

การสังเคราะห์และศึกษาความคงตัวของ
ของสารเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรต

นางสาวสุชาดา แสงวิมาน 5636584133
นางสาวศิริกุล คณาวิวัฒน์ 5636576133

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

โครงการปริญญาโทนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

เภสัชศาสตร์บัณฑิต สาขาการค้นพบและพัฒนา

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

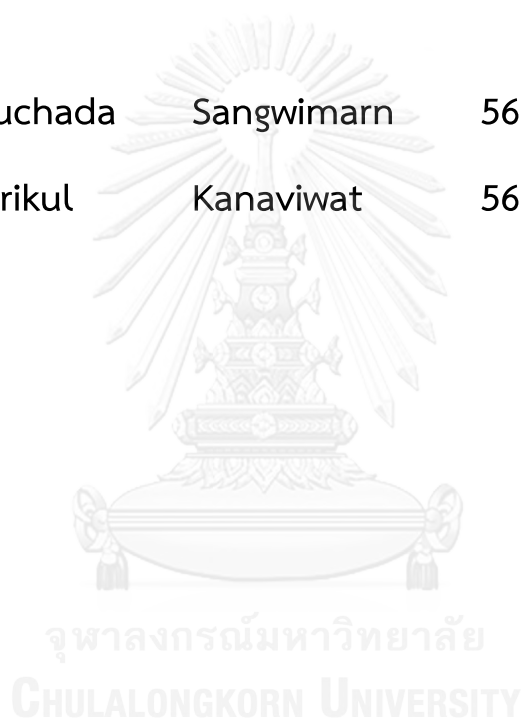
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

SYNTHESIS AND CHEMICAL STABILITY OF
CURCUMIN DIETHYL DIGLUTARATE

Ms. Suchada Sangwimarn 5636584133

Ms. Sirikul Kanaviwat 5636576133



A Senior Project Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirement for the Doctor of Pharmacy Program in
Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University 2017

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

หัวข้อโครงการปริญญาโท	การสังเคราะห์และศึกษาความคงตัวของ สารเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรต
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	นางสาวสุชาดา แสงวิมาน นางสาวศิริกุล คณาวิวัฒน์
สาขาวิชา/ภาควิชา	การค้นพบและพัฒนา ยา / อาหารและเภสัชเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท	รศ. ภก. ดร.พรชัย โรจนสีทิตศักดิ์

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้โครงการปริญญาโทฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

..... คณบดี
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.รุ่งเพชร สุกุลบำรุงศิลป์)

..... ประธานสาขาการค้นพบยาและพัฒนา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.สุญาณี พงษ์ธนานิกร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท
(รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.พรชัย โรจนสีทิตศักดิ์)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

คำนำ

ปฏิญานิพนธ์ฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อสังเคราะห์ curcumin diethyl diglutarate (CDG) ซึ่งเป็น prodrug ของสาร curcumin ที่พบได้ในขมิ้นชัน และทดสอบความคงตัวของสาร CDG เปรียบเทียบกับ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 รวมถึงศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH อื่น ๆ ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2, อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 เพื่อจำลอง pH ของสารละลายให้เหมือนกับในระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal tract) นอกจากนี้ยังศึกษาความคงตัวและการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์เพื่อเปรียบเทียบกับในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าปฏิญานิพนธ์ฉบับนี้จะประโยชน์แก่ผู้ที่ต้องการทราบข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการสังเคราะห์และผลการศึกษาความคงตัวของ curcumin และสารอนุพันธ์ของ curcumin ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ รวมถึงในพลาสมามนุษย์



คณะผู้จัดทำ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปฏิญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปฏิญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทคัดย่อปริญญาานิพนธ์

ชื่อโครงการ	: การสังเคราะห์และศึกษาความคงตัวของสารเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรต		
หัวหน้าโครงการ	: นางสาวสุชาดา แสงวิมาน	5636584133	
ผู้ร่วมโครงการ	: นางสาวศิริกุล คณาวิวัฒน์	5636576133	
อาจารย์ที่ปรึกษา	: รศ.ภก.ดร.พรชัย โรจนสิทธิ์ศักดิ์		
สาขา/ภาควิชา	: การค้นพบและพัฒนาายา / อาหารและเภสัชเคมี		

เคอร์คูมิน (curcumin) เป็นสารพอลิฟีนอลที่พบในขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายและมีความปลอดภัยสูง อย่างไรก็ตาม การประยุกต์ใช้เคอร์คูมินในทางคลินิกค่อนข้างจำกัด เนื่องจากเคอร์คูมินถูกเมตาบอไลซ์อย่างรวดเร็วในร่างกายผ่าน phase II conjugation ส่งผลให้มีค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์ต่ำ งานวิจัยนี้ จึงได้ทำการออกแบบและสังเคราะห์เคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรต ซึ่งเป็นโปรดรักชนิดใหม่ของเคอร์คูมิน และศึกษาความคงตัวของเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 และในพลาสมาของมนุษย์ ผลการทดลองพบว่า เคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตสามารถสังเคราะห์ได้ด้วยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างหมู่อินทรีย์ของเคอร์คูมินกับกลูตาริกแอซิดมอนอเอทิลเอสเทอร์คลอไรด์ ได้ผลผลิตประมาณ 50.5% สารที่สังเคราะห์ขึ้นผ่านการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคโปรตอนและคาร์บอน-13 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนสเปกโตรสโกปี อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี แมสสเปกโตรเมทรี และการวัดจุดหลอมเหลวของสาร จากการศึกษาความคงตัวของเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรต โดยการวิเคราะห์หาปริมาณของสารตั้งต้นที่ลดลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ด้วยอัลตราไฮเพอร์แมนซิลลิวทโครมาโทกราฟี และทำนายค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (k_{obs}) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) โดยใช้จลนศาสตร์ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเทียบ พบว่าเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรต มีค่าเท่ากับ 2.48×10^{-2} นาที⁻¹ และ 27.9 นาที ตามลำดับ เทียบกับเคอร์คูมินซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.39×10^{-2} นาที⁻¹ และ 29.0 นาที ตามลำดับ จากการศึกษาการปลดปล่อยเคอร์คูมินจากเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตในพลาสมาของมนุษย์ โดยการวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตที่ลดลงและเคอร์คูมินที่เกิดขึ้น พบว่าเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตสามารถปลดปล่อยเคอร์คูมินได้ โดยเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตมีค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวในพลาสมาเท่ากับ 5.88×10^{-2} นาที⁻¹ และค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 11.8 นาที จากการที่เคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตมีค่าคงที่อัตราเร็ว การสลายตัวในพลาสมาของมนุษย์มากกว่าในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เป็นผลมาจากเคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตถูกเร่งให้เกิดการสลายตัวและปลดปล่อยเคอร์คูมิน ซึ่งคาดว่าเกิดโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสผ่านเอสเทอร์สในพลาสมา ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า เคอร์คูมินไดเอทิลไดกลูตาเรตมีศักยภาพในการพัฒนาเพื่อเป็นโปรดรักของเคอร์คูมินที่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในอนาคต

คณะเภสัชศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Abstract

Senior project title : Synthesis and chemical stability of curcumin diethyl diglutarate
Students' name : Miss Suchada Sangwimarn 5636584133
 : Miss Sirikul Kanaviwat 5636576133
Advisor : Assoc. Prof. Pornchai Rojsitthisak, Ph.D.
Field/Department : Drug Discovery and Development/ Food and Pharmaceutical Chemistry

Curcumin is a polyphenolic compound found in turmeric (*Curcuma longa* L.). It has been demonstrated for numerous pharmacological activities with a safety profile. However, the use of curcumin in clinical applications is still limited due to the extensive metabolism via phase II conjugation, resulting in low oral bioavailability. In this study, curcumin diethyl diglutarate (CDG), a new curcumin prodrug, has been designed and synthesized. The chemical stability of CDG in phosphate buffer pH 7.4 and human plasma was tested. The results show that CDG can be synthesized by an esterification of both phenolic groups of curcumin with glutaric acid monoethyl ester chloride with the yield of 50.5%. The synthesized CDG was characterized by ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy, infrared spectroscopy, high resolution mass spectrometry and melting point determination. The chemical stability of CDG was investigated by measuring the decrease of CDG in phosphate buffer pH 7.4 with ultra-high performance liquid chromatography. The initial degradation rate constant (k_{obs}) and half-life ($t_{1/2}$) was calculated using pseudo-first order kinetic model. It was found that the k_{obs} and $t_{1/2}$ of CDG were $2.48 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ and 27.9 min, respectively, while the k_{obs} and $t_{1/2}$ of curcumin were $2.39 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ and 29.0 min, respectively. The release of curcumin in human plasma from CDG was also studied by monitoring the reduction of CDG and occurrence of curcumin. It was found that CDG degraded in human plasma with the k_{obs} and $t_{1/2}$ of $5.88 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ and 11.8 min respectively. The higher degradation rate in human plasma of CDG in comparison with that of phosphate buffer pH 7.4 indicates that the conversion of CDG to curcumin is accelerated. It implies that CDG undergoes hydrolysis reaction catalyzed by plasma esterases. In conclusion, this research shows that CDG has a potential to be developed as a curcumin prodrug with promising biological activities.

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Student's signature

Chulalongkorn University

Advisor's signature

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาโครงการปริญญาโทนี้ ผู้ศึกษาขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ เกษ์ชกร ดร.พรชัย โรจนสีทิสักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของโครงการนี้ ตลอดจนให้ความรู้และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการนี้

ขอขอบคุณนางสาวพรสิริ จิตรถเวช นายปวีณวัชร รัตนติลก ณ ฎเกิด นายชวัลพัชร เมืองน้อย และนายวิวัฒน์ ศุภเสนา ที่ช่วยให้คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในเรื่องของการเตรียมอุปกรณ์และการใช้เครื่องมือในการทำปริญญาโทนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ในภาควิชาอาหารและเภสัชเคมีและศูนย์เครื่องมือวิจัยทางเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาให้ความสะดวกในการทำโครงการนี้



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญรูป	ญ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 Curcumin	3
2.2 การทดสอบความคงตัวในการพัฒนายาใหม่	5
3 วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย	7
3.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	7
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย	10
3.2.1 การสังเคราะห์ curcumin และ CDG	10
3.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ curcumin และ CDG	11
3.2.3 การศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์	12
3.2.4 การศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์	14

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย	17
4.1 ผลการสังเคราะห์ curcumin และ CDG	17
4.2 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ curcumin และ CDG	17
4.3 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์	21
4.4 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์	27
5 สรุปผลการวิจัย	33
5.1 สรุปผลการวิจัย	33
5.2 ข้อจำกัดในการวิจัย	33
รายการอ้างอิง	34
ภาคผนวก	36



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	การทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์...	22
ตารางที่ 2	ค่า k_{obs} และค่า $t_{1/2}$ ของ CDG และ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4...	25
ตารางที่ 3	ค่า k_{obs} และค่า $t_{1/2}$ ของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ชนิดต่างๆ	27
ตารางที่ 4	การทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์...	28
ตารางที่ 5	ค่า k_{obs} และค่า $t_{1/2}$ ของ CDG ในพลาสมามนุษย์	32
ตารางที่ 6	Standard solutions ของ curcumin ที่ใช้ในการสร้าง calibration curve	53
ตารางที่ 7	Standard solutions ของ CDG ที่ใช้ในการสร้าง calibration curve	54
ตารางที่ 8	Standard solutions ของ curcumin ที่ใช้ในการสร้าง calibration curve ในพลาสมา ..	55
ตารางที่ 9	Standard solutions ของ CDG ที่ใช้ในการสร้าง calibration curve ในพลาสมา	56
ตารางที่ 10	peak area ของ curcumin และ CDG ที่ความเข้มข้นต่างๆ	57
ตารางที่ 11	ผลการศึกษาความคงตัวของ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4	58
ตารางที่ 12	ผลการศึกษาความคงตัวของ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 (ต่อ) ...	59
ตารางที่ 13	ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4	60
ตารางที่ 14	ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 (ต่อ)	61
ตารางที่ 15	ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2	62
ตารางที่ 16	ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 4.5	63
ตารางที่ 17	ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8	64
ตารางที่ 18	peak area ของ curcumin ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในพลาสมามนุษย์	65
ตารางที่ 19	peak area ของ CDG ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในพลาสมามนุษย์	66
ตารางที่ 20	ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N1)	67
ตารางที่ 21	ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N1) (ต่อ).....	68
ตารางที่ 22	ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N2)	69
ตารางที่ 23	ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N2) (ต่อ).....	70
ตารางที่ 24	ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N3)	71
ตารางที่ 25	ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N3) (ต่อ).....	72
ตารางที่ 26	ผลการศึกษาความคงตัวของ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4	73

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 27 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4	74
ตารางที่ 28 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2	75
ตารางที่ 29 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 4.5	76
ตารางที่ 30 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8	77
ตารางที่ 31 % remaining ของ CDG ในพลาสมามนุษย์	78
ตารางที่ 32 % formation ของ curcumin ในพลาสมามนุษย์	79
ตารางที่ 33 % formation ของ Intermediate metabolite ในพลาสมามนุษย์.....	80
ตารางที่ 34 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์.....	81



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ curcumin.....	3
รูปที่ 2 Reductive and conjugative metabolism ของ curcumin	4
รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ curcumin diethyl disuccinate	5
รูปที่ 4 กระบวนการสังเคราะห์ curcumin	10
รูปที่ 5 กระบวนการสังเคราะห์ CDG	11
รูปที่ 6 ¹ H NMR spectrum ของ curcumin	17
รูปที่ 7 ¹ H NMR spectrum ของ CDG	18
รูปที่ 8 ¹³ C NMR spectrum ของ CDG	18
รูปที่ 9 IR spectrum ของ curcumin.....	19
รูปที่ 10 IR spectrum ของ CDG	20
รูปที่ 11 Mass spectrum ของ CDG.....	21
รูปที่ 12 Calibration curve ของ curcumin	23
รูปที่ 13 Calibration curve ของ CDG	23
รูปที่ 14 กราฟระหว่างความเข้มข้นของ curcumin และ CDG เทียบกับเวลา.....	24
รูปที่ 15 กราฟระหว่าง ln conc. ของ CDG และ curcumin ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 และเวลา..	24
รูปที่ 16 กราฟระหว่างความเข้มข้นของ CDG และเวลา	26
รูปที่ 17 กราฟระหว่าง ln conc. ของ CDG และ curcumin ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ และเวลา	26
รูปที่ 18 Calibration curve ของ curcumin ในพลาสมามนุษย์	29
รูปที่ 19 Calibration curve ของ CDG ในพลาสมามนุษย์	29
รูปที่ 20 Release profile ของ curcumin จาก CDG ในพลาสมามนุษย์.....	30
รูปที่ 21 % formation ของ intermediate metabolite ในพลาสมามนุษย์.....	31
รูปที่ 22 กราฟระหว่าง ln conc. ของ CDG ในพลาสมามนุษย์และเวลา	31
รูปที่ 23 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability1)	37
รูปที่ 24 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability2)	37
รูปที่ 25 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability3)	37
รูปที่ 26 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability4)	38

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 27 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (System suitability5).....	38
รูปที่ 28 Chromatogram ของ curcumin 0.05 μ M (STD 1)	38
รูปที่ 29 Chromatogram ของ curcumin 0.1 μ M (STD 2)	39
รูปที่ 30 Chromatogram ของ curcumin 0.2 μ M (STD 3)	39
รูปที่ 31 Chromatogram ของ curcumin 0.4 μ M (STD 4)	39
รูปที่ 32 Chromatogram ของ curcumin 0.8 μ M (STD 5)	40
รูปที่ 33 Chromatogram ของ curcumin 1.6 μ M (STD 6)	40
รูปที่ 34 Chromatogram ของ CDG 0.05 μ M (STD 1)	40
รูปที่ 35 Chromatogram ของ CDG 0.1 μ M (STD 2)	41
รูปที่ 36 Chromatogram ของ CDG 0.2 μ M (STD 3)	41
รูปที่ 37 Chromatogram ของ CDG 0.4 μ M (STD 4)	41
รูปที่ 38 Chromatogram ของ CDG 0.8 μ M (STD 5)	42
รูปที่ 39 Chromatogram ของ CDG 1.6 μ M (STD 6)	42
รูปที่ 40 Chromatogram ของ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ณ เวลาต่างๆ	42
รูปที่ 41 Chromatogram ของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ณ เวลาต่างๆ	43
รูปที่ 42 Chromatogram ของ CDG ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2 ณ เวลาต่างๆ .	43
รูปที่ 43 Chromatogram ของ CDG ในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 ณ เวลาต่างๆ	43
รูปที่ 44 Chromatogram ของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 ณ เวลาต่างๆ	44
รูปที่ 45 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability1) ในพลาสติกมามนุษย์	44
รูปที่ 46 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability2) ในพลาสติกมามนุษย์	44
รูปที่ 47 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability3) ในพลาสติกมามนุษย์	45
รูปที่ 48 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability4) ในพลาสติกมามนุษย์	45
รูปที่ 49 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (System suitability5) ในพลาสติกมามนุษย์	45
รูปที่ 50 Chromatogram ของ curcumin 0.05 μ M (STD 1) ในพลาสติกมามนุษย์	46
รูปที่ 51 Chromatogram ของ curcumin 0.1 μ M (STD 2) ในพลาสติกมามนุษย์	46
รูปที่ 52 Chromatogram ของ curcumin 0.5 μ M (STD 3) ในพลาสติกมามนุษย์	46

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 53 Chromatogram ของ curcumin 1 μ M (STD 4) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	47
รูปที่ 54 Chromatogram ของ curcumin 1.5 μ M (STD 5) ในพลาสติกสามมามุขย์	47
รูปที่ 55 Chromatogram ของ curcumin 2 μ M (STD 6) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	47
รูปที่ 56 Chromatogram ของ curcumin 2.5 μ M (STD 7) ในพลาสติกสามมามุขย์	48
รูปที่ 57 Chromatogram ของ curcumin 3.2 μ M (STD 8) ในพลาสติกสามมามุขย์	48
รูปที่ 58 Chromatogram ของ curcumin 4 μ M (STD 9) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	48
รูปที่ 59 Chromatogram ของ CDG 0.05 μ M (STD 1) ในพลาสติกสามมามุขย์	49
รูปที่ 60 Chromatogram ของ CDG 0.1 μ M (STD 2) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	49
รูปที่ 61 Chromatogram ของ CDG 0.5 μ M (STD 3) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	49
รูปที่ 62 Chromatogram ของ CDG 1 μ M (STD 4) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	50
รูปที่ 63 Chromatogram ของ CDG 1.5 μ M (STD 5) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	50
รูปที่ 64 Chromatogram ของ CDG 2 μ M (STD 6) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	50
รูปที่ 65 Chromatogram ของ CDG 2.5 μ M (STD 7) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	51
รูปที่ 66 Chromatogram ของ CDG 3.2 μ M (STD 8) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	51
รูปที่ 67 Chromatogram ของ CDG 4 μ M (STD 9) ในพลาสติกสามมามุขย์.....	51
รูปที่ 68 Chromatogram ของการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสติกสามมามุขย์.....	52

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Curcumin เป็นสาร polyphenol ที่พบในขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) สารชนิดนี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidative) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial) และฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งเซลล์ (antiproliferative)¹⁻⁴ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามีความปลอดภัยสูง⁶ ทำให้ได้รับความสนใจที่จะนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคและอาการผิดปกติต่างๆ ในมนุษย์

อย่างไรก็ตาม curcumin มีปัญหาเรื่องความไม่คงตัวทางเคมีเมื่อเข้าสู่ร่างกายและถูกทำลายได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจจะส่งผลให้มีค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์ (bioavailability) ต่ำเมื่อรับประทาน เนื่องจาก curcumin สลายตัวในสถานะที่เป็นต่างของลำไส้ สารส่วนใหญ่จึงถูกทำลายในทางเดินอาหาร curcumin ทำให้ curcumin ถูกดูดซึมนได้น้อยและถูกกำจัดออกจากร่างกายอย่างรวดเร็ว^{5,6} โดยคาดว่าสาเหตุของการสลายตัวของ curcumin มาจากการแตกตัวของหมู่ phenolic ภายในโครงสร้าง⁷ ดังนั้นการปรับปรุงโครงสร้างจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่จะช่วยพัฒนาสารดังกล่าวให้มีความคงตัวและสามารถออกฤทธิ์ในร่างกายได้นานมากขึ้น ที่ผ่านมามีงานวิจัยที่นำอนุพันธ์เอสเทอร์ของ succinic acid มาต่อกับโครงสร้างของ curcumin ได้เป็น curcumin diethyl disuccinate ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ curcumin ผลปรากฏว่า curcumin diethyl disuccinate ทนต่อการถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ดีกว่า curcumin⁸

งานวิจัยชิ้นนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อพัฒนา curcumin ให้มีความคงตัวมากขึ้น โดยใช้ Pabon method⁹ เริ่มต้นจากการสังเคราะห์ curcumin ผ่านปฏิกิริยา aldol condensation ของ 2, 4 pentanedione และ vanillin (3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde) ปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นในสารละลาย ethyl acetate ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับสารตั้งต้น และสารตัวกลาง อีกทั้งยังสามารถนำ curcumin ออกจากตัวทำละลายดังกล่าวได้ง่าย เกิดการปนเปื้อนของตัวทำละลายต่ำ ส่วนการสังเคราะห์ CDG เกิดผ่านปฏิกิริยา esterification ระหว่างหมู่ฟีนอลทั้งสองหมู่ของ curcumin กับ glutaric acid monoethyl ester chloride หลังจากสังเคราะห์สารทั้งสองแล้ว จึงนำมาฟิสิกส์เอกลักษณ์ โดยการใช้เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy, infrared spectroscopy, high resolution mass spectrometry และ melting point determination จากนั้นจึงนำ CDG มาศึกษาความคงตัวทางเคมีในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เทียบกับ curcumin และศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH อื่น ๆ ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2 อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 เพื่อจำลอง pH ของสารละลายให้เหมือนกับในระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal tract) นอกจากนี้ยังศึกษาความคงตัวและการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ด้วย เพื่อเปรียบเทียบความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 กับในพลาสมามนุษย์และวิเคราะห์ความเป็นไปได้ที่จะพัฒนา CDG ให้เป็น prodrug ที่สามารถแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไปในอนาคต

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

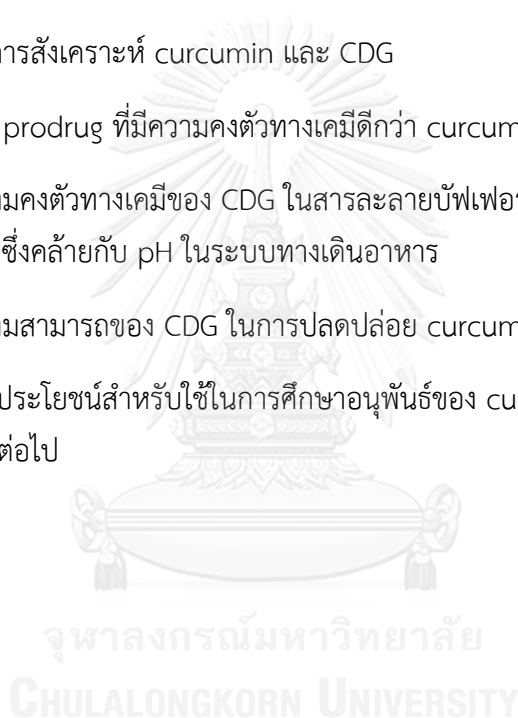
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของ CDG
- 2) เพื่อศึกษาความคงตัวของ CDG เปรียบเทียบกับ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4
- 3) เพื่อศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก บัฟเฟอร์ pH 1.2, อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8
- 4) เพื่อศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ได้ทราบถึงวิธีการสังเคราะห์ curcumin และ CDG
- 2) ได้ curcumin prodrug ที่มีความคงตัวทางเคมีดีกว่า curcumin
- 3) ได้ทราบถึงความคงตัวทางเคมีของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH อื่น ๆ ได้แก่ pH 1.2 pH 4.5 และ pH 6.8 ซึ่งคล้ายกับ pH ในระบบทางเดินอาหาร
- 4) ได้ทราบถึงความสามารถของ CDG ในการปลดปล่อย curcumin ในพลาสมามนุษย์
- 5) ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับใช้ในการศึกษาอนุพันธ์ของ curcumin เพื่อพัฒนาให้เป็นยาที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

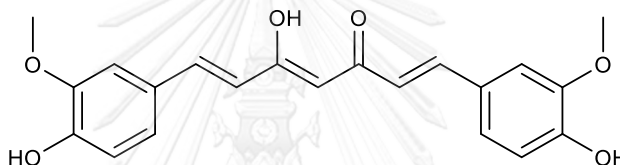
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. Curcumin

2.1.1 ความหมายและคุณสมบัติโดยทั่วไปของ curcumin

Curcumin เป็นสารในกลุ่ม curcuminoids ที่พบในขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) มีชื่อ IUPAC คือ (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione โดยมีโครงสร้างเป็น หมู่ methoxyphenyl 2 หมู่เชื่อมต่อกันด้วยสาย hydrocarbon ที่มีหมู่ ketone 2 หมู่ ดังแสดงในรูปที่ 1 curcumin มีค่า log P ประมาณ 3.0 ซึ่งบ่งบอกว่า เป็นสารที่ละลายในน้ำได้น้อย แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น DMSO, methanol, ethanol, acetonitrile, chloroform และ ethyl acetate เป็นต้น และละลายได้น้อยในตัวทำละลาย hydrocarbon เช่น cyclohexane และ hexane¹⁰



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ curcumin

ขมิ้นชันได้ถูกนำมาใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคมะเร็งเป็นระยะเวลานาน เนื่องจากสาร curcumin ที่พบในขมิ้นชันมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidative) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial) และฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งเซลล์ (antiproliferative) เป็นต้น⁸

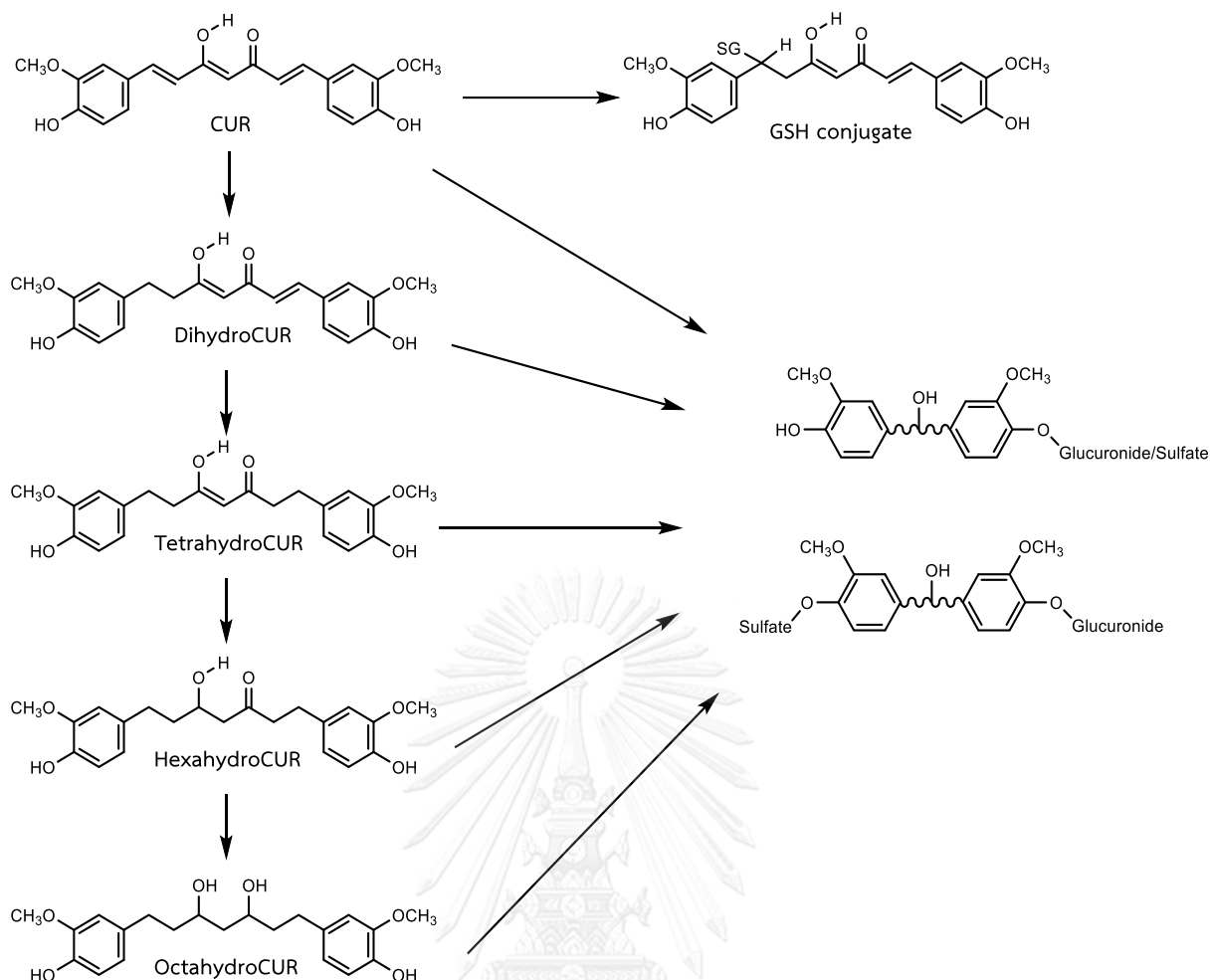
แม้ว่า curcumin จะมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่ดีหลายประการ แต่ก็ยังมีคุณสมบัติทางกายภาพ และคุณสมบัติทางเคมีที่ควรได้รับการปรับปรุงพัฒนาต่อไป ไม่ว่าจะเป็นค่าการละลายในน้ำต่ำ (0.00134 mg/ mL ที่ 25 °C) และไม่คงตัวใน pH ที่เป็นกลาง จนถึง pH ที่ค่อนข้างต่ำ นอกจากนั้น curcumin ยังเกิด metabolism สูงเมื่อให้เข้าสู่ร่างกาย โดย curcumin จะผ่านกระบวนการ metabolism หลัก 2 กระบวนการ ได้แก่ กระบวนการ O-conjugation ได้ผลิตภัณฑ์เป็น curcumin glucuronide และ curcumin sulfate และกระบวนการ reduction ได้ผลิตภัณฑ์เป็น tetrahydrocurcumin, hexahydrocurcumin และ octahydrocurcumin นอกจากนี้ยังพบผลิตภัณฑ์จากกระบวนการ metabolism อื่น ๆ เช่น dihydrocurcumin glucuronide, tetrahydrocurcumin glucuronide, ferulic acid และ dihydroferulic acid¹⁰ (รูปที่ 2) ส่งผลให้ curcumin มีค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์ต่ำ ด้วยเหตุนี้จึงมีการใช้เทคนิคต่าง ๆ เพื่อพัฒนาการนำส่ง curcumin เข้าสู่ร่างกายโดยวิธีการรับประทาน ไม่ว่าจะเป็นการพัฒนาออกมาในรูปแบบของ prodrug การให้ร่วมกับ metabolism inhibitor หรือการทำออกมาในรูปแบบของ nanoparticle เป็นต้น¹¹

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 2 Reductive and conjugative metabolism ของ curcumin (Modified from Metzler et al., 2013)

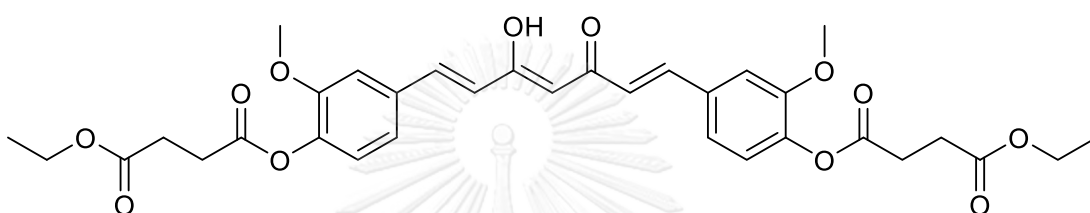
2.1.2 Curcumin Prodrugs

Prodrug คืออนุพันธ์ของสารซึ่งไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ต้องอาศัยกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือการใช้เอนไซม์ในการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปที่มีฤทธิ์ (active form) prodrug ที่ดีควรมีความคงตัวทางเคมี แต่ในขณะเดียวกันต้องสามารถที่จะปลดปล่อยให้โครงสร้างที่มีฤทธิ์ได้ภายใต้การทำงานของเอนไซม์ที่บริเวณเป้าหมายที่สารจะออกฤทธิ์¹³ สำหรับ curcumin การพัฒนาเป็น prodrug นิยมออกแบบผ่านการเติมหมู่แทนที่ต่อกับหมู่ฟีนอลของ curcumin ได้เป็น ester product¹¹

จากงานวิจัยที่ผ่านมา ได้มีการสังเคราะห์และศึกษาความคงตัวของ curcumin diethyl disuccinate (รูปที่ 3) ซึ่งเป็น succinate prodrug ของ curcuminoid พบว่าการทำเป็น ester prodrug ชนิดนี้สามารถเพิ่มความคงตัวทางเคมีของ curcumin ได้ โดยทำการศึกษาการสลายตัวผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเปรียบเทียบกับ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.4 ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ผลปรากฏว่าทั้ง curcumin และ curcumin diethyl disuccinate มีอัตราการสลายตัวเป็นไปตาม pseudo first-order kinetics แต่ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวโดยรวม (overall degradation rate constant : k_{obs}) และค่าครึ่งชีวิต (half-life: $t_{1/2}$) ของ curcumin มีค่า

เป็นเพิ่มข้อมูลของนิตินิตเจ้าของโครงการงานปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

เท่ากับ 1.239 h^{-1} และ 0.56 h ตามลำดับ ในขณะที่ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตของ curcumin diethyl disuccinate มีค่าเท่ากับ 0.0795 h^{-1} และ 7.66 h ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า curcumin diethyl disuccinate มีค่าครึ่งชีวิตมากกว่า curcumin ดังนั้นการทำให้ curcumin อยู่ในรูปของ succinate product จึงช่วยเพิ่มความคงตัวทางเคมีต่อการสลายตัวผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ pH 7.4 ได้⁸ นอกจากนี้ยังมีการทดสอบความสามารถในการปลดปล่อย curcumin ของ curcumin diethyl disuccinate ในพลาสมามนุษย์พบว่า curcumin ทั้งหมดถูกปลดปล่อยออกมาได้ภายใน 2 ชั่วโมง ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากการเกิด ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) ในพลาสมามนุษย์ ดังนั้นการทำให้ curcumin อยู่ในรูปของ prodrug จะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติบางประการของ curcumin ให้ดีขึ้นได้



รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ curcumin diethyl disuccinate

2.2. การทดสอบความคงตัวในการพัฒนายาใหม่

2.2.1 การทดสอบความคงตัวทางเคมีของยา

ความคงตัวเป็นหนึ่งในคุณสมบัติที่สำคัญของการเลือกสารมาทำเป็นยา สารที่ไม่คงตัวอาจส่งผลให้ค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์ต่ำ ทำให้ปริมาณยาที่ผู้ป่วยได้รับลดลงและอาจได้รับยาไม่เพียงพอต่อการรักษาได้ หรืออาจส่งผลให้เกิดความเป็นพิษจากสารเสื่อมสลาย (degradation products) หรือยากต่อการนำไปพัฒนาเป็นสูตรตำรับ การศึกษาความคงตัวจึงเป็นการทดสอบแรก ๆ ในกระบวนการค้นหายาใหม่ เนื่องจากหากพบว่าสารที่ทดสอบมีความคงตัวไม่ดีตั้งแต่ต้น จะได้ดัดแปลงโครงสร้างบางส่วนเพื่อเพิ่มความคงตัวดีขึ้นก่อนนำไปพัฒนาในขั้นต่อไป โดยทั่วไปแล้ว การศึกษาความคงตัวในการค้นหายาใหม่จะเป็นการศึกษา stability-pH profile ความคงตัวในทางเดินอาหาร การศึกษาความเข้ากันได้กับ excipients และการค้นหา prodrugs ซึ่งการศึกษาต่าง ๆ เหล่านี้จะช่วยเพิ่มคุณภาพในกระบวนการพัฒนายาใหม่ อีกทั้งยังช่วยลดความเสี่ยงต่าง ๆ เช่น ความเสี่ยงที่จะสูญเสียเวลาหรือเงินลงทุนอย่างไม่คุ้มค่า รวมไปถึงความเสี่ยงที่อาจจะเกิดการเสื่อมสลายทางเคมีทำให้ปริมาณยาที่ผู้ป่วยได้รับลดลง และอาจจะส่งผลให้ได้รับปริมาณยาไม่เพียงพอต่อการรักษาได้

เมื่อพิจารณาโครงสร้างทางเคมี พบว่ายาหรือสารที่ประกอบด้วย reactive functional groups จะมีโอกาสเกิดการเสื่อมสลายมากกว่ายาหรือสารชนิดอื่น ๆ โดยกลไกการสลายตัวของสารที่พบโดยทั่วไป อาทิ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ปฏิกิริยาโฟโตไลซิส เป็นต้น หมู่คาร์บอนิล เช่น เอสเทอร์ แลคโตน เอไมด์ และแลคแทม มักไวต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ซึ่งอัตราการเสื่อมสลายจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างสารและหมู่แทนที่ต่าง ๆ ที่อยู่ใกล้หมู่คาร์บอนิล

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

การศึกษาความคงตัวในบัฟเฟอร์ที่ pH ต่าง ๆ ถือว่าเป็นสิ่งสำคัญในการเลือกสารมาทำเป็นยา เนื่องจากในทางเดินอาหารของร่างกายมนุษย์แต่ละบริเวณมี pH ที่แตกต่างกันออกไป โดยที่กระเพาะอาหารจะมีความเป็นกรดสูง (pH 1.2) ในขณะที่บริเวณลำไส้จะมีค่า pH แต่ละช่วงแตกต่างกันไปตั้งแต่ pH 6 ถึง pH 8 ดังนั้นความคงตัวในช่วง pH ตลอดทางเดินอาหารจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อชีวปริมาณออกฤทธิ์ของยาชนิดนั้น ๆ¹³

2.2.2 การทดสอบความคงตัวในพลาสมามนุษย์

การที่ยาจะมีประสิทธิภาพหรือสามารถออกฤทธิ์ได้นั้น จำเป็นต้องมียาในรูปแบบที่สามารถแสดงฤทธิ์ (active form) ไปถึงบริเวณเป้าหมายในปริมาณที่เพียงพอ ดังนั้นการศึกษาระบวนการเปลี่ยนแปลงยา (metabolism) ในพลาสมาโดยเฉพาะสารที่มีหมู่เอสเทอร์ในโครงสร้างจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ควรพิจารณาในระหว่างขั้นตอนของการคิดค้นและพัฒนาาใหม่ ยกตัวอย่างเช่น การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์ในพลาสมาสามารถเปลี่ยนแปลงค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์ (bioavailability) ของสารได้อย่างมีนัยยะสำคัญ ความคงตัวของยาหรือสารในพลาสมาถือเป็นสิ่งสำคัญที่ช่วยรักษาความเข้มข้นของสารหรือยาในเลือดเอาไว้ ส่งผลให้ยาสามารถออกฤทธิ์ในร่างกายได้นานขึ้น¹⁴ ถ้าหากไม่มีการศึกษาความคงตัวของสารในพลาสมา อาจทำให้ปริมาณยาที่เหลืออยู่ในกระแสเลือดไม่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์ และการรักษาอาจจะไม่ได้ผลตามต้องการ

ยาที่ให้เข้าไปในร่างกายไม่จำเป็นจะต้องอยู่ในรูปที่สามารถแสดงฤทธิ์ได้เสมอไป หรือเรียกว่าอยู่ในรูปของ prodrug ดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้น โดยทั่วไปกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาเมื่ออยู่ในพลาสมาของสิ่งมีชีวิต จะเป็นการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) ซึ่งเอนไซม์หลักที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสนี้ คือเอนไซม์ในกลุ่ม esterases อย่างไรก็ตามยาแต่ละตัวอาจจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ได้หลายชนิด ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ esterases แต่ละชนิดในพลาสมา จะช่วยบอกได้ว่าเอนไซม์ใดที่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยาที่นำไปทดสอบความคงตัวในพลาสมา¹⁵ ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่สำคัญในการศึกษาในสัตว์ทดลอง (pre-clinical) และการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ในมนุษย์ (clinical pharmacokinetics)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 3

วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- 1) Curcumin
- 2) Curcumin diethyl diglutarate (CDG)
- 3) Vanillin ReagentPlus[®] SIGMA - ALDRICH 99% Lot No. STBD7901V
- 4) Boric anhydride SIGMA - ALDRICH[®] ≥ 98% Lot No. BCBS5388V
- 5) Acetylacetone ReagentPlus[®] SIGMA - ALDRICH ≥ 99% Batch No.16801BJ
- 6) N-butylamine ACROS[®] 99.5% Lot. A019442801
- 7) Tributyl borate SIGMA - ALDRICH[®] ≥ 99.0% Lot No. BCBL8949V
- 8) Ethyl acetate RCI Labscan[®] Batch No. 17 08 0424
- 9) Methanol RCI Labscan[®] Batch No. 17 07 0224
- 10) Ethanol RCI Labscan[®] Batch No. 17 06 0375
- 11) Hydrochloric acid (HCl) AR[®] 36.5 - 38.0% Lot. E41W60
- 12) Deionized Water
- 13) Ultra-Purified Water
- 14) Sodium Chloride AnalaR[®] 99.9% Lot. K91113833
- 15) Dichloromethane RCI Labscan[®] Batch No. 16 05 0032
- 16) 4-Dimethylaminopyridine (DMAP) ReagentPlus[®] ALDRICH ≥ 99% Lot No. MKBT6293V
- 17) Glutaric acid monoethyl ester chloride ALDRICH[®] ≥ 97.0% Lot No. 1436420V
- 18) Potassium chloride SIGMA[®] - ALDRICH
- 19) Sodium bicarbonate SIGMA[®] Lot No. SLBJ8214V
- 20) Sodium sulfate anhydrous MSURE[®] ≥ 99.0% Batch No. AM1023549

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

- 21) Monobasic potassium phosphate MERCK® Lot. A476973
- 22) Sodium hydroxide pellets MERCK®
- 23) Sodium acetate trihydrate MERCK® Lot. TA404965
- 24) Acetonitrile HPLC grade Burdick & Jackson® Matl No. 100197 Lot No. PAPA1H
- 25) Formic acid EMSURE® 98 - 100% Index number : 607-001-00-0
- 26) Acetic acid glacial RCI Labscan® Batch No. 15 06 0442
- 27) Acetone CHEMEX® Batch No. OC803100
- 28) Dimethylcurcumin
- 29) Human plasma Na Heparin IPLA-NaHeparin-17793 Innovative Research, Inc.

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- 1) เครื่องชั่ง Sartorius® model : Re210P serial number : 21002529
- 2) แท่งแก้วสำหรับคนสาร
- 3) ขวดแก้วสีชา (vial) CNW® ขนาด 32 x 11.6 mm
- 4) Costar® Microcentrifuge tube Cat.No.3621 ขนาด 1.7 mL
- 5) Corning® CentriStar™ Centrifuge tube Medical grade ขนาด 15 mL และ 50 mL
- 6) Paraffin film Parafilm® 4 In. x 125 Ft.roll
- 7) ปีกเกอร์ Pyrex® ขนาด 10 mL, 50 mL, 100, 250 mL และ 500 mL
- 8) หลอดหยด (dropper) และจุกยาง
- 9) Buchi® Evaporator Rotavapor R-200 type B 465 No. 888071
- 10) Ultra high performance liquid chromatography (UHPLC) Agilent® Model : G7104A Serial number : DEBAX00915
- 11) Analytical column Halo® C18 ขนาด 4.6x50 mm, 2.7 µm Lot No. AH132207 Serial No. USMJ002802
- 12) แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar) ขนาด 20x7 mm
- 13) Labnet® Incubator model : D1200 serial number : S62403062
- 14) Bandelin sonorex® Sonicator model : RR105H serial number : 32600017588003

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

- 15) Micropipette RAININ[®] Pipet-Lite XLS ขนาด 2-20 μ L, 20-200 μ L และ 100-1000 μ L
- 16) Micropipette tips Mettler toledo[®] ขนาด 20 μ L, 200 μ L และ 1000 μ L
- 17) กระจกบอทวง Witeg[®] ขนาด 10, 25, 100 และ 1000 mL
- 18) กระดาษกรอง Whatman[®] ขนาด 110mm Cat No : 1001 110
- 19) กรวยแก้วกรองสารขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 mm
- 20) Volumetric flask Witeg[®] ขนาด 10.000 mL, 100.00 mL 200.00 mL
- 21) ขวดก้นกลม (Round bottom flasks) Schott Duran[®] ขนาด 250 mL
- 22) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) Schott Duran[®] ขนาด 250 mL
- 23) Separating funnel JSGW[®] Borosilicate glass ขนาด 250 mL
- 24) Vortex Mixer VORTEX GENIE 2[®] Model : G-560E Serial number : 2-99947
- 25) เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (Centrifuge) Hettich[®] zentrifugen D-78532 Serial number : 0008629
- 26) pH meter Mettler Toledo[®] SevenCompact[™] pH/Ion S220 Serial number : B252665426
- 27) Bruker[®] 300 MHz NMR Spectrometer
- 28) Bruker[®] IR Spectrometer
- 29) High Resolution Mass Spectrometer micrOTOF-QII Serial number: 10146
- 30) Buchi[®] Melting point Model : B-545 Serial number : 04000018

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

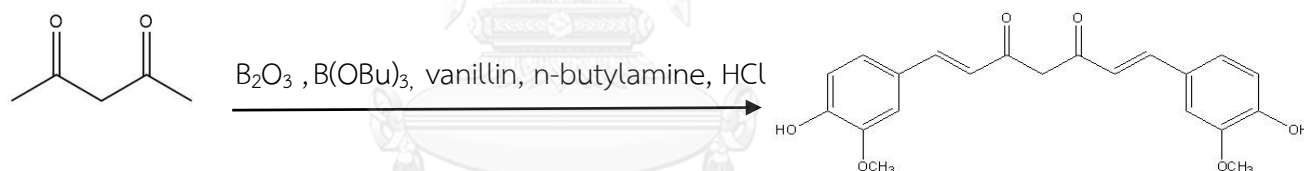
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การสังเคราะห์ curcumin และ CDG

3.2.1.1 การสังเคราะห์ curcumin

การสังเคราะห์ curcumin ทำได้โดย ละลาย boric anhydride 0.348 g ใน acetylacetone 1.03 mL และ ethyl acetate 15.0 mL ปั่นผสมที่อุณหภูมิ 50 °C จนกระทั่งสังเกตเห็นสารเปลี่ยนเป็นของเหลวสีขาว จากนั้นผสม vanillin 4.560 g และ tributyl borate 10.8 mL ใน ethyl acetate 20.0 mL แล้วเทสารที่ได้ดังกล่าว ลงไปในของผสมระหว่าง boric anhydride และ acetylacetone ปั่นผสมต่อไปที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งได้สารละลายใส ค่อยๆ หยด n-butylamine 0.2 mL ในขณะที่กำลังปั่นผสม และปั่นผสมต่อทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้นเติม 0.1 M hydrochloric acid ประมาณ 100.0 mL ลงไป และปั่นผสมต่ออีก 30 นาที ต่อมาแยกชั้นน้ำกับชั้น ethyl acetate ออกจากกันโดยใช้ separating funnel จากนั้นสกัดชั้นน้ำด้วย ethyl acetate อีก 2-3 ครั้ง ส่วนชั้น ethyl acetate เติม 0.5 M hydrochloric acid และปั่นผสมต่ออีก 30 นาที หลังจากนั้นนำของเหลวทั้งสองส่วนมารวมกันและเติม deionized water 2-3 ครั้งเพื่อล้างเอาสารที่อยู่ในชั้นน้ำออกไป จากนั้นเติม saturated sodium chloride ประมาณ 50.0 mL เพื่อล้างชั้น ethyl acetate อีก 1-2 ครั้ง นำชั้น ethyl acetate ไประเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออก หลังจากนั้นเติม methanol และ ethanol ลงไปให้ความร้อนและปั่นผสมจนได้สารละลายใสแล้วตั้งทิ้งไว้



รูปที่ 4 กระบวนการสังเคราะห์ curcumin

3.2.1.2 การสังเคราะห์ CDG

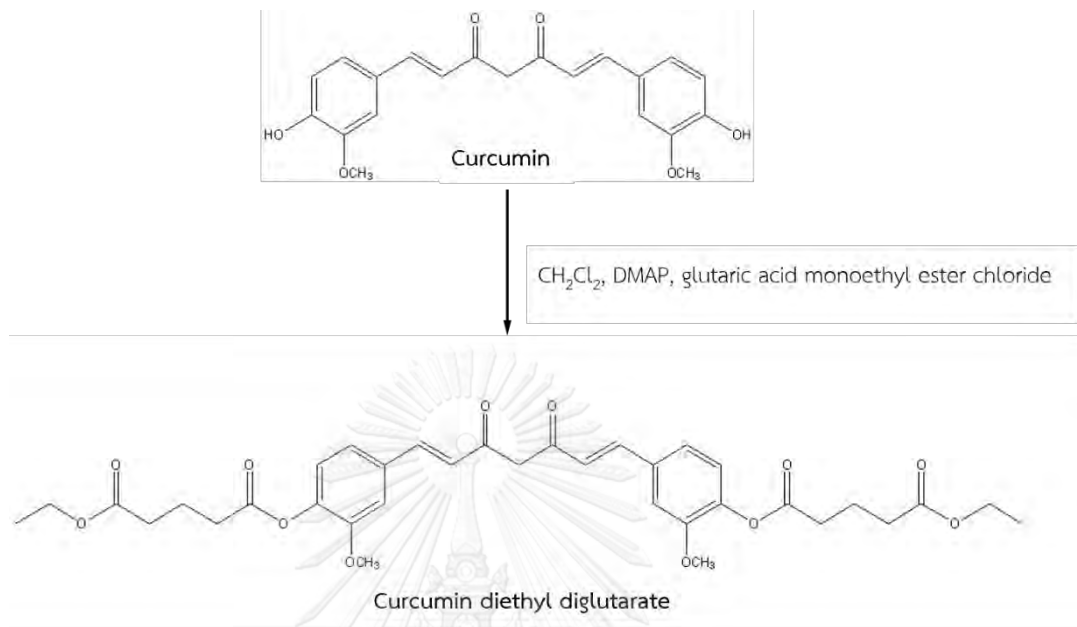
การสังเคราะห์ CDG ทำได้โดย ละลาย curcumin 0.369 g ใน dichloromethane ประมาณ 30.0 mL นำไปปั่นผสมจนเข้ากัน แล้วเติม 4-dimethylaminopyridine 0.311 g ลงไปปั่นผสมจนของผสมมีสีส้มแดงค่อนข้างเข้ม จากนั้นเติม glutaric acid monoethyl ester chloride ปริมาตร 0.404 mL ลงไปปั่นผสมประมาณ 2 ชั่วโมง ตรวจสอบความสมบูรณ์ของการทำปฏิกิริยาจากการ spot TLC โดยใช้ อัตราส่วนของ hexane และ ethyl acetate เท่ากับ 1:1 หลังจากนั้นเติม 0.1 M hydrochloric acid ประมาณ 15.0 mL และ ethyl acetate จนตะกอนละลายหมด แยกชั้นน้ำออกจากชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และเติม 0.5% sodium bicarbonate 15.0 mL เพื่อสะเทิน hydrochloric acid ที่ยังหลงเหลืออยู่ในชั้นสารละลายอินทรีย์ แยกชั้นน้ำออกอีกครั้งและล้างชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ด้วย deionized water ประมาณ 15.0 mL จำนวน 2 ครั้ง และเติม saturated sodium chloride ประมาณ 15.0 mL จากนั้นแยกชั้นน้ำออกและเติม sodium sulfate ลงไปในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ จะได้สารละลายที่มีลักษณะใสขึ้น กรองเอา sodium sulfate ออก แล้วจึงนำสารละลายไประเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออก เติม **บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)**

เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

methanol และ ethanol ลงไป แล้วปิด flask ด้วย paraffin film จากนั้นนำไปแช่ในตู้เย็น ประมาณ 2 วัน หลังจากนั้นนำ CDG มากรองผลึกผ่านกระดาษกรอง



รูปที่ 5 กระบวนการสังเคราะห์ CDG

3.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ curcumin และ CDG

Curcumin และ CDG ได้รับการพิสูจน์เอกลักษณ์ผ่านการทำ ¹H และ ¹³C-NMR spectroscopy IR spectroscopy High-resolution mass spectrometry และ Melting point determination โดย ¹H และ ¹³C-NMR spectra ได้จากการใช้เทคนิค FT-NMR Spectrometer 300 MHz และ 75 MHz ใน CDCl₃ ตามลำดับ ส่วน IR spectra ได้จากการใช้เทคนิค FTIR-ATR spectroscopy ส่วน High-resolution mass spectrometry ได้จากการวัดด้วย Electrospray ionization (ESI) ของ micrOTOF-QII 10146 instrument ใน positive mode Melting point ได้จากการวัดด้วย Buchi® Automatic melting point apparatus และ Chromatogram ได้จากการวัดด้วย Agilent® UHPLC Technologies 1920 Infinity II

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.2.3 การศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์

3.2.3.1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.2, 4.5, 6.8 และ 7.4 ตาม USP40¹⁶

3.2.3.1.1 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2 (USP40)

เตรียม 0.2 M hydrochloric acid ใน volumetric flask และเตรียม potassium chloride 0.2 M (14.91 g/L) ในน้ำ จากนั้นเทสารละลาย 0.2 M potassium chloride 50 mL และสารละลาย 0.2 M hydrochloric acid 85 mL ลงใน 200-mL volumetric flask และปรับปริมาตรด้วยน้ำ

3.2.3.1.2 การเตรียมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 (USP40)

ละลาย sodium acetate 0.599 g ใส่ลงใน 200-mL volumetric flask จากนั้นเตรียม 2 M acetic acid ใน volumetric flask ไปเปิดสารละลาย 2 M acetic acid 2.8 mL ใส่ลงใน 200-mL volumetric flask ที่มี sodium acetate อยู่ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำ

3.2.3.1.3 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 (USP40)

เตรียม 0.2 M sodium hydroxide ใน volumetric flask และเตรียม monobasic potassium phosphate 0.2 M (27.22 g/L) ในน้ำ จากนั้นเทสารละลาย monobasic potassium phosphate 50 mL และไปเปิดสารละลาย 0.2 M sodium hydroxide 22.4 mL ลงใน 200-mL volumetric flask และปรับปริมาตรด้วยน้ำ

3.2.3.1.4 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 (USP40)

เตรียม 0.2 M sodium hydroxide ใน volumetric flask และเตรียม monobasic potassium phosphate 0.2 M (27.22 g/L) ในน้ำ จากนั้นเทสารละลาย monobasic potassium phosphate 50 mL และไปเปิดสารละลาย 0.2 M sodium hydroxide 39.1 mL ลงใน 200-mL volumetric flask และปรับปริมาตรด้วยน้ำ

3.2.3.2 การเตรียม standard stock solution ของ curcumin

ชั่ง curcumin 11.79 mg ละลายใน acetonitrile ให้ได้ปริมาตร 10.00 mL ใน volumetric flask จะได้ primary standard stock solution ความเข้มข้น 3200 μ M จากนั้นนำไปเจือจางด้วย acetonitrile ให้ได้ secondary standard stock solution ความเข้มข้น 400.0 μ M และเจือจางต่อได้เป็น tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100.0 μ M

3.2.3.3 การเตรียม standard stock solution ของ CDG

ชั่ง CDG 13.05 mg ละลายใน acetonitrile ให้ได้ปริมาตร 10.00 mL ใน volumetric flask จะได้ primary standard stock solution ความเข้มข้น 2000 μ M จากนั้นนำไปเจือจางด้วย acetonitrile ให้ได้ secondary standard stock solution ความเข้มข้น 200.0 μ M และเจือจางต่อได้เป็น tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100.0 μ M

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.2.3.4 การเตรียม standard solution เพื่อทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test)

นำ curcumin tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100.0 μM และ CDG tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100.0 μM มาเจือจางด้วย acetonitrile ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ curcumin และ CDG เป็น 1.500 μM ใน vial เดียวกัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC โดยฉีดซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง แล้วนำค่า peak area ที่ได้ทั้ง 5 ครั้ง มาคำนวณหา % RSD

3.2.3.5 การเตรียม Calibration curve ของ curcumin

นำ curcumin tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100.0 μM มาเตรียม working solutions 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.500 μM , 1.000 μM , 2.000 μM , 4.000 μM , 8.000 μM และ 16.000 μM และนำ working solutions ทั้งหมดมาเจือจางลง 10 เท่าด้วย acetonitrile เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.050 μM , 0.100 μM , 0.200 μM , 0.400 μM , 0.800 μM และ 1.600 μM นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC และนำค่า peak area ที่ได้มาสร้างเป็น calibration curve ของ curcumin

3.2.3.6 การเตรียม Calibration curve ของ CDG

นำ CDG tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100.0 μM มาเตรียม working solutions 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.500 μM , 1.000 μM , 2.000 μM , 4.000 μM , 8.000 μM และ 16.000 μM และนำ working solutions ทั้งหมดมาเจือจางลง 10 เท่าด้วย acetonitrile เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.050 μM , 0.100 μM , 0.200 μM , 0.400 μM , 0.800 μM และ 1.600 μM นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC และนำค่า peak area ที่ได้มาสร้างเป็น calibration curve ของ CDG

3.2.3.7 การศึกษาความคงตัวของ CDG เปรียบเทียบกับ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

การศึกษาความคงตัวของ CDG เปรียบเทียบกับ curcumin สามารถทำได้โดยการเจือจาง tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100 μM ของทั้ง curcumin และ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในสารละลายบัฟเฟอร์เป็น 1.5 μM

ทำการศึกษาความคงตัวของอุณหภูมิ 37 $^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 360 นาที โดยการวัดปริมาณของ curcumin และ CDG ที่เวลา 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240 และ 360 นาที ด้วยเครื่อง UHPLC โดย chromatographic system ที่เลือกใช้เป็นแบบ gradient system อุณหภูมิของ autosampler คือ 27 $^{\circ}\text{C}$ ส่วนอุณหภูมิของ column ที่ใช้คือ 35 $^{\circ}\text{C}$ flow rate ที่ใช้เท่ากับ 0.5 mL/min และใช้ detector ความยาวคลื่น 400 nm gradient elution ที่ใช้ประกอบด้วย eluent A (acetonitrile) และ eluent B (0.2 % formic acid) โดยมี elution program ที่เวลาต่างๆ ดังนี้ initial 0-2.7 นาที, linear gradient to A-B (75:25, v/v); 2.7- 5.5 นาที, isocratic elution A-B (75:25, v/v); 5.5-6.5 นาที, linear gradient to A-B (45:55, v/v); 6.5-7.5 นาที, isocratic elution A-B (45:55, v/v) ปริมาตรที่ใช้ในการฉีดแต่ละครั้งเท่ากับ 10 μL โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) และวัดค่าพารามิเตอร์ทางจลศาสตร์จากการสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง natural log ของความเข้มข้นกับเวลา (นาที)

**บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.2.3.8 การศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.2, 4.5 และ 6.8

การศึกษาความคงตัวของ CDG ในแต่ละ pH สามารถทำได้โดยการเจือจาง tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100 μM ของ CDG ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2 สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในสารละลายบัฟเฟอร์เป็น 1.5 μM

ทำการศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 120 นาที โดยการวัดปริมาณของ CDG ที่เวลา 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 90 และ 120 นาที ด้วยเครื่อง UHPLC โดย chromatographic system ที่เลือกใช้เป็นแบบ gradient system อุณหภูมิของ autosampler คือ 27 °C ส่วนอุณหภูมิของ column ที่ใช้คือ 35 °C flow rate ที่ใช้เท่ากับ 0.5 mL/min และใช้ detector ความยาวคลื่น 400 nm gradient elution ที่ใช้ประกอบด้วย eluent A (acetonitrile) และ eluent B (0.2 % formic acid) โดยมี elution program ที่เวลาต่างๆ ดังนี้ initial 0-2.7 นาที, linear gradient A-B (75:25, v/v); 2.7- 5.5 นาที, isocratic elution A-B (75:25, v/v); 5.5-6.5 นาที, linear gradient A-B (45:55, v/v); 6.5-7.5 นาที, isocratic elution A-B (45:55, v/v) ปริมาตรที่ใช้ในการฉีดแต่ละครั้งเท่ากับ 10 μL โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) และวัดค่าพารามิเตอร์ทางจลศาสตร์จากการสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง natural log ของความเข้มข้นกับเวลา (นาที)

3.2.4 การศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์

3.2.4.1 การเตรียมสารละลาย dimethylcurcumin เพื่อใช้เป็น internal standard

ชั่ง dimethylcurcumin 1.02 mg ละลายใน acetonitrile ปริมาตร 1.000 mL ใน microcentrifuge tube จะได้ความเข้มข้น 2573 μM จากนั้นนำไปเจือจางลง 10 เท่า ด้วย acetonitrile จะได้ความเข้มข้นเป็น 257.3 μM และเจือจางต่อให้ได้เป็นสารละลาย dimethylcurcumin ความเข้มข้น 0.438 μM สำหรับใช้เป็น internal standard ในการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์

3.2.4.2 การเตรียม standard solution เพื่อทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test) ในพลาสมามนุษย์

นำ curcumin secondary standard stock solution ความเข้มข้น 400.0 μM และ CDG secondary standard stock solution ความเข้มข้น 200.0 μM มาแยกเจือจางด้วย acetonitrile ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 120.0 μM ทั้ง curcumin และ CDG จากนั้นไปเปิดสารมาอย่างละ 5 μL ใส่ลงไปในสารละลาย dimethylcurcumin ความเข้มข้น 0.438 μM ปริมาตร 600 μL แล้วเติม พลาสมามนุษย์ลงไป 190 μL นำไปผสมด้วยเครื่อง vortex mixer และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge เพื่อให้โปรตีนตกตะกอน แล้วไปเปิดเอาส่วนสารละลายใสด้านบนใส่ลงใน vial เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC โดยทำการฉีดซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง และนำค่า peak area ที่ได้ทั้ง 5 ครั้ง มาคำนวณหา % RSD

**บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.2.4.3 การเตรียม Calibration curve ของ curcumin ในพลาสมามนุษย์

นำ curcumin secondary standard stock solution ความเข้มข้น 400.0 μM มาเจือจางด้วย acetonitrile ให้ได้ความเข้มข้นเป็น 200.0 μM จากนั้นนำมาเตรียม working solutions 9 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.00 μM , 2.00 μM , 10.00 μM , 20.00 μM , 30.00 μM , 40.00 μM , 50.00 μM , 64.00 μM และ 80.00 μM ต่อมาแยกไปเปิด 10.00 μL ของ working solutions แต่ละความเข้มข้น ใส่ลงไปในสารละลายของ dimethylcurcumin ความเข้มข้น 0.438 μM ปริมาตร 600 μL แล้วตามด้วย พลาสมามนุษย์ปริมาตร 190.0 μL จากนั้นนำไปผสมด้วยเครื่อง vortex mixer และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge เพื่อให้โปรตีนตกตะกอน แล้วไปเปิดเอาส่วนสารละลายใสด้านบนใส่ลงใน vial เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC และนำค่า peak area ratio ที่ได้ในแต่ละความเข้มข้น (0.050 μM , 0.100 μM , 0.500 μM , 1.000 μM , 1.500 μM , 2.000 μM , 2.500 μM , 3.200 μM และ 1.600 μM) มาสร้างเป็น calibration curve

3.2.4.4 การเตรียม Calibration curve ของ CDG ในพลาสมามนุษย์

นำ CDG secondary standard stock solution ความเข้มข้น 200.0 μM มาเตรียม working solutions 9 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.00 μM , 2.00 μM , 10.00 μM , 20.00 μM , 30.00 μM , 40.00 μM , 50.00 μM , 64.00 μM และ 80.00 μM ต่อมาแยกไปเปิด 10.00 μL ของ working solutions แต่ละความเข้มข้น ใส่ลงไปในสารละลายของ dimethylcurcumin ความเข้มข้น 0.438 μM ปริมาตร 600 μL แล้วตามด้วย พลาสมามนุษย์ปริมาตร 190.0 μL จากนั้นนำไปผสมด้วยเครื่อง vortex mixer และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge เพื่อให้โปรตีนตกตะกอน แล้วไปเปิดเอาส่วนสารละลายใสด้านบนใส่ลงใน vial เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC และนำค่า peak area ratio ที่ได้ในแต่ละความเข้มข้น (0.050 μM , 0.100 μM , 0.500 μM , 1.000 μM , 1.500 μM , 2.000 μM , 2.500 μM , 3.200 μM และ 1.600 μM) มาสร้างเป็น calibration curve

3.2.4.5 การศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์

การศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์สามารถทำได้โดยการอุ่นพลาสมามนุษย์ใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเจือจาง CDG tertiary standard stock solution ความเข้มข้น 100 μM ด้วย acetonitrile ให้มีความเข้มข้นเป็น 60 μM แล้วไปเปิดลงไปในพลาสมามนุษย์ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในพลาสมามนุษย์เป็น 3.0 μM โดยปริมาตรของสารละลาย CDG ความเข้มข้น 60 μM ที่ไปเปิดลงไป คิดเป็น 5% ของปริมาตรทั้งหมด หลังจากนั้นนำไปอุ่นใน incubator เพื่อทำการศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 180 นาที โดยจะทำการสกัด CDG ที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, 90, 120 และ 180 นาที ด้วย acetonitrile ปริมาณ 3 เท่า แล้วนำไปหาปริมาณของ CDG โดยใช้เครื่อง UHPLC ซึ่งมี chromatographic system เป็นแบบ gradient system อุณหภูมิของ autosampler คือ 4 °C ส่วนอุณหภูมิของ column ที่ใช้คือ 35 °C flow rate ที่ใช้เท่ากับ 0.5 mL/min และใช้ detector ความยาวคลื่น 400 nm gradient elution ที่ใช้ประกอบด้วย eluent A (Acetonitrile) และ eluent B (0.2 % formic acid) โดยมี elution program ที่เวลาต่างๆ ดังนี้ initial 0-2.7 นาที, linear gradient to A-B (65:35, v/v); 2.7- 5.5 นาที, isocratic elution A-B (65:35, v/v); 5.5-6 นาที, linear gradient to A-B (80:20, v/v); 6-8.5 นาที, isocratic

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

elution A-B (80:20, v/v); 8.5-9 นาที, linear gradient to A-B (45:55, v/v); 9-11 นาที, isocratic elution A-B (45:55, v/v) ปริมาตรที่ใช้ในการฉีดแต่ละครั้งเท่ากับ 10 μ L ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) แล้วนำ % remaining ของ CDG และ % formation ของ curcumin มาสร้างเป็นกราฟที่เวลาต่าง ๆ เพื่อดูการปลดปล่อย curcumin ของ CDG จากนั้นวัดค่าพารามิเตอร์ทางจลศาสตร์เพื่อหาความคงตัวของ CDG ในพลาสมามนุษย์โดยการสร้างกราฟระหว่าง natural log ของความเข้มข้นกับเวลา (นาที)



บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 ผลการสังเคราะห์ curcumin และ CDG

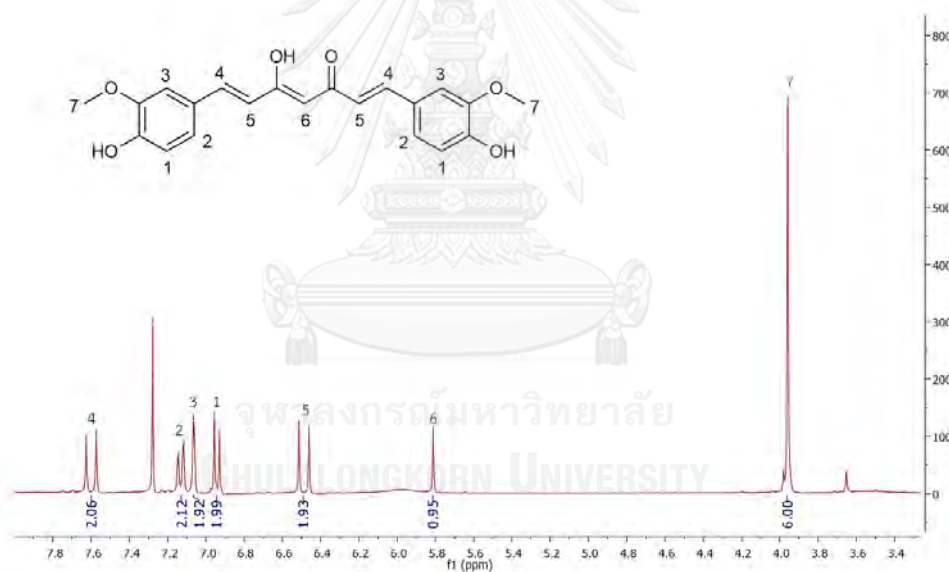
จากการสังเคราะห์ curcumin ได้ปริมาณ curcumin 0.49366 g คิดเป็น %yield เท่ากับ 13.4%

จากการสังเคราะห์ CDG ได้ปริมาณ CDG 0.32979 g คิดเป็น %yield เท่ากับ 50.5%

4.2 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ curcumin และ CDG

4.2.1 ^1H และ ^{13}C -NMR spectroscopy

เมื่อนำ curcumin ไปวิเคราะห์ ^1H NMR (CDCl_3) ได้ NMR spectrum ดังนี้



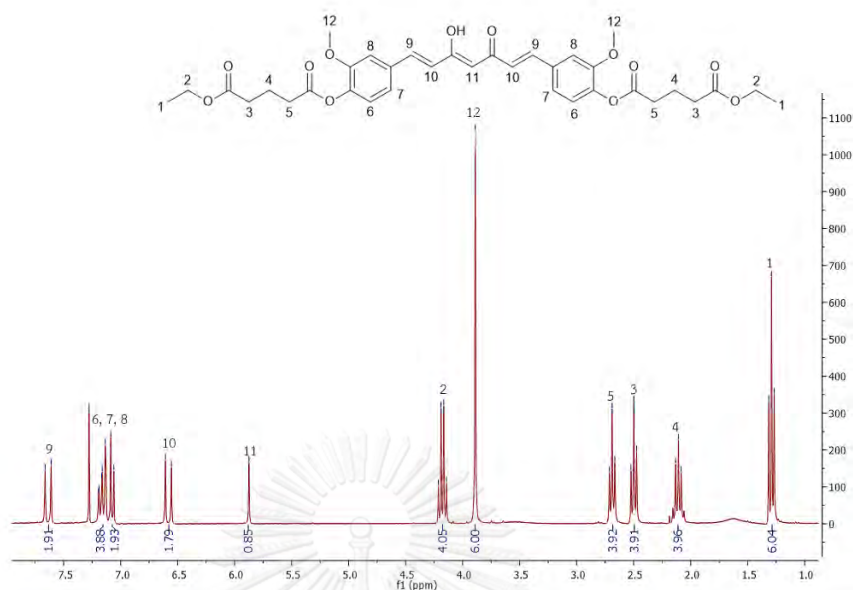
รูปที่ 6 ^1H NMR spectrum ของ curcumin

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.60 (d, J = 15.8 Hz, 2H), 7.13 (dd, J = 8.3, 1.6 Hz, 2H), 7.06 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 6.49 (d, J = 15.8 Hz, 2H), 5.81 (s, 1H), 3.96 (s, 6H).

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

เมื่อนำ CDG ไปวิเคราะห์ ^1H NMR (CDCl_3) ได้ NMR spectrum ดังนี้



รูปที่ 7 ^1H NMR spectrum ของ CDG

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.64 (d, $J = 15.8$ Hz, 2H), 7.20 – 7.11 (m, 4H), 7.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J = 15.8$ Hz, 2H), 5.87 (s, 1H), 4.18 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 3.89 (s, 6H), 2.69 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H), 2.50 (t, $J = 7.4$ Hz, 4H), 2.11 (m, $J = 7.3$ Hz, 4H), 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H).

เมื่อนำ CDG ไปวิเคราะห์ ^{13}C NMR (CDCl_3) ได้ NMR spectrum ดังนี้



รูปที่ 8 ^{13}C NMR spectrum ของ CDG

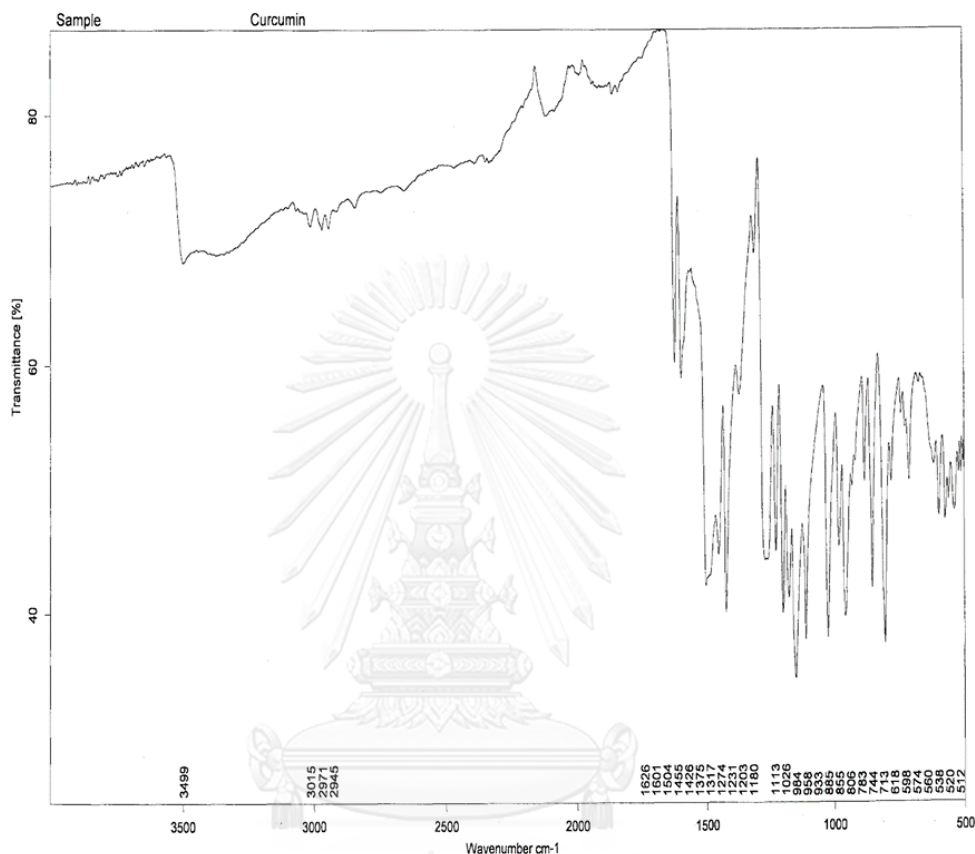
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 183.1, 172.9, 170.9, 151.4, 141.3, 140.0, 133.9, 124.3, 123.2, 120.9, 111.4, 101.8, 60.5 55.9, 33.1, 20.2, 14.3

4.2.2 IR spectroscopy

นำ curcumin ไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค FTIR-ATR spectroscopy ได้ IR spectrum เป็นดังนี้



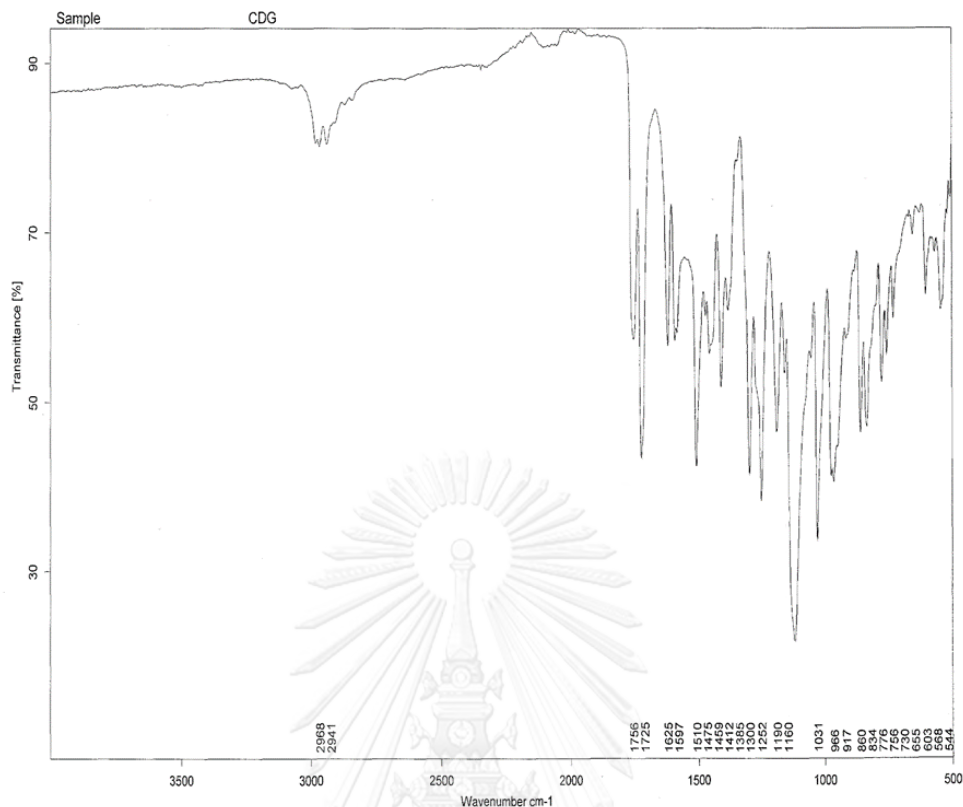
รูปที่ 9 IR spectrum ของ curcumin

จาก IR spectrum ของ curcumin พบ peak ที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของสาร ดังนี้ broad peak ที่ 3300 cm^{-1} และ sharp peak ที่ 3499 cm^{-1} แสดงถึง OH stretching ของ hydroxyl group ต่อมา peak ที่ 3015 cm^{-1} แสดงถึง C - H stretching ของ C = C ส่วน peak ที่ 2945 cm^{-1} และ 2971 cm^{-1} แสดงถึง C - H stretching ของ aromatic ring กับ methyl group แต่ strong peak ที่ 1626 cm^{-1} เกิดจากการซ้อนทับกันของ C = C stretching กับ C = O stretching ของ carbonyl group นอกจากนี้ยังพบ strong peak ที่ 1601 cm^{-1} ซึ่งเป็นลักษณะของ C = C_{ring} symmetric aromatic ring stretching และ peak ที่ 1508 cm^{-1} แสดงถึง C = O stretching ของ carbonyl group ต่อมาเป็น peak ของ enol C - O stretching อยู่ที่ 1272 cm^{-1} ในขณะที่ C - O - C peak พบที่ 1023 cm^{-1} ¹⁷

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

นำ CDG ไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค FTIR-ATR spectroscopy ได้ IR spectrum เป็นดังนี้



รูปที่ 10 IR spectrum ของ CDG

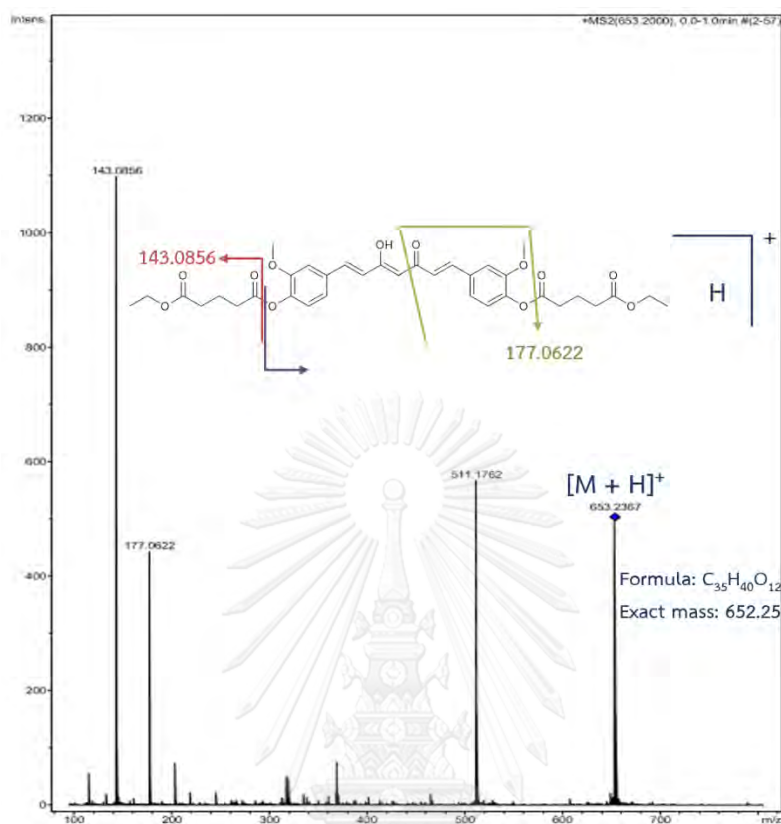
จาก IR spectrum ของ CDG พบ peak ที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของสาร ดังนี้ peak ที่ 2968 cm⁻¹ และ 2941 cm⁻¹ แสดงถึง C - H stretching ของ aromatic ring, methylene และ methyl group ต่อมา strong peak ที่ 1756 cm⁻¹ และ 1725 cm⁻¹ แสดงถึง C = O stretching จาก carbonyl group ของ ester ส่วน peak ที่ 1625 cm⁻¹ เกิดจากการซ้อนทับกันของ C = C stretching กับ C = O stretching ของ carbonyl group นอกจากนี้ยังพบ strong peak ที่ 1597 cm⁻¹ กับ 1510 cm⁻¹ ซึ่งเป็นลักษณะของ C = C_{ring} symmetric aromatic ring stretching และ peak ที่ 1475 cm⁻¹ กับ 1385 cm⁻¹ แสดงถึง C - H bending ของ methylene และ methyl group สุดท้ายคือ peak ของ C - O stretching อยู่ที่ 1031 cm⁻¹

บทความย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

4.2.3 High-resolution mass spectrometry

เมื่อนำ CDG ไปวิเคราะห์ด้วย mass spectrometry พบว่าได้ Mass spectrum ออกมาดังนี้



รูปที่ 11 Mass spectrum ของ CDG

4.2.4 Melting point determination

จากการหาจุดหลอมเหลวของ curcumin และ CDG โดยใช้เครื่อง Buchi® Melting point apparatus พบว่า curcumin มีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 177-183 °C และ CDG มีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 105-108 °C

4.3 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์

4.3.1 การเตรียม standard solution เพื่อทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test)

จากการทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test) โดยการนำ standard solution ที่มี curcumin และ CDG ความเข้มข้นอย่างละ 1.500 µM ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC และทำการฉีดซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ได้ผลการวิเคราะห์เป็นไปตามตารางที่ 1

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 1 การทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test)

System suitability	Retention time		Peak area	
	Curcumin	CDG	Curcumin	CDG
Sys suit1	2.979	6.431	64.48	73.1
Sys suit2	2.981	6.43	65.53	73.03
Sys suit3	2.978	6.434	65.11	73.69
Sys suit4	2.978	6.429	65.25	73.81
Sys suit5	2.98	6.427	64.74	73.87
Average	2.9792	6.4302	65.022	73.5
SD	0.0013	0.00259	0.41566	0.40311
%RSD	0.04376	0.04025	0.63925	0.54845

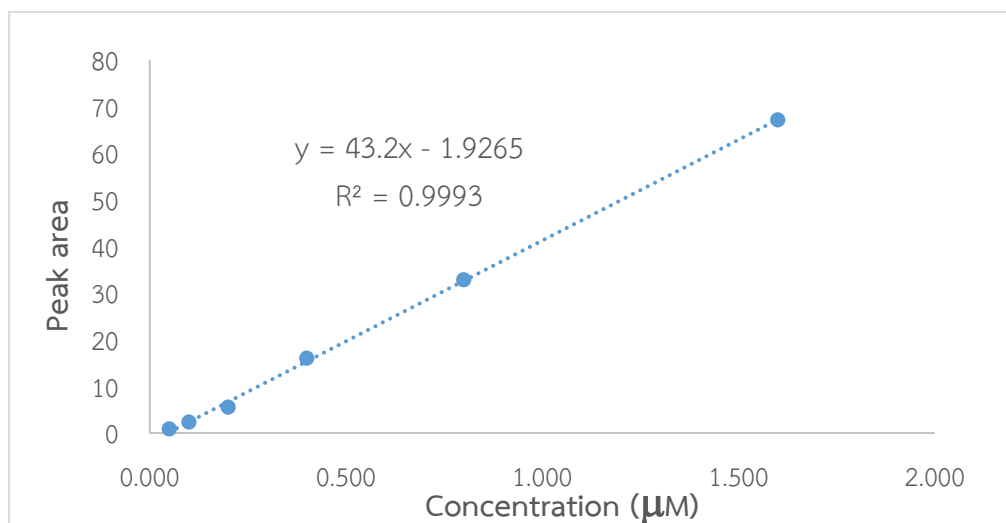
ตามเกณฑ์ที่ระบุไว้ในหัวข้อ system suitability ของ USP40¹⁷ สำหรับการฉีด standard solution ซ้ำ 5 ครั้ง จะต้องมีการมี %RSD ไม่เกิน 2.0% ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test) โดยการฉีด standard solution ที่มี curcumin และ CDG ซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ผลปรากฏว่า %RSD ทั้ง retention time และ peak area ของ curcumin และ CDG น้อยกว่า 2.0% แสดงว่า chromatographic system ที่เลือกใช้มีความเหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์

4.3.2 การเตรียม calibration curve ของ curcumin

เมื่อนำ curcumin standard solution ความเข้มข้น 0.050 μM , 0.100 μM , 0.200 μM , 0.400 μM , 0.800 μM และ 1.600 μM ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC และนำค่า peak area ที่ได้มาสร้างเป็น calibration curve ของ curcumin ได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 12

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

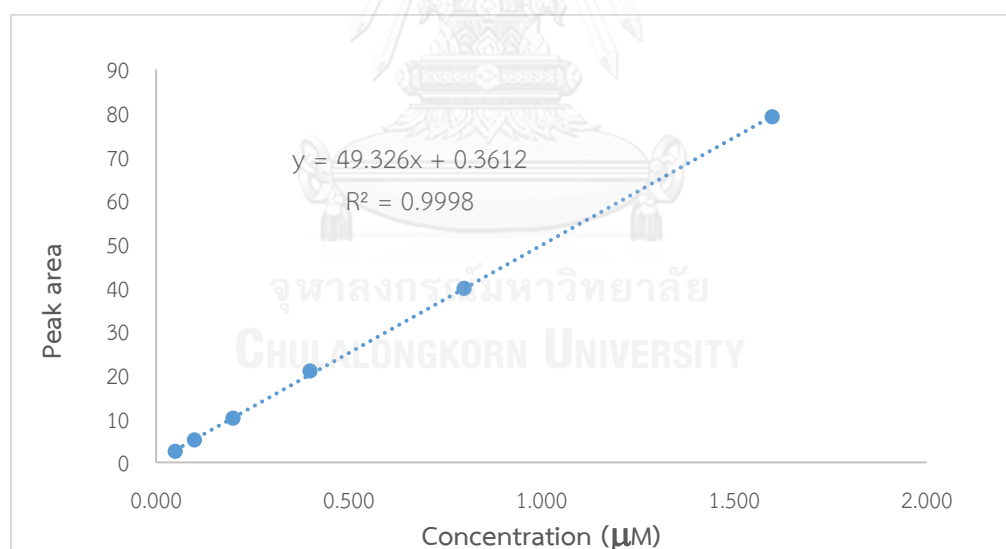
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 12 Calibration curve ของ curcumin

4.3.3 การเตรียม calibration curve ของ CDG

เมื่อนำ CDG standard solution ความเข้มข้น 0.050 µM, 0.100 µM, 0.200 µM, 0.400 µM, 0.800 µM และ 1.600 µM ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC และนำค่า peak area ที่ได้มาสร้างเป็น calibration curve ของ CDG ได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 13



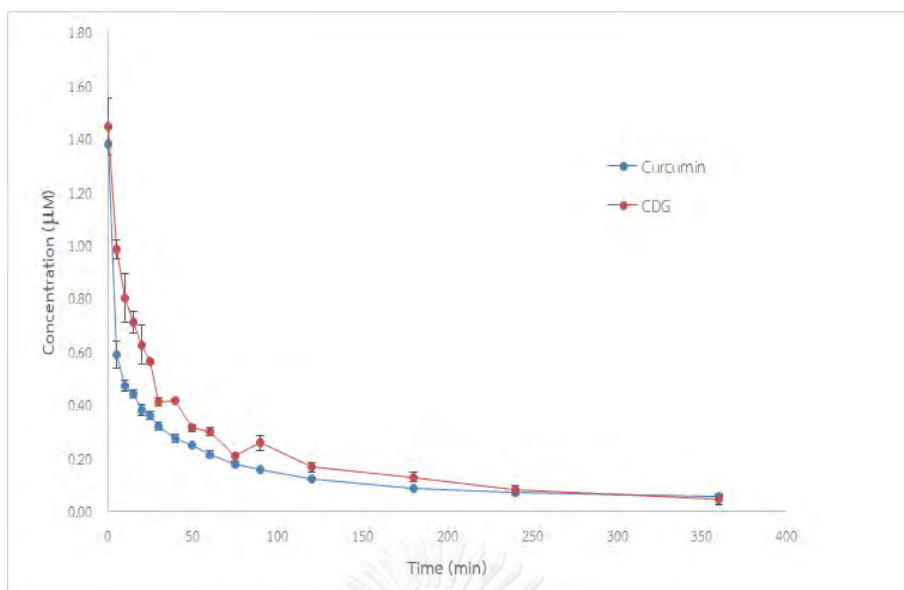
รูปที่ 13 Calibration curve ของ CDG

4.3.4 การศึกษาความคงตัวของ CDG เปรียบเทียบกับ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

จากการศึกษาความคงตัวของ CDG เปรียบเทียบกับ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เป็นเวลา 360 นาที โดยใช้ reversed-phase UHPLC และ diode array detection ที่ 400 nm พบว่าทั้ง CDG และ curcumin มีการสลายตัวอย่างรวดเร็วดังแสดงตามรูปที่ 14

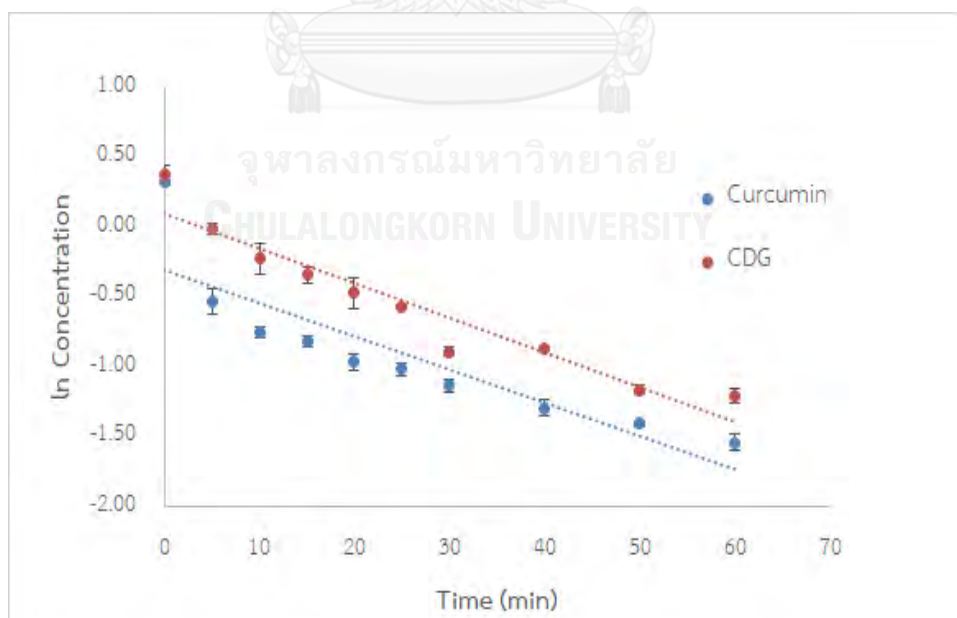
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 14 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ curcumin และ CDG เทียบกับเวลาในช่วง 0-360 นาที

จากรูปที่ 14 จะเห็นได้ว่าเมื่อเวลาผ่านไป ทั้ง curcumin และ CDG มีอัตราการสลายตัวด้วยจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงไป แต่เนื่องจากต้องการศึกษาการสลายตัวของปฏิกิริยาในช่วงต้น (initial rate constant) จึงเลือกเวลา 60 นาทีแรกมาหาอันดับปฏิกิริยา โดยพบว่าเมื่อสร้างกราฟ ระหว่าง natural log ของความเข้มข้น curcumin และ CDG กับเวลาในหน่วยนาที จะให้กราฟที่มีแนวโน้มเป็นเส้นตรงดังแสดงตามรูปที่ 15



รูปที่ 15 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า natural log ของความเข้มข้นของ CDG และ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 และเวลาในช่วง 0-60 นาที

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

จากกราฟจะเห็นได้ว่า สามารถทราบอันดับของปฏิกิริยาจากการใช้ graphic method โดยเมื่อสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นในหน่วยไมโครโมลาร์กับเวลา (นาที) กราฟที่ได้จะมีลักษณะเป็นเส้นโค้งแบบ exponential แสดงถึงความเข้มข้นของ curcumin หรือ CDG ที่ลดลงเมื่อเวลาผ่านไปตามรูปที่ 14 แต่เมื่อสร้างกราฟระหว่าง natural log ของความเข้มข้นกับเวลาในหน่วยนาที กราฟที่ได้จะมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงตามรูปที่ 15 และสามารถหาค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวจากกราฟดังกล่าวได้ แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากข้อมูลทางทฤษฎี พบว่าการศึกษานี้เป็นการศึกษาเพื่อทดสอบความคงตัวของ curcumin และ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ อันดับปฏิกิริยาของปฏิกิริยาทั้งหมดมาจากค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของสารแต่ละตัว ซึ่งในการทดลองนี้คือ curcumin หรือ CDG และตัวทำละลาย โดยปฏิกิริยาของ curcumin หรือ CDG เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ($a=1$) ปฏิกิริยาของตัวทำละลายเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเช่นกัน ($b=1$) อันดับปฏิกิริยารวมจึงควรเป็นปฏิกิริยาอันดับสอง ($a+b = 2$) แต่เนื่องจากตัวทำละลายในการทดลองนี้มีมากเกินไป และ curcumin หรือ CDG มีความเข้มข้นอยู่ในระดับต่ำเมื่อเทียบกับตัวทำละลาย นอกจากนี้ในขณะที่ปฏิกิริยาดำเนินไป ความเข้มข้นของ curcumin หรือ CDG จะค่อยๆ เปลี่ยนแปลงไปจากความเข้มข้นเริ่มต้น แต่ความเข้มข้นของตัวทำละลายแทบไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป ในกรณีเช่นนี้จึงอนุมานว่าปฏิกิริยาของตัวทำละลายเป็นไปอย่างคงที่ ปฏิกิริยารวมของการทดลองนี้จึงเรียกว่าเป็นแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first-order reaction) เนื่องจากอัตราการเกิดปฏิกิริยานี้ขึ้นกับค่าความเข้มข้นของ curcumin หรือ CDG เพียงเท่านั้น¹⁸ และสามารถคำนวณค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (k_{obs}) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของสารทั้งสองในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ได้ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (k_{obs}) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของ CDG และ curcumin ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.4

	k_{obs} (min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)
Curcumin	2.39×10^{-2}	29.0
Curcumin diethyl diglutarate (CDG)	2.48×10^{-2}	27.9

จากข้อมูลจะเห็นได้ว่าค่าครึ่งชีวิตของ curcumin กับ CDG ไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า curcumin diethyl diglutarate มีความคงตัวทางเคมีใกล้เคียงกับ curcumin ที่ physiological pH อย่างไรก็ตามยังมีอีกหลายปัจจัยที่อาจส่งผลให้การทดลองคลาดเคลื่อนได้ ตัวอย่างสำคัญที่เห็นได้ชัดคือระยะห่างของเวลาหลังจากไปเปิดสารลง vial นำไปใส่ใน autosampler และเครื่อง UHPLC เริ่มทำการฉีดสารไม่เท่ากันในแต่ละ sample อาจทำให้ peak area ที่ได้ในแต่ละครั้งมีความคลาดเคลื่อนได้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าที่พบว่าสารบางชนิดยังคงเกิดการสลายตัวอย่างต่อเนื่องในบัฟเฟอร์ระหว่างการรอวิเคราะห์ใน autosampler¹³

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

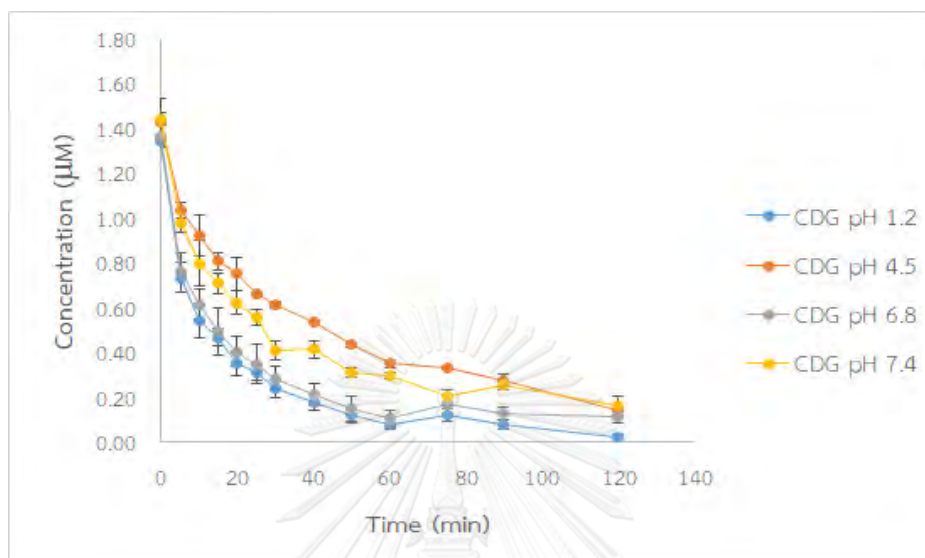
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

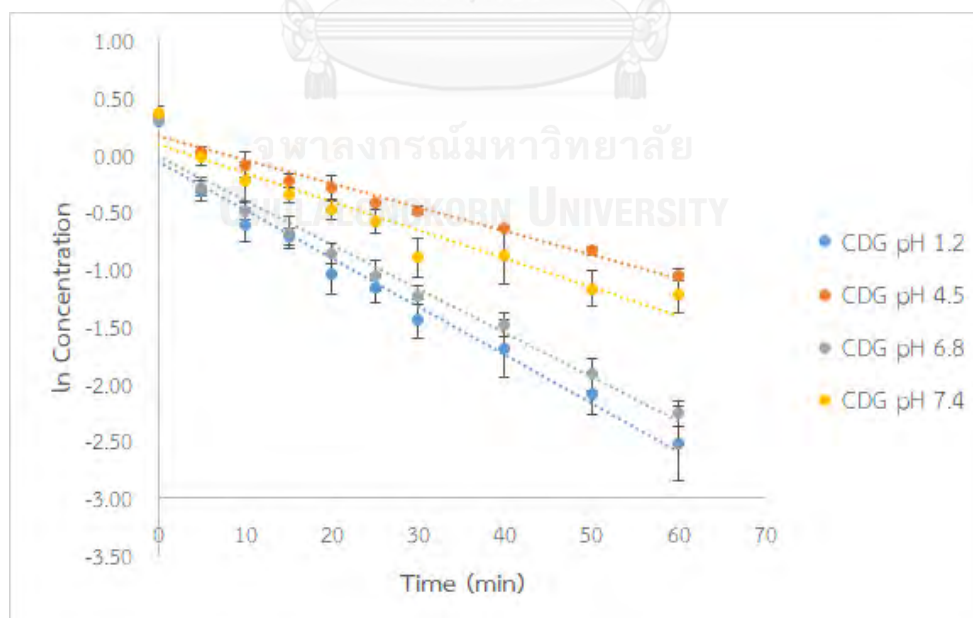
4.3.5 การศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.2, 4.5 และ 6.8

จากการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ อันได้แก่ pH 1.2, 4.5, 6.8 และ 7.4 เป็นเวลา 120 นาที โดยใช้ reversed-phase UHPLC และ diode array detection ที่ 400 nm พบว่าทั้ง CDG และ curcumin มีการสลายตัวอย่างรวดเร็วดังแสดงตามรูปที่ 16



รูปที่ 16 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ CDG และเวลาในช่วง 0-120 นาที

เมื่อนำค่าความเข้มข้นมาแปลงให้อยู่ในรูป natural log แล้วนำมาสร้างกราฟระหว่าง natural log ที่ได้กับเวลาในหน่วยนาทีช่วง 60 นาทีแรกได้กราฟออกมาดังแสดงในรูปด้านล่าง



รูปที่ 17 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า natural log ของความเข้มข้นของ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ และเวลาในช่วง 0-60 นาที

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

จากรูปที่ 17 เมื่อนำมาหาค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตจะได้ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (k_{obs}) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของ CDG ในสารละลาย บัฟเฟอร์ pH 1.2 4.5 6.8 และ 7.4 ตามลำดับ

บัฟเฟอร์	k_{obs} (min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)
กรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2	4.26×10^{-2}	16.3
อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5	2.08×10^{-2}	33.3
ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8	3.87×10^{-2}	17.9
ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4	2.48×10^{-2}	27.9

จากข้อมูลในตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่า CDG มีความคงตัวสูงสุดในอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองที่ผ่านมา ยังไม่สามารถสรุปออกมาเป็นข้อสรุปความคงตัวจากอิทธิพลของ pH ได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากในการศึกษา stability ใน buffer มีหลายปัจจัยที่ทำให้ผลการทดลองออกมาเป็นแบบดังกล่าว นอกจากอิทธิพลของ pH เพียงอย่างเดียว อาทิ ปัจจัยจาก ionic strength หรือ ความแรงประจุของบัฟเฟอร์ที่สามารถส่งผลต่อความคงตัวของ CDG ได้ โดยพบว่าความแรงประจุของบัฟเฟอร์สามารถเปลี่ยนแปลง activity coefficient ของสารตั้งต้น เปลี่ยน pKa และอาจจะเป็นตัวเร่งให้ สารสลายตัวมากขึ้น ซึ่งจำเป็นที่จะต้องมีการควบคุม เพื่อไม่ให้เกิดการรบกวนผลการวิเคราะห์ในการทดลองครั้งต่อไป¹³

4.4 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์

4.4.1 การเตรียม standard solution เพื่อทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test) ในพลาสมามนุษย์

จากการทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test) โดยการนำ standard solution ที่มี curcumin และ CDG ความเข้มข้นอย่างละ 3.00 μM ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC และทำการฉีดซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ได้ผลการวิเคราะห์เป็นไปตามตารางที่ 4

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 4 การทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test) ในพลาสมามนุษย์

System suitability	Retention time			Peak area		
	Curcumin	CDG	DMC (IS)	Curcumin	CDG	DMC (IS)
Sys suit 1	3.184	8.452	5.190	39.33	46.39	21.28
Sys suit 2	3.181	8.448	5.188	39.24	46.37	21.19
Sys suit 3	3.183	8.451	5.192	39.37	46.51	21.15
Sys suit 4	3.185	8.452	5.196	39.48	46.48	21.33
Sys suit 5	3.184	8.453	5.196	39.22	46.40	21.18
Average	3.184	8.452	5.195	39.36	46.46	21.22
SD	0.002	0.002	0.004	0.11	0.06	0.08
%RSD	0.048	0.023	0.069	0.27	0.13	0.36

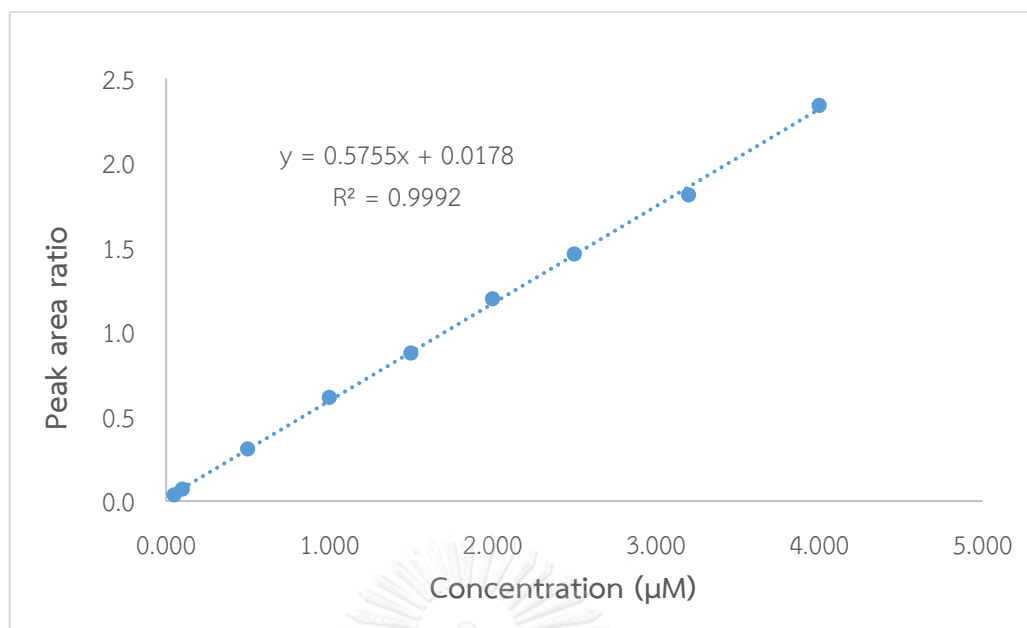
ตามเกณฑ์ที่ระบุไว้ในหัวข้อ system suitability ของ USP40 สำหรับการฉีด standard solution ซ้ำ 5 ครั้ง จะต้องมีการมี %RSD ไม่เกิน 2.0% ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบความเหมาะสมของ chromatographic system ต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (system suitability test) ในพลาสมามนุษย์โดยการฉีด standard solution ที่มี curcumin CDG และ dimethylcurcumin ซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ผลปรากฏว่า %RSD ทั้ง retention time และ peak area ของ curcumin CDG และ dimethylcurcumin น้อยกว่า 2.0% แสดงว่า chromatographic system ที่เลือกใช้ มีความเหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์

4.4.2 การเตรียม calibration curve ของ curcumin ในพลาสมามนุษย์

เมื่อนำค่า peak area ratio ที่ได้จาก peak area ของ curcumin แต่ละความเข้มข้นในพลาสมามนุษย์ (0.050 μ M, 0.100 μ M, 0.500 μ M, 1.000 μ M, 1.500 μ M, 2.000 μ M, 2.500 μ M, 3.200 μ M และ 4.000 μ M) หารด้วย peak area ของ dimethylcurcumin มาสร้างเป็น calibration curve ได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 18

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

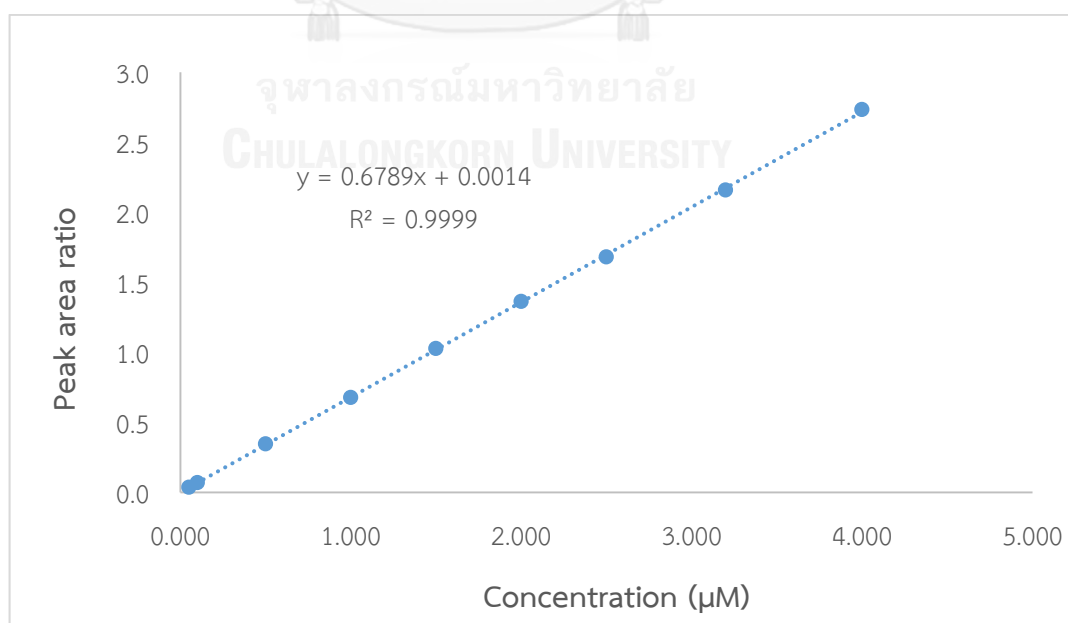
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 18 Calibration curve ของ curcumin ในพลาสติกมนุษย์

4.4.3 การเตรียม calibration curve ของ CDG ในพลาสติกมนุษย์

เมื่อนำค่า peak area ratio ที่ได้จาก peak area ของ CDG แต่ละความเข้มข้นในพลาสติกมนุษย์ (0.050 µM, 0.100 µM, 0.500 µM, 1.000 µM, 1.500 µM, 2.000 µM, 2.500 µM, 3.200 µM และ 4.000 µM) ทหารด้วย peak area ของ dimethylcurcumin มาสร้างเป็น calibration curve ได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 19



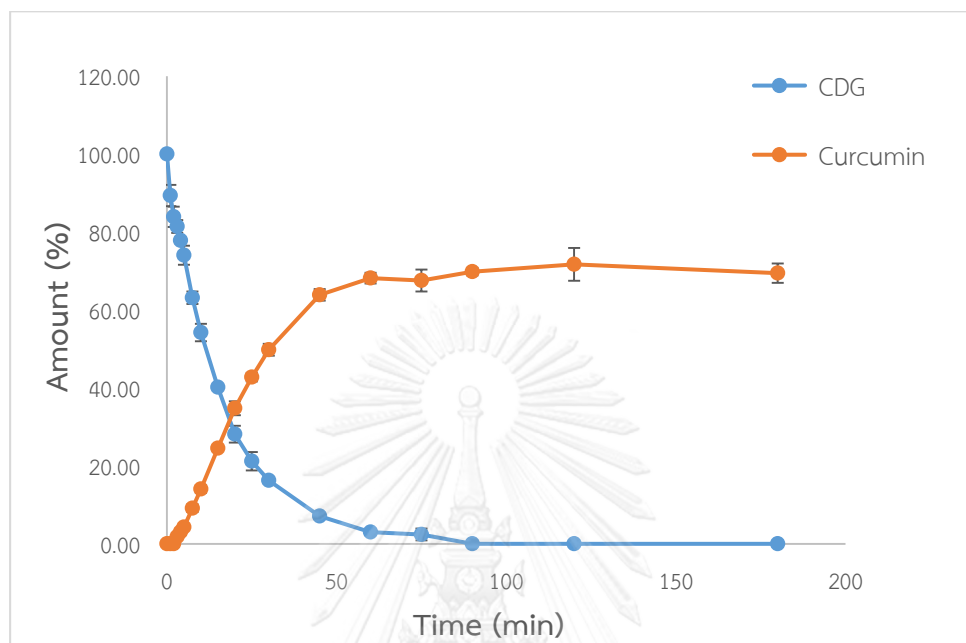
รูปที่ 19 Calibration curve ของ CDG ในพลาสติกมนุษย์

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

4.2.4 การศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์

จากการศึกษาปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์เป็นเวลา 180 นาที โดยใช้ reversed-phase UHPLC พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป CDG มีปริมาณลดลง ในขณะที่เกิด curcumin เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 20

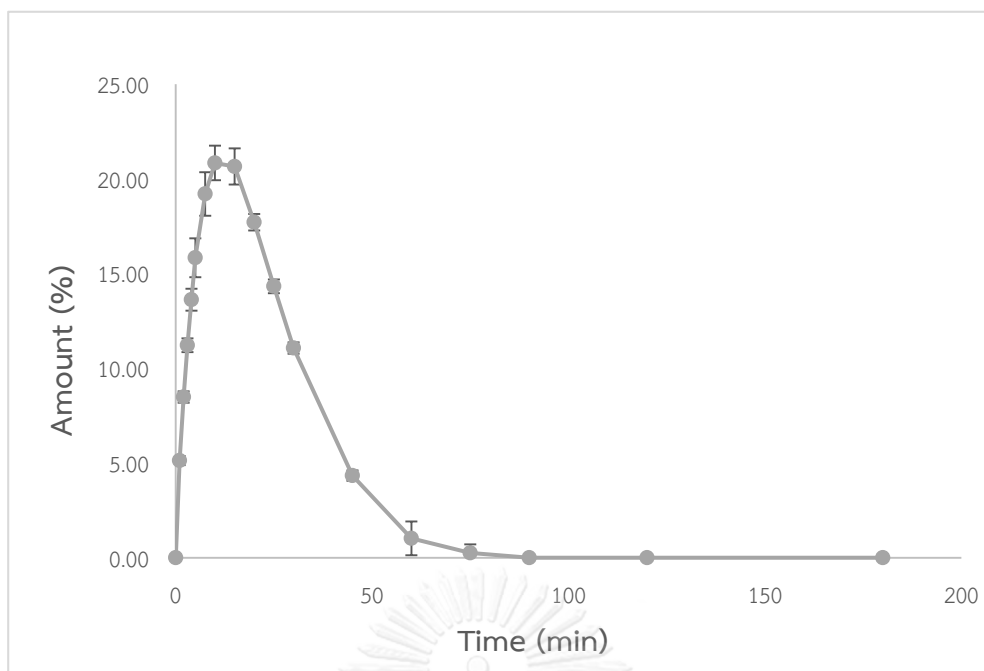


รูปที่ 20 Release profile ของ curcumin จาก CDG ในพลาสมามนุษย์ที่อุณหภูมิ 37 °C ในช่วงเวลา 0-180 นาที

จากรูปที่ 20 จะเห็นได้ว่าปริมาณของ curcumin ที่เกิดขึ้นสอดคล้องกับการลดลงของ CDG โดย curcumin ทั้งหมดจะถูกปลดปล่อยออกมาภายใน 120 นาที อย่างไรก็ตาม CDG ไม่ได้สลายตัวให้ curcumin โดยตรง แต่คาดว่าเกิดการตัดพันธะ ester ที่เชื่อม glutaric acid monoethyl ester พันธะเดี่ยวก่อน ได้เป็น intermediate metabolite และหลังจากนั้น intermediate metabolite จะถูกตัดพันธะ ester อีกข้าง เกิดเป็น curcumin ขึ้น โดยช่วงเวลาตั้งแต่ 0 ถึงประมาณ 15 นาที intermediate metabolite จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น และหลังจากนั้นจะค่อย ๆ ลดลง จนเครื่อง UHPLC ไม่สามารถ detect ได้ที่เวลา 90 นาที ดังแสดงในรูปที่ 21

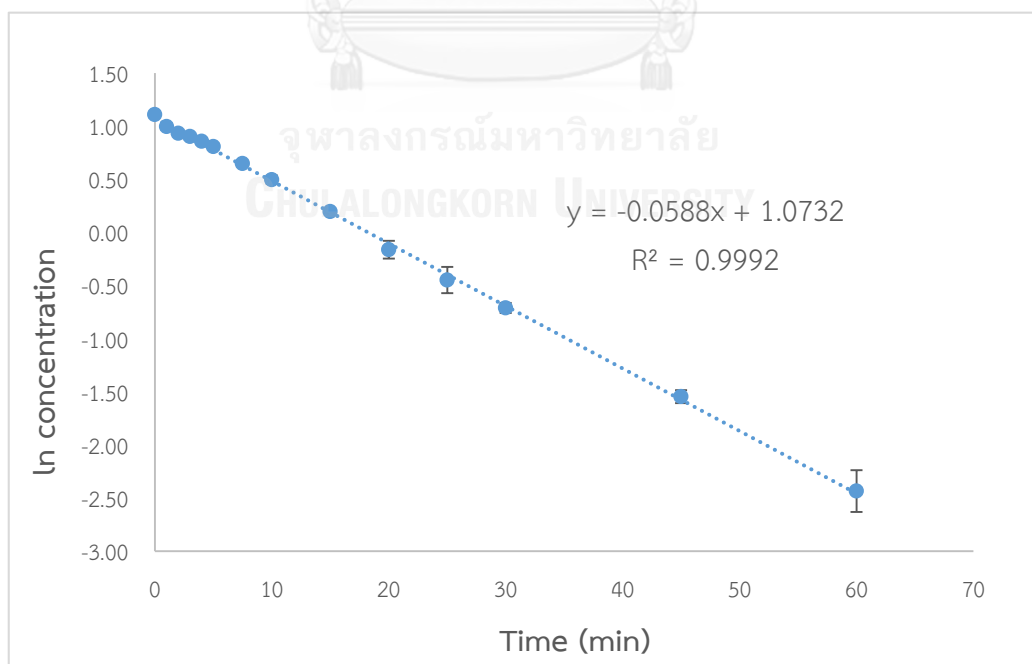
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 21 % formation ของ intermediate metabolite ที่เกิดจากการสลายตัวของ CDG ในพลาสมามนุษย์ที่อุณหภูมิ 37 °C

การหาค่าพารามิเตอร์ทางจลศาสตร์เพื่อศึกษาความคงตัวของ CDG ในพลาสมามนุษย์ที่อุณหภูมิ 37 °C สามารถทำได้โดยการสร้างกราฟระหว่าง natural log ของความเข้มข้นกับเวลา (นาที) แต่เนื่องจากหลังเวลาผ่านไป 60 นาที CDG มีปริมาณค่อนข้างคงที่หรือลดลงน้อยมาก จึงเลือกศึกษาอัตราการสลายตัวในช่วง 60 นาทีแรก ได้กราฟที่มีแนวโน้มเป็นเส้นตรงดังแสดงในรูปที่ 22



รูปที่ 22 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า natural log ของความเข้มข้นของ CDG ในพลาสมามนุษย์และเวลาในช่วง 0-60 นาที

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

จากรูปที่ 22 จะเห็นได้ว่า CDG มีการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเทียม (pseudo first-order reaction) ในพลาสมามนุษย์ที่อุณหภูมิ 37 °C เพราะปริมาณของ พลาสมามนุษย์มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลักและมีปริมาณมากเกินไปจนคล้ายกับกรณีของสารละลายบัฟเฟอร์ที่กล่าวไปแล้วข้างต้น และสามารถหาค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของ CDG ในช่วงต้น (initial rate constant) รวมถึงค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของ CDG ได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (k_{obs}) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของ CDG ในพลาสมามนุษย์

k_{obs} (min ⁻¹)	$t_{1/2}$ (min)
5.88×10^{-2}	11.8

CDG ประกอบด้วยหมู่ ester ซึ่งไวต่อการเกิด chemical hydrolysis แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวในช่วงต้น (k_{obs}) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 กับในพลาสมามนุษย์พบว่า k_{obs} และ $t_{1/2}$ ของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 มีค่าเท่ากับ 2.48×10^{-2} นาที⁻¹ และ 27.9 นาที ตามลำดับ ในขณะที่ในพลาสมามนุษย์มีค่าเท่ากับ 5.88×10^{-2} นาที⁻¹ และ 11.8 นาที ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า CDG เกิดการสลายตัวในพลาสมามนุษย์ได้เร็วกว่าในสารละลายบัฟเฟอร์ เนื่องจากในร่างกายของมนุษย์มีเอนไซม์ esterases อยู่หลายชนิด ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) เข้ามามีบทบาทสำคัญต่อการสลายตัวของ CDG ได้เป็น curcumin ในพลาสมามนุษย์ แต่อย่างไรก็ตามยังมีอีกหลายปัจจัยที่อาจส่งผลให้การทดลองมีความคลาดเคลื่อนได้ เช่น pH ที่แตกต่างกัน วิธีการเตรียมสารตัวอย่าง อุณหภูมิของ autosampler และระยะเวลาที่ต้องรอวิเคราะห์ใน autosampler เป็นต้น

จากความสามารถในการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นการบ่งบอกว่าการทำ glutarate prodrug ของ curcumin มีแนวโน้มที่จะนำมาพัฒนาเป็นยาที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงเอนไซม์ esterases ที่เกี่ยวข้องกับการเกิด metabolism ของ CDG ในพลาสมามนุษย์และฤทธิ์ทางชีวภาพของ CDG เพื่อพัฒนาเป็น prodrug ของ curcumin ต่อไป

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

กล่าวโดยสรุป CDG สังเคราะห์จากปฏิกิริยา esterification ระหว่างหมู่ฟังก์ชันฟินอลทั้งสองหมู่ของ curcumin กับ glutaric acid monoethyl ester chloride และได้ผลผลิตออกมาประมาณ 50.5% จากการศึกษาความคงตัวพบว่า

- 1) CDG และ curcumin มีความคงตัวไม่แตกต่างกันในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4
- 2) pH เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อความคงตัวของ CDG เนื่องจากค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว และค่าครึ่งชีวิตของ CDG แตกต่างกันในแต่ละ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์
- 3) CDG สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็น curcumin ได้ในพลาสมามนุษย์
- 4) จากการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) ในพลาสมามนุษย์ทำให้ CDG มีค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวในพลาสมามนุษย์มากกว่าในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

5.2 ข้อจำกัดของงานวิจัย

งานวิจัยชิ้นนี้มีข้อจำกัด ดังนี้

- 1) เนื่องจากการศึกษาความคงตัวของ CDG เปรียบเทียบกับ curcumin จำเป็นต้องทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 37 °C แต่ autosampler ของเครื่องมือ UHPLC ที่นำมาใช้ในการศึกษาไม่สามารถเพิ่มอุณหภูมิได้มากกว่าอุณหภูมิห้อง มีเฉพาะเครื่องทำความเย็น ดังนั้นจึงต้องอาศัยการอุ่นสารที่ผสมกับบัฟเฟอร์ที่เวลาต่างๆ ใน Incubator ซึ่งการทำวิธีดังกล่าวอาจส่งผลให้เกิดความผิดพลาดจากปัจจัยหลายๆ อย่างที่มารบกวน อาทิ ความคลาดเคลื่อนของอุปกรณ์ ความคลาดเคลื่อนจากการเปลี่ยนถ่ายสารโดยการใช้ไปเปิด
- 2) เนื่องจากการศึกษาความคงตัวของ curcumin และ CDG ในสารละลายบัฟเฟอร์ 3 ครั้ง (triplicate) และแต่ละครั้งต้องใช้เวลา 360 นาที (6 ชั่วโมง) จึงอาจส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนของผลการทดสอบความคงตัว เพราะสภาพอากาศในแต่ละช่วงเวลาของวันแตกต่างกัน
- 3) การศึกษาความคงตัวที่ pH ต่าง ๆ จำเป็นต้องควบคุม pH ให้คงที่ตลอดเวลา แต่เนื่องจากเครื่อง UHPLC ที่ใช้ ไม่มีส่วนวัด pH หรือส่วนที่สามารถเติมกรดหรือเบสลงไปเพื่อปรับ pH ให้คงที่ตลอดช่วงระยะเวลาที่ศึกษาความคงตัว ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไป สารที่เกิดจากการสลายตัว (degradation products) ของ CDG หรือ curcumin อาจจะทำให้ pH ของสารละลายเปลี่ยนไป ส่งผลให้ผลการทดสอบความคงตัวที่ pH นั้น ๆ ไม่เป็นไปตามความเป็นจริง

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

รายการอ้างอิง

1. Dall'Acqua S, Stocchero M, Boschiero I, Schiavon M, Golob S, Uddin J, et al. New findings on the in vivo antioxidant activity of Curcuma longa extract by an integrated (1)H NMR and HPLC-MS metabolomic approach. *Fitoterapia*. 2016;109:125-31.
2. Kim J, Jeong SW, Quan H, Jeong CW, Choi JI, Bae HB. Effect of curcumin (Curcuma longa extract) on LPS-induced acute lung injury is mediated by the activation of AMPK. *Journal of Anesthesia*. 2016;30(1):100-8.
3. Dhiman R, Aggarwal N, Aneja KR, Kaur M. In Vitro Antimicrobial Activity of Spices and Medicinal Herbs against Selected Microbes Associated with Juices. *International Journal of Microbiology*. 2016;2016:9.
4. Mansi AP, Gupta SV. Synergistic Effect of Garcinol and Curcumin on Antiproliferative and Apoptotic Activity in Pancreatic Cancer Cells. *Journal of Oncology*. 2012;2012:8
5. Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metabolism and Disposition*. 1999;27(4):486-94.
6. Lao CD, Ruffin MT, Normolle, D, Heath DD, Murray SI, Bailey JM, Boggs ME, Crowell J, Rock CL, Brenner DE. Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complementary Altern Med*. 2006; 6(1): 10
7. Wang YJ, Pan MH, Cheng AL, Lin LI, Ho YS, Hsieh CY, et al. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1997;15(12):1867-76.
8. Wichitnithad W, Nimmannit U, Wacharasindhu, Rojsitthisak P. Synthesis, characterization and biological evaluation of succinate prodrugs of curcuminoids for colon cancer treatment. *Molecules*. 2011;16(2):1888-90
9. Rao EV. and Sudheer P. Revisiting curcumin chemistry Part I: A new strategy for the synthesis of curcuminoids. *Indian J Pharm Sci*. 2011;73(3):262.
10. Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*. 2014;19(12):20091-112.

**บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

**The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.**

11. Ratnatilaka Na Bhuket P, El-Magboub A, Haworth IS, Rojsitthisak P. Enhancement of Curcumin Bioavailability Via the Prodrug Approach: Challenges and Prospects. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2017;42(3):341–53
12. Metzler, M., Pfeiffer, E., Schulz, S. I. and Dempe, J. S. (2013). Curcumin uptake and metabolism. *BioFactors*, 39(1), 14-20.
13. Kerns EH. Stability Challenges in Drug Discovery. *Chemistry and biodiversity*. 2009;6(11):1875-86
14. Di L, Kerns EH, Hong Y, Chen H. Development and application of high throughput plasma stability assay for drug discover. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005;297:110–9
15. Hartman DV. Determination of the Stability of Drugs in Plasma. *Current Protocols in Pharmacology*. 2002;19:1-8
16. United States Pharmacopeial Convention. Buffer solutions. *The United States Pharmacopeia - National Formulary: USP 40 - NF 35 2017*. 35th ed. Baltimore, MD: The United Book Press, Inc.; 2016, p. 2409-10.
17. Mohan K, Sreelakshmi G, Muraleedharan CV, Joseph R. Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy. *Elsevier*. 2012;62:77-84.
18. *Chemical Kinetics and Stability*. Sinko PJ, Singh Y, editors. *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences*. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2011, p. 586-595.

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

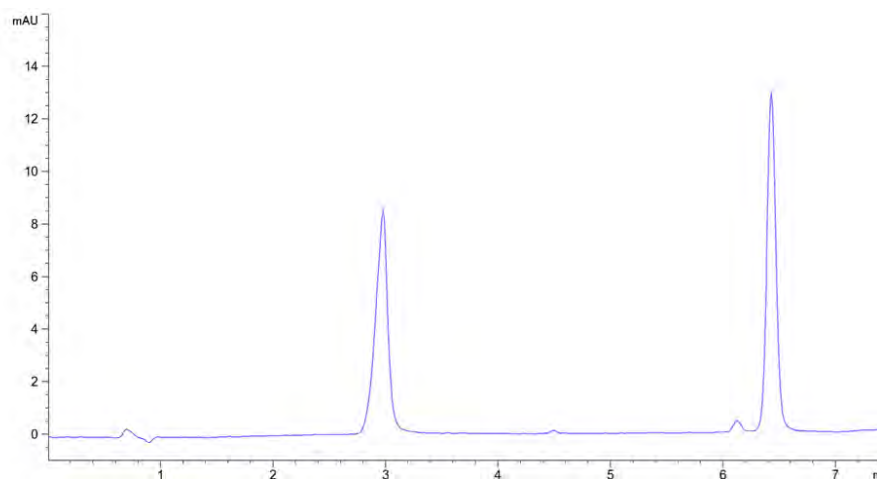
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

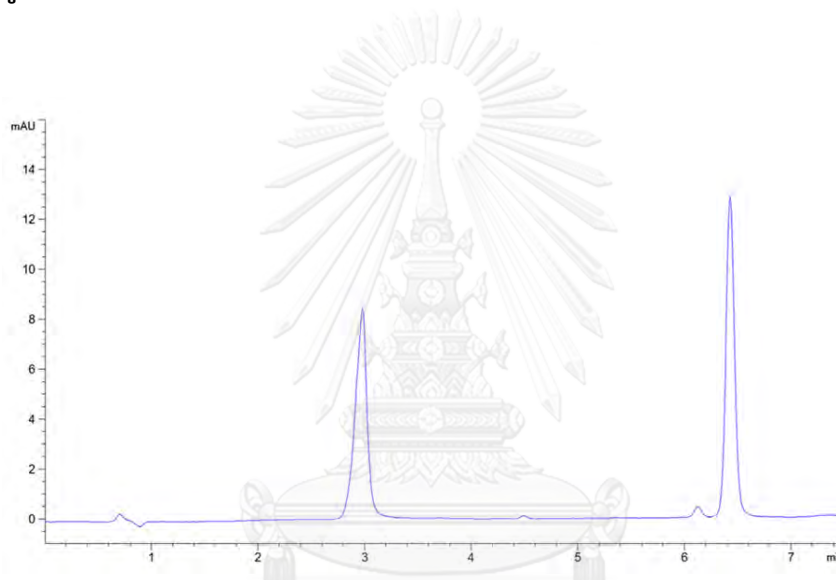


บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

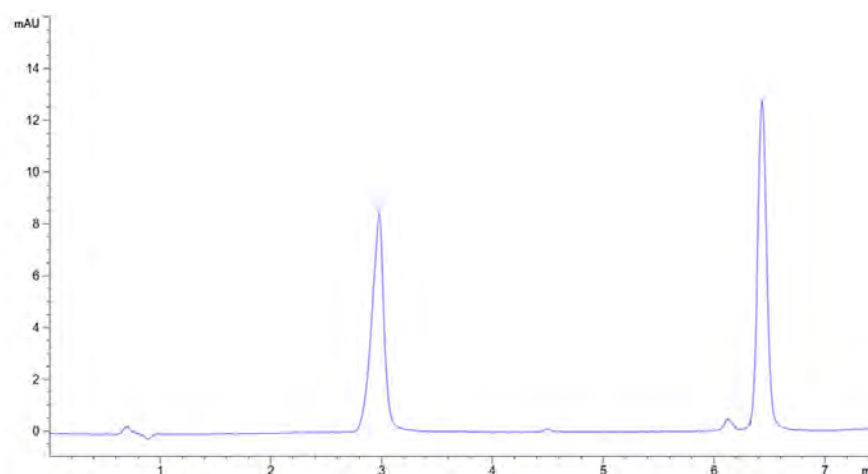
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 23 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability1)



รูปที่ 24 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability2)

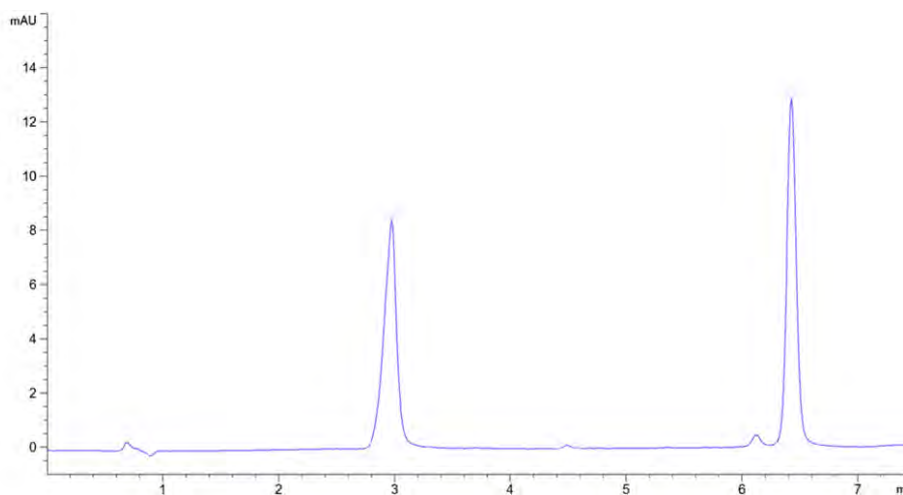


รูปที่ 25 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability3)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

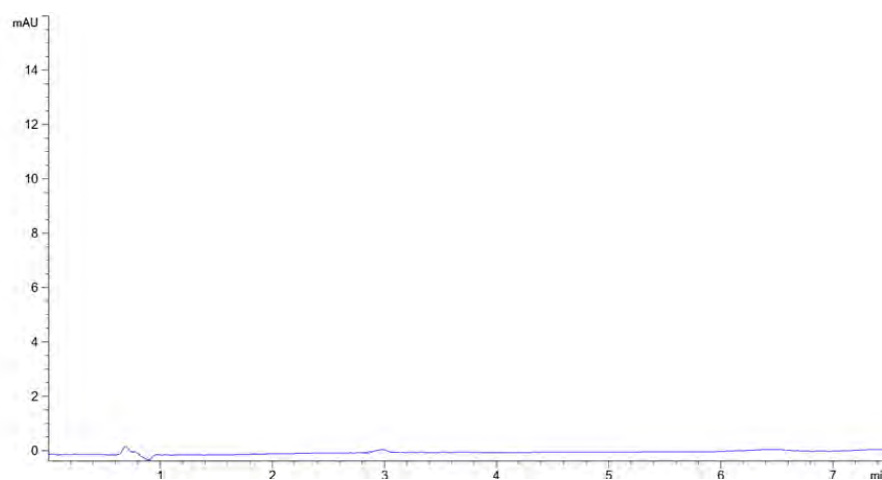
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 26 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability4)



รูปที่ 27 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (System suitability5)



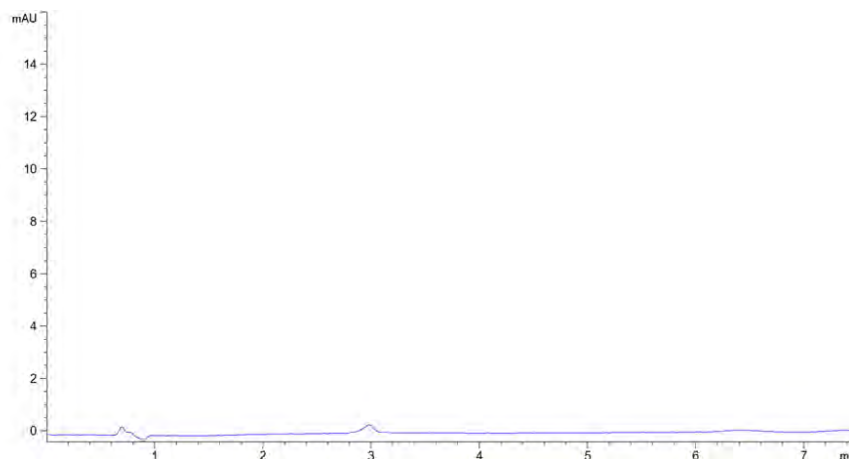
รูปที่ 28 Chromatogram ของ curcumin 0.05 μ M (STD 1)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

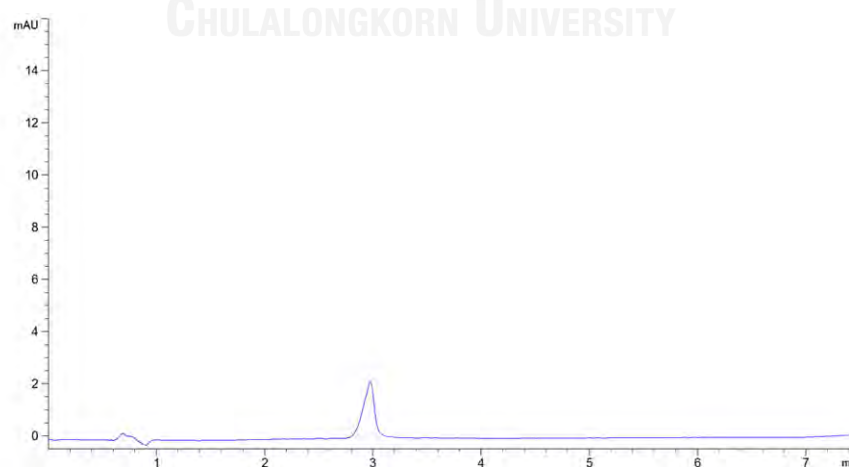
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 29 Chromatogram ของ curcumin 0.1 μM (STD 2)



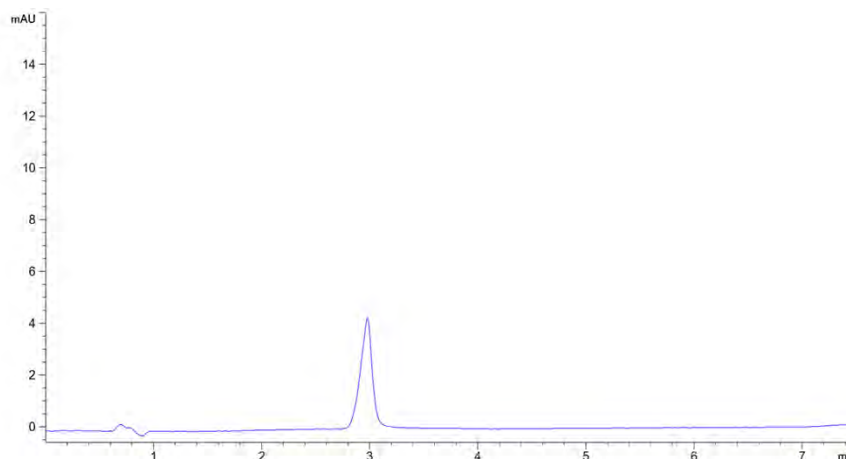
รูปที่ 30 Chromatogram ของ curcumin 0.2 μM (STD 3)



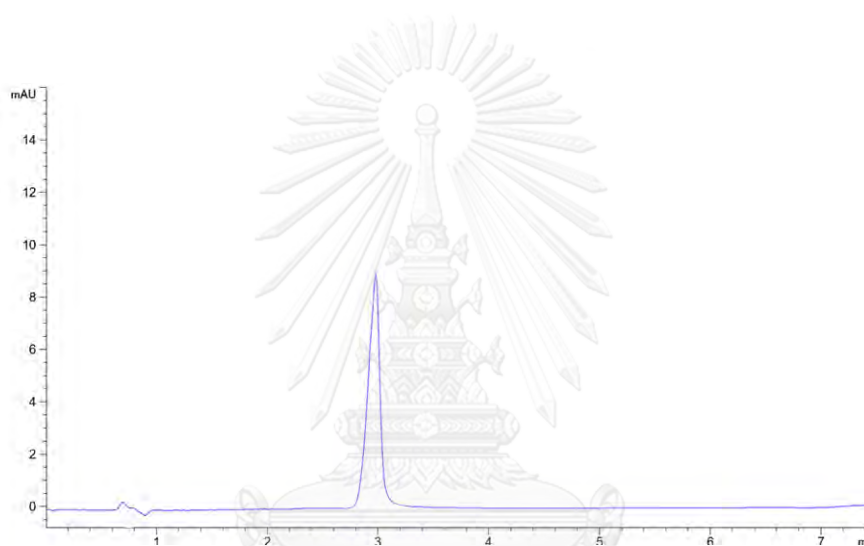
รูปที่ 31 Chromatogram ของ curcumin 0.4 μM (STD 4)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

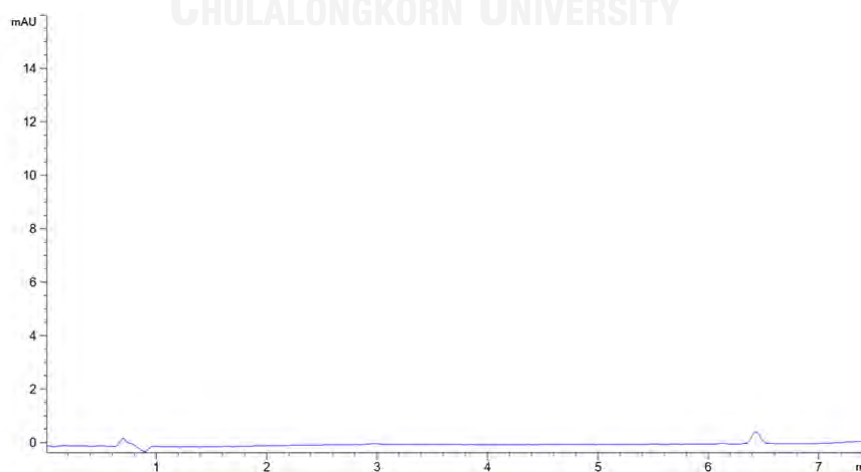
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 32 Chromatogram ของ curcumin 0.8 μM (STD 5)



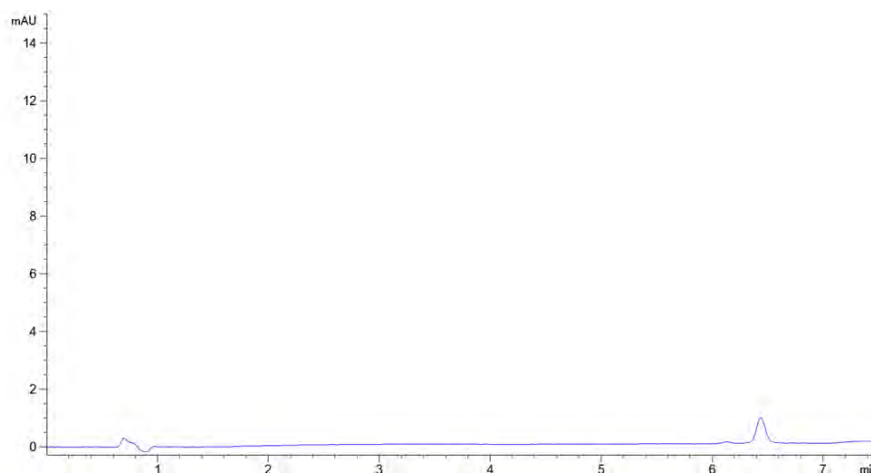
รูปที่ 33 Chromatogram ของ curcumin 1.6 μM (STD 6)



รูปที่ 34 Chromatogram ของ CDG 0.05 μM (STD 1)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

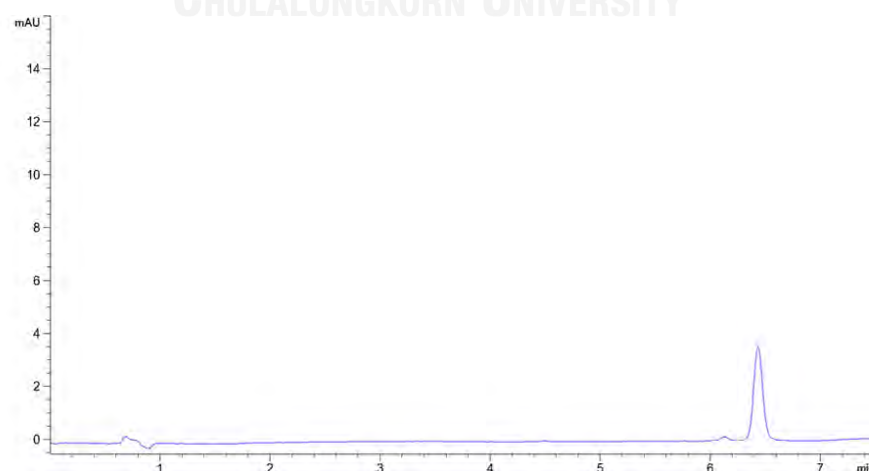
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 35 Chromatogram ของ CDG 0.1 μM (STD 2)



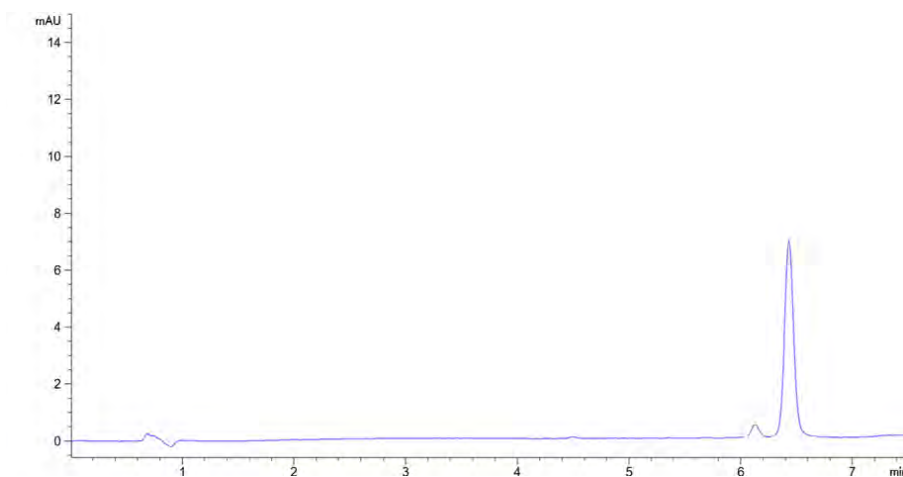
รูปที่ 36 Chromatogram ของ CDG 0.2 μM (STD 3)



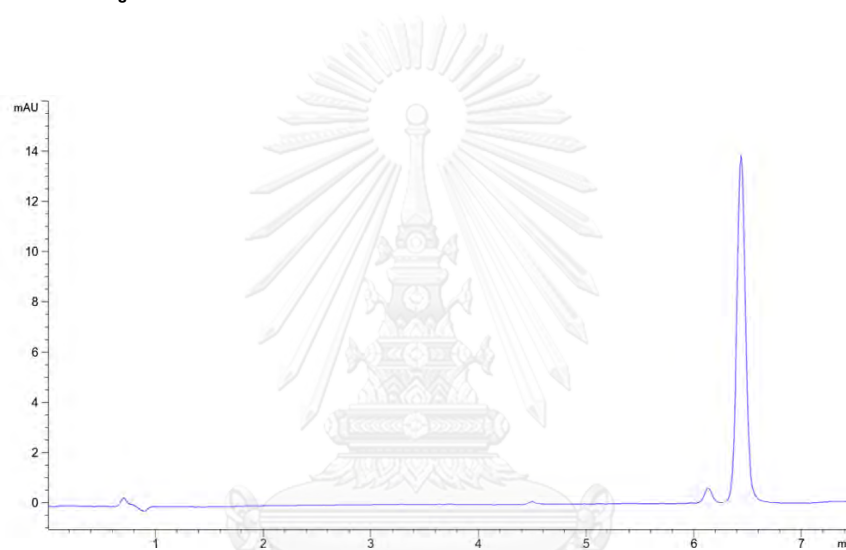
รูปที่ 37 Chromatogram ของ CDG 0.4 μM (STD 4)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

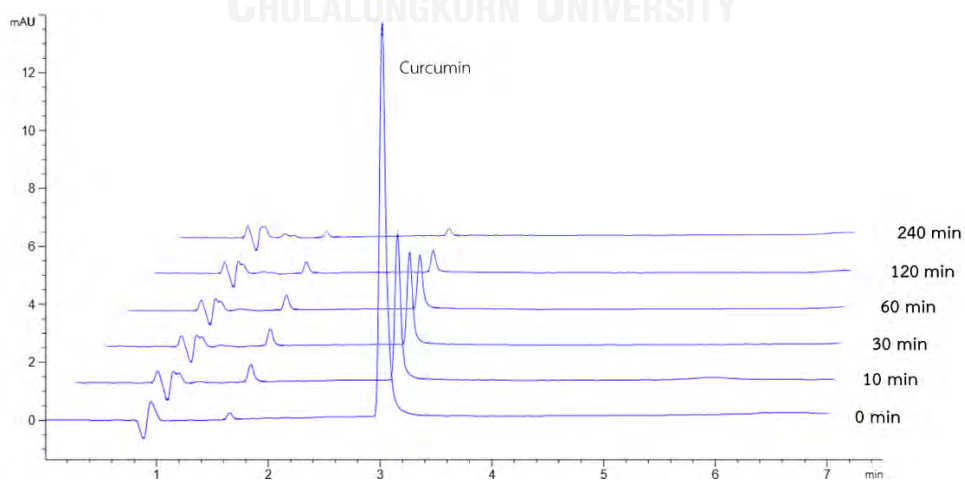
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 38 Chromatogram ของ CDG 0.8 μM (STD 5)



รูปที่ 39 Chromatogram ของ CDG 1.6 μM (STD 6)



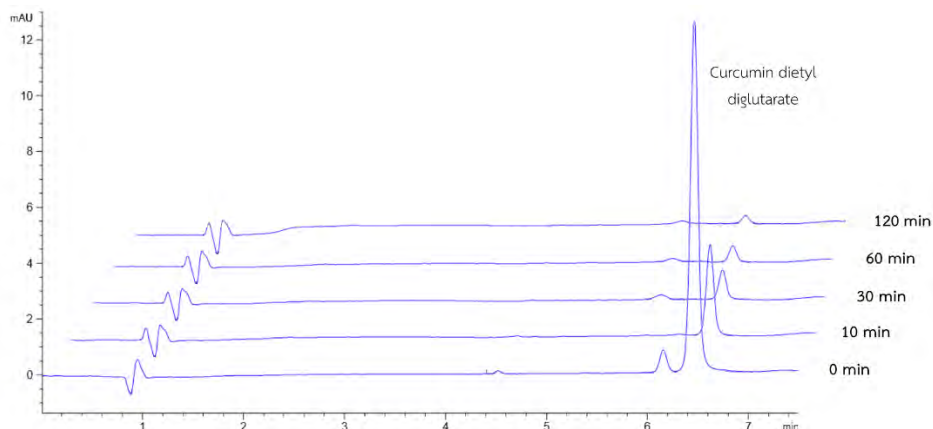
รูปที่ 40 Chromatogram ของการศึกษาความคงตัวของ Curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ณ เวลาต่างๆ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

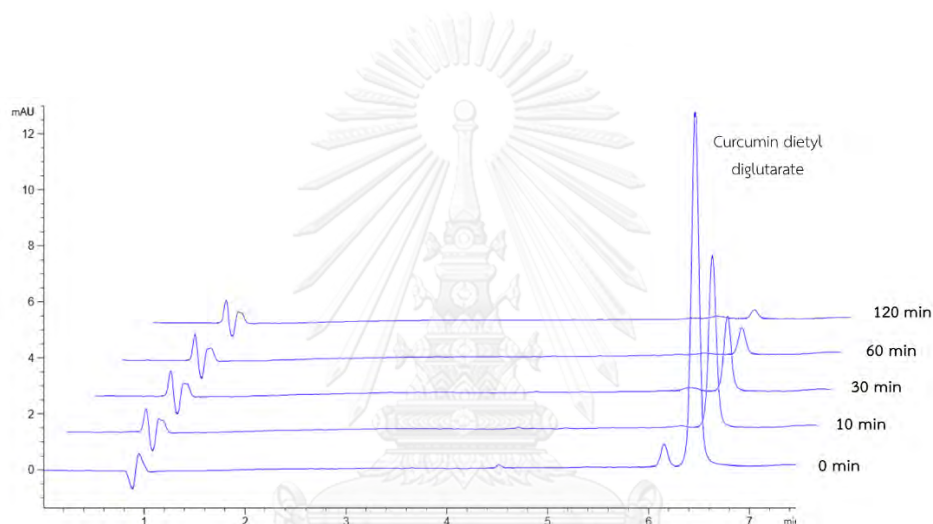
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

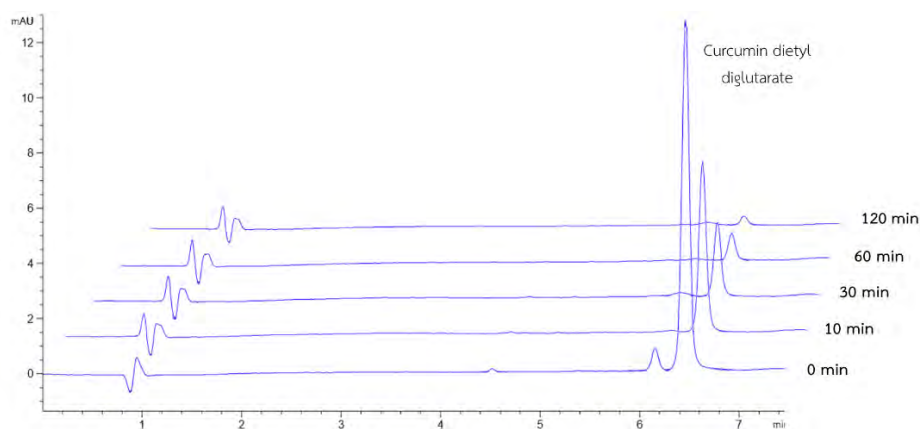
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 41 Chromatogram ของการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ณ เวลาต่างๆ



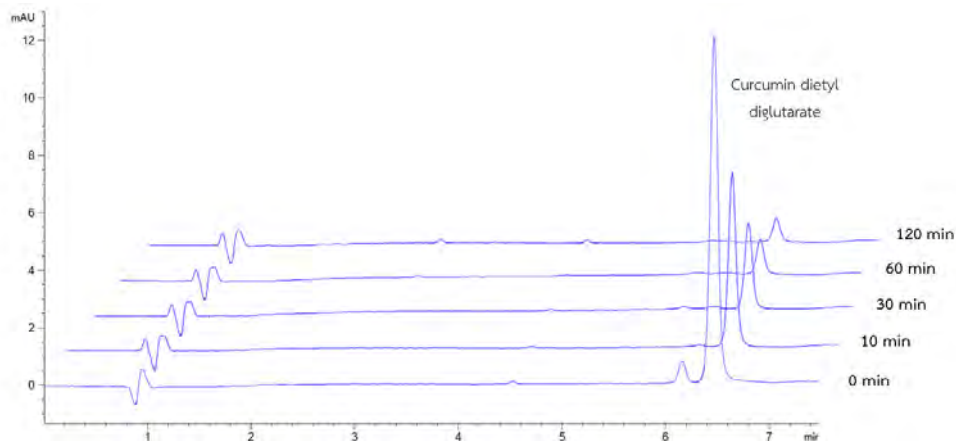
รูปที่ 42 Chromatogram ของการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2 ณ เวลาต่างๆ



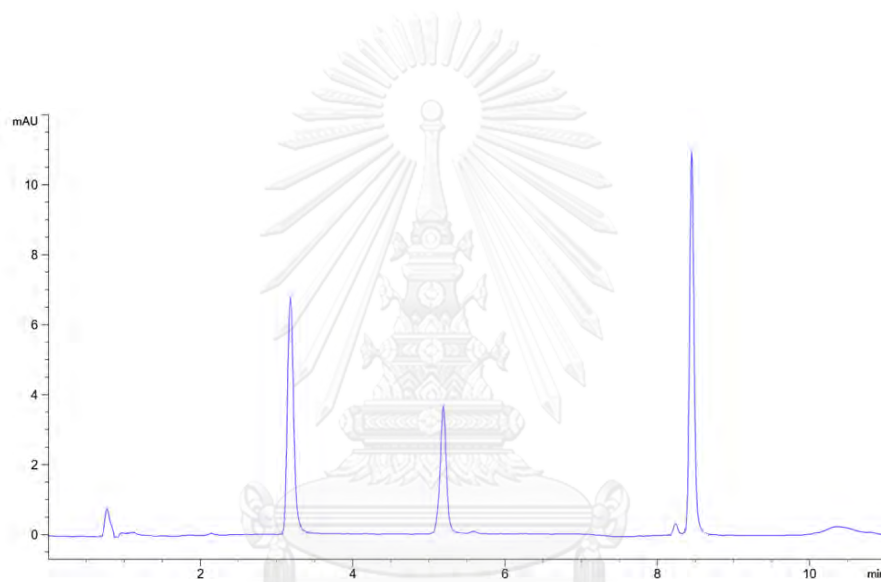
รูปที่ 43 Chromatogram ของการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 ณ เวลาต่างๆ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

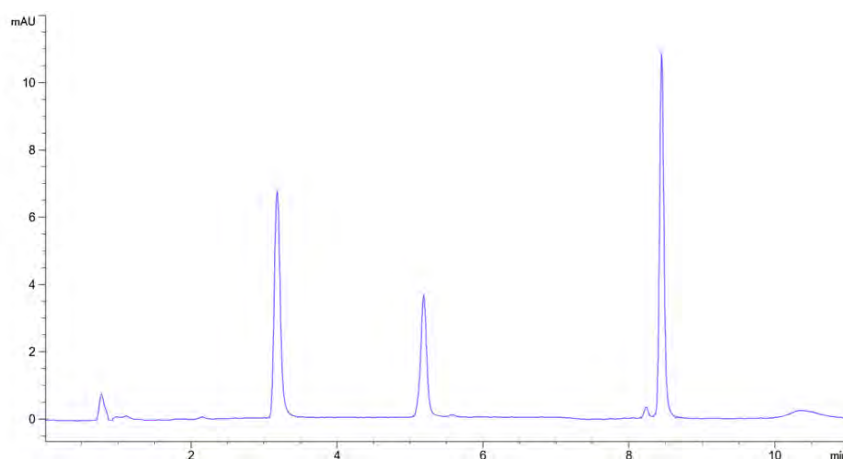
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



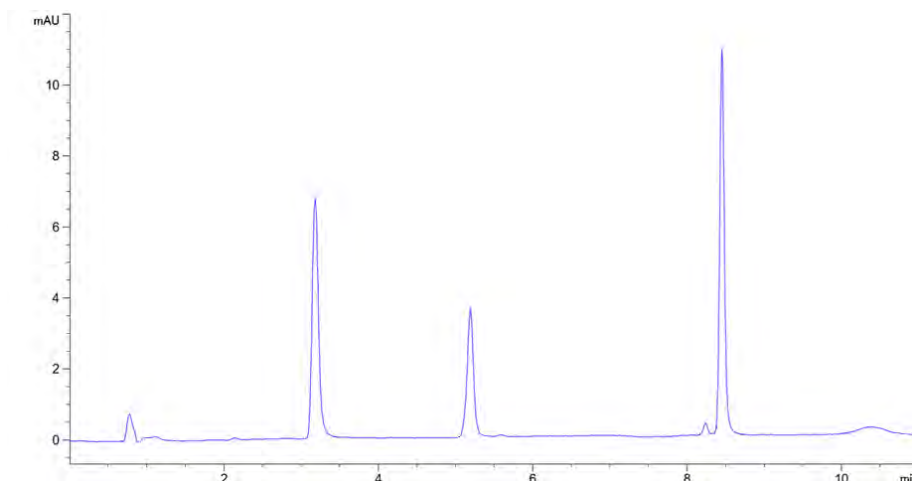
รูปที่ 44 Chromatogram ของการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 ณ เวลาต่างๆ



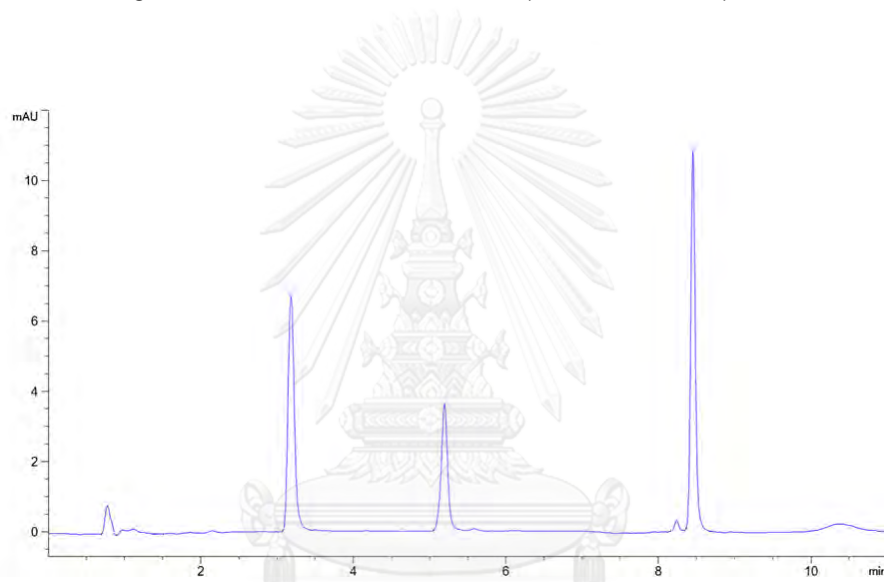
รูปที่ 45 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability1) ในพลาสมามนุษย์



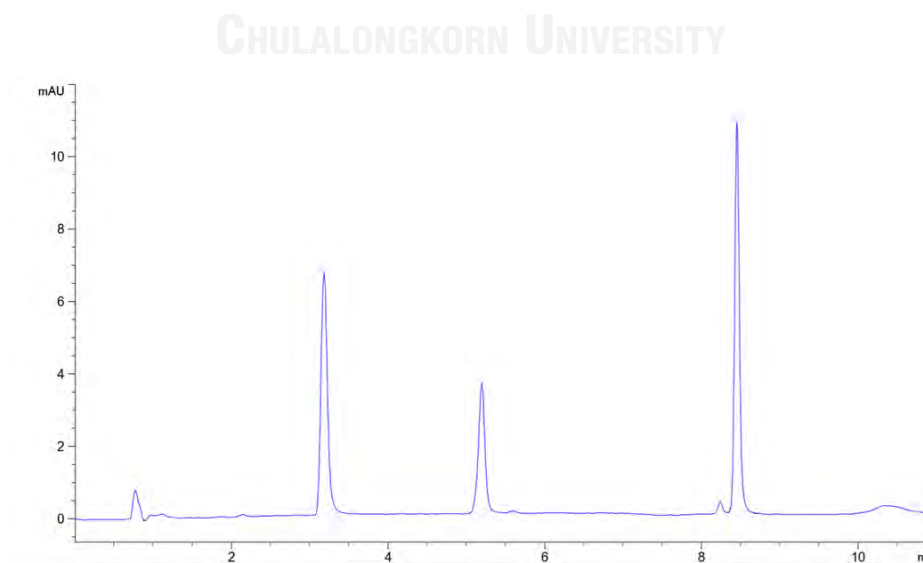
รูปที่ 46 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability2) ในพลาสมามนุษย์
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด



รูปที่ 47 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability3) ในพลาสมามนุษย์

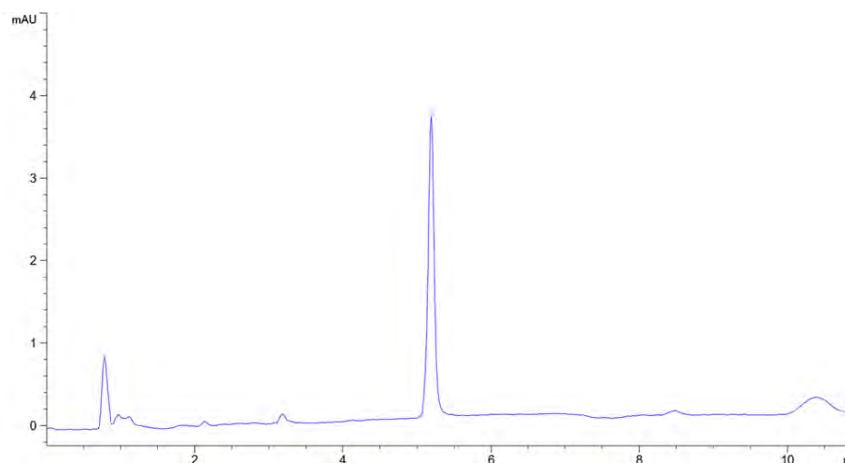


รูปที่ 48 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (system suitability4) ในพลาสมามนุษย์

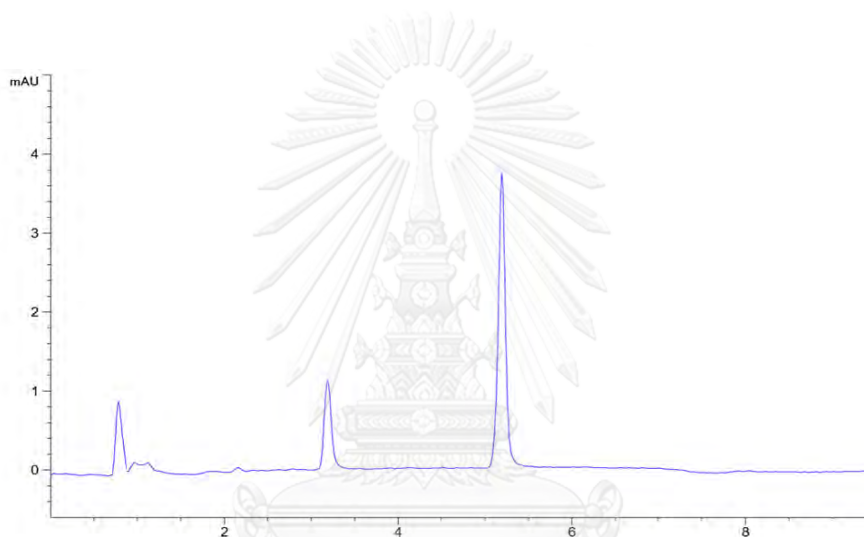


รูปที่ 49 Chromatogram ของ curcumin และ CDG (System suitability5) ในพลาสมามนุษย์
 บทความและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
 เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

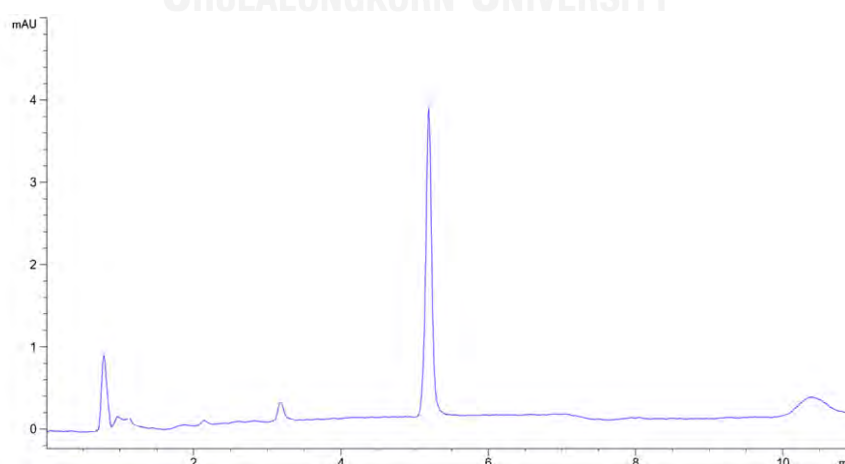
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
 are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 50 Chromatogram ของ curcumin 0.05 μM (STD 1) ในพลาสมามนุษย์



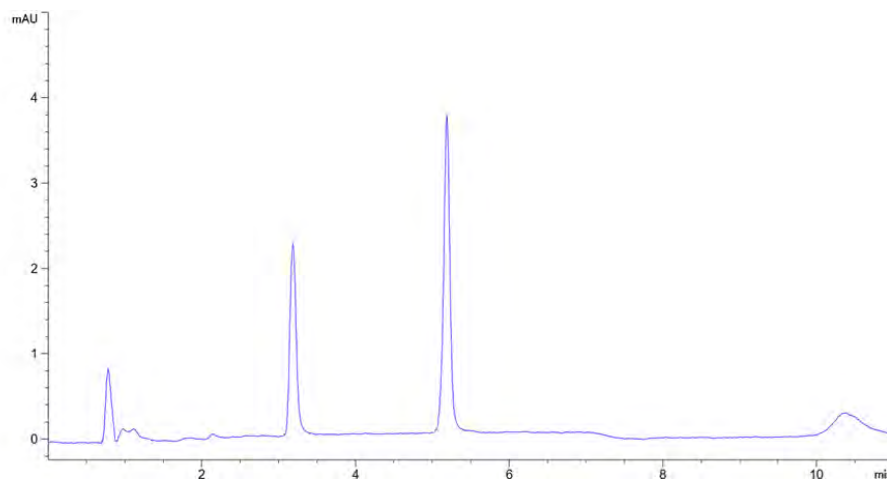
รูปที่ 51 Chromatogram ของ curcumin 0.1 μM (STD 2) ในพลาสมามนุษย์



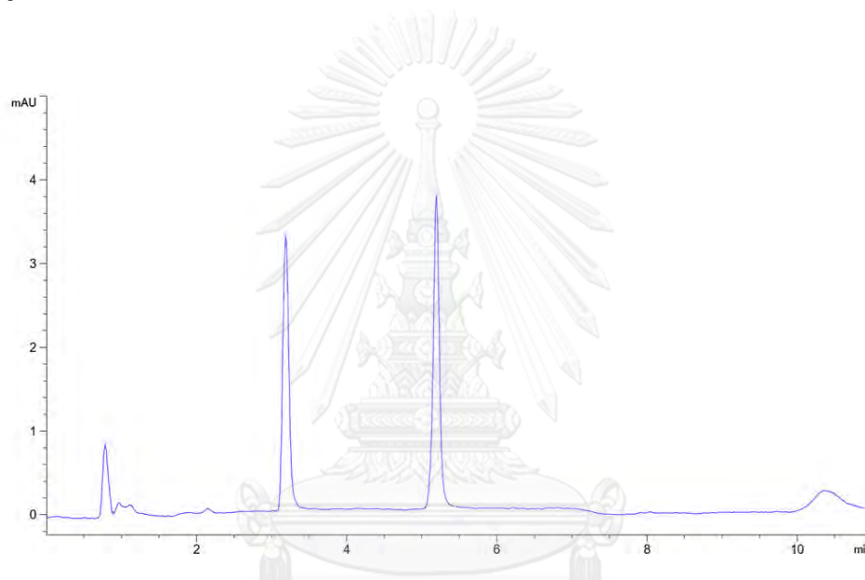
รูปที่ 52 Chromatogram ของ curcumin 0.5 μM (STD 3) ในพลาสมามนุษย์

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

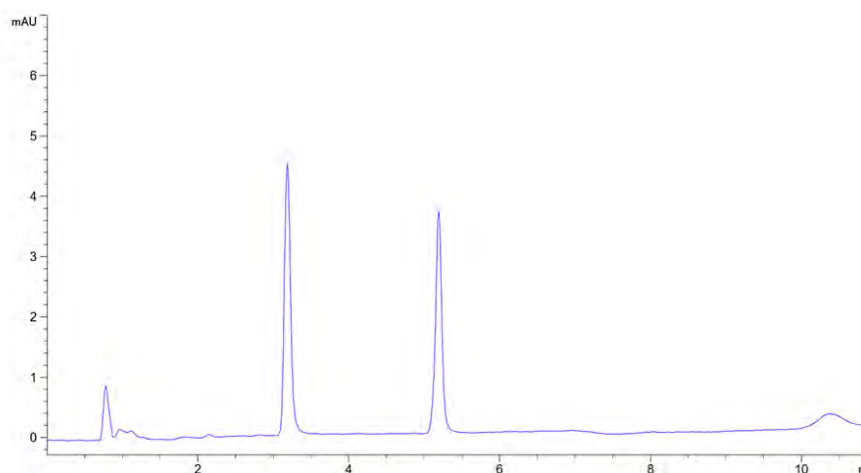
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 53 Chromatogram ของ curcumin 1 μM (STD 4) ในพลาสมามนุษย์



รูปที่ 54 Chromatogram ของ curcumin 1.5 μM (STD 5) ในพลาสมามนุษย์

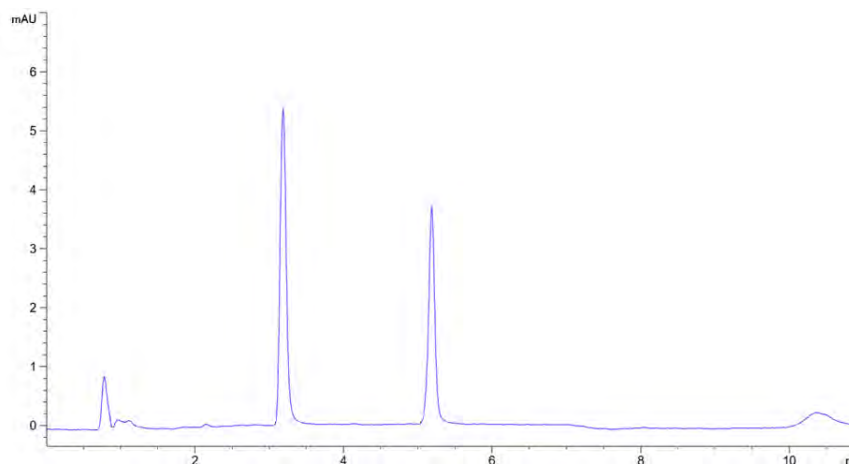


รูปที่ 55 Chromatogram ของ curcumin 2 μM (STD 6) ในพลาสมามนุษย์

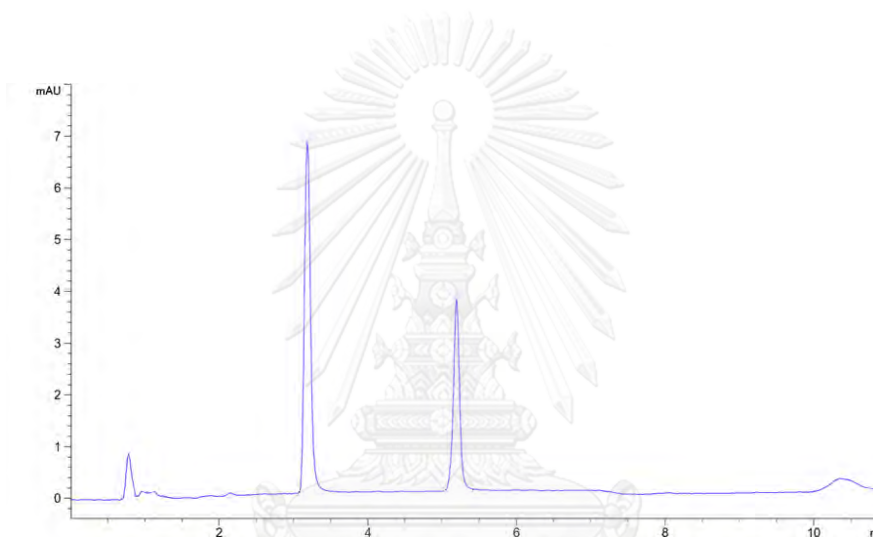
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

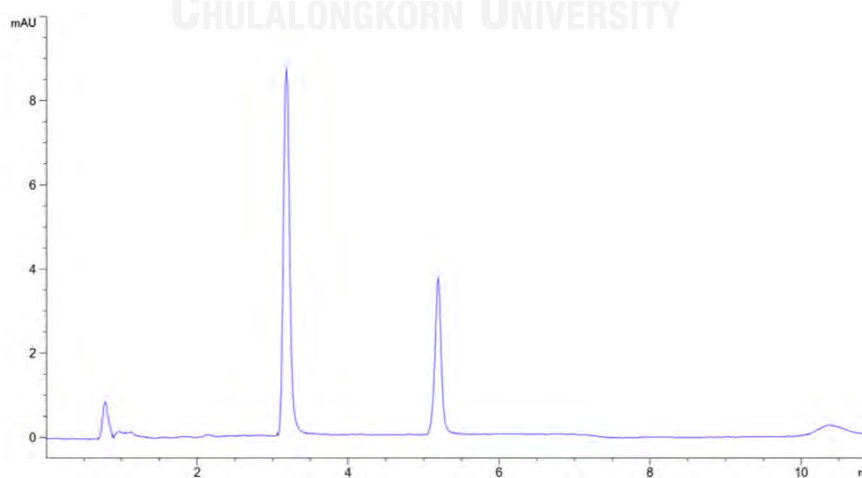
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 56 Chromatogram ของ curcumin 2.5 μM (STD 7) ในพลาสมามนุษย์



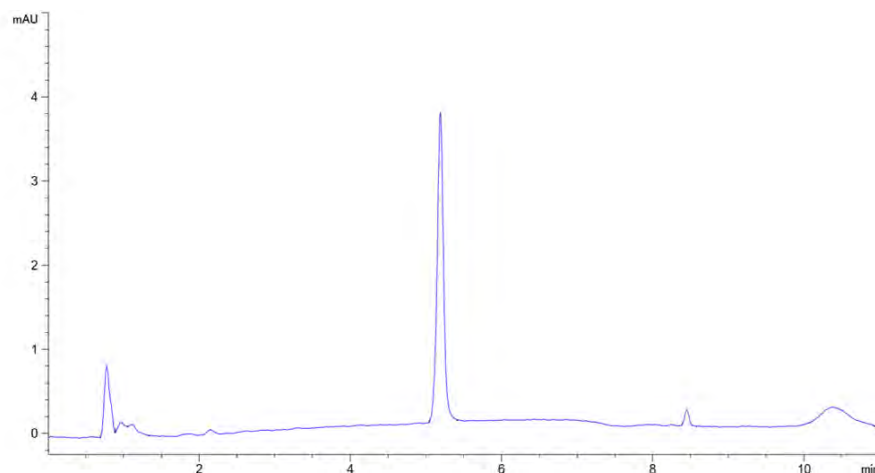
รูปที่ 57 Chromatogram ของ curcumin 3.2 μM (STD 8) ในพลาสมามนุษย์



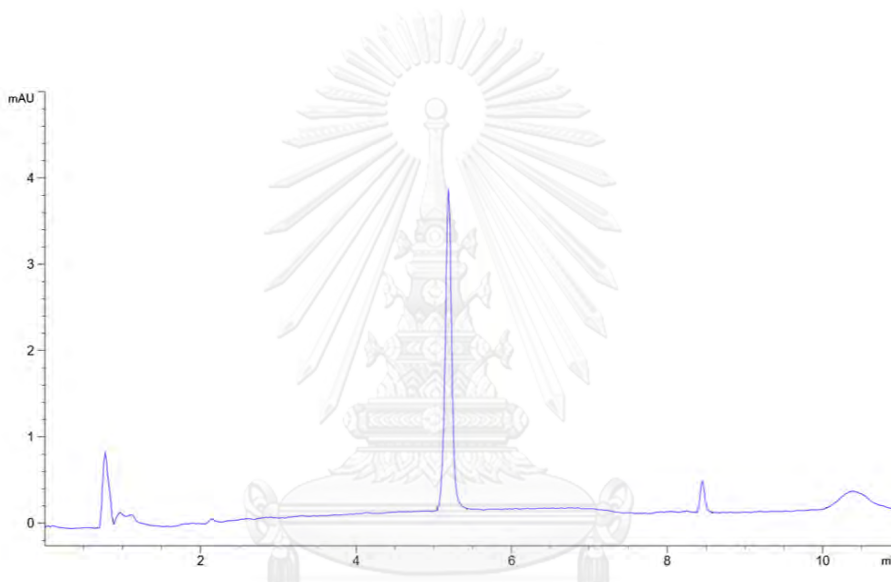
รูปที่ 58 Chromatogram ของ curcumin 4 μM (STD 9) ในพลาสมามนุษย์

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

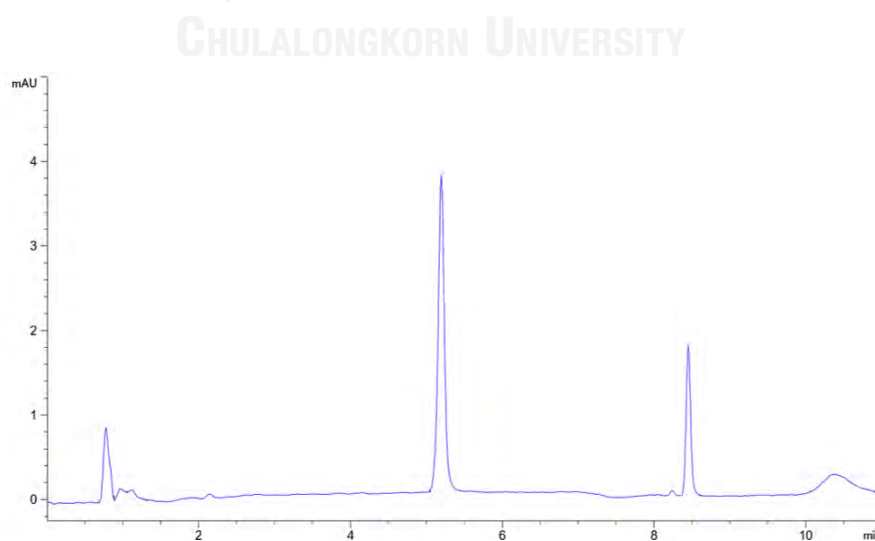
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 59 Chromatogram ของ CDG 0.05 μM (STD 1) ในพลาสมามนุษย์



รูปที่ 60 Chromatogram ของ CDG 0.1 μM (STD 2) ในพลาสมามนุษย์

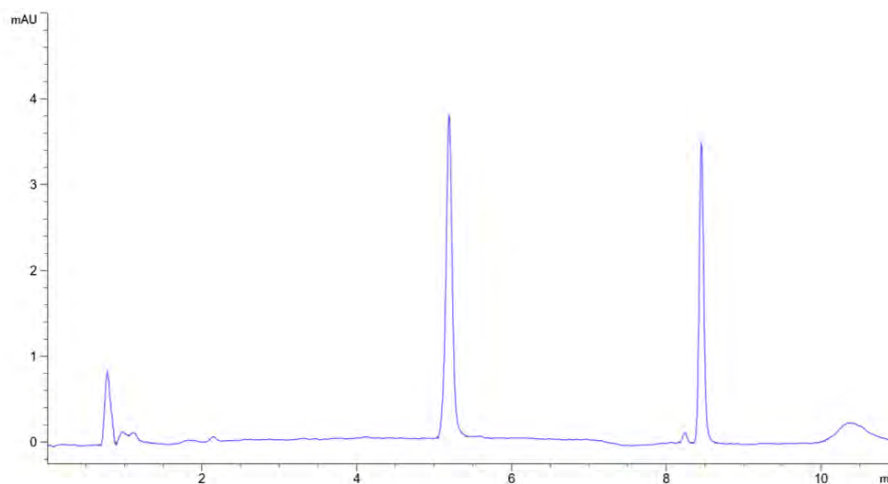


รูปที่ 61 Chromatogram ของ CDG 0.5 μM (STD 3) ในพลาสมามนุษย์

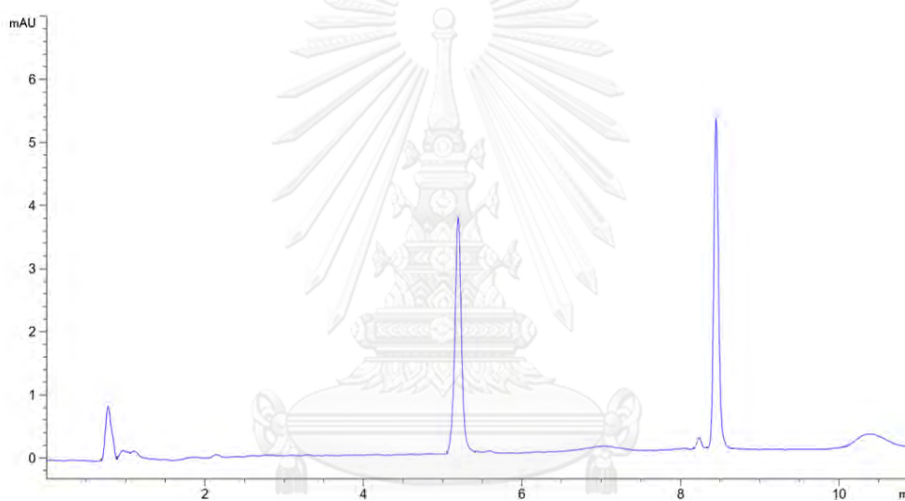
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

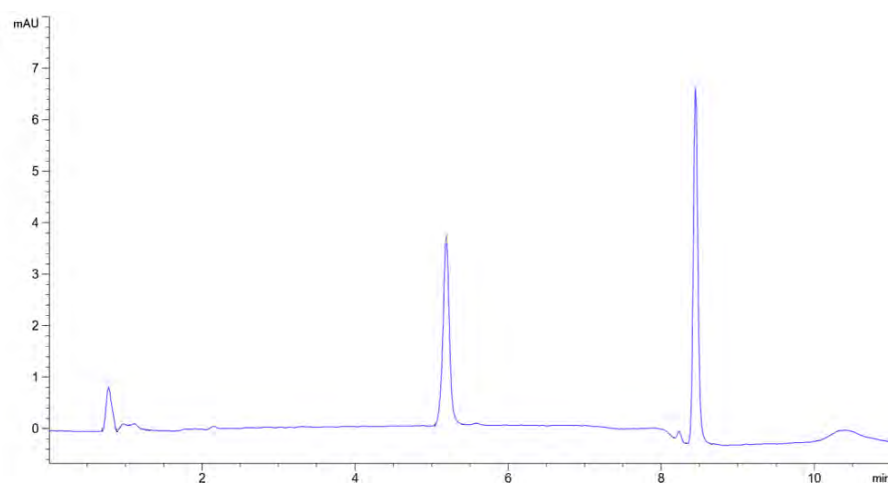
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 62 Chromatogram ของ CDG 1 μM (STD 4) ในพลาสมามนุษย์



รูปที่ 63 Chromatogram ของ CDG 1.5 μM (STD 5) ในพลาสมามนุษย์



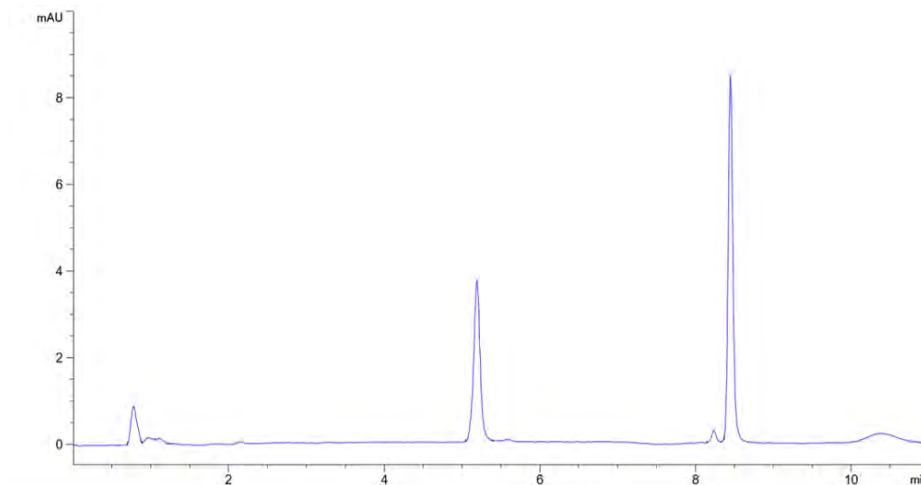
รูปที่ 64 Chromatogram ของ CDG 2 μM (STD 6) ในพลาสมามนุษย์

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

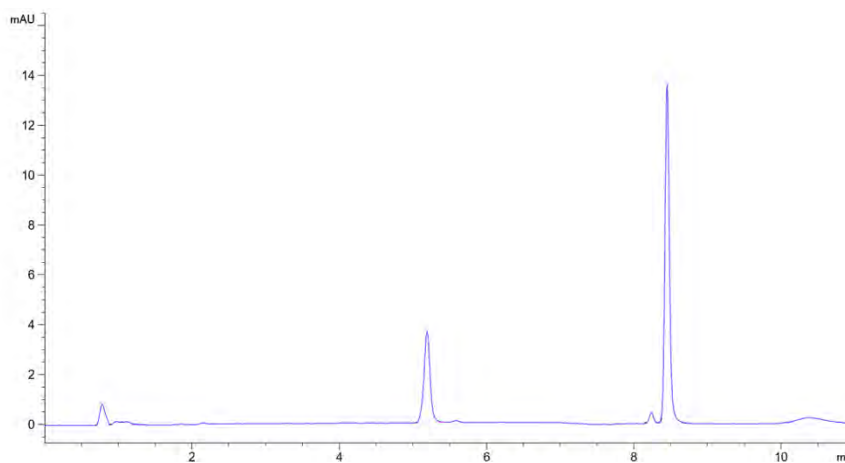
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 65 Chromatogram ของ CDG 2.5 μM (STD 7) ในพลาสมามนุษย์



รูปที่ 66 Chromatogram ของ CDG 3.2 μM (STD 8) ในพลาสมามนุษย์



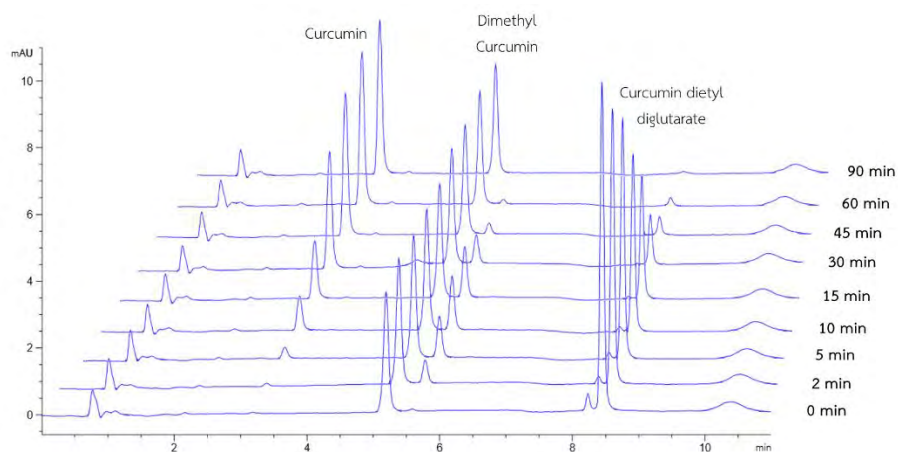
รูปที่ 67 Chromatogram ของ CDG 4 μM (STD 9) ในพลาสมามนุษย์

บทความและข้อมูลเพิ่มเติมของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นข้อมูลเพิ่มเติมของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 68 Chromatogram ของการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ ณ เวลาต่างๆ



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของ standard solutions ของ curcumin ที่ใช้ในการสร้าง calibration curve
ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

ชื่อสารละลาย	ความเข้มข้น เริ่มต้น (μM)	ปริมาตรเริ่มต้น (μL)	ปริมาตรสุดท้าย (μL)	ความเข้มข้น สุดท้าย (μM)
Curcumin standard 1	0.500	100	1000	0.050
Curcumin standard 2	1.000	100	1000	0.100
Curcumin standard 3	2.000	100	1000	0.200
Curcumin standard 4	4.001	100	1000	0.400
Curcumin standard 5	8.001	100	1000	0.800
Curcumin standard 6	16.002	100	1000	1.600

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 7 ความเข้มข้นของ standard solutions ของ CDG ที่ใช้ในการสร้าง calibration curve
ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

ชื่อสารละลาย	ความเข้มข้นเริ่มต้น (μM)	ปริมาตรเริ่มต้น (μL)	ปริมาตรสุดท้าย (μL)	ความเข้มข้นสุดท้าย (μM)
CDG standard 1	0.500	100	1000	0.050
CDG standard 2	1.000	100	1000	0.100
CDG standard 3	1.999	100	1000	0.200
CDG standard 4	3.999	100	1000	0.400
CDG standard 5	7.998	100	1000	0.800
CDG standard 6	15.995	100	1000	1.600

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 8 ความเข้มข้นของ standard solutions ของ curcumin ที่ใช้ในการสร้าง calibration curve ในพลาสติกมนุษย์

ชื่อสารละลาย	ความเข้มข้นเริ่มต้น (μM)	ปริมาตรเริ่มต้น (μL)	ปริมาตรสุดท้าย (μL)	ความเข้มข้น สุดท้าย (μM)
Curcumin standard 1	1.000	10	1000	0.050
Curcumin standard 2	2.000	10	200	0.100
Curcumin standard 3	10.001	10	200	0.500
Curcumin standard 4	20.003	10	200	1.000
Curcumin standard 5	30.004	10	200	1.500
Curcumin standard 6	40.006	10	200	2.000
Curcumin standard 7	50.007	10	200	2.500
Curcumin standard 8	64.009	10	200	3.200
Curcumin standard 9	80.011	10	200	4.001



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 9 ความเข้มข้นของ standard solutions ของ CDG ที่ใช้ในการสร้าง calibration curve ในพลาสมามนุษย์

ชื่อสารละลาย	ความเข้มข้นเริ่มต้น (μM)	ปริมาตรเริ่มต้น (μL)	ปริมาตรสุดท้าย (μL)	ความเข้มข้น สุดท้าย (μM)
CDG standard 1	1.000	10	1000	0.050
CDG standard 2	1.999	10	200	0.100
CDG standard 3	9.997	10	200	0.500
CDG standard 4	19.994	10	200	1.000
CDG standard 5	29.991	10	200	1.500
CDG standard 6	39.988	10	200	1.999
CDG standard 7	49.985	10	200	2.499
CDG standard 8	63.981	10	200	3.199
CDG standard 9	79.977	10	200	3.999

ตารางที่ 10 Peak area ของ curcumin และ CDG ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Curcumin		CDG	
Concentration (μM)	peak area	Concentration (μM)	peak area
0.050	0.84	0.050	2.5
0.100	2.3	0.100	5.1
0.200	5.5	0.200	10.1
0.400	16	0.400	20.9
0.800	32.8	0.800	39.8
1.600	67.1	1.600	79.1



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 11 ผลการศึกษาความคงตัวของ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

Time (min)	N1			N2			N3		
	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration
0	57.6	1.38	0.321	57.7	1.38	0.322	57.5	1.38	0.319
5	25.2	0.63	-0.465	24.1	0.60	-0.507	21	0.53	-0.634
10	18.4	0.47	-0.754	19.2	0.49	-0.715	17.6	0.45	-0.794
15	17.9	0.46	-0.779	16.9	0.44	-0.831	16.4	0.42	-0.857
20	14.7	0.38	-0.955	15.3	0.40	-0.919	13.5	0.36	-1.030
25	14.4	0.38	-0.973	13.4	0.35	-1.036	13.1	0.35	-1.056
30	12	0.32	-1.132	12.5	0.33	-1.097	11.2	0.30	-1.191
40	10	0.28	-1.287	10.5	0.29	-1.246	9.1	0.26	-1.366
50	8.8	0.25	-1.393	8.7	0.25	-1.402	8.4	0.24	-1.431
60	7.6	0.22	-1.512	7.6	0.22	-1.512	6.7	0.20	-1.611

ตารางที่ 12 ผลการศึกษาความคงตัวของ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 (ต่อ)

Time (min)	N1			N2			N3		
	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration
75	6.1	0.19	-1.683	5.6	0.17	-1.747	5.2	0.16	-1.802
90	4.9	0.16	-1.845	4.6	0.15	-1.890	4.8	0.16	-1.860
120	3.5	0.13	-2.075	3.1	0.12	-2.151	3.2	0.12	-2.131
180	1.7	0.08	-2.478	1.7	0.08	-2.478	1.7	0.08	-2.478
240	0.87	0.06	-2.737	1.1	0.07	-2.658	0.97	0.07	-2.702
360	0	0.04	-3.110	0.61	0.06	-2.835	0.64	0.06	-2.823



ตารางที่ 13 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

Time (min)	N1			N2			N3		
	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration
0	77.6	1.57	0.448	67.9	1.37	0.314	69.2	1.40	0.333
5	48.6	0.98	-0.022	47.1	0.95	-0.054	50.6	1.02	0.018
10	36.6	0.73	-0.308	44.9	0.90	-0.102	37.7	0.76	-0.278
15	33.3	0.67	-0.404	37.2	0.75	-0.292	35.4	0.71	-0.342
20	28.4	0.57	-0.565	35.2	0.71	-0.348	29.8	0.60	-0.516
25	28.2	0.56	-0.572	27.6	0.55	-0.594	28.2	0.56	-0.572
30	20.1	0.40	-0.916	20.1	0.40	-0.916	21.3	0.42	-0.857
40	21.1	0.42	-0.866	20.8	0.41	-0.881	20.6	0.41	-0.891
50	15.6	0.31	-1.175	15.2	0.30	-1.201	16.3	0.32	-1.130
60	14.5	0.29	-1.250	14.7	0.29	-1.235	16	0.32	-1.149

ตารางที่ 14 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 (ต่อ)

Time (min)	N1			N2			N3		
	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration
75	10.6	0.21	-1.572	10.9	0.21	-1.543	10.3	0.20	-1.602
90	12.7	0.25	-1.386	11.6	0.23	-1.479	14.5	0.29	-1.250
120	8.2	0.16	-1.839	7.6	0.15	-1.919	9.4	0.18	-1.697
180	7.4	0.14	-1.947	5.6	0.11	-2.242	6.8	0.13	-2.036
240	5.1	0.10	-2.343	3.3	0.06	-2.820	4.1	0.08	-2.580
360	1.6	0.03	-3.684	2.1	0.04	-3.345	3.5	0.06	-2.755

ตารางที่ 15 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2

Time (min)	N1			N2			N3		
	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration
0	66.3	1.34	0.290	67.1	1.35	0.302	66.6	1.34	0.295
5	36.3	0.73	-0.317	40.2	0.81	-0.214	33.5	0.67	-0.398
10	22.9	0.46	-0.783	30.3	0.61	-0.499	28.5	0.57	-0.561
15	21.9	0.44	-0.829	25.5	0.51	-0.674	22.9	0.46	-0.783
20	14.7	0.29	-1.235	19.7	0.39	-0.936	19.2	0.38	-0.963
25	14.2	0.28	-1.271	17.9	0.36	-1.034	15.4	0.30	-1.188
30	10	0.20	-1.633	13.2	0.26	-1.346	13.5	0.27	-1.323
40	7.2	0.14	-1.976	10.4	0.20	-1.592	10.3	0.20	-1.602
50	4.7	0.09	-2.431	7	0.13	-2.006	7.4	0.14	-1.947
60	3.1	0.06	-2.891	4.8	0.09	-2.408	5.5	0.10	-2.262
75	4.8	0.09	-2.408	7.5	0.14	-1.933	7.1	0.14	-1.991
90	3.2	0.06	-2.855	5.1	0.10	-2.343	4.7	0.09	-2.431
120	1.1	0.01	-4.201	2	0.03	-3.404	2.1	0.04	-3.345

ตารางที่ 16 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5

Time (min)	N1			N2			N3		
	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration
0	69.3	1.40	0.335	69.4	1.40	0.336	73.6	1.48	0.395
5	46.7	0.94	-0.062	51.8	1.04	0.042	55.3	1.11	0.108
10	41.9	0.84	-0.172	48	0.97	-0.035	47.3	0.95	-0.050
15	34.1	0.68	-0.380	43.4	0.87	-0.136	42.9	0.86	-0.148
20	33.6	0.67	-0.395	39.7	0.80	-0.226	38.8	0.78	-0.249
25	28.1	0.56	-0.576	35.6	0.71	-0.336	35	0.70	-0.353
30	27.8	0.56	-0.586	32.2	0.65	-0.438	32.2	0.65	-0.438
40	23.8	0.48	-0.744	28.4	0.57	-0.565	27.8	0.56	-0.586
50	18.6	0.37	-0.995	23.9	0.48	-0.740	23.1	0.46	-0.774
60	15.6	0.31	-1.175	18.8	0.37	-0.984	18.7	0.37	-0.989
75	16.4	0.33	-1.123	19	0.38	-0.973	14.7	0.29	-1.235
90	12.8	0.25	-1.378	15.6	0.31	-1.175	13.5	0.27	-1.323
120	6	0.11	-2.169	8.3	0.16	-1.827	7.9	0.15	-1.878

ตารางที่ 17 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8

Time (min)	N1			N2			N3		
	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration	Peak area	Concentration (μM)	ln Concentration
0	69.3	1.40	0.335	67.2	1.36	0.304	66.7	1.34	0.296
5	39.6	0.80	-0.229	38.5	0.77	-0.257	35.1	0.70	-0.351
10	36	0.72	-0.325	30.1	0.60	-0.506	26	0.52	-0.654
15	27	0.54	-0.616	24.8	0.50	-0.702	22.8	0.45	-0.788
20	22.9	0.46	-0.783	20.4	0.41	-0.901	17.7	0.35	-1.046
25	19.6	0.39	-0.942	16.9	0.34	-1.093	16.4	0.33	-1.123
30	16.2	0.32	-1.136	15.1	0.30	-1.208	12.2	0.24	-1.427
40	12.3	0.24	-1.419	11.5	0.23	-1.488	8.8	0.17	-1.766
50	8.3	0.16	-1.827	8.3	0.16	-1.827	6.4	0.12	-2.100
60	5.9	0.11	-2.187	6.2	0.12	-2.134	4.6	0.09	-2.454
75	9.8	0.19	-1.654	9.4	0.18	-1.697	7.2	0.14	-1.976
90	7.6	0.15	-1.919	7	0.13	-2.006	5.4	0.10	-2.281
120	4.8	0.09	-2.408	4.4	0.08	-2.503	8.6	0.17	-1.790

ตารางที่ 18 peak area ของ curcumin ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในพลาสมามนุษย์

Concentration(μM)	Peak area		Peak area ratio
	Curcumin	Internal standard (DMC)	
0.050	0.75	21.4	0.0350
0.100	1.5	21.5	0.0698
0.500	6.6	21.5	0.3070
1.000	13.1	21.4	0.6121
1.500	18.9	21.6	0.8750
2.000	26.2	21.9	1.1963
2.500	32	21.9	1.4612
3.200	40.2	22.2	1.8108
4.001	51.5	22	2.3409

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 19 peak area ของ CDG ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในพลาสติกมนุษย์

Concentration(μM)	Peak area		Peak area ratio
	CDG	Internal standard (DMC)	
0.050	0.77	21.6	0.0356
0.100	1.5	21.7	0.0691
0.500	7.5	21.7	0.3456
1.000	14.7	21.7	0.6774
1.500	22.3	21.7	1.0276
1.999	29.3	21.5	1.3628
2.499	36.3	21.6	1.6806
3.199	46.2	21.4	2.1589
3.999	58.5	21.4	2.7336

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 20 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N1)

No.	Time (min)	Peak area				Peak area ratio			% Remaining	% Formation		Concentration (μM)		ln concentration	
		CUR	CDG	intermediate	DMC	CUR*	CDG	Intermediate	CDG	CUR	intermediate	CUR	CDG	CUR	CDG
1	0	0	41.8	0	20.5	0.0000	2.0390	0.0000	100.0000	0.0000	0.0000	-0.0309	3.0014	-	1.0991
2	1	0	39	2.1	21	0.0000	1.8571	0.1000	91.0800	0.0000	5.3846	-0.0309	2.7335	-	1.0056
3	2	0	37.7	3.5	21.4	0.0000	1.7617	0.1636	86.3983	0.0000	8.8066	-0.0309	2.5928	-	0.9528
4	3	0.81	35.7	4.6	21.3	0.0380	1.6761	0.2160	82.1989	1.8650	11.6287	0.0071	2.4667	-4.9479	0.9029
5	4	1.3	33.7	5.6	21.1	0.0616	1.5972	0.2654	78.3294	3.0216	14.2909	0.0307	2.3505	-3.4841	0.8546
6	5	1.8	33.1	6.7	21.2	0.0849	1.5613	0.3160	76.5720	4.1640	17.0174	0.0540	2.2977	-2.9192	0.8319
7	7.5	4.3	27.8	8	21	0.2048	1.3238	0.3810	64.9237	10.0422	20.5128	0.1738	1.9479	-1.7497	0.6667
8	10	6.5	24	8.7	21.4	0.3037	1.1215	0.4065	55.0016	14.8963	21.8907	0.2728	1.6499	-1.2990	0.5007
9	15	10.7	17.1	8.5	21.1	0.5071	0.8104	0.4028	39.7458	24.8702	21.6916	0.4762	1.1917	-0.7420	0.1754
10	20	15.4	11.4	7.2	21.4	0.7196	0.5327	0.3364	26.1257	35.2927	18.1165	0.6887	0.7826	-0.3730	-0.2451
11	25	18.8	8	5.7	21.2	0.8868	0.3774	0.2689	18.5068	43.4910	14.4775	0.8559	0.5538	-0.1556	-0.5910
12	30	22.6	6.9	4.4	21.7	1.0415	0.3180	0.2028	15.5943	51.0771	10.9181	1.0105	0.4663	0.0105	-0.7629

หมายเหตุ *CUR ใช้เรียกแทน curcumin ในตาราง

ตารางที่ 21 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N1) (ต่อ)

No.	Time (min)	Peak area				Peak area ratio			% Remaining	% Formation		Concentration (μM)		ln concentration	
		CUR	CDG	intermediate	DMC	CUR*	CDG	Intermediate	CDG	CUR	intermediate	CUR	CDG	CUR	CDG
13	45	27.9	2.9	1.6	20.9	1.3349	0.1388	0.0766	6.8050	65.4690	4.1222	1.3040	0.2023	0.2654	-1.5979
14	60	30	1.1	0	21.1	1.4218	0.0521	0.0000	2.5567	69.7295	0.0000	1.3909	0.0747	0.3299	-2.5939
15	75	26.5	1.7	0.29	20.2	1.3119	0.0842	0.0144	4.1274	64.3387	0.7730	1.2810	0.1219	0.2476	-2.1045
16	90	30.3	0	0	21	1.4429	0.0000	0.0000	0.0000	70.7621	0.0000	1.4119	-0.0021	0.3450	-
17	120	32.6	0	0	20.9	1.5598	0.0000	0.0000	0.0000	76.4978	0.0000	1.5289	-0.0021	0.4245	-
18	180	27.4	0	0	19.5	1.4051	0.0000	0.0000	0.0000	68.9118	0.0000	1.3742	-0.0021	0.3179	-

หมายเหตุ *CUR ใช้เรียกแทน curcumin ในตาราง



ตารางที่ 22 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสติกชีวภาพ (N2)

No.	Time (min)	Peak area				Peak area ratio			% Remaining	% Formation		Concentration (μM)		ln concentration	
		CUR	CDG	intermediate	DMC	CUR*	CDG	Intermediate	CDG	CUR	intermediate	CUR	CDG	CUR	CDG
1	0	0	42.4	0	20.5	0.0000	2.0683	0.0000	100.0000	0.0000	0.0000	-0.0309	3.0445	-	1.1133
2	1	0	37.1	2.2	20.8	0.0000	1.7837	0.1058	86.2380	0.0000	5.1138	-0.0309	2.6252	-	0.9652
3	2	0	35.6	3.6	21.2	0.0000	1.6792	0.1698	81.1899	0.0000	8.2102	-0.0309	2.4714	-	0.9048
4	3	0.85	36.2	4.8	21.2	0.0401	1.7075	0.2264	82.5583	1.9385	10.9470	0.0092	2.5131	-4.6924	0.9215
5	4	1.4	34	5.8	21.1	0.0664	1.6114	0.2749	77.9084	3.2080	13.2903	0.0354	2.3714	-3.3404	0.8635
6	5	2	32.4	6.7	21.2	0.0943	1.5283	0.3160	73.8920	4.5612	15.2801	0.0634	2.2491	-2.7581	0.8105
7	7.5	4	27	7.9	20.8	0.1923	1.2981	0.3798	62.7608	9.2979	18.3633	0.1614	1.9100	-1.8240	0.6471
8	10	6.2	24.3	8.8	21	0.2952	1.1571	0.4190	55.9468	14.2745	20.2606	0.2643	1.7024	-1.3306	0.5320
9	15	10.6	17.2	8.4	20.5	0.5171	0.8390	0.4098	40.5660	25.0000	19.8113	0.4861	1.2338	-0.7213	0.2101
10	20	16	13.4	7.6	21.3	0.7512	0.6291	0.3568	30.4168	36.3185	17.2513	0.7202	0.9246	-0.3282	-0.0784
11	25	19	10	6.1	21.2	0.8962	0.4717	0.2877	22.8062	43.3317	13.9118	0.8653	0.6927	-0.1447	-0.3671
12	30	21.7	7.3	4.7	20.9	1.0383	0.3493	0.2249	16.8875	50.1997	10.8728	1.0073	0.5124	0.0073	-0.6686

หมายเหตุ *CUR ใช้เรียกแทน curcumin ในตาราง

ตารางที่ 23 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N2) (ต่อ)

No.	Time (min)	Peak area				Peak area ratio			% Remaining	% Formation		Concentration (μM)		ln concentration	
		CUR	CDG	intermediate	DMC	CUR*	CDG	Intermediate	CDG	CUR	intermediate	CUR	CDG	CUR	CDG
13	45	27	3.2	1.8	20.5	1.3171	0.1561	0.0878	7.5472	63.6792	4.2453	1.2861	0.2279	0.2516	-1.4790
14	60	29.7	1.6	0.69	21.2	1.4009	0.0755	0.0325	3.6490	67.7343	1.5736	1.3700	0.1091	0.3148	-2.2154
15	75	29.8	0.77	0	20.7	1.4396	0.0372	0.0000	1.7985	69.6040	0.0000	1.4087	0.0527	0.3427	-2.9426
16	90	30.1	0	0	20.8	1.4471	0.0000	0.0000	0.0000	69.9667	0.0000	1.4162	-0.0021	0.3480	-
17	120	30.4	0	0	21	1.4476	0.0000	0.0000	0.0000	69.9910	0.0000	1.4167	-0.0021	0.3483	-
18	180	31.2	0	0	20.9	1.4928	0.0000	0.0000	0.0000	72.1766	0.0000	1.4619	-0.0021	0.3797	-

หมายเหตุ *CUR ใช้เรียกแทน curcumin ในตาราง



ตารางที่ 24 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสติกมนุษย์ (N3)

No.	Time (min)	Peak area				Peak area ratio			% Remaining	% Formation		Concentration (μM)		ln concentration	
		CUR	CDG	intermediate	DMC	CUR*	CDG	Intermediate	CDG	CUR	intermediate	CUR	CDG	CUR	CDG
1	0	0	42.4	0	20.5	0.0000	2.0683	0.0000	100.0000	0.0000	0.0000	-0.0309	3.0445	-	1.1133
2	1	0	38.9	2.1	20.7	0.0000	1.8792	0.1014	90.8589	0.0000	4.9050	-0.0309	2.7660	-	1.0174
3	2	0	36.9	3.7	21.2	0.0000	1.7406	0.1745	84.1547	0.0000	8.4383	-0.0309	2.5617	-	0.9407
4	3	0.76	35.2	4.9	21.4	0.0355	1.6449	0.2290	79.5274	1.7171	11.0706	0.0046	2.4208	-5.3851	0.8841
5	4	1.3	33.7	5.8	21.1	0.0616	1.5972	0.2749	77.2210	2.9789	13.2903	0.0307	2.3505	-3.4841	0.8546
6	5	1.8	31.6	6.7	21.3	0.0845	1.4836	0.3146	71.7291	4.0858	15.2084	0.0536	2.1832	-2.9266	0.7808
7	7.5	3.5	26.7	8.1	20.9	0.1675	1.2775	0.3876	61.7665	8.0967	18.7382	0.1365	1.8797	-1.9912	0.6311
8	10	5.8	23.1	9.1	21.6	0.2685	1.0694	0.4213	51.7066	12.9826	20.3693	0.2376	1.5732	-1.4372	0.4531
9	15	10.2	17.3	8.8	20.8	0.4904	0.8317	0.4231	40.2134	23.7096	20.4554	0.4595	1.2231	-0.7777	0.2014
10	20	14.6	12.4	7.9	21.5	0.6791	0.5767	0.3674	27.8850	32.8324	17.7655	0.6481	0.8475	-0.4336	-0.1655
11	25	18.2	9.8	6.4	21.2	0.8585	0.4623	0.3019	22.3500	41.5072	14.5959	0.8276	0.6788	-0.1893	-0.3874
12	30	21.5	7.3	5.1	21.6	0.9954	0.3380	0.2361	16.3402	48.1252	11.4157	0.9644	0.4957	-0.0362	-0.7017

หมายเหตุ *CUR ใช้เรียกแทน curcumin ในตาราง

ตารางที่ 25 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ (N3) (ต่อ)

No.	Time (min)	Peak area				Peak area ratio			% Remaining	% Formation		Concentration (μM)		ln concentration	
		CUR	CDG	intermediate	DMC	CUR*	CDG	Intermediate	CDG	CUR	intermediate	CUR	CDG	CUR	CDG
13	45	26.9	3	2	20.8	1.2933	0.1442	0.0962	6.9734	62.5283	4.6489	1.2623	0.2104	0.2330	-1.5588
14	60	29	1.2	0.65	20.9	1.3876	0.0574	0.0311	2.7760	67.0872	1.5037	1.3566	0.0825	0.3050	-2.4948
15	75	29.3	0.56	0	20.6	1.4223	0.0272	0.0000	1.3143	68.7683	0.0000	1.3914	0.0380	0.3303	-3.2707
16	90	29.6	0	0	20.8	1.4231	0.0000	0.0000	0.0000	68.8044	0.0000	1.3921	-0.0021	0.3308	-
17	120	29.4	0	0	20.7	1.4203	0.0000	0.0000	0.0000	68.6697	0.0000	1.3894	-0.0021	0.3288	-
18	180	29.1	0	0	20.9	1.3923	0.0000	0.0000	0.0000	67.3185	0.0000	1.3614	-0.0021	0.3085	-

หมายเหตุ *CUR ใช้เรียกแทน curcumin ในตาราง



ตารางที่ 26 ผลการศึกษาความคงตัวของ curcumin ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่ อุณหภูมิ 37 °C

Time (min)	ln Concentration			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	0.320	0.322	0.319	0.32	0.00
5	-0.465	-0.507	-0.634	-0.54	0.09
10	-0.754	-0.715	-0.794	-0.75	0.04
15	-0.779	-0.831	-0.858	-0.82	0.04
20	-0.955	-0.920	-1.030	-0.97	0.06
25	-0.973	-1.036	-1.056	-1.02	0.04
30	-1.132	-1.097	-1.191	-1.14	0.05
40	-1.287	-1.246	-1.366	-1.30	0.06
50	-1.393	-1.403	-1.431	-1.41	0.02
60	-1.512	-1.512	-1.611	-1.54	0.06
75	-1.683	-1.748	-1.802	-1.74	0.06
90	-1.845	-1.890	-1.860	-1.87	0.02
120	-2.075	-2.151	-2.132	-2.12	0.04
180	-2.478	-2.478	-2.478	-2.48	0.00
240	-2.738	-2.659	-2.702	-2.70	0.04

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 27 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่อุณหภูมิ 37 °C

Time (min)	ln Concentration			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	0.449	0.315	0.334	0.37	0.07
5	-0.022	-0.054	0.019	-0.02	0.04
10	-0.308	-0.102	-0.278	-0.23	0.11
15	-0.404	-0.292	-0.342	-0.35	0.06
20	-0.565	-0.347	-0.516	-0.48	0.11
25	-0.543	-0.594	-0.572	-0.57	0.03
30	-0.916	-0.916	-0.857	-0.90	0.03
40	-0.866	-0.881	-0.891	-0.88	0.01
50	-1.174	-1.201	-1.129	-1.17	0.04
60	-1.278	-1.235	-1.148	-1.22	0.07
75	-1.572	-1.543	-1.602	-1.57	0.03
90	-1.394	-1.479	-1.249	-1.37	0.12
120	-1.839	-1.919	-2.036	-1.93	0.10
180	-1.947	-2.242	-2.787	-2.33	0.43
240	-2.342	-2.820	-2.579	-2.58	0.24
360	-3.684	-3.345	-2.754	-3.26	0.47

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 28 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 1.2 ที่ อุณหภูมิ 37 °C

Time (min)	ln Concentration			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	0.291	0.303	0.295	0.30	0.01
5	-0.316	-0.213	-0.397	-0.31	0.09
10	-0.783	-0.499	-0.561	-0.61	0.15
15	-0.770	-0.631	-0.740	-0.71	0.07
20	-1.235	-0.936	-0.962	-1.04	0.17
25	-1.271	-1.034	-1.188	-1.16	0.12
30	-1.632	-1.346	-1.323	-1.43	0.17
40	-1.976	-1.506	-1.602	-1.69	0.25
50	-2.301	-2.005	-1.947	-2.08	0.19
60	-2.891	-2.408	-2.261	-2.52	0.33
75	-2.408	-1.933	-1.990	-2.11	0.26
90	-2.855	-2.342	-2.431	-2.54	0.27
120	-4.201	-3.404	-3.345	-3.65	0.48
180	-4.462	-2.478	-2.478	-3.14	1.15
240	-2.738	-2.659	-2.738	-2.71	0.05

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 29 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 ที่อุณหภูมิ 37 °C

Time (min)	ln Concentration			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	0.335	0.337	0.396	0.36	0.03
5	-0.062	0.042	0.108	0.03	0.09
10	-0.172	-0.035	-0.049	-0.09	0.08
15	-0.380	-0.136	-0.148	-0.22	0.14
20	-0.394	-0.226	-0.249	-0.29	0.09
25	-0.575	-0.336	-0.353	-0.42	0.13
30	-0.586	-0.437	-0.437	-0.49	0.09
40	-0.744	-0.565	-0.586	-0.63	0.10
50	-0.995	-0.740	-0.774	-0.84	0.14
60	-1.174	-0.984	-0.989	-1.05	0.11
75	-1.123	-0.973	-1.235	-1.11	0.13
90	-1.377	-1.105	-1.323	-1.27	0.14
120	-2.168	-1.826	-1.878	-1.96	0.18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 30 ผลการศึกษาความคงตัวของ CDG ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 ที่อุณหภูมิ 37 °C

Time (min)	ln Concentration			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	0.335	0.304	0.297	0.31	0.02
5	-0.229	-0.257	-0.350	-0.28	0.06
10	-0.308	-0.499	-0.654	-0.49	0.17
15	-0.616	-0.662	-0.752	-0.68	0.07
20	-0.783	-0.842	-0.962	-0.86	0.09
25	-0.941	-1.092	-1.123	-1.05	0.10
30	-1.136	-1.111	-1.427	-1.22	0.18
40	-1.330	-1.354	-1.765	-1.48	0.24
50	-1.826	-1.826	-2.100	-1.92	0.16
60	-2.186	-2.134	-2.454	-2.26	0.17
75	-1.653	-1.697	-1.976	-1.78	0.17
90	-1.919	-2.005	-2.281	-2.07	0.19
120	-2.408	-2.502	-1.789	-2.23	0.39

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 31 % remaining ของ CDG ในพลาสติกมนุษย์ที่อุณหภูมิ 37 °C

Time (min)	% Remaining CDG			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	100.000	100.000	100.000	100.00	0.00
1	91.080	86.238	90.859	89.39	2.73
2	86.398	81.190	84.155	83.91	2.61
3	82.199	82.558	79.527	81.43	1.66
4	78.329	77.908	77.221	77.82	0.56
5	76.572	73.892	71.729	74.06	2.43
7.5	64.924	62.761	61.766	63.15	1.61
10	55.002	55.947	51.707	54.22	2.23
15	39.746	40.566	40.213	40.18	0.41
20	26.126	30.417	27.885	28.14	2.16
25	18.507	22.806	22.350	21.22	2.36
30	15.594	16.887	16.340	16.27	0.65
45	6.805	7.547	6.973	7.11	0.39
60	2.557	3.649	2.776	2.99	0.58
75	4.127	1.798	1.314	2.41	1.50
90	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
120	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
180	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 32 % formation ของ curcumin ในพลาสมามนุษย์ที่อุณหภูมิ 37 °C

Time (min)	% Formation curcumin			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
1	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
2	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
3	1.865	1.939	1.717	1.84	0.11
4	3.022	3.208	2.979	3.07	0.12
5	4.164	4.561	4.086	4.27	0.25
7.5	10.042	9.298	8.097	9.15	0.98
10	14.896	14.274	12.983	14.05	0.98
15	24.870	25.000	23.710	24.53	0.71
20	35.293	36.319	32.832	34.81	1.79
25	43.491	43.332	41.507	42.78	1.10
30	51.077	50.200	48.125	49.80	1.52
45	65.469	63.679	62.528	63.89	1.48
60	69.729	67.734	67.087	68.18	1.38
75	64.339	69.604	68.768	67.57	2.83
90	70.762	69.967	68.804	69.84	0.98
120	76.498	69.991	68.670	71.72	4.19
180	68.912	72.177	67.319	69.47	2.48

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 33 % formation ของ Intermediate metabolite ในพลาสมามนุษย์ที่อุณหภูมิ 37 °C

Time (min)	% Formation Intermediate			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
1	5.385	5.114	4.905	5.13	0.24
2	8.807	8.210	8.438	8.49	0.30
3	11.629	10.947	11.071	11.22	0.36
4	14.291	13.290	13.290	13.62	0.58
5	17.017	15.280	15.208	15.84	1.02
7.5	20.513	18.363	18.738	19.20	1.15
10	21.891	20.261	20.369	20.84	0.91
15	21.692	19.811	20.455	20.65	0.96
20	18.116	17.251	17.765	17.71	0.44
25	14.478	13.912	14.596	14.33	0.37
30	10.918	10.873	11.416	11.07	0.30
45	4.122	4.245	4.649	4.34	0.28
60	0.000	1.574	1.504	1.03	0.89
75	0.773	0.000	0.000	0.26	0.45
90	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
120	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
180	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 34 ผลการศึกษาการปลดปล่อย curcumin ของ CDG ในพลาสมามนุษย์ที่อุณหภูมิ
37 °C

Time (min)	ln Concentration			Average	SD
	N1	N2	N3		
0	1.099	1.113	1.113	1.11	0.01
1	1.006	0.965	1.017	1.00	0.03
2	0.953	0.905	0.941	0.93	0.02
3	0.903	0.922	0.884	0.90	0.02
4	0.855	0.863	0.855	0.86	0.01
5	0.832	0.811	0.781	0.81	0.03
7.5	0.667	0.647	0.631	0.65	0.02
10	0.501	0.532	0.453	0.50	0.04
15	0.175	0.210	0.201	0.20	0.02
20	-0.245	-0.078	-0.166	-0.16	0.08
25	-0.591	-0.367	-0.387	-0.45	0.12
30	-0.763	-0.669	-0.702	-0.71	0.05
45	-1.598	-1.479	-1.559	-1.55	0.06
60	-2.594	-2.215	-2.495	-2.43	0.20
75	-2.105	-2.943	-3.271	-2.77	0.60
90	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-
180	-	-	-	-	-

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.