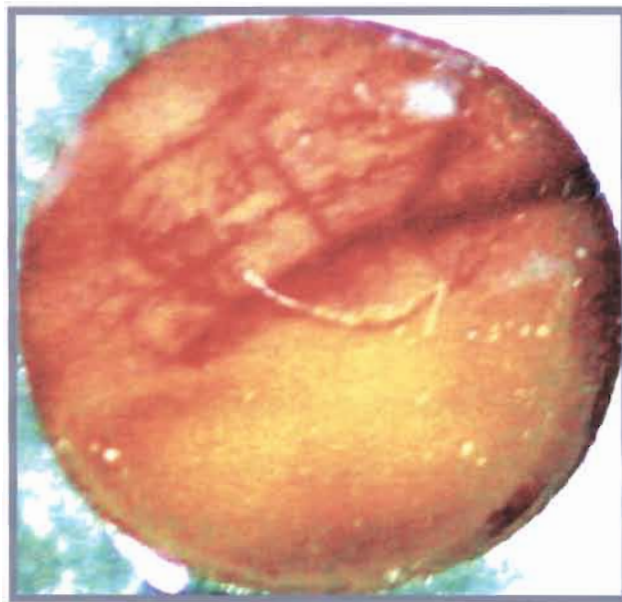


รายงานฉบับสมบูรณ์สำหรับ เงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2550

โครงการวิจัยเรื่อง

การพัฒนาเคอคูมินเพื่อใช้ในการยับยั้ง
การเติบโตของ เชลล์มะเร็งตับที่ปลูกบนผิวหนังของหนูตัวเมีย



โดย

รองศาสตราจารย์. ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช

ภาควิชา สรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ดร. โศรดา กนกพานนท์

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย) การพัฒนาเคอคูมินแพทช์เพื่อใช้ในการยับยั้งการเติบโตของ เซลล์มะเร็งตับที่
ปลูกบนผิวหนังของหนูผู้คโมสต์

(ภาษาอังกฤษ) The Development of Curcumin Patch for Inhibiting Growth of
Hepatoma Carcinoma Transplanted in Nude Mice Dorsal-Skin

ชื่อผู้วิจัย รศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช

ภาควิชา สรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อีเมลล์ suthilukp@yahoo.com

หมายเลขโทรศัพท์ 02-252-7854 ต่อ 104

02-256-4267 ต่อ 104

แฟกซ์ 02-252-7854

สัดส่วนที่ทำงานวิจัย 50 (%)

รับผิดชอบในขั้นตอนที่นำเคอคูมินแพทช์มาทดสอบในโมเดลสัตว์ทดลองที่เป็นมะเร็ง

อาจารย์ ดร.โสระดา กนกพานนท์

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อีเมลล์ sorada.k@chula.ac.th, soradakanok@yahoo.com

หมายเลขโทรศัพท์ 02-218-6867 (ตรง), 02-218-6878 (สุรการ),

แฟกซ์ 02-218-6877

สัดส่วนที่ทำงานวิจัย 50 (%)

รับผิดชอบในขั้นตอนที่ประดิษฐ์และ พัฒนา เคอคูมินแพทช์

ได้รับอนุมัติงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2550

งบประมาณที่ได้รับ 530,000 บาท ระยะเวลาทำการวิจัย ...1... ปี

เริ่มทำการวิจัยเมื่อ (เดือน ปี) ตุลาคม 2549 ถึง (เดือน ปี) กันยายน 2550

เลขหมู่ W 15

เลขทะเบียน 017295

วัน, เดือน, ปี 27ก.พ. 60

บทคัดย่อภาษาไทย

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย) การพัฒนาเคอร์คูมินแพทช์เพื่อใช้ในการยับยั้งการเติบโตของ เซลล์มะเร็งระดับที่ปลูกบนผิวหนัง ของหนูชนิดไมส์

คณะผู้วิจัย รศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช⁽¹⁾ และ ดร. โสธาดา กนกพานนท์⁽²⁾

⁽¹⁾ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ⁽²⁾ ภาควิชา วิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การพัฒนาระบบควบคุมการปลดปล่อย เคอร์คูมิน อย่างต่อเนื่อง เพื่อใช้ในการยับยั้งการเติบโตของ เซลล์มะเร็งระดับที่ปลูกบนผิวหนัง ของหนูชนิดไมส์ ในการวิจัยครั้งนี้ใช้ วิธี modified-hydrophilic hydrogel ของเจลาติน ให้มีหมู่ hydrophobics เพื่อให้สามารถควบคุมการปลดปล่อย เคอร์คูมิน อย่างต่อเนื่อง โดยตรงในบริเวณที่มีปลูกเซลล์มะเร็ง การทดลองนี้ใช้หนูชนิดไมส์ เพศผู้ (BALB/c-nude mice) อายุ 6-8 สัปดาห์ น้ำหนักตัวระหว่าง 22-25 กรัม ทำการปลูกถ่ายเซลล์เฮปจี-ทู (2×10^6 เซลล์) ลงใน dorsal skinfold chamber ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ที่ 2 วัน ภายหลังจากการติด chamber หนูชนิดไมส์ทั้งสองกลุ่มจะถูกฝังเจลาตินไฮโดรเจลที่มี(HepG2-cur- patch , n=6) และ ไม่มี เคอร์คูมินออกต์ (HepG2, n=6)

จากผลการทดสอบ in vitro แสดงการปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินดัดแปลงที่เวลาต่างๆ พบว่า แพทช์เคอร์คูมินชนิด “ CG 66 ” (หนัก 10 มิลลิกรัม) สามารถดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 40 มิลลิกรัม ใน 1 กรัมของแผ่น และโดยการใช้ปริมาณสารเชื่อมพันระดับเป็น 3 เท่าของคอเลสเตอรอล พบว่าแพทช์เคอร์คูมินชนิด “ CG 66 ” มีการย่อยสลายภายในระยะเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ สามารถ ยับยั้ง การเกิดหลอดเลือดใหม่ถึง ประมาณ 47% (14 วัน) และทำให้ขนาดของมะเร็งเฉลี่ยลดลง 73.18% (14 วัน) เมื่อเทียบกับหนูที่ไม่ได้รับเคอร์คูมิน

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Title **The Development of Curcumin Patch for Inhibiting Growth of Hepatoma Carcinoma Transplanted in Nude Mice Dorsal-Skin**

Authors **Assoc.Prof.Suthluk Patumraj [1] Dr. Sorada Kanokpanon [2]**
[1] Dept. of Physiology, Faculty of Medicine , [2]Dept. of Chemical Engineering Faculty of Engineering, Chulalongkorn University

This study aims to develop the hydrogel patch that is able to control the release of curcumin. As to use this curcumin patch in inhibiting tumor growth, the Hep-G2 implanted nude mice model was used.

By increased hydrophobics content, the modified-hydrophilic hydrogel was obtained. This modified-hydrogel patch, CG-66 (10mg) could contain 40 mg of curcumin per each gram of patch. And this CG-66 could slowly release curcumin within 14 days of its biodegradable period. BALB/c-nude mice weighing 22-25g with aged 6-8 weeks was used and separated into three groups; control, HepG-2, and HepG-2 with curcumin patch (HepG-2-cur). Two days after the tumor cell was inoculated in the dorsal-skinfold chamber, the patch with and without curcumin were inserted in the chambers of HepG-2-cur and HepG-2, respectively. The results showed that there was a significant decrease in number of neocapillaries in HepG-2-cur than in HepG-2 by 47% (14 days). Besides, the tumor size of HepG-2-cur (14 days) was markedly small progress than HepG-2 by 73.18% (14 days).

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	iii
สารบัญตาราง.....	v
สารบัญภาพ.....	vi
เนื้อเรื่อง	
บทนำ.....	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของ โครงการวิจัย.....	3
ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	3
ทฤษฎีสมมติฐานหรือกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย.....	4
แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย.....	4
วิธีดำเนินการวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง.....	4
ผลการทดลอง.....	8
สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป.....	18
บรรณานุกรม.....	22
ประวัติผู้วิจัย.....	24

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณหมู่อะมิโนอิสระในโครงสร้างของเจลาตินตัดแปลง.....	11
ตารางที่ 3.2 แสดงผล Percentage of Capillaries Density.....	17
ตารางที่ 3.3 แสดงผลจากการใช้โปรแกรมิวิเคราะห์ขนาดมะเร็ง.....	18

สารบัญญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1a ในวันที่ 2 นำหนูควบคุมมาใส่ PBS patch (control).....	5
รูปที่ 1b ในวันที่ 2 นำหนูควบคุมมาใส่ Curcumin patch (HepG2-cur patch).....	5
รูปที่ 2 Dtermiantion of Neocapillary Density using Global Lab II software.....	7
รูปที่ 3 การวิเคราะห์ขนาดของมะเร็งโดยโปรแกรม Image Pro II.....	8
รูปที่ 4 การปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินตัดแปลง (หนัก 2 มิลลิกรัม) ซึ่ง ดูดซับเคอร์คูมิน 10 มิลลิกรัมต่อแผ่น และใช้ปริมาณสารเชื่อมพันระเป็น 1, 2 และ 3 เท่า (โดยโมล) ของคอเลสเทอรอล ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) อุณหภูมิ 37 °C.....	12
รูปที่ 5 การปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินตัดแปลง(หนัก 2 มิลลิกรัม) ซึ่ง ดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 15 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น และใช้ปริมาณสารเชื่อม พันระเป็น 1, 2 และ 3 เท่า (โดยโมล) ของคอเลสเทอรอล ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) อุณหภูมิ 37 °C.....	13
รูปที่ 6 การปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินตัดแปลง (หนัก 2 มิลลิกรัม) ซึ่ง ดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 20 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น และใช้ปริมาณสารเชื่อม พันระเป็น 1, 2 และ 3 เท่า (โดยโมล) ของคอเลสเทอรอล ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) อุณหภูมิ 37 °C.....	14
รูปที่ 7 การปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินตัดแปลง(หนัก 2 มิลลิกรัม) ซึ่ง ดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 40 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น และใช้ปริมาณสารเชื่อม พันระเป็น 1, 2 และ 3 เท่า (โดยโมล) ของคอเลสเทอรอล ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) อุณหภูมิ 37 °C.....	15
รูปที่ 8 CG 66 (หนัก 10 มิลลิกรัม) ซึ่งดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 40 มิลลิกรัม/กรัม แผ่น ใช้ปริมาณสารเชื่อมพันระเป็น 3 เท่าของคอเลสเทอรอล เพื่อให้มีการ ย่อยสลายภายในระยะเวลาประมาณ 2 สัปดาห์.....	16
รูปที่ 9 a-c แสดงตัวอย่างของการเกิดหลอดเลือดใหม่ที่เกิดขึ้นแต่ละกลุ่มในวันที่ 14 หลังการปลูกเซลล์มะเร็ง.....	17
รูปที่ 10 ภาพแสดงมะเร็งในหนูชนิดไมส์กลุ่ม 14 วัน.....	18
รูปที่ 11 แสดงการปลดปล่อยเคอร์คูมินออกมาแล้วแพร่ไปสู่เซลล์มะเร็ง.....	20
รูปที่ 12 ปริมาณเคอร์คูมินที่พบในพลาสมาหลังจากการใส่เคอร์คูมิน แพ้ทซึ่ง บรรจุเคอร์คูมินที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.4 มก. ที่ระยะเวลาต่างๆ (mean ± SD, n=3).....	21

บทนำ (Introduction)

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ดังเป็นที่ทราบกันว่าในขณะนี้ สาเหตุการตายของคนในประเทศไทยที่สูงที่สุด คือ สาเหตุจากโรคมะเร็ง และที่สำคัญคือมากกว่า 7 ล้านคนต่อปีเมื่อเทียบกับประชากรของโลกที่เสียชีวิตจากโรคมะเร็ง (Greenlee *et al.*, 2000) เป็นที่น่าสังเกตุว่าประชากรในทวีปเอเชีย มีอัตราการตายหรือมีการเกิดโรคมะเร็งชนิดสำไส้ น้อยกว่าทางทวีปอื่นๆ ดังนั้นจึงมีนักวิจัยหลายกลุ่มที่หันมาสนใจในเรื่องชนิดของอาหารที่รับประทานเป็นประจำ โดยคิดว่าคงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้ อุบัติการณ์ของการเกิดโรคมะเร็ง ในแต่ละประเทศนั้นแตกต่างกัน

พบว่าอุบัติการณ์ของการเกิดโรคมะเร็ง ในประเทศทางยุโรปและอเมริกาเหนือ นั้นเมื่อนำมาเทียบกับประเทศในเอเชียเช่น ศรีลังกา พบว่าอัตราการตายด้วยโรคมะเร็ง ในประเทศศรีลังกา นั้นเพียง 1/ 5-7 ของประชากรในอเมริกา

ในปี คศ. 2001 Sharma และคณะ ได้ทำการวิจัยและรายงานถึงความสำคัญของสารอาหารที่ช่วยในการต้านมะเร็ง (anti-cancer agents) ที่สำคัญได้แก่ “Turmeric” ซึ่งเป็นผงที่ใช้ในการประกอบอาหารที่คนไทยเราเรียกกันว่า ผงขมิ้น ซึ่งได้จากรากของสมุนไพรที่สำคัญชนิดหนึ่งคือ *Curcuma longa* Linn. “ขมิ้นชัน”

ในขมิ้นชันมีสารที่มีโครงสร้างเป็น “low molecular weight polyphenol : curcumin (diferuloyl methane)” ที่มีรายงานว่าเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคต่างๆ มาเป็นเวลานานในอดีต โดยเฉพาะในประเทศอินเดียและประเทศทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Ammon and Wahl, 1991) ดังมีรายงานวิจัยจำนวนมากที่เชื่อว่า curcumin มีฤทธิ์เป็น anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-viral, anti-parasitic และเมื่อไม่นานมานี้พบว่า curcumin ยังมีฤทธิ์เป็น chemopreventive agent against cancer (Kelloff *et al.*, 1997).

จากการศึกษาวิจัยจำนวนมากที่ช่วยยืนยันถึงผลของ curcumin ว่ามีฤทธิ์เป็น anti-angiogenesis คือ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของหลอดเลือดใหม่ที่มะเร็ง จึงทำให้เซลล์มะเร็งไม่สามารถเจริญและแบ่งเซลล์ได้ โดยงานวิจัยเหล่านั้นทำการศึกษาด้วยเซลล์มะเร็งที่ต่างชนิดกัน อาทิเช่น เซลล์มะเร็งของผิวหนังและ เซลล์มะเร็งของลำไส้ แต่ผลก็ตรงกันคือ curcumin สามารถยับยั้งการเจริญและแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งได้ ไม่ว่าจะ เป็น เซลล์มะเร็งที่ต่างชนิดกัน ทั้งนี้เพราะกลไกที่ curcumin สามารถยับยั้งคือ การเจริญของหลอดเลือดใหม่ที่มะเร็งทุกชนิดจำเป็นต้องอาศัยกระบวนการนี้ (Huang, *et al.*, 1997, Rao *et al.*, 1995, Singh *et al.*, 1998) แต่ก็มีนักวิจัยบางกลุ่มที่เชื่อว่า curcumin สามารถยับยั้งในกระบวนการแบ่งเซลล์ด้วย โดยผ่านทาง nuclear factor-KB and activator protein-1 (AP-1) (Huang *et al.*, 1991)

จากผลการวิจัยของคณะผู้วิจัย พบว่า curcuminoid (Sigma Co. 95%) ในขนาด 3000มก./กก.น.น. ตัว สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งระดับที่ปลูกในหนูชนิดโมสต์ได้โดยผ่านการยับยั้งการสร้างของ หลอดเลือดใหม่ (Yoysungneon *et al.*, 2005) โดยคณะผู้วิจัย พบว่า curcuminoid (Sigma Co. 95%) ใน ขนาด 3000มก./กก.น.น.ตัว สามารถยับยั้ง vascular endothelial growth factor (VEGF) and cyclooxygenase-2 (COX-2) (Yoysungneon *et al.*, 2006) ซึ่งมีรายงานว่าทั้ง VEGF และ COX-2 เป็น องค์ประกอบที่สำคัญสำหรับการสร้างหลอดเลือดใหม่ (Ferrara *et al.*, 1995; Rerrara, 1995; Kolch *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 1992; Eberhart *et al.*, 1994).

คณะผู้วิจัยได้ทำการทดลองโดยใช้เซลล์มะเร็งตับ (Human Hepatoma American Type; HepG-2) ปลูกในหนูชนิดโมสต์ เพื่อศึกษาผลของขมิ้นชันต่อการยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ จากงานวิจัยดังกล่าว พบว่าการให้ curcumin ขนาด 3000มก./กก.น.น.ตัว สามารถยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ และลดขนาด ของมะเร็งที่ 14 วัน ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ curcumin ขนาด 300มก./กก.น.น.ตัว ไม่สามารถ ยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่และลดขนาดของมะเร็งได้ถึงแม้จะสามารถยับยั้ง vascular endothelial growth factor (VEGF) ได้ก็ตาม (Yoysungneon *et al.*, 2006) จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า curcumin สามารถดูดซึมที่ลำไส้ได้น้อยมาก และจากการนำข้อมูลจาก Bioavailability studies-curcumin (www.bioperin.com/BioWithCur.htm) มาคำนวณทำให้ทราบว่า การการให้ curcumin ขนาด 3000มก./ กก.น.น.ตัว ในหนูหนักประมาณ 30กรัม หนูจะได้รับ curcumin ที่ดูดซึมเข้าไปในพลาสมาเพียง ประมาณ **0.00027 um/ml of plasma** และ ถ้าหนูได้รับ 14วันโดยไม่มีการขับออกรวม curcumin ที่ควร จะมีอยู่ในพลาสมาคือ $14 * 0.00027 = 0.0038 \text{ um/ml of plasma}$

ดังนั้นปัญหาที่สำคัญที่ต้องทำการวิจัยต่อไปเพื่อให้สามารถนำ curcuminoid มาใช้กับผู้ป่วย มะเร็งได้สะดวกโดยที่ผู้ป่วยไม่ต้องรับประทานจำนวนมาก (high dose) คือการพัฒนากระบวนการควบคุม การปลดปล่อย (controlled release or sustained release system) ขยายอย่างต่อเนื่อง โดยใช้ modified-hydrophilic hydrogel ของเจลาติน โดยมีการปรับปรุงพื้นผิว (surface modification) ของเจลาตินซึ่งโดย ธรรมชาติสามารถละลายน้ำได้ดี ให้มีหมู่ hydrophobics เพื่อให้สามารถควบคุมการปล่อย curcuminoid อย่างต่อเนื่อง โดยตรงในบริเวณที่มีเซลล์มะเร็งให้เป็นไปอย่างช้าๆตามการสลายตัวของไฮโดรเจล

เจลาตินถูกเลือกใช้เพื่อการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ในงานวิจัยนี้ เนื่องจากเป็นวัสดุชีวภาพที่มีความปลอดภัยสูง เจลาตินเป็นโปรตีนที่เกิดจากกระบวนการทำให้ คอลลาเจน (collagen) เสียสภาพ คอลลาเจนเป็นโปรตีนธรรมชาติที่มีอยู่จำนวนมากใน ผิวหนัง กระดูก เอ็น เล็บ ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และในหนังของปลา เมื่อคอลลาเจนซึ่งมีโครงสร้างแบบ triple helix และไม่ละลายในน้ำ ถูก hydrolyse ด้วยกรด หรือ ด่าง จะเสียสภาพอย่างถาวร และได้ผลผลิตเป็นเจลาตินที่มีโครงสร้าง แบบ random coil และละลายได้ดีในน้ำในช่วงที่เอชที่กว้าง เจลาตินเป็น reversible thermo-set hydrogel กล่าวคือ เมื่อ ละลายน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า gel point (ประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส) จะเกิดเป็นเจล แต่เมื่อเปลี่ยน อุณหภูมิให้สูงกว่า gel point ก็จะสามารถเปลี่ยนสภาพกลับเป็นของเหลวได้อีก การใช้ประโยชน์จากเจ

ลาตินในร่างกายจึงจำเป็นที่จะต้องมีการ crosslink เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างของโมเลกุลให้เป็นเครือข่ายร่างแห โดยการเชื่อมหมู่อะมิโนและหมู่คาร์บอกซิลในโครงสร้างของเจลาตินอย่างถาวร ด้วยพันธะโควาเลนต์ การ crosslink เจลาตินสามารถทำได้หลายวิธีได้แก่ การใช้สารเคมี ประเภทอัลดีไฮด์ เช่น glutaraldehyde การใช้เอ็นไซม์ Transglutaminase การใช้ความร้อนร่วมกับกระบวนการคั่งน้ำออกจากโมเลกุล (dehydrothermal crosslink) การใช้แสงอัลตราไวโอเลต (UV) และการใช้ ลำแสงอิเล็กตรอน เป็นต้น (Ozaki and Tabata, 2005, Tabata and Ikada, 1998) การ crosslink มีผลต่อสมบัติการกายภาพ ทางกล และทางชีวภาพของแผ่นเจลาติน (gelatin hydrogel) กล่าวคือ เจลาตินจะไม่สามารถคืนสภาพเดิมได้อีก แม้จะมีการเปลี่ยนอุณหภูมิไปยัง gel point เพิ่มความแข็งแรง ลดการละลายในน้ำ ทนทานต่อกระบวนการ hydrolyse โดยน้ำ และทนทานต่อกระบวนการย่อยสลายโดยเอ็นไซม์ภายในร่างกาย การ crosslink ด้วยสารเคมีจะทำให้เกิดโครงสร้างเครือข่ายที่แข็งแรงที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่น มีการใช้แผ่นเจลาตินที่ crosslink ด้วย glutaraldehyde ในการส่งผ่านยา และ growth factor ต่างๆ เข้าสู่ร่างกายในระดับการทดลองทางคลินิกและระดับการค้า (Tabata and Ikada, 1998)

ระบบการควบคุมการปลดปล่อย (controlled release or sustained release system) ใช้อย่างต่อเนื่องโดยใช้ modified-hydrophilic hydrogel ของเจลาติน โดยมีการปรับปรุงพื้นผิว (surface modification) ของเจลาตินซึ่งโดยธรรมชาติสามารถละลายน้ำได้ดี ให้มีหมู่ hydrophobics เพื่อให้สามารถควบคุมการปลดปล่อย curcuminoid อย่างต่อเนื่องโดยตรงในบริเวณที่มีเซลล์มะเร็งให้เป็นไปอย่างช้าๆตามการสลายตัวของไฮโดรเจล

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1 สร้างผลิตภัณฑ์ ที่จะควบคุมการปลดปล่อยสาร curcuminoid โดยทดสอบอัตราการปลดปล่อยเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* release experiments)
- 2 นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาศึกษาและทดสอบ การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งระดับที่ถูกในหนูชนิดไมส์

ขอบเขตของโครงการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้จะใช้โมเดลสัตว์ทดลอง ที่ทำการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งระดับ ((เสีปจี-ทู) บนผิวหนัง โดยใช้(Dorsal Skin-fold Chamber) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดที่เกิดใหม่ [tumor angiogenesis] แล้วทำการเปรียบเทียบปริมาณของหลอดเลือดระหว่างกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับ สารสกัดจากขมิ้นชัน คือ curcuminoid ในเวลาต่างๆ คือ 7 และ 14 วัน โดยสิ่งสำคัญของงานวิจัยคือการอาศัยไฮโดรเจลที่วิเคราะห์ขึ้นเป็นตัวควบคุมการปลดปล่อยสาร curcuminoid เพื่อมุ่งหวังในการลดปริมาณ curcuminoid ซึ่งจะเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้สมุนไพรเพื่อการรักษาต่อไปในอนาคต

ทฤษฎีสถิตฐานหรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย (Conceptual Framework)

Hypothesis : การสลายตัวของไฮโดรเจลที่วิเคราะห์ขึ้นจะเป็นตัวควบคุมการปล่อยสาร curcumin ทำให้ได้ curcumin ในปริมาณที่เหมาะสม ณ จุดที่เกิดพยาธิสภาพโดยตรง ซึ่งได้จากการทำ implanted curcumin-patch within the tumor area โดย curcumin จะไปยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ทำให้เซลล์มะเร็งขาดเลือดไปเลี้ยง ทำให้ขนาดของก้อนมะเร็งเล็กลง

แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

เมื่อเสร็จสิ้นงานวิจัยจะทำให้ได้ผลงานวิจัยที่ส่งผลโดยตรงและโดยอ้อมคือ

ผลโดยตรงคือ

1. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ที่ควบคุมการปล่อยสาร curcuminoid ที่สามารถนำไปทำ Clinical trial ในผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อไป
2. การจดสิทธิบัตรอย่างน้อยภายในประเทศ
3. รายงานฉบับสมบูรณ์ 1 เล่ม

ผลโดยอ้อมคือ

1. เป็นโมเดลต้นแบบของการนำเทคโนโลยีทางวิศวกรรมเคมีมาใช้ในการพัฒนาสมุนไพรไทยที่ใช้ในการรักษาโรค ที่เดิมอาจคิดปัญหาในเรื่องของการที่ต้องรับประทานสมุนไพรปริมาณมากจึงจะได้ผลในการรักษา แต่ในขณะที่ผู้ป่วยอาจจะไม่สามารถรับประทานได้มาก
2. เป็นการช่วยลดปัญหาทางเศรษฐกิจของประเทศที่เกิดจากการสูญเสียในเรื่องของการนำเข้ายาเคมีบำบัด ซึ่งมีราคาสูงมาก (2-3 หมื่นบาทต่อ 14 วัน)

2. วิธีดำเนินการวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง

แผนงานวิจัยนี้เกิดจากความร่วมมือระหว่างอาจารย์คณะวิศวกรรมศาสตร์ และ คณะแพทยศาสตร์การวิจัยแบ่งได้เป็นขั้นตอนการวิจัยคือ

2.1. การเตรียมสัตว์ทดลอง (Animal preparation)

การทดลองนี้ใช้หนูชนิด BALB/c-nude mice อายุ 6-8 สัปดาห์ น้ำหนักตัวระหว่าง 22-25 กรัม จากศูนย์สัตว์ทดลองสาขา หนูชนิดนี้ทุกตัวได้รับอาหาร และน้ำดื่มปกติ อาศัยเลี้ยงในห้องปลอดเชื้อที่มีสิ่งแวดล้อมเดียวกัน ให้มีแสงสว่างและมีคในระยะเวลาทำกัน คือ 12 ชั่วโมง ก่อนการทดลองแต่ละครั้งหนูชนิดนี้จะถูกงดอาหารอย่างน้อย 6 ชั่วโมง แต่ได้รับน้ำดื่มตามปกติ

2.2. การเตรียมสัตว์ทดลองในการศึกษาผลของเจลาคตินไฮโดรเจลที่ควบคุมการปล่อยสารเคอร์คูมิน ในการป้องกันการเกิดหลอดเลือดใหม่ในหนูชนิดเมาส์ที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์เฮปจี-ทู

หลังจากเตรียมสัตว์ทดลองตามวิธีดังกล่าวข้างต้นแล้ว สัตว์ทดลองจะได้รับยาสลบ คือ Sodium pentobarbital ฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal; i.p) ปริมาณ 15 มิลลิกรัม / กิโลกรัม น้ำหนักตัว เมื่อสัตว์ทดลองสลบทำความสะอาดบริเวณผิวหนังด้านหลังของหนูชนิดเมาส์ด้วยแอลกอฮอล์ 70% แล้วทำการตัดผิวหนังด้านหลังเป็นวงกลมให้มีขนาดเท่ากับ chamber ประกอบตัว chamber เข้ากับผิวหนังส่วนนี้ โดยทำการเย็บส่วนผิวหนังให้ติดกับ chamber แล้วทำการปลูกถ่ายเซลล์เฮปจี-ทู (2×10^6 เซลล์) ลงใน chamber เรียกกลุ่มนี้ว่า HepG2- mice ขั้นตอนเหล่านี้ทำด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

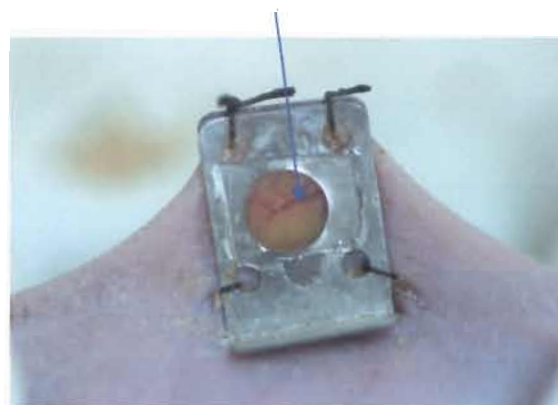
สำหรับหนูชนิดเมาส์ที่ใช้เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ มีขั้นตอนการติด chamber เช่นเดียวกับกลุ่ม HepG2 mice แต่ไม่ถูกปลูกถ่ายเซลล์เฮปจี-ทู เรียกกลุ่มนี้ว่ากลุ่มควบคุม (Control) 2 วัน ภายหลังจากการติด chamber หนูชนิดเมาส์ทั้งสองกลุ่มจะถูกฝังเจลาคตินไฮโดรเจล โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. หนูชนิดเมาส์ที่ไม่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์เฮปจี-ทู ได้รับการฝังเจลาคตินไฮโดรเจลที่บรรจุ PBS (HepG2, n=6) เช่นเดียวกับหนูกลุ่มควบคุม (Control, n=6)
2. หนูชนิดเมาส์ที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์เฮปจี-ทู ได้รับการฝังเจลาคตินไฮโดรเจลที่บรรจุ curcumin (HepG2-cur- patch, n=6)

บริเวณที่วางแผ่นเคอร์คูมินไฮโดรเจล



รูปที่ 1.a. ในวันที่ 2 นำหนูควบคุมมาใส่ PBS แผ่น [control]



รูปที่ 1.b. ในวันที่ 2 นำหนูมาใส่เคอร์คูมินแผ่น [HepG2-cur-patch]

เมื่อครบกำหนดคือ 7 และ 14 วัน จึงนำมาศึกษาผลของ เจลาคตินไฮโดรเจลที่บรรจุ curcumin ต่อการเกิดหลอดเลือดใหม่ซึ่งจะได้กล่าวรายละเอียดต่อไป

2.3. การเตรียมสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาผล และกลไกการออกฤทธิ์ของเจลาคตินไฮโดรเจล ต่อ angiogenesis

นำหนูชนิดเมาส์มาสลบด้วย Sodium pentobarbital ปริมาณ 15 มิลลิกรัม / กิโลกรัม น้ำหนักตัว ฉีดเข้าช่องท้อง นำ chamber ที่ประกอบอยู่กับผิวหนังออก แล้วทำการ canulate หลอดเลือดดำ (jugular vein) เพื่อเป็นช่องทางให้ยาสลบเพิ่มในระหว่างการทดลอง

การศึกษา angiogenesis จะศึกษาที่บริเวณผิวหนังด้านในที่ประกบกับตัว chamber จากนั้นจัดให้หนูชนิดไมส์นอนในท่าตะแคงเพื่อนำผิวหนังมาแผ่ให้ตั้งบนแผ่น parafin

2.4. การศึกษาหาปริมาณและการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดที่เกิดจากเซลล์เย็บ-ทู โดยวิธี *Intravital Fluorescence videomicroscopy*

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ ทำการฉีด FITC-dextran-250 ปริมาณ 5 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรของสารละลาย เข้าทางหลอดเลือดดำข้างลำคอที่ canulate ไว้ สารเรืองแสงนี้จะอยู่ในพลาสมา (plasma) ทำให้เห็นหลอดเลือดชัดเจนผ่านทางกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ และถ่ายทอขึ้นจอโทรทัศน์ และบันทึกในวิดีโอเทป โดยกล้องถ่ายวิดีโอชนิด SIT (Hamamatsu Co.) แบบ real time โดยมี video timer หลังจากเสร็จการทดลองจึงนำวิดีโอของแต่ละการทดลองวิเคราะห์หาการเกิดหลอดเลือดใหม่โดยโปรแกรมสำเร็จรูป Gobal Lab II (Datatranslation Co.) หลังจากนั้นนำชิ้นเนื้อบริเวณที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์เย็บ-ทูไปตัดทำการศึกษาโดยวิธี H&E แล้วนำมาอ่านผลเพื่อศึกษาขนาดของเซลล์มะเร็ง

2.5. การเตรียมแผ่นเคอร์คูมินไฮโดรเจล

เมื่อได้สารละลาย cholesterol grafted gelatin (3% wt/wt) มาหล่อแบบด้วย Teflon molds แล้วทิ้งให้เย็นที่ -30°C แล้วจึงนำมาทำปฏิกิริยา Crosslink กับ glutaraldehyde in acetone:water (75:25) mixture for 24 hours at 4°C [2-3]. สาร glutaraldehyde ที่มากเกินไปจะถูกกำจัดออกโดย 0.1M glycine solution เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และ สาร glutaraldehyde ที่มากเกินไปจะถูกล้างออกโดย de-mineralized water ได้เป็นที่ต้องนำไป freeze dried เป็นเวลา 2-3 วันแล้วเก็บรักษาไว้ในที่แห้งสนิท

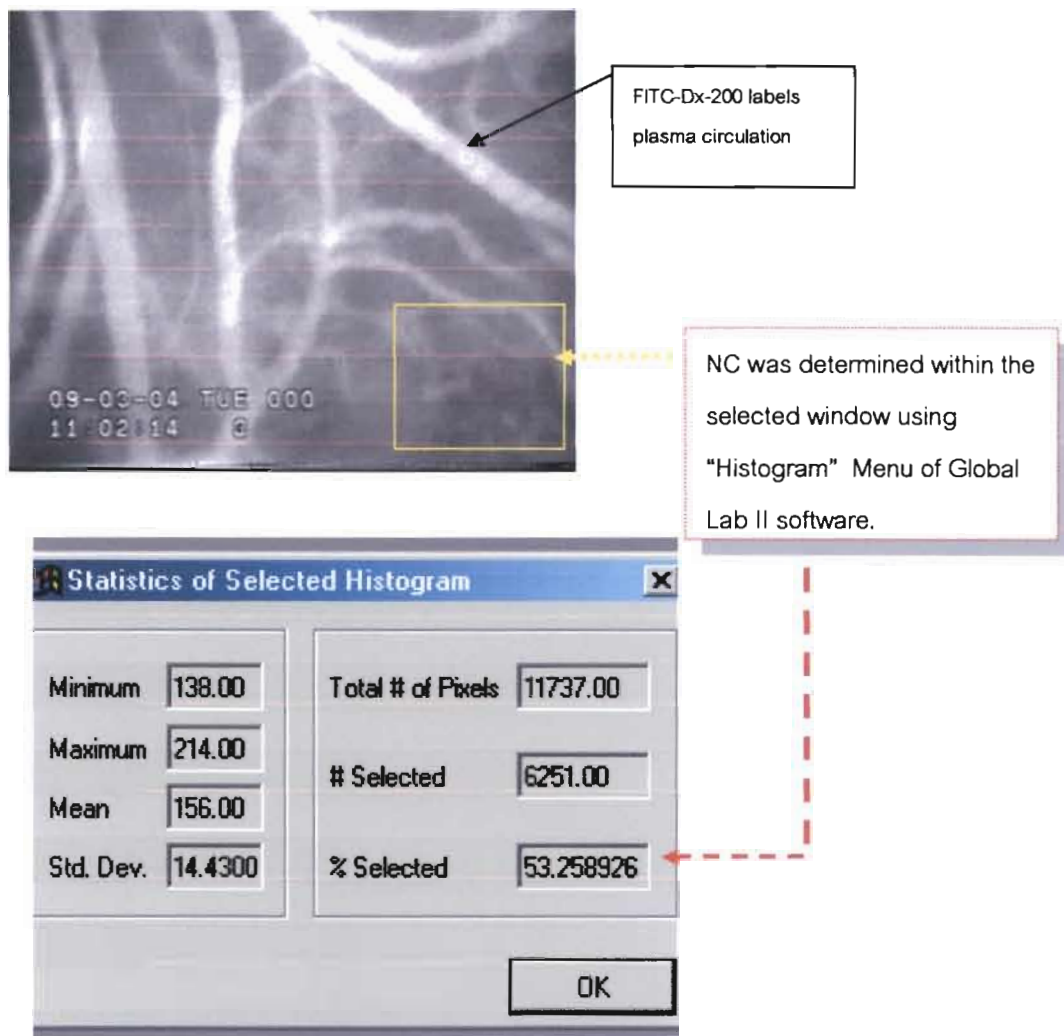
Curcuminoid จะถูกละลายด้วย ethyl alcohol หรือ Sodium hydroxide หรือ DMSO ที่ความเข้มข้นต่างๆ และถูกดูดซับเป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง ลงบนแผ่นเจลาตินดัดแปลงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และเก็บไว้ในภาชนะปลอดเชื้อก่อนการใช้งาน แผ่นเจลาตินดัดแปลงที่ดูดซับ curcuminoid จะถูกแช่ในสารละลาย biological buffer ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการเก็บตัวอย่างสารละลายที่เวลาต่างๆ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของ curcuminoid ที่ถูกปลดปล่อยออกมาโดยกระบวนการแพร่ (diffusion) จนกระทั่งไม่มีการแพร่ออกมาอีก แล้วแผ่นเจลาตินจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน (trypsin) จนละลายทั้งหมด และมีการวิเคราะห์ปริมาณ curcuminoid ทั้งหมดที่ถูกตรึงบนแผ่นเจลาตินด้วย hydrophobic interaction การวิเคราะห์ปริมาณ curcuminoid ทำโดยวิธี spectrophotometry และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Health et. al 2003, Cayman Chemicals, 1998)

2.6. การวิเคราะห์หาความหนาแน่นของหลอดเลือดในบริเวณที่ปลูกเซลล์มะเร็ง (Neocapillary Density)

ณ วันที่ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ Microcirculation RU ความหนาแน่นของหลอดเลือดในบริเวณที่ปลูกเซลล์มะเร็ง (Neocapillary Density =NC) จะคำนวณโดย Software Image Analysis(ref. 8-9) หลอดเลือดในบริเวณที่ปลูกเซลล์มะเร็งจะสามารถมองเห็นได้โดยใช้สาร Florescein Isothiocyanate labeled Dextran (FITC-Dx-200, MW.=200,000) และจะถูกบันทึกเก็บภาพโดย Real

time video camera (Hamamatsu) ตลอคการทดลอง จากภาพที่อีควิดิโอจะนำมาวิเคราะห์ภายหลัง เพื่อหาความหนาแน่นของหลอดเลือดในบริเวณที่ถูกเซลล์มะเร็ง (Neocapillary Density =NC) โดยจะสามารถแสดงเป็นร้อยละต่อพื้นที่ที่ทำการศึกษาเท่าๆกัน โดยใช้ Software Digital Image Analysis ของ Datatranslation Global Lab II (USA) (ref. 8-9) (ดังรูป 2)

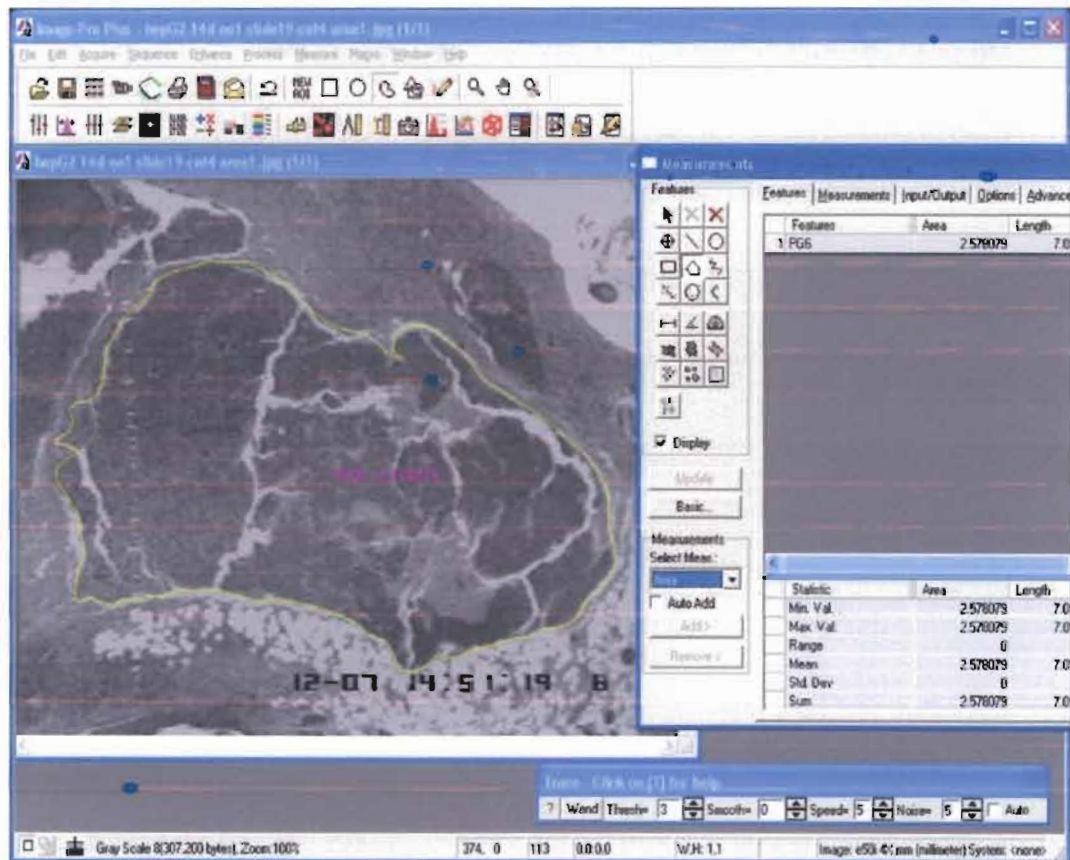
Determination of Neocapillary Density using Global Lab II Software



$$\text{Neocapillary density (NCD) (\%)} = \frac{\sum \text{number of pixels within the capillaries} \times 100}{\text{Total number of pixels within the selected area}}$$

2.7. การวิเคราะห์ขนาดของมะเร็ง โดยโปรแกรม IMAGE PRO II

ถูกบันทึกเก็บภาพโดย Real time video camera (Hamamatsu) ตลออการทดลอง จากภาพนำ slide มาอ้วดิไอจะนำมาวิเคราะห์ภายหลัง เพื่อหาขนาดของมะเร็ง ในบริเวณที่ปลูกโดยจะสามารถแสดงเป็นร้อยละต่อพื้นที่ที่ทำการศึกษาเท่าๆกัน โดยใช้ Software Digital Image Analysis ของ IMAGE PRO II (USA) ซึ่งใช้สะดวกกว่า Software Digital Image Analysis ของ Datatranslation Global Lab II (USA) (ดังรูปที่ 3)



การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในงานวิจัยนี้เปรียบเทียบค่าความแตกต่างของข้อมูล เพื่อศึกษาว่าค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติแบบที (t-test) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (Minitab system for Windows version 14, USA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P\text{-value} < 0.05$)

3. ผลการทดลอง

หมู่อะมิโน และหมู่คาร์บอกซิลที่มีเป็นจำนวนมากในเจลาตินทำให้สามารถที่ต่อเชื่อมโมเลกุลอื่นๆ ด้วยพันธะโควาเลนต์ได้ คณะผู้วิจัยได้ทดลองดัดแปลงโมเลกุลเจลาติน โดยทำการเชื่อมโมเลกุล-

ของคอเลสเตอรอลกับหมู่อะมิโนของเจลาติน พบว่ามีการเกิดพันธะ hydrophobic ระหว่าง curcumin กับ แผ่นเจลาตินดัดแปลง ทำให้ curcumin ไม่แพร่อกจากแผ่นเจลาติน หลังจาก 10 ชั่วโมงใน สารละลาย Biological buffer (Kanokpanont, 2005) ดังนั้นระบบดังกล่าวนี้จึงมีศักยภาพที่จะใช้ในการ ปลดปล่อย curcumin ในร่างกาย เนื่องจากจะมีการส่งผ่าน curcumin อย่างต่อเนื่อง เป็นเวลานาน โดยใน ระยะแรกจะเป็นการแพร่ และในระยะต่อไปการส่งผ่าน curcumin จะเป็นไปตามการสลายตัวของแผ่น เจลาตินในร่างกาย ซึ่งสามารถที่จะดัดแปลงได้โดยการปรับเปลี่ยนสภาวะในการ crosslink

3.1. In Vitro Study: การควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินภายนอกในร่างกาย

การแพร่ของเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินดัดแปลง (หนัก 2 มิลลิกรัม) โดยมีการดูดซับเคอร์คูมิน ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 10, 15, 20 และ 40 ไมโครกรัม/กรัมแผ่น นำไปแช่ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) ที่ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงแล้วแผ่นเจลาตินดัดแปลงจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน เพื่อหาปริมาณเคอร์คูมินที่ยังคงเหลือในแผ่นเนื่องจาก Hydrophobic Interaction กับคอเลสเตอรอล

การปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินดัดแปลงซึ่งดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 10 มิลลิกรัม/กรัม แผ่น แสดงดังรูปที่ 5 ตัวอย่าง CG125 ซึ่งผ่านการดัดแปลงโดยใช้สารเชื่อมพันธะปริมาณ 1, 2 และ 3 เท่า ของคอเลสเตอรอล มีการปลดปล่อยเคอร์คูมินออกจากแผ่นเจลาตินดัดแปลงอย่างรวดเร็วจนหมดใน 6 ชั่วโมง เนื่องจากเกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วของแผ่นเจลาตินดัดแปลง ทำให้ไม่มีปริมาณเคอร์คูมิน หลงเหลืออยู่ในแผ่นเจลาตินดัดแปลง ในขณะที่ CG100 เกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 12 เช่นกัน แต่เมื่อลดปริมาณคอเลสเตอรอลในการดัดแปลงลงเป็น CG75, CG66, CG50 และ CG25 มีการ ปลดปล่อยเคอร์คูมินออกจากแผ่นเจลาตินดัดแปลงอย่างรวดเร็วใน 2 ชั่วโมงแรก (โดยจะเรียกการแพร่ ของเคอร์คูมินในช่วงนี้ว่า 1st burst ซึ่งเกิดจากการแพร่ของเคอร์คูมินที่เกินพอและไม่ทำ Hydrophobic Interaction กับคอเลสเตอรอล) หลังจากนั้นมีการปลดปล่อยอย่างช้าๆ จนกระทั่งไม่เกิดการแพร่ของ เคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินดัดแปลงในระยะเวลาต่อมา เคอร์คูมินส่วนที่เหลืออยู่ในแผ่นเจลาติน ดัดแปลงถูกกักเก็บไว้ด้วย Hydrophobic Interaction ระหว่างเคอร์คูมินกับคอเลสเตอรอลและจะถูก ปลดปล่อยออกมาตามการสลายตัวของแผ่นเจลาติน

CG75 มีการปลดปล่อยเคอร์คูมินออกมามากกว่าแผ่นเจลาตินดัดแปลงที่มีร้อยละการดัดแปลง ด้วยคอเลสเตอรอลต่ำกว่าในระยะเวลาเดียวกัน แต่ไม่แตกต่างกันมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับ CG75 ซึ่ง ผ่านการดัดแปลงโดยเพิ่มปริมาณสารเชื่อมพันธะ ซึ่งมีการปลดปล่อยเคอร์คูมินออกมาประมาณ 45% ที่ เวลา 24 ชั่วโมงที่เหลืออีก 55% แสดงถึงความสามารถในการกักเก็บเคอร์คูมิน ของ CG75 ในขณะที่ CG25, CG50 และ CG66 มีการปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินดัดแปลง 20%, 30% และ 40% ตามลำดับ ที่เวลาเดียวกัน เมื่อดูดซับปริมาณเคอร์คูมินเพิ่มขึ้นเป็น 15 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น, 20 มิลลิกรัม/ กรัมแผ่น และ 40 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น พบว่าแผ่นเจลาตินดัดแปลงมีการปลดปล่อยเคอร์คูมินออกมา มากกว่าแผ่นเจลาตินดัดแปลงที่ดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 10 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น (รูปที่ 6 - 8) โดยแผ่นเจลาตินดัดแปลงซึ่งดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 40 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น มีการปลดปล่อยเคอร์คูมินมากที่สุด โดย

CG25, CG50, CG66 และ CG75 มีเคอร์คูมินหลงเหลืออยู่ประมาณ 73%, 59%, 51% และ 39% ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมง อาจเนื่องมาจากเคอร์คูมินมีปริมาณมากเกินไปทำให้แผ่นเจลาคินดัดแปลงไม่สามารถดูดซับได้หมด จึงเกิดการแพร่ออกมาจากแผ่นเจลาคินในปริมาณมาก จากรูปที่ 8 (ค.) สังเกตเห็นว่าเคอร์คูมินถูกปลดปล่อยออกมาอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเพิ่มปริมาณสารเชื่อมพันธะ (DSC) เป็น 3 เท่าของคอเลสเตอรอล จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการดัดแปลงโครงสร้างโดยใช้สารเชื่อมพันธะในปริมาณ 3 เท่าของคอเลสเตอรอลเริ่มควบคุมปริมาณเคอร์คูมินในการดูดซับไม่ได้ อาจเนื่องจากเมื่อเพิ่มปริมาณสารเชื่อมพันธะทำให้เกิดความสำเร็จในการเชื่อมพันธะระหว่างหมู่อะมิโนอิสระกับหมู่ไฮดรอกซิลที่สูงขึ้น (ตารางที่ 3.1) ทำให้อะมิโนอิสระมีปริมาณลดลงมากส่งผลให้สามารถเชื่อมโยงพันธะด้วยสารเคมี glutaraldehyde ได้น้อยลง ทำให้โครงสร้างของแผ่นเจลาคินดัดแปลงไม่แข็งแรงเกิดการสลายตัวได้ง่ายเคอร์คูมินจึงถูกปลดปล่อยออกมา ปริมาณเคอร์คูมินที่ยังเหลือบนแผ่นเจลาคินดัดแปลงภายหลังทดสอบการปลดปล่อยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แผ่นเจลาคินดัดแปลงเมื่อใช้สารเชื่อมพันธะในปริมาณ 1 เท่าของคอเลสเตอรอล ก็กักเก็บเคอร์คูมินได้น้อยลงเมื่อมีการใช้คอเลสเตอรอลมากขึ้น โดยเฉพาะเมื่อแผ่นเจลาคินดัดแปลงดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 20 และ 40 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น แสดงให้เห็นว่าสารละลายเคอร์คูมินความเข้มข้นสูงสามารถดูดซับบนแผ่นเจลาคินดัดแปลงที่มีโครงสร้างคอเลสเตอรอลสูงได้น้อยกว่าการที่มีคอเลสเตอรอลในโครงสร้างปริมาณมากอาจทำให้มีเคอร์คูมินแทรกเข้าไปได้น้อยกว่า เมื่อดัดแปลงโดยใช้สารเชื่อมพันธะในปริมาณ 2 เท่าของคอเลสเตอรอล แผ่นเจลาคินดัดแปลงสามารถกักเก็บเคอร์คูมินได้ไม่แตกต่างกับตัวอย่างที่ใช้สารเชื่อมพันธะ 1 เท่า แต่ความสามารถในการกักเก็บเคอร์คูมินลดลงมากอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้สารเชื่อมพันธะในปริมาณ 3 เท่าของคอเลสเตอรอลลักษณะเช่นนี้อาจแสดงถึง hydrophobic interaction ระหว่างคอเลสเตอรอลในโครงสร้างเองมีผลให้กักเก็บเคอร์คูมินน้อยลง ดังนั้นปริมาณคอเลสเตอรอลจึงมีผลต่อการดูดซับเคอร์คูมิน

ผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นความสำเร็จในการดัดแปลงโครงสร้างของเจลาคิน โดยสามารถควบคุมปริมาณคอเลสเตอรอลและอัตราการย่อยสลาย ซึ่งจะมีผลในการควบคุมปฏิกิริยาระหว่างเจลาคินดัดแปลงกับสารที่ไม่ละลายน้ำ (มีผลกับ dose ของสาร) และการควบคุมอัตราการปลดปล่อยสารผ่านทาง การควบคุมอัตราการย่อยสลายของแผ่นเจลาคินดัดแปลง 1st burst ของเคอร์คูมิน ก็อาจจะทำให้ผลดีในการทำให้มีการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์สูงในระยะสั้นๆ ของการย่อยสลายของแผ่นเจลาคินน้อย ซึ่งจะมีการทดสอบความสามารถในการส่งผ่านเคอร์คูมินในร่างกายโดยใช้แผ่นเจลาคินดัดแปลงในหัวข้อต่อไป

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณหมู่อะมิโนอิสระในโครงสร้างของเจลาตินดัดแปลง (means \pm SD, n=3)

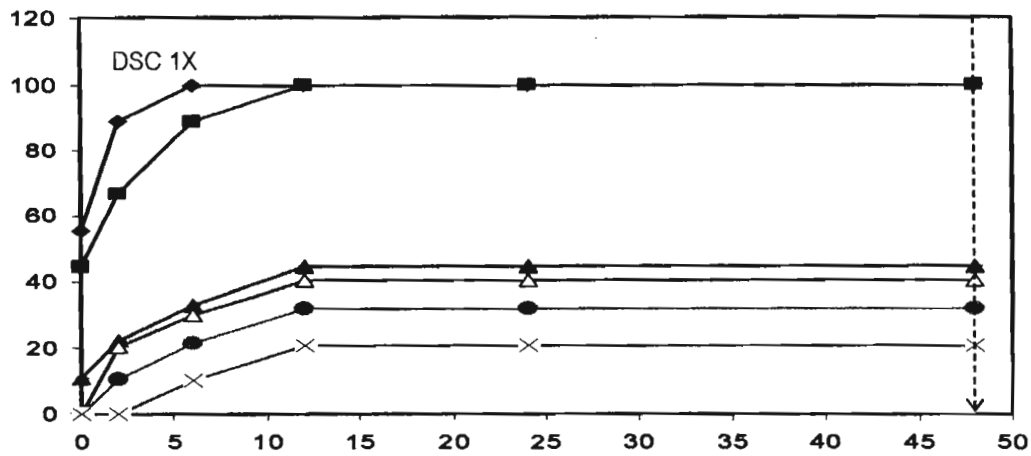
รหัส	ใช้สารเชื่อมพันธะ		ใช้สารเชื่อมพันธะ		ใช้สารเชื่อมพันธะ	
	1 เท่าของคอเลสเทอรอล		2 เท่าของคอเลสเทอรอล		3 เท่าของคอเลสเทอรอล	
	ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ ($\mu\text{g/g}$) $\times 10^2$	ร้อยละของหมู่อะมิโนอิสระที่ลดลง	ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ ($\mu\text{g/g}$) $\times 10^2$	ร้อยละของหมู่อะมิโนอิสระที่ลดลง	ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ ($\mu\text{g/g}$) $\times 10^2$	ร้อยละของหมู่อะมิโนอิสระที่ลดลง
G	360.68 \pm 0.04	-	360.68 \pm 0.04	-	360.68 \pm 0.04	-
CG25	345.14 \pm 0.02	4.30	313.58 \pm 0.01 #	13.06	267.54 \pm 0.01* # δ	25.82
CG50	311.46 \pm 0.01	13.64	286.06 \pm 0.01* #	20.68	215.34 \pm 0.01* # δ	40.29
CG66	298.05 \pm 0.01*	17.36	276.01 \pm 0.02* #	23.47	198.41 \pm 0.01* # δ	44.98
CG75	278.48 \pm 0.01*	22.79	256.26 \pm 0.01* #	28.95	188.88 \pm 0.01* # δ	47.63
CG100	263.13 \pm 0.01*	27.04	238.27 \pm 0.01* #	33.94	168.43 \pm 0.02* # δ	53.30
CG125	250.08 \pm 0.01*	30.66	213.75 \pm 0.01* #	40.73	132.27 \pm 0.01* # δ	63.33

*, #, δ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับ G เมื่อใช้สารเชื่อมพันธะในปริมาณ 1x, 2x, 3x ของปริมาณคอเลสเทอรอลทั้งหมด (โมล) ตามลำดับ ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

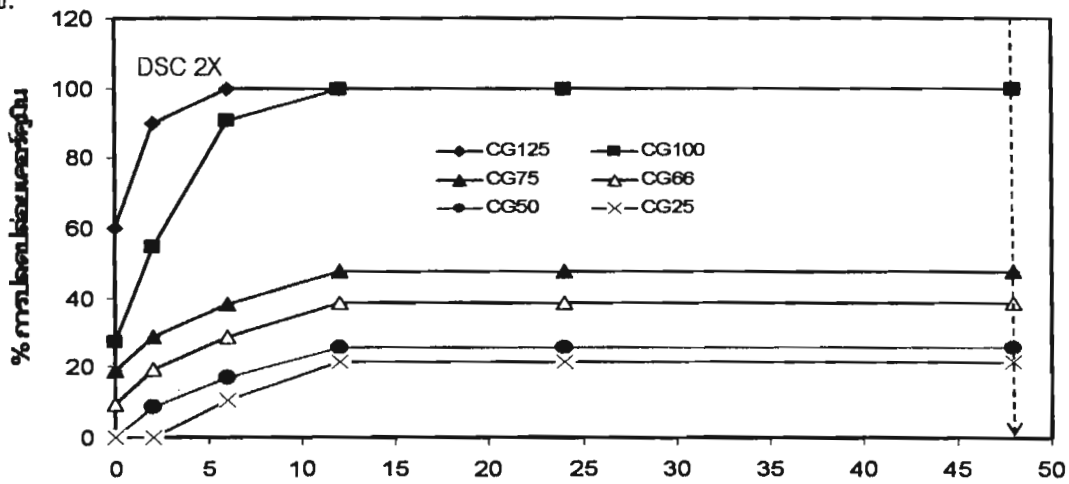
จากผลการทดสอบโครงสร้างของแผ่นเจลาตินดัดแปลงดังแสดงในตารางที่ 3.1 จึงนำเอาแต่ละชนิดของเจลาตินที่ผ่านการดัดแปลงโครงสร้างโดยใช้ปริมาณสารเชื่อมพันธะเป็น 1,2,3 เท่าของคอเลสเทอรอล (หนัก 2 มิลลิกรัม) นำไปดูดซับเคอร์คูมิน (ละลายในเอทานอล pH~6) นำมาทำการทดลอง *in vitro* โดยย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน เพื่อหาร้อยละของการปลดปล่อยเคอร์คูมิน ที่เวลาต่างๆกัน ดังแสดงในรูปที่ 4-7

ข้อด้วยแอนไซม์ทีริปซิน

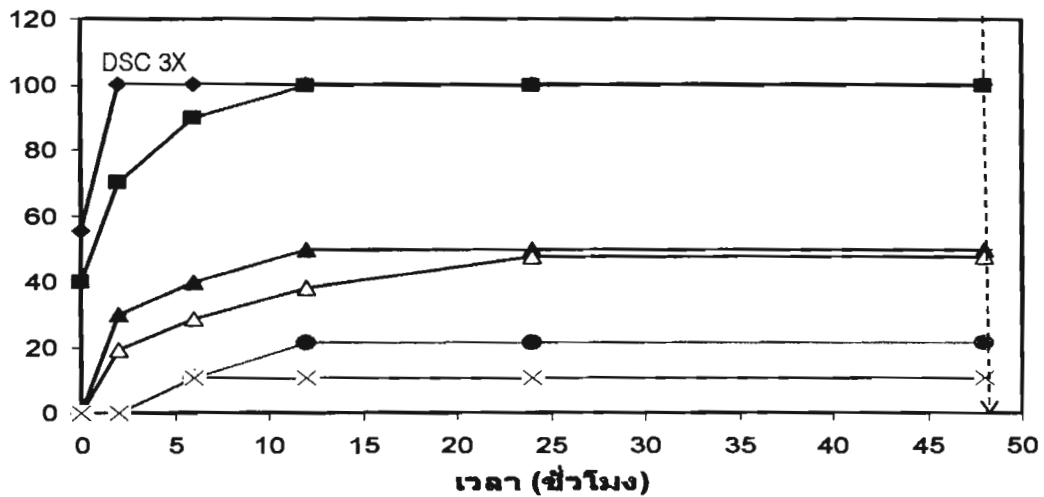
ก.



ข.



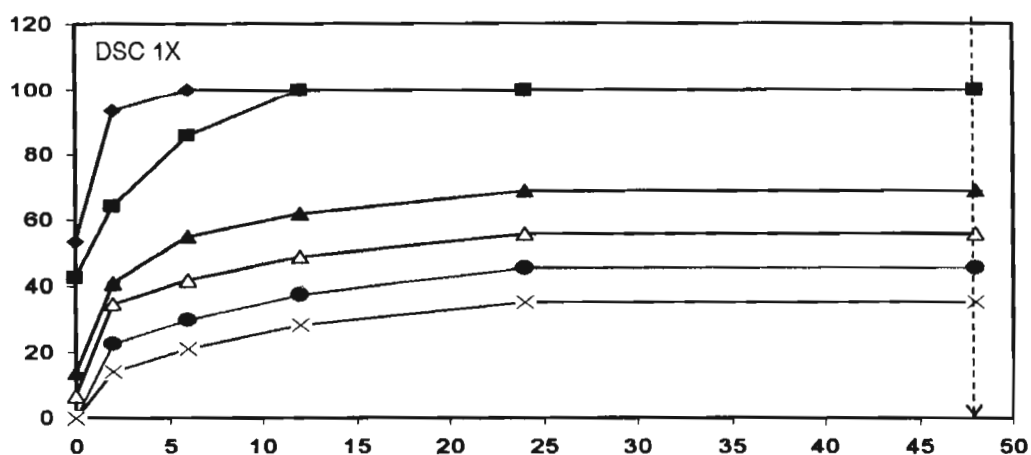
ค.



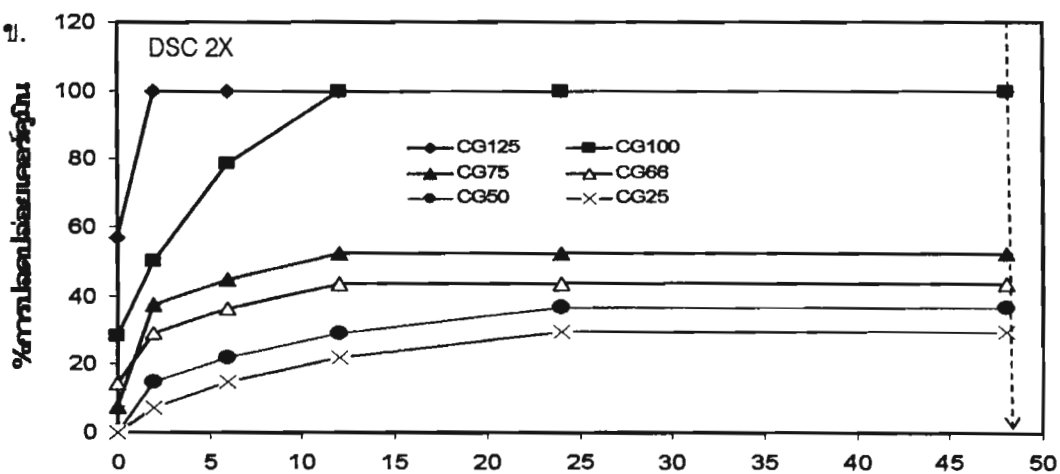
รูปที่ 4 การปลดปล่อยเซลล์จากแผ่นเจลาตินดัดแปลง (หนัก 2 มิลลิกรัม) ซึ่งดูดซับเซลล์ 10 มิลลิกรัมต่อแผ่น และใช้ปริมาณสารเชื่อมพันระเป็น 1, 2 และ 3 เท่า (โดยโมล) ของคอเลสเตอรอล ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) อุณหภูมิ 37 °C

ก.

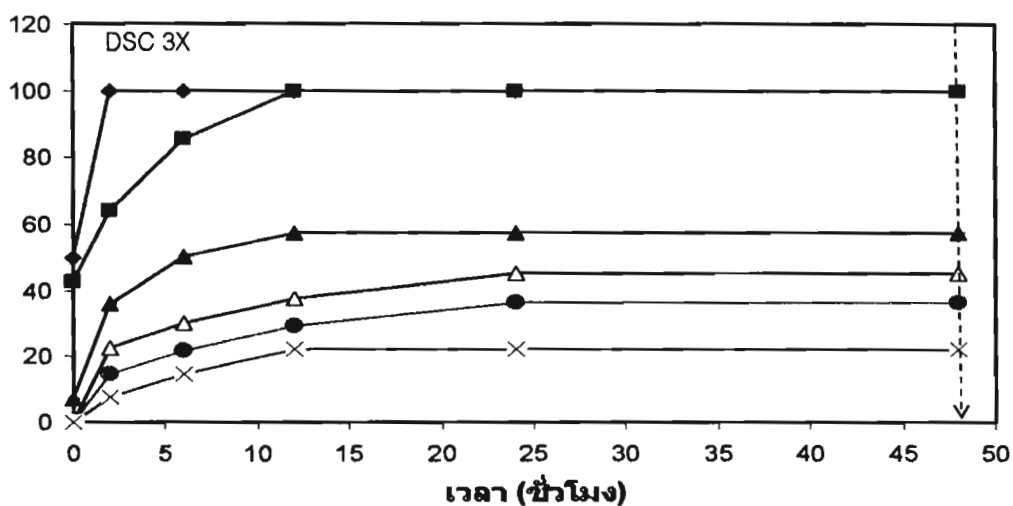
ย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน



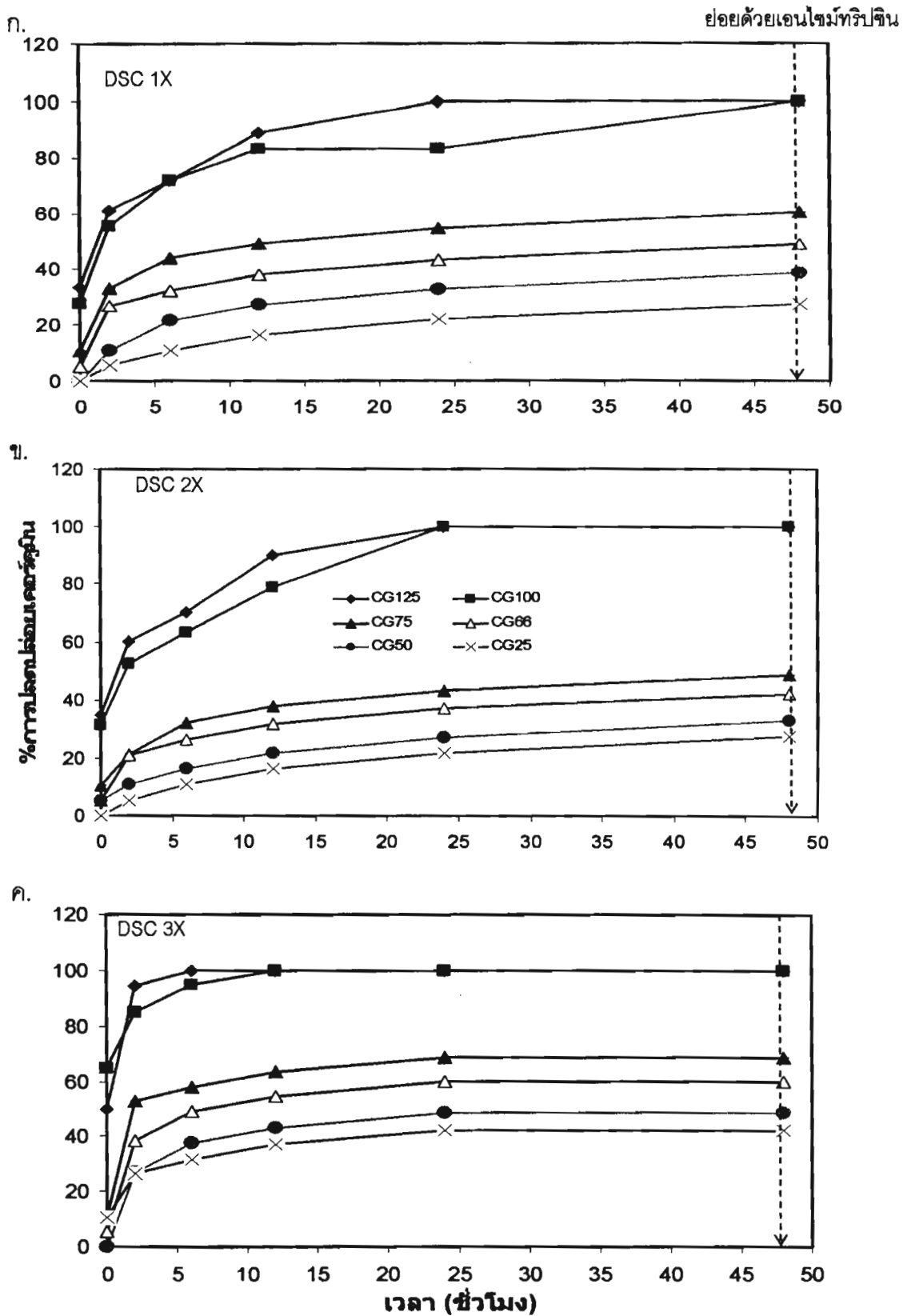
ข.



ค.



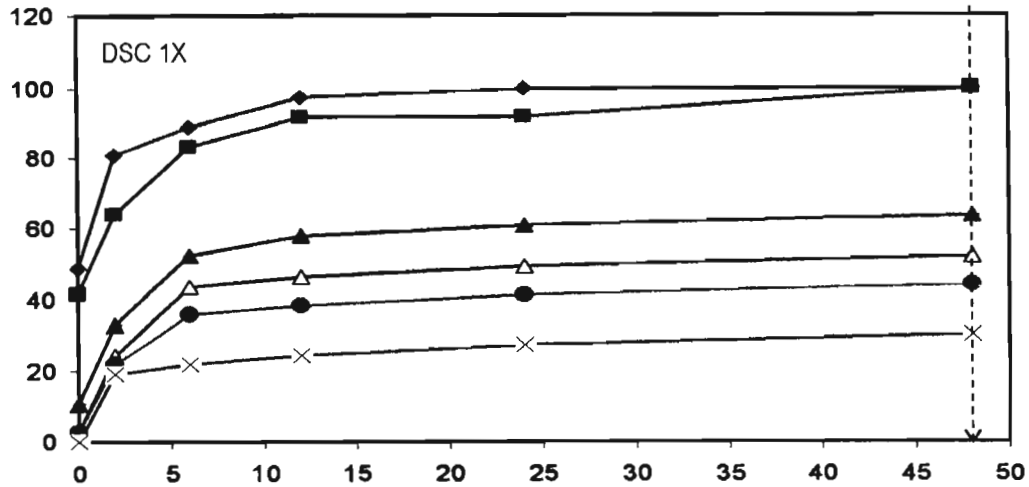
รูปที่ 5 การปลดปล่อยคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินดัดแปลง(หนัก 2 มิลลิกรัม) ซึ่งดูดซับคอร์คูมินปริมาณ 15 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น และใช้ปริมาณสารเชื่อมพันธะเป็น 1, 2 และ 3 เท่า (โดยโมล)ของคอเลสเตอรอล ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) อุณหภูมิ 37 °C



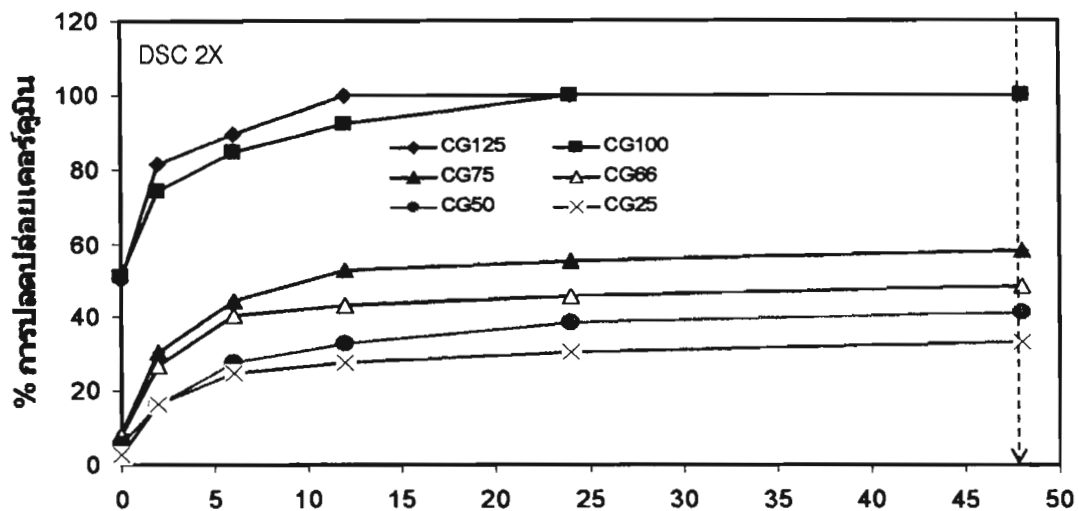
รูปที่ 6 การปลดปล่อยคอเลสเตอรอลจากแผ่นเจลาคตินดัดแปลง (หนัก 2 มิลลิกรัม) ซึ่งดูดซับคอเลสเตอรอล ปริมาณ 20 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น และใช้ปริมาณสารเชื่อมพันระเป็น 1, 2 และ 3 เท่า (โดยโมล) ของ คอเลสเตอรอล ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) อุณหภูมิ 37 °C

ก.

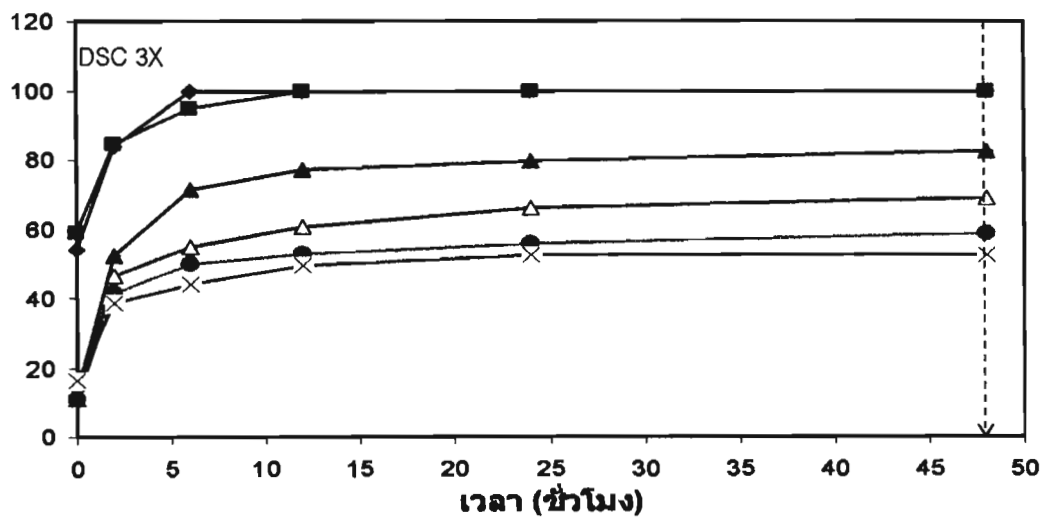
ย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน



ข.



ค.



รูปที่ 7 การปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาคตินดัดแปลง(หนัก 2 มิลลิกรัม) ซึ่งดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 40 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น และใช้ปริมาณสารเชื่อมพันระเป็น 1, 2 และ 3 เท่า (โดยโมล)ของคอเลสเตอรอล ในสารละลาย PBS pH 7.4 (0.01% Tween 80) อุณหภูมิ 37 °C

จากผลการทดสอบ *in vitro* ซึ่งแสดงการปลดปล่อยเคอร์คูมินจากแผ่นเจลาตินดัดแปลงที่เวลาต่างๆ จึงเลือกทดสอบ *in vivo* โดยใช้ **CG 66 (หนัก 10 มิลลิกรัม) ซึ่งดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 40 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น ใช้ปริมาณสารเชื่อมพันระดับเป็น 3 เท่าของคอเลสเตอรอล เพื่อให้มีการย่อยสลายภายในระยะเวลาประมาณ 2 สัปดาห์** แผ่นเจลาตินดัดแปลงถูกฆ่าเชื้อด้วยการอบเอริลินออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส แล้วนำไปดูดซับเคอร์คูมิน (ละลายในเอทานอล pH~6) จากนั้นนำไปทำการทดลองหนูทดลองทั้ง 3 กลุ่มเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ แล้วจึงนำมาทำการทดลอง Intravital Fluorescence microscopy เพื่อหาปริมาณ capillaries density ในบริเวณ chamber ที่ปลูกเซลล์มะเร็ง



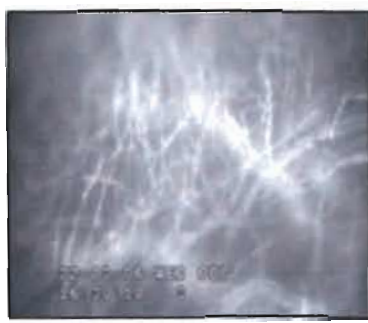
รูปที่ 8 CG 66 (หนัก 10 มิลลิกรัม) ซึ่งดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 40 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น ใช้ปริมาณสารเชื่อมพันระดับเป็น 3 เท่าของคอเลสเตอรอล เพื่อให้มีการย่อยสลายภายในระยะเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ 3.2. ผลการศึกษา *in vivo*

หลังจากที่ทำการปลูกถ่ายเซลล์เฮปจี-ทูแล้ว จึงใส่ เคอร์คูมินแพ็ท CG 66 (หนัก 10 มิลลิกรัม) ซึ่งดูดซับเคอร์คูมินปริมาณ 40 มิลลิกรัม/กรัมแผ่น ในบริเวณข้างๆ ส่วนกลางที่ปลูกเซลล์มะเร็งในวันที่ 2 (48 ชม. หลังการปลูกเพราะรายงานการวิจัยแสดงว่าเซลล์มะเร็งใน โมเดลนี้สามารถยื่นยื่น โดยพยาธิภายใน 24 ชม.) 14 วันหลังจากนั้นจึงนำมาศึกษาหาปริมาณหลอดเลือดใหม่ โดยวิธี intravital videomicroscopy ดังกล่าวในข้างต้น

ตัวอย่าง video image แสดงว่ากลุ่ม HepG2 จะมีปริมาณของหลอดเลือดใหม่เกิดขึ้นจำนวนมาก



a). Control 14 days



b). HepG2 14 days



c). HepG2-cur-patch 14 days

รูปที่ 9a-c แสดงตัวอย่างของการเกิดหลอดเลือดใหม่ที่เกิดขึ้นแต่ละกลุ่มในวันที่ 14 หลังการปลูกเซลล์มะเร็ง

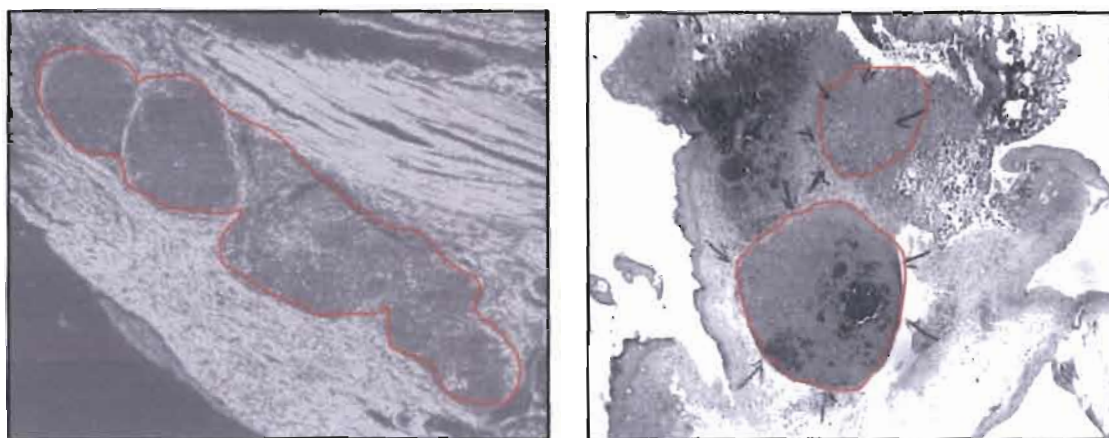
ตารางที่ 3.2 หลังจากทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Global Lab II และคำนวณหา Percentage of Capillaries Density ดังกล่าวแล้ว สามารถสรุปผลได้คือ

Control gr. (n=6)	HepG2 gr. (n=6)	HepG2-cur-patch (n=5)
32.18±3.37%	68.69±0.9%*	20.73±1.9%**

* P < 0.001 compared to control

** P < 0.001 compared to HepG2

หลังการตรวจโดยพยาธิแพทย์ขึ้นชั้นผลของการเกิดมะเร็ง จึงนำ slide H&E ของแต่ละกลุ่มที่พบ มาวิเคราะห์ เริ่มแรกจะคัดเลือกสไลด์ ที่มีก้อนมะเร็งอยู่ในชั้นกลางๆของก้อนมะเร็งซึ่งจะเป็นพื้นที่ก้อนมะเร็งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกว้างที่สุด ในการหาพื้นที่ก้อนมะเร็งนั้นจะใช้โปรแกรม Image Pro-Plus 6.1 โดยใช้คำสั่งในการวาดรูปแบบ Polygon เนื่องจากก้อนมะเร็งมีรูปร่างที่ไม่เป็นรูปทรง นอกจากนี้ก้อนมะเร็งยังมีลักษณะติดสี Hematoxylin เข้มมากกว่าส่วนของผิวหนัง จึงทำให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างก้อนมะเร็งและส่วนของผิวหนังได้ จากนั้นจึงลากเส้นวาดรูปตามขนาดก้อนมะเร็งดังรูป แล้วจึงนำมาวิเคราะห์หาพื้นที่ของก้อนมะเร็งเทียบแต่ละก้อน แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (ดังรูปที่ 10)



HepG2 14 days

HepG2-cur-patch 14 days

รูปที่ 10 ภาพแสดงมะเร็งในหนูชนิดไมส์กลุ่ม 14 วัน

ตารางที่ 3.3 ผลจากการใช้โปรแกรมวิเคราะห์ขนาดมะเร็งสรุปได้คือ

Hep-G2 -cur 2wk					
หนูตัวที่	area	tumor area	mean	section ที่ใช้พื้นที่ก่อนมะเร็ง	จำนวน cuts
2	2.1	0.7708	0.7708	slide 52, 54, 56	11
3	3.1	1.1443	0.91935	slide 29, 31	10
	3.2	0.6944			
5	5.1	0.7316	0.7316	slide 16, 19	9

HepG2 2wk					
หนูตัวที่	area	tumor area	mean	section ที่ใช้พื้นที่ก่อนมะเร็ง	จำนวน cuts
1	1.1	2.6363	2.5586	slide 16, 19	8
	1.2	2.4809			
2	2.1	4.4435	4.72665	slide 31, 33, 37	9
	2.2	5.0098			
6	6.1	1.7693	1.7693	slide 48	4

4. สรุปและข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

ดังที่ทราบกันดีว่า ขมิ้นชันมีสารที่มีโครงสร้างเป็น “low molecular weight polyphenol : curcumin (diferuloyl methane)” ซึ่งมีรายงานว่า เป็นองค์ประกอบที่สำคัญและมีฤทธิ์ในการรักษาโรคต่างๆ มาเป็นเวลานานในอดีต โดยเฉพาะในประเทศอินเดียและประเทศทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Ammon and Wahl, 1991) ดังมีรายงานวิจัยจำนวนมากที่เชื่อว่า curcumin มีฤทธิ์เป็น anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-viral, anti-parasitic พบว่า curcumin ยังมีฤทธิ์เป็น chemopreventive agent against cancer (Kelloff *et al.*, 1997).

จากการศึกษาวิจัยจำนวนมากขึ้นจนถึงผลของ curcumin ว่ามีฤทธิ์เป็น anti-angiogenesis คือความสามารถในการยับยั้งการเจริญของหลอดเลือดใหม่ที่มะเร็ง จึงทำให้เซลล์มะเร็งไม่สามารถเจริญและแบ่งเซลล์ได้ จากผลการทดลองโดยใช้เซลล์มะเร็งตับ (Human Hepatoma American Type; HepG-2) ปลูกในหนูชนิดไมส์ เพื่อศึกษาผลของขมิ้นชันต่อการยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ คณะผู้วิจัยพบว่า การให้ curcumin ขนาด 3000มก./กก.น.น.ตัว ต่อวัน สามารถยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ และลดขนาดของมะเร็งที่ 14 วัน ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ curcumin ขนาด 300มก./กก.น.น.ตัว ไม่สามารถยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่และลดขนาดของมะเร็งได้ถึงแม้จะสามารถยับยั้ง vascular endothelial growth factor (VEGF) ได้ก็ตาม (Yoysungneon *et al.*, 2006)

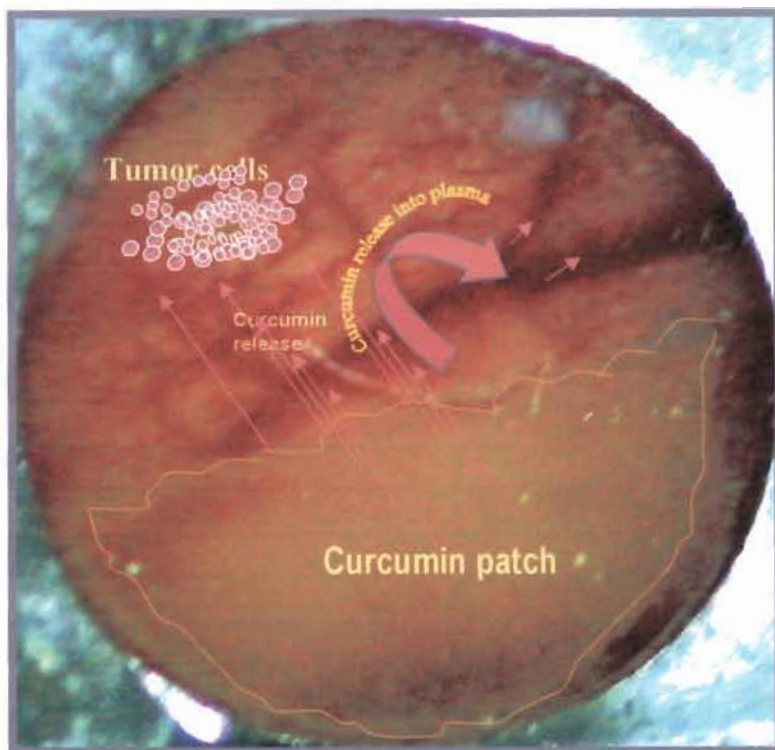
จากผลการทดลองพบว่าเจลาคินไฮโดรเจลที่ควบคุมการปล่อยสารเคอร์คูมินสามารถยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ในหนูชนิดไมส์ที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์เฮปจี-ทู 14 วันได้ และมีผลทำให้มะเร็งมีขนาดเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตามที่กล่าวมาแล้วว่าการให้ curcumin ขนาด 3000มก./กก.น.น.ตัว ในหนูหนักประมาณ 30กรัม หนูจะได้รับ curcumin ที่ดูดซึมเข้าไปในพลาสมาเพียงประมาณ 0.00027 ug/ml of plasma (www.bioperin.com/BioWithCur.htm) และถ้าหนูได้รับ14วันโดยสมมติว่ามีการขับออกน้อยมาก ดังนั้นรวม curcumin ที่ควรจะมีอยู่ในพลาสมาคือ $14 \times 0.00027 = 0.0038 \text{ ug/ml of plasma}$ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับปริมาณ เคอร์คูมินที่สามารถบรรจุในแท็บเล็ต ที่ใส่ให้หนูหนึ่งตัวและสลายหมดในระยะเวลา 14 วัน จะเท่ากับ 0.01mg หรือเท่ากับ 2.63 เท่าของการดูดซึมจากลำไส้ ($0.01/0.0038$)

ประสิทธิภาพของเคอร์คูมินแท็บเล็ตต่อการยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ในหนูที่ปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งตับ

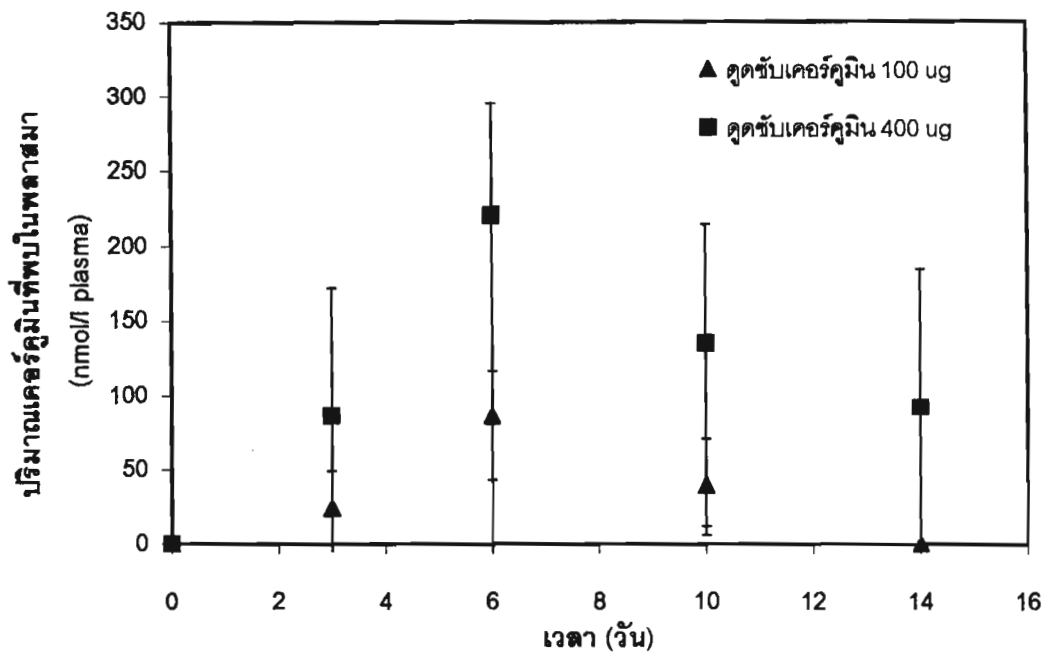
ดังที่กล่าวมาแล้วคณะผู้วิจัยได้ทำการทดลองโดยใช้เซลล์มะเร็งตับ (Human Hepatoma American Type; HepG-2) ปลูกในหนูชนิดไมส์ เพื่อศึกษาผลของขมิ้นชันต่อการยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ จากงานวิจัยดังกล่าวพบว่า การให้ curcumin ขนาด 3000มก./กก.น.น.ตัว สามารถยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ ที่ 14 วัน ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ curcumin ในขนาดที่น้อยกว่า 300มก./กก.น.น.ตัว จะไม่สามารถยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่และลดขนาดของมะเร็งได้ถึงแม้จะสามารถยับยั้ง vascular endothelial growth factor (VEGF) ได้ก็ตาม (Yoysungneon *et al.*, 2006) จึงเห็นได้ว่า ประสิทธิภาพของเคอร์คูมินในการยับยั้งมะเร็งนั้นจำเป็นต้องใช้ปริมาณเคอร์คูมินในขนาดที่เหมาะสม หรืออาจกล่าวได้ว่าฤทธิ์ของเคอร์คูมินเป็น “dose dependent manner”

จากการศึกษาโดยคณะผู้วิจัย (Yoysungneon *et al.*, 2006) พบว่า curcumin ขนาด 3000มก./กก.น.น.ตัว สามารถยับยั้ง การเกิดหลอดเลือดใหม่ได้ ประมาณ 26 % (14 วัน) แต่จากการใช้เคอร์คูมินแท็บเล็ต พบว่า การเกิดหลอดเลือดใหม่ถูกยับยั้งไปถึง ประมาณ 47 % (14 วัน)



รูปที่ 11 แสดงการปลดปล่อยเคอร์คูมินออกมาแล้วแพร่ไปสู่เซลล์มะเร็ง

จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า เคอร์คูมินที่บรรจุในแพทช์ (ใส่ ณ วันที่ 2 หลังจาก tumor deposit) สามารถปลดปล่อยเคอร์คูมินออกมาแล้วแพร่ไปสู่เซลล์มะเร็งได้โดยตรง ทำให้ยับยั้งการเกิดหลอดเลือดใหม่ ได้ดีกว่าการรับประทานเพราะเคอร์คูมินสามารถดูดซึมที่ลำไส้แล้วเข้าสู่กระแสเลือดได้เพียง $0.0038 \text{ ug/ml of plasma}$ และจากเลือดแพร่ออกมาเนื้อเยื่อบริเวณที่มีเซลล์มะเร็งอาจน้อยลงอีกก็ได้ อย่างไรก็ตาม เคอร์คูมินที่บรรจุในแพทช์อาจสามารถแพร่เข้าสู่เลือดได้บ้างในทางกลับ คณะผู้วิจัยจึงทำการตรวจหาปริมาณ เคอร์คูมินในเลือดด้วย ดังแสดงในกราฟที่ 12



รูปที่ 12 ปริมาณเคอร์คูมินที่พบในพลาสมาหลังจากการใส่เคอร์คูมิน แพ้ทซึ่งบรรจุเคอร์คูมินที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.4 มก. ที่ระยะเวลาต่างๆ (mean \pm SD, n=3)

ข้อเสนอแนะ

คณะผู้วิจัยคิดว่าถึงประดิษฐ์ เคอร์คูมินแพ้ท นี้ควรได้รับการพัฒนาต่อไปเพื่อนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยโดยเฉพาะมะเร็งที่ผิวหนังได้ต่อไป

โดยปัญหาและอุปสรรคคือการทำให้ได้มาตรฐาน ได้ปริมาณของ เคอร์คูมิน ในแต่ละแพ้ทแน่นอนและสามารถคำนวณให้ได้ปริมาณที่เพียงพอกับขนาดของมะเร็ง

หมายเหตุ

เนื่องจากคณะผู้วิจัยจะพยายามดำเนินการจดสิทธิบัตรสิ่งประดิษฐ์ เคอร์คูมินแพ้ท นี้ จึงยังไม่สามารถ ตีพิมพ์เผยแพร่ได้

เอกสารอ้างอิง ของโครงการวิจัย

1. Sharma, R.A., Manson, M.M., Gescher, A., and Steward, W.P. (2001). Colorectal cancer chemoprevention: biochemical targets and clinical development of promising agents. *Eur.J.Cancer.*, 37, 12-2.
2. Kelloff, G.J., Hawk. E.T., Karp, J.E., Crowell, J.A., Boone, C.W., Steele, V.E., Lubet, R.A., and Sigman, C.C. (1997). Progress in clinical chemoprevention. *Semin.Oncol.*, 24, 241-252.
3. Folkman J. (1996). Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci. Am.*, 275: 150-154.
4. Hanahan, D. and Folkman, J. (1996). Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 86, 353-364.
5. Jones, M.K., Wang, H., Peskar, B.M., Levin, E., Itani, R.M., Sarfeh, I.J., and Tarnawski, A.S. (1999). Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nat.Med.*, 5, 1418-1423.
6. Ferrara, N., Carver Moore, K., Chen, H., Dowd, M., Lu, L., O'Shea, K. S., Powell Braxton, L., Hillan, K. J. and Moore, M. W (1996). Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 380, 439-442.
7. Lehr, H., Leunig, M., Menger, M.D., Nolte, D., and Messmer, K. (1993). Dorsal skinfold chamber technique for intravital microscope in nude mice. *Am.J.Pathol.*, 143, 1055-1062.
8. Patumraj S, Yoysungnoen P, Kachonrattanadet P., and Wirachwong P. Tumor Neocapillary Density in hepatocellular carcinoma cells Implanted Nude Mice Model. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.33, 2005:137-144
9. Yoysungnoen P., Wirachwong P., Bhattarakosol P., Patumraj S .Effects of curcumin on tumor angiogenesis and biomarkers, COX 2 and VEGF in Hep G2 implanted in nude mice model. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.33, 2005:127-136.
10. Kanokpanont, S, Controlled release of growth factor for tissue engineering applications (2005), Chulalongkorn University, Report of Non-degree Program, Thailand Japan technology Transfer Project
11. Hermanson, G T., Bioconjugate Techniques (1996) Academic Press ISBN 0-12-342336-8, p.156

12. Toledano, O, and Magdassi, S. (1997), Formation of surface active gelatin by covalent attachment of hydrophobic chains, *J Colloid and Interface Sci.*, 193, 172-177
13. Habeeb, AFSA (1966), Determination of free amino group in proteins by trinitrobenzenesulfonic acid, *Analytical Biochemistry* 14, 328-336
14. Ozaki, M, and Tabata, Y. (2005), In vivo degradability of hydrogel prepared from different gelatins by various cross-linking methods, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn* 16 (5), 549-561.
15. Health, D. D., Pruitt, M. A., Brenner, D. E., and Rock, C. L. (2003), Curcumin in plasma and urine: Quantitation by high performance liquid chromatography, *J Chromatography B*, 783, 287-295
16. Cayman Chemicals, product sheet of Curcumin (1998), catalogue number 81025
17. Tabata, Y. and Ikada, Y. (1998), Protein releases from gelatin matrix, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 31, 287-301.

● Secretary General Of Thai Society for Microcirculation

● Board of Editors of Clinical Hemorheology and Microcirculation (ISSN:1386-0291)

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

7.2.1.งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

ชื่อโครงการวิจัย	คณะผู้วิจัย	แหล่งทุน	ปีที่เริ่ม	ปีที่เสร็จ	ดัชนีวัด ความสำเร็จ
7.2.1.1 Relationship of Leukocyte Adhesion to Iris Blood Flow in Diabetic Rats : role of vitamin C	รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุม ราช ผศ.พญ.งามจิตต์ เกษตร สุวรรณ อ.ดร. อัมพร จาริยะพงศ์ สกุล	ทุนสนับสนุน การทำ วิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาฯ และทุน ส่งเสริมนักวิจัย รุ่นใหม่สกว. (ใน ฐานะอาจารย์ อาวุโส ของ อ. ดร. อัมพร จาริยะ พงศ์สกุล)	ก.ค. ๔๖	มี.ย. ๔๘	● ตีพิมพ์ระดับ นานาชาติ ๑ เรื่อง
7.2.1.2 Prevention of diabetic endothelial dysfunction : roles of vitamin c and curcumin การป้องกันการ สูญเสียหน้าที่ ของเอ็นโดทีเลียล เซลล์ในภาวะ เบาหวาน : บทบาทของ วิตามินซีและ เคอร์คูมิน	รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุม ราช รศ.พญ.ดร.นริสา พุ ตระกูล	ทุนงบประมาณ แผ่นดิน 2548	ค.ค. ๔๗	ก.ย. ๔๘	● รายงานฉบับ สมบูรณ์ ๑ เล่ม (จัดส่งฝ่ายวิจัย จุฬาฯ ตค.31.48) ● ตีพิมพ์ระดับ นานาชาติ ๑ เรื่อง ● นำเสนอการ ประชุมระดับ นานาชาติ ๑ ครั้ง

7.2.1.3. Inhibitory Effects of Curcumin on Tumor Angiogenesis in Hepatocellular Carcinoma Cells (Hep G2) Implanted Nude Mice Model	รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุม ราช รศ.ดร.ภาวพันธ์ ภัทร โกศล ดร.พรทิพย์ วิรัชวงศ์	ทุนอาชาสี	ร.ค. ๔๗	กย. ๔๕	<ul style="list-style-type: none"> ● กำลังจัดทำ รายงานฉบับ สมบูรณ์ ๑ เล่ม (100%) ● ตีพิมพ์ระดับ นานาชาติ ๒ เรื่อง ● นำเสนอการ ประชุมระดับ นานาชาติ ๒ ครั้ง
--	--	-----------	------------	--------	---

7.2.2. งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัย
คล้วแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

ชื่อโครงการวิจัย	คณะผู้วิจัย	แหล่งทุน	ปีที่ เริ่ม	ปีที่ เสร็จ	ดัชนีวัด ความสำเร็จ
7.2.2.1. การพัฒนาคอมพูนินเพื่อใช้ในการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งตับที่ปลูกบนผิวหนังของหนูถีบไ้มส์	รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช อ. ดร. โสธดา กนกพานนท์	ทุนวช. 2550	ต.ค. ๔๕	ก.ย. ๕0	กำลัง ดำเนินการ (20%)
7.2.2.2. ผลของเจนิสตีนต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดที่กระดูกในหนูที่ถูกตัดรังไข่ ทั้งสองข้าง	รศ.นพ. ประสงค์ ศิริวิริยะกุล รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช นางสาว อัจฉริยา ชนาวิรัตน์	ทุนวช. 2550	ต.ค. ๔๕	ก.ย. ๕0	กำลัง ดำเนินการ (20%)
7.2.2.3. Implantation of Human Papillomavirus Infected Cervical Cancer Cells into Animal Model	รศ.ดร. ภาวพันธ์ ภัทรโกศล รศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช รศ.นพ. สมชัย นิรุตติศาสตร์ ผศ.นพ.ดร. ปกรณ์ หังสสุต นาย มณฑล เลิศวปรีชา	ทุนวิจัยจาก สมโภช คณะ แพทยศาสตร์ จุฬ ๗	ก.ค. 49	เม.ย. 51	<ul style="list-style-type: none"> ● ตีพิมพ์ระดับ นานาชาติ 3 เรื่อง ● นำเสนอการ ประชุมระดับ นานาชาติ 2 ครั้ง (คล้วมากกว่า 50%)
7.2.2.4. In vivo study of neovascularization in	รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช Dr.Hideyuki Niimi	ทุน วิจัยจาก สมโภช คณะ	ก.ย. 50	สค.51	● นำเสนอการ ประชุมระดับ

biodegradable collagen scaffolds implanted mice	อ.นพ.ทนอม บวรณประเสริฐ	แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์			นานาชาติ 1 ครั้ง (ถูกล้าง 30%)
---	------------------------	--------------------------	--	--	-----------------------------------

8. Awards

- American Heart Fellowship, New Jersey, USA. 1987-1989.
- Young Investigator Award. The First Asian Congress for Microcirculation, 1993. Osaka, Japan.

9. Publications

1. Ritter AB, Patumraj S, Duran WN. Interstitial diffusion of macromolecules. Proc. 7th Annual Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Science 2: 117
2. Patumraj S, Ritter A.B., and Duran W.N. A Study of Coronary Macromolecular Transport In Diabetic Rats. Progress In Microcirculation Research 1993, Chapter 13: 403-406.
3. Patumraj S. สรีรวิทยาและสมุนไพรไทย Chula Med J. 1995;39(4) : 237-241.
4. Patumraj S. Roles of Garlic In Medicine Chula Med J. 1995;39(4) : 243-248.
5. Udayachalerm W, Jariyapongsakul A, Suwangool P, Patumraj S. Effects of ACE Inhibitor on Diabetic Cardiovascular Complications : Cardiac and vascular hypertrophy. Chula Med J. 1995; April 39(4) : 249-250.
6. Patumraj S, Jetapai U, and Udayachalerm W. Prevention of Diabetic Cardiovascular Complications by Garlic Extract. Microcirculatory Approach To Asian Traditional Medicine : Strategy for the Scientific Evaluation 1996, Chapter 12 : 107-116.
7. Patumraj S., Tewit S., Kasantikul V., and Udayachalerm W. Effects of Garlic Extract on Plasma Insulin, Lipid Profiles and Coronary Vascular Changes In STZ-rat. Proc. The Sixth World Congress for Microcirculation. Monduzzi Editores S.p.A. 1996 : 989-994.
8. Jariyapongsakul A, Niimi H, and Patumraj S. Cerebral Microvascular Response to Hemorrhagic Hypotension in Spontaneously Diabetic Rats : an intravital fluorescence microscopic analysis. Proc. The Sixth World Congress for Microcirculation. Monduzzi Editores S.p.A. 1996 : 977-982.
9. Jariyapongsakul , Niimi H, Kasantiikul V, Maneesri S, Patumraj S. Morphological changes of cerebral microvasculature in streptozotocin-induced diabetic rats : In vivo fluorescence and electron microscopic studies. In : Bunnag S.C., Srikiatkhachorn A., Patumraj S. (eds). Proc. The Third Asian Congress for Microcirculation. Monduzzi Editores S.p.A-Bologna (Italy). 1997: 239-245.

10. Amatyakul S, Patumraj S, Niimi H. The effect of topical adrenomedullin application on striated muscle microcirculation : a pilot study. In : Bunnag S.C., Srikiatkachorn A., Patumraj S. (eds). Proc. The Third Asian Congress for Microcirculation. Monduzzi Editores S.p.A-Bologna (Italy), 1997:229-231.
11. Kasantikul V, Jariyapongskul A, Patumraj S. Computer-assisted image analysis of microvasculature in benign and malignant gliomas. In : Bunnag S.C., Srikiatkachorn A., Patumraj S. (eds). Proc. The Third Asian Congress for Microcirculation. Monduzzi Editores S.p.A. Bologna (Italy), 1997: 61-66.
12. Patumraj S., Tewit S., Kasantikul V., Sempukdeekul P. The Study of Garlic Extract on Diabetic Coronary Vascular Complications. Microcirculation Annual 1997; 13: 31-34.
13. Patumraj S. Microcirculation : Endothelial Cell As A Transport Barrier. Endothelium. 1997 : 269-284.
14. Kasantikul V., Manesri S., Laticavibul W., Patumraj S. Ultrastructural Alterations of Blood Vessel in Hypertension and Diabetic Patients. Endothelium. 1997 : 269-284.
15. Anuntasethakul T, Srikiatkachorn , Manesri S, Patumraj S, Kasantikul V. Ultrastructural changes in endothelial cells of cerebral microvessels after exposure to nitric oxide donor. Neuropathology 1999; 19: 259-266.
16. Somboonwong J, Thanamitramanee S, Jariyapongskul A, Patumraj S. Therapeutic effects of Aloe vera on Cutaneous Microcirculation and Wound Healing in Second Degree Burn Model in Rats. J Med Assoc Thai 2000;83:417-425.
17. Patumraj S, Tewit S, Amatyakul S, Manesri S, Jariyapongskul A, Kasantikul V, Shepro D. Comparative Effects of Garlic and Aspirin on Diabetic Cardiovascular Complication. Drug Delivery 2000; 7:1-6.
18. Futrakul N, Panichakul T, Chaisuriya P, Sirisinha S, Futrakul P, Patumraj S. Endothelial Cell Cytotoxicity Induced by Nephrotic Serum. The Second Congress of the Federation of Immunological Societies of Asia-Oceania, Editors , Sirisinha S. , Chaiyaroj S. , Tapchaisri, P. Jan. 2000. Monduzzi Edi. S.p.A.
19. Futrakul N, Panichakul T, Chaisuriya P, Sirisinha S, Patumraj S, Futrakul P. Endothelial cell cytotoxicity and renal hypoperfusion in idiopathic nephrotic syndrome. Nephron 2000;86: 241-2.
20. Futrakul N, Bulthep P, Patumraj S, Futrakul P. Glomerular endothelial dysfunction and altered cytokines in severe nephrosis, Nephron. 2000;86:199.

21. Wattanachon U., Covavisaruch N., **Patumraj S.** A measuring tool for vascular wall thickness : an image analysis approach. Proc. The 4th National Computer Science and Engineering. Nov. 16-17,2000.
22. Amatyakul S., **Patumraj S.**, Niimi H. Effects of adrenomedullin on the cardiac performance and coronary flow in an isolated perfused rat heart model. Clinical Hemorheology and Microcirculation 23 (2000):269-275.
23. Srikiatkachorn A, Anuntasethakul T., Maneesri S., Phansuwan-Pujito P., **Patumraj S.**, and Kasantikul V. Hyposerotonin-induced nitric oxide supersensitivity in the cerebral microcirculation. Headache 2000 Apr; 40(4): 267-275.
24. Udayachalerm W., Vechakarn O., **Patumraj S.** Effects of ACE-I on Diabetic Cardiovascular complications : Anti-Hypertensive and Non-Anthihypertensive Doses. J Med Assoc Thai 2001;84 (Suppl 1): S306-S313.
25. Chakraphan D.,Thipakorn B., and **Patumraj S.** Changes of mesenteric microcirculation in chronic diabetic rats: A pilot study using invital fluorescense microscopy. Proc. 7th World Congress for Microcirculation. Aug. 19-22, 2001.
26. Srikiatkachorn A, Anuntasethakul T., Phansuwan-Pujito P., **Patumraj S.**, and Kasantikul V. Effect of serotonin depletion on nitric oxide induced cereberovascular nociceptive response. Neuroreport 2001 Apr; 12(50): 967-971.
27. Jariyapongskul A, **Patumraj S.**, Yamaguchi S, Niimi H. The effect of long-term supplementation of vitamin C on leukocyte adhesion to the cerebral endothelium in STZ- induced diabetic rats. Clinical Hemorheology and Microcirculation (2002) 27(1): 67-76.
28. Futrakul N, Tosukhowong P, Valyapongichit Y, Tipprukmas N, Futrakul P, **Patumraj S.** Oxidative stress and hemodynamic maladjustment in chronic renal disease : A therapeutic implication. Ren Fail 2002 Jul ; 24(4) : 433-45
29. Futrakul N, Boongen M, Tosukhowong P, **Patumraj S.**, Futrakul P. Treatment with vasodilators and crude extract of Ganoderma lucidun suppresses proteinuria in nephrosis with focal segmental glomerulosclerosis. Nephron. 2002 ; 92(3) : 719-20
30. Futrakul N, Tohsukhowong P, **Patumraj S.**, Siriviriyakuk P, Tipprukmas N, Futrakul P. Treatments of hemodynamic maladjustment and oxidative stress prevent renal disease progression in chronically severe glomerulonephritides. Ren Fail. 2003 Sep;25(5):839-44

31. Khemapech S., Monsiri K, **Patumraj S**, and Siriviriyakul P. Genistein replacement therapy for vasodilation disorder in bilateral ovariectomized rats. Clinical Hemorheology and Microcirculation, *IOS Press*. 2003; 29: 271-278.
32. Futrakul N, Boongen M, **Patumraj S**, Siriviriyakul P, Tosukhowong P, Futrakul P. Treatment of glomerular endothelial dysfunction steroid-resistant nephrosis with *Ganoderma lucidum*, vitamins C, E, and vasodilators. Clinical Hemorheology and Microcirculation, *IOS Press*. 2003; 29: 205-210.
33. Sridulyakul P, Chakraphan D, Bhattarakosol P, **Patumraj S**. Endothelial nitric oxide synthase expression in systemic and pulmonary circulation of streptozotocin induced diabetic rats : comparison using image analysis. Clinical Hemorheology and Microcirculation, *IOS Press*. 2003; 29: 423-428.
34. Futrakul N, Siriviriyakul P, Panichakul T, Butthep P, **Patumraj S**, Tosukhowong P, Futrakul P. Glomerular endothelial cytotoxicity and dysfunction in nephrosis with focal segmental glomerulosclerosis. Clinical Hemorheology and Microcirculation, *IOS Press*. 2003; 29: 469-477.
35. Futrakul P, Siriviriyakul P, Kulaputana O, **Patumraj S**, Bunnag S.C., Futrakul N. A hemodynamically mediated mechanism of renal disease progression in severe glomerulonephritides or nephrosis. Clinical Hemorheology and Microcirculation, *IOS Press*. 2003; 29: 183-188.
36. Duansak D, Somboonwong J., and **Patumraj S**. Effects of *Aloe vera* on leukocyte adhesion and TNF-alpha and IL-6 levels in burn wounded rats. Clinical Hemorheology and Microcirculation, *IOS Press*. 2003; 29: 239-246.
37. Amatyakul S, Chakraphan D, Chotpaibulpan S, and **Patumraj S**. The effect of long-term supplementation of vitamin C on pulpal blood flow in streptozotocin-induced diabetic rats. Clinical Hemorheology and Microcirculation , *IOS Press*. 2003; 29: 313-320.
38. Jariyapongskul A, **Patumraj S**, Niimi H. Cerebral endothelial dysfunction in diabetes: intravital microscopic analysis using streptozotocin-induced diabetic rats. Clinical Hemorheology and Microcirculation, *IOS Press*. 2003; 29: 331-335.
39. Molsiri K, **Patumraj S**, Siriviriyakul P. Preventive mechanism of genistein on coronary endothelial dysfunction in ovariectomized rats : An isolated arrested heart model. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.31 (2), 2004*

40. Chakraphan D, Sridulyakul P, Thipakorn B, Bunnag S.C, Huxley VA. **Patumraj S** : Attenuation of Endothelial Dysfunction by Exercise Training in STZ-Induced Diabetic Rats. Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.32, 2005 :217-226
41. **Patumraj S**, Yoysungnoen P, Kachonrattanadet P., and Wirachwong P. Tumor Neocapillary Density in hepatocellular carcinoma cells Implanted Nude Mice Model. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.33, 2005 :137-144
42. Yoysungnoen P, Wirachwong P, Bhattarakosol P, and **Patumraj S**. Antiangiogenic activity of curcumin in Hepatocellular carcinoma cells implanted nude mice. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.33, 2005 :127-136
43. Eamlamnam K, **Patumraj S**, Visedopas N, and Thong-Ngam D. Effects of Aloe vera and sucralfate on gastric microcirculatory changes, cytokine levels and gastric ulcer healing in rats. *World J Gastroenterology* ISSN1007-9327 vol.12, 2006 : 2035-2040
44. Prabjone R, Thong-Ngam D, Wisedopas N, Chatsuwan T, and **Patumraj S**. Anti-inflammatory effects of *Aloe vera* on leukocyte-endothelium interaction in the gastric microcirculation of *Helicobacter pylori*-infected rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.33, 2006 :9:56
45. Yoysungnoen P, Wirachwong P, Bhattarakosol P, Niimi H, and **Patumraj S**. Effects of curcumin on tumor antiangiogenesis and biomarkers : COX-2 and VEGF *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 :109-116.
46. Niimi H, **Patumraj S**, and J.-Y.Han. Asian traditional medicine (ATM) : Recent progress based on scientific evidences. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 85 - 88.
47. Siriviriyakul P, Khemapech S., Monsiri K, and **Patumraj S**. The vascular effect of genistien : What is its mechanism, nitric oxide or PGL₂ ?. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 97 – 101.
48. Jariyapongskul A , **Patumraj S** and Niimi H. Effects of Yahom on the regional cerebral blood flow in rat using fluorescence videomicroscopy. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 139 – 144.
49. Futrakul N, Butthep P, **Patumraj S** , Siriviriyakul P and Futrakul P. Microvascular disease and endothelial dysfunction in chronic kidney disease : Therapeutic implication. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 265 – 271.

50. Jariyapongskul A , Rungjaroen T, Kasetsuwan N, **Patumraj S** and Niimi H. Chronic changes of the iris microvasculature of streptozotocin – induced diabetic rats using fluorescence videomicroscopy. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 283 - 293.
51. Amatyakul S, Chakraphan D, Chotpaibulpan S, and **Patumraj S**. Role of exercise training on pupal blood flow in diabetic rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 295 - 301.
52. Chanawirat A, Khemapech S, **Patumraj S** and Siriviriyakul P. Genistien replacement therapy on endothelial dysfunction and bone loss in bilateral ovariectomized rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 309 - 314.
53. Sridulyakul P, Chakraphan D and **Patumraj S**. Vitamin C supplementation could reverse diabetes-induced endothelial cell dysfunction in mesenteric microcirculation in STZ-rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 315 - 321.
54. Daroonwan Chakraphan, Patarin Sridulyakul, Bundit Thipakorn, Srichitra Bunnag, Virginia H. Huxley, Suthiluk Patumraj Leukocyte-endothelial cell interaction is attenuated by low-intensity exercise training and vitamin C supplementation in diabetic rats. *Asian Biomed Journal*. 2007;1: 67-75.
55. Amporn Jariyapongskul , Tippawan Rungjaroen , Ngamjit Kasetsuwan , Suthiluk Patumraj, Junji Seki , Hideyukii Niimi. Long-term effects of oral vitamin C supplementation on the endothelial dysfunction in the iris microvessels of diabetic rats. *Microvasc Res*. 2007 : 23; 174: 677-47.
56. Premtip Thaveeratitham, Plengpanich W., Naen-Udorn W., Patumraj S., Khovidhunkit W. Effects of human apolipoprotein A-I on endotoxin-induced leukocyte adhesion on endothelial cells *in vivo* and on the growth of *Escherichia coli in vitro*. *J. Endotoxin. Research*. 13,1 2007: 54-58.
57. Premtip Thaveeratitham, Weerapan Khovidhunkit, Suthiluk Patumraj. High-density lipoproteins (HDL) inhibit endotoxin-induced leukocyte adhesion on endothelial cells in rats: Effect of the acute-phase HDL *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 36, 1 / 2007: 1 – 12.
58. D. Chakraphan, P. Sridulyakul, B. Thipakorn, S Bunnag, V. Huxley, S. Patumraj Leukocyte-endothelial cell interaction is attenuated by low-intensity exercise training and vitamin C supplementation in diabetic rats. *Asian Biomed Journal*. 2007;1: 67-75.
59. Atchareeya Kasiyaphat, Prasong Siriviriyakul, and Suthiluk Patumraj. Preventive effects of genistein on leukocyte adhesion in femur venules and on bone-loss induced in ovariectomized female rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2007:

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) ดร. โสรดา กนกพานนท์
 (ภาษาอังกฤษ) Ms. Sorada Kanokpanont
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3309900943661
3. ตำแหน่งปัจจุบัน (วิชาการ) อาจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
 ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 อีเมลล์ sorada.k@chula.ac.th, soradakanok@yahoo.com
 หมายเลขโทรศัพท์ 02-218-6867 (ตรง), 02-218-6878 (ธุรการ),
 แฟกซ์ 02-218-6877

5. ประวัติการศึกษา

- 2002 Ph.D. (specialized in Biochemical Engineering)
 Chemical Engineering
 Drexel University, PA, USA
- 1996 M.Sc. (Chemical Engineering)
 Drexel University, PA, USA
- 1989 Bachelor of Science (Biotechnology)
 Khon Kean University, Khon Kean, Thailand

6. Work experience

6.1. Lectures

- Full time lecturer at the Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineer, Chulalongkorn University, in Physical Chemistry, Unit Operation Laboratories II-III, Membrane Technology, Bioreactor Design, Analytical Chemistry (2002), Kinetics (2003)
- Invited lecturer in Bioleaching Process, for the Department of Ore Engineering, Faculty of Engineer, Chulalongkorn University (2003)
- Invited lecturer in Downstream Processing, for the Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silapakorn University, Nakorn Prathom Campus (July - October 2004)
- Invited lecturer in Biochemistry for Chemical Engineering, for the Department of Chemical Engineering, Mahanakorn University, Bangkok (June – September 2002)
- Invited Speaker at 1st National Symposium on Research, Development, Innovation, Design-R&DID, Thai Chamber of Commerce University, Bangkok (May 2004)

- **Researches**

Area of interest: Biopolymers (for Tissue Engineering and Postharvest Technology) & Controlled-Release Technology

-Ongoing Researches (with sources of financial support):

:Poly(\square -caprolactone) Scaffold for the Regeneration of Human Cartilage (Chulalongkorn university grant, 2002-2005)

:Development of Shellac-based coating for extending shelf-life of three kinds of tropical fruits (Thailand Research Fund, 2004-2006)

:Tissue Engineering Research Series: Dermal Regeneration Template for Artificial Skin (2004-2008)

: Biodegradable Scaffold for Dermal Regeneration (Thailand-Japan Technology Transfer Project 2003- 2005)

: Controlled Release of Growth Factors from Biodegradable Scaffold (Thailand-Japan Technology Transfer Project 2004- 2005)

: Controlled Release of Curcumin from Hydrophobic Gelatin hydrogel (Pilot project, Faculty of Medicine, Chulalongkorn Memorial Hospital, 2005-2006)

: Modification of Gelatin scaffold with Collagen Hydrolysates (New Researcher Grant, Ministry of Science 2005-2006)

-Special Senior Projects, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineer, Chulalongkorn University: Slow release fertilizers, chitosan-coated fertilizer (2002), Development of gelatin-chitosan edible films for extended shelf-life of Durian (2003, with a grant from Industrial-related Project for Undergraduate Study, IPUS), Purification process of shellac-based wax (2004, IPUS), Slow release fertilizer from gelatin and chitosan matrix (2005, IPUS)

-Research Assistant, School of Biomedical Engineering, Science, and Health System, Drexel University, USA, Glucose-triggered drug delivery system: Microencapsulated liposomes and the pH-sensitive poly(2-ethylacrylic acid); Histone project, Department of Oncology, MCP Hahneman University Hospital, Philadelphia, PA, USA (2001-2002)

- **Academic Society Activities**

-Committee of the student activities board, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University (2002-2003)

-Public relation committee, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineer, Chulalongkorn University (2004-)

-Assistant to the vice chairman of Thai particle Technology Association (2004-)

-Member, Biotechnology Thailand (2002-)

- **Industrial consultation**

-*Clean Technology*: Improvement of production in leather coating process, Pan Asia Leather Co. Ltd. (2005), Reduction of energy used in the epoxy curing process in Auto LED production line, Hana Semiconductor Corp., Bangkok Thailand (2004); Reduction of water usage in squid process line, Union Frozen Food Products Co.Ltd., Samutsakorn, Thailand (2003)

-*R & D Consultant*: Shellac-based products, Exellacs Co.Ltd., Lampang, Thailand (2003-); Chitosan-based products, Seafresh Chitosan (Lab) Ltd., Bangkok, Thailand (2002-)

7. Publications & Awards:

- The Charles A. Stevens Memorial Award for best student poster, "Interaction between PEAA and DOPC Liposomes: A Possible Model for pH-Triggered Drug delivery", *Philadelphia Pharmaceutical Forum (PPF)*, Philadelphia, USA (May 1997)
- The Development of a New Polymeric Glucose-triggered Drug Delivery Device, *The International Bioencapsulation VII Proceeding*, (with Seminar Scholarship), Easton, MD., USA (November 1998)
- Kanokpanont, Sorada and Wheatley, Margaret A, Development of a glucose-sensitive drug delivery device: Microencapsulated liposomes and poly (2-ethylacrylic acid), Ph.D Dissertation, Drexel University, PA, USA (2002)
- Slow release fertilizers: Coating commercial fertilizers with chitosan and natural latex rubber, Chula Academic Exhibition (2002)
- R & DID award in Food Products, "*Edible coating for extended shelf-life of Fresh Durian*" at the 1st National Symposium on Research, Development, Innovation and Design, Thai Chamber of Commerce University, Bangkok, Thailand (May 2004)
- Non-degreed Internship, Thailand-Japan Technology Transfer Project (TJTTP), at the Department of Biomaterials, Field of Tissue Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto, Japan (October –December 2004, June-August 2005)

- Thongmarongsri N., Kanokpanont S., Bunnaprasert T., and Buranapraditkul S., Biodegradable Scaffold Fabrication for Cartilage Tissue Engineering, The 8th Pacific Polymer Conference, 24-27 Nov. 2003, Bangkok, THAILAND
- Thongmarongsri, Narawoot and Kanokpanont, Sorada, In vitro and In vivo biodegradation of poly-(ϵ -caprolactone) scaffolds: An implication for tissue engineering application (Oral Presentation), Regional Symposium on Chemical Engineering 2004/ The 14th National Chemical Engineering and Applied Chemistry Conference, (TiChE, MTEC, KMITL), 1-3 December 2004
- Siripholbun, Yuwalak and Kanokpanont, Sorada, Gelatin-Chitosan Edible Films for Postharvest Application, (Poster Presentation), Regional Symposium on Chemical Engineering 2004/ The 14th National Chemical Engineering and Applied Chemistry Conference, (TiChE, MTEC, KMITL), 1-3 December 2004
- Tangsadhakun, C; Damrongsakkul, S; Kanokpanont, S; Bunaprasert, T, Chemical and Physical Characterization of Collagen/Chitosan Porous Scaffolds, (Oral Presentation), BioThailand, 2-4 Nov 2005, Bangkok
- Ratanavaraporn, J, Damrongsakkul, S, Kanokpanont, S; Bunaprasert, T, Morphology and Properties of Collagen/Gelatin Scaffolds, (Poster Presentation), BioThailand, 2-4 Nov 2005, Bangkok

สัญญาเลขที่ GRB_17_50_30_15

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาเคอร์คูมินแพ็ทเพื่อใช้ในการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งตับ
ที่ปลูกบนผิวหนังของหนูผู้ด้อย

รายงานการรับ-จ่ายเงิน *

รายได้	ประมาณการ	งบที่เกิดขึ้นจริง
เงินอุดหนุนงบประมาณแผ่นดิน		
รวมรายได้ 2 งวด	507,250.00	514,381.78
งวดที่ 3 ค้างจ่ายค่าสาธารณูปโภค	22,750	21,750
รวมงบประมาณทั้งสิ้น	530,000	536,131.78
รายจ่าย		514,381.78
หมวดค่าจ้างชั่วคราว	35,600.00	35,600.00
ค่าจ้างคนเลี้ยงคูดสัตว์ทดลอง 1 คน (300 บาท x12 เดือน)		3,600.00
ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย (4,000 บาท x 8 เดือน)		32,000.00
หมวดค่าใช้สอย	27,000.00	180,73.00
ค่าซ่อม เครื่องเล่นวิดีโอ		900.00
ค่าส่งแฟกซ์		52.00
ค่าจ้างทางพยาธิวิทยา		17,000.00
หมวดค่าวัสดุ	445,650.00	460,829.78
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 02091		2,700.00
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 02092		4,300.00
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 02094		4,300.00
Phospho-p44/42 MAPK (Thr 202/Tyr 204) (20G11) Rabbit mAb เลขที่ใบเสร็จ 73198		49,434.00
Hepatoma cell (American Type Culture Collection) เลขที่ใบเสร็จ 31088		14,986.40
Phalloidin-tetra Methylrhodamine เลขที่ใบเสร็จ 50048		3,844.51
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 03426		2,300.00
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 03431		2,300.00
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 03424		4,300.00
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 03425		4,300.00

Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 03727	4,300.00
Natural Tip 200µl 1000/PK เลขที่ใบเสร็จ 50369	3,210.00
Curcumin เลขที่ใบเสร็จ 50176	36,925.70
หลอดไฟ Mercury Lamp 100W เลขที่ใบเสร็จ IV0039762	25,680.00
Fluorescein Isothiocyanate เลขที่ใบเสร็จ 50421	27,820.00
Fluorescein Isothiocyanate เลขที่ใบเสร็จ IV0711756	11,235.00
Quantikine Mouse VEGF Flisa kit เลขที่ใบเสร็จ 705-0542	37,985.00
Oптиplus Microscope Slides -1/2 gross เลขที่ใบเสร็จ IV0712599	6,248.16
Nembutal (บิลเงินสด)	3,200.00
Curcumin เลขที่ใบเสร็จ 50414	33,705.00
Curcumin เลขที่ใบเสร็จ 50416	33,705.00
Fluorescein Isothiocyanate เลขที่ใบเสร็จ IV0801464	27,244.88
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 04907	5,500.00
Quantikine Mouse VEGF Flisa kit เลขที่ใบเสร็จ 801-0065	33,160.91
Quantikine Mouse VEGF Flisa kit เลขที่ใบเสร็จ 801-0051	33,160.91
Quantikine Mouse VEGF Flisa kit เลขที่ใบเสร็จ 801-0059	33,160.91
Nude(BALB/c-nu) เลขที่ใบเสร็จ 05153	2,700.00
วัสดุวิทยาศาสตร์ เลขที่ใบเสร็จ 13860	6,013.40
ค่าหมึกพิมพ์ เลขที่ใบเสร็จ 129608	1,280.00
ค่าหมึกพิมพ์ เลขที่ใบเสร็จ 129607	1,830.00

รวมรายจ่าย 536,131.78

ขอรับรองว่ารายงานการรับ-จ่ายเงินข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

สุทธิตกษณ์ ปทุมราช

(รศ.ดร.สุทธิตกษณ์ ปทุมราช)

หัวหน้าโครงการวิจัย

24 / กพ. / 51