

การเตรียมพิกเคอร์ริงอีเมลชั้นโดยใช้ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Preparation of Pickering Emulsion Using Quaternized Cyclodextrin Grafted Chitosan
and Tripolyphosphate



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

FACULTY OF ENGINEERING

Chulalongkorn University

Academic Year 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมพิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้ควอเตอร์ไนซ์ไฮโดรเจน
โดย	ทรินเชื่อมไคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต
สาขาวิชา	นายศุภกร ลักษณะกุลบุตร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิวัฒน์ สุทธิธารวัช
	ดร.อุรษา รัชต์ตานนท์ชัย

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

.....	คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ประธานกรรมการ
.....	(ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล กิตติศุภกร)
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิวัฒน์ สุทธิธารวัช)
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร.อุรษา รัชต์ตานนท์ชัย)
.....	กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทรพร คิม)
.....	กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.สุวิมล สุรัสโม)	

ศุภกร ลักษณะกุลบุตร : การเตรียมพิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรีนเชื่อมโคโดซานและไตรโพลีฟอสเฟต . (Preparation of Pickering Emulsion Using Quaternized Cyclodextrin Grafted Chitosan and Tripolyphosphate) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.อภิวัฒน์ สุทธิธารวัช, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร.อรุษา รักษัตานนท์ชัย

การกักเก็บสารสำคัญที่ไม่ชอบน้ำในรูปอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil-in-water emulsion) โดยใช้อนุภาคของแข็งที่มาจากรธรรมชาติ เป็นอิมัลซิฟายเออร์ ที่เรียกว่า พิกเคอริงอิมัลชัน (Pickering emulsion) ได้เข้ามาทดแทนการใช้สารลดแรงตึงผิวซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรีนเชื่อมโคโดซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ประจุบวกบนโมเลกุล ถูกนำมาใช้เป็นสารที่ให้ความคงตัวแก่พิกเคอริงอิมัลชัน ทำให้ต้องมีการสร้างอนุภาคโดยใช้สารที่มีประจุเป็นลบซึ่งก็คือไตรโพลีฟอสเฟต ด้วยเทคนิค Ionic gelation ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้จำลองพลวัตเชิงโมเลกุลเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงพลวัตในการสร้างอนุภาคที่จำนวนไตรโพลีฟอสเฟตแตกต่างกัน รวมทั้งเปรียบเทียบการเกิดพิกเคอริงอิมัลชันระหว่างอนุภาคที่มีและไม่มีไตรโพลีฟอสเฟต จากการศึกษาพบว่า กลไกการสร้างอนุภาคระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรีนเชื่อมโคโดซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต เกิดขึ้นจาก 2 ส่วน ได้แก่ การเชื่อมโยง (Cross-linking) ระหว่างหน่วย Quaternized D-glucosamine กับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต และการรวมกลุ่มของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรีน สำหรับการวิเคราะห์อนุภาค พบว่า ที่อัตราส่วนระหว่างหน่วย Quaternized D-glucosamine กับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต เป็น 1:1 ให้อนุภาคที่มีขนาดและพื้นที่ผิวที่น้ำเข้าถึงได้น้อยที่สุด ส่วนการจำลองพิกเคอริงอิมัลชันของอนุภาคที่มีและไม่มีไตรโพลีฟอสเฟต พบว่า ทั้งสองระบบสามารถเกิดพิกเคอริงอิมัลชันได้ในลักษณะเดียวกัน โดยมีการจัดเรียงตัวโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรีนเชื่อมโคโดซานที่แตกต่างกัน โดยพบว่า อนุภาคในระบบพิกเคอริงอิมัลชันที่ไม่มีไตรโพลีฟอสเฟตมีการจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรีนเชื่อมโคโดซานอยู่ตลอดเวลา ในขณะที่ระบบพิกเคอริงอิมัลชันที่มีไตรโพลีฟอสเฟตอนุภาคจะคงที่ ดังนั้นระบบพิกเคอริงอิมัลชันที่มีการเติมไตรโพลีฟอสเฟต สามารถทำให้พิกเคอริงอิมัลชันมีความเสถียรมากขึ้น

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่ออนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

6270280221 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORD: Molecular Dynamics simulation, Particle formation, Pickering emulsion, Quaternized Cyclodextrin grafted Chitosan (QCD-g-CS), Tripolyphosphate

Suphakorn Laksanakullabut : Preparation of Pickering Emulsion Using Quaternized Cyclodextrin Grafted Chitosan and Tripolyphosphate. Advisor: APINAN SOOTTITANTAWAT Co-advisor: Uracha Ruktanonchai

Encapsulation of hydrophobic active substances in the form of oil-in-water emulsions using natural solid particles replacing synthetic surfactants as an emulsifier is called Pickering emulsion. The Quaternized Cyclodextrin grafted Chitosan (QCD-g-CS), a positively charged polymer, is used as a Pickering emulsion stabilizer. However, QCD-g-CS should be formed using a negatively charged molecule, Tripolyphosphate (TPP), with ionic gelation. In this study, the Molecular Dynamics (MD) simulations of particle formation and Pickering emulsion formation were investigated. The results showed that the particle formation mechanism occurred in two parts: 1) Cross-linking between the Quaternized D-glucosamine unit (Q units) and the TPP molecules and 2) the clustering of beta-cyclodextrin rings. The results showed that at the ratio between Q units and TPP molecules to 1:1, the particle had the lowest size and water-accessible surface area. In addition, the dynamics of the Pickering emulsion system with and without TPP could produce in the same manner. However, the results showed that the QCD-g-CS particle in the Pickering emulsion system without TPP had a new arrangement during the simulation. As the QCD-g-CS particle in the Pickering emulsion system with TPP was constant. Therefore, the Pickering emulsion system with the addition of TPP was more stable.

Field of Study: Chemical Engineering

Student's Signature

Academic Year: 2021

Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่ได้วางไว้ด้วยดี เนื่องจากการได้รับการดูแลเอาใจใส่ คำปรึกษาและคำแนะนำในการทำงานวิจัย ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆจากบุคคลหลายท่าน

ท่านแรกขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิวัฒน์ สุทธิธารวัช อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ซึ่งได้ให้คำปรึกษา ข้อชี้แนะ และให้ความกรุณาในการแก้ไขข้อบกพร่องของงานวิจัยนี้ ขอขอบพระคุณ ดร.อรุชา รักซ์ตานนท์ชัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมของงานวิจัย ที่อำนวยความสะดวกในการเข้าใช้ทรัพยากรของศูนย์ทรัพยากรคอมพิวเตอร์เพื่อการคำนวณขั้นสูง (ThaiSC) รวมถึงให้คำปรึกษาและคำแนะนำ ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญญา รุ่งโรจน์มงคล, ดร.ชมพูนุช รุ่งนิม และ นางสาว ขนิษฐา เกิดผล ที่ได้ให้ความรู้ คำปรึกษา และคำแนะนำ ในการเข้าใช้งานโปรแกรมการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล ตลอดจน ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล กิตติศุภกร (ประธานกรรมการ) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทรพร คิม (กรรมการ) และดร.สุวิมล สุรัสโสม (กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย) ที่ได้เสียสละเวลาอันมีค่าในการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดามารดา ที่คอยเป็นกำลังใจในทุกๆด้านมาโดยตลอด ทำให้มีแรงผลักดันในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่ช่วยเหลือในทุกๆด้าน

จึงขอกล่าวนามและแสดงความขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ศุภกร ลักษณะกุลบุตร

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 พิกเคอริงอิมัลชัน.....	5
2.2 องค์ประกอบของพิกเคอริงอิมัลชัน.....	6
2.3 การเตรียมอนุภาคพิกเคอริงโดยใช้โคโตซานเป็นพอลิเมอร์พื้นฐาน	10
2.3.1 Self-aggregation	10
2.3.2 Ionic gelation	11
2.3.3 Polyelectrolyte complexation.....	13
2.3.4 Hydrophobic modification	13

2.4 ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน (Quaternized Cyclodextrin Grafted Chitosan).....	14
2.5 ไตรโพลีฟอสเฟต (Tripolyphosphate or TPP)	18
2.6 ยูจีนอล.....	19
2.7 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation) ด้วยโปรแกรม AMBER20	
2.8 การวิเคราะห์ผลการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม CPPTRAJ.....	23
2.8.1 ค่าเบี่ยงเบนกำลังสองของค่าเฉลี่ย (Root-Mean Square Deviation).....	24
2.8.2 รัศมีของการหมุน (Radius of Gyration).....	25
2.8.3 พื้นที่ผิวที่ตัวทำละลายเข้าถึงได้ (Solvent-Accessible Surface Area).....	25
2.8.4 ฟังก์ชันการกระจายแนวรัศมี (Radial Distribution Function).....	26
2.8.5 Linear Interaction Energy (LIE).....	26
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	30
3.1 โครงสร้างโมเลกุล.....	30
3.2 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (MD Simulation)	32
3.3 การวิเคราะห์ผลการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล.....	35
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย	37
4.1 ศึกษาผลของไตรโพลีฟอสเฟตที่มีต่อการสร้างอนุภาคระหว่างควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต.....	37
4.1.1 พฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Behavior).....	37
4.1.2 ความเสถียร (Stability).....	41
4.1.3 การรวมกลุ่มของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทริน	43
4.1.4 จำนวนอะตอมสัมผัส (Number of Atom Contacts).....	45
4.1.5 ฟังก์ชันการกระจายแนวรัศมี (Radial distribution function).....	48
4.1.6 ขนาดและความกะทัดรัด (Size and Compactness).....	49

4.1.7 พื้นที่ผิวที่น้ำสามารถเข้าถึงได้ (Water Accessible Surface Area).....	50
4.2 เปรียบเทียบการเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคควอเตอร์ไนซีโซโคเลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต	51
4.2.1 พฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamic Behavior)	51
4.2.2 ความเสถียร (Stability).....	54
4.2.3 ขนาดและความกะทัดรัด (Size and Compactness).....	56
4.2.4 จำนวนอะตอมสัมผัส (Number of Atomic Contacts).....	57
4.2.5 พลังงานปฏิสัมพันธ์เชิงเส้น (Linear Interaction Energy)	58
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	62
5.1 สรุปผลการวิจัย	62
5.2 ข้อเสนอแนะ	63
ภาคผนวก.....	64
ก. การเตรียมไฟล์โครงสร้างสกุล PDB.....	64
ข. การทำ Solvation ด้วยโปรแกรม LEaP	65
ข.1 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการทำให้ Solvation ในโปรแกรม LEaP เพื่อสร้างโครงสร้างเริ่มต้น (Initial Structure).....	65
ข.2 คำสั่งดำเนินการ.....	71
ค. การลดพลังงานต่ำสุด (Minimization).....	71
ค.1 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการทำให้ Energy Minimization.....	71
ค.2 คำสั่งดำเนินการ.....	73
ง. การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลโดยใช้ GPU	73
ง.1 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการ Heating and Equilibration	73
ง.2 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (MD Simulation)	74
ง.3 คำสั่งดำเนินการ	75

จ. การวิเคราะห์ผลการจำลองด้วยโปรแกรม CPPTRAJ	76
จ.1 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการวิเคราะห์พลวัตเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม CPPTRAJ.....	76
จ.2 คำสั่งดำเนินการ	81
บรรณานุกรม.....	82
ประวัติผู้เขียน.....	87



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 จำนวนโมเลกุลที่ใช้สำหรับการสร้างอนุภาคระหว่างควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลิฟอสเฟต	32
ตารางที่ 2 จำนวนโมเลกุลที่ใช้สำหรับการทำฟิสิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับไตรโพลิฟอสเฟต	35
ตารางที่ 3 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการทำให้ Solvation ด้วยโปรแกรม LEaP.....	65
ตารางที่ 4 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับ Hydrogen Minimization.....	71
ตารางที่ 5 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับ Water Minimization	72
ตารางที่ 6 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับ All minimization.....	72
ตารางที่ 7 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับการ Heating and Equilibration	73
ตารางที่ 8 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล	74
ตารางที่ 9 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับการวิเคราะห์ผลการจำลองพลวัตด้วยโปรแกรม CPPTRAJ....	76

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ความแตกต่างระหว่างพิกเคอริงอิมัลชัน และอิมัลชันแบบธรรมดาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวใน รูปแบบน้ำมันในน้ำ [13].....	6
รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน [15].....	8
รูปที่ 3 การรับและจ่ายโปรตอนของไคโตซานเนื่องจากการปรับค่า pH [2]	11
รูปที่ 4 แถบสเปกตรัม FTIR ของ Cationic starch nanoparticle [16]	12
รูปที่ 5 การเตรียมสารตัวพาควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน [6].....	15
รูปที่ 6 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ quaternized cyclodextrin grafted with chitosan 5% (QCD5- g-CS) ใน D_2O [6]	16
รูปที่ 7 Self-aggregates ของควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน [3].....	18
รูปที่ 8 เกลือโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต [16]	19
รูปที่ 9 โครงสร้างทางเคมีของยูจีนอล (Eugenol) [5].....	20
รูปที่ 10 แผนผังขั้นตอนการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม AMBER [23]	22
รูปที่ 11 แผนผังการทำงานของโปรแกรม CPPTRAJ [25].....	24
รูปที่ 12 Radial distribution function ระหว่าง Chitosan-TPP, Chitosan-Paraquat และ TPP- Paraquat [30]	27
รูปที่ 13 RMSD ของ Tripolyphosphate และ Radius of gyration ของ insulin-loaded nanoparticles ที่ pH 4 และ 7.4 [31]	28
รูปที่ 14 Radial distribution function (RDF) ระหว่างอะตอมที่หัวของ SDS และ C_{12}EO [29]... ..	29
รูปที่ 15 Interaction energy ระหว่างเซลล์โลสและน้ำ [10]	29
รูปที่ 16 แบบจำลองควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน	30
รูปที่ 17 โครงสร้างโมเลกุลของไตรโพลีฟอสเฟต.....	31
รูปที่ 18 โครงสร้างโมเลกุลของยูจีนอล.....	31

รูปที่ 19 โครงสร้างเริ่มต้นของระบบภายหลังการทำ Energy minimization ระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน 3 โมเลกุล กับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต 0 โมเลกุล (A), 21 โมเลกุล (B), 42 โมเลกุล (C), และ 84 โมเลกุล (D)..... 33

รูปที่ 20 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน (สีฟ้า) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้..... 38

รูปที่ 21 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน (สีฟ้า) และ 21 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (สีส้ม) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้..... 39

รูปที่ 22 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน (สีฟ้า) และ 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (สีส้ม) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้..... 40

รูปที่ 23 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน (สีฟ้า) และ 84 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (สีส้ม) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้..... 41

รูปที่ 24 เสถียรภาพของพิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานที่ความเข้มข้น 2% w/v และ อัตราส่วนน้ำมันต่อน้ำเป็น 0.6 โดยน้ำหนัก หลังจากการทำอิมัลชันทันที (A), 3 ชั่วโมง (B), และ 1 วัน (C) 42

รูปที่ 25 RMSD ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่เวลาต่างๆ ของระบบ 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน และ 0 (A), 21 (B), 42 (C), และ 84 (D) โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต 43

รูปที่ 26 จำนวนระยะทางเฉลี่ยระหว่าง 6 วงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินที่เวลา 300-500 นาโนวินาที.... 44

รูปที่ 27 แผนภูมิ Histogram แสดงจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน 3 โมเลกุลที่เวลา 300-500 นาโนวินาที..... 46

รูปที่ 28 แผนภูมิ Histogram แสดงจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ที่เวลา 300-500 นาโนวินาที 47

รูปที่ 29 Radial Distribution Function (RDF) ระหว่างอะตอมไนโตรเจน (N) ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานและอะตอมออกซิเจน (O) ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ที่เวลา 300-500 นาโนวินาที 48

รูปที่ 30 Radius of Gyration (Rg) ของโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่เวลา
 ต่างๆ ของระบบ 3 โมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และ 0 (A), 21 (B), 42 (C),
 และ 84 (D) โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต..... 49

รูปที่ 31 Solvent-Accessible Surface Area (SASA) ของโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทริน
 นเชื่อมโคโตซานที่เวลาต่างๆ..... 51

รูปที่ 32 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (สีฟ้า)
 และ 240 โมเลกุลยูจีนอล (สีเหลือง) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้
 53

รูปที่ 33 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (สีฟ้า)
 ,42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (สีส้ม) และ 240 โมเลกุลยูจีนอล (สีเหลือง) ในระหว่างการจำลองพลวัต
 เชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้ 54

รูปที่ 34 RMSD ของโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต
 และโมเลกุลยูจีนอลที่เวลาต่างๆ ของระบบที่ไม่มี (A) และ มี (B) ไตรโพลีฟอสเฟต..... 55

รูปที่ 35 Radius of Gyration (Rg) ของโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและ
 โมเลกุลยูจีนอลที่เวลาต่างๆ ของระบบที่ไม่มี (A) และมี (B) ไตรโพลีฟอสเฟต..... 57

รูปที่ 36 แผนภูมิ Histogram แสดงจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทริน
 นเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลยูจีนอล ที่เวลา 300-500 นาโนวินาที..... 58

รูปที่ 37 Linear Interaction Energy (LIE) ระหว่างโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโต
 ซานและโมเลกุลน้ำที่เวลาต่างๆ ของระบบที่มีและไม่มีไตรโพลีฟอสเฟต 60

รูปที่ 38 Linear Interaction Energy (LIE) ระหว่างโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตและโมเลกุลน้ำที่เวลา
 ต่างๆ ของระบบอิมัลชันที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน 42 โมเลกุลไตร
 โพลีฟอสเฟต และ 240 โมเลกุลยูจีนอล 61

รูปที่ 39 การเตรียมโครงสร้างเริ่มต้นด้วยโปรแกรม Discovery Studio 2021..... 64

รูปที่ 40 คำสั่ง (Command) อ่านไฟล์อินพุตของการทำ Solvation ด้วยโปรแกรม LEaP 71

รูปที่ 41 คำสั่ง (Command) อ่านไฟล์อินพุตของการทำ Energy Minimization..... 73

รูปที่ 42 คำสั่ง (Command) อ่านไฟล์อินพุตของการจำลองพลวัตโดยใช้ GPU 76

รูปที่ 43 คำสั่ง (Command) อ่านไฟล์อินพุตของการวิเคราะห์ผลการจำลองด้วยโปรแกรม CPPTRAJ
..... 81



บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ในอดีต การกักเก็บสารสำคัญที่ไม่ชอบน้ำในรูปอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil-in-water emulsion) สามารถทำได้โดยการใช้สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) เป็นอิมัลซิฟายเออร์ (Emulsifier) เพื่อป้องกันสารสำคัญจากสภาวะต่างๆ เช่น ความร้อน ความชื้น แสง หรือออกซิเจน รวมทั้งช่วยยืดอายุการเก็บรักษา เพิ่มเสถียรภาพความคงตัว และควบคุมการปลดปล่อยของสารเพื่อส่งสารสำคัญไปยังเป้าหมายโดยตรง อย่างไรก็ตาม การใช้สารลดแรงตึงผิวในมนุษย์จะก่อให้เกิดการระคาย และเป็นพิษต่ออวัยวะต่างๆในร่างกาย จึงได้มีการมองหาอนุภาคจากธรรมชาติที่สามารถทดแทนการใช้สารลดแรงตึงผิวได้ เพื่อคงความเป็นอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ โดยเรียกการใช้อนุภาคของแข็งในการสร้างอิมัลชันนี้ว่า พิกเคอริงอิมัลชัน (Pickering emulsion)

พิกเคอริงอิมัลชัน (Pickering emulsion) เป็นอิมัลชันที่ทำให้คงตัวอยู่ได้โดยใช้อนุภาคของแข็ง (Solid particle) ซึ่งได้รับความสนใจในการวิจัยเพิ่มขึ้น แทนการใช้สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) ทำให้พิกเคอริงอิมัลชันมีความปลอดภัย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สำหรับพิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคที่มาจากไคโตซานเป็นพื้นฐาน ได้กลายเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจในฐานะสารทำให้คงตัวของพิกเคอริงอิมัลชัน (Pickering stabilizer) เนื่องจากสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และปลอดภัยสารพิษ จึงมีการประยุกต์ใช้พิกเคอริงอิมัลชันจากไคโตซานในด้านอาหาร ยา และเครื่องสำอาง [1] อนุภาคที่เกิดจากไคโตซานเป็นพื้นฐาน สามารถดัดแปลงได้หลายรูปแบบ ได้แก่ การรวมตัวเอง (Self-aggregation) การสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับพอลิเมอร์ที่มีประจุฝั่งตรงข้าม (Polyelectrolyte complexation) และการดัดแปลงหมู่อะมิโน (R-NH₂) บนไคโตซาน โดยการใส่กรดที่มีหมู่คาร์บอกซิลิก (R-COOH) เพื่อสร้างพันธะเอไมด์ (R-CONH-R) เพื่อให้มีความไม่ชอบน้ำมากขึ้น (Hydrophobic modification) [2]

ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน (Quaternized cyclodextrin grafted chitosan or QCD-g-CS) เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ถูกผลิตโดยศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ ประเทศไทย เพื่อปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำในช่วง pH ที่กว้างขึ้น โดยใช้ Glycidyl trimethyl ammonium chloride (GTMAC) เป็น Quaternizing agent ในสารละลายอะซิติก บนไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน (Cyclodextrin grafted chitosan, CD-g-CS) ทำให้พอลิเมอร์นี้สามารถจ่ายโปรตอนได้ตลอดเวลา หรือที่เรียกว่าเป็น Protonated polymer จากงานวิจัยของกลุ่มผู้ทำงานในศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ พบว่า QCD-g-CS มีคุณสมบัติในการรวมตัวเอง (Self-

aggregation) [3], การสร้างสารประกอบเชิงซ้อน (Inclusion complex) กับ ยูจีนอล [4, 5], การต้านทานเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) [4, 6] และการติดเยื่อเมือก (Mucoadhesive activity) [3, 4, 7]

งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ทำการศึกษากักเก็บน้ำมันในรูปแบบฟิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้โคโตซานเป็นพื้นฐาน จากงานวิจัยของ Elisa Franco Ribeiro และคณะ (2020) [1] พบว่าการเตรียมอนุภาคโคโตซาน ด้วยเทคนิค Ionic gelation โดยใช้โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Sodium tripolyphosphate, TPP) เป็น Cross-linking agent ในการทำฟิกเคอริงอิมัลชันด้วย High-speed homogenizer ทำให้เสถียรภาพของอิมัลชันดีขึ้น โดยไม่พบการตะกอน (Precipitation) การรวมตัวของหยดอิมัลชัน (Coalescence) และการแยกชั้นของน้ำมัน เมื่อเทียบกับการเตรียมอนุภาคโคโตซานด้วยวิธี Self-aggregation งานวิจัยของ Rongli Zhang และคณะ (2019) [8] เตรียมอนุภาคด้วยการใช้กรดไฮโดรคาเฟอิก (Hydrocaffeic acid) การทำ Hydrophobic modification ในโคโตซาน และทำการ Cross-linking กับ ไตรโพลีฟอสเฟต เทียบกับอนุภาคที่ไม่ใช้กรด พบว่า ฟิกเคอริงอิมัลชันมีเสถียรภาพในการคงตัวที่ดีกว่า งานวิจัยของ Elham Alehosseini (2021) [9] พบว่า การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโคโตซาน อัตราส่วนระหว่างโคโตซานกับไตรโพลีฟอสเฟต และปริมาณน้ำมัน มีผลต่อเสถียรภาพของฟิกเคอริงอิมัลชัน โดยพบการเปลี่ยนแปลงของขนาดหยดอิมัลชัน และการแยกชั้นของอิมัลชันที่เกิดขึ้น

การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation) ของระบบฟิกเคอริงอิมัลชันได้ถูกเข้ามามีบทบาทในการอธิบายพลวัตเชิงโครงสร้างในระดับโมเลกุลที่ผิวยกเว้นน้ำมันและน้ำ รวมถึงศึกษาพลังงานปฏิสัมพันธ์ระหว่างอนุภาคกับน้ำมันเพิ่มมากขึ้น ยกตัวอย่างงานวิจัยของ Hitomi Miyamoto และคณะ (2017) ที่ทำการศึกษาก่อเกิดฟิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้เซลลูโลส 2 ชนิด จึงได้มีการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงพลังงานปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลลูโลสกับเซลลูโลส เซลลูโลสกับน้ำ และเซลลูโลสกับน้ำมันออกเทน รวมถึงอธิบายรูปแบบการเรียงตัวของโมเลกุลเซลลูโลสบนพื้นผิวน้ำมัน [10] อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาในเรื่องของการเกิดฟิกเคอริงอิมัลชันด้วยโมเลกุลโคโตซาน รวมไปถึงโมเลกุลควอเทอร์นารีไฮโดรคาเฟอิกที่เชื่อมโคโตซานที่มีการเติมโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต โดยทำการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงได้ทำการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation) ของฟิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้อนุภาคควอเทอร์นารีไฮโดรคาเฟอิกที่เชื่อมโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต โดยศึกษาการสร้างอนุภาคระหว่างโมเลกุลควอเทอร์นารีไฮโดรคาเฟอิกที่เชื่อมโคโตซานและโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่จำนวนโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตแตกต่างกัน และศึกษาการเกิดฟิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้อนุภาคควอเทอร์นารีไฮโดรคาเฟอิกที่เชื่อมโคโตซานที่มีและไม่มีไตรโพลีฟอสเฟต เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างและพลังงานปฏิสัมพันธ์ของอนุภาคและฟิกเคอริงอิมัลชันที่ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาผลของไตรโพลีฟอสเฟตที่มีต่อการสร้างอนุภาคระหว่างควอเทอร์นารีไนซีโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานและไตรโพลีฟอสเฟตด้วยการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation)

1.2.2 เปรียบเทียบการเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคควอเทอร์นารีไนซีโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานกับไตรโพลีฟอสเฟตด้วยการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular dynamics simulation) ของอนุภาคควอเทอร์นารีไนซีโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานและฟิสิกเคอริงอิมัลชัน จำลองด้วยโปรแกรม AMBER20

1.3.2 อัตราส่วนระหว่างควอเทอร์นารีไนซีโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานต่อไตรโพลีฟอสเฟตมีค่าเท่ากับ 1:7, 1:14, และ 1:28 โดยโครงสร้างของควอเทอร์นารีไนซีโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานมีตำแหน่งประจุบวกบนโมเลกุลจำนวน 14 ตำแหน่ง ในงานวิจัยนี้กำหนดให้จำนวนโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานมี 3 โมเลกุลของทุกระบบ และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีจำนวน 21, 42, และ 84 ซึ่งแปรผันตามอัตราส่วนดังกล่าวข้างต้น

1.3.3 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของฟิสิกเคอริงอิมัลชันยูจีนอล (Eugenol) เป็นวัฏภาคน้ำมัน (Oil phase) และใช้โปรแกรม PACKMOL ในการวางโมเลกุลยูจีนอลเพื่อใช้ในโครงสร้างเริ่มต้น (Initial structure)

1.3.4 สภาพที่ใช้ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของโปรแกรม AMBER20 มีดังนี้ อุณหภูมิและความดันของระบบ มีค่าเท่ากับ 298 เคลวิน และ 1 บาร์ ตามลำดับ ระยะเวลาในการจำลอง 500 นาโนวินาที

1.3.5 โครงสร้างเริ่มต้น (Initial structure) ที่มีโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซาน โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต โมเลกุลยูจีนอล และโมเลกุลน้ำ ถูกจำลองในกล่องจำลอง (Simulation box) ขนาด 120 อังสตรอม × 120 อังสตรอม × 120 อังสตรอม

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถใช้อนุภาคควอเทอร์นารีไนซีโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานในการกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรูปแบบฟิสิกเคอริงอิมัลชัน ทดแทนการใช้สารลดแรงตึงผิว (Surfactant)

1.4.2 สามารถนำมาเป็นแนวทางในการพัฒนาฟิสิกเคอร์ริงอิมัลชัน เพื่อกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ และระดับอุตสาหกรรม

1.4.3 สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาสูตรการทำฟิสิกเคอร์ริงอิมัลชัน เพื่อให้ฟิสิกเคอร์ริงอิมัลชันมีประสิทธิภาพมากขึ้น



บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

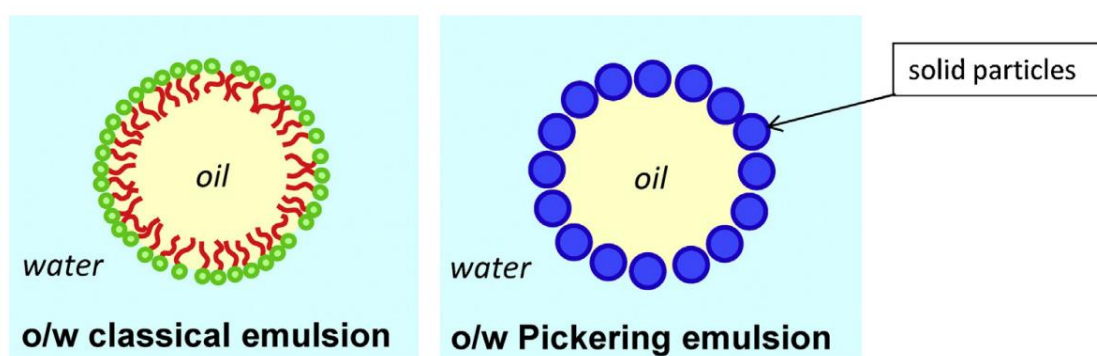
2.1 พิกเคอริงอิมัลชัน

อิมัลชัน (Emulsion) เป็นระบบที่มีการกระจายตัวระหว่างของเหลว 2 ชนิดที่ไม่เข้ากัน (Incompatible liquids) โดยของเหลวหนึ่งจะแสดงในรูปหยด (Droplet) และกระจายอยู่ในอีกของเหลวหนึ่ง ซึ่งของเหลว 2 ชนิดที่ใช้ในอิมัลชัน ประกอบไปด้วยวัฏภาคน้ำ (Water phase) และของเหลวที่ไม่สามารถละลายในน้ำได้ เรียกรวมว่าเป็นวัฏภาคน้ำมัน (Oil phase) อย่างไรก็ตาม การที่มีของเหลวที่ไม่เข้ากันจะทำให้มีเสถียรภาพการคงตัวในรูปอิมัลชันที่ต่ำ จึงได้มีการใส่สารที่ทำให้เกิดความคงตัว เรียกว่า อิมัลซิฟายเออร์ (Emulsifier) ซึ่งในอิมัลชันแบบดั้งเดิม (Conventional emulsions) ได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) ที่มีทั้งแบบมีประจุ (Ionic surfactants) และไม่มีประจุ (Non-ionic surfactants) ในการสร้างความคงตัวในอิมัลชัน แต่การใช้สารลดแรงตึงผิวดังกล่าว ได้มีข้อจำกัดในการนำไปประยุกต์ในด้านอาหาร เครื่องสำอาง และยา เนื่องจากก่อให้เกิดการระคายเคือง และไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงได้มองหาอิมัลซิฟายเออร์ธรรมชาติ ที่สามารถทดแทนสารลดแรงตึงผิวได้ [11]

ในช่วงต้นศตวรรษที่ 20 นาย Ramsden และ Pickering ได้อธิบายถึงสารแขวนลอย ซึ่งทำให้คงตัวโดยใช้อนุภาคของแข็ง (Solid particles) แทนสารลดแรงตึงผิว โดยพบว่าอนุภาคของแข็งจะถูกดูดซับอยู่ระหว่างผิวสัมผัสของน้ำมันและน้ำ (Oil-water interface) เพื่อป้องกันการรวมตัวกัน ภายหลังได้ถูกตั้งชื่อใหม่ว่า พิกเคอริงอิมัลชัน (Pickering emulsion) [12]

พิกเคอริงอิมัลชัน (Pickering emulsion) เป็นอิมัลชันที่ทำให้คงตัวด้วยของแข็ง (Solid particles) ซึ่งเรียกว่าเป็น อิมัลซิฟายเออร์ (Emulsifier) โดยพิกเคอริงอิมัลชันสามารถทดแทนอิมัลชันแบบดั้งเดิมที่ใช้สารลดแรงตึงผิว เพื่อทำให้อิมัลชันยังคงตัวอยู่ได้ หรือที่เรียกว่า Surfactant-free emulsion ซึ่งมีหลายรูปแบบ เช่น น้ำมันในน้ำ (Oil-in-water emulsion) หรือน้ำในน้ำมัน (Water-in-oil emulsion) เป็นต้น ดังรูปที่ 1 อนุภาคของแข็งที่มีลักษณะเป็น Partial wetting หรือ Dual wettability สามารถดูดซับที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำและน้ำมัน เพื่อลดพลังงานระหว่างพื้นที่ผิวสัมผัส จึงเป็นแรงขับเคลื่อน (Driving force) ที่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอนุภาค การทำให้คงตัว และป้องกันการรวมตัว (Coalescence) ของพิกเคอริงอิมัลชัน ถูกนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ซึ่งเอาไปใช้แทนสารลดแรงตึงผิวเพื่อลดการระคายเคือง และลดความเป็นพิษในผลิตภัณฑ์ต่างๆ [12, 13]

อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างของกลไกการเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชัน กับอิมัลชันที่ใช้สารลดแรงตึงผิว คือ อนุภาคของแข็งที่ใช้ ไม่จำเป็นต้องมีโครงสร้างแบบแอมฟิฟิลิก (Amphiphilic) เหมือนสารลดแรงตึงผิว แต่ต้องมีคุณสมบัติการเปียกบางส่วน (Partial wetting) บนพื้นผิวของอนุภาคของแข็ง ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นในการยึดแน่นที่แข็งแรงระหว่างพื้นผิวสัมผัสน้ำและน้ำมัน (Oil-water interface) ได้ [12]



รูปที่ 1 ความแตกต่างระหว่างฟิสิกเคอริงอิมัลชัน และอิมัลชันแบบธรรมดาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวในรูปแบบน้ำมันในน้ำ [13]

2.2 องค์ประกอบของฟิสิกเคอริงอิมัลชัน

ฟิสิกเคอริงอิมัลชัน ประกอบไปด้วย 3 องค์ประกอบหลัก คือ เฟสน้ำ (Aqueous phase), เฟสน้ำมัน (Oil phase) และอนุภาคของแข็ง (Solid particles) โดยเฟสน้ำและน้ำมันต้องไม่ละลายซึ่งกันและกัน กล่าวคือ ทั้งสองเฟสไม่สามารถสร้างความคงตัวได้เมื่อผ่านการกวนเชิงกล (Mechanical stirring) โดยจะต้องอาศัยอนุภาคของแข็งเป็นอิมัลซิฟายเออร์ เพื่อให้ระบบเกิดการคงตัวเป็นฟิสิกเคอริงอิมัลชันขึ้น ในการสร้างการคงตัวของอิมัลชัน เกิดขึ้นโดย หยดของเฟสของเหลวหนึ่งกระจายไปยังอีกเฟสหนึ่ง และมีการเติมอิมัลซิฟายเออร์เป็นอนุภาคของแข็ง เพื่อสร้าง เป็นอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ หรือแบบน้ำในน้ำมัน โดยเฟสที่ถูกสร้างเป็นหยด (Droplet) เรียกว่า Dispersed phase และเฟสที่เป็นที่อยู่ของหยด คือ Continuous phase [11]

อนุภาคของแข็ง (Solid particles) ที่ใช้ มีบทบาทสำคัญในการเตรียมฟิสิกเคอริงอิมัลชันเป็นอย่างมาก เนื่องจากต้องใช้เพื่อสร้างความคงตัวของเฟสทั้งสอง โดยคุณสมบัติของอนุภาคของแข็งที่ควรพิจารณา ดังนี้

1) อนุภาควรรมีความสามารถในการเปียก (Particle wettability) ที่ดี กล่าวคือการวัดมุมสัมผัสของหยดน้ำบนอนุภาค ควรค่าเข้าใกล้ 90 องศา ซึ่งแสดงเสถียรภาพความคงตัวที่ดี

2) ขนาดอนุภาคควรมีขนาดเล็กกว่าขนาดของหยดอิมัลชันซึ่งการลดขนาดของอนุภาคสามารถทำได้ด้วยวิธีทางกล และวิธีทางเคมี

3) ความเข้มข้น และประจุที่ผิวของอนุภาคของแข็งมีผลต่อความคงตัวของฟิกเคอริงอิมัลชัน

อนุภาคของแข็งที่ถูกใช้ในการเตรียมฟิกเคอริงอิมัลชัน ตัวอย่างเช่น พอลิแซกคาไรด์ (Polysaccharide), โปรตีน (Protein), อนุภาคไขมัน (Fat crystals) และ ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin) เป็นต้น [11, 14]

พอลิแซกคาไรด์ (Polysaccharide)

อนุภาคพอลิแซกคาไรด์เป็น พอลิเมอร์ธรรมชาติ ที่ไม่สามารถละลายได้ในน้ำและน้ำมัน ทำให้ถูกเลือกในการสร้างความคงตัวในฟิกเคอริงอิมัลชัน พอลิแซกคาไรด์ที่ได้รับความสนใจ ได้แก่ แป้ง (Starch), เซลลูโลส (Cellulose) และไคโตซาน (Chitosan) เป็นต้น [11, 14]

- แป้ง (Starch)

แป้ง (Starch) เป็นพอลิแซกคาไรด์โมเลกุลใหญ่ ประกอบไปด้วยโมเลกุลน้ำตาลต่อกัน มีประโยชน์ เช่น เข้าได้กับเซลล์สิ่งมีชีวิต (Biocompatible), ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradable) และ ไม่เป็นพิษ (non-toxic) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ข้อเสียคือ มีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่ มีความคงตัวต่ำ และสามารถละลายน้ำได้ดี ทำให้ต้องมีการดัดแปลง (Modification) โครงสร้างของแป้งให้มีความไม่ชอบน้ำมากขึ้น (Hydrophobicity) เช่น แป้งดัดแปร (Modified starch) ที่เกิดจากการเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างแป้งกับ Octenyl succinic anhydride (OSA) เพื่อเพิ่ม Hydrophobicity นอกจากนี้ แป้งที่นำมาใช้จะต้องมีการลดขนาดโมเลกุลของแป้งลง วิธีที่ใช้ ได้แก่ Acid hydrolysis, Nanoprecipitation, Enzymolysis และ Recrystallization เป็นต้น [11]

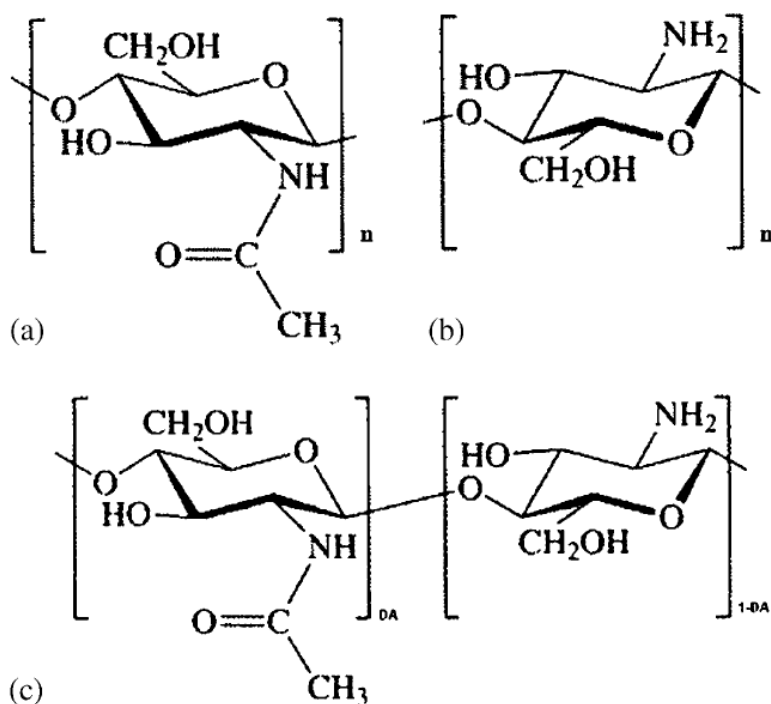
- เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลส (Cellulose) เป็นพอลิแซกคาไรด์โมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยกลูโคส ส่วนใหญ่พบในผนังเซลล์ของพืช มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ เซลลูโลส และอนุพันธ์ เซลลูโลส ที่ถูกนำมาใช้ในการเตรียมฟิกเคอริงอิมัลชัน ได้แก่ Methyl cellulose, Hydroxypropylmethyl cellulose และ Carboxymethyl cellulose เป็นต้น นอกจากนี้เซลลูโลสในธรรมชาติที่อยู่ในรูปแบบ Macroscopic fibers และ Nanocrystalline cellulose จะต้องถูกทำการดัดแปลงด้วยวิธี Acid Hydrolysis ก่อนนำไปใช้ [11]

- ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซาน (Chitosan) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการ Deacetylation ของไคติน พบในเปลือกกุ้ง กระจง และรา เป็นไบโอพอลิเมอร์ที่เป็นประจุบวกในธรรมชาติ (Cationic biopolymer) ประกอบไปด้วยหน่วยของ D-glucosamine และ N-acetyl-D-glucosamine ต่อกันเป็นสายยาว

สามารถตอบสนองต่อค่า pH ได้เนื่องจากมีหมู่เอมีนหรือหมู่อะมิโนในโครงสร้างดังรูปที่ 2 โดยสามารถละลายน้ำได้ในสารละลายกรดที่มีค่า pH น้อยกว่าค่า pKa (6.5) มีความปลอดภัย ไม่เป็นพิษ ต้านเชื้อแบคทีเรีย และสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ จึงถูกนำไปใช้ในการขนส่งยา (Drug delivery) และขึ้นวัสดุขึ้นรูปฟิล์ม (Film-forming material) เป็นต้น [11]



รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน [15]

(a) Acetyl-glucosamine units

(b) Glucosamine units

(c) Chitosan polymer

อย่างไรก็ตามภายในโครงสร้างของไคโตซาน มีหมู่เอมีน (Hydrophilic amine groups) และหมู่ไฮดรอกไซด์ (Hydroxide groups) ซึ่งทำให้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ไม่ดี เนื่องจาก Surface activity ที่ต่ำ และสามารถละลายน้ำได้ จึงได้มีการดัดแปลงให้ไคโตซานมีความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) เกิดขึ้น เช่น การปรับ pH ของสารละลายไคโตซานให้มากกว่าค่า pKa (ประมาณ 6.5) หรือการเตรียมอนุภาคด้วยวิธี Ionic cross-linking กับ พอลิเมอร์ที่มีประจุลบ เช่น โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Sodium Tripolyphosphate) เป็นต้น [11]

โปรตีน (Protein)

โปรตีน (Protein) เป็น ไบโอฟอลิเมอร์ที่ถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร มีองค์ประกอบของโครงสร้างที่มีความไม่ชอบน้ำและความชอบน้ำสมดุลกัน (Hydrophobicity and hydrophilicity balance) ทำให้ถูกนำมาใช้เป็นสารคงตัวในการเตรียมฟิสิกเคอริงอิมัลชัน อนุภาคโปรตีนที่ถูกนำมาใช้ ได้แก่ Soy, Pea, Whey, Gelatin, Kafirin, Ovalbumin, Zein, Beta-lactoglobulin, และ Flaxseed protein เป็นต้น ซึ่งได้มาจากการดัดแปลงโปรตีนจากธรรมชาติด้วยวิธีต่างๆ เช่น Anti-solvent precipitation, Heat treatment, and mechanical treatment เป็นต้น นอกจากการเตรียมฟิสิกเคอริงอิมัลชันที่มีการนำไปใช้ทางด้านอาหารแล้ว ยังนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านยา โดยเตรียมกับน้ำมันที่มีความเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิตเพื่อใช้ในการรักษา โดยเฉพาะการให้ยาทางปาก (Oral administration) [11]

ผลึกไขมัน (Fat crystals)

ผลึกไขมัน (Fat crystals) หรืออีกชื่อหนึ่งคือ Solid lipid nanoparticles ได้ถูกนำไปใช้ในฟิสิกเคอริงอิมัลชัน เนื่องจากมีราคาถูก ไม่เป็นพิษ เตรียมได้ง่าย และสามารถขยายขนาดสู่การผลิตในอุตสาหกรรมได้ โดยฟิสิกเคอริงอิมัลชันที่ใช้ผลึกไขมัน มี 3 ประเภท ได้แก่ การสร้างโครงข่าย (Network) ด้วยแรง van der Waals ระหว่างผลึกเนื่องจากมีพื้นผิวที่ไม่ active การสร้างชั้น Monolayer ระหว่าง oil-water interface และการเกิดอิมัลชันที่มีทั้ง network และฟิสิกเคอริง [11]

ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin)

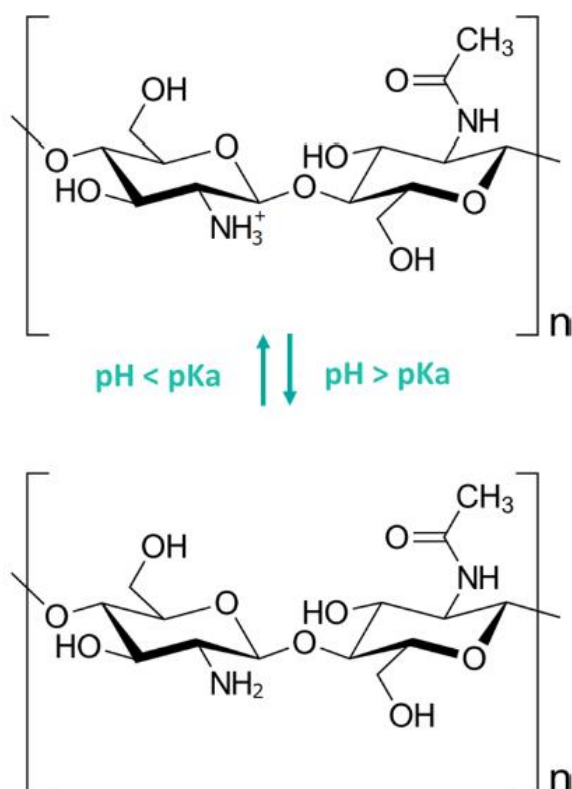
ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin) เป็น Cyclic oligosaccharides กำเนิดมาจาก Starch hydrolysis โดย Cyclodextrin glycosyl transferase bacterial enzyme มี 3 ประเภทหลัก คือ แอลฟาไซโคลเดกซ์ทริน เบต้าไซโคลเดกซ์ทริน และ แกมมาไซโคลเดกซ์ทริน ซึ่งมีหมู่กลูโคส 6, 7 และ 8 หน่วย เชื่อมด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic bonds) ตามลำดับ โครงสร้างทางเคมีมีลักษณะเป็นทรงกรวยตัด ด้านนอกเป็นส่วนที่ชอบน้ำ และด้านในเป็นส่วนไม่ชอบน้ำ จึงมีประโยชน์ในการสร้างสารประกอบเชิงซ้อน (Inclusion complex) ของสารที่ไม่ชอบน้ำ ด้วยความที่มีโครงสร้างแบบ amphiphilic complexes คล้ายกับสารลดแรงตึงผิว ประกอบกับสามารถรวมตัวเองเป็นอนุภาคได้ (Self-assemble) เมื่อมีความเข้มข้นสูง จึงสามารถสร้างฟิสิกเคอริงอิมัลชันกับน้ำมันได้ [14]

2.3 การเตรียมอนุภาคฟิกเคอริงโดยใช้โคโตซานเป็นพอลิเมอร์พื้นฐาน

อนุภาคโคโตซานถูกใช้ให้เป็น สารที่ทำให้คงตัวของฟิกเคอริง (Pickering stabilizer) โดยมีการดัดแปลงโครงสร้างทางเคมี หรือการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับพอลิเมอร์อื่น หรือ การดัดแปลงความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic modification) ในโครงสร้าง ซึ่งวิธีการเตรียมอนุภาคฟิกเคอริงโดยใช้โคโตซานเป็นพื้นฐานนี้ สามารถถูกจัดเป็น 4 วิธีหลัก [2] ดังนี้

2.3.1 Self-aggregation

วิธี Self-aggregation เป็นวิธีทั่วไปที่ใช้สำหรับการเตรียมอนุภาคนาโนของโคโตซาน เกิดขึ้นจากการรับโปรตอน (Deprotonation) ของหมู่เอมีนหรือหมู่อะมิโน ในสภาวะต่าง ทำให้เป็นการลดประจุบนพื้นผิว (Surface charge) นำไปสู่การรวมโมเลกุลอย่างเป็นระเบียบด้วยตัวเอง (Self-assembly) หน่วย D-glucosamine ในโคโตซาน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่แสดงถึงการละลายของโคโตซาน ในขณะที่ N-acetyl-glucosamine เป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ ทำให้ต้องมีการดัดแปลงของหน่วย D-glucosamine ให้มีความไม่ชอบน้ำเกิดขึ้นโดยการปรับค่า pH ของสารละลายโคโตซานให้สูงกว่า pKa ซึ่งมีค่าประมาณ 6.5 กล่าวคือ ที่ pH ต่ำ หมู่อะมิโนเกิดการจ่ายโปรตอน (Protonation) ทำให้โครงสร้างมีประจุเป็นบวก และสามารถละลายน้ำได้ ในขณะที่ pH ประมาณ 6.5 หรือสูงกว่า หมู่อะมิโนเกิดการรับโปรตอน (Deprotonation) ทำให้โครงสร้างเกิดการรวมตัวเป็นอนุภาคได้อธิบายข้อมูลดังกล่าวในเชิงโครงสร้างดังรูปที่ 3



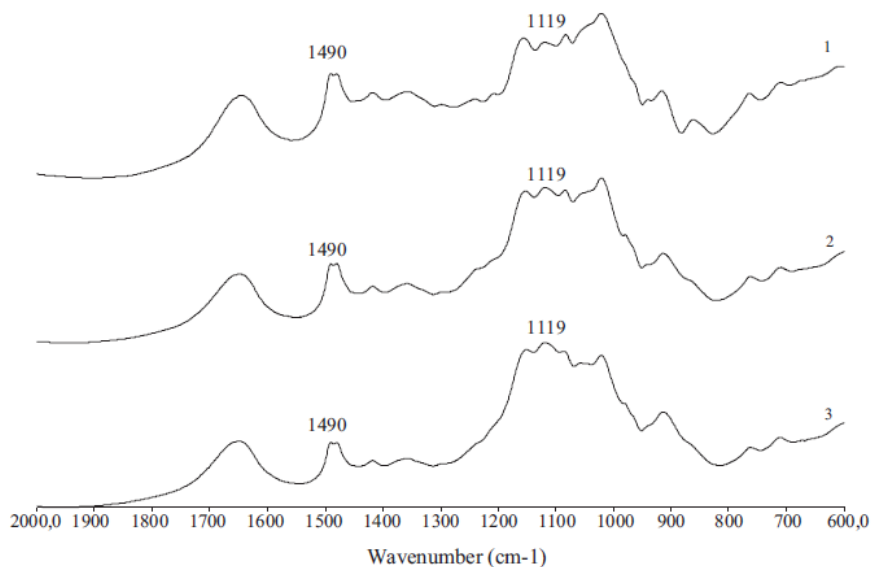
รูปที่ 3 การรับและจ่ายโปรตอนของไคโตซานเนื่องจากการปรับค่า pH [2]

2.3.2 Ionic gelation

การผลิตอนุภาคไคโตซานด้วยวิธี Ionic gelation ได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากสามารถทำได้ง่าย และราคาถูก เกิดขึ้นจากการดึงดูดของประจุ (Ionic attraction) ระหว่างประจุบวกของหมู่อะมิโนในไคโตซานกับประจุลบของพอลิแอนไอออน (Polyanion) ตัวอย่าง Polyanion ที่นิยมใช้ ได้แก่ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Sodium Tripolyphosphate) ซึ่งอนุภาคที่เตรียมขึ้นด้วยวิธี Ionic gelation ถูกใช้สำหรับการกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงเป็นสารให้ความคงตัวของฟิสิกเคอริงอิมัลชันเพื่อใช้ในการขนส่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางปากได้อีกด้วย [2]

Ramune Rutkaite และคณะ (2012) ศึกษาการสร้าง Cationic starch nanoparticle ระหว่าง Cationic quaternary ammonium substituted starches กับ Anionic sodium tripolyphosphate ที่อัตราส่วนแตกต่างกัน โดยผลของการวัดศักย์ซีต้าด้วยเทคนิค Dynamic light scattering (DLS) ที่อัตราส่วนต่างๆ มีค่าระหว่าง +4 ถึง +34 มิลลิโวลต์ ผลจาก Scanning electron microscope (SEM) พบว่ามีลักษณะเป็นทรงกลม และผลของ FTIR ของการสร้างสารประกอบเชิงซ้อน แสดงดังรูปที่ 4 พบมีการปฏิสัมพันธ์ระหว่างกลุ่ม quaternary ammonium ประจุบวก กับ ไอออนฟอสเฟตประจุลบ โดยพบแถบการดูดซึม (Absorption band) ที่ 1490 cm^{-1}

ซึ่งแสดงหมู่เมทิลของ quaternary ammonium มีความเข้ม (intensity) ที่ลดลง และพบแถบการดูดซึมที่ 1119 ซึ่งแสดงถึง P=O มีความเข้มที่เพิ่มมากขึ้น [16]



รูปที่ 4 แถบสเปกตรัม FTIR ของ Cationic starch nanoparticle [16]

- 1) Cationic quaternary ammonium substituted starches
- 2) Cationic starch nanoparticle ที่ความเข้มข้น 4 g/L
- 3) Cationic starch nanoparticle ที่ความเข้มข้น 9.34 g/L

Elisa Franco Ribeiro และคณะ (2020) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนของไคโตซาน โดยการรับโปรตอน (Deprotonation) และโดยวิธี Ionic gelation เพื่อดูคุณลักษณะทางกายภาพ โครงสร้าง และพฤติกรรมทางรีโอโลยีของฟิสิกเคอริงอิมัลชันของน้ำมันกาแฟคั่ว (Roasted coffee oil) โดยอนุภาคไคโตซานจากการ Deprotonation เตรียมความเข้มข้นของไคโตซานที่ร้อยละ 0.9 และ 1.5 โดยมวล ทำการปรับ pH ให้มีค่า 6.7 และ อนุภาคไคโตซานจากวิธี Ionic gelation ใช้อัตราส่วนไคโตซานต่อไตรโพลีฟอสเฟต เท่ากับ 3:1 ของแต่ละความเข้มข้นของไคโตซาน ผลวิเคราะห์มุมสัมผัสของหยดน้ำบนอนุภาคไคโตซานพบว่าอนุภาคไคโตซานจากการรับโปรตอน มีมุมสัมผัส 94.19 องศา แสดงถึงความไม่ชอบน้ำมากกว่า (มุมสัมผัสเกิน 65 องศา) ในขณะที่อนุภาคไคโตซานจากวิธี Ionic gelation พบว่ามีมุมสัมผัส 64.89 องศา ซึ่งแสดงถึงความชอบน้ำที่มากกว่า นอกจากนี้ผลของคุณสมบัติรีโอโลยี พบว่า สำหรับอนุภาคไคโตซานจากการรับโปรตอนสามารถเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันในลักษณะของโครงข่ายแบบยืดหยุ่น (elastic gel network) เนื่องจากแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic repulsion) ที่ต่ำและจะสูญเสียโครงสร้างเมื่อใช้แรงเฉือนที่สูงขึ้น ในขณะที่ฟิสิกเคอริงอิมัลชันจากอนุภาคไคโตซานด้วยวิธี Ionic gelation มีพฤติกรรมคล้ายของไหล (Fluid-like) ซึ่งมี

ความเป็นเจลน้อยกว่า แต่ก็ทำให้หยดอิมัลชันยังคงสภาพในลักษณะสารแขวนลอยอยู่ได้ อันเนื่องมาจากมีแรงผลัทางไฟฟ้าสถิตที่สูงกว่า [1]

Bakht Ramin Shah และคณะ (2021) ศึกษาพิกเคอริงอิมัลชันของยูจีนอลโดยโคโคซานและไตรโพลีฟอสเฟต เพื่อพัฒนาการไม่ละลายน้ำของยูจีนอล และสามารถลดความตึงเครียดอันเนื่องมาจากการใช้เป็นยาสลบในปลาได้ โดยทำการศึกษาปัจจัยของ pH และอุณหภูมิ ผลการทดลองพบว่า พิกเคอริงอิมัลชันที่ใช้อยูจีนอลร้อยละ 5 ให้ขนาดหยดอิมัลชันที่เล็กกว่า สามารถคงตัวในสภาวะ pH 5-7.5 และคงตัวที่อุณหภูมิ 30-80 องศาเซลเซียสได้ นอกจากนี้การศึกษาการฟื้นตัวของปลาหลังจากให้ยาสลบด้วยพิกเคอริงอิมัลชัน พบว่า ปลาสามารถฟื้นตัวได้เร็วกว่าการใช้อยูจีนอลที่ความเข้มข้นเท่ากัน (50 ppm) [17]

2.3.3 Polyelectrolyte complexation

การสร้างอนุภาคโคโคซานด้วยกระบวนการ Polyelectrolyte complexation เป็นการสร้างสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง โคโคซาน กับ พอลิเมอร์ประจุตรงข้าม เพื่อใช้ในการกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและขนส่งยา โดยอาศัยแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุล (Intermolecular electrostatic attraction), การสร้างพันธะไฮโดรเจน, แรงแวนเดอร์วาลส์ รวมถึง แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic interaction) ซึ่งถือเป็นวิธีใหม่ที่ทำให้อนุภาคที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนมีพื้นผิวที่สามารถใช้งานได้ (Surface active) ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่ใช้สร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับโคโคซานได้แก่ Gelatin, Gliadin, Zein, Gum Arabic, Octenyl succinic anhydride starch, Sodium dodecyl sulfate, Alginate, Polystyrene, Silica และ Bacteria cell เป็นต้น [2]

2.3.4 Hydrophobic modification

การดัดแปลงโครงสร้างของโคโคซานให้มีความไม่ชอบน้ำมากขึ้น อาศัยปฏิกิริยาเอมิเดชัน (Amidation) ระหว่างหมู่อะมิโนของโคโคซาน กับหมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl groups) ในสารประกอบอื่น ซึ่งตัวอย่างเช่น Stearic acid [18] หรือ Dihydrocaffeic acid [8] โดยพัฒนาความสามารถในการรักษาเสถียรภาพของพิกเคอริงอิมัลชันให้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การนำอนุภาคโคโคซานที่ถูกการดัดแปลงไปใช้ในการทำพิกเคอริงอิมัลชันโดยตรงแล้ว ยังสามารถผสมผสานวิธีการดัดแปลงให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น โดยเพิ่มเติมวิธี Ionic gelation หรือ Polyelectrolyte complexation หลังจากปฏิกิริยา Amidation ตัวอย่างเช่นการใช้ไตรโพลีฟอสเฟต ในการทำ Ionic gelation เป็นต้น [2]

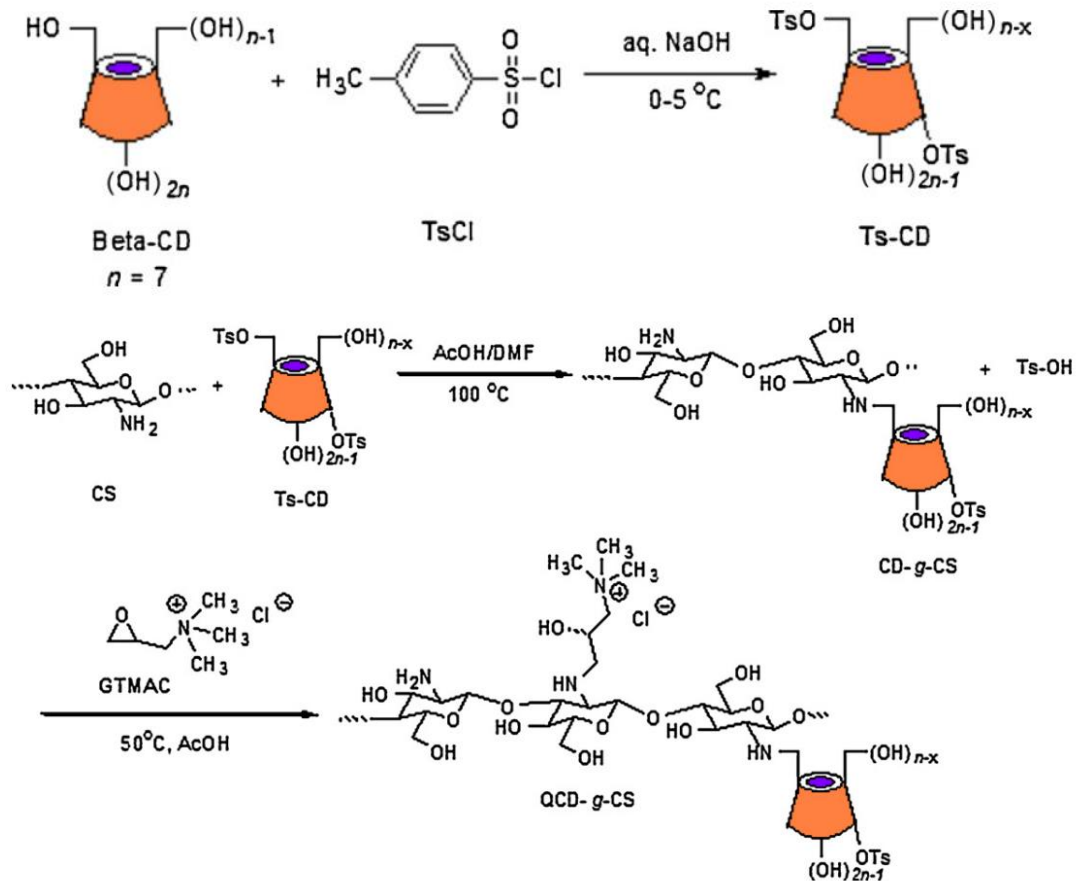
Pattarapond Gonil และคณะ (2021) ได้ศึกษาการสังเคราะห์ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (QCD-g-CS) โดยวิธี Quaternization ของเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (CD-g-CS) ที่เตรียมจาก O-p-toluensulfonyl- β -cyclodextrin (Ts-CD) โดยใช้ Glycidyltrimethyl ammonium chloride (GTMAC) เป็น Quaternizing agent ภายใต้สภาวะกรดอะซิติก โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ Degree of N-substitution (DS) ของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน (Ts-CD) ช่วงร้อยละ 5 ถึง 23 จำนวนโดยเทคนิค H NMR พบว่า DS เพิ่มขึ้นตามโมลของ Ts-CD ที่ใส่เข้าไป จากนั้นศึกษา Degree of quaternization (DQ) ของ GTMAC เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์คือ ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน พบว่า DQ อยู่ในช่วงร้อยละ 60 ถึง 80 จะเห็นว่า DQ มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อ DS มีค่าน้อยลง อย่างไรก็ตาม QCD-g-CS ต่างๆที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นสามารถปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำได้ (Water solubility) แต่จะมีความเป็นผลึก (Crystallinity) และเสถียรภาพทางอุณหภูมิ (Thermal stability) ที่ลดลง นอกจากนี้ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Antimicrobial activity) ของ QCD-g-CS พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans*, *S. mutan* และ *S. Oralis* ได้ [6]

Rongli Zhang และคณะ (2019) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคโคโตซานด้วย Hydrocaffeic acid ผ่านปฏิกิริยา Amidation และ Ionic gelation ด้วยไตรโพลีฟอสเฟต (HCA-CS/TPP) เพื่อใช้ในการทำฟิสิกเคอริงอิมัลชัน และยังมีการศึกษาคุณสมบัติการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ที่ดีในหลายช่วงค่า pH พบว่า การทำปฏิกิริยาระหว่าง Hydrocaffeic acid กับโคโตซาน ทำให้เกิดหมู่ฟังก์ชันเอไมด์ขึ้น และเมื่อทำฟิสิกเคอริงอิมัลชันที่ค่า pH ต่างๆเทียบกับ โคโตซานที่ผ่านการทำ Ionic gelation (CS/TPP) พบว่า ที่ pH มากกว่า 10 ทำให้ฟิสิกเคอริงอิมัลชันที่ใช้ CS/TPP เกิดการตกตะกอน แต่ฟิสิกเคอริงอิมัลชันของ HCA-CS/TPP ยังสามารถละลายและไม่มีการตกตะกอนเกิดขึ้น ดังนั้นฟิสิกเคอริงอิมัลชันที่ใช้ HCA-CS/TPP มีเสถียรภาพของอิมัลชันที่ดีในช่วง pH ที่กว้างขึ้นได้ [8]

2.4 ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (Quaternized Cyclodextrin Grafted Chitosan)

ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (Quaternized cyclodextrin grafted chitosan) สัญลักษณ์โดยย่อ คือ QCD-g-CS เป็นพอลิเมอร์ประจุบวก (Cationic polymer) ที่ถูกปรับปรุงจากไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (CD-g-CS) โดยใช้ Glycidyl trimethyl ammonium chloride (GTMAC) เป็น Quaternizing agent ในการทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนบนโคโตซาน ทำให้โมเลกุลของ QCD-g-CS สามารถง่ายโปรตอนได้ในทุกช่วง pH หรือมีความสามารถในการละลายน้ำ

ในช่วง pH ที่กว้างขึ้นได้ สามารถเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Protonated polymer การสังเคราะห์สารตัวพา QCD-g-CS ถูกพัฒนาขึ้นจากศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ [6] โดยมีขั้นตอนการทำปฏิกิริยาดังรูปที่ 5

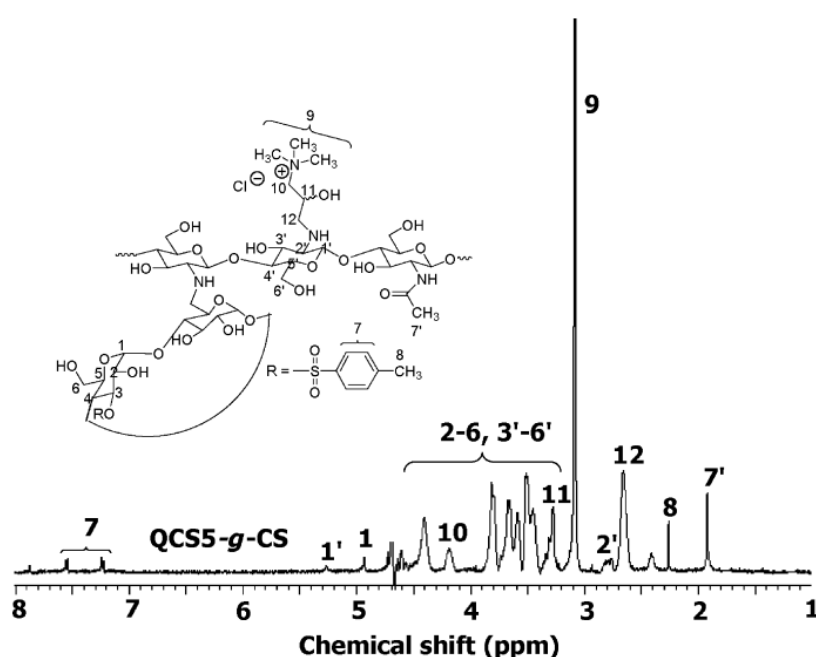


รูปที่ 5 การเตรียมสารตัวพาควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน [6]

การเตรียม QCD-g-CS จากรูปที่ 5 เริ่มต้นด้วยการเตรียม 6-O-p-toluenesulfonyl- β -cyclodextrin (Ts-CD) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่สำคัญที่สุดสำหรับการดัดแปลงกลุ่ม Primary hydroxyl group และ Secondary hydroxyl group บน Ts-CD ให้สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชันอื่นๆ ได้ เช่น อะมิโน อัลคิลอะมิโน ไฮดรอกซิล ฮาโล และฟอร์มิล เป็นต้น สังเคราะห์โดยปฏิกิริยา Tosylation บนหมู่ Primary hydroxyl และ Secondary hydroxyl บนเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (Beta-CD) โดยใช้ P-toluenesulfonyl chloride (TsCl) ในสถานะที่เป็นต่าง ที่อุณหภูมิ $0-5$ องศาเซลเซียส จากนั้น นำ Ts-CD เชื่อมบนโคโตซาน ด้วยวิธีการ Nucleophilic displacement ของหมู่ Tosyl ภายใต้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ได้ผลิตภัณฑ์เป็น CD-g-CS ที่ไม่ละลายน้ำออกมา จึงทำการปรับปรุงการละลายน้ำโดยการทำ Quaternization โดยใช้ CD-g-CS ที่มีหมู่อะมิโน ทำปฏิกิริยากับหมู่อีพอก

ไซด์ ของ GTMAC ผ่านกระบวนการ Nucleophilic substitution pathway เพื่อให้ได้ QCD-g-CS เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย [6]

ตัวอย่างผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของ QCD-g-CS ด้วยสเปกตรัม ^1H NMR ดังรูปที่ 6 พบว่า สัญญาณแบบ Doublet of doublet ตำแหน่งที่ 7 เป็นโปรตอนของหมู่อะโรมาติก ตำแหน่งที่ 1' เป็นโปรตอนของ Glucosamine residue สัญญาณแบบ Multiplet ที่ 5.0-3.0 ppm แสดงถึงโปรตอนของไซโคลเดกซ์ทริน ตำแหน่งที่ 9 แสดงถึงโปรตอนของ quaternary ammonium ตำแหน่งที่ 12 แสดงถึงโปรตอนของเมทิลีน และตำแหน่งที่ 7' แสดงถึงโปรตอนของหมู่เมทิล [6]



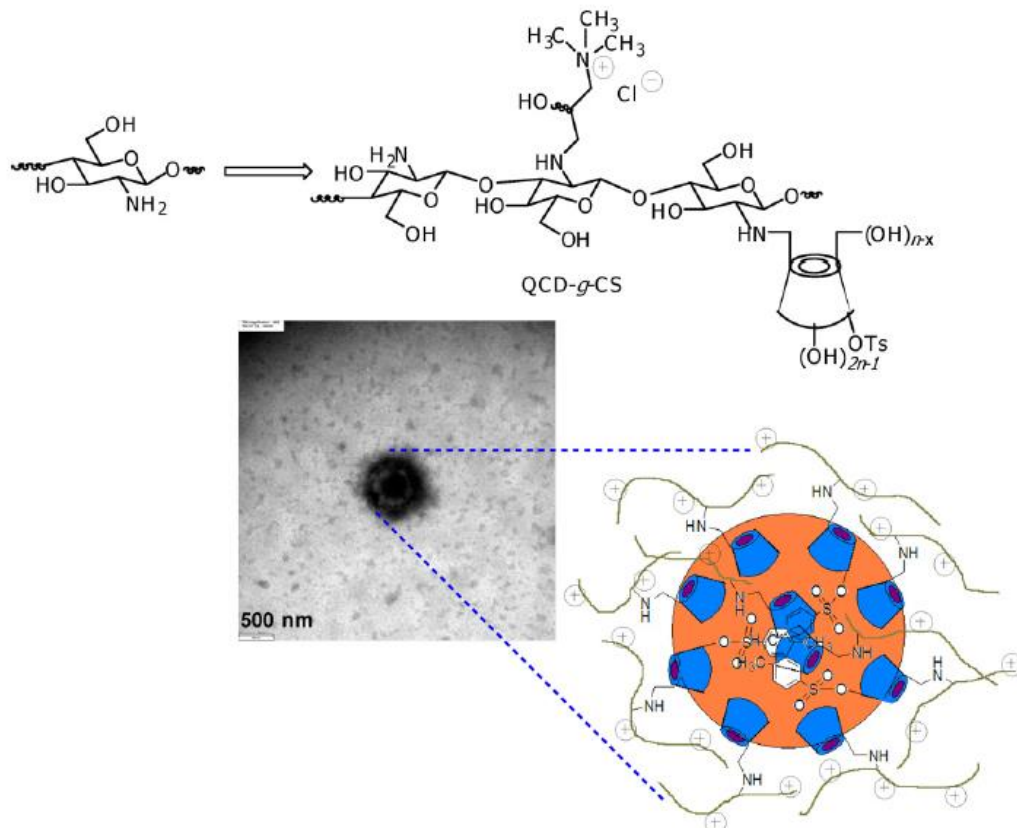
รูปที่ 6 สเปกตรัม ^1H -NMR ของ quaternized cyclodextrin grafted with chitosan 5% (QCD5-g-CS) ใน D_2O [6]

งานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ QCD-g-CS พบว่า QCD-g-CS มีคุณสมบัติทางกายภาพที่สำคัญ คือ สามารถรวมตัวเองได้ (Self-aggregate) ในน้ำ [3] และยังมีกลไกการใส่สารต่างๆเข้าไปในระบบอีก เช่น ยูจีนอล (Eugenol), เมนทอล (Menthol), แอลฟา-แมงโกสติน (Alpha-mangostin) และกรดไฮยาลูโรนิก (Hyaluronic acid) เป็นต้น ทำให้สารออกฤทธิ์ถูกสร้างสารประกอบเชิงซ้อน (Inclusion complex) ไวโพรงไซโคลเดกซ์ทริน และยังสามารถแทรกอยู่บนแกนของไคโตซาน (Chitosan backbone) ใน QCD-g-CS self-aggregates ได้ [5] [19] [20]

นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antimicrobial property) เช่น *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* และ *Candida albicans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่

พบได้ในช่องปาก มีคุณสมบัติในการติดเยื่อเมือก (Mucoadhesive property) ทำให้มีการใช้ QCD-g-CS ไปเป็นตัวพาในการนำสารออกฤทธิ์ เช่น ยูจีนอล (Eugenol) หรือเมนทอล (Menthol) [5] ผ่านทางช่องปากได้ โดยการนำพาสารดังกล่าว จะจัดเก็บในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน (Inclusion complex) โดยวิธี Spray drying [5] หรือ Freeze drying [4] เป็นต้น

Warayuth Sajomsang และคณะ (2011) ศึกษาการสร้างการรวมตัวเอง (Self-aggregates) ของ ควอเทอร์ไนซ์ไฮโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (QCD-g-CS) ที่มีค่า Degree of substitution (DS) และ Degree of quaternization (DQ) เท่ากับ ร้อยละ 5 ถึง 23 และ ร้อยละ 66 ถึง 80 ตามลำดับ พบว่า QCD-g-CS สามารถเกิดการรวมตัวเองได้ในน้ำ โดยขนาดอนุภาคที่วัดโดยเทคนิค Dynamic light scattering อยู่ในช่วง 800 ถึง 3000 นาโนเมตร ค่าศักย์ซีต้าอยู่ในช่วง 25 ถึง 40 มิลลิโวลต์ ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Atomic force microscopy (AFM) และ Transmission electron microscopy (TEM) พบว่าอนุภาคมีลักษณะเป็นทรงกลม (Spherical shape) ขนาด 100 ถึง 900 นาโนเมตร โครงสร้างมีลักษณะคล้ายไมเซลล์ (Micelle-like) หรือคล้ายสารลดแรงตึงผิว (Surfactant-like) โดยพบการรวมกลุ่มของเบต้าไฮโคลเดกซ์ทรินอยู่ด้านใน และพบ Quaternary ammonium อยู่ภายนอก ดังรูปที่ 7 นอกจากนี้ยังได้ศึกษาคุณสมบัติการเกาะติดเยื่อเมือก (Mucoadhesive property) และความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) พบว่าคุณสมบัติเหล่านี้เพิ่มขึ้นตาม DS หรือเพิ่มขึ้นตามเบต้าไฮโคลเดกซ์ทริน [3]



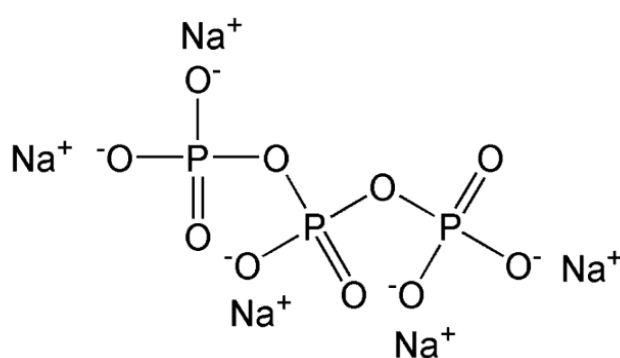
รูปที่ 7 Self-aggregates ของควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน [3]

2.5 ไตรโพลีฟอสเฟต (Tripolyphosphate or TPP)

ไตรโพลีฟอสเฟต (Tripolyphosphate) เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มโพลีแอนไอออน (Polyanion) ซึ่งแสดงประจุหลายตำแหน่งบนโครงสร้าง เป็นสารที่มีความเป็นพิษต่ำ และต้นทุนต่ำไม่เหมือนกับสารเชื่อมโยงพอลิเมอร์ (Cross-linker) ตัวอื่น ทำให้มีความปลอดภัยในการจัดการและการจัดเก็บ ไตรโพลีฟอสเฟตที่ถูกนำมาใช้งานอยู่ในรูปของเกลือโซเดียม สูตรโมเลกุล $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ มีโครงสร้างเป็นไปตามรูปที่ 8 ได้มาจากกรดไตรฟอสฟอริก (Triphosphoric acid) ที่มีการปล่อยโปรตอนออกไป สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนของโคโตซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์สายยาวเพื่อเชื่อมโยงไอออนที่นำไปสู่การก่อตัวของระบบที่ไม่เป็นเนื้อเดียว (Inhomogeneous systems) เช่นเดียวกับอนุภาคนาโน หรือตะกอนอนุภาคที่ไม่มีการควบคุมซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะของโคโตซานและความเข้มข้นระหว่างโคโตซาน และไตรโพลีฟอสเฟต [21]

บทบาทของไตรโพลีฟอสเฟตในการสร้างอนุภาคกับโคโตซานกล่าวคือ เมื่อเติมสารละลายไตรโพลีฟอสเฟตแล้ว อนุภาคนาโนสามารถเกิดขึ้นได้โดยทันทีผ่านการเชื่อมโยงระหว่างไตรโพลีฟอสเฟตและหมู่อะมิโนของโคโตซาน โดยลักษณะของอนุภาคที่ได้อาจได้รับผลกระทบจากการจัดเรียงโมเลกุล

มอนอเมอร์ อันดับของ Deacetylation และมวลโมเลกุลของโคโตซาน อนุภาคระหว่างโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟตจะมีความไวต่อค่า pH ในสารละลายซึ่งส่งผลต่อการแตกตัวของหมู่เอมีนในโคโตซาน และความแข็งแรงในการจับกันระหว่างโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต ดังนั้นการจัดการคุณลักษณะต่างๆ เช่น อัตราส่วนระหว่างโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต ความเข้มข้นของโคโตซาน และ ค่า pH ของสารละลาย ช่วยให้สามารถควบคุมทั้งการกระจายขนาดอนุภาค (Particle size distribution) และศักย์ไฟฟ้า (Zeta potential) ของอนุภาค [21]



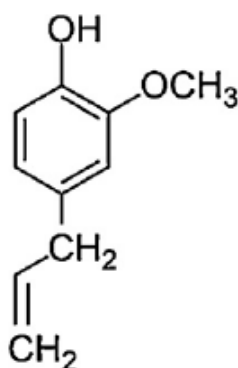
รูปที่ 8 เกลือโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต [16]

2.6 ยูจีนอล

ยูจีนอล (Eugenol) หรือ 4-Allyl-2-methoxyphenol เป็นสารประกอบฟีนอลิกธรรมชาติ จัดอยู่ในกลุ่มของฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoid) เป็นลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองซีด มีสูตรโมเลกุล $C_{10}H_{12}O_2$ สูตรโครงสร้างดังรูปที่ 9 และน้ำหนักโมเลกุล 164.2 กรัมต่อโมล ด้วยสูตรโครงสร้างมีความเป็นกรดอ่อน ทำให้สามารถละลายในสารละลายอินทรีย์ได้ ยูจีนอลสามารถสกัดได้จากส่วนต่างๆ ของพืช โดยพบมากในใบและดอกของต้นกานพลู ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Eugenia caryophyllata* โดยสามารถสกัดได้ในปริมาณ 70-90% และยังพบในพืชชนิดอื่น ได้แก่ อบเชย (Cinnamon), โหระพา (Basil) และกะเพรา (Holy Basil) เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้โดยปฏิกิริยา Alkylation of guaiacol with allylchloride [22]

ยูจีนอลสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายหลายมาก เช่น สามารถต่อต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) ต่อต้านการออกซิเดชัน (Antioxidant property) และต่อต้านแบคทีเรีย (Antibacterial) ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ในอดีต น้ำมันกานพลูถูกใช้ในยาแผนโบราณของจีนในฐานะยาต้านจุลชีพ น้ำยาฆ่าเชื้อ และยาต้านอาการกระสับกระส่าย ปัจจุบัน ยูจีนอลหรือน้ำมันกานพลูถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารยาและเครื่องสำอางโดยมีวัตถุประสงค์

หลายประการ เช่น ผลิตภัณฑ์ในครัวเรือน น้ำหอม ผลิตภัณฑ์ดูแลผิว สารแต่งกลิ่นในอาหาร ผลิตภัณฑ์ดูแลฟัน และผลิตภัณฑ์ยา ภายหลังจากได้รับการรับรองแล้วว่าปลอดภัย โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา [5, 22]



รูปที่ 9 โครงสร้างทางเคมีของยูจีนอล (Eugenol) [5]

อย่างไรก็ตาม ข้อเสียของยูจีนอล คือ ความสามารถในการละลายน้ำต่ำ และตอบสนองต่อแสงเป็นต้น ทำให้มีการพัฒนาอีกเก็บสารออกฤทธิ์เพื่อให้คงประสิทธิภาพ และป้องกันจากสภาพแวดล้อมที่ไม่ดี เช่น การกักเก็บยูจีนอลในโพรงของ แอลฟา-ไซโคลเดกซ์ทริน เบตา-ไซโคลเดกซ์ทริน และ 2-ไฮดรอกซี-เบตา-ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นต้น [4]

2.7 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation) ด้วยโปรแกรม AMBER

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตลอดหลายทศวรรษที่ผ่านมา การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation) ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่ออธิบายและทำนายกระบวนการสำคัญทางชีวเคมีในธรรมชาติ โดยศึกษาสมบัติพลวัต สมบัติเชิงโครงสร้าง และสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์ ภายใต้อาณัติต่างๆ โดยโปรแกรม AMBER ย่อมาจาก Assisted Model Building with Energy Refinement program เป็นชื่อรวมสำหรับชุดโปรแกรมที่ผู้ใช้สามารถดำเนินการและวิเคราะห์การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับ โปรตีน กรดนิวคลีอิก และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น [23]

โปรแกรม AMBER ไม่ใช่โปรแกรมสามารถใช้งานได้โดยลำพัง แต่ต้องอาศัยการเขียนหลายชุดคำสั่ง (Codes) ในโปรแกรมย่อยประกอบกันเพื่อให้ทำงานร่วมกันได้ โดยขั้นตอนหลักของการนำข้อมูลที่จำเป็นสำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลในโปรแกรม AMBER ประกอบไปด้วย 3 ขั้นตอนหลักแสดงดังรูปที่ 10 ได้แก่ การเตรียมระบบ (System preparation), การจำลอง (Simulation) และการวิเคราะห์วิถี (Trajectory analysis) [23]

1. การเตรียมระบบ (System preparation)

ไฟล์โครงสร้างโมเลกุลเริ่มต้น (Initial structure) จะอยู่ในสกุลไฟล์ PDB หรือสร้างไฟล์สกุล PDB โดยใช้โปรแกรม pdb4amber จากนั้นใช้โปรแกรม Antechamber เพื่อกำหนดพารามิเตอร์ของสนามพลัง (Force field parameter) สำหรับโมเลกุลอินทรีย์ที่ไม่มีในไลบรารีมาตรฐานซึ่งพารามิเตอร์ดังกล่าวเป็นการรวบรวมข้อมูลที่จำเป็นเช่น พันธะ และมุมไดฮีดรัลที่เกิดขึ้นทั้งหมด โปรแกรม LEaP จะทำให้ระบบที่สร้างขึ้นสมบูรณ์ โดยการสร้างพันธะของพอลิเมอร์ (Adding bond) การเติมน้ำ (Solvation) การดุลด้วยเคาน์เตอร์ไอออน (Counterions) รวบรวมพารามิเตอร์ของสนามพลัง รวมถึงพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องอื่นๆ เพื่อใช้สำหรับการจำลองต่อไป โดยผลลัพธ์ในขั้นตอนการเตรียมระบบจะมีไฟล์ข้อความ 2 ไฟล์เกิดขึ้น คือ ไฟล์พารามิเตอร์โคออร์ดิเนต (prmcrd) ประกอบไปด้วยระบบพิกัดคาร์ทีเซียน (Cartesian coordinate) ของอะตอมทั้งหมดในระบบ และไฟล์พารามิเตอร์โทโพโลยี (prmtop) เป็นไฟล์ที่มีข้อมูลที่จำเป็นในการคำนวณแรงและพลังงาน รวมไปถึงระบุชื่ออะตอม มวลอะตอม พารามิเตอร์ของสนามพลัง พันธะ มุม และไดฮีดรัล เป็นต้น [23]

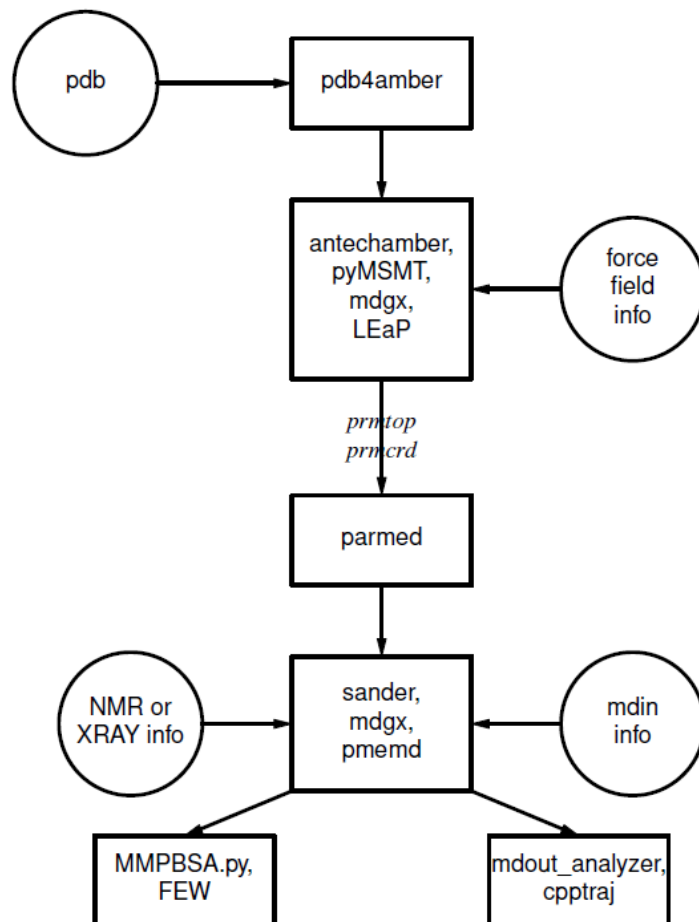
2. การจำลอง (Simulation)

โปรแกรมพื้นฐานที่ใช้ ได้แก่ โปรแกรม Sander เป็นโปรแกรมคู่ขนานที่ใช้การสื่อสารหลายหน่วยประมวลผล (Processor) โดยทุกหน่วยประมวลผลจะรู้จักของอะตอมทั้งหมดจากไฟล์โคออร์ดิเนต ทำหน้าที่คำนวณพลังงานศักย์ (Potential energy) และเวกเตอร์แรง (Force vector) ของแต่ละอะตอม ไบนารีทรีจะทำการรวมเวกเตอร์แรงที่ได้แสดงเป็นพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular dynamics) จากนั้นจะส่งตำแหน่งอัปเดตของอะตอมให้กับหน่วยประมวลผลอีกครั้งเพื่อจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลในขั้นตอนถัดไป อย่างไรก็ตามปัญหาหลักที่เกิดขึ้นคือการที่มีหน่วยประมวลผลที่จำกัดเพื่อคำนวณระบบที่มีอะตอมมากขึ้นจะใช้เวลานานขึ้นในการประมวลผล ดังนั้น Bob Duke ผู้พัฒนาซอฟต์แวร์ จึงได้พัฒนาเวอร์ชันของ Sander ใหม่เรียกว่า PMEMD ซึ่งย่อมาจาก Particle Mesh Ewald Molecular Dynamics ได้กลายเป็นเครื่องมือหลักในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลด้วย AMBER โดยโปรแกรม Sander ยังคงสามารถใช้เพื่อรันบน CPU ได้ แต่จะช้ากว่ามาก การเรียกใช้โปรแกรม pmemd.CUDA ให้ความสามารถในการใช้ NVIDIA GPU เพื่อลดเวลาในการรันการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยมีการปรับปรุงประสิทธิภาพการทำงานของ GPU ทั้งแบบอนุกรมและแบบคู่ขนาน [23, 24] ซึ่งไฟล์ที่จำเป็นสำหรับการรันด้วย pmemd.CUDA ได้แก่ ไฟล์ prmcrd, ไฟล์ prmtop และ ไฟล์อินพุตซึ่งใช้กำหนดเงื่อนไขในการจำลอง [23]

3. การวิเคราะห์วิถี (Trajectory analysis)

การวิเคราะห์เชิงวิถีหลังจากการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลได้ถูกพัฒนาแนวคิดด้วยนักวิทยาศาสตร์ที่พยายามจะศึกษาผลการจำลองให้มีความหลากหลาย โดยโปรแกรมแรกเริ่มที่มีการคิดค้นคือโปรแกรม PTRAJ เพื่อสนับสนุนงานวิเคราะห์ในเชิงโครงสร้างโดยสามารถเลือกเฉพาะ

อะตอมหรือโมเลกุลที่ต้องการศึกษาได้ โดยกำหนดคำสั่งดำเนินการไว้ในไฟล์อินพุตซึ่งรวบรวมการวิเคราะห์ไว้โดยผู้ต้องใช้ความรู้เกี่ยวกับการเขียนโปรแกรมภาษาซี โดยอาจมีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเขียนให้สอดคล้องกับโปรแกรม PTRAJ เพื่อให้ได้ตัวแปรที่ใช้ในการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์ในเชิงพลังงานและเอนโทรปีของการจำลองพลวัตที่มีการกำหนดสแน็ปช็อตที่อยู่ในไฟล์วิถี ซึ่งจะถูกสร้างและคำนวณโดยสคริปต์ในไฟล์อินพุตที่ผู้ใช้งานระบุไว้ได้เช่นกัน [23, 24] อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์เชิงโครงสร้างด้วยโปรแกรม PTRAJ อาจใช้เวลานานถ้าระบบมีขนาดใหญ่ จึงได้มีผู้ที่เอาโปรแกรม PTRAJ ไปพัฒนาต่อเป็นโปรแกรม CPPTRAJ ซึ่งมีการใช้งานอยู่ในปัจจุบันเพื่อลดเวลาในการคำนวณ และเพิ่มตัวแปรในการวิเคราะห์ให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น [24, 25]



รูปที่ 10 แผนผังขั้นตอนการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม AMBER [23]

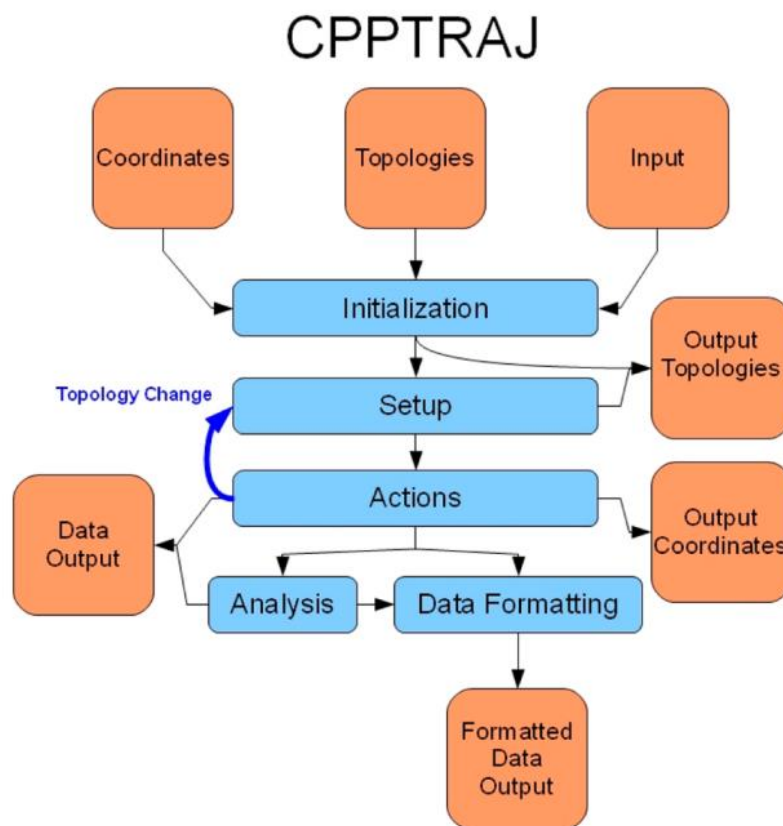
2.8 การวิเคราะห์ผลการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม CPPTRAJ

CPPTRAJ เป็นโปรแกรมย่อยในโปรแกรม AMBER ใช้ในการประมวลผลพิกัดเชิงวิถี (Coordinate trajectories) เพื่อวิเคราะห์ผลการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล ถูกพัฒนามาจากโปรแกรม PTRAJ โดยมีการปรับการเขียนโค้ดของไฟล์อินพุตที่สามารถสร้างไฟล์โทโพโลยี (Topology file) ได้หลายรูปแบบเทียบกับโครงสร้างอ้างอิง (Reference structure) ซึ่งขึ้นอยู่กับการละเว้น (Strip) อะตอมบางอะตอมที่ไม่ต้องการออก ซึ่งจะทำให้การคำนวณรวดเร็วยิ่งขึ้น [24, 25]

เพื่อให้เข้าใจในการประมวลผลและการวิเคราะห์เชิงวิถีที่ดียิ่งขึ้น สามารถอธิบายแผนผังซึ่งแสดงในรูปที่ 11 มีขั้นตอนทั้งหมด 5 ขั้นตอน ได้แก่ การเริ่มต้น (Initialization), การตั้งค่า (Set up), การดำเนินการ (Actions), การวิเคราะห์ (Analysis), และการจัดรูปแบบข้อมูล (Data formatting) [25]

ขั้นตอนเริ่มต้น (Initialization) ไฟล์โทโพโลยีถูกเตรียมขึ้นด้วยการป้อนข้อมูลโดยผู้ใช้งานในไฟล์อินพุต (Input file) ซึ่งข้อมูลในไฟล์โทโพโลยีและโครงสร้างอ้างอิงทั้งหมดจะถูกอ่าน ส่วนข้อมูลพิกัดเชิงวิถี (Coordinate trajectory) ถูกเตรียมไว้ใช้สำหรับการอ่านและวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ต่อมาสองขั้นตอนถัดไป การตั้งค่า (Set up) และการดำเนินการ (Actions) ประกอบไปด้วยการอ่านพิกัดและสะสมข้อมูลไปพร้อมกัน ในช่วงของการตั้งค่า เมื่อมีการแยกอะตอม (Atom mask) ในการวิเคราะห์ซึ่งไฟล์โทโพโลยีจะถูกสร้างขึ้นใหม่ก่อนที่จะมีการดำเนินการในขั้นตอนถัดไปซึ่งข้อมูลพิกัดที่ถูกป้อนเข้ามาใหม่นั้นจะถูกอ่านที่ละเฟรมและประมวลผลในแต่ละการดำเนินการ (Actions) เมื่อกระบวนการเสร็จสิ้น ข้อมูลที่ถูกสะสมไว้สามารถใช้เพื่อการวิเคราะห์ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ (Analysis) โดยมีการจัดรูปแบบข้อมูลเอาท์พุตและเขียนไฟล์ออกมา [25]

กล่าวโดยรวมแล้วข้อแตกต่างของโปรแกรม CPPTRAJ ที่เหนือกว่าโปรแกรม PTRAJ คือ 1) เมื่อระบุเลือกเฉพาะอะตอมในขั้นตอนเริ่มต้น และการตั้งค่า ไฟล์โทโพโลยีจะถูกสร้างขึ้นใหม่เพื่อใช้ในการดำเนินการต่างๆได้ 2) ไม่จำเป็นต้องทราบจำนวนเฟรมเนื่องจากถูกกำหนดไว้ในหน่วยความจำต่อเนื่องกันแล้ว 3) สามารถให้ผลลัพธ์ที่ชัดเจนหลังจากเสร็จสิ้นการประมวลผลและการวิเคราะห์ โดยข้อมูลเอาท์พุตสามารถถูกจัดรูปแบบได้หลากหลาย [25]



รูปที่ 11 แผนผังการทำงานของโปรแกรม CPPTRAJ [25]

คำสั่งที่ใช้ดำเนินการ (Action commands) ของโปรแกรม CPPTRAJ มีอยู่หลายคำสั่งซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของระบบที่เราสนใจ โดยในโปรแกรม AMBER เมื่อติดตั้ง AmberTools ตัวอย่างการรันคำสั่งในกรณีต่างๆ จะอยู่ในไดเรกทอรี $\$AMBERHOME/AmberTools/test/cpptraj$ ซึ่งผู้ใช้สามารถสร้างไฟล์อินพุตเพื่อให้ได้ค่าที่ต้องการได้ ทั้งนี้ตัวอย่างคำสั่งที่ใช้วิเคราะห์ผลการจำลองเชิงพลวัต [25] ได้แก่ Root-Mean Square Deviation (RMSD), Radius of Gyration (Rg), Solvent-Accessible Surface Area (SASA), Distance, Native Contacts, และ Linear Interaction Energy (LIE) เป็นต้น ได้ถูกอธิบายดังนี้

2.8.1 ค่าเบี่ยงเบนกำลังสองของค่าเฉลี่ย (Root-Mean Square Deviation)

ค่าเบี่ยงเบนกำลังสองของค่าเฉลี่ย หรือค่า RMSD เป็นค่าที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล แสดงถึงความเสถียรในการจำลองและความสมดุลในแต่ละช่วงเวลาของการจำลอง โดยปกติการเปลี่ยนแปลงค่า RMSD มีความชันมากในช่วงแรกและมีแนวโน้มที่จะแกว่งไปมารอบค่าเฉลี่ยในช่วงเวลาที่เหลือของการจำลอง ถ้าค่า RMSD ยังไม่ถึงสถานะคงตัว แสดงถึงว่ายังมีการ

เปลี่ยนแปลงของโครงสร้างอย่างต่อเนื่อง ความยากลำบากในการเข้าสู่สมดุลเกิดจากระบบที่มีขนาดใหญ่ทำให้เกิดค่า RMSD จำนวนมากและมีความยืดหยุ่นสูง ดังนั้นในการคำนวณ RMSD จึงสามารถใช้ได้กับทุกระบบ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต หรือลิแกนด์ต่างๆได้ [26]

การหาค่า RMSD จะช่วยประเมินเชิงปริมาณของการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโปรตีนในช่วงเวลาที่มีการจำลองเชิงพลวัต สมการและเทอมที่กำหนดของ RMSD แสดงในสมการ (1)

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \|x_i(t_2) - x_i(t_1)\|^2} \quad (1)$$

โดยที่ $x_i(t)$ คือ ตำแหน่งของอะตอม i ณ เวลา t โดยที่ $t_1 > t_2$

N คือ จำนวนอะตอมทั้งหมดในโมเลกุล

ค่า RMSD ที่เวลา t_1 และ t_2 จะถูกคำนวณตามเฟรมทั้งหมดที่มีตลอดการจำลอง ซึ่งเวลาที่ t_1 ถูกใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงซึ่งเป็นเฟรมแรกของการจำลอง [26]

2.8.2 รัศมีของการหมุน (Radius of Gyration)

รัศมีของการหมุน หรือ Radius of Gyration (Rg) มีประโยชน์มากสำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล เพื่อเปรียบเทียบการโค้งงอของโมเลกุล ซึ่งการศึกษาค่า Rg เป็นหน่วยที่ใช้วัดความกะทัดรัด (Compactness) ของโปรตีนโดยระยะห่างของโมเลกุลเทียบกับจุดศูนย์กลางมวลถูกนำมาคำนวณโมเมนต์ความเฉื่อย (Moment of Inertia) ซึ่งจะเท่ากับโมเมนต์ความเฉื่อยของมวลจริงรอบแกน โดยทั่วไปการวิเคราะห์ Rg ของการจำลอง คำนวณเทียบตามเวลา ดังสมการ (2) [26]

$$R_g = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_i (r_i - r_{cm})^2} \quad (2)$$

โดยที่ $r_i - r_{cm}$ คือระยะห่างระหว่างอะตอม i และ จุดศูนย์กลางมวล (Center of Mass) ของโมเลกุล [26]

2.8.3 พื้นที่ผิวที่ตัวทำละลายเข้าถึงได้ (Solvent-Accessible Surface Area)

การคำนวณพื้นที่ผิวที่ตัวทำละลายเข้าถึงได้ หรือ Solvent-Accessible Surface Area (SASA) ของโมเลกุลถูกใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งคำนิยามของ SASA ถูกกำหนดโดยนาย Lee และ Richards [27] เสนอให้โมเลกุลตัวทำละลายมีลักษณะเป็นทรงกลม (Sphere) มีการคำนวณ SASA โดยยึดตำแหน่งของจุดที่กวาดออกโดยศูนย์กลางของทรงกลมตัวทำละลาย หักออกจากพื้นที่ที่ทับซ้อนระหว่างทรงกลมข้างเคียงดังสมการ (3) [27]

$$A_i = S_i - A_{ij} \quad \text{โดยที่} \quad S_i = 4\pi r_i^2 \quad (3)$$

- โดยที่ A_i คือ Accessible surface area ของทรงกลม i
 S_i คือ Surface Area ของทรงกลม i
 A_{ij} คือ Area ที่มีการทับซ้อนระหว่างทรงกลม i และ j
 R_i คือ รัศมีของทรงกลม i

อย่างไรก็ตามหากมีทรงกลมที่มากกว่า 2 วงแล้ว การคำนวณ SASA อาจมีการเพิ่มเติมซึ่งเป็นการรวมเชิงเส้นจากการทับซ้อนระหว่างคู่ของทรงกลม 2 คู่ จึงเรียกรูปแบบนี้ว่า Linear Combinations of Pairwise Overlaps (LCPO) [27] ซึ่งการคำนวณจะขยายจากสมการ (3) โดยเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับการทับซ้อนของทรงกลมดังแสดงในสมการ (4) [27]

$$A_i = P_1 S_i + P_2 \sum_{j \in N(i)} A_{ij} + P_3 \sum_{\substack{j, k \in N(i) \\ k \in N(j) \\ k \neq j}} A_{jk} + P_4 \sum_{j \in N(i)} A_{ij} \left(\sum_{\substack{j, k \in N(i) \\ k \in N(j) \\ k \neq j}} A_{jk} \right) \quad (4)$$

- โดยที่ $N(i)$ คือ รายการทรงกลมที่ทับซ้อนกับทรงกลม i
 A_{ij} คือ Area ที่มีการทับซ้อนระหว่างทรงกลม i และ j
 A_{jk} คือ Area ที่มีการทับซ้อนระหว่างทรงกลม j และ k
 $P_1 - P_4$ คือ ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการทำ Linear Regression แต่ละอะตอม

2.8.4 ฟังก์ชันการกระจายแนวรัศมี (Radial Distribution Function)

ฟังก์ชันการกระจายแนวรัศมี หรือ Radial Distribution Function (RDF, $g(r)$) ถูกใช้เพื่อตรวจสอบการจัดเรียงของโมเลกุลรอบโมเลกุลที่กำหนดในแนวรัศมี ซึ่งจากสมการ (5) เป็นฟังก์ชันการกระจายตัวสำหรับอะตอม B รอบอะตอม A [28, 29] ดังนี้

$$g_{(A-B)}(r) = \frac{1}{4\pi\rho_B r^2} \frac{dN_{A-B}}{dr} \quad (5)$$

- โดยที่ ρ_B คือ ความหนาแน่นเชิงตัวเลขของอะตอม B
 r คือ ระยะห่างระหว่าง A และ B
 dN_{A-B} คือ จำนวนอะตอม B เฉลี่ย ในช่วงระยะ r ถึง $r + dr$ เทียบกับอะตอม A

2.8.5 Linear Interaction Energy (LIE)

การคำนวณพลังงานอิสระ (Free energy) สามารถไปประยุกต์ใช้สำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบที่เกี่ยวข้องกับยา หรือสารสำคัญที่มีการกักเก็บไว้ พลังงานอิสระระหว่างปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนและลิแกนด์ (ΔG_{bind}) ได้มาจากความแตกต่างระหว่างพลังงานอิสระของลิแกนด์ในสารละลายที่จับกับโปรตีน ภายใต้การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลมีหลายเทคนิคที่

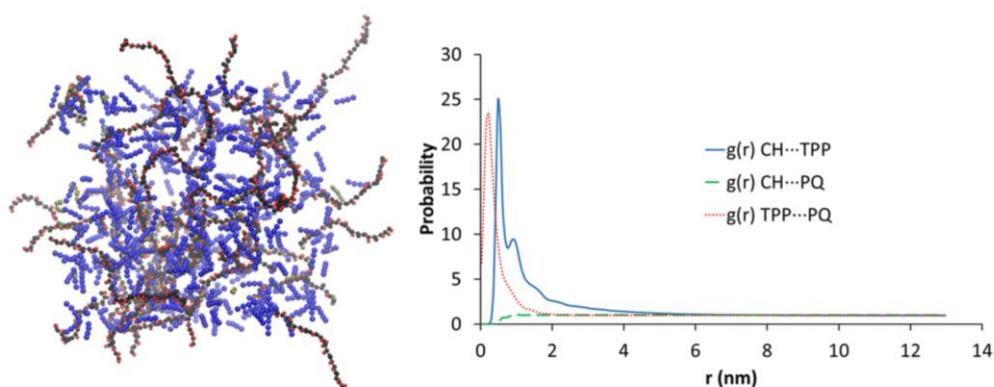
สามารถให้ค่าประมาณของพลังงานอิสระที่ดีและให้ผลลัพธ์ในระยะเวลาอันสั้น ได้แก่ The Molecular Mechanics–Poisson Boltzmann Surface Area approach (MM-PBSA) และ Linear Interaction Energy approach (LIE) เป็นต้น [26]

การประมาณค่าพลังงานอิสระด้วยวิธี Linear Interaction Energy (LIE) เป็นการหาค่าพลังงานโดยคำนึงถึงความแตกต่างในพลังงานปฏิสัมพันธ์ (Interaction energy) รอบลิแกนด์ที่ถูกผูกมัด (Bound state) และเป็นอิสระ (Free state) สมการที่กำหนดในวิธีการนี้มีให้ในสมการ (6) [26]

$$\Delta G_{\text{bind}} = \alpha \Delta(V_{L-S}^{\text{vdW}}) + \beta \Delta(V_{L-S}^{\text{el}}) + \gamma \quad (6)$$

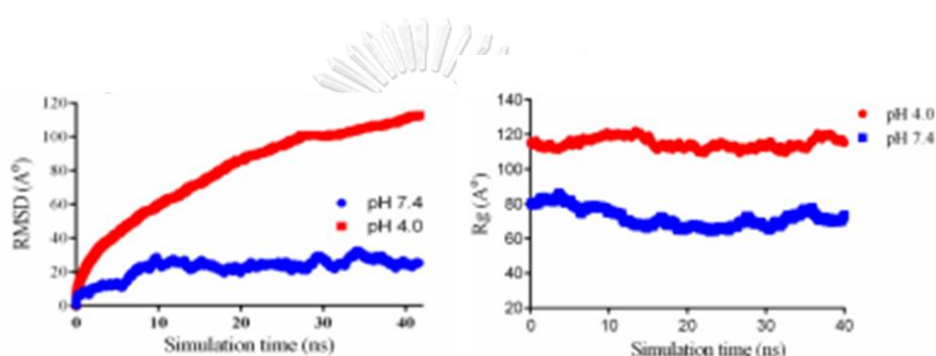
โดยที่ V_{L-S}^{vdW} และ V_{L-S}^{el} คือ ค่าพลังงานเฉลี่ยของพลังงานปฏิสัมพันธ์แวนเดอร์วาลส์ (Van Der Waals interaction energy) และไฟฟ้าสถิต (Electrostatic interaction energy) ระหว่างลิแกนด์ (Ligand) และสภาพแวดล้อม (Surroundings) โดยค่าเฉลี่ยพลังงานได้มาจากการจำลองพลวัตในสถานะผูกมัด (Bound state) และสถานะอิสระ (Free state) ของลิแกนด์ ส่วนค่า α , β , และ γ เป็นค่าสัมประสิทธิ์ซึ่งขึ้นอยู่กับความมีขั้วและไม่มีขั้วของลิแกนด์ [26]

Adrian Moreno และคณะ (2019) ได้จำลองพลวัตเชิงโมเลกุล เพื่อดูพฤติกรรมของ Chitosan (CS) และ Paraquat (PQ) ในการแย่งจับกับ Tripolyphosphate (TPP) ในการสร้างอนุภาค จากการวิเคราะห์ Radial distribution function ระหว่าง CS กับ TPP และ PQ กับ TPP ในรูปที่ 12 พบว่า TPP ชอบที่จะจับกับ CS มากกว่า PQ โดยที่ TPP เปรียบเสมือนกาว (glue) ที่เชื่อมระหว่างหน่วย Glucosamine กับ TPP [30]



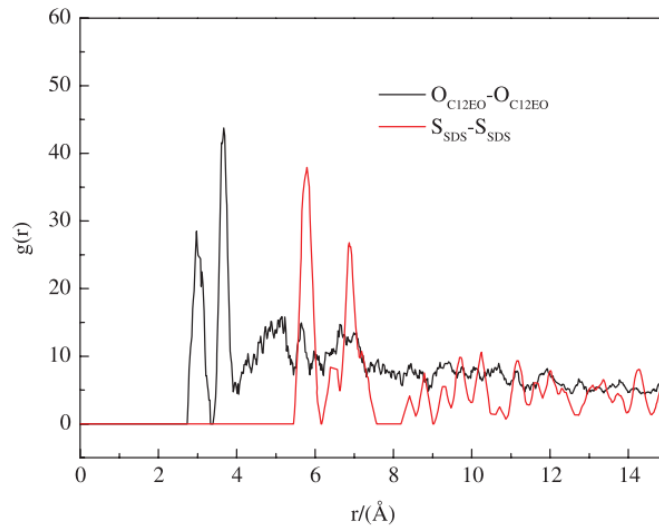
รูปที่ 12 Radial distribution function ระหว่าง Chitosan-TPP, Chitosan-Paraquat และ TPP-Paraquat [30]

Mojgan Nejabat และคณะ (2021) ได้จำลองพลวัตเชิงโมเลกุล เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลง การปลดปล่อยสาร Insulin โดยใช้อนุภาค Chitosan/Tripolyphosphate (TPP) ที่ pH 4 และ pH 7.4 จากผล RMSD ของ TPP ในรูปที่ 13 พบว่าที่ pH 7.4 RMSD มีค่าต่ำกว่า ซึ่งหมายถึง TPP สามารถจับกับ Chitosan ในสภาวะเป็นกลางได้ดีกว่าสภาวะกรด และยังมี การกักเก็บสาร Insulin อยู่ภายใน ในขณะที่ pH 4 โมเลกุล Insulin และ TPP มีการเคลื่อนที่ออกจาก Chitosan โดยที่มีการ คลายตัวของ Chitosan มากขึ้นในสภาวะที่เป็นกรด สอดคล้องกับผล Radius of gyration ของ insulin-loaded nanoparticles ในรูปที่ 13 ซึ่งพบว่า ขนาดของอนุภาคที่สภาวะกรด จะมีขนาด ใหญ่กว่าสภาวะที่เป็นกลาง [31]



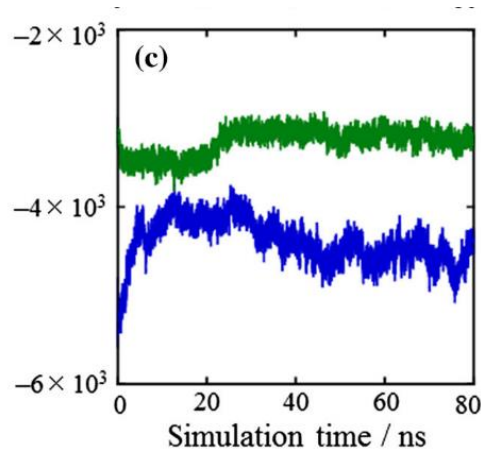
รูปที่ 13 RMSD ของ Tripolyphosphate และ Radius of gyration ของ insulin-loaded nanoparticles ที่ pH 4 และ 7.4 [31]

Bao Li และคณะ (2019) ได้จำลองพลวัตเชิงโมเลกุลในการเปรียบเทียบการเกิด dodecane/water interface emulsion โดยใช้สารลดแรงตึงผิว 2 ชนิดได้แก่ Anionic sodium dodecyl sulfonate (SDS) และ Nonionic tetraethylene glycol monododecyl ether ($C_{12}EO$) จากการวิเคราะห์ Radial distribution function (RDF) ระหว่างอะตอมที่แสดงประจุบน หัว (Headgroups) ของสารลดแรงตึงผิวในรูปที่ 14 พบว่า การจัดเรียงตัวของ SDS มีการจัดเรียงตัว ที่หลวมกว่า $C_{12}EO$ เนื่องจาก SDS เป็นสารที่มีประจุ ทำให้การคำนวณพลังงาน Interface Formation Energy (IFE) ระหว่างสารลดแรงตึงผิวกับน้ำมันมีค่าแตกต่างกัน โดยพลังงานหลักที่มีการเปลี่ยนแปลง คือพลังงานไฟฟ้าสถิต (Electrostatic energy) และพลังงานแวนเดอร์วาลส์ (Van Der Waals energy) อย่างไรก็ตามการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำและ น้ำมันมีผลมากกว่าแรงปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารลดแรงตึงผิวกับน้ำ [29]



รูปที่ 14 Radial distribution function (RDF) ระหว่างอะตอมที่หัวของ SDS และ $C_{12}EO$ [29]

Hitomi Miyamoto และคณะ (2017) ได้จำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของ Cellulose-coated oil-in-water emulsion โดยใช้เซลล์ลูโลส 2 แบบได้แก่ Cellulose chains กับ Cellulose mini-crystal ซึ่งพบว่า Cellulose mini-crystal จะเข้าไปสัมผัสกับหยดน้ำมันออกเทน (Octane) โดยใช้ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ ในขณะที่ Cellulose chains จะสัมผัสไปตามระนาบที่ผิวหยดน้ำมัน ทั้งสองระบบ อิมัลชันนี้ เซลล์ลูโลสจะมีการเปลี่ยนแปลงพลังงานปฏิสัมพันธ์กับน้ำและ Octane โดยจากการเปรียบเทียบพลังงานปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์ลูโลสกับน้ำในรูปที่ 15 พบว่า พลังงานปฏิสัมพันธ์ของเซลล์ลูโลสมีค่าลดลงเนื่องจากเกิดการปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์ลูโลสกับ Octane มากขึ้น โดยที่ Cellulose chains จะมีค่าพลังงานปฏิสัมพันธ์ที่สูงกว่า Cellulose mini-crystal เนื่องจากมีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลาทำให้การสัมผัสกับน้ำเพิ่มขึ้น [10]



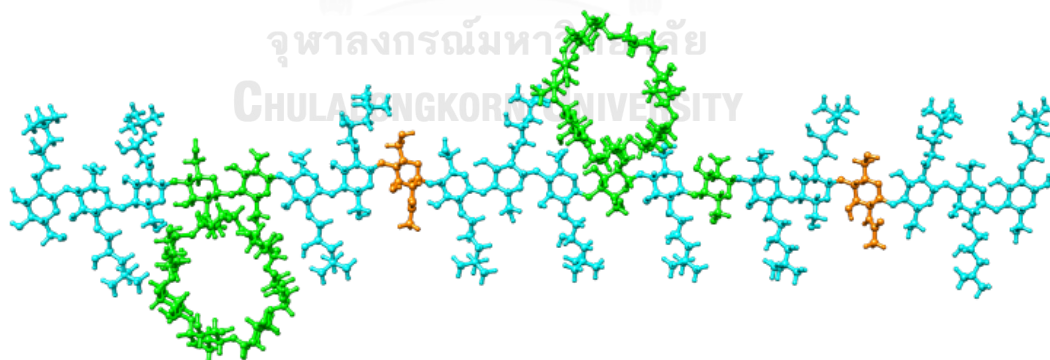
รูปที่ 15 Interaction energy ระหว่างเซลล์ลูโลสและน้ำ [10]

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 โครงสร้างโมเลกุล

3.1.1 ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน (Quaternized Cyclodextrin Grafted with Chitosan or QCD-g-CS)

โครงสร้างโมเลกุลของควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน อ้างอิงแบบจำลองมาจากงานวิจัยของ Phunpee และคณะ (2018) ที่ได้มีการสังเคราะห์ QCD-g-CS โดยพบว่าอันดับการแทนที่ (Degree of substitution) ของเบตาไซโคลเดกซ์ทรินอยู่ที่ร้อยละ 11 และอันดับของการควอเทอร์ไนซ์ (Degree of quaternization) อยู่ที่ร้อยละ 80 [20] ดังนั้น สายไซไคโตซานจึงถูกสร้างและปรับให้เหมาะสมทางเรขาคณิต (Geometry optimization) ประกอบไปด้วยหน่วย N-acetyl-D-glucosamine (N) 2 หน่วย และหน่วย Deacetyl glucosamine (D-glucosamine) 18 หน่วย โดย 4 หน่วยเป็นหน่วย D-glucosamine (G) ที่มีวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินจำนวน 2 วงเชื่อมอยู่ และอีก 14 หน่วยเป็นหน่วย Quaternized D-glucosamine (Q) ทำหน้าที่แสดงประจุบวกบนสายไคโตซาน ซึ่งลำดับแบบจำลองของ QCD-g-CS ถูกกำหนดเป็น QQQGGQQNQQQGQGGQQNQQQ ดังแสดงดังรูปที่ 16 โดยสีส้ม สีฟ้า และสีเขียว แสดงถึงหน่วย N-acetyl-D-glucosamine (N), Quaternized D-glucosamine (Q) และ D-glucosamine (G) ตามลำดับ พารามิเตอร์สำหรับเบตาไซโคลเดกซ์ทรินและไคโตซานถูกใช้สนามพลัง Glycam 06 force field [20]

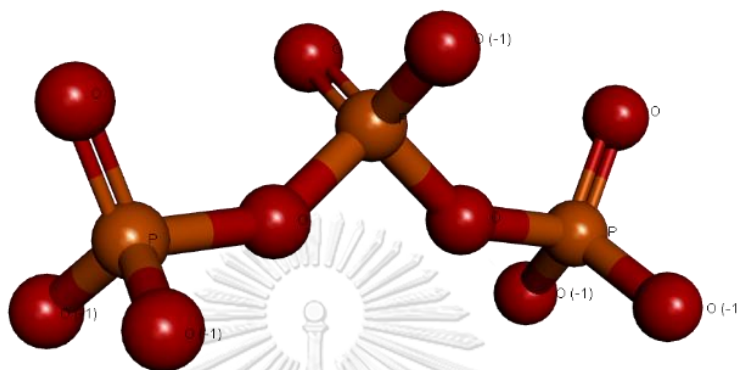


รูปที่ 16 แบบจำลองควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน

3.1.2 ไตรโพลีฟอสเฟต (Tripolyphosphate)

รูปที่ 17 แสดงถึงโครงสร้างโมเลกุลของไตรโพลีฟอสเฟตที่ถูกสร้างขึ้นและปรับให้เหมาะสมทางเรขาคณิต (Geometry optimization) ถูกใช้เป็นตัวเชื่อม Crosslinking agent กับ QCD-g-CS เพื่อ

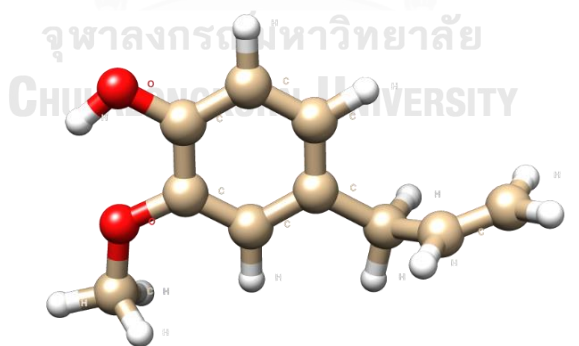
ใช้ในการสร้างอนุภาค โดยแสดงประจุ -1 จำนวน 5 ตำแหน่งบนอะตอมออกซิเจน (O) โดยค่าคงที่การแตกตัวเป็นไอออน หรือค่า pKa ของไตรโพลีฟอสเฟตมีทั้งหมด 5 ค่า ได้แก่ pKa₁ เท่ากับ 1, pKa₂ เท่ากับ 2, pKa₃ เท่ากับ 2.79, pKa₄ เท่ากับ 6.47, และ pKa₅ เท่ากับ 9.24 [32]



รูปที่ 17 โครงสร้างโมเลกุลของไตรโพลีฟอสเฟต

3.1.3 ยูจีนอล (Eugenol)

รูปที่ 18 แสดงถึงโครงสร้างโมเลกุลของยูจีนอลที่ใช้สำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล ถูกสร้างขึ้นภายใต้การปรับให้เหมาะสมทางเรขาคณิต (Geometry optimization) สำหรับระบบที่มีการผลิตพิกเคอริงอิมัลชันด้วยการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล จะใช้ยูจีนอลเปรียบเสมือนเป็นวัฏภาคน้ำมัน (Oil phase) ซึ่งถูกกักเก็บเป็นสารสำคัญโดยใช้ออนุภาคควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน



รูปที่ 18 โครงสร้างโมเลกุลของยูจีนอล

3.2 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (MD Simulation)

3.2.1 ศึกษาผลของไตรโพลิฟอสเฟตที่มีต่อการสร้างอนุภาคระหว่างควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานและไตรโพลิฟอสเฟต

3.2.1.1 เตรียมโครงสร้างเริ่มต้น (Initial Structure)

โปรแกรม Discovery Studio 2021 ถูกใช้สำหรับสร้างโครงสร้างเริ่มต้น ขั้นตอนแรกเป็นการวางโมเลกุล QCD-g-CS จำนวน 3 เส้นบนพื้นที่ จากนั้นเริ่มวางโมเลกุล TPP ใกล้อะตอมที่แสดงประจุบวกบน QCD-g-CS เป็นจำนวน 0, 21, 42, และ 84 ตัว ดังแสดงในตารางที่ 1 โครงสร้างเริ่มต้นที่ถูกเตรียมไว้เข้าสู่การทำโซลเวชัน (Solvation) โดยการเติมน้ำชนิด TIP3P และดูล์ไอออนระบบให้เป็นกลางโดยใช้โปรแกรม LEaP ไว้ภายในกล่องจำลอง (Simulation Box) ขนาด $120 \times 120 \times 120$ อังสตรอม จำนวนโมเลกุลน้ำและจำนวนไอออนที่ใช้ ได้จากการคำนวณในโปรแกรม LEaP ซึ่งใช้ไฟล์อินพุตอธิบายอย่างละเอียดในภาคผนวก ข.1

ตารางที่ 1 จำนวนโมเลกุลที่ใช้สำหรับการสร้างอนุภาคระหว่างควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานและไตรโพลิฟอสเฟต

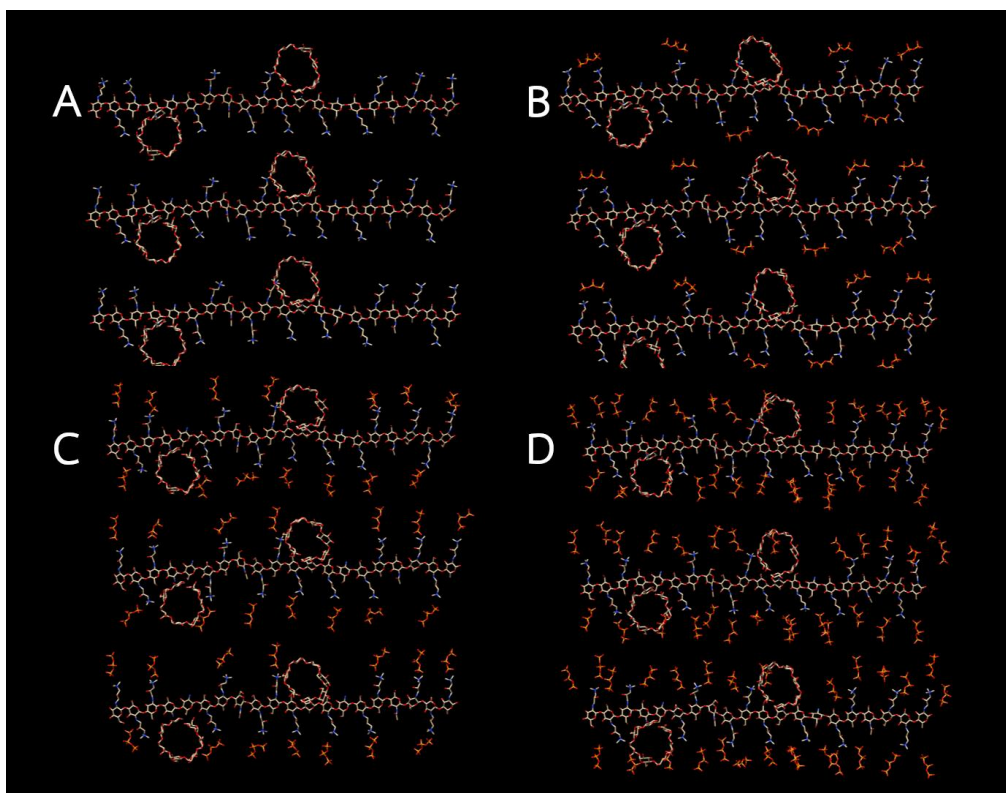
ระบบที่	จำนวนโมเลกุล			จำนวนไอออนที่ใส่ดูลให้เป็นกลาง*
	TPP	QCD-g-CS	Water*	
1	0	3	52,420	42 Cl ⁻ ions
2	21	3	52,282	63 Na ⁺ ions
3	42	3	51,410	168 Na ⁺ ions
4	84	3	50,263	378 Na ⁺ ions

* จำนวนโมเลกุลน้ำ และจำนวนไอออน คำนวณจากการทำ Solvation ด้วยโปรแกรม LEaP ในขั้นตอนการเตรียมโครงสร้างเริ่มต้น

3.2.1.2 การลดพลังงานให้ต่ำสุด (Energy Minimization)

ก่อนที่จะเริ่มการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล จำเป็นต้องจัดการสัมผัสของโมเลกุลที่ไม่ดีเหล่านี้ ออก เหตุผลคือถ้าเริ่มต้นการจำลองพลวัตด้วยการสัมผัสที่ไม่ดีแล้ว พลังงานในระบบนั้นจะสูงเกินจริง และอาจทำให้การจำลองล้มเหลว หรือทำให้วิถีเคลื่อนที่ไปในทิศทางที่ไม่สมจริง การดำเนินการลดพลังงานให้เหลือน้อยที่สุด ถึงแม้ว่าจะไม่มีการสัมผัสของโมเลกุลที่แย่งชัดเจน แต่ยังคงจำเป็นต้องลดพลังงานให้เหลือน้อยที่สุด เพื่อให้โครงสร้างคลายตัวออกเล็กน้อย

การลดพลังงานในระบบดำเนินการใน 3 ขั้นตอน ในระยะแรก เป็นการลดพลังงานของอะตอมไฮโดรเจนที่มีทั้งหมดในระบบ ระยะที่สอง เป็นการลดพลังงานของโมเลกุลน้ำที่ถูกเติมเข้าไป และระยะที่สาม เป็นการลดพลังงานของทุกอะตอมในระบบ ได้แก่ ควอเตอร์ไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และไตรโพลีฟอสเฟต ซึ่งสุดท้ายแล้วจะได้โครงสร้างโมเลกุลเริ่มต้นที่ผ่านการลดพลังงานให้ต่ำสุดดังรูปที่ 19 ซึ่งไฟล์อินพุตสำหรับขั้นตอนนี้ อธิบายอย่างละเอียดในภาคผนวก ค.1



รูปที่ 19 โครงสร้างเริ่มต้นของระบบภายหลังจากการทำ Energy minimization ระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน 3 โมเลกุล กับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต 0 โมเลกุล (A), 21 โมเลกุล (B), 42 โมเลกุล (C), และ 84 โมเลกุล (D)

3.2.1.3 การเพิ่มอุณหภูมิ และการควบคุมสมดุลระบบ (Heating and Equilibration)

ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่และตัวทำละลายโดยรอบที่มีการลดพลังงานแล้ว โดยปกติจะใช้เวลานานเพื่อให้ระบบเข้าสู่สภาวะนิ่ง โดยส่วนที่ไม่คงที่เริ่มต้นของการจำลอง มักถูกละทิ้งในการคำนวณความสมดุล การปรับสมดุลของระบบดำเนินการใน 2 ขั้นตอน ในระยะแรก เริ่มเพิ่มอุณหภูมิของระบบจากอุณหภูมิต่ำ 10 เคลวิน และค่อยๆ ให้ความร้อนสูงถึง 298

เคลวิน ในช่วงเวลา 1.3 นาโนวินาที จากนั้นขั้นตอนปรับสมดุลระบบดำเนินการโดยให้ปริมาตรคงที่ ไฟล์อินพุตสำหรับขั้นตอนนี้ อธิบายอย่างละเอียดในภาคผนวก ง.1

3.2.1.4 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation)

Particle Mesh Ewald Molecular Dynamics ถูกใช้เป็นเครื่องมือหลักสำหรับการรัน พลวัตเชิงโมเลกุลโดยโปรแกรม Sander ยังคงสามารถใช้เพื่อจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลบนซีพียูได้ แต่ใช้เวลานานมาก ดังนั้นโปรแกรม pmemd.CUDA จึงถูกเรียกใช้ทำงานโดยให้ความสามารถในการใช้ NVIDIA GPU เพื่อลดเวลาที่ใช้ในการจำลองพลวัต ระบบทั้งหมดดำเนินการที่อุณหภูมิคงที่และความดันคงที่ที่ 298 เคลวิน และ 1 บาร์ (0.987 บรรยากาศ) ตามลำดับ เวลาทั้งหมดที่ใช้ในการจำลองอยู่ที่ 500 นาโนวินาที มีการนำอัลกอริทึมเชค (SHAKE algorithm) ไปใช้กับพันธะทั้งหมดที่เกี่ยวข้องกับอะตอมไฮโดรเจน เงื่อนไขขอบเขตเป็นระยะ (Periodic boundary conditions) ถูกตั้งค่าฟังก์ชันการตัด (Cutoff function) อยู่ที่ 12 อังสตรอมสำหรับปฏิสัมพันธ์ที่ไม่ได้สร้างพันธะ (Non-bonded interactions) ซึ่งใช้วิธีแบบ Particle mesh Ewald (PME) ไฟล์อินพุตสำหรับขั้นตอนนี้ อธิบายอย่างละเอียดในภาคผนวก ง.2

3.2.2 เปรียบเทียบการเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคควอเทอร์ไนซีโซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับไตรโพลีฟอสเฟต

3.2.2.1 เตรียมโครงสร้างเริ่มต้น (Initial structure)

สำหรับโครงสร้างเริ่มต้นของอิมัลชัน ประกอบไปด้วยโมเลกุลของควอเทอร์ไนซีโซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ไตรโพลีฟอสเฟต และยูจีนอล โดยจำนวนโมเลกุลที่ใช้เป็นไปตามตารางที่ 2 โดยทำการเปรียบเทียบการเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันระหว่างระบบที่ไม่มีและมีไตรโพลีฟอสเฟตจำนวน 42 โมเลกุล ซึ่งจำนวนโมเลกุลยูจีนอลอ้างอิงจาก P. Mazancova และคณะ (2018) [10] ที่ได้กำหนดสัดส่วนจำนวนโมเลกุลระหว่างกลูโคสต่อออกเทน เป็น 1:4 ซึ่งถูกนำไปคำนวณให้สอดคล้องกับโครงสร้างโมเลกุลที่ใช้ในการศึกษานี้

การวางโครงสร้างเริ่มต้นของโมเลกุลควอเทอร์ไนซีโซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และไตรโพลีฟอสเฟตเอามาจากการเตรียมโครงสร้างเริ่มต้นในข้อที่ 3.2.1.1 ต่อมาใช้โปรแกรม PACKMOL ในการบรรจุโมเลกุลยูจีนอลจำนวน 240 โมเลกุลไว้ในกล่องจำลอง (Simulation Box) ขนาด $120 \times 120 \times 120$ อังสตรอม ได้เป็นโครงสร้างหลักเริ่มต้นก่อนมีการเติมน้ำชนิด TIP3P และดูล์ออนระบบให้เป็นกลางโดยใช้โปรแกรม LEaP ต่อไป

ตารางที่ 2 จำนวนโมเลกุลที่ใช้สำหรับการทำฟิสิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานกับไตรโพลีฟอสเฟต

ระบบที่	จำนวนโมเลกุล				จำนวนไอออนที่ใช้ตุลให้เป็นกลาง*
	TPP	QCD-g-CS	EU	Water*	
5	0	3	240	46,659	42 Cl ⁻ ions
6	42	3	240	45,622	168 Na ⁺ ions

* จำนวนโมเลกุลน้ำ และจำนวนไอออน คำนวณจากการทำ Solvation ด้วยโปรแกรม LEaP ในขั้นตอนการเตรียมโครงสร้างเริ่มต้น

3.2.2.2 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (MD simulation) ของฟิสิกเคอริงอิมัลชัน สำหรับขั้นตอนการลดพลังงานให้ต่ำที่สุด (Energy minimization), การเพิ่มอุณหภูมิและการควบคุมสมดุลระบบ (Heating and equilibration) และการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (MD simulation) ดำเนินการเหมือนข้อ 3.2.1.2 ถึง 3.2.1.4 ดังกล่าวก่อนหน้า

3.3 การวิเคราะห์ผลการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

3.3.1 Root Mean Square Deviation (RMSD)

การคำนวณค่า RMSD เป็นการวัดความเสถียรของโมเลกุล โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของอะตอมตลอดการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลเทียบกับเวลา ในการศึกษานี้ได้คำนวณ RMSD ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน, ไตรโพลีฟอสเฟต, และ ยูจีนอล เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงฟิสิกของโมเลกุลในระยะเวลา 500 นาโนวินาที โดยมีการระบุคำสั่งเพื่อคำนวณ RMSD ของโมเลกุลที่ถูกเลือกโดยไม่คิดอะตอมไฮโดรเจนไว้ในไฟล์อินพุต ซึ่งแสดงไว้อย่างละเอียดในภาคผนวก จ.1

3.3.2 Radius of Gyration (Rg)

การคำนวณค่า Rg ใช้เพื่อดูขนาด (Size) ของการสักรูปร่างอนุภาคโดยการจำลองพลวัตระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ซึ่งแสดงผลลัพธ์การเปลี่ยนแปลงของรัศมีการหมุนของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานกับจุดศูนย์กลางมวล (Center of Mass) ในระยะเวลา 500 นาโนวินาที คำสั่งดำเนินการคำนวณแสดงไว้ในภาคผนวก จ.1

3.3.3 Solvent-Accessible Surface Area (SASA)

ทุกระบบที่ใช้ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลใช้น้ำเป็นสารละลาย (Solvent) ซึ่งการคำนวณ SASA เป็นการคำนวณพื้นที่ผิวของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่น้ำสามารถเข้าถึงได้ โดยใช้คำสั่งอ่านไฟล์อินพุตซึ่งอธิบายละเอียดไว้ในภาคผนวก จ.1

3.3.4 Distance

ระยะทางถูกคำนวณระหว่างวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานทั้ง 3 เส้น ซึ่งมี 6 วงเบตาไซโคลเดกซ์ทริน มีจำนวนระยะทางทั้งหมด 15 ตำแหน่ง ซึ่งเป็นระยะทางเฉลี่ยในช่วงเวลา 300-500 นาโนวินาที มีการใช้คำสั่งในไฟล์อินพุตในภาคผนวก จ.1

3.3.5 Radial distribution function (RDF)

การคำนวณ Radial distribution function ใช้เพื่อตรวจสอบความเป็นไปได้ในการพบการเชื่อมโยง (Cross-linking) ระหว่างอะตอมไนโตรเจน (N) ของควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับอะตอมออกซิเจน (O) ของไตรโพลีฟอสเฟตในเชิงรัศมี ในเวลา 300-500 นาโนวินาที การระบุอะตอมดังกล่าวได้ถูกป้อนคำสั่งไว้ในไฟล์อินพุตในภาคผนวก จ.1

3.3.6 Number of Atom Contacts

คำนวณจำนวนอะตอมสัมผัสที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ในการสร้างอนุภาค รวมไปถึง จำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับโมเลกุลยูจินอล ในการเกิดพิกเคอริงอิมัลชัน ซึ่งจำนวนอะตอมสัมผัสที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยในระยะเวลา 300-500 นาโนวินาที และนับจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลตั้งแต่ระยะห่าง 3 อังสตรอมเป็นต้นไป รายละเอียดไฟล์อินพุตแสดงในภาคผนวก จ.1

3.3.7 Linear Interaction Energy (LIE)

คำนวณพลังงานปฏิสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลน้ำ กับระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลน้ำ ซึ่งผลลัพธ์จากการใช้คำสั่งในภาคผนวก จ.1 ได้ผลลัพธ์ออกมาเป็นพลังงานไฟฟ้าสถิต (Electrostatic energy) และพลังงานแวนเดอร์วาลส์ (Van Der Waals energy) ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยในช่วงเวลา 300-500 นาโนวินาที

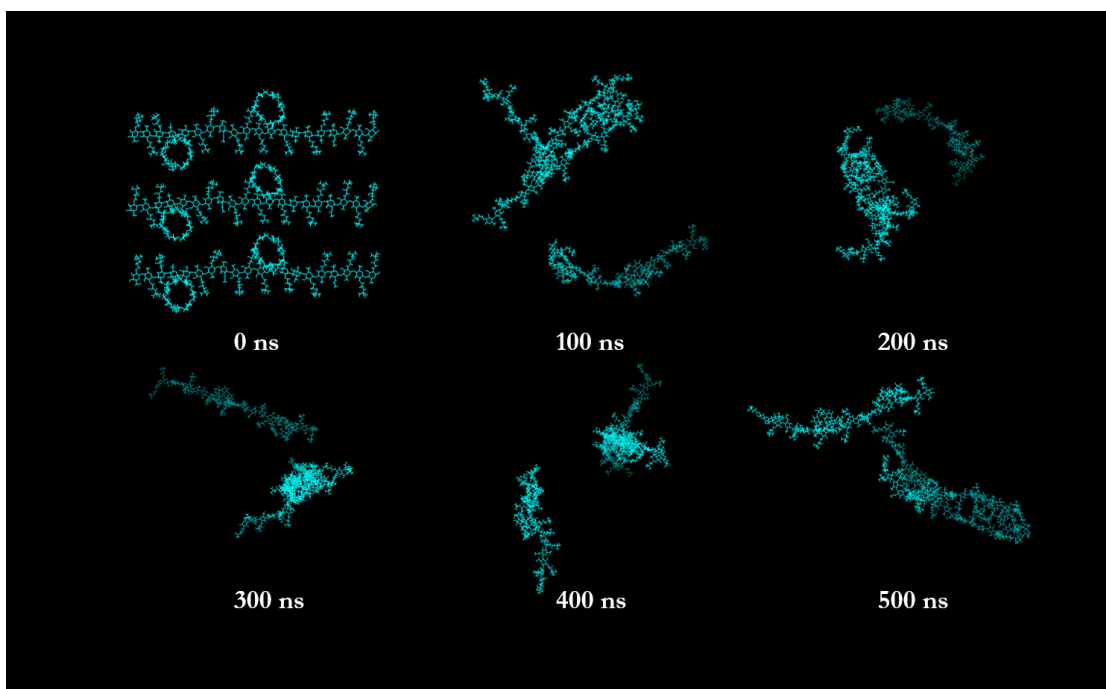
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 ศึกษาผลของไตรโพลิฟอสเฟตที่มีต่อการสร้างอนุภาคระหว่างควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลิฟอสเฟต

4.1.1 พฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Behavior)

การศึกษาพฤติกรรมพลวัตของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลิฟอสเฟตที่มีต่อการสร้างอนุภาค จากการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular dynamics simulation) ได้กำหนดโครงสร้างเริ่มต้น (Initial structure) สำหรับการจำลองพลวัตไว้ 4 ระบบ ประกอบไปด้วยโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน จำนวน 3 โมเลกุล และโมเลกุลไตรโพลิฟอสเฟตจำนวน 0, 21, 42, และ 84 โมเลกุล ดำเนินการจำลองภายใต้อุณหภูมิและความดันคงที่ที่ 298 เคลวิน และ 1 บาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 500 นาโนวินาที

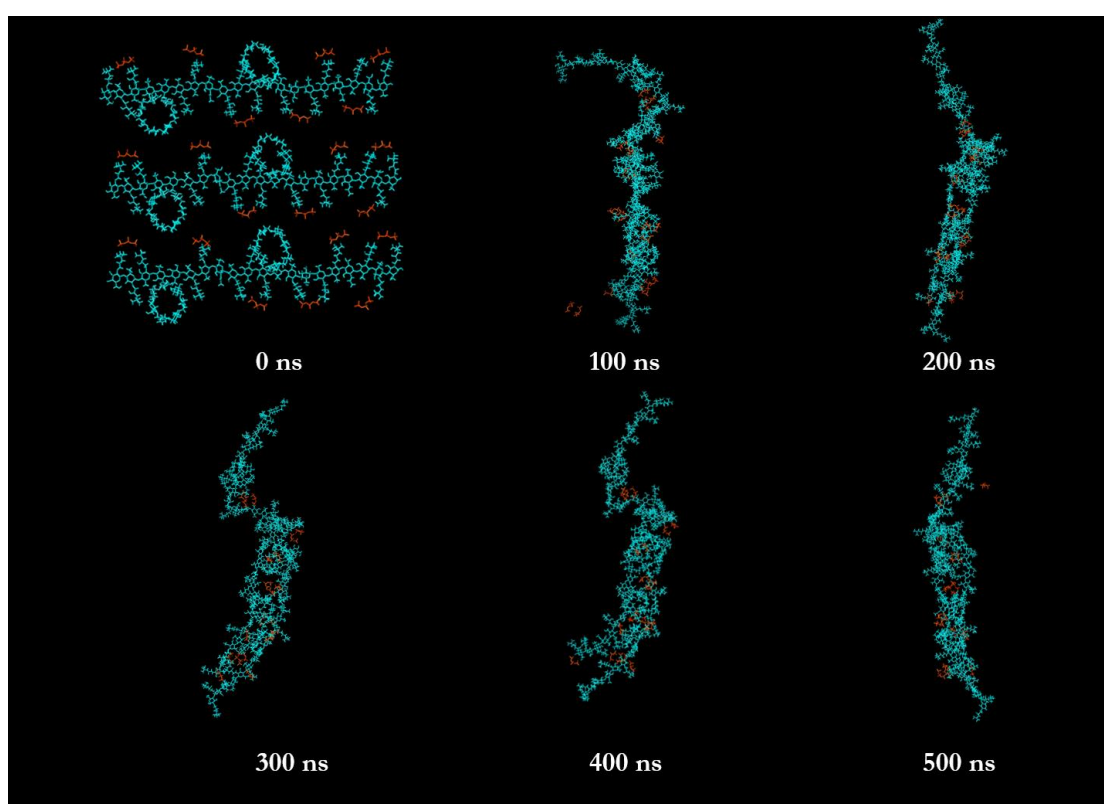
การสร้างอนุภาคในระบบที่มีเพียงโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานในรูปที่ 20 มีการเคลื่อนที่ของโมเลกุล โดยที่เวลา 0 นาโนวินาที โมเลกุลถูกวางห่างกัน เมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 500 นาโนวินาที โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน 2 โมเลกุลเคลื่อนที่เข้าหากันและรวมกันในตำแหน่งวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินเพื่อสร้างอนุภาคขึ้นได้ พบว่าแรงที่ใช้ในการรวมตัวกัน คือแรงไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) ซึ่งเกิดขึ้นระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำบริเวณด้านในของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทริน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Warayuth Sajomsang และคณะ (2011) ที่ได้ศึกษาการสร้างอนุภาคที่เกิดจากการรวมตัวเอง (Self-aggregate) ของควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน พบว่าลักษณะอนุภาคที่เกิดขึ้นมีลักษณะคล้ายไมเซลล์ (Micelle-like) หรือสารลดแรงตึงผิว (Surfactant-like) โดยส่วนที่ไม่ชอบน้ำของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินรวมกลุ่มกันอยู่ภายในด้วยแรงไฮโดรโฟบิก และส่วนที่ชอบน้ำอยู่ภายนอก [3] อย่างไรก็ตามจากรูปที่ 20 ยังมีโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน อีก 1 โมเลกุลที่ไม่ได้ถูกรวมเข้าหากันเพื่อสร้างอนุภาคซึ่งอาจเกิดมาจากแรงผลัก (Repulsive force) ระหว่างประจุบวกของหน่วย Quaternized D-glucosamine (Q) บนโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ซึ่งมีอยู่ 14 หน่วยจาก 20 หน่วย ทำให้โมเลกุลนั้นไม่สามารถเข้ามารวมกันได้



รูปที่ 20 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (สีฟ้า) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้

พลวัตการพลวัตเชิงโมเลกุลของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และ 21 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต แสดงให้เห็นว่า ที่เวลา 0 นาโนวินาที โมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ถูกวางกระจายกันอยู่ เมื่อเวลาดำเนินไปจนถึง 500 นาโนวินาที ภาพสุดท้ายของการจำลอง ปรากฏว่าโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานทั้ง 3 โมเลกุลเกิดการสร้างอนุภาคเข้าด้วยกัน โดยยังมีการรวมตัวของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินเนื่องจากแรงไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) อยู่ ประกอบกับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตเข้าไปแทรกตัวอยู่ระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานบริเวณหน่วย Quaternized D-glucosamine โดยบทบาทของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตจะเข้าไปเชื่อมโยง (Cross-linking) ระหว่างอะตอมออกซิเจน (O) ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต กับอะตอมไนโตรเจน (N) ของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ซึ่งเกิดจากแรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic interaction) ทำให้การรวมตัวของโมเลกุลทั้ง 2 ชนิดสามารถเกิดเป็นอนุภาคขึ้นได้ สอดคล้องกับการทดลองของ Ramune Rutkaite และคณะ (2012) ซึ่งศึกษาการสังเคราะห์ Cationic starch nanoparticle ระหว่าง Cationic quaternary ammonium substituted starches กับ Anionic sodium tripolyphosphate โดยผลของการวัดศักย์ซีต้าด้วยเทคนิค Dynamic light scattering (DLS) ที่อัตราส่วนต่างๆ มีค่าระหว่าง +4 ถึง +34 มิลลิโวลต์ ผลจาก Scanning electron microscope (SEM) พบว่าอนุภาคมีลักษณะเป็นทรงกลม และผลของ FTIR

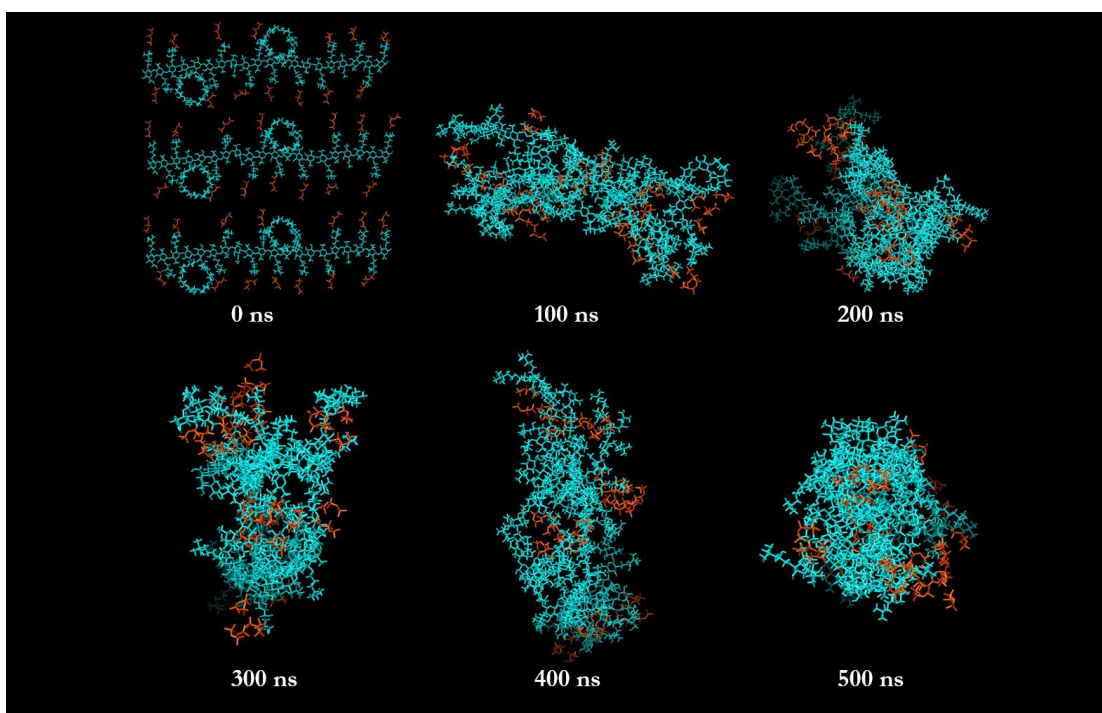
พบว่าการปฏิสัมพันธ์ระหว่างกลุ่ม quaternary ammonium ประจุบวก กับ ไอออนฟอสเฟตประจุลบเกิดขึ้น [16] อย่างไรก็ตาม โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตจากรูปที่ 21 สามารถรวมเข้าหากันได้เนื่องมาจากมีพันธะไฮโดรเจนเกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต [33] นอกจากนี้อนุภาคที่ได้จากระบบที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต 21 โมเลกุลจะให้เสถียรภาพต่อการสร้างอนุภาคได้ไม่ดีเนื่องจากบางตำแหน่งของโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ไม่พบการเชื่อมโยง (Cross-linking) ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ทำให้สายควอเทอร์นารีไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินบางส่วนไม่สามารถรวมตัวเข้าด้วยกันได้



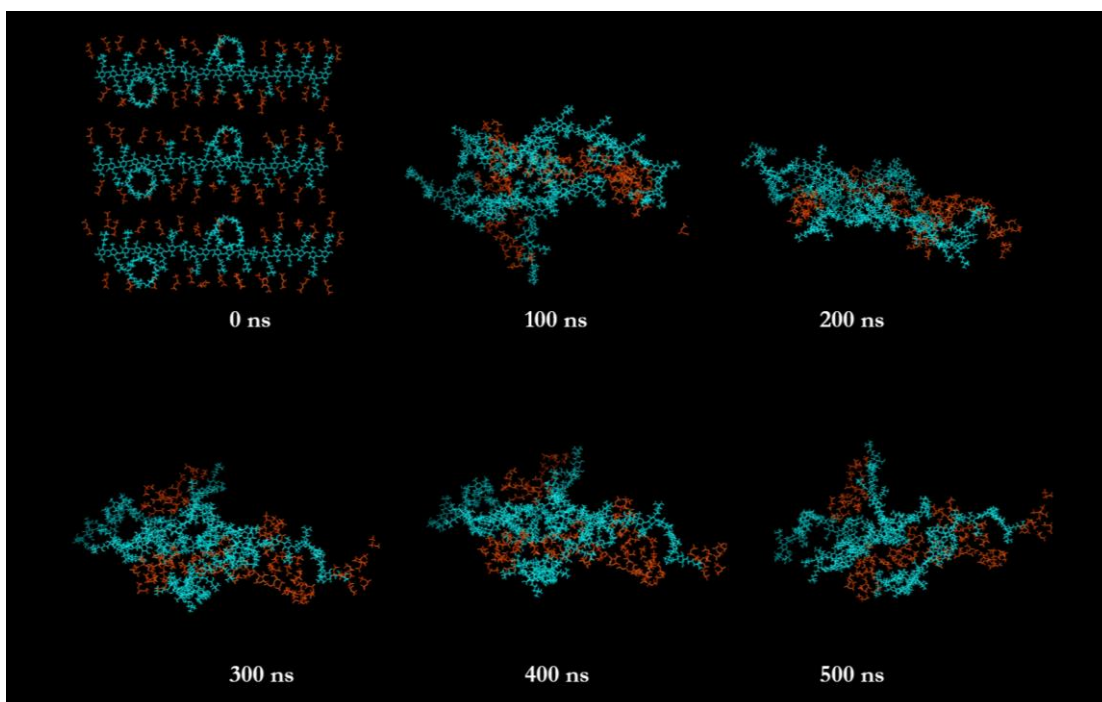
รูปที่ 21 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์นารีไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (สีฟ้า) และ 21 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (สีแดง) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้

สำหรับพฤติกรรมเชิงโมเลกุลของระบบที่ประกอบไปด้วย 3 โมเลกุลควอเทอร์นารีไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต 42 และ 84 โมเลกุล สามารถอธิบายการสร้างอนุภาคไปในทางเดียวกันได้ กล่าวคือ เมื่อใส่โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมากขึ้น ทำให้มีโอกาสในการเชื่อมโยงกับโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมากขึ้น ส่งผลให้อนุภาคมีเสถียรภาพดียิ่งขึ้น จากรูปที่ 22 และรูปที่ 23 ยังคงพบการรวมตัวของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินด้วยแรงไฮโดรโฟ

บิก (Hydrophobic interaction) และการเชื่อมโยงกับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic interaction) ซึ่งเป็น 2 แรงหลักที่สามารถทำให้เกิดการรวมตัวเป็นอนุภาคได้ อย่างไรก็ตามระบบที่มี 84 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ทำให้โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานหนึ่งโมเลกุลไม่สามารถเกิดการรวมตัวของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินได้ เนื่องจากจำนวนโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีจำนวนมากทำให้เกิดการเชื่อมโยง (Cross-linking) กับโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานได้มากกว่า



รูปที่ 22 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (สีฟ้า) และ 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (สีส้ม) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้



รูปที่ 23 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน (สีฟ้า) และ 84 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (สีส้ม) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้

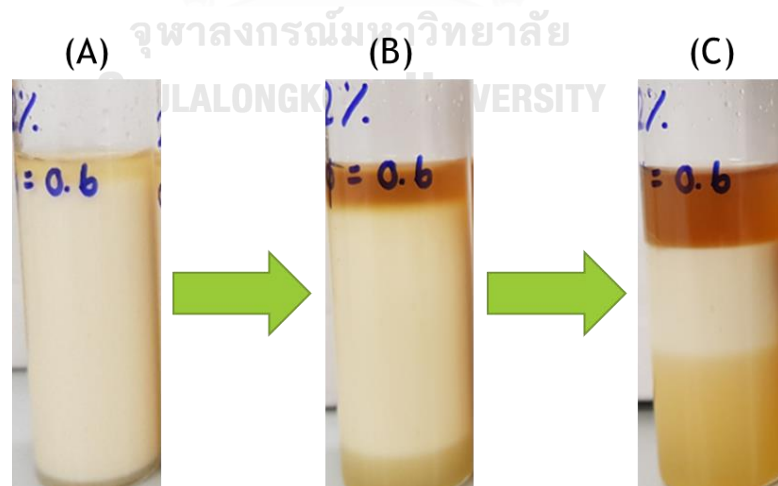
4.1.2 ความเสถียร (Stability)

ค่า Root-Mean Square Deviation (RMSD) ถูกนำไปประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์ความเสถียรของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตทั้ง 4 ระบบ โดยวัดการเปลี่ยนแปลงระยะทางเฉลี่ยเทียบกับเวลาของโมเลกุลทั้ง 2 ชนิด เมื่อเริ่มต้นการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล ทั้ง 4 ระบบเริ่มมีการเพิ่มขึ้นของการเปลี่ยนแปลงระยะทางของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานและโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ทำให้โมเลกุลมีการเคลื่อนที่ตามพลังงานศักย์ของโมเลกุลและคงที่เมื่อเวลาผ่านไป จากผลการคำนวณ RMSD ตั้งแต่ 0 ถึง 500 นาโนวินาที พบความแตกต่างที่เกิดขึ้นในระบบที่มีและไม่มีไตรโพลีฟอสเฟตอย่างชัดเจน

การเปลี่ยนแปลง RMSD ของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานในระบบที่ไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (รูปที่ 25A) แสดงให้เห็นว่าโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานยังมีการเคลื่อนที่ตลอดระยะเวลา 500 นาโนวินาที สอดคล้องกับพฤติกรรมพลวัตในรูปที่ 20 ที่พบว่าโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานทั้ง 3 เส้น ไม่สามารถรวมตัวเพื่อสร้างเป็นอนุภาคที่เสถียรได้ ในทางตรงกันข้าม ระบบที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตจะทำให้การเปลี่ยนแปลง

RMSD ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานคงที่เมื่อเวลาผ่านไป แสดงให้เห็นถึงว่าอนุภาคที่เกิดจากควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต มีเสถียรภาพทางโครงสร้างที่ดีกว่าระบบที่ไม่มีไตรโพลีฟอสเฟต อย่างไรก็ตามระบบที่มี 21 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (รูปที่ 25B) ยังคงมีการเปลี่ยนแปลง RMSD ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับระบบที่มี 42 และ 84 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (รูปที่ 25C และรูปที่ 25D) เนื่องจากโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีไม่เพียงพอที่จะทำให้มีการเชื่อมโยง (Cross-linking) รอบโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน

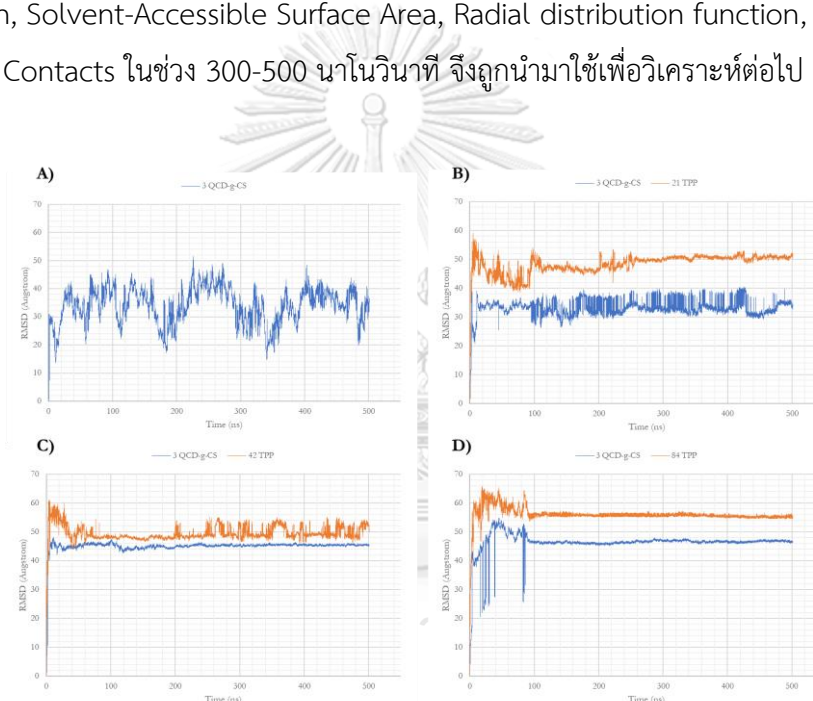
จากผล RMSD ดังกล่าว ทำให้เห็นได้ว่า พิกเคอริงอิมัลชันที่เกิดจากการใช้ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียว ไม่ได้ทำให้การสร้างอิมัลชันมีความเสถียรมากขึ้น เนื่องจากโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลา จึงทำให้โมเลกุลยูจีนอลมีโอกาสที่จะหลุดจากหยดอิมัลชัน (Oiling-off) และเสถียรภาพของการเป็นอิมัลชันไป ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ศึกษาเสถียรภาพของพิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานในรูปที่ 24 แตกต่างจาก การเติมไตรโพลีฟอสเฟตให้กับควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ซึ่งมีผลทำให้โครงสร้างอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีความเสถียรมากยิ่งขึ้น เป็นประโยชน์ต่อการสร้างพิกเคอริงอิมัลชันโดยจะทำให้อิมัลชันมีเสถียรภาพความคงตัวในระยะยาวที่ดียิ่งขึ้น กล่าวคือ เมื่อได้ทำการทดลองสำหรับพิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต อิมัลชันอาจจะมีความคงตัวและรักษาสภาพของอิมัลชันได้นานกว่าการใช้อนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานเพียงอย่างเดียว



รูปที่ 24 เสถียรภาพของพิกเคอริงอิมัลชันโดยใช้ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่ความเข้มข้น 2% w/v และ อัตราส่วนน้ำมันต่อน้ำเป็น 0.6 โดยน้ำหนัก หลังจากการทำอิมัลชันทันที (A), 3 ชั่วโมง (B), และ 1 วัน (C)

อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลง RMSD ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตในรูปที่ 25B-D ยังพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างเพียงเล็กน้อย เนื่องจากโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไฮโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ทำให้โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตสามารถเคลื่อนที่ได้ตลอดเวลา และอีกสาเหตุหนึ่งคือหน่วย Quaternized D-glucosamine บนโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไฮโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีจำนวนมาก ทำให้มีการเคลื่อนที่ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตตลอดเวลาเพื่อทำหน้าที่ในการเชื่อมโยง (Cross-linking) กัน

จากผลการเปลี่ยนแปลง RMSD ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไฮโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานพบว่าที่เวลา 300-500 นาโนวินาที ทำให้ค่า RMSD เริ่มคงที่ ดังนั้นการคำนวณ Distance, Radius of Gyration, Solvent-Accessible Surface Area, Radial distribution function, และ Number of Atomic Contacts ในช่วง 300-500 นาโนวินาที จึงถูกนำมาใช้เพื่อวิเคราะห์ต่อไป



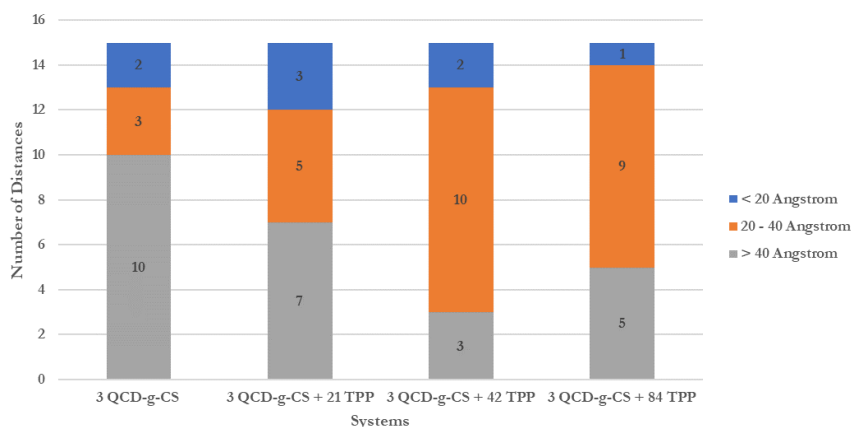
รูปที่ 25 RMSD ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไฮโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่เวลาต่างๆ ของระบบ 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไฮโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และ 0 (A), 21 (B), 42 (C), และ 84 (D) โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต

4.1.3 การรวมกลุ่มของวงเบตาไฮโคลเดกซ์ทริน

จากพฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุลในหัวข้อ 4.1.1 พบว่าระบบทั้งมีและไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต สามารถพบการรวมตัวของวงเบตาไฮโคลเดกซ์ทรินเนื่องจากแรงไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) ซึ่งมีส่วนช่วยในการสร้างอนุภาค ระยะทางระหว่างวงเบตาไฮโคลเดกซ์ทรินมีทั้งหมด 15 เส้นซึ่งเกิดจาก 6 วงเบตาไฮโคลเดกซ์ทรินของ 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไฮโคลเดกซ์

ทรินเชื่อมโคโคโตซาน การนับระยะทางเฉลี่ยระหว่างวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินในช่วง 300-500 นาโนวินาที สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ระยะทางน้อยกว่า 20 อังสตรอม ระยะทาง 20-40 อังสตรอม และระยะทางที่มากกว่า 40 อังสตรอม ตามรูปที่ 26 ซึ่งอ้างอิงมาจากผลของพลวัตกรรมพลวัตเชิงโมเลกุลในหัวข้อ 4.1.1 อธิบายได้ว่าทุกระบบสามารถพบเจอการรวมตัวของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทริน โดยระบบที่ไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีจำนวนระยะทางเฉลี่ยที่มากกว่า 40 อังสตรอมได้ 10 เส้น แสดงถึงวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินบนโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินที่อยู่ห่างกันมากกว่า เนื่องจากโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคโตซานทั้ง 3 โมเลกุลไม่สามารถรวมเพื่อสร้างอนุภาคได้ดี ในขณะที่ระบบที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต จะเห็นได้ว่าจำนวนระยะทางเฉลี่ยระหว่าง 20-40 อังสตรอม มีจำนวนเพิ่มขึ้น แสดงถึงการสร้างอนุภาคของทั้ง 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคโตซานที่ดีมากขึ้น ทำให้มีโอกาสในการพบการรวมตัวของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินมากขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามระบบที่มี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต สามารถเกิดการรวมตัวของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินได้มากที่สุด ทำให้อนุภาคที่ได้มีความกะทัดรัด (Compactness) มากขึ้น ส่วนจำนวนระยะทางเฉลี่ยในช่วงน้อยกว่า 40 อังสตรอมของระบบที่มี 84 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต พบว่ามีจำนวนลดลงเมื่อเทียบกับระบบที่มี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต เนื่องจากโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตเข้าไปแทรกตัวระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินทั้ง 3 เส้นได้มาก ทำให้ระยะทางเฉลี่ยของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

ดังนั้นการสร้างอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินและไตรโพลีฟอสเฟต นอกจากจะทำให้โมเลกุลทั้งสองชนิดเข้าใกล้กันมากขึ้น ยังทำให้วงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินที่อยู่ในควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคโตซานมีโอกาสในการกักเก็บและสัมผัสกับน้ำมันเพื่อเกิดเป็นพิกเคอริงอิมัลชันได้ เนื่องจากภายในวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophilic) ทำให้จับกับน้ำมันหรือสารสำคัญที่ไม่ชอบน้ำได้



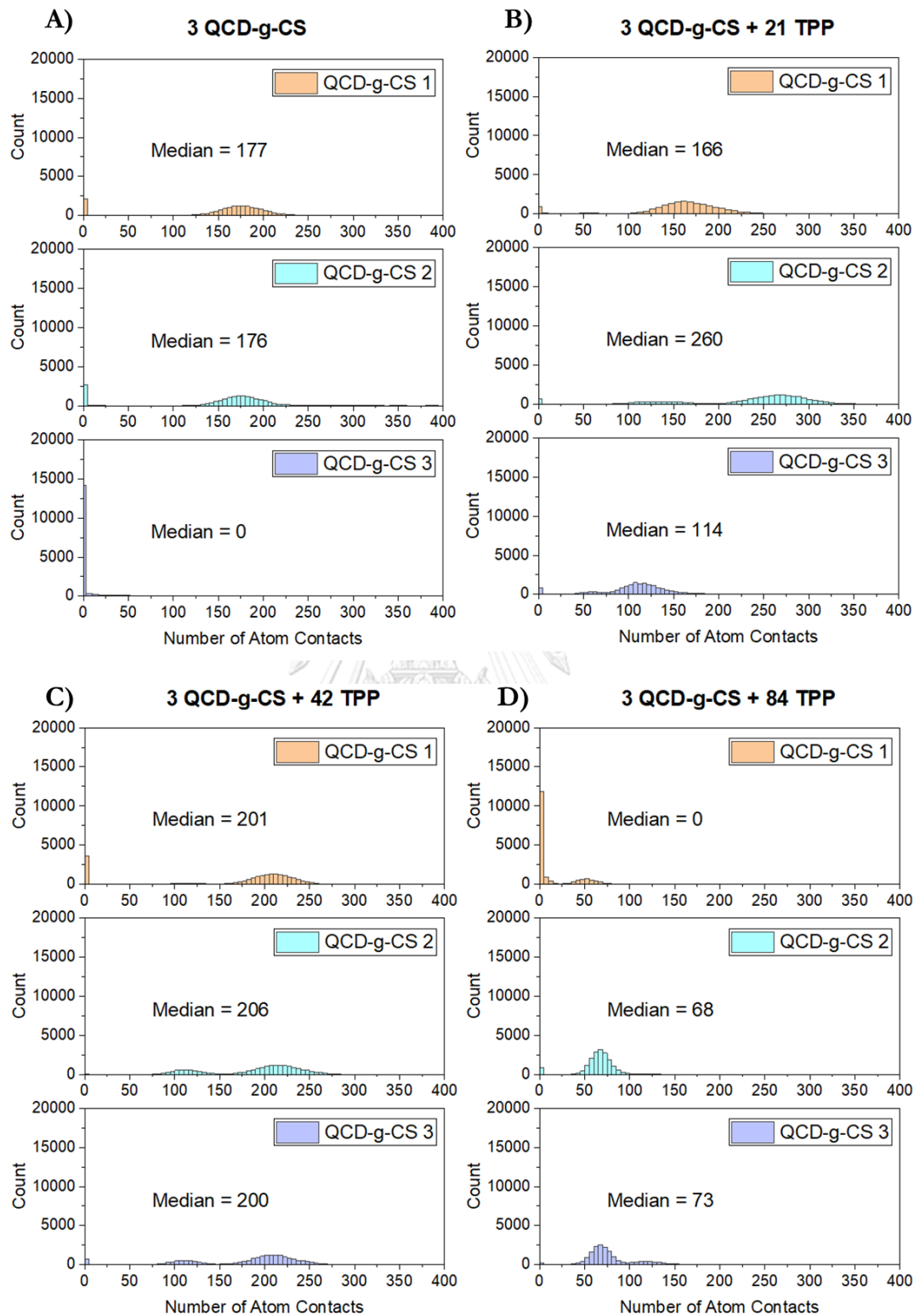
รูปที่ 26 จำนวนระยะทางเฉลี่ยระหว่าง 6 วงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินที่เวลา 300-500 นาโนวินาที

4.1.4 จำนวนอะตอมสัมผัส (Number of Atom Contacts)

การหาจำนวนอะตอมสัมผัสเป็นการอธิบายเพื่อสนับสนุนปรากฏการณ์การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลในหัวข้อ 4.1.1 ซึ่งเกี่ยวข้องกับโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต โดยแบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ส่วนได้แก่ จำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน 3 โมเลกุล และ จำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต

4.1.4.1 จำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน 3 โมเลกุล

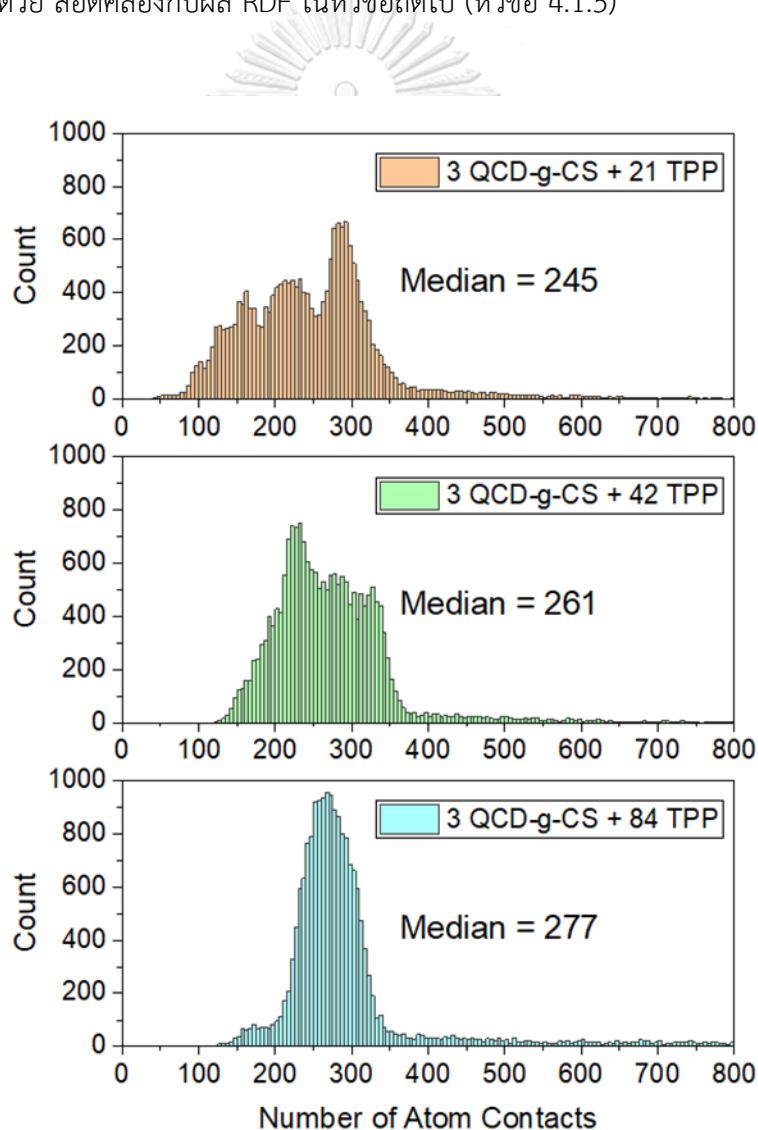
เนื่องจากพฤติกรรมพลวัตของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่เกิดขึ้นทั้ง 4 ระบบมีการเคลื่อนที่และรวมอนุภาคโดยโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่แตกต่างกัน ทำให้ต้องมีการอธิบายเชิงลึกถึงการรวมตัวกันของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานทั้ง 3 โมเลกุล จากรูปที่ 27 แสดงค่ามัธยฐานของจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่เวลา 300-500 นาโนวินาที พบว่า รูปที่ 27A ระบบที่ไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานสามารถเกิดการสัมผัสกันเพียง 2 โมเลกุลโดยที่อีกโมเลกุลหนึ่งไม่ได้ถูกสัมผัสกันในช่วง 300-500 นาโนวินาที ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุลที่เกิดขึ้น ส่วนระบบที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตสามารถทำให้เกิดการสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมากขึ้นเนื่องจาก เกิดการรวมตัวกันเพื่อสร้างอนุภาค โดยจากรูปที่ 27C ระบบที่มี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตพบว่ามี การสัมผัสกันระหว่าง 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานได้มากที่สุด แสดงถึงอนุภาคที่มีความสม่ำเสมอที่สุด แตกต่างจากระบบที่มี 84 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ถึงแม้จะสามารถสร้างอนุภาคได้เหมือนกันแต่จำนวนอะตอมสัมผัสของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีค่าลดลง จากรูปที่ 27D แสดงว่าโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่ใส่เข้าไปมีมากเกินไปจนทำให้โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานไม่สามารถเข้ามาใกล้กันได้ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มระยะทางระหว่างวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินให้ห่างกันมากขึ้น



รูปที่ 27 แผนภูมิ Histogram แสดงจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรีนเชื่อมโคโคซาน 3 โมเลกุลที่เวลา 300-500 นาโนวินาที

4.1.4.2 จำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต

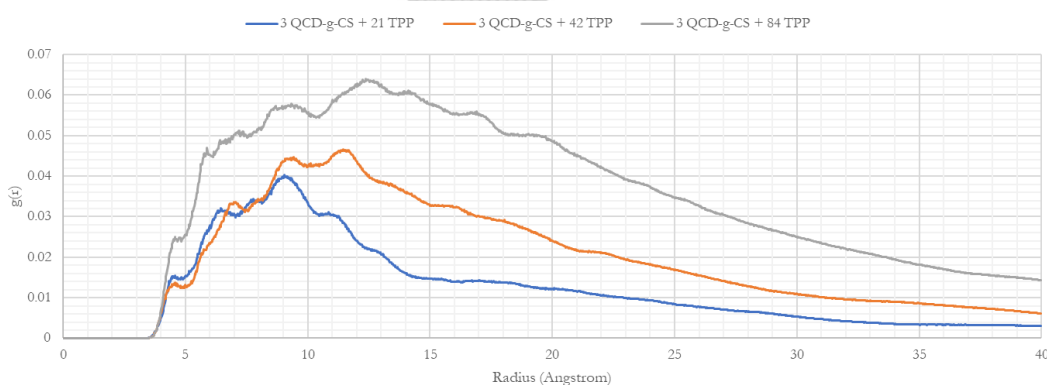
การคำนวณจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต พิจารณาเฉพาะระหว่างอะตอมไนโตรเจน (N) ของหน่วย Quaternized D-glucosamine และอะตอมออกซิเจน (O) ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต แสดงผลดังรูปที่ 28 กล่าวคือ ค่ามัธยฐานของจำนวนอะตอมสัมผัสเพิ่มขึ้นตามจำนวนโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่ใส่เข้าไปแต่ละระบบ เนื่องจากโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่มีจำนวนมากขึ้นทำให้เกิดการเชื่อมโยงกับหน่วย Quaternized D-glucosamine ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานได้มากขึ้นตามไปด้วย สอดคล้องกับผล RDF ในหัวข้อถัดไป (หัวข้อ 4.1.5)



รูปที่ 28 แผนภูมิ Histogram แสดงจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ที่เวลา 300-500 นาโนวินาที

4.1.5 ฟังก์ชันการกระจายแนวรัศมี (Radial distribution function)

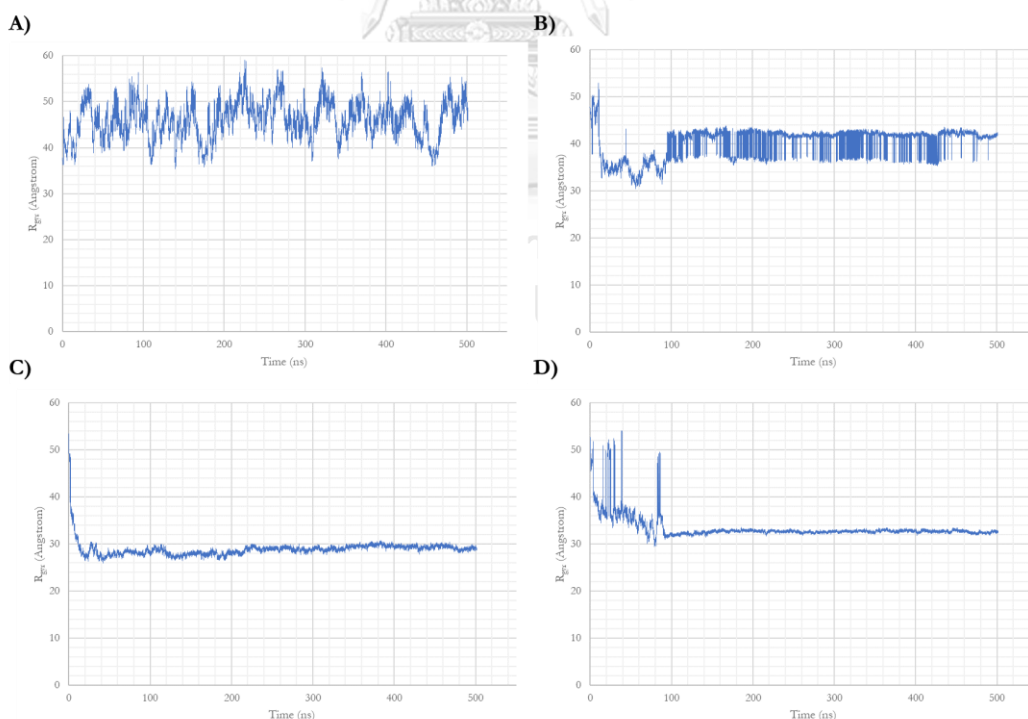
การคำนวณ Radial distribution function (RDF) ระหว่างอะตอมไนโตรเจน (N) ของโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและอะตอมออกซิเจน (O) ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต เพื่ออธิบายผลของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่มีต่อการสร้างอนุภาค จากรูปที่ 29 แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มจำนวนไตรโพลีฟอสเฟตมากขึ้น ทำให้มีโอกาสในการเกิดการเชื่อมโยง (Cross-linking) ระหว่างอะตอมกันมากขึ้น สังเกตได้จากโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่มีการแทรกตัวอยู่ระหว่างโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่หน่วย Quaternized D-glucosamine ซึ่งระยะทางที่เริ่มพบอะตอมไนโตรเจนอยู่ใกล้อะตอมออกซิเจนตั้งแต่ 4 อังสตรอมเป็นต้นไป สอดคล้องกับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของ Adrian Moreno และคณะ (2019) ที่ศึกษาการรวมอนุภาคระหว่างโมเลกุลโคโตซาน โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต และโมเลกุลพาราควอต (Paraquat) ซึ่งผล RDF ระหว่างโมเลกุลโคโตซานและโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต พบว่ามีระยะทางเฉลี่ยอยู่ที่ 5 อังสตรอมซึ่งอยู่ใกล้กว่าระยะทางเฉลี่ยระหว่างโมเลกุลโคโตซานกับโมเลกุลพาราควอต (10 อังสตรอม) ทำให้โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตประพฤติตัวเป็นเหมือนกาว (Glue) ในการเชื่อมโยงกันกับโมเลกุลโคโตซานได้ดีกว่าพาราควอต [30]



รูปที่ 29 Radial Distribution Function (RDF) ระหว่างอะตอมไนโตรเจน (N) ของโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและอะตอมออกซิเจน (O) ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ที่เวลา 300-500 นาโนวินาที

4.1.6 ขนาดและความกะทัดรัด (Size and Compactness)

การวิเคราะห์ขนาดและความกะทัดรัดของโครงสร้าง ถูกคำนวณด้วย Radius of Gyration (R_g) ซึ่งวัดระยะทางของอะตอมเทียบกับจุดศูนย์กลางมวล (Center of Mass) จากรูปที่ 30A พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง R_g ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานตลอดเวลา 500 นาโนวินาทีสอดคล้องกับพฤติกรรมพลวัตและ RMSD ของโมเลกุลที่มีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลาการจำลองพลวัต โดยค่า R_g เฉลี่ยที่เวลา 300-500 นาโนวินาที อยู่ที่ 46.2 ± 3.9 อังสตรอม แตกต่างจากระบบที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่ทำให้ R_g ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งรูปที่ 30B พบว่า R_g เฉลี่ยอยู่ที่ 41.4 ± 1.9 อังสตรอม ยังคงมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานอยู่ตามพฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุลในรูปที่ 21 ในขณะที่ระบบที่มี 42 และ 84 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตทำให้ R_g เฉลี่ยที่เวลา 300-500 นาโนวินาทีเริ่มคงที่ได้ ซึ่งแสดงถึงว่ามีขนาดของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่สม่ำเสมอขึ้น โดยค่า R_g เฉลี่ยในรูปที่ 30C และ รูปที่ 30D ที่เวลา 300-500 นาโนวินาทีมีค่าเท่ากับ 29.3 ± 0.4 และ 32.6 ± 0.2 อังสตรอม ตามลำดับ



รูปที่ 30 Radius of Gyration (R_g) ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่เวลาต่างๆ ของระบบ 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน และ 0 (A), 21 (B), 42 (C), และ 84 (D) โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต

ดังนั้นระบบที่มีทั้งโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตทำให้ขนาดของอนุภาคคงที่และสม่ำเสมอ โดยระบบที่มี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตสามารถทำให้ขนาดของอนุภาคมีขนาดเล็กที่สุดอยู่ที่ 29.3 ± 0.4 อังสตรอม อย่างไรก็ตามค่า R_g ที่ได้ไม่สามารถอ้างอิงได้ในการทดลองจริง เนื่องจากการจำลองพลวัตใช้โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานเพียง 20 หน่วยแทนสายพอลิเมอร์ควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานซึ่งมียาวกว่า ทำให้การวิเคราะห์ R_g ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานเป็นการบ่งบอกความกะทัดรัด (Compactness) ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานในการสร้างอนุภาค ซึ่งอนุภาคของระบบที่มี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตจึงถูกนำไปใช้ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลสำหรับการเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันในหัวข้อที่ 4.2

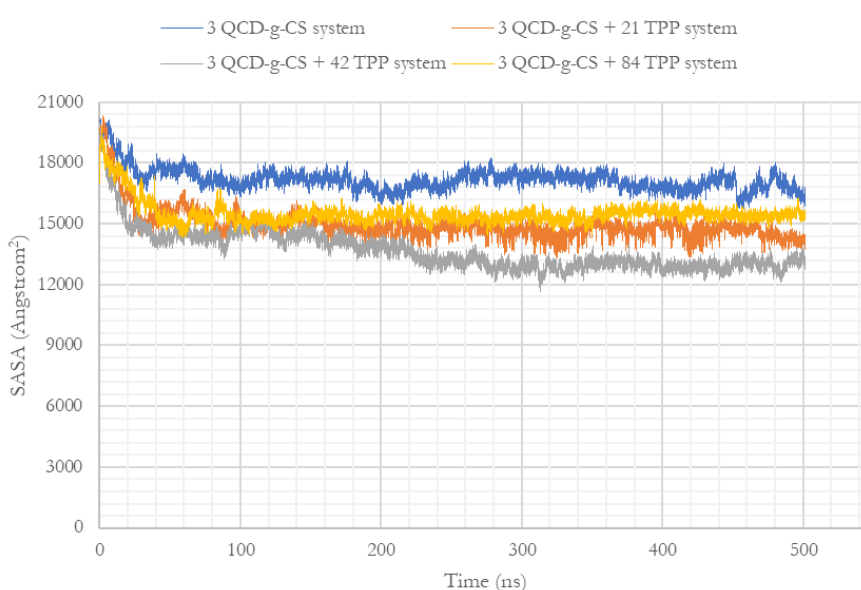
ประโยชน์ที่ได้จากการมีอนุภาคที่สม่ำเสมอและมีขนาดเล็กสำหรับการผลิตฟิสิกเคอริงอิมัลชันจะทำให้อนุภาคมีการจัดเรียงตัวที่ผิวระหว่างน้ำและน้ำมันที่แน่นกว่า ส่งผลต่อการที่น้ำมันจะไม่สามารถหลุดออกจากช่องว่างระหว่างอนุภาค (Oiling-off) ได้

4.1.7 พื้นที่ผิวที่น้ำสามารถเข้าถึงได้ (Water Accessible Surface Area)

สำหรับการคำนวณพื้นที่ผิวที่น้ำสามารถเข้าถึงได้ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ถูกคำนวณโดยใช้ Solvent-Accessible Surface Area (SASA) ทั้ง 4 ระบบ จากรูปที่ 31 ผลที่ได้คือ การเปลี่ยนแปลง SASA ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกเนื่องจากโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีการรวมตัวเข้าหากันเพื่อสร้างอนุภาค จนถึงเวลา 300 นาโนวินาทีที่ SASA เริ่มคงที่ เนื่องจากพฤติกรรมพลวัตของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานในระบบทั้ง 4 ระบบเริ่มหยุดการเคลื่อนที่จนจบการจำลอง จึงได้มีการคำนวณค่าเฉลี่ยของ SASA ที่ระยะเวลา 300-500 นาโนวินาที พบว่าค่าเฉลี่ย SASA ของระบบที่มี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีค่าน้อยที่สุดอยู่ที่ 12955.3 ± 260.9 ตารางอังสตรอม ซึ่งให้เห็นว่าโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีการสูญเสียอะตอมบางส่วนเพื่อใช้ในการเชื่อมโยงกับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต รวมถึงเกิดการรวมตัวของส่วนที่ไม่ชอบน้ำได้แก่วงเบตาไซโคลเดกซ์ทริน ประกอบกับผล R_g ที่บ่งบอกว่าอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานรวมตัวได้มีขนาดเล็กและกะทัดรัดกว่า ทำให้โมเลกุลน้ำแทรกเข้าไปในอนุภาคได้น้อยกว่า ส่วนค่า SASA ของระบบที่มี 21, 84, และ 0 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีค่าเท่ากับ 14631.0 ± 356.4 , 15448.5 ± 237.1 , และ 16994.1 ± 378.5 ตารางอังสตรอม ตามลำดับ ซึ่งมีพื้นที่ผิวที่มากขึ้น ดังนั้นการวิเคราะห์ SASA แสดงให้เห็นว่า การสร้างอนุภาคโดยใช้โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต นอกจากทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลงแล้ว ยังทำให้โครงสร้างภายในแน่นขึ้นจนน้ำไม่สามารถ

เข้าทำละลายได้เนื่องจากภายในโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่เข้าไปเชื่อมโยง (Cross-linking) และมีการรวมตัวของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เข้าด้วยกัน

เมื่อมีการลดพื้นที่ผิวของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่สัมผัสกับน้ำ จึงเปรียบเสมือนเป็นการเพิ่มพื้นที่ที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับการดัดแปลงโคโตซาน เพื่อทำให้เกิดความไม่ชอบน้ำมากขึ้น (Hydrophobic modification) และสามารถทำให้เสถียรภาพของอิมัลชันดีขึ้น ดังนั้นการเติมไตรโพลีฟอสเฟตจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้อนุภาคสามารถเพิ่มความไม่ชอบน้ำได้ และมีโอกาสในการสร้างฟิกเคอริงอิมัลชันที่เสถียรยิ่งขึ้นได้



รูปที่ 31 Solvent-Accessible Surface Area (SASA) ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่เวลาต่างๆ

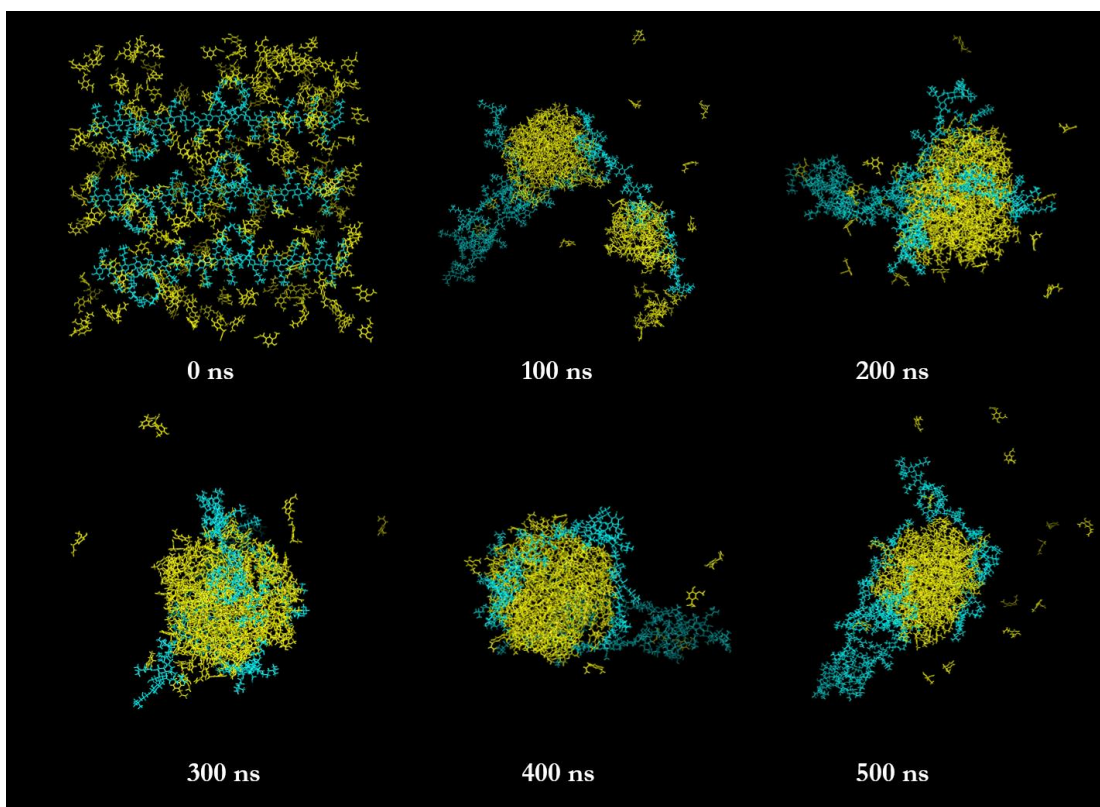
4.2 เปรียบเทียบการเกิดฟิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต

4.2.1 พฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamic Behavior)

การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลถูกดำเนินไประยะเวลา 500 นาโนวินาที เพื่อศึกษาลักษณะการเกิดฟิกเคอริงอิมัลชันระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลยูจีนอลที่ถูกใช้เป็นวัฏภาคน้ำมัน (Oil phase) โดยมีความแตกต่างของการสร้างอนุภาคที่มีและไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่ใช้ในการเชื่อมโยง (Cross-linking) สำหรับระบบที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตถูก

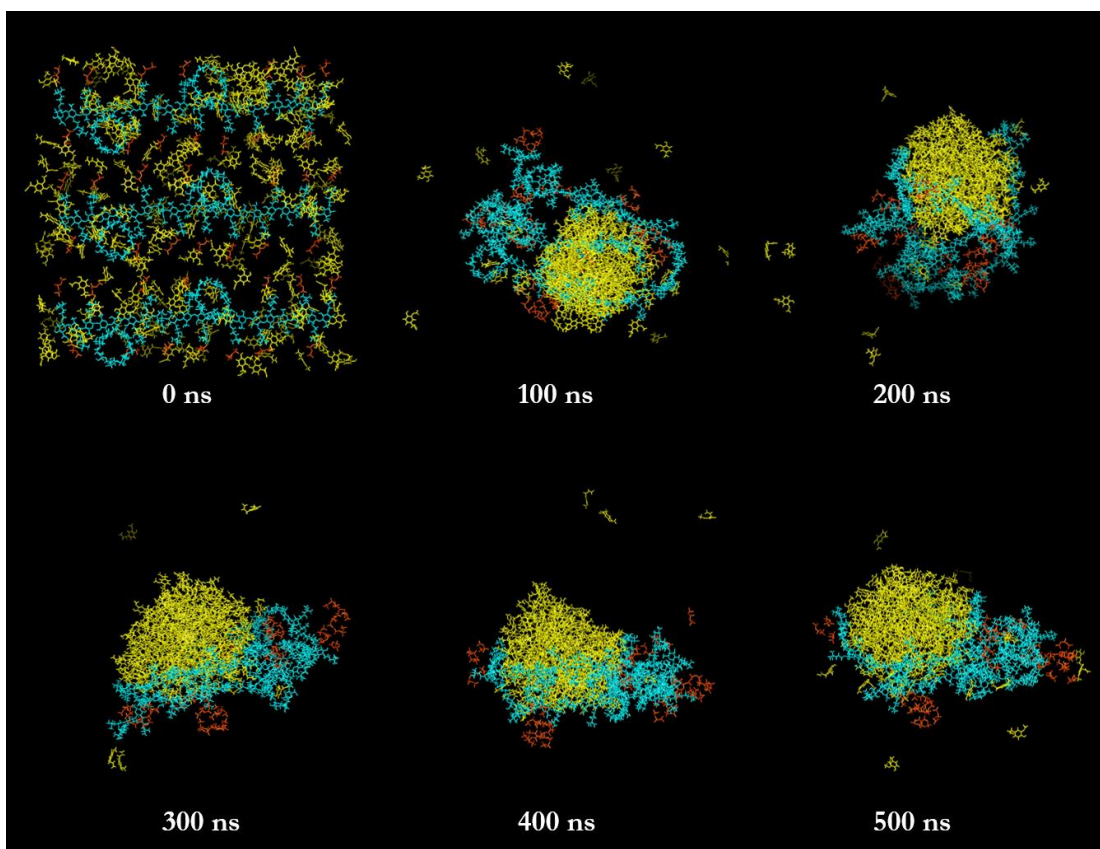
กำหนดให้มีจำนวน 42 โมเลกุล ซึ่งจากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.1 พบว่ามีขนาด และความกะทัดรัดที่ดีที่สุดสำหรับการสร้างอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานด้วยไตรโพลีฟอสเฟต

พฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุลของอิมัลชันที่ไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ในรูปที่ 32 พบว่าโครงสร้างโมเลกุลเริ่มต้นที่เวลา 0 นาโนวินาที กระจาย 240 โมเลกุลยูจินอลและ 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานให้ห่างกันเพื่อดูการเคลื่อนที่ของโมเลกุล โดยเมื่อเวลาผ่านไป 100 นาโนวินาที โมเลกุลยูจินอลเริ่มมีการรวมตัวเข้าหากันเนื่องจากโมเลกุลยูจินอลเป็นโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ต่อมาเวลาผ่านไป 200 นาโนวินาที โมเลกุลยูจินอลก่อตัวเป็นหยดน้ำมัน (Oil droplet) ขนาดใหญ่ขึ้นและอยู่ในลักษณะเดิมจนสิ้นสุดการจำลองพลวัตที่เวลา 500 นาโนวินาที สำหรับการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ตั้งแต่เริ่มมีการจำลองพลวัตพบว่า มี 2 โมเลกุลที่สามารถรวมเข้าหากันได้แต่มีอีก 1 โมเลกุลที่ไม่สามารถรวมเข้าด้วยกัน ซึ่งสอดคล้องกับการสร้างอนุภาคในระบบที่ไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตในหัวข้อที่ 4.1 อย่างไรก็ตามโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานทั้ง 3 เส้นสามารถที่จะสัมผัสโมเลกุลยูจินอลที่ผิวของหยดน้ำมันยูจินอลได้ โดยจากรูป โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีการโค้งงอตามหยดน้ำมันยูจินอล อย่างไรก็ตามโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานยังคงมีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งตั้งแต่เวลาเริ่มต้นจนถึง 500 นาโนวินาทีซึ่งแสดงถึงความไม่เสถียรเชิงโครงสร้างของโมเลกุล กล่าวโดยสรุปคือระบบที่มีเพียงโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานสามารถเกิดพิกเคอริงอิมัลชันได้ แต่ยังคงมีการเคลื่อนที่ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานตลอดเวลารอบผิวของกลุ่มโมเลกุลยูจินอล



รูปที่ 32 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน (สีฟ้า) และ 240 โมเลกุลยูจีนอล (สีเหลือง) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้

สำหรับพฤติกรรมพลวัตของระบบที่มี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ในรูปที่ 33 เมื่อเวลาผ่านไป 100 นาโนวินาที โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานทั้ง 3 โมเลกุลมีการเคลื่อนที่เข้าหากันเพื่อสร้างอนุภาค โดยภายในมีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตเข้าไปเชื่อมโยง (Cross-linking) ที่ตำแหน่งหน่วย Quaternized D-glucosamine เหมือนกับผลพฤติกรรมพลวัตในหัวข้อที่ 4.2 ส่วนโมเลกุลยูจีนอล ภายหลังจากเวลาเริ่มต้น สามารถที่จะรวมเข้าหากันโดยเป็นการรวมกลุ่มของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ นอกจากนี้ยังมีการสัมผัสระหว่างอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานเกิดขึ้นที่ผิวของกลุ่มโมเลกุลยูจีนอลได้เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามพฤติกรรมพลวัตแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของอนุภาคโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่เวลามากขึ้น เริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ ซึ่งหมายถึงว่า อนุภาคที่เกิดจากการใส่ไตรโพลีฟอสเฟตมีความสม่ำเสมอกว่าระบบที่ไม่มีไตรโพลีฟอสเฟต



รูปที่ 33 Snapshots ของระบบที่มี 3 โมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซาน (สีฟ้า) ,42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต (สีส้ม) และ 240 โมเลกุลยูจีนอล (สีเหลือง) ในระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยที่โมเลกุลน้ำถูกละไว้

4.2.2 ความเสถียร (Stability) วิทยาลัย

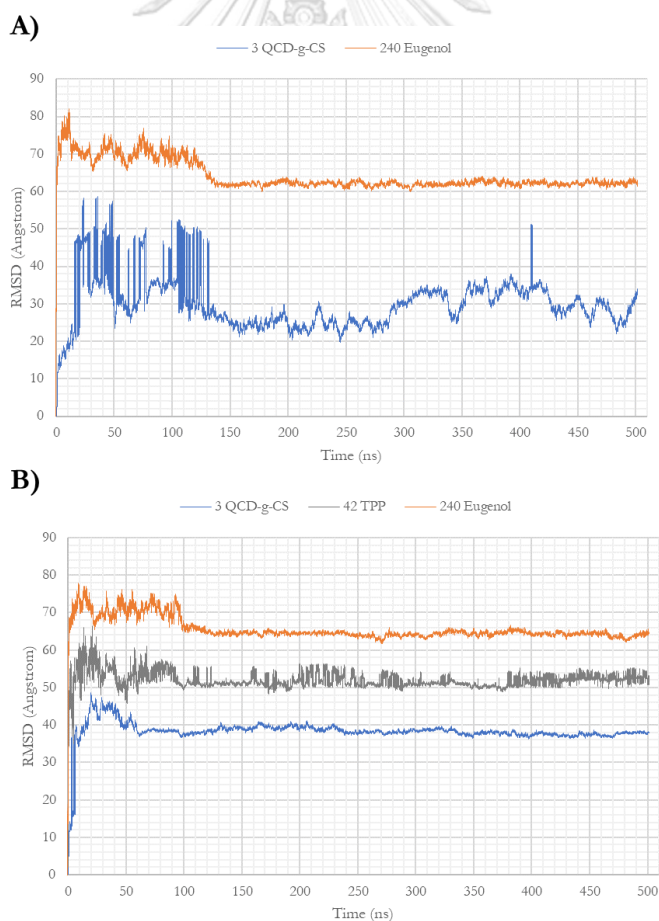
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซาน โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต และโมเลกุลยูจีนอล ถูกคำนวณด้วยค่า Root-Mean Square Deviation (RMSD) โดยผลของทั้ง 2 ระบบพบว่า ที่เวลาเริ่มต้นโมเลกุลยูจีนอลถูกวางกระจายห่างกัน ต่อมา มีการเปลี่ยนแปลง RMSD เพิ่มขึ้นในช่วงแรก เนื่องมาจากเริ่มมีการรวมกลุ่มของโมเลกุลยูจีนอลเพื่อสร้างเป็นหยดน้ำมัน และตั้งแต่ 300 นาโนวินาทีจนจบการจำลองพลวัตของทั้งสองระบบ การเปลี่ยนแปลง RMSD เริ่มเข้าสู่ค่าคงที่

อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลง RMSD ของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานมีความแตกต่างกันของทั้ง 2 ระบบ กล่าวคือ ระบบที่ไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ตามรูปที่ 34A มีการเปลี่ยนแปลง RMSD ของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานตลอดการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล ซึ่งหมายถึงว่าโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโดซานมีการเคลื่อนที่

อยู่ตลอดเวลา แตกต่างจากระบบที่มี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตในรูปที่ 34B ที่พบว่าโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีโซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการสร้างอนุภาคในช่วงแรก และเริ่มคงที่ที่ 100 นาโนวินาทีเป็นต้นไป ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่เกิดจากควอเทอร์นารีไนซีโซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟตทำให้มีเสถียรภาพเชิงโครงสร้างของระบบที่ดีกว่าระบบที่ไม่เติมไตรโพลีฟอสเฟต นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลง RMSD ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตในระบบพิกเคอริงอิมัลชันรูปที่ 34B พบว่าโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตยังคงมีการเคลื่อนที่เพียงเล็กน้อยในช่วง 300-500 นาโนวินาที เนื่องจากมีการเคลื่อนที่เพื่อเชื่อมโยงกับหน่วย Quaternized D-glucosamine ตลอดเวลา

จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการสร้างอนุภาคควอเทอร์นารีไนซีโซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟตสามารถทำให้ระบบอิมัลชันที่เกิดขึ้นมีความเสถียรมากกว่าการใช้อนุภาคที่มีเพียงควอเทอร์นารีไนซีโซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน

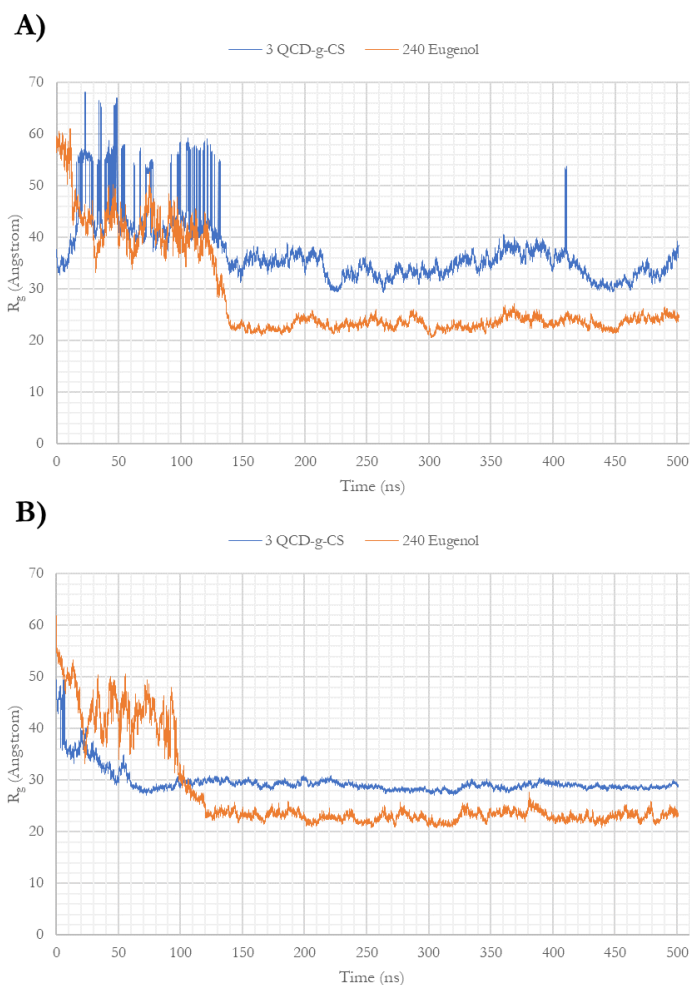


รูปที่ 34 RMSD ของโมเลกุลควอเทอร์นารีไนซีโซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต และโมเลกุลยูจีนอลที่เวลาต่างๆ ของระบบที่ไม่มี (A) และ มี (B) ไตรโพลีฟอสเฟต

4.2.3 ขนาดและความกะทัดรัด (Size and Compactness)

การวัดขนาดอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลยูจีนอล ถูกคำนวณด้วย Radius of Gyration (R_g) ที่เวลา 0-500 นาโนวินาที เมื่อพิจารณาขนาดของโมเลกุลยูจีนอลทั้ง 240 โมเลกุลของทั้ง 2 ระบบ ในรูปที่ 35A และรูปที่ 35B พบว่า ในช่วงแรกค่า R_g มีค่าลดลง อันเนื่องมาจากการรวมกลุ่มของโมเลกุลยูจีนอลเพื่อสร้างหยดน้ำมัน และตั้งแต่ 300-500 นาโนวินาที การเปลี่ยนแปลง R_g ของโมเลกุลยูจีนอลเริ่มคงที่ โดยเมื่อหาค่า R_g เฉลี่ยที่เวลา 300-500 นาโนวินาทีพบว่ามีความใกล้เคียงกัน อยู่ที่ 23.6 ± 1.1 และ 23.1 ± 0.9 อังสตรอม สำหรับระบบที่ไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตและมี 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ตามลำดับ ดังนั้นไม่ว่าจะมีการใส่หรือไม่ใส่โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตไม่มีผลต่อการรวมตัวของโมเลกุลยูจีนอล

การพิจารณา R_g ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานพบว่า สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลง RMSD กล่าวคือขนาดของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานในระบบที่ไม่มีไตรโพลีฟอสเฟตในรูปที่ 35A มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ย R_g อยู่ที่ 34.6 ± 2.5 อังสตรอม ในขณะที่การเปลี่ยนแปลง R_g ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานในระบบอิมัลชันรูปที่ 35B มีค่าลดลงในช่วงแรก และเข้าสู่ค่าคงที่ที่ 28.8 ± 0.5 อังสตรอม ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ย R_g ในเวลา 300-500 นาโนวินาที ดังนั้นระบบอิมัลชันที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ทำให้ขนาดอนุภาคของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีความสม่ำเสมอและทำให้พิกเคอริงอิมัลชันมีความเสถียรมากขึ้น



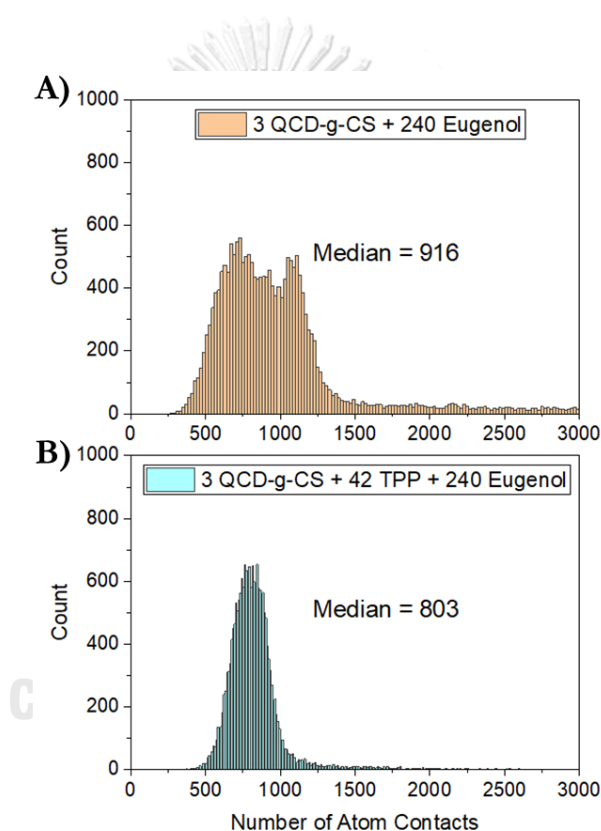
รูปที่ 35 Radius of Gyration (R_g) ของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลยูจีนอลที่เวลาต่างๆ ของระบบที่ไม่มี (A) และมี (B) ไตรโพลีฟอสเฟต

CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.2.4 จำนวนอะตอมสัมผัส (Number of Atomic Contacts)

จากพฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุลในระบบพิกเคอริงอิมัลชันในหัวข้อที่ 4.2.1 ที่พบการสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลยูจีนอล ถูกอธิบายโดยละเอียดถึงจำนวนอะตอมที่สัมผัสกัน จากรูปที่ 36 เป็นแผนผัง Histogram ที่แจกแจงจำนวนอะตอมสัมผัสที่เวลา 300-500 นาโนวินาที ซึ่งค่ามัธยฐานของจำนวนอะตอมสัมผัสที่ได้มา อธิบายได้ว่าระบบอิมัลชันที่ไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีการสัมผัสของอะตอมในโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับโมเลกุลยูจีนอลอยู่ที่ 916 ตำแหน่ง ซึ่งมากกว่าระบบอิมัลชันที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่มีอยู่ 803 ตำแหน่ง ด้วยเหตุผลที่ว่าโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานมีการเคลื่อนที่ของโมเลกุลตลอดเวลาจากผล RMSD ทำให้มีอิสระในการจับกับโมเลกุลยูจีนอล

ที่มากกว่า อย่างไรก็ตาม จากแผนผัง Histogram ของระบบที่ไม่มีไตรโพลีฟอสเฟตในรูปที่ 36A พบว่ามีการกระจายตัวของจำนวนอะตอมสัมผัสที่กว้างกว่าระบบที่มีไตรโพลีฟอสเฟตในรูปที่ 36B ซึ่งหมายถึงว่าในช่วงเวลา 300-500 นาโนวินาที โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานทั้ง 3 โมเลกุลอาจมีบางส่วนที่สัมผัสและไม่ได้สัมผัสกับโมเลกุลยูจีนอล ทำนองเดียวกับระบบอิมัลชันที่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ถึงแม้ว่ามีบางส่วนที่โมเลกุลอาจไม่ได้สัมผัสกับยูจีนอล แต่โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานเมื่อมีการเชื่อมโยงกับโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ทำให้อุณหภูมิควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน สามารถสัมผัสกับโมเลกุลยูจีนอลได้คงที่กว่า ซึ่งส่งผลทำให้ฟิสิกเคอริงอิมัลชันมีความเสถียรมากยิ่งขึ้น



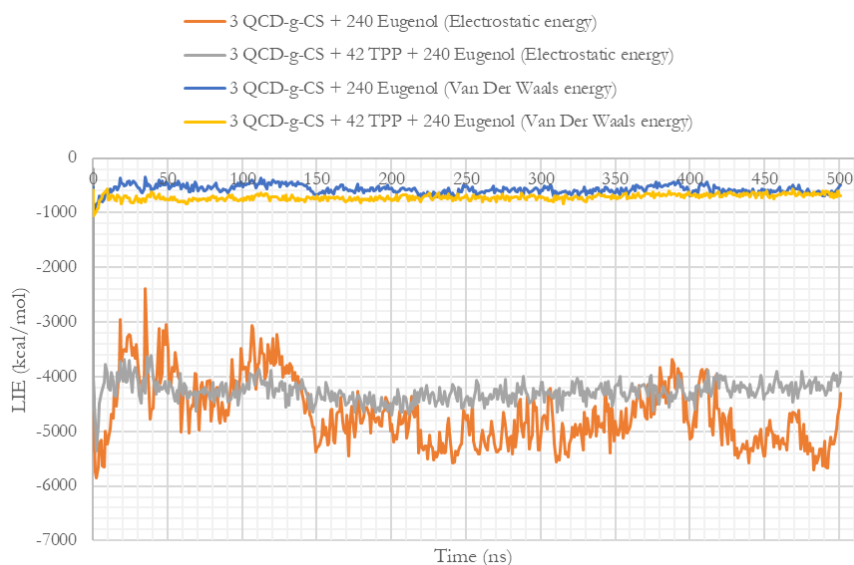
รูปที่ 36 แผนภูมิ Histogram แสดงจำนวนอะตอมสัมผัสระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลยูจีนอล ที่เวลา 300-500 นาโนวินาที

4.2.5 พลังงานปฏิสัมพันธ์เชิงเส้น (Linear Interaction Energy)

การเปลี่ยนแปลงในเชิงพลังงานปฏิสัมพันธ์ (Interaction Energy) ถูกคำนวณโดยใช้หลักการของ Linear Interaction Energy ซึ่งแสดงผลพลังงานปฏิสัมพันธ์ 2 รูปแบบ ได้แก่ พลังงานทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic energy) และ พลังงานแวนเดอร์วาลส์ (Van Der Waals energy) ซึ่งใน

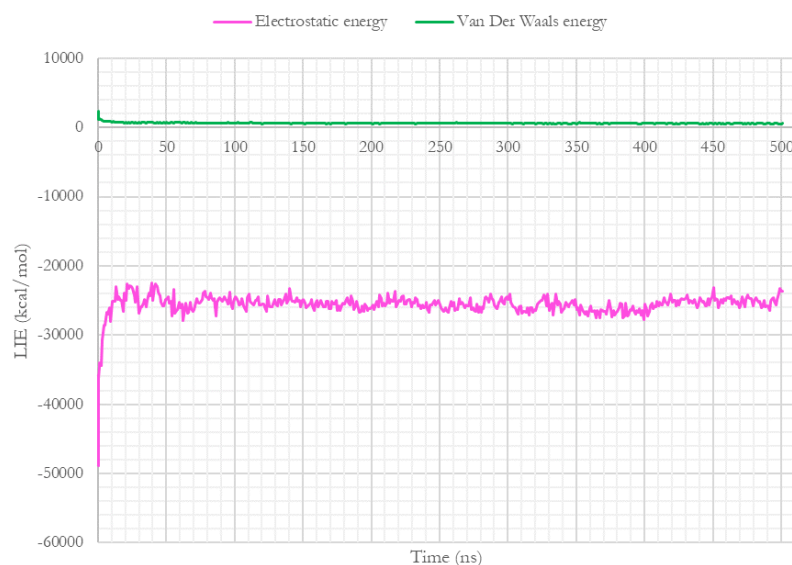
การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของ Bao Li และคณะ (2017) ได้เปรียบเทียบการจำลองโมเลกุลระหว่าง Anionic Sodium Dodecyl Sulfonate (SDS) และ Nonionic Tetraethylene glycol Monododecyl Ether (C₁₂EO) ในการผลิต Oil-in-water emulsion โดยใช้ Dodecane เป็นวัฏภาคน้ำมัน ผลการจำลองพบว่าการคำนวณ Interface Formation Energy (IFE) ของระบบอิมัลชันทั้งสองเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงพลังงานไฟฟ้าสถิต และพลังงานแวนเดอร์วาลส์ ซึ่งมีการเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวระหว่างรอยต่อกับน้ำมันที่แตกต่างกัน [29] ดังนั้นการหาค่า LIE จึงถูกนำมาอธิบายการเปลี่ยนแปลงเชิงพลังงานของโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไฮโดรเจนเชื่อมโคโตซานรวมถึงโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต ดังนี้

การเปลี่ยนแปลง LIE ระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไฮโดรเจนเชื่อมโคโตซานกับโมเลกุลน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลาย (Solvent) ของระบบอิมัลชันที่มีและไม่มีโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตพบว่า พลังงานไฟฟ้าสถิต (Electrostatic energy) มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 50 นาโนวินาทีแรกของการจำลองพลวัต เนื่องจากมีปฏิสัมพันธ์เพิ่มขึ้นระหว่างโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไฮโดรเจนเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลยูจีนอล อย่างไรก็ตามในระบบอิมัลชันที่ไม่มีไตรโพลีฟอสเฟต ในรูปที่ 37 หลังจาก 50 นาโนวินาที มีค่าพลังงานที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากโมเลกุลควอเตอร์ไนซ์ไฮโดรเจนเชื่อมโคโตซานมีการเรียงตัวใหม่อยู่ตลอดเวลา มีผลทำให้พลังงานปฏิสัมพันธ์กับน้ำเพิ่มขึ้นซึ่งโดยเฉลี่ยในระยะเวลา 300-500 นาโนวินาที มีค่าพลังงานไฟฟ้าสถิตอยู่ในช่วง -4939.1 ถึง -5944.8 กิโลแคลอรีต่อโมล (kcal/mol) และมีค่ามากกว่าพลังงานปฏิสัมพันธ์ในระบบอิมัลชันที่มีไตรโพลีฟอสเฟตที่ยังคงที่จนจบการจำลองพลวัตซึ่งพลังงานอยู่ในช่วง -4766.3 ถึง -5065.3 กิโลแคลอรีต่อโมล เนื่องจากอนุภาคควอเตอร์ไนซ์ไฮโดรเจนเชื่อมโคโตซานมีขนาดและรูปร่างที่ชัดเจน ทำให้พลังงานคงที่สอดคล้องกับการจำลองพลวัตของ Hitomi Miyamoto และคณะ (2017) ที่ได้ศึกษาลักษณะการเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันของ Octane โดยใช้ Cellulose Chains และ Cellulose Mini-crystal พบว่าพลังงานปฏิสัมพันธ์ระหว่างน้ำกับ Cellulose ทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน กล่าวคือพลังงานปฏิสัมพันธ์ของ Cellulose Chains มีค่ามากกว่า Cellulose Mini-Crystal ในเวลาสิ้นสุดการจำลองที่ 80 นาโนวินาที โดยที่ Cellulose Chain จะมีการเรียงตัวโมเลกุลใหม่บนผิวของ Octane ตลอดเวลาทำให้มีพลังงานปฏิสัมพันธ์กับน้ำมากขึ้น ส่วน Cellulose Mini-Crystal เป็นอนุภาคที่มีรูปร่างชัดเจน จึงทำให้พลังงานคงที่ [10]



รูปที่ 37 Linear Interaction Energy (LIE) ระหว่างโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและโมเลกุลน้ำที่เวลาต่างๆ ของระบบที่มีและไม่มีไตรโพลีฟอสเฟต

สำหรับระบบอิมัลชันที่มีไตรโพลีฟอสเฟต พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง LIE ระหว่างโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตและโมเลกุลน้ำ ในรูปที่ 38 โดยพลังงานไฟฟ้าสถิต (Electrostatic energy) ของโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตที่ปฏิสัมพันธ์กับน้ำมีค่าลดลงเป็นอย่างมาก ซึ่งจากผลพฤติกรรมพลวัตแสดงให้เห็นแล้วว่า โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตมีการเคลื่อนที่ออกจากโมเลกุลน้ำเพื่อไปเชื่อมโยง (Cross-linking) กับโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ทำให้ระบบอิมัลชันทั้ง 2 ระบบมีการเปลี่ยนแปลงพลังงานไฟฟ้าสถิต (Electrostatic energy) ซึ่งส่งผลกับการละลายน้ำของอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน โดยที่อนุภาคที่ใส่โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตจะมีการละลายน้ำที่ต่ำกว่าสอดคล้องกับพลังงานไฟฟ้าสถิตที่มีค่าต่ำกว่า



รูปที่ 38 Linear Interaction Energy (LIE) ระหว่างโมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟตและโมเลกุลน้ำที่เวลาต่างๆ ของระบบอิมัลชันที่มี 3 โมเลกุลควอเทอร์นารีโซโคเลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซาน 42 โมเลกุลไตรโพลีฟอสเฟต และ 240 โมเลกุลยูจีนอล

ดังนั้นการจำลองพลวัตแสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงของส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) บนผิวของควอเทอร์นารีโซโคเลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโคซานเนื่องมาจากการใส่ไตรโพลีฟอสเฟต ทำให้รูปร่างอนุภาคและพลังงานไฟฟ้าสถิตของโมเลกุลควอเทอร์นารีโซโคเลเดกซ์ทรินมีความแตกต่างกัน ซึ่งจากผลวิเคราะห์ทั้งหมด พบว่าระบบที่มีการเติมไตรโพลีฟอสเฟตทำให้เกิดพิกเคอริงอิมัลชันที่เสถียรกว่าระบบที่ไม่ใส่ไตรโพลีฟอสเฟต แต่อย่างไรก็ตามการมีปฏิสัมพันธ์ที่ผิวของหยดน้ำมันยูจีนอลในการเกิดพิกเคอริงอิมัลชันทั้งสองระบบยังมีพฤติกรรมที่เหมือนกัน จากการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของไตรโพลิฟอสเฟตที่มีต่อการสร้างอนุภาคระหว่างควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน โดยการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation) ที่อุณหภูมิและความดันคงที่ ในเวลา 500 นาโนวินาที สรุปได้ว่าการเติมไตรโพลิฟอสเฟตมีส่วนช่วยในการสร้างอนุภาคที่มีรูปร่างชัดเจน กะทัดรัด และขนาดสม่ำเสมอ โดยกลไกการสร้างอนุภาค เกิดขึ้นจากอะตอมออกซิเจนของโมเลกุลไตรโพลิฟอสเฟตเข้าไปเชื่อมโยง (Cross-linking) ด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุกับอะตอมไนโตรเจนในหน่วย Quaternized D-glucosamine ของควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ทำให้โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานเกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาค นอกจากนี้ยังมีการรวมกลุ่มของวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินซึ่งช่วยในการสร้างอนุภาคได้เช่นกันโดยอาศัยแรง Hydrophobic interaction ซึ่งเกิดขึ้นภายในวงเบตาไซโคลเดกซ์ทรินจากการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลในระบบที่มีการเติมโมเลกุลไตรโพลิฟอสเฟตในจำนวนที่แตกต่างกัน พบว่า การเติม 42 โมเลกุลไตรโพลิฟอสเฟต กับ 3 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซาน ให้ขนาดอนุภาค และ พื้นที่ผิวที่น้ำสามารถเข้าถึงได้ น้อยที่สุด โดยระบบการสร้างอนุภาคที่ดีที่สุดนี้ได้ใช้อัตราส่วนโดยโมเลกุลระหว่างหน่วย Quaternized D-glucosamine กับโมเลกุลไตรโพลิฟอสเฟต เป็น 1:1

จากการเปรียบเทียบการจำลองการเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานและไตรโพลิฟอสเฟต โดยใช้ยูจินอลเป็นวัสดุภาคน้ำมัน สรุปได้ว่า ระบบที่มีและไม่มีไตรโพลิฟอสเฟต สามารถเกิดฟิสิกเคอริงอิมัลชันในลักษณะเดียวกันได้ โดยโมเลกุลยูจินอลมีการรวมตัวกันเป็นหยดน้ำมันขนาดใหญ่ และมีโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานสัมผัสที่บริเวณผิวของหยดน้ำมันดังพฤติกรรมพลวัตเชิงโมเลกุล อย่างไรก็ตามทั้ง 2 ระบบมีความแตกต่างกันที่อนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานที่ได้ โดยพบว่ามีเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานในระบบที่ไม่มีไตรโพลิฟอสเฟตอยู่ตลอดเวลา ในขณะที่อนุภาคในระบบที่มีโมเลกุลไตรโพลิฟอสเฟตมีการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างที่น้อยกว่าทำให้สามารถสัมผัสกับโมเลกุลยูจินอลได้สม่ำเสมอกว่า สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงพลังงานไฟฟ้าสถิต (Electrostatic energy) ระหว่างอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมโคโตซานกับน้ำ โดยพบว่าที่เวลา 300-500 นาโนวินาที ระบบที่มีไตรโพลิฟอสเฟตมีพลังงานไฟฟ้าสถิตที่ต่ำกว่าระบบที่ไม่มีไตรโพลิฟอสเฟต เนื่องจากไตรโพลิฟอสเฟตเข้าไปเชื่อมโยงกับควอเทอร์ไนซ์ไซโคล

เดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซานมากขึ้น จนทำให้การละลายน้ำของอนุภาคลดลง ซึ่งเป็นผลทำให้การสร้างพิกเคอริงอิมัลชันด้วยอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซานและไตรโพลีฟอสเฟต จึงมีความเสถียรมากขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 โมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซานที่ใช้ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลควรใช้สายโมเลกุลที่มีความยาวมากกว่า 20 หน่วยมอนอเมอร์ เพื่อให้ใกล้เคียงกับสายโมเลกุลควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซานที่ได้จากการสังเคราะห์

5.2.2 ศึกษาตัวเชื่อมโยงที่เป็นประจุลบอื่นๆ เพื่อเปรียบเทียบกลไกการเกิดอนุภาคควอเทอร์ไนซ์ไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมไคโตซาน



ภาคผนวก

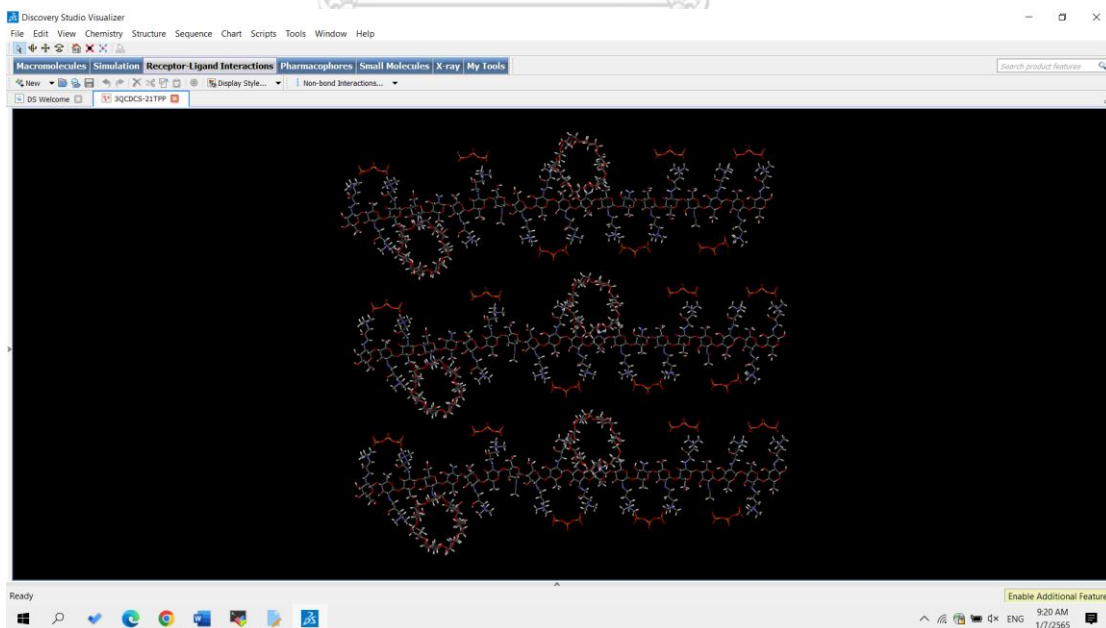
สำหรับกระบวนการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม AMBER20 ของการสร้างอนุภาค และการสร้างระบบอิมัลชันประกอบไปด้วย 4 กระบวนการดังนี้

1. เตรียมไฟล์โครงสร้างเริ่มต้นสกุล PDB (Preparing a PDB file)
2. การทำ Solvation ด้วย LEaP
3. การลดพลังงานต่ำสุด (Energy Minimization)
4. การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลด้วย GPU

โดยแต่ละกระบวนการมีการกำหนดเงื่อนไขการดำเนินการต่างๆซึ่งผู้ใช้งานสามารถระบุด้วยการเตรียมสคริปต์ (Script) ไว้ในไฟล์อินพุต ถัดมาเป็นการใช้คำสั่งเรียกอ่านไฟล์อินพุต เพื่อดำเนินการคำนวณแต่ละกระบวนการ โดยตัวอย่างไฟล์อินพุตที่เกี่ยวข้องทั้งหมดในงานวิจัยนี้ถูกระบุไว้ในภาคผนวก ก-จ ดังนี้

ก. การเตรียมไฟล์โครงสร้างสกุล PDB

สำหรับการเตรียมโครงสร้างโมเลกุลเริ่มต้น ถูกใช้โดยโปรแกรม Discovery Studio 2021 ซึ่งเป็นการวางโมเลกุลด้วยมือของผู้ใช้งานโดยตรง ตัวอย่างของการสร้างโครงสร้างเริ่มต้นถูกแสดงไว้ในรูปที่ 39



รูปที่ 39 การเตรียมโครงสร้างเริ่มต้นด้วยโปรแกรม Discovery Studio 2021

ข. การทำ Solvation ด้วยโปรแกรม LEaP

ข.1 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการทำให้ Solvation ในโปรแกรม LEaP เพื่อสร้างโครงสร้างเริ่มต้น (Initial Structure)

ไฟล์อินพุตสำหรับการเตรียมองค์ประกอบของโครงสร้างเริ่มต้นเพื่อใช้ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลอาศัยโปรแกรม LEaP ในการสร้างแสดงในตารางที่ 3 โดยจะทำหน้าที่ในการเติมตัวทำละลายในที่นี้คือ น้ำ (Water) ชนิด TIP3P ทำการดูละอออนในระบบให้เป็นกลางเพื่อไม่ให้มีความเสียหายเกิดขึ้นในระบบ ในที่นี้ ไอออนที่ใช้ดุล (Counter ions) ได้แก่ Na^+ ion หรือ Cl^- ion ขึ้นอยู่กับจำนวนประจุที่มีอยู่ในระบบที่สร้างขึ้นมา นอกจากนี้จะทำการเชื่อมพันธะระหว่างหน่วยย่อย (Unit หรือ Residue) เข้าด้วยกันบริเวณสายโคไคซาน บริเวณวงไซโคลเดกซ์ทริน และจุดเชื่อมต่อระหว่างสายโคไคซานกับวงไซโคลเดกซ์ทริน เพื่อยังคงโครงสร้างโมเลกุลควอเทอร์นารีไซโคลเดกซ์ทรินไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของการสร้างพันธะระหว่างการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล ภายหลังจากการเตรียมไฟล์อินพุตขึ้นมาต้องอาศัยชุดคำสั่งในการสั่งการให้โปรแกรมทำงานคือ `tleap -f tleap.in > tleap.out` ซึ่งจะให้ผลลัพธ์คือไฟล์โทโพโลยี (Topology file) และไฟล์โคออร์ดิเนต (Coordinate file) เป็นสองไฟล์ที่ใช้ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล ได้ไฟล์ PDB ที่ใช้สำหรับดูโครงสร้างเริ่มต้น และได้ไฟล์เอาท์พุตซึ่งอธิบายรายละเอียดของโปรแกรมที่คำนวณปริมาณน้ำ ปริมาณไอออน ความหนาแน่น และอื่นๆ

ตารางที่ 3 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการทำให้ Solvation ด้วยโปรแกรม LEaP

tleap.in	คำอธิบาย
source leaprc.water.tip3p	เรียกพารามิเตอร์สนามพลังของน้ำ ชนิด TIP3P
source leaprc.gaff2	เรียกพารามิเตอร์สนามพลังของลิแกนด์ (Ligand)
source leaprc.protein.ff03.r1	เรียกพารามิเตอร์สนามพลังของโปรตีน
source leaprc.GLYCAM_06j-1	เรียกพารามิเตอร์สนามพลังของคาร์โบไฮเดรต
loadamberprep Glycam_06tk.prep	โหลดไฟล์ prepin ใช้สำหรับโปรตีน
loadamberprep chitosan_tk.prepin	โหลดไฟล์ prepin ใช้สำหรับโคไคซาน
loadamberparams Glycam_06g- 1.dat	โหลดไฟล์ dat ใช้สำหรับโปรตีน
loadamberparams tpp.frcmod	โหลดไฟล์ frcmod ใช้สำหรับไตรโพลีฟอสเฟต

loadamberprep tpp.prepin	โหลดไฟล์ prepin ใช้สำหรับไตรโพลีฟอสเฟต
loadamberparams eg.frcmod	โหลดไฟล์ frcmod ใช้สำหรับยูจีนอล
loadamberprep eg.prepin	โหลดไฟล์ prepin ใช้สำหรับยูจีนอล
w = loadpdb 3QDCS.pdb	โหลดไฟล์โครงสร้าง PDB และกำหนดพารามิเตอร์เป็น w
# Molecule 1	โมเลกุล QCD-g-CS ตัวที่ 1
bond w.1.C1 w.2.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.2.C1 w.3.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.3.C1 w.4.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.4.C1 w.5.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.5.C1 w.6.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.6.C1 w.7.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.7.C1 w.8.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.8.C1 w.9.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.9.C1 w.10.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.10.C1 w.11.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.11.C1 w.12.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.12.C1 w.13.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.13.C1 w.14.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.14.C1 w.15.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.15.C1 w.16.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.16.C1 w.17.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.17.C1 w.18.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.18.C1 w.19.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.19.C1 w.20.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
#bcd	
bond w.21.C1 w.27.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.22.C1 w.21.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.23.C1 w.22.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.24.C1 w.23.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน

bond w.25.C1 w.24.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.26.C1 w.25.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.27.C1 w.26.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.28.C1 w.34.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.29.C1 w.28.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.30.C1 w.29.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.31.C1 w.30.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.32.C1 w.31.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.33.C1 w.32.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.34.C1 w.33.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
#correct edited BCD residue 4GX	
bond w.21.C4 w.21.C5	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.28.C4 w.28.C5	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
#bond CS-BCS	
bond w.4.N2 w.21.C6	เชื่อมพันธะระหว่างสายโคโตซานกับวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.12.N2 w.28.C6	เชื่อมพันธะระหว่างสายโคโตซานกับวงไซโคลเดกซ์ทริน
# Molecule 2	โมเลกุล QCD-g-CS ตัวที่ 2
bond w.35.C1 w.36.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.36.C1 w.37.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.37.C1 w.38.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.38.C1 w.39.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.39.C1 w.40.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.40.C1 w.41.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.41.C1 w.42.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.42.C1 w.43.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.43.C1 w.44.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.44.C1 w.45.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน

bond w.45.C1 w.46.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.46.C1 w.47.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.47.C1 w.48.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.48.C1 w.49.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.49.C1 w.50.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.50.C1 w.51.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.51.C1 w.52.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.52.C1 w.53.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.53.C1 w.54.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
#bcd	
bond w.55.C1 w.61.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.56.C1 w.55.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.57.C1 w.56.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.58.C1 w.57.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.59.C1 w.58.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.60.C1 w.59.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.61.C1 w.60.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.62.C1 w.68.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.63.C1 w.62.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.64.C1 w.63.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.65.C1 w.64.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.66.C1 w.65.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.67.C1 w.66.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.68.C1 w.67.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
#correct edited BCD residue 4GX	
bond w.55.C4 w.55.C5	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.62.C4 w.62.C5	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
#bond CS-BCS	

bond w.38.N2 w.55.C6	เชื่อมพันธะระหว่างสายโคโตนกับวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.46.N2 w.62.C6	เชื่อมพันธะระหว่างสายโคโตนกับวงไซโคลเดกซ์ทริน
# Molecule 3	โมเลกุล QCD-g-CS ตัวที่ 2
bond w.69.C1 w.70.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.70.C1 w.71.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.71.C1 w.72.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.72.C1 w.73.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.73.C1 w.74.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.74.C1 w.75.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.75.C1 w.76.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.76.C1 w.77.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.77.C1 w.78.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.78.C1 w.79.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.79.C1 w.80.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.80.C1 w.81.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.81.C1 w.82.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.82.C1 w.83.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.83.C1 w.84.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.84.C1 w.85.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.85.C1 w.86.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.86.C1 w.87.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
bond w.87.C1 w.88.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตน
#bcd	
bond w.89.C1 w.95.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.90.C1 w.89.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.91.C1 w.90.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.92.C1 w.91.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.93.C1 w.92.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.94.C1 w.93.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน
bond w.95.C1 w.94.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไซโคลเดกซ์ทริน

bond w.96.C1 w.102.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไฮโคลเดกซ์ทริน
bond w.97.C1 w.96.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไฮโคลเดกซ์ทริน
bond w.98.C1 w.97.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไฮโคลเดกซ์ทริน
bond w.99.C1 w.98.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไฮโคลเดกซ์ทริน
bond w.100.C1 w.99.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไฮโคลเดกซ์ทริน
bond w.101.C1 w.100.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไฮโคลเดกซ์ทริน
bond w.102.C1 w.101.O4	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างวงไฮโคลเดกซ์ทริน
#correct edited BCD residue 4GX	
bond w.89.C4 w.89.C5	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
bond w.96.C4 w.96.C5	เชื่อมพันธะเพื่อสร้างสายโคโตซาน
#bond CS-BCS	
bond w.72.N2 w.89.C6	เชื่อมพันธะระหว่างสายโคโตซานกับวงไฮโคลเดกซ์ทริน
bond w.80.N2 w.96.C6	เชื่อมพันธะระหว่างสายโคโตซานกับวงไฮโคลเดกซ์ทริน
setbox w centers	ตั้งให้โมเลกุลที่เตรียมอยู่ตรงกลาง
set w box {120.0000000 120.0000000 120.0000000}	กำหนดขนาด Simulation box เท่ากับ 120 อังสตรอม
addlons w Na+ 0	เติมโซเดียมไอออนเพื่อดุลให้ระบบเป็นกลางโดยอัตโนมัติ
addlons w Cl- 0	เติมคลอไรด์ไอออนเพื่อดุลให้ระบบเป็นกลางโดยอัตโนมัติ
solvateBox w TIP3PBOX 0	เติมน้ำชนิด TIP3P ในกล่องแบบคิวบิก
savepdb w leap.pdb	บันทึกไฟล์ PDB ที่ผ่านการเติมน้ำและดุลไอออน
check w	ตรวจสอบพารามิเตอร์
saveamberparm w addHWAT.top	บันทึกไฟล์โครงสร้างในสกุลโทโพโลยี และโคออร์ดิเนต
addHWAT.crd	
quit	ออก

ข.2 คำสั่งดำเนินการ

การใช้คำสั่งดำเนินการเพื่ออ่านไฟล์อินพุตสำหรับการทำ Solvation สามารถทำได้โดยการพิมพ์คำสั่งดังรูปที่ 40

```
37 #export CUDA_VISIBLE_DEVICES=0,1
38
39 cd $WORKDIR
40
41
42 tleap -f tleap.in > tleap.out
```

รูปที่ 40 คำสั่ง (Command) อ่านไฟล์อินพุตของการทำ Solvation ด้วยโปรแกรม LEaP

ค. การลดพลังงานต่ำสุด (Minimization)

ค.1 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการทำ Energy Minimization

สำหรับการลดพลังงานให้ต่ำสุด หรือ Energy Minimization เป็นการหลีกเลี่ยงการสัมผัสของโมเลกุลที่ไม่ดีเนื่องมาจากการเตรียมโครงสร้างเริ่มต้น สำหรับระบบที่มีหลายโมเลกุลจำเป็นอย่างไร้ในการลดพลังงานก่อนการจำลองพลวัตเพื่อป้องกันการจำลองที่ล้มเหลว ในที่นี้การลดพลังงานของโครงสร้างโมเลกุลแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ การลดพลังงานเฉพาะอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen Minimization), การลดพลังงานสำหรับโมเลกุลน้ำ (Water minimization) และการลดพลังงานของอะตอมทั้งหมด (All Minimization) ซึ่งอธิบายไว้ในตารางที่ 4, ตารางที่ 5 และตารางที่ 6 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับ Hydrogen Minimization

02min_H.in	คำอธิบาย
steps of minimization only	
H atoms	
&cntrl	
imin=1,	เปิดโหมดการ Minimization
maxcyc=3000,	แบ่งขั้นตอนการ Minimization เป็น 3000 ขั้นตอน
ntmin=1,	การ Minimization ด้วยวิธี The steepest descent method
ncyc=1500,	เริ่ม Minimization ที่ 1500 ขั้นตอนแรก
ntpr=5,	เขียน Output file ทุกๆ 5 ขั้นตอน
restraint_wt=100.0,	Force constant เท่ากับ 100 kcal/mol/Å ²
restraintmask='!@H='	จำกัดเฉพาะไฮโดรเจนเท่านั้น

ตารางที่ 5 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับ Water Minimization

03minWAT.in	คำอธิบาย
<pre> Minimization of water molecules ---Fixing only QCDCS--- &cntrl imin = 1, maxcyc = 3000, ncyc = 1500, ntb = 1, ntr = 1, cut = 10 / Hold the ENZYME fixed 500.0 RES 1 102 END END </pre>	<p>เปิดโหมดการ Minimization</p> <p>แบ่งขั้นตอนการ Minimization เป็น 3000 ขั้นตอน</p> <p>เริ่ม Minimization ที่ 1500 ขั้นตอนแรก</p> <p>ควบคุมปริมาตรคงที่ (Constant volume periodic boundary)</p> <p>ควบคุมตำแหน่งให้อยู่กับที่</p> <p>Cutoff ที่ 10 อังสตรอม</p> <p>Force constant เท่ากับ 500 kcal/mol/Å²</p> <p>ควบคุม residue 1-102 อยู่กับที่</p> <p>จบการทำงาน</p>

ตารางที่ 6 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับ All minimization

04minAll.in	คำอธิบาย
<pre> Minimization of all molecules &cntrl imin = 1, maxcyc = 3000, ncyc = 1500, ntb = 1, ntr = 1, cut = 10 </pre>	<p>เปิดโหมดการ Minimization</p> <p>แบ่งขั้นตอนการ Minimization เป็น 3000 ขั้นตอน</p> <p>เริ่ม Minimization ที่ 1500 ขั้นตอนแรก</p> <p>ควบคุมปริมาตรคงที่ (Constant volume periodic boundary)</p> <p>ควบคุมตำแหน่งให้อยู่กับที่</p> <p>Cutoff ที่ 10 อังสตรอม</p>

/	
END	จบการทำงาน

ค.2 คำสั่งดำเนินการ

การใช้คำสั่งดำเนินการเพื่ออ่านไฟล์อินพุตสำหรับการทำ Energy Minimization สามารถทำได้โดยการพิมพ์คำสั่งดังรูปที่ 41

```
37 #export CUDA_VISIBLE_DEVICES=0,1
38
39 cd $WORKDIR
40
41 srun sander -i 02min_H.in -o minH.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.crd -r minH.crd -ref ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.crd
42 srun sander -i 03minWAT.in -o minWAT.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c minH.crd -r minWAT.crd -ref minH.crd
43 srun sander -i 04minAll.in -o minAll.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c minWAT.crd -r minAll.restrt -ref minWAT.crd
```

รูปที่ 41 คำสั่ง (Command) อ่านไฟล์อินพุตของการทำ Energy Minimization

ง. การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลโดยใช้ GPU

ง.1 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการ Heating and Equilibration

สำหรับไฟล์อินพุตที่ใช้สำหรับการเพิ่มอุณหภูมิ และปล่อยให้สมดุล โดยให้ปริมาตรคงที่ ใช้เวลาในขั้นตอนนี้รวม 1.3 นาโนวินาที มีคำสั่งที่ใช้ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับการ Heating and Equilibration

md1.in ถึง md9.in	คำอธิบาย
Heating up the system 100 ps from 10K to 298K Stage 1-- Constant Volume--&cntrl imin=0, irest=0, ntx=1, ntpr=500, ntwr=500, ntwx=500, nstlim=50000, dt=0.002,	ปิดโหมดการ Minimization เริ่มต้นการจำลองพลวัต อ่านโคออร์ดิเนตและความเร็วจากไฟล์ Restart เขียนไฟล์ Output ทุก 500 ขั้นตอน เขียนไฟล์ Restart ทุก 500 ขั้นตอน เขียนไฟล์ Trajectory ทุก 500 ขั้นตอน กำหนดจำนวนขั้นตอนทั้งหมด 50,000 ขั้นตอน ขั้นตอนละ 0.002 พิโควินาที

<pre> tempi=10.0, temp0=298.0, ntt=1, tautp=2.0, ig=-1, nscm = 10000, ntb=1, ntp=0, cut=12.0, ntc=2, ntf=2, nrespa=1, ntr =1, &end Hold the complex 50.0 RES 1 102 END END </pre>	<p>อุณหภูมิเริ่มต้น 10 เคลวิน</p> <p>คงอุณหภูมิไว้ที่ 298 เคลวิน</p> <p>อัลกอริทึมเชค (SHAKE) ใช้ควบคุมอุณหภูมิคงที่</p> <p>ค่าคงที่ของเวลาซึ่งเป็นค่าเริ่มต้น</p> <p>Number generator (ค่าเริ่มต้น)</p> <p>ลบการเคลื่อนไหวของศูนย์กลางมวลทุกช่วงเวลา</p> <p>กำหนดปริมาตรคงที่</p> <p>ไม่มีการปรับความดัน (ค่าเริ่มต้น)</p> <p>Non-bond cutoff ที่ 12 อังสตรอม</p> <p>จำกัดพันธะที่เกี่ยวข้องกับอะตอมไฮโดรเจน</p> <p>ละเว้นการปฏิสัมพันธ์ของอะตอมไฮโดรเจน</p> <p>ควบคุมตัวแปรให้มีการเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆ</p> <p>ควบคุมอะตอมให้คงที่ตามที่ระบุไว้</p> <p>Force constant เท่ากับ 50 kcal/mol/A²</p> <p>ควบคุม residue 1-102 อยู่กับที่</p> <p>จบการทำงาน</p>
---	--

ง.2 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (MD Simulation)

ไฟล์อินพุตการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลอธิบายอย่างละเอียดในตารางที่ 8 ใช้ GPU ในการรันทำให้การคำนวณของการจำลองเร็วยิ่งขึ้น รวมถึงกำหนดอุณหภูมิ และความดันคงที่ ตลอดการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลในระยะเวลา 500 นาโนวินาที

ตารางที่ 8 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

md10.in	คำอธิบาย
<pre> system Stage 2-1 continue from 50.0 to 250.0(T=298 K for 200 ps) -- Constant Pressure-- </pre>	

<pre> &cntrl imin=0, irest=1, ntx=5, ntpr=5000, ntwr=5000, ntwx=5000, nstlim=5000000, dt=0.002, temp1=298.0, temp0=298.0, ntt=1, tautp=1.0, ig=-1, nscm=1000, ntb=2, ntp=1, pres0=1.0, cut=12.0, ntc=2, ntf=2, nrespa=1, iwrap =1, &end </pre>	<p>ปิดโหมดการ Minimization</p> <p>เริ่มต้นการจำลองพลวัต</p> <p>อ่านโคออร์ดิเนตและความเร็วจากไฟล์ Restart</p> <p>เขียนไฟล์ Output ทุก 5000 ขั้นตอน</p> <p>เขียนไฟล์ Restart ทุก 5000 ขั้นตอน</p> <p>เขียนไฟล์ Trajectory ทุก 5000 ขั้นตอน</p> <p>กำหนดจำนวนขั้นตอนทั้งหมด 5,000,000 ขั้นตอน</p> <p>ขั้นตอนละ 0.002 พิโควินาที</p> <p>อุณหภูมิเริ่มต้น 298 เคลวิน</p> <p>คงอุณหภูมิไว้ที่ 298 เคลวิน</p> <p>อัลกอริทึมที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิคงที่</p> <p>ค่าคงที่ของเวลาซึ่งเป็นค่าเริ่มต้น</p> <p>Number generator (ค่าเริ่มต้น)</p> <p>ลบการเคลื่อนไหวของศูนย์กลางมวลทุกช่วงเวลา</p> <p>กำหนดความดันคงที่</p> <p>กำหนดความดันคงที่แบบรอบทิศทาง</p> <p>กำหนดความดันอ้างอิงอยู่ที่ 1 บาร์ (0.987 atm)</p> <p>Non-bond cutoff ที่ 12 อังสตรอม</p> <p>จำกัดพันธะที่เกี่ยวข้องกับอะตอมไฮโดรเจน</p> <p>ละเว้นการปฏิสัมพันธ์ของอะตอมไฮโดรเจน</p> <p>ควบคุมตัวแปรให้มีการเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆ</p> <p>รวบรวมพิกัดเก็บไว้ในไฟล์เอาท์พุต</p> <p>จบการทำงาน</p>
--	---

ง.3 คำสั่งดำเนินการ

การใช้คำสั่งดำเนินการเพื่ออ่านไฟล์อินพุตสำหรับการ Heating และ การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล สามารถทำได้โดยการพิมพ์คำสั่งดังรูปที่ 42

```

37 #export CUDA_VISIBLE_DEVICES=0,1
38
39 cd $WORKDIR
40
41 srun sander -i md1.in -o md1.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c ../03minimizeHWAT/minAll.restrt -ref ../03minimizeHWAT/minAll.restrt -r md1.restrt -x md1.nc -v mdvel
42 srun sander -i md2.in -o md2.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md1.restrt -ref md1.restrt -r md2.restrt -x md2.nc -v mdvel
43 srun sander -i md3.in -o md3.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md2.restrt -ref md2.restrt -r md3.restrt -x md3.nc -v mdvel
44 srun sander -i md4.in -o md4.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md3.restrt -ref md3.restrt -r md4.restrt -x md4.nc -v mdvel
45 srun sander -i md5.in -o md5.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md4.restrt -ref md4.restrt -r md5.restrt -x md5.nc -v mdvel
46 srun sander -i md6.in -o md6.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md5.restrt -ref md5.restrt -r md6.restrt -x md6.nc -v mdvel
47 srun sander -i md7.in -o md7.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md6.restrt -ref md6.restrt -r md7.restrt -x md7.nc -v mdvel
48 srun sander -i md8.in -o md8.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md7.restrt -ref md7.restrt -r md8.restrt -x md8.nc -v mdvel
49 srun sander -i md9.in -o md9.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md8.restrt -ref md8.restrt -r md9.restrt -x md9.nc -v mdvel
50
51 for ((i=10;i<60;i++)); do
52     j=$((i-1))
53     srun sander -i md10.in -o md5{i}.out -p ../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -c md5{j}.restrt -ref md5{j}.restrt -r md5{i}.restrt -x md5{i}.nc -v mdvel
54 done
55
56 exit
57
58
59 exit
60 quit

```

รูปที่ 42 คำสั่ง (Command) อ่านไฟล์อินพุตของการจำลองพลวัตโดยใช้ GPU

จ. การวิเคราะห์ผลการจำลองด้วยโปรแกรม CPPTRAJ

จ.1 ตัวอย่างไฟล์อินพุต (Input File) สำหรับการวิเคราะห์พลวัตเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม CPPTRAJ

ไฟล์อินพุตที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์พลวัตเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม CPPTRAJ ได้ถูกรวบรวม คำสั่งของตัวแปรที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งหมด ได้แก่ Root-Mean Square Deviation (RMSD), Radius of Gyration (Rg), Solvent-Accessible Surface Area (SASA), Radial distribution function (RDF), Distance, Native contacts และ Linear Interaction Energy (LIE) ไว้ในตาราง ที่ 9

ตารางที่ 9 ตัวอย่างไฟล์อินพุตสำหรับการวิเคราะห์ผลการจำลองพลวัตด้วยโปรแกรม CPPTRAJ

คำสั่ง	คำอธิบาย
#Read in the trajectory file	
# starting at 1	
# consider each one	
trajin ../1.RunMD/md1.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md2.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md3.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md4.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md5.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md6.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md7.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md8.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md9.nc	เรียกไฟล์วิถี

trajin ../1.RunMD/md39.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md40.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md41.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md42.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md43.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md44.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md45.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md46.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md47.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md48.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md49.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md50.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md51.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md52.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md53.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md54.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md55.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md56.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md57.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md58.nc	เรียกไฟล์วิถี
trajin ../1.RunMD/md59.nc	เรียกไฟล์วิถี
reference ../03minimizeHWAT/minAll.restrt	ไฟล์อ้างอิง
autoimage	เรียงพิกัดตามรูปภาพ
#RMSD	<u>การคำนวณ RMSD</u>
rmsd rmsd_complx mass out rmsd_complex.dat :1-144&!@H=	RMSD ของ Complex
rmsd rmsd_qcdcs mass out rmsd_qcdcs.dat :1-102&!@H=	RMSD ของ QCD-g-CS
rmsd rmsd_tpp mass out rmsd_tpp.dat :103-144&!@H=	RMSD ของ TPP

<p>#Rgyr</p> <p>radgyr out rg_complex.dat :1-144</p> <p>radgyr out rg_qcdcs.dat :1-102</p> <p>radgyr out rg_tpp.dat :103-144</p>	<p><u>การคำนวณ Rg</u></p> <p>Rg ของ Complex</p> <p>Rg ของ QCD-β-CS</p> <p>Rg ของ TPP</p>
<p>#SASA</p> <p>surf sasa_complex :1-144 out sasa_complex.dat</p> <p>surf sasa_qcdcs :1-102 out sasa_qcdcs.dat</p> <p>surf sasa_tpp :103-144 out sasa_tpp.dat</p>	<p><u>การคำนวณ SASA</u></p> <p>SASA ของ Complex</p> <p>SASA ของ QCD-β-CS</p> <p>SASA ของ TPP</p>
<p>#Distance between Betacyclodextrin units at same chain</p> <p>distance bcd1.1-2.1 :21-27 :28-34 out distance_bcd1.1-2.1.dat</p> <p>distance bcd1.2-2.2 :55-61 :62-68 out distance_bcd1.2-2.2.dat</p> <p>distance bcd1.3-2.3 :89-95 :96-102 out distance_bcd1.3-2.3.dat</p>	<p><u>การคำนวณ Distance</u></p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p>
<p>#Distance between BCD units at another chains</p> <p>distance bcd1.1-1.2 :21-27 :55-61 out distance_bcd1.1-1.2.dat</p> <p>distance bcd1.1-2.2 :21-27 :62-68 out distance_bcd1.1-2.2.dat</p> <p>distance bcd1.1-1.3 :21-27 :89-95 out distance_bcd1.1-1.3.dat</p> <p>distance bcd1.1-2.3 :21-27 :96-102 out distance_bcd1.1-2.3.dat</p>	<p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p>
<p>distance bcd2.1-1.2 :28-34 :55-61 out distance_bcd2.1-1.2.dat</p> <p>distance bcd2.1-2.2 :28-34 :62-68 out distance_bcd2.1-2.2.dat</p> <p>distance bcd2.1-1.3 :28-34 :89-95 out distance_bcd2.1-1.3.dat</p> <p>distance bcd2.1-2.3 :28-34 :96-102 out distance_bcd2.1-2.3.dat</p>	<p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p>
<p>distance bcd1.2-1.3 :55-61 :89-95 out distance_bcd1.2-1.3.dat</p> <p>distance bcd1.2-2.3 :55-61 :96-102 out distance_bcd1.2-2.3.dat</p> <p>distance bcd2.2-1.3 :62-68 :89-95 out distance_bcd2.2-1.3.dat</p> <p>distance bcd2.2-2.3 :62-68 :96-102 out distance_bcd2.2-</p>	<p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p> <p>Distance ระหว่าง BCD</p>

<p>2.3.dat</p> <p>#Radial distribution function radial RDF_tpp-Q 0.025 40.0 :TPP@O1,O3,O4,O8,O10 :G1L,4GL,1GL@N2 density 0.033456 intrdf RDF_tpp-Q_integral</p> <p>#Native Contacts between QCD-g-CS rms first nativecontacts :35-102 :1-34 \ byresidue out contact_byres1.dat mindist maxdist \ first distance 3.0 reference map mapout contact_map1.gnu \ writecontacts contact_write1.dat \ contactpdb contact1.pdb \ series seriesout contact_series1.dat</p> <p>rms first nativecontacts :1-34,69-102 :35-68 \ byresidue out contact_byres2.dat mindist maxdist \ first distance 3.0 reference map mapout contact_map2.gnu \ writecontacts contact_write2.dat \ contactpdb contact2.pdb \ series seriesout contact_series2.dat</p> <p>rms first nativecontacts :1-68 :69-102 \ byresidue out contact_byres3.dat mindist maxdist \ first distance 3.0 reference map mapout contact_map3.gnu \ writecontacts contact_write3.dat \ contactpdb contact3.pdb \ series seriesout contact_series3.dat</p>	<p><u>การคำนวณ RDF</u> RDF ระหว่าง อะตอม O ของ TPP และอะตอม N ของ QCD-g-CS</p> <p><u>การคำนวณ Atom Contact</u> Contact ระหว่าง QCD- g-CS ตัวที่ 1 กับ QCD-g- CS ตัวที่ 2 และ 3</p> <p>Contact ระหว่าง QCD- g-CS ตัวที่ 2 กับ QCD-g- CS ตัวที่ 1 และ 3</p> <p>Contact ระหว่าง QCD- g-CS ตัวที่ 3 กับ QCD-g- CS ตัวที่ 1 และ 2</p>
--	---

<pre>#Native Contacts between QCD-g-CS and TPP rms first nativecontacts :G1L,4GL,1GL@N2 :TPP@O1,O3,O4,O8,O10 \ byresidue out contact_byres.dat mindist maxdist \ first distance 3.0 reference map mapout contact_map.gnu \ writecontacts contact_write.dat \ contactpdb contact.pdb \ series seriesout contact_series.dat #Linear interaction energy (Electrostatic energy and VDW energy) lie QDCS-WAT :1-102 :WAT out LIE_qcdcs-wat.dat lie TPP-WAT :103-144 :WAT out LIE_tpp-wat.dat lie Eu-WAT :145-384 :WAT out LIE_eu-wat.dat go</pre>	<p>Contact ระหว่าง QCD-g-CS ที่อะตอม N กับ TPP ที่อะตอม O</p> <p><u>การคำนวณ LIE</u></p> <p>LIE ของ QCD-g-CS</p> <p>LIE ของ TPP</p> <p>LIE ของ Eugenol</p>
---	--

จ.2 คำสั่งดำเนินการ

การใช้คำสั่งดำเนินการเพื่ออ่านไฟล์อินพุตสำหรับการวิเคราะห์ผลการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล ด้วยโปรแกรมสามารถทำได้โดยการพิมพ์คำสั่งดังรูปที่ 43

```
37 #export CUDA_VISIBLE_DEVICES=0,1
38
39 cd $WORKDIR
40
41 cpptraj -p ../../01preparePDB-02tleap/addHWAT.top -i CPPTRAJ.in > CPPTRAJ.out
```

รูปที่ 43 คำสั่ง (Command) อ่านไฟล์อินพุตของการวิเคราะห์ผลการจำลองด้วยโปรแกรม CPPTRAJ

บรรณานุกรม

1. Ribeiro, E.F., et al., *Chitosan and crosslinked chitosan nanoparticles: Synthesis, characterization and their role as Pickering emulsifiers*. Carbohydr Polym, 2020. **250**: p. 116878.
2. Sharkawy, A., M.F. Barreiro, and A.E. Rodrigues, *Chitosan-based Pickering emulsions and their applications: A review*. Carbohydrate Polymers, 2020. **250**.
3. Sajomsang, W., et al., *Self-aggregates formation and mucoadhesive property of water-soluble beta-cyclodextrin grafted with chitosan*. Int J Biol Macromol, 2011. **48**(4): p. 589-95.
4. Sajomsang, W., et al., *Water-soluble β -cyclodextrin grafted with chitosan and its inclusion complex as a mucoadhesive eugenol carrier*. Carbohydrate Polymers, 2012. **89**(2): p. 623-631.
5. Phunpee, S., et al., *A comparison of eugenol and menthol on encapsulation characteristics with water-soluble quaternized beta-cyclodextrin grafted chitosan*. Int J Biol Macromol, 2016. **84**: p. 472-80.
6. Gonil, P., et al., *Novel quaternized chitosan containing β -cyclodextrin moiety: Synthesis, characterization and antimicrobial activity*. Carbohydrate Polymers, 2011. **83**(2): p. 905-913.
7. Chaleawler-umpon, S., et al., *Effect of citrate spacer on mucoadhesive properties of a novel water-soluble cationic β -cyclodextrin-conjugated chitosan*. Carbohydrate Polymers, 2011. **84**(1): p. 186-194.
8. Zhang, R., et al., *Bioadhesive hydrocaffeic acid modified chitosan colloidal particles using as particulate emulsifiers*. Journal of Dispersion Science and Technology, 2019. **40**(11): p. 1559-1566.
9. Alehosseini, E., S.M. Jafari, and H. Shahiri Tabarestani, *Production of d-limonene-loaded Pickering emulsions stabilized by chitosan nanoparticles*. Food Chem, 2021. **354**: p. 129591.
10. Miyamoto, H., et al., *Molecular dynamics simulation of cellulose-coated oil-in-water emulsions*. Cellulose, 2017. **24**(7): p. 2699-2711.

11. Chen, L., et al., *Food-Grade Pickering Emulsions: Preparation, Stabilization and Applications*. *Molecules*, 2020. **25**(14).
12. Gonzalez Ortiz, D., et al., *Current Trends in Pickering Emulsions: Particle Morphology and Applications*. *Engineering*, 2020. **6**(4): p. 468-482.
13. Chevalier, Y. and M.-A. Bolzinger, *Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2013. **439**: p. 23-34.
14. Albert, C., et al., *Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications*. *Journal of Controlled Release*, 2019. **309**: p. 302-332.
15. Rinaudo, M., *Chitin and chitosan: Properties and applications*. *Progress in Polymer Science*, 2006. **31**(7): p. 603-632.
16. Rutkaite, R., et al., *Cationic starch nanoparticles based on polyelectrolyte complexes*. *Int J Biol Macromol*, 2012. **50**(3): p. 687-93.
17. Shah, B.R., et al., *Opening a new gateway towards the applications of chitosan nanoparticles stabilized Pickering emulsion in the realm of aquaculture*. *Carbohydrate Polymers*, 2021. **265**.
18. Atarian, M., et al., *Formulation of Pickering sunflower oil-in-water emulsion stabilized by chitosan-stearic acid nanogel and studying its oxidative stability*. *Carbohydrate Polymers*, 2019. **210**: p. 47-55.
19. Sakulwech, S., et al., *Preparation and characterization of nanoparticles from quaternized cyclodextrin-grafted chitosan associated with hyaluronic acid for cosmetics*. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018. **13**(5): p. 498-504.
20. Phunpee, S., et al., *Controllable encapsulation of alpha-mangostin with quaternized beta-cyclodextrin grafted chitosan using high shear mixing*. *Int J Pharm*, 2018. **538**(1-2): p. 21-29.
21. Di Santo, M.C., et al., *Chitosan-tripolyphosphate nanoparticles designed to encapsulate polyphenolic compounds for biomedical and pharmaceutical applications - A review*. *Biomed Pharmacother*, 2021. **142**: p. 111970.
22. Mohammadi Nejad, S., H. Ozgunes, and N. Basaran, *Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol*. *Turk J Pharm Sci*, 2017. **14**(2): p. 201-206.

23. Case, D.A., et al., *The Amber biomolecular simulation programs*. J Comput Chem, 2005. **26**(16): p. 1668-88.
24. Salomon-Ferrer, R., D.A. Case, and R.C. Walker, *An overview of the Amber biomolecular simulation package*. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, 2013. **3**(2): p. 198-210.
25. Roe, D.R. and T.E. Cheatham, 3rd, *PTRAJ and CPPTRAJ: Software for Processing and Analysis of Molecular Dynamics Trajectory Data*. J Chem Theory Comput, 2013. **9**(7): p. 3084-95.
26. Hernandez-Rodriguez, M., et al., *Current Tools and Methods in Molecular Dynamics (MD) Simulations for Drug Design*. Curr Med Chem, 2016. **23**(34): p. 3909-3924.
27. <J Comput Chem - 1999 - Weiser - Approximate atomic surfaces from linear combinations of pairwise overlaps LCPO.pdf>.
28. Xu, Y., Y.-L. Liu, and G.-S. Liu, *Molecular dynamics simulation of primary ammonium ions with different alkyl chains on the muscovite (001) surface*. International Journal of Mineral Processing, 2015. **145**: p. 48-56.
29. Li, B., et al., *Effects of Surfactant Headgroups on Oil-in-Water Emulsion Droplet Formation: An Experimental and Simulation Study*. Journal of Surfactants and Detergents, 2019. **22**(1): p. 85-93.
30. Moreno, A., et al., *A study on the molecular existing interactions in nanoherbicides: A chitooligosaccharide/tripolyphosphate loaded with paraquat case*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2019. **562**: p. 220-228.
31. Nejabat, M., et al., *Molecular dynamic and in vitro evaluation of chitosan/tripolyphosphate nanoparticles as an insulin delivery system at two different pH values*. J Biomol Struct Dyn, 2021: p. 1-9.
32. Mazancova, P., et al., *Dissociation of chitosan/tripolyphosphate complexes into separate components upon pH elevation*. Carbohydr Polym, 2018. **192**: p. 104-110.
33. Facchi, S.P., et al., *Preparation and cytotoxicity of N-modified chitosan nanoparticles applied in curcumin delivery*. Int J Biol Macromol, 2016. **87**: p.

237-45.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ศุภกร ลักษณะกุลบุตร
วัน เดือน ปี เกิด	29 สิงหาคม 2539
วุฒิการศึกษา	ปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY