ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	สารเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับกรดไขมันและการประยุกต์ทางเภสัชกรรม
ผู้เขียน	นายทรงวุฒิ ยศวิมลวัฒน์
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. จักรพันธ์ ศิริธัญญาลักษณ์ ประธานกรรมการ ผศ.ดร. สยาม แก้ววิชิต กรรมการ รศ.ดร. กล้าณรงค์ ศรีรอต กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่ง, ผลของความเป็นกรด-เบสต่อการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับกรดไขมันอิ่มตัว และการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับยาและศักยภาพในการเพิ่มการละลายและความคงตัวของยา

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตัดกิ่งแป้งข้าวเหนียวโดยใช้วิธีการศึกษาทางสถิติชนิดเซ็นทรัลคอมโพสิตแบบสมบูรณ์ (complete central composite design) พบว่า แป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งอย่างสมบูรณ์สามารถเตรียมขึ้นโดยการบ่มแป้งข้าวเหนียวสุก ความเข้มข้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์พูลลูลาเนส (Promozyme® 400L, Novozymes, Denmark) เข้มข้น 45 พลูลูลาเนสยูนิตโนโว (Pullulanase Unit Novo) ต่อแป้ง 1 กรัม ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 19 ชั่วโมง

จากการศึกษาผลของความเป็นกรด-เบสในช่วง 3 ถึง 7 ต่อการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับกรดไขมัน 8:0 (caprylic acid), 10:0 (capric acid), 12:0 (lauric acid), 14:0 (myristic acid), 16:0 (palmitic acid) และ 18:0 (stearic acid) โดยวิธีการวัดความเข้มของสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นจากสารเชิงซ้อนระหว่างไอโอดีนกับแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งอิสระที่เหลือหลัง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เกิดสารเชิงซ้อนกับกรดไขมันแล้ว พบว่ากรดไขมันที่มีสายไฮโดรคาร์บอนสั้นได้แก่ 8:0 เกิดสารเชิงซ้อนกับแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งลดลงเมื่อค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายมีค่ามากกว่าค่า pKa ของกรดไขมัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก 8:0 ในรูปแตกตัวมีประสิทธิภาพในการแทรกเข้าไปอยู่ภายในเกลียวเดี่ยวของแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งซึ่งมีสมบัติชอบไขมันได้น้อยกว่า 8:0 ในรูปที่ไม่แตกตัว ในทางตรงกันข้ามเมื่อค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายมีค่ามากกว่าค่า pKa ความสามารถในการเกิดสารเชิงซ้อนของกรดไขมัน 10:0 ถึง 18:0 จะเพิ่มขึ้นตามค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการที่กรดไขมัน 10:0 ถึง 18:0 มีค่าการละลายที่สูงขึ้นเมื่ออยู่ในรูปแตกตัว จึงช่วยให้มีปริมาณกรดไขมันมากขึ้นในการเกิดสารเชิงซ้อนกับแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่ง

ตะกอนที่ได้จากสารละลายของแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับกรดไขมัน 12:0 และ 18:0 ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 3 ถึง 5 มีรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์เป็นชนิด 'บี' แต่เป็นชนิด 'วี-เอช' ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 7 บ่งชี้ว่าที่ค่าความเป็นกรด-เบสต่ำแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งเกิดผลึกและตกตะกอนในรูปอิสระ แต่ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 7 จะเกิดผลึกและตกตะกอนในรูปสารเชิงซ้อนกับกรดไขมัน ผลการศึกษาการกระจายขนาดของโมเลกุลแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งในผลึกสารเชิงซ้อนชนิด 'วี-เอช' ที่เตรียมได้ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 7 พบว่ากรดไขมัน 12:0 และ 18:0 เลือกเกิดสารเชิงซ้อนในสารละลายกับแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่แล้วจึงตกตะกอน ในขณะที่โมเลกุลของแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งขนาดเล็กที่เหลืออยู่ในส่วนเหนือตะกอนไม่เกิดสารเชิงซ้อนกับกรดไขมัน 12:0 และ 18:0 ซึ่งเมื่อนำส่วนเหนือตะกอนนี้ไปอบแห้งแล้วพบว่าให้รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์เป็นชนิด 'เอ' ตะกอนที่ได้จากสารละลายแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับกรดไขมัน 8:0 ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 3 และ 4 มีรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์เป็นส่วนผสมระหว่างชนิด 'บี' และ 'วี-เอช' และเป็นชนิด 'บี' ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 5, 6 และ 7 ซึ่งเสนอแนะว่าแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งเกิดสารเชิงซ้อนได้ดีกับกรดไขมัน 8:0 ในรูปที่ไม่แตกตัว อย่างไรก็ตามแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งสามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับกรดไขมัน 8:0 ในรูปที่แตกตัวแล้วที่ค่าความเป็นกรด-เบส 7 ได้เช่นเดียวกัน เมื่อทำให้สารละลายมีความเข้มข้นของกรดไขมัน 8:0 ที่แตกตัวสูงขึ้น

ผลที่ได้จากการศึกษาโดยวิธีเกิดสีกับไอโอดีนเสนอแนะว่าแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งสามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับกรดซาลิซัยลิคได้ จากการศึกษาการละลายของกรดซาลิซัยลิคในสารละลายอะซีเทตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส 5 พบว่ากรดซาลิซัยลิคละลายได้เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งในสารละลายเพิ่มขึ้น และความเข้มข้นของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรดซาลิซัยลิคในสารละลายนี้มีค่าคงที่ไม่น้อยกว่า 7 วัน เมื่อนำสารละลายส่วนเหนือตะกอนระหว่างแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งและกรดซาลิซัยลิคไปทำให้แห้ง แล้วนำไปศึกษารูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ พบว่าเป็นสารเชิงซ้อนชนิดที่โมเลกุลของแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งเรียงตัวเป็นเกลียวเดี่ยวประกอบด้วยกลูโคส 7 หน่วยต่อ 1 รอบเกลียว บ่งชี้ว่าแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งสามารถเกิดสารเชิงซ้อนชนิดละลายได้กับกรดซาลิซัยลิคแล้วช่วยเพิ่มการละลายของกรดซาลิซัยลิคได้ ผลที่ได้จากการศึกษาโดยวิธีเกิดสีกับไอโอดีนไม่ได้แสดงถึงการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับแอสไพริน แต่ผลจากการศึกษาการละลายของแอสไพรินในสารละลายของแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งเสนอแนะว่ามีสารเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับแอสไพรินเกิดขึ้นเล็กน้อย ในการศึกษาความคงตัวพบว่าแอสไพรินสลายตัวลดลงในสารละลายไฮดร็อกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเด็กซ์ตรินเมื่อเทียบกับการสลายตัวในสารละลายอะซีเทตบัฟเฟอร์ แต่การสลายตัวของแอสไพรินในสารละลายแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งไม่แตกต่างจากการสลายตัวของแอสไพรินในสารละลายอะซีเทตบัฟเฟอร์ ซึ่งบ่งชี้ว่าแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งไม่สามารถช่วยลดการสลายตัวของแอสไพรินได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแอสไพรินเกิดสารเชิงซ้อนกับแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

โดยสรุป แป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งแสดงศักยภาพที่ดีในการช่วยเพิ่มการละลายของกรดซาลิซัยลิคและเป็นไปได้ที่จะช่วยเพิ่มการละลายให้ยาชนิดอื่นด้วย ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งกับยาชนิดอื่นเพิ่มขึ้น รวมถึงผลในการช่วยเพิ่มการละลายและความคงตัวของยาด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่กว้างขวางขึ้นซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการพิจารณานำแป้งข้าวเหนียวที่ผ่านการตัดกิ่งไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Debranched Waxy Rice Starch–Fatty Acid Complexes and Their Pharmaceutical Applications
Author	Mr. Songwut Yotsawimonwat
Degree	Doctor of Philosophy (Pharmacy)
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Jakkapan Sirithunyalug Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Sayam Kaewvichit Member
	Assoc. Prof. Dr. Klanarong Sriroth Member

Abstract

The objectives of this study were to investigate the optimum condition for preparation of debranched waxy rice starch (DBS), to study the effect of pH on the complex formation between DBS and saturated fatty acids (FA), and to evaluate the complex formation between DBS and drugs and its potential to enhance drug solubility and stability.

An optimum condition for preparation of DBS was studied by a complete central composite design. It was found that completely debranched waxy rice starch could be prepared by incubating the gelatinized waxy rice starch (concentration not more than 10%, w/w) with pullulanase (Promozyme® 400L, Novozymes, Denmark) 45 Pullulanase Unit Novo/g of starch at pH 5, 55°C for 19 h.

The effect of pH (3-7) on the complex formation between DBS and FA (8:0, caprylic acid; 10:0, capric acid; 12:0, lauric acid; 14:0, myristic acid; 16:0, palmitic acid; and 18:0, stearic acid) was evaluated by measuring the blue color developed from the iodine complexes of the free 'DBS' remaining after forming complex with FA. Short-chain FA of 8:0 displayed decreased complex forming ability at a pH above the pKa of FA. This was attributed to that the efficiency of ionized 8:0 to partition inside the hydrophobic cavity of DBS single helices was lower than that of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

the non-ionized one. On the contrary, the complex forming abilities of FA (10:0-18:0) increased with the increase of pH at a pH above the pKa. This was attributed to that the increased solubility of FA (10:0-18:0) at ionized form provided more FA to form complex with DBS.

The X-ray diffraction (XRD) patterns of precipitants obtained from DBS/12:0 and DBS/18:0 solutions were B-type at pH 3-5 but were V_h-type at pH 7, indicating that DBS crystallized and precipitated as free 'DBS' at low pH but as DBS/FA inclusion complexes at pH 7. The molecular size distribution of the DBS present in the V_h-type DBS/FA (12:0 and 18:0) crystallites obtained at pH 7 showed that FA (12:0 and 18:0) favorably formed complex with DBS of large molecular size and precipitated. DBS of lower molecular size remaining in the supernatant did not form complex with 12:0 and 18:0 and developed A-type XRD pattern after drying. The XRD patterns of DBS/8:0 precipitants were a mixture of B- and V_h–type at pH 3 and 4 and B-type at pH 5, 6 and 7, suggesting that DBS favorably formed complex with 8:0 at a non-ionized form. However, the DBS could also form complex with ionized 8:0 at pH 7 when a higher concentration of ionized 8:0 was provided.

Iodine colorimetric results suggested that DBS was able to form inclusion complex with salicylic acid (SA). The dissolution study showed that the amount of SA dissolved in an acetate buffer solution pH 5 increased as the concentration of DBS increased and the concentrations of SA remained constant for at least 7 days. The XRD pattern of DBS/SA supernatant after drying displayed 7_1-helical complexes, indicating that DBS formed soluble inclusion complex with SA and enhanced SA solubility. The iodine colorimetric results did not reveal the complex formation between DBS and aspirin (ASA). However, the formation of a small amount of DBS/ASA complexes was suggested by the dissolution study. For the stability study, the decomposition of ASA decreased in the HPβCD solutions when compared to its decomposition in the acetate buffer solution. However, the decomposition of ASA in DBS solutions was not different from its decomposition in the acetate buffer solution, indicating that DBS could not help stabilize ASA. This might be attributed to that ASA formed a small amount of complex with DBS.

In conclusion, DBS shows a good potential for enhancing the solubility of SA and possibly some other drugs. It is highly required that the complex formation of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

DBS as well as its ability to enhance drug solubility and stability be further investigated with more variety of drugs in order to obtain more extensive information which will be advantageous for consideration of using DBS in pharmaceutical applications effectively.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved