

52354805 : MAJOR : PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY

KEY WORDS : MICROPARTICLES / ORAL VACCINE DELIVERY / OVALBUMIN /
ADJUVANTS

TITTAYA SUKSAMRAN : DEVELOPMENT OF MICROPARTICLES FOR ORAL
VACCINE DELIVERY. THESIS ADVISORS : ASSOC. PROF. PRANEET OPANASOPIT, Ph.D.,
ASSOC. PROF. THEERASAK ROJANARATA, Ph.D., AND ASSOC. PROF. TANASAIT
NGAWHIRUNPAT, Ph.D. 162 pp.

The purpose of this study was to prepare the microparticles entrapping ovalbumin (OVA) as the model antigen in order to induce immune responses in mice following oral vaccination. In this study, calcium-alginate (Ca-alginate) and calcium-yam-alginate (Ca-Yam-alginate) microparticles were prepared by cross-linking alginate with calcium chloride solution (CaCl_2) using an electrohydrodynamic spraying technique. The effects of alginate and calcium chloride concentration and electrical potential on particle size and shape, OVA entrapment efficiency and content were investigated. The results showed that 1 %w/v alginate low viscosity (ALV), 4 %w/v CaCl_2 , electrical potential 20 kV was the appropriate condition for OVA incorporation. Four chitosan derivatives namely trimethylated chitosan (TM), methylated *N*-(4-*N,N*-dimethylaminobenzyl) chitosan (Bz), methylated *N*-(4-*N,N*-dimethylaminocinnamyl) chitosan (CM) and methylated *N*-(4-pyridinylmethyl) chitosan (Py) were investigated for their cytotoxicity and immunological activity. CM showed higher IgG and IgA titres than TM (16 times), Bz (10 times) and Py (7 times) by oral administration. Therefore, CM was selected for coating on Ca-alginate and Ca-Yam-alginate microparticles entrapping initial OVA of 10, 20 and 40% w/w to polymer. The optimized concentration of CM for complete coating on microparticles was 0.1 %w/v. The coated microparticles (CM-Ca-alginate and CM-Ca-Yam-alginate microparticles) was spherical and had smooth surface with the average size of 1-3 μm and positively charges. In addition, they had higher degree of swelling and mucoadhesive properties than uncoated microparticles. The result of OVA content and entrapment efficiency revealed that at initial, 40% OVA yielded the highest entrapment efficiency and OVA content. The entrapment efficiency and OVA content of coated microparticles were lower than uncoated microparticles. The *in vitro* release of microparticles showed that coated microparticles resulted in sustained release more than uncoated microparticles. Cytotoxicity results showed that all formulations were safe. The *in vivo* oral administration demonstrated that at the same amount of 250 μg OVA, CM coated microparticles exhibited the highest *in vivo* adjuvant activity in both IgG and IgA immunogenicity.

52354805 : สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม

คำสำคัญ : ไมโครพาร์ทิเคิล/ระบบนำส่งวัคซีนทางการรับประทาน/โอวัลบูมิน/แอคจูแวนท์

ทฤษฎา สุขสำราญ : การพัฒนาระบบไมโครพาร์ทิเคิลสำหรับการนำส่งวัคซีนทางการรับประทาน.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ญ.รศ.ดร. ปราณีต โอปะณะโสภิต, ภก.รศ.ดร. ชีรศักดิ์ โรจนราธา และ
ภก.รศ.ดร. ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์. 162 หน้า.

วัตถุประสงค์งานวิจัยนี้เพื่อเตรียมอนุภาคไมโครพาร์ทิเคิลที่กักเก็บแอนติเจนต้นแบบโอวัลบูมิน เพื่อหวังผลในการเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในหนูทดลองทางการรับประทาน ในการศึกษาครั้งนี้แคลเซียมอัลจินเตและแคลเซียมแอมอัลจินเตไมโครพาร์ทิเคิลเตรียมขึ้นจากกระบวนการเชื่อมพันธะระหว่างอัลจินเตและแคลเซียมคลอไรด์โดยใช้เทคนิคกระบวนการพันทางไฟฟ้าสถิตย์ จากนั้นทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของอัลจินเตและแคลเซียมคลอไรด์ และกระแสไฟฟ้าที่ให้ต่อลักษณะและขนาดของอนุภาคที่เกิดขึ้น อีกทั้งยังศึกษาเปอร์เซ็นต์ในการกักเก็บและปริมาณการกักเก็บโอวัลบูมินภายในอนุภาค พบว่าอัลจินเตความหนืดต่ำและแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1 และ 4 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร กระแสไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับนำมากักเก็บโอวัลบูมิน ต่อมานำอนุพันธ์โคโคซานทั้งสี่ชนิดได้แก่ trimethylated chitosan (TM), methylated *N*-(4-*N,N*-dimethylaminobenzyl) chitosan (Bz), methylated *N*-(4-*N,N*-dimethylaminocinnamyl) chitosan (CM) and methylated *N*-(4-pyridinylmethyl) chitosan (Py) มาศึกษาความเป็นพิษและฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในหนูทดลองทางการรับประทาน พบว่า CM ให้ผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกระดกเลือดและระบบเยื่อเมือกสูงกว่า TM (16 เท่า) Bz (10 เท่า) และ Py (7 เท่า) ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือก CM มาเคลือบบนแคลเซียมอัลจินเตและแคลเซียมแอมอัลจินเตไมโครพาร์ทิเคิลที่กักเก็บโอวัลบูมินไว้ ปริมาณ 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักพอลิเมอร์ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ CM ที่สามารถเคลือบบนพื้นผิวของไมโครพาร์ทิเคิลได้อย่างสมบูรณ์ได้แก่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร ลักษณะทางกายภาพของไมโครพาร์ทิเคิลที่เคลือบด้วย CM มีรูปร่างกลม พื้นผิวเรียบโดยมีขนาดอยู่ในช่วง 1-3 ไมโครเมตร และมีประจุบนพื้นผิวเป็นบวก ด้านคุณสมบัติการพองตัวและการเกาะติดเยื่อเมือกของไมโครพาร์ทิเคิล พบว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่เคลือบด้วย CM จะมีคุณสมบัติในการพองตัวและการเกาะติดเยื่อเมือกสูงกว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่ไม่ได้เคลือบ ผลการกักเก็บโอวัลบูมินภายในไมโครพาร์ทิเคิลพบว่าที่โอวัลบูมินปริมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักพอลิเมอร์ให้เปอร์เซ็นต์และปริมาณการกักเก็บโอวัลบูมินสูงที่สุด และพบว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่เคลือบด้วย CM จะให้เปอร์เซ็นต์ในการกักเก็บและปริมาณในการกักเก็บที่ต่ำกว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่ไม่ได้เคลือบ การทดสอบการปลดปล่อยโอวัลบูมินออกจากไมโครพาร์ทิเคิลภายนอกร่างกายพบว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่เคลือบด้วย CM จะให้ผลการปลดปล่อยที่ช้ากว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่ไม่ได้เคลือบ ผลการทดสอบความเป็นพิษพบว่าอนุภาคไมโครพาร์ทิเคิลทุกรูปแบบมีความปลอดภัยในการนำมาใช้ โดยผลการทดสอบการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในหนูทดลองเมื่อนำส่งไมโครพาร์ทิเคิลทางการรับประทานพบว่า ที่ปริมาณโอวัลบูมิน 250 ไมโครกรัม ไมโครพาร์ทิเคิลที่เคลือบด้วย CM สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งอิมมูโนโกลบูลินชนิดG และอิมมูโนโกลบูลินชนิดAในหนูทดลองสูงที่สุด

ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. 2. 3.