

การเตรียมและการประเมินผลแผ่นฟิล์มปิดแผลของเจลโพลีแซคคาไรด์ จากเปลือกผลทุเรียนต่อ
การหายของบาดแผลผิวหนังบนตัวสุกร

นางสาว อรณัฐ นาคชาติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาชีวเวชเคมี ภาควิชาชีวเคมี

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2941-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I20923910

PREPARATION AND EVALUATION OF DRESSING FILM OF POLYSACCHARIDE GEL
FROM FRUIT-HULLS OF DURIAN ON WOUND HEALING IN PIG SKIN *IN VIVO*

Miss Oranuch Nakchat



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Biomedical Chemistry

Department of Biochemistry

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-2941-3

Thesis Title Preparation and Evaluation of Dressing Film of Polysaccharide Gel from Fruit-Hulls of Durian on Wound Healing in Pig Skin *in vivo*


By Oranuch Nakchat

Field of Study Biochemistry


Thesis Advisor Associated Professor Sunanta Pongsamart, Ph.D.


Thesis Co-advisor Assistant Professor Churee Pramatwinai, Ph.D.
Assistant Professor. Anudep Rungsipipat, Ph.D.


Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree



..... Dean of Faculty of Pharmaceutical Sciences
(Associated Professor Boonyoung Tantisira, Ph.D.)


THESIS COMMITTEE


..... Chairman
(Associated Professor Duangdeun Meksuriyen, Ph.D.)


..... Thesis Advisor
(Associated Professor Sunanta Pongsamart, Ph.D.)


..... Thesis Co-advisor
(Assistant Professor Churee Pramatwinai, Ph.D.)


..... Thesis Co-advisor
(Assistant Professor Anudep Rungsipipat, Ph.D.)


..... Member
(Assistant Professor Piyarat Chansiripornchai, Ph.D.)

อรนุช นาคชาติ : การเตรียมและการประเมินผลแผ่นฟิล์มปิดแผลของเจลโพลีแซคคาไรด์ จากเปลือกผลทุเรียน ต่อการหายของบาดแผลผิวหนังบนตัวสุกร (PREPARATION AND EVALUATION OF DRESSING FILM OF POLYSACCHARIDE GEL FROM FRUIT-HULLS OF DURIAN ON WOUND HEALING IN PIG SKIN /IN VIVO) อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ. ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ, อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ร่วม : ผศ.สพ.ญ.ดร.จรี ปรมัตถ์วินัย และ ผศ.น.สพ.ดร.อนุเทพ รังสีพิพัฒน์, 84 หน้า, ISBN 974-17-2941-3

เตรียมแผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของทุเรียน ในสูตรตำรับแผ่นฟิล์มปิดแผลประกอบด้วยโพรโพลีน ไกลคอล 15 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักแห้งโพลีแซคคาไรด์เจลเป็นพลาสติไซเซอร์ เตรียมเป็นแผ่นฟิล์มโดยวิธี casting/solvent evaporation ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจลและแผ่นฟิล์มโพลีแซคคาไรด์เจลที่ไม่เติม พลาสติไซเซอร์ พบว่าแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้มีลักษณะ บาง ใส สีส้มอมชมพูจาง แผ่นฟิล์มขนาด 3x3 ซม.² มีน้ำหนัก 4.42 มก/ซม.² เตรียมได้แผ่นฟิล์มมีความหนา 0.027± 0.004 และ 0.029± 0.002 ตามลำดับ การทดสอบคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มปิด แผลโพลีแซคคาไรด์เจล พบว่าแผ่นฟิล์มโพลีแซคคาไรด์เจลที่เติมพลาสติไซเซอร์ มีความอ่อน ไม่เปราะ เหนียว นำพอลิโวกว่าแผ่น ฟิล์มโพลีแซคคาไรด์เจลที่ไม่เติมพลาสติไซเซอร์ แผ่นฟิล์มสามารถพองตัวได้ 1.5 เท่าในน้ำกลั่น การศึกษาและประเมินผลการนำ แผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจลมาใช้ในการปิดรักษาบาดแผลเปิดบนผิวหนังของสุกร โดยทดลองในสุกรขุนลูกผสม เพศเมีย อายุระหว่าง 6 ถึง 8 สัปดาห์ น้ำหนักประมาณ 18 ถึง 20 กิโลกรัม ทำการผ่าตัดเปิดแผลผิวหนังกลางหลังของสุกร ขนาดเส้นผ่า ศูนย์กลางของแผล 2.45 เซนติเมตร จำนวน 5 ถึง 6 แผลต่อตัว ทำการรักษาบาดแผลแต่ละแผลแบบสุ่ม โดยแบ่งการรักษาที่แตกต่างกัน 4 วิธี คือ วิธีการรักษาที่นิยมใช้โดยใช้อายาฆ่าเชื้อ 1% โพลีโดนไฮโอดีน ทาแผล (กลุ่มควบคุม) โดยใช้แผ่นฟิล์มปิดแผล โพลีแซคคาไรด์เจลปิดบนแผล (กลุ่มทดลองที่ 1) โดยใช้อายาฆ่าเชื้อ 1% โพลีโดนไฮโอดีนทาพร้อมกับปิดทับแผลด้วยแผ่นฟิล์มปิดแผล โพลีแซคคาไรด์เจล (กลุ่มทดลองที่ 2) และโดยใช้โพลีแซคคาไรด์เจลที่เตรียมในรูปตำรับเจลทาแผล (กลุ่มทดลองที่ 3) ตามลำดับ ทุกแผลปิดทับด้วยผ้าก๊อซ จากนั้นทำการเปิดแผล ตรวจสอบสภาพของบาดแผลทุก 3 วันหลังผ่าตัด คือวันที่ 3 6 9 12 15 และ 18 พบว่า ในวันที่ 12 ของการทดลอง บาดแผลที่รักษาด้วยแผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจล และ แผลที่รักษาด้วยยาฆ่าเชื้อ 1%โพลีโดนไฮโอดีนทาแผลร่วมกับปิดทับแผลด้วยแผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจล มีผลช่วยให้แผลปิดเร็วและมีขนาดของ แผลเหลืออยู่เล็กกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เทียบกับแผลที่รักษาด้วยวิธีในกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มทดลองที่ 3 แผลที่รักษาด้วยแผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจลแสดงการปิดของปากแผลสมบูรณ์ 100% ในวันที่ 18 ของการทดลอง ในขณะที่ แผลที่รักษาด้วยยาฆ่าเชื้อ 1% โพลีโดนไฮโอดีนทาแผลร่วมกับปิดทับแผลด้วยแผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจล ที่รักษาด้วย โพลีแซคคาไรด์ที่เตรียมในรูปตำรับเจล หรือ ที่รักษาด้วยยาฆ่าเชื้อ 1% โพลีโดนไฮโอดีน ทาแผล แสดงให้เห็นว่ามีกรปิดของปาก แผลได้ 91.67% 90.00% และ 68.75% ตามลำดับ การประเมินผลทางจุลพยาธิวิทยาของแผลที่หาย พบว่าแผลที่รักษาด้วย แผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจล ไม่พบหรือมีระดับเบาบางของจำนวนเซลล์อักเสบกึ่งเฉียบพลันชนิด นิวโทรฟิล และ เซลล์ มาโครฟาจ และ เซลล์อักเสบเรื้อรังแทรกตัวอยู่ในชั้นผิวหนังแท้ในระดับเบาบาง พบการเจริญแบ่งตัวของเซลล์อิพิที่เรียลอยู่ใน ระดับเบาบางถึงปานกลาง พบจำนวนเซลล์ไฟโบรบลาสต์อยู่ในระดับเบาบาง และปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ เกิดน้อยที่สุดโดยไม่พบหรือมีเบาบางของการเกิดแกรนูโลมาในชั้นผิวหนังแท้ ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการรักษาบาดแผลเปิด โดยใช้แผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจล หรือ ใช้ 1% โพลีโดนไฮโอดีนร่วมกับใช้แผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจล ทำให้ แผลหายเร็วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบเซลล์อักเสบเรื้อรังเบาบางแทรกอยู่ในชั้นผิวหนัง เซลล์ไฟโบรบลาสต์พบในระดับเบาบาง และการเกิดแกรนูโลมามีเบาบางหรือไม่พบ ผลการศึกษาแนะนำว่าแผ่นฟิล์มปิดแผลโพลีแซคคาไรด์เจลสามารถนำมารักษาบาด แผลเปิดได้ผลนำพอลิโวกว่าวิธีการรักษาที่นิยมใช้ทั่วไป

ภาควิชา.....ชีวเคมี.....
สาขาวิชา.....ชีวเวชเคมี.....
ปีการศึกษา.....2545.....

ลายมือชื่อนิสิต.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4476636233 : MAJOR BIOMEDICINAL CHEMISTRY

KEY WORDS : *Durio zibethinus* L. / DURIAN / POLYSACCHARIDE GEL FILM / WOUND HEALING / PIG

ORANUCH NAKCHAT : PREPARATION AND EVALUATION OF DRESSING FILM OF POLYSACCHARIDE GEL FROM FRUIT - HULLS OF DURIAN ON WOUND HEALING IN PIG SKIN *IN VIVO*. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUNANTA PONGSAMART, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASST.PROF. CHUREE PRAMATWINAI, Ph.D., AND ASST.PROF. ANUDEP RUNGSIPIPAT, Ph.D., 84 pp. ISBN 974 -17-2941-3

The polysaccharide gel (PG) dressing film was prepared from polysaccharide gel extract from fruit-hulls of durian, propylene glycol at 15%w/w based on PG was used in film formulation as a plasticizer in PG dressing film formulation. The PG dressing film was prepared by a casting/solvent evaporation method. The physical properties of PG dressing film was evaluated. The PG dressing films were pale beige, transparent thin films. Films of 3x3 cm² size, 4.42 mg/cm² of weight were 0.027±0.004 mm and 0.029±0.002 mm of thickness in PG dressing film and PG film without plasticizer, respectively. The mechanical properties of PG dressing films were investigated. The PG dressing film with plasticizer showed a satisfactory film in term of softness and toughness better than that of PG film without plasticizer. PG dressing films were swelled 1.5 fold in distilled water. Application of PG dressing films in full-thickness wound in skin of pigs were evaluated. Young female, cross-bred pigs, weighing 18 to 20 kgs, ranging in age from six to eight weeks were used in this study. Five to six full-thickness excisional wounds 2.45 cm in diameter were operated on the dorsal area in each pig. Wounds were randomly divided into 4 groups. Wounds in group 1 were treated with standard method by applying 1% povidone iodine (control) and wounds in group 2, 3, and 4, were treated with PG dressing film (treatment 1), 1% povidone iodine and covered with PG dressing film (treatment 2) and PG dressing gel (treatment 3), respectively. The wounds were examined for wound performance of wound healing on days 3, 6, 9, 12, 15 and 18 postoperative days. The results demonstrated that the wounds treated with PG dressing film or applying 1% povidone iodine and covered with PG dressing film clearly showed statistic significantly rapid wound closure and smaller wound area (p<0.05) than that of control or treatment 3 on days 12. Wounds treated with PG dressing films showed 100% complete wound closure on days 18, whereas wound treated with 1% povidone iodine and covered with PG dressing film, PG dressing gel or 1% povidone iodine (control) showed 91.67%, 90.00% and 68.75% of complete wound closure, respectively. On days 18, skin samples from each wound were histologically studied of tissue reaction. The results represented that PG dressing film treated wounds showed no remarkable lesion to mild number of subacute inflammatory cells such as PMNs and macrophages, mild chronic inflammatory cells aggregated in dermal layer, mild to moderate epidermal proliferation, the least fibroblast cells and the least tissue reaction represented by no remarkable lesion granuloma formation in dermal layer. The results indicated that PG dressing film or 1% povidone iodine covered with PG dressing film treated wounds were rapidly healed significantly, mild score of chronic inflammatory cells aggregated in dermal layer, mild fibroblasts and no remarkable lesion to mild dermal granuloma formation. The results suggest that PG dressing film can be satisfactory used for treatment of open wounds better than the conventional or traditional treatment.

Department... ..Biochemistry.....

Field of study....Biomedical Chemistry..

Academic year.....2002.....

Student's signature.....

Advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere gratitude and appreciation to my advisor, Associated Professor Dr. Sunanta Pongsamart for her kindness, helpful, in valuable advice, excellent supervision, and encouragement which enable me to carry out my thesis successfully.

I wish to express my grateful thank to my thesis co-advisor, Assistant Professor Dr. Churee Pramatinai, Department of Veterinary Surgery, and Assistant Professor Dr. Anudep Rungsipipat, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, for their kindness, valuable advice, and helpful suggestion for this research.

My special thanks to Assistant Professor Dr. Piyarat Chansiripornchai, Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University for her helpfulness and her suggestion a good idea for my thesis.

My sincere gratitude are extension to Dr. Pasakorn Birksawan, Dr. Kiatpichet Komin, and Dr. Suwicha Chutatep, Department of Veterinary Surgery, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University for their helpful in wounds operating.

I would like to thanks Dr. Weerasak Sada, Livestock animal hospital for his medical practice in wound operating and treating throughout the experiment.

I also would like to thank the Department of Computer Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University for providing computer graphic analysis program.

Finally, I gratefully acknowledge to Mr.Supradit Wangnaitam, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, all staff members and my classmate of Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for their assistance and great encouragement.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT (Thai).....	iv
ABSTRACT (English).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	ix
ABBREVIATIONS.....	x
CHAPTER	
I. GENERAL BACKGROUND.....	1
II. METHODS.....	22
III. RESULTS.....	35
IV. DISCUSSION AND CONCLUSION.....	66
REFERENCES.....	73
APPENDICES.....	79
VITA.....	84

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table	Page
1. Cytokine that affect wound healing.....	11
2. The factors that affect wound healing.....	15
3. Wound dressing modified from Cohen <i>et al.</i> , 1999.....	21
4. The procedure for tissue processing in automatic tissue processor.....	30
5. The viscosity and pH properties of PG aqueous mixture and mixture of PG with plasticizer.....	37
6. A comparison of mechanical properties of PG film and PG dressing film with and PG film with plasticizer.....	42
7. A comparison of mechanical properties of PG film and PG dressing film with plasticizer after sterilized by hot air oven at 120°C for 1 hr.....	43
8. A comparison of mechanical properties of PG film and PG dressing film with plasticizer after sterilized by autoclave at 121°C, 15 lb/in ² for 15 min..	44
9. Wound closure rate of full-thickness wounds in skin of pigs after treated with PG preparations on 18 days.....	54
10. Rate of wound closure of full-thickness wound of pigs skin after treated with PG preparations on 18 days.....	56
11. Blind analysis of histopathological section in skin of pigs after 18 days treatment with PG dressing preparations.....	59

ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. The structures of skin composed of 3 layers; epidermis, dermis and subcutaneous layer.....	6
2. Three overlapping phases of wound repair: inflammation , proliferation and maturation.....	9
3. Schematic represented Winter's moist wound healing thesis.....	14
4. Wound operation and treatment.....	27
5. Hematoxylin and Eosin (H&E) staining chart.....	32
6. Polysaccharide gel (PG) powder isolated from dried fruit-hulls of durian.....	36
7. PG dressing film prepared from polysaccharide gel isolated from fruit-hulls of durian.....	40
8. PG dressing gel prepared from polysaccharide gel isolated from fruit-hulls of durian.....	41
9. Swelling property of PG film in distilled water.....	46
10. The wound appearance on day 3.....	47
11. The wound appearance on day 6.....	48
12. The wound appearance on day 9.....	50
13. The wound appearance on day 12.....	51
14. The wound appearance on days15.....	52
The wound appearance on day 18.....	53
16. A comparison of wound areas (mean \pm SEM) of full-thickness wounds in skin of pig at every 3 day interval for 18 days of treatment with PG dressing preparation.....	58
17. Photomicrographs of epidermal hyperplasia and hyperkeratosis of the wounds	60
18. Photomicrographs of subacute dermatitis of the wounds.....	62
19. Photomicrographs of chronic dermatitis of the wounds.....	63
20. Photomicrographs of dermal fibrosis of the wounds.....	64
21. Photomicrographs of dermal granuloma of the wounds.....	65

ABBREVIATIONS

°C	degree celsius (centigrade)
cm	centimetre (s)
cv.	cultivar
d	day (s)
DW	deionized water
e.g.	exempli gratia, for example
<i>et al.</i>	et alii, and others
g	gram (s)
hr	hour
hrs	hours
IL-1	interleukin one
in ²	square inch (s)
kg	kilogram (s)
KN	kilonewton (s)
L	litre (s)
lb/in ²	pound per square inch (es)
LSD	least significant difference
m ²	square metre (s)
min	minute (s)
ml	millilitre (s)
mm	millimetre (s)
mm ²	square millimetre (s)
µm	micrometre (s), micron (s)
Mpa	megapascal (s)
mPa's	milliPascal seconds
n	number
nm	nanometre (s)
PDGF	platelet-derived growth factor
POD	postoperative days
%	percentage

pH	the negative logarithm of hydrogen ion concentration
PMNs	polymorphonuclear leucocytes
SD	standard deviation
sec	second (s)
SEM	standard error of mean
T ₁	treatment 1
T ₂	treatment 2
T ₃	treatment 3
TGF- β	transforming growth factor beta
TNF- α	tumor necrosis factor alpha
U.S.	United State
UV	ultraviolet
vs	versus
w/w	weight by weight



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย