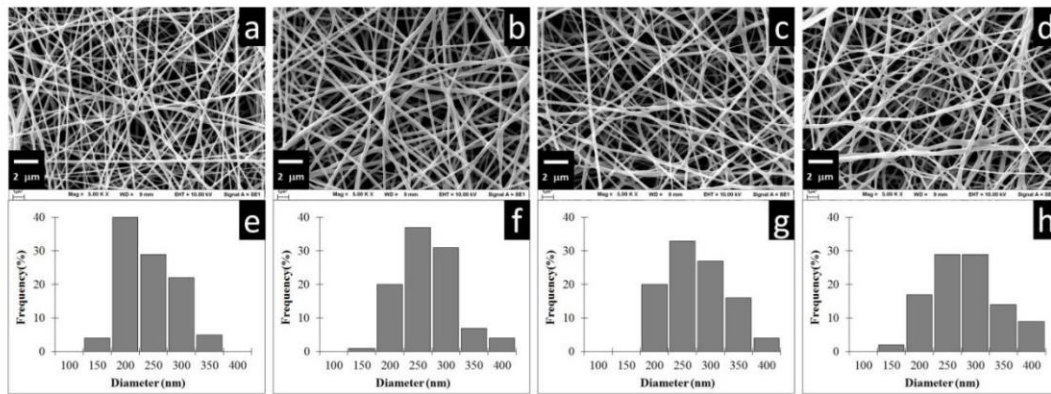


Figure 1. SEM image of (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% and (d) 10% AP extract loaded PVA nanofibers and diameter distribution of (e) 0%, (f) 1%, (g) 5% and (h) 10% AP extract loaded PVA nanofibers.

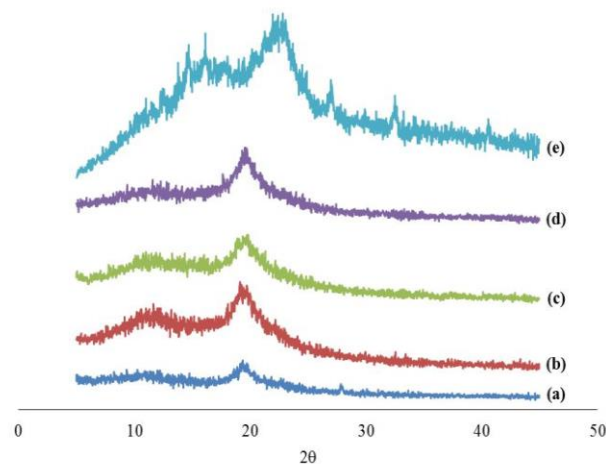


Figure 2. PXRD pattern of (a) 0%, (b) 1%, (c) 5%, (d) 10% AP extract loaded PVA nanofibers and (e) AP extract.

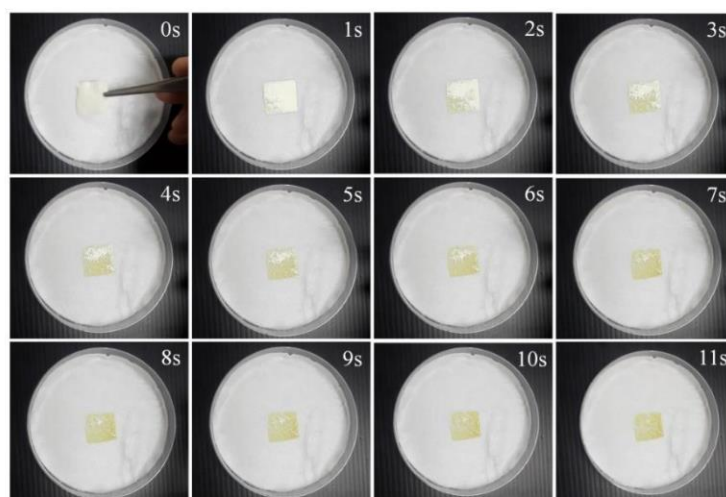


Figure 3. Wetting of 10% AP extract loaded PVA nanofibers.

The release profiles of AP extract from PVA nanofibers are shown in Figure 4. The result showed that the AP extract fast released from all nanofibers to artificial saliva. 80% of AP extract could be released within 15 minutes and almost 100% in 30 minutes.

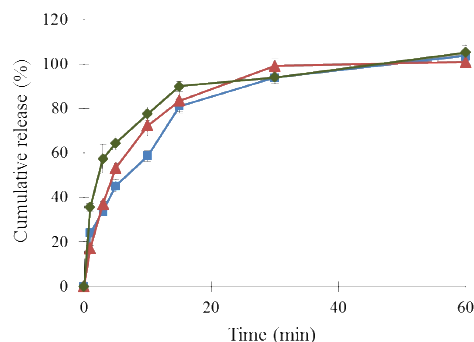


Figure 4. Release profiles of (■) 1%, (▲) 5% and (◆) 10% AP extract from PVA nanofiber. Data express as mean \pm SD (n=3).

Discussion

The morphology of PVA nanofiber was smooth and without bead structure in all concentration of AP extract. The average diameter of fibers was in a range of 218 – 257 nm. The average diameter of nanofibers slightly increased when the amounts of AP extract increased. This result was in accordance with our previous study, which indicated that the incorporation of *Garcinia mangostana* (GM) extracts into the electrospun chitosan/PVA nanofibers did not affect their morphology and the average diameters of the nanofiber ranged between 205.56 to 251.35 nm⁴. The PXRD patterns indicated that the AP extract loaded PVA nanofibers were in an amorphous state. After electrospinning process, the PVA and AP extract solidified very rapidly, leading to a decrease in mobility of AP extract molecules. The AP extract could be incorporated into PVA nanofibers approximately 80%. This indicated that AP extract was well mixed with PVA due to its hydrophilicity properties of extract. The nanofibers exhibited rapid wetting time and release of AP extract due to the highly porous structure of nanofiber and hydrophilicity of PVA⁸.

Conclusion

In conclusion, AP extract loaded PVA nanofibers were successfully prepared via an electrospinning process. The SEM images illustrated that the diameter of fibers was in a range of 218 – 257 nm and without bead formation. The PXRD diffractogram indicated that AP extract loaded PVA nanofibers were in an amorphous state. The AP extract could be incorporated into PVA nanofibers approximately 80%. The nanofibers rapidly wet within 11.67 seconds in artificial saliva and rapidly release AP extract. This nanofiber may have potential application for oral fast dissolving delivery.

Acknowledgements

This work was financially supported by the Research Grant of Burapha University through National Research Council of Thailand (Grant no.17/2559)

References

1. Chua LS, Latiff NA, Mohamad M. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 2016;3:64-70.
2. Okhuarobo A, Ehizogie Falodun J, Erharuyi O, Imieje V, Falodun A, Langer P. *Asian Pac J Trop Dis*. 2014;4:213-22.
3. Sermkaew N, Ketjinda W, Boonme P, Phadoongsombut N, Wiwattanapatapee R. *Eur J Pharm Sci*. 2013;50:459-66.
4. Charernsriwilaiwat N, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Sukma M, Opanasopit P. *Int J Pharm*. 2013;452:333-43.
5. Tsekova PB, Spasova MG, Manolova NE, Markova ND, Rashkov IB. *Mater Sci Eng C*. 2017;73:206-14.
6. Zhu L, Liu X, Du L, Jin Y. *Biomed Pharmacother*. 2016;83:33-40.
7. Li X, Kanjwal MA, Lin L, Chronakis IS. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2013;103:182-8.
8. Illangakoon UE, Gill H, Shearman GC, Parhizkar M, Mahalingam S, Chatterton NP, et al. *Int J Pharm*. 2014;477:369-79.
9. Akowuah GA, Zhari I, Norhayati I, Mariam A. *J Food Compost Anal*. 2006;19:118-26.
10. Peh KK, Wong CF. *J Pharm Pharm Sci*. 1999;2:53-61.

รายงานสรุปการเงิน
เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย - สัญญาเลขที่ 17/2559
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้งานเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559
มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การพัฒนาแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นนาโนละลายเร็วในปากที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร
ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ภก.ผศ.ดร. อนุรักษ์ เจริญศรีวิไลวัฒน์
รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2558 ถึงวันที่ 31 มกราคม พ.ศ. 2562
ระยะเวลาดำเนินการ 3 ปี 4 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2558

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%) บาท เมื่อวันที่ 9 มิถุนายน พ.ศ. 2559

งวดที่ 2 (40%) บาท เมื่อวันที่ 3 ตุลาคม พ.ศ. 2559

งวดที่ 3 (10%) บาท ยังไม่ได้รับ

รวม

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	40,000 บาท	40,000 บาท	0 บาท
2. ค่าจ้าง	99,600 บาท	99,600 บาท	0 บาท
3. ค่าวัสดุ	230,400 บาท	238,488.96 บาท	เกิน 8,088.96 บาท
4. ค่าใช้สอย	35,000 บาท	27,075 บาท	ขาด 7,925 บาท
5. ค่าครุภัณฑ์	0 บาท	0 บาท	0 บาท
6. ค่าสาธารณูปโภค	45,000 บาท	45,000 บาท	0 บาท
รวม	450,000 บาท	450,163.96 บาท	163.96 บาท

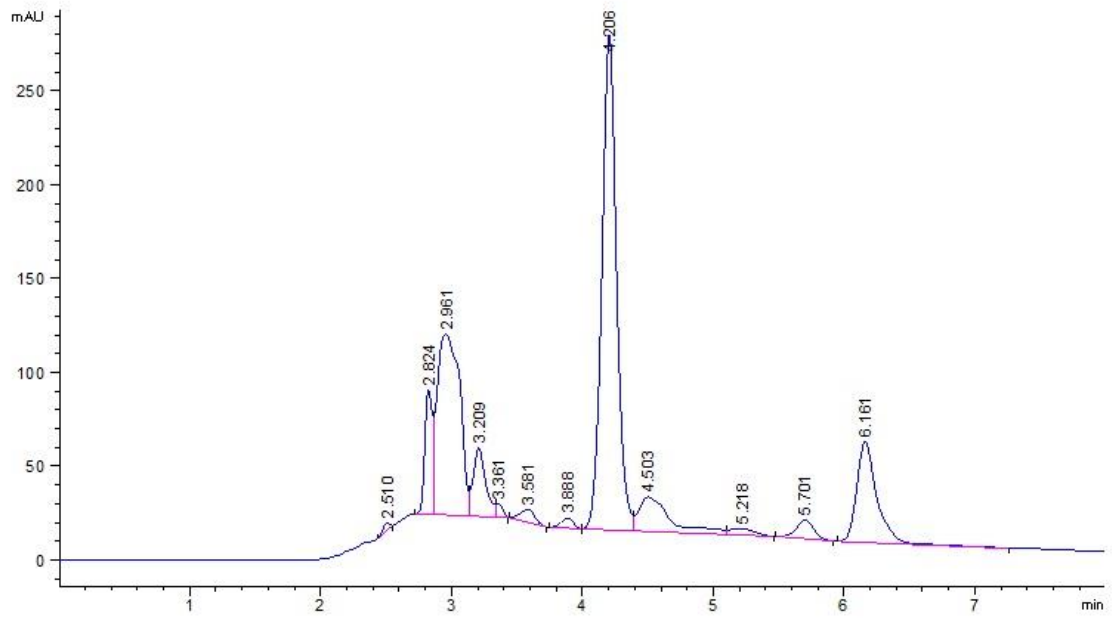
(ภก.ผศ.ดร.อนุรักษ์ เจริญศรีวิไลวัฒน์)

หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

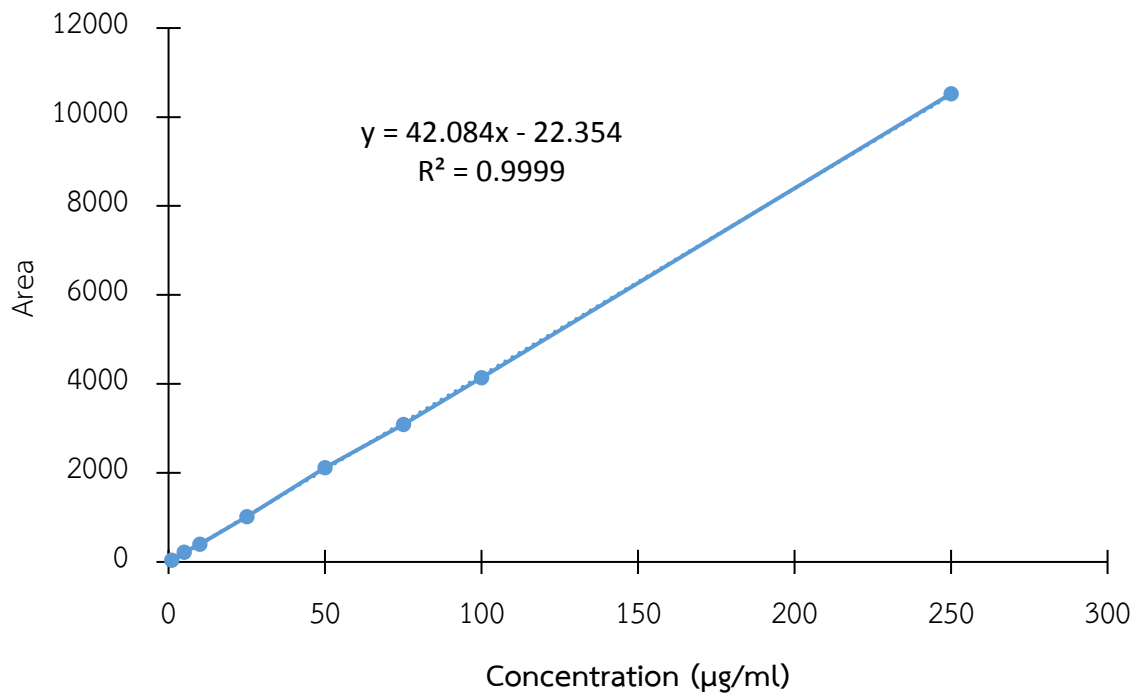
บรรณานุกรม

1. Chua LS, Latiff NA, Mohamad M. Reflux extraction and cleanup process by column chromatography for high yield of andrographolide enriched extract. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 2016;3:64-70.
2. Akowuah GA, Zhari I, Norhayati I, Mariam A. HPLC and HPTLC densitometric determination of androgra -pholides and antioxidant potential of *Andrographis paniculata*. *J Food Compost Anal*. 2006;19:118-26.
3. Charernsriwilaiwat N, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Sukma M, Opanasopit P. Electrospun chitosan-based nanofiber mats loaded with *Garcinia mangostana* extracts. *Int J Pharm*. 2013;452:333-43.
4. Sermkaew N, Ketjinda W, Boonme P, Phadoongsombut N, Wiwattanapataptee R. Liquid and solid self-microemulsifying drug delivery systems for improving the oral bioavailability of andrographolide from a crude extract of *Andrographis paniculata*. *Eur J Pharm Sci*. 2013;50:459-66.
5. Tsekova PB, Spasova MG, Manolova NE, Markova ND, Rashkov IB. Electrospun curcumin-loaded cellulose acetate/polyvinylpyrrolidone fibrous materials with complex architecture and antibacterial activity. *Mater Sci Eng C*. 2017;73:206-14.
6. Illangakoon UE, Gill H, Shearman GC, Parhizkar M, Mahalingam S, Chatterton NP, et al. Fast dissolving paracetamol/caffeine nanofibers prepared by electrospinning. *Int J Pharm*. 2014;477:369-79.
7. Li X, Kanjwal MA, Lin L, Chronakis IS. Electrospun polyvinyl-alcohol nanofibers as oral fast-dissolving delivery system of caffeine and riboflavin. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2013;103:182-8.
8. Charernsriwilaiwat N, Opanasopit P, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Supaphol P. Preparation and characterization of chitosan-hydroxybenzotriazole/polyvinyl alcohol blend nanofibers by the electrospinning technique. *Carbohydrate Polymers*. 2010;81:675-80.

ภาคผนวก



รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของสารสกัดใบฟ้าทะลายโจร



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานสาร andrographolide

ตารางที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางกลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w

Diameter (nm)					Range (nm)	Frequency
118.58	181.63	197.33	220.62	263.11	0-50	0
131.55	186.05	198.70	229.04	263.11	51-100	0
141.46	186.05	198.70	229.04	263.11	101-150	4
148.91	186.05	198.70	229.04	265.16	151-200	40
156.00	187.49	200.05	232.56	265.16	201-250	29
156.00	187.49	200.05	232.56	265.16	251-300	22
162.79	187.49	200.05	232.56	265.16	301-350	5
162.79	187.49	208.01	233.72	272.20	351-400	0
162.79	187.49	208.01	233.72	272.20	Mean	218.4719
162.79	187.49	208.01	237.16	280.04	SD	50.71055
164.44	191.77	208.01	237.16	280.04		
164.44	191.77	209.30	239.43	281.00		
164.44	191.77	209.30	239.43	282.92		
164.44	191.77	209.30	250.47	283.87		
167.70	191.77	210.59	250.47	287.66		
167.70	191.77	214.41	251.55	305.88		
177.11	191.77	214.41	255.81	364.01		
177.11	191.77	214.41	255.81	367.71		
177.11	197.33	214.41	260.01	367.71		
181.63	197.33	220.62	260.01	396.03		

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางกลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w

Diameter (nm)					Range (nm)	Frequency
145.83	196.86	231.09	253.52	282.61	0-50	0
152.17	200.42	231.09	254.45	283.44	51-100	0
156.76	200.42	234.14	261.77	283.44	101-150	1
156.76	200.42	235.14	261.77	285.93	151-200	20
158.26	205.09	235.14	261.77	290.04	201-250	37
158.26	214.11	239.13	261.77	290.04	251-300	31
165.56	214.11	240.12	262.67	290.04	301-350	7
173.91	214.11	240.12	262.67	292.47	351-400	4
175.27	217.39	243.05	265.36	292.47	Mean	243.31
175.27	217.39	243.05	268.90	302.79	SD	51.58
175.27	217.39	243.05	272.39	307.44		
179.27	218.48	243.05	272.39	307.44		
179.27	218.48	247.86	272.39	311.26		
179.27	221.70	247.86	274.98	313.53		
185.74	221.70	247.86	276.69	339.58		
185.74	221.70	247.86	276.69	348.50		
194.44	223.82	247.86	276.69	351.21		
195.65	223.82	247.86	278.40	358.53		
196.86	226.96	253.52	278.40	361.81		
196.86	226.96	253.52	282.61	422.10		

ตารางที่ 3 เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w

Diameter (nm)					Range (nm)	Frequency
160.25	201.23	228.79	259.15	302.25	0-50	0
160.25	204.88	232.01	260.10	302.25	51-100	0
161.78	204.88	240.37	266.67	302.25	101-150	0
161.78	204.88	240.37	267.59	302.25	151-200	20
169.24	204.88	240.37	267.59	302.25	201-250	33
169.24	204.88	240.37	267.59	314.27	251-300	27
173.56	209.64	240.37	267.59	314.27	301-350	16
173.56	209.64	244.44	268.51	314.27	351-400	4
177.78	210.82	245.45	270.35	315.84	Mean	249.77
179.16	210.82	245.45	278.44	330.36	SD	55.29
183.25	213.31	248.45	278.44	330.36		
183.25	218.86	248.45	278.44	333.33		
188.56	219.99	248.45	278.44	333.33		
189.87	219.99	251.42	281.09	334.07		
189.87	222.22	251.42	282.84	336.28		
191.16	222.22	253.37	288.89	345.70		
191.16	222.22	253.37	288.89	359.01		
191.16	223.33	253.37	289.74	377.12		
198.76	223.33	255.56	292.29	380.38		
198.76	228.79	259.15	298.14	421.64		

ตารางที่ 4 เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w

Diameter (nm)					Range (nm)	Frequency
119.67	203.28	237.28	271.26	309.52	0-50	0
142.29	204.88	240.37	272.73	309.52	51-100	0
159.09	204.88	244.78	273.67	316.55	101-150	2
160.25	204.88	245.83	273.67	318.17	151-200	17
160.71	210.82	245.83	273.67	318.17	201-250	29
163.89	210.82	248.45	274.87	321.41	251-300	29
169.24	214.41	248.45	277.42	321.41	301-350	14
173.56	214.41	248.45	277.42	325.41	351-400	9
173.56	219.99	253.37	278.44	325.41	Mean	256.73
179.16	223.84	253.37	278.44	330.36	SD	62.17
179.16	223.84	253.37	281.12	346.17		
179.16	223.84	253.37	284.58	351.36		
191.16	226.62	254.10	288.89	356.25		
191.16	227.27	254.10	295.45	361.75		
192.85	227.27	259.13	296.33	382.33		
195.51	227.27	259.13	298.93	386.36		
195.51	227.27	260.10	298.97	387.03		
195.51	228.79	265.04	305.76	388.36		
198.76	231.77	267.59	309.12	397.52		
201.23	237.28	268.51	309.12	424.55		

ตารางที่ 5 ร้อยละการยับยั้งของสาร andrographolide โดยวิธี DPPH assay

concentration mg/ml	%Inhibition			mean	SD
	n=1	n=2	n=3		
5.00	10.40	11.50	9.31	10.40	1.09
4.00	11.68	10.40	9.12	10.40	1.28
3.00	12.96	7.85	6.93	9.25	3.25
2.00	12.77	17.52	12.77	14.36	2.74
1.00	12.41	12.04	12.04	12.17	0.21
0.50	11.31	11.50	10.40	11.07	0.59

ตารางที่ 6 ร้อยละการยับยั้งของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w โดยวิธี DPPH assay

concentration mg/ml	%Inhibition			mean	SD
	n=1	n=2	n=3		
5.00	14.96	13.45	15.52	14.64	1.07
4.00	12.70	15.71	13.26	13.89	1.60
3.00	15.34	17.98	17.79	17.03	1.47
2.00	12.70	12.32	14.39	13.14	1.10
1.00	13.64	11.19	12.51	12.45	1.23
0.50	11.00	12.88	15.34	13.07	2.17

ตารางที่ 7 ร้อยละการยับยั้งของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w โดยวิธี DPPH assay

concentration mg/ml	%Inhibition			mean	SD
	n=1	n=2	n=3		
5.00	23.44	23.07	22.12	22.88	0.68
4.00	16.47	14.96	19.67	17.03	2.41
3.00	19.67	18.92	22.12	20.24	1.68
2.00	15.34	17.79	19.11	17.41	1.91
1.00	13.83	14.77	16.47	15.02	1.34
0.50	8.36	10.62	14.77	11.25	3.25

ตารางที่ 8 ร้อยละการยับยั้งของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w โดยวิธี DPPH assay

concentration mg/ml	%Inhibition			mean	SD
	n=1	n=2	n=3		
5.00	23.82	30.99	23.44	26.08	4.25
4.00	33.63	36.64	19.11	29.79	9.38
3.00	29.10	32.12	30.61	30.61	1.51
2.00	24.58	27.78	25.71	26.02	1.63
1.00	15.52	22.69	13.07	17.10	5.00
0.50	13.07	15.15	14.39	14.20	1.05

ตารางที่ 9 ร้อยละการยับยั้งของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w โดยวิธี DPPH assay

concentration mg/ml	%Inhibition			mean	SD
	n=1	n=2	n=3		
5.00	33.44	32.50	37.40	34.44	2.60
4.00	41.17	41.36	44.56	42.36	1.91
3.00	32.12	27.97	36.64	32.24	4.34
2.00	18.16	10.81	11.75	13.58	4.00
1.00	17.22	21.56	21.94	20.24	2.62
0.50	-1.63	4.02	6.66	3.02	4.24

ตารางที่ 10 การปลดปล่อยสารสำคัญ andrographolide จากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w

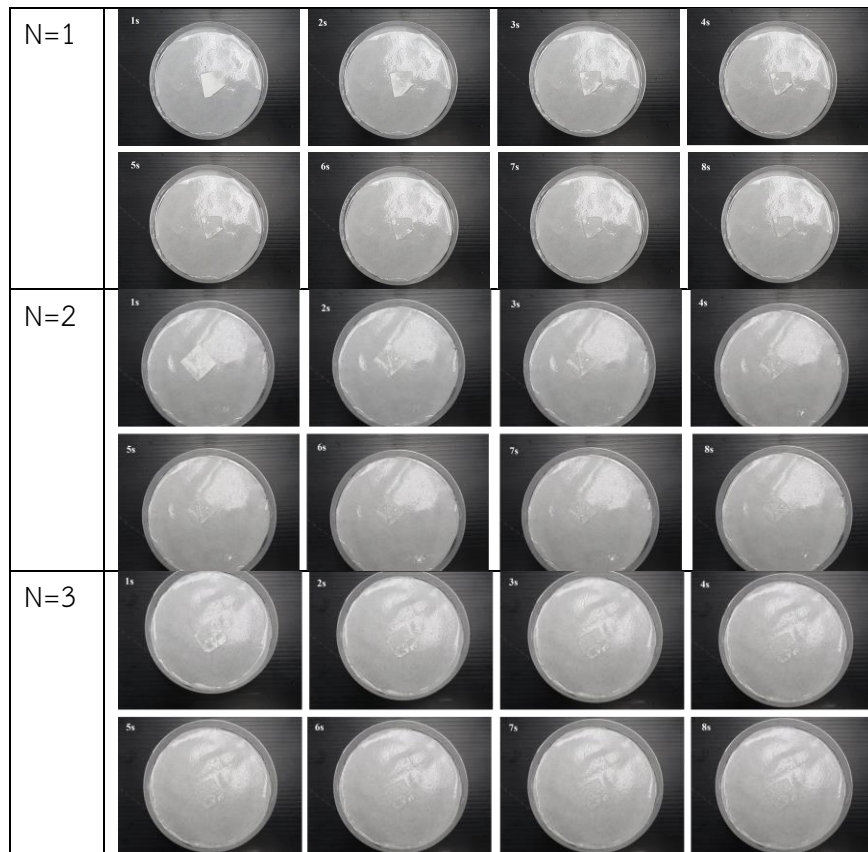
Time (min)	%Cumulative release			mean	SD
	n=1	n=2	n=3		
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1	24.1	23.2	24.9	24.1	0.8
3	33.8	34.0	33.2	33.7	0.4
5	46.4	47.3	42.2	45.3	2.7
10	56.3	58.1	61.4	58.6	2.6
15	77.5	82.0	83.6	81.0	3.2
30	91.1	92.8	97.4	93.8	3.3
60	102.1	99.1	109.3	103.5	5.3

ตารางที่ 11 การปลดปล่อยสารสำคัญ andrographolide จากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w

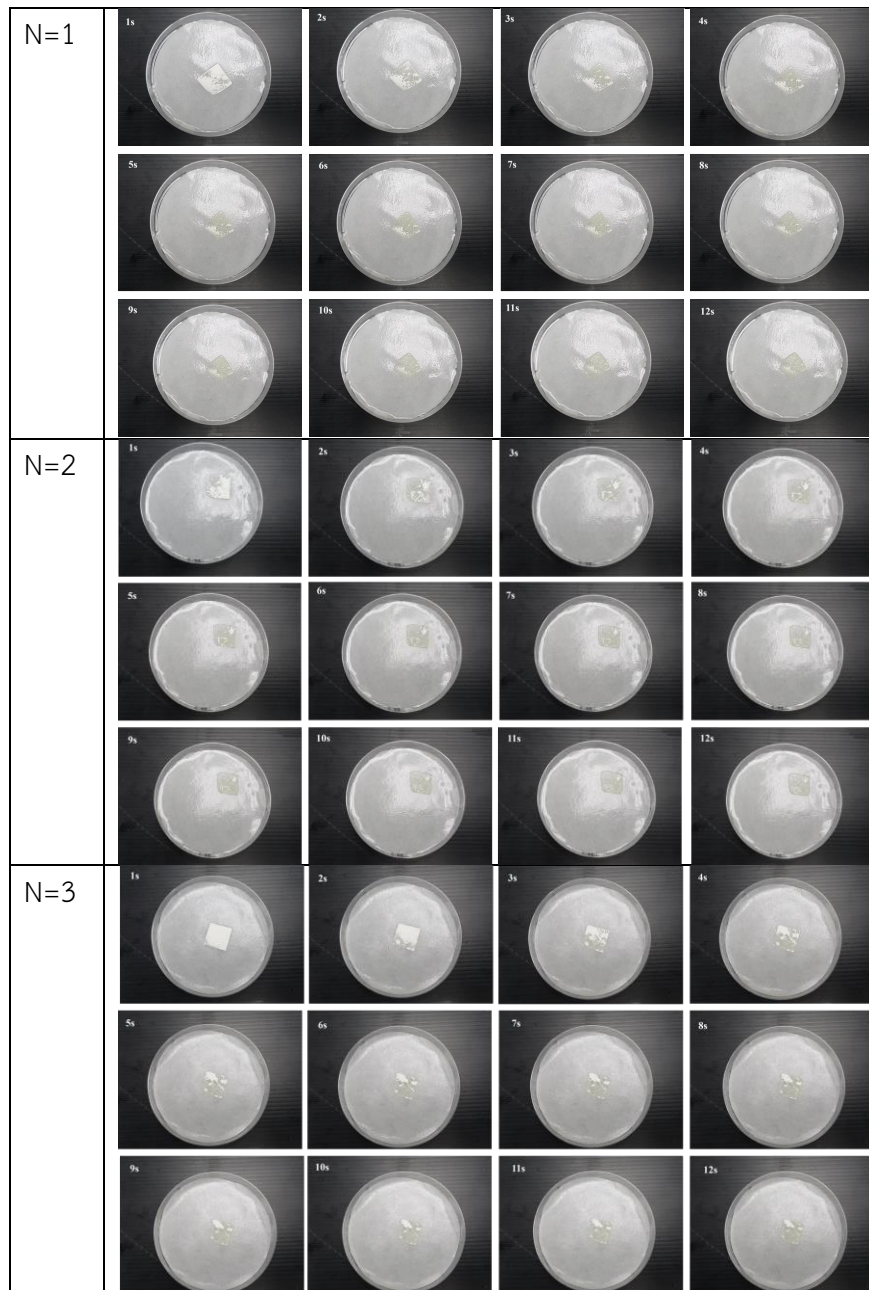
Time (min)	%Cumulative release			mean	SD
	n=1	n=2	n=3		
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1	18.1	15.8	17.5	17.1	1.2
3	38.7	36.4	35.7	37.0	1.5
5	55.7	51.8	52.3	53.3	2.1
10	77.1	72.4	67.7	72.4	4.7
15	88.4	84.1	78.1	83.6	5.2
30	101.9	99.9	95.4	99.1	3.3
60	102.8	101.3	98.5	100.8	2.2

ตารางที่ 12 การปลดปล่อยสารสำคัญ andrographolide จากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w

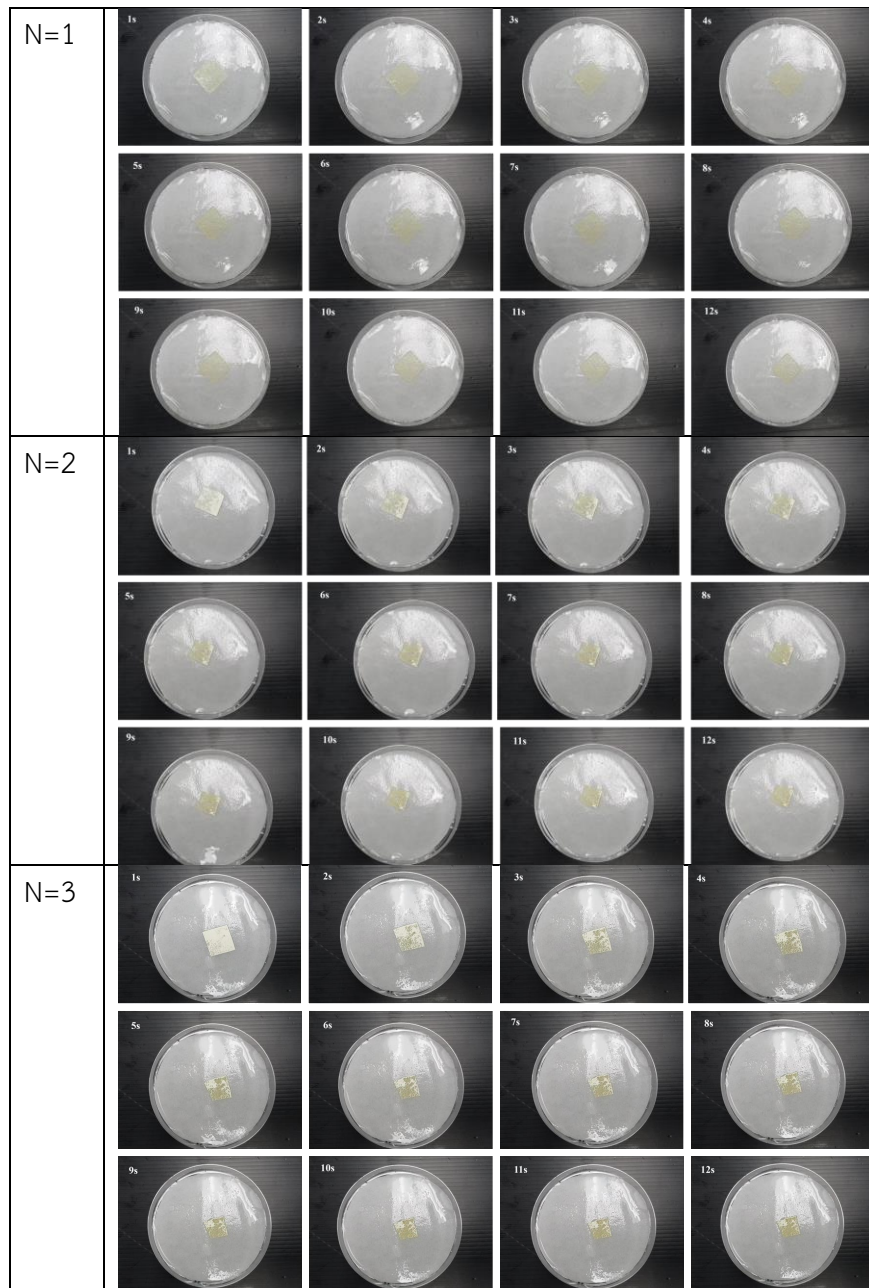
Time (min)	%Cumulative release			mean	SD
	n=1	n=2	n=3		
0	0.0	1.1	2.1	0.0	0.0
1	37.1	36.1	33.7	35.7	1.8
3	64.4	55.9	51.6	57.3	6.5
5	65.1	67.1	61.1	64.5	3.1
10	74.4	78.1	80.1	77.5	2.9
15	92.2	89.5	88.0	89.9	2.1
30	96.6	94.9	90.6	94.0	3.1
60	108.4	105.1	102.2	105.2	3.1



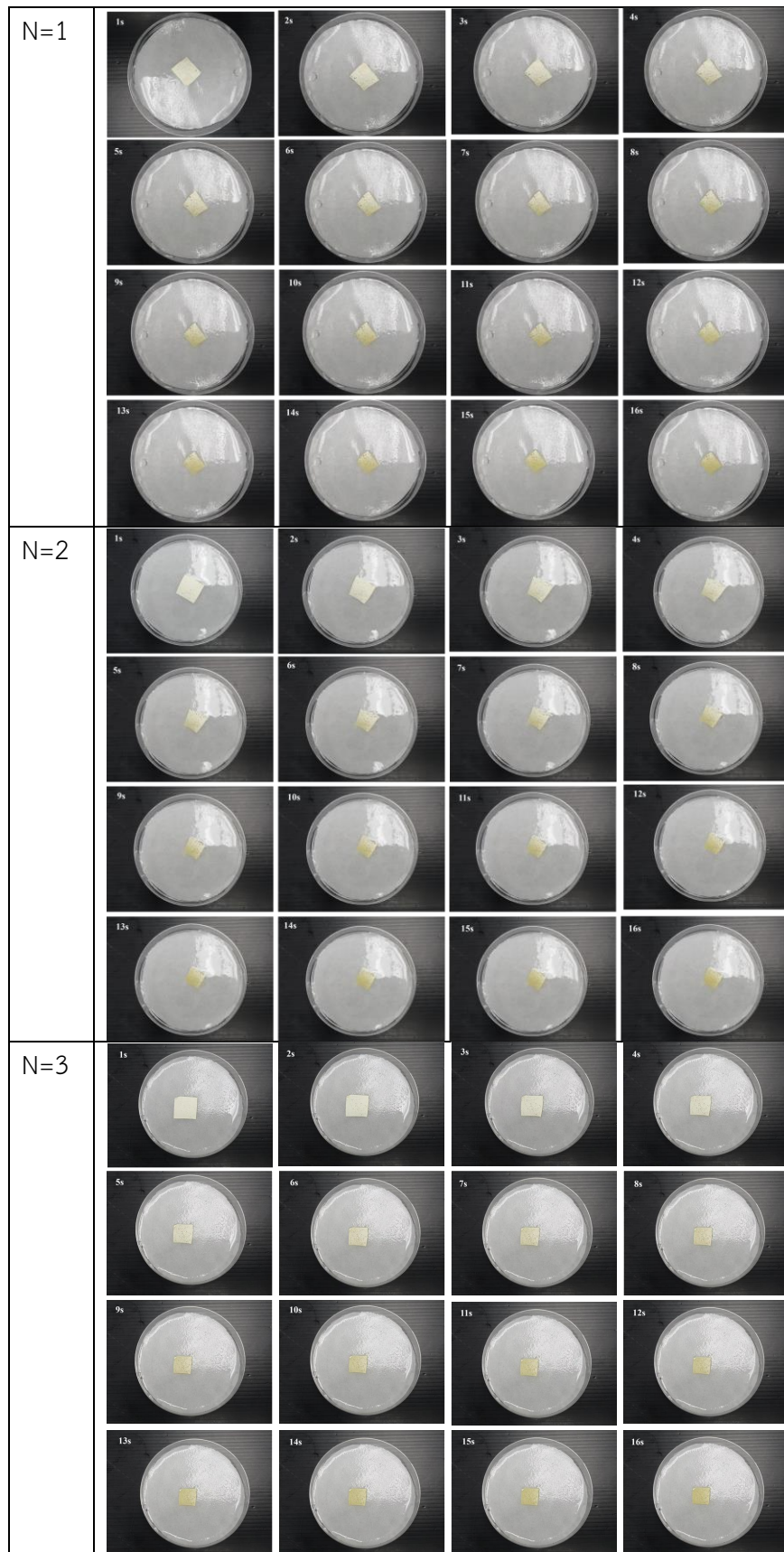
รูปที่ 3 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w บน saliva plate ที่เวลาต่างๆ



รูปที่ 4 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w บน saliva plate ที่เวลาต่างๆ



รูปที่ 5 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w บน saliva plate ที่เวลาต่างๆ



รูปที่ 6 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปันที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w บน saliva plate ที่เวลาต่างๆ

ตารางที่ 13 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 0% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Sample	%cell viability						
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	mean	SD
control	100.40	99.65	98.90	98.27	102.78	100.00	1.75
10 mg/ml	108.92	105.54	104.16	102.41	104.66	105.14	2.41
25 mg/ml	118.45	120.08	111.31	113.56	114.06	115.49	3.64
50 mg/ml	145.02	146.65	139.76	136.63	141.64	141.94	4.03
75 mg/ml	150.66	151.42	146.78	145.90	151.17	149.19	2.63
100 mg/ml	118.20	139.13	132.36	136.63	132.24	131.71	8.10

ตารางที่ 14 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 1% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Sample	%cell viability						
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	mean	SD
control	100.36	100.36	99.34	96.16	103.79	100.00	2.73
10 mg/ml	112.68	119.41	113.44	110.52	115.35	114.28	3.35
25 mg/ml	111.79	111.92	107.60	106.58	109.25	109.43	2.41
50 mg/ml	113.44	117.76	113.31	104.17	112.17	112.17	4.96
75 mg/ml	101.88	115.73	108.36	92.86	119.79	107.72	10.78
100 mg/ml	88.80	91.46	99.59	77.11	89.94	89.38	8.06

ตารางที่ 15 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 5% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Sample	%cell viability						
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	mean	SD
control	97.58	99.55	99.93	107.10	95.84	100.00	4.29
10 mg/ml	107.22	113.53	111.80	113.28	105.12	110.19	3.80
25 mg/ml	106.73	116.25	104.75	107.84	105.99	108.31	4.58
50 mg/ml	121.32	116.00	119.84	118.23	113.53	117.78	3.09
75 mg/ml	104.50	113.90	111.30	119.71	93.25	108.53	10.14
100 mg/ml	80.76	94.73	78.41	95.23	80.39	85.90	8.34

ตารางที่ 16 ร้อยละการอยู่รอดของ human gingival fibroblast เซลล์ ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่
 บรรจุสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 10% w/w ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Sample	%cell viability						
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	mean	SD
control	101.42	94.45	102.14	102.62	99.38	100.00	3.34
10 mg/ml	110.55	110.55	113.19	112.83	112.11	111.85	1.25
25 mg/ml	135.42	131.70	143.35	138.07	134.82	136.67	4.37
50 mg/ml	143.23	134.58	144.20	143.96	135.06	140.21	4.93
75 mg/ml	83.63	75.70	83.51	87.96	82.43	82.65	4.42
100 mg/ml	35.93	34.73	36.89	39.89	34.61	36.41	2.16