

## รายงานการวิจัย (ปีที่ 2)

ชื่อโครงการ      การเตรียมไบโอพอลิเมอร์นาโนพาร์ติเคิลที่บรรจุกลูโคซามีนสำหรับการรักษา  
โรคข้อเสื่อม

ชื่อโครงการ      **Preparation of biopolymeric nanoparticles containing glucosamine for  
treatment of Osteoarthritis**

คณะผู้วิจัย

สังกัด

อาจารย์ ดร. ปราณิ เลิศสุทธิวงศ์

สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ตั้งพสุชาดล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยปีที่ 2 นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยการสนับสนุนทุนวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล  
ประจำปีงบประมาณ 2554 จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ และภาควิชา  
เคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนสถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัย  
และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและความสะดวกตลอดการวิจัย

สุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะกรรมการพิจารณาทุน คณะกรรมการติดตามและประเมินผล  
งานวิจัยที่ให้ข้อเสนอแนะต่างๆ ที่ทำให้งานวิจัยนี้มีคุณค่ามากยิ่งขึ้น

คณะผู้วิจัย

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการผลิตอนุภาคนาโนแคลเซียมแอลจิเนต-ไคโตซานและแคลเซียมแอลจิเนต-อนุพันธ์ที่มีประจุบวกของไคโตซานเพื่อใช้กักเก็บสารกลูโคซามีนที่เตรียมด้วยวิธี ionotropic gelation ซึ่งเป็นการตกตะกอนพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก ได้แก่ ไคโตซาน และอนุพันธ์ของไคโตซานที่มีประจุบวกถาวร ได้แก่ *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride (TMC) และ *N*-[(2-hydroxy-1-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC) กับพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ คือ แอลจิเนต โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการขึ้นรูปอนุภาค วิธีการบรรจุกลูโคซามีน ประสิทธิภาพในการบรรจุ เสถียรภาพ และการปลดปล่อยกลูโคซามีนจากอนุภาคในสภาวะจำลอง จากผลการทดลองพบว่า โซนิกേഷันและความเข้มข้นของพอลิเมอร์ประจุบวกมีผลต่อขนาดของอนุภาคนาโนที่พัฒนาขึ้น โดยระยะเวลาในการโซนิกേഷันที่เหมาะสม คือ 20 นาที และความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานและอนุพันธ์ของไคโตซานเท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยกลูโคซามีนควรละลายในสารละลายแอลจิเนตเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการกักเก็บมากที่สุด แบบแผนการปลดปล่อยกลูโคซามีนของอนุภาคนาโนในสภาวะจำลองที่พีเอช เท่ากับ 7.4 พบว่าการปลดปล่อยกลูโคซามีนในช่วงระยะเวลา 6 ชั่วโมงแรกค่อยๆ เพิ่มขึ้นด้วยอัตราการปล่อยที่ค่อนข้างคงที่ หลังจากนั้นการปล่อยจะช้าลงและคงที่ นอกจากนี้ผลของเสถียรภาพของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนที่จัดเก็บไว้แบบสารละลายแขวนลอยและแบบแห้งในอุณหภูมิห้อง พบว่าอนุภาคที่จัดเก็บแบบสารละลายแขวนลอยมีแนวโน้มที่อนุภาคจะรวมตัวและตกตะกอนเมื่อเวลาผ่านไป 60 วัน ขณะที่อนุภาคที่จัดเก็บแบบแห้งขนาดอนุภาคไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก

**คำสำคัญ:** อนุภาคนาโน; ข้อเสียม; ไคโตซาน; แอลจิเนต; กลูโคซามีน

## Abstract

In this work, nanoparticles of calcium alginate-chitosan and calcium alginate-positively charged chitosan derivatives used for entrapment of glucosamine were prepared. The particle formation was based on ionotropic gelation of cationic polymers (i.e. chitosan, *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride (TMC), *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC)) and an anionic polymer. The parameters affecting the formation, method of entrapment of glucosamine, entrapment efficiency, stability and release profile of glucosamine from nanoparticles were investigated. The results indicated that sonication and concentration of cationic polymers affected the size of nanoparticles. The optimal sonication time was 20 min and 0.15 mg/ml of cationic polymers should be used in the process. To get highest entrapment efficiency, glucosamine should be added in alginate solution. The *in vitro* release of glucosamine-loaded nanoparticles was investigated in phosphate buffer solution at pH 7.4. The results showed that glucosamine was released at an almost constant rate in the first 6 h. After that the release rate decreased and halted until the test period of 24 h. In addition, the stability of glucosamine-loaded nanoparticles in aqueous solution and in dry forms was studied at room temperature. The results indicated that the nanoparticles in aqueous solution for as long as 60 days tended to aggregate and precipitate while the size of dried glucosamine-loaded nanoparticles was slightly changed.

**Keywords:** Nanoparticles; Osteoarthritis; Chitosan; Alginate; Glucosamine



<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล</b>	16
3.1 การศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้นของไคโตซาน และอัตราส่วนระหว่างแอลจินตต่อไคโตซาน ต่อสมบัติทางกายภาพของอนุภาคที่พัฒนาขึ้น	16
3.1.1 ผลของวิธีการบรรจุกลูโคซามีน	18
3.1.2 ประสิทธิภาพในการบรรจุกลูโคซามีนในอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซาน	20
3.2 การศึกษาผลของชนิดและ Degree of quaternization ของอนุพันธ์ไคโตซานที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน	21
3.2.1 ผลของชนิดอนุพันธ์ของไคโตซานที่มีต่อขนาดอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน	21
3.2.2 ประสิทธิภาพในการบรรจุกลูโคซามีนในอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-อนุพันธ์ไคโตซาน	22
3.3 การศึกษาการปลดปล่อยกลูโคซามีนจากอนุภาคที่เตรียมได้	23
3.4 การศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพของอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซาน และอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-อนุพันธ์ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน	25
<b>บทที่ 4 บทสรุป</b>	29
4.1 สรุปผลการทดลอง	29
4.2 ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับงานวิจัยในอนาคต	30
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	31

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ขนาดของอนุภาคและค่าศักย์ซีต้ำของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนจากวิธีการเตรียมที่แตกต่างกัน	19
3.2	ประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีนและปริมาณยาต่อน้ำหนักของอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน(อัตราส่วนกลูโคซามีน:แอลจินेट:ไคโตซานเท่ากับ 1:1:0.05) ด้วยวิธีที่บรรจุกลูโคซามีนต่างกัน	21
3.3	ขนาดของอนุภาคและค่าศักย์ซีต้ำของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนเตรียมโดยใช้ออนุพันธ์ของไคโตซานที่มีร้อยละของประจุบวกต่างกัน	22
3.4	ประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีน และปริมาณยาต่อน้ำหนักของอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-อนุพันธ์ของไคโตซาน ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของกลูโคซามีน:แอลจินेट:อนุพันธ์ไคโตซานต่างกัน	22
3.5	เสถียรภาพทางกายภาพของอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซานและอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-อนุพันธ์ของไคโตซานบรรจุกลูโคซามีน ที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 60 วัน	25

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงการสังเคราะห์ TMC	11
2.2 แสดงการสังเคราะห์ HTCC	12
2.3 การสังเคราะห์ Phenylthiocarbonyl-glucosamine จากกลูโคซามีน	13
3.1 ผลของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน	17
3.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานและอนุพันธ์ของไคโตซานต่างชนิดต่อขนาดของอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน	18
3.3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีนที่เตรียมได้โดยวิธีการที่ต่างกันของชุดควบคุม(A,B), ชุดที่ 1(C,D) และชุดที่ 2 (E,F)	20
3.4 ปริมาณการปลดปล่อยของกลูโคซามีนจากอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซานและอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-อนุพันธ์ไคโตซานชนิดต่างๆ	23
3.5 ร้อยละการปลดปล่อยของกลูโคซามีนจากอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซานและอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-อนุพันธ์ไคโตซานชนิดต่างๆ	24
3.6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของอนุภาคแห้งของ $Ca^{2+}$ -alginate-chitosan ที่บรรจุกลูโคซามีนเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 0 วัน (a), 1 วัน (b), 30 วัน (c); และ อนุภาค $Ca^{2+}$ -alginate-N-BuCh ที่บรรจุกลูโคซามีนเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 0 วัน (d), 1 วัน (e), 30 วัน (f)	27

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

กลูโคซามีนเป็นอะมิโนโมโนแซคคาไรด์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ลักษณะโมเลกุลจะคล้ายกลูโคส แต่จะมีหมู่อะมิโนต่ออยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 แทนที่หมู่ไฮดรอกซิล มีสมบัติในการละลายน้ำได้ดี และพบอยู่ในโครงสร้างของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งร่างกายมนุษย์สามารถสังเคราะห์กลูโคซามีนได้เองตามธรรมชาติ กลูโคซามีนเป็นสารพื้นฐานสำคัญต่อกระบวนการชีวสังเคราะห์ของสาร hyaluronan, chondroitin, dermatan, keratin, glycosaminoglycans และ proteoglycans รวมไปถึงชีวสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในเซลล์กระดูกอ่อนผิวหนังข้อทั้งหมดด้วย เมื่อร่างกายมีอายุมากขึ้นการทำงานของกระดูกอ่อนผิวหนังจะมีประสิทธิภาพลดลง ความสามารถในการสังเคราะห์กลูโคซามีน และชีวสารในเซลล์กระดูกอ่อนผิวหนังทั้งหมดลดลงด้วย ทำให้โครงสร้างกระดูกอ่อนผิวหนังอ่อนแอลง เสี่ยงต่อการแตกสลายและสึกกร่อนจากกิจกรรมที่ใช้แรงงานของข้อ ศักยภาพในการซ่อมแซมกระดูกอ่อนผิวหนังส่วนที่สึกหรอลดลงซึ่งเป็นสาเหตุของโรคที่เกิดจากข้อเสื่อม

ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการใช้งานกลูโคซามีนและคอนดรอยตินเพื่อบำบัดโรคข้อเสื่อมมากมาย เนื่องจากสารทั้งสองนี้เป็นสารธรรมชาติในร่างกาย กลูโคซามีนเป็นน้ำตาลอะมิโนที่เชื่อว่ามีส่วนช่วยในการสร้างกระดูกอ่อน คอนดรอยตินเป็นโมเลกุลของโปรตีนและเป็นส่วนประกอบสำคัญของกระดูกอ่อน คนที่เป็นโรคข้อเสื่อมอาจได้รับประโยชน์จากการรับสารเหล่านี้เพิ่มจากภายนอก ร่างกาย สารเหล่านี้มีอยู่ในกระดองและเปลือกของปูและกุ้งใหญ่ และในกระดูกอ่อนของสัตว์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ จึงได้มีการคิดค้นพัฒนารูปแบบของยาที่ใช้รักษาและบรรเทาอาการของโรค ไม่ว่าจะเป็นยารับประทาน ยาฉีด ยาทา หรือในรูปแบบผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่อ้างว่ากลูโคซามีนช่วยบรรเทาอาการข้อเสื่อม และกระตุ้นการซ่อมแซมกระดูกอ่อน ส่วนคอนดรอยตินซัลเฟตเชื่อว่าช่วยดูดน้ำเข้ามาสู่กระดูกอ่อน ทำให้ข้อยืดหยุ่นเคลื่อนไหวได้มากขึ้นและยังบรรเทาความเจ็บปวดได้ด้วย อย่างไรก็ตามการวิจัยนี้สนใจการขึ้นรูปอนุภาคทรงกลมโดยอาศัยหลักการ ionotropic gelation ซึ่งเป็นการตกตะกอนร่วมกันของพอลิเมอร์ที่มีประจุบวกคือ ไคโตซาน และอนุพันธ์ของไคโตซานที่มีประจุบวกถาวร ได้แก่ *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride (TMC) และ *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)

งานวิจัยนี้สนใจการพัฒนาวิธีการบรรจุกลูโคซามีนในอนุภาคของระบบนำส่งนาโนพาร์ติเคิล ซึ่งมีขนาดอนุภาคเล็กจะช่วยให้มีพื้นที่ผิวสำหรับการปลดปล่อยยาได้มากและควบคุมได้ อีกทั้งยังสามารถแทรกผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อและเข้าไปในเซลล์ได้ง่าย ทำให้เกิดการนำส่งยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในงานวิจัยนี้สนใจการขึ้นรูปอนุภาคทรงกลมโดยอาศัยหลักการ ionotropic gelation ซึ่งเป็นการตกตะกอนร่วมกันของพอลิเมอร์ที่มีประจุบวกคือ ไคโตซาน และอนุพันธ์ของไคโตซานที่มีประจุบวกถาวร ได้แก่ *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride (TMC) และ *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมอนุภาคขนาดเล็กจนถึงระดับนาโนเมตรของไบโอพอลิเมอร์ ซึ่งประกอบด้วย แอลจินเตต/ไคโตซาน หรือแอลจินเตต/อนุพันธ์ของไคโตซานที่บรรจุสารกลูโคซามีน โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการขึ้นรูปอนุภาค ประสิทธิภาพในการบรรจุ เสถียรภาพ และการปลดปล่อยกลูโคซามีนจากอนุภาคในสภาวะจำลอง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสูตรตำรับที่มีส่วนผสมของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนดังกล่าวที่สามารถนำไปใช้ในการบำบัดโรคข้อเสื่อมต่อไป

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาวิธีการและตัวแปรของการขึ้นรูปนาโนพาร์ติเคิลจากพอลิเมอร์สองประเภท คือ ไคโตซาน และอนุพันธ์ของไคโตซาน ได้แก่ *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride (TMC) และ *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก กับพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ คือ แอลจินเตตร่วมกับไอออนแคลเซียม
- 1.3.2 ศึกษาผลของคุณลักษณะของพอลิเมอร์ ตลอดจนอัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์และกลูโคซามีนต่อการขึ้นรูปนาโนพาร์ติเคิลที่บรรจุกลูโคซามีน
- 1.3.3 ศึกษาเสถียรภาพของอนุภาคกลูโคซามีนนาโนพาร์ติเคิลที่จัดเก็บในช่วงระยะเวลาที่กำหนด ทั้งในแบบอนุภาคแห้งและอนุภาคที่กระจายตัวอยู่ในสารแขวนลอย
- 1.3.4 ศึกษาการปลดปล่อยของกลูโคซามีนจากนาโนพาร์ติเคิลในสภาวะจำลอง

## 1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

แนวคิดในการนำยาละลายน้ำมาบรรจุไว้ในอนุภาคได้รับความสนใจและถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยมีเป้าหมายเพื่อการกักเก็บและปลดปล่อยยาออกจากอนุภาคด้วยอัตราที่ช้าและควบคุมได้ สามารถนำส่งหรือพาไปยังเป้าหมายที่ต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพ ไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียง และประหยัดด้วย ในงานนี้สนใจสาร “กลูโคซามีน” ซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายกลูโคสน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ต่อกับหมู่เอมิโน ละลายน้ำได้ดีสามารถใช้เป็นยาบำบัดโรคข้อเสื่อมได้ เนื่องจากกลูโคซามีนจะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการชีวสังเคราะห์ของสารที่เป็นองค์ประกอบบริเวณกระดูกฟิวชั่นที่ช่วยซ่อมแซมข้อกระดูกที่เสื่อมสภาพและมีผลข้างเคียงจากการใช้ยาต้าน จึงมีความปลอดภัยค่อนข้างสูง ปัจจุบันเทคโนโลยีก้าวหน้าไปมากทำให้เกิดงานวิจัยและพัฒนาาระบบนำส่งยาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยพบว่าระบบนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพสูงคือการใช้ตัวนำพาที่มีขนาดอนุภาคเล็กมากในระดับนาโนเมตร ซึ่ง

กระบวนการ ionotropic gelation เป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจในการขึ้นรูปอนุภาคทรงกลม โดยอาศัยหลักการเกิดเจลหรือการตกตะกอนร่วมของพอลิเมอร์สองชนิดที่มีประจุตรงข้ามกัน โดยเริ่มต้นพอลิเมอร์แต่ละชนิดจะละลายอยู่ในสารละลายของน้ำ เมื่อนำสารละลายทั้งสองมาผสมกัน จะเกิดแรงดึงดูดระหว่างประจุทำให้พอลิเมอร์ทั้งสองชนิดยึดเกาะกัน ไม่ละลายน้ำอีกต่อไป ทั้งนี้ถ้าปรับสภาวะการตกตะกอนให้เหมาะสมจะสามารถทำให้ตกตะกอนออกมาเป็นอนุภาคขนาดเล็กได้ งานวิจัยที่น่าสนใจคือ โคลโตซานและอนุพันธ์ของโคลโตซานที่มีประจุบวกและโซเดียมแอลจินेटที่มีประจุลบผนวกกับแคลเซียม-ไอออนในการเตรียมอนุภาคเพื่อใช้บรรจุกลูโคซามีน โดยพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดดังกล่าวเป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ และได้รับการทดสอบแล้วว่าเข้ากับสิ่งมีชีวิตได้ ทั้งนี้การใช้โคลโตซานยังอาจจะมีข้อดีคือ เป็นพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นจากการต่อกันของกลูโคซามีน หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือกลูโคซามีนเป็นหน่วยย่อยของโคลโตซานนั่นเอง การผสมผสานกันระหว่างกลูโคซามีนกับโคลโตซานจึงน่าจะทำได้ไม่ยาก รวมทั้งปฏิสัมพันธ์แบบพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ของโคลโตซานและกลูโคซามีนที่ดี น่าจะช่วยให้สามารถชะลอการปลดปล่อยกลูโคซามีนออกจากอนุภาคที่เตรียมขึ้นนี้ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นน้ำได้ด้วย ทั้งนี้เพราะกลูโคซามีนเป็นสารขนาดเล็กที่ละลายน้ำได้ดีมาก

### 1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคที่เกิดจากข้อเสื่อม (Osteoarthritis, OA) เป็นโรคที่พบได้บ่อยที่สุด โดยเฉพาะในผู้สูงอายุ โรคข้อเสื่อมเกิดขึ้นเมื่อกระดูกอ่อนที่หุ้มข้อเอาไว้ และทำหน้าที่เป็นแผ่นกันกระแทกของข้อเกิดแตกทำลาย กระดูกเสียดสีทำให้เจ็บปวดมาก ข้อมีลักษณะผิดรูปไปส่งผลให้ข้อทำงานได้ไม่ดีดังเดิม โรคข้อเสื่อมเกิดได้กับทุกข้อ แต่มักเกิดกับข้อที่รับน้ำหนักมาก ได้แก่ ข้อเข่า สะโพก รวมทั้งข้อนิ้วมือ และข้อมือจะเป็นโรคนี้ได้บ่อยกว่าข้ออื่นๆ Rubin et al. (2000) ได้รายงานว่าในสหรัฐอเมริกามีการเพิ่มของผู้ป่วยด้วยโรคข้อเสื่อมในผู้สูงอายุถึงร้อยละ 12 ของประชากรที่มีอายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไป และคนไข้มีอาการเบื้องต้นที่ปรากฏ อาทิ การเจ็บปวดตามข้อต่อเป็นประจำ ซึ่งการรักษาส่วนใหญ่มักใช้ยาบรรเทาอาการปวดอย่างต่อเนื่อง แต่ปัญหาของอาการเจ็บปวดและผิดปกติเหล่านั้น ยังไม่สามารถรักษาให้หายได้ และยังก่อให้เกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยาเหล่านั้นเป็นเวลานาน

ภายในโครงสร้างของกระดูกอ่อนประกอบด้วยคอลลาเจน (collagen) และโปรติโอไกลแคน (proteoglycan) เป็นหลัก ซึ่งมีสารกลูโคซามีนเป็นองค์ประกอบหลัก จึงเชื่อว่าการใช้กลูโคซามีนในการบำบัดโรคข้อเสื่อมเป็นอีกทางเลือกหนึ่งจากการรักษาแบบเดิมน่าจะให้ผลที่ดี กลูโคซามีนเป็นน้ำตาลอะมิโนที่นอกจากร่างกายจะสังเคราะห์ได้เองตามธรรมชาติแล้ว ยังสามารถได้มาจากการไฮโดรไลซ์โคลโตซานซึ่งเป็นสารที่สกัดมาจากสัตว์ประเภทมีข้อ-ปล้อง อาทิ กุ้ง ปู และแกนปลาหมึก เป็นต้น การใช้

Bruyere et al. (2008) ได้รายงานถึงผลของการให้ผู้สูงอายุที่ป่วยเป็นโรคข้อเสื่อมรับประทาน กลูโคซามีนเพื่อบำบัดอาการของโรค โดยให้รับประทานเป็นสารเสริมอาหารทุกวันในปริมาณ 1500 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นระยะเวลา 1-3 ปี และ Messier et al. (2007) ให้ผู้ป่วยรับประทานกลูโคซามีนคู่กับ คอนดรอยตินในปริมาณ 1500/1200 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งได้ผลลัพธ์ตอบสนองด้านการรักษาทางคลินิก เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามถ้าได้รับกลูโคซามีนในปริมาณ 5,000-15,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว จะทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้

OARSI หรือ Osteoarthritis Research Society International เป็นองค์กรที่วิจัยและศึกษาเพื่อกำหนด ข้อแนะนำแนวทางในการรักษาโรคข้อเสื่อม พบว่ากลูโคซามีนมีประสิทธิภาพในการรักษาที่ค่อนข้างมี นัยสำคัญทางสถิติ และปลอดภัยจึงแนะนำให้ใช้ในการรักษารักษาอาการข้อเสื่อม ปัจจุบันรูปแบบ ของยากลูโคซามีนส่วนใหญ่ที่ใช้บำบัดโรคข้อเสื่อมจะอยู่ในรูปของยารับประทาน ปริมาณที่แนะนำคือ 1500 มิลลิกรัมต่อวัน (20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) หรือรับประทานควบคู่กับคอนดรอยตินใน ปริมาณ 1200 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งได้ผลตอบสนองในการรักษาทางการแพทย์อย่างมีประสิทธิภาพ และ พบปริมาณของกลูโคซามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเป็นระดับที่ไม่ก่อให้เกิด อันตรายต่อร่างกาย

การนำส่งยาโดยทั่วไป จุดมุ่งหมายหลักคือทำให้ปริมาณตัวยาสสำคัญในบริเวณตำแหน่งที่ต้องการ ในร่างกายอยู่ในระดับที่ให้ผลในการรักษา และสามารถทำให้คงระดับยาในกระแสเลือดไว้ได้เป็นระยะ เวลานาน ดังนั้นระบบนำส่งยาจะต้องออกแบบให้มีการนำส่งยาในอัตราที่ควบคุมได้ตามความต้องการ ของร่างกายตลอดระยะเวลาการรักษา ในระยะเวลาที่ผ่านมาวิธีระบบนำส่งนาโนพาร์ติเคิลได้รับความ สนใจอย่างมากในการพัฒนาเพื่อแก้ไขปัญหาในระบบนำส่งยาดังเดิม และเป็นที่ยอมรับว่าเป็นระบบนำส่ง

แอลจินเต เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ธรรมชาติที่มีประจุลบ สามารถสกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล ประกอบด้วย (1,4)-linked  $\beta$ -D-mannurinate (M) และ  $\alpha$ -L-guluronate (G) แอลจินเตสามารถเกิดเป็นเจลแข็งในสภาวะที่มีแคลเซียมไอออนและเป็นเจลที่เสถียรต่อความร้อน มักใช้เป็นสารเพิ่มความข้น นอกจากนี้แอลจินเตที่มีปริมาณ guluronate สูงจะเกิดเจลแข็งที่เสถียรต่อความร้อน และแอลจินเตที่มีปริมาณ mannurinate สูงจะเกิดเจลที่อ่อนกว่า นอกจากนี้การละลายของแอลจินเตยังขึ้นอยู่กับค่า pH โดยแอลจินเตจะตกตะกอนเมื่อ pH ต่ำกว่า 3.5 หรือสภาวะมีแคลเซียมไอออน แอลจินเตเจลถูกนำไปใช้งานด้านการแพทย์มากมาย เช่น การรักษาแผล การนำส่งสาร โปรตีน ยา การปลูกถ่ายเซลล์ เป็นต้น

ไคโตซาน เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ธรรมชาติที่ผลิตได้จากกระบวนการ deacetylation หรือการเปลี่ยนหมู่อะเซตาไมด์ ( $-\text{NHCOCH}_3$ ) เป็นหมู่เอมิโน ( $-\text{NH}_2$ ) ของไคติน ซึ่งเป็นสารที่พบในเปลือกกุ้ง กระจกปู เปลือกของแมลง และรยางค์ชนิด โดยไคโตซานมีหมู่เอมิโนที่สามารถทำให้มีประจุบวกได้ รวมไปถึงความสามารถในการยึดเกาะเยื่อเมือก (mucoadhesive) ที่ดีอีกด้วย (He et al., 1998; Mansouri et al., 2004; Sadeghi et al., 2008) ทั้งนี้ไคโตซานไม่สามารถละลายได้ในน้ำ แต่สามารถละลายได้ดีในกรดอ่อน เช่น สารละลายกรดอะซิติก และสารละลายกรดแลคติก เป็นต้น โดยปกติ หมู่เอมิโนในโครงสร้างของไคโตซานจะไม่มีประจุ (ประจุเป็นศูนย์) แต่ในสภาวะกรดก่อน หมู่เอมิโนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นหมู่แอมโมเนียม ( $-\text{NH}_4^+$ ) ซึ่งมีประจุเป็นบวก แต่ยังสามารถดัดแปลงหมู่เอมิโนของไคโตซานให้มีประจุบวก “ถาวร” ได้โดยการทำปฏิกิริยาทางเคมี เช่น นำไคโตซานมาทำปฏิกิริยากับ methyl iodide ในเบสแก่ จากนั้นแลกเปลี่ยนไอออน  $\text{I}^-$  เป็น  $\text{Cl}^-$  จะได้เป็น *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride หรือ TMC หรือนำไคโตซานมาทำปฏิกิริยากับ glycidyl-trimethyl-ammonium chloride (GTMAC) จะได้เป็น *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium) propyl]chitosan chloride หรือ HTCC จะทำให้สารที่ได้มีความชอบน้ำ (hydrophilicity) สูงขึ้น หรือแม้กระทั่งละลายน้ำได้มากขึ้นกว่าไคโตซานเดิม

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่ได้รับความสนใจในการใช้เป็นวัสดุในการควบคุมปล่อยสารออกฤทธิ์ ทั้งนี้เนื่องจากสมบัติพื้นฐานของไคโตซานที่เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่เข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิต ไม่เป็นพิษ หรืออันตราย สามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไคตินเนสและไคโตซานเนสที่พบได้ในจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญคือการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของไคโตซานแล้วจะเห็นได้ว่ามีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ตรึงสารออกฤทธิ์ กล่าวคือมีหมู่เอมิโน

การเตรียมโคโตซานเพื่อใช้ในระบบควบคุมสารออกฤทธิ์โดยการตรึงสารออกฤทธิ์กับร่างแหของโคโตซานได้มีรายงานไว้ในรูปแบบของเม็ดบีด เมมเบรน เจล ที่บรรจุโมเลกุลของสารออกฤทธิ์อยู่ ทั้งที่มีการใช้สารเชื่อมโยงและไม่ใช้สารเชื่อมโยง วิธีการเตรียมโดยหลีกเลี่ยงปัญหาการใช้สารเชื่อมโยงเพื่อให้ง่ายต่อการประเมินระบบและเบื่องต้นมั่นใจได้ว่าสารโคโตซานไม่ส่งผลข้างเคียงในเชิงลบ จึงเป็นวิธีการเตรียมที่ง่ายสุดในการประยุกต์ใช้โคโตซานในการควบคุมการปล่อยสารออกฤทธิ์ เป็นต้นว่า Miyazaki et al. (1981) ได้แสดงถึงการเตรียมโคโตซานเจลอย่างง่ายที่มีสารออกฤทธิ์ผสมอยู่ ประเด็นหลักคือ การหาตัวทำละลายที่เหมาะสม สำหรับโคติน คือ hexafluoro-2-propanol และโคโตซานคือ acetic acid โดยผสมสารออกฤทธิ์เข้าไป แล้วระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้ได้สารละลายเข้มข้นสภาพเป็นเจลเกิดขึ้น และ Sawayanagi (1982) ได้รายงานถึงการเตรียมเม็ดสารออกฤทธิ์โดยใช้ผงโคโตซานเป็นส่วนผสม พบว่าการผสมโคโตซานให้เข้ากับสารออกฤทธิ์มีผลในเชิงการขบวนการละลายแต่เป็นการทำในหลอดทดลองเท่านั้น

Bodmeier et al. (1989) ได้รายงานถึงการเตรียมอนุภาคที่มีสารออกฤทธิ์ตรึงอยู่แบบ ionotropic gelation โดยการเตรียมสารละลายโคโตซานและสารออกฤทธิ์ในกรดอะซิติก และทำการหยดลงในสารละลายไตรพอลิฟอสเฟต พบว่าการปล่อยของสารออกฤทธิ์จำพวก guanidine, sulfadiazine, และ salicylic acid ขึ้นอยู่กับขนาดรูพรุนของอนุภาค ปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่ใส่ในการเตรียม และ Sezer and Akbuka (1995) ได้แสดงถึงการเตรียมอนุภาคโคโตซานที่มีสาร piroxicam ตรึงอยู่ และทำการศึกษาความสัมพันธ์ของขนาดมวลโมเลกุลของโคโตซาน ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ตรึงอยู่ได้ และเพิ่มความแข็งแรงของเจลด้วย formaldehyde รวมทั้ง Chandy and Sharma (1992) ได้ทำการศึกษาการเตรียมบีดส์โคโตซานจากสารละลายโคโตซานในกรดอะซิติกและให้ก่อตัวเป็นบีดส์จากความแตกต่างด้านการละลาย โดยหยดลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอล ขนาดของเม็ดบีดส์ควบคุมได้จากขนาดของ nozzles และพบว่าค่า pH ที่เป็นกรดจะทำให้การปลดปล่อยยาได้มาก

Chen et al. (2007) ได้รายงานถึงการเตรียมอนุภาคนาโน *N*-trimethyl chitosan chloride (TMC) โดยใช้ tripolyphosphate (TPP) เป็นสารเชื่อมโยงในระบบนำส่งโปรตีน ตัวอย่าง ใช้ TMC สังเคราะห์ที่มี %DQ ต่างกัน เพื่อประเมินสมบัติและการปลดปล่อยโปรตีนจากอนุภาค และมีการใช้โซเดียมแอลจินेटเพื่อลดผลของการปล่อยโปรตีนอย่างฉับพลัน ซึ่งพบว่าอนุภาคที่มีแอลจินेटอยู่ด้วยจะมีขนาดเล็กกว่า และสามารถลดผลของการปลดปล่อยอย่างฉับพลันลงอีกด้วย นอกจากนี้ Xu et al. (2003) ยังได้รายงานถึงการสังเคราะห์ *N*-[(2-hydroxy-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC) ซึ่งเป็น

การขึ้นรูปอนุภาคโดยวิธีกายภาพ โดยอาศัย physicochemical properties ของพอลิเมอร์มีหลายวิธี ได้แก่ phase separation, solvent evaporation, suspension, spray drying และ coagulation ขนาดอนุภาคที่ได้ส่วนใหญ่อยู่ในระดับไมโครเมตร และมีข้อจำกัดในการใช้เป็นตัวพาสารออกฤทธิ์เข้าสู่ร่างกาย เนื่องจากจะไม่สามารถแทรกซึมผ่านผนังเซลล์ได้โดยง่าย ดังนั้นการพัฒนาวัสดุจากระดับไมโครเมตรไปสู่ระดับนาโนเมตร น่าจะมีความเป็นไปได้จากเงื่อนไขที่เหมาะสม เช่น การเลือกคุณลักษณะของพอลิเมอร์ อัตราส่วนของสารที่ต้องการบรรจุต่อพอลิเมอร์ เป็นต้น การเลือกใช้พอลิเมอร์ที่มาจากธรรมชาติและเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิต เพื่อเตรียมอนุภาคที่ใช้บรรจุสารออกฤทธิ์มีรายงานไว้มากมายที่น่าสนใจคือการใช้ แอลจินเตดและไคโตซาน

De and Robinson (2003) ได้รายงานถึงการเตรียมอนุภาคนาโนสเฟียร์ของแอลจินเตดกับไคโตซาน เปรียบเทียบกับระบบ poly-L-lysine-alginate อัตราส่วนโดยน้ำหนักของ แอลจินเตด:แคลเซียมคลอไรด์:ไคโตซาน หรือ poly-L-lysine ที่ใช้ในการเตรียม คือ 100:17:10 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่ยังคงสภาพ pre-gel ของแคลเซียมแอลจินเตดอยู่และสามารถขึ้นรูปให้เกิดนาโนสเฟียร์กับพอลิเมอร์ประจุบวกที่เติมลงไปได้ ถ้าความเข้มข้นของไคโตซานต่ำเกินไปอนุภาคนาโนจะไม่เกิดขึ้น และถ้าความเข้มข้นของไคโตซานมากเกินไปจะทำให้ได้ขนาดอนุภาคไมโครสเฟียร์

Gazori et al. (2009) ได้ทำการเตรียมอนุภาคนาโนแอลจินเตด-ไคโตซาน เพื่อใช้สำหรับปลดปล่อยสารประเภทแอนติเซนส์ (ใช้สำหรับยับยั้งการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็ง) อนุภาคถูกเตรียมด้วยวิธี pre-gel โดยการหยดแคลเซียมคลอไรด์ ลงสู่โซเดียมแอลจินเตด จากนั้นเติมสารละลายไคโตซาน/แอนติเซนส์ เพื่อสร้างนาโนพาร์ติเคิล พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ pH 5.3 โดยอัตราส่วนของแอลจินเตดต่อไคโตซานอยู่ที่ 1:1 (w/w) และอัตราส่วนของแคลเซียมคลอไรด์ต่อแอลจินเตด 0.002:1(w/w) อนุภาคนาโนที่เตรียมได้มีประสิทธิภาพในการบรรจุเท่ากับ 95.6% และมีขนาดเฉลี่ย 194 นาโนเมตร และค่าศักย์ซีต้าประมาณ +30 mV

Parveen et al. (2010) ได้รายงานถึงการเตรียม แอลจินเตด-ไคโตซานนาโนพาร์ติเคิลเพื่อใช้บรรจุคาร์โบพลาติน เพื่อการรักษาเรติโน บลาสโตมา (โรคมะเร็งจอประสาทตาที่พบมากในทารก) พบว่า อนุภาคที่บรรจุคาร์โบพลาติน (carboplatin) มีขนาดประมาณ 300 นาโนเมตร แสดงค่าศักย์ซีต้าสูงประมาณ +36 mV มีการห่อหุ้มตัวยาประมาณ 20 % โดยน้ำหนัก สำหรับการศึกษการปลดปล่อยในหลอดทดลอง พบว่ามีการปลดปล่อยตัวยาที่รวดเร็วประมาณ 25% ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ตามด้วยการปลดปล่อยตัวยาช้าลงจนถึง 55% ในเวลา 15 วัน

Xing et al. (2010) ได้รายงานถึงการเตรียมอนุภาคนาโนแอลจินต-ไคโตซาน เพื่อใช้บรรจุยา 5-fluorouracil(5-FU) ซึ่งเป็นยาละลายน้ำได้ดีใช้ในการบำบัดโรคมะเร็ง โดยการเตรียมได้ใช้ poloxamer เป็นสารลดแรงตึงผิวเพื่อเพิ่มเสถียรภาพของอนุภาคด้วย สมบัติของอนุภาคขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแอลจินต อัตราส่วนโดยน้ำหนักของแอลจินตต่อไคโตซาน และความเข้มข้นของ poloxamer ขนาดของอนุภาคที่บรรจุ 5-FU มีขนาดเฉลี่ย 200 นาโนเมตร ประสิทธิภาพการกักเก็บยาขึ้นอยู่กับปริมาณยาที่บรรจุ ความเข้มข้นของแอลจินต ความเข้มข้นของไคโตซาน และความเข้มข้นของ poloxamer นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการปลดปล่อยยาในหลอดทดลอง พบว่าสามารถควบคุมการปลดปล่อยได้ระยะเวลายาวนานมากกว่า 12 ชั่วโมง

## 1.6 ขั้นตอนการดำเนินโครงการวิจัย

- 1.6.1 ค้นหาข้อมูล เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
- 1.6.2 สังเคราะห์อนุพันธ์ที่มีประจุบวกถาวรของไคโตซาน 2 ชนิด คือ *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride (TMC) และ *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC) ที่มีปริมาณประจุบวกต่าง ๆ กัน
- 1.6.3 เตรียมนาโนพาร์ติเคิลของแอลจินต-ไคโตซาน/อนุพันธ์ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีนด้วย กระบวนการ ionotropic gelation โดยใช้ค่าตัวแปรและวิธีการเตรียมที่เหมาะสมในการเตรียม เพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคเล็กที่สุดจากรายงานผลการวิจัยในปีที่ 1 กล่าวโดยสังเขป คือ ใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 220,000 ดาลตัน, ความเข้มข้นของสารละลายแอลจินต 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และระยะเวลาในการโซนิเคชัน 20 นาที อัตราส่วน โดยน้ำหนักของแอลจินต/แคลเซียมคลอไรด์/ไคโตซาน คือ 10:2.33:0.5 ปริมาณกลูโคซามีนที่บรรจุในอนุภาคจะศึกษาที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของกลูโคซามีนต่อแอลจินต 1:1 และ 10:1 ตามลำดับ
- 1.6.4 ศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุล และ degree of deacetylation ของไคโตซานตลอดจนอัตราส่วนระหว่างแอลจินต/ไคโตซาน/กลูโคซามีนต่อสมบัติทางกายภาพของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน และผลของชนิด และ degree of quaternization ของอนุพันธ์ไคโตซานที่ใช้ในกระบวนการขึ้นรูปอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน
- 1.6.5 วิเคราะห์/ทดสอบสมบัติทางกายภาพของกลูโคซามีนนาโนพาร์ติเคิลที่เตรียมขึ้น ได้แก่ ขนาด ค่าศักย์ซีต้า และตรวจสอบประสิทธิภาพในการบรรจุของกลูโคซามีนในนาโนพาร์ติเคิล
- 1.6.6 ศึกษาการปลดปล่อยกลูโคซามีนจากนาโนพาร์ติเคิล (in vitro) ในสภาวะจำลองโดยการแพร่ผ่านถุงไดอะไลซิสในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และประเมินรูปแบบการปลดปล่อย

1.6.7 ศึกษาเสถียรภาพของกลูโคซามีนนาโนพาร์ติเคิลที่เตรียมขึ้น โดยจัดเก็บอนุภาคในสภาวะสารแขวนลอยในน้ำ และรูปแบบอนุภาคแห้ง ที่อุณหภูมิห้องในช่วงระยะเวลาต่างๆ แล้วประเมินเสถียรภาพของอนุภาคจากขนาดของอนุภาคที่เปลี่ยนไปในช่วงเวลาดังกล่าว

## 1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้อนุภาคนาโนแคลเซียมแอลจินेट-โพลีโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน และทราบข้อมูลวิธีการจัดเก็บอนุภาคที่เตรียมได้และระยะเวลาที่อนุภาคมีความเสถียรอยู่ได้ รวมถึงแบบแผนการปลดปล่อยสารกลูโคซามีนจากการใช้อนุภาสดังกล่าว เพื่อเป็นแนวทางการนำไปประยุกต์ใช้เป็นทางเลือกในการใช้บำบัดโรคที่เกิดจากข้อเสื่อมในอนาคต

## บทที่ 2

### วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย

#### 2.1 วัสดุและสารเคมี

Sodium Alginate น้ำหนักโมเลกุล 120,000 ดาลตัน (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)

ไคโตซาน น้ำหนักโมเลกุล 180,000 และ 300,000 ดาลตัน โดยมี %DD เท่ากับ 90% (Seafresh Chitosan, Co., Ltd, Thailand)

ไคโตซาน น้ำหนักโมเลกุล 71,000, 220,000 และ 58,000 ดาลตัน โดยมี %DD = 85% (A.N. Lab, Col, Ltd, Thailand)

Glucosamine Hydrochloride (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)

Calcium Chloride,  $\text{CaCl}_2$  (Carlo Erba Reagent)

Iodomethane,  $\text{CH}_3\text{I}$  (Riedel-de Haen)

N-methyl-2-pyrrolidone, NMP (Merck)

Glycidyltrimethylammonium Chloride, GTMAC (Fluka)

Glacial Acetic Acid,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (Merck)

Acetone, AR Grade (Merck)

Sodium Chloride,  $\text{NaCl}$  (Merck)

Sodium Hydroxide,  $\text{NaOH}$  (Merck)

Sodium Iodide,  $\text{NaI}$  (Aldrich)

Methanol,  $\text{MeOH}$  (Carlo)

Ethanol,  $\text{EtOH}$  (Carlo)

Methanol, HPLC Grade (Carlo)

Ortho-Phosphoric Acid,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (Carlo)

Sodium Dihydrogen Phosphate,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Merck)

Sodium Phosphate,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Merck)

Tri-Sodium Citrate,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Phenylisothiocyanate, PITC (Acros Organics)

Paracetamol (Aldrich)

Hexane, AR Grade (Merck)

Sodium Acetate, CH<sub>3</sub>COONa (Carlo)

Deuterated Oxide, D<sub>2</sub>O (Merck)

Trifluoroacetic Acid, TFA (Fluka)

Cellulose Dialysis Membrane MCO 12,400 kDa (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)

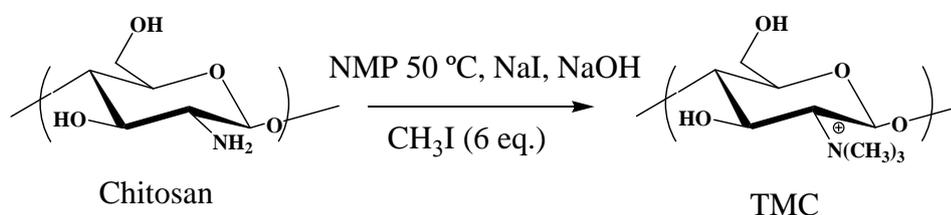
Sodium Sulfide, Na<sub>2</sub>S (Merck)

Sulfuric Acid, conc. (Merck)

## 2.2 วิธีดำเนินการวิจัย

### 2.2.1 การสังเคราะห์ *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride (TMC)

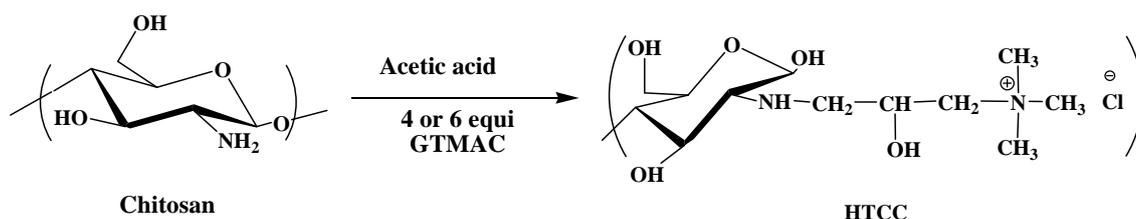
ภาพที่ 2.1 แสดงการสังเคราะห์ TMC โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ นำไคโตซาน (Mw= 220,000 ดาลตัน) 2 กรัม มาแช่ในสารละลาย *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมงจนกระทั่งบวมตัว จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (2 eq/NH<sub>2</sub>, 0.89 กรัม) และโซเดียมไอโอไดด์ (1 eq/NH<sub>2</sub>, 1.7 กรัม) ต่อมาเติมเมทิลไอโอด์โดยแบ่งเติม 2 ครั้ง ครั้งแรกเติม 2 มิลลิลิตร อีก 6 ชั่วโมงต่อมาเติมอีก 2 มิลลิลิตร โดยทำการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จะได้สารแขวนลอยของ TMC ที่ยังไม่ได้แลกเปลี่ยนประจุ จากนั้นตกตะกอนด้วยอะซิโตนและแยกตะกอนด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำตะกอนที่ได้มาละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เป็นเวลา 5 ชั่วโมงเพื่อให้เกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง Cl<sup>-</sup> กับ I<sup>-</sup> และทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคไดอะไลซิสในน้ำปราศจากไอออนเป็นเวลา 3 วัน ก่อนนำไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง



ภาพที่ 2.1 แสดงการสังเคราะห์ TMC

### 2.2.2 การสังเคราะห์ *N*-(2-hydroxy-3-trimethyl-ammonium)propyl]-chitosan chloride (HTCC)

ภาพที่ 2.2 แสดงการสังเคราะห์ HTCC ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ คือ ชั่งไคโตซาน 2 กรัม ( $M_w = 220,000$  ดาลตัน) ละลายใน 1% (v/v) กรดอะซิติก 50 มิลลิลิตร กวนที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน จากนั้นหยด Glycidyltrimethylammonium Chloride (GTMAC) 6 eq/ $NH_2$  ลงในสารละลายไคโตซาน และเพิ่มอุณหภูมิเป็น  $70^\circ C$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคไดอะไลซิสในน้ำปราศจากไอออนเป็นเวลา 3 วันก่อนนำไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง



ภาพที่ 2.2 แสดงการสังเคราะห์ HTCC

### 2.2.3 การเตรียมอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน/อนุพันธ์ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน

การเตรียมนานอพาร์ติเคิลแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน/อนุพันธ์ไคโตซาน ตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก De and Robinson (2003) โดยใช้เทคนิค ionotropic gelation ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้:

นำกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ 12 มิลลิกรัม ผสมกับสารละลายสารละลายแอลจินेट (0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กวนจนละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วหยดแคลเซียมคลอไรด์ (0.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงในสารละลายแอลจินेटที่ผสมกลูโคซามีนแล้วภายใต้การกวนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 นาที และทำการโซนิเคชันเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นหยดสารละลายไคโตซาน (0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 4 มิลลิลิตรลงในอนุภาคที่กระจายตัวอยู่ในสารแขวนลอย โดยอนุภาคจะเกิดขึ้นในขณะที่หยดสารละลายไคโตซานลงไป ในของผสมและกวนอย่างต่อเนื่องอีก 30 นาที ก่อนทิ้งไว้ข้ามคืนเพื่อให้เกิดสมดุลและทำการตรวจสอบคุณลักษณะ

### 2.2.4 การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน/อนุพันธ์ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน

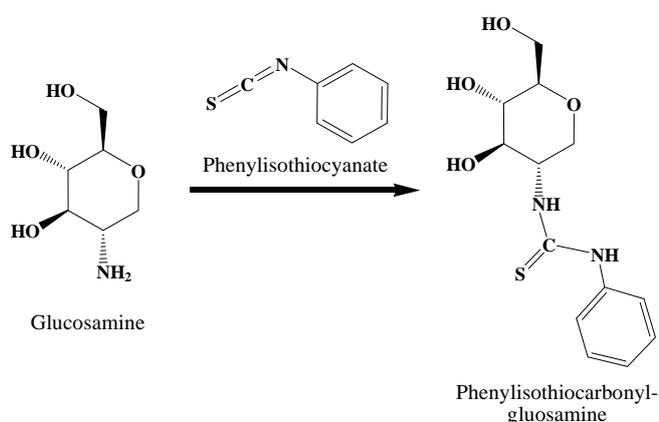
วิเคราะห์ขนาดของอนุภาคที่เตรียมได้โดยเทคนิค dynamic light scattering ด้วยเครื่อง zetasizer (model Nano-ZS, Malvern Instrument, England) แหล่งกำเนิดแสง He-Ne laser

การวิเคราะห์ลักษณะพื้นฐานวิทยาของอนุภาคที่เตรียมได้โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM, model JSM-2100, Japan) โดยนำตัวอย่างอนุภาคในรูปสารแขวนลอย 5-10 ไมโครลิตร หยดลงบนกริดทองแดงและทิ้งไว้ให้แห้งและย้อมด้วย 1% (w/v) phosphotungstic acid บันทึกภาพถ่ายผ่านโปรแกรม Soft Imaging Viewer

### 2.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีนในอนุภาคที่เตรียมได้

นำสารละลายแขวนลอยที่อนุภาคกระจายตัวอยู่มาทำการแยกโดยใช้เทคนิค ultracentrifugation (Optima-L-100XP) ที่ความเร็วรอบ 45,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แยกเอาสารละลายส่วนใสออกและทำการล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำบริสุทธิ์ขยักโดยใช้ความเร็วรอบ 45,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที แยกสารละลายส่วนใสและเจลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีนต่อไป ซึ่งทำได้สองวิธีคือวิธีทางตรงและวิธีทางอ้อม

**วิธีทางตรง:** นำเจลที่แยกได้ไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็งก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีนโดยเทคนิค HPLC โดยมีการตรวจวัดด้วยการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี ตามวิธีของ Tekko et al. (2006) ตามปกติแล้วหมู่เอมีนที่อยู่ในโครงสร้างของกลูโคซามีนสามารถดูดกลืนแสงยูวีได้ที่ความยาวคลื่นแสงมากที่สุด ( $\lambda_{max}$ ) 195 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นค่อนข้างต่ำ ในการวิเคราะห์จึงต้องนำกลูโคซามีนไปทำปฏิกิริยากับ phenylisothiocyanate (PITC) เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็น phenylthio-carbonyl-glucosamine (ภาพที่ 2.3) ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงยูวีได้ที่ความยาวคลื่นแสงมากที่สุด 245 นาโนเมตร



ภาพที่ 2.3 การสังเคราะห์ Phenylthiocarbonyl-glucosamine จากกลูโคซามีน

การตรวจวัดปริมาณกลูโคซามีนที่อยู่ในอนุภาคแบบทางตรงนั้นจำเป็นต้องทำลายอนุภาคเสียก่อน เพื่อให้กลูโคซามีนออกจากอนุภาคให้หมด โดยการนำอนุภาคแห้งประมาณ 1 มิลลิกรัม แช่ในสารละลาย 0.5 โมลาร์ โซเดียมซัลเฟต เป็นเวลาหนึ่งคืน จากนั้นกรองเอาสารละลายไปทำปฏิกิริยากับ PITC โดยเปิดสารละลายตัวอย่างมา 400 ไมโครลิตร ใส่ขวดแก้วขนาด 4 มล. เติม 0.3 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 250 ไมโครลิตร และเมทานอล 200 ไมโครลิตร เขย่าและทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเติม 1% PITC ในเมทานอล 250 ไมโครลิตร นำไป vortex 30 วินาที ก่อนนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมพาราเซตามอลเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในเมทานอล จำนวน 150 ไมโครลิตร และเฮกเซน (n-hexane) 200 ไมโครลิตร นำไป vortex 1 นาที แยกเอาสารละลายส่วนล่างโดยกรองผ่าน 0.45  $\mu\text{m}$  syringe filter membrane จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี reverse phase HPLC คำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บกลูโคซามีนและปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาคจากสูตรข้างล่างนี้

$$\text{ประสิทธิภาพการกักเก็บสาร (\%)} = \frac{\text{ปริมาณกลูโคซามีนในอนุภาคที่วิเคราะห์ได้} \times 100}{\text{ปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นที่ใส่}}$$

$$\text{ปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาค (\%)} = \frac{\text{ปริมาณกลูโคซามีนในอนุภาคที่วิเคราะห์ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของอนุภาค}}$$

สำหรับการหาปริมาณกลูโคซามีนโดยวิธีทางอ้อมนั้น จะนำส่วนสารละลายใส่ที่เก็บจากการเหวี่ยงแยกด้วยวิธี ultracentrifugation กับน้ำล้างตะกอน มาทำปฏิกิริยากับ PITC ดังวิธีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC เช่นเดียวกับวิธีทางตรง คำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บกลูโคซามีนของอนุภาคจากสูตร

$$\text{ประสิทธิภาพการกักเก็บสาร (\%)} = \frac{(\text{ปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นที่ใส่} - \text{ปริมาณกลูโคซามีนในส่วนใสกับส่วนน้ำล้าง}) \times 100}{\text{ปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นที่ใส่}}$$

## 2.2.6 การศึกษาการปลดปล่อยกลูโคซามีนออกจากอนุภาคที่เตรียมขึ้นแบบ *in vitro*

การปลดปล่อยกลูโคซามีนออกจากอนุภาค ศึกษาแบบ *in vitro* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านถุงไดอะไลซิส โดยนำอนุภาคนาโนที่บรรจุกลูโคซามีน 10 มิลลิกรัม มากระจายตัวในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ถุงไดอะไลซิส ที่ยอมให้โมเลกุล

$$\text{ปริมาณกลูโคซามีนที่ถูกปลดปล่อย (mg/mg ของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของกลูโคซามีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} \times 100}{\text{น้ำหนักของอนุภาคนาโนที่บรรจุกลูโคซามีน}}$$

$$\text{ร้อยละการปลดปล่อยแบบสะสม} = \frac{\text{ปริมาณกลูโคซามีนที่ถูกปลดปล่อยออกจากอนุภาค} \times 100}{\text{ปริมาณกลูโคซามีนที่บรรจุอยู่ในอนุภาค}}$$

### 2.2.7 การศึกษาเสถียรภาพของกลูโคซามีนนาโนพาร์ติเคิลที่เตรียมขึ้น

นำอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน/อนุพันธ์ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน ในรูปอนุภาคแขวนลอยที่เตรียมขึ้นจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 60 วัน โดยนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ขนาดและค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคเพื่อดูการเปลี่ยนแปลง ตามที่กำหนดเวลาไว้ คือ 0, 7, 15, 45, และ 60 วัน เปรียบเทียบกับอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน/อนุพันธ์ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีนในรูปแบบอนุภาคแห้งหลังจากผ่านการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง จัดเก็บไว้เป็นระยะเวลา 30 วัน แล้วนำอนุภาคแห้งนี้มากระจายตัวในน้ำแล้วนำไปวิเคราะห์รูปร่างและขนาดของอนุภาคเปรียบเทียบกับอนุภาคแห้งในตอนเริ่มต้น ด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM)

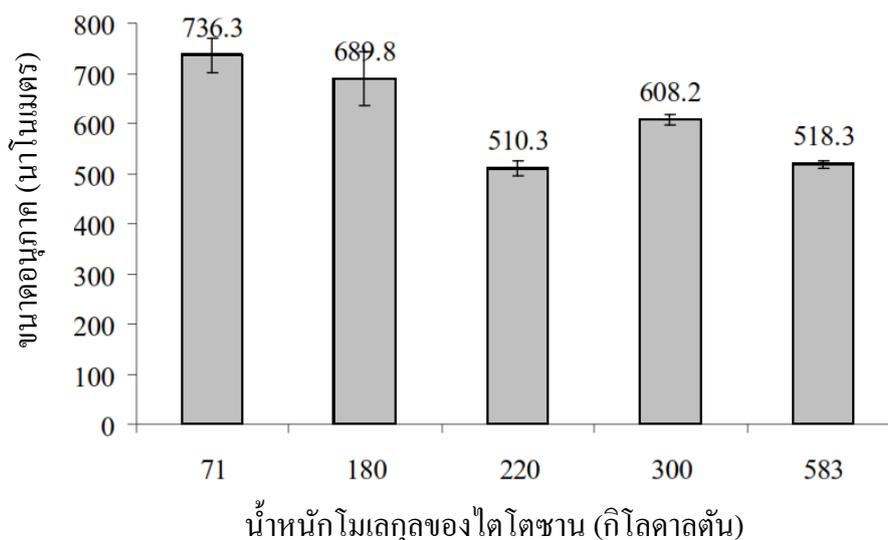
### บทที่ 3

#### ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

#### 3.1 การศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้นของไคโตซาน และอัตราส่วนระหว่างแอลจินตต่อไคโตซาน ต่อสมบัติทางกายภาพของอนุภาคที่พัฒนาขึ้น

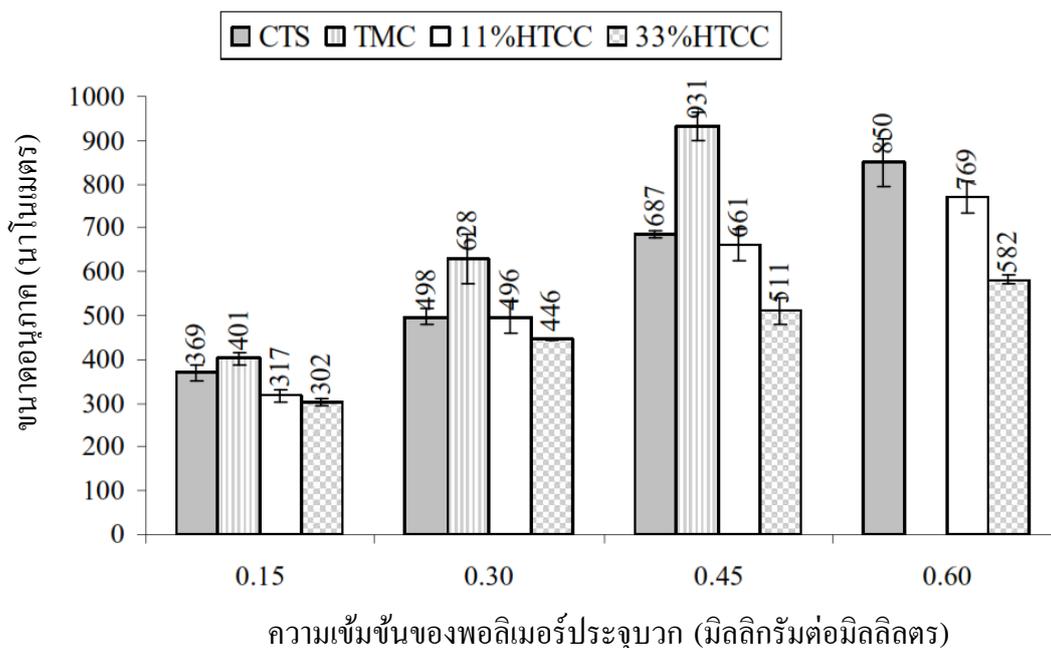
กระบวนการเตรียมอนุภาคนาโนแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซาน อาศัยหลักการ ionotropic gelation โดยดัดแปลงวิธีการมาจาก De and Robinson (2003) และ Lertsutthiwong et al. (2009) ซึ่งประกอบด้วยสองขั้นตอนหลัก คือ **ขั้นแรก** เป็นการเกิด pre-gel ของแอลจินตที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกซึ่งเกิดประจุลบได้ กับแคลเซียมคลอไรด์ ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เป็นปัจจัยสำคัญในขั้นตอนการเกิดแอลจินต pre-gel ถ้าความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่ำมากจะเกิดการเชื่อมโยงต่ำ สภาพการเกิดเจลไม่แข็งแรงทำให้ตรึงสารออกฤทธิ์ได้ไม่ดี แต่ถ้าความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์สูงเกินไปจะทำให้เกิดเจลอย่างต่อเนื่องเพราะ  $\text{Ca}^{2+}$  จะเกิดการเชื่อมขวางระหว่างประจุลบของแอลจินตในสายโซ่โมเลกุลเกิดเจลอย่างสมบูรณ์ทำให้ไม่สามารถไปเชื่อมโยงกับพอลิเมอร์อื่นที่มีประจุบวกได้ (Zhang et al., 2010) ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ต้องเหมาะสมงานสำหรับวิจัยนี้ คือ 0.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อความเข้มข้นของสารละลายแอลจินต 0.60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร **ขั้นที่สอง** เป็นการเกิดการเชื่อมขวางระหว่างประจุลบที่เหลือของ pre-gel กับไคโตซานที่มีหมู่อะมิโนซึ่งสามารถเกิดประจุบวกได้เพื่อให้เกิดเป็นเจลได้สมบูรณ์

จากผลการวิจัยปีที่ 1 ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการขึ้นรูปเป็นอนุภาคของแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซานที่ยังไม่ได้บรรจุกลูโคซามีน ได้แก่ ระยะเวลาในการโซนิเคชันในขั้นตอนการทำ pre-gel ( $\text{Ca}^{2+}$ -alginate) น้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้นของไคโตซานและอนุพันธ์ของไคโตซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ประจุบวก พบว่า ปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อขนาดของอนุภาคที่เตรียมได้ โดยพบว่า เมื่อระยะเวลาในการโซนิเคชันมากขึ้นส่งผลให้อนุภาคที่ได้เล็กลง ระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ขนาดของอนุภาคในระดับนาโนเมตรนั้นจะใช้เวลาในการโซนิเคชัน 20 นาที เมื่อพิจารณาถึงผลของน้ำหนักโมเลกุลไคโตซานพบว่า ขนาดของอนุภาคไม่มีแนวโน้มที่ชัดเจนต่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน แต่ที่น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ 200,000 ดาลตัน ให้ขนาดอนุภาคที่เล็กที่สุดในภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ผลของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซาน

ปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งคือความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ประจุบวกต่อขนาดของอนุภาค ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ไคโตซาน และอนุพันธ์ของไคโตซานที่มีประจุบวกถาวร 2 ชนิด คือ *N,N,N-trimethylammonium chitosan chloride (TMC)* และ *N-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]-chitosan chloride (HTCC)* เพื่อเตรียมอนุภาคจากแคลเซียมแอลจินตและอนุพันธ์ของไคโตซาน โดยเลือกใช้อนุพันธ์ไคโตซานรวมทั้งหมด 3 ชนิด คือ TMC ที่มีค่า Degree of quaternization (DQ) 35 % และ HTCC ที่มี DQ เท่ากับ 11 และ 33% จากผลการทดลอง พบว่าความเข้มข้นของพอลิเมอร์ประจุบวกทั้ง 4 ชนิดมีผลต่อขนาดของอนุภาคในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์ประจุบวก (0.15 - 0.60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่งผลให้ขนาดของอนุภาคใหญ่ขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบชนิดของพอลิเมอร์ประจุบวกที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่า 33% DQ HTCC ให้ขนาดอนุภาคเล็กที่สุด ในขณะที่ 35% DQ TMC ให้อนุภาคขนาดใหญ่ที่สุด (ภาพที่ 3.2) ดังนั้นในขั้นตอนการเตรียมอนุภาคเพื่อบรรจุยาจึงเลือกใช้พอลิเมอร์ประจุบวกที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



หมายเหตุ การเตรียมอนุภาคโดยใช้สารละลาย TMC เข้มข้น 0.6 มก./มล. นั้นเกิดการตกตะกอนเป็นอนุภาคขนาดใหญ่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

ภาพที่ 3.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานและอนุพันธ์ของไคโตซานต่างชนิดต่อขนาดของอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซาน

ในขั้นต่อไปเป็นการเตรียมอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน ดังนั้นเพื่อให้ได้ขนาดของอนุภาคที่เล็กที่สุดจึงเลือกใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 220,000 ดาลตันในการเตรียมอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนรวมถึงในการเตรียมอนุพันธ์ของไคโตซานด้วย โดยใช้ระยะเวลาในการโซนิเคชันในขั้นตอนการทำ pre-gel ( $\text{Ca}^{2+}$ -alginate) เท่ากับ 20 นาที และความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานและอนุพันธ์ของไคโตซาน เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

### 3.1.1 ผลของวิธีการบรรจุกลูโคซามีน

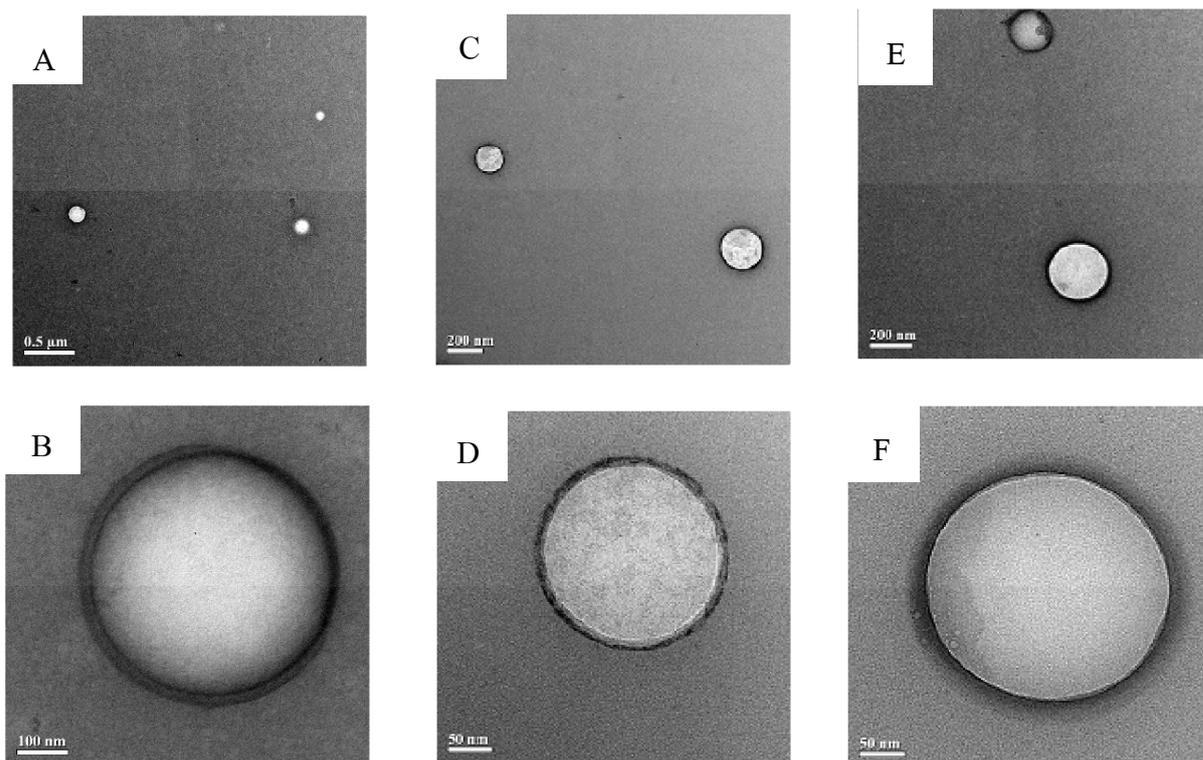
วิธีที่หนึ่ง ละลายกลูโคซามีน 12 มิลลิกรัม ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 4 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายผสมที่ได้หยดลงในสารละลายแอลจินต (0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นจึงหยดสารละลายไคโตซาน (0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในสารละลายผสมทั้งหมด

วิธีที่สอง ละลายกลูโคซามีน 12 มิลลิกรัม ลงในสารละลายแอลจินตก่อนหยดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และสารละลายไคโตซานตามลำดับ อัตราส่วนโดยน้ำหนักของกลูโคซามีนต่อแอลจินตต่อไคโตซาน เท่ากับ 1:1:0.05 โดยผลของขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้าจากการเตรียมทั้งสองวิธี แสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ขนาดของอนุภาคและค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนจากวิธีการเตรียมที่  
แตกต่างกัน

ชุดที่	วิธีการเตรียมอนุภาค	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	ค่าศักย์ซีต้า (มิลลิโวลต์)
ชุดควบคุม	อนุภาคแอลจินेट-ไคโตซานที่ไม่ได้บรรจุกลูโคซามีน	369 ±11.6	-28.9 ±1.25
1	ละลายกลูโคซามีนในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์	365 ±23.7	-24.0 ±1.38
2	ละลายกลูโคซามีนในสารละลายแอลจินेट	401 ± 6.6	-24.6 ±0.38

จากผลการทดลองพบว่าขนาดของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนที่ได้จากวิธีการเตรียมทั้ง 2 วิธี เปรียบเทียบกับขนาดของอนุภาคที่ไม่ได้บรรจุกลูโคซามีนนั้นขนาดที่วัดได้แตกต่างกันเล็กน้อยในช่วงประมาณ 30 นาโนเมตร ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าปริมาณของกลูโคซามีนค่อนข้างน้อย จึงทำให้ขนาดของอนุภาคแตกต่างกันไม่มาก ส่วนค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนทั้ง 2 วิธี มีค่าประจุลบน้อยลงเมื่อเทียบกับอนุภาคที่ไม่ได้บรรจุกลูโคซามีนซึ่งนั่นหมายถึงกลูโคซามีนได้ถูกบรรจุอยู่ในอนุภาคที่พัฒนาขึ้น และลักษณะของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนที่ได้จากการเตรียมทั้ง 2 วิธี แสดงในภาพที่ 3.3 โดยอนุภาคมีลักษณะเป็น core and shell ส่วนที่เป็น core ซึ่งอยู่ตรงกลางเป็น  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate และส่วนที่เป็น shell คือไคโตซาน ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับอนุภาคที่ยังไม่ได้บรรจุกลูโคซามีน ดังผลที่ได้จากงานวิจัยปีที่ 1



ภาพที่ 3.3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของอนุภาคเคลือบเซลลูโลส-ไคโตซาน ที่บรรจุกลูโคซามีนที่เตรียมได้โดยวิธีการที่ต่างกันของชุดควบคุม(A,B), ชุดที่ 1(C,D) และชุดที่ 2 (E,F)

### 3.1.2 ประสิทธิภาพในการบรรจุกลูโคซามีนในอนุภาคเคลือบเซลลูโลส-ไคโตซาน

การศึกษาประสิทธิภาพในการบรรจุกลูโคซามีน โดยนำอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนด้วยวิธีการ 2 วิธี ดังกล่าวข้างต้น มาแช่สารละลายโซเดียมซัลเฟตไว้ข้ามคืนเพื่อให้อนุภาคแตกตัวออกและกลูโคซามีนละลายออกมาได้หมด จากนั้นเปลี่ยนกลูโคซามีนให้เป็นอนุพันธ์ของ phenylthiocarbonyl-glucosamine เพื่อให้มีค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงยูวีได้มากที่สุดที่ 245 นาโนเมตร และวิเคราะห์สารที่ได้ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ UV detector ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการบรรจุกลูโคซามีนแสดงในตารางที่ 3.2

**ตารางที่ 3.2** ประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีนและปริมาณยาต่อน้ำหนักของอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน (อัตราส่วนกลูโคซามีน:แอลจินेट:ไคโตซานเท่ากับ 1:1:0.05) ด้วยวิธีที่บรรจุกลูโคซามีนต่างกัน

การเตรียมอนุภาค	ประสิทธิภาพในการกักเก็บ กลูโคซามีน (%)	ปริมาณยาต่อน้ำหนักของอนุภาค (%)
วิธีที่ 1	0.714±0.17	3.218±0.76
วิธีที่ 2	0.941±0.14	3.914±0.59

จากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีนและปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาคที่ได้มีค่าค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงได้ทำการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของกลูโคซามีนเพิ่มมากขึ้นเป็น 10 เท่า โดยมีอัตราส่วนกลูโคซามีนต่อแอลจินेटต่อไคโตซาน เท่ากับ 10:1:0.05 โดยเลือกวิธีการบรรจุกลูโคซามีนในอนุภาควิธีที่ 2 ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีน เท่ากับ 1.020±0.14% ซึ่งได้ค่าไม่ต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการใช้ปริมาณกลูโคซามีนต่อแอลจินेटต่อไคโตซานในอัตราส่วน 1:1:0.05 แต่จะได้ปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาคเท่ากับ 23.236±0.59% ซึ่งเพิ่มสูงขึ้นจากเดิมถึงประมาณ 5 เท่า

### 3.2 การศึกษาผลของชนิดและ Degree of quaternization ของอนุพันธ์ไคโตซานที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของไคโตซานที่มีประจุบวกถาวร 2 ชนิด คือ *N,N,N-trimethylammonium chitosan chloride (TMC)* และ *N-[2-hydroxyl-3-trimethyl-ammonium)propyl]-chitosan chloride (HTCC)* เพื่อเตรียมอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-อนุพันธ์ของไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน โดยเตรียมอนุพันธ์ที่มีค่า Degree of quaternization ต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ 35 %DQ TMC, 11 %DQ HTCC, และ 33 %DQ HTCC

#### 3.2.1 ผลของชนิดอนุพันธ์ของไคโตซานที่มีต่อขนาดอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน

วิธีการเตรียมอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-อนุพันธ์ของไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีนเลือกใช้วิธีที่ 2 คือ ละลายกลูโคซามีนในสารละลายแอลจินेटก่อนแล้วจึงหยดแคลเซียมคลอไรด์ลงไป เช่นเดียวกับการเตรียมอนุภาคแคลเซียมแอลจินेट-ไคโตซาน แต่ทำการเติมอนุพันธ์ที่เตรียมได้แทนไคโตซาน เพื่อดูผลของขนาดอนุภาคที่ได้ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ขนาดของอนุภาคและค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนเตรียมโดยใช้อุณหภูมิของไคโตซานที่มีร้อยละของประจุบวกต่างกัน

อนุพันธ์ของไคโตซานที่ใช้เตรียมอนุภาค	ขนาดของอนุภาคที่ไม่บรรจุกลูโคซามีน (นาโนเมตร)	ขนาดของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน (นาโนเมตร)	ค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีน (มิลลิโวลต์)
35 %DQ TMC	401±14.69	409±6.98	-26.0±1.65
11 %DQ HTCC	317±6.43	314±22.80	-26.4±1.14
33 %DQ HTCC	302±8.73	317±6.76	-23.5±1.77

จากผลการทดลองพบว่าขนาดของอนุภาคที่ไม่บรรจุกลูโคซามีนและอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนที่เตรียมโดยใช้อุณหภูมิของไคโตซาน มีขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากปริมาณกลูโคซามีนที่ใช้ค่อนข้างน้อย จึงไม่มีผลต่อขนาดอนุภาคมากนัก

### 3.2.2 ประสิทธิภาพในการบรรจุกลูโคซามีนในอนุภาคเคลือบแอลจินต-อนุพันธ์ไคโตซาน

ประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีนและปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาคที่เตรียมโดยใช้อุณหภูมิของไคโตซาน โดยใช้อัตราส่วนโดยน้ำหนักของกลูโคซามีนต่อแอลจินตต่ออนุพันธ์ไคโตซาน เท่ากับ 1:1:0.05 และ 10:1:0.05 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.4

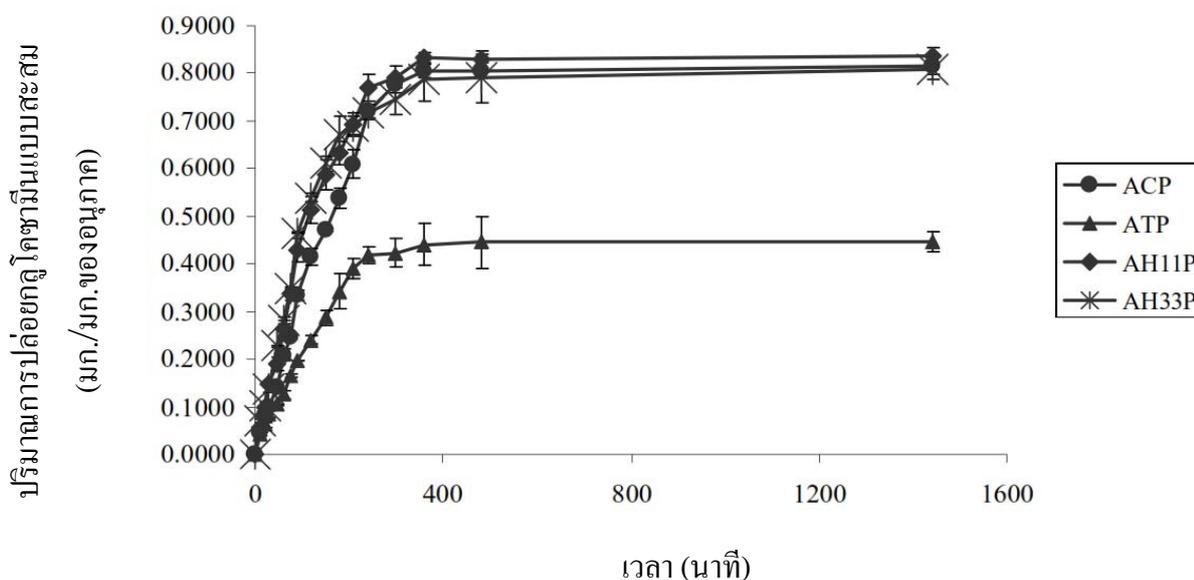
ตารางที่ 3.4 ประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีน และปริมาณต่อน้ำหนักของอนุภาคเคลือบแอลจินต-อนุพันธ์ของไคโตซาน ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของกลูโคซามีน:แอลจินต:อนุพันธ์ไคโตซานต่างกัน

อนุพันธ์ของไคโตซานที่ใช้เตรียมอนุภาค	กลูโคซามีน:แอลจินต:อนุพันธ์ไคโตซาน			
	1:1:0.05		10:1:0.05	
	ประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีน (%)	ปริมาณต่อน้ำหนักของอนุภาค (%)	ประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีน (%)	ปริมาณต่อน้ำหนักของอนุภาค (%)
35 %DQ TMC	0.693±0.10	4.089±0.62	0.969±0.03	21.215±0.55
11 %DQ HTCC	0.802±0.14	5.868±1.00	0.914±0.02	22.879±0.53
33 %DQ HTCC	0.960±0.17	6.540±1.19	0.610±0.00	20.226±0.13

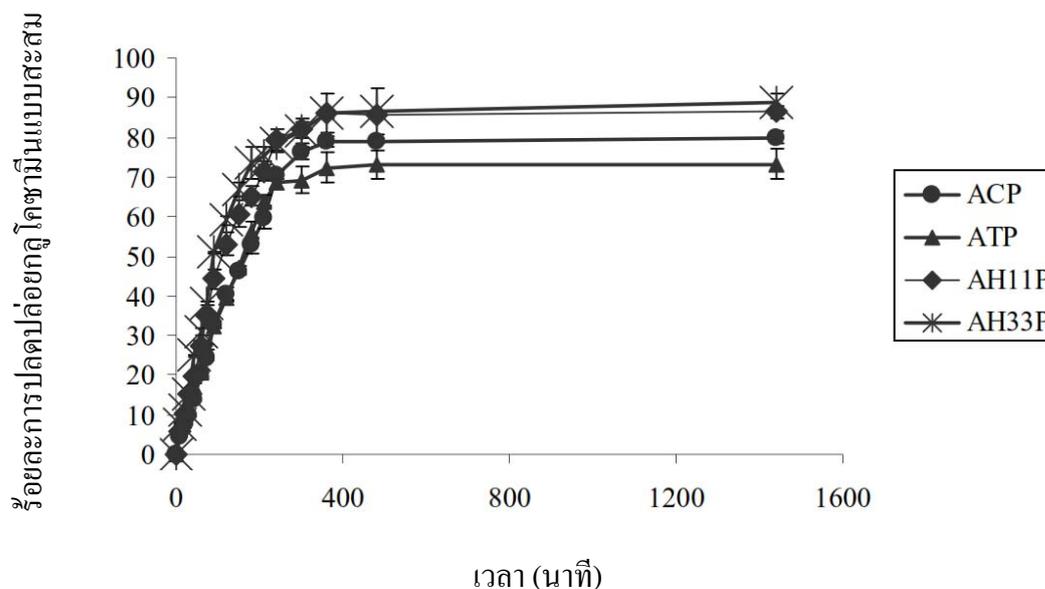
จากผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนโดยน้ำหนักของกลูโคซามีนต่อแอลจินตต่ออนุพันธ์ไคโตซานชนิดต่างๆ พบว่า ถึงแม้จะเพิ่มปริมาณกลูโคซามีนถึง 10 เท่า ประสิทธิภาพในการกักเก็บกลูโคซามีนยังคงมีค่าค่อนข้างต่ำและเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ในขณะที่ปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาคเพิ่มสูงขึ้น

### 3.3 การศึกษาการปลดปล่อยกลูโคซามีนจากอนุภาคที่เตรียมได้

การศึกษาการปลดปล่อยกลูโคซามีนจากอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซานและอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-อนุพันธ์ไคโตซานนั้น เลือกใช้อนุภาคที่เตรียมขึ้นด้วยอัตราส่วนโดยน้ำหนักของกลูโคซามีนต่อแอลจินตต่อไคโตซาน (หรืออนุพันธ์ของไคโตซานเท่ากับ 10:1:0.05 ในการศึกษา โดยทำการศึกษาในสภาวะจำลอง (*in vitro*) โดยเทคนิคการแพร่ผ่านถุงไดอะไลซิสในระบบบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชคงที่เท่ากับ 7.4 และวิเคราะห์ปริมาณของกลูโคซามีนที่ถูกปล่อยออกจากอนุภาคด้วยเทคนิค HPLC บันทึกการปลดปล่อย (release profile) ของกลูโคซามีนจากอนุภาค ดังแสดงในภาพที่ 3.4 และ ภาพที่ 3.5 ตามลำดับ



ภาพที่ 3.4 ปริมาณการปลดปล่อยของกลูโคซามีนจากอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-ไคโตซานและอนุภาคแคลเซียมแอลจินต-อนุพันธ์ไคโตซานชนิดต่างๆ



ภาพที่ 3.5 ร้อยละการปลดปล่อยของกลูโคซามีนจากอนุภาคแคลเซียมแอลจินเนต-ไคโตซานและอนุภาคแคลเซียมแอลจินเนต-อนุพันธ์ไคโตซานชนิดต่างๆ

หมายเหตุ: ACP คือ alginate-chitosan nanoparticles containing glucosamine

AH11P คือ alginate-HTCC (DQ=11%) nanoparticles containing glucosamine

AH33P คือ alginate-HTCC (DQ=33%) nanoparticles containing glucosamine

ATP คือ alginate-TMC nanoparticles containing glucosamine

การทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณกลูโคซามีนที่ถูกปล่อยออกจากอนุภาคอย่างต่อเนื่อง โดยปริมาณสูงสุดของกลูโคซามีนที่ถูกปล่อยออกจากอนุภาค  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-chitosan,  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-HTCC (11%),  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-HTCC (33%),  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-TMC เท่ากับ 0.8175, 0.8367, 0.8102, และ 0.4481 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักของอนุภาคตามลำดับ (ภาพที่ 3.4) การปลดปล่อยของอนุภาคทุกชนิดแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างปริมาณกลูโคซามีนที่ถูกปล่อยกับเวลาในช่วงระยะเวลา 6 ชั่วโมงแรก หรือกล่าวได้ว่ามีการปลดปล่อยที่ช้าและต่อเนื่อง หลังจากนั้นการปลดปล่อยกลูโคซามีนในปริมาณคงที่จนถึงระยะเวลาในการศึกษาที่ 24 ชั่วโมง โดยไม่มีผลการปลดปล่อยออกจากอนุภาคอย่างฉับพลัน (burst effect) ในระบบอนุภาคเหล่านี้แสดงว่าไม่มีปริมาณกลูโคซามีนเหลืออยู่ภายนอกพื้นผิวของอนุภาค

ร้อยละการปลดปล่อยของกลูโคซามีนที่ถูกปล่อยออกจากอนุภาค  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-chitosan,  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-HTCC (11%),  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-HTCC (33%),  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-TMC เข้าใกล้ระดับสูงสุดหลังจากระยะเวลา 6 ชั่วโมงเท่ากับ 80, 86, 89 และ 73% ตามลำดับ (ภาพที่ 3.5) นั้นหมายความว่าปริมาณกลูโคซามีนเหลืออยู่ในอนุภาคเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

จากผลการทดลองที่ได้ระบบนำส่งกลูโคซามีนที่เตรียมได้ในงานวิจัยนี้ค่อนข้างได้ผลดีในระบบ บัฟเฟอร์พีเอช 7.4 การปลดปล่อยกลูโคซามีนได้ในช่วงระยะเวลาที่นานถึง 6 ชั่วโมงด้วยอัตราการปล่อย ที่ค่อนข้างคงที่จากภาพที่ 3.4 จะเห็นว่าแนวโน้มของเส้นกราฟในระยะเวลา 6 ชั่วโมงแรกค่อนข้างมี ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

### 3.4 การศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพของอนุภาคแคลเซียมแอลจิเนต-ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีนและ อนุภาคแคลเซียมแอลจิเนต-อนุพันธ์ไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน

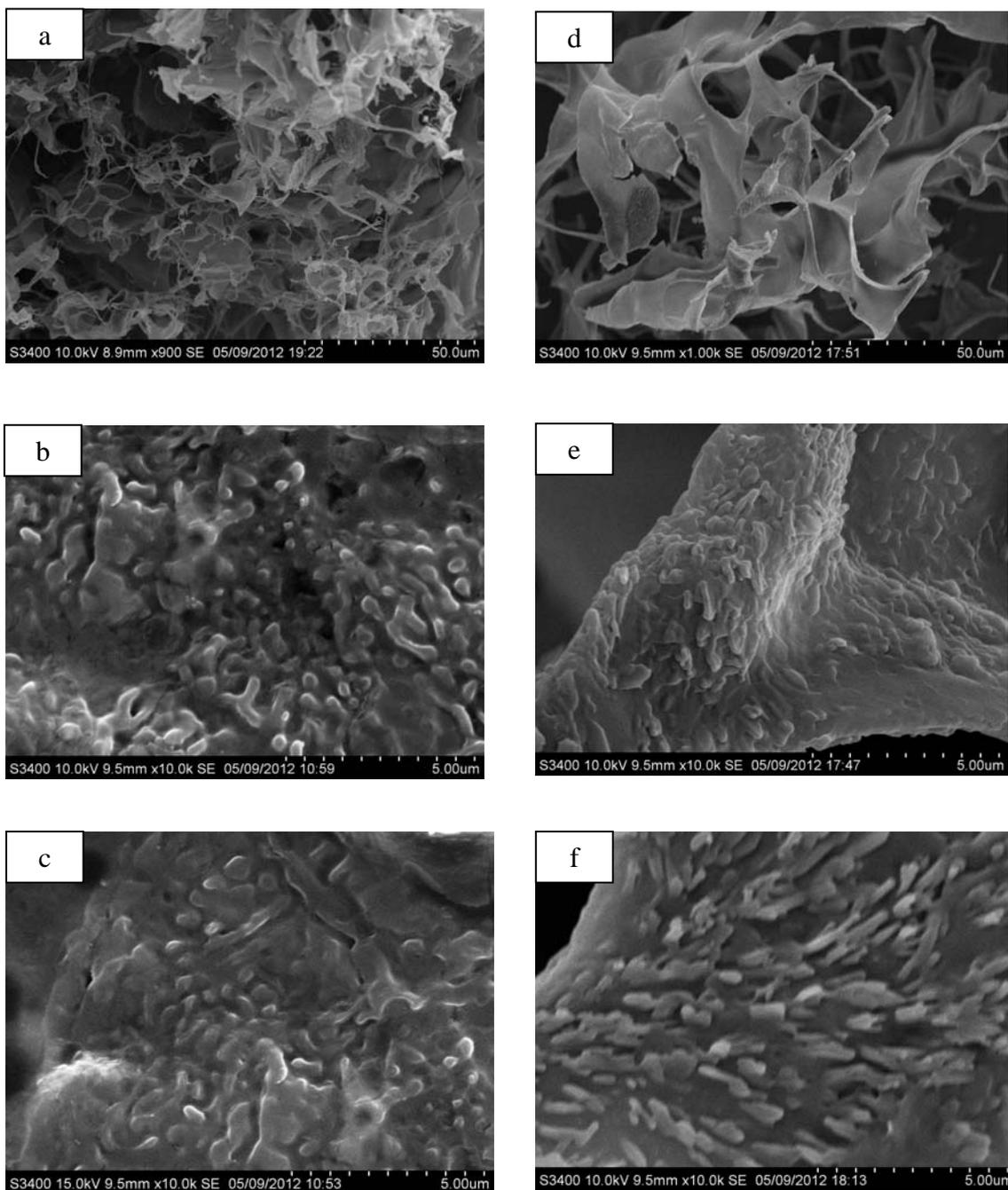
เสถียรภาพของอนุภาคในระบบสารแขวนลอยนั้นสมบัติที่สำคัญที่บ่งบอกถึงความมีเสถียรภาพก็คือขนาดเฉลี่ยของอนุภาค เนื่องจากเมื่อทิ้งไว้อนุภาคในสารแขวนลอยเหล่านั้นมีแนวโน้มที่จะรวมตัวกันเกิดเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้นทำให้อนุภาคขาดเสถียรภาพและตกตะกอนออกมาในที่สุด ดังนั้น การทดลองในส่วนนี้ได้เลือกเตรียมอนุภาคของ  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-chitosan,  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-HTCC ที่มี% กระจุกสูง โดยพิจารณาจากผลการทดลองที่ดีที่สุดก่อนหน้านี้ และได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ *N*-butyl chitosan (*N*-BuCh) เพื่อใช้เตรียมอนุภาค  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-*N*-BuCh เพื่อบรรจุกลูโคซามีน อัตราส่วน โดยน้ำหนักของกลูโคซามีนต่อแอลจิเนตต่อ *N*-BuCh เท่ากับ 10:1:0.05 ในการศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพในรูปสารละลายแขวนลอยโดยจัดเก็บไว้ในสภาวะอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 60 วัน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 เสถียรภาพทางกายภาพของอนุภาคแคลเซียมแอลจิเนต-ไคโตซานและอนุภาคแคลเซียมแอลจิเนต-อนุพันธ์ของไคโตซานที่บรรจุกลูโคซามีน ที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 60 วัน

เวลา (วัน)	$\text{Ca}^{2+}$ -alginate-chitosan		$\text{Ca}^{2+}$ -alginate-HTCC		$\text{Ca}^{2+}$ -alginate- <i>N</i> -BuCh	
	ขนาดเฉลี่ย (nm)	ค่าศักย์ซีต้า (mV)	ขนาดเฉลี่ย (nm)	ค่าศักย์ซีต้า (mV)	ขนาดเฉลี่ย (nm)	ค่าศักย์ซีต้า (mV)
0	398±5.7	-28.4±0.6	653±2.9	-28.1±1.9	593±11.2	-29.3±1.6
7	376±5.1	-29.7±0.7	797±7.4	-22.3±0.6	585±12.6	-29.6±1.2
15	361±3.7	-12.6±0.4	1058±4.7	-33.5±2.2	571±11.0	-19.2±0.3
45	353±11.6	-11.5±1.5	887±5.3	-12.4±1.4	543±3.0	-14.4±2.7
60	488±5.6	-13.0±0.7	873±22.7	-7.0±0.3	696±3.0	-9.0±0.6

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อจัดเก็บอนุภาคไว้ในรูปสารละลายแขวนลอยที่อุณหภูมิห้อง อนุภาคมีแนวโน้มที่จะตกตะกอนและรวมตัวกันทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นสมบัติของอนุภาคในสารละลายแขวนลอย ขนาดอนุภาคของ  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-chitosan และ  $\text{Ca}^{2+}$ -alginate-*N*-BuCh ที่บรรจุกลูโคซามีนมีขนาดเปลี่ยนแปลงไม่มากนักในช่วงระยะเวลา 45 วัน แต่เมื่อถึง





ภาพที่ 3.6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของอนุภาคแห้งของ Ca<sup>2+</sup>-alginate-Chitosan ที่บรรจุกลูโคซามีนเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 0 วัน (a), 1 วัน (b), 30 วัน (c); และอนุภาค Ca<sup>2+</sup>-alginate-N-BuCh ที่บรรจุกลูโคซามีนเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 0 วัน (d), 1 วัน (e), 30 วัน (f)

จากการตรวจสอบรูปร่างและขนาดอนุภาคโดยใช้เทคนิค SEM พบว่า อนุภาคหลังจากการทำแห้งเยือกแข็งของอนุภาค Ca<sup>2+</sup>-alginate-chitosan และ Ca<sup>2+</sup>-alginate-N-BuCh ที่บรรจุกลูโคซามีน มีลักษณะรูปร่างเป็นแผ่นคล้ายเยื่อที่ติดกัน อนุภาคมีไม่แยกออกเป็นอนุภาคเดี่ยวอย่างชัดเจน ยังคงเกาะกันแน่น



## บทที่ 4

### บทสรุป

#### 4.1 สรุปผลการทดลอง

อนุภาคขนาดเล็กที่บรรจุกลูโคซามีนที่เตรียมจากพอลิเมอร์ธรรมชาติของแคลเซียมแอลจิเนต-ไคโตซาน และแคลเซียมแอลจิเนต-อนุพันธ์ของไคโตซานที่มีประจุบวกถาวรสองชนิดคือ *N,N,N-trimethylammonium chitosan chloride (TMC)* และ *N-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]-chitosan chloride (HTCC)* เตรียมได้โดยอาศัยหลักการตกตะกอนร่วมของพอลิเมอร์ที่มีไอออนของประจุลบและประจุบวก (ionotropic gelation) ขนาดของอนุภาคขึ้นอยู่กับ ระยะเวลาการทำโซนิเคชันในขั้นตอนการทำ pre-gel ของแคลเซียมไอออนกับแอลจิเนต พบว่า การโซนิเคชันนาน 20 นาทีจะทำให้ขนาดอนุภาคลดลงประมาณ 37% ผลจากน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานในงานวิจัยนี้พบว่า เมื่อใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 220,000 ดาลตัน จะได้ขนาดอนุภาคเล็กที่สุด และเมื่อใช้ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ประจุบวกเท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจะทำให้อนุภาคที่เตรียมได้มีขนาดเล็กที่สุด โดยสรุปแล้วสามารถเตรียมอนุภาคมีขนาดเล็กเพียง 300-400 นาโนเมตร ซึ่งเตรียมโดยใช้อัตราส่วนโดยน้ำหนักของแอลจิเนต/แคลเซียมคลอไรด์/พอลิเมอร์ประจุบวกเท่ากับ 10:2.33:0.5 สำหรับการเตรียมอนุภาคแคลเซียมแอลจิเนต-อนุพันธ์ของไคโตซานที่มีปริมาณร้อยละของประจุบวกต่างกัน พบว่าอนุภาคที่เตรียมจาก HTCC จะมีขนาดเล็กกว่า TMC และการใช้อนุพันธ์ HTCC ที่มีปริมาณร้อยละของประจุบวกสูง (%DQ 33) จะได้ขนาดอนุภาคเล็กกว่า HTCC ที่มีปริมาณร้อยละของประจุบวกต่ำ (%DQ 11)

ความสามารถในการบรรจุกลูโคซามีนต่อน้ำหนักอนุภาคขึ้นอยู่กับปริมาณกลูโคซามีนที่ใช้ในการเตรียม เมื่อใส่ปริมาณกลูโคซามีนมากจะทำให้ได้ปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาคเพิ่มสูงขึ้น แต่ประสิทธิภาพการกักเก็บกลูโคซามีนไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ การศึกษาการปลดปล่อยกลูโคซามีนจากอนุภาคในสภาวะจำลอง (in vitro) ในระบบบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 พบว่าการปลดปล่อยกลูโคซามีนในช่วงระยะเวลา 6 ชั่วโมงแรกค่อยๆ เพิ่มขึ้นด้วยอัตราการปลดปล่อยที่ค่อนข้างคงที่ โดยไม่พบการปลดปล่อยอย่างฉับพลัน หลังจากนั้นจะมีการปลดปล่อยที่ช้าลงและค่อนข้างคงที่จนถึงระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษา 24 ชั่วโมง ปริมาณสูงสุดของกลูโคซามีนที่ปล่อยออกจากอนุภาคที่เตรียมจากไคโตซานและHTCC มีค่าประมาณ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมของอนุภาค ในส่วนของเสถียรภาพของอนุภาคที่จัดเก็บที่อุณหภูมิห้องในรูปแบบสารละลายแขวนลอยพบว่าอนุภาคมีแนวโน้มที่จะรวมตัวกันและตกตะกอนทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และขึ้นอยู่กับชนิดของพอลิเมอร์ประจุบวกซึ่งอนุภาคที่มีปริมาณประจุบวกมากอย่าง HTCC มีแนวโน้มที่อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไปเพียงแค่สัปดาห์เดียว แต่ทั้งนี้พบว่าอนุภาคที่จัดเก็บในแบบแห้งจะมีเสถียรภาพที่ดีกว่าการเก็บแบบสารละลายแขวนลอย

#### 4.2 ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับงานวิจัยในอนาคต

จากงานวิจัยนี้ได้ทำการเตรียมอนุภาคขนาดเล็กจากพอลิเมอร์ธรรมชาติเพื่อบรรจุกลูโคซามีน เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาระบบนำส่งกลูโคซามีนสำหรับรักษาโรคข้อเสื่อมต่อไปในอนาคตอย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น การเพิ่มปริมาณการบรรจุกลูโคซามีนในอนุภาคให้ได้มากขึ้นและมีประสิทธิภาพในการกักเก็บยาให้สูงขึ้น เป็นแนวทางการพัฒนางานวิจัยนี้ในขั้นต่อไป ซึ่งสามารถทำได้โดยเปลี่ยนชนิดของพอลิเมอร์ประจุบวกชนิดอื่นในขั้นตอนการเตรียมอนุภาค ให้เป็นพอลิเมอร์ที่มีความชอบน้ำต่ำลงเพื่อกักเก็บกลูโคซามีนที่ละลายน้ำได้ดีขึ้นได้มากขึ้น และช่วยชะลอการปลดปล่อยกลูโคซามีนในสภาวะแวดล้อมที่มีน้ำได้ดีขึ้น รวมทั้งการนำไปใช้งานโดยการประยุกต์ ในการผลิตเป็นยาเพื่อใช้รักษาโรคข้อเสื่อมในรูปแบบเภสัชภัณฑ์ต่าง เช่น ครีม เจล สเปรย์ โฟม เป็นต้น

## เอกสารอ้างอิง

### ภาษาไทย

- ประณีต โอปะณะโสภิต และสุวรรณณี พนมสุข. (2554). *ระบบนำส่งยา*. นครปฐม: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- วรารักษ์ จรรยาประเสริฐ. (2555). *นาโนเทคโนโลยีในการนำส่งยาทางผิวหนัง*. กรุงเทพฯ: บริษัทประชาชน จำกัด.

### ภาษาอังกฤษ

- Bodmeier, R., Oh, K-H., & Prama, Y. (1989). Preparation and evaluation of drug containing chitosan beads. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 15(9), 1475-1494.
- Bruyere, O., Pavelka, K., Rovati, L. C., Gatterová, J., Giacobelli, G., Olejarová, M., et al. (2008). Total joint replacement after glucosamine sulphate treatment in knee osteoarthritis: results of a mean 8-year observation of patients from two previous 3-year, randomised, placebo-controlled trials. *Osteoarthritis and Cartilage*, 16, 254-260.
- Chandy, T., & Shama, C.P. (1992). Chitosan beads and granules for oral sustained delivery of nifedipine: in vitro studies. *Biomaterials*, 13(13), 949-952.
- Chen, F., Zhang, Z.-R., & Huang, Y. (2007). Evaluation and modification of N-trimethyl chitosan chloride nanoparticles as protein carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 336(1), 166-173.
- De, S., & Robinson, D., (2003), Polymer relationships during preparation of chitosan-alginate and poly-L-lysine-alginate nanospheres. *Journal of Controlled Release*, 89(1), 101-112.
- Gazori, T., Khoshayand, M. R., Azizi, E., Yazdizade, P., Nomani, A., & Haririan, I. (2009). Evaluation of Alginate/Chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization and in vitro characterization. *Carbohydrate Polymers*, 77(3), 599-606.
- He, P., Davis, S. S., & Illum, L. (1998). In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*, 166, 75-68.
- Lertsutthiwong, P., Rojsitthisak, P., & Nimmannit, U. (2009). Preparation of turmeric oil-loaded chitosan-alginate biopolymeric nanocapsules. *Materials Science and Engineering: C*, 29(3), 856-860.
- Mansouri, S.; Lavigne, P., Corsi, K.; Benderdour, M., Beaumont, E., & Fernandes, J. C. (2004). Chitosan-DNA nanoparticles as non-viral vectors in gene therapy : Strategies to improve transfection efficacy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57, 1-8.

- McCarty, M. F., (1998). Enhanced synovial production of hyaluronic acid may explain rapid clinical response to high-dose glucosamine in osteoarthritis. *Medical Hypothesis*, 50, 507-510.
- Messier, S. P., Mihalko, S., Loeser, R. F., Legault, C., Jolla, J., Fruender, J. P., et al. (2007). Glucosamine/condroitin combined with exercise for treatment of knee osteoarthritis: a preliminary study. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15, 1256-1266.
- Miyazaki, S., Ishi, K., & Nadai, T. (1981). The use of chitin and chitosan as drug carriers. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 29(10), 3067-3069.
- Parveen, S., Mitra, M., Krishnakumar, S., & Sahoo, S. K. (2010). Enhanced antiproliferative activity of carboplatin-loaded chitosan–alginate nanoparticles in a retinoblastoma cell line. *Acta Biomaterialia*, 6, 3120–3131.
- Rubin, B., R. Talent, J. M., Pertusi, R. M., Forman, F. D., & Gracy, R. W. (2000). *Advance in Chitin Science*, 4, 266-269.
- Sadeghi, A. M. M., Dorkoosh, F. A., Avadi, M. R., Saadat, P., Rafiee-Tehrani, M., & Junginger, H. E. (2008). Preparation, characterization and antibacterial activities of chitosan, *N*-trimethyl chitosan (TMC) and *N*-diethylmethyl chitosan (DEMC) nanoparticles loaded with insulin using both the ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation methods. *International Journal of Pharmaceutics*, 355, 299–306.
- Sawayanagi, Y., Nambu, N., & Nagai, T. (1982). Directly compressed tablets containing chitin or chitosan in addition to mannitol. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 30, 4216–4218.
- Sezer, A. D., & Akbuga, J. (1995). Control release of piroxicam from chitosan beads. *International Journal of Pharmaceutics*, 121, 113-116.
- Tekko, I. A., Bonner, M. C., & Williams, A. C. (2006). An optimized reverse-phase high performance liquid chromatographic method for evaluating percutaneous absorption of glucosamine hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 385–392.
- Xing, J., Deng, L., & Dong, A. (2010). Chitosan/Alginate nanoparticles stabilized by poloxamer for the controlled release of 5-fluorouracil. *Journal of Applied Polymer Science*, 117, 2354-2359. doi: 10.1002/app.32083
- Xu, Y., Du, Y., Huang, R., & Gao, L. (2003). Preparation and modification of *N*-(2-hydroxyl) propyl-3-trimethyl ammonium chitosan chloride nanoparticle as a protein carrier. *Biomaterials*, 24(27), 5015-5022.
- Zhang, N., Li, J., Jiang, W., Ren, C., Li, J., Xin, J., et al. (2010). Effective protection and controlled release of insulin by cationic  $\beta$ -cyclodextrin polymers from alginate/chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 393, 212-218. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.04.006.

## ประวัติคณะผู้วิจัย

- ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ดร. ปราณี เลิศสุทธีวงศ์  
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) Dr. Pranee Lertsutthiwong
- เลขที่บัตรประจำตัวประชาชน 5 1002 00104 95 1
- ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย
- หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)  
สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ซอยจุฬาลงกรณ์ 12 ถนนพญาไท ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330  
โทรศัพท์ 0 2218 4221 โทรสาร 0 2611 7586  
E-mail Address: Pranee.L@chula.ac.th

## 5. ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ตรี	เทคโนโลยีชีวภาพ	2535
Asian Institute of Technology (AIT)	โท	Bioprocess Technology	2540
AIT	เอก	Bioprocess Technology	2545

- สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ  
เทคโนโลยีการผลิตและการประยุกต์ใช้ไบโอโชนในด้านต่างๆ

- ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

ปี พ.ศ.	ชื่อโครงการ	งบประมาณที่ได้รับ (บาท)	แหล่งทุนฯ	สถานภาพ	หมายเหตุ
2546-2547	การศึกษาและวิเคราะห์สถานภาพของโรงงานผู้ผลิตและตลาดการใช้ไคตินและไคโตซาน	200,000	MTEC	สิ้นสุดโครงการ	ผู้ร่วมโครงการฯ
2547-2548	ผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มจากกากของเสียในโรงงานกระดาษและวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร	324,800	MTEC	สิ้นสุดโครงการ	หัวหน้าโครงการฯ

2548-2549	การศึกษาความเป็นไปได้ของการเลี้ยงกุ้งระบบ ปิดด้วยระบบโคโต-โอโซน	147,000	MMRI	สิ้นสุด โครงการ	หัวหน้า โครงการฯ
2548-2549	การศึกษาผลของชนิด ความเข้มข้น และอัตราส่วน ของพอลิเมอร์ต่อการขึ้นรูปนาโนแคปซูล	120,000	ทุนรัชดา	สิ้นสุด โครงการ	หัวหน้า โครงการฯ
2548-2550	การพัฒนาแคปซูลระดับนาโนที่บรรจุน้ำมัน ขมิ้นชันเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง	480,000	สกว	สิ้นสุด โครงการ	หัวหน้า โครงการฯ
2547-2550	การพัฒนานาโนไคติน-โคโตซานเพื่อเป็นจุด ยาค้นแบบของการนำส่งยาเฉพาะแห่งและ ยารักษาโรคเอดส์ ภายใต้โครงการ “นาโนพอลิ เมอร์”	875,000 (ปีที่ 3)	วช.	สิ้นสุด โครงการ	ผู้ร่วม โครงการฯ
2550-2551	การพัฒนาเชื้อล่อปลาปลอมและอาหารเลี้ยง ปลาสวยงามที่มีส่วนผสมของเพรียงทราย	700,500	วช.	กำลัง ดำเนินการ	หัวหน้า โครงการฯ

#### โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่อุตสาหกรรมและชุมชน

ปี พ.ศ.	ชื่อโครงการ	งบประมาณ ที่ได้รับ (บาท)	แหล่งทุนฯ	สถานภาพ	หมายเหตุ
2547	“การขึ้นรูปเป็นเม็ดของไบโอพอลิเมอร์” (13 มกราคม – 11 พฤษภาคม 2547)	200,000	บ. ILC	สิ้นสุด โครงการ	ผู้ประสานงาน และร่วม ถ่ายทอด
2546- 2547	การพัฒนาคุณภาพผลผลิตการเกษตรและ ผลิตภัณฑ์แปรรูปให้ได้มาตรฐาน ภายใต้ โครงการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ ชุมชน	500,000	สนง. คณะกรรมการ การอุดมศึกษา	สิ้นสุด โครงการ	ผู้ร่วม โครงการฯ
2549	-การผลิตกลูโคซามีนเพื่อใช้ใน อุตสาหกรรมยา	400,000	-บริษัท Greater Pharma Co., Ltd. ขอรับการ ถ่ายทอดผ่าน ทาง สนง. นวัตกรรม แห่งชาติ	สิ้นสุด โครงการ	ผู้ร่วมถ่ายทอด/ ผู้ประสานงาน กลาง

## การตีพิมพ์และเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ

### International Journal:

- (1) **Lertsutthiwong, P.**, Chandkrachang, S., Nazhad, M.M. and Stevens, W.F. Chitosan as a dry strength agent for paper. *Appita Journal* 2002; **55**(3): 208-212.
- (2) **Lertsutthiwong, P.**, Nazhad, M.M., Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. Chitosan as a surface sizing agent for offset printing paper. *Appita Journal* 2004; **57**(4): 274-280.
- (3) Kaseamchochoung, C., **Lertsutthiwong, P.** and Phalakornkule, C. Influence of chitosan characteristics and environmental conditions on flocculation of anaerobic sludge. *Water Environment Research*. 2006; **78**(11): 2210-2216.
- (4) **Lertsutthiwong, P.**, Khunthon, S., Siralertmukul, K., Noomun, K. and Chandkrachang, S. Effect of Chitosan on Properties of New Particleboards from Solid Waste of Tissue Paper Manufacturing. *Journal of Chitin and Chitosan*. 2006; **11**(4): 201-204.
- (5) Lertsittichai, S., **Lertsutthiwong, P.** and Phalakornkule, C. Improvement of upflow anaerobic sludge bed performance using chitosan. *Water Environment Research*. 2007; **79**(7): 801-807.
- (6) **Lertsutthiwong, P.**, Khunthon, S., Siralertmukul, K., Noomun, K. and Chandkrachang, S. New insulating particleboards prepared from mixture of solid wastes from tissue paper manufacturing and corn peel. *Bioresource Technology*. 2008; **99**: 4841-4845.
- (7) **Lertsutthiwong, P.**, Noomun, K., Jongaroonngamsang, N., Rojsitthisak, P., Nimmannit, U. Preparation of alginate nanocapsules containing turmeric oil. *Carbohydrate Polymers*. 2008; **74**: 209-214.
- (8) **Lertsutthiwong, P.**, Rojsitthisak, P., Nimmannit, U. Preparation of turmeric oil-loaded chitosan-alginate biopolymeric nanocapsules. *Materials Science and Engineering C*. 2009; **29**: 856-860.
- (9) **Lertsutthiwong, P.**, Sutti, S., Powtongsook, S. Optimization of chitosan flocculation for phytoplankton removal in shrimp culture ponds. *Aquacultural Engineering*. 2009, **41**: 188-193.

### Review article

- (1) **Lertsutthiwong, P.**, Rojsitthisak, P. Chitosan-alginate nanocapsules for encapsulation of turmeric oil. *Pharmazie*. 2011, **66** (12): 911-915

Book Chapter

- (1) **Lertsutthiwong, P.**, Haworth, I.S., Rojsitthisak, P. Alginate: A promising polysaccharide for delivery of essential oils. In: *Handbook of carbohydrate polymers: development, properties and applications* (ISBN: 978-1-60876-367-2), edited by Ryouichi Ito and Youta Matsuo, Nova Science Publishers, Inc., p. 621-638 (2010).

Magazine

- (1) **Lertsutthiwong, P.**, Khunthon, S., Siralermukul, K., and Chandkrachang, S. Particleboards produced from solid wastes of tissue paper manufacturing. *Me Tissue Magazine*. Issue 1-Winter 2008, pp. 30-32.

National Journal:

- (1) **Lertsutthiwong, P.**, Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. The effect of the utilization of chitosan on properties of paper. *Journal of Metals, Materials and Minerals* 2000; **10**(1): 43-52.
- (2) **Lertsutthiwong, P.**, Ng, C.H., Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan. *Journal of Metals, Materials and Minerals* 2002; **12**(1): 11-18.

International Conference and Symposium:

- (1) **Lertsutthiwong, P.**, Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. The effect of chitosan on properties of handsheet paper. *Chitin and Chitosan: Chitin and Chitosan in Life Science*. Yamaguchi 2001; 163-164.
- (2) **Lertsutthiwong, P.**, Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. Improved surface properties of printing paper using chitosan. *Proc. of 5th Asia Pacific Chitin-Chitosan Symposium*, Bangkok, Thailand, p. 556-558 (2002).
- (3) **Lertsutthiwong, P.**, Khunthon, S., Siralermukul, K., Noomun, K., Chandkrachang, S. Development of an insulating particleboard from agricultural biowaste. *Biomass-Asia Workshop*, 13-15 December, 2005, Bangkok Thailand. pp. 66.
- (4) **Lertsutthiwong, P.**, Sutti, S., Powtongsook, S., Hannongbua, S. and Chandkrachang, S. Chitosan as a bioflocculating agent for water quality control in aquaculture tank. *The 7th Asia Pacific Chitin and Chitosan Symposium*, Bexco, Busan, Korea, April 23-26, 2006.

- (5) Siralermukul, K., Chandkrachang, S., Suwanoo, N., **Lertsutthiwong, P.**, Chirachanchai, S. and Nimmannit, U. The effect of chitin conformations on the degree of substitution of carboxymethyl groups. The 7th Asia Pacific Chitin and Chitosan Symposium, Bexco, Busan, Korea, April 23-26, 2006.
- (6) **Lertsutthiwong, P.**, Noomun, K., Jongaroonngamsang, N., Rojsitthisak, P., Hannongbua, S., Nimmannit, U. Preparation and characterization of chitosan-alginate nanocapsules containing turmeric oil. The 2007 AAPS Annual Meeting and Exposition, San Diego, CA, USA, 11-15 November, 2007.
- (7) **Lertsutthiwong, P.**, Rojsitthisak, P. Process development for encapsulation of turmeric oil in chitosan-crosslinked alginate nanocapsules. The 11<sup>th</sup> International Conference on Chitin and Chitosan (11<sup>th</sup> ICCC) & the 8<sup>th</sup> Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symposium (8<sup>th</sup> APCCS), Taipei, Taiwan, 6-9 September, 2009.
- (8) Peng-im, P., **Lertsutthiwong, P.**, Tangpasuthadol, V. Ionic gelation of calcium alginate and quaternary ammonium chitosan to produce submicroparticles for glucosamine delivery. The 11<sup>th</sup> International Conference on Chitin and Chitosan (11<sup>th</sup> ICCC) & the 8<sup>th</sup> Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symposium (8<sup>th</sup> APCCS), Taipei, Taiwan, 6-9 September, 2009.
- (9) **Lertsutthiwong, P.**, Noomun, K., Khunthon, S., Limpanart, S. Parameters affecting the properties of chito-organoclay. The 2<sup>nd</sup> International and Cross-strait Chitin and Chitosan Symposium & the 7<sup>th</sup> National Academic Conference on Chitin and Chitosan, Qianjiang, China, 5-9 November, 2010.
- (10) Boonpuak, D., Pungrasm, W., **Lertsutthiwong, P.**, Powtongsook, S. Effects of Immobilization Time and pH adjustment on the Immobilization of Nitrite-oxidizing Bacteria on Chitosan. The 2010 International Conference on Biology, Environment and Chemistry (ICBEC 2010), Hong Kong, 28-30 December, 2010.
- (11) Onnongpong1, W., **Lertsutthiwong, P.**, Srikulkit, K. Preparation of polypropylene/polypropylene grafted chitosan composite. 18<sup>th</sup> International Conference on composite materials, Korea, 21-26 August, 2011.

National Conference:

- (1) **Lertsutthiwong, P.**, Stevens, W.F. and Chandkrachang, S. Improved paper performance using chitosan. *Proc. 1<sup>st</sup> Thailand Materials Science and Technology Conf.*, Bangkok 2000; 361-363.

- (2) **Lertsutthiwong, P.**, Stevens, W.F. and Chandkrachang, S. The utilization of chitosan for the production of high quality paper. *Proc. 2<sup>nd</sup> Thailand Materials Science and Technology Conf.*, Bangkok 2002; 146-147.
- (3) Teppakan, S., Keankarn, Y., Sermasathanasawat, J., Srisuwan, U. and **Lertsutthiwong, P.** Chitosan used as a flocculating agent in wastewater of citric acid industry. *Proc. Of the National Chitin-Chitosan Conf.*, Bangkok, Thailand, p. 171-174 (2003).
- (4) Kaseamchochoung, C., **Lertsutthiwong, P.** and Phalakornkule, C. Effects of chitosan deacetylation, and environmental conditions on flocculation of methanogenic bacteria. *30<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, Bangkok, Thailand, p. 237 (2004).
- (5) Lertsittichai, S., **Lertsutthiwong, P.** and Phalakornkule, C. Effect of chitosan on the efficiency of upflow anaerobic sludge bed system. *31<sup>st</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, 18-20 October, 2005, Nakhon Ratchasima, Thailand, p. 324 (2005).
- (6) **Lertsutthiwong, P.**, Sukwattanasinitt, M. and Ubonthip Nimmannit. Preparation of alginate nanoparticles containing turmeric oil. *The 6<sup>th</sup> Annual Meeting of The Thailand Research Fund*, 12-14 October, 2006, Petchaburi, Thailand, p. 177.
- (7) **Lertsutthiwong, P.**, Noomun, K., Jongaroonngamsang, N., Rojsitthisak, P., Pichyangkura, R., Hannongbua, S., Nimmannit, U. Preparation of turmeric oil loaded chitosan-alginate nanoparticles. *The 7<sup>th</sup> Annual Meeting of The Thailand Research Fund*, 11-13 October, 2007, Chonburi, Thailand, p. 24.
- (8) Pornphrom Peng-im, **Pranee Lertsutthiwong**, Varawut Tangpasuthadol. Preparation of calcium alginate-chitosan nanoparticles. *The 2<sup>nd</sup> Polymer Graduate Conference of Thailand*, 21-22 May, 2009, Bangkok.
- (9) Boonpuak, D., **Lertsutthiwong, P.**, Pungrasmi, W., Powtongsook, S. Immobilization of Nitrite-oxidizing Bacteria on Chitosan. *The 10<sup>th</sup> National Environmental Conference*, 23-25 March, 2011, Songkhla.

Invited speaker:

- (1) Lertsittichai, S., Kaseamchochoung, C., Phalakornkule, C., **Lertsutthiwong, P.** Chitosan as a flocculating agent for Upflow Anaerobic Sludge Bed System. *Seminar at Chonnam University, Korea*, 20 April, 2006.
- (2) **Lertsutthiwong, P.**, Noomun, K., Khunthon, S., Limpanart, S. Parameters affecting the properties of chito-organoclay. *The 2<sup>nd</sup> International and Cross-Strait Chitin and Chitosan*

Symposium & The 7<sup>th</sup> National Academic Conference on Chitin and Chitosan. *China*, 5-9 November, 2010.

### สิทธิบัตร

- (1) **Lertsutthiwong, P.**, Sutti, S. and Powtongsook, S. (2006). Methodology and technique of water improvement using chitosan for effective flocculation of suspended solid in aquaculture pond. Thai Patent Application, patent pending.
- (2) **Lertsutthiwong, P.**, Sarintorn Limpanart, Siralertmukul, K., Khunthon, S. (2009). Modification-method for prolonging shelf-life of polychaete at room temperature and products from this method. Thai Patent Application, patent pending.

### รางวัล

ปี 2549: รางวัลวิทยานิพนธ์ดีเด่น (รางวัลชมเชย) ประจำปีการศึกษา 2547 เรื่อง “การศึกษาอิทธิพลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมและลักษณะเฉพาะของไคโตซานต่อการจับตัวของไคโตซานกับสารแขวนลอยจุลินทรีย์” จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม)

**ผู้ร่วมวิจัย**

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ..... วรารุติ ตั้งพสุธาดล .....  
 ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) ..... Varawut Tangpasuthadol .....
2. เลขที่บัตรประจำตัวประชาชน ..... 3101600877684 .....
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ประจำภาควิชาเคมี .....
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)  
 ..... ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย .....
- ..... ถ. พญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 .....
- ..... โทรศัพท์ 0 2218 7626 ต่อ 104 โทรสาร 0 2218 7598 .....
- ..... E-mail Address: varawut.t@chula.ac.th .....

## 5. ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ตรี	เคมี	2535
Rutgers-State University of New Jersey	เอก	Organic Chemistry	2542

## 6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Polymer synthesis, structure-property relationship of polymeric materials, degradable polymers, biomaterials

## 7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

ปี พ.ศ.	ชื่อโครงการ	งบประมาณที่ได้รับ (บาท)	แหล่งทุน	สถานภาพ	หมายเหตุ
2546-2547	การเพิ่มความแข็งแรงของยางพาราแบบใช้ซิลิกาโดยกระบวนการโซลเจลในลาเทกซ์	282,000	งบฯแผ่นดิน	สิ้นสุดโครงการ	หัวหน้าโครงการ
2547-2548	แม่แบบชั่วคราวจากไคโตซานที่เชื่อมขวางได้ด้วยแสงสำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ	156,450 บาท	MTEC	สิ้นสุดโครงการ	หัวหน้าโครงการ
2547-2550	การพัฒนา นาโนไคติน-ไคโตซาน เพื่อเป็นจุดเริ่มต้นแบบของการนำส่งยาเฉพาะแห่งและยารักษาโรคเอดส์ ภายใต้โครงการ “นาโนพอลิเมอร์”	875,000 (ปีที่ 3)	วช.	สิ้นสุดโครงการ	ผู้ร่วมโครงการ

2547- 2550	“วิธีใหม่สำหรับผลิตคอมโพสิตของยางธรรมชาติและซิลิกาจากกระบวนการโซล-เจลของไซเลนในน้ำยาง” ภายใต้โครงการย่อยทุนส่งเสริมกลุ่มวิจัย ศ.ดร.สุดา เกียรติกำจรวงศ์	ปีละ 350,000 บาท	สกว.	สิ้นสุดโครงการ	หัวหน้าโครงการย่อย
2549- 2550	การผลิตน้ำยางข้นฉายรังสีสำหรับผลิตภัณฑ์ยางทันตกรรม	1,700,00 บาท	วช.	สิ้นสุดโครงการ	ผู้ร่วมโครงการ

#### โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่อุตสาหกรรมและชุมชน

ปี พ.ศ.	ชื่อโครงการ	งบประมาณที่ได้รับ (บาท)	แหล่งทุน	สถานภาพ	หมายเหตุ
2549	การผลิตกัญชามีนาเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมยา	400,000	บริษัท Greater Pharma Co., Ltd. ขอรับการถ่ายทอดผ่านทาง สนง. นวัตกรรมแห่งชาติ	สิ้นสุดโครงการ	ผู้ร่วมถ่ายทอด
2551	การประยุกต์ใช้นวัตกรรมของโคโตนานในผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม	400,000	บริษัท ไลฟ์ชาयน์คอสเมติก्रीเชิร์ชเซ็นเตอร์ จำกัด	กำลังดำเนินการ	หัวหน้าโครงการวิจัย

#### การตีพิมพ์และเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ

##### International Journal:

- (10) **Tangpasuthadol, V.;** Shefer, A.; Hooper, K. A.; Kohn, J. "Thermal properties and physical aging behavior of tyrosine-derived polycarbonates" *Biomaterials*, 1996, 17, 465.
- (11) **Tangpasuthadol, V.;** Shefer, A.; Yu. C.; Zhou, J.; Kohn, J. "Thermal properties and enthalpy relaxations of tyrosine-derived polyarylates" *J. Appl. Polym. Sci.*, 1997, 63, 1441.
- (12) Brocchini, S.; James, K. S.; **Tangpasuthadol, V.;** Kohn, J. "A combinatorial Approach for Polymer Design" *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, 119, 4553.

- (13) Brocchini, S.; James, K. S.; **Tangpasuthadol, V.**; Kohn, J. "Structure-property correlations in a combinatorial library of degradable biomaterials" *J. Biomat. Mater. Res.*, 1998, 42, 66-75.
- (14) **Tangpasuthadol, V.**; Pendharkar, S. M.; Kohn, J. "Hydrolytic degradation of tyrosine-derived polycarbonates, a class of new biomaterials. Part I: Study of model compounds" *Biomaterials*, 2000, 21, 2371.
- (15) **Tangpasuthadol, V.**; Pendharkar, S. M.; Peterson, R. C.; Kohn, J. "Hydrolytic degradation of tyrosine-derived polycarbonates, a class of new biomaterials. Part II: 3-year study of polymeric devices" *Biomaterials*, 2000, 21, 2379.
- (16) **Tangpasuthadol, V.**; Pongchaisirikul, N.; Hoven, V. P. "Surface modification of chitosan films. Effects of hydrophobicity on protein adsorption" *Carbohydr. Res.*, 2003, 338, 937-942.
- (17) Amornchai, W.; Hoven, V. P.; **Tangpasuthadol, V.** "Surface modification of chitosan films-grafting ethylene glycol oligomer and its effect on protein adsorption" *Macromol. Symp.*, 2004, 216 (1), 99-108.
- (18) Punnarak, P.; Tantayanon, S.; **Tangpasuthadol, V.** "Mechanical properties of thermoplastic dynamic vulcanizates containing reclaimed tire rubber and linear low density polyethylene" *Polym. Degrad. Stabil.*, 2006, 91, 3456-3462.
- (19) Hoven, V.P.; **Tangpasuthadol, V.**; Angkitpaiboon, Y.; Vallapa, N.; Kiatkamjornwong, S. "Surface-Charged Chitosan: Preparation and Protein Adsorption" *Carbohydr. Polym.* 2007, 68, 44-53.
- (20) Sajomsang, W.; Tantayanon, S.; **Tangpasuthadol, V.**; Daly, W.m H. "Synthesis of methylated chitosan containing aromatic moieties: Chemoselectivity and effect on molecular weight" *Carbohydr. Polym.* 2008, 72(4), 740-750.
- (21) **Tangpasuthadol, V.**; Intasiri, A.; Nuntivanich, D.; Niyompanich, N.; Kiatkamjornwong, S. "Silica-reinforced natural rubber prepared by the sol-gel process of ethoxysilanes in rubber latex" *J. Appl. Polym. Sci.* 2008, 109(1), 424-433.
- (22) Sajomsang, W.; Tantayanon, S.; **Tangpasuthadol, V.**; Thatte, M.; Daly, W. H. Synthesis and characterization of *N*-aryl chitosan derivatives" *Inter. J. Biol. Macromol.* 2008, 43(2), 79-87.
- (23) Satraphan, P.; Intasiri, A.; **Tangpasuthadol, V.**; Kiatkamjornwong, S. "Effects of methyl methacrylate grafting and *in situ* silica particle formation on the morphology and mechanical properties of natural rubber composite films" *Polym. Adv. Technol.* accepted for publication.

International Conference and Symposium:

- (12) **Tangpasuthadol, V.**; Hoven, V. P.; Pongchaisirikul, N. “Functional group modification on the surface of chitosan films via reactions of amino groups” in *Advances in Chitin Science Vol. V*, Proceedings of the 5<sup>th</sup> Asia Pacific Chitin and Chitosan Symposium & Exhibition, Bangkok, Thailand, March 13-15, **2002**, p. 362-367.
- (13) Nuntivanich, D; Niyompanich, N; Intasiri, A; Boonjawat, J; **Tangpasuthadol, V** “Reinforcement of natural rubber by silica generated *in situ*” presented in The 8<sup>th</sup> Pacific Polymer Conference, Bangkok, Thailand, November 24-27, **2003**, p. 53.
- (14) Pongchaisirikul, N; Amornchai, W; Hoven, VP; **Tangpasuthadol, V** “Surface modification of chitosan films-Grafting long chain hydrocarbon and PEG affected protein adsorption” presented in The 8<sup>th</sup> Pacific Polymer Conference, Bangkok, Thailand, November 24-27, **2003**, p. 99.
- (15) Amornchai, W.; Vijithuttagune, V.; Pongchaisirikul, N.; Hoven, V. P.; **Tangpasuthadol, V.** “Utilization of chitosan as a bioactive polymer” *The 7th New Jersey Symposium on Biomaterials Science*, October 21-22, **2004**, Hyatt Regency Hotel, New Brunswick, New Jersey, USA.
- (16) **Tangpasuthadol, V.**; Angkitpaiboon, Y.; Channasanon, S.; Kiatkamjornwong, S.; Hoven, V.P. “Selective protein adsorption of surface bearing *n*-sulfofurfuryl chitosan” *The 7<sup>th</sup> Asia-Pacific Chitin/Chitosan Symposium*, April 24-26, **2006**, Busan, Republic of Korea. (oral)
- (17) Thongkong, W.; Siralertmukul, K.; Chandkrachang, S.; Lertsutthiwong, P.; **Tangpasuthadol, V.** “Preparation of Chitosan Submicroparticles Using Ultrasonic Atomization for Controlled Drug Release” *The 3<sup>rd</sup> Mathematics and Physical Sciences Graduate Congress*, December 12-14, **2007**, Kuala Lumpur, Malaysia.
- (18) Satraphan, P.; Intasiri, A.; **Tangpasuthadol, V.**; Kiatkamjornwong, S. “Reinforcement of methyl methacrylate-grafted natural rubber films reinforced by *in situ* silica” *The 3<sup>rd</sup> Mathematics and Physical Sciences Graduate Congress*, December 12-14, **2007**, Kuala Lumpur, Malaysia.

National Conference:

- (10) Tanapaiboon, K.; Vilaivan, T.; **Tangpasuthadol, V.** “Synthesis of polyether containing thymine” *The 30<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, October, **2004**, Bangkok, Thailand, 117. (poster)
- (11) Sajomsang, W.; **Tangpasuthadol, V.**; Tantayanon, S.; Daly, W. H. “Synthesis and antimicrobial activities of quaternary ammonium salt of *N*-alkylated chitosans” *The 30<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, October, **2004**, Bangkok, Thailand, 241. (poster)
- (12) Angkitpaiboon, Y.; Hoven, V. P.; **Tangpasuthadol, V.**; Kiatkamjornwong, S. “Preparation of surface-charged chitosan” *The 30<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, October, **2004**, Bangkok, Thailand, 239.
- (13) Wangtaveesab, T.; Methacanon, P.; **Tangpasuthadol, V.** “factors influencing pore formation in chitosan temporary scaffolds” *The 30<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, October, **2004**, Bangkok, Thailand, 235.
- (14) **Tangpasuthadol, V.**; Nuntivanich, D.; Niyompanich, N.; Intasiri, A.; Kiatkamjornwong, S. “Sol-gel process of ethoxysilane in natural rubber latex to prepare silica-reinforced rubber composites” *The 31<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, 18-20 October, **2005**, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima. (oral)
- (15) Siramanont, J.; Intasiri, A.; **Tangpasuthadol, V.**; Kiatkamjornwong, S. “Formation of silica in natural rubber by sol-gel process of alkyltriethoxysilane and tetraethoxysilane in latex” *The 31<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, 18-20 October, **2005**, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima. (poster)
- (16) Pattarapond, G.; **Tangpasuthadol, V.** “Ring-opening polymerization of *l*-lactide using branched polyglycidol and tin octoate as initiator and co-initiator” *The 31<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, 18-20 October, **2005**, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima. (poster)
- (17) Charungchitaree, K.; **Tangpasuthadol, V.**; Boonjawat, J.; Kiatkamjornwong, S. “Formation of silica in natural rubber by sol-gel process of alkyltriethoxysilane and tetraethoxysilane in latex” *The 32<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, 10-12 October, **2006**, Bangkok, Thailand. (oral)
- (18) **Tangpasuthadol, V.**; Siramanont, J.; Na-Ranong, N.; Intasiri, A.; Kiatkamjornwong, S. “Reinforcement of natural rubber by the sol-gel process of tetraethoxysilane and

- alkyltriethoxysilane in latex” *The 32<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*, 10-12 October, **2006**, Bangkok, Thailand. (oral)
- (19) Charungchitaree, K.; **Tangpasuthadol, V.**; Boonjawat, J.; Kiatkamjornwong, S. “*In situ* formation of silica in radiation-vulcanized natural rubber latex by a sol-gel process using alkoxy silanes” *The 1<sup>st</sup> Polymer Graduate Conference of Thailand*, 10-11 May, **2007**, Mahidol University, Salaya, Nakhonpathom.
- (20) Satraphan, P.; Intasiri, A.; **Tangpasuthadol, V.**; Kiatkamjornwong, S. “Preparation of methyl methacrylate grafted natural rubber films reinforced by *in situ* generated silica using sol-gel process” *The 1<sup>st</sup> Polymer Graduate Conference of Thailand*, 10-11 May, **2007**, Mahidol University, Salaya, Nakhonpathom.
- (21) Tongkong, W.; **Tangpasuthadol, V.**; Chandkrachang, S.; Lertsutthiwong, P.; Sirilertmukul, K. “Preparation of chitosan submicroparticles using ultrasonic atomization for controlled drug release” *The 1<sup>st</sup> Polymer Graduate Conference of Thailand*, 10-11 May, **2007**, Mahidol University, Salaya, Nakhonpathom.
- (22) Prapredtiprayoon, S.; **Tangpasuthadol, V.** “MALDI-TOF investigation of polyether and polylactide” *The 1<sup>st</sup> Polymer Graduate Conference of Thailand*, 10-11 May, **2007**, Mahidol University, Salaya, Nakhonpathom.
- (23) Kerdcholpetch, T.; Ekgasit, S.; Tiamyuyen, S.; Hoven, V. P.; **Tangpasuthadol, V.** “Application of positively charged chitosan in hair-care product” *The 5<sup>th</sup> Chitin-Chitosan Conference*, July 24-25, **2008**, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
- (24) Kerdcholpetch, T.; Ekgasit, S.; Hoven, V. P.; **Tangpasuthadol, V.** “Using Quaternized Chitosan as Additive for Hair-care Product” *The 5<sup>th</sup> Thailand Materials Science and Technology Conference (MSAT-5)*, September 16-19, **2008**, Micacle Grand Convention Hotel, Bangkok, Thailand.

### หนังสือ

- (1) ณาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย “คู่มือปฏิบัติการเคมีอินทรีย์” สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 2547.
- (2) ชีรยุทธ วิไลวัลย์ และ วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล เรียบเรียง พูนพัฒน์ พุกุล บรรณาธิการ “สำรวจโลก วิทยาศาสตร์- ปฏิกริยาเคมี” เพียร์สัน เอ็ดดูเคชั่น อิน โด ไชนา, กรุงเทพฯ, 2546.