

49353805 : สาขาวิชาเทคโนโลยีเกษตรกรรม

คำสำคัญ : สารช่วยเพิ่มการซึมผ่าน/คาโกล-2 เซลล์/อนุพันธ์ไคโตซาน/การซึมผ่าน

จริยา โกวะประดิษฐ์ : การเพิ่มการซึมผ่านทางช่องว่างระหว่างเซลล์ด้วยอนุพันธ์ไคโตซานที่ถูกดัดแปลงในเซลล์คาโกล-2. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ญญ.รศ.ดร.ปราณีต โอปณะโสภิต, ภก.รศ.ดร.ชนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์ และ ญญ.รศ.ดร. อวยพร อภิรักษ์อร่ามวง. 168 หน้า.

ไคโตซานได้รับความสนใจอย่างมากในการศึกษาเพื่อใช้เป็นสารช่วยเพิ่มการซึมผ่านสำหรับการนำส่งยาทางเยื่อเมือก อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของไคโตซานคือละลายน้ำได้ยากในช่วงความเป็นกรดต่างในร่างกาย (พีเอช 7.4) ดังนั้นในการศึกษานี้อนุพันธ์ไคโตซานที่ละลายน้ำได้ดี ได้แก่ methylated *N*-(4-*N,N*-dimethylaminobenzyl) chitosan (TM-Bz-CS), methylated *N*-(4-*N,N*-dimethylaminocinnamyl) chitosan (TM-CM-CS), methylated *N*-(4-pyridylmethyl) chitosan (TM-Py-CS), *N*-(2-hydroxypropyl) trimethylammonium chitosan (CSQ), *N*-benzyl CSQ (BzCSQ) and *N*-n-octyl CSQ (OctCSQ) จึงถูกสังเคราะห์เพื่อประเมินคุณสมบัติการเป็นสารช่วยเพิ่มการซึมผ่านและความเป็นพิษต่อเซลล์ในเซลล์เพาะเลี้ยงคาโกล-2 ตลอดจนการประยุกต์ใช้เพื่อนำส่งยาโปรตีนทางการรับประทาน ผลการทดลองพบว่าที่พีเอช 7.4 อนุพันธ์ไคโตซานทุกชนิด ยกเว้น TM-Py-CS สามารถเพิ่มการซึมผ่านของสารผ่านเซลล์เพาะเลี้ยงคาโกล-2 ได้ โดยประสิทธิภาพการซึมผ่านขึ้นกับปริมาณ และที่ความเข้มข้นต่ำ (0.05-1.25 mM) ให้ผลเป็นแบบย้อนกลับได้ ผลการเพิ่มการซึมผ่านของฟลูออเรสเซิน ไอโซไซโทไซยานเตเด็กซ์แทรนน้ำหนักโมเลกุล 4400 ดาลตัน (FD-4) ซึ่งเป็นตัวแทนของสารโมเลกุลใหญ่ที่ชอบน้ำ พบว่าเพิ่มขึ้นเมื่อดีกรีของการควอเตอร์ไนเซชัน (DQ) และปริมาณการแทนที่ด้วยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ (ES) เพิ่มขึ้น โดยความสามารถของการช่วยเพิ่มการซึมผ่านแตกต่างกันเมื่อแทนที่หมู่ไม่ชอบน้ำที่แตกต่างกัน เรียงลำดับการช่วยเพิ่มการซึมผ่านจากมากไปน้อยของกลุ่มไตรเมทิลไคโตซาน (TM-CSs) ได้ดังนี้ TM-CM-CS > TM-Bz-CS > TM-CS > TM-Py-CS และกลุ่มไคโตซานควอด (CSQs) ได้ดังนี้ CSQ > OctCSQ > BzCSQ ตามลำดับ ความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ไคโตซานขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ปริมาณ DQ และ ES การแทนที่หมู่ไม่ชอบน้ำที่มีลักษณะอะโรมาติกจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่าการแทนที่ด้วยหมู่ไม่ชอบน้ำที่มีลักษณะเป็นสายยาวของคาร์บอน การประยุกต์ใช้อนุพันธ์ไคโตซานโดยนำมาเคลือบบนผิวของลิโปโซมประจุลบที่บรรจุโบวินซีรัมอัลบูมิน (FITC-BSA) ซึ่งเป็นตัวแทนโปรตีน พบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของลิโปโซมที่บรรจุโปรตีนอยู่ในช่วง 95.7 ถึง 107.6 นาโนเมตร ปริมาณเริ่มต้นของ FITC-BSA 2.5 % ค่อน้ำหนักของไขมันให้ประสิทธิภาพการบรรจุได้สูงที่สุดคือร้อยละ 50.13 และปริมาณความจุของ FITC-BSA ต่อหนึ่งหน่วยน้ำหนัก ได้ 8.08 มิลลิกรัมต่อกรัมของไขมัน ผลการนำส่ง FITC-BSA พบว่าเมื่อเคลือบผิวลิโปโซมด้วยอนุพันธ์ไคโตซานอย่างสมบูรณ์สามารถเพิ่มการซึมผ่านของโปรตีนในเซลล์คาโกล-2 ได้นอกจากนี้ลิโปโซมที่เคลือบด้วยอนุพันธ์ไคโตซานสามารถปกป้องการทำลายโปรตีนจากแพนครีเอติน จากการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าอนุพันธ์ไคโตซานที่ถูกดัดแปลงใหม่นี้มีศักยภาพในการใช้เป็นสารช่วยเพิ่มการซึมผ่านของสารโมเลกุลใหญ่ที่มีฤทธิ์ในการรักษาทางรับประทานได้

ภาควิชาเทคโนโลยีเกษตรกรรม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. 2. 3.

49353805 : MAJOR : PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY

KEY WORDS : ABSORPTION ENHANCER / CACO-2 CELLS / CHITOSAN DERIVATIVES / PERMEABILITY

JARIYA KOWAPRADIT : ENHANCEMENT OF PARACELLULAR PERMEABILITY ACROSS CACO-2 CELLS BY MODIFIED CHITOSAN DERIVATIVES. THESIS ADVISORS : ASSOC. PROF. PRANEET OPANASOPIT, Ph.D., ASSOC. PROF. TANASAIT NGAWHIRUNPAT, Ph.D., AND ASSOC. PROF. AUAYPORN APIRAKARAMWONG, Ph.D. 168 pp.

Chitosan (CS) has attracted a great deal of attention and has been studied as a potential absorption enhancer across mucosal epithelia for transmucosal drug delivery. However, the main drawback of CS is its water-insoluble property at physiological pH (pH 7.4). Therefore, in this study, water-soluble CS derivatives including methylated *N*-(4-*N,N*-dimethylaminobenzyl) chitosan (TM-Bz-CS), methylated *N*-(4-*N,N*-dimethylaminocinnamyl) chitosan (TM-CM-CS), methylated *N*-(4-pyridylmethyl) chitosan (TM-Py-CS), *N*-(2-hydroxypropyl) trimethylammonium chitosan (CSQ), *N*-benzyl CSQ (BzCSQ) and *N*-*n*-octyl CSQ (OctCSQ) have been synthesized and evaluated for their *in vitro* absorption enhancing properties and their toxicity on Caco-2 cells monolayers. Moreover, the application of these CS derivatives for oral protein drug delivery was also investigated. The results revealed that, at pH 7.4, all CS derivatives, excepted TM-Py-CS, appeared to increase cell permeability in a concentration-dependent manner, and this effect was relatively reversible at lower doses of concentration (0.05-1.25 mM). The higher the DQ and the ES, the higher the permeability of fluorescein isothiocyanate dextran MW 4,400 (FD-4), as a model compound for hydrophilic macromolecules. Methylated chitosan containing different hydrophobic moiety showed the different absorption enhancing ability. The rank of enhancing paracellular permeability of TM-CSs was TM-CM-CS > TM-Bz-CS > TM-CS > TM-Py-CS and CSQs was CSQ > OctCSQ > BzCSQ, respectively. Cytotoxicity of CS derivatives was concentration, %DQ and %ES dependent. The results suggested that increasing the %ES with aromatic group led to slightly decrease in cytotoxicity whereas increasing the %ES with aliphatic group led to increase in cytotoxicity. Application of representative modified CS by coating on negatively charge of liposomes entrapped bovine serum albumin (FITC-BSA), a model protein, resulted in the mean particle size in range 95.7 to 107.6 nm. Initial FITC-BSA 2.5 % w/w to lipid showed the highest percentage entrapment efficiency (50.13 %) and FITC-BSA content (8.08 mg/g of lipid). The results of FITC-BSA transport showed that completely coating of CS derivatives on liposomal FITC-BSA enhanced protein permeability across Caco-2 cell monolayers. In addition, CS derivatives coated liposomes could protect the degradation of protein from pancreatin. These studies demonstrated that these novel modified CS have the potential to be used as an oral absorption enhancer of therapeutic macromolecules.

Program of Pharmaceutical Technology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2010

Student's signature

Thesis Advisors' signature 1. 2. 3.