

616.86506

ย1267

บริจาค

การพัฒนาและการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินสำหรับใช้บำบัดการอดบุหรี่
(ระยะเวลาที่ 2)

The Development and Production of Nicotine Gum for Use in Smoking Cessation Therapy
(The Second Period)



กุมภาพันธ์ 2550

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก

งบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โครงการวิจัยไม่กำหนดทิศทาง ปี 2548-2549

S 353031

ประกาศคุณูปการ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยคำแนะนำ และให้ความอนุเคราะห์อย่างดีจากคณะผู้วิจัย และ ศาสตราจารย์ ดร.วิรุณ ตั้งเจริญ อธิการบดี และศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมเกียรติ วัฒนศิริชัยกุล ผู้ช่วยอธิการบดีฝ่ายวิชาการ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ช่วยสนับสนุน แหล่งเงินทุนงบประมาณเงินรายได้ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒมาโดยตลอด คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริยุพา พูลสวัสดิ์ ผู้อำนวยการโครงการหน่วยบ่มเพาะวิสาหกิจ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และ อาจารย์ ณัฐพรพร เมตตาสัตย์ แห่งหน่วยบ่มเพาะวิสาหกิจ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และการดำเนินการจดทะเบียนสิทธิบัตรและเครื่องหมายการค้าตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในทุกขั้นตอนของการศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

ขอกราบขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ธนาคารเลือดโรงพยาบาลเจ้าพระยายมราช จังหวัดสุพรรณบุรี กรุณาบริจาคโลหิต และ รท.หญิง เพ็ญทิศา นรินทรางกูร ณ อยุธยา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเจาะโลหิตตลอดจนเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ได้ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และขอขอบคุณ อำนวยความสะดวกและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณา และขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

รศ.ดร.ยงยุทธ ตันกุลเวสส
หัวหน้าโครงการวิจัย

ยงยุทธ ตันฑุลเวสส วราดุล ฉัตรทอง สถาพร นิยมกุลรัตน์ (2550). การพัฒนาและ การผลิต
หมากฝรั่งผสมนิโคตินสำหรับใช้บำบัดการอดบุหรี่ปริญาณิพนธ์ (ระยะ ที่ 2)

การวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อนำนิโคตินที่สกัดได้จากธรรมชาติมาผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินเพื่อ
ใช้ในการบำบัดผู้ที่ติดบุหรี่และหาชนิดของเรซินในหมากฝรั่งที่มีสมบัติออกฤทธิ์เนิ่นหรือค่าแฟคเตอร์
ร้อยละออกฤทธิ์เนิ่นของการปลดปล่อยสารนิโคตินในการผลิตหมากฝรั่งและ ศึกษาชีวสมมูลของหมาก
ฝรั่งสูตรที่มีปริมาณนิโคตินผสมอยู่ สูตร 2 mg/ 1 กรัม กัมเบส และติดตามปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่ง
สูตร 2 mg/ 1 กรัม กัมเบส และสูตร 4 mg/ 1 กรัม กัมเบส ตลอดระยะเวลา 12 เดือน การวิจัยนี้ใช้
reverse phase(C-18) และใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่แบบบัฟเฟอร์ pH 5.05 อัตราการไหล
0.9ml/min ตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดอัลตราไวโอเล็ต-ฟลูออโรเมตเตอร์ พบค่ารีเทนชันไทม์ของนิโคตินในหมาก
ฝรั่งผสมนิโคตินและนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร เท่ากับ 5.0 นาที ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
ระหว่าง 0.9958-0.9999 ค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธี ระหว่าง 73.81 – 122.51 และความสามารถของ
วิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด เท่ากับ 0.0321-0.0061 µg/mL

ผลการศึกษาค่าร้อยละออกฤทธิ์เนิ่นของการปลดปล่อยสารนิโคตินจากเรซินชนิดต่างๆพบว่า
เรซิน Nicotine Polyestex ให้ค่าร้อยละการปลดปล่อย ก่อนเติมและหลังเติมสารละลาย 0.1 M
Na₂CO₃ มีค่าร้อยละ 18.089 และ 14.0 เมื่อเปรียบเทียบกับ Nicotine Polacrilix มีค่าร้อยละ 25.1
และ 17.6 ตามลำดับ ผลการติดตามปริมาณของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 mg/ 1 กรัม
กัมเบส และสูตร 4 mg/ 1 กรัม กัมเบส ตลอดระยะเวลา 12 เดือน มีค่าเฉลี่ย 1.4012 และ 2.633
มิลลิกรัม การหาอายุของผลิตภัณฑ์ ในหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 2mg/1 กรัม กัมเบสเพื่อเป็นยา
ต้นแบบที่ขอขึ้นทะเบียนเป็นยาที่ป่ม ณ อุณหภูมิ 45°C ± 2°C เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าค่าเฉลี่ย
นิโคติน 1.7625 mg/ 1 กรัม กัมเบส คิดเป็นร้อยละ 86.6475 ก่อนการป่ม ผลการศึกษาชีวสมมูล
ของหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 mg/ 1 กรัม กัมเบส ในอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง จำนวน 12
ราย อัตราการดูดซึมนิโคตินภายหลังการเสพ (rate of nicotine absorption, ng/min) มีค่าเท่ากับ 0,
75.7066, 34.1535 และ 23.6125 ที่ระยะเวลา 0 15 30 และ 40 นาที ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ
หมากฝรั่ง Nicorette มีค่า 0, 45.2066, 21.8333 และ 15.1835 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบ
ค่าเฉลี่ยอัตราการดูดซึมสูงสุดระหว่างหมากฝรั่ง SWU และ Nicorette ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติที่ระดับสูงมาก ($\alpha=0.005$)

การศึกษาค้นคว้าสามารถนำไปจดสิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า 2 ฉบับ คือ ทะเบียนข้อมูล
เลขที่ อก.3190 สูตรหมากฝรั่งผสมนิโคติน(แบบมีน้ำตาล) และ อก.3191 สูตรหมากฝรั่งผสมนิโคติน
(แบบไม่มีน้ำตาล)ภายใต้เครื่องหมายการค้า "NICOMILD" และผลการคำนวณความเป็นไปได้ในเชิง
พาณิชย์อยู่ในระดับที่สามารถลงทุนได้

Yongyuth Tundulawessa Varadul Chattong and Stapron Nimgulrust (2007).

The Development and Production of Nicotine Gum for Use in Smoking Cessation Therapy
(The Second Period)

The purpose of this research was to produce the natural extracted nicotine gum for case in smoking cessation therapy and type of sustained releasing property or percentage of sustained releasing factor of resins to produce chewing gums. The bioequivalent study of nicotine chewing gum type 4mg/1g gum base and the monitoring of nicotine contents in our 2 types of nicotine gum; 2mg/1g gum base and 4mg/1g gum base among 12 months. This method using reverse phase (C-18) and buffer pH 5.05 as mobile phase, flow rate 0.9 mL/min, The UV-visible detector found the retention time of nicotine in gum and volunteer blood 5.0 min. The correlation coefficient (r) between 0.9958-0.9999, range of percent recovery 73.81-122.51 and the detection limit 0.0321-0.0061µg/mL.

The study of percentage of sustained releasing factor of various resins found that the Nicotine Polyestex none and added of 0.1 M Na₂CO₃ were 18.089 % and 14.0 % ,compared with the Nicotine Polacrilex were 25.1 % and 17.6 % respectively. the monitoring of nicotine contents in our 2 type of nicotine gum among 12 months was 2mg/1g gum base and 4mg/1g gum base found 1.4012 and 2.633 mg. The Pre-study of Self-life or satability of nicotine chewing gum type 2 mg/1 g gum base by incubating at 45°C ± 2°C , 6 months retained 86.6475% of nicotine (1.7625 mg/1 g gum base) The bioequivalent about rate of nicotine absorption (ng/min) in 12 strong volunteers were treated with our nicotine gum type 4 mg/1 g gum base found 0, 75.7066, 34.1535 and 23.6125 at 0, 15, 30 and 40 minutes compared with Nicorette 0, 45.2066, 21.8333 and 15.1835 respectively and the mean of the highest rate of nicotine absorption among of them were not the highly significant (α= 0.005).

The results of this study able to be the two patents of smokeless gum in The brand name of "NICOMILD", Number of registers are ๑๓.3190 (non sugar free) and ๑๓.3191 (sugar free). The feasibility of the products found in the level able to be done.

สารบัญ

บทที่	หน้า
1. บทนำ	1
1.1 ภูมิหลัง.....	1
1.2 ความมุ่งหมายในการวิจัย.....	2
1.3 ความสำคัญของการวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
คำนิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 องค์ประกอบทางเคมีของไบยาซูบ.....	5
2.2 ฤทธิ์ของยา.....	6
2.3 การดูดซึมและการขับถ่าย.....	7
2.4 สารปรุงแต่งในบุนหรี.....	10
2.5 สารพิษจากการเผาไหม้บุนหรี.....	10
2.6 ยานชนิดใหม่ที่ใช้ในการอดบุนหรี.....	10
2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี.....	12
2.8 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ สมรรถนะสูง.....	14
3. วิธีดำเนินการวิจัย.....	17
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	17
3.2 การสกัดนิโคตินจากไบยาซูบ.....	18
3.3 ค่าแฟคเตอร์ร้อยละออกฤทธิ์เนิ่นของการปลดปล่อยสารนิโคตินของ เรซินชนิดต่างๆในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน.....	19
3.4 กระบวนการผลิตหมากฝรั่ง.....	20
3.5 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน.....	21
3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน.....	24

3.7	การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร.....	25
3.8	การศึกษาชีวสมมูล.....	25
3.9	สถิติที่ใช้ในงานวิจัย.....	26
3.10	ขั้นตอนการขอจดสิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า และเครื่องหมายการค้า	27
3.11	การคำนวณต้นทุนความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์.....	30
4.	ผลการวิจัย.....	32
4.1	การศึกษากัดนิโคตินจากใบยาสูบ.....	32
4.2	ค่าแฟคเตอร์ร้อยละออกฤทธิ์เน้นของการปลดปล่อยสารนิโคตินของ เรซินชนิดต่างๆในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน.....	37
4.3	กระบวนการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน.....	38
4.4	การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินและความ คงทนหรืออายุของผลิตภัณฑ์.....	38
4.5	การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร : การศึกษา ชีวสมมูล.....	51
4.6	สิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า และเครื่องหมายการค้า.....	54
4.7	ความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์.....	54
4.8	การขอใบสำคัญการขึ้นทะเบียน ตำรับยาแผนปัจจุบัน (ผลิต).....	55
5.	สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	57
5.1	ข้อเสนอแนะ.....	57
	บรรณานุกรม.....	62
	ภาคผนวก.....	65
	ภาคผนวก ก	66
	ภาคผนวก ข	78
	ประวัติย่อผู้วิจัย.....	80

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 สภาวะของเครื่อง, ร้อยละการกลับคืนและ limited of detection ของเทคนิค HPLC.....	16
2 ปริมาณนิโคตินที่สกัดได้จากใบยาสูบ 50 กรัม (n=5).....	32
3 ค่าแฟคเตอร์ร้อยละออกฤทธิ์เนิ่นของการปลดปล่อยสารนิโคตินของเรซินชนิดต่างๆ ในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน.....	37
4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20 µg/mL.....	42
5 ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n=5).....	44
6 ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n=5)	45
7 ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 mg และ 4 mg/1 g gumbase ที่เดือนต่างๆ	47
8 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของนิโคตินที่พบในหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตรความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส	50
9 การเปรียบเทียบอัตราการดูดซึมปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครก่อนหาที่ (การศึกษาชีวสมมูล)	51
10 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่อัตราการดูดซึมสูงสุดหาที่ที่ 15	53

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 โครงสร้างของนิโคตินในรูปแบบต่างๆ.....	1
2 แสดงความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิต ในช่วงระหว่างการสูบบุหรี่และหลังการสูบบุหรี่ การพ่นทางปากและจมูก การเคี้ยวใบยาสูบ และการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 mg/ชิ้น จำนวน 2 ชิ้น).....	7
3 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการดูดซึมนิโคตินโดยหลังจากเสพนิกโคติน 4 วิธี คือ การสูบบุหรี่ การพ่นทางปากและจมูก การเคี้ยวใบยาสูบ และการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 mg/ชิ้น จำนวน 2 ชิ้น).....	8
4 โครงสร้างโมเลกุลของนิโคติน และเมทาบอลไลท์.....	9
5 สเปกตรัม IR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ.....	33
6 H^1 -NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ.....	34
7 การขยายสัญญาณ H^1 -NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ.....	35
8 C^{13} -NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ.....	36
9 โครมาโทแกรมของสารละลาย blank HCl ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	39
10 โครมาโทแกรมของสารละลาย blank plasma ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	39
11 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 5 μ g/mL ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	40
12 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 10 μ g/mL ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	41
13 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 15 μ g/mL ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	41
14 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 20 μ g/mL ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	42
15 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ที่ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 μ g/mL.....	43

บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
16 โคโรมาโทแกรมของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ความเข้มข้นความเข้มข้น 2 mg/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	46
17 โคโรมาโทแกรมของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ความเข้มข้นความเข้มข้น 4 mg/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	46
18 โคโรมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	52
19 กราฟอัตราการดูดซึมนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่เวลา 0 ,15 ,30 และ 40 นาที.....	54
20 หมากฝรั่งผสมนิโคติน เครื่องหมายการค้า nicorette สูตร 2 mg/1 กรัม กัมเบส.....	66
21 หมากฝรั่งผสมนิโคติน SWU สูตร 2 mg/1 กรัม กัมเบส.....	66
22 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ นิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 µg/mL.....	67
23 โคโรมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนเคี้ยวหมากฝรั่งผสม นิโคตินสูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	68
24 การขยายสัญญาณโคโรมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนเคี้ยว หมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	68
25 โคโรมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสม นิโคตินสูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบส 15 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	69
26 การขยายสัญญาณโคโรมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยว หมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบส 15 นาที ตรวจวัดที่ความยาว คลื่น 259 นาโนเมตร.....	69

บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
27 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบลส 30 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	70
28 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบลส 30 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	70
29 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบลส 40 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	71
30 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบลส 40 นาที ตรวจวัดที่ ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	71
31 หนังสือรับรองการแจ้งข้อมูลทางการค้า.....	72
32 หนังสือรับรองเครื่องหมายการค้า "นิโคมายด์ (NICOMILD)".....	73
33 ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับยา แผนปัจจุบัน (ผลิต) เลขทะเบียนที่ 1A 427/29.....	74
34 ภาพหมากฝรั่งนิโคติน ที่ผลิตในโครงการระยะที่ 1.....	75
35 ภาพหมากฝรั่งนิโคติน ที่ผลิตในโครงการระยะที่ 2.....	76
36 บันทึกข้อความการลงนามในบันทึกข้อตกลง เรื่องตัวแทนผลิตและจำหน่ายหมากฝรั่ง.....	77

บทที่ 1

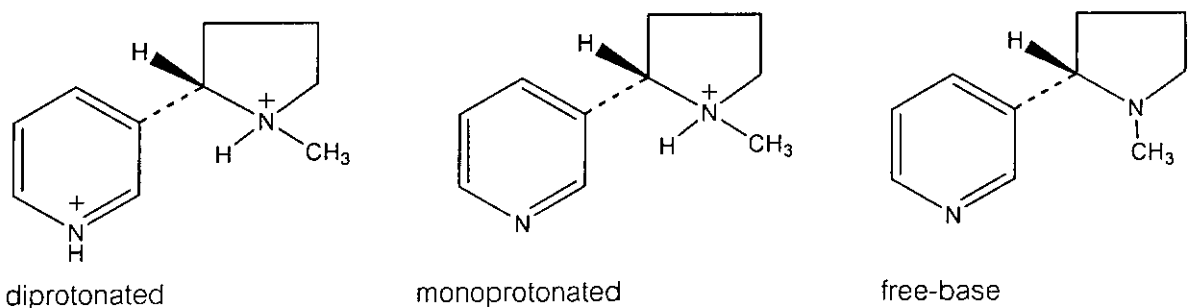
บทนำ

ภูมิหลัง

บุหรี่เป็นสารเสพติดชนิดหนึ่งผลิตจากใบยาสูบ ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Nicotiana tabacum* Linn. (เต็ม สมิตินันท์. 2523 : 241) เมื่อมีการสูบบุหรี่ สารนิโคตินในบุหรี่จะผ่านเข้าสู่ปอดโดยตรงและถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วเข้ากระแสโลหิตไปยังหัวใจ หลังจากนั้นหัวใจจะสูบฉีดโลหิตไปยังสมองทันทีภายใน 7 - 10 วินาที หลังจากการสูบบุหรี่และมีความเข้มข้นในโลหิตสูงสุดภายใน 5 นาที (บุหรี่ 1 มวนมีสารนิโคตินอยู่ประมาณ 1 - 2 มิลลิกรัม) สารนิโคตินจะแพร่ผ่าน blood brain barrier โดยกระบวนการ 2 กระบวนการ (Jacob; & Fehr. 1987) คือ การแพร่แบบกระแสน้ำ และการขนส่งกัมมันต์ เมื่อสารนิโคตินเข้าไปในสมองจะจับกับ nicotinic receptor บน ventral tegmental area (VTA) ใน mesolimbic pathway ทำให้ Na^+ channel ปิด และกระตุ้นให้หลังสารสื่อประสาทต่างๆ ได้แก่ acetylcholine (Ach) norepinephrine (NE) dopamine serotonin glutamate และ B-endorphine

นิโคตินจัดเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ และสามารถสกัดได้จากพืชใน Genus *Nicotiana* หลาย species แต่ส่วนมาก species ที่พบนิโคตินมากที่สุดคือ *Nicotiana tabacum*. ซึ่งสารนิโคตินในบุหรี่ยังนั้นทำให้ผู้สูบบุหรี่รู้สึกเป็นสุขและต้องการที่จะได้รับสารนิโคตินเพิ่มมากขึ้น การสูบบุหรี่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ มากมาย เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจตีบตัน โรคถุงลมโป่งพอง มะเร็งปอด โรคหลอดเลือดสมองตีบตัน และโรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว (arteriosclerosis) เป็นต้น (Jacob; & Fehr.1987)

โครงสร้างโมเลกุลของนิโคตินมี 3 รูป คือ diprotonated monoprotanated free-base ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพประกอบ 1



ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของนิโคตินในรูปแบบต่างๆ(Pankow, et al.1997: 2829)

รายงานผลการวิจัยของมหาวิทยาลัยแพทย์ ในประเทศฮ่องกง พบว่า ทารกที่อยู่ในครอบครัวที่มีคนสูบบุหรี่ตั้งแต่ 2 คนขึ้นไป มีโอกาสจะต้องเข้ารับการรักษาอาการเจ็บป่วยในโรงพยาบาลมากกว่าเด็กที่เติบโตในที่ไม่มีผู้สูบบุหรี่ถึงร้อยละ 30 เนื่องจากเด็กเหล่านี้ได้รับสารพิษจากควันบุหรี่ตามไปด้วย และเด็กเหล่านี้ส่วนใหญ่มีปัญหาที่ระบบทางเดินหายใจ และงานวิจัยยังพบอีกว่า ทารกที่เกิดจากแม่ที่ได้รับควันบุหรี่เป็นประจำในระหว่างที่ตั้งครรภ์ เด็กที่เกิดมามีโอกาสเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลมากกว่าเด็กที่คุณแม่ไม่ได้รับควันบุหรี่เลยในระหว่างตั้งครรภ์ร้อยละ 18-26 (ทวิศิศิลป์ วิษณุโยธิน. 2547)

จากผลการสำรวจพฤติกรรมกรรมการสูบบุหรี่ของประชากรของสำนักงานสถิติแห่งชาติ ในเดือนเมษายน 2547 พบว่า มีประชากรที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไปทั่วประเทศ 49.4 ล้านคน เป็นผู้สูบบุหรี่จำนวน 11.3 ล้านคน (ร้อยละ 23.0) เป็นผู้สูบบุหรี่ประจำหรือทุกวัน ประมาณ 9.6 ล้านคน (ร้อยละ 20.0) และผู้ที่สูบบุหรี่นานๆครั้ง ประมาณ 1.4 ล้านคน (ร้อยละ 2.8) โดยจำนวนผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำในปี 2547 เพิ่มขึ้นจาก ปี 2544 ประมาณ 0.4 ล้านคน และจากจำนวนผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำที่อายุ 15 ปีขึ้นไป ประมาณ 9.6 ล้านคนนั้นเป็นผู้ชาย 9 ล้านคน และเป็นผู้หญิง 0.6 ล้านคน และยังพบอีกว่า ร้อยละ 88.1 ของผู้สูบบุหรี่เป็นประจำมีการสูบบุหรี่ขณะอยู่ในบ้านกับสมาชิกในครอบครัว (ทวิศิศิลป์ วิษณุโยธิน . 2548)

อายุเฉลี่ยการเริ่มสูบบุหรี่ที่พบในปี 2547 คือ 18.4 ปี โดยผู้ชายเริ่มสูบเมื่ออายุเฉลี่ย 18.2 ปี ผู้หญิงเริ่มสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 21.7 ปี ส่วนอายุเฉลี่ยของผู้ที่เลิกสูบบุหรี่นั้น ในปี 2547 พบว่า อายุเฉลี่ยของผู้เลิกสูบบุหรี่คือ 41.8 ปี โดยผู้ชายเลิกสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 41.4 ปี และผู้หญิงเลิกสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 46.1 ปี ในขณะที่ปี 2542 อายุเฉลี่ยของผู้เลิกสูบบุหรี่ คือ 41.4 ปี โดยผู้ชายเลิกสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 40.8 ปี และผู้หญิงเลิกสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 46.8 ปี (ทวิศิศิลป์ วิษณุโยธิน . 2548)

ดังนั้นการเลิกสูบบุหรี่จึงเป็นการลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ทั้งยังช่วยลดความสูญเสียในด้านสุขภาพและค่าใช้จ่ายทางสาธารณสุข (health expenditure) ของผู้สูบบุหรี่และบุคคลที่อยู่รอบข้างอีกด้วย ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินสำหรับใช้ในการบำบัดสำหรับผู้ติดบุหรี่โดยศึกษาอายุความคงทนของหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตขึ้น ซึ่งกระทำได้โดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินและค่าชีวสมมูลในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินสำหรับใช้ในการบำบัดผู้ติดบุหรี่
2. เพื่อศึกษาการดูดซึมนิโคตินจากหมากฝรั่งภายหลังที่เวลาต่างๆ กัน
3. เพื่อศึกษาความทน (stability) ของผลิตภัณฑ์ เพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนเป็นยา

4. เพื่อศึกษาชีวสมมูล (Bioequivalence) ของหมากฝรั่งนิโคตินในอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรงเพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนเป็นยา
5. เพื่อจดสิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า และเครื่องหมายการค้า
6. ศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานและความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์ในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน
2. ทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินตลอดระยะเวลา 1 ปี
3. ทำให้ทราบชีวสมมูล(bioequivalence) ของหมากฝรั่งผสมนิโคตินในอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง
4. ทำให้ได้สิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า และเครื่องหมายการค้า

ขอบเขตของการวิจัย

1. ผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินต้นแบบเพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนเป็นยา
2. ติดตามปริมาณนิโคตินในเลือดของอาสาสมัคร ก่อนและหลังจากการเคี้ยวหมากฝรั่งนิโคตินเพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนเป็นยา
3. ติดตามปริมาณการเปลี่ยนแปลงนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินตลอดระยะเวลา 1 ปี และความคงทน (stability) ของผลิตภัณฑ์เพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนเป็นยา
4. เพื่อจดสิทธิบัตรข้อมูลความลับทางการค้า และขอขึ้นทะเบียนเป็นยา
5. ข้อมูลพื้นฐาน ที่เป็นแบบจำลองในการคำนวณต้นทุนการผลิตในเชิงพาณิชย์

คำนิยามศัพท์เฉพาะ

1. กัมเบส(gum base) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมซึ่งประกอบด้วย สไตรีน-บิวทอะไดอิน รับเบอร์ (food grade) waxes พาราฟิน เรซิน พลาสติกไฮเซอร(เลซิติน) สารต้านอนุมูลอิสระ (butylated hydroxyanisole)
2. ชีวสมมูล (bioequivalence) หมายถึง การติดตามความเข้มข้นของนิโคตินในพลาสมา ก่อนและหลังจากการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ที่องค์การเภสัชกรรมรับรองกับผลิตภัณฑ์จากการวิจัยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยนำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. องค์ประกอบทางเคมีของไบยาสูบ
2. ฤทธิ์ของยา
3. การดูดซึมและการขับถ่าย
4. สารปรุงแต่งในบุหรี่
5. สารพิษจากการเผาไหม้ในบุหรี่
6. ยาชนิดใหม่ที่ใช้ในการอดบุหรี่
7. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี
8. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

1. องค์ประกอบทางเคมีของไบยาสูบ

ในการเผาไบยาสูบทำให้เกิดสารประกอบประมาณ 4,000 ชนิด(สุวรรณณี จรรยาพูน . 2546) คำนวณที่ก่เกิดขึ้นสามารถแยกได้เป็น 2 ภูมิภาค ได้แก่ ภูมิภาคแก๊ส และภูมิภาคของอนุภาคมูลสาร องค์ประกอบจากการสูบบุหรี่แท้จริง ไม่เพียงแต่ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของไบยาสูบเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับกระบวนการบรรจุว่ามีความหนาแน่นเพียงใด ความยาวคอลัมน์ของไบยาสูบ ลักษณะของตัวกรอง และกระดาษ และอุณหภูมิที่ใช้เผาไหม้ไบยาสูบ

องค์ประกอบของภูมิภาคแก๊สจะให้ผลที่ไม่พึงประสงค์ ได้แก่ แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ ไฮโดรเจนไซยาไนด์ ไฮสสารประกอบซัลเฟอร์ในไทรล์ ไดไนโตรซามีน สารประกอบที่มีไนโตรเจน ไฮไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์ คีโตนและอัลดีไฮด์

องค์ประกอบของอนุภาคมูลสาร(อรรวรรณ หุ่นดี . 2542) ได้แก่ นิโคติน, น้ำ และน้ำมันดิน คือ สิ่งที่ยังคงเหลืออยู่จากการไล่ความชื้น และแยกนิโคตินออกแล้ว ประกอบด้วยพอลิอะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน(polycyclic aromatic hydrocarbons) ในบางส่วนมีรายงานว่าเป็นสารก่อมะเร็งเช่น ไนโตรซามีน (nitrosamines) และอะโรมาติกเอมีน (aromatic amines) อนุภาคของสารที่ไม่เป็นไอเหล่านี้ เชื่อว่าเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งในกระเพาะปัสสาวะ และพอลิไซคลิกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic hydrocarbons) เช่น เบนโซไพรีน (benzo[a]pyrene) เป็นสารก่อมะเร็งที่ร้ายแรงอย่างยิ่ง น้ำมันดินยังประกอบด้วยสารประกอบอื่นอีกเป็นจำนวนมาก รวมถึงไอออนของโลหะและสารประกอบกัมมันตรังสี เช่นโพลonium 210 (polonium 210)

องค์ประกอบที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพเป็นอย่างมาก คือ คาร์บอนมอนอกไซด์, นิโคติน และ น้ำมันดิน สารที่สนับสนุนให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพจากการสูบบุหรี่ คือ อะโครลีน กรดไฮโดรไซยานิก กรดไนตริก ไนโตรเจนไดออกไซด์ ครีซอล และแอมฟีนอล(โสมณ จุโลทก . 2546)

2. ฤทธิ์ของยา

นิโคตินจะออกฤทธิ์โดยกระตุ้นชั่วคราวในระยะแรกเมื่ออยู่ในร่างกาย ตามด้วยการกดประสาท sympathetic และ parasympathetic การออกฤทธิ์แสดงได้โดยกลไกอย่างง่าย ๆ กล่าวคือ depolarized ทำให้ action potentials ไม่สามารถเกิดได้เนื่องจากมันต้องการ polarized postsynaptic ที่ระยะเริ่มแรก ดังนั้นจึงเกิดการขัดขวางการถ่ายทอดประสาทซึ่งเป็นผลจากการคงอยู่ ผลจากการกระตุ้นและกด synapse ของนิโคติน ไม่สามารถแก้ไขได้โดย atropine (Jacob; & Fehr.1987)

ในระยะแรกของการสูบบุหรี่ นิโคตินเป็นเหตุให้เกิดอาการคลื่นเหียน อาเจียน โดยกระตุ้นศูนย์ควบคุมการอาเจียนในก้านสมอง และรับรู้ความรู้สึกสังการในกระเพาะอาหาร นิโคตินยังกระตุ้นไฮโปทาลามัส (hypothalamus) ให้มีการหลั่งฮอร์โมนแอนติไดยูเรติก (antidiuretic hormone) ทำให้เกิดการกักของเหลว ลดความสามารถของไฟเบอร์ประสาทที่นำไปสู่ศูนย์กลางของกล้ามเนื้อ นำไปสู่การลดความตึงของกล้ามเนื้อ อีกทั้งยังเป็นสาเหตุให้น้ำหนักตัวลดลง โดยความอยากอาหารจะลดน้อยลง (Jacob; & Fehr .1987)

ผู้ที่สูบบุหรี่เป็นระยะเวลานาน จะมีระดับนิโคตินคงที่ในช่วง 30-40 นาโนกรัมนิโคติน/มิลลิลิตร พลาสมา เนื่องจากครึ่งชีวิตของนิโคตินนั้นสั้นมาก (2 ชั่วโมง) โดยระดับของนิโคตินที่เหลือในโลหิตและสมองต่ำมากหลังจากหลับตลอดคืน ในตอนเช้าผู้สูบบุหรี่จะมีอาการอยากยาเป็นอย่างมาก บุหรี่มวนแรกของเช้าวันนั้นจะมีผลเป็นอย่างมากในการบรรเทาอาการอยากยาได้ชั่วขณะหนึ่ง

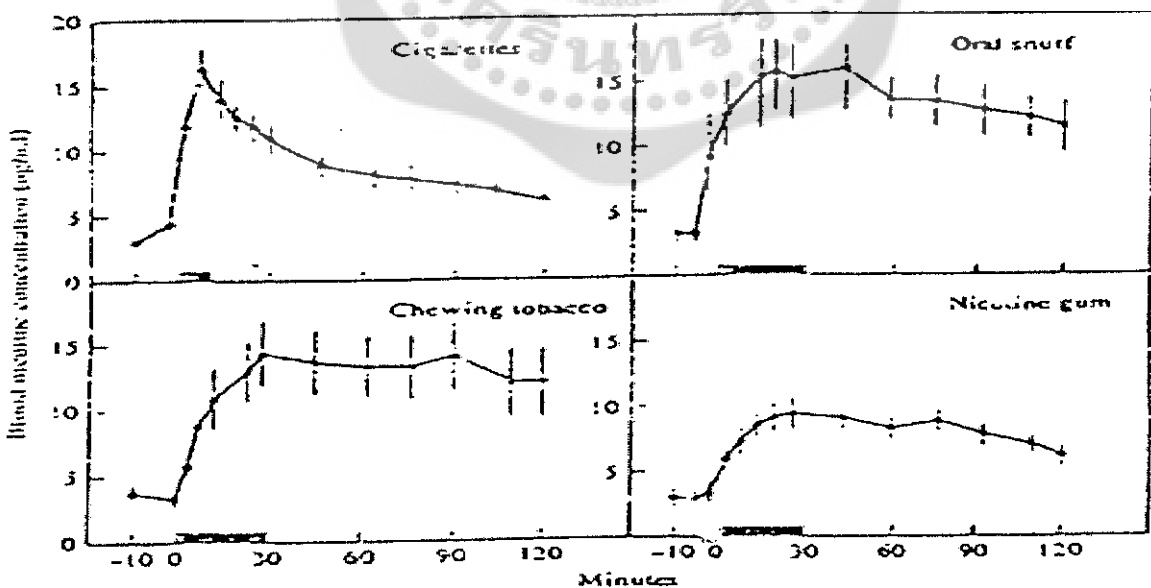
นอกจากนี้นิโคตินยังทำให้กล้ามเนื้อยึดโครงกระดูก ขา อ่อนเปลี้ยได้ และมีผลทำให้กล้ามเนื้อยึดโครงกระดูกหย่อน ซึ่งเป็นผลจากการหายใจเอาอัลคาลอยด์เข้าไป แต่อย่างไรก็ตามนิโคตินยังมีฤทธิ์ต่อปมประสาทมากกว่ากล้ามเนื้อยึดโครงกระดูก นอกไปจากฤทธิ์ข้างต้นนี้ เมื่อนิโคตินกระตุ้นยังมีผลทำให้ระบบประสาทส่วนกลางชา ด้วยขนาดยาเพียงเล็กน้อยสามารถเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ ความดันโลหิต และการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (Jacob ; & Fehr .1987)

เมื่อนิโคตินเข้าสู่ร่างกายเป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถคาดเดาได้ว่าจะเกิดอะไรขึ้น เนื่องจากนิโคตินไม่เพียงแต่เกิดอันตรกิริยากับ neuroeffector และ chemosensitive sites แต่ อัลคาลอยด์ยังเป็นตัวกระตุ้นและกดประสาท การตอบสนองท้ายสุดที่มีต่อระบบหนึ่งๆ แสดงถึงผลที่ให้ความแตกต่างกันและตรงข้ามกันของนิโคติน ตัวอย่างเช่น นิโคตินจะเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ โดยการกระตุ้น sympathetic และยังสามารถชะลออัตราการเต้นของหัวใจ โดยการหยุดการทำงานของ

sympathetic ผลของยาต่อตัวรับทางเคมีของ carotid และ aortic bodies และ modularly centers มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ

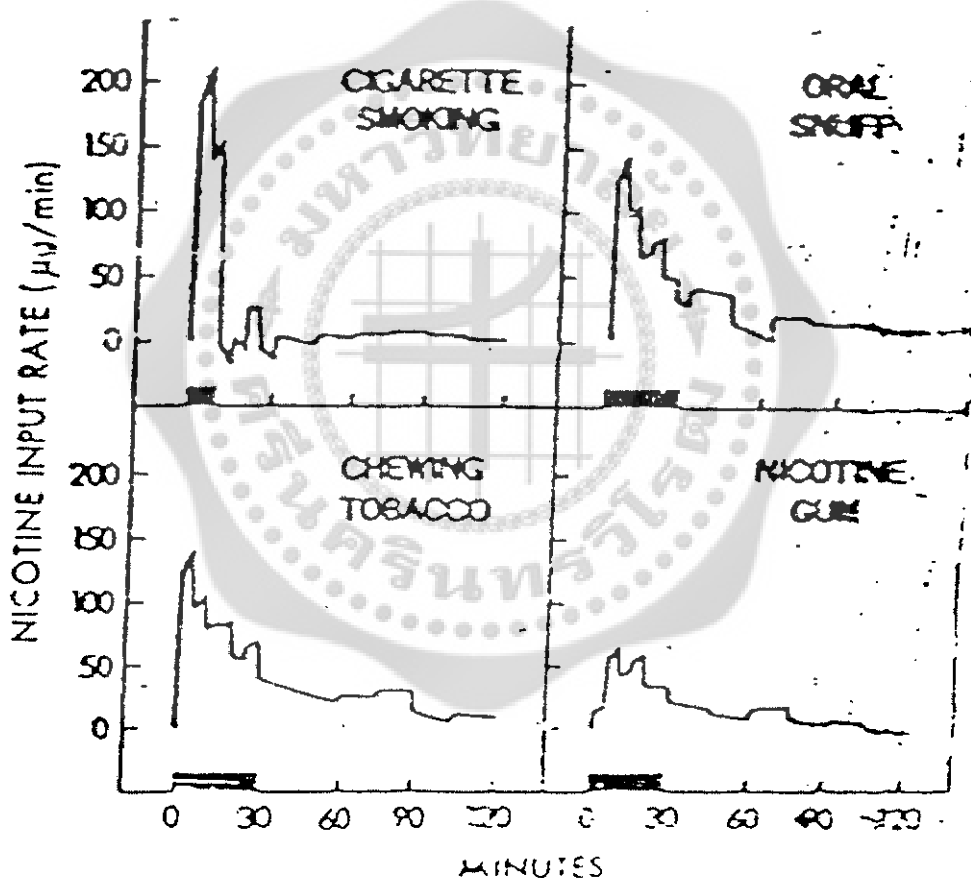
3. การดูดซึมและการขับถ่าย

นิโคตินในควันบุหรี่จะแขวนลอยกับอนุภาคของน้ำมันดินและดูดซึมได้อย่างรวดเร็วโดยทางปอด (Benowitz, et al. 1988: 23) นอกจากนี้ยังสามารถดูดซึมได้โดยผ่านทางท่อทางเดินอาหาร เยื่อบุแก้ม ท่อทางเดินหายใจ ผิวหนังและเนื้อเยื่อในกระเพาะอาหารจะมีการดูดซึมได้ดียิ่งขึ้นเมื่อน้ำย่อยภายในกระเพาะอาหารมีค่า pH สูงขึ้น แต่การดูดซึมทางลำไส้เล็กจะดีกว่า นิโคตินในควันบุหรี่ค่อนข้างจะมีความเป็นกรดเมื่ออยู่ในปาก ทำให้การดูดซึมเป็นไปได้ไม่ดีนัก แต่ควันของไปป์ และซิการ์ ซึ่งมีความเป็นด่างมากกว่า (pH 8.5) แต่ความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตของผู้ที่ไม่ได้สูดเอาซิการ์เข้าไปจะมีค่าต่ำเมื่อเทียบกับผู้ที่สูดเอาควันบุหรี่เข้าไป พิจารณาความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตหลังจากการสูบบุหรี่โดยทั่วไปอยู่ที่ 25-50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และจากการทดสอบการใช้นิโคตินในอาสาสมัคร 10 คน พบว่าก่อนทำการทดสอบด้วยนิโคติน ความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตมีค่าเฉลี่ย 2.7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนหลังจากการทำทดสอบด้วยนิโคติน พบว่าความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตสูงสุดที่ตรวจวัดได้โดยมีค่าเฉลี่ย 14.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตต่ำสุดพบในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ซึ่งช่วงเวลาที่พบนิโคตินอยู่ในกระแสโลหิตหลังจากมีการใช้ หมากฝรั่งผสมนิโคติน และรูปแบบอื่นๆ ของใบยาสูบ แสดงดังภาพประกอบ 2



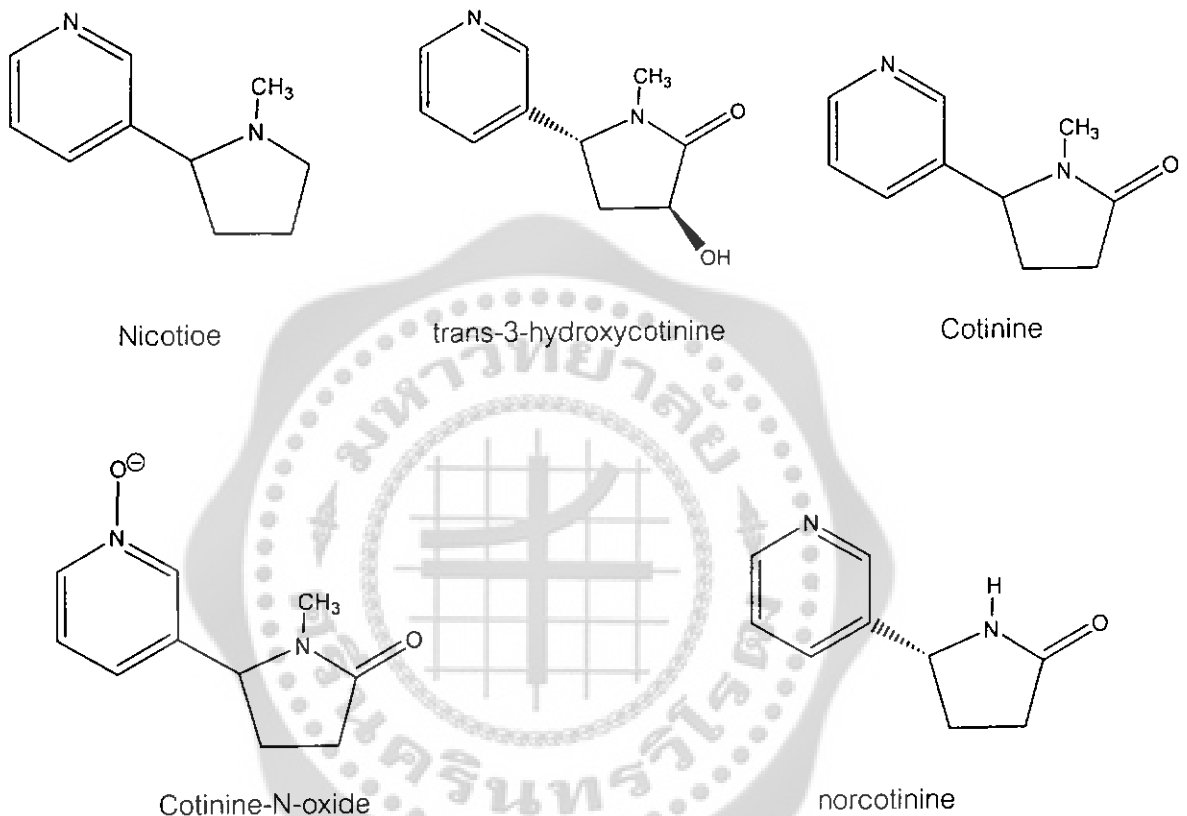
ภาพประกอบ 2 แสดงความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิต ในช่วงระหว่างการสูบบุหรี่และหลังการสูบบุหรี่ การพ่นทางปากและจุ่ม การเคี้ยวใบยาสูบ และการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 มิลลิกรัม/ชิ้น จำนวน 2 ชิ้น) (Benowitz, et al. 1988: 24)

หลังจากการสูบบุหรี่ อัตราการดูดซึมสูงสุดเป็นไปอย่างรวดเร็วที่ 210 ไมโครกรัม/นาที่ และจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเวลาผ่านไปเพิ่มขึ้น และจะไม่พบการดูดซึมของนิโคตินหลังจากเวลาผ่านไป 12 นาที ส่วนการดูดซึมของการพ่นทางปากและจุ่ม และการเคี้ยวใบยาสูบ จะคล้ายกันที่ 145 ไมโครกรัม/นาที่ ที่เวลา 5 นาที การดูดซึมจะมีความต่อเนื่องจนกระทั่งอัตราการดูดซึมเป็นศูนย์ เมื่อเวลาผ่านไปเกินกว่า 90 นาที สำหรับการดูดซึมของการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคติน จะมีอัตราการเพิ่มระดับที่ช้ากว่าที่ 64 ไมโครกรัม/นาที่ ที่เวลา 10 นาที ด้วยการลดลงอย่างสมบูรณ์เกินกว่าเวลา 90 นาที แสดงดังภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการดูดซึมนิโคตินโดยหลังจากเสพนิโคติน 4 วิธี คือ การสูบบุหรี่ การพ่นทางปากและจุ่ม การเคี้ยวใบยาสูบ และการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 มิลลิกรัม/ชิ้น จำนวน 2 ชิ้น)(Benowitz ,et al. 1988 : 24)

เมื่อเวลาผ่านไป 5-10 นาที(ครึ่งชีวิตของนิโคติน ประมาณ 2 ชั่วโมง) นิโคตินอาจจะถูกออกซิไดซ์ที่ตับเป็นสารเมทาบอลไลท์ ประมาณร้อยละ 80-90 นอกจากนี้ยังอาจเกิดที่ไตและปอดอีกด้วย นิโคตินที่ได้จากการสูดเข้าไปทางลมหายใจจะถูกเมทาบอลไลท์ที่ปอดเป็นส่วนใหญ่ซึ่งโครงสร้างโมเลกุลของนิโคติน และเมทาบอลไลท์แสดงดังภาพประกอบ 4



ภาพประกอบ 4 โครงสร้างโมเลกุลของนิโคติน และเมทาบอลไลท์

นิโคตินและเมทาบอลไลท์ของนิโคตินนั้น ร่างกายสามารถขจัดออกได้อย่างรวดเร็วโดยไต อัตราการขจัดขึ้นอยู่กัค่า pH ของปัสสาวะ ถ้า pH ของปัสสาวะมีความเป็นด่างจะสามารถขจัดได้น้อยลง นิโคตินยังสามารถขับออกมาทางน้ำนมของหญิงที่สูบบุหรี่อีกด้วย ในรายที่มีการสูบบุหรี่อย่างหนัก อาจจะพบในปริมาณถึง 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

4. สารปรุงแต่งในบุหรี่

สารปรุงแต่งที่พบในบุหรี่มีจำนวนมากกว่า 2,000 ชนิด บุหรี่แต่ละเครื่องหมายการค้าจะผสมสารปรุงแต่งประมาณไม่เกิน 100 ชนิดเท่านั้น ในจำนวนนี้พบว่ามีสารบางชนิดเป็นสารอันตรายร้ายแรง ตัวอย่างสารปรุงแต่งที่พบว่ามีสารใส่ไปในบุหรี่และเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ตัวอย่างเช่น แอมโมเนีย และสารประกอบของแอมโมเนีย โกโก้ ลิ่นกวาว ไคเอทิล ไกลคอล (DEG) แอ็บเปิ้ล ฟรีออน-11 และ คีโมซอล (ทรงยศ ประมวลญาติ และคนอื่นๆ . 2546)

5. สารพิษจากการเผาไหม้ในบุหรี่

ในวันบุหรี่จะมีสารประกอบทางเคมีมากกว่า 4,000 ชนิด ในจำนวนนี้มีสารพิษและสารก่อมะเร็งไม่ต่ำกว่า 50 ชนิด นอกเหนือไปจากสารเสพติดและสารที่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ตัวอย่างเช่น นิโคติน ทาร์(น้ำมันดิน) คาร์บอนมอนนอกไซด์ ไฮโดรเจนไซยาไนด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ แอมโมเนีย สารกัมมันตรังสี แร่ธาตุต่างๆและโลหะหนักต่างๆ(คู่มือสำหรับทันตบุคลากร วิธีช่วยเหลือผู้ที่ต้องการเลิกบุหรี่. 2547)

6. ยาชนิดใหม่ที่ใช้ในการอดบุหรี่

นิโคติน เป็นสารในกลุ่มอัลคาลอยด์ที่ได้จากใบยาสูบที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Nicotiana tabacum* Linn. ซึ่งสารนิโคตินในบุหรือนั้นทำให้ผู้สูบบุหรี่รู้สึกเป็นสุขและต้องการได้รับสารนิโคตินเพิ่มมากขึ้น การสูบบุหรี่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ มากมาย เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจตีบตัน โรคถุงลมโป่งพอง มะเร็งปอด โรคหลอดเลือดสมองตีบตัน โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว (arteriosclerosis) เป็นต้น ดังนั้นการอดบุหรี่จึงเป็นการลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคเหล่านี้ ทั้งยังช่วยลดความสูญเสียในด้านสุขภาพ และ ค่าใช้จ่ายทางสาธารณสุข (health expenditure) อีกด้วย

เมื่อมีการสูบบุหรี่ สารนิโคตินในบุหรี่จะผ่านเข้าสู่ปอดโดยตรงและถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วเข้ากระแสโลหิตไปยังหัวใจ หลังจากนั้นหัวใจจะสูบฉีดโลหิตไปยังสมองทันทีภายใน 7 - 10 วินาทีหลังจากการสูบบุหรี่และมีความเข้มข้นในโลหิตสูงสุดภายใน 5 นาที (บุหรี่ 1 มวนมีสารนิโคตินอยู่ประมาณ 1 - 2 มิลลิกรัม) สารนิโคตินจะแพร่ผ่าน blood brain barrier โดยกระบวนการ 2 กระบวนการคือการแพร่แบบกระแสน้ำและการขนส่งกัมมันต์ เมื่อสารนิโคตินเข้าไปในสมองจะจับกับ nicotinic receptor บน ventral tegmental area (VTA) ใน mesolimbic pathway ทำให้ Na⁺ channel ปิด และกระตุ้นให้หลังสารสื่อประสาทต่างๆ ได้แก่ acetylcholine (Ach) norepinephrine (NE) dopamine serotonin ,glutamate และ B-endorphine (Jacob; & Fehr .1987)

Dopamine มีผลให้ผู้สูบบุหรี่มีความรู้สึกเป็นสุข (rewarding effect) จึงทำให้ผู้สูบบุหรี่มีความต้องการได้รับสารนิโคตินเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ดังนั้นผู้สูบบุหรี่ที่ไม่ได้รับสารนิโคตินจากการสูบบุหรี่ จะทำให้ระดับของ dopamine ลดน้อยลงทำให้ผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่มีความรู้สึกเป็นสุขน้อยลงจึงเกิดอาการอยากบุหรี่ที่เรียกว่า craving และต้องการสูบบุหรี่เพื่อจะรับความรู้สึกเป็นสุขต่อไป

Norepinephrine จะส่งผลให้เกิดการตื่นตัว ลดความอยากอาหาร และการกระตุ้นการสร้างพลังงาน ทำให้ผู้ที่สูบบุหรี่รู้สึกกระปรี้กระเปร่า มีความสามารถในการทำงานมากขึ้นและเมื่อมีสารสื่อ NE น้อยลงจากการสูบบุหรี่จะทำให้เกิดอาการนอนยา ดังนั้นผู้สูบบุหรี่จึงต้องการสูบบุหรี่ต่อไปเพื่อลดอาการดังกล่าว ส่วนสาร B-endorphine มีฤทธิ์ลดอาการวิตกกังวล และ ความเครียดได้

การสูบบุหรี่ทำให้เกิดอาการนอนยาซึ่งมีผลดังนี้

ก. ผลทางจิตใจ ได้แก่ อาการหงุดหงิด อุนเฉียว วิตกกังวล สมาธิสั้น อยากสูบบุหรี่ และ กระวนกระวายใจ

ข. ผลทางร่างกาย ได้แก่ ท้องผูก หน้ามืด วิงเวียน ปวดศีรษะ และเหงื่อออก

ในระยะแรกหลังจากการสูบบุหรี่จะทำให้ผู้สูบบุหรี่เกิดอาการนอนยา ซึ่งเริ่มมีอาการหลังจากสูบบุหรี่ครั้งสุดท้าย 2-3 วัน และจะค่อย ๆ ดีขึ้นในหลายสัปดาห์ มีการเปลี่ยนแปลงอารมณ์ โดยมักเกิดภาวะซึมเศร้าในผู้ที่สูบบุหรี่และพบว่าผู้ป่วยที่สูบบุหรี่จะมีน้ำหนักตัวเพิ่มมากขึ้น โดยเฉลี่ยประมาณ 3-4 กิโลกรัม ซึ่งปัญหาในการสูบบุหรี่สามารถแก้ไขได้โดยการให้ nicotine ทดแทน (nicotine replacement therapy; NRT) และการปรับพฤติกรรมของผู้สูบบุหรี่ (ทรงยศ ประมวลญาติ และคนอื่น ๆ. 2546)

การสูบบุหรี่ (Smoking cessation)

1. การสูบบุหรี่แบบไม่ใช้ยา เป็นการรักษาโดยให้ความรู้ทั่ว ๆ ไปเกี่ยวกับประโยชน์และโทษของการสูบบุหรี่ การให้กำลังใจ การเตรียมแผน การสูบบุหรี่อย่างชัดเจน และช่วยประเมินสาเหตุของการล้มเหลวจากการสูบบุหรี่ ให้ช่วงเวลาพักก่อนเริ่ม ทำการสูบบุหรี่ใหม่

2. การสูบบุหรี่โดยใช้ยา มียาที่ใช้ในการสูบบุหรี่ 2 กลุ่ม คือ nicotine replacement therapy และยาอื่น ๆ

2.1. Nicotine replacement therapy (NRT) การใช้นิโคตินทดแทนจากการสูบบุหรี่จะช่วยลดอาการนอนยา ซึ่งจะช่วยให้ผู้ป่วยสามารถหยุดการติดยาทางจิตใจ (psychological dependence) ลดความพึงพอใจของการสูบบุหรี่ เช่น อารมณ์ ความตั้งใจ และความสามารถในการทนต่อความเครียดนิโคตินทดแทนมีด้วยกันหลายรูปแบบ คือ nicotine polacrilex gum, nicotine transdermal skin patch, nicotine nasal spray และ nicotine oral inhaler จากการให้ NRT จะ

พบว่าผลของการรักษายังไม่เป็นที่น่าพอใจนัก จึงมีแนวคิดในการใช้ยาที่เกี่ยวข้องกับสารสื่อ dopa นาที e และ NE ซึ่งเป็นสารสื่อที่ทำให้เกิด nicotine dependence (Anonymous. 1999: 52-54)

2.2. Bupropion Bupropion เป็นยาขนานแรกที่ไม่เป็นนิโคตินที่นำมาใช้ในการอดบุหรี่ (ทรงยศ ประมวลญาติ และคนอื่นๆ. 2546) โดยมีรูปแบบเป็นยาเม็ดออกฤทธิ์เนิ่นนาน (sustained release) เป็นยาในกลุ่มต้านอาการซึมเศร้าโดยได้รับอนุมัติจากองค์การอาหารและยาแห่งประเทศไทย สหรัฐอเมริกาให้จำหน่ายได้

7. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

เฟเยอราเบนด์ เลวิตต์ และรัสเซลล์ (Feyerabend; Levitt; & Russell. 1975:434-436) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในพลาสมาของผู้สูบบุหรี่ และไม่สูบบุหรี่ สกัดตัวอย่างพลาสมาด้วยไดเอทิลอีเทอร์(diethyl ether) ใช้ควิโนลิน(quinoline) เป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน (internal standard) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิจัยพบปริมาณนิโคตินของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่อยู่ในช่วง 2-5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และผู้ที่สูบบุหรี่อยู่ในช่วง 7-30 นาโนกรัม/มิลลิลิตร สูงกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่อย่างชัดเจน นอกจากนี้ผลการวิจัยพบว่าค่าเวลาริเทนชันของควิโนลิน และนิโคติน มีค่าเท่ากับ 2.8 นาที และ 3.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่วัดได้ เท่ากับ 0.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 75

นอกจากนี้ เฟเยอราเบนด์ เลวิตต์ และรัสเซลล์ ยังศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในพลาสมา ปัสสาวะ น้ำลาย และน้ำนมของผู้สูบบุหรี่ โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี การวิจัยครั้งนี้ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี การวิจัยครั้งนี้ใช้ควิโนลินเป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายในเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนชนิดตัวทำละลายในขั้นตอนการสกัดเป็นบิวทิลอะซิเตต(butyl acetate) ผลการวิจัยพบว่าปริมาณนิโคตินในพลาสมา ปัสสาวะ น้ำลาย และน้ำนมของผู้สูบบุหรี่ 26.9 21.0 34.0 และ 31.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 0.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร แต่ค่าเวลาริเทนชันของควิโนลิน และ นิโคติน มีค่าเท่ากับ 2.5 นาที และ 3.0 นาที ตามลำดับ

ออกเดน (Ogden 1989 : 1002-1006) ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในอากาศที่มีการสูบบุหรี่ การเก็บตัวอย่างวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยใช้ปั๊มดูดอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ ผ่านหลอดแก้วเก็บตัวอย่างที่เคลือบด้วยเรซิน XAD-4 โดยเก็บตัวอย่างอากาศนาน 2 ชั่วโมง ทุกจุดของรอยต่อปิดทับด้วย polyurethane นำเรซิน XAD-4 ชะด้วยเอทิลอะซิเตต : ไตรเอทิลเอไมด์ (ethylacetate : triethylamide) (99.90:0.01) เติมควิโนลินเป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน ใช้คอลัมน์ชนิด DB-5 ตรวจวัดด้วย nitrogen phosphorus detector ผลการวิจัยพบค่าเวลาริเทนชันของควิโนลิน และ นิโคติน มีค่าเท่ากับ 1.9 นาที และ 2.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินที่พบอยู่ในช่วง 4.31-5.86 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 0.1 นาโนกรัม/

มิลลิลิตร กราฟมาตรฐานมีค่าประสิทธิ์สหสัมพันธ์(r) เท่ากับ 0.990 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) อยู่ในช่วง 4.4-11.1 เปอร์เซ็นต์

ออกเดน และคนอื่นๆ (Ogden 1989: 1005-1008) ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในอากาศที่มีการสูบบุหรี่ การเก็บตัวอย่างและการสกัดเหมือนกับการทดลองที่ผ่านมา (Ogden, 1989: 1002-1006) วิเคราะห์ปริมาณด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้คอลัมน์ DB-WAX หัววัดไนโตรเจนฟอสฟอรัส ค่าเวลาริเทนชันของควิโนลิน และ นิโคติน มีค่าเท่ากับ 1.9 นาที และ 2.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 0.10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) อยู่ในช่วง 0.8-3.2 และร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 99.3 ± 2.7

อเบต และคนอื่นๆ (Abad, et al. 1993:3227-3231) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในอากาศที่มีการสูบบุหรี่ โดยใช้เทคนิค ELISA เปรียบเทียบกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยสังเคราะห์จาก 3-(hydroxymethyl) nicotine ได้เป็น heptane เชื่อมต่อกับ bovine serum albumin นำไปฉีดให้หนู และนำไปสร้าง Mab จากนั้นนำ Mab ไปเชื่อมกับเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เพื่อตรวจสอบโดยใช้สีแสดงของเอนไซม์ด้วย o-phenylenediamine ได้เป็นสารละลายที่มีสี วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ผลการวิจัยพบว่าเทคนิค ELISA มีความจำเพาะชัดเจนและเที่ยงตรง ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 70 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.997 ส่วนเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.886

เบอร์โทนิ และคนอื่นๆ (Bertoni, et al. 1996:296-300) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินและ 3-ethylpyridine โดยใช้หลอดทดลองที่บรรจุแกรไฟต์ ใช้ปั๊มดูดอากาศบริเวณบ้านที่มีการสูบบุหรี่ โดยการทำให้ซอร์ฟชัน สกัดด้วยน้ำ วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ใช้คอลัมน์ C-18 หัววัดไนโตรเจนฟอสฟอรัส ผลการวิจัยพบว่าปริมาณนิโคตินที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 5-20 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 2.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.980 และร้อยละของประสิทธิภาพวิธี เท่ากับ 85

ฮาเกอร์ และเนสเซนเนอร์ (Hager; & Nissener. 1997:163-174) ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินและการกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคแก๊สและวัฏภาคอนุภาค โดยเก็บตัวอย่างอากาศในบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ เข้าใน filter holder ภายในบรรจุ filter ต่อกับ filter holder ที่เคลือบด้วยกรดเบนซีนซัลโฟนิค (benzenesulfonic acid) วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค โดยนำ filter มาสกัดด้วยน้ำ ปรับ pH ของสารละลายตัวอย่างให้เป็นเบสด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน นำชั้นไดคลอโรมีเทนไประเหย และเติม n-hexadecane เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส โดยนำ filter holder ซะด้วยน้ำ ปรับ pH ของสารละลายให้เป็นเบสด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน นำชั้นไดคลอโร

มีเทนไประเหย และเติม n-hexadecane เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี หัววัดด้วย flame ionization detector ผลการวิจัยพบว่า ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และร้อยละของประสิทธิภาพวิธี เท่ากับ 101.6 ± 36

เพนคอฟ และคนอื่นๆ (pankow, et al. 1997:2428-2433) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน ในอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่โดยผ่านแก๊สแอมโมเนีย เก็บตัวอย่างโดยใช้ปั๊มดูดอากาศบริเวณ ที่มีการสูบบุหรี่เข้าไปใน filter holder ภายในบรรจุ filter ต่อกับ denuder ที่เคลือบด้วยสารละลาย กรด ออกซาลิก เก็บตัวอย่าง 3 ชั่วโมง 35 นาที นำส่วนนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคมาเติมสารละลาย มาตรฐานนิโคติน ปรับ pH ให้เป็นกรด สกัดด้วยน้ำ แล้วปรับ pH ให้เป็นเบส สกัดด้วยด้วยไดคลอโร มีเทน นำชั้นไดคลอโรมีเทนไประเหยให้เหลือปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมเนฟทาลีนเป็นสารมาตรฐาน อ้างอิง นำสารละลายที่ได้วิเคราะห์ปริมาณด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ส่วนนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส นำ denuder เติมสารละลายมาตรฐานนิโคตินเพื่อหาค่าร้อยละการกลับคืน สกัดด้วยน้ำ นำสารละลายที่ได้ไประเหยให้เหลือปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมเนฟทาลีน นำสารละลายที่ได้วิเคราะห์ด้วยแก๊สโคร มาโทกราฟี

การทำดีซอร์พชัน นำ filter ETS บรรจุใน filter holder ต่อกับ filter holder อีกอันหนึ่ง ซึ่ง ภายในบรรจุ filter อันใหม่ ใช้ปั๊มเป่าสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ นำ filter เติมสารละลาย มาตรฐานนิโคติน ปรับ pH ให้เป็นเบสด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน นำ สารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิจัยพบว่าการทำดีซอร์พชัน ค่าคงที่ของการกระตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส (K_p) ลดลง 100 เท่า

8. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ

สมรรถนะสูง

พาเวียนเนน และ บาร์โลว์ (Parvianen; & Barlow. 1988:216-221) ศึกษาการวิเคราะห์ ปริมาณนิโคติน conicotine และ 3-pyridylcabinol ในปัสสาวะของคนที่อยู่ในบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ ผู้วิจัยได้นำตัวอย่างปัสสาวะเติม sodium acetate buffer สารละลายโปแตสเซียมไซยาไนด์

(potassium cyanide) และ สารละลายคลอรามีน-ที ปรับ pH ให้เป็นกรด เติมโซเดียมซัลเฟตใน

บิวทานอล(butanol) นำสารละลายชั้นบนวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะ สูง โดยใช้คอลัมน์ C-18 เฟสเคลื่อนที่ คือ น้ำ:เมทานอล:กรดเพนเทนซัลโฟนิค (3.5:5.5:1.0) อัตราการ ไหลของเฟสเคลื่อนที่ คือ 1.0 มิลลิลิตร/นาที ผลการวิจัยพบว่าเวลารีเทนชันของนิโคติน เท่ากับ 4.5 นาที ปริมาณนิโคตินที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 7.0-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่ สามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 1.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.995

รอป และคนอื่นๆ (Rop, et al. 1993:302-309) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินและอนุพันธ์ของนิโคตินในปัสสาวะของผู้สูบบุหรี่ ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างปัสสาวะของผู้สูบบุหรี่ใส่หลอดชนิดพีวีซี ปรับ pH ให้เป็นเบส นำสารละลายสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5) นำชั้นสารละลายอินทรีย์ปรับ pH ให้เป็นกรด นำไประเหยและละลายด้วยกรดฟอสฟอริก นำสารละลายที่ได้ล้างด้วยอีเทอร์ นำสารละลายชั้นกรดฟอสฟอริกวิเคราะห์ พบว่าค่าปริมาณนิโคติน conicotine trans-3'-(hydroxy)cotinine cotinine, nicotine-1-N-oxide และ 3-pyridylcarbinol มีค่าเท่ากับ 65, 65, 70, 60, และ 55 ตามลำดับ และกราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.996, 0.998, 0.998, 0.995 และ 0.995 ตามลำดับ

ดาส และวอง (Dash ;& Wong. 1996: 81-85) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยผู้วิจัยนำ หมากฝรั่งผสมนิโคติน แช่ในเฮกเซน แล้วสกัดด้วย methanol citrate phosphate buffer (15:85 v/v) นำสารละลายมาวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ C-18 ตรวจสอบด้วยอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ใช้เฟสเคลื่อนที่ชนิดเดียวกับสารละลายที่ใช้ในการสกัด อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 0.7 มิลลิลิตร/นาที เวลาที่เทนชันของนิโคติน เท่ากับ 4.4 นาที กราฟมาตรฐานที่ใช้งานอยู่ในช่วง 1.3-4.4 และกราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.999 ปริมาณต่ำสุดที่วัดได้ เท่ากับ 0.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

สวอบ และคนอื่นๆ (Svob Troje Z., et al. 1997 : 101-107) ศึกษาวิธีการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณนิโคติน โดยจะสกัดด้วยกรดแอสซิดิก : เมทานอล (1:4) แล้วนำไป ultrasonic นาน 10 นาที กรองด้วยบุชเนอร์ นำสารละลายที่กรองได้ไปผ่าน C-18 ซะด้วยเอทานอล นำสารละลายที่ได้ไปเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40% ให้ pH ประมาณ 12 นำไปกรองผ่าน activated sorbent นำไประเหยจนแห้ง ละลายด้วยเมทานอล นำสารละลายมาวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ C-18 หัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดย 2 นาทีแรกจะใช้เฟสเคลื่อนที่คือ diethylaminophosphate buffer pH 7.56 หลังจากนั้นเติม เมทานอล-อะซีโตรไนไตรล์ (1:1) 40 % ปล่อยให้สารละลายเฟสเคลื่อนที่อีก 4 นาที จากนั้นเพิ่มเมทานอล-อะซีโตรไนไตรล์ (1:1) ร้อยละ 70 อีก 9 นาที ด้วยอัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตร/นาที เวลาที่เทนชันของนิโคติน เท่ากับ 15.2 นาที ตรวจพบนิโคตินที่สกัดได้ร้อยละ 95 ± 3 กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9988

การวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน โดยเทคนิค โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ได้สรุปดังตาราง 1

ตาราง 1 สภาวะของเครื่อง, ร้อยละการกลับคืน และ limited of detection ของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ชื่อผู้วิจัย	ตัวอย่าง	สภาวะเครื่อง	ร้อยละการกลับคืน	LOD
พาเวียนเนน และ บาร์โลว์ (1988)	ปัสสาวะผู้สูบบุหรี่	-คอลัมน์ C-18 -วิเคราะห์แบบไอโซครีติก -เฟสเคลื่อนที่ น้ำ:เมทานอล: กรดเพนเทน ซัลโฟนิก (3.5:5.5:1.0) -อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตร/นาที	-	1.0ng/mL
รอฟและคนอื่นๆ (1993)	ปัสสาวะผู้สูบบุหรี่	-คอลัมน์ C-18 -เครื่องตรวจวัด UV-VIS -ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร	55-70%	-
ดาสและวอง (1996)	หมากฝรั่งผสมนิโคติน	-คอลัมน์ C-18 -เฟสเคลื่อนที่ methanol-citrate phosphate buffer (15:85) -เครื่องตรวจวัด UV-VIS -ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร -อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตร/นาที	-	0.06 μ g/mL
สวอบและคนอื่นๆ (1997)	นิโคตินในใบยาสูบ	-คอลัมน์ C-18 -วิเคราะห์แบบเกรเดียน -เฟสเคลื่อนที่ เมื่อ A คือ diethylaminophosphate buffer (pH 7.56) และ B คือ ผสมกับ methanol-acetonitrile (1:1) 40% -เครื่องตรวจวัด UV-VIS -ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร -อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตร/นาที	95 \pm 3%	-

บทที่ 3

การทดลอง

วิธีดำเนินการวิจัยประกอบด้วย 6 ขั้นตอน ดังนี้

1. การสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ
2. ค่าแฟคเตอร์ร้อยละออกฤทธิ์เนื่องของการปลดปล่อยสารนิโคตินของเรซินชนิดต่างๆในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน
3. กระบวนการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน
4. การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินมาตรฐานโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
5. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
6. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในเลือดของอาสาสมัคร ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
7. การศึกษาชีวสมมูล
8. สถิติเพื่อการวิจัย
9. ขั้นตอนการขอจดสิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า และเครื่องหมายการค้า
10. การคำนวณต้นทุนความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

สารเคมี และวัสดุที่ใช้

- | | |
|----------------------------|------------------------|
| 1. อะซิโตนไตรัล | HPLC grade (LAB SCAND) |
| 2. เมทานอล | HPLC grade (LAB SCAND) |
| 3. คลอโรฟอร์ม | AR grade (LAB SCAND) |
| 4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ | AR grade |
| 5. โซเดียมคลอไรด์ | AR grade |
| 6. โซเดียมคาร์บอเนต | AR grade |
| 7. โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส | AR grade |
| 8. กรดเปอร์คลอริก | |
| 9. 4-คลอโรเมทริกซ์ควิโนลิน | |

10. ไดเอทิลอะซิเตท
11. เฮกเซน
12. โมโนเบสิก โซเดียมฟอสเฟต
13. กรดซิตริก แอนไฮดรัส
14. ไบยาซูบหั่นฝอย จากร้าน ป.เวชภัณฑ์ อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี
15. หมากฝรั่งผสมนิโคติน
16. Buffer pH 5.05 (sodium acetate:methanol:triethylamine (88:12:0.5) ปรับ pH 5.05 ด้วย glacial acetic acid)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัด pH (Metrohm. 713)
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa)
3. กรวยบุชเนอร์
4. ชุดกรองลดความดัน (Satorius)
5. เครื่องกลั่นภายใต้ความดัน (Buchi Rotavapor R-114)
6. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (Hewlett Packard)
 - หัววัด : UV-Vis photodiode array (Agilent 1100 Series)
 - คอลัมน์ : อนุภาคที่บรรจุ Hypersil ODS (C-18) ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร
คอลัมน์ขนาด 4.0 × 125 มิลลิเมตร (Agilent)
7. เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
8. เครื่องนิวเคลียร์แมกนีติกเรโซแนนซ์
9. แผ่นกระจก
10. Nylon syringe filter pore size 0.20 μm 13 mm (Alltech)
11. Nylon filter pore size 0.45 μm 47 mm (Alltech)
12. Syringe ขนาด 500 ไมโครลิตร (Hamilton)
13. autopipett ขนาด 1,000 ไมโครลิตร

3.2 การสกัดนิโคตินจากไบยาซูบ

3.2.1 ชั่งไบยาซูบหนัก 50 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำจนท่วม ไบยาซูบ นำไปต้มนาน 20 นาที เติมน้ำเค็มคาร์บอนเนต 10 กรัมต้มต่ออีก 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปกรอง

3.2.2 เติมโซเดียมคาร์บอเนต หนัก 10 กรัมลงใน ข้อ 1 แล้วต้มต่ออีก 10 นาที เสร็จแล้ว ยกลง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองแยกเอากากยาสูบออก

3.2.3 นำสารละลายยาสูบที่ได้ไปปรับ pH เป็น 12 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วนำไปใส่ลงในกรวยแยก สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 2 ครั้งๆ ละ 100 มิลลิลิตร ถ้าเกิดอิมัลชันให้เติม สารละลายโซเดียมคลอไรด์อีก 1 กรัม

3.2.4 แยกเอาชั้นคลอโรฟอร์มออก เติมโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส แล้วนำไปกรองด้วย กรวยบุชเนอร์

3.2.5 นำสารละลายที่ได้ไประเหยให้แห้งที่ 60 องศาเซลเซียส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

3.2.6 นำสารที่สกัดได้ไปตรวจสอบด้วย แผ่น โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง โดยใช้เฟส เคลื่อนที่ คือ คลอโรฟอร์ม: เฮกเซนในอัตราส่วน 1:2 แล้วนำสารที่แยกได้มาละลายในคลอโรฟอร์ม กรอง แล้วนำไประเหยให้แห้ง ซึ่งหาปริมาณของสารที่แยกได้แต่ละชนิด

3.2.7 นำสารที่แยกได้จากแผ่น โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง มาพิสูจน์โครงสร้าง โดยใช้ เครื่องอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี และ เครื่องนิวเคลียร์แมกนีติกเรโซแนนซ์ นำสเปกตรัมที่ได้เทียบกับ สเปกตรัมของสารมาตรฐานนิโคติน

3.3 ค่าแฟคเตอร์ร้อยละออกฤทธิ์เนิ่นของการปลดปล่อยสารนิโคตินของเรซิน ชนิดต่างๆในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน

3.3.1 เตรียม เรซิน หนัก 100 กรัม หรือสารพอลิเมอร์ ผสมเนยเทียม ร้อยละ 0.3 นวดให้ เข้ากัน แล้วจึงเติม สารสกัดนิโคตินจากยาสูบ นวดให้เข้ากันอีกครั้ง แบ่งเรซินที่ผสมแล้วเสร็จนี้ เป็น สองส่วน ส่วนหนึ่งนำไปผสม กับ ผง Na_2CO_3 นำทั้ง สองส่วนนี้ แยกไปดำเนินการผสม กับหมากฝรั่ง แบบต่าง ๆ ที่เคยดำเนินการมา ทำให้ได้ เรซิน หรือ พอลิเมอร์ชนิด ต่าง ๆ งานวิจัยนี้ เรียกว่า Polyestex (แบบต่าง ๆ) ที่เป็น ความลับทางการค้า ที่ได้จากการวิจัยนี้ จึงใช้ สัญลักษณ์อักษร ภาษาอังกฤษ แบบต่าง ๆ เพื่อจะนำไป ใช้ในขบวนการผลิต

3.3.2 ซึ่งหมากฝรั่งผสมนิโคตินหรือเรซิน แบบต่าง ๆ ตามข้อ 2.1 หนัก 1.0 g ตัดเป็น ชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลาย 0.9 % Sodium chloride 10 mL

3.3.3 นำสารละลายในข้อ 3.3.2 ไปเขย่าที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงริน สารละลายส่วนใส (Supernatant) แยกออกมารองด้วย Nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน $0.20\ \mu\text{m}$ 2 ครั้ง แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC

3.3.4 รินสารละลายส่วนใส (Supernatant) แยกออกมารองด้วย Nylon syringe filter ที่มี ขนาดรูพรุน $0.20\ \mu\text{m}$ 2 ครั้ง แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC

3.4 กระบวนการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน

3.4.1 ส่วนผสมหมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส)

1. น้ำตาลไอซิ่ง	77	กรัม
2. กลูโคสไซรัป	20	กรัม
3. กัมเบส	100	กรัม
4. เนยเทียม	0.3	กรัม
5. เมนทอล	0.5	กรัม
6. สารแต่งกลิ่น	1.8	กรัม
7. นิโคติน	0.4	กรัม

3.4.2 ส่วนผสมหมากฝรั่งผสมนิโคติน (4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส)

1. น้ำตาลไอซิ่ง	77	กรัม
2. กลูโคสไซรัป	20	กรัม
3. กัมเบส	100	กรัม
4. เนยเทียม	0.3	กรัม
5. เมนทอล	0.5	กรัม
6. สารแต่งกลิ่น	1.8	กรัม
7. นิโคติน	0.8	กรัม

3.4.3 วิธีการผลิต

3.4.3.1 ชั่ง น้ำตาลไอซิ่ง กลูโคสไซรัป เนยเทียม และ เมนทอล ให้ได้น้ำหนักตามส่วนผสมตาม ข้อ 3.4.1 และ ข้อ 3.4.2

3.4.3.2 ชั่งกัมเบสให้มีน้ำหนัก 100 กรัม แล้วนำไปให้ความร้อนโดยใส่หม้อหนึ่งจนนิ่ม หลังจากนั้น นำส่วนผสมที่ชั่งทั้งหมดในข้อ 1 ใส่รวมกันแล้วนวดจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน

3.4.3.3 ชั่งสารแต่งกลิ่น และนิโคติน ตามน้ำหนักข้างต้น แล้วผสมกับกัมเบสที่นวด เสร็จแล้ว นวดต่อให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันหมด แล้วนำไปขึ้นรูป หมากฝรั่งที่ได้จะมีความเข้มข้นของนิโคติน 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส

3.4.3.4 ทำซ้ำเช่นเดิมแต่เปลี่ยนปริมาณนิโคตินเป็น 0.8 กรัม จะได้หมากฝรั่งที่ได้จะมีความเข้มข้นของนิโคติน 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.5.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

3.5.1.1 ปิเปตสารละลายนิโคตินปริมาตรเล็กน้อย (บันทึกน้ำหนัก) ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (คำนวณให้อยู่ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

3.5.1.2 นำสารละลายในข้อ 3.5.1.1 มาเจือจางความเข้มข้น ให้ได้สารละลายนิโคตินเข้มข้น 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.5.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครหมากฝรั่งผสมนิโคติน ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.5.2.1 ปิเปตสารละลายนิโคตินปริมาตรเล็กน้อย (บันทึกน้ำหนัก) ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น: กรดเปอร์คลอริก เข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์ (95: 5) (คำนวณให้อยู่ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

3.5.2.2 นำสารละลายในข้อ 3.5.2.1 มาเจือจางความเข้มข้น ให้ได้สารละลายนิโคตินเข้มข้น 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.5.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินสำหรับการหาค่าร้อยละการกลับคืนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.5.3.1 ปิเปตสารละลายนิโคตินปริมาตรเล็กน้อย (บันทึกน้ำหนัก) ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น: กรดเปอร์คลอริก เข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์ (95: 5) (คำนวณให้อยู่ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

3.5.3.2 นำสารละลายในข้อ 3.5.3.1 มาเจือจางความเข้มข้น ให้ได้สารละลายนิโคตินเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.5.4 สภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ในการวิเคราะห์นิโคติน

3.5.4.1 วิเคราะห์แบบ isocratic โดยใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่ คือ sodium acetate:methanol:triethylamine (88:12:0.5) ปรับ pH 5.05 ด้วย glacial acetic acid

3.5.4.2 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.9 มิลลิลิตร/นาที

3.5.4.3 ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.5.5 การหาช่วงที่เป็นเส้นตรง

3.5.5.1 เตรียมสารละลายนิโคติน เข้มข้น 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.5.5.2 นำสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ได้ กรองด้วย Nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร 1 ครั้ง

3.5.5.3 นำสารละลายที่ได้ฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร แล้วตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.5.5.4 นำพื้นที่พีคที่ตรวจวัดได้ กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานนิโคตินไปสร้างกราฟมาตรฐาน ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าทางสถิติ (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าความแปรปรวน) และสมการเส้นตรงของการถดถอยของกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

3.5.6 วิธีการหาค่าร้อยละการกลับคืน (percent recovery) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.5.6.1 ปิเปตสารละลายนิโคตินเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 5 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายส่วนที่เหลือจากหมากฝรั่งที่ไม่ผสมนิโคตินในถ้วยแยก แล้วทำการสกัดตามขั้นตอนที่ 1

3.5.6.2 นำสารละลายที่สกัดได้แล้ว ไปกรองด้วย Nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.5.6.3 นำพื้นที่พีคที่ได้ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำไปคำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืน

3.5.6.4. ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อหาค่าทางสถิติ

$$\text{ร้อยละการกลับคืน} = \frac{\text{Amount found} \times 100}{\text{Amount taken}}$$

Amount found คือ ปริมาณของสารที่ตรวจพบทั้งหมด(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

Amount taken คือ ปริมาณสารที่เติมลงไป(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

3.5.7 วิธีการหาร้อยละการกลับคืนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.5.7.1 เตรียมสารละลายนิโคตินความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยปีเปตนิโคตินเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 200 ไมโครลิตร เติมนลงในพลาสมา แล้วทำตามขั้นตอนที่ 3.5.6

3.5.7.2 นำสารละลายส่วนใส (supernatant) ที่ได้ ไปกรองด้วย Nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-ฟลูออโรเมตริก ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.5.7.3 นำพื้นที่พีคที่ได้ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำไปคำนวณหาร้อยละการกลับคืน

3.5.7.4 ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อหาค่าทางสถิติ

3.5.8 การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด

3.5.8.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่มีความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 6 ระดับความเข้มข้นดังนี้ 2,5,10,15,20 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กรองด้วย nylon filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.20 ไมโครเมตร นำไปฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง นำพีคที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

3.5.8.2 ปีเปตสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 2, 5,10,15,20 และ 25ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จำนวนความเข้มข้นละ 1.00 มิลลิลิตร ใส่ขวดสีชา แล้วเติมตัวอย่างนิโคตินลงในแต่ละขวดปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปกรองด้วย nylon filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.20 ไมโครเมตร 2 ครั้งเก็บใส่ขวดสีชา

3.5.8.3 นำสารละลายที่กรองแล้วไปฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ครั้งละ 100 ไมโครลิตร นำพื้นที่พีคที่ไปอ่านค่าความเข้มข้นของนิโคตินจากกราฟมาตรฐาน

3.5.8.4 ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง คำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นและ ความสูงของพีค

3.5.8.5 นำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น และความสูงของพีค สร้างเป็นกราฟเส้นตรงโดยแกนตั้ง คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความสูงของพีค และแกนนอน คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น

3.5.8.6 ลากกราฟเส้นตรงที่ได้ให้ตัดแกนตั้ง จะได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความสูงของพีค ที่ความเข้มข้นนิโคตินเป็นศูนย์และคุณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความสูงของพีค ที่ได้คูณด้วย 3 เพื่อนำค่าที่ได้นี้ไปหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด

3.5.8.7 สร้างกราฟเส้นตรงระหว่างความสูงของพีค และความเข้มข้นโดยให้แกนตั้ง คือ ความสูงของพีค แกนนอน คือ ความเข้มข้น

3.5.8.8 เมื่อสร้างกราฟเส้นตรงระหว่างความสูงของพีค และความเข้มข้นเรียบร้อยแล้วอ่านความเข้มข้นจากกราฟเส้นตรงนี้ด้วยค่า 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ความสูงของพีค ในข้อ 3.5.8.6 จะได้ค่าความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุดของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.6.1 วิธีการทดลอง

3.6.1.1 สุ่มหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีอายุการเก็บตั้งแต่เดือน 1-12 (เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง) ภายหลังจากการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน จำนวน 5-10 เม็ด

3.6.1.2 ชั่งหมากฝรั่งผสมนิโคติน ที่สุ่มได้ตามข้อ 1 หนัก 1.0 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในกรวยแยก ละลายด้วยเฮกเซนกับกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M (1:1) 50 มิลลิลิตร เขย่าจนหมากฝรั่งละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น แล้วไซ้ชั้นกรดไฮโดรคลอริกเก็บไว้

3.6.1.3 นำสารละลายที่ได้ไปเซนตริฟิวจ์ นาน 20 นาที เพื่อแยกอิมัลชัน

3.6.1.4. แยกสารละลายส่วนใส (supernatant) กรองผ่าน nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจสอบด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-ฟลูออโรเมตริก ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.6.2 การหาอายุของผลิตภัณฑ์

- 3.6.2.1. สุ่มหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตโดย บริษัท มิลลิเมด จำกัด (MILLIMED) พร้อมทั้งจะส่ง องค์การอาหารและยา เพื่อขอ ทะเบียนตำรับใหม่
- 3.6.2.2. นำห่อหุ้มด้วยแผงฟอรัลด์ เพื่อกันน้ำแต่ไม่กันความร้อน 3 ชั้น
- 3.6.2.3. แच्छงในอ่างน้ำที่ควบคุม อุณหภูมิ ตั้งอุณหภูมิที่ $45^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ เป็นเวลานาน 4 เดือน
- 3.6.2.4. ดำเนินการ 3.6.1.2 - 3.6.1.4
- 3.6.2.5. ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง คำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นและ ความสูงของพีค หาค่าเฉลี่ย ปริมาณของนิโคติน

3.7 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตในเลือดของอาสาสมัครก่อน และ หลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.7.1. เติมนครตเปอร์คลอริกเข้มข้นร้อยละ 35 จำนวน 200 ไมโครลิตร ลงในโลหิตของอาสาสมัคร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ประมาณ 30 วินาที นำไปเซนติฟิวจ์ ที่ 4,000 rpm นาน 4 นาที เพื่อตกตะกอนโปรตีน

3.7.2. นำสารละลายส่วนใส (supernatant) ที่ได้ไปกรองผ่าน nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.2 μm ฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจสอบด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 nm

3.8 การศึกษาชีวสมมูล

นำหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตตามข้อ 3.4 ให้อาสาสมัครชายที่สูบบุหรี่ และมีสุขภาพแข็งแรง จำนวนกลุ่มละ 12 คน โดยให้เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบล ของหมากฝรั่งเครื่องหมายการค้า นิโคมายด์เปรียบเทียบกับเครื่องหมายการค้านิโคเรทการเจาะเลือดเจาะก่อนให้ยา และหลังให้ยา 10, 20 และ 30 นาที นำเลือดที่เจาะได้ไปตรวจหาปริมาณนิโคตินด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.9 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

สถิติพื้นฐานที่ใช้ในงานวิจัยมีดังนี้(อุษา ช่อผล. 2536 : 10-12)

3.9.1 ค่าเฉลี่ย (Mean, \bar{X}) คำนวณได้จากสูตร

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

เมื่อ \bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง

X_i คือ ค่าที่ได้จากการทดลองในแต่ละครั้ง

N คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง

3.9.2 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) คำนวณได้จากสูตร

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

X_i คือ ค่าที่ได้จากการทดลองในแต่ละครั้ง

\bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง

N คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง

3.9.3 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient of variation, CV)

$$CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

3.9.4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) คำนวณได้จากสูตร

$$r = \frac{\sum (X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X - \bar{X})^2 \sum (Y - \bar{Y})^2}}$$

เมื่อ	X	คือ	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
	\bar{X}	คือ	ค่าเฉลี่ยของตัวแปร X
	Y	คือ	พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน
	\bar{Y}	คือ	ค่าเฉลี่ยของตัวแปร Y

3.10 ขั้นตอนการขอจดสิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า และเครื่องหมายการค้า

ขั้นตอนการแจ้งความลับทางการค้า คำแนะนำในการเตรียมคำขอข้อมูลความลับทางการค้า

3.10.1 กรอบ 1 ชื่อเจ้าของ / ผู้ขอ

3.10.1.1 กรอกชื่อ ชื่อสกุลของเจ้าของหรือผู้ขอให้ครบถ้วนชัดเจน รวมทั้งเลขรหัสไปรษณีย์ สัญชาติ อาชีพ หมายเลขโทรศัพท์และโทรสาร(ถ้ามี)

3.10.1.2 ในกรณีเจ้าของเป็นนิติบุคคลจดทะเบียนในประเทศไทย ให้กรอกชื่อเต็มพร้อมที่อยู่ให้ครบถ้วนชัดเจน รวมทั้งเลขรหัสไปรษณีย์ สัญชาติ อาชีพ หมายเลขโทรศัพท์และโทรสาร(ถ้ามี)

3.10.1.3 ในกรณีเจ้าของเป็นนิติบุคคลจดทะเบียนในต่างประเทศ ให้กรอกชื่อและระบุได้ชื่อนิติบุคคลว่าจดทะเบียนภายใต้กฎหมายของประเทศใดพร้อมที่อยู่ให้ครบถ้วนชัดเจน รวมทั้งเลขรหัสไปรษณีย์ สัญชาติ อาชีพ หมายเลขโทรศัพท์และโทรสาร(ถ้ามี)

3.10.2 กรอบ 2 ชื่อตัวแทน

3.10.2.1 กรอกชื่อ ชื่อสกุลของเจ้าของหรือผู้ขอให้ครบถ้วนชัดเจน รวมทั้งเลขรหัสไปรษณีย์ สัญชาติ อาชีพ หมายเลขโทรศัพท์และโทรสาร(ถ้ามี)

3.10.2.2 ในกรณีเจ้าของเป็นนิติบุคคล ให้กรอกชื่อนิติบุคคลพร้อมที่อยู่ให้ครบถ้วนชัดเจน รวมทั้งเลขรหัสไปรษณีย์ สัญชาติ อาชีพ หมายเลขโทรศัพท์และโทรสาร(ถ้ามี)

3.10.3 กรอบ 3 สถานที่ติดต่อในประเทศไทย

ให้ระบุว่าประสงค์จะติดต่อที่ใดเช่น ติดต่อที่ตัวแทน หรือติดต่อที่ตัวแทน หรือติดต่อที่เจ้าของ บุคคลใด บุคคลหนึ่ง แต่ทั้งนี้ตัวแทนและผู้ขอจะต้องมีสถานที่ติดต่อในประเทศไทยเท่านั้น

3.10.4 กรอบ 4 ประเภทข้อมูลความลับทางการค้า

ให้ทำเครื่องหมาย ถูก ในช่อง สีเหลือง ตามประเภทข้อมูลทางการค้าที่ประสงค์จะยื่นคำขอ

3.10.5 กรอบ 5 ชื่อเรื่อง

ให้ระบุชื่อเรื่องของข้อมูลความลับทางการค้าที่ยื่นคำขอ

3.10.6 กรอบ 6 การอนุญาตให้ใช้ / โอนความลับทางการค้า

ในกรณีที่มีการอนุญาตให้ใช้หรือโอนความลับทางการค้าให้ระบุรายละเอียด เช่น ผู้อนุญาต ผู้ได้รับอนุญาตให้ใช้ความลับทางการค้า ผู้โอน ผู้รับโอน เป็นต้น

3.10.7 กรอบ 7 หลักฐานประกอบการแจ้ง

ให้ทำเครื่องหมายถูกในช่องสีเหลือง เพื่อแสดงหลักฐานประกอบการแจ้ง (ลงชื่อ)

ให้ลงมือชื่อเจ้าของหรือตัวแทน และให้ขีดฆ่าค่าที่ไม่ใช่ออก ในกรณีที่เป็น นิติบุคคลให้ผู้มีอำนาจลงลายมือชื่อและประทับตราสำคัญให้ถูกต้องตามอำนาจที่ได้รับไว้ในหนังสือรับรองนิติบุคคล

ขั้นตอนการจดทะเบียนเครื่องหมายการค้าของประเทศไทย

3.10.8 การตรวจค้น

3.10.8.1 แนะนำผู้ยื่นดำเนินการตรวจค้นเครื่องหมายที่จะขอจดว่าเหมือนหรือคล้าย เครื่องหมายของผู้อื่นหรือไม่

3.10.8.2 ผู้ค้นต้องเสียค่าธรรมเนียมในการตรวจค้น 100 บาท / 1 ชั่วโมง (ณ วันที่ 8 สิงหาคม 2548)

3.10.9 การยื่นขอจดทะเบียน

3.10.9.1 ผู้ยื่นต้องเตรียมเอกสารตามที่กฎหมายกำหนดและกรอกข้อความให้สมบูรณ์ ได้แก่

- คำขอจดทะเบียน (ก.01) 1 ฉบับ พร้อมสำเนา จำนวน 5 ฉบับ

- การ์ด (ก.16) จำนวน 2 ฉบับ
- หนังสือมอบอำนาจ(ถ้ามีการมอบอำนาจ) ติดอากร 30 บาท ต่อผู้รับมอบอำนาจ 1 คน พร้อมสำเนาบัตรประจำตัวของผู้รับมอบอำนาจ
- สำเนาบัตรประจำตัว (ถ้าผู้ขอเป็นบุคคลธรรมดา)
- ต้นฉบับหนังสือรับรองการจดทะเบียนนิติบุคคล ที่นายทะเบียนออกให้ไม่เกิน 6 เดือน นับจนถึงวันยื่นคำขอ (ถ้าผู้ขอเป็นนิติบุคคล)
- ถ้าผู้ขออยู่ต่างประเทศให้โนตารี พับลิค รับรองเอกสารด้วย
- รูปเครื่องหมายจำนวน 8 รูป ขนาดไม่เกิน 5 × 5 เซนติเมตร(ถ้าเกินคิดค่า ธรรมเนียมเพิ่มเซนติเมตรละ 100 บาท)

3.10.10 การตรวจสอบ

3.10.10.1 ในขั้นแรกเจ้าหน้าที่จะตรวจสอบเบื้องต้น(Preliminary check) คือ ตรวจสอบความถูกต้องของเอกสารเท่านั้น(Documentary check)

3.10.10.2 เจ้าหน้าที่ ตรวจสอบและนายทะเบียนจะตรวจสอบว่าเครื่องหมายการค้าที่ ขอจดทะเบียนมีลักษณะตามที่กฎหมายกำหนดไว้หรือไม่ (ใช้เวลาตรวจสอบประมาณ 4 เดือน ต่อ 1 คำขอ)

3.10.10.3 ภายหลังจากตรวจสอบแล้ว จะแจ้งแก่ผู้ยื่นคำขอ ตามแต่กรณี

- การรับจดทะเบียน
- ปฏิเสธไม่รับจดทะเบียน
- ให้แก้คำขอ
- แจ้งผู้ยื่นคำขอว่า เครื่องหมายที่ขอจดทะเบียน มีผู้อื่นยื่นขอจดทะเบียนไว้เช่นกัน ขอให้ผู้ยื่นขอไปตกลงกันเองก่อน ถ้าตกลงกันไม่ได้ คำขอจดทะเบียนที่ยื่นก่อนจะได้รับการจดทะเบียน ตามหลัก ใครยื่นก่อนมีสิทธิดีกว่า (first-to-file)

3.10.10.4 การแจ้งให้แก้คำขอ บางกรณีเจ้าหน้าที่จะแจ้งให้ผู้ยื่นคำขอสละสิทธิคำขอในบางส่วนเนื่องจากบางส่วนของเครื่องหมายเป็นสิ่งที่ใช้กับสามัญในการค้าขายหรือไม่มีลักษณะบ่งเฉพาะ

- ถ้าผู้ยื่นคำขอไม่อุทธรณ์คำสั่งของพนักงานเจ้าหน้าที่ นายทะเบียนก็จะจำหน่ายคำขอนั้นออกจากสารบบ

- ถ้าอุทธรณ์คำสั่งของพนักงานเจ้าหน้าที่ให้ดำเนินการยื่นอุทธรณ์ต่อคณะกรรมการเครื่องหมายการค้าภายใน 90 วันนับตั้งแต่วันที่รับหนังสือแจ้งคำสั่ง โดยชำระค่าธรรมเนียมคำขอฉบับละ 2,000 บาท

- เมื่อคณะกรรมการเครื่องหมายการค้ามีคำวินิจฉัยแล้ว จะแจ้งคำวินิจฉัยให้นายทะเบียนทราบ ถ้าวินิจฉัยให้จดทะเบียนได้ นายทะเบียนจะประกาศโฆษณาต่อไป แต่ถ้าวินิจฉัยไม่รับจดทะเบียน นายทะเบียนจะจำหน่ายคำขอจดทะเบียนออกนอกสารบบ และคำวินิจฉัยคณะกรรมการ การเครื่องหมายการค้าถือเป็นที่สุด

3.10.10.5 นายทะเบียนมีคำสั่งประกาศโฆษณาคำขอจดทะเบียนและแจ้งหนังสือให้ ผู้ขอจดทะเบียนมาชำระค่าธรรมเนียมประกาศโฆษณาคำขอละ 200 บาท ภายใน 30 วัน นับแต่วันที่ได้รับหนังสือแจ้ง

- ถ้าไม่ชำระค่าธรรมเนียม ภายใน 30 วันถือว่าละทิ้งคำขอ
- เมื่อชำระค่าธรรมเนียมแล้ว นายทะเบียนจะประกาศโฆษณาคำขอจดทะเบียนและจะรอการประกาศเอาไว้ 90 วัน

- ถ้ามีการคัดค้านการจดทะเบียน นายทะเบียนจะดำเนินการตามขั้นตอนอีกหลายขั้นตอนจนถึงกระบวนการทางกฎหมาย (รายละเอียดศึกษาได้จากกรมทะเบียนการค้าฯ)

3.10.10.6 การจดทะเบียน เครื่องหมายที่มีลักษณะบ่งเฉพาะ และไม่มีลักษณะต้องห้ามตามกฎหมาย เมื่อผ่านการประกาศโฆษณาแล้ว และผ่านกระบวนการคัดค้านและอุทธรณ์ จนถึงที่สุดเป็นเครื่องหมายที่สามารถจดทะเบียนได้ นายทะเบียนจะแจ้งไปยังผู้ยื่นคำขอทราบและให้ดำเนินการชำระค่าธรรมเนียมภายใน 30 วัน นับแต่วันได้รับหนังสือแจ้ง

3.10.10.7 เมื่อชำระค่าธรรมเนียม ผู้ยื่นคำขอจะได้รับหนังสือสำคัญแสดงการจดทะเบียนไว้เป็นหลักฐาน

3.11 การคำนวณต้นทุนความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

การคำนวณต้นทุนความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์ โดยอาศัย

3.11.1 ข้อมูล : จากสำนักงานสถิติแห่งชาติ 2547 จำนวนผู้สูบบุหรี่

3.11.2 เป้าหมาย กำหนดเป้าหมาย หรือร้อยละ ของผู้สูบบุหรี่ เป็นประจำที่มีความประสงค์ (กลุ่มลูกค้า) ที่ต้องการเลิกสูบบุหรี่โดยให้มากฝรั่งผสมนิโคติน

3.11.3 จำนวนหมากฝรั่งขั้นต่ำ ที่คนติดบุหรี่ใช้ บำบัด ต้องใช้หมากฝรั่ง

3.11.4 ราคาขาย

3.11.5 ราคาส่ง

3.11.6 ราคาวัสดุ และทุนการผลิต (บาท ต่อ แผลง)

1. สารเคมี และเนื้อ กรั่มเบส (บาท)

2. กล่องและวัสดุ (บาท)

3. ค่าเสื่อมราคา ของเครื่องจักร
4. การตลาด (บาท)
5. ลิขสิทธิ์ 8 % บาท ต่อ แฉง
6. WAT 7 % บาท ต่อ แฉง

รวมทั้งสิ้น = บาทต่อแฉง



บทที่ 4 ผลการวิจัย

4 ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยเสนอผลการวิจัยตามลำดับ ดังนี้

1. การศึกษาการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ
2. ค่าแฟคเตอร์ร้อยละออกฤทธิ์เนิ่นของการปลดปล่อยสารนิโคตินของเรซินชนิดต่างๆในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน
3. การผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน
4. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินและความคงทน หรืออายุของผลิตภัณฑ์
5. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในเลือดของอาสาสมัคร : การศึกษาชีวสมมูล
6. สิทธิบัตร ข้อมูลความลับของการค้า และเครื่องหมายการค้า
7. ความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

4.1 การศึกษาการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ

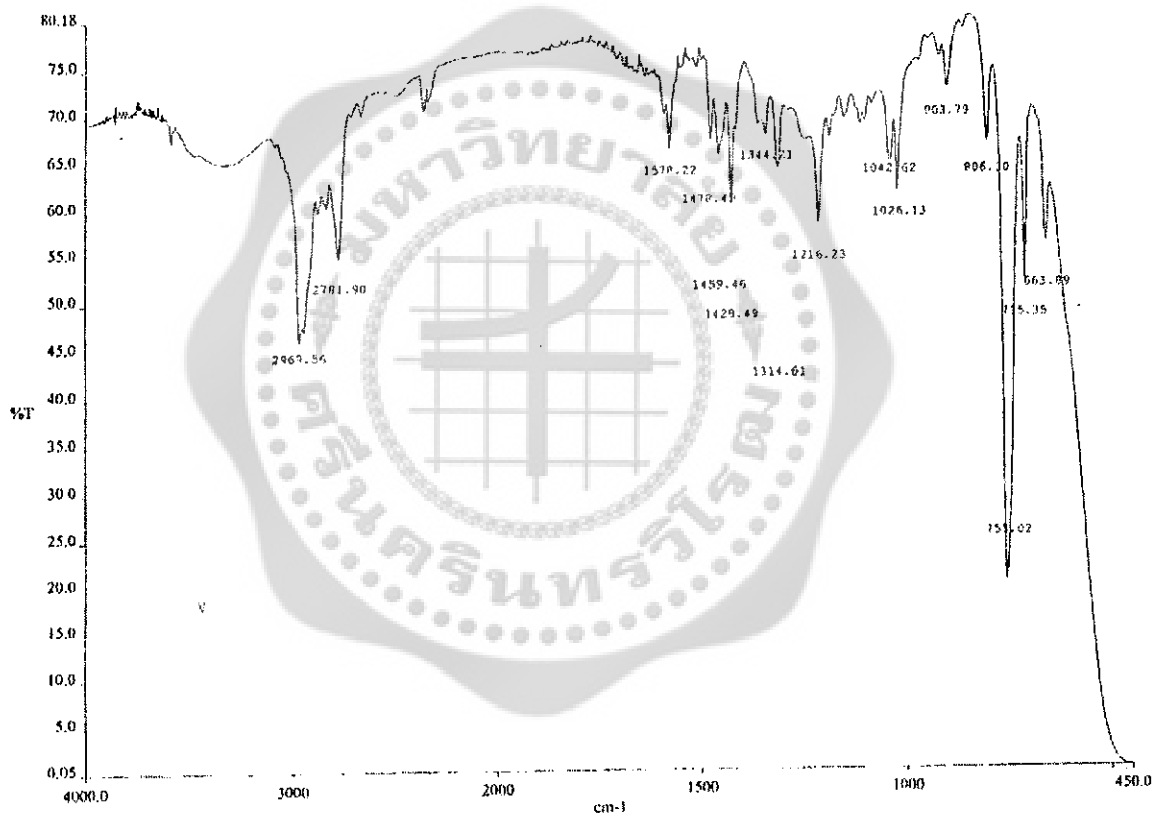
จากการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ โดยการต้มรวมกับสารประกอบโซเดียมคาร์บอเนต ภายหลังจากกรองเอากากออกแล้ว ปรับ pH ให้เป็น 12 สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม โดยใช้น้ำหนักยาสูบครั้งละ 50 กรัม ภายหลังจากการระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ พบปริมาณนิโคตินปรากฏผลดังตาราง 2

ตาราง 2 ปริมาณนิโคตินที่สกัดได้จากใบยาสูบ

ครั้งที่	ปริมาณนิโคตินที่สกัดได้ (กรัม)	%นิโคติน
1	2.0920	4.180
2	2.0920	4.185
3	2.0900	4.184
4	2.0910	4.179
5	2.0910	4.182
\bar{X}	2.0910	4.185
SD	0.0010	0.0040
%CV	0.0478	0.0956

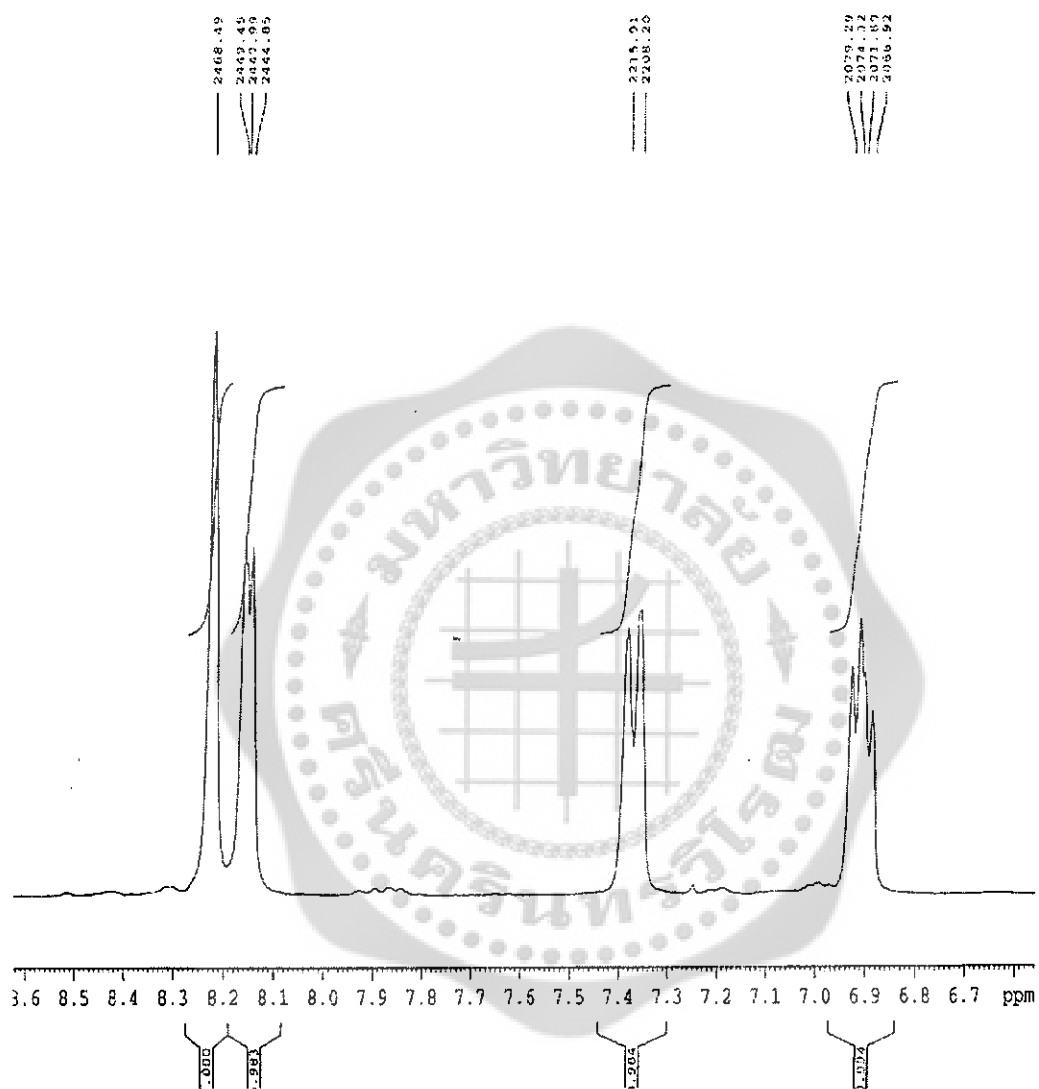
จากตาราง 2 พบน้ำหนักนิโคติน จำนวน 2.090-2.092 กรัม เจลลี่ 2.091 กรัม นำมาคำนวณเป็นร้อยละจะมีค่าร้อยละ 4.179-4.185 คือเจลลี่ร้อยละ 4.185 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0010 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.0478 เปอร์เซ็นต์ นิโคตินที่ได้มีลักษณะเป็นสีเหลืองอ่อน

การพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี(IR-spectrum ; neat) และ NMR พบว่าสารนิโคตินที่ได้มีความบริสุทธิ์ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานนิโคตินมาก ดังภาพประกอบ 5, 6,7 และ 8



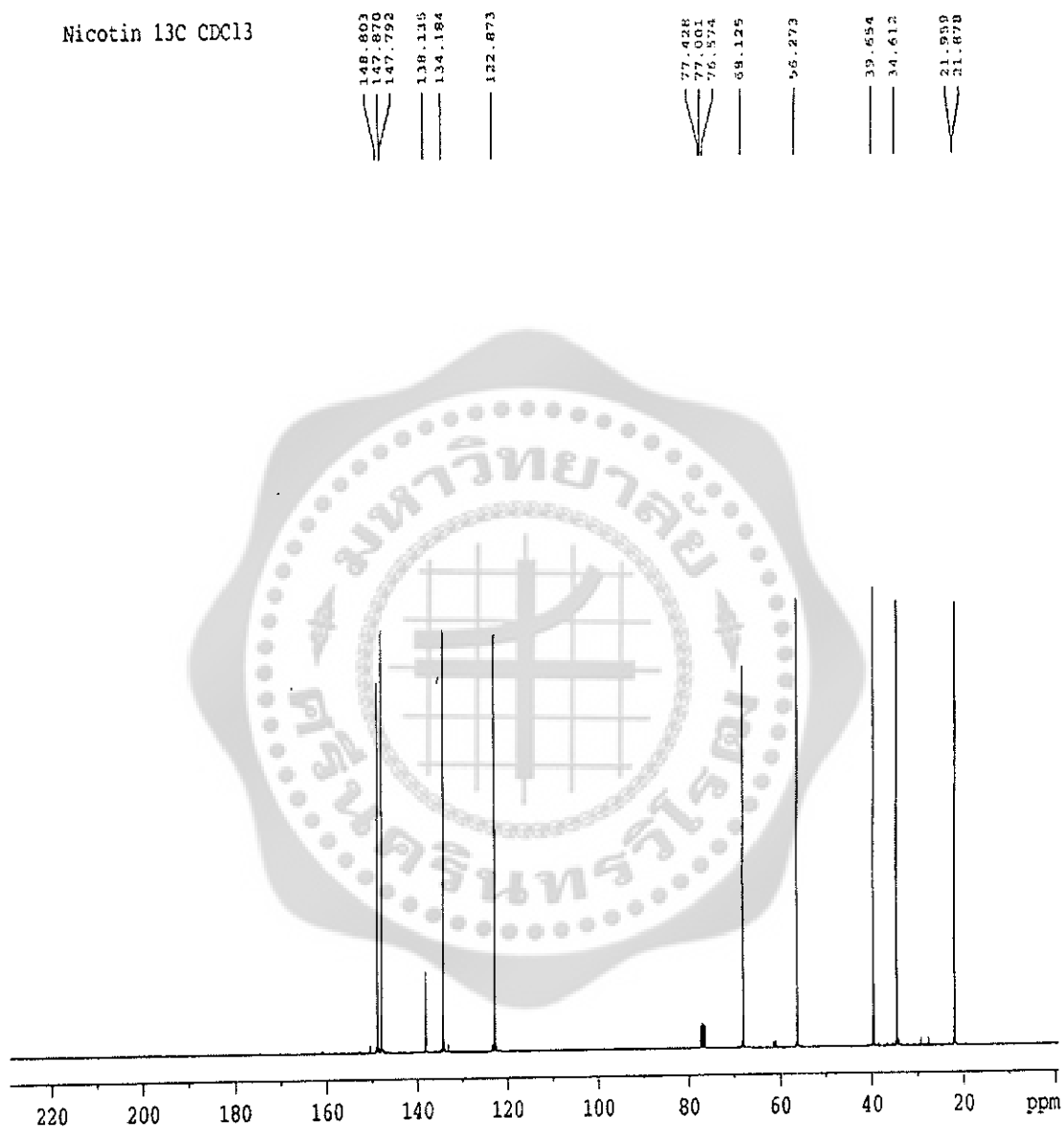
ภาพประกอบ 5 สเปกตรัม IR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ

จากภาพประกอบ 5 พบว่า IR-spectrum ของนิโคติน (neat) พบว่า $\bar{\nu}$ เท่ากับ 3500 - 3300 cm^{-1} (broad), 1578, 1344, 1216 cm^{-1}

Nicotin in CDCl₃ 1H-NMR

ภาพประกอบ 7 การขยายสัญญาณ H^1 -NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ

การพิสูจน์โครงสร้างด้วย H^1 -NMR(200 MHz, CDCl₃) ดังจากภาพประกอบ 6 และ 7 พบค่า δ เท่ากับ 1.75-1.95 (4H, m); 2.3 (CH₃, s); 3.2 (2H,dt); 6.93(1H,ddd, J = 7.6 Hz, J=5 Hz, J= 0.2 Hz); 7.7(1H,d, J = 7.7 Hz, J=4.7 Hz); 8.17(1H,dd, J = 4.6 Hz, J=0.2 Hz); 8.23(1H,dd, J = 0.2 Hz, J=4.7 Hz) ไม่พบ side bands ใดๆ แสดงถึงความบริสุทธิ์ในระดับที่สามารถนำไปดำเนินการใช้เตรียมหมากฝรั่งผสมนิโคตินได้



ภาพประกอบ 8 ^{13}C -NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ

ค่า ^{13}C -NMR (200 MHz, CDCl_3) ดังภาพประกอบ 8 พบค่า δ เท่ากับ 22.6, 65.2, 40.3, 57.0, 68.9, 123.6, 134.9, 138.9, 148.5, 149.5

4.2. ค่าแฟคเตอร์ร้อยละออกฤทธิ์เนิ่นของการปลดปล่อยสารนิโคตินของเรซินชนิดต่างๆในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน

ผลการดำเนินการ

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณร้อยละของนิโคตินที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากเรซินชนิดต่างๆในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน

ชนิดของเรซิน	ก่อนเติม 0.1 M Na ₂ CO ₃			เติม 0.1 M Na ₂ CO ₃		
	ปริมาณนิโคติน (mg)	ปริมาณนิโคตินที่ปลดปล่อย (mg)	% Factor sustained releasing	ปริมาณนิโคติน (mg)	ปริมาณนิโคตินที่ปลดปล่อย (mg)	% Factor sustained releasing
A	4.0432	0.7698	19.0	4.3700	0.4398	10.1
B	4.2016	0.1663	3.9	4.0304	0.2187	5.4
Nicotine Polyestex	5.5711	1.0078	18.0	3.9892	0.5556	14.0
C	4.1376	2.7814	67.3	4.1198	2.0542	50.0
A+ C	1.6367	0.8102	49.5	2.2890	1.0714	46.8
B+ C	1.7676	0.4470	25.2	1.7666	0.6025	34.1
Nicotine Polacrilex	3.9931	1.0022	25.1	3.5483	0.6276	17.6

เรซินที่จะนำมาใช้ทดลองผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ใช้สำหรับการอดบุหรี่ ได้แก่ เรซินชนิด A, B, Nicotine Polyestex และ C โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกับ Nicotine polacrilex ซึ่งใช้ในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินของต่างประเทศจากผลการทดลองค่าร้อยละของการปลดปล่อยปริมาณนิโคตินจากเรซินชนิด A, B, Nicotine Polyestex , C และ Nicotine polacrilex มีค่าร้อยละ 19.0, 3.9, 18.0, 67.3 และ 25.2 ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้พบว่า Nicotine Polyestex มีค่าร้อยละของการปลดปล่อยปริมาณนิโคตินน้อยกว่า Nicotine polacrilex และอยู่ในช่วงที่เหมาะสมที่จะนำมาทดลองผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่สามารถออกฤทธิ์ได้ดีโดยจะค่อยๆปลดปล่อยนิโคตินออกมาขณะเคี้ยวและออกฤทธิ์ได้นาน ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกเรซินชนิด Nicotine Polyestex มาทดลองผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินและทำการศึกษาอัตราส่วนของ Nicotine Polyestex ที่เหมาะสมที่

จะนำมาทดลองผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยอัตราส่วนของ Nicotine Polyestex ที่นำมาทดลอง มีค่าร้อยละของการปลดปล่อยปริมาณนิโคตินที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปทดลองผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่จะออกฤทธิ์ได้เทียบเท่าหรือดีกว่าหมากฝรั่งผสมนิโคตินของต่างประเทศ

4.3 การผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน

ผลจากการดำเนินการนำส่วนผสมต่างๆผสมเมื่อนำไปขึ้นรูปได้หมากฝรั่งนิโคติน 2 สูตรคือ

4.3.1 หมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ที่มีลักษณะสีเหลืองอ่อน (ภาคผนวก - ภาพประกอบ 31 และ 34)

เมื่อทำการสูมหมากฝรั่งผสมนิโคตินจำนวน 10 เม็ด ซึ่งน้ำหนักโดยละเอียดที่ละเม็ดและคำนวณค่าเฉลี่ย 1.01 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.012 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 1.188

4.3.2 หมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ที่มีลักษณะสีเหลืองอ่อน

เมื่อทำการสูมหมากฝรั่งผสมนิโคตินจำนวน 10 เม็ด ซึ่งน้ำหนักโดยละเอียดที่ละเม็ดและคำนวณค่าเฉลี่ย 0.9932 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.014 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 1.409 (ภาคผนวก - ภาพประกอบ 31 และ 34)

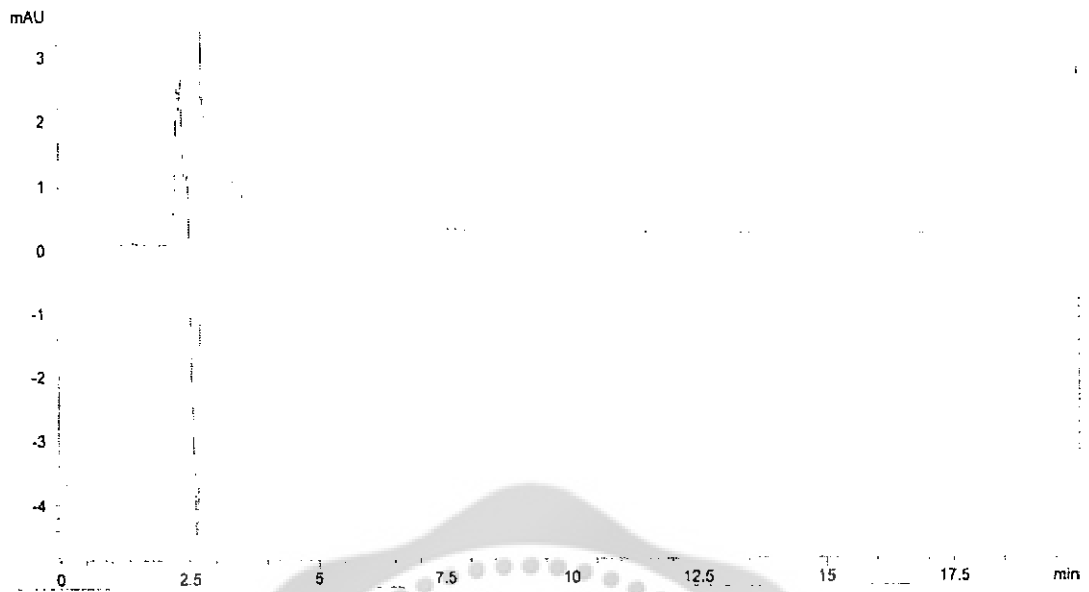
4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน และความคงทนของผลิตภัณฑ์

4.4.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

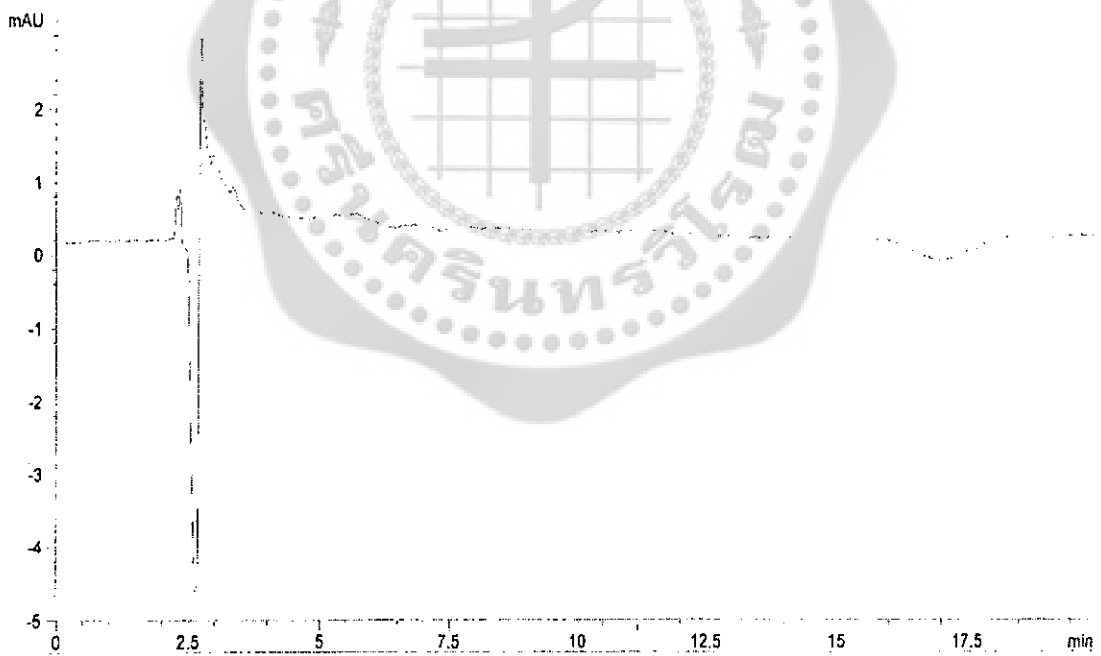
จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ความเข้มข้นจะ 100 ไมโครลิตร ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 nm

4.4.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

จากการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และการทดลองเชิงสำรวจขั้นต้นของสารละลายแบบคี่ไฮโดรคลอริกและสารละลายแบบคี่ฟอสฟาตด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ได้โครมาโทแกรมปรากฏดังภาพประกอบ 9-10



ภาพประกอบ 9 โคโรนาโทแกรมของสารละลายแบลงค์ไฮโดรคลอริก
ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259นาโนเมตร



ภาพประกอบ 10 โคโรนาโทแกรมของสารละลายแบลงค์ฟลาตมา
ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

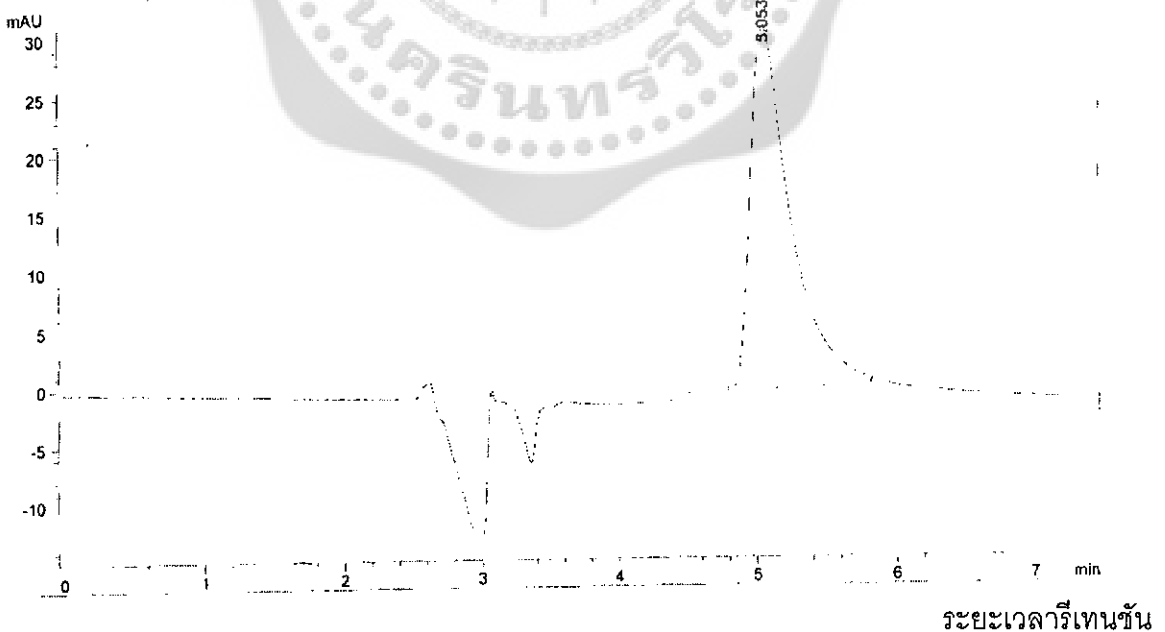
4.4.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับการหาค่าร้อยละการกลับคืน (percent recovery) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินโดยเทคนิค โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ผลจากการเตรียมสารละลายมาตรฐานและการทดลองเชิงสำรวจขั้นต้น ดังภาพประกอบ 9-10

4.4.4 สภาวะของเครื่อง โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ที่ใช้ในการวิเคราะห์นิโคติน

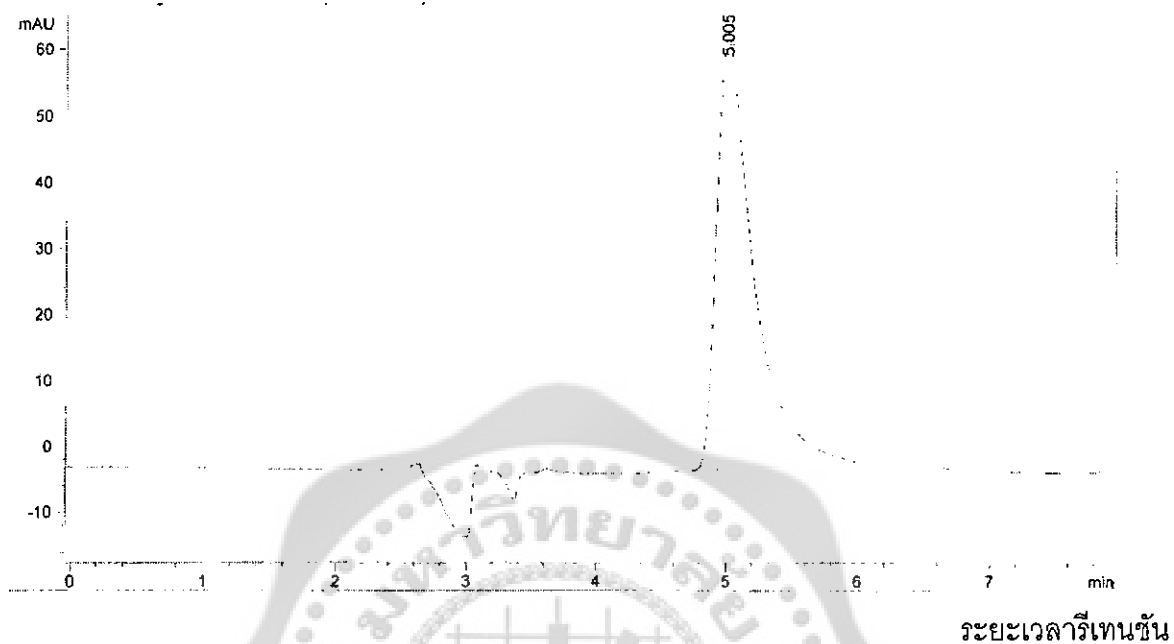
สภาวะของเครื่อง โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ที่ใช้ในการวิเคราะห์นิโคติน สำหรับ ผู้วิจัยดำเนินการวิจัยโดยใช้คอลัมน์ Hypersil ODS (C-18)(Agilent) ขนาด 4.0 × 125 มิลลิเมตรอนุภาคที่บรรจุภายในมีขนาด 5 μm มีสารละลายเฟสเคลื่อนที่(mobile phase) คือ sodium acetate : methanol: triethylamine(88:12:0.5) ปรับ pH 5.05 ด้วย glacial acetic acid ใช้โปรแกรมแบบ isocratic อัตราการไหล (flow rate) เท่ากับ 0.9 มิลลิลิตร/นาที เมื่อใช้เครื่องตรวจวัดอัตราไอโอเดต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร พบว่าสามารถพบนิโคติน มีค่าเวลารีเทนชัน ประมาณ 5.0 นาทีดังภาพประกอบ 11-14

การดูดกลืนแสง



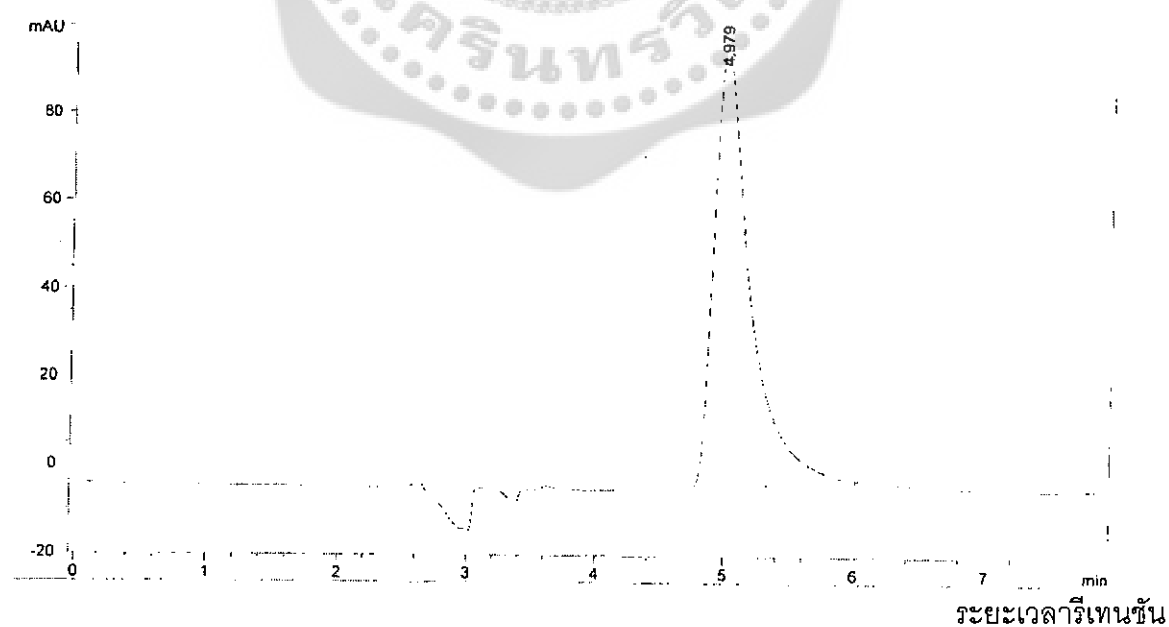
ภาพประกอบ 11 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม /มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

การดูดกลืนแสง



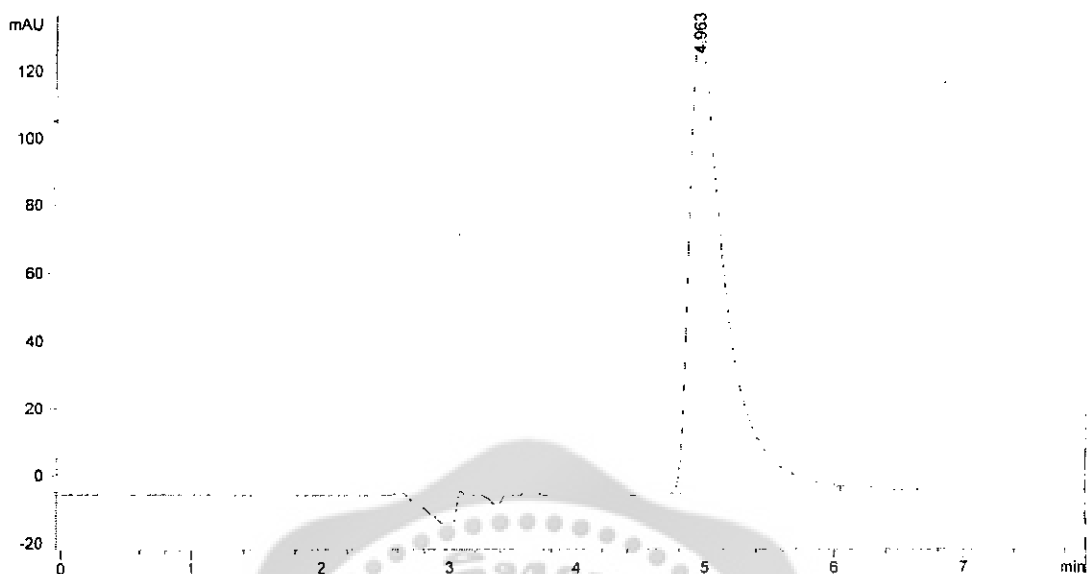
ภาพประกอบ 12 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น
10 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259นาโนเมตร

การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 13 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น
15 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

การดูดกลืนแสง



ระยะเวลาที่เทนชัน

ภาพประกอบ 14 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น
20 ไมโครกรัม /มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

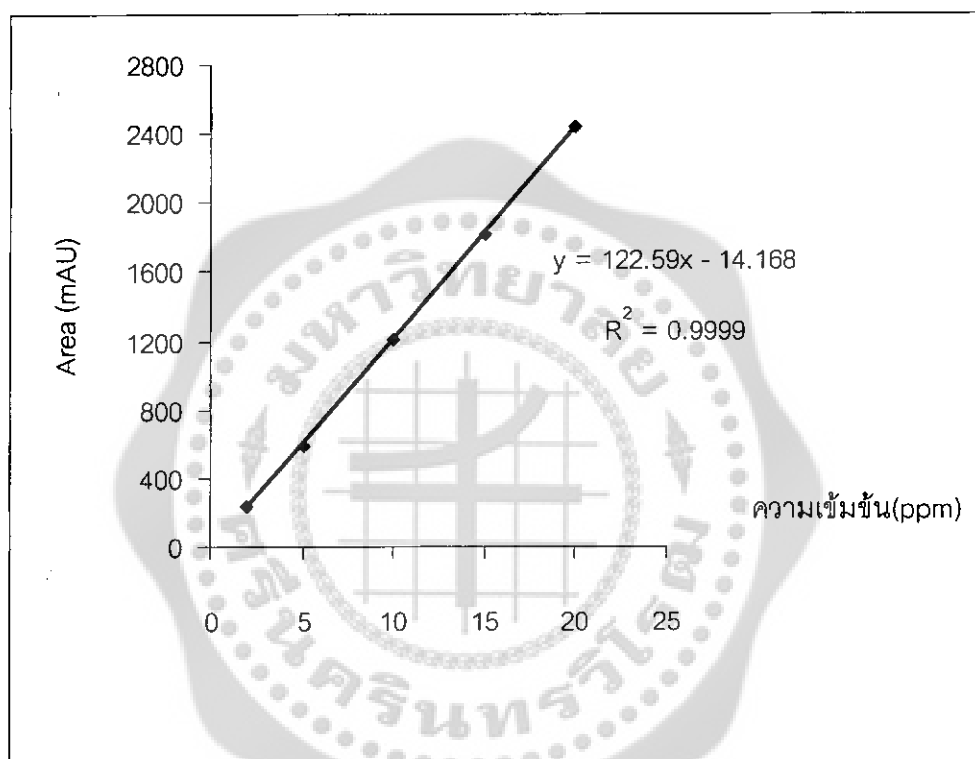
4.4.5 การหาช่วงที่เป็นเส้นตรง

จากกราฟมาตรฐานสามารถนำมาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) แสดงในตาราง 4

ตาราง 4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ครั้งที่	สมการเส้นตรง	(r)
1	$Y = 122.59X - 14.168$	0.9999
2	$Y = 122.49X - 13.892$	0.9997
3	$Y = 104.2X - 41.786$	0.9958
4	$Y = 117.59X - 1.063$	0.9998
5	$Y = 122.39X - 12.762$	0.9999
\bar{X}		0.9990
SD		0.0018
% CV		0.1802

จากตาราง 4 เมื่อนำสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 nm แล้วนำความเข้มข้นที่วัดได้กับพื้นที่พีค นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน นำมาคำนวณหาช่วงที่เป็นเส้นตรง พบว่าค่า (r) อยู่ในช่วง 0.9958-0.9999 เฉลี่ย 0.9990 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0018 สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 0.1802 และกราฟมาตรฐาน แสดงดังภาพประกอบ 15



ภาพประกอบ 15 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ที่ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

4.4.6 การหาค่าร้อยละการกลับคืน

4.4.6.1 การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธีของการหาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธีของการหาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน หาได้จากการนำสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายตัวอย่าง ทำการทดลองเหมือนสารตัวอย่างทุกประการ การหาค่าร้อยละการกลับคืนที่ใช้ในการวิจัย ปรากฏดังตาราง 5

ตาราง 5 ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n=5)

ครั้งที่	ค่าความเข้มข้นทั้งหมด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยที่ตรวจพบ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี (%)
1	20	16.38	81.90
2	20	14.76	73.81
3	20	17.21	86.05
4	20	16.47	82.33
5	20	16.38	81.90
\bar{X}		16.24	81.1980
SD		0.8976	4.4830
%CV		5.5277	5.5210

จากตาราง 5 แสดงร้อยละประสิทธิภาพของวิธีที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.24 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.8976 สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 5.5277 และร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 81.1980

4.4.6.2 การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธีของการหาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน

การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธีของการหาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน หาได้จากการนำสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ความเข้มข้น 0.909 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมนลงในสารละลายตัวอย่าง ทำการทดลองเหมือนสารตัวอย่างทุกประการ การหาร้อยละการกลับคืนที่ใช้ในการวิจัย ปรากฏดังตาราง 6

ตาราง 6 ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n=5)

ครั้งที่	ค่าเฉลี่ยที่ตรวจพบ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี (%)
1	0.0184	92.01
2	0.0196	98.01
3	0.0212	106.01
4	0.0205	102.51
5	0.0210	105.01
\bar{X}	0.0201	100.71
SD	0.0012	5.76
%CV	5.9701	5.72

จากตาราง 6 แสดงร้อยละประสิทธิภาพของวิธีที่ความเข้มข้น 0.019998 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0201 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0012 สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 5.9701 และร้อยละประสิทธิภาพของวิธีเท่ากับ 100.71

4.4.7 การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด

การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด พบว่าสารละลายมาตรฐานนิโคตินมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เมื่อ S/N = 3 ที่ได้จากกราฟเส้นตรง โดยกำหนดให้แกนตั้ง คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ความสูงของพีค และแกนนอนคือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น ดังข้อ 3.5.8.5 - 3.5.8.8 ในบทที่ 3 จะได้สมการเส้นตรง

$y = 18.288x + 0.0107$ เมื่อให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น (SD) เท่ากับศูนย์ พบว่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ความสูงของพีค (y) มีค่าเท่ากับ 0.0107 หลังจากนั้น นำ factor 3 คูณกับค่า y จะมีค่าเท่ากับ 0.0321

เมื่อสร้างกราฟเส้นตรงโดยกำหนดให้แกนตั้งคือ ความสูงของพีค มีหน่วยเป็น mAU และแกนนอนคือความเข้มข้นมีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังข้อ 3.5.8.7-3.5.8.8 ในบทที่ 3 จะได้สมการเส้นตรง $y = 5.2469x$ เมื่อแทน y ด้วย 0.0321 พบว่าความเข้มข้น (\bar{X}) ค่าเท่ากับ 0.0061 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นั่นคือ นิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 0.0061 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

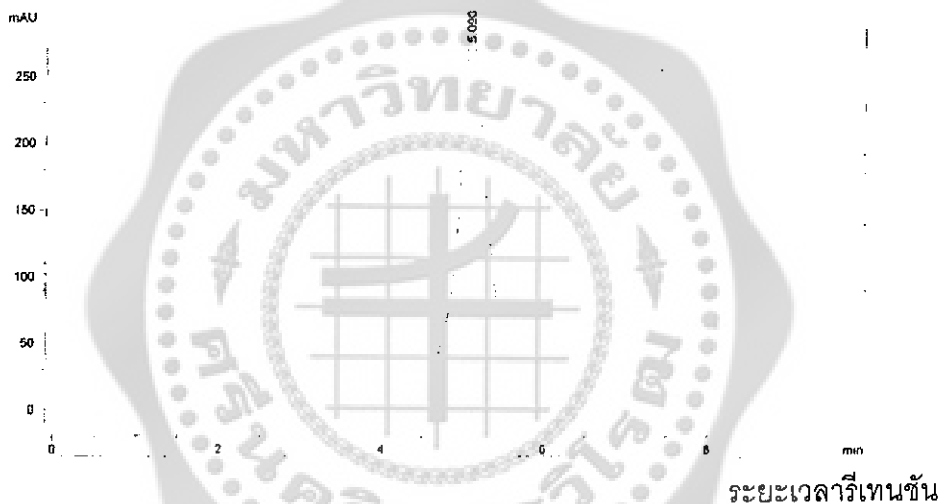
4.4.8 การติดตามปริมาณในหมากผสมนิโคตินสูตรต่างๆ ตลอดระยะเวลา 12

เดือน

เมื่อนำหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 มิลลิกรัม 1 กรัม กัมเบสและ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ไปละลายด้วยสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก(1:1) ที่งัว ข้ามคืน เขย่าจนหมากฝรั่งละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น นำชั้นสารละลายชั้น กรดไฮโดรคลอริกที่ ได้ไปกรอง แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัด อัตราไวโอเลต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร พบว่าค่าเวลา

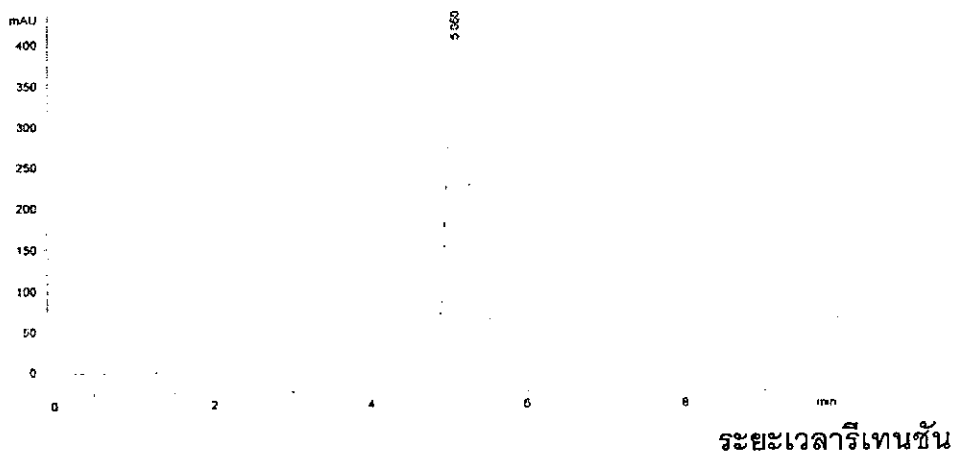
รีเทนชัน ประมาณ 5.0 นาที ดังภาพประกอบ 16-17

การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 16 โครมาโทแกรมของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 17 โครมาโทแกรมของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

จากการตรวจวัดปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส และ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ด้วยเครื่องตรวจวัดอัตราไวโอเลต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร เป็นระยะเวลา 12 เดือนแสดงผลข้อมูล ดังตาราง 7

ตาราง 7 ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบสที่เดือนต่างๆ

เดือน	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของนิโคตินที่พบในหมากฝรั่งผสมนิโคติน							
	2 มิลลิกรัม /1 กรัม กัมเบส				4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส			
	X	\bar{X}	SD	%CV	X	\bar{X}	SD	%CV
1	1.8503	1.8525	0.0031	0.1673	3.5849	3.568	0.0233	0.6530
	1.8547				3.5519			
2	1.6561	1.6593	0.0045	0.2712	3.1158	3.1378	0.0466	1.4851
	1.6625				3.1915			
3	1.5450	1.5584	0.0272	1.7453	2.9036	2.8828	0.0159	0.5155
	1.5407				2.8723			
4	1.5279	1.5357	0.0055	0.3581	2.7049	2.7600	0.0564	2.0434
	1.5386				2.8178			
5	1.5659	1.4952	0.0424	2.8357	2.7289	2.6779	0.0579	2.1621
	1.4897				2.6889			
6	1.4022	1.4131	0.0104	0.7360	2.5331	2.5547	0.0187	0.7320
	1.4143				2.5666			
7	1.3474	1.3170	0.0267	2.0273	2.4756	2.4910	0.0150	0.6022
	1.2966				2.5057			
	1.3072				2.4910			

ตาราง 7 (ต่อ)

เดือน	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของนิโคตินที่พบในหมากฝรั่งผสมนิโคติน							
	2 มิลลิกรัม /1 g gumbase				4 มิลลิกรัม/1 g gumbase			
	X	\bar{X}	SD	%CV	X	\bar{X}	SD	%CV
8	1.2628				2.3663			
	1.2775	1.2703	0.0073	0.5747	2.4167	2.4209	0.0569	2.3503
	1.2703				2.4799			
9	1.2770				2.3335			
	1.3046	1.2878	0.0147	1.1414	2.5193	2.4264	0.1314	5.4154
	1.2820							
10	1.2436				2.3973			
	1.1939	1.2156	0.0254	2.0895	2.3884	2.4225	0.0072	0.2972
	1.2095				2.4027			
11	1.1187				2.2318			
	1.1027	1.1001	0.0200	1.8180	2.2663	2.2359	0.0285	1.2746
	1.0789				2.2096			
12	1.0544				2.1565			
	1.0463	1.0390	0.0077	0.7411	2.1422	2.1343	0.0269	1.2603
	1.0390				2.1043			
\bar{X}		1.3953				2.6427		
SD		0.2365				0.0415		
%CV		16.9777				1.5704		

จากตาราง 7 การตรวจวัดปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม /1 กรัม กัมเบส และ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ด้วยเครื่องตรวจวัดอัตราไวโอเลต-วิดิเบิ้ล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าสามารถพบนิโคตินอยู่ในช่วงเฉลี่ย 1.0390-1.97427 และ 2.1343-3.2684 มิลลิกรัม ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0055 -0.3507 และ 0.0072 - 0.2786 ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 0.3581- 21.3958 และ 0.2972- 10.8064 ตามลำดับ

4.4.9 การหาความคงทน หรืออายุของผลิตภัณฑ์

จากการตรวจวัดปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส [หมากฝรั่ง ระยะที่ 2 ของโครงการวิจัยฯ ซึ่งผลิตเป็นยาดัณฑ์แบบ (prototype) ที่มีรูปแบบเหมือนจริง (ภาคผนวก ภาพประกอบ 35) ที่จะขอขึ้นทะเบียนตำรับยาจาก สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข หมากฝรั่งผสมนิโคตินต้นแบบนี้ ผลิตโดย บริษัท มิลลิเมด จำกัด (MILLIMED) พร้อมทั้งจะส่ง องค์การอาหารและยา เพื่อขอ ทะเบียนตำรับใหม่ นำห่อหุ้มด้วยแผงฟอรัล เพื่อกันน้ำแต่ไม่กันความร้อน 3 ชั้น แซงลงในอ่างน้ำที่ควบคุม อุณหภูมิ ตั้งอุณหภูมิที่ $45^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 6 เดือน] ด้วยเครื่องตรวจวัดอัตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร โดยสุ่มสุ่มหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตโดย บริษัท มิลลิเมด จำกัด (MILLIMED) พร้อมทั้งจะส่ง องค์การอาหารและยา เพื่อขอ ทะเบียนตำรับใหม่ แสดงผลข้อมูล ดังตาราง



ตาราง 8 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของนิโคตินที่พบในหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n=12)
สูตรความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม /1 กรัม กัมเบส

ครั้งที่	ค่าเฉลี่ยที่ตรวจพบ (มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส)	ร้อยละ(%) การคงเหลือ เมื่อ เปรียบเทียบกับปริมาณเริ่มต้นก่อน การบ่ม ที่อุณหภูมิที่ $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 4 เดือน	หมายเหตุ
1	1.89	85.59	คิดจาก 2 มิลลิกรัม/ กรัม กัมเบส
2	2.02	101	
3	1.94	88.18	
4	1.75	87.5	
5	2.02	101	
6	1.73	86.5	
7	1.75	87.5	
8	1.72	86.0	
9	1.60	80.0	
10	1.57	78.5	
11	1.68	84.0	
12	1.48	74.0	
\bar{X}	1.7625	86.6475	
SD	0.17415	7.94806	
%CV	9.88	9.17286	

จากตาราง 8 การตรวจวัดปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส แผลงในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 6 เดือน ด้วยเครื่องตรวจวัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร ผลการวิเคราะห์ ตัวอย่างที่สุ่มอย่างง่ายมา 12 ตัวอย่างพบค่าเฉลี่ยปริมาณนิโคตินเท่ากับ 1.7625 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส คงเหลือคิดเป็นร้อยละ 86.647 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเริ่มต้นก่อนการบ่มที่อุณหภูมิที่ $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 6 เดือน เท่ากับ 86.6475

4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร : การศึกษาชีวสมมูล

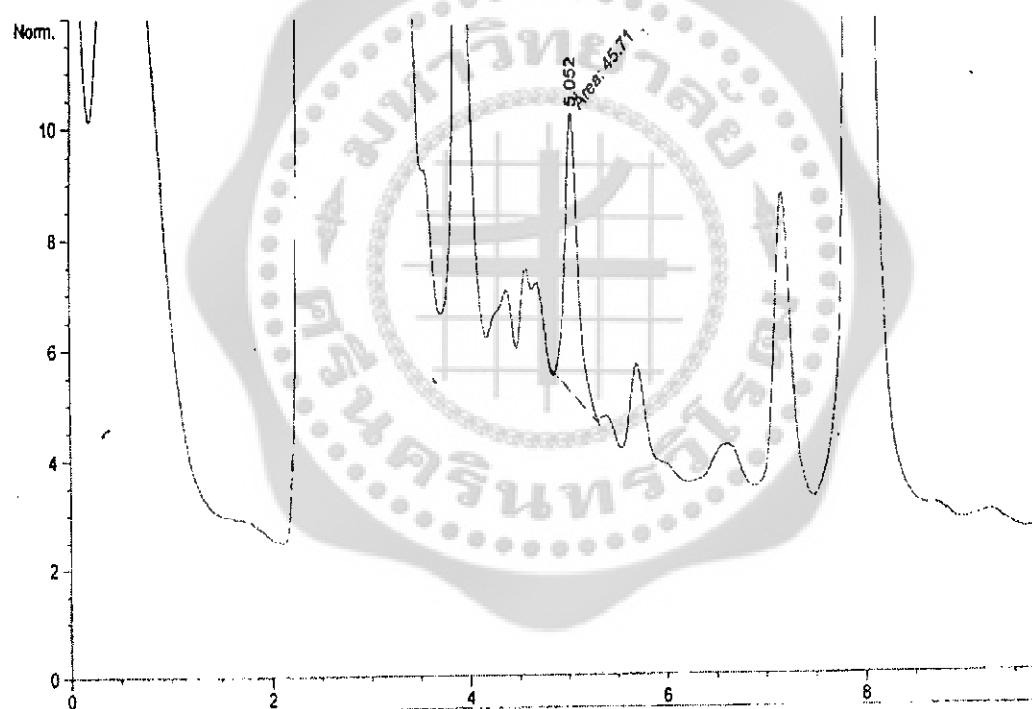
คณะกรรมการวิจัยทำการคัดเลือกอาสาสมัครที่สูบบุหรี่ประจำและมีค่าดัชนีมวลร่างกายอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด จำนวน 12 รายทดลองใช้หมากฝรั่ง SWU (ใช้เรซิน Nicotine Polyestex) และอาสาสมัคร อีกจำนวน 12 รายทดลองใช้หมากฝรั่ง Nicorette (ใช้เรซิน Nicotine Polacrilex) อาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่มจะถูกเจาะโลหิตก่อนให้ยา และหลังให้ยา 15, 30 และ 40 นาที เมื่อนำโลหิต 2 มิลลิลิตรที่เจาะที่เวลาต่างๆ มาเติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 35% จำนวน 200 μ L เพื่อตกตะกอนโปรตีน จากนั้นนำสารละลายส่วนใส (supernatant) ที่ได้ไปกรองผ่าน nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร ฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง แสดงผลข้อมูล ดังตาราง

ตาราง 9 การเปรียบเทียบการดูดซึมปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร : การศึกษาชีวสมมูล

อาสาสมัคร คนที่	0 นาที		15 นาที		30 นาที		40 นาที	
	SWU	Nicorette	SWU	Nicorette	SWU	Nicorette	SWU	Nicorette
1	1.384	1.6678	2.4430	1.8678	1.4990	1.7811	1.3191	1.1242
2	1.5870	0.8499	2.7790	0.74293	2.1171	0.8567	1.8860	0.8861
3	0.3607	0.7436	0.430	0.7721	0.3434	0.8256	0.3678	0.7826
4	0.2679	0.8523	0.2742	0.9753	0.2682	0.8920	0.2460	0.9330
5	0.3705	0.9285	0.2285	1.1064	0.3146	1.0540	0.3448	1.0758
6	0.44047	0.0104	0.6461	0.0469	0.5973	0.0184	0.6293	0.0279
7	1.4880	0.3926	1.7291	0.4621	1.7565	0.4128	1.6982	0.3994
8	2.0460	0.2454	3.4780	0.3510	3.4229	0.3802	2.5445	0.3791
9	0.1534	0.2293	0.3301	0.2834	0.3780	0.2571	0.5822	0.2534
10	0.3794	0.4420	0.6084	0.5592	0.7783	0.5283	0.5582	0.5077
11	0.2131	0.5526	0.2567	0.6411	0.3710	0.5429	0.6691	0.5707
12	0.5117	0.2921	0.4247	0.3296	0.4489	0.3115	0.4897	0.3482
\bar{X}	0.7669	0.6005	1.1356	0.6781	1.0246	0.6550	0.9445	0.60734
SD	0.6595	0.4442	1.1582	0.4810	0.9847	0.4668	0.7383	0.3484
Rate (ng/min.)	0	0	75.7066	45.2066	34.1533	21.8333	23.6125	15.1835

พบว่าสามารถพบนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่ใช้หมากฝรั่ง SWU ที่เวลา 0, 15, 30 และ 40 นาที อยู่ในช่วงเฉลี่ย 0.7669, 1.1356, 1.0246 และ 0.9445 มิลลิกรัม/กรัมต่อนาที ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.6595, 1.1582, 0.9847 และ 0.7383 ตามลำดับ อัตราการดูดซึม ต่อเวลา 1 นาที 0, 75.7066, 34.1533 และ 23.6125 นาโนกรัม ต่อ นาที ในขณะที่พบ ในเลือดของอาสาสมัครที่ใช้หมากฝรั่ง Nicorette ที่เวลา 0, 15, 30 และ 40 นาที อยู่ในช่วงเฉลี่ย 0.6005, 0.6781, 0.6550 และ 0.60734 ไมโครกรัม ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.4442, 0.4810, 0.4668 และ 0.3484 ตามลำดับ อัตราการดูดซึม ต่อเวลา 1 นาที 0, 45.2066, 21.8333 และ 15.1835 นาโนกรัม ต่อ นาที มีค่าเวลาริเทนชัน เท่ากับ 5.062 นาที ดังภาพประกอบ 18

การดูดกลืนแสง



ระยะเวลาริเทนชัน

ภาพประกอบ 18 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ตรวจวัดที่

ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

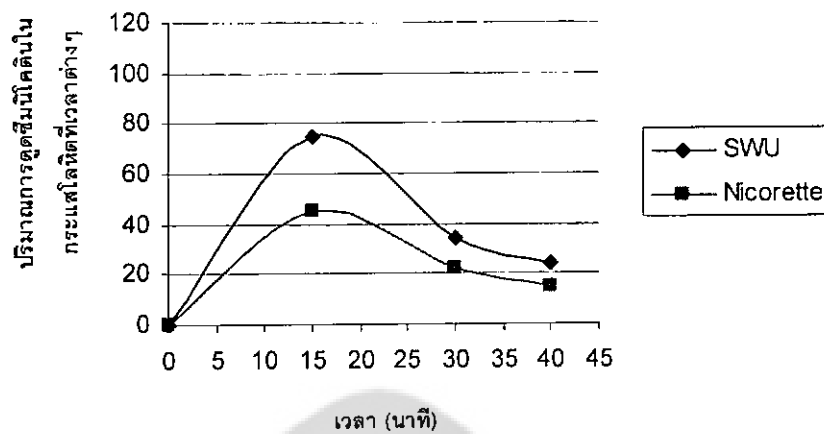
ตาราง 10 เปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยของปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ที่อัตราการดูดซึมสูงสุด นานาที ที่ 15 (นาโนกรัม ต่อ นาที)

ชนิดหมากฝรั่ง	ค่าเฉลี่ยปริมาณนิโคติน ที่ตรวจพบในโลหิต อาสาสมัคร (\bar{X}) (ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)	จำนวน อาสาสมัคร (n)	SD	t = 0.642
SWU(ใช้เรซินNicotine Polyestex)	1.1356	12	1.158	
Nicorette (ใช้เรซิน Nicotine Polacrilex)	0.6781	12	0.4810	

จากตาราง 10 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (\bar{X}) ปริมาณความเข้มข้นของนิโคตินในเลือดของอาสาสมัคร จำนวน กลุ่มละ 12 คน ที่ใช้หมากฝรั่งผสมนิโคตินต่างชนิดกัน อัตราการดูดซึม ที่ 15 นาที ซึ่งเป็นอัตราการดูดซึมสูงสุด พบว่า ค่าเฉลี่ยของอาสาสมัคร ทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติที่ระดับ $\alpha = 0.005$ [$t = 0.642 < \alpha = 0.005$, $df = 22$ ($n_1 + n_2 - 2$), $t = 3.36$]

จากตาราง 9 สามารถหาค่าอัตราการดูดซึมนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่เวลา 0 ,15 ,30 และ 40 นาที(ตามกรรมวิธีของ Benowitz ,et al. 1988 : 24) ดังภาพประกอบ 19 พบว่าอัตราการดูดซึม ปริมาณนิโคตินของอาสาสมัคร ที่ใช้หมากฝรั่งทั้งสองกลุ่ม มีลักษณะเส้นกราฟแนวโน้มแบบเดียวกัน

กราฟเปรียบเทียบ



ภาพประกอบ 19 กราฟอัตราการดูดซึมนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่เวลา 0 ,15 ,30 และ 40 นาที (ตามกรรมวิธีของ Benowitz ,et al. 1988 : 24)

4.6 ขั้นตอนการขอจดสิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า และเครื่องหมายการค้า

ผลการดำเนินการโครงการวิจัย นี้ ได้รับสิทธิบัตรหนังสือรับรองการแจ้งข้อมูล ความลับทางการค้า ประเภท ข้อมูลการค้าด้านอุตสาหกรรม ชื่อเรื่อง สูตรหมักฝรั่งผสมนิโคติน (แบบมีน้ำตาล) ไว้ต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา ตามคำขอแจ้งข้อมูลทางการค้า เลขที่ ลค.3176 เมื่อวันที่ 8 เดือน กันยายน พ.ศ. 2548 ทะเบียนข้อมูลเลขที่ อก.3190 และ สิทธิบัตรหนังสือรับรองการแจ้งข้อมูล ความลับทางการค้า ประเภท ข้อมูลการค้าด้านอุตสาหกรรม ชื่อเรื่อง สูตรหมักฝรั่งผสมนิโคติน (แบบไม่มีน้ำตาล) ไว้ต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา ตามคำขอแจ้งข้อมูลทางการค้า เลขที่ ลค.3177 เมื่อวันที่ 8 เดือน กันยายน พ.ศ. 2548 ทะเบียนข้อมูลเลขที่ อก.3191 (ดังภาพที่ 31) และใบสำคัญแสดงการ จดทะเบียนเครื่องหมายการค้า

“ นิโคมายด์ ” (ภาษาอังกฤษ) “ NICOMILD ” (ดังภาพประกอบ 32)

4.7 การคำนวณต้นทุนความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

ผลการดำเนินการคำนวณต้นทุน ปราบกฎผล ดังนี้

4.7.1 ข้อมูล : จากสำนักงานสถิติแห่งชาติ 2547

จำนวนผู้มีอายุตั้งแต่ 15 ปี	=	45 ล้านคน
ผู้สูบบุหรี่	=	11.3 ล้านคน

ผู้สูบบุหรี่ เป็นประจำ	= 9.6	ล้านคน
ผู้สูบบุหรี่ นาน ๆ ครั้ง	= 1.4	ล้านคน
ผู้สูบบุหรี่ ไม่นั่นอน	= 0.3	ล้านคน

4.7.2 เป้าหมาย ร้อยละ 0.52 ของผู้สูบบุหรี่ เป็นประจำ(11.3 ล้านคน) คิดเป็น 50,000 คน ต่อ 1 ปี

4.7.3 ผลการวิจัย พบว่า คนติดบุหรี่ ขึ้นต่ำของการบำบัด ต้องใช้หมากฝรั่งตั้งแต่ 21 วัน – 90วัน (3 เดือน)

เป้าหมายการผลิต ประมาณ 21 แผลง × 50,000 – 30 แผลง × 50,000 = 1,050,000 – 1,500,000 แผลง

4.7.4 ราคาขาย แผลง @ 45 บาท

4.7.5 ราคาส่ง 45 – ส่วนลด 25 % - 1 แผลง หรือ 10 แผลง 1 = 45 - (45 × 0.25 = 11.25)

เพราะฉะนั้น 45 – 11.25 = 33.75 บาท ต่อ 1 แผลง

ดังนั้น 33.75 × 10 แผลง = 337.5 บาท / 11 แผลง

คิดเป็นราคาขาย ส่งแผลง @ 30.681 บาท

4.7.6 ราคาวัสดุ และทุนการผลิต

1. สารเคมี และเนื้อ กรั้มเบส = 1.50 บาท ต่อ แผลง

2. กล่องและวัสดุ = 6.2 บาท

(รวมค่าเสื่อมราคา ของเครื่องจักร)

3. การตลาด 2.5 % = 1.125 บาท

4. ลิขสิทธิ์ 8 % = 3.6 บาท ต่อ แผลง

5. WAT 7 % = 3.15 บาท ต่อ แผลง

ส่วนต่างของ ราคา ต่อ แผลง 15.106 บาท × เป้าหมาย = 15,861,300 – 22,659,000 บาท

4.8 การขอใบสำคัญการขึ้นทะเบียน ตำรับยาแผนปัจจุบัน (ผลิต)

จากข้อมูลทางชีวสมมูล การติดตามปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งที่ระยะเวลา 12 เดือน และค่าความคงทนหรืออายุของผลิตภัณฑ์ ตลอดจนการขอจดสิทธิบัตร ข้อมูลความลับทางการค้า

เครื่องหมายการค้า ร่วมกับหน่วยบ่มเพาะวิสาหกิจแห่งศูนย์บริการวิชาการ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สามารถทำความตกลง เลือกลง บริษัท มิลลิเมด จำกัด เป็นตัวแทนผลิตและจัดจำหน่ายมากฝรั่ง (ดังภาพประกอบ 33) และมอบหมายให้บริษัท มิลลิเมด จำกัด รับจ้างการขอใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนปัจจุบัน(ผลิต) เพื่อขอใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนปัจจุบัน(ผลิต) เลขทะเบียน 1A 427/49 และ 1A-427/49 (ดังภาพประกอบ 36)



บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครและหมากฝรั่งผสมนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ซึ่งศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินและในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน ทั้งสูตร 2 มิลลิกรัม/ 1 กรัม กัมเบส และ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส การวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบกระบวนการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน และ อายุการเก็บของหมากฝรั่งผสมนิโคตินภายในระยะเวลา 1 ปี ตลอดจนค่าความคงทนหรืออายุของผลิตภัณฑ์เพื่อขอใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนปัจจุบัน (ผลิต) ความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ สำหรับการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินต่อไป เพื่อใช้ในการบำบัดผู้ที่ติดยาสูบ ทำให้ลดปัญหาต่อโรคที่เกิดจากการสูบบุหรี่ อีกทั้งลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดผู้ที่ติดยาสูบ อันเนื่องมาจาก หมากฝรั่งผสมนิโคตินที่วางจำหน่ายมีราคาสูง และ นำเข้าจากต่างประเทศ

สรุปผลและอภิปรายผล

จากการศึกษาวิจัย สรุปผลได้ดังนี้

จากการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบได้น้ำหนักของนิโคติน ค่าเฉลี่ย 2.0910 ± 0.0010 กรัม เมื่อนำมาคำนวณเป็นร้อยละมีค่าประมาณร้อยละ 4.185 นิโคตินที่สกัดได้เป็นของเหลวมีสีเหลืองอ่อน จากการศึกษาค่าทางสเปกโทรสโคปี ทั้ง อินฟราเรดสเปกโทรสโคปีและ $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3), $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) ได้นิโคตินที่ค่อนข้างบริสุทธิ์

การนำนิโคตินที่สกัดได้จากใบยาสูบ เตรียมเป็นหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส เมื่อทำการสูดมหมากฝรั่งจำนวน 10 เม็ด ชั่งน้ำหนักโดยละเอียดที่ละเม็ดและคำนวณค่าเฉลี่ยได้ 1.01 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.012 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน เท่ากับ 1.188 และสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ได้หมากฝรั่งลักษณะสีเหลืองอ่อนเช่นเดียวกัน

การหาน้ำหนักเฉลี่ยในลักษณะเดียวกัน คือ สูดมจำนวน 10 เม็ด ชั่งน้ำหนักโดยละเอียดพบว่าค่าเฉลี่ย 0.9932 กรัม ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.014 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 1.409 ทั้งสองสูตร มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของน้ำหนัก (%CV) ไม่เกินร้อยละ 6 จึงเป็นน้ำหนักยาเม็ดโดยเฉลี่ย ตาม(BP 1993 น้ำหนักเม็ดยา ควรมีความเบี่ยงเบนในช่วงร้อยละ ± 5)

การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง การวิจัยครั้งนี้ใช้คอลัมน์ Hypersil ODS(C-18 , Agilent) ขนาด 4.0x 125 mm อนุภาคบรรจุอยู่ภายในขนาด 5 ไมโครเมตร สารละลายเฟสเคลื่อนที่ คือ sodium acetate : methanol : triethylamine (88 : 12 : 0.5) ปรับ pH 5.05 ด้วย glacial acetic acid ใช้โปรแกรมแบบไอโซเครติก อัตราการไหล 0.90 มิลลิลิตร/นาที ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-ฟลูออโรเมตริก ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร พบค่าเวลาริเทนชันของนิโคติน 5.0 นาที สอดคล้องกับการวิจัยของดาสและวอง (Dash ;&Wong. 1996 : 81-85) ที่ใช้คอลัมน์ชนิด reversed phase C-18 ขนาด 4.6x 150 มิลลิเมตร อนุภาคบรรจุภายในขนาด 5 ไมโครเมตร โปรแกรมแบบไอโซเครติก เช่นเดียวกัน แต่สารละลายเฟสเคลื่อนที่แตกต่างกัน คือ ใช้ methanol : citrate phosphate buffer(15 : 85) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.70 มิลลิลิตร/นาที ซึ่งดาสและวอง(Dash ;&Wong. 1996 : 81-85) พบว่าเวลาริเทนชันของนิโคตินเท่ากับ 4.4 นาที เร็วกว่าค่าเวลาริเทนชันของการวิจัยนี้ 0.6 นาที ทั้งนี้เป็นเพราะการใช้ชนิดของเฟสเคลื่อนที่แตกต่างกัน

การหาช่วงที่เป็นเส้นตรงและค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธี จากการวิจัยเมื่อนำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ใช้คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) พบว่าการตอบสนองของสัญญาณการตรวจวิเคราะห์ต่อนิโคตินในช่วงความเข้มข้น 2.0 - 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.9958-0.9999 ค่าเฉลี่ย 0.9990 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0018 และค่าสัมประสิทธิ์แปรปรวน 0.1802 เปอร์เซ็นต์ จากข้อมูลพบว่าค่าตอบสนองการตรวจวัดเป็นเส้นตรง มีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงให้เห็นว่ามีความแม่นยำในการวิเคราะห์ พบว่าการวิเคราะห์หานิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน มีค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย 16.24 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (81.1980 เปอร์เซ็นต์) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.8976 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 5.5227 เปอร์เซ็นต์ ส่วนว่าการวิเคราะห์หานิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร มีค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย 0.0226 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (113.14 เปอร์เซ็นต์) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0028 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 12.5773 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัยในการหาค่าร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ผู้วิจัยทำการสกัดตัวอย่างในหมากฝรั่งผสมนิโคตินคล้ายกับ ธนศ พงศ์จรยากุล(Thaned .2000) ซึ่งสกัดด้วย sodium acetate: methanol: triethylamine (88:12:05) พบว่ามีประสิทธิภาพของวิธีอยู่ในช่วงเดียวกัน การหาค่าร้อยละการกลับคืนมีค่าค่อนข้างต่ำ อาจเป็นเพราะปริมาณนิโคตินสูญหายไประหว่างการสกัด และองค์ประกอบของหมากฝรั่งผสมนิโคตินมีกลูโคส และน้ำตาลไอซิ่งเป็นส่วนผสม ซึ่งอาจส่งผลทำให้นิโคตินเกิดอันตรกิริยากับกลูโคสและน้ำตาลไอซิ่ง ทำให้ปริมาณนิโคตินที่สกัดได้มีปริมาณน้อยลง

ผลการวิจัยในการหาค่าร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในโลหิต ผู้วิจัยทำการหาปริมาณนิโคตินในโลหิตจากอาสาสมัคร ซึ่งกระบวนการในการวิเคราะห์ ผู้วิจัยได้ทำการพัฒนาร้อยละประสิทธิภาพวิธีให้มีค่าที่มากขึ้น ดังจะเห็นจากการเปรียบเทียบกับงานวิจัยของเฟเยอราเบนด์ เลวิตต์ และรัสเซลล์ (Feyerabend; Levitt; & Russell.1975:434-436) ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในพลาสมาของผู้สูบบุหรี่ และไม่สูบบุหรี่ โดยสกัดตัวอย่างพลาสมาด้วยไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) ใช้ควิโนลิน(quinoline) เป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน (internal standard) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิจัยพบร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 75เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการหาวิธีต่ำกว่างานวิจัยครั้งนี้มาก

การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด เมื่อ S/N= 3 พบว่านิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ มีค่าน้อยมากคือ 0.0061 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าวิธีการของวิจัยครั้งนี้มีความไวในการวิเคราะห์นิโคติน มีแนวโน้มที่สอดคล้องที่สอดคล้องกับดาส และวอง (Dash;&Wong. 1996 : 81-85)โดยใช้คอลัมน์ C-18 ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร พบว่าปริมาณต่ำสุดที่วัดได้มีค่าเท่ากับ คือ 0.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

การหาค่าแพ็คเกจร้อยละออกฤทธิ์เนิ่นของการปลดปล่อยสารนิโคตินของเรซินชนิดต่างๆ การวิจัยนี้ พบเรซินที่ให้ชื่อว่า The Nicotine Polyestex ได้ผลการออกฤทธิ์เนิ่นได้ดีโดยจะค่อยๆปลดปล่อยนิโคตินออกมาขณะเคี้ยวและออกฤทธิ์ได้นานใกล้เคียงกับเรซินของเครื่องหมายการค้า Nicorette ชื่อ The Nicotine Polacrilex คือ ร้อยละ 18.0 และ 25.1 ตามลำดับ

การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

จากการวิจัยการตรวจวัดปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ด้วยหัววัดตรวจวัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าสามารถพบนิโคตรินอยู่ในช่วงเฉลี่ย 1.0390-1.97427 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0055-0.3507 รับประทานวันเดือนที่ 1 และ 2 มีค่าเกินร้อยละ 5 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะและมีปริมาณนิโคตินลดลงตามอายุของการเก็บ

ส่วนปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่สูตรความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/1กรัม กัมเบส จะพบปริมาณนิโคตินระยะเวลา 12 เดือน มีค่าเฉลี่ยปริมาณนิโคตินเฉลี่ย 1.0390-1.9742 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0072-0.2786 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนโดยทั่วไปต่ำกว่าร้อยละ 5 รับประทานวันเดือนที่ 10 (ยงยุทธ ตันจุลเวสส และคณะ ; 2549 :)

การหาค่าความคงทน หรืออายุของผลิตภัณฑ์ผลการวิเคราะห์ พบค่าเฉลี่ยปริมาณนิโคตินเท่ากับ 1.7625 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบล คงเหลือคิดเป็นร้อยละ 86.647 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งเริ่มต้นก่อนการบ่มที่อุณหภูมิที่ $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 6 เดือน แสดงให้เห็นถึงอายุของผลิตภัณฑ์นี้ มีอายุ (งาน) ผลิตได้นาน 24 เดือน

การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครจำนวน 12 ราย พบว่าปริมาณนิโคตินในช่วงเวลาก่อนเคี้ยว(0 นาที), ภายหลังจากเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน ที่เวลา 15, 30 และ 40 นาที พบว่าปริมาณนิโคตินเฉลี่ย 0.7669, 1.1356, 1.0240 และ 0.9445 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำมาหาอัตราการดูดซึมนิโคตินต่อเวลา(นาที) ดัดแปลงตามกรรมวิธีการของ Benowitz ,.et al. 1988 :24) พบว่า อัตราการดูดซึมนิโคตินภายหลังจากเคี้ยว(rate of nicotine absorption) มีค่าเท่ากับ 0 (ก่อนเคี้ยว) , 75.7066 นาโนกรัม/นาที ,34.1533 นาโนกรัม/นาที ,23.6125 นาโนกรัม/นาที สอดคล้องกับการวิจัยของเบนโนวิทซ์และคณะ (Benowitz ,.et al. 1988 :24) คือ พบว่าความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตในระยะเวลา 40 นาที คือ มีค่าเฉลี่ย 14.625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่เบนโนวิทซ์และคณะ ตรวจพบ 14.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นของนิโคติน อัตราการดูดซึมของการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคตินจะค่อยๆลดต่ำลงเมื่อร่างกายมีความอยากบุหรี่(0นาที) และภายหลังจากเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินอัตราการดูดซึมจะค่อยๆสูงขึ้นและมีค่าสูงสุด เมื่อเวลา 15 นาที พบปริมาณนิโคตินกระแสโลหิต 84.6 นาโนกรัม /นาที และ 37.75 นาโนกรัม/นาที ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการสัมภาษณ์อาสาสมัคร พบว่าความอยากบุหรี่จะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที สอดคล้องกับผลการวิจัยเปรียบเทียบในการทำชีวมูลกับตำรับยาที่มีอยู่เดิม (Nicorette) พบว่า อัตราการดูดซึมมีค่าสูงสุด เมื่อเวลา 15 นาที แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับสูงมาก $\alpha = 0.005$ [$t = 1.2638 < \alpha = 0.005$, $df = 22$ ($n_1 + n_2 - 2$), $t = 3.36$] หมายถึง หมากฝรั่งผสมนิโคตรินทั้งสองชนิดนี้อัตราการดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตของอาสาสมัครไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับผลการวิจัยหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตได้ในระยะที่ 1 (ยงยุทธ ตันทุลเวสส และคณะ ; 2549)

ผลการวิจัยครั้งนี้ (ระยะที่ 2) และระยะที่ 1 (ยงยุทธ ตันทุลเวสส และคณะ ; 2549) ได้ผลในการทำงานเหมือนกัน จึงนำไปสู่การขอจดสิทธิบัตรโดยการประสานงานของศูนย์บริการวิชาการหน่วยบ่มเพาะวิสาหกิจ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ทำให้เกิดหนังสือรับรองการแจ้งข้อมูลความลับทางการค้าตามหนังสือ รลค. 01 ทะเบียนข้อมูลเลขที่ ออก. 3190 (ภาพที่ 31) ออกโดยกรมทรัพย์สินทางปัญญา และจดหนังสือรับรองเครื่องหมายการค้า "นิโคมายด์ (NICOMILD)" (ภาพที่ 32) นอกจากนี้ ขอขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนปัจจุบัน (ผลิต) หรือใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนปัจจุบัน (ผลิต) เลขทะเบียนที่ 1A 427/49 หรือใบ อย. ภายใต้อียาก NICOMILD-2 นิโคมายด์-2 จาก สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข (ภาพที่ 33) การผลิตและจัด

จำหน่ายโดยบริษัท มิลลิเมตร จำกัด ภายใต้สัญญาการลงนามระหว่างอธิการบดี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ผู้ให้สัญญากับกรรมการผู้จัดการ บริษัท มิลลิเมตร จำกัด ตามหนังสือบันทึกข้อความลงวันที่ 11 กันยายน 2549 เรื่อง การลงนามในบันทึกข้อตกลง เรื่อง ตัวแทนผลิตและจัดจำหน่ายมากฝรั่ง (ภาพที่ 33)





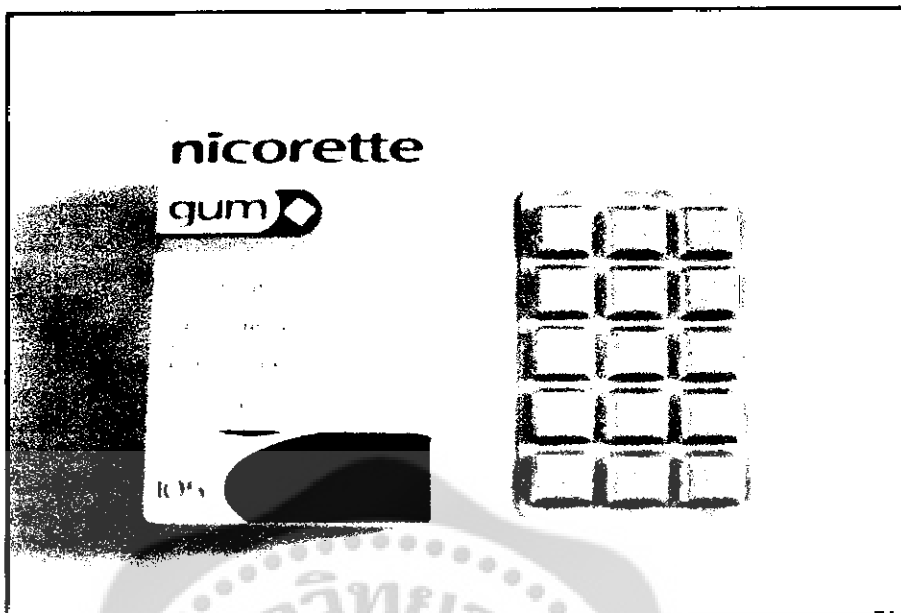
บรรณานุกรม

- 'ทารกอยู่ในครรภ์สูบบุหรี่เสี่ยงเข้าโรงพยาบาลมากขึ้น 30%', (2545, 12 มีนาคม). แนวหน้า 15
- "คนไทยสูบบุหรี่ 12ล.คน-เกือบครึ่งซิดของนอก", (2545, 15 มกราคม). มติชน 18
- เต็ม สมิตินันท์.(2523).ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย(ชื่อพฤกษศาสตร์และชื่อพื้นเมือง).กรุงเทพฯ :
 ฟีนีพับลิชชิง
- ทรงยศ ประมวลญาติ ธวสินี แสนเสนา และจิราภรณ์ นพเดช. (2546). การเลิกสูบบุหรี่ แนวทาง
 การประยุกต์ใช้ในเภสัชกรชุมชน.(Online). <http://www.pha.nu.ac.th/practice/commu/smoking.ppt>
- ยงยุทธ ตันฑุลเวสส วราดุล ฉัตรทอง สุนทรี เลิศศรีสุขสันต์ "การพัฒนาและการผลิตหมากฝรั่งผสม
 นิโคตินสำหรับใช้บำบัดการอดบุหรี่" การประชุมสัมมนาวิชาการประจำปี พ.ศ. 2548 ที่
 ประชุมประธานสภาอาจารย์มหาวิทยาลัยแห่งประเทศไทย (ปอมท) : 29-30 สิงหาคม 2548 ณ
 โรงแรมเชลล์ทรัดดวงตะวันเชียงใหม่ ; หน้า 128-132
- ยงยุทธ ตันฑุลเวสส และคณะ "การศึกษาค่าแพคเตอร์การปลดปล่อยสารนิโคตินในสารพอลิเมอร์หมาก
 ฝรั่ง" ; วารสารวิทยาศาสตร์ มศว ปีที่ 22 ฉบับที่ 1 (2549) ; หน้า 21-23
- ยงยุทธ ตันฑุลเวสส วราดุล ฉัตรทอง สุนทรี เลิศศรีสุขสันต์ การพัฒนาและการผลิตหมากฝรั่งผสม
 นิโคตินสำหรับใช้บำบัดการอดบุหรี่ (ระยะที่ 1) , มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โครงการวิจัยไม่
 กำหนดทิศทาง ปี 2548-2549 ; (อัดสำเนา) 2549
- อุษา ซอผล. (2536). วิธีการทางสถิติกับผลการทดลอง. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
 สถาบันราชภัฏยะลา.
- อัจฉรา บัวชื่น.(2545). การหาปริมาณ Resveratrol ในไวน์และผลองุ่น โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี
 ของเหลวแบบสมรรถนะสูง.ปริญญาานิพนธ์ กศ.ม.(เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย
 มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒ. ฉบับอัดสำเนา.
- Abad, A., et al.(1993,November). Comparison of Monoclonal Antibody Based Enzyme-
 Linked Immunosorbent Assay and Gas Chromatography for the Determination of
 Nicotine in Cigarette Smoke Condensates. Analytical Chemistry. 65 : 3227-3231
- Bertoni, G., et al.(1996,August). Fast Determination of Nicotine and 3-Ethyenylpyridine
 Indoor. Chromatographic. 43: 296-300

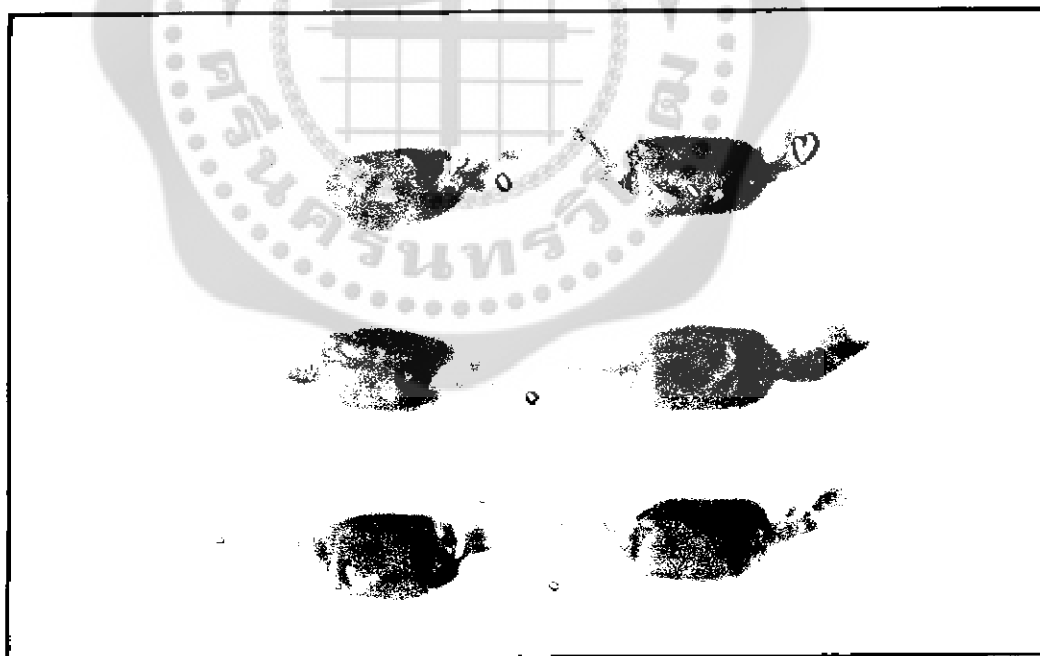
- Benowitz N.L., Porchet H. & Skeiner L. (1988). Nicotine Absorption and Cardiovascular Effects Smokeless Tobacco Use: Comparison with Cigarettes and Nicotine Gum. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 44: 24
- Dash, A.W. & Wong, S.T. (1996, April). Liquid Chromatographic Method for the Determination of Nicotine in Pharmaceutical Formulation. *Journal of Chromatography A*. 749: 81-85
- Feyerabend, Levitt & Russell. (1975, December). A Rapid Gas Liquid Chromatographic Estimation of Nicotine in Biological Fluid. *Journal Pharmacy and Pharmacology*. 27: 434-436
- Feyerabend, Levitt & Russell. (1979, July). Improved Gas Chromatographic and Micro-extraction in Biological Fluid. *Journal Pharmacy and Pharmacology*. 31: 73-76
- Hager, B. & Niessner, R. (1997, February). On the Distribution of Nicotine Between the Gas and Particle Phase and Its Measurement. *Aerosol Science And Technology*. 26 : 163-164
- Pankow, J.F., et al. (1997, August). Conversion of Nicotine in Tobacco Smoke to Its Volatile and Available Free Base from through the Action of Gaseous Ammonia. *Environmental Science Technology*. 31 : 2428-2433
- Parviainen, M.T. & Barlow, R.D. (1988, June). Assessment of Exposure to Environmental Tobacco Smoke Using a High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Determination of Nicotine and Two of Its Metabolites in Urine. *Journal of Chromatography*. 431 : 216-221
- Rop, P.P., et al. (1993, February). Determination of Nicotine and Its Main Metabolites in Urine by High-Performance Liquid Chromatography. 612(2) : 302-309
- Svob Troje Z., Frobe Z. & Perovic D. (1997, March). Analysis of Selected Alkaloids and Sugars in Tobacco Extract. *Journal of Chromatography A*. 775: 101-107
- Thaned Pongjanyakul. (2000). Development of Acrylic Adhesive Type Nicotine Transdermal Patches. Dissertation Thesis, Ph.D. (Pharmaceutics). Bangkok : Pharmacology. Mahidol University. Photocopied



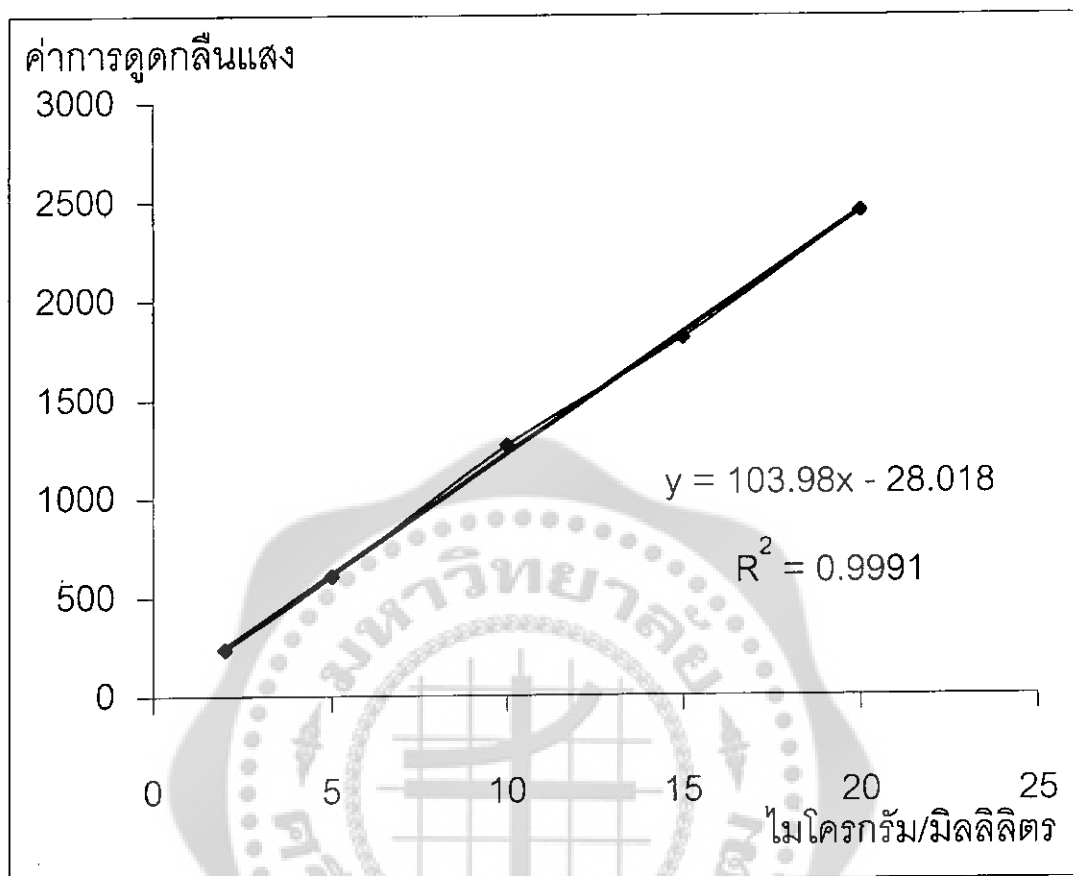
ภาคผนวก ก



ภาพประกอบ 20 หมากฝรั่งผสมนิโคติน เครื่องหมายการค้า nicorette
สูตร 2 มิลลิกรัม/1กรัม กัมเบส

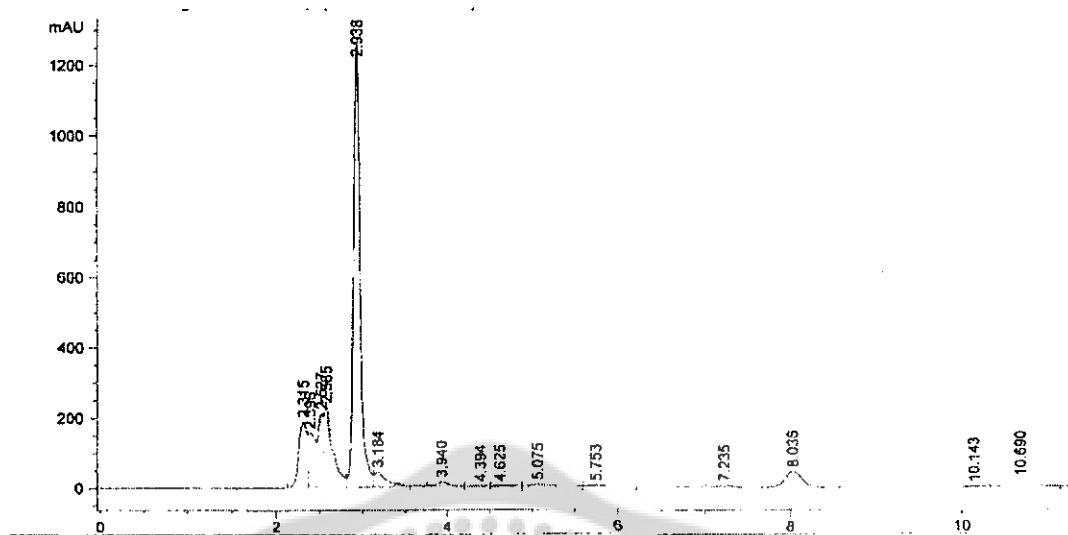


ภาพประกอบ 21 หมากฝรั่งผสมนิโคติน SWU สูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส



ภาพประกอบ 22 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

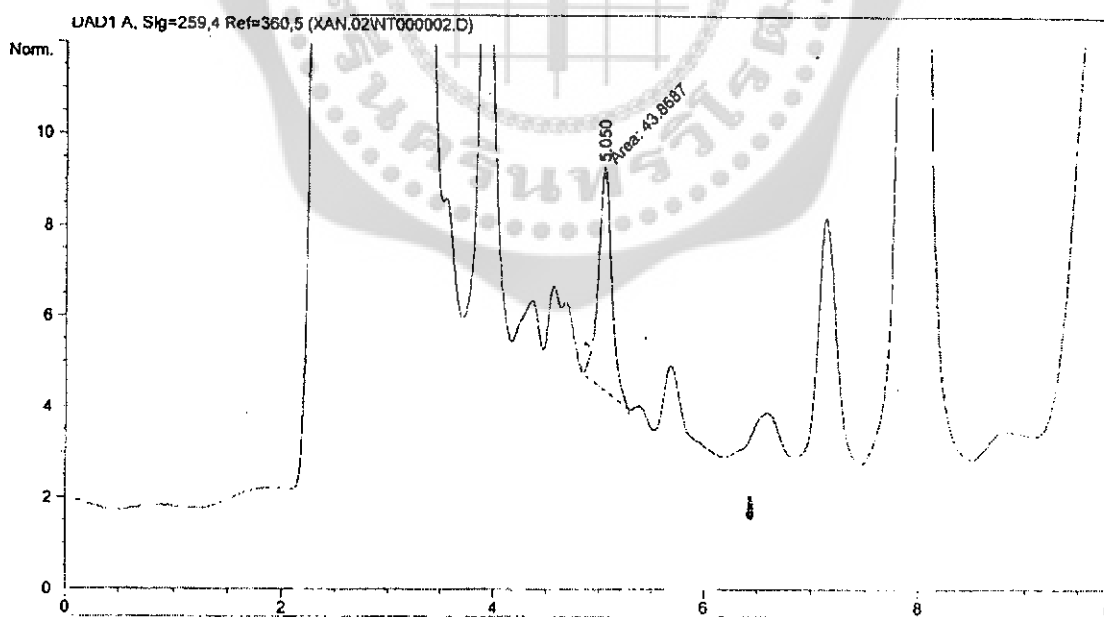
ค่าการดูดกลืนแสง



ระยะเวลาที่เทนชัน

ภาพประกอบ 23 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนเคี้ยวหมากฝรั่งผสม
นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

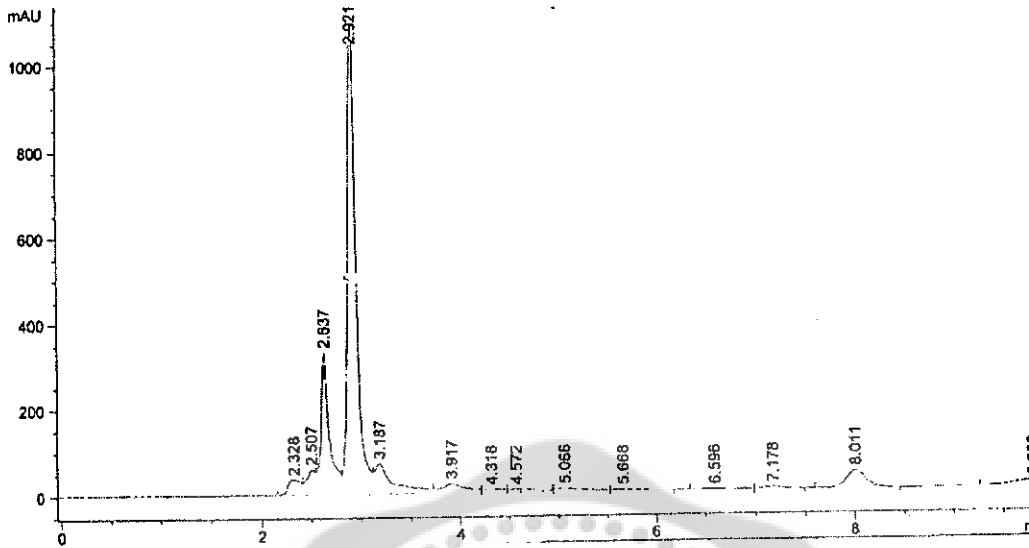
ค่าการดูดกลืนแสง



ระยะเวลาที่เทนชัน

ภาพประกอบ 24 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อน
เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259
นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง

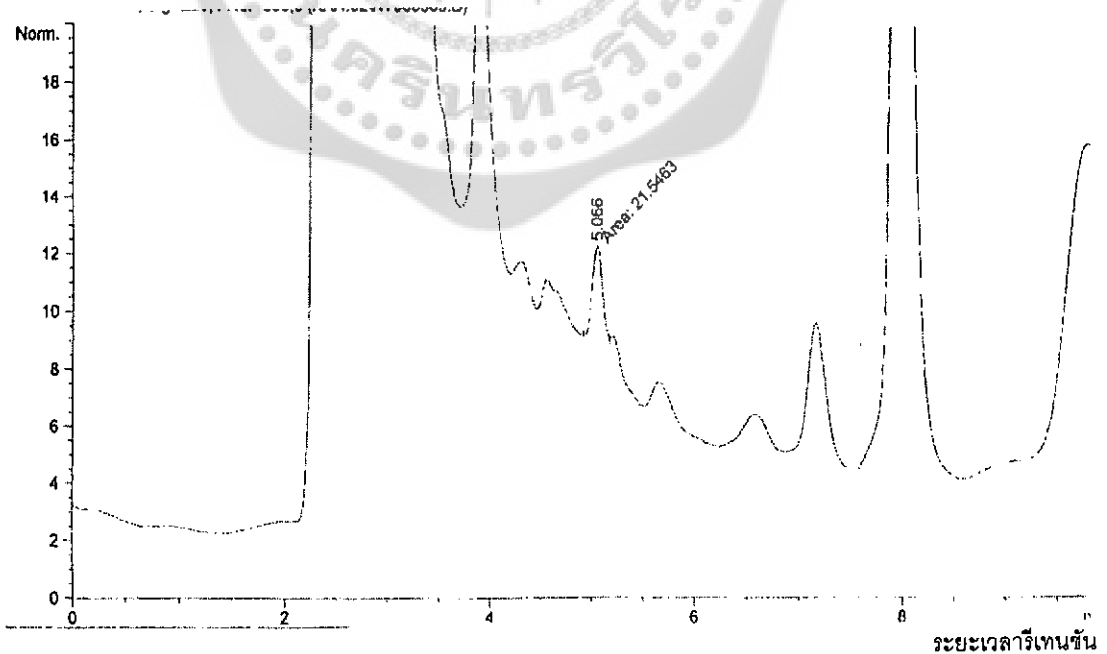


ระยะเวลาที่เทนชั่น

ภาพประกอบ 25 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสม

นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 15 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง

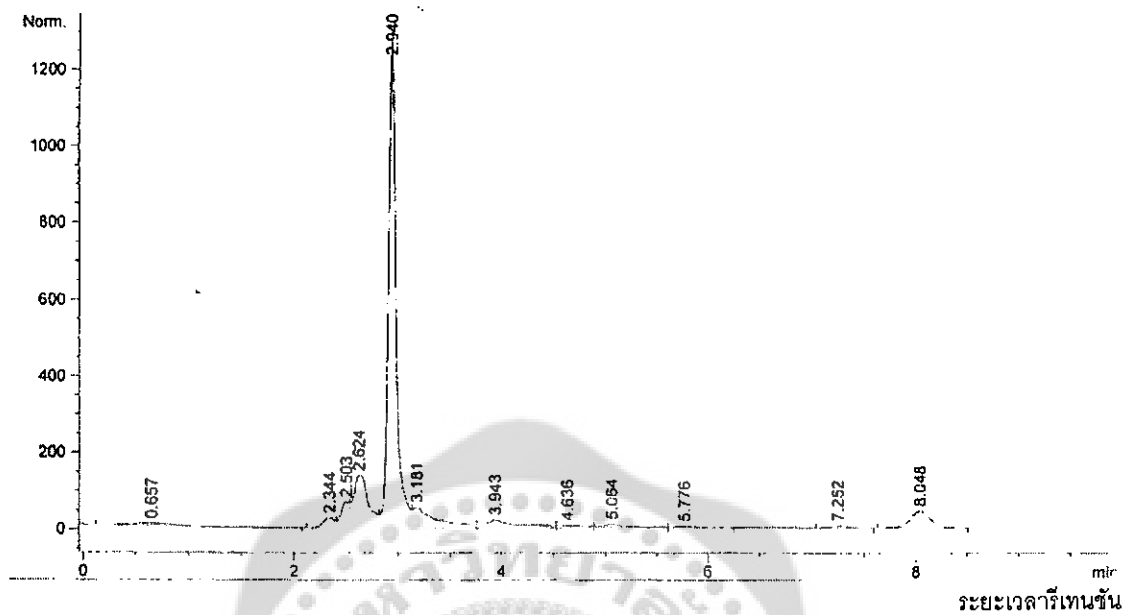


ภาพประกอบ 26 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยว

หมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 15 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น

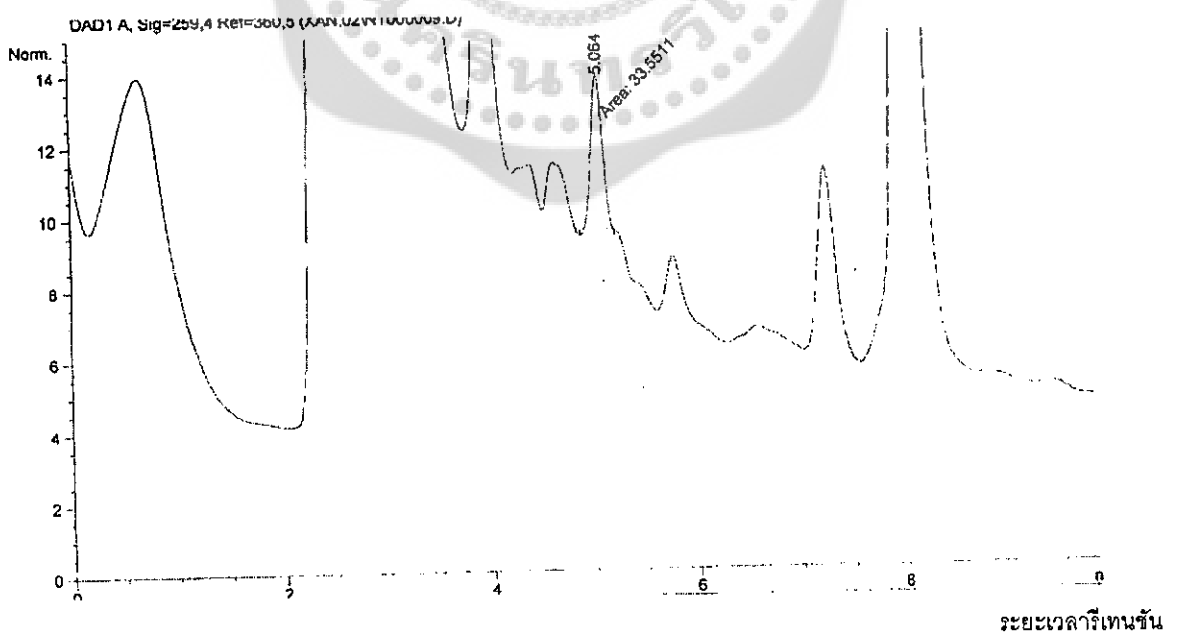
259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง



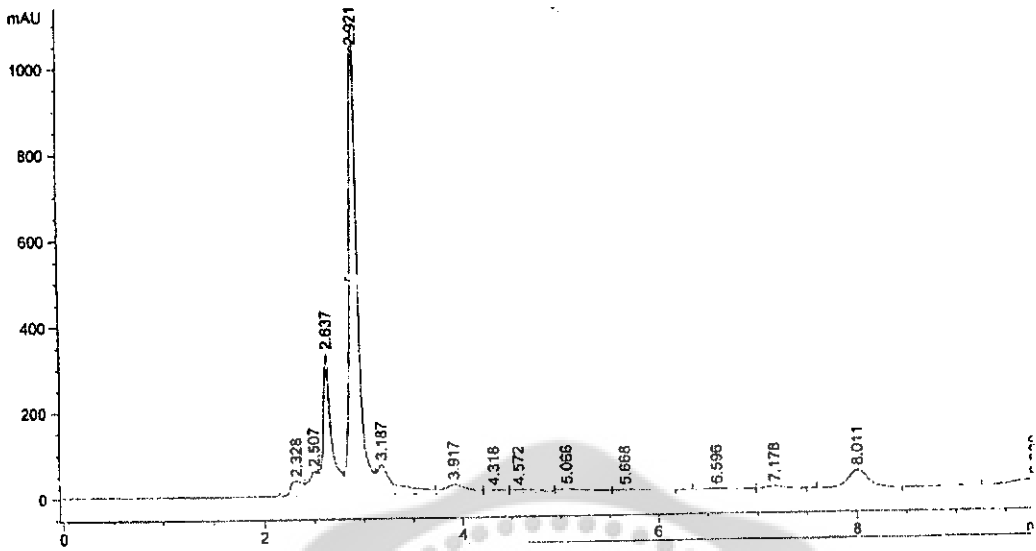
ภาพประกอบ 27 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลहितของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสม
นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 30 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 28 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลहितของอาสาสมัคร หลัง
เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 30 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น
259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง

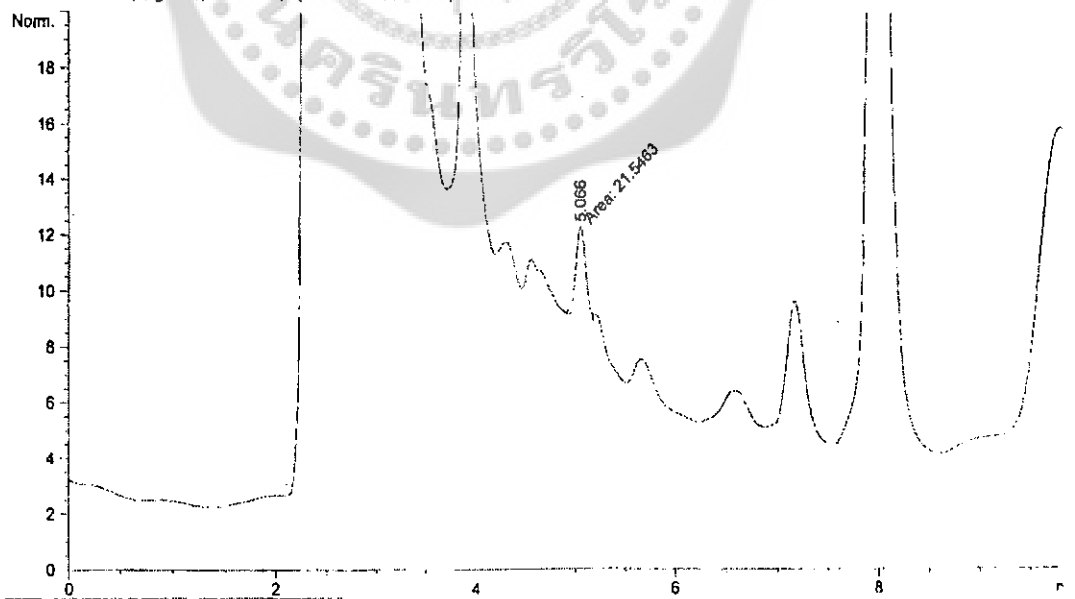


ระยะเวลาที่เทนชัน

ภาพประกอบ 29 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสม

นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 40 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง



ระยะเวลาที่เทนชัน

ภาพประกอบ 30 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลัง

เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 40 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น

259 นาโนเมตร



รลค.01

ทะเบียนข้อมูลเลขที่ อก.3190

หนังสือรับรองการแจ้งข้อมูล

ความลับทางการค้า

ออกให้แก่

รองศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันจุลเวสส

เพื่อแสดงว่า รองศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันจุลเวสส
ได้แจ้งข้อมูลความลับทางการค้า ประเภท ข้อมูลการค้าด้านอุตสาหกรรม
ชื่อเรื่อง สูตรหมักฝรั่งผสมนิโคติน (แบบมีน้ำตาล)
ไว้ต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา ตามคำขอแจ้งข้อมูลความลับทางการค้า
เลขที่ สค.3176 เมื่อวันที่ 8 เดือน กันยายน พ.ศ. 2548

ให้ไว้ ณ วันที่ 8 เดือน กันยายน พ.ศ. 2548

ลงชื่อ

(นายวิชัย สุขลิ้ม)

นิติกร สว รัถนราชการแทน

ผู้อำนวยการกองกฎหมายและอุทธรณ์

แบบแรก

แบบใช้ยื่นขอแปลง การแจ้งลับ ให้ผู้ส่งมา

ภาพประกอบ 31 สิทธิบัตรหนังสือรับรองการแจ้งข้อมูล ความลับทางการค้าจาก
กรมทรัพย์สินทางปัญญา

ค.ม.1



ทะเบียนเลขที่ ก246664

คำขอเลขที่ 616772

หนังสือสำคัญแสดงการจดทะเบียนเครื่องหมายการค้า ออกให้แก่

นายขงยุทธ ดัชกุลเวสส

เพื่อแสดงว่าเครื่องหมายการค้านี้ได้จดทะเบียนแล้ว สำหรับสินค้า หมวกฝรั่งที่ใช้ในทางการแพทย์

ในฉำพวกที่ 5 (ตามพระราชบัญญัติเครื่องหมายการค้า พ.ศ. 2534 แก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2543)

การจดทะเบียนเครื่องหมายการค้านี้ มีอายุ 10 ปี นับแต่วันที่จดทะเบียน และอาจต่ออายุได้ทุกๆ 10 ปี

จดทะเบียน ณ วันที่ 2 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2549

ออกให้ ณ วันที่ 15 มีนาคม พ.ศ. 2549



กรมทรัพย์สินทางปัญญา

หมายเหตุ

- (1) การต่ออายุการจดทะเบียน ต้องขอภายในเก้าสิบวันก่อนวันสิ้นอายุ (สิ้นสุด ณ วันที่ 01/02/2559)
- (2) การต่ออายุทะเบียนเครื่องหมายการค้าและการเปลี่ยนแปลงรายการข้างต้น ให้ดูหน้าต่อไป

ภาพประกอบ 32 หนังสือสำคัญแสดงการจดทะเบียนเครื่องหมายการค้า "NICOMILD
(Nicomild)"



บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ กองการเจ้าหน้าที่ สำนักงานอธิการบดี โทร. ๕๖๓๖
ที่ ศธ ๐๕๑๙.๑.๐๓/ วันที่ ๑๑ กันยายน ๒๕๕๙
เรื่อง การลงนามในบันทึกข้อตกลง เรื่อง ตัวแทนผลิตและจำหน่ายหมากฝรั่ง

เรียน อธิการบดี

ตามที่ ศูนย์บริการวิชาการ ได้มีหนังสือที่ ศธ ๐๕๑๙.๒๕/๒๕๑ ลงวันที่ ๓๐ สิงหาคม ๒๕๕๙ ขอให้มหาวิทยาลัยพิจารณาลงนามบันทึกข้อตกลง เรื่อง ตัวแทนผลิตและจัดจำหน่ายหมากฝรั่ง ระหว่าง หน่วยงานเพาะวิสาหกิจ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กับ บริษัท มิลลิเมด จำกัด เพื่อเป็น ตัวแทนผลิตและจัดจำหน่ายหมากฝรั่งเล็บบูรี่ ที่มีชื่อทางการค้าว่า "นิโคมายด์" หรือ "NIZOMIID" นั้น กองการเจ้าหน้าที่ พิจารณาร่างสัญญาดังกล่าวแล้ว เห็นว่ามีสาระสำคัญตามที่กฎหมาย กำหนด และเป็นไปตามเจตนาของศูนย์บริการวิชาการ และเจ้าของงานวิจัยทุกประการ

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ และเห็นควรลงนามในสัญญาแต่งตั้งผู้ผลิตและจัดจำหน่าย

ดังกล่าว

ตรวจเสนอ

กสิณ

11 ก.ย. 2549

Om
๒๕๕๙

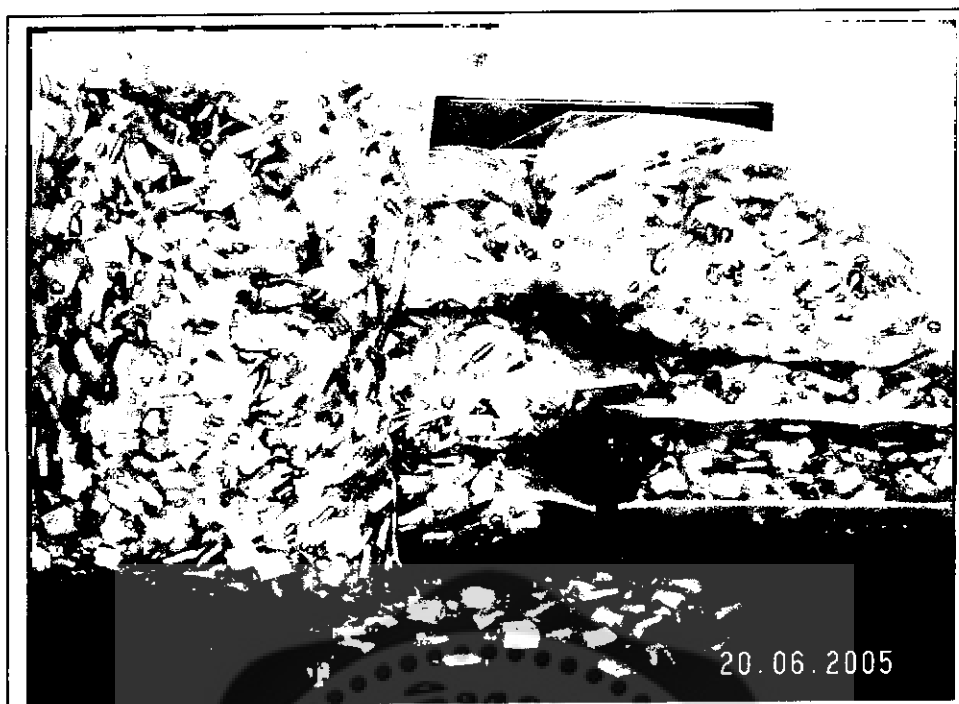
*เรียน ผอ. สำนักส่งเสริมวิสาหกิจ
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อผลิตและจำหน่ายหมากฝรั่ง
ของมหาวิทยาลัย
๒๕๕๙*

ทราบ
ลงนามแล้ว

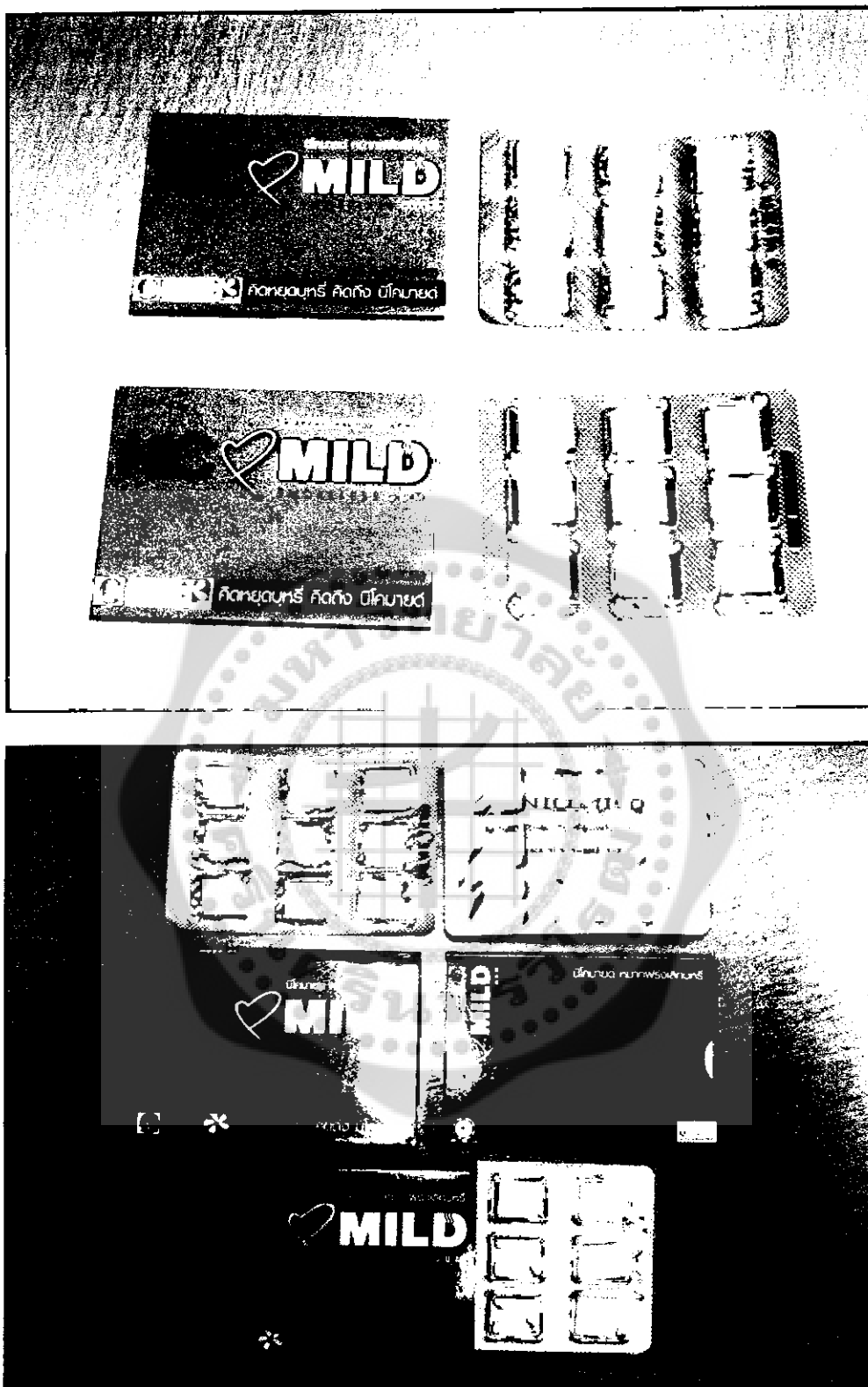
[Signature]

18 ก.ย. 2549

เรียน อ. ชยยศ
เพื่อติดต่อและดำเนินการผ่าน อบร. ๗๐/๗
[Signature]
๑๑/๙/๕๙



ภาพประกอบ 34 หมากฝรั่งผสมนิโคติน เครื่องหมายการค้า นิโคมายด์ (NICOMILD)
สูตร 2 มิลลิกรัม/1กรัม กัมเบส ผลิตในโครงการวิจัย ระยะที่ 1



ภาพประกอบ 35 มก.ฝรั่งผสมนิโคติน เครื่องหมายการค้า นิคอไมด์ (NICOMILD)
 สูตร 2 มิลลิกรัม/1กรัม กัมเบส ผลิตในโครงการวิจัย ระยะที่ 2

4. ข้อความรับทราบ่วาวิธีในการเจาะเลือดอาสาสมัครมีความสะอาดและปลอดภัยเชื้อโรคและเชื้อHIV

ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว่วาวิธีการเจาะเลือดซึ่งเป็นขั้นตอน
หนึ่งที่มีอยู่ในวิทยานิพนธ์เรื่องการวิเคราะห์เชิงปริมาณในโลหิตของอาสาสมัคร และหมากฝรั่งผสม
นิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมา-โทกราฟี โดยการเจาะเลือดของข้าพเจ้านั้นได้รับความอนุเคราะห์โดยนาง
พยาบาลประจำห้องพยาบาลมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการเจาะเลือดมี
ความสะอาด โดยเฉพาะเข็มฉีดยาที่ใช้ในการเจาะเลือดมีสภาพก่อนการใช้งานบรรจุอยู่ในซอง
พลาสติก และไม่เคยผ่านการใช้งานมาก่อน

ข้าพเจ้าขอรับทราบไว้ ณ ที่นี้





ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล นายยงยุทธ ตันฑุลเวสส
 วันเดือนปีเกิด 28 สิงหาคม 2495
 ตำแหน่งและสถานที่ทำงานปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2518 กศ.บ.(เคมี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
 พ.ศ. 2521 กศ.ม.(เคมี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
 พ.ศ. 2534 ประ.ด. (อินทรีย์เคมี) มหาวิทยาลัยมหิดล

ประสบการณ์ในการวิจัย รหัสนักวิจัย

ผลงานวิจัย

1. การศึกษาหาปริมาณ และคุณภาพของโปรตีนในส่วนต่างๆ ของถั่วพู และน้ำนมถั่วพู มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร 2521
2. การตรวจหาความสัมพันธ์และการเปรียบเทียบระหว่างดัชนีมวลร่างกาย กับ การตรวจรากลมในเด็กก่อนวัยเรียน (1-6 ปี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พิษณุโลก 2525
3. การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างดัชนีมวลร่างกายกับการตรวจรากลมในเด็กที่ขาดโปรตีน (ทุพโภชนาการ) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พิษณุโลก 2526
4. การสำรวจพืชสมุนไพรตามแนวถนนพระร่วงตั้งแต่จังหวัดกำแพงเพชร ถึงอำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พิษณุโลก 2529
5. 1,2-Carbonyl Migration along the Allylic Framework : Synthesis of Alkenyl Naphthoquinone ; *J.Chem.Soc.Chem.Comm.* ; 1988; 1382-1383
6. การศึกษาการใช้ และปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตกตะกอนของปลาเป็ดในน้ำยางมะละกอ ; *วทท. ครั้งที่ 18* ; 27-29 ต.ค. 2535 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์
7. การผลิต และการกำหนดมาตรฐานอุตสาหกรรมปลาเป็ดจากยางมะละกอ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พิษณุโลก 2535
8. Enantioselective Synthesis of Spiro[4.4]non and Spiro[4.5]dec-2-ene-1,6-diones ; *Tetrahedron Letters* ; Vol.35 ; No.7 ; 1994 ; 1099-1102.

9. การสังเคราะห์แบบอสมมาตรของสไปโรไดคีโตน โดยเทคนิคคีเลชันเอฟเฟค , วทท.ครั้งที่ 21 , 25-27 ต.ค. 2538 ณ โรงแรมแอมบาสซาเดอร์ซิตี จอมเทียน จ.ชลบุรี
10. การศึกษาเปรียบเทียบการหาปริมาณเหล็กในน้ำมันพืช ระหว่างการใช้ กรดไทโอไกลโคริก และ 1,10-ฟีแนนโทลีน; วทท. ครั้งที่ 23 ; 20-22 ต.ค. 2540 ณ โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว จ.เชียงใหม่
11. การสร้างแถบสีมาตรฐานในการวัดปริมาณออกซิเจนในน้ำ , มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ , 2541 , 159 หน้า
12. ค่าคงที่การแบ่งส่วนการละลายของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊สในควินบูรี (Kp) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง, วทท. ครั้งที่ 30 , 19-21 ต.ค. 2547, ณ ศูนย์แสดงสินค้า และการประชุมอิมแพ็ค , เมืองทองธานี , จ.ปทุมธานี
13. การหาปริมาณ เรสเวอรัราทอลในองุ่น และไวน์องุ่น โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบสมรรถนะสูง, , วทท. ครั้งที่ 30 , 19-21 ต.ค. 2547, ณ ศูนย์แสดงสินค้า และการประชุมอิมแพ็ค , เมืองทองธานี , จ.ปทุมธานี
14. การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในเครื่องดื่มชูกำลังและกาแฟสำเร็จรูปพร้อมดื่มบรรจุกระป๋อง โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง, วทท. ครั้งที่ 30 , 19-21 ต.ค. 2547, ณ ศูนย์แสดงสินค้า และการประชุมอิมแพ็ค , เมืองทองธานี , จ.ปทุมธานี
15. ยงยุทธ ตันทุลเวสส วราดุล ฉัตรทอง สุนทรี เลิศศรีสุขสันต์ "การพัฒนาและการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินสำหรับใช้บำบัดการอดบุหรี่" การประชุมสัมมนาวิชาการประจำปี พ.ศ. 2548 ที่ประชุมประธานสภาอาจารย์มหาวิทยาลัยแห่งประเทศไทย (ปอมท) : 29-30 สิงหาคม 2548 ณ โรงแรมเชลทรีลด์วงตะวันเชียงใหม่ ; หน้า 128-132
16. ยงยุทธ ตันทุลเวสส และคณะ "การศึกษาค่าแฟคเตอร์การปลดปล่อยสารนิโคตินในสารพอลิเมอร์หมากฝรั่ง" ; วารสารวิทยาศาสตร์ มศว ปีที่ 22 ฉบับที่ 1 (2549) ; หน้า 21-23
17. ยงยุทธ ตันทุลเวสส วราดุล ฉัตรทอง สุนทรี เลิศศรีสุขสันต์ การพัฒนาและการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินสำหรับใช้บำบัดการอดบุหรี่ (ระยะที่ 1) , มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โครงการวิจัยไม่กำหนดทิศทาง ปี 2548-2549 ; (จัดสำเนา) 2549

ประวัติการรับทุน

พ.ศ. 2518	ทุนภูมิพล
พ.ศ. 2533	สภาวิจัยแห่งชาติ
พ.ศ. 2536	สภาวิจัยแห่งชาติ
พ.ศ. 2547	งบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
พ.ศ. 2548	งบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

