



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การออกแบบและสังเคราะห์อนุพันธ์ซีนชนิดใหม่
เพื่อใช้เตรียมเป็นอนุภาคไมโครแคปซูล
Design and synthesis of novel zein derivative
for preparation of microcapsule

โดย

นสภ.ภูมินท์	โอษฐาภรณ์ชัย	60210066
นสภ.กฤติธี	วิจักขณาพงษ์	60210152
นสภ.พรพนิต	เจียมทอง	60210250

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2564

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การออกแบบและสังเคราะห์อนุพันธ์ซีนชนิดใหม่
เพื่อใช้เตรียมเป็นอนุภาคไมโครแคปซูล
Design and synthesis of novel zein derivative
for preparation of microcapsule

โดย

นสภ.ภูมินทร์	โอษฐ์ธารณ์ชัย	60210066
นสภ.กฤติธี	วิจักขณาพงษ์	60210152
นสภ.พรพนิต	เจียมทอง	60210250

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2564

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

ในปัจจุบันระบบนำส่ง Microencapsulation สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์อย่างหลากหลาย เช่น ระบบนำส่งยาหรือสารชีวโมเลกุล วิตามิน ยารักษาโรค สารต้านอนุมูล โดยพอลิเมอร์ที่นำมาสังเคราะห์เป็น zein เป็นโปรตีนจากธรรมชาติ สกัดได้จากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าวโพด มีการใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อเตรียมระบบอนุภาคสำหรับการจัดส่งยาและอาหาร ไม่เป็นพิษต่อร่างกายและสามารถย่อยสลายได้ในร่างกายมนุษย์

คณะผู้วิจัยเห็นว่า zein polymer มีสมบัติดังกล่าว แต่เมื่อนำมาผ่านกระบวนการสังเคราะห์ Microencapsulation พบว่ายังมีข้อด้อยในเรื่องของการละลายของพอลิเมอร์ จึงนำมาผสมกับพอลิเมอร์ Poloxamer 188 กับ Poloxamer 407 เพื่อละลายพอลิเมอร์ได้มากขึ้นแล้วนำไปเพิ่มความจำเพาะกับเซลล์มะเร็งมากขึ้นโดยคอนจูเกตกับ folic acid เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยา เคออสตินไปยังเซลล์มะเร็ง คณะผู้วิจัยจึงสนใจพัฒนาการออกแบบและสังเคราะห์อนุพันธ์ชนิดใหม่เพื่อใช้เตรียมเป็นอนุภาคไมโครแคปซูล

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมอนุภาคไมโครแคปซูลโดยใช้พอลิเมอร์ขึ้น และการเปรียบเทียบเปรียบเทียบการเตรียมระบบนำส่ง microencapsulation ของพอลิเมอร์ขึ้นที่คอนจูเกตกับ folic acid เทียบกับพอลิเมอร์ zein เดียว

คณะผู้วิจัย

นสภ.ภูมินท์	โอษฐาภรณ์ชัย	รหัสบัณฑิต 60210066
นสภ.กฤติธี	วิจักขณาพงษ์	รหัสบัณฑิต 60210152
นสภ.พรพนิต	เจียมทอง	รหัสบัณฑิต 60210250

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2564

เรื่อง การออกแบบและสังเคราะห์อนุพันธ์ชนิดใหม่เพื่อใช้เตรียมเป็นอนุภาคไมโครแคปซูล

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | |
|-----------------------------|--------------------|
| 1. นสภ.ภูมินท์ โอษฐาภรณ์ชัย | รหัสสถิติ 60210066 |
| 2. นสภ.กฤติธี วิจักขณาพงษ์ | รหัสสถิติ 60210152 |
| 3. นสภ.พรพนิต เจียมทอง | รหัสสถิติ 60210250 |

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | |
|--------------------------------|----------------------|
| 1. ภก.ผศ.ดร.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง | อาจารย์ที่ปรึกษา |
| 2. ภญ.ดร.พุทธิพร คงแก้ว | อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม |

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพัฒนาการเตรียมระบบไมโครแคปซูลจากพอลิเมอร์ซีน มีการดัดแปลงโครงสร้างของพอลิเมอร์ซีนโดยนำไปคอนจูเกตกับ folic acid เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยา quercetin ไปยังเซลล์มะเร็ง เพื่อเพิ่มการนำส่งยาเข้าสู่เซลล์มะเร็งได้มากขึ้นและลดปัญหาความไม่คงตัวของยา ทำการเตรียมอนุภาคไมโครแคปซูลโดยใช้เทคนิค solvent evaporation โดยเตรียมจากพอลิเมอร์ซีน กับ Poloxamer 188 และ Poloxamer 407 โดยอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมได้แต่ละสูตรจะนำมาเปรียบเทียบขนาด การกระจายตัวของอนุภาค ศักย์ซีตาและความสามารถในการกักเก็บยา ทำการประเมินลักษณะของอนุภาค วัดค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลาง วัดศักย์ซีตา และวัดการกระจายตัวของอนุภาคโดยใช้เครื่อง Nanosizer-zeta sizer ตรวจสอบสัณฐานวิทยาและรูปร่างของอนุภาคไมโครแคปซูลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด field emission scanning electron microscope (SEM) วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของไมโครแคปซูลด้วย Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) ศึกษาปริมาณและความสามารถในการกักเก็บตัวยา เควอซิตินในอนุภาคไมโครแคปซูลคอนจูเกตกับ folic acid ด้วยวิธี UV/Vis spectrophotometry พบว่าตำรับที่เหมาะสมที่สุดคือ Zein : Poloxamer 188 : Poloxamer 407 อัตราส่วน 4 : 1 : 1 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 519.775 ± 204.7947 nm ศักย์ซีตาเท่ากับ 8.088 ± 5.6625 การกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.317 ± 0.09756 เมื่อนำมาทดสอบความสามารถการกักเก็บตัวยา พบว่าสูตร Zein : Poloxamer 188 : Poloxamer 407 ที่อัตราส่วน 4 : 1 : 1 ที่มียา Quercetin มีแนวโน้มสามารถเพิ่มการนำส่งยาเข้าสู่เซลล์มะเร็งได้เพื่อนำไปใช้เป็นระบบนำส่งยาต่อไปในอนาคต

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

Senior Project Academic Year 2021

: Design and synthesis of novel zein derivative for preparation of microcapsule

By

- | | |
|----------------------------------|-------------|
| 1. Mr. Phoomin Othapornchai | ID 60210066 |
| 2. Mr. Krittithee Wichaksanapong | ID 60210152 |
| 3. Ms. Ponpanit Jeamtong | ID 60210250 |

Advisor

1. Assist. Prof. Dr. Watcharaphong Chaemsawang
 2. Assist. Prof. Dr. Putthiporn Khongkaew
-

Abstract

The objective of this research was to investigate the design and synthesis of novel zein derivatives for the preparation of microcapsules. The structure of Zein polymer was modified by conjugating with folic acid to increase specificity toward cancer cells, Increase the efficiency of quercetin drug delivery to cancer cells and increase the stability of the drug. The microcapsule was prepared by solvent evaporation method from Zein polymer with Poloxamer 188: Poloxamer 407. Each formulation is prepared to compare the physical properties, particle size, zeta, particle size distribution, and entrapment efficiency. Measured of size, zeta, particle size distribution was observed by Nanosizer zetasizer. Morphology of microcapsule was observed by scanning electron microscopy. The crystallinity of microcapsule was observed by Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). The microcapsule content and releasing were investigated by UV/Vis spectrophotometry. The results showed optimum formulation are Zein: Poloxamer 188: Poloxamer 407 ratio of 4: 1: 1 (Particle size was about 519.775 ± 204.7947 nm, zeta potential 8.088 ± 5.6625 and particle size distribution 0.317 ± 0.09756). The results demonstrated that the Zein: Poloxamer 188: Poloxamer 407 (4:1:1) loaded with quercetin incline was delivered to cancer cells and could be used as a drug delivery system in the future.

Advisor.....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความกรุณาอย่างสูงจากอาจารย์ที่ปรึกษา ภก.ผศ.ดร.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง และผอ.ดร.พุทธิพร คงแก้ว ที่กรุณาให้คำแนะนำการปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่ให้ข้อเสนอแนะ ติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินการวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและความตั้งใจทุ่มเทเป็นอย่างยิ่ง ขอขอบคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพาที่สนับสนุนเงินทุนในการศึกษาครั้งนี้และขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ field emission scanning electron microscope (SEM)

คณะผู้วิจัย

นสภ.ภูมินท์	โอษฐาภรณ์ชัย	รหัสบัณฑิต 60210066
นสภ.กฤติธี	วิจักษณาพงษ์	รหัสบัณฑิต 60210152
นสภ.พรพนิต	เจียมทอง	รหัสบัณฑิต 60210250

สารบัญ

หัวข้อ	หน้า
คำนำ	ค
บทคัดย่อ	ง
ABSTRACT	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
- ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
- วัตถุประสงค์	3
- สมมติฐานงานวิจัย	3
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
- กรอบแนวคิด	3
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
- ข้อมูลทั่วไปของ Quercetin	4
- ข้อมูลทั่วไปของพอลิเมอร์ซิน	5
- ระบบนำส่งไมโครเอนแคปซูเลชัน	6
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	7
- อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา	7
- วิธีดำเนินการศึกษา	8
บทที่ 4 ผลการวิจัย	11
- การสังเคราะห์ zein conjugated	11
- พิสูจน์โครงสร้างของ zein conjugated	14
- ประเมินลักษณะของอนุภาค	17
- ศึกษาการบรรจุยาในระบบนำส่ง zein microcapsule	25
บทที่ 5 สรุป และวิจารณ์ผลการวิจัย	27
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	32

สารบัญตาราง

หัวข้อ	หน้า
ตารางที่ 1 การออกแบบการทดลองในอัตราส่วนพอลิเมอร์	10
ตารางที่ 2 การศึกษาผลของ zein-folic acid มีผลต่อระบบนำส่ง microencapsulation	10
ตารางที่ 3 แสดงถึงค่า abs zein-folic acid เทียบกับ standard curve	16
ตารางที่ 4 แสดงขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential ของ microencapsulation	19
ตารางที่ 5 แสดงขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential ของ microencapsulation ของอัตราส่วน zein-folic acid ต่อ zein	22
ตารางที่ 6 แสดงถึงค่า abs zein-quercetin เทียบกับ standard curve	25

สารบัญรูปภาพ

หัวข้อ	หน้า
รูปที่ 1 ปฏิบัติการสังเคราะห์ zein-folic acid	11
รูปที่ 2 zein-folic acid ที่สังเคราะห์ได้	12
รูปที่ 3 แสดงลักษณะ TLC ของ zein, folic acid และ zein-folic acid	13
รูปที่ 4 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR Spectroscopy ของ zein	14
รูปที่ 5 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR Spectroscopy ของ folic acid	14
รูปที่ 6 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR Spectroscopy ของ zein-folic acid	15
รูปที่ 7 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR Spectroscopy ของ zein-folic acid, zein และ folic acid	15
รูปที่ 8 แสดง standard curve ของ folic acid	16
รูปที่ 9 ภาพถ่าย SEM แสดงลักษณะของ zein กำลังขยาย 100 เท่า	17
รูปที่ 10 ภาพถ่าย SEM แสดงลักษณะของ folic acid กำลังขยาย 2000 เท่า	18
รูปที่ 11 ภาพถ่าย SEM แสดงลักษณะของ zein-folic acid กำลังขยาย 25 เท่า	18
รูปที่ 12 แสดง zeta potential ของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ poloxamer 188 : poloxamer 407 ในอัตราส่วนต่าง ๆ	20
รูปที่ 13 แสดงการกระจายขนาดของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ poloxamer 188 : poloxamer 407 ในอัตราส่วนต่าง ๆ	20
รูปที่ 14 แสดงขนาดของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ poloxamer 188 : poloxamer 407 ในอัตราส่วนต่าง ๆ	21
รูปที่ 15 แสดง Zeta potential ของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ zein-folic acid ขนาดต่าง ๆ	23
รูปที่ 16 แสดงการกระจายขนาดของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ zein-folic acid ขนาดต่าง ๆ	23
รูปที่ 17 แสดงขนาดของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ zein-folic acid ขนาดต่าง ๆ	24
รูปที่ 18 แสดง standard curve ของ quercetin	25

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคมะเร็งถือเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประชากรทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย จากสถิติขององค์การอนามัยโลกในปี พ.ศ.2561 คาดการณ์ว่ามีจำนวนผู้ป่วยทั่วโลกที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งประมาณ 18 ล้านคน และเสียชีวิตจากโรคมะเร็งประมาณ 9.6 ล้านคน หรือกล่าวได้ว่า 1 ใน 6 รายของการเสียชีวิตเกิดจากโรคมะเร็ง โดยส่วนมากยังไม่มีวิธีการป้องกัน การวินิจฉัย การรักษาโรค และการดูแลระยะสุดท้ายที่มีประสิทธิภาพจึงเป็นปัญหาที่สำคัญต่อผู้ป่วยและประเทศ โรคมะเร็งมักจะถูกพบในระยะที่ 3 และ 4 มากกว่าร้อยละ 50 ทำให้โอกาสที่จะเสียชีวิตจากโรคมะเร็งสูงมาก การควบคุมและลดอัตราการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งจึงเป็นปัญหาที่มีความท้าทายอย่างสูง จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการวางแผนบูรณาการ และต้องการความร่วมมือทุกภาคส่วนทั้งภาควิชาการ รัฐบาล และประชาชน เพื่อที่จะนำไปสู่ความสำเร็จ สถานการณ์ของโรคมะเร็งในภาพรวมของประเทศไทย จากสถิติพบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับ 1 คิดเป็นร้อยละ 16 ของเหตุการณ์เสียชีวิตทั้งหมด หรือมีผู้เสียชีวิตจากโรคมะเร็งเฉลี่ย 8 รายต่อชั่วโมงในปี พ.ศ. 2561 พบว่ามีจำนวนผู้ป่วยรายใหม่โดยประมาณอยู่ที่ 170,495 ราย และเสียชีวิตจากโรคมะเร็งประมาณ 114,199 ราย สำหรับ 5 อันดับแรกของมะเร็งที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ มะเร็งปอด มะเร็งตับและท่อน้ำดี มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งถุงน้ำดี โดยโรคมะเร็งที่ทำให้เสียชีวิตมากที่สุด 5 อันดับแรกได้แก่ มะเร็งตับและท่อน้ำดี มะเร็งปอด มะเร็งถุงน้ำดี มะเร็งเต้านม และมะเร็งลำไส้ใหญ่ตามลำดับ¹ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องค้นหาเป้าหมายการรักษาใหม่ๆ รวมทั้งโมเลกุลใหม่ที่มีศักยภาพในการรักษามะเร็ง ไม่ว่าจะเป็นพืชสมุนไพร หรือสารสำคัญ ที่ได้จากการสังเคราะห์ ซึ่งหนึ่งในที่ได้รับความสนใจคือ เควอซิติน (Quercetin) เป็นสารฟลาโวนอยด์หรือ ไฟโตนิวเทรียนท์ (Phytochemical หรือ Phytonutrients) ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช สารกลุ่มนี้เป็นสารที่ทำให้พืชผักชนิดนั้นๆ มีสีกลิ่นหรือรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวที่พบมากที่สุดในผัก และผลไม้หลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านหรือป้องกันโรคได้หลายประเภท เควอซิตินเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีมากในหัวหอมแดง และพืชตระกูลถั่ว

พบว่าเควอซิตินมีรายงานการยับยั้งเซลล์มะเร็ง เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ใหญ่^{2, 3} ด้วยกลไกชักนำการตายแบบอะพอพโทซิสโดยผ่านทางวิถีไมโทคอนเดรีย

หยุดวงจรจักรของเซลล์ที่ระยะ G2/M และ S ยับยั้งการทำงานของ NFkB ในเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการดื้อยาแบบหลายขนาน ยับยั้งการอักเสบโดยการยับยั้งการทำงานของ NFkB ในเซลล์แมคโครเฟจที่ถูกกระตุ้น⁴ จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นแนวโน้มที่จะนำเคอซีตินมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้ในการรักษาหรือป้องกันมะเร็งที่ดี

แต่อย่างไรก็ตามจากคุณสมบัติของเคอซีตินที่มีค่าการละลายน้ำที่ต่ำ ทำให้เกิดปัญหาเมื่อนำมาใช้จริง โดยพบว่ายาที่มีค่าการละลายต่ำจะทำให้การนำส่งยาเคอซีตินไปสู่เซลล์มะเร็งหรือประยุกต์ใช้เป็นสูตรตำรับสามารถทำได้ยาก เนื่องจากค่าการละลายส่งผลต่อการดูดซึมและการพาสารเข้าไปยังอวัยวะเป้าหมายเซลล์มะเร็ง ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงปัญหานี้และพัฒนา ปรับปรุงให้ตัวยาเคอซีตินสามารถเข้าสู่เซลล์มะเร็งได้ดีขึ้น โดยการพัฒนาให้อยู่ในระบบไมโครแคปซูล ซึ่งมีรายงานว่าระบบนำส่งไมโครแคปซูลมีข้อดีช่วยในการคงตัวของสารตลอดการใช้งาน การห่อหุ้มสารที่มีความไวต่อสิ่งแวดล้อม เช่น สารที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่าย ไวต่อแสง อุณหภูมิและความเป็นกรดต่าง เป็นต้น จะทำให้สารดังกล่าวมีความคงตัวดีขึ้นและเก็บรักษาได้ยาวนาน กระบวนการดังกล่าวยังช่วยป้องกันสารที่ระเหยง่ายนอก การนำสารที่เป็นของเหลวมาอยู่ในไมโครแคปซูลอาจช่วยลดการทำปฏิกิริยาของสารผสม สะดวกต่อการนำไปใช้งาน รวมทั้งสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารไปสู่บริเวณที่ต้องการในเวลาที่เหมาะสมได้ จึงมีประโยชน์ช่วยลดความเสี่ยงในการใช้สาร ทำหน้าที่เป็นระบบจัดส่งหรืออำนวยความสะดวกในการจัดส่ง⁵ ถึงแม้ว่าไมโครแคปซูลจะมีคุณสมบัติที่ดีในการนำส่งสารต่าง ๆ เข้าสู่ร่างกายแต่ปัญหาที่ยังมีอยู่คือความจำเพาะเจาะจง โดยเฉพาะการนำส่งยาไปสู่เซลล์มะเร็งที่ไม่ต้องการให้ยาเคมีบำบัดต่าง ๆ เข้าสู่เซลล์ปกติจนเกิดผลข้างเคียง

นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้มองถึงการพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบ drug targeting โดยใช้พอลิเมอร์ซิน (Zein) ในการสร้างไมโครแคปซูล ซึ่งซินเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ได้จากข้าวโพด มีการใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร ชีวการแพทย์ และเภสัชกรรม โดยมีข้อดี คือ 1) เป็นสารชีวภาพที่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัย (GRAS biomaterial) จากคุณสมบัติ ดังนี้ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และความเป็นพิษต่ำ 2) คุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ ส่งผลให้การทำ microparticle หรือ nanoparticle สามารถทำได้ง่าย สำหรับยาที่ไม่ละลายน้ำ 3) การย่อยของซินที่ค่อนข้างช้ากว่าโปรตีนชนิดอื่น ทำให้ระบบการนำส่งซินเป็นที่ต้องการมากขึ้นสำหรับการให้ยาทางรับประทาน 4) การนำซินไปคอนจูเกตกับสารอื่น ๆ นั้นทำได้ง่าย⁶ แต่ยังไม่มีความจำเพาะกับเซลล์มะเร็งจึงนำมาพัฒนาให้มีความจำเพาะโดยมีการต่อ ligand เข้าไปในโครงสร้างของ zein เช่น จากงานวิจัยที่นำ folic acid มาใช้เพิ่มความจำเพาะด้วยการใช้วิธีคอนจูเกตกับลิโฟโซมดังงานวิจัย A novel 5-Fluorouracil targeted delivery to colon cancer using folic acid conjugated

liposomes กับ Delivery of zoledronic acid encapsulated in folate-targeted liposome results in potent in vitro cytotoxic activity on tumor cells ซึ่งทั้งสองผลงานวิจัยใช้ folic acid ทำระบบนำส่ง targeting ไปยังเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ โดยผลลัพธ์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งนั้นได้⁷

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาพัฒนาการเตรียมระบบไมโครแคปซูลที่เตรียมขึ้นจากพอลิเมอร์ซิน โดยมีการดัดแปลงโครงสร้างของพอลิเมอร์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยาเคออสตินไปยังเซลล์มะเร็ง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการเตรียมอนุภาคไมโครแคปซูลโดยใช้พอลิเมอร์ซิน
2. เพื่อศึกษาการเปรียบเทียบการเตรียมระบบนำส่ง microencapsulation ของพอลิเมอร์ซินที่คอนจูเกตกับ folic acid เทียบกับพอลิเมอร์ zein เดียว

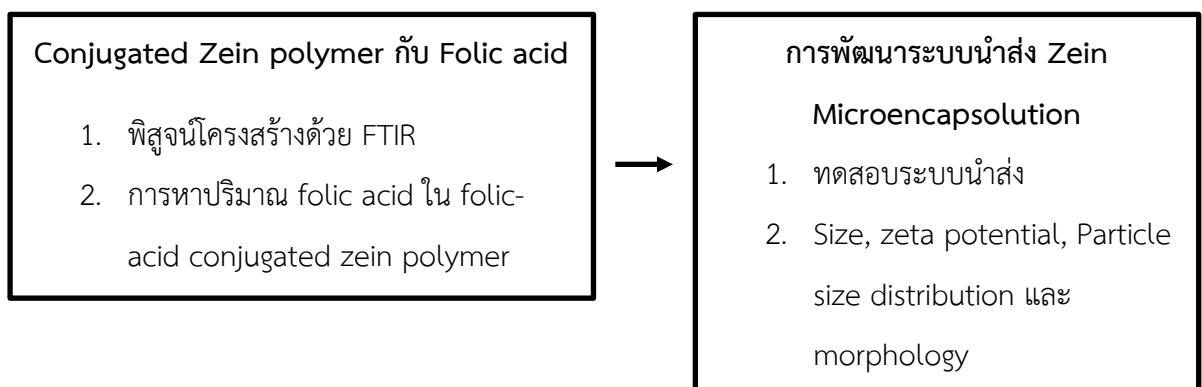
สมมติฐานงานวิจัย

1. สามารถเตรียมอนุภาคไมโครแคปซูลจากพอลิเมอร์ zein ที่มีการดัดแปลงโครงสร้างได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ผลิตภัณฑ์ระบบนำส่งจาก zein polymer microencapsulation ที่เป็น targeted cancer therapy
2. นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการผลิตไปใช้เป็นระบบนำส่งยา targeted cancer therapy ในอนาคตได้

กรอบแนวคิด



บทที่ 2

บททวนวรรณกรรม

1. ข้อมูลทั่วไปของ Quercetin^{8,9}

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่เป็นยารักษาโรคได้ สามารถพบได้จากหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าสารเหล่านี้มีศักยภาพในการต้านมะเร็งค่อนข้างสูง ซึ่งเคอซีตินเป็นหนึ่งในสารฟลาโวนอยด์ที่มีการอธิบายคุณสมบัติต้านมะเร็ง เช่น การส่งสัญญาณของเซลล์ โปรอะพอพโทติกฤทธิ์ต้านการงอกขยายและต่อต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งการเจริญเติบโต ยับยั้งเอ็นไซม์หลายตัวที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ และมีการศึกษาเมื่อรวมเคอซีตินร่วมกับสารเคมีบำบัดหรือการฉายรังสีจะมีผลเสริมฤทธิ์กัน มีการเผยแพร่ผลหลายการศึกษาที่สำรวจศักยภาพในการต้านมะเร็งของการรักษาแบบผสมผสานเหล่านี้แล้ว ซึ่งส่วนใหญ่มีผลลัพธ์ที่พึงพอใจ เคอซีตินสามารถยังทำหน้าที่เป็นสารป้องกันเคมีและป้องกันรังสี ซึ่งปกป้องเซลล์ปกติจากผลข้างเคียงที่เกิดจากเคมีบำบัดและรังสีบำบัด ซึ่งเห็นได้ชัดว่ามีประโยชน์เด่นในการใช้ในการรักษามะเร็ง

เคอซีติน เป็นสารพฤกษเคมีหรือ ไฟโตนิวเทรียนท์ (Phytochemical หรือ Phytonutrients) ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช สารกลุ่มนี้อาจเป็นสารที่ทำให้พืชผักชนิดนั้นๆ มีสีกลิ่นหรือรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวที่พบมากที่สุด ในผัก และผลไม้หลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านหรือ ป้องกันโรคได้หลายประเภท เคอซีตินเป็นสารพฤกษเคมีที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีมากในหัวหอม หอมแดง และพีชตระกูลถั่ว¹⁰

เคอซีตินมีฤทธิ์ในการป้องกันการอักเสบ ป้องกันแบคทีเรียและไวรัส ช่วยป้องกันอาการแพ้ ปกป้องหลอดเลือด ป้องกันมะเร็ง ชะลอความชรา ป้องกันโรคที่มาพร้อมกับความเสื่อมต่างๆ รวมทั้งโรคทาง ระบบประสาท ที่เกิดจากความเสื่อม¹¹ (neurodegenerative diseases) และมีกลไกในการออกฤทธิ์ ชักนำการตายแบบอะพอพโทซิสโดยผ่านทางวิถีไมโทคอนเดรีย หยุดวงจรวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G2/M และระยะ S ยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการดื้อยาแบบหลายขนาน ยับยั้งการอักเสบ โดยการยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มาโครเฟจที่ถูกกระตุ้น^{12, 13} และเคอซีตินเป็นสารที่มีความปลอดภัย ค่อนข้างสูง มีรายงานว่าในสัตว์ทดลองที่ได้รับเคอซีตินถึงวันละ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเป็นเวลา 2 ปีไม่พบความผิดปกติใดๆ ในมนุษย์เองก็มี

การศึกษาถึงความปลอดภัยของการใช้สารเคอซีตินและพบว่า การให้สารเคอซีตินทางหลอดเลือดดำ ในขนาด 1400 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร หรือประมาณ 2.5 กรัมต่อน้ำหนักตัว 70 กิโลกรัมเป็นเวลา 3 สัปดาห์ยังคงมีความปลอดภัย โดยทั่วไปแล้วในแต่ละวันเรา บริโภคเคอซีตินเพียงวันละ 5-10 มิลลิกรัม 11 เท่านั้นเองแต่ส่วนใหญ่ ขนาดที่จะให้ผลต่างๆ ที่กล่าวมาในข้างต้นมักอาศัยขนาดที่สูงกว่านั้น ถึงแม้เราจะสามารถบริโภคเคอซีตินได้ สูงถึงวันละ 200-500 มิลลิกรัม แต่ยากมากที่เราจะสามารถบริโภคผักผลไม้ที่มีเคอซีตินสูงจนทำให้ได้ระดับเคอซีตินสูงถึงระดับที่ให้ผลในการป้องกันภาวะต่างๆ ดังที่กล่าวข้างต้นเนื่องจากเคอซีตินที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย มีรายงานว่าจะอยู่ในช่วง 0-50% ขึ้นกับว่าเคอซีตินอยู่ในรูปใดและได้รับเข้าไปในร่างกายผ่านทางรูปแบบใด หลังถูกดูดซึมเคอซีตินส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการเมแทบอลิซึมเป็นรูปแบบไกลโคไซด์ จะถูกดูดซึมได้ดีกว่าเคอซีตินในลำไส้เล็ก ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการพยายามนำเอาเทคโนโลยีสมัยใหม่มาช่วยเพิ่มการกระจายตัวของสารออกฤทธิ์ไปยังอวัยวะเป้าหมาย เช่น พัฒนาการนำส่งสารเคอซีตินด้วยเส้นใยไมโครไฟเบอร์ หรือการนำส่งในรูปลิโปโซมเป็นต้น^{14, 15}

2. ข้อมูลทั่วไปของพอลิเมอร์ซีน (Zein polymer)¹⁶

Zein เป็นโปรตีนจากธรรมชาติ สกัดได้จากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าวโพด ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด โดยเฉพาะกรดอะมิโนชนิดที่ไม่มีซัลเฟอร์ เช่น ไกลซีน อลานีน วาลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน ฟีนิลอลานีน ทรีโตนีน และโพรลีน ซึ่งส่งผลให้โปรตีน Zein มีความไม่ชอบน้ำ และเมื่อนำไปขึ้นรูปเป็นฟิล์ม ทำให้ได้ฟิล์มที่มีความแข็งแรง มีการใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับฟิล์มและสารเคลือบเป็นพอลิเมอร์ GRAS ที่ได้รับการรับรองจาก US FDA สำหรับการใช้งานของมนุษย์มักถูกใช้เพื่อเตรียมระบบอนุภาคสำหรับการจัดส่งยาและอาหาร งานวิจัยหลายชิ้นใช้ zein ในการผลิตแคปซูลและฟิล์มที่รับประทานได้ แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของ zein ในการเป็นสื่อนำส่งยาได้

จากความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพที่ดี และลักษณะที่ไม่ละลายน้ำ จึงนิยมใช้สำหรับระบบการนำส่งยา ใช้ผลิตแคปซูล และฟิล์มที่รับประทานได้ มีการทำ nanoparticles สำหรับการห่อหุ้มยาและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น Ivermectin, Coumarin และ 5-Fluorouracil เป็นต้น¹⁷

จากการศึกษาของ Elzoghby ได้มีศึกษาการพัฒนาระบบการนำส่งยาที่ใช้โปรตีน zein ซึ่งสามารถนำส่งยาต้านมะเร็งที่มีความสามารถการละลายต่ำไม่ดี ระบบแรกคือการเตรียม zein nanospheres โดยใช้เทคนิค phase-separation ระบบที่สองคือเตรียมโดยใช้เทคนิค spontaneous emulsification และระบบที่สามคือ zein-lactoferrin Copolymeric micelles¹⁸

3. ระบบนำส่งไมโครเอนแคปซูเลชัน (Microencapsulation)^{19, 20}

ไมโครเอนแคปซูเลชัน คือกระบวนการห่อหุ้มสารบางชนิด เช่น วิตามิน ยา วัคซีน สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น ด้วยพอลิเมอร์ให้อยู่ในรูปของแคปซูลชั้นบางๆขนาดเล็ก เรียกว่า ไมโครแคปซูลซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 1 จนถึง 1,000 ไมครอน เพื่อประโยชน์ในการคงตัวของสารตลอดการใช้งาน การห่อหุ้มสารที่มีความไวต่อสิ่งแวดล้อม เช่น สารที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่าย ไวต่อแสง อุณหภูมิและความเป็นกรดต่าง เป็นต้น จะทำให้สารดังกล่าวมีความคงตัวดีขึ้นและเก็บรักษาได้ยาวนาน กระบวนการดังกล่าวยังช่วยป้องกันสารที่ระเหยง่าย นอกจากนั้นการนำสารที่เป็นของเหลวมาอยู่ในไมโครแคปซูลอาจช่วยลดการทำปฏิกิริยาของสารผสม สะดวกต่อการนำไปใช้งาน รวมทั้งสามารถควบคุม การปลดปล่อยสารไปสู่บริเวณที่ต้องการในเวลาที่เหมาะสมได้ จึงมีประโยชน์ช่วยลดความเสี่ยงในการใช้สาร

โครงสร้างของไมโครแคปซูลประกอบด้วย 2 ส่วนหลักคือ สารที่ถูกห่อหุ้ม และสารที่ใช้ห่อหุ้ม สารที่ถูกห่อหุ้มมักเป็นของเหลวหรือของแข็งเรียกว่าแกนกลาง (core หรือ active หรือ load หรือ internal phase) เช่น วิตามินต่างๆ กลีเซอรอล ยาฆ่าแมลง ส่วนสารที่เป็นตัวห่อหุ้มมักมีผนังบางๆ เรียกว่า สารห่อหุ้ม (shell หรือ wall หรือ carrier หรือ coating material) ซึ่งมีความสำคัญในการกำหนดให้ ไมโครแคปซูลมีคุณสมบัติตามที่ต้องการ สารห่อหุ้มที่ดีควรมีคุณสมบัติที่สามารถแผ่เป็นฟิล์มบาง ๆ ได้ มีความยืดหยุ่นและความแข็งแรงเพียงพอ สามารถทำให้เกิดอิมัลชัน (emulsion) ยึดติดกับสารแกนกลาง ได้ดีโดยไม่ทำปฏิกิริยากับสารแกนกลาง รวมทั้งต้องมีความหนืดต่ำเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นของแข็ง และไม่ขึ้นง่าย

การทำไมโครแคปซูลต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายประการที่มีบทบาทต่อคุณสมบัติของไมโครแคปซูลนั้น ปัจจัยที่สำคัญในลำดับต้น ๆ คือ การเลือกชนิดของสารห่อหุ้ม และกลไกในการปลดปล่อยสารที่ถูกห่อหุ้ม โดยกลไกดังกล่าวนี้มักขึ้นอยู่กับ ค่าความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ ความดัน และชนิดของเอนไซม์ เป็นต้น ไมโครแคปซูลมีหลายประเภท ขึ้นอยู่กับลักษณะของสารแกนกลาง สารห่อหุ้มที่ใช้ และวิธีการผลิต โดยทั่วไปมักจำแนกประเภทของไมโครแคปซูลตามลักษณะของสารแกนกลาง เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ ไมโครแคปซูลที่แกนกลางทั้งหมดถูกห่อหุ้มด้วยสารห่อหุ้ม เรียกว่า ไมโครแคปซูลแบบแกนกลางเดี่ยว (mononuclear core) และไมโครแคปซูลที่แกนกลางเล็กๆ จำนวนมากถูกห่อหุ้มด้วยสารห่อหุ้ม เรียกว่า ไมโครแคปซูลแบบหลายแกนกลาง (multinuclear core) ซึ่งนิยมใช้ในกระบวนการผลิตยา เพราะสามารถค่อยๆปลดปล่อยสารแกนกลางได้ในระยะเวลาที่ยาวนานกว่าไมโครแคปซูลแบบแกนกลางเดี่ยว

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัย

3. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 3.1.1 Beaker
- 3.1.2 Homogenizer
- 3.1.3 Ice bath
- 3.1.4 Scanning Electron Microscope (SEM)
- 3.1.5 Fourier Transform Infrared (FTIR)
- 3.1.6 UV spectrophotometry
- 3.1.7 Nanosizer zeta sizer
- 3.1.8 เครื่องชั่ง
- 3.1.9 Two neck round bottom flask
- 3.1.10 Magnetic stirrer
- 3.1.11 Micro-pipette
- 3.1.12 Sonicator bath
- 3.1.13 Evaporator
- 3.1.14 Centrifuge

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 Zein polymer
- 3.2.2 Folic acid
- 3.2.3 85% Ethanol
- 3.2.4 Methanol
- 3.2.5 DI water
- 3.2.6 Triethylamine

- 3.2.7 N-hydroxysuccinimide
- 3.2.8 Dimethylsulfoxide
- 3.2.9 1,3-dicyclohexyl-carbodiimide
- 3.2.10 Ether : Acetone 7: 3
- 3.2.11 Poloxamer 188
- 3.2.12 Poloxamer 407

4. วิธีดำเนินการศึกษา

4.1 การสังเคราะห์ zein conjugated

4.1.1 การสังเคราะห์ zein-folic acid²¹

การเตรียม zein-folic acid ใช้ folic acid 2 กรัมละลายใน Dimethylsulfoxide 40 มิลลิลิตรใน round bottom flask และเติม Triethylamine 1 มิลลิลิตรพร้อมคนให้เข้ากัน เติม N-hydroxysuccinimide 4 กรัมและ 1,3-dicyclohexyl-carbodiimide 4 กรัมคนในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน นำไปกรองเพื่อเอา dicyclohexylurea (By product) ออก ได้สาร N-hydroxysuccinimide ester of folic acid (NHS-FA) หลังจากนั้นนำสารสีเหลืองของ NHS-FA จากนั้นล้างด้วยสารละลายเดิมทั้งหมด 3 ครั้ง และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องอบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำ NHS-FA 400 มิลลิกรัมไปละลายใน DMSO 40 มิลลิลิตรและเติม zein 400 มิลลิกรัมในสารละลาย หลังจากนั้นเติม Triethylamine 1 มิลลิลิตรคนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 35 °c จะได้เป็น zein-folic acid นำไปทำให้บริสุทธิ์โดยการกรอง (molecular weight cut off 20 kDa Spectra/pOR Rc membrane (Spectrum Rancho, CA, USA) เป็นเวลา 2 วัน เพื่อกำจัดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ถูกทำปฏิกิริยา และนำไปทำแห้งภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน

4.1.2 การติดตามปฏิกิริยาการสังเคราะห์ zein-folic acid

การติดตามปฏิกิริยาการสังเคราะห์ zein-folic acid จะใช้วิธี Thin layer chromatography (TLC) โดยจะติดตามในแต่ละขั้นตอนของปฏิกิริยา ใช้ Mobile phase เป็น Methanol และ Stationary phase เป็น Silica

4.2 พิสูจน์โครงสร้างของ zein-conjugated

4.2.1 พิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR spectroscopy²²

การพิสูจน์โครงสร้างเอไมด์ของพันธะโควาเลนต์ใน zein-folic acid ประเมินโดย FTIR ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ อาศัยการดูดกลืนแสงในบริเวณอินฟราเรดในการระบุ หมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลและปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุล ใช้สเปกตรัมที่ wavenumbers 400–4000 cm^{-1} ที่มีความละเอียด 4 cm^{-1} โดยใช้ FTIR spectrophotometer ที่ติดตั้ง Pt-diamond ATR cell

4.2.2 การหาปริมาณ folic acid ใน folic acid conjugated zein polymer

วัดปริมาณของ NHS-FA ที่ต่อกับ zein ด้วยพันธะโควาเลนต์โดยวิธี UV spectrophotometry ทำโดยละลาย zein-folic acid ใน DMSO ที่ความเข้มข้น 1 มก./มล. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 285 nm

4.3 ประเมินลักษณะของอนุภาค

วัดค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลาง วัดศักย์ซีตา และวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาคโดยใช้เครื่อง Nanosizer-zeta sizer ตรวจสอบสัณฐานวิทยาและรูปร่างของอนุภาคนาโน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด field emission scanning electron microscope²³

4.4 ประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยา (%entrapment efficiency)

ประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาของอนุภาค zein, zein-folic acid ใช้ตัวอย่างของอนุภาคแต่ละชนิดที่ได้ทำการแช่แข็งไว้ อย่างละ 1 มก./มล. นำไปทำเป็นสารแขวนลอยอีกครั้งใน DMSO และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer ที่ 358 นาโนเมตร เพื่อวัดปริมาณของ quercetin ทำการวัดทั้งหมด 3 ครั้ง

โดยคำนวณปริมาณตัวยา (%EE) โดยใช้สูตร

$$EE (\%) = (c \text{ drug load} / c \text{ total drug}) \times 100$$

4.5 การเตรียมระบบนำส่ง microencapsulation²³

การเตรียม zein nanoparticles และ zein-folic acid nanoparticles จะใช้วิธีเดียวกัน ละลาย polymer ในสารละลาย 85% ethanol และเติมสารละลาย poloxamer188 และ poloxamer407 (1:1) (w/w) โดยสารแขวนลอยถูกนำไปลดขนาดอนุภาค ในอ่างน้ำแข็ง หลังจากนั้นนำไปกำจัด Ethanol โดยนำไประเหยภายใต้สุญญากาศ เก็บอนุภาคที่อุณหภูมิ -20°C สำหรับการวิเคราะห์ในขั้นตอนถัดไป โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างสูตรที่ใช้ zein ชนิดเดียว เปรียบเทียบกับการผสมระหว่าง zein และ zein-folic acid ที่อัตราส่วนต่าง ๆ โดยเปรียบเทียบลักษณะของอนุภาค และปริมาณตัวยาที่บรรจุ

ตารางที่ 1 การออกแบบการทดลองในอัตราส่วนพอลิเมอร์

	Rx1	Rx2	Rx3	RX4	Rx5
Zein	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
Poloxamer 188	-	25 mg	-	12.5 mg	25 mg
Poloxamer 407	-	-	25 mg	12.5 mg	25 mg

ตารางที่ 2 การศึกษาผลของ zein-folic มีผลต่อระบบนำส่ง microencapsulation

	Rx5	Rx5.1	Rx5.2	Rx5.3
Zein	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
Poloxamer 188	25 mg	25 mg	25 mg	25 mg
Poloxamer 407	25 mg	25 mg	25 mg	25 mg
ZN-FA	-	10 mg	20 mg	50 mg

4.6 การบรรจุยาในระบบนำส่ง zein microencapsulation

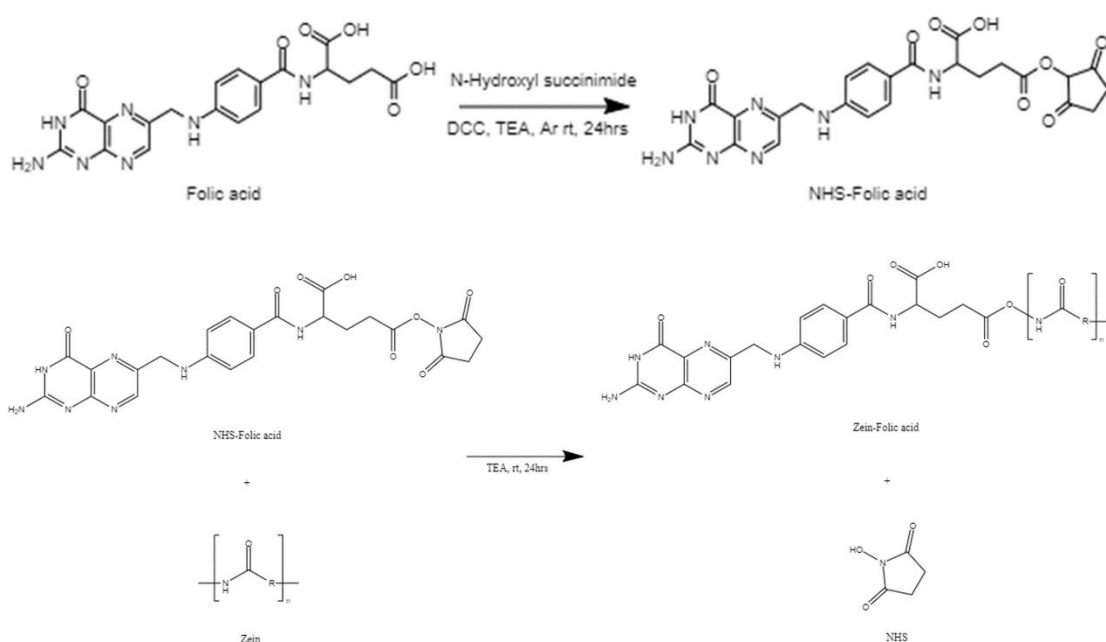
ทำการเตรียมเช่นเดียวกับ ข้อ 4.5 โดยเพิ่ม quercetin ในสูตรตำรับโดยทำการละลาย quercetin ไปใน 85% ethanol

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

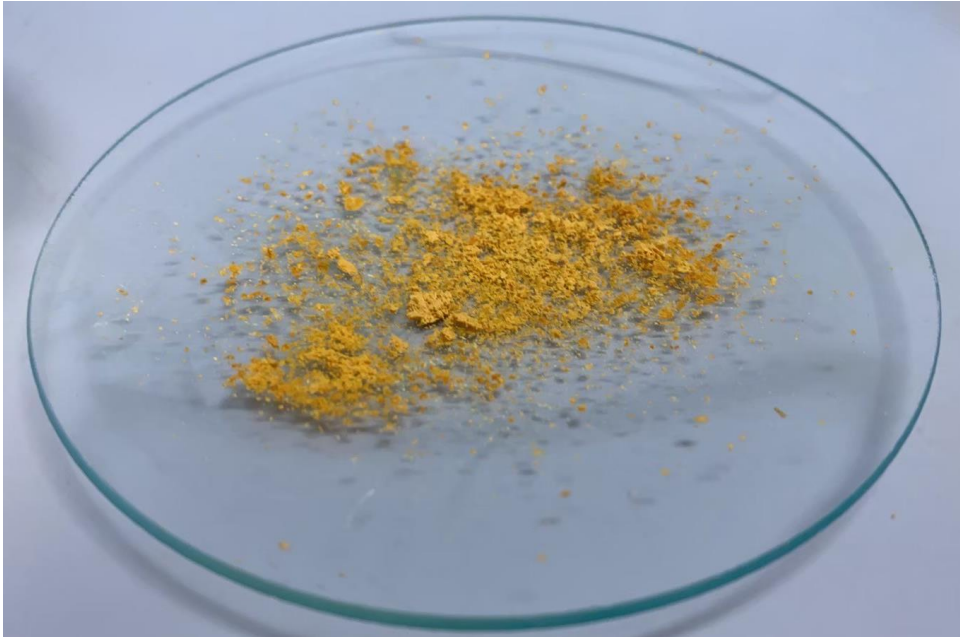
ตอนที่ 1: การสังเคราะห์ zein conjugated

1. ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ zein-folic acid



รูปที่ 1 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ zein-folic acid

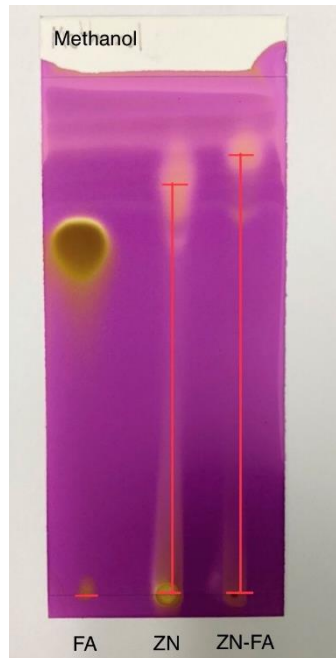
2. การสังเคราะห์ zein-folic acid



รูปที่ 2 zein-folic acid ที่สังเคราะห์ได้

จากรูปที่ 2 ลักษณะผงของ zein-folic acid ที่สังเคราะห์ได้ มีสีส้มเหลือง เหมือนสีของ folic acid

3. การติดตามปฏิกิริยาการสังเคราะห์ zein-folic acid ใช้วิธี thin layer chromatography (TLC)

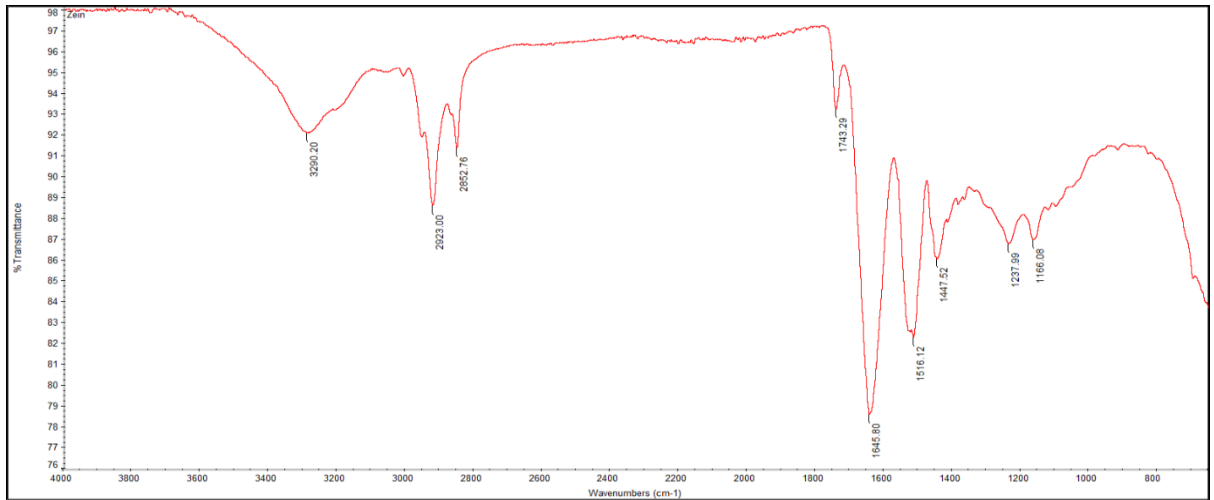


รูปที่ 3 แสดงลักษณะ TLC ของ zein, folic acid และ zein-folic acid

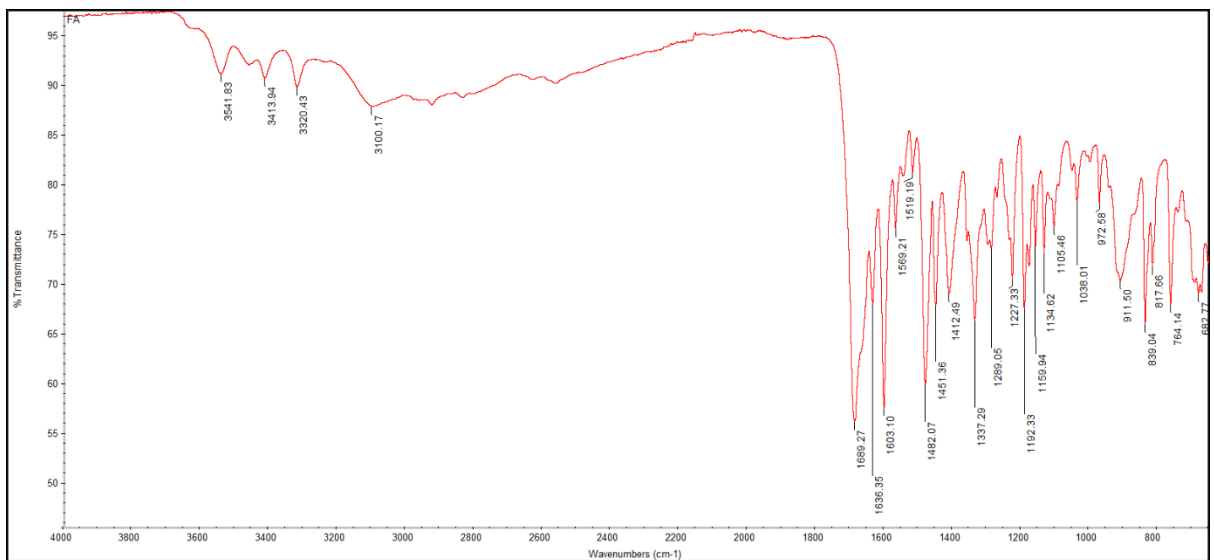
จากรูปแสดงถึงการติดตามปฏิกิริยาการสังเคราะห์ zein-folic acid จะเห็นได้ว่าเกิดสารใหม่ขึ้นโดยดูจาก ระยะ R_f ของ zein-folic acid ที่เปลี่ยนไปโดยเทียบระยะ R_f ของ FA และ zein โดยพบว่า zein-folic acid มีค่า R_f สูงกว่า zein และ folic acid เนื่องจาก zein-folic acid มีโครงสร้าง amide ทำให้มีขั้วมากขึ้นไปกับ mobile phase ได้ดีขึ้น

ตอนที่ 2: พิสูจน์โครงสร้างของ zein-conjugated

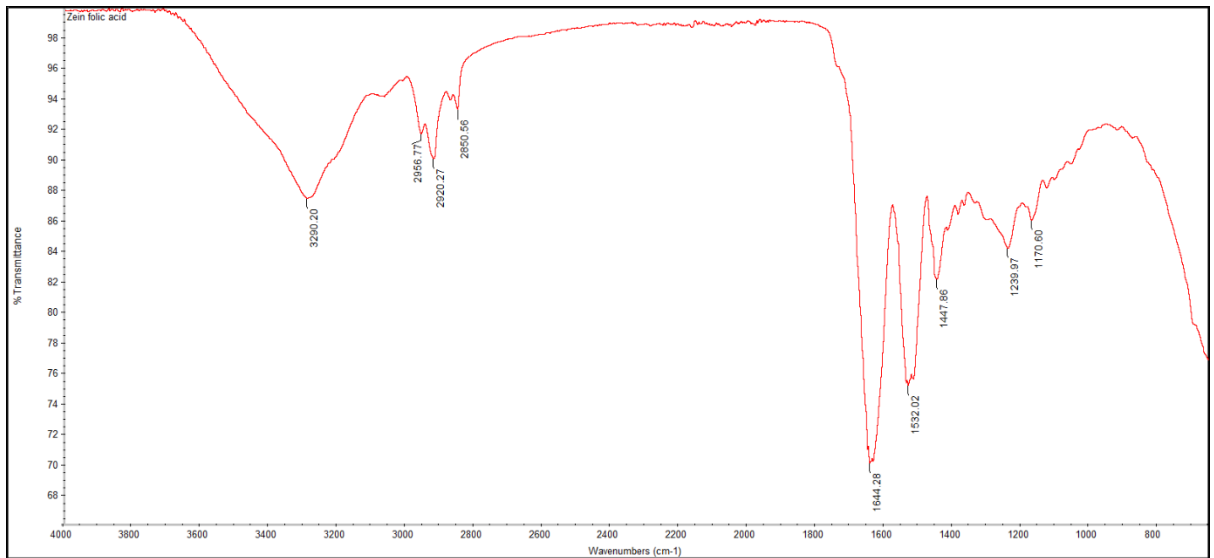
1. พิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR spectroscopy



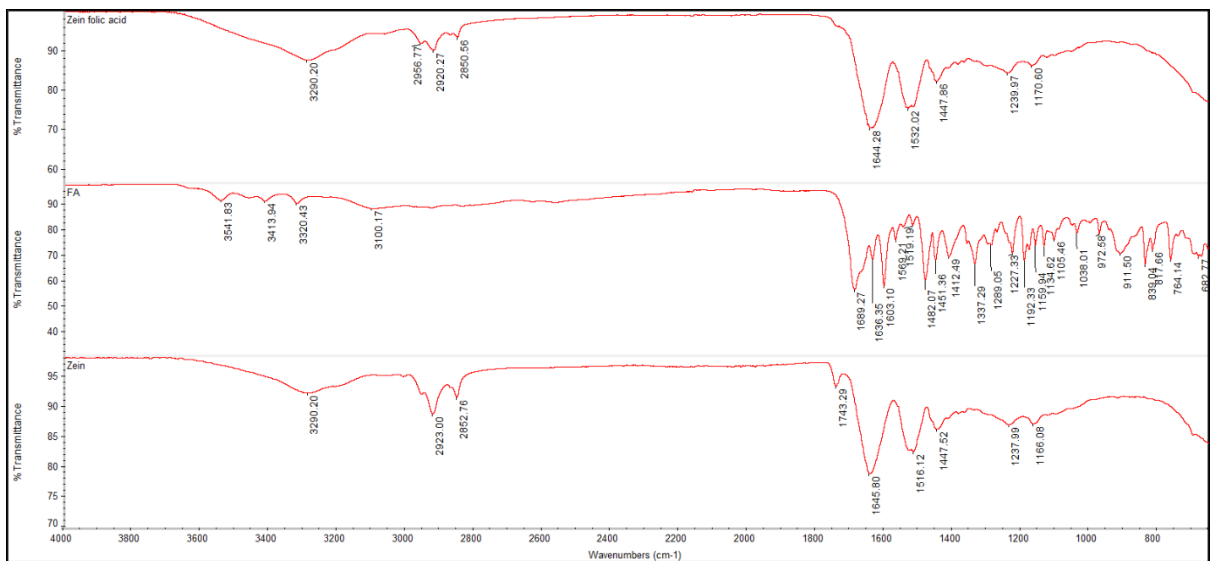
รูปที่ 4 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR spectroscopy ของ zein



รูปที่ 5 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR spectroscopy ของ folic acid



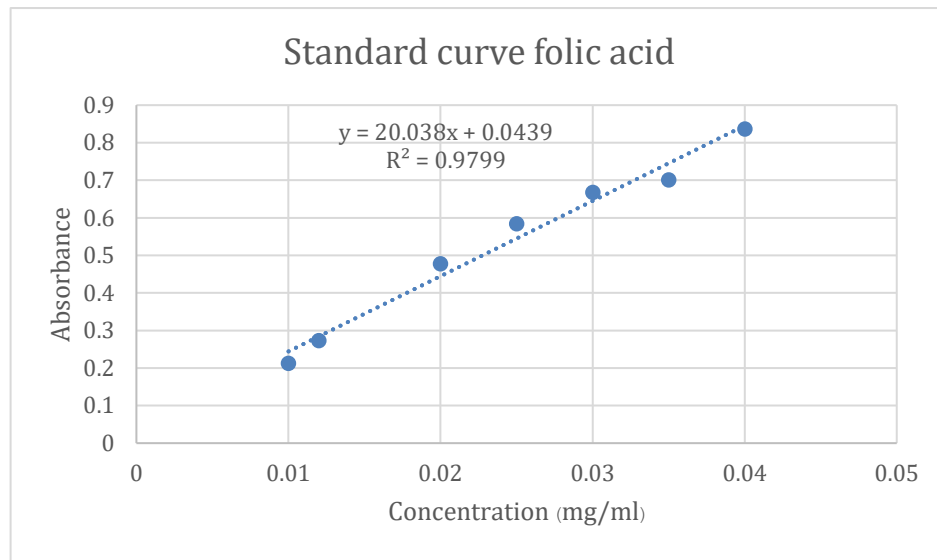
รูปที่ 6 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR spectroscopy ของ zein-folic acid



รูปที่ 7 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR spectroscopy ของ zein-folic acid, zein และ folic acid

จากรูปที่ 6 แสดงการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR spectroscopy โดยดูจากค่าสเปกตรัมที่เปลี่ยนไปของ zein-folic acid เทียบกับสเปกตรัมของ zein และ folic acid ซึ่งพบว่าสเปกตรัมของ zein-folic acid มีหน้าตาคล้ายกับสเปกตรัมของ zein และพบ peak ที่มี wavenumber ของ folic acid แต่ peak สั้นจนเปรียบเทียบได้ยาก เนื่องจาก zein มีโมเลกุลใหญ่ จึงอาจบดบังพันธะที่เชื่อมต่อกับ folic acid ซึ่งคือพันธะ amide ทำให้สเปกตรัมดูยากขึ้น มองไม่ชัดเจน

2. ศึกษาการหาปริมาณ folic acid ใน folic acid conjugated zein polymer โดยเทียบกับ standard curve



รูปที่ 8 แสดง standard curve ของ folic acid

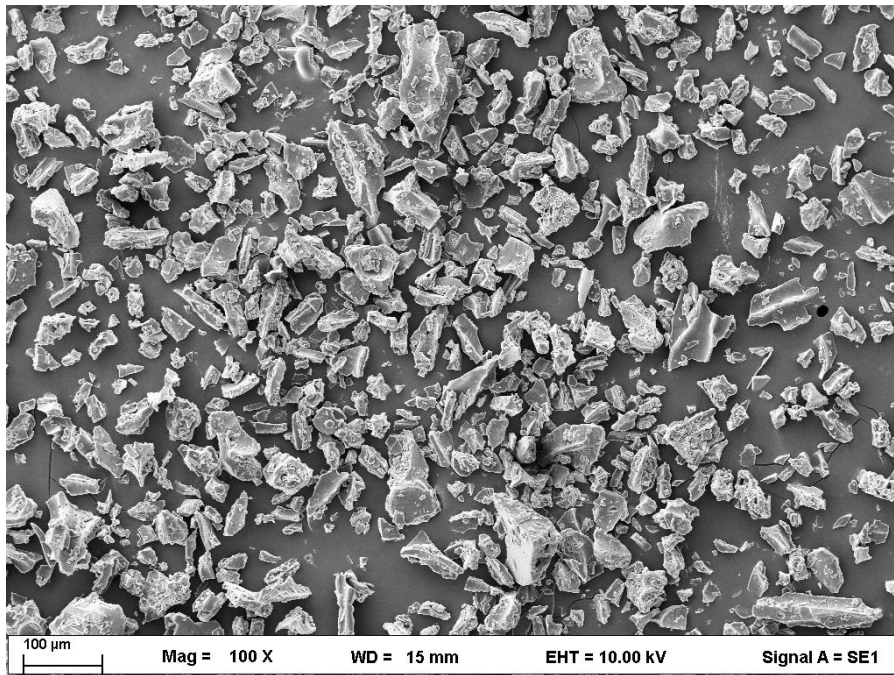
ตารางที่ 3 แสดงถึงค่าการดูดกลืนแสง Absorbance zein-folic acid เทียบกับ standard curve

Abs zein-folic acid	C.วัด/ml	ปรับ 1 : 100	%conjugated
0.32139	0.013848	1.384819	13.84818844
0.3224	0.013899	1.389859	13.89859267
0.34846	0.015199	1.519912	15.19912167

จากรูปแสดงถึง standard curve ของ folic acid เมื่อคำนวณหาปริมาณเฉลี่ยของ folic acid ได้เท่ากับ 1.43153 mg และมี %conjugated เฉลี่ยเท่ากับ 14.32 % ดังนั้นจึงบอกได้ว่า zein-folic acid ที่สังเคราะห์ได้มีโครงสร้างของ folic acid อยู่

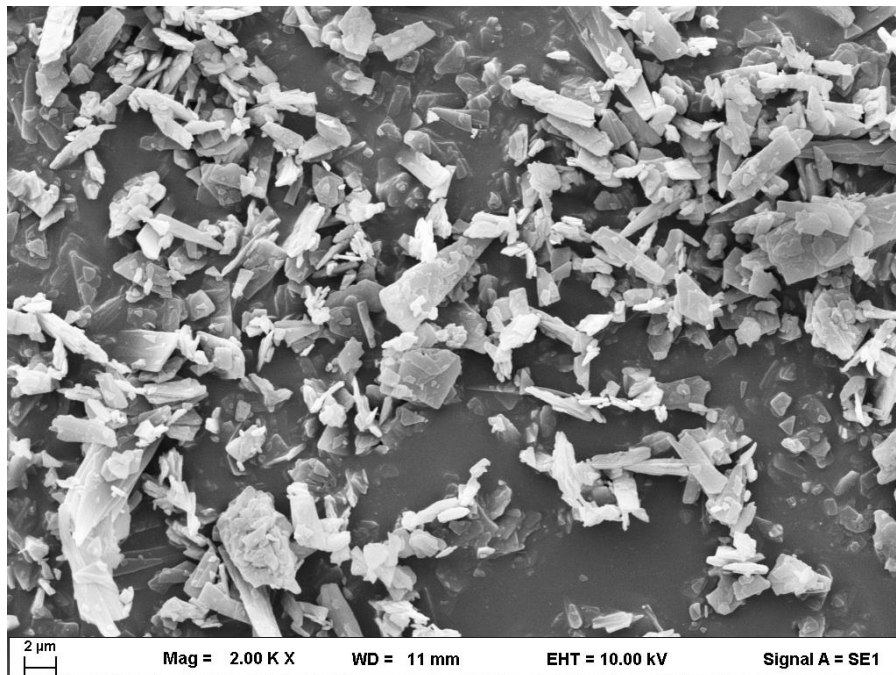
ตอนที่ 3 : ประเมินลักษณะของอนุภาค

1. การศึกษาสัณฐานวิทยาและรูปร่างของอนุภาคนาโน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



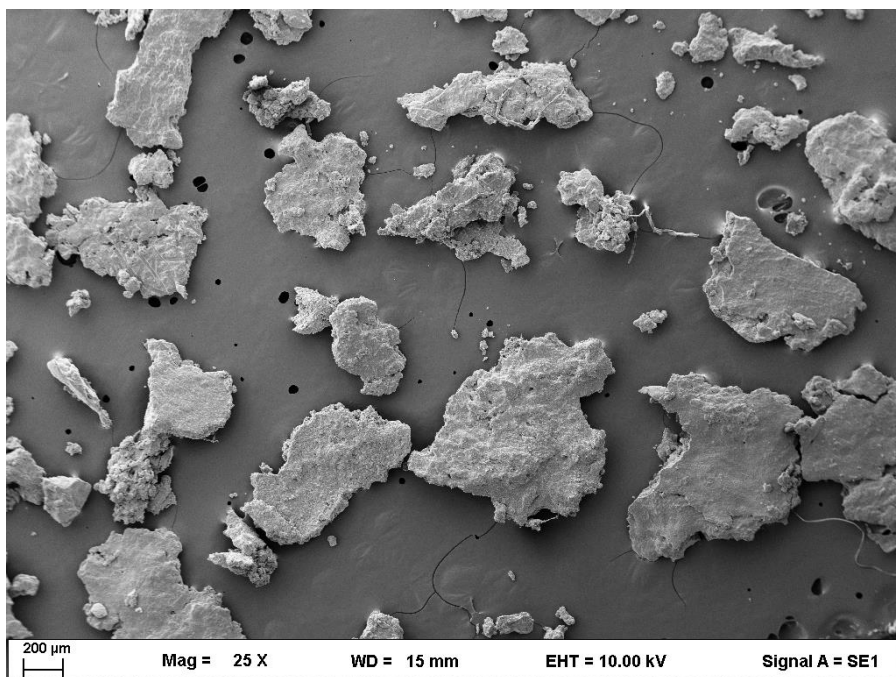
รูปที่ 9 ภาพถ่าย SEM แสดงลักษณะของ zein กำลังขยาย 100 เท่า

จากภาพถ่าย SEM ของ zein มีลักษณะผลึกเล็ก ๆ มีขนาดประมาณ 50-100 μm



รูปที่ 10 ภาพถ่าย SEM แสดงลักษณะของ folic acid กำลังขยาย 2000 เท่า

จากภาพถ่าย SEM folic acid มีลักษณะผลึกเล็ก ๆ มีขนาดประมาณ 10-20 μm



รูปที่ 11 ภาพถ่าย SEM แสดงลักษณะของ zein-folic acid กำลังขยาย 25 เท่า

จากภาพถ่าย SEM ลักษณะของ zein-folic acid เมื่อเทียบกับ zein และ folic acid สามารถ
การเกาะตัวกันเป็นผลึกใหญ่ขึ้น โดยมีขนาดประมาณ 400-1000 μm

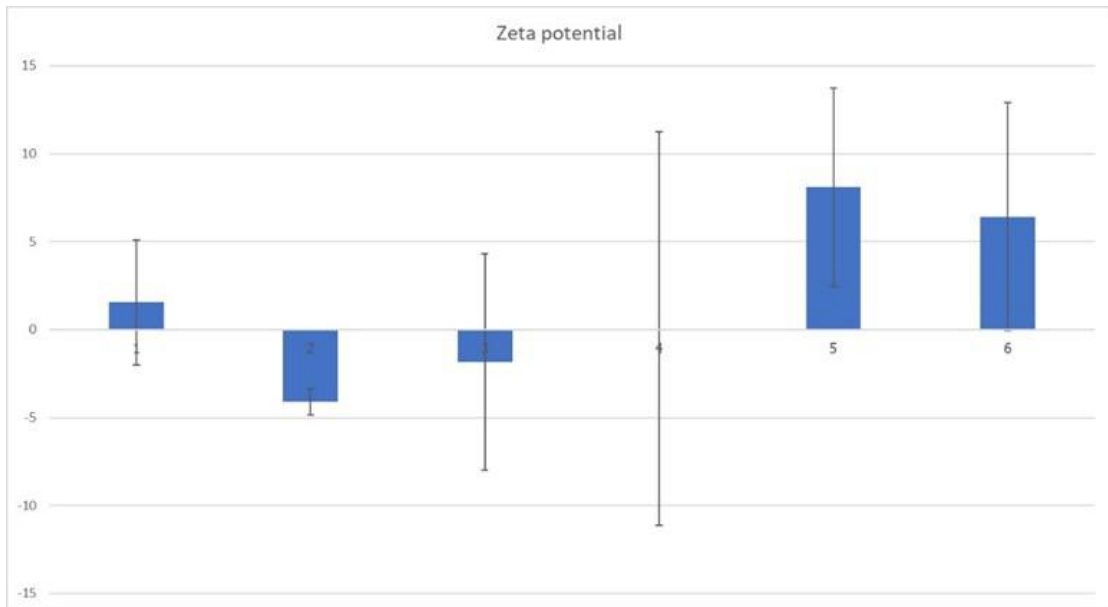
2. ศึกษาและพัฒนาระบบนำส่งยาในรูปแบบ microcapsule ที่มีส่วนประกอบของ poloxamer407 : poloxamer188

ตารางที่ 4 แสดงขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential ของ microcapsule

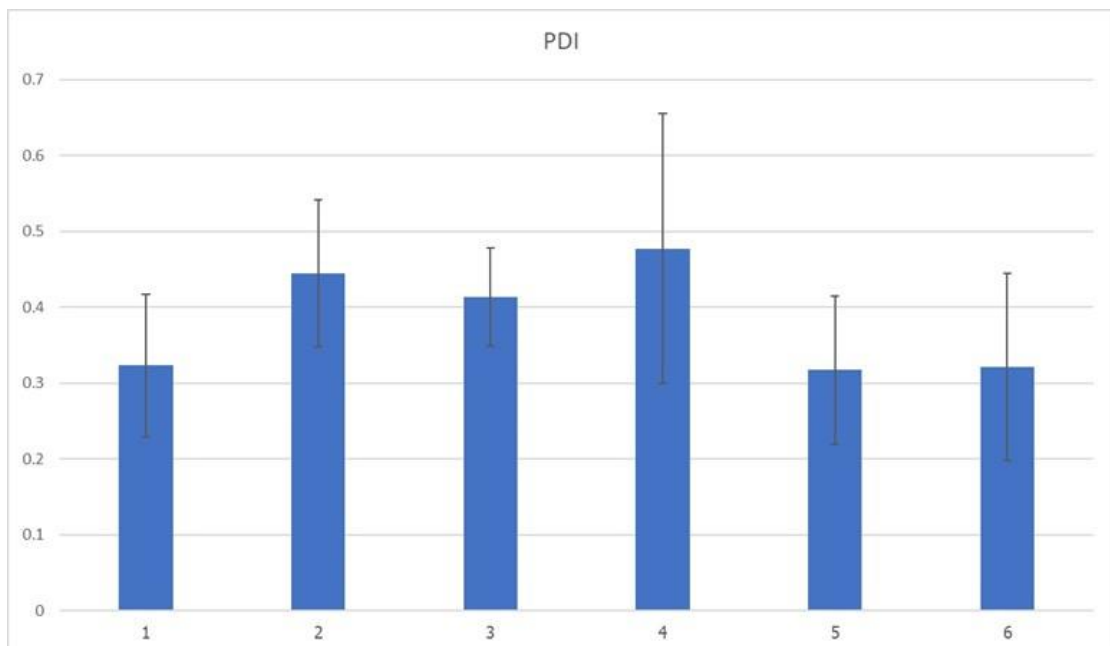
Formulation	Size(nm)	PDI	Zeta potential(mV)
1. Zein 100 mg	619.283 ± 126.135**	0.323 ± 0.0941**	1.553 ± 3.5628
2. Zein 100 mg+Poloxamer188 25 mg	810.575 ± 151.736*	0.445 ± 0.0969	-4.106 ± 0.7457*
3. Zein 100 mg+Poloxamer407 25 mg	768.575 ± 296.221	0.414 ± 0.0647	-1.819 ± 6.1461*
4. Zein 100 mg+Poloxamer188 12.5 mg+Poloxamer407 12.5 mg	985.883 ± 327.867*	0.477 ± 0.1779*	0.047 ± 11.1788*
5. Zein 100 mg+Poloxamer188 25 mg+Poloxamer407 25 mg	519.775 ± 204.7947	0.317 ± 0.0976	8.088 ± 5.6624
6. Zein 100 mg+Poloxamer188 50 mg+Poloxamer407 50 mg	927.644 ± 118.778*	0.321 ± 0.1237	6.427 ± 6.4622

Each value presents the mean ± SD (n=3) ; *P<0.05 compare with Zein 100 mg Poloxamer188 25 mg Poloxamer407 25 mg; **P<0.05 compare with Zein 100 mg Poloxamer188 12.5 mg Poloxamer407 12.5 mg

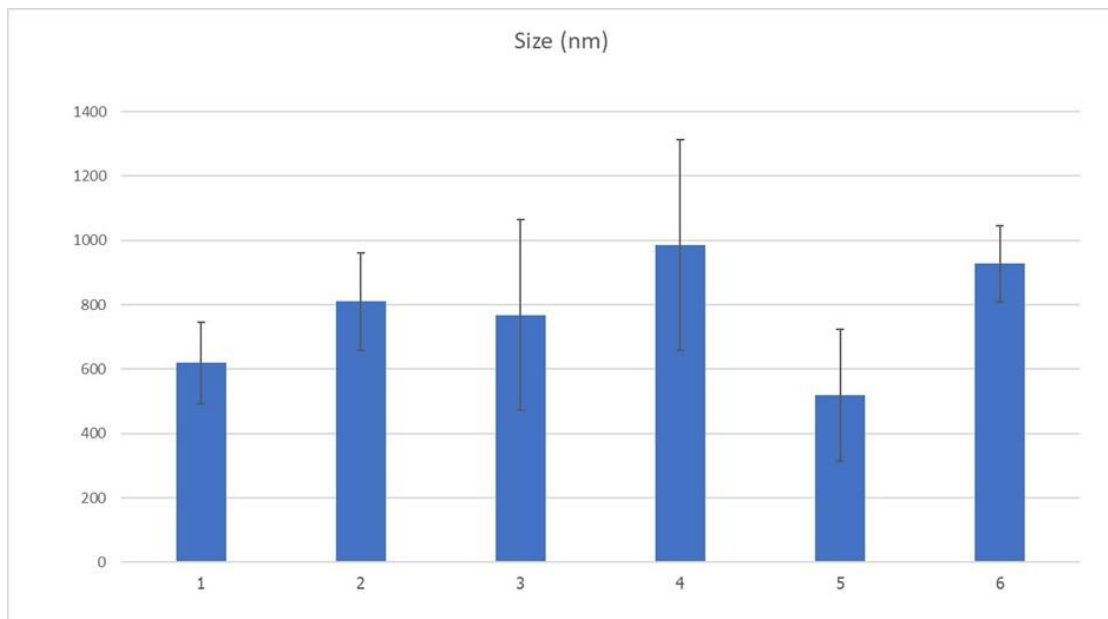
2.1. ผลการวัดของอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential ของ microcapsule



รูปที่ 12 แสดง zeta potential ของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ poloxamer188 : poloxamer407 ในอัตราส่วนต่าง ๆ



รูปที่ 13 แสดงการกระจายขนาดของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ poloxamer188 : poloxamer407 ในอัตราส่วนต่าง ๆ



รูปที่ 14 แสดงขนาดของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ poloxamer188 : poloxamer407 ในอัตราส่วนต่าง ๆ

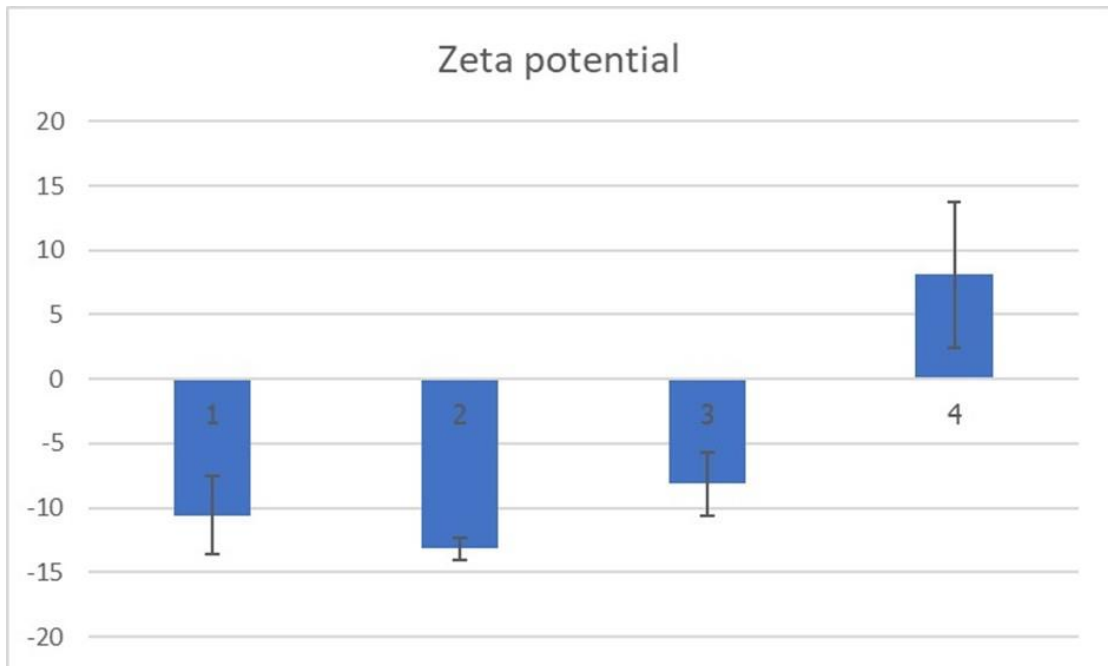
จากผลการวัดขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential ของ microencapsulation ที่เตรียมจาก poloxamer188 : poloxamer 407 ขนาด 0 : 0, 25 : 0, 0 : 25, 12.5 : 12.5, 25 : 25, 50 : 50 mg พบว่าการเพิ่มปริมาณของ poloxamer188 : poloxamer 407 ทำให้ขนาดอนุภาค microencapsulation มีขนาดเล็กลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value เท่ากับ 0.000) ซึ่งผลการวิจัยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mariela E. และคณะ ที่พบว่าการใช้ poloxamer 407 มากขึ้นทำให้อนุภาคและการกระจายตัวลดลง²⁴ ส่วนผลของ zeta potential พบว่าในสูตรที่ 5 มีค่า zeta potential ห่างจากค่า 0 มากที่สุดโดยมีนัยยะสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) เมื่อเทียบกับสูตร 2, 3 และ 4 หลังจากพิจารณาแล้วจึง เลือกสูตร 5 คือ zein 100 mg + poloxamer188 25 mg + poloxamer407 25 mg มาศึกษาผลของขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential เมื่อสังเคราะห์อนุภาคโดยเพิ่ม zein-folic acid ต่อ

2.2 ผลการวัดของอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential ของ zein :
zein-folic acid microencapsulation

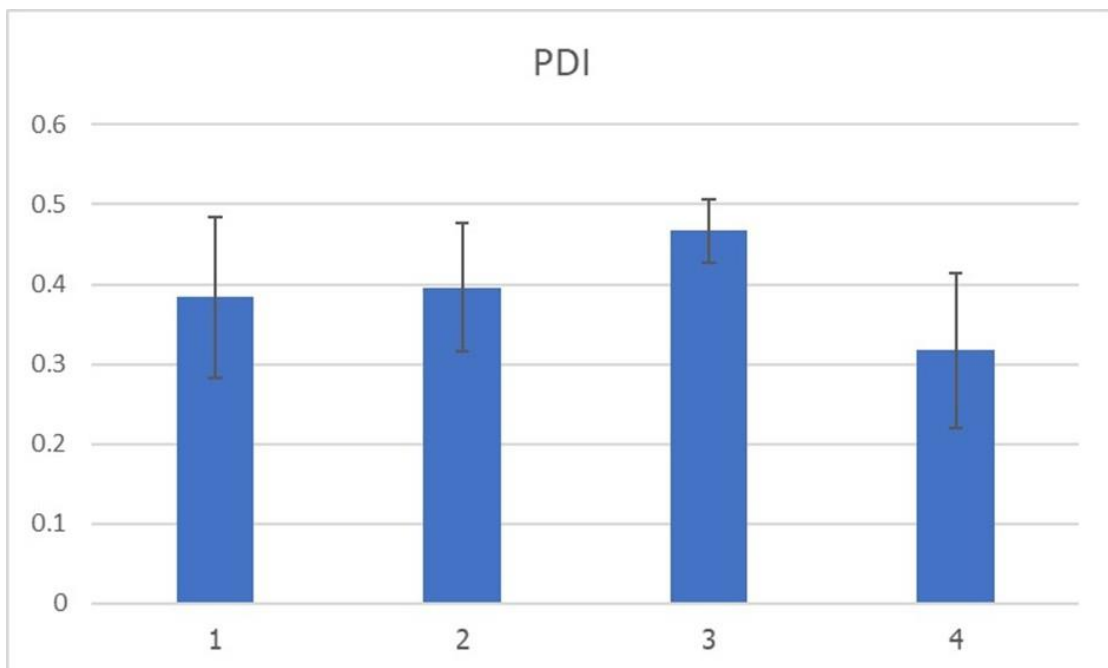
ตารางที่ 5 แสดงขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential ของ
microencapsulation ของอัตราส่วน zein-folic ต่อ zein

Formulation	Size(nm)	PDI	Zeta potential(mV)
1. Zein 100 mg + A	519.775 ± 204.7947*	0.317 ± 0.0976	8.088 ± 5.6625*
2. Zein 100 mg + A + Zein-Folic acid 10 mg	632.967 ± 221.0502*	0.384 ± 0.1005	-10.687 ± 3.0017
3. Zein 100 mg + A + Zein-Folic acid 20 mg	1030.578 ± 247.0401	0.396 ± 0.0809	-13.178 ± 0.8382
4. Zein 100 mg + A + Zein-Folic acid 50 mg	765.267 ± 165.8281*	0.477 ± 0.0401	-8.116 ± 2.4732*

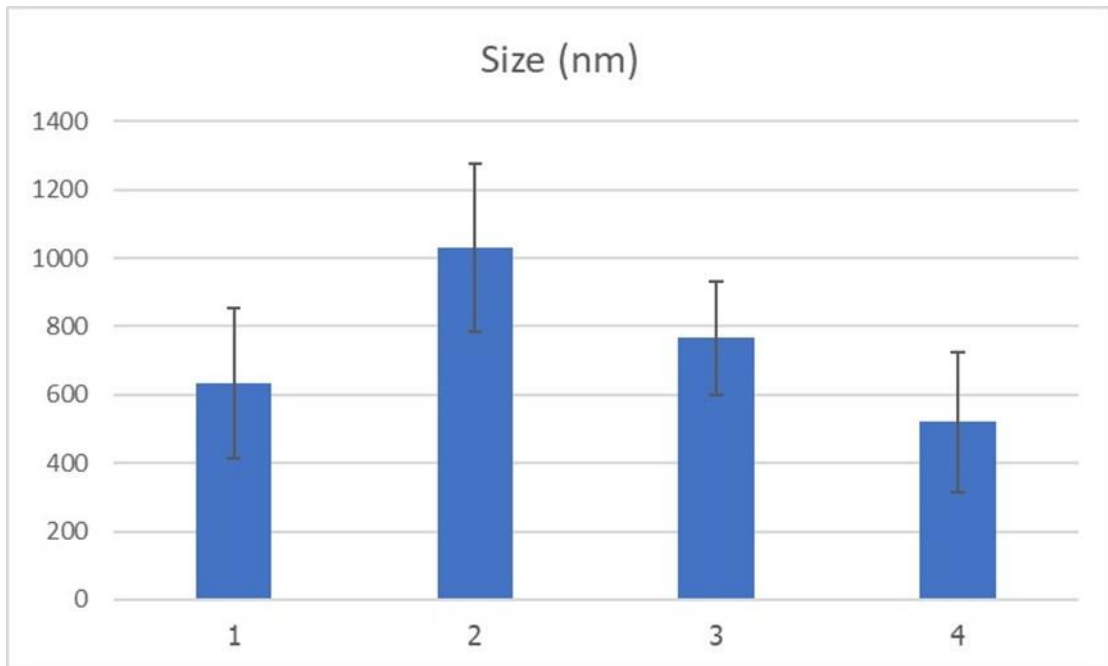
Each value presents the mean ± SD (n=3); *P<0.05 compare with Zein 100 mg + Zein-Folic acid 20 mg; A = Poloxamer188 25 mg+Poloxamer407 25 mg



รูปที่ 15 แสดง zeta potential ของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ zein-folic acid ขนาดต่าง ๆ



รูปที่ 16 แสดงการกระจายขนาดของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ zein-folic acid ขนาดต่าง ๆ

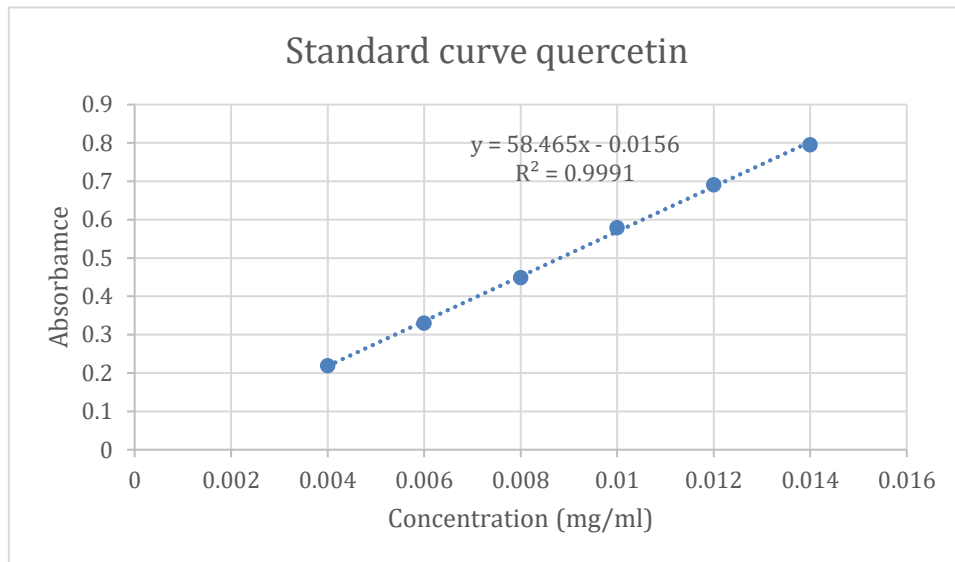


รูปที่ 17 แสดงขนาดของอนุภาคไมโครแคปซูลที่เตรียมจาก zein 100 mg และ zein-folic acid ขนาดต่าง ๆ

จากผลการวัดขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential ของ microencapsulation ที่เตรียมจาก zein 100 mg กับ zein-folic acid ปริมาณต่าง ๆ ได้แก่ 10, 20 และ 50 mg พบว่าการเพิ่มปริมาณของ zein-folic acid ทำให้ขนาดอนุภาค microencapsulation มีขนาดใหญ่ขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) มีแนวโน้มเพิ่มการกระจายขนาดอนุภาคเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) และมีค่า zeta potential มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) โดยเลือกสูตร 1 มีอัตราส่วน zein-folic acid 10 mg มา บรรจุ ยา quercetin เพื่อหา %entrapment efficiency ของ microencapsulation

ตอนที่ 4 : ศึกษาการบรรจุยาในระบบนำส่ง zein microencapsulation

ศึกษาการหา % entrapment efficiency ของอนุภาคไมโครแคปซูล zein : zein-folic acid microencapsulation ที่โหลดยา quercetin โดยเทียบกับ standard curve



รูปที่ 18 แสดง standard curve ของ quercetin

ตารางที่ 6 แสดงถึงค่า Absorbance zn-quercetin เทียบกับ standard curve

Abs. zein-quercetin	ความเข้มข้น (mg/ml)	ปริมาณ quercetin (ปรับ 1 : 100)	% entrapment efficiency (%)
0.2082	0.00382	0.3827	3.827931241
0.21711	0.00398	0.3980	3.980330112
0.34674	0.00619	0.6197	6.197554092
0.34497	0.00616	0.6167	6.167279569
0.33764	0.00604	0.6041	6.041905413
0.34269	0.00612	0.6128	6.128281878
0.32593	0.00584	0.5841	5.841614641
0.33515	0.00599	0.5999	5.99931583

จากผลการวัด % entrapment efficiency ของอนุภาคไมโครแคปซูลที่บรรจุยา quercetin ที่เตรียมจาก poloxamer 188 25 mg + poloxamer 407 25 mg และ zein-folic acid 10 mg พบว่าเมื่อเทียบกับ standard curve หา % entrapment efficiency เฉลี่ยได้เท่ากับ 5.5230% ซึ่งมีปริมาณน้อย ซึ่งอาจเกิดได้จากสาเหตุดังนี้ อัตราการกำจัดตัวทำละลายที่ช้า²⁵ หรือปริมาณยาที่เราใส่เยอะเกินไป ทำให้ไม่สามารถกักเก็บตัวยาได้

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของ polaxamer 188 และ poloxamer 407 ในการเตรียมอนุภาคไมโครแคปซูล จากพอลิเมอร์ซินที่มีการดัดแปลงโครงสร้างโดยการนำไปคอนจูเกตกับ folic acid เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยา quercetin ไปยังเซลล์มะเร็ง เมื่อทำการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ขนาดของอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และ zeta potential มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการเพิ่มปริมาณของ poloxamer 188 : poloxamer 407 ทำให้ขนาดอนุภาคไมโครแคปซูลมีขนาดเล็กลง จึงเลือกสูตรที่ 5 ซึ่งมี zein 100 mg poloxamer 188 25 mg และ poloxamer 407 25 mg เนื่องจากมีขนาดเล็กที่สุด มีการกระจายขนาดอนุภาคน้อยที่สุด และมี zeta potential ที่ห่างจาก 0 มากที่สุด มาศึกษาผลของ ZN-FA ต่อ โดยใช้ zein-folic acid ในปริมาณต่างๆ คือ 0, 10, 20, 50 mg พบว่าการเพิ่มปริมาณของ ZN-FA ทำให้ขนาดของอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และศักย์ซีตา เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงเลือกสูตรที่ 1 ซึ่งมี zein 100 mg และ zein-folic acid 10 mg เนื่องจากมีขนาดเล็กที่สุด มีการกระจายขนาดอนุภาคน้อยที่สุด และมี zeta potential ที่ห่างจาก 0 มากที่สุด เพื่อนำไป load ยา quercetin เพื่อหา % entrapment efficiency โดยผลการศึกษาการบรรจุยา quercetin ในระบบนำส่ง zein microencapsulation ที่เตรียมจาก poloxamer 188 25 mg + poloxamer 407 25 mg และ zein-folic acid 10 mg มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 746.825 ค่าการกระจายขนาดอนุภาคเท่ากับ 0.4265 และมีค่า zeta potential เท่ากับ -10.225 เมื่อไปเทียบกับ standard curve หา % entrapment efficiency ได้เท่ากับ 5.5230% จากภาพถ่าย กำลังขยาย 25 25 100 และ 2000 เท่าของโครงสร้างผลึก zein-folic acid, zein และ folic acid ตามลำดับ พบว่าโครงสร้างผลึกของ zein-folic acid มีการเกาะกันมากขึ้น ขนาดใหญ่ขึ้น เป็นผลึกมากขึ้นมากกว่า zein เดี่ยวที่ไม่ได้ต่อกับ folic acid และจากการพิสูจน์โครงสร้างด้วย FTIR พบว่าสเปกตรัมของ zein-folic acid มีหน้าตาคล้ายกับสเปกตรัมของ zein และพบ peak ที่มี wavenumber ของ folic acid แต่ peak สั้นจนเปรียบเทียบได้ยาก เนื่องจาก zein มีโมเลกุลใหญ่ จึงอาจบดบังพันธะที่เชื่อมต่อกับ folic acid ซึ่งคือพันธะ amide ทำให้สเปกตรัมดูยากขึ้น มองไม่ชัดเจน

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าระบบนำส่งยาในรูปแบบ microencapsulation ที่มีพอลิเมอร์ poloxamer 188 และ poloxamer 407 มีลักษณะด้านคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสมในการนำส่งยารวมถึงมีแนวโน้มช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยาเข้าสู่เซลล์มะเร็งมากขึ้น แต่จาก

การศึกษานี้ศึกษาเพียงคุณสมบัติของ microencapsulation ในด้านกายภาพเท่านั้น ซึ่งอาจเพิ่มการศึกษาในด้านอื่นๆ เช่น การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีหรือสมบัติทางชีววิทยา, การศึกษา cellular uptake, ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง, ศึกษาปริมาณเซลล์รอดชีวิต (%Viability) และอาจศึกษาเฉพาะเจาะจงในเซลล์มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งตับและท่อน้ำดี มะเร็งปอด และมะเร็งลำไส้ใหญ่มากขึ้นลงไปเพื่อในอนาคตอาจจะพัฒนาการศึกษาระบบนำส่งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยาเข้าสู่เซลล์มะเร็งมากขึ้นและอาจศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของมนุษย์เพื่อยืนยันความปลอดภัยเซลล์ปกติในมนุษย์ได้ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. นโยบายการต่อสู้กับโรคมะเร็งที่ถูกต้องเพื่อลดอุบัติการณ์ ลดภาวะทุพพลภาพ และการเสียชีวิตจากมะเร็งในประเทศไทย [Internet]. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล. [cited 2021Jul27]. Available from: https://www.si.mahidol.ac.th/th/hotnewsdetail.asp?hn_id=2422
2. Karthick V PS, Kumar VG, Kumar D, Shrestha LK, Ariga K, et al. Quercetin loaded PLGA microspheres induce apoptosis in breast cancer cells. *Applied Surface Science* [Internet]. Elsevier BV; 2019 Sep;487:211–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.05.047>.
3. Jeong J-H AJ, Kwon YT, Rhee JG, Lee YJ. Effects of low dose quercetin: Cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression. *Journal of Cellular Biochemistry* [Internet]. Wiley; 2009 Jan 1;106(1):73–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.21977>.
4. Khan F NK, Maqbool F, Ismail Hassan F, Abdollahi M, Nagulapalli Venkata K, et al. Molecular Targets Underlying the Anticancer Effects of Quercetin: An Update. *Nutrients* [Internet]. MDPI AG; 2016 Aug 29;8(9):529. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu8090529>.
5. Tarun G, Murthy RS. Patented microencapsulation techniques and its application. *Journal of Pharmacy Research*. 2011 Jul;4(7):2097-102.
6. Luo Y, Wang Q. Zein-based micro- AND Nano-particles for drug and NUTRIENT DELIVERY: A review. *Journal of Applied polymer Science*. 2014;131(16).
7. Shmeeda H, Amitay Y, Gorin J, Tzemach D, Mak L, Ogorka J, Kumar S, Zhang JA, Gabizon A. Delivery of zoledronic acid encapsulated in folate-targeted liposome results in potent in vitro cytotoxic activity on tumor cells. *Journal of Controlled Release*. 2010 Aug 17;146(1):76-83.
8. Formica JV, Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and chemical toxicology*. 1995 Dec 1;33(12):1061-80.
9. Boots AW LH, Schins Rp, Duffin R, Heemskerk JW, Bast A, Haenen GR. The quercetin paradox. *Toxicology and applied pharmacology*. 2007 Jul 1;222(1):89-96.
10. Boots AW HG, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European journal of pharmacology*. 2008 May 13;585(2-3):325-37.

11. Li Y YJ, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, Liu H, Yin Y. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients*. 2016 Mar;8(3):167.
12. Kashyap D MS, Sak K, Singhal p, Tuli HS. Molecular mechanisms of action of quercetin in cancer: recent advances. *Tumor Biology*. 2016 Oct;37(10):12927-39.
13. Murakami A AH, Terao J. Multitargeted cancer prevention by quercetin. *Cancer letters*. 2008 Oct 8;269(2):315-25.
14. Gomahi K GD, Rafiuddin Ahmed M, jayakumar R Quercetin incorporaated collagen matrices for dermal wound healing process inrat.
15. Russo M SC, Tedesco I, Bilotto S, Russo GL. The Flavanoid quercetin in disease prevention and therapy facts and fancies, *Biochem Pharmacol*.2012;83(1):6-15.
16. Yokesahachart C YP, Pajareon S, Niramitmahapanja S, Chardchopowpong B. Study on Physical and Thermal Properties of Edible Films from Modified Cassava Starch Incorporated with Zein Protein. *JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY, SIAM UNIVERSITY* [Internet]. 2019;14. Available from: <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/JFTSU/article/view/168143/133502>.
17. Luo Y, Wang Q. Zein-based micro- AND Nano-particles for drug and NUTRIENT DELIVERY: A review. *Journal of Applied polymer Science*. 2014;131(16).
18. Kariduraganavar MY HG, Amado S, Mitchell GR. Protein nanocarriers for targeted drug delivery for cancer therapy. *Nanocarriers for Drug Delivery*. 2019;;173–204.
19. Agnihotri N MR, Goda C, Arora M. Microencapsulation – A Novel Approach in Drug, ;2:1-20. *DARI-GJPS*.
20. Nesterenko A AI, Silvestre F, Durrieu V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Ind Crop Prod* 2013 ;42:469-79.
21. Tran PH, Tran TT. Design of Zein Conjugation and Surface Modification for Targeting Drug Delivery. *Current drug targets*. 2020 Mar 1;21(4):406-15.
22. Chuacharoen T, Sabliov CM. Zein nanoparticles as delivery systems for covalently linked and physically Entrapped folic acid. *Journal of Nanoparticle Research*. 2017;19(2).

23. Chuacharoen T, Sabliov CM. Zein nanoparticles as delivery systems for covalently linked and physically Entrapped folic acid. *Journal of Nanoparticle Research*. 2017;19(2).
24. Elgegren M, Kim S, Cordova D, Silva C, Noro J, Cavaco-Paulo A, et al. Ultrasound-assisted encapsulation of Sacha Inchi (*Plukenetia Volubilis* Linneo.) oil in alginate-chitosan nanoparticles. *Polymers*. 2019;11(8):1245.
25. Jyothi NV, Prasanna PM, Sakarkar SN, Prabha KS, Ramaiah PS, Srawan GY. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*. 2010;27(3):187–97.

ภาคผนวก

ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย

[illegible]

รายงานสรุปการเงิน

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ

การออกแบบและสังเคราะห์อนุพันธ์ซีนาซีนิดใหม่เพื่อใช้เตรียมเป็นอนุภาคไมโครแคปซูล

(Design and synthesis of novel zein derivative for preparation of microcapsule)

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ภก.ผศ.ดร.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 11 กุมภาพันธ์ 2564 ถึงวันที่ 11 เมษายน 2565

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 2 เดือน ตั้งแต่วันที่ 11 กุมภาพันธ์ 2564 ถึงวันที่ 11 เมษายน 2565

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 15,000 บาท เมื่อวันที่ เดือน ปี 18 มกราคม 2565

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการ	3,000 บาท	2,000 บาท	เหลือ 1,000 บาท
2. ค่าสารเคมีและวัตถุดิบ	10,000 บาท	10,000 บาท	เหลือ 0 บาท
3. ค่าโปสเตอร์	500 บาท	500 บาท	เหลือ 0 บาท
4. ค่าพิมพ์เอกสาร	500 บาท	300 บาท	เหลือ 200 บาท
5. ค่าวิทยานิพนธ์	1,000 บาท	500 บาท	เหลือ 500 บาท
รวม	15,000 บาท	13,300 บาท	เหลือ 1,700 บาท

(.....)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

การตรวจสอบการคัดลอกของจุลนิพนธ์โดยใช้โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์

Plagiarism Checking Report

Created on Apr 24, 2022 at 00:55 AM

Submission Information

ID	SUBMISSION DATE	SUBMITTED BY	ORGANIZATION	FILENAME	STATUS	SIMILARITY INDEX
2522509	Apr 24, 2022 at 00:55 AM	60210250@go.buu.ac.th	มหาวิทยาลัยบูรพา	Design and synthesis of novel zein derivative for preparation of microcapsule.docx	Completed	2.63 %

Match Overview

NO.	TITLE	AUTHOR(S)	SOURCE
1	Study on Physical and Thermal Properties of Edible Films from Modified Cassava Starch Incorporated with Zein Protein	Yokesahachart, Chanakorn	วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม
2	สารพฤษเคมี	วิภัฒ์เดียม สารานุกรมเสรี	Wikipedia
3	Cancer epidemiology of an aging population in Upper-Northern Thailand from 2013 to 2017	Daoprasert, Karnchana	วารสารการแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ
4	https://kb2tmp.psu.ac.th/psukb/bitstream/2010/8059/3/Acknowledgement.pdf	kb2tmp.psu.ac.th	kb2tmp.psu.ac.th_nutch