

รหัสโครงการ: MRG 5080126

ชื่อโครงการ: การดัดแปลงโครงสร้างของเจลาตินเพื่อใช้ในระบบนำส่งยาที่ไม่ละลายในน้ำ

ชื่อนักวิจัย: ผศ. ดร.โสรัต กนกพานนท์

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

e-mail address: sorada.k@chula.ac.th

ระยะเวลาของโครงการ: ธันวาคม 2549 – มกราคม 2552

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของการดัดแปลงโครงสร้างของเจลาตินซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ และมีการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาอย่างแพร่หลายโดยการเชื่อมพันธะกับคอเลสเทอรอล ผ่านปฏิกิริยาทางเคมีของหมู่ไฮดรอกซิลโดยใช้ N,N'-Disuccinimidyl carbonate เป็นสารเชื่อมพันธะ (conjugating agent) การประเมินความสำเร็จของการดัดแปลงโครงสร้างของเจลาติน จากปริมาณอะมิโนอิสระที่ลดลงร้อยละ 13-40% ความไม่ชอบน้ำของวัสดุที่เพิ่มขึ้น และโครงสร้างทางเคมีของเจลาตินที่เปลี่ยนไป เมื่อเพิ่มปริมาณคอเลสเทอรอลในการดัดแปลงจาก 25 - 125 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณหมู่อะมิโนในเจลาติน เจลาตินดัดแปลงถูกนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นและเชื่อมโยงขวางด้วยกลูตารัลดีไฮด์ พบว่าการดูดซับน้ำ, อัตราการย่อยสลาย, และอัตราการปลดปล่อยเคอร์คูมินในห้องปฏิบัติการเป็นไปตามการปริมาณคอเลสเทอรอลที่ใช้ในการดัดแปลง แผ่นเจลาตินที่ดัดแปลงนี้ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 mouse fibroblasts ยาต้นแบบที่ใช้ในการทดสอบระบบนำส่ง คือเคอร์คูมิน (น้ำหนักโมเลกุล = 368) ซึ่งเป็นสารสกัดสมุนไพรที่ไม่ชอบน้ำที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยการยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ที่จะไปหล่อเลี้ยงก้อนมะเร็ง การปลดปล่อยเคอร์คูมินในร่างกายหนู BALB-c nude mice ที่วิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินในพลาสมา หลังการฝังแผ่นเคอร์คูมินใต้ผิวหนังหนูเป็นเวลา 14 วัน ด้วย High performance liquid chromatography พบลักษณะการปลดปล่อยของเคอร์คูมินแบบยั่งยืนเป็นเวลาอย่างน้อย 10 วัน โดยมีระดับเคอร์คูมินในเลือดของสัตว์ทดลองสูงสุดในวันที่ 6 หลังการปลูกถ่าย การทดสอบฤทธิ์ของยาที่ปลดปล่อยจากระบบนำส่งทำโดยการฝังแผ่นเจลาตินดัดแปลงดูดซับเคอร์คูมิน 10 มิลลิกรัมเป็นเวลา 14 วัน ในบริเวณที่มีการปลูกก้อนมะเร็ง ชนิด HepG2 (มะเร็งตับ) บนผิวหนังหนูชนิดเดียวกัน พบว่าสามารถสามารถยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ถึง ประมาณ 47% และทำให้ขนาดของมะเร็งเฉลี่ยลดลง 73.18% ใช้ปริมาณเคอร์คูมินน้อยกว่าการกินถึงกว่า 80 เท่า ผลงานวิจัยนี้เป็นรายงานแรกที่ยานางานการใช้เจลาตินดัดแปลงเพื่อการนำส่งเคอร์คูมินสำเร็จในระดับสัตว์ทดลอง และแสดงให้เห็นว่าการใช้แผ่นเจลาตินดัดแปลงที่พัฒนาขึ้นดูดซับเคอร์คูมินในการบำบัดมะเร็งตับชนิด HepG-2 ให้ผลดีกว่าการใช้กินเคอร์คูมินโดยตรง

**Project code:** MRG 5080126

**Project title:** Modification of gelatin

**Investigator:** Sorada Kanokpanont, Ph.D.,

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering

Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

**E-mail address:** sorada.k@chula.ac.th

**Project period:** December 2006- January 2009

This research studied modification of gelatin, a soluble protein widely used in pharmaceutical applications, by conjugating with 25 -125% (mole) cholesterol using N,N'-disuccinimidyl carbonate as a conjugating agent. The success of structural modification was evaluated from the 13-40% reduction of free  $-NH_2$  groups in gelatin, increasing hydrophobicities of the modified gelatin films and structural changes examined by FT-IR. Modified gelatin was fabricated into hydrogel patches and was chemical crosslinked with glutaraldehyde. Water swelling, enzymatic degradation, and rate of curcumin releases *in vitro* increased according to the amounts of cholesterol used in the modification. The modified gelatin was non-toxic to L929 mouse fibroblast cells compared to the native gelatin. Model drug used in this delivery system is curcumin (MW 368), a hydrophobic herbal extract reported to have anti-cancer effect via the inhibition of neovascularization in solid tumors. *In vivo* releases were tested using curcumin loaded modified gelatin patches subcutaneously implanted on the backs of nude mice (BALBc, male, 6-8 weeks). The results of high performance liquid chromatography analysis of plasma curcumin level revealed that the system could sustain the curcumin releases for at least 14 days, with the maximum peak at day 6 after implantation. Effectiveness of curcumin released of the modified gelatin patches was tested in nude mice bearing HepG-2 solid tumors. The system inhibited approximately 47% neovascularization and reduced the tumor sizes by 73.18%. This work was the first reports showing development of curcumin controlled release system with the safety and efficacy tests in animals. The results indicated that this sustained release system enhances curcumin effectiveness and uses 80X lower dose compared to the treatment by mouth feedings.