

ผลของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และยาเคมีบำบัดสำหรับรักษามะเร็ง  
EFFECT OF ZnO NANOPARTICLES AND CHEMO DRUGS  
FOR CANCER TREATMENT



สุทธิรักษ์ ไพโรจน์  
SUTTIRAK PAIROJ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ประยุกต์  
ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2564

KMITL-2021-SC-D-030-050

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF ZnO NANOPARTICLES AND CHEMO DRUGS  
FOR CANCER TREATMENT

SUTTIRAK PAIROJ

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE  
DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY IN APPLIED PHYSICS  
DEPARTMENT OF PHYSICS SCHOOL OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2021

KMITL-2021-SC-D-030-050

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2021

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และยาเคมีบำบัดสำหรับรักษามะเร็ง
ชื่อนักศึกษา	นางสาวสุทธิรักษ์ ไพโรจน์
รหัสประจำตัว	61605013
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)
ภาควิชา	ฟิสิกส์
พ.ศ.	2564
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร.กฤษกร โล้เจริญรัตน์

### บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้ทำการศึกษาระบบนำส่งยาไปยังเซลล์เป้าหมายโดยใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) เป็นตัวนำส่งยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (CP) และยาเคมีบำบัดดอกซอร์บิซิน (DOX) ภายใต้การฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) สำหรับใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ตอน คือ ตอนที่ 1 เป็นการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ ZnO ภายใต้การฉายรังสี UV ร่วมกับยาเคมีบำบัด CP โดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH \* เป็นแบบจำลองสมมติฐานของเซลล์มะเร็งสำหรับการประยุกต์ใช้การรักษาโรคมะเร็งจอประสาทตาในเด็ก จากการศึกษาพบว่า การต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นไปได้กับ DPPH \* ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของโครงสร้างและปริมาณของกลุ่มไฮดรอกซิล ในบรรดาตัวแทนยาต้านอนุมูลอิสระทั้งสี่ชนิด ZnO+CP+UV มีประสิทธิภาพมากที่สุดมีค่า EC<sub>50</sub> เท่ากับ 1.7183 ตอนที่ 2 เป็นการเตรียม ZnO ที่บรรจุยาเคมีบำบัด CP+DOX ภายใต้การฉายรังสี UV เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในมนุษย์ 5 สายพันธุ์ ยาเคมีบำบัดถูกบรรจุเข้ากับ ZnO ได้สำเร็จผ่านกระบวนการดูดซับทางฟิสิกส์ ยืนยันโดยเทคนิค FTIR ในขณะที่ความสามารถในการบรรจุยา วิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-vis ภาพถ่ายจาก TEM และเทคนิค DLS ระบุขนาดเฉลี่ยของอนุภาคนาโน ZnO เพิ่มขึ้นจาก 48 เป็น 69–82 นาโนเมตร หลังการดูดซับยาเคมีบำบัด ในบรรดาเคมีบำบัด 9 ชนิด CP+DOX+ZnO+UV มีความไวต่อเซลล์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ปกติของมนุษย์มีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.137 มก./มล. ในขณะที่ความสามารถในการบรรจุยาและเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการบรรจุยาของ CP+DOX+ZnO เท่ากับ 77.81% และ 99.05% ตามลำดับ ภาพถ่ายการเรืองแสงยืนยันว่า CP+DOX+ZnO เข้าสู่เซลล์มะเร็งเป้าหมายได้สำเร็จ

**คำสำคัญ:** เคมีบำบัด มะเร็ง สารต้านอนุมูลอิสระ อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Effect of ZnO Nanoparticles and Chemo Drugs for Cancer Treatment
Student name	Miss Suttirak Pairoj
Student ID	61605013
Degree	Doctor of Philosophy (Applied Physics)
Department	Physics
Year	2021
Thesis Advisor	Assoc.Prof.Dr. Kitsakorn Locharoenrat

## Abstract

This thesis investigates the drug delivery system to target cells using zinc oxide (ZnO) nanoparticles as a carrier for carboplatin (CP) and doxorubicin (DOX) under ultraviolet (UV) irradiation for use in cancer treatment. The study was divided into 2 parts: Part 1 The study was to assess the antiradical properties of ZnO under UV irradiation with carboplatin using the free radical DPPH\*, as the putative model of cancer cells for application in retinoblastoma therapy. The study found that the interaction between the possible antiradical agent with DPPH\* depends on their structural properties and conforming to the amount of available hydroxyl group. Among the different four antiradical agents, the ZnO+CP+UV was the most effective with an  $EC_{50}$  of 1.7183. Part 2 was a ZnO preparation containing CP+DOX under UV irradiation as a cytotoxicity test with five human cancer cell lines. ZnO nanoparticles were successfully bound with chemo drugs via physical adsorption. The drug loading capacity was confirmed by FTIR, whereas the loading efficiency was determined via UV-vis spectrometry. The mean hydrodynamic size increased to 69–82 nm after chemo-drug immobilization via non-covalent interaction with ZnO. Among the nine formulated chemo drugs, the CP+DOX+ZnO+UV exhibited high sensitivity towards human breast cancer cells without affecting human keratinocyte immortal cells with an  $IC_{50}$  of 0.137  $\mu\text{g/mL}$ , while the dosing capacity and filling efficiency percentage of CP+DOX+ZnO were 77.81% and 99.05%, respectively. Fluorescence images confirmed that CP+DOX+ZnO successfully entered the targeted cancer cells.

**Keywords:** Chemotherapy, Tumor, Antioxidant, Zinc oxide nanoparticles

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่านดังนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.กฤษกร โส้เจริญรัตน์ อาจารย์ประจำสาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบังและเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำและคำปรึกษาทางด้านวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย เสนอแนะแนวทางการแก้ปัญหาอย่างใกล้ชิด รวมถึงชี้แนวทางที่ถูกต้องในการทำงานวิจัย ตลอดจนดูแลและติดตามการทำงานของผู้จัดทำตลอดจนสำเร็จลุล่วงในการทำงาน

ขอขอบพระคุณ นางสาวสุภัทรา บานเย็น นักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาเคมี ที่ให้ความรู้ในและความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ

ขอขอบคุณนายมนตรี ทาญโก้ยและนายกิตติพิศพงษ์ วิชาช่าง ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ สาขาฟิสิกส์ประยุกต์ทุกคนที่ให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ และให้กำลังใจในการทำงานวิจัยนี้ตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และคณะวิทยาศาสตร์ที่มอบทุนการศึกษาตลอดปี การศึกษา ตลอดจนผู้ให้ความอุปการะทุกคน ที่ช่วยเหลือในทุกอย่าง เป็นกำลังใจที่สำคัญที่สุดที่ทำให้ผู้วิจัยสามารถทำงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาวสุทธิรักษ์ ไพโรจน์

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ฅ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>7</b>
2.1 อนุมูลอิสระ (Free Radical)	7
2.1.1 ความหมายของอนุมูลอิสระ	7
2.1.2 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)	9
2.1.2.1 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ	9
2.1.3 สาเหตุการเกิดอนุมูลอิสระ	12
2.1.3.1 อนุมูลอิสระที่เกิดเองภายในร่างกาย	12
2.1.3.2 อนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกในร่างกาย	13
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)	14
2.2.1 ความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ	14
2.2.2 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ	15
2.2.2.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)	15
2.2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)	16
2.2.3 คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ	18
2.2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity determination)	18

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH* radical scavenging assay)	19
2.2.4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระ เอบีทีเอส (ABTS radical cation decolorization assay)	20
2.2.4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูล อิสระ (Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay)	21
2.3 มะเร็ง (Cancer)	21
2.3.1 ปัจจัยส่งเสริมการเกิดโรคมะเร็ง	22
2.3.2 ชนิดและสมบัติของเซลล์มะเร็ง	23
2.3.2.1 ชนิดของเซลล์มะเร็ง	24
2.3.2.2 คุณสมบัติของเซลล์มะเร็ง	25
2.3.3 การรักษาโรคมะเร็ง	26
2.3.3.1 การรักษาโรคมะเร็งด้วยผ่าตัด	26
2.3.3.2 การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีเคมีบำบัด	26
2.3.3.3 การรักษาโรคมะเร็งด้วยการฉายรังสี หรือการฉายแสง	27
2.4 เซลล์ (Cell)	33
2.4.1 ความหมายของเซลล์	33
2.4.2 การลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์	34
2.4.2.1 การลำเลียงสารโดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์	35
2.4.2.2 การลำเลียงสารโดยไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์	36
2.4.3 เซลล์ไลน์ (Cell lines)	37
2.4.4 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค Methyl tetrazolium (MTT)	38
2.5 อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO nanoparticles)	39
2.5.1 คุณสมบัติของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์สำหรับชีวการแพทย์ และการประยุกต์ใช้กับมะเร็ง	40

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.1.1 ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility)	40
2.5.1.2 สังเคราะห์ง่าย (Easy synthesis)	41
2.5.2 คุณสมบัติที่สำคัญของอนุภาคนาโน (Key properties of nanoparticles)	48
2.5.2.1 ขนาด (Size)	48
2.5.2.2 รูปร่างและสัณฐานวิทยา (Shape and morphology)	48
2.5.2.3 การทำละลาย (Dissolution)	49
2.5.3 การแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ (Mechanism of cytotoxicity)	49
2.5.3.1 กิจกรรมของโปรตีนสังกะสีที่เป็นสื่อกลางความไม่สมดุล (Zinc-mediated protein activity disequilibrium)	49
2.5.3.2 การสร้าง ROS และ Oxidative stress (ROS production and oxidative stress)	50
2.5.4 กระบวนการโฟโตคะตะไลซิส (Photocatalytic process)	52
2.6 ยาเคมีบำบัด (Chemotherapy)	55
2.6.1 ความหมายของยาเคมีบำบัด	55
2.6.2 ประเภทของยาเคมีบำบัด	56
2.6.2.1 Alkylating agents	56
2.6.2.2 Anti-metabolites	57
2.6.2.3 Antibiotics	59
2.6.2.4 Plant derivatives	59
2.6.3 ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (Carboplatin)	61
2.6.4 ยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (Doxorubicin)	62
2.6.5 วิธีการให้เคมีบำบัด	64
2.6.6 ภาวะแทรกซ้อนจากการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด	64
2.7 ระบบลำเลียงยา (Drug Delivery System, DDS)	67
2.8 กลไกการเรืองแสง	69
2.8.1 การดูดกลืนและกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Absorption and Beer-Lambert's Law)	69
2.8.2 การเปล่งแสง (Fluorescence)	71

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.8.3 ฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ (Fluorescence quantum yield)	74
2.9 ทฤษฎีเครื่องมือที่ใช้วัดและวิเคราะห์	77
2.9.1 สเปกโทรมิเตอร์ (Spectrometer)	77
2.9.1.1 หลักการทำงานของสเปกโทรมิเตอร์	77
2.9.1.2 ส่วนประกอบของสเปกโทรมิเตอร์	78
2.9.2 กล้องจุลทรรศน์ ชนิด Fluorescence microscopes	78
2.9.2.1 หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์	78
ชนิด Fluorescence microscopes	
2.9.2.2 ส่วนประกอบของกล้องจุลทรรศน์	79
2.9.3 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared- Spectroscopy (FTIR)	80
2.9.3.1 หลักการทำงานของเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy	80
2.9.4 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบทรานสมิสชัน (Transmission Electron Microscope, TEM)	81
2.9.4.1 หลักการทำงานของ Transmission Electron Microscope	81
2.9.5 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)	84
2.9.5.1 หลักการทำงานของเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)	85
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	85
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย</b>	<b>97</b>
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย	97
3.1.1 วัสดุสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	97
3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย	104
3.1.2.1 เครื่องมือ	104
3.1.2.2 วัสดุที่ใช้ในงานวิจัย	110
3.2 ระบบวัดที่เกี่ยวข้อง	110
3.2.1 ระบบวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย	110

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.2 ระบบวัดการเปล่งแสงของสารละลาย	112
3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลอง	113
3.3.1 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน	113
3.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	116
3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (ZnO+CP+DOX)	119
3.4.1 การเตรียมสารละลาย	119
3.4.1.1 การเตรียมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP)	120
3.4.1.2 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (ZnO+DOX)	121
3.4.1.3 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (ZnO+CP+DOX)	121
3.4.2 การหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยี่ลด์	123
3.4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	124
3.4.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	124
3.4.5 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัด	125
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล</b>	<b>128</b>
4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลองอนุมูลอิสระ DPPH	128
4.1.1 ผลการศึกษาสมบัติทางแสงของสารละลาย	128
4.1.1.1 การศึกษาสมบัติทางแสงของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์	128

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.1.2 การศึกษาสมบัติทางแสงของสารละลายอนุโมล อิสระ DPPH	129
4.1.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งจำลองอนุโมลอิสระ DPPH	131
4.2 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัด คาร์โบพลาคตินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูปิซิน	139
4.2.1 ผลการศึกษาคูณสมบัติทางแสงของยาเคมีบำบัดและอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์	139
4.2.2 ผลการศึกษาค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์	141
4.3 ผลการศึกษาหมู่ฟังก์ชันและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ผนวกยาเคมีบำบัด	142
4.3.1 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปก โทรสโคปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR)	143
4.3.2 ผลการตรวจสอบสัณฐานวิทยาและโครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM)	144
4.3.3 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคค่าศักย์ซีต้า (Zeta potential)	146
4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับ ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคตินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูปิซิน (ZnO+CP+DOX)	147
4.4.1 เซลล์มะเร็งจำลองอนุโมลอิสระ DPPH*	147
4.4.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง	153
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย</b>	<b>160</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย	160
5.1.1 สรุปผลการศึกษาการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคติน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลองอนุโมลอิสระ DPPH ภายใต้การฉายรังสี อัลตราไวโอเล็ต	160

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.1.2 สรุปผลการศึกษาการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน และยาเคมีบำบัดดีออกซิวูบิซิน ภายใต้การฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต	161
5.2 ข้อเสนอแนะ	161
เอกสารอ้างอิง	163
ภาคผนวก	179
ภาคผนวก ก	179
ภาคผนวก ข	188
ประวัติผู้เขียน	221



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ขั้นตอนการดำเนินงานปีการศึกษา 2561	5
1.2 ขั้นตอนการดำเนินงานปีการศึกษา 2562	5
1.3 ขั้นตอนการดำเนินงานปีการศึกษา 2563	5
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานปีการศึกษา 2564	6
2.1 ตัวอย่างของ RS โดยแบ่งประเภทตามโมเลกุลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation และแบ่งย่อยโดยลักษณะของการเป็น Radical ของโมเลกุล	8
2.1 ตัวอย่างของ RS โดยแบ่งประเภทตามโมเลกุลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation และแบ่งย่อยโดยลักษณะของการเป็น Radical ของโมเลกุล (ต่อ)	9
2.2 คุณสมบัติทางกายภาพของซิงค์ออกไซด์	40
2.3 ประเภทของยาเคมีบำบัดแบ่งตามความเป็นพิษต่อเซลล์	60
2.4 การจัดกลุ่มยาเคมีบำบัดตามคุณสมบัติการมีพิษต่อผิวหนัง	66
3.1 คุณสมบัติของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน	91
3.2 คุณสมบัติของยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน	91
3.3 คุณสมบัติของสารอนุมูลอิสระ DPPH	92
3.4 คุณสมบัติของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์	93
3.5 ความเข้มข้นและอัตราส่วนของสารละลาย ZnO และ Carboplatin ที่ต้องการทดสอบ	107
3.6 ตารางแสดงการเจือจางสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	109
3.7 แสดงความเข้มข้นและอัตราส่วนของสารละลาย ZnO CP DOX และ CP+DOX	113
4.1 ผลการทดสอบค่าพารามิเตอร์ต่างๆของสารต้านอนุมูลอิสระ	128
4.2 ตารางแสดงผลของ Loading capacity และ Loading efficiency ในกรณีของ CP: DOX ในอัตราส่วนต่างๆ ที่ยึดเกาะบนผิวอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์	133
4.3 แสดงค่า Zeta potential ของสารตัวอย่าง	139
4.4 ผลของค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ	140
4.5 ผลการทดสอบยาเคมีบำบัดกับเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง	145

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แผนภาพแสดงกระบวนการขั้นตอนของงานวิจัย	3
2.1 อนุมูลอิสระ	8
2.2 ปัจจัยการเกิดอนุมูลอิสระ	13
2.3 แสดงการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ	14
2.4 โครงสร้างทางเคมีของ Trolox	15
2.5 โครงสร้างทางเคมีของ Gallic acid	16
2.6 โครงสร้างทางเคมีของ EDTA	16
2.7 โครงสร้างทางเคมีของ วิตามินเอ	17
2.8 โครงสร้างทางเคมีของ วิตามินซี	17
2.9 โครงสร้างทางเคมีของ วิตามินอี	18
2.10 แสดงปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระดีพีพีเอชทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ	19
2.11 แสดงปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระเอทีพีเอสทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ	20
2.12 แสดงปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$	21
2.13 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ผิดปกติ	22
2.14 วงจรชีวิตของเซลล์มะเร็ง	24
2.15 แผนภาพแสดงการให้ยาเคมีบำบัดเพื่อหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง	27
2.16 กลไกพื้นฐานของผลการรักษาด้วยรังสีที่เกิดผลกระทบต่อ DNA	28
2.17 การฉายรังสีแบบ 3 มิติ	29
2.18 การฉายรังสีแบบปรับความเข้ม	29
2.19 การฉายรังสีแบบปรับความเข้มหมุนรอบตัวผู้ป่วย	30
2.20 Image-guided radiation therapy	31
2.21 การฉายรังสีด้วยเทคนิค Stereotactic radiosurgery	31
2.22 แสดงการสอดใส่ไปในบริเวณอวัยวะที่มีลักษณะเป็นโพรงในมะเร็งปากมดลูก	32
2.23 การใส่แร่เสียบผ่านก้อนเนื้ออก	32
2.24 การใช้อุปกรณ์การใส่แร่ปะติดอยู่กับก้อนเนื้ออก	33
2.25 แสดงโครงสร้างและส่วนประกอบของเซลล์	34
2.26 แสดงการเคลื่อนที่ของสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยอาศัยตัวพา	35
2.27 แสดงการลำเลียงสารโมเลกุลออก (บน) และเข้า (ล่าง) จากเซลล์	36

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
2.28	แสดงการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์ของเอนโดไซโทซีสทั้ง 3 แบบ	37
2.29	เซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ ประกอบด้วย (ก) เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT 29 (ข) เซลล์มะเร็งในช่องปาก KB (ค) เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 (ง) เซลล์มะเร็งตับ HepG2 (จ) เซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa	38
2.30	แบบจำลองโครงสร้างผลึกของซิงค์ออกไซด์แบบต่าง ๆ	39
2.31	(ก) แผนภาพขั้นตอนกระบวนการสังเคราะห์ ZnO nanorods ด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอล (ข) ภาพถ่าย FE-SEM ของ ZnO nanorods ที่สังเคราะห์ได้	42
2.32	วิธีควบคุมการตกตะกอนเพื่อให้ได้อนุภาคนาโนของ ZnO โดยใช้เอทิลีนไกลคอลเป็นตัวทำ ละลายและภาพถ่ายที่ได้จาก SEM	43
2.33	กระบวนการสังเคราะห์ ZnO ด้วยวิธีการทำให้แห้งแบบระเหยและภาพถ่ายที่ได้จาก TEM	44
2.34	แผนภาพแสดงเตาท่อในระบบสุญญากาศที่ใช้สังเคราะห์ ZnO ด้วยการระเหยด้วย ความร้อนและภาพถ่ายที่ได้จาก SEM	45
2.35	(ก) กระบวนการสังเคราะห์ ZnO NPs ด้วยวิธีเฟลมสเปร์ย์ไพโรลิซิส (ข) ภาพ SEM ของ ZnO ที่เตรียมด้วยอัตราการไหล O <sub>2</sub> ที่แตกต่างกัน a) 1, b) 1.5, c) 2 และ d) 2.5 L/min	47
2.36	การเข้าสู่เนื้ออกมะเร็งของอนุภาคนาโน	48
2.37	รูปร่างและสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันของอนุภาคนาโนที่ใช้ในการส่งยา	48
2.38	กลไกทางชีวภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) ในเซลล์หรือเนื้อเยื่อ	49
2.39	แผนผังแสดงกลไกการเกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโน ZnO	50
2.40	กลไกการสร้าง ROS ของอนุภาคนาโน	51
2.41	การเกิด Oxidative stress ของเซลล์ นำไปสู่การตายของเซลล์	52
2.42	การเกิดอิเล็กตรอน (e <sup>-</sup> ) และที่ว่างของอิเล็กตรอน (h <sup>+</sup> ) ในปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส	53
2.43	กลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดในการทำลายเซลล์มะเร็ง	61
2.44	โครงสร้างทางเคมีของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (Carboplatin)	61
2.45	กลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน	62
2.46	โครงสร้างทางเคมีของยาเคมี Doxorubicin	63
2.47	กลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัด Doxorubicin	63
2.48	แสดงหลักการของ Enhanced permeability and retention (EPR) effect	68

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
2.49	แสดงการส่งผ่านแสงหลังจากผ่านไปยังสารตัวอย่างแล้วเกิดการดูดกลืน	70
2.50	การเปล่งแสงเนื่องจากการเปลี่ยนระดับพลังงานของอะตอม	72
2.51	แผนภาพแสดงระดับพลังงาน	75
2.52	แผนภาพแสดงการทำงานของสเปกโตรมิเตอร์	77
2.53	แผนภาพแสดงหลักการทำงานของสเปกโตรมิเตอร์	78
2.54	ส่วนประกอบของกล้องจุลทรรศน์	79
2.55	แผนภาพแสดงการทำงานของเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy	81
2.56	ภาพเปรียบเทียบส่วนประกอบของกล้อง OM และ TEM	82
2.57	ภาพจำลองการทำงานของฟิลาเมนต์ (ขั้ว) และลักษณะของฟิลาเมนต์ชนิด LaB <sub>6</sub> (ขวา)	82
2.58	ภาพเปรียบเทียบการหักเหของลำอิเล็กตรอนด้วยเลนส์แม่เหล็ก (ขั้ว) และการหักเหของแสงด้วยเลนส์นูน (ขวา)	83
2.59	ภาพแสดงตำแหน่งระนาบแบกโฟคัล และระนาบภาพแรกภายในกล้อง TEM (ขั้ว) ภาพเปรียบเทียบระหว่างการฉายภาพโบรตฟิล์มกับรูปแบบการเลี้ยวเบนของอิเล็กตรอน (ขวา)	84
2.60	แสดงการทำงานของด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)	85
3.1	ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาตินที่ใช้ในงานวิจัย	90
3.2	ยาเคมีบำบัดดีออกซิวูบิซินที่ใช้ในงานวิจัย	91
3.3	สารอนุมูลอิสระ DPPH ที่ใช้ในงานวิจัย	92
3.4	อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ใช้ในงานวิจัย	93
3.5	เมทานอล ความบริสุทธิ์ 99.99%	93
3.6	น้ำเกลือ 0.9 %	94
3.7	เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Human colon adenocarcinoma) สายพันธุ์ HT-29	94
3.8	เซลล์มะเร็งในช่องปาก (Human oral cavity carcinoma) สายพันธุ์ KB	95
3.9	เซลล์มะเร็งเต้านม (Human breast adenocarcinoma) สายพันธุ์ MCF-7	95
3.10	เซลล์มะเร็งตับของคน (Human hepatocarcinoma) สายพันธุ์ HepG2	96
3.11	เซลล์มะเร็งปากมดลูก สายพันธุ์ HeLa (Human cervical adenocarcinoma)	96
3.12	เซลล์ปกติ (Human keratinocyte immortal cells) สายพันธุ์ HaCat	97
3.13	เครื่อง UV-Vis-NIR spectrophotometer (Avaspec-EDU)	97
3.14	เครื่อง UV Chamber (Model CX-21)	98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.15 เครื่องชั่งสารดิจิตอล รุ่น Pioneer	98
3.16 เครื่องเขย่าสาร Vortex mix	99
3.17 เครื่องปั่นเหวี่ยงสำหรับแยกสาร (Centrifuge) รุ่น Force 1418	99
3.18 เครื่องอัลตราโซนิก	100
3.19 เครื่องวัดดัชนี รุ่น Pocket refractometer	100
3.20 กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Nikon รุ่น Eclipse Ti	101
3.21 เครื่อง FTIR รุ่น Perkin elmer spectrum GX	101
3.22 เครื่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น FEI Quanta 250	102
3.23 เครื่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน รุ่น JEOL JEM-1400	102
3.24 ระบบวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย (ก) ภาพจริง (ข) แผนภาพระบบวัด	104
3.25 ระบบวัดการเปล่งแสงของสารละลาย (ก) ภาพจริง (ข) แผนภาพระบบวัด	105
3.26 แผนผังแสดงการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัด คาร์โบพลาคิน	108
3.27 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างใน เซลล์มะเร็งจำลอง	110
3.28 แสดงแผนผังการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับ ยาเคมีบำบัด CP+DOX	115
3.29 แสดงส่วนประกอบของแม่พิมพ์ (Die) สำหรับอัดเม็ด	118
3.30 แสดงเครื่องอัดเม็ด	119
4.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	121
4.2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 10 $\mu$ M ถึง 100 $\mu$ M	122
4.3 กราฟสอบเทียบของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH*) ที่ความเข้มข้นต่างๆ	123
4.4 การเปลี่ยนไปของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH *) ที่เกี่ยวกับความเข้มข้นที่ แตกต่างกันของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์	124
4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดซึ่งเป็นฟังก์ชันเวลา ตอบสนองจากตัวแทนยาต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน	125

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.6	126
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ DDPH* ที่เหลืออยู่กับเวลาจากยา ต้านอนุมูลอิสระต่างชนิดกัน	
4.7	127
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ DDPH* ที่เหลืออยู่ที่สถานะอิมตัว และค่า EC <sub>50</sub> ของสารต้านอนุมูลอิสระ กับอัตราส่วนโมลของยาต้านอนุมูลอิสระต่อ DPPH *	
4.8	129
ปฏิกิริยาการแตกตัวของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (Carboplatin) ในกลุ่มไฮดรอกซิล	
4.9	130
ผลของความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพ (EC <sub>50</sub> ) ในการกำจัดอนุมูลอิสระ และจำนวน DPPH* ที่ลดลงในสารต้านอนุมูลอิสระสี่ชนิดที่แตกต่างกัน	
4.10	132
ผลต่างของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ของยาเคมีบำบัดดอกชรูบิซิน	
4.11	134
ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ของยาเคมีบำบัดดอกชรูบิซิน (DOX)	
4.12	134
ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาตินและดอกชรูบิซิน (CP+DOX)	
4.13	136
สเปกตรัม FTIR ของ ZnO, DOX, DOX+ZnO, CP+ZnO และ CP+DOX+ZnO	
4.14	138
ภาพ TEM ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ก่อนและหลังผนวกกับยาเคมีบำบัด	
4.15	141
ความเข้มข้นที่แตกต่างกันและการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของ DOX ที่เกี่ยวข้อง กับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา อัตราส่วนโมลของ ZnO ต่อยาเคมีบำบัดเท่ากับ 5: 1	
4.16	142
ความเข้มข้นที่แตกต่างกันและการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากยาเคมีบำบัด CP ที่เกี่ยวข้องกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา อัตราส่วนโมลของ ZnO ต่อยาเคมีบำบัดเท่ากับ 5: 1	
4.17	143
ความเข้มข้นที่แตกต่างกันและการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากยาเคมีบำบัด CP+DOX ที่ เกี่ยวข้องกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา อัตราส่วนโมลของ ZnO ต่อยาเคมีบำบัดเท่ากับ 5: 1	
4.18	144
ความเข้มข้นของยาเคมีบำบัดแต่ละชนิดที่ลดประสิทธิภาพของ DPPH * ลง 50%	
4.19	147
ภาพเซลล์ปกติของมนุษย์ สายพันธุ์ HaCat หลังจากรักษาด้วยยาเคมีบำบัด CP +DOX + ZnO + UV เป็นเวลา 24 ชม. ภายใต้แสง UV	
4.20	148
ภาพระยะคอนทราสต์ของเซลล์มะเร็งและภาพเรืองแสงของเซลล์มะเร็งหลังจากได้รับการ รักษาด้วยยาเคมีบำบัด CP+DOX+ZnO+UV เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้แสง UV ไซโทพลาซึมของเซลล์ที่มีชีวิตจะมองเห็นเป็นสีแดง	

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

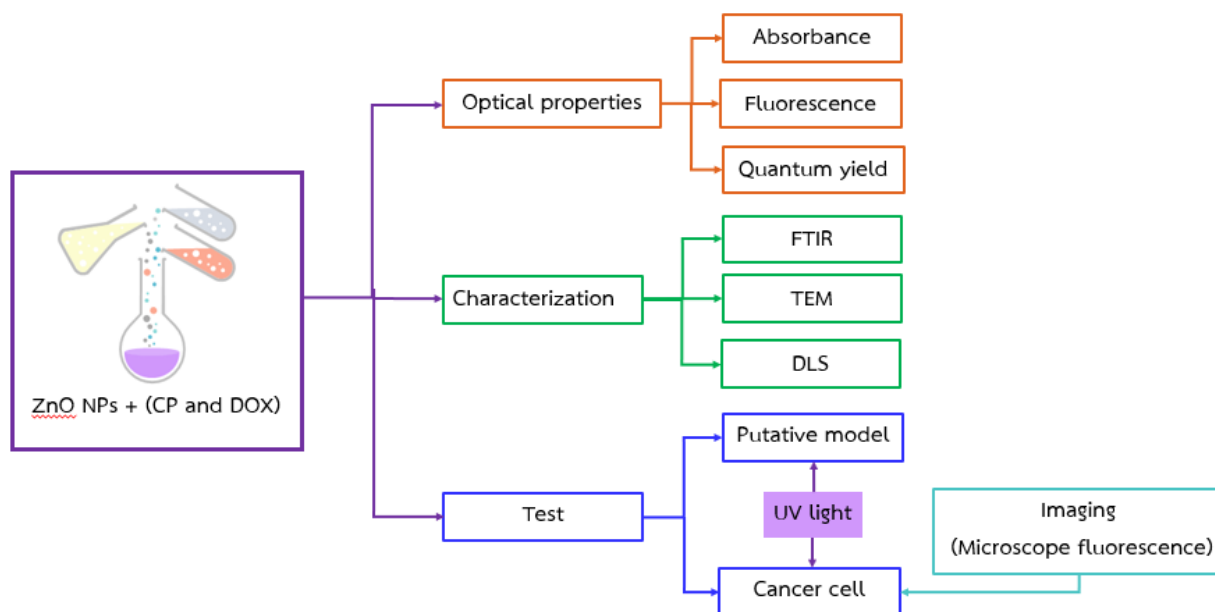
มะเร็งเป็นหนึ่งในโรคร้ายแรงที่คร่าชีวิตผู้คนเป็นอันดับต้น ๆ ของโลก ทางองค์การอนามัยโลกเปิดเผยว่ามีผู้เสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งประมาณ 9.6 ล้านคนในปี 2018 โดยมีแนวโน้มจำนวนผู้ป่วยและเสียชีวิตจากมะเร็งเพิ่มขึ้นในทุกประเทศ [1] จากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุขยังแสดงให้เห็นว่า ในประเทศไทยนั้นโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับ 1 ติดต่อกันมาเป็นเวลาหลายปีแล้วและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น [2] การรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การผ่าตัด การใช้รังสีบำบัด หรือการใช้เคมีบำบัด ขึ้นกับหลาย ๆ ปัจจัย จริง ๆ แล้วคำว่าเคมีบำบัดนั้นหมายถึงการรักษาโรคด้วยสารเคมี แต่ในปัจจุบันเมื่อพูดถึงการใช้เคมีบำบัด โดยทั่วไปจะหมายถึงการใช้สารเคมีหรือยาในการรักษาโรคมะเร็ง การใช้เคมีบำบัดนั้นเป็นหนึ่งในวิธีที่นิยมใช้ในการรักษาโรคมะเร็งอย่างมากโดยยาหรือสารเคมีที่ใช้จะเข้าไปควบคุมหรือยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง แต่ในขณะเดียวกันยาหรือสารเคมีที่ใช้นั้นก็ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเซลล์มะเร็งกับเซลล์ปกติได้ ทำให้ส่งผลกระทบต่อเซลล์ร่างกายปกติที่มีการแบ่งตัวเร็วเช่นกัน [3]

ปัจจุบันมีงานวิจัยทางการแพทย์จำนวนมากที่ต้องการจะลดปัญหาและผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาเคมีบำบัดในการรักษาโรคมะเร็งเพื่อให้การรักษาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด หนึ่งในวิธีการแก้ปัญหาดังกล่าวคือการพยายามคิดค้นวิธีในการนำส่งตัวยาไปยังเซลล์มะเร็งเป้าหมาย การพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งโดยใช้นาโนเทคโนโลยีกำลังได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมา การออกแบบพัฒนาระบบห่อหุ้มนำส่งยาที่มีขนาดนาโนเมตรที่สามารถหลีกเลี่ยงการซึมผ่านของตัวยาเข้าสู่เนื้อเยื่อที่ปกติได้แต่จะเข้าไปสะสมในเนื้องอกมะเร็ง โดยใช้ประโยชน์จากความผิดปกติของหลอดเลือดของเนื้องอกมะเร็งอันได้แก่ รูรั่วของผนังหลอดเลือดเนื้องอกมะเร็ง (Tumor vessel leakiness) ซึ่งจะไม่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อปกติจึงเป็นแนวคิดที่น่าสนใจ รูรั่วดังกล่าวเกิดจากการจัดเรียงที่บกพร่องของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (Endothelial cells) ของเนื้องอกมะเร็ง เซลล์มีขนาดและรูปร่างที่ไม่สม่ำเสมอ (Branched) เชื่อมต่อแบบหลวมไร้ระเบียบ มีการซ้อนทับเหล่านี้ทำให้เกิดช่องเปิดระหว่างเซลล์ (Intercellular openings) เมื่อมีการสร้างหลอดเลือดของเนื้องอกมะเร็ง ชนิดก้อนเนื้อ (Angiogenesis) ซึ่งแตกต่างจากเนื้อเยื่อปกติที่มีการเรียงตัวของเซลล์อย่างเป็นระเบียบ การเกิดรูรั่วของหลอดเลือดเนื้องอกมะเร็งดังกล่าว

อาจเป็นช่องทางให้เกิดการไหลออกของเซลล์มะเร็งเข้าสู่กระแสเลือดกระจายไปยังอวัยวะอื่น รวมถึงอาจเป็นช่องทางให้ระบบนำส่งยาที่เป็นโมเลกุลมหภาคเข้าสู่เนื้องอกมะเร็งได้เช่นกัน [4-6] ขนาดของรูรั่วนี้จึงเป็นปัจจัยหนึ่งในการออกแบบระบบนำส่งยาให้มีขนาดที่เหมาะสม การออกแบบระบบนำส่งยาให้มีขนาดที่เหมาะสมสามารถเข้าไปสู่เนื้องอกมะเร็งเป้าหมายไม่ไปสู่นอเนื้องอก และยังคงไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดได้นานเพียงพอที่จะเข้าไปสะสมในเนื้องอกโดยไม่ถูกระบบภูมิคุ้มกันนำไปกำจัดออก

ในโครงการวิจัยนี้ผู้วิจัยต้องการที่จะทำการศึกษาเพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาที่สร้างขึ้นจากอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) เพื่อนำส่งยาเคมีบำบัดไปยังเซลล์มะเร็งเป้าหมาย โดยแบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 3 ส่วน คือ 1. กระบวนการวิเคราะห์ทางแสง (Optical properties) ประกอบด้วย การวัดการดูดกลืนแสง (Absorbance) การวัดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) และการหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ (Quantum yield) 2. กระบวนการวิเคราะห์ทางคุณสมบัติ (Characterization) ประกอบด้วย การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FTIR) เทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) และเทคนิค Dynamic light scattering (DLS) 3. กระบวนการวิเคราะห์ด้วยการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ประกอบด้วย การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยเซลล์มะเร็งจำลองโดยการใช้นุมูลอิสระ DPPH ภายใต้การฉายรังสียูวี และการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง (Cell lines) ภายใต้การฉายรังสียูวี ทำยืนยันการลำเลียงยาเคมีบำบัดของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยภาพถ่ายที่ได้จาก Microscope fluorescence โดยมีแผนภาพการวิเคราะห์ดังแสดงในรูปที่ 1.1 เนื่องจากคุณสมบัติโดดเด่นและเหมาะสมที่ว่า ZnO NPs มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งสูงกว่าเซลล์ปกติ (Normal cells) และ ZnO จะแตกตัวได้ในสภาพกรด (pH = 5 - 6) ซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมของเซลล์มะเร็งแต่จะไม่แตกตัวในสภาพแวดล้อมของเซลล์ปกติ (pH = 7.2) นอกจากนี้ ZnO ยังถูกจัดว่าเป็นสารชนิด GRAS (Generally recognized as safe) ซึ่งมีความปลอดภัยต่อร่างกายมนุษย์ [7-11] ด้วยเหตุผลดังกล่าวนี้ ZnO NPs จึงถูกนำมาเพื่อใช้ในการนำส่งยาเคมีบำบัด Doxorubicin ซึ่งเป็นยาเคมีบำบัดสำหรับผู้ป่วยมะเร็งเต้านม และ Carboplatin เป็นยาเคมีบำบัดสำหรับผู้ป่วยมะเร็งจอประสาทตาในเด็ก โดย ZnO NPs จะลำเลียงยาดังกล่าวและแพร่เข้าสู่เซลล์มะเร็งเป้าหมาย เมื่อ ZnO NPs เข้าไปในเซลล์มันก็จะปลดปล่อยยาเข้าไปทำลายเซลล์ นอกจากนี้การกระตุ้น ZnO NPs ด้วยแสง UV จะช่วยสร้างคู่อิเล็กตรอนโฮลอิสระทำให้เกิด Reactive oxygen species (ROS) เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งอีกทางหนึ่ง ซึ่งผลการวิจัยนี้น่าจะมีส่วนช่วยในการลดผลข้างเคียงและปัญหาต่าง ๆ ในการรักษาโรคมะเร็งที่เกิดจากการใช้ยาเคมีบำบัด นอกเหนือจากนี้ยังช่วยในการป้องกันการถูกทำลายของตัวยาในระหว่างการเดินทางไปยังเซลล์มะเร็งเป้าหมายอีกด้วย ทำให้การ

รักษาโรคมะเร็งนั้นมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยหากว่างานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จระบบตัวนำส่งยาที่ได้จะสามารถนำไปดัดแปลงเพื่อใช้ในการนำส่งยาเคมีบำบัดชนิดอื่นเพื่อการรักษาโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ ได้ อีกด้วย ทั้งยังสามารถนำไปใช้ในการนำส่งยาหรือโมเลกุลขนาดเล็กเพื่อการรักษาโรคที่นอกเหนือจากมะเร็ง



รูปที่ 1.1 แผนภาพแสดงกระบวนการขั้นตอนของงานวิจัย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อเตรียมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์สำหรับลำเลียงยาเคมีบำบัด Doxorubicin และยาเคมีบำบัด Carboplatin
2. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพสูงสุดของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ลำเลียงยาเคมีบำบัดต่างชนิดกันที่เตรียมขึ้นจากอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ชนิดเดียวกัน
3. เพื่อหาเงื่อนไขที่เหมาะสมของการใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ในการลำเลียงยาเคมีบำบัดและทดสอบการทำลายอนุมูลอิสระจากสารอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH \*) และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (Cell lines) ภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลซิสโดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1.3 ขอบเขตโครงการวิจัย

1. ศึกษาค้นคว้า ทบทวนบทความวิจัย และทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดเพื่อใช้สำหรับระบบลำเลียงยาไปยังเซลล์มะเร็ง

2. ศึกษาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการผนวกอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัด Doxorubicin และ Carboplatin เช่น ขนาดและความเข้มข้นของ ZnO NPs ความเข้มข้นของยาเคมีบำบัด เป็นต้น

3. ศึกษาและวิเคราะห์ผลของการเคลือบยาเคมีบำบัดบนผิวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ โดยใช้เทคนิคการวัดสเปกโตรสโคปี เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FTIR) เทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) และเทคนิค Dynamic light scattering (DLS)

4. ศึกษาและทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างด้วยสารเคมีอนุมูลอิสระ DPPH และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง ภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลซิสโดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต

### 1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิจัยการดำเนินงาน

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ ได้แก่ ขนาด ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ความเข้มข้นของยาเคมีบำบัด ได้แก่ Doxorubicin (DOX) สำหรับมะเร็งเต้านม และ Carboplatin (CP) สำหรับมะเร็งจอประสาทตาในเด็ก เป็นต้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการทำลายเซลล์มะเร็งสูงสุด

ขั้นตอนที่ 2 หาเงื่อนไขที่เหมาะสมของการเกาะตัวของยาเคมีบำบัดบนผิวอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

ขั้นตอนที่ 3 เตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ผสมกับยาเคมีบำบัดที่ความเข้มข้นต่างกัน จากนั้นตรวจสอบการดูดกลืนและฟลูออเรสเซนซ์ของสารตัวอย่าง

ขั้นตอนที่ 4 ทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งจากเซลล์เป้าหมายจำลอง DPPH ภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลซิสโดยฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตและไม่ฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 5 ทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งจากเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง ภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลซิสโดยฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตและไม่ฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 6 ทดสอบยืนยันผลการเคลือบยาเคมีบำบัดกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

ขั้นตอนที่ 7 เก็บผลการทดลอง วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการทดลอง

ชั้นตอนที่ 8 เผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารวิชาการ

ชั้นตอนที่ 9 เขียนวิทยานิพนธ์

ชั้นตอนที่ 10 เสนอหัวข้อและเค้าโครงวิทยานิพนธ์

ชั้นตอนที่ 11 เขียนเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์

ชั้นตอนที่ 12 สอบวิทยานิพนธ์

ตารางที่ 1.1 ขั้นตอนการดำเนินงานปีการศึกษา 2561

การดำเนินงาน	ปีการศึกษา 2561											
	ภาคเรียนที่ 1					ภาคเรียนที่ 2						
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.
ชั้นตอนที่ 1												
ชั้นตอนที่ 2												
ชั้นตอนที่ 3												
ชั้นตอนที่ 4												

ตารางที่ 1.2 ขั้นตอนการดำเนินงานปีการศึกษา 2562

การดำเนินงาน	ปีการศึกษา 2562											
	ภาคเรียนที่ 1					ภาคเรียนที่ 2						
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.
ชั้นตอนที่ 5												
ชั้นตอนที่ 6												
ชั้นตอนที่ 7												
ชั้นตอนที่ 8												

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ตารางที่ 1.3 ขั้นตอนการดำเนินงานปีการศึกษา 2563

การดำเนินงาน	ปีการศึกษา 2563											
	ภาคเรียนที่ 1					ภาคเรียนที่ 2						
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.
ขั้นตอนที่ 9												
ขั้นตอนที่ 10												
ขั้นตอนที่ 11												

### ตารางที่ 1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานปีการศึกษา 2564

การดำเนินงาน	ปีการศึกษา 2564				
	ภาคเรียนที่ 1				
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.
ขั้นตอนที่ 11					
ขั้นตอนที่ 12					

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้รับความรู้และเข้าใจถึงเทคนิคการใช้อุณหภูมิโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับยาเคมีบำบัด Carboplatin และยาเคมีบำบัด Doxorubicin ในการบำบัดรักษามะเร็งอย่างมีประสิทธิภาพ
2. ได้รับความรู้และเข้าใจถึงผลของการใช้อุณหภูมิโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับยาเคมีบำบัดผ่านกระบวนการโฟโตคะตะไลซิสโดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต เพื่อก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์และทำให้เซลล์มะเร็งถูกทำลายต่อไป
3. สามารถนำความรู้พื้นฐานทั้งในสาขาฟิสิกส์ เคมี และ ชีววิทยา มาใช้ประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มคุณภาพของงานวิจัยและการต่อยอดสู่งานวิจัยเชิงพาณิชย์ต่อไป
4. สามารถนำวิธีการวิจัยนี้ไปใช้เป็นทางเลือกใหม่ในการบำบัดรักษามะเร็งในผู้ป่วยโรคมะเร็ง
5. สามารถนำงานวิจัยนี้ไปตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในบทนี้จะอธิบายถึงทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยมีเนื้อหาแบ่งออกเป็น 10 หัวข้อหลักดังนี้

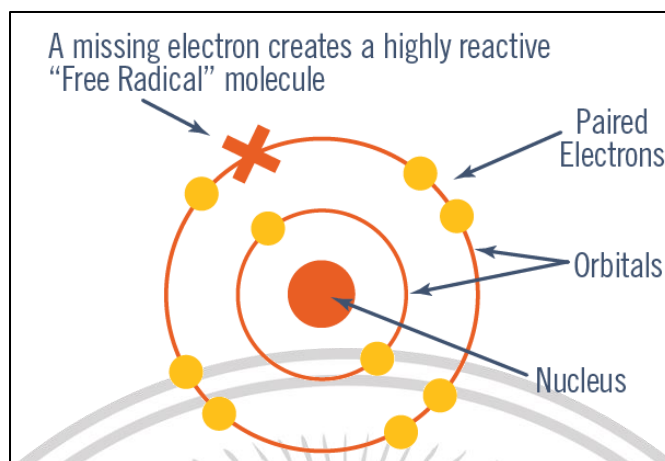
- 2.1 อนุมูลอิสระ (Free radical)
- 2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)
- 2.3 มะเร็ง (Cancer)
- 2.4 เซลล์ (Cell)
- 2.5 อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO nanoparticles)
- 2.6 ยาเคมีบำบัด (Chemotherapy)
- 2.7 ระบบลำเลียงยา (Drug Delivery System, DDS)
- 2.8 กลไกการเรืองแสง
- 2.9 ทฤษฎีเครื่องมือที่ใช้วัดและวิเคราะห์
- 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 อนุมูลอิสระ (Free radical)

#### 2.1.1 ความหมายของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radical) หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มี Unpaired electron อย่างน้อย 1 electron ดังแสดงในรูปที่ 2.1 อนุมูลอิสระพบได้ในสิ่งแวดล้อม สิ่งมีชีวิต ในเซลล์ และในกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน อนุมูลอิสระนั้นไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ผลที่ตามมาคือโมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ ซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain reaction) [13,14] ดังสมการที่ 2.1 และ 2.2





รูปที่ 2.1 อนุมูลอิสระ

อย่างไรก็ตามการที่จะสรุปว่าอนุมูลอิสระทุกชนิดเป็นสารพิษต่อร่างกายนั้นไม่ถูกต้องนัก สิ่งที่เราควรนำมาใช้บอกระดับความเป็นพิษควรจะเป็นความสามารถในการ Oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกายมากกว่า สารที่มีความสามารถในการ Oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกายเรียกว่า Reactive species (RS) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปของ Reactive oxygen species (ROS) และยังพบในรูปของ Reactive chlorine species และ Reactive nitrogen species ตามโมเลกุลที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation อาจจะได้พบได้ในรูปของ Lipid radical หรือ Genetic radical RS นั้นไม่จำเป็นว่าจะต้องอยู่ในรูปของ Free radical เสมอไป สารประกอบบางโมเลกุลที่อยู่ในรูป Non radical แต่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา Oxidation เช่น  $H_2O_2$  ก็จัดเป็น RS เช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1 [13-15]

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของ RS โดยแบ่งประเภทตามโมเลกุลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation และแบ่งย่อยโดยลักษณะของการเป็น Radical ของโมเลกุล

Reactive oxygen species			
Free radicals	Formula	Non-radicals	Formula
Oxygen radical	$O_2^{\bullet}$	Singlet oxygen	$^1O_2^*$
Superoxide radical	$O_2^{\bullet-}$	Hydrogen peroxide	$H_2O_2$
Hydroxyl radical	$OH^{\bullet}$	Ozone	$O_3$
Hydroperoxyl radical	$HO_2^{\bullet}$	Organic peroxide	$ROOH$
Peroxyl radical	$RO_2^{\bullet}$		
Alkoxy radical	$RO^{\bullet}$		
Carbonate radical	$CO_3^{\bullet-}$		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของ RS โดยแบ่งประเภทตามโมเลกุลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation และแบ่งย่อยโดยลักษณะของการเป็น Radical ของโมเลกุล (ต่อ)

Reactive chlorine species			
Chlorine radical	$\text{Cl}^\bullet$	Hypochloric acid	$\text{HOCl}$
		Nitryl chloride	$\text{NO}_2\text{Cl}$
		Chlorine gas	$\text{Cl}_2$
Reactive nitrogen species			
Nitric oxide radical	$\text{NO}^\bullet$	Nitric oxide	$\text{HNO}_2$
Nitrogen dioxide radical	$\text{NO}_2^\bullet$	Peroxynitrite	$\text{ONOO}^-$
		Peroxynitrous acid	$\text{ONOOH}$
		Nitryl chloride	$\text{NOCl}$

### 2.1.2 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

หมายถึงปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน เรียกว่าสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนว่า ตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดซ์ (Oxidizing agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันมักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชันยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้อง เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่าง ๆ ได้มากมายหลายชนิด และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่น ๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป

#### 2.1.2.1 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ 3 ขั้นตอน [15,16] คือ

1. อินิทิเอชัน (Initiation step) เป็นการสร้างหรือผลิตอนุมูลอิสระ
2. พรอพาเกชัน (Propagation step) อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระ

ตัวอื่นต่อ ๆ กันไป

3. เทอร์มิเนชัน (Termination step) เป็นการหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูลได้เป็นสารที่มีความเสถียร

การที่โมเลกุลหรืออะตอมจะกลายเป็นอนุมูลอิสระได้ต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่ก็มีโมเลกุลหรืออะตอมหลายชนิดที่เป็นอนุมูลอิสระได้เมื่ออยู่ในสภาวะปกติรวมถึงสารชีวโมเลกุลที่พบในสิ่งมีชีวิต ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระที่พบในสภาวะปกติของสิ่งมีชีวิต อธิบายได้ดังนี้

### 1. อินิทิเอชัน (Chain initiation)

อนุมูลอิสระเกิดมาจากกลไกต่างกันได้หลายวิธีคือ การแตกพันธะของโมเลกุลที่เรียกว่า Bond homolysis การแตกพันธะเนื่องจากแสง (Photolysis) รังสี (Radiolysis) และปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox) ปฏิกิริยาดังกล่าวจัดเป็นกลไกพื้นฐานในการสร้างอนุมูลอิสระจากสารอินทรีย์

1.1 Bond homolysis โมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุด (Valence electron) เป็นจำนวนคู่แล้วในทางทฤษฎีสามารถแยกออกจากกันให้ผลลัพธ์เป็นอนุมูลอิสระได้โดยในสภาวะที่อุณหภูมิปกติการที่อิเล็กตรอนคู่ในพันธะโควาเลนต์สามารถแยกจากกันไปให้อะตอมแต่ละตัวได้นั้น ต้องเป็นโมเลกุลที่มีพลังงานระหว่างพันธะที่อ่อนมาก เช่น Disulfide และการเกิดปฏิกิริยาจะมีอัตราที่ช้ามากจึงคาดว่าไม่น่าจะเกิดในระบบของสิ่งมีชีวิตได้ตัวอย่าง Bond homolysis แสดงได้ดังสมการต่อไปนี้



1.2 Photolysis เป็นการแตกพันธะของโมเลกุลจากการดูดพลังงานแสง เช่น แสงอัลตราไวโอเล็ต ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ที่พบบ่อยคือการแตกพันธะของ Hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) กลายเป็นอนุมูล Hydroxyl ( $\text{HO}\cdot$ ) โดยในสิ่งมีชีวิตพลังงานแสงจะถูกดูดโดยโมเลกุลที่มีความไวต่อแสง เช่น รงควัตถุและสารอะโรมาติกคาร์บอนบางชนิด หลังดูดพลังงานแสงแล้วจะทำให้โมเลกุลอยู่ในสถานะที่ตื่นตัว (Excited state) จึงต้องมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อให้โมเลกุลกลับเข้าสู่สถานะพื้น (Ground state) ดั้งเดิมและวิธีหนึ่งของการคายพลังงาน คือการแตกพันธะของโมเลกุลเกิดเป็นอนุมูลอิสระ 2 ตัว ดังนี้



1.3 Radiolysis พลังงานจากรังสีชนิดต่าง ๆ เช่น รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงสามารถทำให้เกิดการแตกพันธะโควาเลนต์ของโมเลกุลสารได้โดยเฉพาะโมเลกุลน้ำจะให้อนุมูลประจุบวก ( $\text{H}_2\text{O}^{+\cdot}$ ) และอนุมูล Hydroxyl ( $\text{HO}\cdot$ ) ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นตัวที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์สูง ทำให้เกิดอนุมูลอิสระออกมามากมาย นอกจากนี้รังสียังทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้โดยตรงจากสารประกอบเคมีของเซลล์อีกด้วยโดยเฉพาะสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวในร่างกายสิ่งมีชีวิต ซึ่งปฏิกิริยานี้ นับเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญของปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

1.4 Redox หรือเรียกอีกอย่างว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation-Reduction reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทั่วไปในระบบทางชีววิทยา ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันบางชนิดมีประโยชน์แต่มีปฏิกิริยาออกซิเดชันบางชนิดก่อให้เกิดความเสียหาย โดยสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ที่สำคัญคือโมเลกุลของอนุมูล superoxide ( $O_2^{\bullet}$ ) ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (Intermediate) ในกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรียและเยื่อหุ้มนิวเคลียส นอกจากนี้ปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอออนโลหะในร่างกายก็จัดเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระเช่นกัน โดยเฉพาะเหล็ก ( $Fe^{2+}$ ) และทองแดง ( $Cu^{2+}$ ) โดยไอออนโลหะเปรียบเสมือนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์

## 2. พรอพาเกชัน (Chain propagation)

เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระมีการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของสารอื่น ซึ่งปฏิกิริยาจะดำเนินต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่และได้อนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลา จัดเป็นการเปลี่ยนตำแหน่งของอิเล็กตรอนที่ไม่เข้าคู่ (Unpaired electron) ซึ่งสามารถแบ่งกลไกของปฏิกิริยาในขั้นพรอพาเกชันได้ 3 ชนิด ที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบทางชีววิทยาที่เกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต คือ

2.1 การถ่ายทอดอะตอมหรือกลุ่มของอะตอม (Atom or group transfer) จัดเป็นกลไกที่เกิดขึ้นมากที่สุดในลำดับของพรอพาเกชัน โดยปฏิกิริยาจะเกี่ยวข้องกับการดึงไฮโดรเจนตั้งสมการ



2.2 การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron transfer) เป็นการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระที่เป็นกลางหรือมีประจุลบไปให้โมเลกุลที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (Non-radical molecule) ซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมันในสิ่งมีชีวิต (Lipid peroxidation)

2.3 การเติมอนุมูลอิสระ (Addition of radicals) เป็นการเติมกลุ่มอนุมูลอิสระเข้าไปในโมเลกุลต่าง ๆ ดังสมการ



## 3. ขั้นเทอร์มิเนชัน (Chain termination)

เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยกลไกหลัก 3 ชนิด คือ

3.1 การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ (Homo linking and cross-linking of radicals) เป็นการรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลโดยการนำอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ของแต่ละโมเลกุลอนุมูลอิสระมาสร้างพันธะกัน ได้เป็นสารโมเลกุลใหม่ที่มีพันธะร่วมกัน หากเป็นการรวมตัวกันระหว่างอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลที่เป็นชนิดเดียวกัน เรียกโมเลกุลสารใหม่ที่ได้ว่า Homodimer แต่ถ้าเป็นการรวมตัวของอนุมูลอิสระต่างชนิดกันเรียก Heterodimer ซึ่งกลไกนี้เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการสร้างสารชีวโมเลกุลที่มีความเสถียรขึ้นมาใหม่ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิกและไขมัน เป็นต้น การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระแสดงได้ดังนี้



3.2 การกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) คำว่า Scavenge หมายถึง การกำจัดเอาขยะและสิ่งที่ไม่ต้องการออกไป ซึ่งในกรณีนี้เปรียบอนุมูลอิสระได้กับสิ่งที่ไม่ต้องการ ซึ่งการกำจัดออกจะกระทำโดยสารกลุ่มหนึ่งที่เรียกว่า Scavenger หรือสารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) เช่น สารประกอบฟีนอลิกซึ่งจัดเป็น Radical scavenger ที่มีประสิทธิภาพ รวมทั้งวิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ เป็นต้น

3.3 การถ่ายเทอิเล็กตรอน (Electron transfer) เป็นการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ของอนุมูลอิสระออกจากโมเลกุล หรือเป็นการรับเอาอิเล็กตรอน 1 ตัวจากภายนอกมาเข้าคู่กับอิเล็กตรอนเดิมที่ยังมีที่ว่างอยู่ในโมเลกุล ทำให้สภาวะการเป็นอนุมูลอิสระหมดไป เช่น อนุมูล Superoxide ( $O_2^{\cdot-}$ ) เกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนกลายเป็นโมเลกุลออกซิเจนปกติ ( $O_2$ ) เป็นต้น

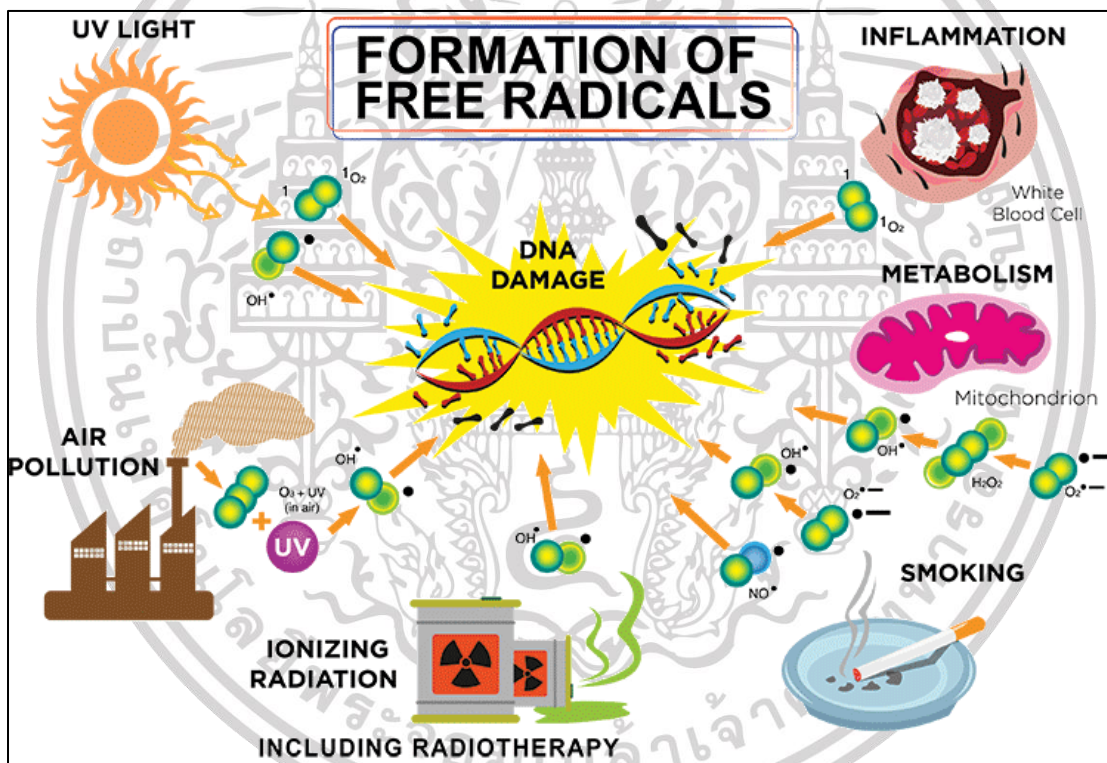
### 2.1.3 สาเหตุการเกิดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระเกิดจากปัจจัยจากภายในและภายนอกร่างกายดังแสดงในรูปที่ 2.2 สามารถอธิบายได้ดังนี้ [13-15]

#### 2.1.3.1 อนุมูลอิสระที่เกิดเองภายในร่างกาย

อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาได้เองจากภายในร่างกายเราด้วยสองวิธีคือ จากกระบวนการเผาผลาญอาหารของร่างกายเรา ในการเผาผลาญอาหารนั้น ร่างกายจะใช้ออกซิเจนเข้าไปช่วย สิ่งที่เกิดขึ้นมาคือออกซิเจนที่มีประจุลบ (คือขาดอิเล็กตรอนตัวนอกสุดไป) กลายเป็นอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเนื่องจากมีมูลเหตุจากออกซิเจนนี้ จะมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า

Reactive oxygen species (หรือ ROS) คือเป็น Oxygen free radical (เป็นโมเลกุลที่มีอะตอมของออกซิเจนเป็นส่วนประกอบ โดยที่อิเล็กตรอนรอบนอกสุดของออกซิเจนนั้นไม่ครบคู่) หากร่างกายมีกระบวนการดังกล่าวที่มากเกินไป หรือการที่ร่างกายขาดสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้มีการสะสมของ ROS มากขึ้นและทำให้เกิดภาวะ Oxidative stress ขึ้นได้ ภาวะ Oxidative stress นั้นหากเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นๆเพียงชั่วขณะนั้นจะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพมากนัก แต่หากเกิดภาวะดังกล่าวเป็นเวลานานจะทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีผลไปทำลายเนื้อเยื่อต่าง ๆ เยื่อหุ้มเซลล์ รวมถึง DNA และจะนำไปสู่โรคในหลายระบบและนำไปสู่ความเสี่ยงของอวัยวะต่าง ๆ ได้ เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคทางสมองและระบบประสาท เช่น Parkinson และ Alzheimer ผลต่อระบบต่อมไร้ท่อต่าง ๆ มะเร็ง รวมไปถึงมีผลต่อความยืดหยุ่นของผิวหนัง



รูปที่ 2.2 ปัจจัยการเกิดอนุมูลอิสระ

2.1.3.2 อนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกร่างกาย

ปัจจัยแวดล้อมนั้นมีส่วนอย่างมากในการกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะอย่างยิ่งรังสีต่าง ๆ เช่น UV, Xray, Gamma ray โดยรังสีเหล่านี้จะกระตุ้นให้น้ำเปลี่ยนไปเป็น Hydroxyl radical อย่างง่ายดาย หรือแม้แต่มลภาวะทางเคมีเช่น Paraquat ที่กระตุ้นให้เกิด Peroxide หรือ

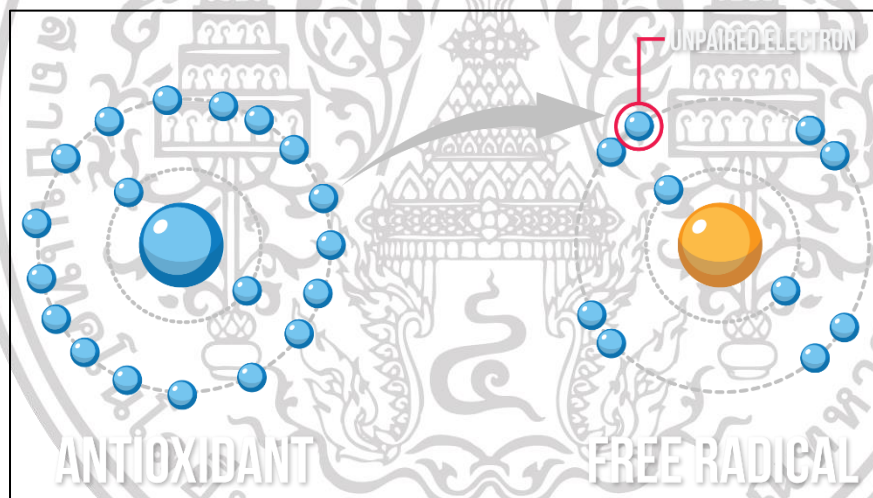
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการทำงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ozone สารจำพวก Quinones และ Nitroaromatics คือสารที่ทำให้เกิด Superoxide ได้ นอกจากนี้ยังมีโลหะหนักซึ่งเมื่อได้รับไปมาก ๆ ก็เสี่ยงต่อการเกิด Fenton reaction ได้ สารต่าง ๆ เหล่านี้มักจะก่อให้เกิดมะเร็ง และโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของอวัยวะต่าง ๆ อย่างไรก็ตามก็ยังมียาต้านมะเร็งที่ใช้ความสามารถของสารในการสร้าง ROS ขึ้นเพื่อฆ่าเซลล์มะเร็งเช่น Cisplatin และ Adriamycin มีการศึกษาการใช้สารต้านออกซิเดชั่น (Antioxidant) เพื่อลดผลทางชีวภาพของอนุมูลอิสระดังกล่าวและเพื่อเปลี่ยนแปลงธรรมชาติของการเกิดโรค

## 2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

### 2.2.1 ความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระได้ สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีมีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่น [13-15] ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (Singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยา

ออกซิเดชันได้ (Metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (Synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระดังสมการที่ 2.12 และ 2.13



โดย  $R^{\bullet}$  และ  $RO^{\bullet}$  คือ อนุมูลอิสระ

$AH$  คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

## 2.2.2 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

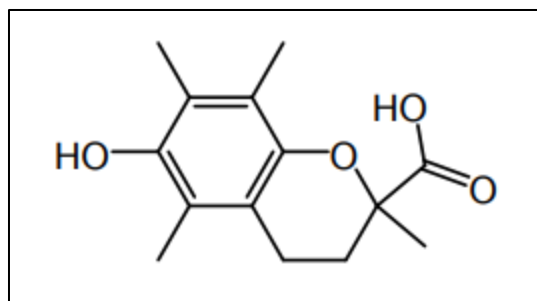
แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่

### 2.2.2.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีส่วนใหญ่ จะออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็ก นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้ อาหารมีกลิ่น สีและรสชาติเปลี่ยนแปลงไป สารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ มีดังนี้

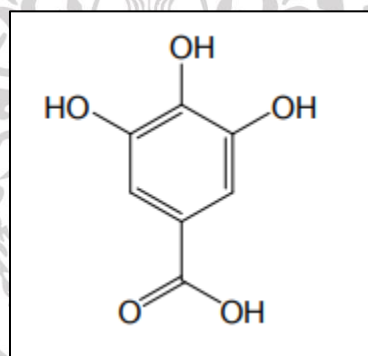
#### 1. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)

มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ  $C_{14}H_{18}O_4$  เป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ดัดแปลงโครงสร้างโดยการเปลี่ยนสายอัลเคน เป็นหมู่คาร์บอกซิลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.4 มีความสามารถละลายได้ดีในน้ำ แต่เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำได้ดี จึงทำให้การออกฤทธิ์เร็วกว่าวิตามินอีโดยวิตามินอีต้องใช้เวลานานเป็นชั่วโมงหรือเป็นวัน ในขณะที่ Trolox ออกฤทธิ์เกือบจะทันทีในวิธีการตรวจสอบหลายวิธีในการวิจัยนิยมใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐานในการตรวจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



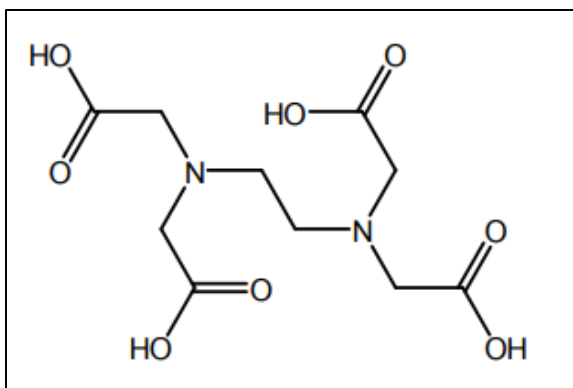
รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของ Trolox

2. Gallic acid หรือ 3,4,5-hydroxybenzoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ  $C_7H_6O_5$  gallic acid มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.5 เป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น ใบชาเปลือกไม้โอ๊ค และพืชอื่น ๆ โดยทั่วไปจะใช้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของ Gallic acid คือ สามารถยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี



รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของ Gallic acid

3. EDTA หรือ Ethylenediaminetetraacetic acid มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ  $C_{10}H_{16}N_2O_8$  มีคุณสมบัติเป็นสารคีเลต มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.6 โดยการจับกับธาตุโลหะที่มีประจุเช่น ตะกั่ว เหล็ก สังกะสี แคลเซียม แมงกานีส และทองแดง ซึ่งประโยชน์ทางการแพทย์สามารถนำมาใช้กำจัดไอออนของโลหะต่าง ๆ ได้

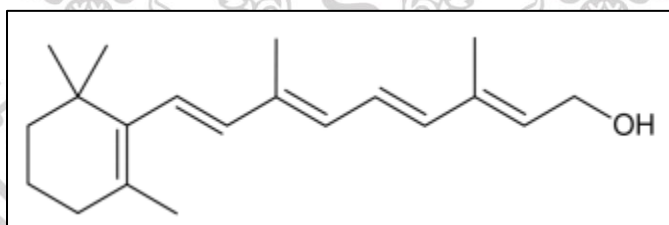


รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของ EDTA

### 2.2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

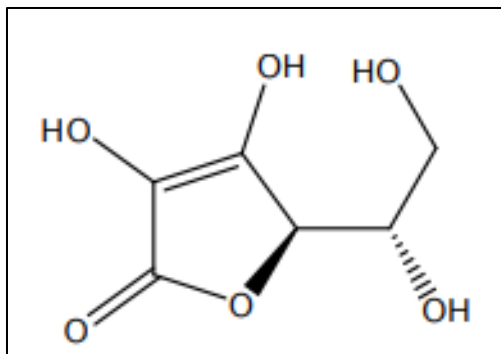
ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์วิตามิน เบต้า-แคโรทีน ( $\beta$ -carotene) รวมถึงกลุ่มโพลีฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoids) และกรดฟีนอลิก (Phenolic acid) เป็นต้น ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีดังนี้

1. วิตามินเอ ในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.7 แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ จัดเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอเรียกว่า โปรวิตามินเอ มักพบในพืชผัก ใบเขียว ผักและผลไม้ที่มีสีเหลืองหรือสีส้มแดง



รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของ วิตามินเอ

2. วิตามินซี มีชื่อทางเคมีว่า กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำจะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น แสดงโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 2.8 วิตามินซีมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อนุมูล Hydroxyl และอนุมูล Peroxyl นอกจากวิตามินซีสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้ว ยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชัน ของวิตามินอีด้วย

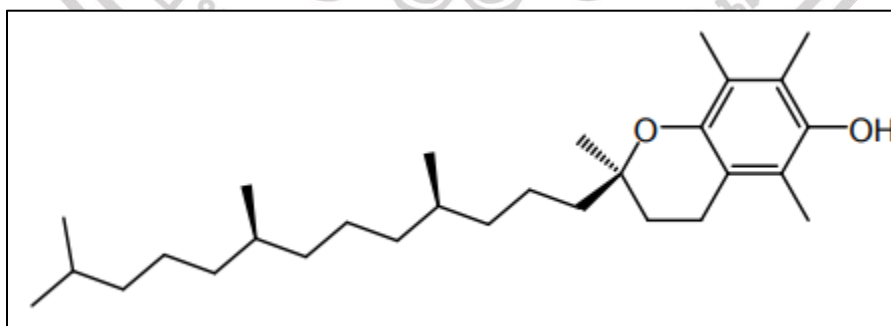


รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของ วิตามินซี

3. วิตามินอี เป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมันเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ แสดงโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 2.9 โดยวิตามินอีทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชัน ตัวอื่น ๆ เช่น วิตามินซีและซีลีเนียม เป็นต้น วิตามินอีช่วยปรับให้ร่างกายสามารถนำเอาวิตามินเอมาใช้ซึ่งจะช่วยในการป้องกันสารที่เป็นพิษที่มีผลมาจากโลหะ เช่น ตะกั่ว ในธรรมชาติมีวิตามินอีอยู่หลายชนิด ปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือโทโคฟีรอล และโทโคโทอินอล แต่ละกลุ่มยังแยกเป็นวิตามินย่อย ๆ อีก 4 ชนิด ได้แก่อัลฟา ( $\alpha$ -) เบต้า ( $\beta$ -) แกมมา( $\gamma$ -) และเดลต้า ( $\delta$ -) วิตามินอีทำหน้าที่เป็นตัวให้อิโตรเจนแก่อนุมูล Peroxyl ดังสมการ



อนุมูล  $\alpha$ -tocopherol ที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูล peroxyl ตัวอื่นทำให้ได้สารที่มีความเสถียร ( $\text{LOO}-\alpha$ -tocopherol) ดังสมการ เป็นผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหยุดลง ดังสมการ



รูปที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของ วิตามินอี

### 2.2.3 คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากการไปจับกับอนุมูลอิสระแล้วสารต้านอนุมูลอิสระควรจะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

1. ป้องกันการเกิดขึ้นของ Reactive oxygen species (ROS) ได้
2. สามารถจับกับ ROS ที่เกิดขึ้นก่อนที่ ROS นั้นจะไปทำอันตรายเนื้อเยื่อต่าง ๆ
3. ต้องไม่เพิ่มความแรงของอนุมูลอิสระหรือไม่เปลี่ยน ROS ที่มีความแรงต่ำไปเป็น ROS ที่มีความแรงสูงเช่นไม่เปลี่ยนจาก Super oxide ไปเป็น Hydroxyl radical เป็นต้น
4. ทำให้เกิดสถานะที่เหมาะสมต่อการทำงานของ Antioxidant enzyme หรือสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ
5. เพิ่มการแสดงออกของยีนที่ใช้สร้าง Antioxidant enzyme และช่วยในการฟื้นฟูความเสียหายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อจากการถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ

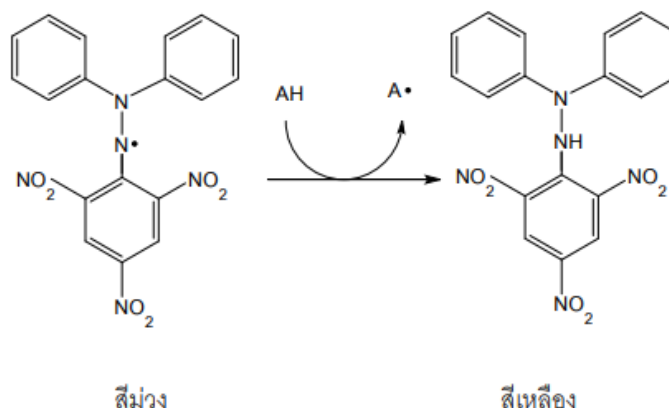
## 2.2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity determination)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยม ได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH\*) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS<sup>•+</sup>) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ [16] หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ

1. แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง
  2. แบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50% (IC<sub>50</sub>, 50 % of inhibitory concentration) โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง
- ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลาย ได้แก่  $\mu\text{M}/\text{mg}$ ,  $\text{mM}/\text{mg}$ ,  $\mu\text{M}/\text{mL}$ ,  $\text{mM}/\text{mL}$  และ  $\text{mmol}/\text{g}$  เป็นต้น

### 2.2.4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH\* radical scavenging assay)

เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ ในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH\*, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว มีสีม่วง สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH\* ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) หรือกับ Radical species (R\*) จะทำให้สีม่วงจางลง จนเป็นสีเหลือง [17-20] ดังแสดงในรูปที่ 2.10 และสามารถแสดงความสัมพันธ์ตามสมการ 2.15 และ สมการ 2.16



รูปที่ 2.10 แสดงปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระดีพีพีเอชทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ

ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มีดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาทำให้สามารถทำการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH\* ตามสมการ 2.17

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = \left[ \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \right] \times 100 \quad (2.17)$$

โดยที่  $A_0$  คือค่าดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH\*

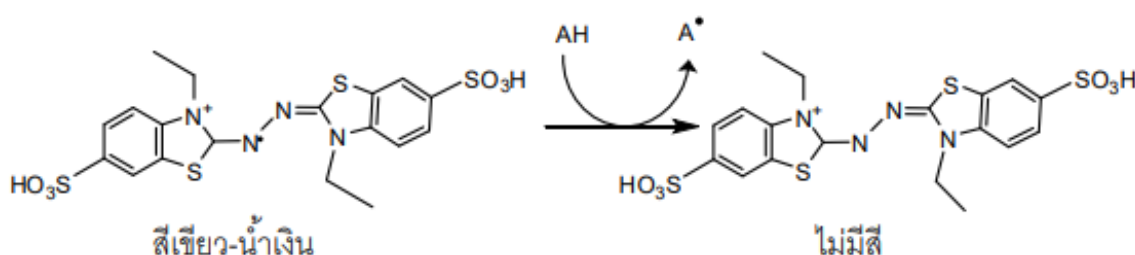
$A_s$  คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ

ข้อดีของ วิธีนี้คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ DPPH\* ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องเตรียมสารละลายในตัวทำละลายที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (Interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรบกวนแล้วทำให้สีของ DPPH\* จางลงได้เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS<sup>•+</sup> radical cation decolorization assay)

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS<sup>•+</sup>, 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงิน สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ ABTS<sup>•+</sup> ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง ABTS<sup>•+</sup> ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์จากนั้นนำ ABTS<sup>•+</sup> ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลเจือจางซึ่งจะทำให้สีจางลง [19,21-23] ดังแสดงในรูปที่ 2.11



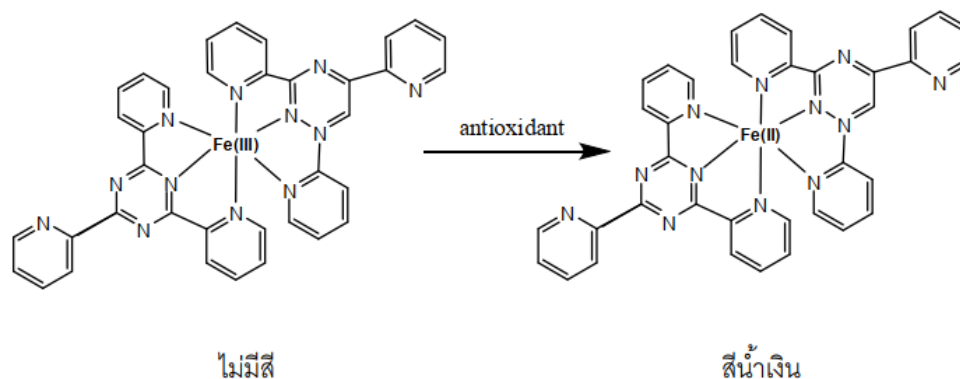
รูปที่ 2.11 แสดงปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระเอบีทีเอสทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ

และตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS<sup>•+</sup> ซึ่งวิธีการคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox กระทำเช่นเดียวกับวิธี DPPH<sup>•</sup>

ข้อดีของวิธีการนี้คือ ABTS<sup>•+</sup> ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ ABTS<sup>•+</sup> ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

2.2.4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay)

วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน  $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$  ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น  $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$  ดังแสดงในรูปที่ 2.12



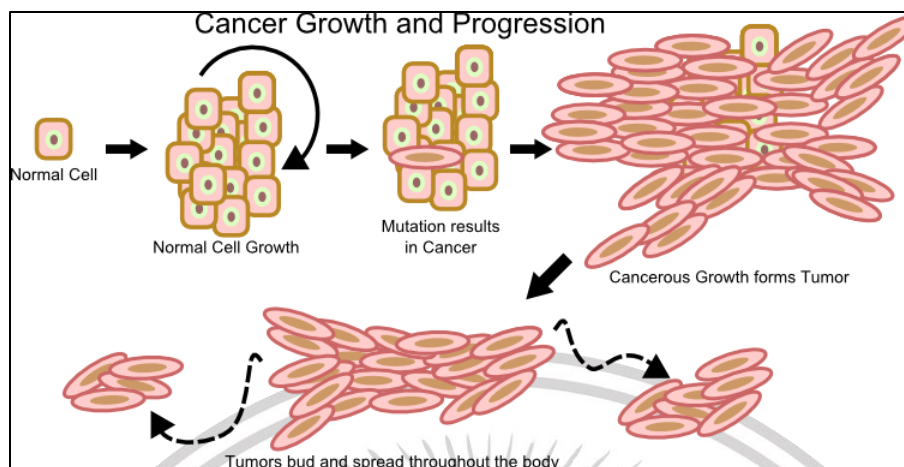
รูปที่ 2.12 แสดงปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบเชิงซ้อน  $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$

ซึ่ง  $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$  มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ปริมาณของ  $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$  ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ( $FeSO_4$ ) ซึ่งขั้นตอนโดยละเอียดของวิธีการนี้ ได้แก่ การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน  $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$  ประกอบด้วยนำสารละลาย TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-striazine) ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางมาทำปฏิกิริยากับสารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ และสารละลายเฟอร์ริกไตรคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต จากนั้นทำการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตหรือสารตัวอย่าง (สารต้านอนุมูลอิสระ) และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด [19,21,24]

วิธีการนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพง และสามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม แต่ข้อเสีย คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกาย และสารละลายที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

### 2.3 มะเร็ง (Cancer)

มะเร็ง (Cancer) หรือ เนื้องอกร้าย (Malignant tumor) เป็นกลุ่มของโรคที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ผิดปกติ โดยเซลล์จะแบ่งตัวและเจริญอย่างควบคุมไม่ได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ผิดปกติ

อาจกล่าวได้ว่า อัตราการเกิดของเซลล์ (Cell growth) จะต้องมีอัตราส่วนใกล้เคียงกับอัตราการตายของเซลล์ (Cell death) แต่ถ้าเมื่อใดร่างกายสูญเสียระบบการควบคุมไม่ว่าจะทำให้อัตราการเกิดของเซลล์สูงกว่าอัตราการตาย หรือเซลล์เมื่อแบ่งตัวแล้วแต่ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพื่อทำหน้าที่เฉพาะได้ ผลลัพธ์คือก่อเป็นเนื้องอกร้ายและมีศักยภาพในการรุกรานร่างกายส่วนข้างเคียง ส่งผลต่อภาวะวิภาคและสรีรวิทยาของอวัยวะจนไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ มะเร็งอาจแพร่กระจายไปยังร่างกายส่วนที่อยู่ห่างไกลได้โดยผ่านระบบน้ำเหลืองหรือกระแสเลือด โรคมะเร็งพบได้ในทุกอายุตั้งแต่เด็กแรกเกิดไปจนถึงผู้สูงอายุ โดยพบได้สูงในอายุตั้งแต่ 50 ปีขึ้นไปส่วนในเด็กพบน้อยกว่าในผู้ใหญ่ประมาณ 10 เท่า โรคมะเร็งที่พบบ่อยของชายไทย ได้แก่ โรคมะเร็ง ตับ ปอด ลำไส้ใหญ่ และต่อมลูกหมาก โรคมะเร็งที่พบบ่อยของหญิงไทย ได้แก่ โรคมะเร็ง เต้านม ปากมดลูก ตับ และปอด ในขณะที่โรคมะเร็งพบบ่อยในเด็กไทย ได้แก่ โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง และโรคมะเร็งสมอง [25-26]

### 2.3.1 ปัจจัยส่งเสริมการเกิดโรคมะเร็ง

ความผิดปกติของเซลล์ในร่างกายที่เกิดจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งที่ลุกลามไปยังเซลล์ข้างเคียง มีสาเหตุมาจากปัจจัยที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงความผิดปกติภายในเซลล์ร่างกายเอง และปัจจัยภายนอกที่มากระตุ้นจากสิ่งแวดล้อมจนทำให้เกิดความผิดปกติดังนี้ [26, 27]

#### 2.3.1.1 ปัจจัยจากภายในร่างกาย ได้แก่

1. เพศ อายุ สุขอนามัยส่วนบุคคล
2. ความผิดปกติที่มีมาก่อน เช่น ไข ปาน
3. กรรมพันธุ์ที่ได้รับการถ่ายทอดจากบรรพบุรุษ ทำให้มีแนวโน้มเป็นมะเร็ง

ชนิดนั้น ๆ สูงขึ้น

4. สภาวะระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันตามปกติมีการกำจัดเซลล์ที่ผิดปกติได้ลดลง จึงมีโอกาที่จะพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็งและสามารถเพิ่มจำนวนได้

5. ความไม่สมดุลของฮอร์โมนในร่างกาย ซึ่งภาวะไม่สมดุลนี้อาจส่งเสริมให้เนื้อเยื่อบางชนิดมีการเจริญเติบโตมากขึ้นจนเป็นเซลล์มะเร็งได้

6. การระคายเคืองที่บริเวณเดิม ๆ ซ้ำ ๆ เป็นเวลานาน จะทำให้เนื้อเยื่อเกิดอักเสบกลายเป็นเนื้องอกหรือก้อนเนื้อมะเร็งได้

### 2.3.1.2 ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม ได้แก่

1. สารเคมีที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืชและวัชพืชบางชนิดที่ตกค้างในอาหารหรือระบบห่วงโซ่อาหารและมีผลเป็นการก่อกลายพันธุ์และก่อมะเร็งได้

2. สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตของอุตสาหกรรม เช่น สารทำลายอินทรีย์แร่ใยหิน (Asbestos) สารโลหะหนักบางชนิด และสารกัมมันตรังสี

3. สารเคมีในกิจกรรมประจำวันหรืออาหารที่สามารถก่อให้เกิดโรคมะเร็ง เช่น คิววินบุหรี เหม่าจากท่อไอเสียของรถยนต์ คิววินไฟ เหม่าจากการปิ้ง ย่าง ทอดอาหารจนไหม้เกรียม การใช้ น้ำมันซ้ำในการทอดอาหารทำให้เกิดสารไดออกซิน (Dioxin) สารพิษอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) จากเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* ที่สร้างขึ้นในเมล็ดถั่วและเมล็ดพืชน้ำมัน

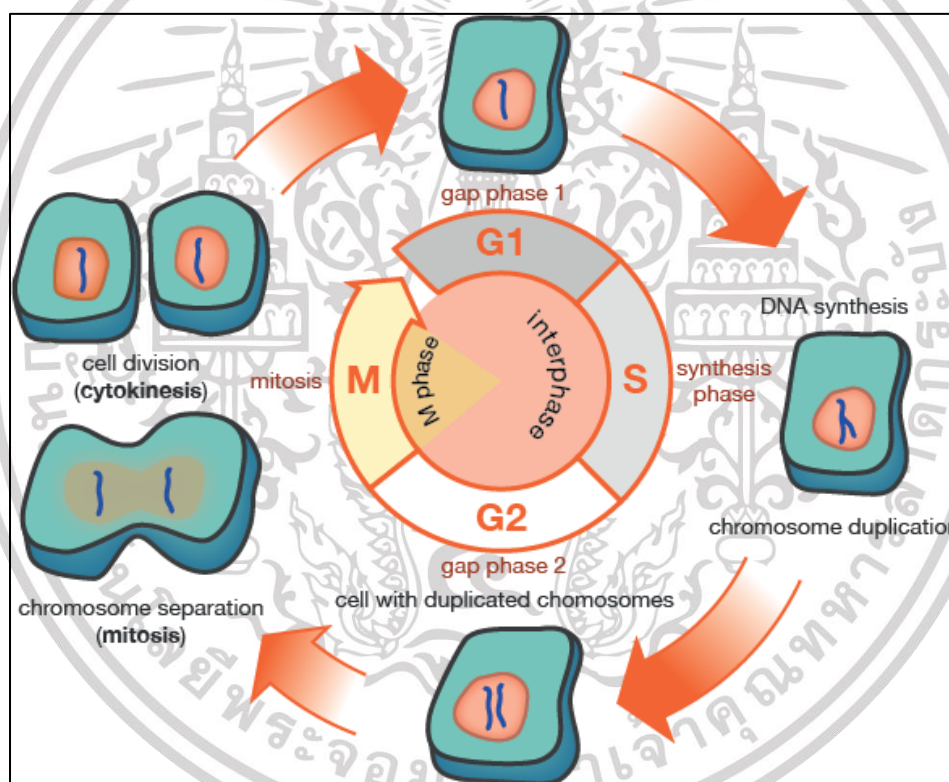
4. การติดเชื้อต่าง ๆ เช่น ไวรัส ชนิด Human Papilloma Virus (HPV) มีโอกาสทำให้เกิดโรคมะเร็งปากมดลูก มะเร็งทวารหนัก การติดเชื้อเรื้อรัง เช่น ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus; HBV) มีโอกาสทำให้เกิดมะเร็งตับ และการติดเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter Pylori* มีโอกาสทำให้เกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร เป็นต้น

จะเห็นว่ามะเร็งส่วนใหญ่มีปัจจัยมาจากสิ่งแวดล้อม ดังนั้น มะเร็งก็น่าจะเป็นโรคที่สามารถ ป้องกันได้เช่นเดียวกับโรคติดเชื้ออื่น ๆ ถ้าประชาชนมีความรู้เกี่ยวกับสารก่อมะเร็งและสารช่วยหรือให้เกิดมะเร็งที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมแล้ว พยายามหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับสารเหล่านั้น เช่น งดสูบบุหรี่ หรือหลีกเลี่ยงจากบริเวณที่มีคิววินบุหรี เป็นต้น สำหรับสาเหตุภายในร่างกายนั้น การป้องกันคงไม่ได้ผลแต่ทำให้ทราบว่าตนเองจัดอยู่ในกลุ่มที่มีอัตราเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งสูงหรือมากกว่ากลุ่มอื่น ๆ ดังนั้น ก็ควรไปพบแพทย์เพื่อขอคำแนะนำเกี่ยวกับความรู้เรื่องมะเร็งต่อไปในกรณีที่เป็นมะเร็งและได้ตรวจพบตั้งแต่ระยะแรก ซึ่งจะมีการตอบสนองต่อการรักษาค่อนข้างดี

### 2.3.2 ชนิดและสมบัติของเซลล์มะเร็ง

วงจรชีวิตของเซลล์ปกติโดยทั่วไปจะมี 4 ระยะ คือ G1 S G2 และ M ดังแสดงในรูปที่ 2.14 โดยระยะ G1 จะเป็นขั้นตอนเริ่มต้น โดยมีการเจริญเติบโตของเซลล์เกิดขึ้น ในระยะ S จะเป็นขั้นตอนที่สร้างดีเอ็นเอชุดใหม่ขึ้นมา ระยะ G2 เป็นขั้นตอนที่เซลล์เตรียมการแบ่งตัว และในระยะ M จะเกิดการ

แบ่งเซลล์โดยเซลล์ปกติจะมีกลไกที่ร่างกายคอยควบคุมให้มีจำนวนเซลล์แต่ละชนิดอยู่ในระดับที่เหมาะสม โดยมีกลุ่มยีนอองโค (Oncogene) เป็นกลุ่มของยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโตและควบคุมการแบ่งเซลล์เพื่อทดแทนเซลล์ที่ตายไป และมีกลุ่มยีนต้านมะเร็ง (Tumor suppressor gene) ที่ทำหน้าที่ในการหยุดยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของเซลล์ในระยะ G1 เข้าสู่ระยะ S ซึ่งหากเกิดการกลายพันธุ์ (Mutation) ของกลุ่มยีนเหล่านี้ อาจส่งผลให้ไม่มีการแบ่งเซลล์ตามวงจรและทำให้เกิดการเติบโตของเซลล์หรืออาจมีการแบ่งเซลล์แบบควบคุมไม่ได้กระทั่งเจริญมากผิดปกติและลุกลามไปยังบริเวณข้างเคียงเป็นเซลล์มะเร็ง และยังสามารถกระจายเข้าสู่กระแสโลหิตและต่อมน้ำเหลืองอีกทั้งกระจายไปสู่อวัยวะที่อยู่ห่างออกไปได้อีก [28]



รูปที่ 2.14 วงจรชีวิตของเซลล์มะเร็ง

### 2.3.2.1 ชนิดของเซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็งมีการแบ่งออกเป็น 4 ชนิด [29] ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. คาร์ซินอมา (Carcinomas) คือมะเร็งที่เกิดในเนื้อเยื่อผิวบุ (Epithelial tissue) ซึ่งพบได้บ่อยที่สุด เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ เป็นต้น
2. ซาร์โคมา (Sarcomas) คือมะเร็งที่เกิดขึ้นในชั้นเนื้อเยื่อประสาน (Mesenchyme) เช่น กระดูก เป็นต้น
3. ลิมโฟมา (Lymphomas) คือ มะเร็งที่เกิดขึ้นในต่อมน้ำเหลือง
4. ลูคีเมีย (Leukemias) คือ มะเร็งในไขกระดูก

#### 2.3.2.2 คุณสมบัติของเซลล์มะเร็ง

นอกจากลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาแล้วเซลล์มะเร็งยังมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากเซลล์ปกติดังนี้ [30,31]

1. เซลล์มะเร็งจะปฏิเสธสัญญาณที่สั่งให้หยุดการแบ่งตัว เซลล์ในสภาวะปกติจะมีการหยุดการแบ่งตัวเมื่อเนื้อเยื่อเจริญถึงระดับหนึ่งเพราะมีการควบคุมการทำงานของเซลล์จากตัวเองหรือจากเซลล์อื่น แต่ในเซลล์มะเร็งเมื่อมีการแบ่งตัวถึงระยะหนึ่งแล้ว ได้รับสัญญาณให้หยุดการแบ่งตัวแล้ว เซลล์มะเร็งจะยังคงสามารถเติบโตต่อไปได้อีกเพราะสามารถปฏิเสธสัญญาณจากเซลล์อื่นหรือเซลล์ตนเองที่สั่งให้หยุดการแบ่งตัวได้
2. ปฏิเสธสัญญาณการพัฒนาเฉพาะของเซลล์ เซลล์ปกติจะหยุดการแบ่งตัวและจะได้รับสัญญาณที่ทำให้เปลี่ยนแปลงจากเซลล์ตัวอ่อนไปเป็นเซลล์ที่มีหน้าที่เฉพาะ (Cell differentiation) ในขณะที่เซลล์มะเร็งจะหยุดการพัฒนาเฉพาะ ทำให้เซลล์มะเร็งมีคุณสมบัติของเซลล์ตัวอ่อนที่แบ่งตัวได้
3. มีความสามารถที่จะแบ่งตัวได้อย่างต่อเนื่องเป็นอมตะ เซลล์มะเร็งนั้นจะมีการแบ่งตัวไม่สิ้นสุด (Immortalization) แตกต่างจากเซลล์ทั่วไปที่มีจำนวนรอบของการแบ่งตัวที่จำกัด
4. สามารถหลีกเลี่ยงโปรแกรมการตายของเซลล์ เซลล์ปกติในบางสภาวะจะรับสัญญาณให้เข้าสู่โปรแกรมการตาย (Programmed cell death) เพื่อชักนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส (Apoptosis) เช่น เซลล์ที่ได้รับรังสีและเกิดการกลายพันธุ์ จะมียีน TP53 ส่งสัญญาณให้เซลล์นั้นตาย (ไม่เช่นนั้นจะเป็นมะเร็ง) แต่หากเกิดการกลายพันธุ์ของยีน TP53 จะทำให้เซลล์มะเร็งจะขาดสัญญาณและไม่ถูกควบคุมโดยโปรแกรมการตายและเกิดการกลายพันธุ์ได้รวดเร็วขึ้น
5. สามารถเบียดแทรกอวัยวะข้างเคียงหรือกระจายไปสู่อวัยวะห่างไกล เซลล์ปกติจะอยู่เฉพาะที่ในเนื้อเยื่อของตนเองตามหน้าที่ของเซลล์นั้น ๆ ในขณะที่เซลล์มะเร็งเมื่อหลุดออกจาก

เนื้อเยื่อจะสามารถไหลไปตามกระแสเลือดและน้ำเหลืองและสามารถไปอยู่ที่อวัยวะอื่น ๆ ได้ ทำให้เซลล์มะเร็งนั้นสามารถกระจายไปสู่อวัยวะที่อยู่ไกล ๆ ได้

6. มีการสร้างเส้นเลือดใหม่เป็นจำนวนมาก เซลล์มะเร็งมีการเจริญเติบโตเป็นก้อนขนาดใหญ่ได้เนื่องจากเซลล์มะเร็งมีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างเส้นเลือดได้อย่างต่อเนื่องมากกว่าปกติ

### 2.3.3 การรักษาโรคมะเร็ง

ประสิทธิภาพของการรักษาโรคมะเร็งขึ้นอยู่กับชนิด แผลงที่เกิด และระยะของโรคมะเร็งเมื่อได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งอย่างชัดเจนแล้ว กระบวนการรักษามะเร็งจะใช้การผสมผสานวิธีต่าง ๆ เข้าด้วยกัน เช่น การผ่าตัด การรักษาด้วยเคมีบำบัด การรักษาด้วยรังสี การรักษาด้วยยา และการรักษาด้วยสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีการต่าง ๆ มีรายละเอียดดังนี้ [25, 32-33]

#### 2.3.3.1 การรักษาโรคมะเร็งด้วยผ่าตัด

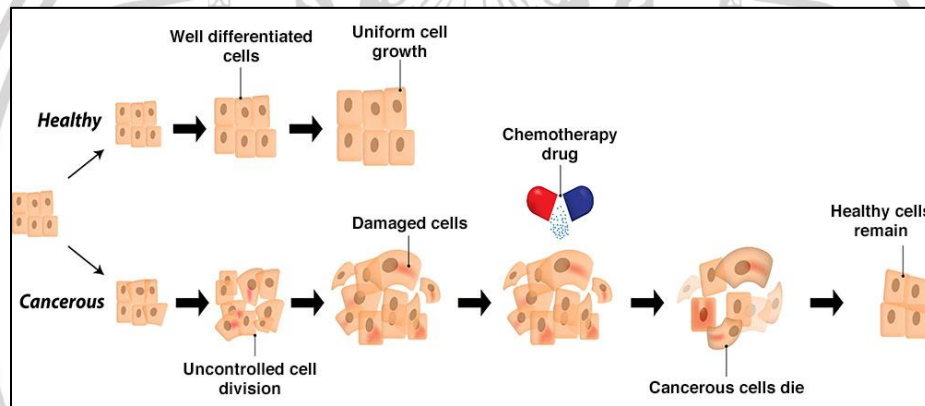
การผ่าตัดรักษาจะทำการผ่าตัดในผู้ป่วยที่โรคมะเร็งยังอยู่เฉพาะที่ตำแหน่งเริ่มต้นในมะเร็งระยะที่ 1 หรือในบางกรณีเพียงกระจายไปเนื้อเยื่อข้างเคียง หรือลุกลามทะลุผ่านอวัยวะที่เป็นโพรง (Hollow viscus organ) เท่านั้น และมักมีการรักษาร่วมด้วยกับการรักษาด้วยเคมีบำบัดหรือรังสีรักษา ซึ่งมีความสำคัญและช่วยทำให้การผ่าตัดได้ผลดียิ่งขึ้น ชนิดของการผ่าตัดรักษาโรคมะเร็ง แบ่งได้ดังนี้

1. การผ่าตัดเอาเฉพาะส่วนของก้อนมะเร็งออก (Local resection) ใช้สำหรับผู้ป่วยที่มะเร็งยังอยู่เฉพาะในบริเวณต้นกำเนิด หรือมีการกระจายของเซลล์มะเร็งเข้าไปยังผิวหนังบริเวณข้างเคียงเพียงไม่กี่มิลลิเมตรจากขอบจุดเริ่มต้นจึงไม่ต้องตัดกว้างมาก
2. การผ่าตัดบริเวณกว้าง โดยตัดเอาส่วนของมะเร็งที่มีการกระจายไปยังเนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียงออกด้วย (Radical local resection) ใช้สำหรับผู้ป่วยที่มะเร็งมีลักษณะที่กระจายแทรกไปในเนื้อเยื่อข้างเคียงมากจากจุดเริ่มต้นเมื่อตัดจึงมักตัดออกให้กว้างมาก ถ้าเป็นที่กล้ามเนื้อเนื้อก็ต้องเอากล้ามเนื้อนั้นตัดออกทั้งหมดจากตำแหน่งจุดเริ่มต้นถึงจุดกระจาย แต่ในการทำผ่าตัดแบบนี้จะต้องคำนึงถึงความพิการที่อาจจะเกิดขึ้นได้
3. การผ่าตัดบริเวณกว้างโดยตัดเอาส่วนของมะเร็งที่มีการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองใกล้เคียงออกด้วย (Radical resection with end bloc excision of lymphatics) ใช้สำหรับผู้ป่วยที่โรคมะเร็งที่จุดเริ่มต้นอยู่ใกล้กับต่อมน้ำเหลืองข้างเคียงของส่วนนั้น เนื่องจากมะเร็งอาจมีการกระจายไปต่อมน้ำเหลืองโดยที่บอกไม่ได้จากการตรวจคลำ ซึ่งจะมีผลช่วยให้การผ่าตัดรักษาดีขึ้นหรือช่วยวินิจฉัยโรคต่อไปข้างหน้าได้

4. การผ่าตัดอย่างครอบคลุมกว้างขวาง (Extensive radical surgical procedures) กระทำในบางกรณีที่ก้อนเนื้อออกมีขนาดใหญ่หรือมีการกระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะข้างเคียง โดยที่ยังไม่มีการกระจายไปที่ไกล ๆ ก็มีโอกาสรักษาได้ เช่น การผ่าตัดมะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่เข้าไปในอวัยวะข้างเคียง อาจจะต้องตัดอวัยวะนั้น ๆ ในช่องเชิงกรานไปด้วย เช่น มดลูก รังไข่ เป็นต้น

#### 2.3.3.2 การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีเคมีบำบัด

การรักษาด้วยเคมีบำบัด (Chemotherapy) คือการให้ยาเพื่อทำลายหรือเพื่อยุติยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง มีวัตถุประสงค์เพื่อรักษาผู้ป่วยให้หายจากโรคมะเร็งและไม่กลับมาเป็นซ้ำ ดังแสดงในรูปที่ 2.15 ควบคุมโรคให้ก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กกลางหรือไม่โตขึ้น และไม่แพร่กระจายไปยังอวัยวะส่วนอื่น บรรเทาอาการสำหรับผู้ป่วยมะเร็งระยะแพร่กระจาย เพื่อให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตดีขึ้น



รูปที่ 2.15 แผนภาพแสดงการให้ยาเคมีบำบัดเพื่อยุติยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

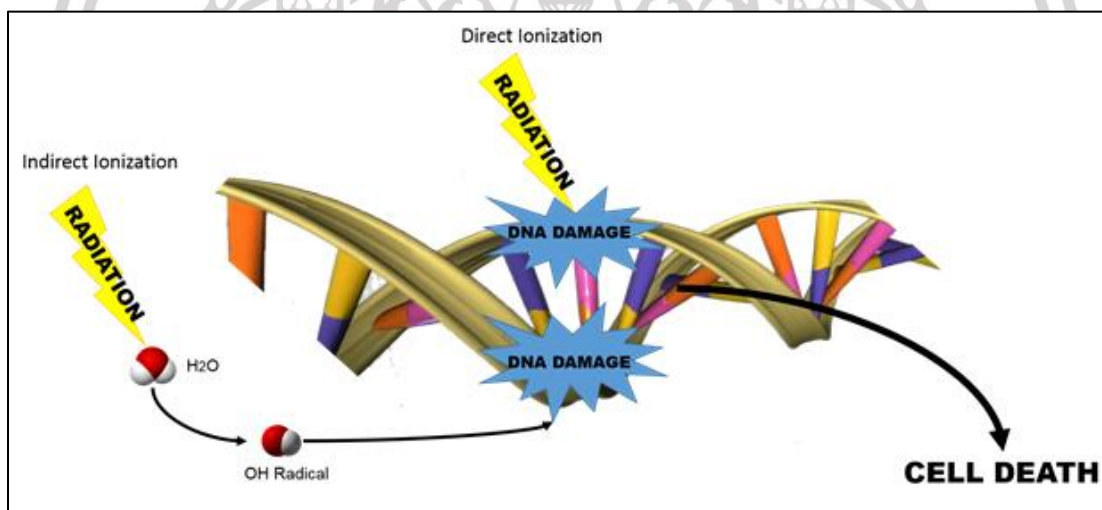
การรักษาด้วยวิธีเคมีบำบัดจะใช้รักษาผู้ป่วยใน 2 กรณี คือใช้รักษาหลังการผ่าตัดเพื่อทำลายเซลล์มะเร็งที่ยังหลงเหลืออยู่ในส่วนที่การผ่าตัดทำลายเซลล์มะเร็งไม่หมด และใช้ในกรณีที่ไม่สามารถทำการผ่าตัดรักษาได้ มีการใช้เคมีบำบัดเพื่อประคับประคองอาการเท่านั้น คุณสมบัติของเคมีบำบัดคือจะไปทำลายเซลล์มะเร็งที่มีอัตราการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว ในขณะที่เซลล์อื่น ๆ ที่มีอัตราการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เช่นเดียวกับเซลล์มะเร็งก็就会被ทำลายไปด้วย เช่น เส้นผม เล็บ ไชกระดูก ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้เกิดอาการข้างเคียง เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ปากอักเสบ เบื่ออาหาร ภูมิคุ้มกันต่ำ ท้องเสีย ผอมลง ซึ่งอาการเหล่านี้จะมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดของยา ความแข็งแรงของร่างกาย และความพร้อมด้านจิตใจของผู้ป่วย การให้เคมีบำบัดนิยมใช้วิธีการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ เนื่องจากช่วยให้อาสาสามารถกระจายไปทั่วร่างกายได้รวดเร็ว นอกจากนี้ยาเคมีบำบัดบางชนิดอาจไม่สามารถรับประทานได้ เนื่องจากระบบทางเดิน

อาหารดูดซึมไม่ดี หรือยาที่มีการระคายเคืองระบบทางเดินอาหารมาก ทำให้ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน หรือท้องเสียได้ ในขณะที่การฉีดเข้ากล้ามเนื้อไม่เป็นที่นิยม เพราะยาทำให้เกิดการระคายเคือง และทำลายผิวหนังและกล้ามเนื้อได้

### 2.3.3.3 การรักษาโรคมะเร็งด้วยการฉายรังสี หรือการฉายแสง

การฉายรังสีหรือการฉายแสงจัดเป็นประเภทหนึ่งของรังสีรักษา (Radiotherapy) ที่ใช้สำหรับบำบัดรักษาโรคมะเร็ง โดยใช้รังสีพลังงานสูงฉายไปที่ตำแหน่งของเซลล์มะเร็งเพื่อทำลายกลุ่มก้อนเซลล์มะเร็งนั้น เมื่อรังสีตกกระทบกับร่างกายของมนุษย์แล้ว จะเกิดผลของรังสีต่อเซลล์ในระดับโมเลกุล ดังแสดงในรูปที่ 2.16 โดยจะมีทั้งสิ้น 2 กระบวนการ ได้แก่

1. Direct action ซึ่งเป็นผลของรังสีที่มีผลต่อเซลล์ในระดับโมเลกุลโดยตรง โดยจะไปทำลายสาย DNA ของเซลล์
2. Indirect action ซึ่งเป็นผลของรังสีที่มีผลต่อเซลล์ในระดับโมเลกุลโดยอ้อม โดยเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระ เพื่อไปทำลายสาย DNA



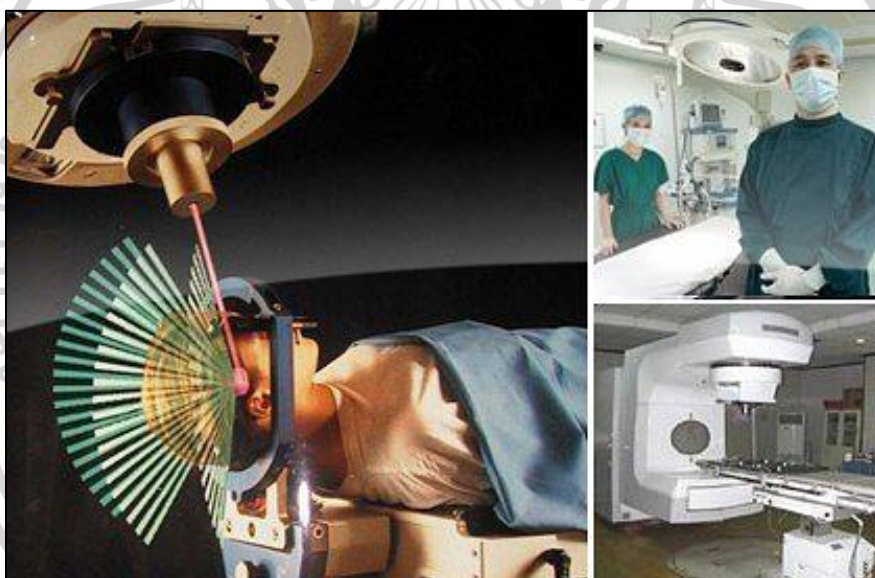
รูปที่ 2.16 กลไกพื้นฐานของผลการรักษาด้วยรังสีที่เกิดผลกระทบต่อ DNA

ทั้งนี้การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีการฉายรังสีจะขึ้นกับระยะของโรค ชนิดของโรคและสุขภาพของผู้ป่วยเอง วิธีการรักษาทางรังสีรักษาการรักษได้เป็น 2 วิธี ได้แก่

1. Teletherapy (External beam radiotherapy) คือการฉายรังสีจากภายนอก โดยที่ระยะทางจากแหล่งกำเนิดรังสีถึงก้อนเนื้องอกอยู่ห่างจากกัน เช่น Cobalt-60 machine, Linear accelerator machine เป็นต้น ในการรักษาด้วยรังสีรักษา ระยะไกล ลำแสงจากภายนอกจะทะลุ

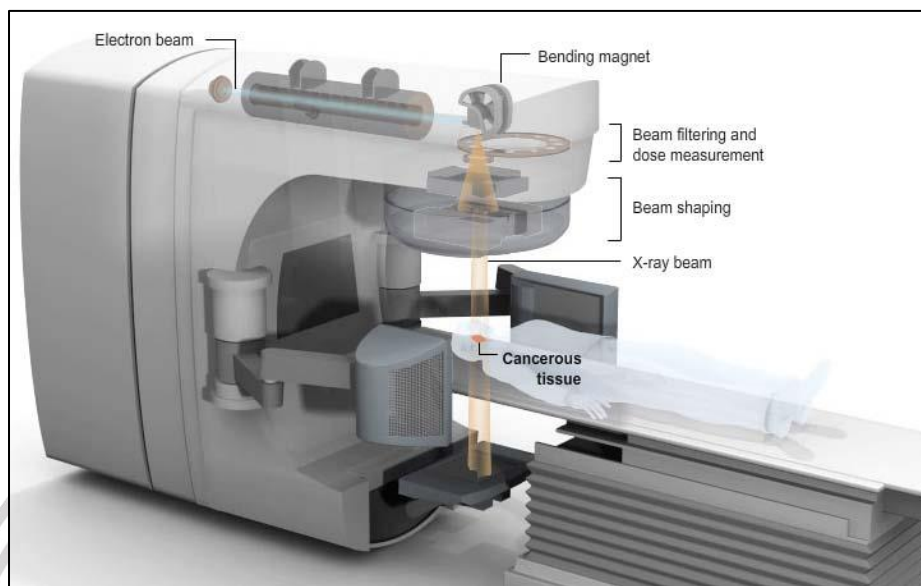
ผ่านผิวหนังไปยังก้อนมะเร็งและพื้นที่รอบ ๆ เพื่อทำลายเซลล์มะเร็ง โดยทั่วไปจะฉายรังสีห้าวันต่อสัปดาห์ เพื่อให้รังสีเข้าไปทำลายเซลล์มะเร็งได้อย่างสม่ำเสมอ และเว้นระยะเวลาให้เซลล์เนื้อเยื่อปกติได้มีเวลาซ่อมแซมตัวเอง เพื่อลดผลข้างเคียงจากการฉายรังสีรักษาระยะไกลมีหลายชนิดและมีการพัฒนาเพื่อจำกัดขอบเขตของการฉายรังสีให้ครอบคลุมก้อนให้มากขึ้นโดยส่งผลต่ออวัยวะข้างเคียงให้น้อยที่สุด รังสีรักษาระยะไกลมีหลายเทคนิค ได้แก่

1.1 การฉายรังสีแบบ 3 มิติ (3D conformal radiotherapy ,3D-CRT) เป็นการนำภาพเอกซเรย์ CT, MRI, PET มาช่วยในการกำหนดตำแหน่งของการฉายรังสีโดยใช้คอมพิวเตอร์ในการวางแผน มีการกำหนดทิศทางของลำรังสี แล้วปรับรูปทรงและขนาดของลำรังสี โดยใช้ Multileaf collimator (MLC) หรือซี่ตะกั่ว เพื่อกำหนดรูปร่างของรังสีให้ครอบคลุมก้อนและหลีกเลี่ยงอวัยวะข้างเคียงให้มากที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.17 การฉายรังสีแบบ 3 มิติ

1.2 การฉายรังสีแบบปรับความเข้ม (Intensity modulated radiation therapy, IMRT) เป็นเทคนิคที่พัฒนาต่อมาจากการฉายรังสี 3D-CRT สามารถให้ความละเอียดแม่นยำได้มากขึ้น เพราะใช้ลำรังสีขนาดเล็ก ๆ ฉายจากหลายทิศทางไปยังเป้าหมายโดยใช้อุปกรณ์ปรับลำแสง (MLC) ในการปรับความเข้มของรังสีในบริเวณต่าง ๆ ลำรังสีจะตรงไปยังก้อนมะเร็งได้อย่างแม่นยำ ดังแสดงในรูปที่ 2.18 ในขณะที่หลบหลีกอวัยวะข้างเคียงรอบ ๆ ไปด้วย ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณรังสีไปยังก้อนมะเร็งเพื่อเพิ่มโอกาสการหายจากโรคได้อย่างปลอดภัย



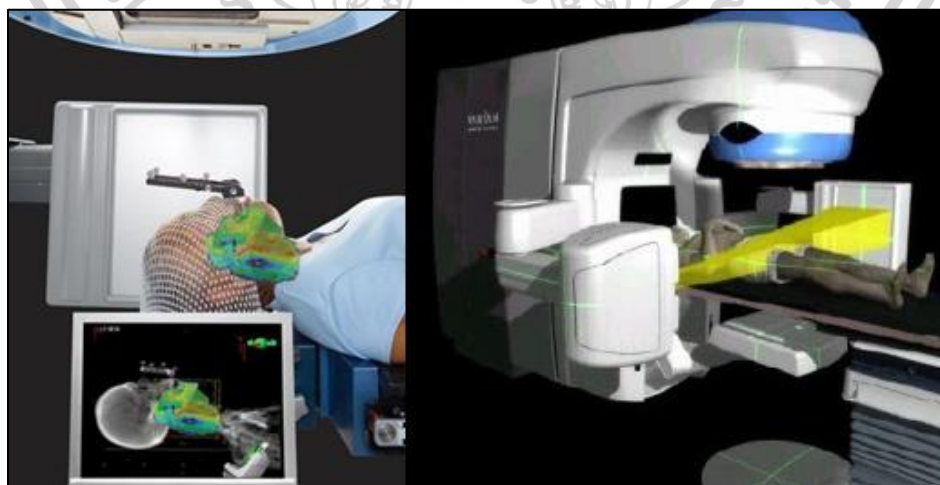
รูปที่ 2.18 การฉายรังสีแบบปรับความเข้ม

1.3 การฉายรังสีแบบปรับความเข้มหมุนรอบตัวผู้ป่วย (Volumetric modulated radiation therapy, VMAT) เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาจากเทคนิค IMRT เนื่องจากเทคนิค IMRT มีข้อจำกัดเรื่องระยะเวลาในการฉายรังสีค่อนข้างนาน คือประมาณ 15-20 นาที ซึ่งทำให้ผู้ป่วยไม่สะดวกหากต้องนอนนิ่งนาน ๆ ระหว่างการฉายรังสี สำหรับเทคนิค VMAT นี้ นอกจากที่กำบังลำรังสีจะมีการปรับความเข้มระหว่างฉายรังสีตลอดเวลาแล้ว ยังมีการปรับอัตราปริมาณรังสีที่ออกมาต่อหน่วยเวลาและความเร็วของหัวเครื่องฉายรังสีด้วย เพื่อช่วยลดระยะเวลาในการฉายรังสีลงในขณะที่ปริมาณรังสียังครอบคลุมเฉพาะก้อนมะเร็ง แสดงในรูปที่ 2.19



รูปที่ 2.19 การฉายรังสีแบบปรับความเข้มหมุนรอบตัวผู้ป่วย

1.4 Image-guided radiation therapy (IGRT) เป็นเทคนิคใหม่ที่จะช่วยเพิ่มความแม่นยำในการฉายรังสีและลดภาวะแทรกซ้อนของเนื้อเยื่อปกติจากรังสี เนื่องจากในระหว่างการรักษาผู้ป่วยอาจมีการเคลื่อนไหวหรือก้อนเนื้ออกอาจมีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นจึงมีการนำภาพเอกซเรย์มาใช้ เพื่อตรวจสอบตำแหน่งของก้อนเนื้ออกในแต่ละวันของการรักษา ผู้ป่วยทุกคนจะได้รับการทำเอกซเรย์หรือเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ก่อนเพื่อนำภาพมาวางแผนการฉายรังสี โดยข้อมูลเหล่านี้ จะถูกส่งไปยังคอมพิวเตอร์ประจำห้องฉายรังสี เพื่อให้แพทย์สามารถเปรียบเทียบภาพเอกซเรย์ก่อนที่จะทำการฉายรังสีจริงกับภาพที่แพทย์ได้วางแผนไว้ก่อนเพื่อให้ตำแหน่งของก้อนมะเร็งตรงกันมากที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 2.20

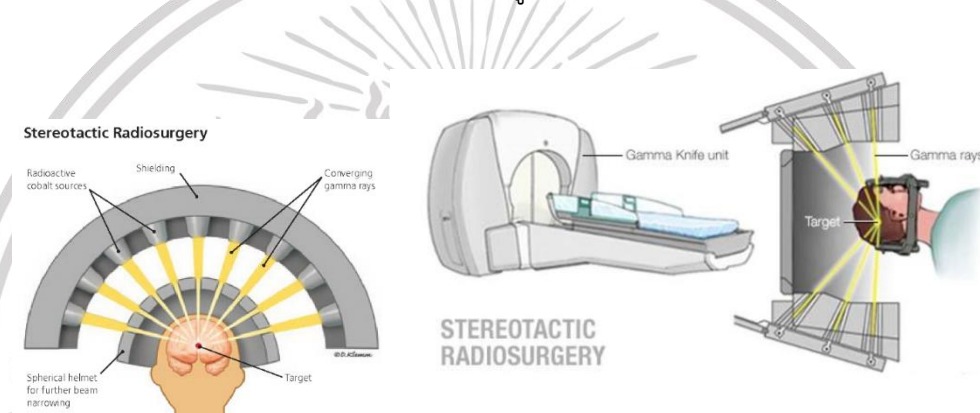


รูปที่ 2.20 Image-guided radiation therapy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 การฉายรังสีร่วมพิภัก (Stereotactic radiation therapy) เป็น การฉายรังสีในปริมาณสูงโดยใช้ลำรังสีขนาดเล็กหลายทิศทางในการกำหนดพิภักสามมิติ เพื่อให้รังสีพุ่งตรง สู่เป้าหมายหรือรอยโรคที่กำหนด เทคนิคการฉายรังสีร่วมพิภักนี้แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1.5.1 Stereotactic radiosurgery (SRS) เป็นการฉายรังสี ร่วมพิภักปริมาณรังสีสูงเพียงครั้งเดียว ซึ่งถูกพัฒนานำมาใช้ครั้งแรกในการรักษามะเร็งในสมอง การรักษา ชนิดนี้นอกจากจะใช้รักษามะเร็งสมองแล้วยังมีการนำมาใช้ในการรักษาโรคกลุ่มเนื้องอกธรรมดา (Benign tumor) เช่น โรคหลอดเลือดในสมองผิดปกติแต่กำเนิด (AVM) บางครั้งอาจใช้การฉายรังสีมากกว่า 1 ครั้ง เพื่อลดผลข้างเคียงจากวิธีฉายรังสีแบบครั้งเดียว แสดงในรูปที่ 2.21

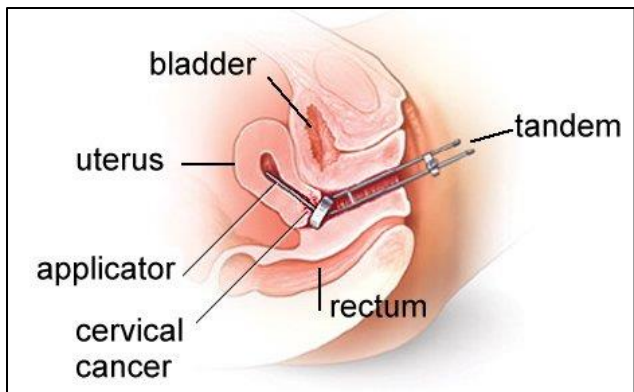


รูปที่ 2.21 การฉายรังสีด้วยเทคนิค Stereotactic radiosurgery

1.5.2 Stereotactic body radiation therapy (SBRT) เป็น การฉายรังสีร่วมพิภักในบริเวณอื่นนอกจากสมอง โดยมักแบ่งการฉายรังสีเป็นหลายๆ ครั้ง ส่วนมาก แบ่งเป็น 3-8 ครั้ง วิธีการรักษานี้มักใช้ในโรคมะเร็งบริเวณ ปอด กระดูกสันหลัง และตับ

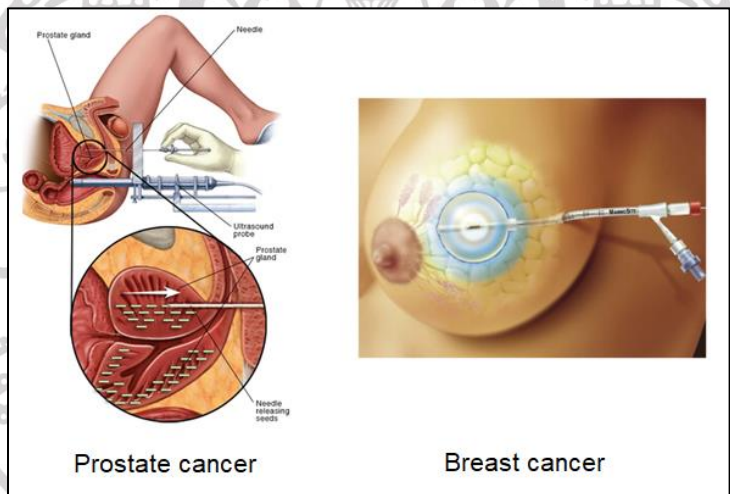
2. Brachytherapy ซึ่งเป็นการให้รังสีในระยะใกล้ โดยที่ระยะทางจาก แหล่งกำเนิดรังสีอยู่ชิดติดกับก้อนเนื้องอก มีการรักษาด้วยวิธี Brachytherapy อยู่ 3 วิธี ได้แก่

1. Intracavitary technique เป็นการใช้อุปกรณ์การใส่แร่สอดใส่ไป ในบริเวณอวัยวะที่มีลักษณะเป็นโพรง เช่น Cervical cancer, Esophageal cancer เป็นต้น แสดงในรูป ที่ 2.22



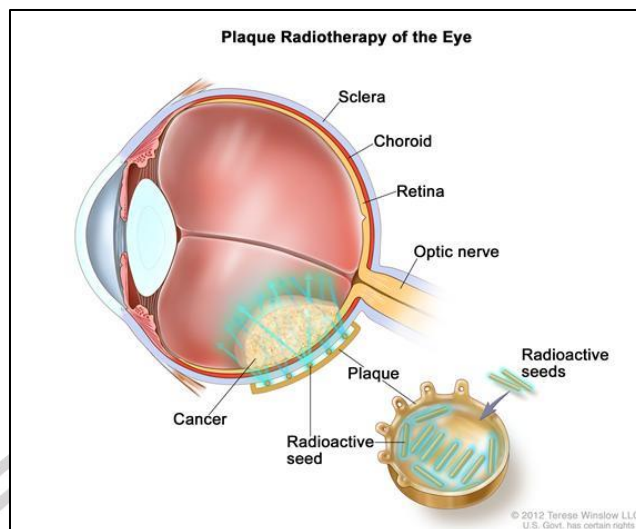
รูปที่ 2.22 แสดงการสอดใส่ไปในบริเวณอวัยวะที่มีลักษณะเป็นโพรงในมะเร็งปากมดลูก

2. Interstitial implantation technique เป็นการใช้อุปกรณ์การใส่แร่ เสียบผ่านก้อนเนื้ออก เช่น Prostate cancer, Breast cancer เป็นต้น แสดงในรูปที่ 2.23



รูปที่ 2.23 การใส่แร่เสียบผ่านก้อนเนื้ออก

3. Mold technique เป็นการใช้อุปกรณ์การใส่แร่แปะติดอยู่กับก้อนเนื้ออก ดังแสดงในรูปที่ 2.24



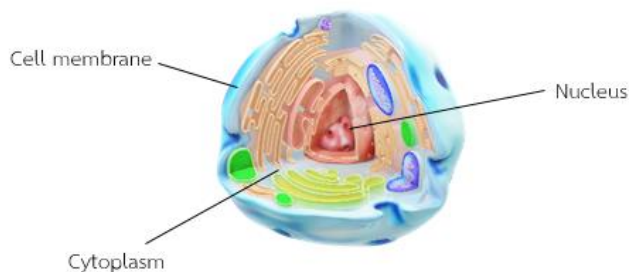
รูปที่ 2.24 การใช้อุปกรณ์การใส่แร่แปะติดอยู่กับก้อนเนื้องอก

โรคมะเร็งเป็นปัญหาการเสียชีวิตของคนไทยที่ครองอันดับหนึ่งติดต่อกันยาวนานมากกว่า 10 ปี มีผู้เสียชีวิตจากโรคมะเร็งในประเทศไทยปีละประมาณ 60,000 คน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง เช่น สารมลพิษในสิ่งแวดล้อมสูงขึ้น ความเครียดในสังคม ปัจจุบัน พฤติกรรมการบริโภคอาหารและการทำงานเปลี่ยนแปลงไป และอายุขัยเฉลี่ยของคนไทยสูงขึ้นทำให้ความเสี่ยงของโรคจะเพิ่มขึ้นด้วย การรักษาโรคมะเร็งจะใช้วิธีการรักษาแบบผสมผสานระหว่างการผ่าตัด เคมีบำบัด และการรักษาด้วยรังสี ซึ่งวิธีเหล่านี้สามารถช่วยให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีและยืนยาวขึ้น แต่ยังไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้เนื่องจากเซลล์มะเร็งมักจะดื้อต่อยาการรักษาและกลับมาเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วอีกครั้ง ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการรักษาต่าง ๆ ที่ได้ผลดีขึ้น และนำไปสู่การรักษาด้วยวิธีที่ทันสมัย

## 2.4 เซลล์ (Cell) [34]

### 2.4.1 ความหมายของเซลล์

เซลล์ คือ สิ่งมีชีวิตที่เล็กที่สุด หรือหน่วยที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเซลล์ต่างมีรูปร่างลักษณะ ขนาดและหน้าที่ที่แตกต่างกันไปตามตำแหน่งที่อยู่ โดยเซลล์ของมนุษย์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับขนาดของเส้นผม แต่โดยทั่วไปขนาดของเซลล์จะอยู่ที่ประมาณ 10 ไมครอน ซึ่งโดยธรรมชาติและพื้นฐานโครงสร้างที่สำคัญ เซลล์จะมีองค์ประกอบเหมือนกันอยู่ 3 ส่วน คือ เยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) ไซโทพลาซึม (Cytoplasm) และนิวเคลียส (Nucleus) ดังแสดงให้เห็นใน รูปที่ 2.25



รูปที่ 2.25 แสดงโครงสร้างและส่วนประกอบของเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) มีหน้าที่ห่อหุ้มของเหลวภายในเซลล์เอาไว้ไม่ให้ของเหลวภายในไหลออกนอกเซลล์ หรือเป็นส่วนยึดจับให้เซลล์คงรูปร่างแข็งแรงและเป็นเซลล์อยู่ได้ เรียกได้ว่าเป็นตัวแสดงขอบเขตของเซลล์ รวมถึงการรักษาสมดุลของสารภายในเซลล์โดยการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ จาก ภายนอกเข้าสู่เซลล์ และจากภายในเซลล์ออกสู่ภายนอก เปรียบได้กับเครื่องตรวจจับและส่งสัญญาณ คำสั่งต่าง ๆ เข้าสู่เซลล์

ไซโทพลาซึม (Cytoplasm) เป็นส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ทั้งหมดยกเว้นนิวเคลียส มีลักษณะเป็นของเหลวประกอบด้วยน้ำ เป็นส่วนใหญ่ 75-90 เปอร์เซ็นต์ ส่วน 10-15 เปอร์เซ็นต์เป็นส่วนของ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และสารอนินทรีย์ ทำหน้าที่เก็บสะสมวัตถุดิบเพื่อให้เซลล์ได้รับพลังงานหรือสังเคราะห์สารที่จำเป็นสำหรับเซลล์ โดยมีค่า pH อยู่ที่ 7.4 ถ้ามีน้ำน้อยเกินไปหรือมีค่าความเป็นกรดจะทำให้เซลล์เสื่อมสภาพและตายลง

นิวเคลียส (Nucleus) ทำหน้าที่ เป็นตัวส่งข้อมูลรวมถึงคำสั่งที่ได้รับจาก DNA (Deoxyribonucleic acid) เข้ามาภายในไซโทพลาซึม เพื่อสร้างโปรตีนที่จำเป็นให้กับเซลล์มีชีวิตดำรงอยู่ต่อไปได้ โดยมีลักษณะรูปร่างกลมมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้นล้อมรอบอยู่ เรียกว่า ซองนิวเคลียส (Nuclear envelope) ซึ่งเป็นส่วนที่คอยป้องกันอันตราย และจะไม่ยินยอมให้สารเคมีอื่น ๆ เข้ามาขัดขวางการทำงานของ DNA โดยข้างใน นิวเคลียสจะมีโครโมโซม (Chromosomes) อยู่ 23 คู่ หรือ 46 ชั้น ซึ่งเป็นส่วนของโมเลกุล DNA นิวเคลียสจึงเปรียบได้ดังหัวใจและสมองของเซลล์ หากส่วนนิวเคลียสนี้ถูกทำลายลงไปความเป็นเซลล์ก็จะจบลงหรือเรียกได้ว่าเซลล์ตาย

#### 2.4.2 การลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์

เซลล์จะมีคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนสารเข้าและออกสู่เซลล์ได้ เพื่อปรับและรักษาสภาพภายในเซลล์ให้สมดุลและเหมาะสม เพื่อสามารถดำรงชีวิตได้ตามปกติโดยแบบการผ่านและแบบไม่ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเยื่อหุ้มเซลล์สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยการรวมตัวหรือแยกตัว เพื่อลำเลียง สารหรือ

โมเลกุลขนาดใหญ่ผ่านเข้าออกสู่เซลล์ได้ ซึ่งประเภทของการลำเลียงสารเข้าและออกสู่เซลล์ จำแนกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

#### 2.4.2.1 การลำเลียงสารโดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

การลำเลียงสารโดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์จะแบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ

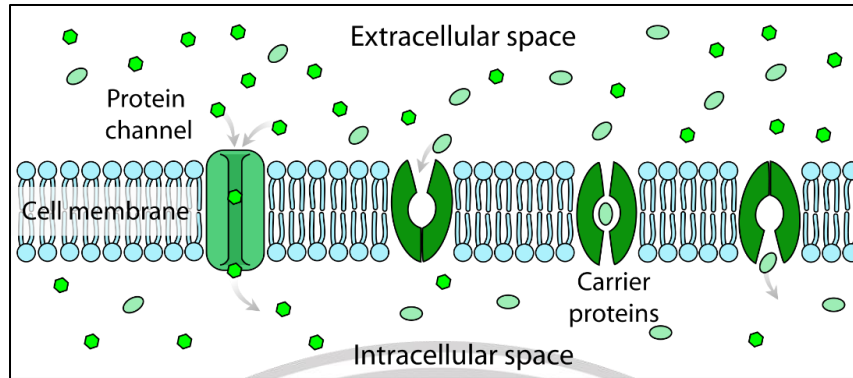
1. การลำเลียงสารโดยไม่ใช้พลังงานจากเซลล์ (Passive transport) เป็นกระบวนการลำเลียงสารเข้าและออกสู่เซลล์ได้อย่างอิสระ โดยไม่อาศัยพลังงานของสารหรือ โมเลกุล ATP (Adenosine triphosphate) แต่ใช้การไหลผ่าน หรือการแพร่ของสารละลายจาก ความเข้มข้นน้อยไปสู่ความเข้มข้นที่มากกว่า แบ่งออกเป็น 3 กระบวนการ คือ

การแพร่ (Diffusion) คือ การเคลื่อนที่ของโมเลกุลหรือไอออนของสาร โดยใช้ พลังงานจลน์ภายในโมเลกุลของสารเอง ซึ่งการแพร่จะเกิดขึ้นที่บริเวณส่วนความเข้มข้นสูงไปสู่บริเวณ ที่มีความเข้มข้นต่ำ ตลอดจนมีปริมาณความเข้มข้นเท่ากัน จึงจะเรียกลักษณะนี้ว่า เป็นการสมดุลจลน์ (Dynamic equilibrium)

ออสโมซิส (Osmosis) คือ การเคลื่อนที่ของน้ำโดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ จากบริเวณของน้ำที่มีความหนาแน่นน้ำมาก หรือบริเวณของความเข้มข้นต่ำไปยังบริเวณที่มีความหนาแน่นน้ำน้อย หรือบริเวณของความเข้มข้นสูงตลอดจนถึงจุดสมดุลเซลล์ ซึ่งการออสโมซิสเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ทำให้เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่างได้

การแพร่แบบมีตัวพา (Facilitated diffusion) คือ การเคลื่อนที่ของสารโดย อาศัยการเกาะไปกับโปรตีน โดยใช้โปรตีนเป็นตัวพา (Carrier) นำสารเข้าสู่เซลล์ ซึ่งเกิดการเคลื่อนที่ จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำโดยไม่ต้องอาศัยพลังงาน ATP จากเซลล์เลย

2. การลำเลียงสารโดยใช้พลังงานจากเซลล์ (Active transport) เป็นกระบวนการลำเลียงสารเข้าและออกโดยการเคลื่อนที่ของโมเลกุลจากบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงโดยอาศัยโปรตีนเป็นตัวพา (Protein carrier) และใช้ พลังงาน ATP ในการนำพาสารเข้าสู่เซลล์ด้วย ดังแสดงในเห็นในรูปที่ 2.26

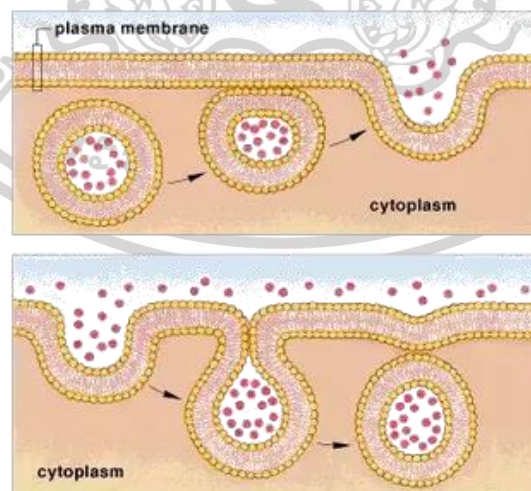


รูปที่ 2.26 แสดงการเคลื่อนที่ของสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยอาศัยตัวพา

#### 2.4.2.2 การลำเลียงสารโดยไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

การลำเลียงสารโดยไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ คือการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่เข้าหรือออกจากเซลล์ โดยการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์หรือโปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์ได้โดยตรง เซลล์จึงจำเป็นต้องมีคุณสมบัติในการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ ด้วยวิธีการการสร้างเวสิเคิล (Vesicle) จากเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเยื่อหุ้มเซลล์มีสมบัติในการรวมตัวหรือแยกตัวออก เพื่อสร้างเวสิเคิลล้อมรอบสารโมเลกุลใหญ่และเข้าสู่กระบวนการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์ โดยแบ่งออกเป็น 2 แบบ ดังแสดงในรูปที่ 2.27 และมีรายละเอียดดังนี้

2.4.2.2.1 เอกโซไซโทซิส (Exocytosis) เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ออกจากเซลล์ ซึ่งสารที่ถูกลำเลียงออกจะบรรจุอยู่ในเวสิเคิลภายในเซลล์แล้วจะค่อยๆเคลื่อนตัวมายังบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อเข้ามาเชื่อม และรวมตัวกันกับเยื่อหุ้มเซลล์จากนั้นสารที่อยู่ภายในเวสิเคิลก็จะถูกปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์ ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 2.27



รูปที่ 2.27 แสดงการลำเลียงสารโมเลกุลออก (บน) และเข้า (ล่าง) จากเซลล์

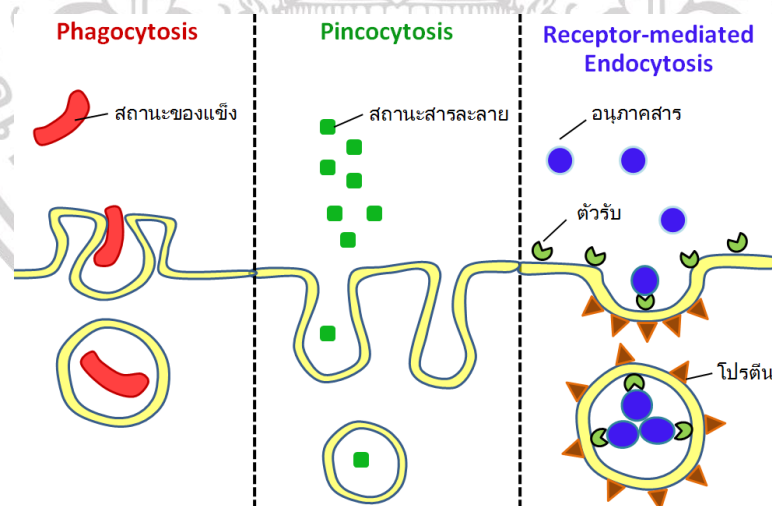
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2.2.2 เอนโดไซโทซิส (Endocytosis) เป็นการลำเลียงสารที่ตรงกันข้ามกับ เอกไซโทซิส คือ เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่เข้าสู่ ภายในเซลล์โดยแบ่ง 3 แบบ ดังแสดงให้เห็น ในรูปที่ 2.28 คือ

ฟาโกไซโทซิส (Phagocytosis) เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ที่อยู่ ในสถานะของแข็งเข้าสู่เซลล์ โดยเซลล์จะยื่นส่วนของไซโทพลาซึมออกมาล้อมอนุภาคสารโมเลกุลใหญ่ เพื่อที่จะนำเข้าสู่เซลล์ในรูปของเวสิเคิล จากนั้นจะรวมตัวกันภายในเซลล์เพื่อย่อยสลายสารอาหารในเวสิเคิลด้วยเอนไซม์ภายในหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า การกินของเซลล์ (Cell eating)

พินไซโทซิส (Pinocytosis) เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ที่อยู่ใน สถานะของเหลวหรือเรียกว่าสารละลายเข้าสู่เซลล์โดยทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เว้าเข้าไปในไซโทพลาซึมจน ค่อยๆกลายเป็นเวสิเคิล เมื่อเยื่อหุ้มเซลล์ปิดสนิทเวสิเคิลที่ล้อมสารละลายไว้จะหลุดเข้าไปอยู่ในไซโทพลาซึมหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า การดื่มของเซลล์ (Cell drinking)

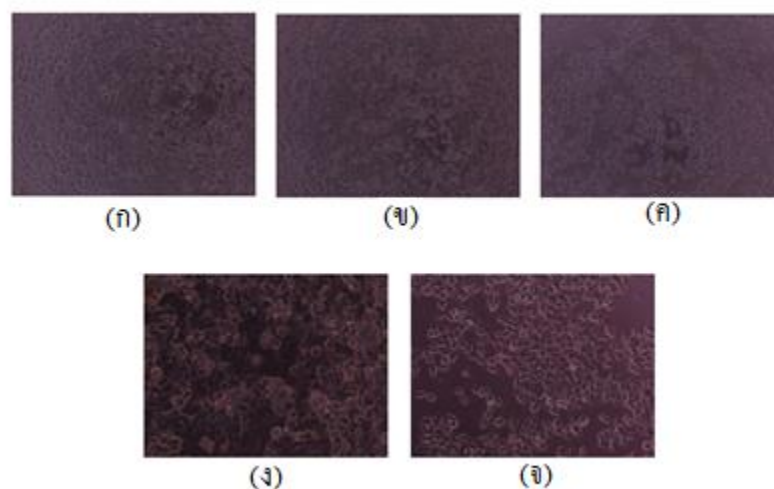
การนำสารเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยตัวรับ (Receptor-mediated endocytosis) เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่เข้าสู่ภายในเซลล์ ซึ่งเกิดขึ้นได้โดยมีโปรตีนที่บริเวณผิว ของเยื่อหุ้ม เซลล์เป็นตัวรับ (Protein receptor) ซึ่งสารที่ถูกลำเลียงเข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีนี้จะต้องมี ความจำเพาะใน การจับกับโปรตีนตัวรับที่อยู่บริเวณบนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ จึงจะลำเลียงสารนั้นเข้าสู่ เซลล์ได้



รูปที่ 2.28 แสดงการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์ของเอนโดไซโทซิสทั้ง 3 แบบ

### 2.4.3 เซลล์ไลน์ (Cell line)

เซลล์ไลน์ คือ เซลล์ที่เพาะเลี้ยงเองโดยมนุษย์ สามารถเจริญเติบโตได้ซึ่งอยู่นอกร่างกายของสิ่งมีชีวิต และเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่องได้โดยไม่จำกัด ซึ่งเซลล์ทุกเซลล์ที่อยู่ในเซลล์ไลน์ชนิดเดียวกัน จะมีลักษณะที่เหมือนกันทุกประการคือเป็นโคลน (Clone) ของกันและกัน ส่วนเซลล์ไลน์ที่ต่างชนิดกัน จะมีลักษณะบางอย่างที่แตกต่างกันไป เพื่อแยกชนิด หรือมีความเป็นจำเพาะเจาะจงในเซลล์ไลน์แต่ละชนิดนั้น ๆ การเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์เกิดขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการประยุกต์ใช้ในงานการศึกษาทั้งทางด้านอนุชีววิทยา (Molecular biology) รวมถึงการศึกษาเซลล์ที่เจริญเติบโตไปแบบผิดปกติจากเซลล์เดิม เช่น เซลล์มะเร็ง โดยนิยมทำการเพาะเลี้ยงเพื่อนำไปวิจัยและวิเคราะห์ถึง การอยู่รอดของเซลล์ โดยรวมถึงการทำลายเซลล์มะเร็งด้วย เช่นกัน



รูปที่ 2.29 เซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ ประกอบด้วย (ก) เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT 29 (ข) เซลล์มะเร็งในช่องปาก KB (ค) เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 (ง) เซลล์มะเร็งตับ HepG2 (จ) เซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa

เซลล์มะเร็งมีหลายชนิด ดังแสดงในรูปที่ 2.29 เช่น เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Human colon adenocarcinoma) สายพันธุ์ HT-29 เซลล์มะเร็งในช่องปาก (Human oral cavity carcinoma) สายพันธุ์ KB เซลล์มะเร็งเต้านม (Human breast adenocarcinoma) สายพันธุ์ MCF-7 เซลล์มะเร็งตับของ คน (Human hepatocarcinoma) สายพันธุ์ HepG2 และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก สายพันธุ์ HeLa (Human cervical adenocarcinoma) เป็นต้น

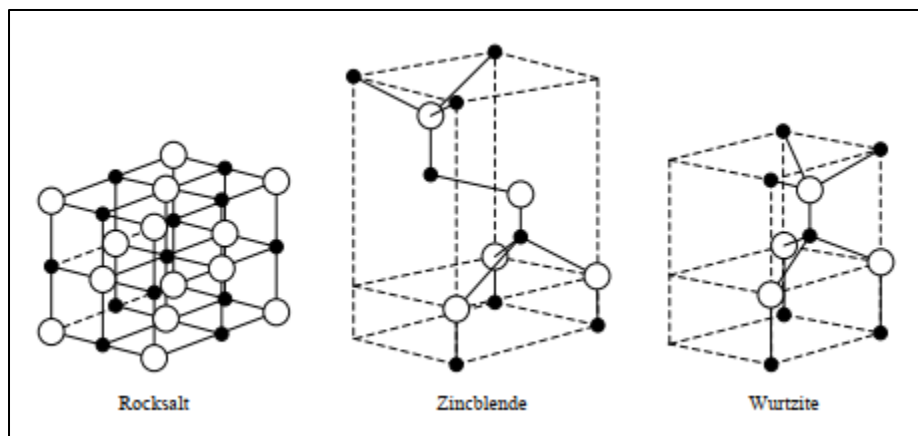
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 2.4.4 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค Methyl tetrazolium (MTT)

การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยเทคนิค MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) ถูกนำมาใช้ในการประเมินประสิทธิภาพความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธีการตรวจวัดค่าสีด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ เพื่อประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยส่วนของไมโตรคอนเดรียจะปลดปล่อยเอนไซม์ Succinate dehydrogenase ออกมาเปลี่ยนสีเหลืองที่เกิดจาก Tetrazolium ในสารละลาย MTT โดยจะเป็นตัวบ่งบอกความเปลี่ยนแปลงสภาพโดยรวมของเซลล์ การลดลงของ Tetrazolium นั้นจะทำให้เกิดผลึกฟอร์มาซานสีม่วงที่ไม่ละลายในน้ำ เนื่องจากจะสะสมอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ การดูดกลืนแสงของผลึกฟอร์มาซานมีความสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตรอดอยู่ภายในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ หลังจากนั้นเติม DMSO ลงไปเพื่อละลายผลึกฟอร์มาซาน ส่วนเซลล์ที่ตายแล้วนั้นจะมีลักษณะใส ไม่มีสี แต่เนื่องจากผลึกฟอร์มาซานมีความเป็นพิษต่อเซลล์จึงทำให้เซลล์ตายในที่สุดและจะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีม่วง จากนั้นนำไปวัดค่าความการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ และนำค่าที่ได้จากการดูดกลืนแสงนี้ไปคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพื่อแสดงให้เห็นถึงปริมาณเซลล์ที่ตายจากการทดสอบ โดยสารสกัดต่าง ๆ และสามารถบอกค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายได้รูปแบบร้อยละ [35]

#### 2.5 อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO nanoparticles)

ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) มีคุณสมบัติเฉพาะของสารกึ่งตัวนำและเพียโซอิเล็กทริกมีโครงสร้างผลึก 3 โครงสร้าง คือ เฮกซะโกนอลเวอร์ตไซต์ (Hexagonal wurtzite) คิวบิกซิงค์เบลนด์ (Cubic zinc-blende) และคิวบิกร็อกซอลท์ (Cubic rock-salt) ดังแสดงในรูปที่ 2.30 โดยโครงสร้างเฮกซะโกนอลเวอร์ตไซต์เป็นโครงสร้างที่มักพบในอุณหภูมิและความดันปกติ เนื่องจากมีความเสถียรทางเทอร์โมไดนามิกส์ โครงสร้างคิวบิกซิงค์เบลนด์เป็นโครงสร้างกึ่งเสถียร ซึ่งจะมีความเสถียรต่ำเมื่อโตนับชั้นเสถียรที่มีโครงสร้างคิวบิกเท่านั้น ในขณะที่โครงสร้างคิวบิกร็อกซอลท์จะมีโครงสร้างแบบกึ่งเสถียรที่ความดัน สูงกว่า  $10^9$  Pa



รูปที่ 2.30 แบบจำลองโครงสร้างผลึกของซิงค์ออกไซด์แบบต่าง ๆ

ดังนั้นจึงมีการศึกษาวัสดุนาโนที่ใช้ ZnO based สำหรับการใช้งานที่หลากหลาย เช่น อุปกรณ์นาโนอิเล็กทรอนิกส์ นาโนออปติก การจัดเก็บพลังงาน ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนาโนเซนเซอร์ ฯลฯ ซิงค์ออกไซด์เป็นสารกึ่งตัวนำที่มีช่องว่างพลังงานกว้างเท่ากับ 3.37 eV และมีพลังงานยึดเหนี่ยวคู่อิเล็กตรอนโฮลสูงถึง 60 meV ซึ่งนำไปสู่การปล่อยรังสีอัลตราไวโอเล็ตสีน้ำเงินและใกล้รังสียูวีที่มีประสิทธิภาพ วัสดุนาโนซิงค์ออกไซด์ถูกนำมาใช้เป็นเข็มคอนดักเตอร์ในอุปกรณ์ไมโครอิเล็กทรอนิกส์และการย่อยสลายมลพิษทางน้ำด้วยปรากฏการณ์โฟโตคะตะไลซิส โดยแสดงคุณสมบัติทางกายภาพของซิงค์ออกไซด์ตามตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติทางกายภาพของซิงค์ออกไซด์

ชื่อตามระบบ IUPAC	Zinc oxide
ลักษณะทางกายภาพ	ผงละเอียดสีขาว
สูตรโมเลกุล	ZnO
ความบริสุทธิ์	99 เปอร์เซ็นต์
น้ำหนักโมเลกุล	81.408 กรัมต่อโมล
ความหนาแน่น	5.606 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากความสามารถในการดูดซับรังสี UV และความโปร่งใสทางแสง อนุภาคนาโน ZnO จึงถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางโดยทั่วไปจะอยู่ในครีมกันแดดและครีมบำรุงผิวหน้า การใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ในครีมกันแดดได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยา (FDA) เนื่องจากความเสถียรและความสามารถในการดูดซับรังสี UV จากธรรมชาติ คุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียที่ได้รับการยอมรับ เช่น ใช้เป็นยาต้านจุลชีพที่หลากหลาย อนุภาคนาโน ZnO ยังได้รับความสนใจในการใช้งานด้านชีวการแพทย์อื่น ๆ คุณสมบัติที่สำคัญของวัสดุนาโนซิงค์ออกไซด์ คือความเป็นพิษต่ำและความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ ZnO สามารถละลายได้อย่างช้า ๆ ในทั้งที่เป็นกรด (เช่นในเซลล์เนื้อเยื่อและสภาพแวดล้อมของเนื้อเยื่อ) และสภาวะพื้นผิวสัมผัสโดยตรงกับสารละลาย จากคุณสมบัติเหล่านี้วัสดุนาโนซิงค์ออกไซด์ จึงได้รับความสนใจอย่างมากในการใช้งานด้านชีวการแพทย์ การใช้วัสดุนาโน ZnO สำหรับการใช้งานทางชีวการแพทย์ เช่นการถ่ายภาพทางชีวการแพทย์ การให้ยา การให้ยีน และการบำบัดมะเร็ง การใช้อนุภาคนาโน ZnO ที่เป็นไปได้ในการใช้งานทางชีวการแพทย์และมะเร็งกำลังได้รับความสนใจในวงการวิทยาศาสตร์เนื่องมาจากคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีดังนี้ [36-48]

### 2.5.1 คุณสมบัติของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์สำหรับชีวการแพทย์และการประยุกต์ใช้กับมะเร็ง

แม้ว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์จะถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเป็นเวลาหลายปี แต่ก็มีมีการนำมาเพื่อใช้ในการรักษามะเร็ง และอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ยังได้รับการวิจัยอย่างกว้างขวางถึงคุณสมบัติในการต้านมะเร็ง อธิบายได้ดังนี้

#### 2.5.1.1 ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility)

อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ แสดงความเข้ากันได้ทางชีวภาพค่อนข้างสูง ZnO NPs ได้รับการยอมรับว่าเป็นสาร General Recognized As Safe (GRAS) มีความปลอดภัยต่อร่างกายมนุษย์ เนื่องจาก ZnO จะแตกตัวได้ดีในสภาพกรด ( $\text{pH} = 5-6$ ) ซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมของเซลล์มะเร็งแต่จะไม่แตกตัวในสภาพแวดล้อมของเซลล์ปกติ ( $\text{pH} = 7.2$ ) โดย Food and Drug Administration (FDA) ให้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เป็นตัวเลือกที่เหมาะสมสำหรับการจัดส่งยา  $\text{Zn}^{2+}$  เป็นปัจจัยร่วมที่สำคัญในกลไกต่าง ๆ ของเซลล์และมีบทบาทสำคัญในการรักษาภาวะสมดุลของเซลล์ ดังนั้น อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์จึงแสดงความเข้ากันได้ทางชีวภาพ

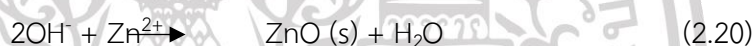
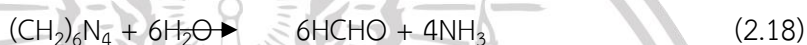
#### 2.5.1.2 สังเคราะห์ง่าย (Easy synthesis)

กระบวนการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์นั้นค่อนข้างง่ายด้วยวิธีการที่หลากหลาย เนื่องจากวิธีการสังเคราะห์ที่แตกต่างกันเหล่านี้ทำให้สามารถควบคุมขนาดและการกระจายขนาดได้อย่างง่ายดาย สามารถเลือกและควบคุมได้ด้วยการสังเคราะห์ ในหัวข้อนี้ ได้กล่าวถึงวิธีการทางเคมีที่ใช้สังเคราะห์แบบผง (Powder) เนื่องจากเป็นวิธีที่สังเคราะห์อนุภาคผงได้เล็กมากและมีความ

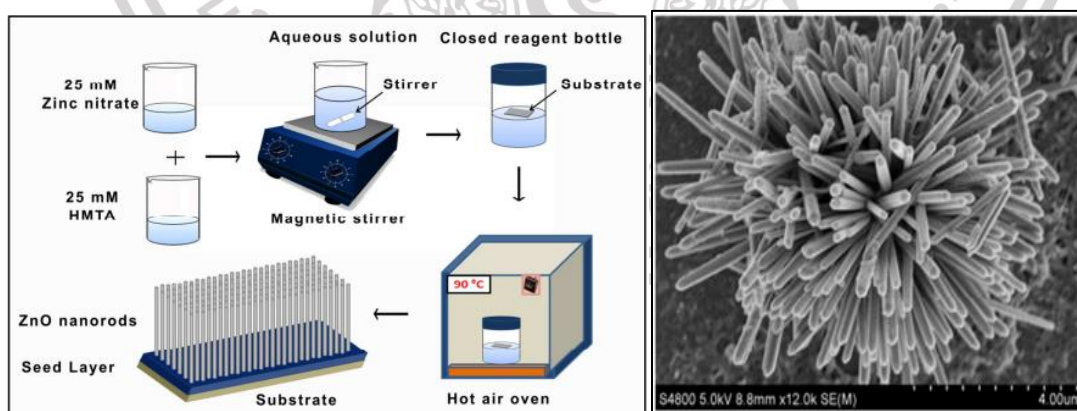
บริสุทธิ์สูง วิธีการทางเคมีนี้สามารถนำมาใช้สังเคราะห์อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ได้โดยในที่นี้จะกล่าวถึงวิธีการสังเคราะห์ 7 วิธี มีรายละเอียดดังนี้ [49-58]

### 1. การสังเคราะห์ด้วยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล

กระบวนการไฮโดรเทอร์มอลสามารถใช้สังเคราะห์ซิงค์ออกไซด์ได้หลากหลายโครงสร้างทำได้ที่อุณหภูมิต่ำ และไม่ต้องการระบบที่ยุ่งยากซับซ้อนจึงเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ขั้นตอนการปลูกประกอบด้วย 2 ขั้นตอนย่อย ๆ คือ การเพาะชั้นอนุภาค (ZnO seeding) และการปลูกซิงค์ออกไซด์แท่งนาโน (Growth of ZnO nanorods) โดยใช้สารละลายของซิงค์ไนเตรต ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ) และเฮกซะเมทิลีนเตตระมิน (( $\text{CH}_2$ ) $_6\text{N}_4$ ) hexamethylene teramine, HMT) เป็นสารตั้งต้น การฟอร์มตัวของแท่งนาโนซิงค์ออกไซด์เกิดจากปฏิกิริยาเคมีดังต่อไปนี้



โดยเกลือซิงค์ไนเตรตจะทำหน้าที่เป็นแหล่งจ่ายซิงค์ไอออน ( $\text{Zn}^{2+}$ ) ส่วน HMT เป็นสารที่จะค่อยๆ แตกตัวให้ไฮดรอกซิลไอออน ( $\text{OH}^-$ ) ที่อุณหภูมิต่ำและเกิดการฟอร์มตัวของซิงค์ไฮดรอกไซด์ก่อน และเปลี่ยนเป็นซิงค์ออกไซด์ในที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 2.31 การสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้เรียบง่าย ต้นทุนต่ำและไม่ต้องการระบบที่ซับซ้อน



(ก)

(ข)

รูปที่ 2.31 (ก) แผนภาพขั้นตอนกระบวนการสังเคราะห์ ZnO nanorods ด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอล

(ข) ภาพถ่าย FE-SEM ของ ZnO nanorods ที่สังเคราะห์ได้

## 2. วิธีการตกตะกอน (Precipitation method)

การตกตะกอน เป็นการทำให้โมเลกุลหรือไอออนที่ละลายอยู่ในสารละลาย แยกตัวออกมา จากสารละลายอย่างช้า ๆ โดยอาศัยปริมาณสารเคมีที่พอเหมาะ ที่เรียกว่าตัวตกตะกอน (Precipitant) หรือมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหรือความดัน เพื่อทำให้ความสามารถในการละลายของระบบลดลง จึงทำให้เกิดการตกตะกอนของระบบขึ้นได้

สำหรับการเตรียมสารนั้น ต้องใช้สารที่มีสมบัติของการแยกตัวเป็นไอออน และการรวมตัว เพื่อเกิดสารใหม่ นั่นคือสารตัวหนึ่งต้องเป็นให้อิเล็กตรอน และสารอีกตัวหนึ่งต้องเป็นตัวรับอิเล็กตรอน จากนั้นจึงนำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้งแล้วนำไปเผาแคลไซน์ ซึ่งการทำดังกล่าวนี้ทำให้ได้ผงละเอียดที่มีความสม่ำเสมอของเนื้อสาร แต่โดยทั่วไปแล้วสารที่ได้จากการเผาแคลไซน์ มักจะเกาะกลุ่มกันเป็นก้อน ทำให้ความแม่นยำในการวัดขนาดของอนุภาคที่ได้น้อยลง การทำให้สารที่เกาะกันเป็นกลุ่มก้อนแยกออกมาเป็นอนุภาคเดี่ยว ๆ นั้นทำได้ โดยการบด (Milling) ซึ่งอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนขึ้นได้ หรือใช้การบดโดยอาศัยอัลตราโซนิก (Ultrasonic mixing) ซึ่งจะทำให้อนุภาคที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก และสม่ำเสมอ

กลไกของการตกตะกอนคือ สารละลายอิ่มตัวยวดยิ่ง (Supersaturation) การเกิด นิวเคลียส (Nucleation) และ การเติบโตของผลึก (Crystal growth) ดังนี้

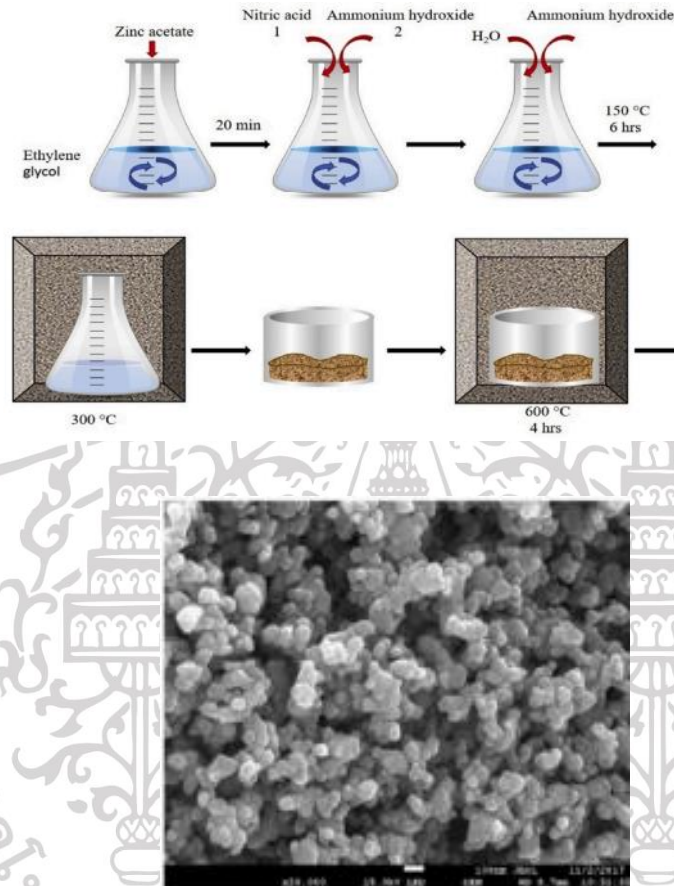
1. สารละลายอิ่มตัวยวดยิ่ง เป็นสิ่งที่ทำให้เกิดการตกตะกอนขึ้นได้ โดยที่สารละลายอิ่มตัว ยวดยิ่งนี้เป็นสารละลายที่เกิดจากการตกตะกอนละลายเข้าไปอยู่ในวัฏภาคที่เป็นของเหลว จนความเข้มข้นของสารที่เป็นตะกอนมากกว่าความเข้มข้นของสารนั้นที่อยู่ในสภาวะสมดุล สารละลายนี้จะ มีค่าการอิ่มตัวยวดยิ่งสัมพัทธ์มากขึ้นเมื่อค่าความเข้มข้นของทั้งสองปริมาณนี้แตกต่างกันมากขึ้น

2. การเกิดนิวเคลียส เป็นขั้นตอนที่เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติจาก สารละลายที่อยู่ใน สภาวะอิ่มตัวยวดยิ่ง โดยเริ่มเกิดจากไอออนหรือโมเลกุลที่น้อยที่สุดรวมกันจนเกิดเป็นอนุภาคที่เล็ก ที่สุดของวัฏภาคที่เป็นของตะกอนของแข็ง

3. การเจริญเติบโตของผลึก เกิดหลังจากขั้นตอนการเกิดนิวเคลียส โดยไอออนต่าง ๆ ที่เป็น องค์ประกอบของตะกอนจะมาจับเกาะกันบนผิวของอนุภาคที่เล็กที่สุดจนมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ขึ้นกลายเป็นอนุภาคคอลลอยด์ แล้วจึงรวมตัวกันเกิดเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าแยกตัวออกจากสารละลาย

สามารถแสดงกระบวนการเตรียมผง และกลไกของการการตกตะกอนได้ตั้งแผนภาพดัง รูป 2.32

วิธีการยกตะกอนก็มีข้อเสียคือ จะต้องมีการแยกตะกอนออกจากสารละลาย การทำให้แห้งและการให้ความร้อนแก่ตะกอนเพื่อทำให้เกิดผงตามที่ต้องการ ซึ่งวิธีการทำให้แห้งและการเผา แคลไซน์มักทำให้ตะกอนและผงเซรามิกเกิดการเกาะกันเป็นกลุ่มก้อน (Agglomerate)



รูปที่ 2.32 วิธีควบคุมการตกตะกอนเพื่อให้ได้อนุภาคนาโนของ ZnO โดยใช้เอทิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายและภาพถ่ายที่ได้จาก SEM

### 3. วิธีการปฏิกิริยาสถานะของแข็ง (Solid-state reaction)

วิธีการนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุดเนื่องจากเตรียมได้ง่าย โดยเริ่มจากการนำสารตั้งต้นที่อยู่ในสถานะของแข็งตามปริมาณที่ต้องการมาบดคลุกเคล้าจนเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งอาจใช้เครื่องเขย่า หรือเครื่องบด จากนั้นนำไปอบให้แห้งแล้วเผาที่อุณหภูมิและเวลาตามที่ต้องการ

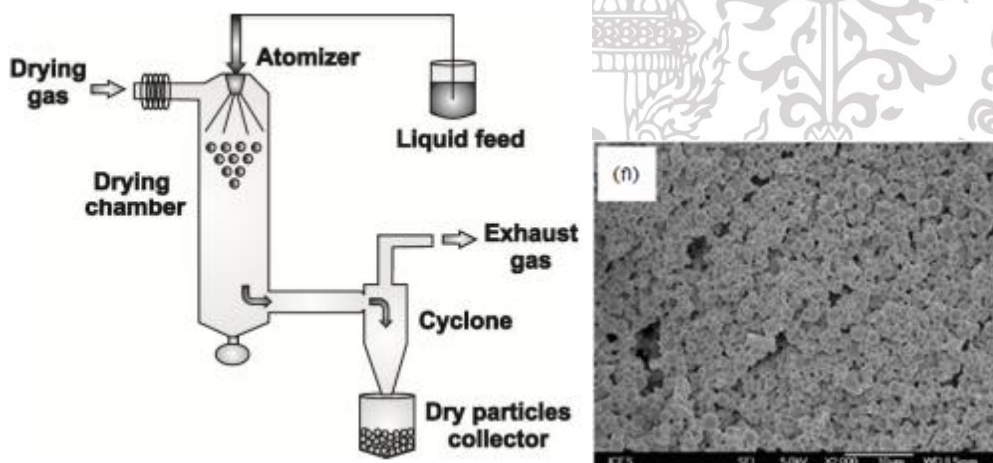
การเตรียมผงจากปฏิกิริยาสถานะของแข็งมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างน้อย แต่ผงที่สังเคราะห์ได้ มักจะมีปัญหาเรื่องการเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนโตทำให้ต้องมีการบดย่อยลดขนาดอนุภาคอยู่เสมอ ถ้า

การลดขนาดนั้นใช้ลูกบดก็ยิ่งทำให้ผงที่ได้ถูกปนเปื้อนมากขึ้น นอกจากนั้นการบดย่อยลดขนาดที่จำเป็นต้องนำมาใช้ก็ทำให้ไม่สามารถควบคุมรูปร่างของอนุภาคที่เตรียมได้อีกต่อไป

วิธีการนี้มีข้อเสียคือ ผลผลิตที่ได้มักมีความบริสุทธิ์ต่ำ ได้สารเนื้อหยาบ ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน และอาจมี สารประกอบรูปอื่น ๆ เจือปนจากสารตั้งต้นหรือจากชุดอุปกรณ์ที่ใช้ในการบด เช่น อะลูมินา เป็นต้น สิ่งเจือปนเหล่านี้จะมีผลกระทบต่อสมบัติต่าง ๆ ของสารที่ต้องการเตรียม โดยเฉพาะสมบัติทางไฟฟ้า

#### 4. วิธีการทำให้แห้งแบบละออง (Spray-drying method)

การสังเคราะห์ผงด้วยวิธีการทำให้แห้งแบบละอองนี้ต้องอาศัยเครื่องทำละออง (Atomizer) ช่วยทำให้สารละลายแตกกระจายเป็นละอองหยดเล็ก ๆ พร้อมกับฉีดผ่านเข้าไปในห้องอบที่ร้อนจัด เพื่อทำให้ของเหลวในหยดละอองระเหยตัวออกไปอย่างรวดเร็ว จากนั้นจึงกักเก็บผงอนุภาคที่ได้ซึ่งปกติจะเป็นกลุ่มก้อนของอนุภาคปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อผงที่สังเคราะห์ได้โดยวิธีนี้คือรูปแบบของตัวทำละออง ได้แก่ เครื่องทำละอองแบบจานหมุน เครื่องทำละอองแบบลมอัด เครื่องทำละอองแบบอัลตราโซนิค ความสัมพันธ์ระหว่างการไหลของลมร้อนกับลักษณะการเคลื่อนที่ของละอองในห้องอบแห้ง ซึ่งธรรมชาติของลมร้อนที่ปล่อยออกมา นี้จะเป็นสิ่งกำหนดความเร็วในการระเหยของสารละลาย และความชื้นตกค้างในอนุภาคซึ่งจะส่งผลให้รูปร่างของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีหลายรูปแบบ เช่น รูปทรงกลมที่มีข้างในกลวงเหมือนโดนัท หรือรูปทรงกลมตัน เป็นต้น



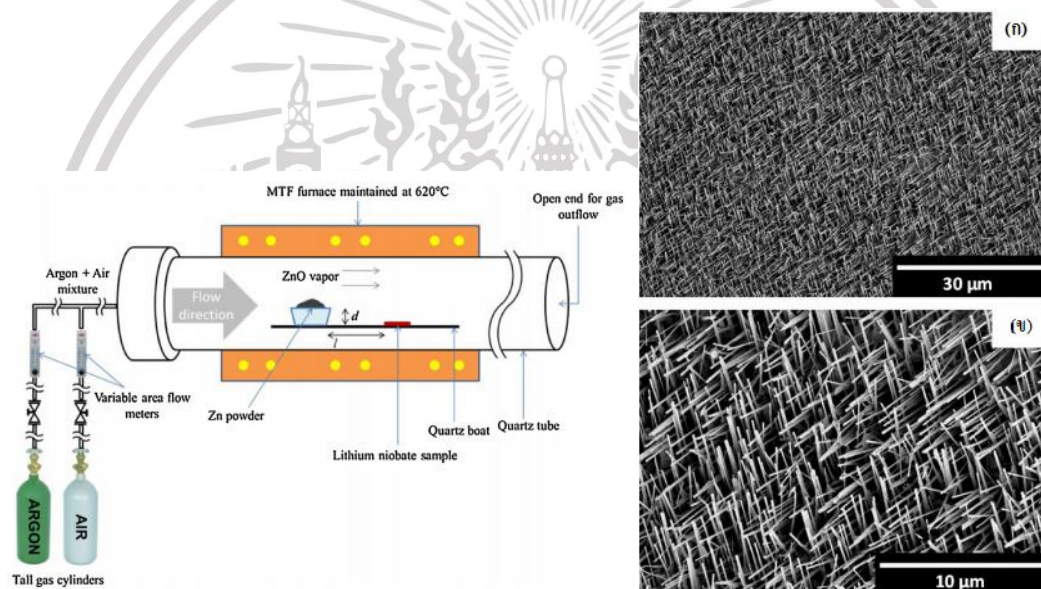
รูปที่ 2.33 กระบวนการสังเคราะห์ ZnO ด้วยวิธีการทำให้แห้งแบบละอองและภาพถ่ายที่จาก TEM

การเตรียมผงโดยวิธีนี้ ส่วนใหญ่จะใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งจะช่วยให้พัฒนาอนุภาคผงให้เคลื่อนที่ ข้อดีของการใช้น้ำคือ มีความปลอดภัยสูง มีต้นทุนต่ำในการสังเคราะห์ ใช้งานได้สะดวก นอกจากนี้เกลือของโลหะยังสามารถละลายน้ำได้ดีอีกด้วย แต่ในการสังเคราะห์ผงบางชนิดที่ทำปฏิกิริยากับน้ำนั้นต้องใช้แอลกอฮอล์มาเป็นตัวทำละลายแทนน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 5. วิธีระเหยแห้ง (Evaporation method)

การสังเคราะห์ผงโดยวิธีการนี้ต้องอาศัยการระเหยสารที่เป็นตัวทำละลายหรือสารที่ไม่ต้องการให้ออกไป จนเหลือแต่ตะกอนของสารที่ต้องการเท่านั้น ดังแสดงในรูปที่ 2.34 วิธีการนี้ทำได้โดยการนำ สารละลายของโลหะต่าง ๆ ที่ต้องการมาผสมกัน ซึ่งคาดว่าส่วนผสมเหล่านี้จะเกิดการผสมกันใน ระดับโมเลกุลเพราะสารทั้งหมดอยู่ในเฟสเดียวกัน เมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายผสม จนถึง อุณหภูมิที่พอเหมาะช่วงหนึ่ง จะสามารถกำจัดตัวทำละลายหรือสารที่ไม่ต้องการออกไปได้ เหลือไว้แต่เพียงตะกอนของสารที่ยังคงมีส่วนผสมในระดับโมเลกุลเหมือนเดิม วิธีการสังเคราะห์ผงแบบ นี้จึงน่าจะเป็นวิธีที่ให้ผลดีกว่าการสังเคราะห์ผงโดยวิธีปฏิกิริยาสถานะของแข็ง



รูปที่ 2.34 แผนภาพแสดงเตาท่อในระบบสุญญากาศที่ใช้สังเคราะห์ ZnO ด้วยการระเหยด้วยความร้อนและภาพถ่ายที่ได้จาก SEM

### 6. วิธีโซล-เจล (Sol-gel method)

การสังเคราะห์ผงโดยวิธีโซล-เจลนี้ทำได้โดยใช้สารตั้งต้นที่อยู่ในรูปของสารละลายซึ่งผสมเข้ากันได้เป็นอย่างดีและสามารถทำปฏิกิริยากันในระดับโมเลกุล โมเลกุลที่เป็นสายโซ่ยาวจึง สามารถเกิดขึ้นได้ หรือสามารถเกิดอนุภาคที่มีขนาดเล็กกระจายตัวอยู่ในของเหลวที่เรียกว่า โซล (Sol) หลังจากนั้นเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น สารละลายจะมีความหนืดมากขึ้นจน กลายเป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลวที่เรียกว่า เจล (Gel) จากนั้นนำเจลที่ได้ไปทำให้แห้งสนิทโดยการอบแห้ง แล้วบดให้เป็นผงละเอียดก่อนที่จะนำไปเผาแคลไซน์ต่อไป ณ อุณหภูมิที่เหมาะสม

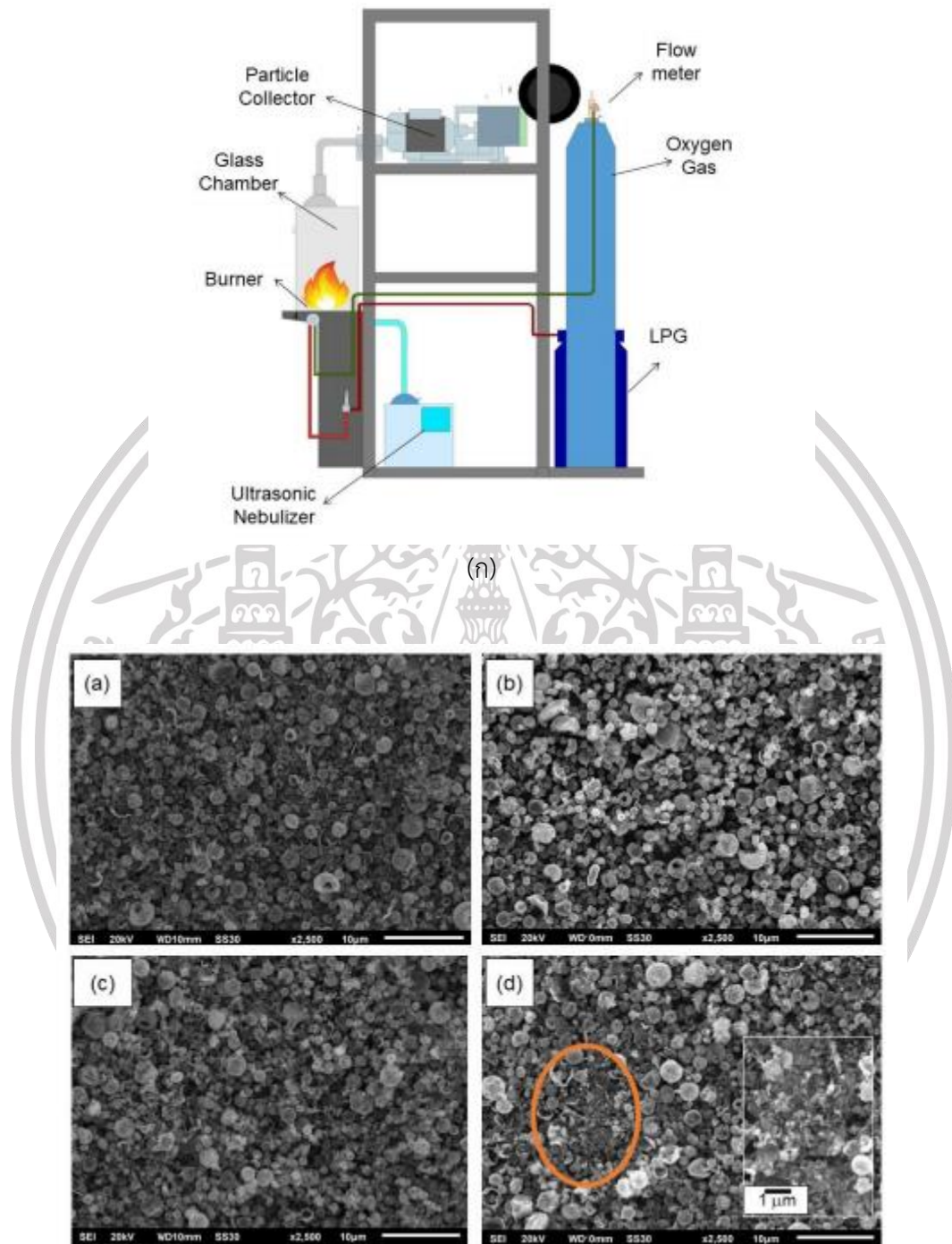
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของวิธีโซล-เจลคือ ผงที่ได้จากวิธีนี้จะมีขนาดเล็กและมีความบริสุทธิ์สูงมาก และเนื่องจากการรวมตัวกันทุกโมเลกุลเป็นเนื้อเดียวกันของสารตั้งต้นที่ใช้สังเคราะห์ จึงทำให้เจลมีพื้นที่ผิวมาก มีผลทำให้การตกผลึกและการซินเตอร์ทำได้อุณหภูมิไม่สูงมากนัก แต่ข้อเสียของวิธีโซล-เจลนี้ก็คือ สารตั้งต้นที่นำมาใช้มักมีราคาสูง และวิธีค่อนข้างยุ่งยากกว่าวิธีปฏิกิริยาสถานะของแข็งอยู่มาก

#### 7. เฟลมสเปรย์ไพโรลิซิส (Flame spray pyrolysis (FSP))

เฟลมสเปรย์ไพโรลิซิสเป็นวิธีสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนโดยการเผาไหม้คอรอฟเลทขนาดเล็ก ซึ่งประกอบด้วยสารตั้งต้นและเชื้อเพลิงเหลว (Fuel-droplet) ที่ถูกพ่นออกมาด้วยแก๊สดีสเพอร์ชัน (Dispersion gas) (แก๊สออกซิเจน) ทางแวนนูลาร์แกพเฟลมสเปรย์ไพโรลิซิสสามารถใช้สารตั้งต้นและเชื้อเพลิงเหลวได้หลากหลาย นอกจากนี้ยังสามารถเจือสารอื่น ๆ ไปในอนุภาคได้อีกด้วย เมื่อคอรอฟเลทถูกพ่นและเผาไหม้จะสลายตัวกลายเป็นโมโนเมอร์ ซึ่งโมโนเมอร์นี้จะชนและจับตัวกัน (Coagulate) เป็นอนุภาคทรงกลม จากนั้นอนุภาคทรงกลมนี้จะผ่านกระบวนการซินเตอร์ทำให้อนุภาคเชื่อมติดกัน (Coalescence) เมื่อเวลาผ่านไปการรวมตัวของอนุภาคจะเพิ่มขึ้นและยึดเหนี่ยวด้วยแรงแบบฟิสิกส์ (Agglomerate) และสุดท้ายจะได้กลุ่มอนุภาคที่ยึดเหนี่ยวด้วยพันธะทางเคมี (Aggregates) ซึ่งมีพื้นที่ผิวเฉพาะ (Specific surface area) สูง ในขั้นตอนต่อจากนี้อาจ มีการก่อตัวของโลหะ (Nucleation) ที่ต้องการเจือมาเกาะที่ผิวอนุภาคที่ทำการสังเคราะห์ นอกจากนี้ สารตั้งต้นสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็นสารประกอบออกไซด์ โดยมีแก๊ส มีเทน และแก๊สออกซิเจน เป็นเปลวไฟซัพพอร์ต (Supporting flame) ซึ่งกลไกการเกิดอนุภาคโดยเฟลมสเปรย์ไพโรลิซิสนี้แสดงดังรูป 2.35

ข้อได้เปรียบของเฟลมสเปรย์ไพโรลิซิสรวมถึงความสามารถในการละลายสารตั้งต้นเข้าไปในเชื้อเพลิง ความง่ายของการนำสารตั้งต้นเข้าไปในโซนของการเกิดปฏิกิริยาที่ร้อน (ในเปลวไฟ) และความยืดหยุ่นในการใช้เจตสเปรย์ที่มีความเร็วสูงทำให้เกิดแอโรซอลอย่างรวดเร็ว ที่สำคัญที่สุดของกระบวนการเฟลมสเปรย์ไพโรลิซิส คือความสามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนภายในขั้นตอนเดียวที่อุณหภูมิสูงโดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจุลภาค และขนาดของอนุภาคโลหะ ในกระบวนการแอนนิลลิงซึ่งจำเป็นในกระบวนการสเปรย์ไพโรลิซิส ในขณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงการสังเคราะห์ด้วยสารละลาย



รูปที่ 2.35 (ก) กระบวนการสังเคราะห์ ZnO NPs ด้วยวิธีเฟลมสเปย์ไพโรลิซิส

(ข) ภาพ SEM ของ ZnO ที่เตรียมด้วยอัตราการไหล  $O_2$  ที่แตกต่างกัน a) 1,

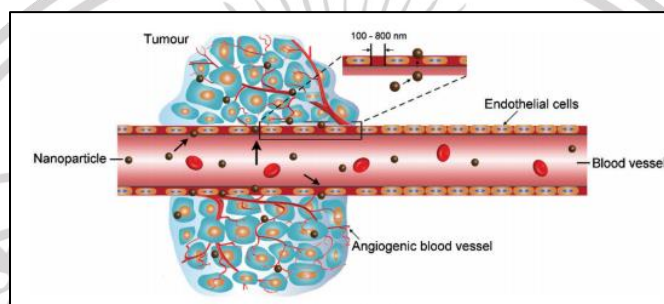
b) 1.5, c) 2 และ d) 2.5 L/min

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5.2 คุณสมบัติที่สำคัญของอนุภาคนาโน (Key properties of nanoparticles)

### 2.5.2.1 ขนาด (Size)

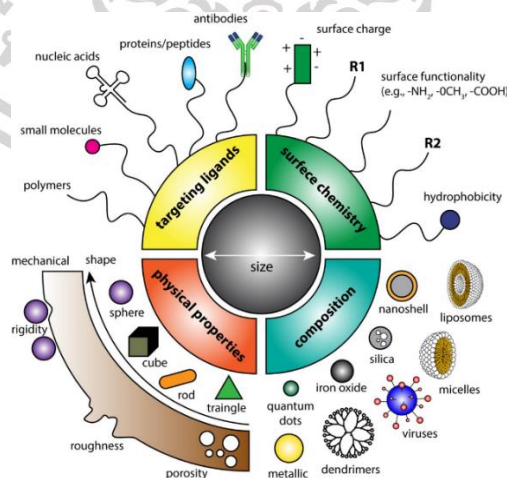
ขนาดของอนุภาคนาโน ซึ่งเปรียบได้กับโมเลกุลชีวภาพที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เป็นอีกคุณสมบัติหนึ่งที่ทำให้อนุภาคนาโนเหมาะสำหรับการใช้งานทางชีววิทยา อนุภาคนาโนสามารถโต้ตอบกับโมเลกุลทางชีววิทยาและจัดการได้รอบเซลล์ต่าง ๆ รบกวนสภาวะสมดุลของเซลล์และกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ เนื่องจากมีขนาดเล็กซึ่งไม่สามารถตรวจสอบได้โดยพลาสมาเมมเบรน ขนาดของอนุภาคนาโนสามารถเข้าสู่เนื้อเยื่อเนื้องอก โดยกระบวนการ Enhanced permeability and retention (EPR) ดังแสดงในรูปที่ 2.36



รูปที่ 2.36 การเข้าสู่เนื้องอกมะเร็งของอนุภาคนาโน

### 2.5.2.2 รูปร่างและสัณฐานวิทยา (Shape and morphology)

รูปร่างและสัณฐานวิทยาโดยรวมของวัสดุนาโนเป็นอีกหนึ่งข้อพิจารณาที่สำคัญสำหรับการใช้งานทางชีวการแพทย์ ด้วยความก้าวหน้าทางนาโนเทคโนโลยี ขนาดรูปร่าง ความแข็ง และคุณสมบัติพื้นผิวของวัสดุนาโนสามารถกำหนดได้จากการสังเคราะห์ ที่สำคัญกว่านั้นพบว่าคุณสมบัติเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการออกแบบตัวนำส่งยาที่ใช้อนุภาคนาโน (NP) ที่มีประสิทธิภาพสูง ดังแสดงในรูปที่ 2.37

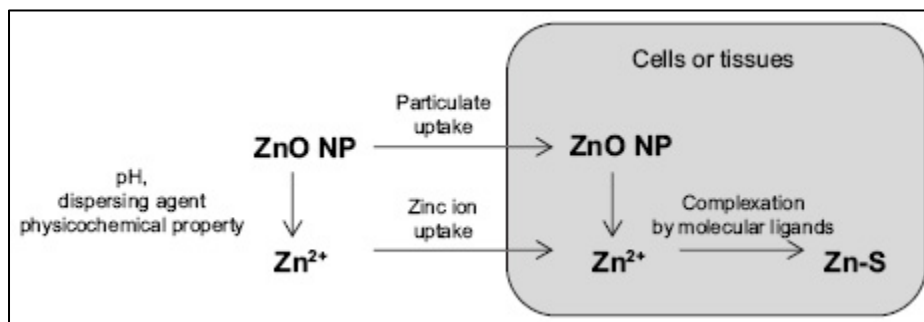


รูปที่ 2.37 รูปร่างและสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันของอนุภาคนาโนที่ใช้ในการส่งยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.5.2.3 การทำละลาย (Dissolution)

อนุภาคนาโน ZnO ที่สภาพแวดล้อมของเซลล์ปกติจะไม่เกิดการแตกตัว ทำให้ไม่ส่งผลเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ แต่จะแตกตัวที่สภาพแวดล้อมของเซลล์มะเร็งจึงเกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง เกิดเป็นสารละลาย  $Zn^{2+}$  ดังแสดงในรูปที่ 2.38



รูปที่ 2.38 กลไกทางชีวภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) ในเซลล์หรือเนื้อเยื่อ

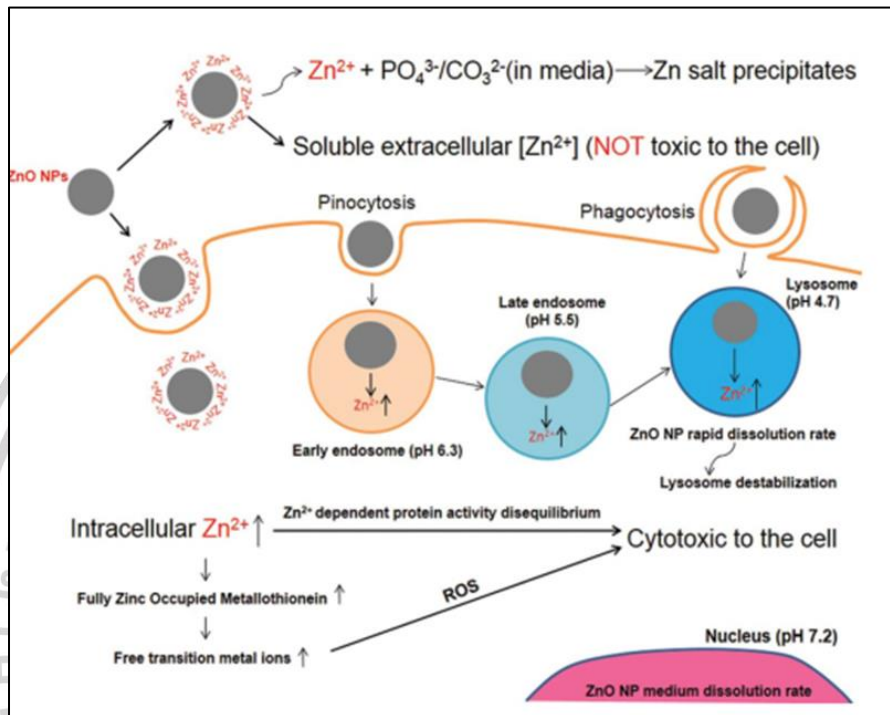
### 2.5.3 การแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ (Mechanism of cytotoxicity)

อนุภาคนาโน ZnO นอกเซลล์แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ที่เพิ่มขึ้นผ่านกระบวนการของโปรตีน กระตุ้นให้เกิด Oxidative stress ในเซลล์มะเร็ง ซึ่งพบว่าเป็นหนึ่งในกลไกของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง เกิดจากคุณสมบัติสารกึ่งตัวนำของ ZnO ที่กระตุ้นการสร้าง ROS นำไปสู่ Oxidative stress (ภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากมายเสียจนสารต้านอนุมูลอิสระมีไม่เพียงพอและจากสาเหตุดังกล่าวส่งผลให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมัน และโมเลกุลขนาดเล็กอื่น ๆ) นำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด

2.5.3.1 กระบวนการของโปรตีนสังกะสีที่เป็นสื่อกลางความไม่สมดุล (Zinc-mediated protein activity disequilibrium)

อนุภาคนาโน ZnO ตัวแรกจะถูกดูดซึมโดยเซลล์ผ่านเอนโดไซโทซิส ดังแสดงในรูปที่ 2.39 อนุภาคนาโนบางตัวจะเข้าสู่เซลล์ในขณะที่บางส่วนเข้าสู่ Pinocytosis และ Phagocytosis ที่ล้อมรอบด้วยเอนโดโซมและไลโซโซม เมื่อ pH ลดลงอัตราการละลายของอนุภาคนาโน ZnO จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้เกิดความไม่เสถียรของไลโซโซม pH ของเอนโดโซมในช่วงต้นค่อนข้างต่ำกล่าวคือ 6.3 ซึ่งช่วยในการปลดปล่อย  $Zn^{2+}$  ที่ละลายน้ำได้ นอกจากนี้ยังลดลงเป็น pH 5.5 ที่เอนโดโซมตอนปลายและ pH 4.7 ในไลโซโซมซึ่งสังเกตเห็นอัตราการละลายอย่างรวดเร็วของอนุภาคนาโน ZnO ทำให้เกิดความไม่เสถียรของไลโซโซม สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่าสำหรับการปลดปล่อย  $Zn^{2+}$  จำเป็นต้องมี pH ต่ำ ดังนั้นการปล่อย  $Zn^{2+}$  ในเลือดหรือของเหลวนอกเซลล์ซึ่งมี pH ปกติเท่ากับ 7 จึงไม่เป็นที่ต้องการ กระบวนการนี้นำไปสู่

การปลดปล่อย  $Zn^{2+}$  ที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นภายในเซลล์ การเพิ่มขึ้นของ  $Zn^{2+}$  ในเซลล์ทำให้เกิดความไม่สมดุลของโปรตีนที่ขึ้นกับ  $Zn^{2+}$  ซึ่งส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ การเพิ่มขึ้นของ  $Zn^{2+}$  ที่ละลายน้ำได้ยังช่วยเพิ่มความเข้มข้นของ ROS ซึ่งนำไปสู่ความเป็นพิษต่อเซลล์ผ่านกระบวนการ Oxidative stress



รูปที่ 2.39 แผนผังแสดงกลไกการเกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโน ZnO

2.5.3.2 การสร้าง ROS และ Oxidative stress (ROS production and oxidative stress)

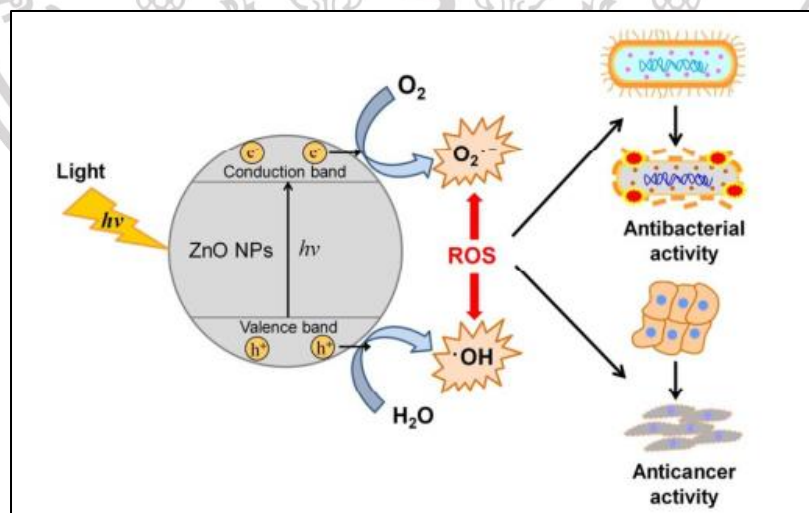
ROS ซึ่งเป็นโมเลกุลของออกซิเจนที่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้นภายในเซลล์ เกิดจากการเผาผลาญอาหาร สารต่าง ๆ กระบวนการสร้างพลังงาน การหายใจระดับเซลล์ รวมไปถึงเกิดขึ้นในกลไกการป้องกันตัวเองของร่างกายจากเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลชีวภาพและมีบทบาทสำคัญในการส่งสัญญาณของเซลล์และสภาวะสมดุล ROS เกิดจากภายนอกเพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าต่าง ๆ รวมทั้งวัสดุนาโน ROS ที่เกิดจากอนุภาคนาโน ZnO เกิดขึ้นได้ 2 สาเหตุ คือ สาเหตุหนึ่งเกิดจากการตอบสนองเชิง Proinflammatory ของเซลล์ต่ออนุภาคนาโน และอีกอันเนื่องมาจากคุณสมบัติพื้นผิวของอนุภาคนาโน ZnO ที่ทำให้เกิดเป็นระบบปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผลิต ROS

ความสามารถในการกระตุ้นให้เกิด Oxidative stress ผ่านการสร้าง ROS โดยอนุภาคนาโน ZnO เกิดจากคุณสมบัติของสารกึ่งตัวนำ ZnO เป็นสารกึ่งตัวนำที่มีช่องว่างกว้างพลังงานที่ 3.37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

eV และพลังงานยึดเหนี่ยว 60 MeV โดยปกติต้องใช้แสงยูวีเพื่อทำให้อิเล็กตรอน (e<sup>-</sup>) จากแถบวาเลนซ์ไปถึงแถบการนำโดยปล่อยให้ holes (h<sup>+</sup>) ในแถบวาเลนซ์ การนำไฟฟ้าเกิดขึ้นโดยการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนอิสระในแถบวาเลนซ์ ในกรณีของอนุภาคนาโน ZnO ขนาดนาโน (Nano-size) อิเล็กตรอนจะกระโดดไปที่แถบการนำไฟฟ้าในกรณีที่ไม่มีการฉายรังสี UV อิเล็กตรอนและโฮลมักจะรวมตัวกันใหม่อย่างรวดเร็ว แต่ในกรณีของอนุภาคนาโนอิเล็กตรอนและโฮลจะเคลื่อนที่ไปที่ผิวอนุภาคนาโนซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารที่ถูกดูดซับ (Adsorbed species) ส่งผลให้จำนวนอิเล็กตรอนและโฮลเพิ่มขึ้นในพื้นที่ผิวอนุภาคนาโน

Holes (h<sup>+</sup>) ทำหน้าที่เป็นสารออกซิแดนท์จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำ (H<sub>2</sub>O) ให้เป็นไฮโดรเจนไอออน (H<sup>+</sup>) และไฮดรอกซิล (OH<sup>•</sup>) ในทำนองเดียวกันอิเล็กตรอนทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ (Reducer) ที่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจนที่ดูดซับและละลายน้ำทำให้เกิด Superoxide radical anion (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) และพร้อมที่จะเปลี่ยนไปเป็น Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) อนุโมลทั้งหมดเหล่านี้เป็นสายพันธุ์ออกซิเจนที่มีปฏิกิริยาสูงเรียกว่า ROS ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรง นอกจากนี้เมื่อ ZnO และโมเลกุลของ Oxygen ถูกกระตุ้นด้วยแสง UV จะเกิดเป็น Singlet oxygen ซึ่งเป็น Oxidizing agent ที่แรงกว่า Superoxide radical anion อีกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 2.40 การเพิ่มขึ้นของ ROS ปริมาณมากนำไปสู่สถานะไม่สมดุลของเซลล์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันนำไปสู่ Oxidative stress ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด ดังนั้นโฮลและอิเล็กตรอนในอนุภาคนาโน ZnO จึงทำหน้าที่เป็นระบบปฏิกิริยารีดอกซ์ผลิตออกซิเจนที่มีปฏิกิริยาและทำให้เกิด Oxidative stress ในเซลล์เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.41



รูปที่ 2.40 กลไกการสร้าง ROS ของอนุภาคนาโน



รูปที่ 2.41 การเกิด Oxidative stress ของเซลล์ นำไปสู่การตายของเซลล์

## 2.5.4 กระบวนการโฟโตคะตะไลซิส (Photocatalytic process)

### 2.5.4.1 หลักการและกลไกของปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส

พื้นฐานของปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสนั้นมาจากปฏิกิริยาโฟโตเคมี (Photochemistry) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ใช้แสงเป็นตัวกระตุ้นโมเลกุลของสาร ซึ่งหากการกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นที่เหมาะสม และมีตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการจะเรียกว่า โฟโตคะตะไลซิส (Photocatalysis)

ตัวเร่งปฏิกิริยามีทั้งที่เป็นสารตัวนำและกึ่งตัวนำจะมีแถบพลังงานอยู่ 2 แถบ คือ แถบเวเลนซ์ (Valence band) เป็นแหล่งพลังงานที่มีอิเล็กตรอน ( $e^-$ ) บรรจุอยู่เต็ม และ แถบการนำไฟฟ้า (Conduction band) เป็นแหล่งพลังงานที่มีออร์บิทัลว่างอยู่ โดยสารทั้ง 2 ประเภทจะแตกต่างกันในเรื่องของช่องว่างพลังงาน กล่าวคือ หากเป็นสารตัวนำแถบพลังงานทั้งสองจะอยู่ติดกัน ส่วนสารกึ่งตัวนำจะมีแถบช่องว่างพลังงาน (Band gap) คั่นอยู่ระหว่างแถบพลังงานทั้งสองค่าของแถบช่องว่างพลังงานจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารกึ่งตัวนำ โดยสารกึ่งตัวนำแต่ละชนิดจะมีค่าต่างกันออกไป เมื่อสารกึ่งตัวนำที่ถูกใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาถูกกระตุ้นด้วยพลังงานแสง (แสงอัลตราไวโอเล็ต, UV) หรือได้รับพลังงานในรูปของพลังงานโฟตอน (Photon energy) ที่มีพลังงานเพียงพอ หรือมีพลังงานมากกว่า หรือเท่ากับแถบช่องว่างพลังงานของสารกึ่งตัวนำ ซึ่งเรียกพลังงานนี้ว่า พลังงานกระตุ้น (Active energy) สามารถคำนวณได้จาก

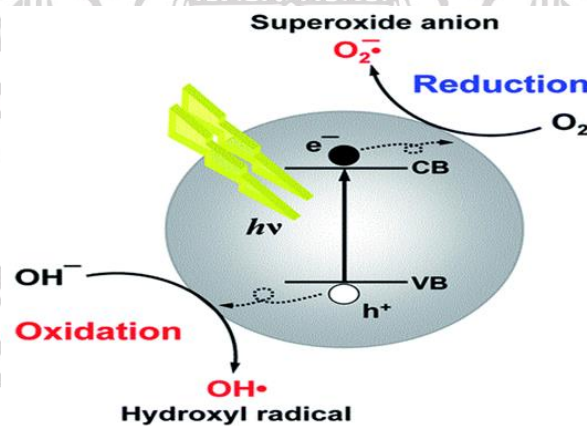
สมการ 2.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$E = hv = h \frac{C}{\lambda} \quad (2.21)$$

- เมื่อ  $E$  คือ พลังงานโฟตอน (Photon Energy) หน่วย จูล  
 $h$  คือ ค่าคงที่ของพลังค์ (Planck's Constant) เท่ากับ  $6.625 \times 10^{-34}$  จูล.วินาที  
 $v$  คือ ความถี่ของคลื่นแสง หน่วย เฮิรตซ์ หรือ วินาที<sup>-1</sup>  
 $\lambda$  คือ ความยาวคลื่น หน่วย นาโนเมตร  
 $C$  คือ ความเร็วแสง เท่ากับ  $2.997 \times 10^8$  เมตรต่อวินาที

พลังงานที่ไปกระตุ้นจะทำให้อิเล็กตรอนในชั้นแถบเวเลนซ์มีพลังงานเพิ่มขึ้นจนเคลื่อนที่เข้าสู่ชั้นแถบการนำไฟฟ้า ทำให้เกิดที่ว่างของอิเล็กตรอน (Hole,  $h^+$ ) ในชั้นแถบเวเลนซ์ กลายเป็นคู่ของอิเล็กตรอนและที่ว่างของอิเล็กตรอน ( $e^-/h^+$ ) ในอนุภาคตัวเร่งปฏิกิริยาดังรูปที่ 2.42 ในกรณีที่ไม่มีตัวรับอิเล็กตรอนหรือตัวให้อิเล็กตรอนในระบบ อิเล็กตรอนที่ถูกกระตุ้นให้มีพลังงานเพิ่มมากขึ้นนี้ สามารถรวมตัวกับที่ว่างของอิเล็กตรอนได้อีก เกิดเป็นปฏิกิริยาที่เรียกว่า Recombination แต่ในกรณีที่ไม่มีตัวให้หรือตัวรับอิเล็กตรอนในระบบอิเล็กตรอนและที่ว่างของอิเล็กตรอนจะมีบทบาทในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันต่อไป



รูปที่ 2.42 การเกิดอิเล็กตรอน ( $e^-$ ) และที่ว่างของอิเล็กตรอน ( $h^+$ ) ในปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส

กลไกของปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส (Mechanism of photocatalysis reaction) ที่เกิดขึ้นเป็น  
 ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การกระตุ้นด้วยแสง



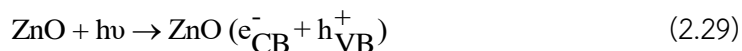
การเกิดเรดิคัล จาก  $e_{\text{CB}}^-$ ,  $h_{\text{VB}}^+$



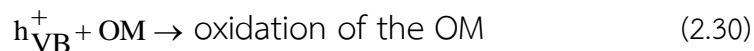
การรวมตัวกันใหม่ของ  $e^-$ ,  $h^+$  (Electron-hole recombination)



เมื่อโครงสร้างของสารกึ่งตัวนำถูกกระตุ้นด้วยพลังงานที่มากกว่าหรือเพียงพอที่จะทำให้ อิเล็กตรอนสามารถเคลื่อนที่จากชั้นแถบเวเลนซ์ไปยังแถบการนำไฟฟ้า ทำให้เกิดที่ว่าง ( $h^+$ ) ของ อิเล็กตรอนในวาเลนซ์แบนด์ขึ้น ดังสมการที่ 2.23 ซึ่ง  $h^+$  สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับไฮดรอกไซด์ไอออน ( $\text{OH}^-$ ) ในน้ำ เกิดเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radical,  $\text{OH}^\bullet$ ) ดังแสดงในสมการที่ 2.24 ส่วนอิเล็กตรอน ( $e^-$ ) ในคอนดักชันแบนด์สามารถเกิดปฏิกิริยารีดักชันกับออกซิเจนที่อยู่รอบ ๆ ตัวเร่งปฏิกิริยา และเกิดเป็นซูเปอร์ออกไซด์ไอออนเรดิคัล (Superoxide ion radical:  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) ดังสมการที่ 2.25 และสามารถเกิดเปอร์ไฮดรอกซิลเรดิคัล (Perhydroxyl radical:  $\text{HO}_2^\bullet$ ) ดังสมการที่ 2.26 กรณีที่ในระบบการทดลองมีออกซิเจนไม่เพียงพอ โฟตอน ( $\text{H}^+$ ) ซึ่งเกิดจากการแตกตัวของน้ำ (สมการที่ 2.12) จะเข้ามามีบทบาทเข้ารับอิเล็กตรอนแทนและเกิดเป็นไฮโดรเจนเรดิคัล (Hydrogen radical:  $\text{H}^\bullet$ ) ตามสมการที่ 2.27 ซึ่งเรดิคัลต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นนี้สามารถทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ในระบบ โดยเฉพาะไฮดรอกซิลเรดิคัล ( $\text{OH}^\bullet$ ) ซึ่งเป็นสารออกซิแดนท์หลักในปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส เพราะไฮดรอกซิลเรดิคัลเป็นสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาอย่างมาก และสามารถทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ในน้ำ ได้ทุกชนิด และสำหรับซิงค์ออกไซด์ซึ่งเป็นสารกึ่งตัวนำ เมื่อถูกกระตุ้นด้วยพลังงานแสงจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอินทรีย์ (Organic matter, OM) บนพื้นผิวซิงค์ออกไซด์ ดังสมการ 2.29 ถึง 2.31 ต่อไปนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



#### 2.5.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการโฟโตคะตะไลซิส

ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการโฟโตคะตะไลซิส ได้แก่ ค่าพีเอช ตัวเร่งปฏิกิริยา อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen) และความเข้มของแสง (Light intensity)

ค่าพีเอช ประสิทธิภาพของกระบวนการโฟโตคะตะไลซิสขึ้นอยู่กับค่าพีเอชในสารละลาย ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา เนื่องจากค่าพีเอชมีผลต่อความสามารถในการดูดเกาะของสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ที่ผิวของตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งประจุไฟฟ้าที่ผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาจะเปลี่ยนไปเมื่อค่าพีเอชสูงหรือต่ำ โดยจะเป็นบวกที่ค่าพีเอชต่ำ และมีค่าเป็นลบเมื่อค่าพีเอชสูงขึ้น

ตัวเร่งปฏิกิริยา ตัวเร่งปฏิกิริยาจะต้องมีคุณสมบัติเป็นโลหะตัวนำ หรือสารกึ่งตัวนำที่สามารถตอบสนองต่อแหล่งกำเนิดแสง เพื่อก่อให้เกิดปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ โดยจะต้องมีพื้นที่มากเพียงพอในการดูดติดสารอินทรีย์ไว้บนพื้นผิวของตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นในการเพิ่มปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาจะทำให้มีพื้นที่ผิวเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย

อุณหภูมิ เนื่องจากแหล่งกำเนิดแสงก่อให้เกิดความร้อนภายในระบบเพิ่มมากขึ้นซึ่งจะส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาในการบำบัดมลพิษได้น้อย เนื่องจากโดยทั่วไปในกระบวนการโฟโตคะตะไลซิสไม่ต้องการให้เดินระบบที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำ จนเกินไป ซึ่งโดยทั่วไปจะอยู่ระหว่าง 20-80 องศาเซลเซียส

ปริมาณออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen) ออกซิเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส มีหน้าที่สำคัญในการจับกับอิเล็กตรอนที่ชั้นแถบการนำไฟฟ้า ทำให้เกิดเป็นซูเปอร์ออกไซด์ไอออนเรดิคัลและทำปฏิกิริยากับโฟตอน แล้วเกิดเปอร์ไฮดรอกซิลเรดิคัล ซึ่งช่วยป้องกันการเกิดการกลับมารวมตัวกันอีกครั้งของอิเล็กตรอนกับโฮล หรือปฏิกิริยารีคอมบิเนชันเกิดขึ้นได้ยากขึ้น

ความเข้มของแสง (Light intensity) ในการเกิดปฏิกิริยาบนพื้นผิวตัวเร่งปฏิกิริยาจำเป็นต้องมีพลังงานโฟตอนที่มากพอเพื่อให้เกิดการกระตุ้น ซึ่งปริมาณความเข้มแสงที่มากขึ้นทำให้มีจำนวนของโฟตอนมากขึ้น และส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มมากขึ้นด้วย

## 2.6 ยาเคมีบำบัด (Chemotherapy) [59-66]

### 2.6.1 ความหมายของยาเคมีบำบัด

เคมีบำบัด (Chemotherapy) หมายถึง การให้ยาเพื่อทำลายหรือหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง มีวัตถุประสงค์เพื่อ รักษาผู้ป่วยให้หายจากโรคมะเร็งและไม่กลับมาเป็นซ้ำ ควบคุมโรคให้ก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กลงหรือไม่โตขึ้น และไม่แพร่กระจายไปยังอวัยวะส่วนอื่น บรรเทาอาการสำหรับผู้ป่วยมะเร็งระยะแพร่กระจาย

การรักษามะเร็งโดยการให้ยาจะบำบัดอาการได้ดีในระยะหนึ่งเท่านั้น จากนั้นเซลล์มะเร็งจะมีการเปลี่ยนแปลงตัวเองให้ทนต่อยาหรือเกิดการดื้อยาขึ้น และจะทำให้การกลับเป็นซ้ำของโรคและเกิดการกระจายมากขึ้น ดังนั้นบางครั้งจึงมีความจำเป็นต้องใช้ยาร่วมกันหลายขนาน (Combination) ในการรักษาโรค เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา ทำให้สามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้มากขึ้น โดยอาศัยกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่แตกต่างกันและเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันโดยไม่เพิ่มพิษของยา นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการดื้อยาด้วย

หลักในการเลือกใช้ยาร่วมกัน คือเลือกชนิดยาที่ทำลายเซลล์มะเร็งในชนิดเดียวกันและมีกลไกออกฤทธิ์เสริมกันโดยให้มีพิษและฤทธิ์ไม่พึงประสงค์แตกต่างกันมาใช้ร่วมกัน การให้ยาส่วนมากนิยมให้เป็นช่วง ๆ โดยมีระยะพักระหว่างช่วงเพื่อให้ไขกระดูกที่ถูกกดกลับฟื้นตัวได้ การตอบสนองของเซลล์มะเร็งต่อยารักษาจะขึ้นอยู่กัสิ่งต่อไปนี้ คือ

1. ขนาดของเซลล์มะเร็ง ในระยะแรกเริ่มเป็นมะเร็ง เซลล์มะเร็งจะน้อยการรักษาด้วยยาจะได้ผลดี
2. ชนิดและลักษณะของมะเร็ง
3. ตำแหน่งของมะเร็ง
4. ปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วย ได้แก่ อายุ เพศ เชื้อชาติ สภาวะทางร่างกายและจิตใจ สภาวะทางภูมิคุ้มกันของร่างกาย
5. การดื้อยา

### 2.6.2 ประเภทของยาเคมีบำบัด

การแบ่งประเภทของยาเคมีบำบัดอาจแบ่งได้หลายประเภท ในที่นี้จะแบ่งประเภทของยาเคมีบำบัดตามความเป็นพิษต่อเซลล์ดังแสดงในตารางที่ 2.3 และมีกลไกการออกฤทธิ์ดังแสดงในรูปที่ 2.43 และอธิบายได้ดังนี้

### 2.6.2.1 Alkylating agents

ยาในกลุ่ม Alkylating agents ยาที่ใช้บ่อยในกลุ่มนี้คือ Cyclophosphamide (Cytoxan, Endoxan), Ifosfamide (Holoxan, Iflex), Busulfan (Myleran), Nitrogen mustard (Mustagen, Mustine HCl), Cisplatin, Carboplatin

**กลไกการออกฤทธิ์ของยา** ยาจะไปทำปฏิกิริยากับ DNA (Deoxyribonucleic acid) และส่วนประกอบที่สำคัญอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ทำให้เกิดการจับคู่ผิดของโมเลกุลใน DNA คือ Guanine จะจับคู่กับ Cytosine แทนที่จะเป็น Thymine เป็นผลทำให้รหัสบนยีนผิดปกติ มีการทำลายโครงสร้างของ Guanine ทำให้เซลล์ตายในที่สุด

**การดูดซึมและการขับถ่ายออกจากร่างกาย** สามารถดูดซึมได้ดีในกระเพาะอาหาร และลำไส้ จึงนิยมให้โดยการ รับประทาน แต่บางชนิดต้องให้ทางหลอดเลือดดำจึงจะได้ผลดี และเนื่องจาก มีฤทธิ์กัดผิวหนังและเนื้อเยื่อต่าง ๆ รุนแรง สารที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงยังมีฤทธิ์อยู่ ส่วนใหญ่ถูกขับออกทางปัสสาวะ บางส่วนถูกขับออกทางน้ำดี

**ฤทธิ์ข้างเคียงและพิษของยา** กัดการสร้างเม็ดเลือดขาวในไขกระดูก ผลต่อระบบทางเดินอาหารทำให้ท้องเสีย เบื่อ อาหาร เกิดแผลในปาก ในเพศชายจะยับยั้งการสร้างอสุจิทำให้เป็นหมันชั่วคราว ในเพศหญิงประจำเดือนอาจขาดๆ หายๆ และทำให้ผมร่วง Cyclophosphamide ถ้าตกค้างในกระเพาะปัสสาวะจะทำให้เกิดการอักเสบ (Hemorrhage cystitis) Busulfan ระคายเคืองกระเพาะอาหารมาก มี Immunosuppressive เพิ่มขึ้น

**ใช้รักษา** มะเร็งต่อมน้ำเหลือง Non-Hodgkin's Lymphoma, Chronic Myelocytic Leukemia (CML), มะเร็งมดลูก, มะเร็งปอด, มะเร็งหลอดอาหารและกระเพาะอาหาร

**การดื้อยา** การเพิ่มความสามารถในการซ่อมแซม DNA ที่ถูกยาทำลาย ทำให้มีการนำยาเข้าสู่เซลล์น้อยลง มีการเพิ่ม การสร้าง Glutathione เพื่อให้ไปจับกับยาทำให้กลายเป็นยาที่ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้และถูกขับออกจากร่างกาย

### 2.6.2.2 Anti-metabolites

ยาในกลุ่ม Antimetabolites ยาจะเข้าไปขัดขวางขบวนการการสร้าง Folate, Purine, Pyrimidine ซึ่งจำเป็นในการสร้าง DNA และ RNA ยาชนิดนี้จะไปออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อวงจรชีวิตของเซลล์ที่ระยะ S โดยไปยับยั้ง DNA polymerase ทำให้ไม่สามารถสร้าง DNA และ RNA ได้ ทำให้การเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ลดลงยาส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยับยั้งที่ระยะ S และระยะอื่น ๆ ยกเว้นระยะ G<sub>0</sub> แบ่งยาในกลุ่มนี้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

## 1. Folic acid analogues

Folic acid analogues หรือ Antifolates ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Methotrexate ใช้รักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันในเด็ก

**กลไกการออกฤทธิ์ของยา** จะออกฤทธิ์ยับยั้งที่ระยะ S ขัดขวางการสร้าง Purine และ Pyrimidine โดยยับยั้งการทำงานของ Dihydrofolate reductase (DHFR) ที่ใช้ในการเปลี่ยน Folic acid ให้กลายเป็น Tetrahydro folic acid ที่มีความจำเป็นในการสร้าง Purine และ Pyrimidine ทำให้การสร้าง DNA และ RNA หยุดชะงัก การสร้างโปรตีนในระยะ G1 ลดลง เซลล์เข้าสู่ระยะ S ช้าลง

**การดูดซึมและการขับออกจากร่างกาย** สามารถให้ได้ทั้งทางปาก ทางหลอดเลือดดำหรือแดงและทางไขสันหลังสามารถดูดซึมได้เร็วทางกระเพาะอาหารและลำไส้ การกระจายของยาส่วนใหญ่อยู่ที่ตับ ไต ม้าม มากกว่าอวัยวะอื่น ส่วนใหญ่ถูกขับออกทางปัสสาวะ ส่วนน้อยขับออกทางอุจจาระ

**ฤทธิ์ข้างเคียงและพิษของยา** ระคายเคืองต่อระบบทางเดินอาหาร กัดไขกระดูก เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดลดลงทำให้เลือดออกได้ง่ายอาจทำให้แท้งและเด็กในครรภ์พิการได้ ผมร่วง ผิวน้ำแข็งอักเสบ พิษต่อไต ยาในกลุ่มนี้ทำให้เกิดอาการ Folate deficiency ในเซลล์ปกติ แก้ไขโดยการให้ Leucovorin ร่วมด้วย

**ใช้รักษา** มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งกระดูก รังไข่ กระเพาะปัสสาวะ เต้านม **การดื้อยา** ลดการนำเข้าของยาเซลล์ เพิ่มการขับยาออกจากเซลล์ เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ DHFR ให้จับยาได้น้อยลง

## 2. Purine analogues

ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Mercaptopurine (6-MP)

**กลไกการออกฤทธิ์ของยา** ยาในกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างคล้าย Purine เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ Hypoxanthine Guanine Phosphoribosyl Transferase (HGPRT) ได้สารพวก Ribonucleotide ซึ่งจะยับยั้งเอนไซม์ในการสังเคราะห์ Purine ทำให้การสร้าง Purine หยุดชะงัก

**การดูดซึมและการขับออกจากร่างกาย** ให้ทางรับประทาน สามารถดูดซึมได้เร็วทางกระเพาะอาหารและลำไส้สามารถกระจายไปทั่วของเหลวในร่างกายผ่านเข้าสู่สมอง ถูกขับออกทางปัสสาวะภายใน 24 ชั่วโมง

**ฤทธิ์ข้างเคียงและพิษของยา** กัดไขกระดูก ในขนาดยาที่สูงจะทำให้เกิด leucopenia thrombocytopenia อาจมีอาการคลื่นไส้และปวดบริเวณลิ้นปี่ร่วมด้วย

**ใช้รักษา** Acute lymphoblastic leukemia, Acute myeloblastic anemia

**การดื้อยา** ทำให้มีระดับของ HGPRT ลดลง เพิ่มการทำงานของ Alkaline phosphatase ทำให้ยาเป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์

### 3. Pyrimidine analogues

ยากลุ่มนี้ได้แก่ Fluorouracil (5-FU), Cytosine arabinoside (Ara-C), Fludarabine ใช้รักษามะเร็งเต้านม มะเร็งในระบบทางเดินอาหาร

**กลไกการออกฤทธิ์ของยา** Fluorouracil (5-FU) มีสูตรโครงสร้างคล้าย Uracil ออกฤทธิ์โดยตรงต่อวงจรชีวิตของเซลล์ที่ระยะ S ตัวยาเองไม่มีฤทธิ์เมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์แล้วจะถูกเปลี่ยนเป็นสารที่มีฤทธิ์โดยเอนไซม์ pyrimidine phosphoribosyl transferase จึงมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ RNA และ DNA กลไกของยา Cytosine arabinoside (Ara-C) ทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ DNA polymerase เกิดการหยุดการสร้าง DNA จากการที่ยาเข้าไปในสายของ RNA ได้ด้วย

**การดูดซึมและการขับออกจากร่างกาย** 5-FU จะดูดซึมได้ดีเมื่อฉีดเข้าหลอดเลือดดำ สามารถกระจายได้ทั่วร่างกายซึมเข้าสมองและไขสันหลังได้ 80% ของยาจะถูกทำลายที่ตับและขับออกทางปัสสาวะภายใน 3 ชั่วโมงหลังฉีด อีก 20% ออกมาทางปัสสาวะในรูปเดิมภายใน 6 ชั่วโมงหลังให้ยา ส่วนยา Cytosine arabinoside (Ara-C) ให้ทาง IV infusion เท่านั้นเนื่องจากยาถูกทำลายด้วยเอนไซม์ที่ตับและทางเดินอาหาร

**ฤทธิ์ข้างเคียงและพิษของยา** ผลข้างเคียงมีอาการคลื่นไส้อาเจียน เบื่ออาหาร ปากเป็นแผล ลื่นอึกเสบ ผม่วรงเม็ดเลือดขาวต่ำ ผิวหนังมีสีเข้มขึ้น

**ใช้รักษา** มะเร็งเต้านม มะเร็งในระบบทางเดินอาหาร

#### 2.6.2.3 Antibiotics

ยาในกลุ่ม Antibiotics ได้แก่ยา Actinomycin D, Bleomycin, Mitomycin D, Doxorubicin ยาปฏิชีวนะหลายชนิดมีฤทธิ์กีดการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยสกัดมาจากเชื้อรา Streptomyces มีฤทธิ์ไม่เฉพาะเจาะจงต่อวงจรชีวิตของเซลล์ ยกเว้น Bleomycin ซึ่งเป็นยาที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อวงจรชีวิตของเซลล์ในระยะ G2

**กลไกการออกฤทธิ์ของยา** กลไกการออกฤทธิ์โดยจะเข้าจับ Polynucleotides โดยแทรกตัวอยู่ในระหว่างคู่เบสของ DNA และป้องกันการสังเคราะห์ Polynucleotide ตัวใหม่ นอกจากนี้ยังทำให้สาย DNA มีการเรียงลำดับเบสในสายผิดปกติทำให้ขาดเป็นท่อนๆ ชักนำให้เซลล์เกิดการตาย ยาทำให้เกิด Free radical ที่เป็นพิษต่อเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด

**การดูดซึมและการขับออกจากร่างกาย** ต้องให้ทางหลอดเลือดดำ สามารถกระจายไปยังอวัยวะส่วนต่าง ๆ ได้ดีแต่ไม่ผ่านเข้าสู่สมอง ถูกทำลายที่ตับ และส่วนใหญ่ขับออกมาทางน้ำดี

**ฤทธิ์ข้างเคียงและพิษของยา** ผลข้างเคียงของยากลุ่มนี้โดยเฉพาะ Doxorubicin จะทำให้เกิด Cardiomyopathy มีผลทั้งพิษเฉียบพลันและเรื้อรังทำให้เกิด Arrhythmia และ CHF ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีผลกดไขกระดูก การให้ยา Bleomycin ครั้งแรกๆ ต้องระมัดระวังเพราะมีโอกาสแพ้ยารุนแรงและเสียชีวิตได้ และยังมีพิษต่อปอดด้วย

**ใช้รักษา** มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ

#### 2.6.2.4 Plant derivatives

ยาในกลุ่ม Plant derivatives เป็นยาที่ได้จากต้นพวงพญฝรั่ง ที่มีประโยชน์ในการรักษามะเร็งได้แก่ Etoposide, Vincristine และ Vinblastine

**กลไกการออกฤทธิ์ของยา** ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์โดยตรงต่อวงจรชีวิตของเซลล์ในระยะ Mitosis ของเซลล์โดยจับกับ  $\beta$ -tubulin มีผลทำให้  $\beta$ -tubulin จับกับ  $\alpha$ -tubulin เพื่อกลายเป็น Microtubule ไม่ได้ (Antimicrotubule drugs) ทำให้เซลล์หยุดแบ่งตัวในระยะ Metaphase และเกิดการตายของเซลล์

**การดูดซึมและการขับออกจากร่างกาย** ยาจะดูดซึมทางกระเพาะอาหารและลำไส้ไม่แน่นอนและระคายเคืองมากจึงนิยมให้ทางหลอดเลือด ยาจะมีระดับสูงหลังรับประทาน 1 – 1.5 ชั่วโมง ยาจะกระจายเข้าในเนื้อเยื่อและของเหลวในร่างกายได้ดี ส่วนใหญ่ยาจะขับออกทางน้ำดี จึงไม่ควรใช้ยานี้กับผู้ป่วยที่เป็นโรคตับหรือมีการอุดตันของท่อน้ำดี

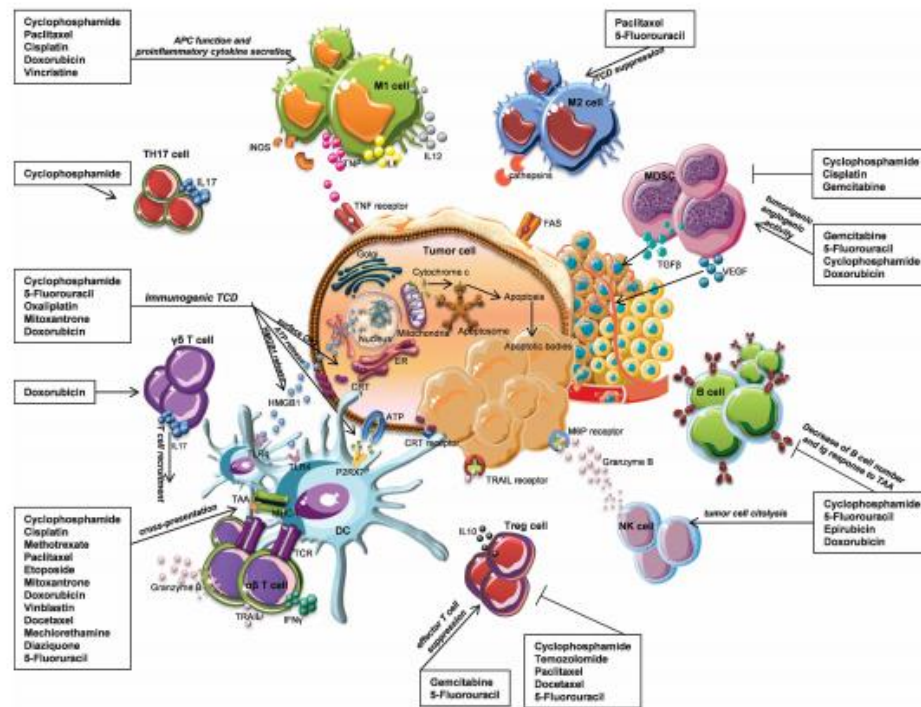
**ฤทธิ์ข้างเคียงและพิษของยา** Vincristine มีพิษต่อระบบประสาทกล้ามเนื้อ เช่น ขาตามปลายมือปลายเท้า เดินเซ (Ataxia) และอาจทำให้กล้ามเนื้อฝ่อลีบ ส่วน Vinblastine จะกดการทำงานของไขกระดูก อาการข้างเคียงอื่นที่พบบ่อยคือ คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร ท้องเดิน ปวดท้อง เม็ดเลือดขาวต่ำ เกล็ดเลือดต่ำ ซีด ความดันโลหิตต่ำการฉีดยาต้องระวังไม่ให้ออกนอกเส้นเลือดเพราะจะทำให้เนื้อเยื่อเกิดการอักเสบได้มาก

**ใช้รักษา** มะเร็งรังไข่ มะเร็งลูกอัณฑะ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง ยาที่ใช้บ่อย คือ Vincristine (Oncovin, VCR), Vinblastine (Velban, Blastovin, VLB), Etoposide (Vepesid, VP-6, Lastet)

**การดื้อยา** ทำให้เกิดการผลัก (Pump) ยาออกมากขึ้นจึงไม่เห็นผลในการรักษา

ตารางที่ 2.3 ประเภทของยาเคมีบำบัดแบ่งตามความเป็นพิษต่อเซลล์

Alkylating agents	Anti-metabolites	Antibiotics	Plant derivatives
Cyclophosphamide	Methaotrexate	Bleomycin	Etoposide
Busulfan	Fluorucil	Dactinomycin	Vinblastine
Carmustin	Cytarabine	Daunorubicin	Vincristine
Chloramabucil	Cladribine	Doxorubicin	
Ifosfamide	Fludarabine phosphate	Epirubicin	
Iomustine	Gemcitabine	Idarubicin	
Melphan	Mercaptopurine	Mitomycin	
Treosulfan			
Cisplatin			
Carboplatin			
Oxaliplatin			

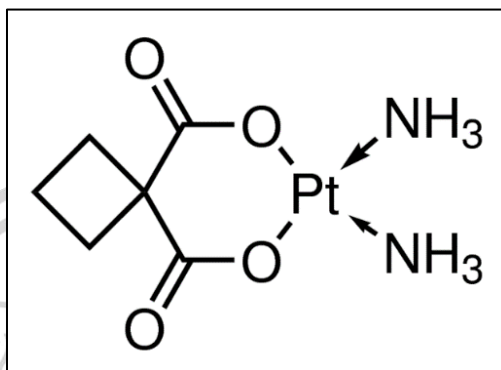


รูปที่ 2.43 กลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดในการทำลายเซลล์มะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

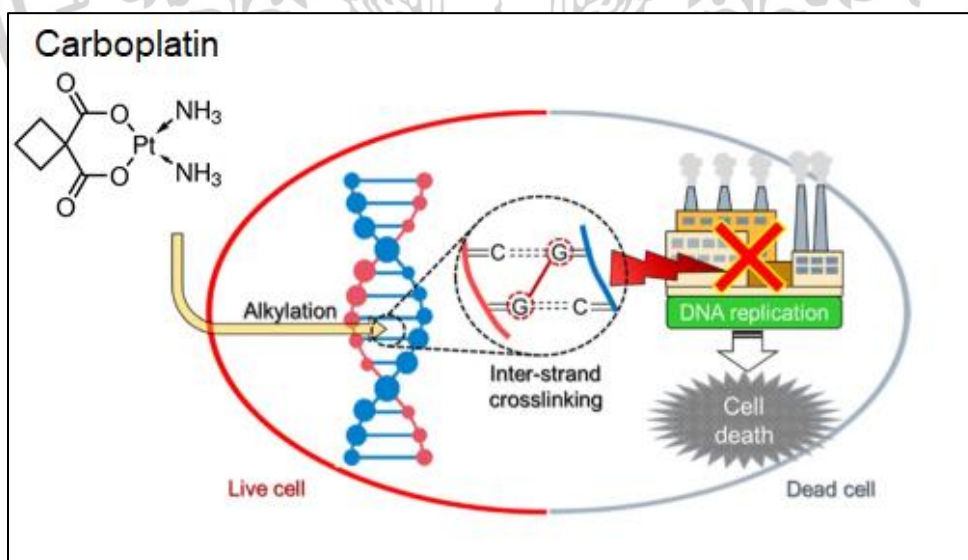
### 2.6.3 ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (Carboplatin)

เป็นสารประกอบที่มีแพลตตินัมเป็นองค์ประกอบ เป็นยาในกลุ่มยาในกลุ่ม Alkylating agents มีลักษณะโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.44



รูปที่ 2.44 โครงสร้างทางเคมีของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (Carboplatin)

**กลไกการออกฤทธิ์ของยา** ยาจะทำปฏิกิริยา Alkylation DNA (Deoxyribonucleic acid) และส่วนประกอบที่สำคัญอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ทำให้เกิดการจับคู่ผิดของโมเลกุลใน DNA คือ Guanine จะจับคู่กับ Cytosine แทนที่จะเป็น Thymine เป็นผลทำให้รหัสบนยีนผิดปกติ มีการทำลายโครงสร้างของ Guanine ทำให้เซลล์ตายในที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 2.45



รูปที่ 2.45 กลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน

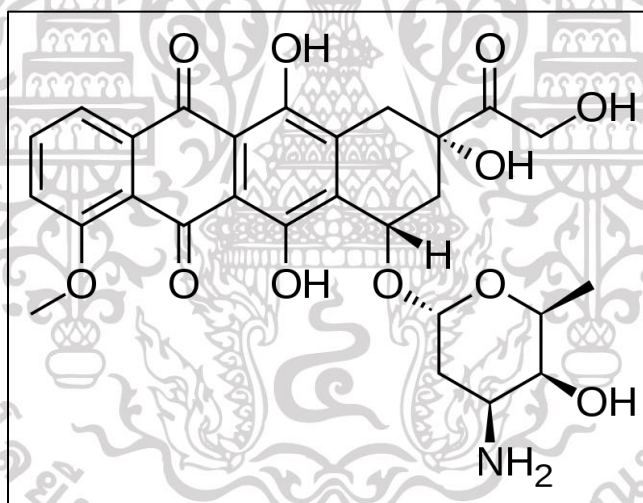
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การดูดซึมและการขับถ่ายออกจากร่างกาย** สามารถดูดซึมได้ดีในกระเพาะอาหารและลำไส้ จึงนิยมให้โดยการ รับประทาน แต่บางชนิดต้องให้ทางหลอดเลือดดำจึงจะได้ผลดี และเนื่องจากมีฤทธิ์กั้ดผิวหนังและเนื้อเยื่อต่าง ๆ รุนแรง สารที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงยังมีฤทธิ์อยู่ ส่วนใหญ่ถูกขับออกทางปัสสาวะ บางส่วนถูกขับออกทางน้ำดี

**ฤทธิ์ข้างเคียงและพิษของยา** กดการสร้างเม็ดเลือดขาวในไขกระดูก ผลต่อระบบทางเดินอาหารทำให้ท้องเสีย เบื่อ อาหาร เกิดแผลในปาก ในเพศชายจะยับยั้งการสร้างอสุจิทำให้เป็นหมันชั่วคราว ในเพศหญิงประจำเดือนอาจขาดๆ หายๆ และทำให้ผมร่วง

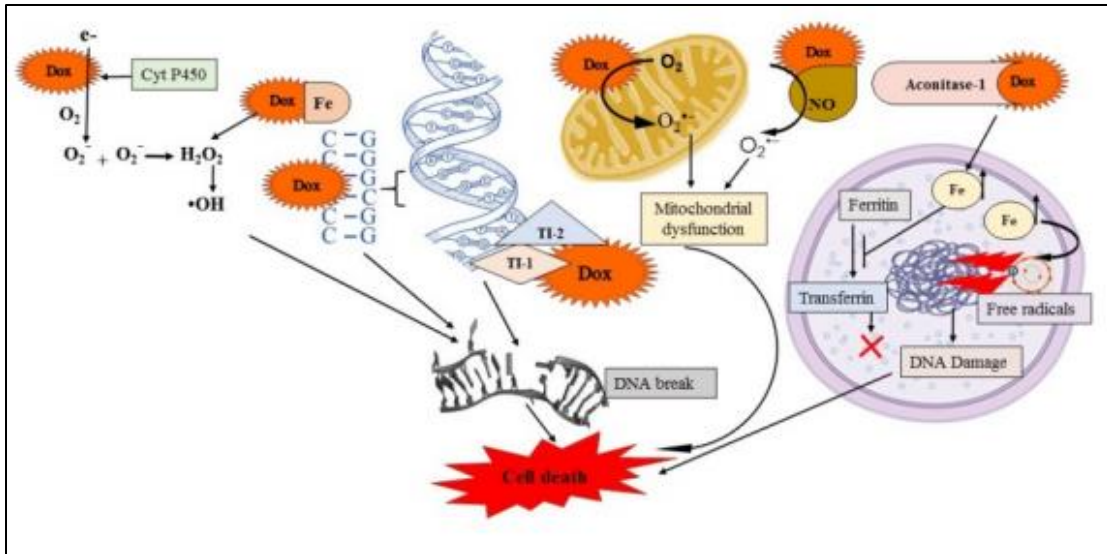
#### 2.6.4 ยาเคมีบำบัดดอกซูรูบิซิน (Doxorubicin)

Doxorubicin เป็นยาในกลุ่ม Antibiotics ยาปฏิชีวนะหลายชนิดมีฤทธิ์กั้ดการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยสกัดมาจากเชื้อรา Streptomyces มีฤทธิ์ไม่เฉพาะเจาะจงต่อวงจรชีวิตของเซลล์ ยกเว้น Bleomycin ซึ่งเป็นยาที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อวงจรชีวิตของเซลล์ในระยะ G2 ใช้รักษามะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 2.46



รูปที่ 2.46 โครงสร้างทางเคมีของยาเคมี Doxorubicin

**กลไกการออกฤทธิ์ของยา** กลไกการออกฤทธิ์โดยจะเข้าจับ Polynucleotides โดยแทรกตัวอยู่ในระหว่างคู่เบสของ DNA และป้องกันการสังเคราะห์ Polynucleotide ตัวใหม่ นอกจากนี้ยังทำให้สาย DNA มีการเรียงลำดับเบสในสายผิดปกติทำให้ขาดเป็นท่อนๆ ชักนํ้าให้เซลล์เกิดการตาย ยาทำให้เกิด Free radical ที่เป็นพิษต่อเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 2.47



รูปที่ 2.47 กลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัด Doxorubicin

**การดูดซึมและการขับออกจากร่างกาย** ต้องให้ทางหลอดเลือดดำ สามารถกระจายไปยังอวัยวะส่วนต่าง ๆ ได้ดีแต่ไม่ผ่านเข้าสู่สมอง ถูกทำลายที่ตับ และส่วนใหญ่ขับออกมาทางน้ำดี

**ฤทธิ์ข้างเคียงและพิษของยา** มีผลจะทำให้เกิด Cardiomyopathy มีผลทั้งพิษเฉียบพลันและเรื้อรังทำให้เกิด Arrhythmia และทำให้เกิดผลข้างเคียง เช่น มีแผลในปากหรือคอ คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลดลงหรือเพิ่มขึ้น ปวดท้อง ท้องเสีย กระจายน้ำ เหนื่อย อ่อนเพลีย ผมร่วง เวียนศีรษะ เล็บมือหรือเล็บเท้าแยกออกจากเนื้อใต้เล็บ คันตา ตาแดง ตาบวม ตาฉะ ระคายเคืองตา เจ็บตา มีอาการเจ็บ แสบ หรือชาที่มือและเท้า

### 2.6.5 วิธีการให้เคมีบำบัด [67-69]

1. Adjuvant chemotherapy หมายถึง การให้ยาเคมีบำบัดตามหลังวิธีการรักษาอื่น ๆ เช่น การผ่าตัดหรือรังสีรักษา ซึ่งอาจมีเซลล์มะเร็งที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าหรือเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ การให้ยาเคมีบำบัดตามหลังการผ่าตัดจึงช่วยกำจัดเซลล์มะเร็งดังกล่าว เนื่องจากเป้าหมายของการรักษานี้เพื่อช่วยลดการแพร่กระจายของโรคมะเร็งนั่นเอง

2. Neoadjuvant chemotherapy หมายถึง การให้ยาเคมีบำบัดก่อนการรักษาด้วยวิธีอื่น ๆ เพื่อช่วยทำให้มะเร็งมีขนาดก้อนหรือบริเวณที่เป็นโรคลดลง สามารถทำการผ่าตัดเอาก้อนมะเร็งออกได้มากและสะดวกหรือทำให้บริเวณที่ต้องฉายรังสีมีขนาดแคบลง วิธีนี้จึงอาจจะเรียกว่า Cyto-reductive, Inductive หรือ Primary chemotherapy

3. Concurrent treatment หมายถึง การให้ยาเคมีบำบัดพร้อมกับการรักษาด้วยการผ่าตัดหรือรังสีรักษา

4. Salvage chemotherapy หมายถึง การให้ยาเคมีบำบัดเมื่อมีการกลับเป็นซ้ำของรอยโรคหลังจากที่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อนหรือมีการดื้อยา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อรักษาแบบประคับประคองมากกว่าการคาดหวังให้หายจากโรค

5. Palliative chemotherapy หมายถึง การให้ยาเคมีบำบัดสำหรับผู้ป่วยมะเร็งในระยะที่มีการแพร่กระจายแล้ว เพื่อบรรเทาอาการจากโรคมะเร็งหรือยืดอายุของผู้ป่วยให้ยาวนานขึ้นรวมทั้งทำให้คุณภาพชีวิตดีขึ้นโดยเฉพาะผู้ป่วยที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้

### 2.6.6 ภาวะแทรกซ้อนจากการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด [70-80]

นอกจากยาเคมีบำบัดจะออกฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งแล้ว ยังมีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ปกติด้วย ขึ้นกับอัตราการแบ่งตัว (Proliferating rate) ของเซลล์แต่ละชนิด เซลล์ที่อยู่ในกลุ่มที่แบ่งตัวเร็วจะถูกทำลายจากยาเคมีบำบัดได้มากที่สุด ผลข้างเคียงที่เกิดจากการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด [ ได้แก่

1. การกดไขกระดูก (Bone marrow toxicity) เป็นผลข้างเคียงที่พบบ่อยที่สุด เนื่องจากยาเคมีบำบัดทำให้การสร้างไขกระดูกเปลี่ยนแปลง เกิดภาวะเกร็ดเลือดต่ำ เม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงลดน้อยลง ผู้ป่วยมักจะมีอาการอ่อนเพลีย เลือดออกง่ายและติดเชื้อง่าย เม็ดเลือดขาวต่ำ โดยมักเกิดหลังจากได้รับยาเคมีบำบัดประมาณ 7-10 วัน และจะคงอยู่ต่อไปนาน 3-10 วัน ส่วนภาวะเกร็ดเลือดต่ำมักเกิดหลังจากเม็ดเลือดขาวต่ำประมาณ 4-5 วัน ยาที่มีผลข้างเคียงนี้อย่างมาก เช่น Mitomycin-C, Carboplatin, Actinomycin-D เป็นต้น

2. พิษต่อทางเดินอาหาร (Gastrointestinal toxicity) เป็นผลข้างเคียงของยาเคมีบำบัดที่พบได้บ่อย เนื่องจากเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารเป็นเซลล์ที่แบ่งตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการอักเสบ (Mucositis) ได้มาก ประกอบกับการมีปริมาณของเม็ดเลือดขาวในระดับต่ำทำให้มีการติดเชื้อของทางเดินอาหารจากแบคทีเรียและเชื้อราได้ง่าย ยาเคมีบำบัดส่วนใหญ่จะทำให้ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ซึ่งอาจเกิดตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่ 3 หลังได้รับยาเคมีบำบัดหรือนานกว่านั้น ยาเคมีบำบัดที่ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียนอย่างมาก เช่น Cisplatin, Cyclophosphamide, Doxorubicin เป็นต้น นอกจากนี้ผลของยาเคมีบำบัดยังทำให้เซลล์เยื่อบุบริเวณลิ้นถูกทำลายอย่างมาก ทำให้การรับรสอาจเปลี่ยนแปลงได้ในขณะที่ได้รับยาเคมีบำบัดในช่วง 2-3 ชั่วโมงแรก จนกระทั่งหลังได้รับยานานเป็นเดือน ผลข้างเคียงที่อาจพบได้อีก เช่น ท้องผูก ท้องเดิน ช่องปากอักเสบเป็นแผล หรือกระเพาะลำไส้อักเสบเป็นแผล เป็นต้น

3. ผมร่วง (Alopecia) เกิดจากการทำลายรากผมซึ่งมีการแบ่งตัวของเซลล์ตามปกติ และขนจะเริ่มร่วงประมาณสัปดาห์ที่ 2 หลังจากได้รับยาเคมีบำบัดและจะร่วงไปเรื่อย ๆ ตลอดระยะเวลาที่

ได้รับยา อย่างไรก็ตาม ผมจะงอกขึ้นใหม่หลังจากที่หยุดยานานประมาณ 2-3 เดือน ยาเคมีบำบัดที่ทำให้ผมร่วงอย่างมาก เช่น Doxorubicin, Paclitaxel เป็นต้น

4. พิษต่อระบบประสาท (Neurotoxicity) ส่วนใหญ่มักพบพยาธิสภาพที่ประสาทส่วนปลาย (Peripheral neuropathy) จากการได้รับยาเคมีบำบัด เช่น Cisplatin, Vinca alkaloids, Etoposide, Paclitaxel เป็นต้น พิษต่อระบบประสาทที่เกิดจาก Cisplatin จะทำให้มีอาการชาหลังจากได้รับยาไปแล้ว 2-3 ครั้ง อาการชาอาจเป็นมากขึ้นและหายช้ามาก แม้จะหยุดยาไปหลายเดือนแล้วก็ตาม ดังนั้น การให้ Cisplatin ร่วมกับ Paclitaxel จะทำให้เกิดผลข้างเคียงของยาดังกล่าวอย่างมาก

5. พิษต่อผิวหนัง (Skin toxicity) ยาเคมีบำบัดบางชนิดทำให้ผิวหนังมีผื่นขึ้น เกิดการอักเสบ สีผิวคล้ำขึ้นหรือไวต่อแสงมากขึ้น และยังทำให้เล็บมีสีคล้ำหรือเปราะแตกหักง่ายขึ้น ยาในกลุ่มนี้ เช่น Doxorubicin, Actinomycin-D, Mitomycin-C, Vincristine เป็นต้น และหากมีการรั่วซึมของยา ออกนอกหลอดเลือดอาจทำให้เกิดเนื้อเยื่อตายอย่างรุนแรงได้ที่เรียกว่า Extravasation

Extravasation เป็นผลจากการให้ยาเคมีบำบัดทางหลอดเลือดดำที่มีการรั่วซึมออกจากหลอดเลือดไปสู่เนื้อเยื่อบริเวณรอบ ๆ ทำให้เกิดปฏิกิริยาของผิวหนังเริ่มตั้งแต่การบาดเจ็บเพียงเล็กน้อย เช่น ปวดแสบปวดร้อนบริเวณที่ได้รับยา ไปจนถึงการเกิดเนื้อเยื่อตายอย่างมาก (Severe necrosis) ความรุนแรงนี้ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดของยา ความเข้มข้นของยา ปริมาณยา ระยะเวลาที่ได้รับยา ตำแหน่งที่ให้ยา เทคนิคการให้ยา และการตอบสนองของเนื้อเยื่อ หากไม่ได้รับการช่วยเหลือทันที อาจทำให้ผิวหนังบริเวณที่มีการรั่วซึมคล้ำขึ้นหรือมีการตายของเนื้อเยื่อในที่สุด จัดแบ่งกลุ่มยาตามคุณสมบัติ และมีรายละเอียดของยาตามตารางที่ 2.4

1. Vesicant เป็นกลุ่มยาที่ทำลายเนื้อเยื่อรุนแรงมาก เมื่อเกิดการรั่วซึมออกนอกหลอดเลือด จะทำให้เนื้อเยื่อตายและสูญเสียการทำงานได้มาก

2. Exfoliant เป็นกลุ่มยาที่มีฤทธิ์ระคายเคืองต่อผิวหนังและเนื้อเยื่อ เมื่อเกิดการรั่วซึมออกนอกหลอดเลือด ทำให้รู้สึกปวด เกิดการอักเสบ เนื้อเยื่อถูกทำลายรุนแรง อาจเกิดเนื้อเยื่อตายได้

3. Irritant เป็นกลุ่มยาที่มีฤทธิ์ระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อ จะรู้สึกเจ็บและปวดแสบบริเวณที่ฉีดและร้าวไปตามหลอดเลือดที่ฉีด อาจมีอาการบวมแดงหรือทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อ แต่สามารถฟื้นฟูสู่สภาพเดิมและไม่เกิดเนื้อเยื่อตาย

4. Inflammittant เป็นกลุ่มยาที่ทำให้ผิวหนังบริเวณที่ฉีดเกิดการอักเสบเล็กน้อยถึงปานกลางแต่ไม่ทำลายเนื้อเยื่อ

5. Neutral เป็นกลุ่มยาที่เมื่อเกิดการรั่วออกนอกหลอดเลือดจะทำให้อักเสบเพียงเล็กน้อย ไม่มีปฏิกิริยารุนแรงต่อเนื้อเยื่อ

6. พิษต่อระบบทางเดินปัสสาวะ (Urinary toxicity) โดยเฉพาะยา Cisplatin ทำให้เกิดพิษต่อไต (Tubular damage) หรือเกิดการตายของเนื้อไตได้ วิธีป้องกันที่ดีที่สุด คือ การให้สารน้ำทางหลอดเลือดดำอย่างเพียงพอก่อนและหลังให้ยา ส่วนยาเคมีบำบัดประเภท Cyclophosphamide และ Ifosfamide อาจทำให้เกิดกระเพาะปัสสาวะอักเสบหรือมีเลือดออกได้ (Hemorrhagic cystitis)

7. พิษต่อต้านอื่น ๆ เช่น พิษต่อหัวใจ (Cardiac toxicity) จาก Doxorubicin ปริมาณสะสมห้ามเกิน 500 mg/m<sup>2</sup> ปอดมีพังผืด (Pulmonary fibrosis) จาก Bleomycin พบได้ในผู้ป่วยที่ได้รับปริมาณสะสมมากกว่า 400 units หรืออายุมากกว่า 70 ปี ภาวะขาดระดู (Amenorrhea) เนื่องจากรังไข่มีพังผืดและไข่ถูกทำลาย โดยเฉพาะยาในกลุ่ม Alkylating agents การเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Secondary acute leukemia) จาก Melphalan และการเกิดปฏิกิริยาภูมิไวเกิน (Hypersensitivity) จาก Paclitaxel สามารถเกิดขึ้นได้ตั้งแต่รับยาครั้งแรก เป็นต้น

ตารางที่ 2.4 การจัดกลุ่มยาเคมีบำบัดตามคุณสมบัติการมีพิษต่อผิวหนัง

Vesicants	Exfoliants	Irritants	Inflammitants	Neutrals
Actinomycin-D	Cisplatin	Carboplatin	Fluorouracil	Beomycin
Doxorubicin	Docetaxel	Etoposide	Methotrexate	Cyclophosphamide
Epirubicin	Liposomal	Irinotecan		Gemcitabine
Mitomycin	doxorubicin			Ifosfamide
Paclitaxel	Topotecan			
Vinblastine				
Vincristine				

ในการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดผ่านทางกระแสเลือดเข้าสู่เซลล์ทั่วร่างกาย หรือ Systemic chemotherapy พบว่าการให้ยาโดยตรงเข้าทางหลอดเลือดด้วยวิธีการฉีด (Intravenous (IV) infusion) โดยไม่มีระบบห่อหุ้มลำเลียงยา (Free drug) นอกจากนี้ ยาเคมีบำบัดจะไม่สามารถเลือกเข้าไปสู่เนื้องอกมะเร็งได้แบบเจาะจง ทำให้เกิดการทำลายเซลล์ปกติได้ด้วยและส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงนั้น ปริมาณยาที่เข้าสะสมในเนื้องอกต่อครั้งของการให้ยายังมีไม่เพียงพอต่อการทำลายเนื้องอกมะเร็ง เนื่องจากโมเลกุลของยามีขนาดเล็กไม่สามารถหมุนเวียนอยู่ในกระแสเลือดได้นาน ตัวยาบางส่วนจะถูกระบบของร่างกายกำจัดออกก่อน โดยนำไปสะสมที่อวัยวะ เช่น ม้าม ตับ ไต การรักษาจึงต้องมีการให้ยาเคมีบำบัดหลายครั้ง ซึ่งอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นมีผลต่อสุขภาพผู้ป่วย ดังนั้นเป้าหมายสูงสุดของการบำบัดรักษา

ผู้ป่วยโรคมะเร็งคือการเพิ่มระยะเวลาการรอดชีวิตและเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยโดยการลดความเป็นพิษต่อร่างกายที่เกิดจากยาเคมีบำบัด

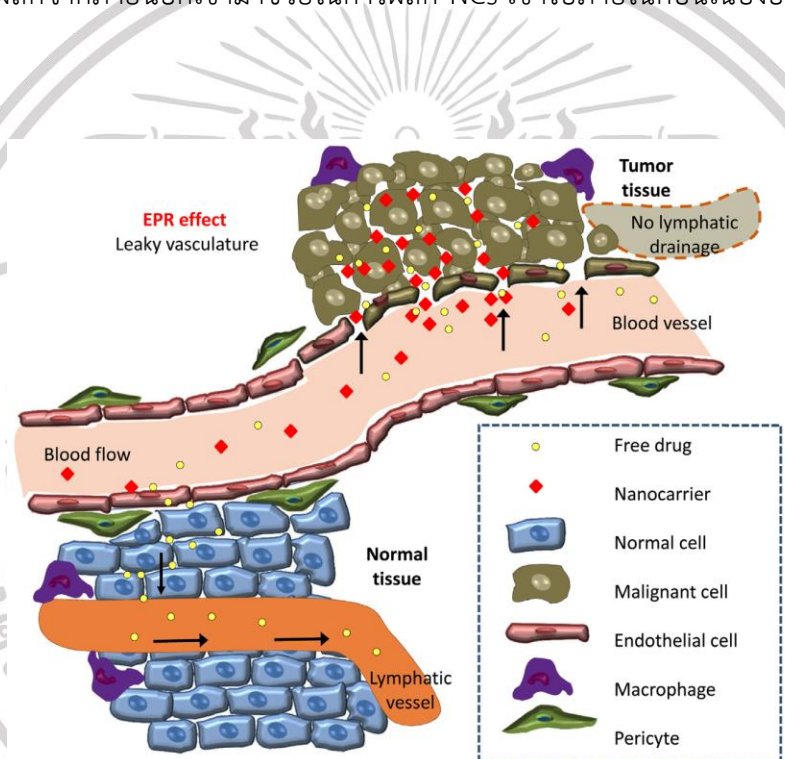
## 2.7 ระบบลำเลียงยา (Drug Delivery System, DDS) [5]

การพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งโดยใช้นาโนเทคโนโลยีกำลังได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมา การออกแบบพัฒนาระบบลำเลียงยาที่มีขนาดนาโนเมตร (Nanocarriers; NCs) ที่สามารถหลีกเลี่ยงการซึมผ่านของตัวยาเข้าสู่เนื้อเยื่อที่ปกติได้แต่จะเข้าไปสะสมในเนื้องอกมะเร็ง โดยใช้ประโยชน์จากความผิดปกติของหลอดเลือดของเนื้องอกมะเร็งอันได้แก่ รูรั่วของผนังหลอดเลือดเนื้องอกมะเร็ง (Tumor vessel leakiness) ซึ่งจะไม่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อปกติจึงเป็นแนวคิดที่น่าสนใจ รูรั่วดังกล่าวเกิดจากการจัดเรียงที่บกพร่องของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (Endothelial cells) ของเนื้องอกมะเร็ง เซลล์มีขนาดและรูปร่างที่ไม่สม่ำเสมอ (Branched) เชื่อมต่อแบบหลวมไร้ระเบียบ มีการซ้อนทับเหล่านี้ทำให้เกิดช่องเปิดระหว่างเซลล์ (Intercellular openings) เมื่อมีการสร้างหลอดเลือดของเนื้องอกมะเร็งชนิดก้อนเนื้อ (Angiogenesis) ซึ่งแตกต่างจากเนื้อเยื่อปกติที่มีการเรียงตัวของเซลล์อย่างเป็นระเบียบ การเกิดรูรั่วของหลอดเลือดเนื้องอกมะเร็งดังกล่าวอาจเป็นช่องทางให้เกิดการไหลออกของเซลล์มะเร็งเข้าสู่กระแสเลือดกระจายไปยังอวัยวะอื่น รวมถึงอาจเป็นช่องทางให้ระบบนำส่งยาที่เป็นโมเลกุลมหภาคเข้าสู่เนื้องอกมะเร็งได้เช่นกัน ขนาดของรูรั่วนี้จึงเป็นปัจจัยหนึ่งในการออกแบบระบบห่อหุ้มนำส่งยาให้มีขนาดที่เหมาะสม ซึ่งขนาดรูรั่วของผนังหลอดเลือดเนื้องอกมะเร็งมีความไม่สม่ำเสมอขึ้นกับชนิดของมะเร็งและภาวะแวดล้อมระดับเซลล์ (Microenvironment)

การออกแบบระบบห่อหุ้มลำเลียงยาให้มีขนาดที่เหมาะสมสามารถเข้าไปสู่เนื้องอกมะเร็งเป้าหมายไม่ไปสู่เนื้อเยื่อปกติ และยังคงไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดได้นานเพียงพอที่จะเข้าไปสะสมในเนื้องอกโดยไม่ถูกระบบภูมิคุ้มกันนำไปกำจัดออก จะอาศัยหลักการของ Enhanced permeability and retention (EPR) effect กล่าวคือ ในเนื้อเยื่อปกติจะประกอบด้วย Linear blood vessels ที่เซลล์ Endothelial cells เรียงตัวเป็นระเบียบแบบ Monolayer และมี Lymph vessels นำพาเซลล์เม็ดเลือดขาวและ Lymphatic fluid ไปสู่ระบบต่อมน้ำเหลือง Lymphatic drainage ในขณะที่เนื้องอกมะเร็งชนิดก้อนเนื้อประกอบด้วยหลอดเลือดที่มีการจัดเรียงเซลล์บกพร่องไม่ต่อเนื่อง มีช่องเปิดระหว่างเซลล์หรือมีการขาดหายของ Basement membrane และใน Extracellular matrix มี Collagen fibers, Fibroblasts, Macrophages มากกว่าในเนื้อเยื่อปกติ แต่ไม่มี Lymph vessels ทำให้ขาดแคลนระบบกำจัดที่จะนำสิ่งแปลกปลอมออกจากเนื้อเยื่อมะเร็งมีขนาดเหมาะสมหรือน้ำหนักโมเลกุลที่สูงเพียงพอแสดงในรูปที่ 2.48 จึงสามารถกระจายเข้าไปสะสมในเนื้องอกทางช่องเปิดได้โดยไม่ถูกกำจัดออกอย่างมี

ประสิทธิภาพ ความแตกต่างทางโครงสร้างของหลอดเลือดที่ผิดปกติของเนื้องอกมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติจึงมีบทบาทสำคัญในการคัดเลือกระบบนำส่งยาเพื่อไปสะสมที่เนื้อเยื่อมะเร็งแบบมุ่งเป้า EPR effect

นอกจากนี้การที่เนื้อเยื่อเนื้องอก มะเร็งมีการกระจายของ Vascular lakes หรือแอ่งเลือดที่เกิดจากเซลล์เม็ดเลือดแดง Erythrocytes ที่ไหลออกจากรูรั่วของหลอดเลือด และการขาด Lymphatic drainage ทำให้ภายในก้อนเนื้องอกมะเร็งมีความดัน Interstitial fluid pressure (IFP) ที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับบริเวณโดยรอบเนื้องอกความสามารถในการรับยาเข้าสู่ภายในใจกลางเนื้องอกจึงลดลง NCs จึงควรสามารถกักเก็บโมเลกุลของยา (Loaded) ได้มากหรือมีประสิทธิภาพการกักเก็บยาที่สูง หรือเพิ่มการใช้แรงผลักจากภายนอกเข้ามาช่วยในการผลัก NCs เข้าไปภายในก้อนเนื้องอกเพื่อลดอุปสรรคจาก IFP



รูปที่ 2.48 แสดงหลักการของ Enhanced permeability and retention (EPR) effect

การเดินทางของ NCs ไปยังเนื้องอกมะเร็งจนถึงเข้าสู่เซลล์มะเร็งมีขั้นตอน ได้แก่

1. การฉีดเข้าหลอดเลือดให้ NCs ไหลเวียนในกระแสเลือดไปส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ในขณะเดียวกันร่างกายก็จะกำจัดออกได้โดยกลไกของไต (Renal elimination) รวมถึงถูกนำออกโดยเซลล์ Macrophages ของตับและม้ามในระบบ Reticuloendothelial system (RES) และเพื่อให้สามารถไปสะสมยังเนื้องอกเป้าหมายได้โดยไม่ไปสู่เนื้อเยื่อปกติจะอาศัยหลักการ EPR effect ที่คัดเลือกด้วยขนาดและคุณสมบัติพื้นผิวของ NCs ได้แก่ ประจุ และความชอบน้ำ (Hydrophilicity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การไหลออกของ NCs จากผนังหลอดเลือดเนื่องอ้อมะเร็งเข้าสู่เนื้อเยื่อมะเร็งโดยการแพร่กระจายและ/หรือการนำพาผ่านทางช่องเปิดระหว่างเซลล์ Endothelium การไหลออกขึ้นกับความดัน Hydrostatic pressure gradient และ Osmotic pressure gradient

3. การเดินทาง Interstitial transport ผ่าน Extracellular matrix เข้าถึงเซลล์มะเร็ง

4. การรับผ่านเซลล์เมมเบรนเข้าภายในเซลล์เกิดขึ้นโดย Endocytic uptake ด้วยกลไกของ Endocytosis mechanism ที่ประกอบด้วย Adsorptive endocytosis และ Receptor-mediated endocytosis ของพลาสมาเมมเบรน โดยส่วนใหญ่มักผ่านทางช่อง Clathrin coated pits และตามด้วยการส่งผ่านภายในเซลล์โดย Intracellular trafficking ไปยังองค์ประกอบภายในเซลล์ (Subcellular organelle) ที่เป็นเป้าหมายในการทำงานของตัวยา เช่น นิวเคลียส ไซโตพลาสซึม ไมโทคอนเดรีย การซึมผ่านเซลล์เมมเบรนโดยตรงจะเกิดขึ้นได้ยากสำหรับโมเลกุล NCs ที่มีจะมีขนาดใหญ่

## 2.8 กระบวนการทางแสง

กลไกหลักในการเรืองแสงประกอบด้วย 2 กระบวนการ ได้แก่ กระบวนการดูดกลืนแสง (Absorption) และกระบวนการในการปลดปล่อยแสงลูมิเนสเซนซ์ (Luminescence) ของสารเรืองแสง

### 2.8.1 การดูดกลืนและกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Absorption and Beer-Lambert's Law)

กระบวนการที่พลังงานแสงหรือโฟตอนถูกถ่ายเทไปยังอะตอม ไอออน หรือโมเลกุลที่อยู่ภายในตัวกลาง ทำให้อะตอม ไอออน หรือโมเลกุลนั้นเกิดพลังงานขึ้น ซึ่งสามารถแยกพิจารณาได้เป็น 2 ลักษณะหลัก การดูดกลืนในในระดับอะตอมและการดูดกลืนในระดับโมเลกุลซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่แสงนั้นทำอันตรกิริยา ซึ่งทฤษฎีที่ใช้ในการวิเคราะห์การดูดแสงของสารละลาย คือ กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's Law) ดังนี้

#### 2.8.1.1 กฎของเบียร์ (Beer's Law)

"สำหรับรังสีที่เป็นรังสีชนิดลำแสงขนาน (Parallel beam) และความยาวคลื่นเดียว (Monochromatic radiation) ที่ผ่านตัวอย่างที่เป็นสารละลายเนื้อเดียว (Homogeneous solution) ที่มีระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่าง (Pathlength) เท่ากัน ค่าแอมบซอร์เบ้นซ์จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย"

$$A \propto C \quad (2.32)$$

เมื่อ  $C$  คือ ความเข้มข้นของตัวอย่าง (g/L)

### 2.8.1.2 กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's Law)

"สำหรับรังสีที่เป็นรังสีชนิดลำแสงขนาน (Parallel beam) และความยาวคลื่นเดียว (Monochromatic radiation) ที่ผ่านตัวอย่างที่เป็นสารละลายเนื้อเดียว (Homogeneous solution) ที่มีความเข้มข้นเท่ากัน ค่าแอมซอร์แบนซ์จะแปรผันตรงกับระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่าง (Path length)"

$$A \propto l$$

(2.33)

เมื่อ  $l$  คือ ความหนา ความกว้างของเซลล์ หรือระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่าง (cm)

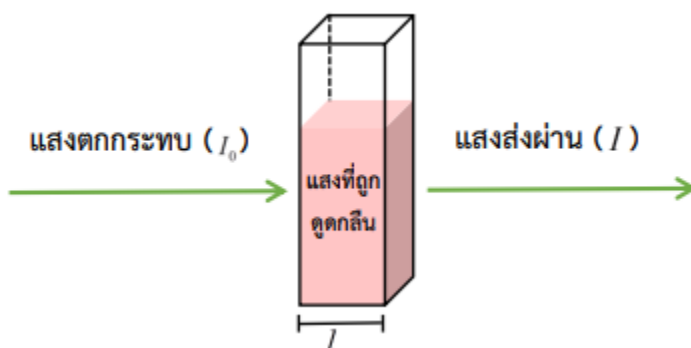
### 2.8.1.3 กฎการดูดกลืนแสงเบียร์แลมเบิร์ต (Beer-Lambert Law)

"สำหรับรังสีที่เป็นรังสีชนิดลำแสงขนาน (Parallel beam) และความยาวคลื่นเดียว (Monochromatic radiation) ที่ผ่านตัวอย่างที่เป็นสารละลายเนื้อเดียว (Homogeneous solution) ค่าแอมซอร์แบนซ์จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของตัวอย่าง (Concentration) และระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่าง (Path length)"

$$A = \alpha l C$$

(2.34)

เมื่อ  $\alpha$  คือ สภาวะการดูดกลืน (L/gcm.)



รูปที่ 2.49 แสดงการส่องผ่านแสงหลังจากผ่านไปยังสารตัวอย่างแล้วเกิดการดูดกลืน

ถ้าความเข้มข้นของตัวอย่างเป็นโมลาร์ (Molarity; mol.L<sup>-1</sup>) เราเรียกสภาพการดูดกลืนว่า ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงของสารละลาย ซึ่งเป็นค่าจำเพาะของระบบการดูดกลืนหรือเป็นหมู่โครโมฟอร์ (Chromophore) ที่ใช้ในการระบุโครงสร้างของสาร

$$A = \log \frac{I_0}{T} = -\log T \quad (2.35)$$

โดยทั่วไปจะรายงานค่า transmittance เป็นเปอร์เซ็นต์ (%T) ดังนั้น

$$\%T = 100 \frac{I}{I_0} \quad (2.36)$$

$$\log \%T = \log 100 \frac{I}{I_0} \quad (2.37)$$

$$\log \%T = 2 + \log \frac{I}{I_0} \quad (2.38)$$

$$A = 2 - \log \%T = \epsilon lc \quad (2.39)$$

เมื่อ  $C$  คือ ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ (mol.L<sup>-1</sup>) ของตัวอย่าง

$\epsilon$  คือ ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงของสารละลายมีหน่วยเป็น L.cm<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>

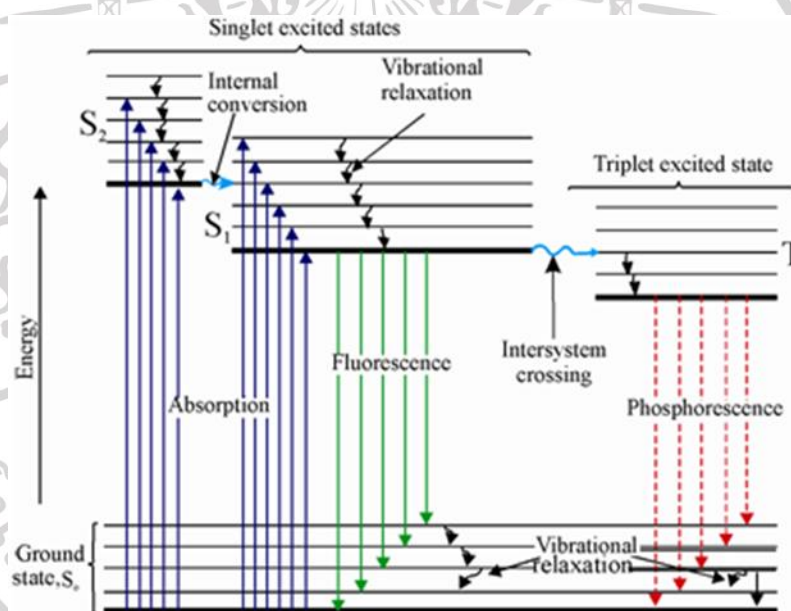
### 2.8.2 การเปล่งแสง (Fluorescence)

มีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์หลายชนิดเมื่อดูดกลืนแสงจากภายนอกเข้าไปจะเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นเท่ากับความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืนเข้าไป (Resonance radiation) หรือมีความยาวคลื่นมากกว่าออกมาในทุกทิศทาง แต่ถ้าการเปล่งแสงออกมาอาศัยพลังงานจากปฏิกิริยาเคมี จะเรียกว่า “การเปล่งแสงทางเคมี” หรือ “Chemiluminescence” และถ้าอาศัยพลังงานจากกระบวนการทางชีววิทยา จะเรียกว่า “การเปล่งแสงทางชีวภาพ” หรือ “Bioluminescence” แต่ถ้าเปล่งแสงเนื่องจาก คุณสมบัติในตัวของมันเองเรียกว่า “การวาวแสง” หรือ “Fluorescence”

ปกติอิเล็กตรอนจะอยู่เป็นคู่ในสถานะพื้น (Ground state, S<sub>0</sub>) เมื่อได้รับพลังงานจากแสง ความยาวคลื่นสั้น ทำให้อิเล็กตรอนเดี่ยวมีพลังงานสูงขึ้นและกระโดดไปอยู่ในออร์บิทัล (Orbital) ที่สูงขึ้นตามระดับของพลังงานที่ได้รับ (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>) ดังแสดงในรูปที่ 2.50 เมื่อกลับสู่สถานะพื้นจะเปล่งแสง ฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นเท่ากับความยาวคลื่นที่ดูดกลืนเข้าไป (Resonance fluorescence) แต่ เนื่องจากการกลับเข้าสู่สถานะพื้นของอิเล็กตรอนของอะตอมของสารเปล่งแสง มีการสูญเสีย พลังงานไปส่วนหนึ่ง

เนื่องจากการชน (Collision) และการสั่น (Vibration) ของอะตอม และการถ่ายเทพลังงานให้สารละลาย จึงทำให้แสงที่เปล่งออกมาขณะกลับเข้าสู่สถานะพื้นมีความยาวคลื่นแสงมากกว่าแสงที่ถูกดูดกลืน (Direct line fluorescence) แสงดังกล่าวจะเกิดขึ้นในช่วงสั้น ๆ ( $10^{-7} - 10^{-9}$  วินาที) หลังจากหยุดส่องแสงตกกระทบ เรียกการเปล่งแสงชนิดนี้ว่า “การวาวแสง”

สารเปล่งแสงบางชนิดมีอิเล็กตรอนพลังงานสูง ( $S_1$ ) ดังรูปที่ 2.50 เปลี่ยนไปเป็นอิเล็กตรอนพลังงานสูงที่มีระดับพลังงานใกล้เคียงกัน ( $T_1$ , Triplet state) หลังจากเกิดการสูญเสียพลังงานบางส่วน อิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้นพร้อมกับเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นยาวกว่าออกมา แต่เนื่องจากการเปลี่ยนสถานะจาก Triplet state มาสู่สถานะพื้นใช้เวลามากกว่า  $10^{-9}$  วินาทีจนถึงหลายวินาที ทำให้มองเห็นแสงที่เปล่งออกมาเป็นเวลานาน ถึงแม้ว่าจะหยุดส่องแสงตกกระทบแล้วก็ตาม เรียก กระบวนการนี้ว่า “การเรืองแสง” หรือ “Phosphorescence”



รูปที่ 2.50 การเปล่งแสงเนื่องจากการเปลี่ยนระดับพลังงานของอะตอม

นอกจากความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ ความเข้มของสารเปล่งแสงแล้ว ยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ดังนี้

1. ออกซิเจนในสารละลาย จะลดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์โดยการเร่งการเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอนพลังงานสูง ( $S_1$ ) ไปเป็น Triplet state

2. อุณหภูมิสูง ช่วยให้อิเล็กทรอนิกส์เกิดการชนกันมาก มีการถ่ายเทพลังงานไปสู่สารละลายมาก ทำให้แสงฟลูออเรสเซนซ์มีความเข้มลดลง โดยพบว่าสารตัวอย่างส่วนใหญ่จะมีอัตราการลดลงของความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ในอัตราร้อยละ 1-2 ต่ออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียส อาจ แก้ไข โดยการควบคุมอุณหภูมิของปฏิกิริยาให้เปลี่ยนแปลงไม่เกิน 0.1 องศาเซลเซียส

3. ความหนืดของสารละลาย สารละลายที่มีความหนืดมากทำให้แสงฟลูออเรสเซนซ์เข้มข้น เนื่องจากลดการชนกันของอิเล็กทรอนิกส์

4. พีเอช มีผลต่อความเข้มของแสงและความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมาของสารเปล่งแสง บางชนิด โดยเฉพาะสารประกอบอะโรมาติก (Aromatic compound)

5. การดูดกลืนแสงด้วยสารเปล่งแสง (Self-absorption) เกิดขึ้นในกรณีที่แสงที่เปล่งออกมามี ความยาวคลื่นใกล้เคียงกับแสงที่ตกกระทบสารเปล่งแสงมาก ทำให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นบางส่วนถูกดูดกลืนไว้ด้วยอะตอมของสารเปล่งแสง

6. การกระเจิงของแสง (Light scattering) แสงรบกวนที่เกิดขึ้นที่พบมากมีอยู่ 5 ชนิด คือ Rayleigh scattering, Raman Scattering แสงตกกระทบทุติยภูมิ (Secondary order ray) แสงกระเจิงจาก สารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ และแสงกระเจิงเนื่องจากความขุ่น ซึ่งสามารถลดการรบกวนหรือ แก้ไขโดยการตัดแสงรบกวนเหล่านี้ ออกด้วยตัวกรองแสงที่เหมาะสม หรือเลือกใช้ความยาวคลื่นแสงตกกระทบ และความยาวคลื่นแสงที่ต้องการวัดให้เหมาะสม

6.1 Rayleigh scattering เกิดขึ้นเนื่องจากโมเลกุลได้รับพลังงานจากแสงตกกระทบทำให้อะตอมเกิดการเปลี่ยนระดับพลังงาน แต่ไม่มีการสูญเสียพลังงาน ดังนั้นจึงปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นเท่ากับ ความยาวคลื่นแสงตกกระทบ ซึ่งจะทำความไวในการวิเคราะห์ลดลง

6.2 Raman Scattering เนื่องจากโมเลกุลของสารละลายได้รับพลังงานจากแสงตกกระทบ แต่มีการสูญเสียพลังงานขณะอะตอมกลับสู่สถานะพื้น จึงปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นมากกว่าคลื่นแสงตกกระทบเล็กน้อยซึ่งมักจะไม่มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์

6.3 แสงตกกระทบทุติยภูมิ (Secondary order ray) เป็นความยาวคลื่นของแสงตกกระทบที่ มักจะเกิดที่ความยาวคลื่นเป็น 2 เท่า ของความยาวคลื่นแสงตกกระทบ ดังนั้นในกรณีที่วัดความยาว คลื่นแสงฟลูออเรสเซนซ์ห่างจากคลื่นแสงตกกระทบมาก อาจจะถูกรบกวนจากคลื่นแสงตกกระทบ ทุติยภูมิ หรือคลื่นแสงตกกระทบตติยภูมิ (Tertiary order ray)

6.4 การกระเจิงของแสงจากสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เกิดขึ้นจากสารตัวอย่างมี โปรตีน หรือสารประกอบอื่นที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบทำให้สารชีวโมเลกุลเหล่านี้ปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมารบกวนการวิเคราะห์ การลดการรบกวนจากสารชีวโมเลกุลอาจทำได้โดยการเลือกความยาว

คลื่นแสงตกกระทบให้อยู่นอกช่วงความยาวคลื่น 260-290 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นที่ไม่เลกุลของโปรตีนถูกกระตุ้นด้วยแสงได้ดี

6.5 การกระเจิงของแสงเนื่องจากความขุ่น สารแขวนลอยที่เป็นของแข็งสามารถสะท้อนแสงทำให้เกิดการกระเจิงของแสงซึ่งอาจทำให้ค่าความเข้มของแสงสูงกว่าความเป็นจริง

7. สารประกอบฟลูออเรสเซนต์มีความเข้มข้นสูงเกินไปทำให้แสงตกกระทบส่องผ่านไม่ทั่วถึง ทำให้แสงฟลูออเรสเซนต์เกิดขึ้นน้อยกว่าความเป็นจริง (Inner filter effect)

8. แสงรบกวนจากคิวเวทท์ อาจเกิดเนื่องจากเนื้อคิวเวทท์มีสารเจือปน หรือเกิดจากการล้างคิวเวทท์ไม่สะอาด

9. แสงรบกวนจากสารรบกวน ซึ่งเกิดจากสารรบกวนที่มีอยู่ในสารละลาย หรือสารตัวอย่าง

10. การสลายตัวของสารตัวอย่าง อาจเกิดขึ้นเนื่องจากแสงทำให้สารตัวอย่างซึ่งมักมีปริมาณ น้อยอยู่แล้วถูกทำลายโดยการออกซิเดชันจากแสง (Photo oxidation) ทำให้วัดค่าได้ต่ำกว่าความเป็นจริง การลดการถูกทำลายดังกล่าวอาจทำได้โดยการเก็บสารตัวอย่างในที่มืด หรือการลดการเกิดฟองอากาศในตัวอย่างด้วยการไม่เขย่าอย่างรุนแรง และควรรีวัตค่าความเข้มของแสงทันทีที่ปล่อย แสงตกกระทบไปยังสารตัวอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้หลอดกำเนิดแสงที่เป็นหลอดเลเซอร์พบว่า แสงเลเซอร์จะทำลายสารตัวอย่างได้มากกว่าหลอดไฟกำเนิดแสงชนิดอื่น

11. การถ่ายเทพลังงาน (Quenching) เกิดขึ้นเนื่องจากโมเลกุลของสารฟลูออเรสเซนต์สูญเสีย พลังงานให้กับโมเลกุลของสารละลายหรือโมเลกุลของสารอื่นที่อยู่ในสารละลายมาก ทำให้ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนต์ลดลง

### 2.8.3 ฟลูออเรสเซนต์ควอนตัมยิลด์ (Fluorescence quantum yield)

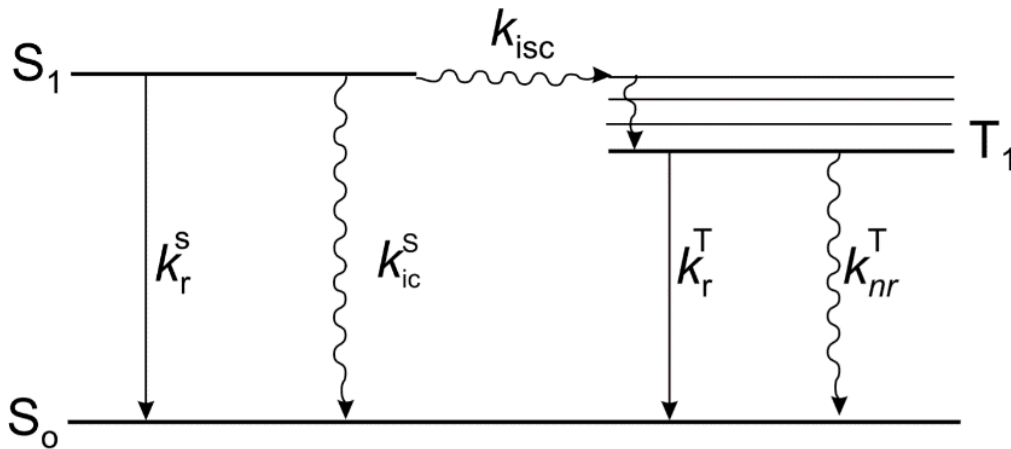
ฟลูออเรสเซนต์ควอนตัมยิลด์ (Fluorescence quantum yield, FQY) เป็นค่าที่ใช้สำหรับวัดประสิทธิภาพเชิงปริมาณของวัสดุ เช่น การวิเคราะห์ทางชีวภาพและการวิเคราะห์ทางการแพทย์ โดยค่าฟลูออเรสเซนต์ควอนตัมยิลด์หาได้จาก ค่าอัตราส่วนระหว่างจำนวนโฟตอนที่ถูกปลดปล่อยออกมาทั้งหมดจากสารเรืองแสง ( $Photon_{em}$ ) ต่อจำนวนโฟตอนที่ถูกดูดกลืนโดยสารเรืองแสง ( $Photon_{abs}$ ) และสามารถอธิบายได้ดังความสัมพันธ์

$$\Phi_F = \frac{k_r}{k_r + k_{nr}} = \frac{Photon_{em}}{Photon_{abs}} \quad (2.40)$$

เมื่อ  $k_r$  คือ การปลดปล่อยโฟตอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$k_{nr}$  คือ การไม่ปลดปล่อยโฟตอน



รูปที่ 2.51 แผนภาพแสดงระดับพลังงาน

- เมื่อ  $k_r^S$  คือ การปลดปล่อยโฟตอนในระดับพลังงาน  $S_1 - S_0$  หรือการปลดปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์
- $k_{ic}^S$  คือ การแปลงผันภายในระดับพลังงาน  $S_1 - S_0$  และการไม่ปลดปล่อยโฟตอน
- $k_{isc}$  คือ การลดระดับพลังงานข้ามสถานะและไม่มี การปลดปล่อยโฟตอน
- $k_r^T$  คือ การปลดปล่อยโฟตอนในระดับพลังงาน  $T_1 - S_0$  หรือเรียกว่าฟอสฟอริสเซนซ์
- $k_{nr}^T$  คือ การแปลงผันภายในระดับพลังงาน  $T_1 - S_0$  และไม่ปลดปล่อยโฟตอน

ในการหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของสารละลายจะใช้เทคนิค Relative เนื่องจากมีการจัดเตรียมระบบการวัดที่ไม่ซับซ้อน ใช้เวลาในการทดลองน้อย อีกทั้งยังวัดค่าได้แม่นยำด้วยเนื่องจากเทคนิค Relative เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ของค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของสารเรืองแสงที่เราสนใจเปรียบเทียบกับสารเรืองแสงที่ทราบค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์

วิธี Single-point ได้จากการคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟของความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์และนำค่าที่ได้จากการคำนวณมาเปรียบเทียบกับสารอ้างอิงที่มีความเข้มข้นเดียวกันซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและเร็ว แต่ไม่น่าเชื่อถือเนื่องจากวิธีนี้ ใช้สารอ้างอิงที่มีความเข้มข้นเดียวกันดังนั้นในการทดลองค่าการดูดกลืนแสงอาจมีการคลาดเคลื่อนได้

วิธีการเปรียบเทียบ (Comparative) จะกำหนดความเข้มข้นของสารที่ต้องการวัดและความเข้มข้นของสารอ้างอิงหลายค่า ใช้เวลาในการวัดนานกว่าวิธี Single-point แต่มีความถูกต้องแม่นยำกว่าซึ่งเทคนิค Relative ที่ได้นำมาใช้ในงานวิจัยนี้รายละเอียดดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการที่ (2.41) สามารถเขียนได้เป็น

$$\Phi_F = \frac{(\alpha) Photon_{em}}{(\beta) Photon_{abs}} \quad (2.41)$$

เมื่อ  $\alpha$  คือ ค่าคงที่ของจำนวนโฟตอนที่ถูกปลดปล่อยออกมา

$\beta$  คือ ค่าคงที่ของจำนวนโฟตอนที่ถูกดูดกลืน

ฟิสิกการดูดกลืนแสงของสาร (Fraction of light adsorbed: A) เขียนได้ดังสมการ

$$A = 1 - 10^{-b} \quad (2.42)$$

เมื่อ b คือ การดูดกลืนแสงของความยาวคลื่นที่ได้รับการกระตุ้น

สำหรับค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของสารตัวอย่าง (X) และสารอ้างอิง (R) เป็นดังสมการ

$$\Phi_{F(X)} = \left[ \frac{\alpha \times I}{\beta \times A} \right] \quad (2.43)$$

$$\Phi_{F(R)} = \left[ \frac{\alpha \times I_R}{\beta \times A_R} \right] \quad (2.44)$$

นำสมการที่ (2.43) ทหารด้วยสมการที่ (2.44) โดยไม่พิจารณาค่า  $\alpha$  และ  $\beta$  และจัดรูปสมการ จะได้

$$\Phi_{F(X)} = \Phi_{F(R)} \left[ \frac{I}{I_R} \frac{A_R}{A} \right] \quad (2.45)$$

หากใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน จะเขียนสมการควอนตัมฟลูออเรสเซนซ์โดยวิธีการเปรียบเทียบได้เป็น

$$\Phi_F = \Phi_{F(R)} \frac{I}{I_R} \frac{A_R}{A} \frac{n^2}{n_R^2} \quad (2.46)$$

เมื่อ  $\Phi_{F(X)}$  คือ ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของสารตัวอย่าง

$\Phi_{F(R)}$  คือ ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของสารอ้างอิง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- $I$  คือ พื้นที่ใต้กราฟความเข้มแสงของการเปล่งแสงของสารตัวอย่าง
- $I_R$  คือ พื้นที่ใต้กราฟความเข้มแสงของการเปล่งแสงของสารอ้างอิง
- $A$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารตัวอย่าง
- $A_R$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารอ้างอิง
- $n$  คือ ค่าดัชนีหักเหแสงของสารตัวอย่าง
- $n_R$  คือ ค่าดัชนีหักเหแสงของสารอ้างอิง

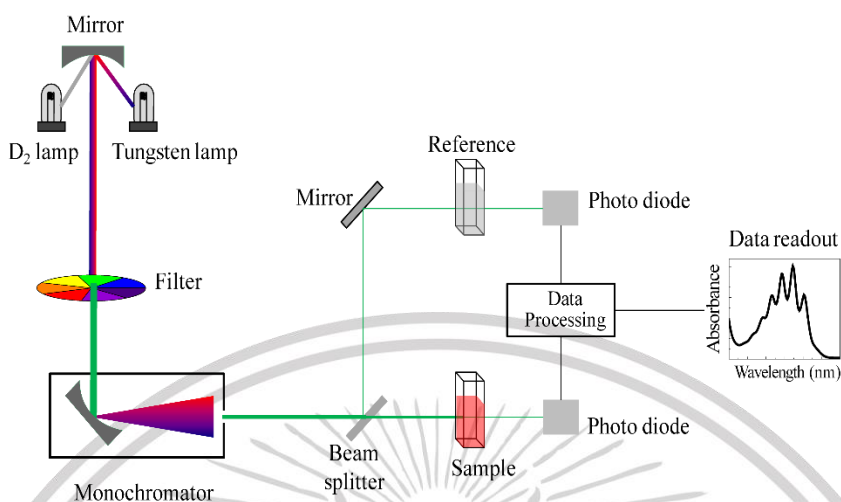
## 2.9 ทฤษฎีเครื่องมือที่ใช้วัดและวิเคราะห์ [81-83]

### 2.9.1 สเปกโตรมิเตอร์ (Spectrometer)

สเปกโตรมิเตอร์ (Spectrometer) เป็นเครื่องมือวัดที่ใช้วิเคราะห์สารเชิงแสงชนิดหนึ่งใช้ในการตรวจวัดคุณสมบัติเฉพาะของแสงได้แก่ สเปกตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า นิยมนำไปใช้ในการวิเคราะห์สเปกโตรสโกปิกเพื่อระบุชนิดของสารที่เกิดจากความเข้มแสงแตกต่างกัน โดยสร้างเส้นสเปกตรัมขึ้นและตรวจวัดความยาวคลื่นกับความเข้ม สามารถใช้วิเคราะห์ได้ตั้งแต่รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ ไปถึงรังสีอินฟราเรด ย่านความถี่ของคลื่นสเปกตรัมที่ตามองเห็น เรียกว่า Spectrophotometry

#### 2.9.1.1 หลักการทำงานของสเปกโตรมิเตอร์

UV-VIS Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์และตรวจวัดปริมาณแสง (Radiation) และค่าความเข้มแสง (Intensity) ในช่วงรังสียูวี (ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร) และจนถึงช่วงแสงที่ตามองเห็นได้ (Visible Light, VIS) โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสาร นิยมใช้ในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน หรือสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สารแต่ละชนิดจะมีการดูดกลืนรังสีในย่านความยาวคลื่นหรือย่านความถี่ที่ต่างกันและปริมาณในการดูดกลืนรังสีก็ขึ้นอยู่กับความเข้มของสารนั้น การดูดกลืนแสงของสารต่างๆ เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร ตามสมการของ เบียร์แลมเบิร์ต จึงสามารถวิเคราะห์ได้ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ



รูปที่ 2.52 แผนภาพแสดงการทำงานของสเปกโตรมิเตอร์

### 2.9.1.2 ส่วนประกอบของสเปกโตรมิเตอร์

1. แหล่งกำเนิดแสง เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นแสงที่มีความเข้มมากพออย่างต่อเนื่องและคงที่ และต้องคำนึงถึงการเลือกใช้หลอดกำเนิดแสงซึ่งมีหลากหลายชนิดตามความยาวคลื่นแสง ให้เหมาะสมสำหรับการดูดกลืนของตัวอย่างนั้น
2. Monochromator เป็นส่วนประกอบที่ใช้ควบคุมแสง โดยจะทำให้แสงพอลิโครเมติกจากต้นกำเนิดเป็นแสงโมโนโครเมติก ซึ่งเป็นแถบแสงแคบ ๆ หรือแสงที่มีความยาวคลื่นเดียว
3. เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลาย (Cell sample) หรือ คิวเวทท์ (Cuvettes)
4. Detector ทำหน้าที่วัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืนโดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้าเครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง

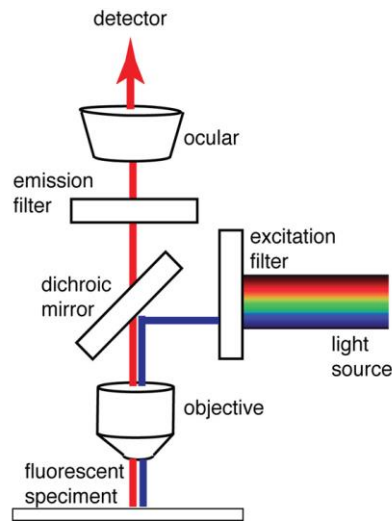
### 2.9.2 กล้องจุลทรรศน์ ชนิด Fluorescence microscopes

กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ Fluorescent microscope เหมาะสำหรับการตรวจหาสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่สามารถเรืองแสงได้

#### 2.9.2.1 หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์ ชนิด Fluorescence microscopes

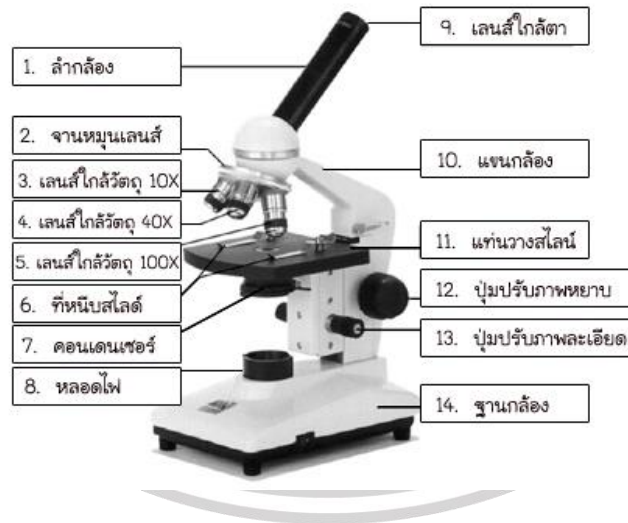
เมื่อได้รับแสงจากแหล่งกำเนิดที่มีพลังงานสูง เช่น แสง UV วัตถุนั้นก็จะปลดปล่อยพลังงานออกมาเป็นแสงที่ตาเราสามารถมองเห็นได้ Visible light จึงถูกนำไปใช้ในการหาสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่สามารถทำการย้อมสี (สีที่มีปฏิกิริยากับแสง UV) แล้วทำให้เกิดการเรืองแสงขึ้นได้ ดังแสดงในรูปที่

2.53



รูปที่ 2.53 แผนภาพแสดงหลักการทำงานของสเปกโตรมิเตอร์

#### 2.9.2.1 ส่วนประกอบของกล้องจุลทรรศน์ แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.54



รูปที่ 2.54 ส่วนประกอบของกล้องจุลทรรศน์

1. ลำกล้อง (Body tube) เป็นส่วนที่อยู่ต่อจากมือจับมีลักษณะเป็นท่อกวางปลายด้านบนมีเลนส์ใกล้ตาสวมอยู่ด้านบนอีกด้านหนึ่งมีชุดของเลนส์ใกล้วัตถุซึ่งติดอยู่กับจานหมุนที่เรียกว่า Revolving nosepiece

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. งานหมุนเลนส์ (Evolving nosepiece) เป็นส่วนของกล้องที่ใช้สำหรับหมุนเพื่อเปลี่ยนกำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ
3. เลนส์ใกล้วัตถุ (Objective lens) จะติดอยู่เป็นชุดกับงานหมุน ซึ่งเป็นส่วนของกล้องที่ประกอบด้วยเลนส์ ซึ่งรับแสงที่ส่องผ่านมาจากวัตถุที่นำมาศึกษา (Specimen) เมื่อลำแสงผ่านเลนส์ใกล้วัตถุ เลนส์ใกล้วัตถุจะขยายภาพของวัตถุนั้น และทำให้ภาพที่ได้เป็นภาพจริงหัวกลับ (Primary real Image) โดยเลนส์ใกล้วัตถุจะมีกำลังขยายต่าง ๆ กัน ได้แก่
  4. เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำ (Lower power) กำลังขยาย 4X, 10X
  5. เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายสูง (High power) 40X เลนส์ใกล้วัตถุแบบ Oil immersion ขนาด 100X
6. ที่หนีบสไลด์ (Stage clip) ใช้หนีบสไลด์ให้ติดอยู่กับแท่นวางวัตถุ ในกล้องรุ่นใหม่จะมี Mechanical stage แทนเพื่อควบคุมการเลื่อนสไลด์ให้สะดวกขึ้น
7. เลนส์รวมแสง (Condenser) ทำหน้าที่รวมแสงให้เข้มข้นเพื่อส่งไปยังวัตถุที่ต้องการศึกษา
8. หลอดไฟ เป็นแหล่งกำเนิดแสง
9. เลนส์ใกล้ตา (Eyepiece lens หรือ Ocular lens) เลนส์นี้จะสวมอยู่กับลำกล้อง มีตัวเลขแสดงกำลังขยายอยู่ด้านบน เช่น 5X, 10X หรือ 15X เป็นต้น
10. แขนกล้อง (Arm) เป็นส่วนยึดลำกล้องและฐานไว้ด้วยกัน ใช้เป็นที่จับเวลาเคลื่อนย้ายกล้องจุลทรรศน์
11. แท่นวางสไลด์ (Stage) เป็นแท่นสำหรับวางสไลด์ตัวอย่างที่ต้องการศึกษามีลักษณะเป็นแท่นสี่เหลี่ยม หรือวงกลมตรงกลางมีรูให้แสงจากหลอดไฟส่องผ่านวัตถุแท่นนี้สามารถเลื่อนขึ้นลงได้ด้านในของแท่นวางวัตถุจะมีครีปสำหรับยึดสไลด์และมีอุปกรณ์ช่วยในการเลื่อนสไลด์ เรียกว่า Mechanical stage นอกจากนี้ยังมีสเกลบอกตำแหน่งของสไลด์บนแท่นวางวัตถุ ทำให้สามารถบอกตำแหน่งของภาพบนสไลด์ได้
12. ปุ่มปรับภาพหยาบ (Coarse adjustment knob) ใช้เลื่อนตำแหน่งของแท่นวางวัตถุขึ้นลง เมื่ออยู่ในระยะโฟกัส ก็จะมองเห็นภาพได้ ปุ่มนี้มีขนาดใหญ่จะอยู่ที่ด้านข้างของตัวกล้อง
13. ปุ่มปรับภาพละเอียด (Fine adjustment knob) เป็นปุ่มขนาดเล็กอยู่ถัดจากปุ่มปรับภาพหยาบออกมาทางด้านนอกที่ตำแหน่งเดียวกัน หรือกล้องบางชนิดอาจจะอยู่ใกล้ ๆ กัน เมื่อปรับด้วยปุ่มปรับภาพหยาบจนมองเห็นภาพแล้วจึงหมุนปุ่มปรับภาพละเอียดจะทำให้ได้ภาพคมชัดยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

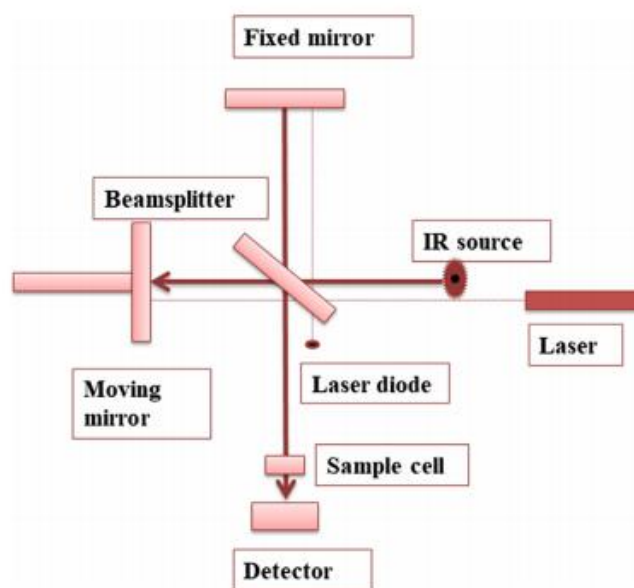
14. ฐานกลิ้ง (Base) ทำหน้าที่รับน้ำหนักทั้งหมดของกล้องจุลทรรศน์ มีรูปร่างสี่เหลี่ยม หรือวงกลม ที่ฐานจะมีปุ่มสำหรับปิดเปิดไฟฟ้า

### 2.9.3 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการจำแนกประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และพันธะเคมีในโมเลกุล รวมถึงสามารถบอกถึงปริมาณองค์ประกอบที่มีอยู่ในโมเลกุลของสารผสมตัวอย่างที่ทราบชนิดโดยทำการตรวจวัดการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของตัวอย่างที่มีความถี่ต่าง ๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของแต่ละพันธะ การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR สามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ของเหลว และก๊าซได้ และเป็นเทคนิคที่ใช้ตัวอย่างเพียงเล็กน้อยในการวิเคราะห์อีกทั้งยังใช้เวลาในการวิเคราะห์อย่างรวดเร็วและแม่นยำ

#### 2.9.3.1 หลักการทำงานของเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy

เครื่อง FTIR Spectroscopy มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ เมื่อรังสีอินฟราเรดที่มีหลายความถี่จากแหล่งคลื่นรังสีอินฟราเรด ผ่านเข้าไปยังอินเทอร์โพโมมิเตอร์ลำแสงจะถูกแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่เป็น Beam splitter ลำแสงครึ่งหนึ่งจะผ่านไปยังกระจกที่ตรึงอยู่กับที่และกระจกที่เคลื่อนที่ได้ด้วยความเร็วคงที่ เมื่อลำแสงสะท้อนกลับมาที่ Beam splitter จะเกิดการแทรกสอดแบบเสริมกัน หรือการแทรกสอดแบบหักล้างของแต่ละความยาวคลื่น เมื่อแสงผ่านสารตัวอย่างไปยังตัววัดสัญญาณที่อ่านได้ทุกความถี่พร้อมกับช่วงสแกนของกระจกโดยที่อัตราการสแกนตัววัดสัญญาณ และความเร็วของกระจกที่เคลื่อนที่ได้จะถูกควบคุมให้มีความถูกต้อง และคงที่ เรียกสัญญาณอ้างอิงจากตัววัดสัญญาณที่เกิดจากหลอด He - Ne Laser ว่า Internal reference laser สัญญาณที่ตัววัดสัญญาณอ่านได้จะอยู่ในรูปอินเทอร์โพแกรม ถูกเก็บไว้ ดังแสดงในรูปที่ 2.55



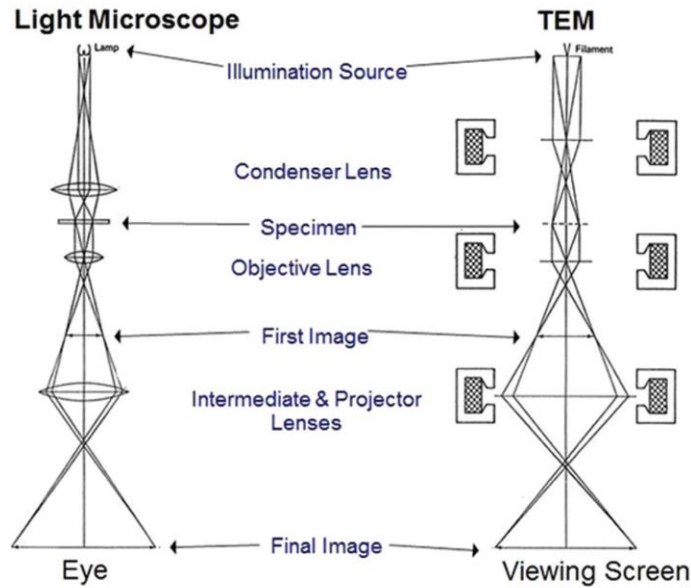
รูปที่ 2.55 แผนภาพแสดงการทำงานของเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy

#### 2.9.4 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบทรานสมิสชัน (Transmission Electron Microscope, TEM)

Transmission Electron Microscope เป็นกล้องจุลทรรศน์แบบหนึ่งที่ใช้ในการศึกษาสิ่งเล็กๆ ในระดับนาโนเมตร โดยอาศัยการยิงลำอิเล็กตรอนทะลุผ่านชิ้นงานตัวอย่างที่มีความบางมาก ๆ (น้อยกว่า 100 นาโนเมตร) ซึ่งลำอิเล็กตรอนที่ทะลุและเลี้ยวเบนผ่านตัวอย่างจะถูกนำมาสร้างเป็นภาพด้วยการโฟกัสและขยายด้วยเลนส์แม่เหล็กและฉายลงบนฉากรับภาพ

##### 2.9.4.1 หลักการทำงานของ Transmission Electron Microscope

หลักการทำงานของ TEM คล้ายกับกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Optical Microscope, OM) โดยปกติกล้อง OM จะใช้แสงเป็นแหล่งกำเนิดในการส่องผ่าน หรือสะท้อนจากวัตถุ และใช้เลนส์นูนสำหรับหักเหแสงเพื่อขยายขนาดวัตถุเข้าสู่ตาผู้สังเกต ส่วนกล้อง TEM จะใช้ลำอิเล็กตรอนในการส่องผ่านวัตถุ และใช้เลนส์แม่เหล็กในการเบี่ยงเบนลำอิเล็กตรอนเพื่อขยายขนาดวัตถุเข้าสู่จอรับภาพ เนื่องจากอิเล็กตรอนมีความยาวคลื่นสั้นกว่าแสงมาก จึงทำให้กล้อง TEM มีกำลังขยาย (Magnification) และกำลังแยกแยะ (Resolution) สูงกว่ากล้อง OM มาก โดย TEM และ OM มีกำลังแยกแยะประมาณ 0.23 นาโนเมตรและ 0.2 ไมโครเมตร ตามลำดับ

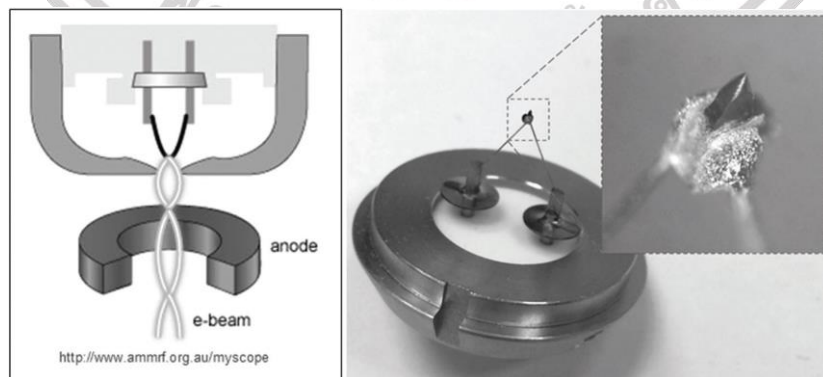


รูปที่ 2.57 ภาพเปรียบเทียบส่วนประกอบของกล้อง OM และ TEM

#### 2.9.4.2 ส่วนประกอบสำคัญของกล้อง TEM

กล้อง TEM ประกอบด้วยส่วนสำคัญต่าง ๆ เช่น แหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน ระบบเลนส์แม่เหล็ก ระบบสุญญากาศ และระบบหล่อเย็น เป็นต้น แต่ในที่นี้จะกล่าวถึงส่วนประกอบหลักที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายภาพ และการวิเคราะห์ผลเท่านั้น

**แหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน** ส่วนบนสุดของเครื่อง TEM ประกอบด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน หรือฟิลาเมนต์ (Filament) ที่มีลักษณะปลายแหลมเพื่อให้อิเล็กตรอนหลุดออกมาได้ง่าย ฟิลาเมนต์อาจทำมาจาก  $\text{LaB}_6$  (Lanthanum hexaboride) โดยในขณะใช้งานจะให้ความร้อนที่ปลายฟิลาเมนต์ เพื่อกระตุ้นให้อิเล็กตรอนหลุดออกมา (Thermionic emission) จากนั้นใช้สนามไฟฟ้าดึงดูดเพื่อเร่งอิเล็กตรอนให้พุ่งไปยังตัวอย่างที่อยู่ด้านล่าง ดังแสดงในรูปที่ 2.58

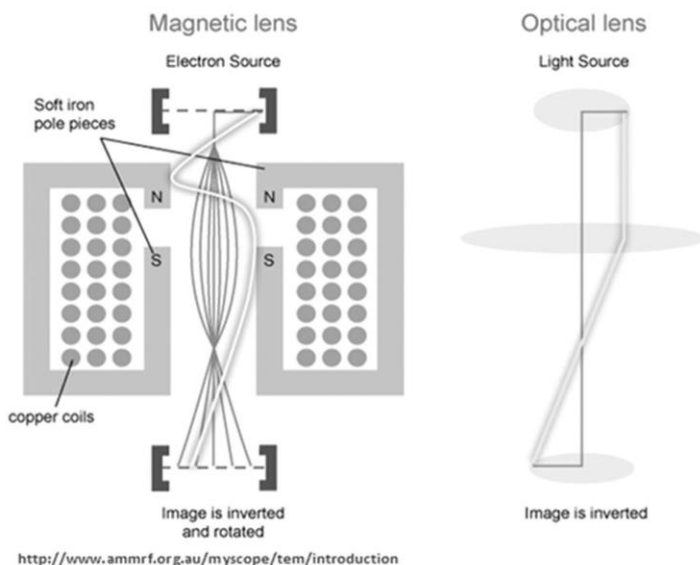


รูปที่ 2.58 ภาพจำลองการทำงานของฟิลาเมนต์ (ซ้าย) และลักษณะของฟิลาเมนต์ชนิด  $\text{LaB}_6$  (ขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความแรงสนามไฟฟ้าที่ใช้เร่งอิเล็กตรอนเรียกว่า ค่าแรงดันเร่ง (Accelerating voltage) มีหน่วยเป็นอิเล็กตรอนโวลต์ (Electron Volt, eV) ในการใช้งานเครื่อง TEM จะต้องเลือกเครื่องที่ให้ค่าแรงดันเร่งที่เหมาะสมกับตัวอย่าง เพราะตัวอย่างแต่ละชนิดมีความทนทานต่อพลังงานของลำอิเล็กตรอนที่ต่างกัน ตัวอย่างอินทรีย์ที่มีไฮโดรคาร์บอนเป็นส่วนประกอบ และรวมถึงตัวอย่างโพลิเมอร์บางตัวที่มีจุดหลอมเหลวต่ำจะไม่ทนทานต่อพลังงานของลำอิเล็กตรอนจึงถูกทำลายได้ง่าย ดังนั้นจึงต้องใช้พลังงานต่ำหรือค่าแรงดันเร่งในช่วง 80-160 keV ส่วนตัวอย่างอนินทรีย์ ได้แก่ โลหะ เซรามิก ออกไซด์ หรือสารประกอบต่าง ๆ ที่มีจุดหลอมเหลวสูงสามารถทนทานต่อลำอิเล็กตรอนได้มากกว่าจึงอาจใช้พลังงานสูงหรือค่าแรงดันเร่งในช่วง 160-200 keV เพราะลำอิเล็กตรอนมีพลังงานเพียงพอที่จะทะลุผ่านตัวอย่างจึงสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างนั้น ๆ ได้

**เลนส์แม่เหล็ก (Magnetic lens)** เลนส์แม่เหล็กเป็นส่วนประกอบที่สำคัญอย่างหนึ่งของกล้อง TEM ทำหน้าที่เบี่ยงเบนลำอิเล็กตรอนให้ไปยังตำแหน่งต่าง ๆ โดยทั่วไปเลนส์แม่เหล็กประกอบด้วยขดลวดทองแดงขดตัวเป็นวงกลมล้อมรอบบริเวณแกนกลางของเครื่อง TEM ที่ลำอิเล็กตรอนวิ่งผ่าน ซึ่งภายในเครื่อง TEM จะประกอบด้วยเลนส์แม่เหล็กจำนวนมาก เมื่อจ่ายกระแสค่าต่าง ๆ เข้าไปภายในขดลวดทองแดงจะทำให้เกิดสนามแม่เหล็กรอบ ๆ ทางผ่านของลำอิเล็กตรอนโดยสนามแม่เหล็กที่เกิดจากเลนส์แม่เหล็กแต่ละตัวจะควบคุมทิศทางลำอิเล็กตรอนให้เบี่ยงเบนหรือโฟกัสในตำแหน่งที่เหมาะสมได้ ซึ่งเหมือนกับการทำงานของเลนส์นูนในกล้อง OM ดังแสดงในรูปที่ 2.59



**รูปที่ 2.59** ภาพเปรียบเทียบการหักเหของลำอิเล็กตรอนด้วยเลนส์แม่เหล็ก (ซ้าย) และการหักเหของแสงด้วยเลนส์นูน (ขวา)

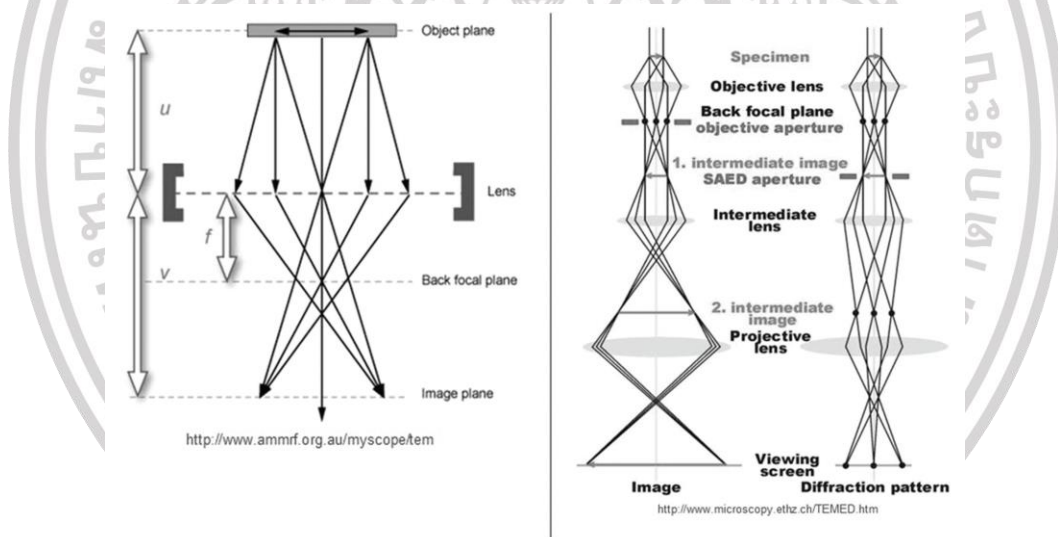
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.9.4.3 หลักการสร้างภาพของ TEM

ภาพที่ได้จาก TEM โดยทั่วไปมักเป็นภาพไบรต์ฟิลด์ (Bright field) ซึ่งเป็นภาพถ่ายกำลังขยายสูงที่เกิดจากลำอิเล็กตรอนทะลุผ่านชิ้นงานและเลี้ยวเบน โดยลำอิเล็กตรอนที่ทะลุผ่านตัวอย่างลงมาจะถูกโฟกัสและขยายด้วยเลนส์แม่เหล็ก และฉายลงบนฉากรับเพื่อแสดงภาพบนจอ ในเบื้องต้นควรทำความเข้าใจถึงความสำคัญของระนาบ 2 ระนาบที่ทำให้เกิดภาพ ดังนี้

ระนาบภาพแรก (First image plane) เป็นระนาบแรกที่เกิดการสร้างภาพ หลังจากลำอิเล็กตรอนวิ่งทะลุผ่านชิ้นงาน ซึ่งภาพแรกนี้จะถูกนำไปเพิ่มกำลังขยายให้มากขึ้นด้วยชุดเลนส์แม่เหล็กถัดไปด้านล่างตามความเหมาะสม และฉายเป็นภาพไบรต์ฟิลด์ลงบนฉาก

ระนาบแบกโฟคัล (Back focal plane) เป็นระนาบที่เกิดการรวมกันของลำอิเล็กตรอนที่เลี้ยวเบนหลังจากทะลุผ่านชิ้นงานและฉายลงบนฉาก ภาพที่ได้จากระนาบนี้คือ รูปแบบการเลี้ยวเบนอิเล็กตรอน (Diffraction pattern) ซึ่งบ่งถึงโครงสร้างผลึกของตัวอย่าง ณ บริเวณที่ลำอิเล็กตรอนตกกระทบ ดังแสดงในรูปที่ 2.60



รูปที่ 2.60 ภาพแสดงตำแหน่งระนาบแบกโฟคัล และระนาบภาพแรกภายในกล้อง TEM (ซ้าย) ภาพเปรียบเทียบระหว่างการฉายภาพไบรต์ฟิลด์กับรูปแบบการเลี้ยวเบนของอิเล็กตรอน (ขวา)

### 2.9.5 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)

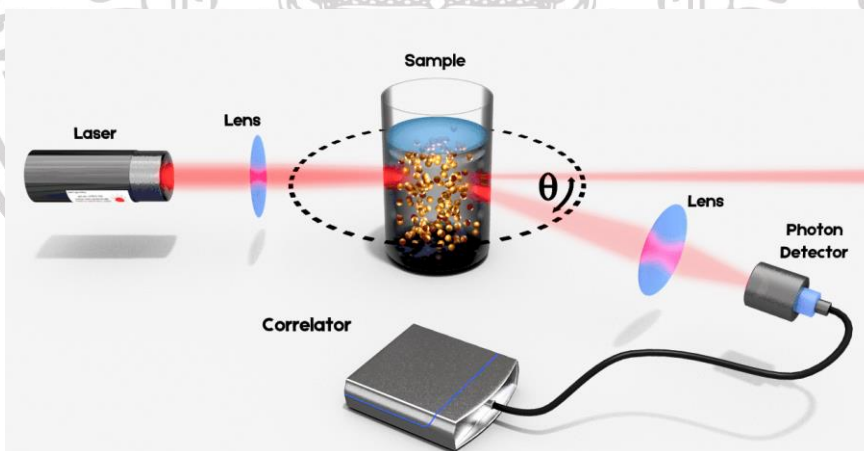
Dynamic light scattering (DLS) เป็นเทคนิควัดการกระเพื่อมของความเข้มแสง หรือเรียกว่า Photo correlation spectroscopy (PCS) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้วัดขนาดของสารตัวอย่างในระดับนาโนเมตรได้ตั้งแต่ 0.005 – 5 ไมโครเมตร สำหรับอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 5 ไมโครเมตรจะเกิดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แพร่กระจายอย่างไรทิศทาง (Randomly diffuse) ไปทั่วตัวกลาง ในขณะที่เดียวกันอนุภาคสามารถก่อให้เกิดการกระเจิงของแสงได้เช่นกัน ความถี่ของการกระเพื่อมขึ้น-ลงสามารถตรวจจับโดยใช้หลอดทวีพลิงแสง (Photomultiplier) ในขณะที่ขนาดของอนุภาคสามารถคำนวณได้จากความถี่โดยใช้สมการสโตกส์และไอสไตน์ (Stokes-Einstein equation) ด้วยการหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เลื่อนตำแหน่ง (translational diffusion coefficient,  $DT$ ) ของอนุภาค ซึ่งสัมพันธ์กับขนาดของอนุภาค (เส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ  $a$ )

#### 2.9.5.1 หลักการทำงานของเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)

การเคลื่อนที่ของอนุภาคตลอดเวลาแบบบราวน์เนียน (Brownian) นี้ส่งผลกระทบต่อความเข้มของแสงที่กระเจิงจากอนุภาค อนุภาคขนาดใหญ่ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เลื่อนตำแหน่ง (translation diffusion coefficient) ต่ำ จะเคลื่อนที่ช้ากว่าอนุภาคขนาดเล็ก หรืออาจกล่าวได้ว่า อนุภาคขนาดใหญ่เคลื่อนที่ช้าทำให้เกิดการความถี่ในการกระเพื่อมขึ้น-ลงของแสงที่กระเจิงต่ำ และอนุภาคขนาดเล็กเคลื่อนที่ได้เร็วมีความถี่ในการกระเพื่อมของแสงที่กระเจิงสูงกว่า ดังนั้นอัตราการเปลี่ยนแปลงของแสงที่กระเจิงจะช้ากว่าสัญญาณที่ได้จากการวัดความเข้มแสงในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ของอนุภาคขนาดเล็ก และความถี่ในการกระเพื่อมขึ้น-ลงของความเข้มแสงนี้จะถูกส่งไปยัง correlator ดังแสดงในรูป เพื่อนำไปคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เลื่อนตำแหน่งและนำไปหาขนาดอนุภาคต่อไป ข้อจำกัดของเทคนิคนี้คือ สารตัวอย่างต้องผ่านการเตรียมเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่เจือจางอย่างเหมาะสม นอกจากนั้นเทคนิคนี้ยังต้องการความสะอาดสูง เนื่องจากการป้องกันการรบกวนจากการกระเจิงของอนุภาคฝุ่นหรือสิ่งสกปรก



รูปที่ 2.61 แสดงการทำงานของด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)

## 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันมีการนำเอานาโนเทคโนโลยี ซึ่งเป็นการใช้เทคโนโลยีในระดับนาโนเมตร (Nanometer scale) เข้ามาใช้ในการแพทย์เพิ่มมากขึ้นหรือที่เรียกกันว่า Nanomedicine เป็นการนำเอานาโนเทคโนโลยีเข้ามาประยุกต์ใช้เพื่อให้การตรวจวินิจฉัย ป้องกัน และรักษาโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด และจากปัญหาที่พบในการใช้ยาเคมีบำบัดเพื่อรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งดังที่ได้กล่าวไปแล้วนั้น จึงมีผู้เสนอแนวคิดในการออกแบบ Nanocarrier หรือตัวลำเลียงยาที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรที่จะใช้ในการเก็บกักตัวยาไว้ภายในเพื่อการนำส่งไปยังบริเวณเป้าหมาย ซึ่งนอกจากจะช่วยป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับเซลล์ปกติแล้ว ยังสามารถ ช่วยลดปัญหาในเรื่องความคงตัวของยา ทำให้ยาไม่ถูกกำจัดหรือทำลายก่อนที่จะถึงยังเซลล์ที่ต้องการการรักษาเมื่อเทียบกับการใช้ยาโดยไม่มีตัวนำส่ง (Free drugs) พร้อมทั้งยังสามารถช่วยให้การนำส่งยาไปยังบริเวณที่ต้องการเกิดขึ้นได้อย่างจำเพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น Nanocarriers ที่นำมาใช้สำหรับขนส่งยานี้ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากการใช้พาหนะที่เหมาะสมในการขนส่งยามีนั่นหมายความว่า จะสามารถทำให้การส่งยามีประสิทธิภาพและสามารถถูกนำเข้าไปในเซลล์ได้ดีขึ้น ทั้งนี้มีงานวิจัยเบื้องต้นที่แสดงให้เห็นว่า Nanoparticles (NPs) นั้นสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขนส่งยาและช่วยลดผลข้างเคียงได้ เนื่องจากการขนส่งที่แม่นยำมากขึ้นและยังช่วยให้ตัวยากถูกนำเข้าไปใช้ในเซลล์ได้ดียิ่งขึ้น ตัวอย่างเช่น

Das และคณะ (2013) ทำการสังเคราะห์ ZnO NPs ด้วยวิธีการสลายทางความร้อน และตรวจสอบและวิเคราะห์คุณสมบัติด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy, XRD, SEM, EDX และ TEM นอกจากนี้ยังมีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ผลการศึกษาพบว่า ZnO NPs ที่สังเคราะห์ขึ้นมีโครงสร้างแบบ Wurtzite มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยอยู่ที่ 46.49 นาโนเมตร ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของ ZnO NPs จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นอนุภาคแสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงถึง 91% ในเวลา 90 นาที และที่ความเข้มข้นที่เกิน 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของ ZnO NPs จะทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดง [84]

Smijs และ Pavel (2014) รายงานว่าอานาเทส (Anatase) ของ  $\text{TiO}_2$  มีกระบวนการโฟโตคาตาไลติกสูงกว่ารูไทล์ (Rutile) ของอนุภาคนาโน  $\text{TiO}_2$  และ ZnO ในครีมกันแดดในเชิงพาณิชย์ [85]

Lu และคณะ (2015) ใช้ TEM เพื่อวิเคราะห์อนุภาคนาโน ZnO และ  $\text{TiO}_2$  ที่มีขนาดระหว่าง 1 nm และ 100 nm ในครีมกันแดดเชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตามต้องทำการเจือจางตัวอย่างก่อนการทดสอบ [86]

Bisht และ Rayamajhi Z (2016) รายงานว่าอนุภาคนาโน ZnO มีแนวโน้มว่าจะเป็นสารต้านมะเร็งเนื่องจากมีผล EPR การเกิดไฟฟ้าสถิต และความเป็นพิษต่อเซลล์ [87]

Bogdan และคณะ (2017) รายงานว่าการผนวก Monoclonal antibodies กับ  $\text{TiO}_2$  และ  $\text{ZnO}$  ถูกนำมาใช้เป็นตัวนำส่งยาในการรักษาด้วยแสง (PDT) และการบำบัดด้วยพลังแบบไดนามิก (SDT) PDT และ SDT ปรับปรุงการกระจายแบบเลือกในอวัยวะหรือเซลล์เป้าหมาย ดังนั้นประสิทธิภาพการบำบัดจึงดีขึ้น [88]

Babu และคณะ (2017) รายงานว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ( $\text{ZnO}$  NPs) มีผลกระทบต่อขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยเฉพาะเซลล์ขนาดน้อยกว่า 50 นาโนเมตร ขอบเขตของการทำลายดีเอ็นเอและการสร้างอนุมูลอิสระ อนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (ROS) ในเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้นค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์รวมกับกรดเฟอูลิก ( $\text{ZnO}$ -ferulic acid conjugates) ที่มีการทำลายดีเอ็นเอและการสร้างอนุมูลอิสระ อนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (ROS) มากกว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เพียงอย่างเดียว [89]

Jiang และคณะ (2018) รายงานว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ( $\text{ZnO}$  NPs) ได้กลายเป็นศักยภาพในการต่อต้านมะเร็งและแบคทีเรีย พวกเขาสามารถกระตุ้นการผลิตอนุมูลอิสระ อนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (ROS) ที่มากเกินไปปล่อย  $\text{Zn}^{2+}$  และกระตุ้นการตายของเซลล์ [90]

Martinez-Carmona และคณะ (2018) รายงานว่าซิงค์ออกไซด์ควอนตัมดอท ( $\text{ZnO}$  QDs) มีคุณสมบัติเรืองแสงที่โดดเด่นต้นทุนต่ำ ความเป็นพิษต่ำ และความเข้ากันได้ทางชีวภาพ นอกจากนี้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ควอนตัมดอท มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาสูง ความสามารถในการดูดซับที่แข็งแกร่ง และจุดไอโซอิเล็กทริกสูง คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ซิงค์ออกไซด์ควอนตัมดอท เป็นตัวเลือกหลักสำหรับการส่งยารักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียและมะเร็ง [91]

Chacko และคณะ (2018) รายงานว่าประโยชน์หลักของการใช้สาร Non-ionic สารลดแรงตึงผิว Polysorbate เคลือบอนุภาคนาโนเป็นที่พาหะของยา เพื่อรักษาปริมาณของยาไปสู่มะเร็งเป้าหมาย ลดความเป็นพิษ ลดปริมาณยาของตัวแทนการรักษา ลดผลข้างเคียงของยาลดลง และเพิ่มความมีชีวิตของยาในเนื้ออกในสมอง [92]

Ancona และคณะ (2018) รายงานว่าไขมัน Bilayer เคลือบด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ( $\text{ZnO}$  NPs) ถูกทำให้อยู่ภายในเซลล์มะเร็งเยื่อบุผิวของมนุษย์ (HeLa) ได้อย่างมีประสิทธิภาพผ่านทางเดิน Lysosomal และเกิดการสร้างชนิดของอนุมูลอิสระ อนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (ROS) ภายในเซลล์มะเร็ง ทำให้เซลล์ตายเพิ่มขึ้น [93]

Lu และคณะ รายงานว่า (2018) ซิงค์ออกไซด์ ( $\text{ZnO}$ ) ในรูปแบบผงให้ข้อมูลทางเคมีฟิสิกส์ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการปรับปรุงประสิทธิภาพของยาและลดความเป็นพิษของยา [94]

Yang และคณะ (2018) รายงานว่าโฟโตคะตะไลติก (Photocatalytic) ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) ที่ไม่มียาปฏิชีวนะภายใต้แสงสีน้ำเงิน 10.8 จูลต่อตารางเซนติเมตร ส่งผลกระทบต่อการใช้ชีวิตของ *Acinetobacter baumannii* อย่างมีนัยสำคัญ [95]

Wozniak และคณะ (2019) รายงานว่าการรวมกันของแสงสีฟ้า (411 นาโนเมตร) และแสงสีเขียว + Rose bengal (515 นาโนเมตร) ทำหน้าที่เป็นแสงไฟที่มีประสิทธิภาพร่วมกับยา Doxycycline เพื่อควบคุม *Acinetobacter baumannii* สายพันธุ์ที่ดื้อยา [96]

นอกจากนี้ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาตินและยาเคมีบำบัดดอกกุชชูปิซิกก็ได้รับการพูดถึงการใช้ในการรักษามะเร็งในระบบลำเลียงยาด้วยอนุภาคนาโน อาทิเช่น

Ahmed และคณะ (2014) รายงานประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนพอลิอะมีโดเอมีน Polyamidoamine ผสมกับ คาร์โบพลาติน ทดสอบกับเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง Retinoblastoma [97]

Shome และคณะ (2013,2014) ศึกษาอนุภาคนาโน Polymethylmethacrylate ที่บรรจุคาร์โบพลาตินสำหรับการรักษามะเร็งจอประสาทตาในลูกตาที่มีประสิทธิภาพในหนู Sprague-Dawley และในมนุษย์ [98]

Kalita และคณะ (2014) แนะนำอนุภาคนาโน Apotranferrin และ Lactoferrin ที่บรรจุคาร์โบพลาติน สำหรับการรักษามะเร็งที่มีประสิทธิภาพที่ใช้ทดสอบเซลล์มะเร็ง Retinoblastoma ของมนุษย์ อนุภาคนาโน Apotranferrin ที่บรรจุ CP (Apo-nano-carbo) และ อนุภาคนาโน Lactoferrin (Lactonanocarbo) แสดงให้เห็นถึงการดูดซึมภายในเซลล์มากขึ้น การเก็บรักษาอย่างยั่งยืนและการตอบสนองต่อต้านการเจริญสูงเซลล์ของเซลล์มะเร็ง Retinoblastoma [99]

Karanam และคณะ (2015) ได้เตรียมอนุภาคนาโน Poly (ε-caprolactone) (PCL) ของคาร์โบพลาติน (CP) พวกมันถูกดูดซึมอย่างมีประสิทธิภาพและแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ U-87 MG (Human glioma) เมื่อเทียบกับคาร์โบพลาตินเพียงอย่างเดียว ในขณะที่ CP ลดกระบวนการ Hemolytic ในเซลล์เม็ดเลือดแดงของหนู [100]

Duan และคณะ (2017) รายงานว่า Liposomal และอนุภาคนาโนของซิสพลาติน (Cisplatin) ได้รับการศึกษาเพื่อยกระดับการซึมผ่านที่เพิ่มขึ้นและการเก็บรักษา (EPR) ผล เพื่อเพิ่มการเลือกซิสพลาตินในการรักษาเซลล์มะเร็งโดยไม่เพิ่มผลข้างเคียงและความเป็นพิษ [101]

Song และคณะ (2019) ได้เตรียมอนุภาคนาโน Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> โพลียาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (NPs @ carboplatin) ทดสอบกับ เซลล์มะเร็งรังไข่ A2780 และเซลล์มะเร็งรังไข่ที่ดื้อยา A2780DDP โดยวิธี MTT การทดลองแสดงให้เห็นว่า NPs @ carboplatin แสดงความเป็นพิษสูงต่อเซลล์ทั้งสองชนิด และไม่ เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ [102]

Salaamn และคณะ (2014) ได้เตรียมอนุภาคนาโน ND-DGEA ผสมกับยาเคมีบำบัด Doxorubicin (ND-DGEA+DOX) ทำหน้าที่เป็นระบบนำส่งยาเพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (PC3) และ human Mesenchymal Stem Cells (hMSC) ผลการทดสอบพบว่า เซลล์มะเร็งจะถูกทำลาย 2.5% ถึง 12% ในกรณีที่ใช้เฉพาะยาเคมีบำบัด แต่เมื่อผสม DOX เข้ากับอนุภาคนาโน ND-DGEA สามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้ถึง 11%-34% [103]

Guo และคณะ (2015) ได้เตรียมอนุภาคนาโน Lipid-coated poly D, L-lactic-co-glycolic acid ผสมยาเคมีบำบัดดอกซوروبิซิน (Doxorubicin) ซึ่งทำหน้าที่เป็นระบบนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพสำหรับการรักษามะเร็งปอด ผลการทดสอบแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ต้านการเจริญและการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกในหนูที่มีเนื้องอกชนิด A549 [104]

Cai และคณะ (2016) ได้เตรียมอนุภาคนาโน Hyaluronic Acid-ZnO quantum dots-Dicarboxyl-Terminated Poly (Ethylene glycol, HA-ZnO-PEG) ผสมเข้ากับยาเคมีบำบัดดอกซوروبิซิน (Doxorubicin) ซึ่งทำหน้าที่เป็นระบบนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพสำหรับการรักษามะเร็งปอด ผลการทดสอบแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ต้านการเจริญและการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ A549 [105]

Liu และคณะ (2018) ได้ทำการศึกษา ZnO NPs โหลด DOX ในการกำจัดเซลล์มะเร็งเต้านม (MDR) พบว่า ZnO NPs โหลด DOX (ZD NPs) จะช่วยทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ในขณะที่เซลล์มะเร็งถูกทำลายเพียง 10% ในกรณีที่ใช้เฉพาะยาเคมีบำบัด (Free DOX) การทดลองยังแสดงให้เห็นว่าการใช้ ZnO NPs โหลด DOX ให้การตอบสนองดีกว่า Free DOX ในการทำลายเซลล์มะเร็ง MCF-7S ที่ตอบสนองยาได้ดี [106]

Locharoenrat (2019) ทำการศึกษานาโนอนุภาคเพชรนาโนจับกับยาดอกซوروبิซิน ในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) โดยวิธี สเปกโตรมิเตอร์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด Fluorescence microscopes และ เทคนิค MTT ในการตรวจหาความเป็นพิษต่อเซลล์ ผลการศึกษาพบว่าอนุภาคเพชรนาโนที่จับกับยาดอกซوروبิซินมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดี และให้ค่า  $IC_{50}$  ที่ 0.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร [107]

Galam และคณะ (2020) ได้ทำการเตรียมอนุภาคนาโน Carboplatin Loaded Silk Fibroin ในการทดสอบกับเซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ MCF-7 ผลการศึกษาพบว่าเซลล์มะเร็งมีการตายของเซลล์แบบ Apoptosis ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และให้ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 10-200  $\mu\text{g/mL}$  [108]

Ouyang และคณะ (2020) ได้ทำการศึกษา DOX-loaded pectin nanoparticles ที่มีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีขนาดประมาณ 150 นาโนเมตรในเซลล์มะเร็งเต้านม จากการศึกษาพบว่า DOX-loaded pectin nanoparticles มีฤทธิ์การต้านมะเร็งเต้านม MCF-7/ADR ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และให้ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1-5  $\mu\text{g/mL}$  [109]

ถึงแม้ว่าในปัจจุบันนี้จะเริ่มมีผู้ให้ความสนใจการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาระบบนำส่งยาเพิ่มมากขึ้นแต่งานวิจัยทางด้านนี้ยังคงอยู่ในระยะเริ่มต้น ยังต้องการการค้นคว้าทดลองและการบูรณาการความรู้ในแขนงวิชาต่าง ๆ เช่น ชีวเคมี เคมี ฟิสิกส์ วัสดุศาสตร์ เภสัชศาสตร์และการแพทย์ เป็นต้น เพื่อให้สามารถนำไปใช้ได้จริง ทั้งนี้มีการพัฒนาตัวนำส่งยาที่สร้างขึ้นจากวัสดุต่าง ๆ ซึ่งแต่ละชนิดก็มีทั้งข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไปดังที่ได้กล่าวไปบ้างแล้วข้างต้น สำหรับความรู้ของการรวมกันของคาร์โบพลาคิน (CP) ดีออกซิริบูซิน (DOX) และอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) ยังไม่ได้รับการศึกษาเพื่อรักษาโรคมะเร็ง เมื่อพิจารณาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของวัสดุนาโน เช่นอนุภาคนาโน ZnO เขมิกอนดักเตอร์ร่วมกับ CP และ DOX สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็ง ZnO ใช้ในงานหลายอย่างเช่นการบำบัดน้ำเสีย การแพทย์ และการเกษตร นอกจากนี้ยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมด้วย คุณสมบัติความเป็นพิษต่ำ การรวมกันของ ZnO CP และ DOX มีแนวโน้มที่จะปรับปรุงการกำหนดเป้าหมายในการทำลายเซลล์มะเร็งในอนาคต ดังนั้นการเข้าใจถึงผลกระทบของความซับซ้อนเหล่านี้จึงเป็นที่น่าสนใจเป็นพิเศษ การศึกษาในปัจจุบันนี้รายงานตัวเลือกการรักษาที่มีอยู่และกำลังจะเกิดขึ้น และมีความเข้าใจอย่างลึกซึ้งซึ่งเกี่ยวกับการบำบัดที่มีแนวโน้มสำหรับสำหรับโรคมะเร็ง

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินงานวิจัย

เนื้อหาในบทนี้จะอธิบายถึงหลักการทำงานของวัสดุอุปกรณ์และสารเคมี การจัดระบบการทดลองที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยรวมถึงกระบวนการในการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์กับยาเคมีบำบัด โดยมีเนื้อหาหลักดังนี้

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

3.2 ระบบวัดที่เกี่ยวข้อง

3.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลองอนุโมลอิสระ DPPH

3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาตินและยาเคมีบำบัดดอกชูโรบิซิน (ZnO+CP+DOX)

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

##### 3.1.1 วัสดุสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

1. ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (Carboplatin) เป็นสารประกอบที่มีแพลตินัมเป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในรูปที่ 3.1 เป็นน้ำยาปราศจากเชื้อสำหรับฉีด ใส ไม่มีสีถึงสีเหลืองอ่อน ขนาด 450 mg/45 mL ผลิตในประเทศอินเดีย โดย Fresenius Kabi Oncology Limited ได้รับความอนุเคราะห์จากคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดีประเทศไทย มีคุณสมบัติดังแสดงในตารางที่ 3.1



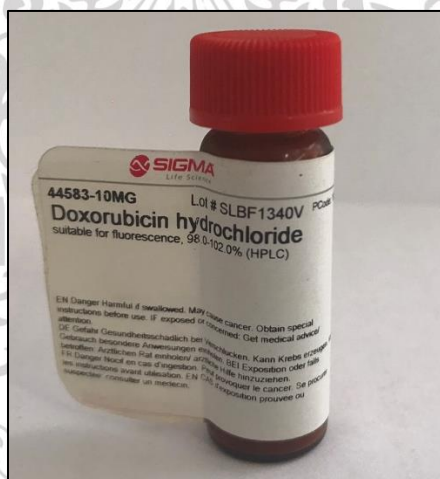
รูปที่ 3.1 ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาตินที่ใช้ในงานวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 คุณสมบัติของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน

คุณสมบัติ	คาร์โบพลาทิน
ชื่อทางเคมี	(SP-4-2)-Diammine[cyclobutan-1,1-dicarboxylato(2-)-O,O'] platin
สูตรเคมี	$C_6H_{12}N_2O_4Pt$
มวลโมเลกุล	371.25 g/mol

2. ยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (Doxorubicin) เป็นยาที่สกัดได้จากเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยในดิน ที่มีชื่อว่า Streptomyces มีลักษณะเป็นผงสีส้ม ดังแสดงคุณสมบัติในตารางที่ 3.2 จากบริษัท Sigma Aldrich สหรัฐอเมริกา ดังแสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซินที่ใช้ในงานวิจัย

ตารางที่ 3.2 คุณสมบัติของยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน

คุณสมบัติ	ดอกชูรูบิซิน
ชื่อทางเคมี	Adriamycin
สูตรเคมี	$C_{27}H_{29}NO_{11}$
มวลโมเลกุล	579.98 g/mol
ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนและเปล่งแสง	485 nm และ 595

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สารอนุมูลอิสระ DPPH เป็นสารอนุมูลอิสระมีลักษณะเป็นผงสีม่วง ใช้เป็นแบบจำลอง เซลล์มะเร็ง ดังแสดงในรูปที่ 3.3 และมีคุณสมบัติดังแสดงในตารางที่ 3.3



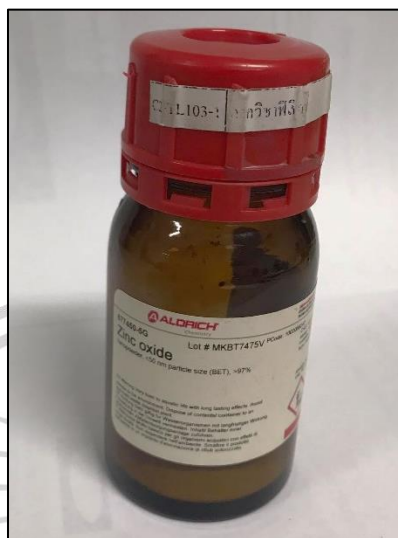
รูปที่ 3.3 สารอนุมูลอิสระ DPPH ที่ใช้ในงานวิจัย

ตารางที่ 3.3 คุณสมบัติของสารอนุมูลอิสระ DPPH

คุณสมบัติ	DPPH
ชื่อทางเคมี	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
สูตรเคมี	$C_{18}H_{12}N_5O_6$
มวลโมเลกุล	394.32 g/mol
ความยาวคลื่นที่ดูดกลืน	517 nm

5. อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) มีลักษณะเป็นผงสีขาว ซื้อมาจาก บริษัท Sigma Aldrich ดังแสดงในรูปที่ 3.4 และมีคุณสมบัติดังแสดงในตารางที่ 3.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

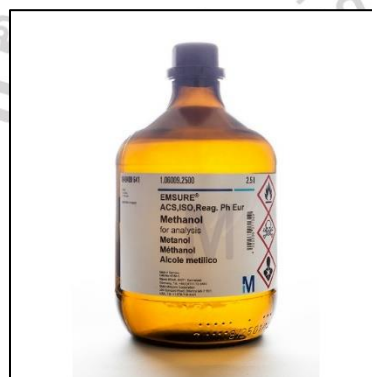


รูปที่ 3.4 อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ใช้ในงานวิจัย

ตารางที่ 3.4 คุณสมบัติของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

คุณสมบัติ	อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์
ชื่อทางเคมี	Zinc oxide
สูตรเคมี	ZnO
ขนาดอนุภาค	< 50 nm
มวลโมเลกุล	81.39 g/mol
ความยาวคลื่นที่ดูดกลืน	387 nm

6. เมทานอล ความบริสุทธิ์ 99.99% จากบริษัท Merck KGaA ดังแสดงในรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 เมทานอล ความบริสุทธิ์ 99.99%

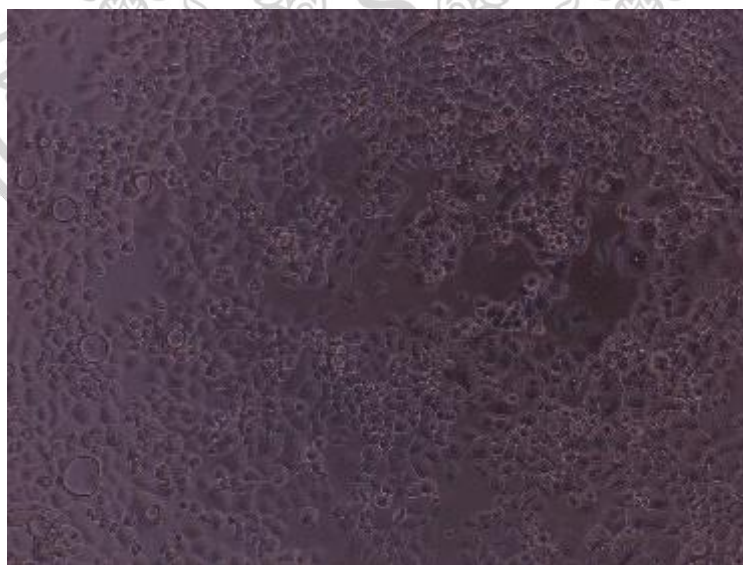
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. น้ำเกลือ 0.9 % ชนิดฉีดเข้าเส้นเลือดดำ ดังแสดงในรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 น้ำเกลือ 0.9 %

8. เซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง ประกอบด้วย เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Human colon adenocarcinoma) สายพันธุ์ HT-29 แสดงในรูปที่ 3.7 เซลล์มะเร็งในช่องปาก (Human oral cavity carcinoma) สายพันธุ์ KB แสดงในรูปที่ 3.8 เซลล์มะเร็งเต้านม (Human breast adenocarcinoma) สายพันธุ์ MCF-7 แสดงในรูปที่ 3.9 เซลล์มะเร็งตับของชน (Human hepatocarcinoma) สายพันธุ์ HepG2 แสดงในรูปที่ 3.10 และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก สายพันธุ์ HeLa (Human cervical adenocarcinoma) แสดงในรูปที่ 3.11

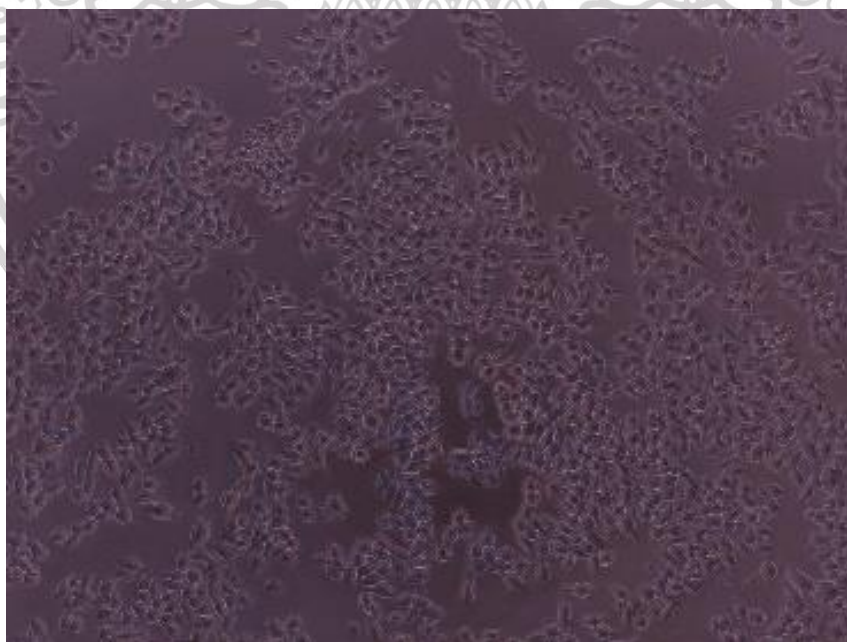


รูปที่ 3.7 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Human colon adenocarcinoma) สายพันธุ์ HT-29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

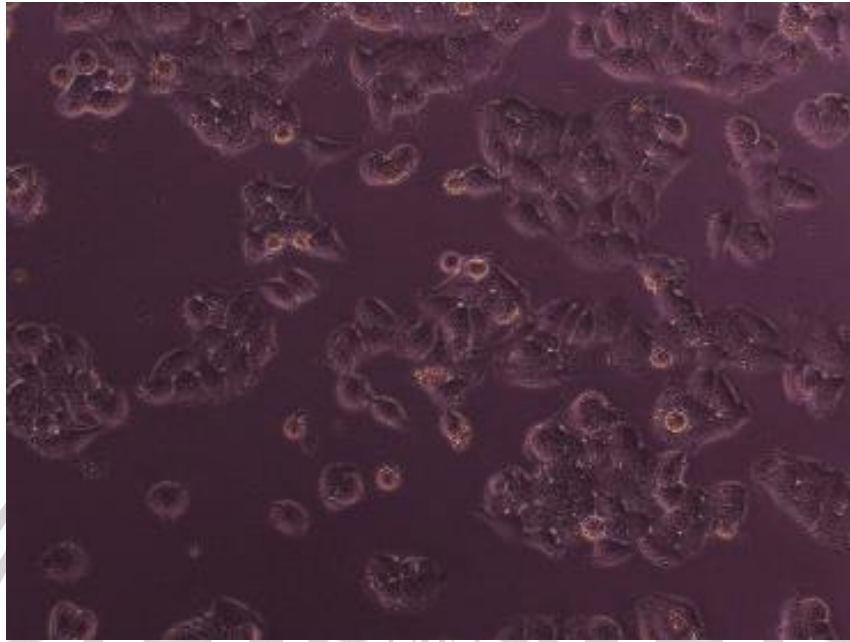


รูปที่ 3.8 เซลล์มะเร็งในช่องปาก (Human oral cavity carcinoma) สายพันธุ์ KB

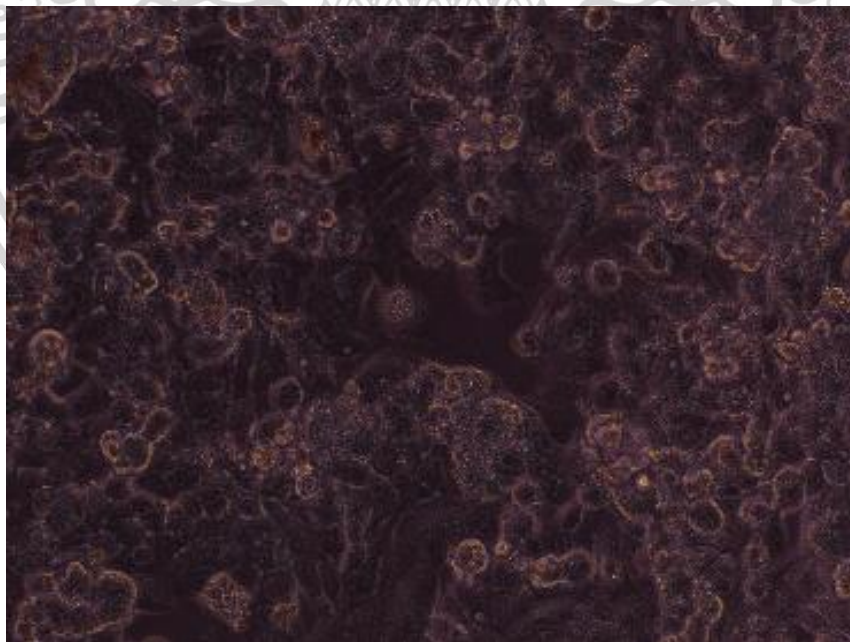


รูปที่ 3.9 เซลล์มะเร็งเต้านม (Human breast adenocarcinoma) สายพันธุ์ MCF-7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



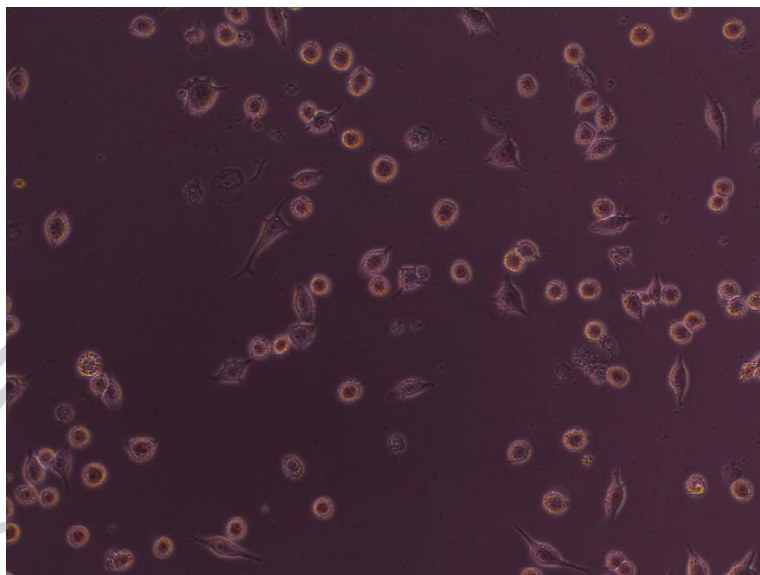
รูปที่ 3.10 เซลล์มะเร็งตับของคน (Human hepatocarcinoma) สายพันธุ์ HepG2



รูปที่ 3.11 เซลล์มะเร็งปากมดลูก สายพันธุ์ HeLa (Human cervical adenocarcinoma)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. เซลล์ปกติ (Human keratinocyte immortal cells) สายพันธุ์ HaCat แสดงในรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 เซลล์ปกติ (Human keratinocyte immortal cells) สายพันธุ์ HaCat

### 3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

#### 3.1.2.1 เครื่องมือ

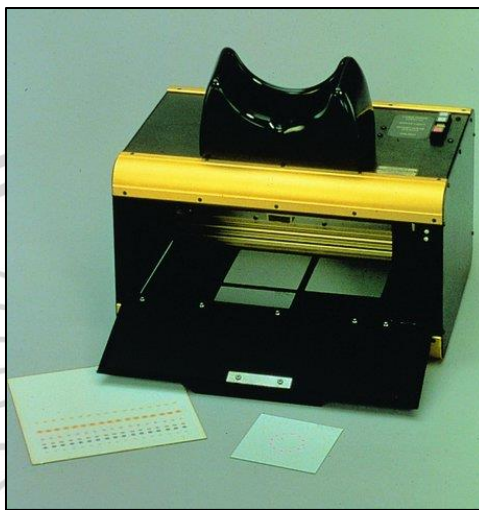
1. เครื่อง UV-Vis-NIR spectrophotometer (Avaspec-EDU) ทำหน้าที่วัดปริมาณแสงและความเข้มแสง ในช่วงความยาวคลื่นที่กำหนดคือ 200 นาโนเมตร ถึง 1100 นาโนเมตร



รูปที่ 3.13 เครื่อง UV-Vis-NIR spectrophotometer (Avaspec-EDU)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เครื่อง UV Chamber (Model CX-21) ทำหน้าที่เป็นแหล่งกำเนิดรังสียูวีที่มีความยาวคลื่น 256 nm ดังแสดงในรูปที่ 3.14



รูปที่ 3.14 เครื่อง UV Chamber (Model CX-21)

3. เครื่องชั่งสารดิจิตอล รุ่น Pioneer ทำหน้าที่ชั่ง ตวง สารให้ได้ตามปริมาณที่ต้องการ ดังแสดงในรูปที่ 3.15



รูปที่ 3.15 เครื่องชั่งสารดิจิตอล รุ่น Pioneer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เครื่องเขย่าสาร Vortex mix ทำหน้าที่ผสมสารละลายในเวลาสั้น ดังแสดง  
ในรูปที่ 3.16



รูปที่ 3.16 เครื่องเขย่าสาร Vortex mix

5. เครื่องปั่นเหวี่ยงสำหรับแยกสาร (Centrifuge) ทำหน้าที่แยกสารส่วนที่เป็นของแข็งออกจากส่วนที่เป็นของเหลว ดังแสดงในรูปที่ 3.17



รูปที่ 3.17 เครื่องปั่นเหวี่ยงสำหรับแยกสาร (Centrifuge) รุ่น Force 1418

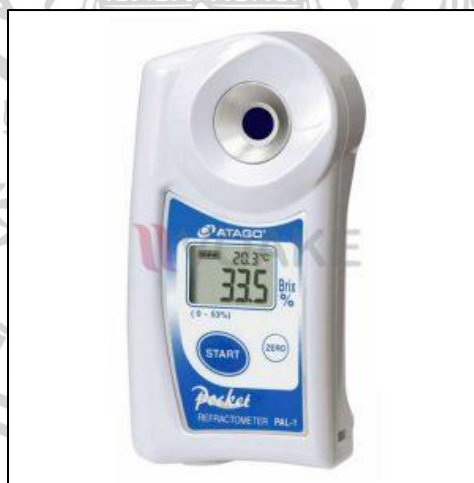
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เครื่องอัลตราโซนิก ทำหน้าที่ละลายขนาดอนุภาคนาโนซึ่งค็อกไซด์ให้เป็นสารแขวนลอยด้วยคลื่นความถี่ แสดงในรูปที่ 3.18



รูปที่ 3.18 เครื่องอัลตราโซนิก

7. เครื่องวัดดัชนี รุ่น Pocket refractometer ทำหน้าที่วัดค่าดัชนีหักเหของสารตัวอย่าง ดังแสดงในรูปที่ 3.19



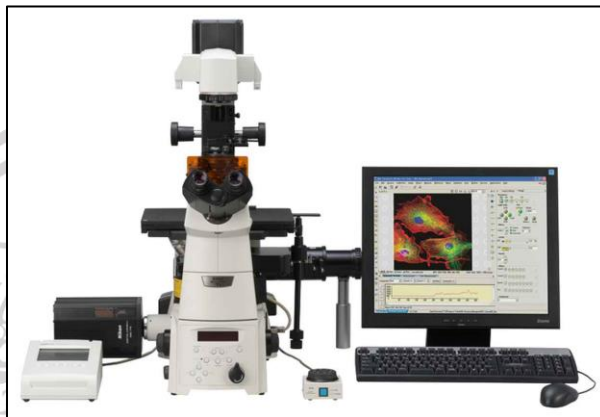
รูปที่ 3.19 เครื่องวัดดัชนี รุ่น Pocket refractometer

8. ไดโอดเปล่งแสง (Light Emitting Diode: LED) ไดโอดเปล่งแสงสีเขียวมีความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ทำหน้าที่กระตุ้นยาเคมีบำบัดดอกชูรูปซินให้เกิดการเปล่งแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. ไมโครปิเปต ขนาด 10-100  $\mu\text{L}$  และ ขนาด 100-1000  $\mu\text{L}$  ทำหน้าที่วัด ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการทดลองซึ่งมีความแม่นยำสูง

10. กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Nikon รุ่น Eclipse Ti ทำหน้าที่ส่องดูการนำยาเข้าสู่ เซลล์มะเร็ง และถ่ายภาพเพื่อนำไปวิเคราะห์ผลด้วยคอมพิวเตอร์ ดังแสดงในรูปที่ 3.20



รูปที่ 3.20 กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Nikon รุ่น Eclipse Ti

11. เครื่อง Microplate Readers ยี่ห้อ Biochrom รุ่น EZ Read 2000 ทำหน้าที่วัดการดูดกลืนแสงของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง และเซลล์มะเร็งปกติ เพื่อวิเคราะห์หาค่าความเป็นพิษ ต่อเซลล์



รูปที่ 3.21 Microplate Readers ยี่ห้อ Biochrom รุ่น EZ Read 2000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. เครื่อง FTIR รุ่น Perkin elmer spectrum GX ทำหน้าที่วิเคราะห์  
จำแนกประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์และพันธะเคมีหรือหมู่ฟังก์ชันในสารตัวอย่าง แสดงในรูปที่  
3.22



รูปที่ 3.22 เครื่อง FTIR รุ่น Perkin elmer spectrum GX

13. เครื่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron  
Microscope, TEM) รุ่น JEOL JEM-1400 ทำหน้าที่ตรวจสอบโครงสร้างหรือองค์ประกอบต่าง ๆ ของสาร  
ตัวอย่าง แสดงในรูปที่ 3.23



รูปที่ 3.23 เครื่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน รุ่น JEOL JEM-1400

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14. เครื่องวัดขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้า (Particle size analyzer Malvern) รุ่น Zetasizer Nano ZSP ทำหน้าที่วัดขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตรได้ในช่วง 0.3 นาโนเมตร ถึง 10 ไมครอน ใช้ทดสอบหาค่าศักย์ซีต้าของสารคอลลอยด์ ที่มีค่าศักย์ซีต้าอยู่ในช่วง  $-200$  ถึง  $+200$  มิลลิโวลต์ แสดงในรูปที่ 3.24



รูปที่ 3.24 เครื่องวัดขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้า รุ่น Zetasizer Nano ZSP

#### 3.1.2.2 วัสดุที่ใช้ในงานวิจัย

1. ปีกเกอร์ขนาด 50 และ 250 มิลลิลิตร
2. ขวดแก้วขนาด 10 และ 20 มิลลิลิตร
3. คิวเวทท์ (Cuvette)
4. แท่นวางคิวเวทท์ (Cuvette rack)
5. หลอดดูดสารละลาย (Tips)
6. หลอดไมโครเซนติฟิว (Micro centrifuge tube) ขนาด 2 มิลลิลิตร
7. จานเพาะเลี้ยงชนิด 24 หลุม
8. กระดาษกรองสาร
9. แผ่นพาราฟิล์ม
10. กระดาษ Kimwipes
11. ซ้อนตักสาร
12. กระจกชนิด Ethanol 75%
13. ถุงมือ
14. หน้ากากปิดจมูก (Mask)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

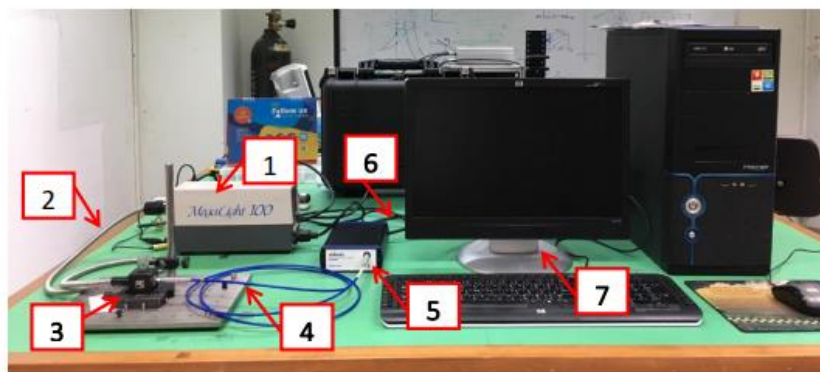
## 3.2 ระบบวัดที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

ในหัวข้อนี้ จะอธิบายถึงระบบต่าง ๆ ที่ใช้ในงานวิจัย ได้แก่ ระบบวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย และ ระบบวัดการเปล่งแสงของสารละลาย รวมถึงอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย ดังแสดงตามหัวข้อต่อไป

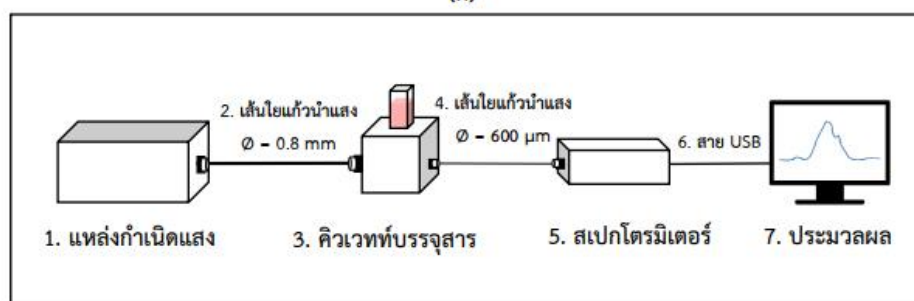
### 3.2.1 ระบบวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย

ในการทดลองเพื่อศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงของสารละลาย มีอุปกรณ์ที่ใช้ดังนี้

1. แหล่งกำเนิดแสง ใช้แหล่งกำเนิดแสงจากหลอดไฟทังสเตน จากบริษัท Schott Megalight 100 ให้สเปกตรัมแสงในย่านความยาวคลื่น 400 ถึง 900 นาโนเมตร ใช้แรงดันไฟฟ้า 12 โวลต์ ใช้ กระแสไฟฟ้า 0.9 แอมแปร์
  2. เส้นใยแก้วนำแสงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 มิลลิเมตร ใช้สำหรับนำแสงจากแหล่งกำเนิดแสงมายังสารตัวอย่าง
  3. คิวเวทพลาสติก รุ่น Macro cuvette จากบริษัท Brain ใช้บรรจุสารละลาย ในการวัดสเปกตรัมแสง แทนจ็บยัดคิวเวท ใช้สำหรับยัดจ็บคิวเวทและต่อกับสายใยแก้วนำแสง
  4. เส้นใยแก้วนำแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 600 ไมโครเมตร ใช้สำหรับนำส่งแสงจากสารตัวอย่างในคิวเวทมายังเครื่องสเปกโตรมิเตอร์
  5. เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ รุ่น Avaspec-EDU จากบริษัท AvaSpec ใช้สำหรับวัดสเปกตรัมแสง ในย่านความยาวคลื่น 200 ถึง 1100 นาโนเมตร
  6. สาย USB ใช้สำหรับนำส่งข้อมูลที่ได้จากการวัดเข้าสู่เครื่องคอมพิวเตอร์
  7. เครื่องคอมพิวเตอร์ ใช้สำหรับประมวลผลค่าการดูดกลืนแสง ด้วยโปรแกรม Avasoft
- 7 ผู้วิจัยได้จัดระบบการวัดการดูดกลืนแสงดังรูปที่ 3.25



(ก)



(ข)

### รูปที่ 3.25 ระบบวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย (ก) ภาพจริง (ข) แผนภาพระบบวัด

จากแผนภาพระบบการวัดสมบัติการดูดกลืนแสงของสารละลาย รูปที่ 3.25 แสงจากแหล่งกำเนิดแสงทั้งสแตนจะเดินทางผ่านสายใยแก้วนำแสงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 มิลลิเมตร เพื่อนำแสงจากแหล่งกำเนิดแสงมายังสารตัวอย่างที่อยู่ในคิวเวทท์ แสงจะตกกระทบกับสารตัวอย่างและส่งผ่านออกมาซึ่งแสงที่ผ่านออกมานั้นจะถูกนำเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ด้วยสายใยแก้วนำแสงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 600 ไมโครเมตร แสงที่เข้าเครื่องสเปกโตรมิเตอร์จะถูกวิเคราะห์ส่งเข้าสู่เครื่องคอมพิวเตอร์ผ่านสาย USB และทำการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยโปรแกรม Avasoft 7 โดยสมการ

$$A = -\log \frac{I}{I_0} \quad (3.1)$$

เมื่อ  $A$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย

$I$  คือ ปริมาณแสงที่ผ่านออกจากคิวเวทท์

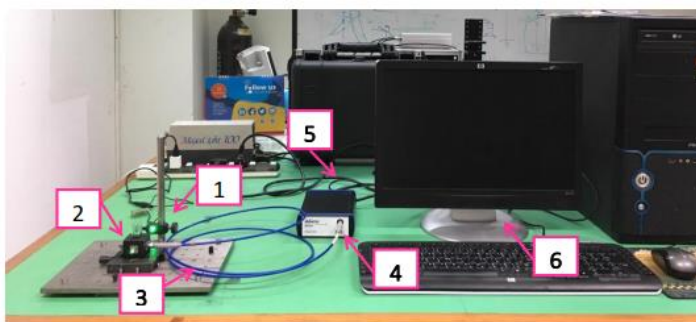
$I_0$  คือ ปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในคิวเวทท์

### 3.2.2 ระบบวัดการเปล่งแสงของสารละลาย

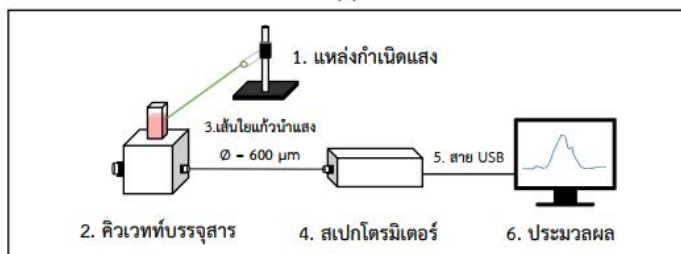
ในการทดลองเพื่อศึกษาสมบัติการเปล่งแสงของสารละลาย มีอุปกรณ์ที่ใช้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แหล่งกำเนิดแสง ใช้แหล่งกำเนิดแสงจากเลเซอร์ จากบริษัท Thorlabs GmbH มีความเข้มแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ให้แสงสีเขียว ในการกระตุ้นสารเรืองแสง
2. คิวเวทท์พลาสติก (Brain-Macro cuvette) และแท่นจับยึดคิวเวทท์
3. สายใยแก้วนำแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 600 ไมโครเมตร
4. เครื่องสเปกโตรมิเตอร์
5. สาย USB
6. เครื่องคอมพิวเตอร์
7. เครื่องวัดดัชนีหักเห (ATAGO - Pocket refractometer) ใช้สำหรับวัดดัชนีหักเหของสาร ในช่วง 1.3306 – 1.5284



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.26 ระบบวัดการเปล่งแสงของสารละลาย (ก) ภาพจริง (ข) แผนภาพระบบวัด

ในการวัดสเปกตรัมการเปล่งแสงของสารละลาย ผู้วิจัยได้จัดระบบการวัดการเปล่งแสงดังรูปที่ 3.26 จากแผนภาพระบบการวัดสมบัติการเปล่งแสงของสารละลาย รูปที่ 3.26 แสงจากแหล่งกำเนิดแสงเลเซอร์จะตกกระทบกับสารตัวอย่างที่อยู่ในคิวเวทท์ในทิศทำมุม 90 องศา และส่องผ่านออกมาเข้าสู่เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ด้วยสายใยแก้วนำแสงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 600 ไมโครเมตร แสงที่เข้าเครื่องสเปกโตรมิเตอร์จะถูกระเหิดเข้าสู่เครื่องคอมพิวเตอร์ผ่านสาย USB และทำการวิเคราะห์ค่าการเปล่งแสงของสารละลายด้วยโปรแกรม Avast 7 เช่นกัน

### 3.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลองอนุโมลติสระ DPPH

ในหัวข้อนี้จะอธิบายถึงขั้นตอนการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน รวมถึงการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับการเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน โดยใช้แบบจำลองเซลล์มะเร็ง ดังหัวข้อต่อไปนี้

#### 3.3.1 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน

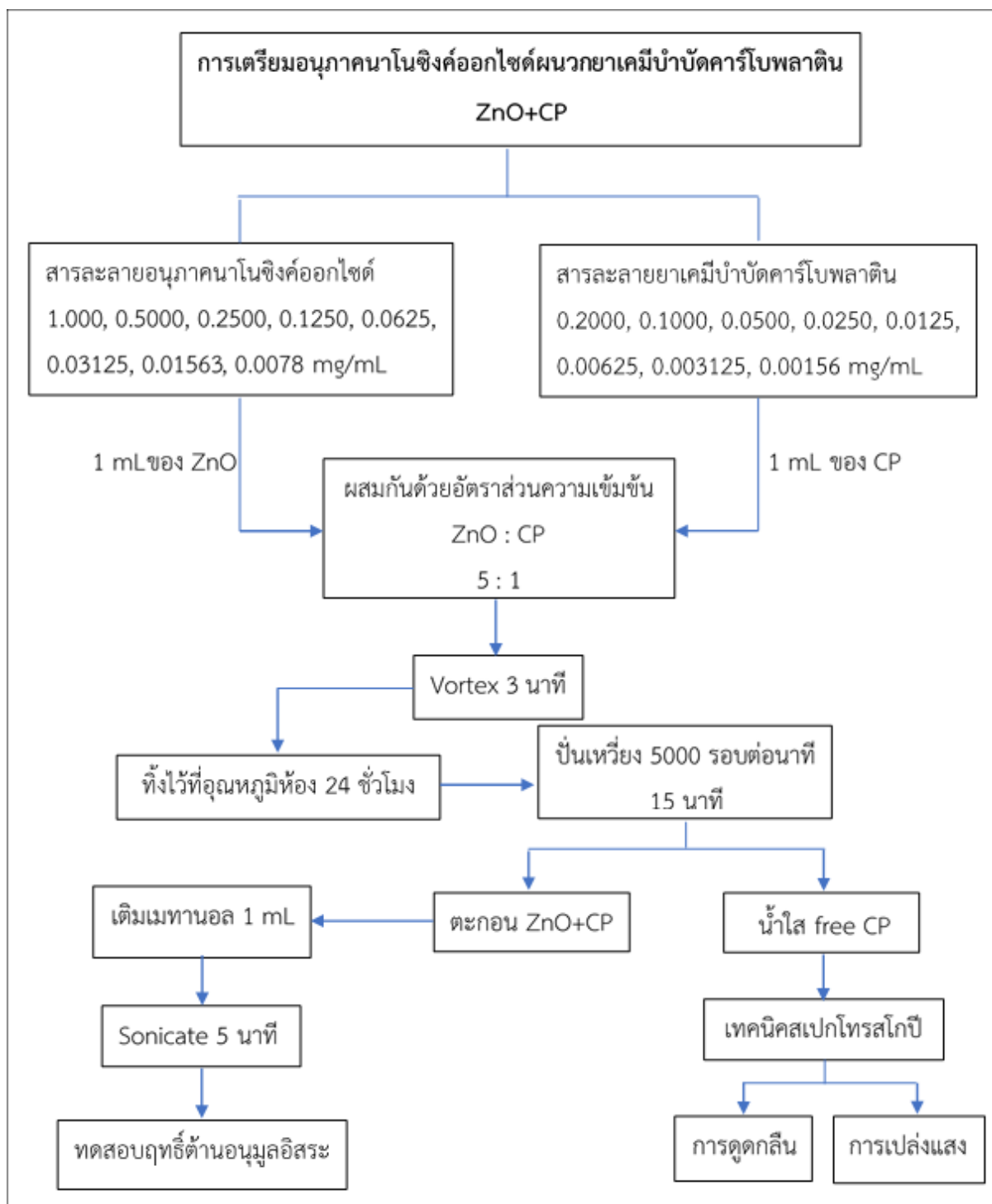
การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินมีขั้นตอนดังแสดงในแผนผังรูปที่ 3.26 และมีวิธีการเตรียมดังนี้

1. ชั่งอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ปริมาณ 0.0200 g เติมเมทานอลปริมาตร 10 mL จากนั้นนำไปใส่เครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เป็นสารแขวนลอย จะได้ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เท่ากับ 2 mg/mL
2. ทำการเจือจางความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ตามตารางที่ 3.5 (วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก ก)
3. เจือจางยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินจากความเข้มข้น 10 mg/mL ด้วยน้ำเกลือ 0.9 % ให้มีความเข้มข้นตามตารางที่ 3.5 (วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก ก)
4. นำสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) ความเข้มข้นตามตารางที่ 3.5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร รวมกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (CP) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในอัตราส่วนความเข้มข้น ZnO ต่อ CP คือ 5:1 นำไป Vortex 3 นาที เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการจับตัวกันระหว่างอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP)
5. นำสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่จับกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP) มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกน้ำใส (Free CP) กับตะกอน (ZnO+CP) ออกจากกัน
6. นำส่วนที่เป็นน้ำใสมาวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งมีระบบการวัดดังรูป 3.25
7. นำส่วนที่เป็นตะกอนของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่จับกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP) เติมเมทานอลปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไป Sonicate 5 นาที เพื่อเตรียมทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 3.5 ความเข้มข้นและอัตราส่วนของสารละลาย ZnO และ Carboplatin ที่ต้องการทดสอบ

ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง				อัตราส่วน ความเข้มข้น ZnO : CP
ZnO NPs		Carboplatin		
mg/mL	$\mu\text{M}$	mg/mL	$\mu\text{M}$	
1.0000	12286.5200	0.2000	538.7205	5:1
0.5000	6143.2600	0.1000	269.3603	5:1
0.2500	3071.6300	0.0500	134.6801	5:1
0.1250	1535.8150	0.0250	67.3401	5:1
0.0625	767.9076	0.0125	33.6700	5:1
0.0313	383.9538	0.00625	16.8350	5:1
0.0156	191.9769	0.00312	8.4040	5:1
0.0078	95.9885	0.00156	4.2020	5:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.27 แผนผังแสดงการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

#### 3.3.2.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารอนุมูลอิสระ

ในการคำนวณหาประสิทธิภาพการลดลงของสารอนุมูลอิสระ DPPH\* จะต้องทราบตัวแปรค่าความเข้มข้น (C) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสง (A) ดังนั้นเพื่อให้ทราบถึงค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH\* สัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสง จึงต้องมีกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) เพื่อแสดงความสัมพันธ์ดังกล่าว

#### วิธีการทดลอง

1. ชั่งสารต้านอนุมูลอิสระ 0.0020 g ใส่ในขวดแก้ว แล้วเติมเมทานอล 50 mL จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 100  $\mu$ M (วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก ก)
2. นำสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH มาทำการ Sonicate ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
3. ทำการเจือจางสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH\* ตามตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 ตารางแสดงการเจือจางสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH\* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น DPPH เริ่มต้น	DPPH (mL)	MeOH (mL)	ความเข้มข้น DPPH ที่ต้องการ	ปริมาตร (mL)
100	1.8	0.2	90	2
90	1.6	0.4	80	2
80	1.4	0.6	70	2
70	1.2	0.8	60	2
60	1.0	1.0	50	2
50	0.8	1.2	40	2
40	0.6	1.4	30	2
30	0.4	1.6	20	2
20	0.2	1.8	10	2

4. ผสมสารด้วยการปั่นด้วยเครื่อง Vortex 2 นาที จะได้สารละลายอนุมูลอิสระ DPPH\* ที่ความเข้มข้น 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 และ 10  $\mu$ M ตามลำดับ

5. นำสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH\* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาเติมลงในคิวเวท ปริมาตร 2 mL จากนั้นปิดด้วยแผ่นพาราฟิล์มมาปิดรอบคิวเวท

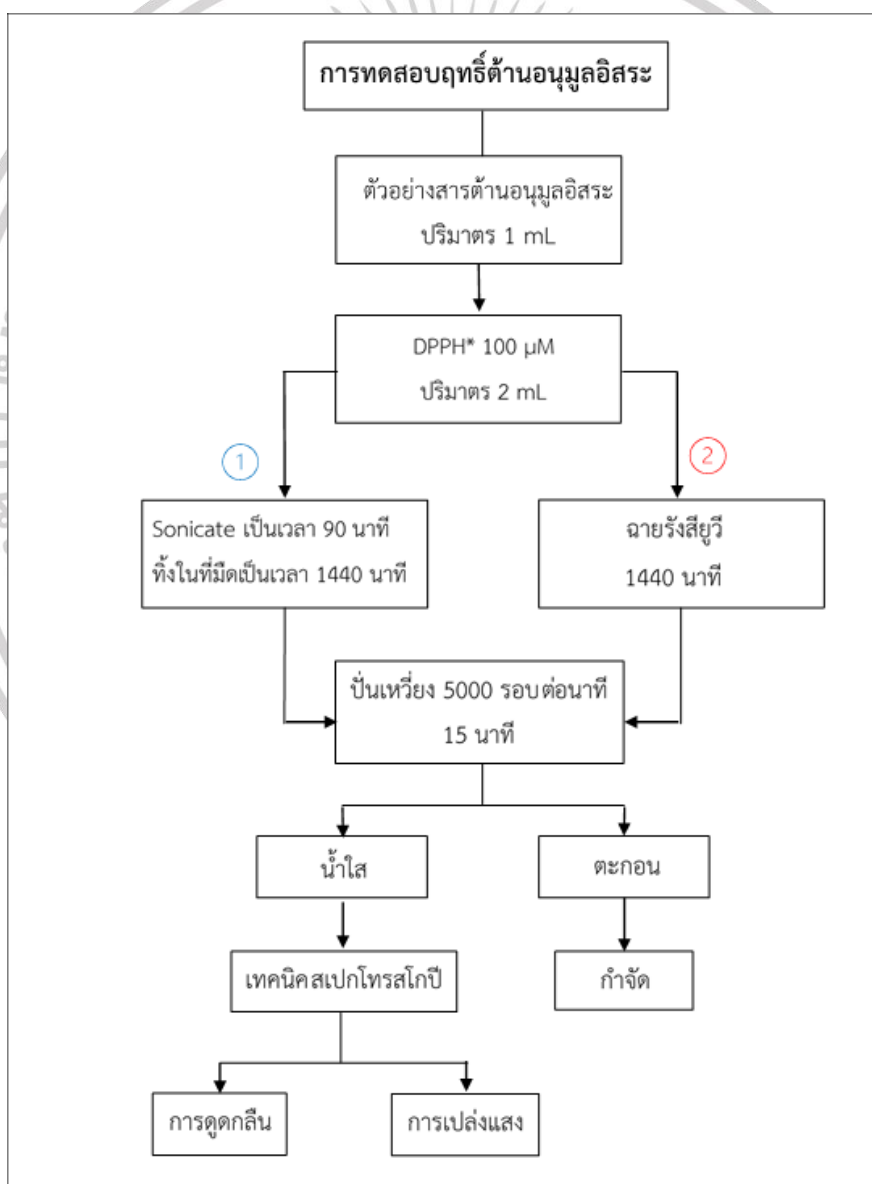
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. นำสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH\* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาวัดค่าการดูดกลืนด้วยด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงทั้งสแตน ซึ่งมีระบบการวัดดังรูป 3.24

7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มข้นกับความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายเพื่อหาสมการเชิงเส้น

### 3.3.2.2 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างต้านอนุมูลอิสระมีขั้นตอนการทดสอบดังแสดงในแผนภาพรูปที่ 3.28 และสามารถอธิบายได้ดังนี้



รูปที่ 3.28 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างในเซลล์มะเร็งจำลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. สารละลายตัวอย่างจะถูกเตรียมเป็น 2 ชุด คือ
  - ชุดที่ 1 เติมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในขวดแก้ว ปริมาตร 1 mL
  - ชุดที่ 2 เติมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงใน 24 Well plate ปริมาตร 1 mL
2. เติม DPPH ความเข้มข้น 100  $\mu$ M ปริมาตร 2 mL ในสารตัวอย่างทั้งสองชุด
  - ชุดที่ 1 นำไป Sonicate 90 นาที ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จากนั้นทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
  - ชุดที่ 2 ปิดกล่องด้วยพาราฟิล์มอย่างมิดชิด นำเข้าตู้รังสีอัลตราไวโอเล็ต ขนาด 8 วัตต์ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร (Spectroline: CX-21, Germany) เพื่อให้เกิดกระบวนการโฟโตคะตะไลซิสกับสารละลายตัวอย่างเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. เก็บสารตัวอย่างทุก ๆ 15 นาที เป็นเวลา 1440 นาที มาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกส่วนที่เป็นตะกอนและน้ำใส
4. นำส่วนที่เป็นน้ำใสมาวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งมีระบบการวัดดังรูป 3.24 นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปหาความเข้มข้น โดยการเทียบจากกราฟมาตรฐาน (จากข้อ 3.3.2.1)
5. นำค่าความเข้มข้นของสารละลายที่ได้จากการเทียบกราฟมาตรฐานมาคำนวณหาค่า %Remaining DPPH จากสมการ 3.2

$$\% \text{Remaining DPPH} = \frac{[C_{ss} \cdot 100]}{C_{is}} \quad (3.2)$$

โดยที่  $C_{is}$  คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลาย DPPH\*

$C_{ss}$  คือ ความเข้มข้นสถานะอิ่มตัวของสารละลาย DPPH\* ที่เทียบได้จากกราฟมาตรฐาน

6. คำนวณค่ากำลังต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (ARP) จากสมการ 3.3

$$\text{Dependence of \% inhibition} = 100 \times \frac{(A_0 - A_{\text{mean}})}{(A_0)} \quad (3.3)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยที่  $A_0$  คือค่าดูดกลืนแสงอนุมูลอิสระ DPPH\*  
 $A_{\text{mean}}$  คือค่าการดูดกลืนแสงสารละลายทดสอบที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ

7. สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %Remaining DPPH กับ เวลาที่เกิดปฏิกิริยาเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ DPPH ที่สถานะอิ่มตัว

8. นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 7 มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %Remaining DPPH at steady state กับ อัตราส่วนโมลของสารละลายตัวอย่างต่อ DPPH เพื่อวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีผลต่อการลดจำนวนของอนุมูลอิสระลงไปครึ่งหนึ่งจากจำนวนเริ่มต้นของอนุมูลอิสระ ( $EC_{50}$ )

9. คำนวณหาค่า ปริมาณสารสัมพันธ์ (Stoichiometry) จากสมการ 3.4

$$\text{Stoichiometry} = 2 * EC_{50} \quad (3.4)$$

10. คำนวณหาค่าจำนวน DPPH\* ที่ลดลง Number of reduced DPPH\* จากสมการ 3.5

$$\text{Number of reduced DPPH}^* = 1 / \text{Stoichiometry} \quad (3.5)$$

11. วิเคราะห์ค่าที่ได้จากการคำนวณ

### 3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน

#### 3.4.1 การเตรียมสารละลาย

ในหัวข้อนี้จะมีการเตรียมสารละลายทั้งหมด 3 ส่วน ประกอบด้วย การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคิน (ZnO+CP) การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (ZnO+DOX) และการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (ZnO+CP+DOX) ดังแสดงในแผนภาพรูปที่ 3.28 ซึ่งใช้ค่าความเข้มข้นของสารละลายตามตารางที่ 3.7 และมีวิธีการเตรียมดังนี้

ตารางที่ 3.7 แสดงความเข้มข้นและอัตราส่วนของสารละลาย ZnO CP DOX และ CP+DOX

ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง							อัตราส่วนความเข้มข้น	
ZnO NPs		CP		DOX		CP+DOX	ของสารละลาย	
µg/mL	µM	µg/mL	µM	µg/mL	µM	µg/mL	ZnO : CP+DOX	CP : DOX
31.25	388.9538	3.1250	8.4175	3.1250	5.3881	6.25	5:1	1:1
31.25	388.9538	4.6880	12.6276	1.5630	2.6949	6.25	5:1	3:1
31.25	388.9538	5.4690	14.7313	0.7813	1.3471	6.25	5:1	7:1
31.25	388.9538	5.8600	15.7845	0.3906	0.6734	6.25	5:1	15:1
31.25	388.9538	6.0550	16.3098	0.1953	0.3367	6.25	5:1	31:1

#### 3.4.1.1. การเตรียมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคติน

1. ชั่งอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ปริมาณ 0.0025g เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 mL ผสมด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 30 นาที ทำการเจือจางความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ตามตารางที่ 3.7 (วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก ก)

2. เจือจางยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคตินด้วยน้ำเกลือ 0.9 % ให้มีความเข้มข้นตามตารางที่ 3.7

3. นำสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) ความเข้มข้นตามตารางที่ 3.7 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร รวมกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคติน (CP) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในอัตราส่วนความเข้มข้น ZnO นำไป Vortex 3 นาที เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการจับตัวกันระหว่างอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคติน (ZnO+CP)

4. นำสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่จับกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคติน (ZnO+CP) มาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้น เพื่อแยกน้ำใส (Free CP) กับตะกอน (ZnO+CP) ออกจากกัน

5. นำส่วนที่เป็นน้ำใสมาวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งมีระบบการวัดดังรูป 3.6

6. นำส่วนที่เป็นตะกอนของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่จับกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคติน (ZnO+CP) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไป Sonicate 5 นาที เพื่อเตรียมทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระ ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง และศึกษาลักษณะโครงสร้างของอนุภาคซิงค์นาโนออกไซด์ที่ผนวกกับยาเคมีบำบัด

### 3.4.1.2 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน

1. ทำตามขั้นตอนให้หัวข้อที่ 3.4.1.1 แต่เปลี่ยนยาเคมีบำบัดเป็น DOX ซึ่งมีความเข้มข้นตามตารางที่ 3.7 (วิธีการเตรียมความเข้มข้นของ DOX แสดงในภาคผนวก)

### 3.4.1.3 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลลาตินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน

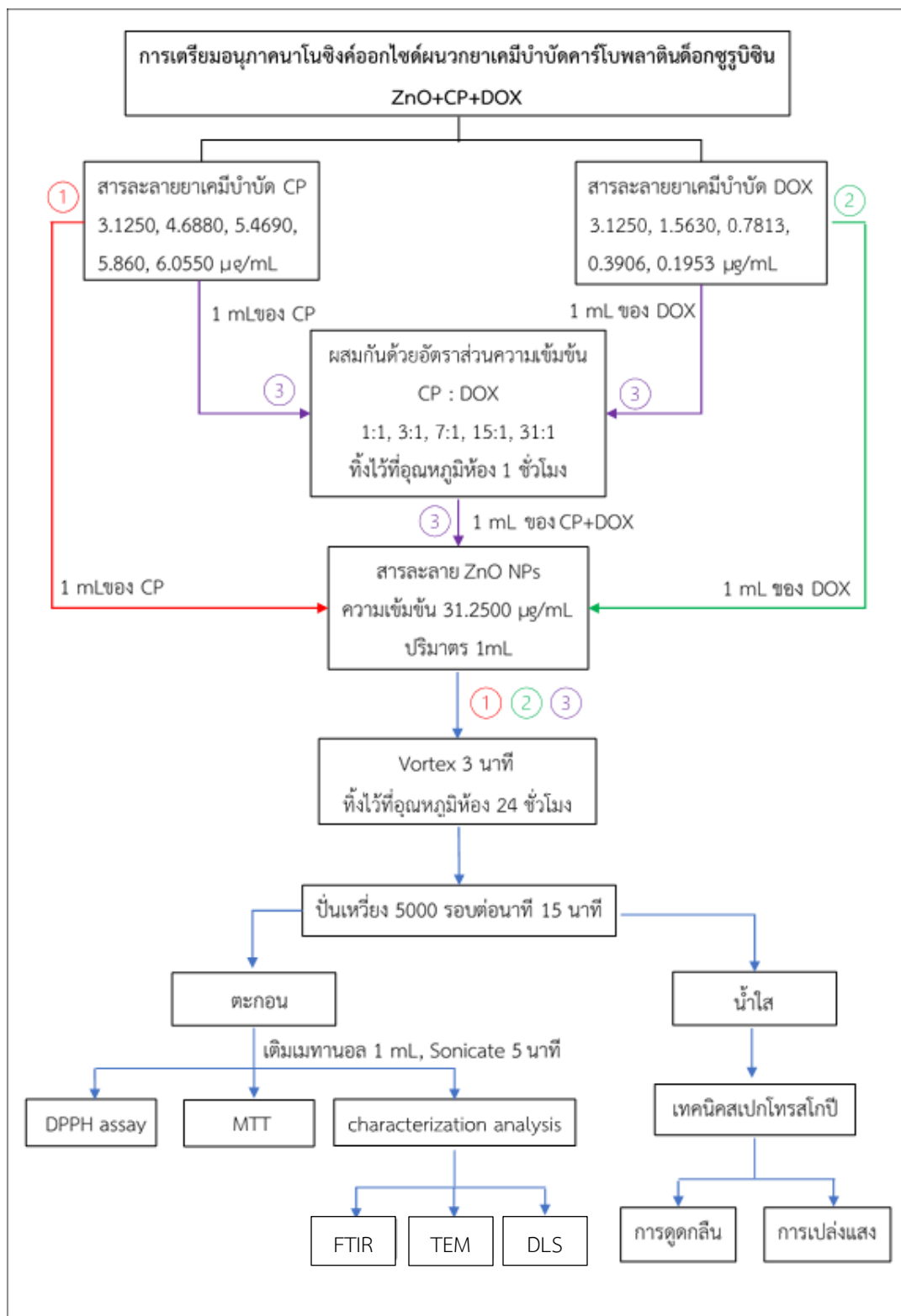
1. นำสารละลายยาเคมีบำบัดคาร์โบพลลาติน (CP) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร รวมกับยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (DOX) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในอัตราส่วนความเข้มข้น CP ต่อ DOX ตามตารางที่ 3.7 นำไป Vortex 3 นาที เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการจับตัวกันระหว่างยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซินกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลลาติน (CP+DOX)

2. เติมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายยาเคมีบำบัดคาร์โบพลลาตินจับตัวกับยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (CP+DOX) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในอัตราส่วนความเข้มข้นของ ZnO ต่อ CP+DOX คือ 5:1 นำไป Vortex 3 นาที เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการจับตัวกันระหว่างอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลลาตินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (ZnO+CP+DOX)

3. นำสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่จับกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลลาตินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (ZnO+CP+DOX) มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกส่วนที่เป็นตะกอน (ZnO+CP+DOX) และน้ำใส (Free CP+DOX) ออกจากกัน

4. นำส่วนที่เป็นน้ำใส (Free CP+DOX) มาวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งมีระบบการวัดดังรูป 3.25

5. นำส่วนที่เป็นตะกอนของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่จับกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลลาตินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (ZnO+CP+DOX) เติมเมทานอลปริมาณ 1 มิลลิลิตร ทำให้กลับมาเป็นสารแขวนลอยอีกครั้งโดยใช้เครื่องอัลตราโซนิก Sonicate 5 นาที เพื่อเตรียมทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง และศึกษาลักษณะโครงสร้างของอนุภาคซิงค์นาโนออกไซด์ที่ผนวกกับยาเคมีบำบัด



รูปที่ 3.29 แสดงแผนผังการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับยาเคมีบำบัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4.2 การหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลาย Rh6G ที่ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-6}$  M นำไปวัดสเปกตรัมการดูดกลืนและสเปกตรัมการเปล่งแสง เพื่อใช้เป็นสารอ้างอิง

2. นำสารละลาย DOX CP+DOX ที่เตรียมในหัวข้อที่ 3.4.1 ตามตารางที่ 3.7 และนำส่วนที่เป็นน้ำใสของสารละลาย Free DOX ที่เตรียมในหัวข้อที่ 3.4.1.2 และ Free CP+DOX ที่เตรียมในหัวข้อที่ 3.4.1.3 มาวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสเปกตรัมการเปล่งแสงโดยใช้เครื่องเปกโตรมิเตอร์

3. วัดค่าดัชนีหักเหแสง (Refractive index) ของสารละลายอ้างอิง Rh6G, DOX, CP+DOX, Free DOX, และ Free CP+DOX ด้วยเครื่องวัดดัชนี รุ่น Pocket refractometer จากบริษัท ATAGO

4. คำนวณหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์จากสมการ 3.6

$$\Phi_F = \Phi_{F(R)} \frac{I}{I_R} \frac{A_R}{A} \frac{n^2}{n_R^2} \quad (3.6)$$

เมื่อ  $\Phi_{F(X)}$  คือ ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของสารตัวอย่าง

$\Phi_{F(R)}$  คือ ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของสารอ้างอิง

$I$  คือ พื้นที่ใต้กราฟความเข้มแสงของการเปล่งแสงของสารตัวอย่าง

$I_R$  คือ พื้นที่ใต้กราฟความเข้มแสงของการเปล่งแสงของสารอ้างอิง

$A$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารตัวอย่าง

$A_R$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารอ้างอิง

$n$  คือ ค่าดัชนีหักเหแสงของสารตัวอย่าง

$n_R$  คือ ค่าดัชนีหักเหแสงของสารอ้างอิง

5. สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกับค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์

6. วิเคราะห์ค่าที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. ทำการทดสอบตามหัวข้อ 3.3.2 ทุกประการ แต่เปลี่ยนสารละลายที่ได้จากตะกอนของสารที่เตรียมได้จากหัวข้อ 3.4.1 (หัวข้อย่อยที่ 3.4.1.1 ข้อ 6, 3.4.1.2 ข้อ 6, 3.4.1.3 ข้อ 5)

### 3.4.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

วิธีการเตรียมสารตัวอย่าง

1. นำสารละลายที่ได้จากตะกอนของ ZnO+CP ZnO+DOX และ ZnO+CP+DOX ที่เตรียมได้จากหัวข้อ 3.4.1 (หัวข้อย่อยที่ 3.4.1.1 ข้อ 6, 3.4.1.2 ข้อ 6, 3.4.1.3 ข้อ 6)
2. เจือจางสารตัวอย่าง แล้วกรองด้วยแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร สำหรับใช้ในการทดสอบ

วิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

1. แพลกเซลล์ไลน์ จำนวน  $1 \times 10^5$  Cells/mL ลงใน 96-Well plate ปริมาตร 100  $\mu$ L/Well จำนวน 2 plat
2. หลังจากครบ 24 ชั่วโมง ดูดอาหารออกจากแต่ละหลุม จากนั้นเติมสารตัวอย่างความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 100  $\mu$ L/Well ถ่ายภาพที่ความเข้มสูงสุดด้วยกล้อง Inverted microscope with Fluorescence system จากนั้นนำไปบ่ม
  - 2.1 Plat ที่ 1 บ่มเซลล์ในตู้บ่ม อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO<sub>2</sub> นาน 24 ชั่วโมง
  - 2.2 Plat ที่ 2 บ่มเซลล์ในกล้อง UV ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร นาน 24 ชั่วโมง
3. เมื่อบ่มเซลล์ครบตามเวลาที่กำหนด นำมาถ่ายภาพอีกครั้ง
4. เติม MTT ความเข้มข้น 5 mg/mL, 10  $\mu$ L/Well แล้วนำไปบ่มเป็นเวลา 4 ชั่วโมง
5. เมื่อบ่มเซลล์ใน MTT ครบ 4 ชั่วโมง ดูดสารละลาย MTT ที่ทิ้ง และเติมสารที่ละลายผลึก Formazan ในที่นี้ใช้ 100% DMSO:10% SDS อัตราส่วน 9:1 ปริมาตร 100  $\mu$ L/well
6. นำไปวัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ตั้งโปรแกรมเขย่า 5 นาที ก่อนวัดค่า OD
7. คำนวณค่า % Cytotoxicity ของสารแต่ละชนิด โดยใช้สมการ 3.7

$$\% \text{ Cytotoxicity} = \left[ \frac{A-B}{A} \right] \times 100 \quad (3.7)$$

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารตัวอย่างแต่ละชนิด

โดยค่า A และ B จะต้องนำค่าการดูดกลืนแสงของ Blank (ในที่นี้ คือหลุมที่เติมสารละลาย 100% DMSO : 10% SDS) มาหักลบออกก่อน จากนั้นจึงนำไปคำนวณจากสมการข้างต้น

### 3.4.5 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ผนวกยาเคมีบำบัด

3.4.5.1 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี  
(Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR)

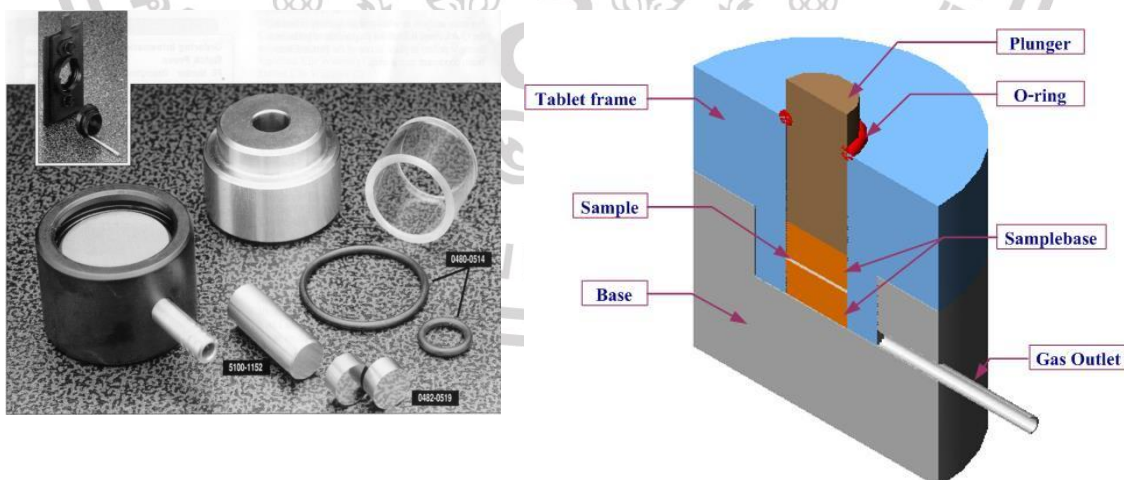
1. นำสารละลายที่ได้จากตะกอนของ ZnO, DOX, ZnO+CP, ZnO+DOX และ ZnO+CP+DOX ที่เตรียมได้จากจากหัวข้อ 3.4.1 (หัวข้อย่อยที่ 3.4.1.1 ข้อ 6, 3.4.1.2 ข้อ 6, 3.4.1.3 ข้อ 6) นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ผงของสารตัวอย่าง

2. ชั่งผงของสารตัวอย่างปริมาณ 0.002 g มาบดรวมกับโพแทสเซียมโบไมด์ (KBr for Spectrometer) ที่อบแห้งแล้วจำนวน 0.5 g ทำการบดให้ละเอียด

3. จากนั้นนำใส่ในแม่พิมพ์ ซึ่งเรียกว่า Die ดังรูปที่ 3.30 แล้วนำเข้าเครื่องอัดเม็ดดังรูปที่ 3.30 ภายใต้ความดัน  $10^4$  kg/cm<sup>2</sup> นาน 5 นาที

4. นำเม็ดสารตัวอย่างออกจากแม่พิมพ์ แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง FTIR

5. วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการวัด



รูปที่ 3.30 แสดงส่วนประกอบของแม่พิมพ์ (Die) สำหรับอัดเม็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.31 แสดงเครื่องอัดเม็ด

3.4.5.2 การตรวจสอบสัณฐานวิทยาและโครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM)

1. นำสารละลายที่ได้จากตะกอนของ ZnO, ZnO+CP, ZnO+DOX, และ ZnO+CP+DOX ที่เตรียมจากจากหัวข้อ 3.4.1 (หัวข้อย่อยที่ 3.4.1.1 ข้อ 6, 3.4.1.2 ข้อ 6, 3.4.1.3 ข้อ 6) มาหยดลงบนเทปคาร์บอน ทั้งให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำไปวัดด้วยเครื่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด TEM รุ่น JEM-1400 Flash

3. วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการวัด

3.4.5.3 การตรวจสอบความเป็นสารแขวนลอยของอนุภาคด้วยเทคนิค Dynamic light scattering (DLS)

1. นำสารละลายที่ได้จากตะกอน ZnO, ZnO+CP, ZnO+DOX, และ ZnO+CP+DOX ที่เตรียมจากหัวข้อ 3.4.1 (หัวข้อย่อยที่ 3.4.1.1 ข้อ 6, 3.4.1.2 ข้อ 6, 3.4.1.3 ข้อ 6) มาหยดลงคิวเวท

2. นำไปวัดด้วยเครื่อง MALVERN รุ่น Zetasizer Nano ZSP

3. วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการวัด

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

เนื้อหาในบทนี้จะอธิบายถึงผลที่ได้จากการศึกษาผลของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ใช้ในการนำส่งยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินและยาเคมีบำบัดดอกซูรูบิซิน ไปยังเซลล์มะเร็งเป้าหมาย โดยมีเนื้อหาหลักดังนี้

4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลองอนุมูลอิสระ DPPH

4.2 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินและยาเคมีบำบัดดอกซูรูบิซิน (CP+DOX+ZnO)

4.3 ผลการศึกษาหมู่ฟังก์ชันและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัด

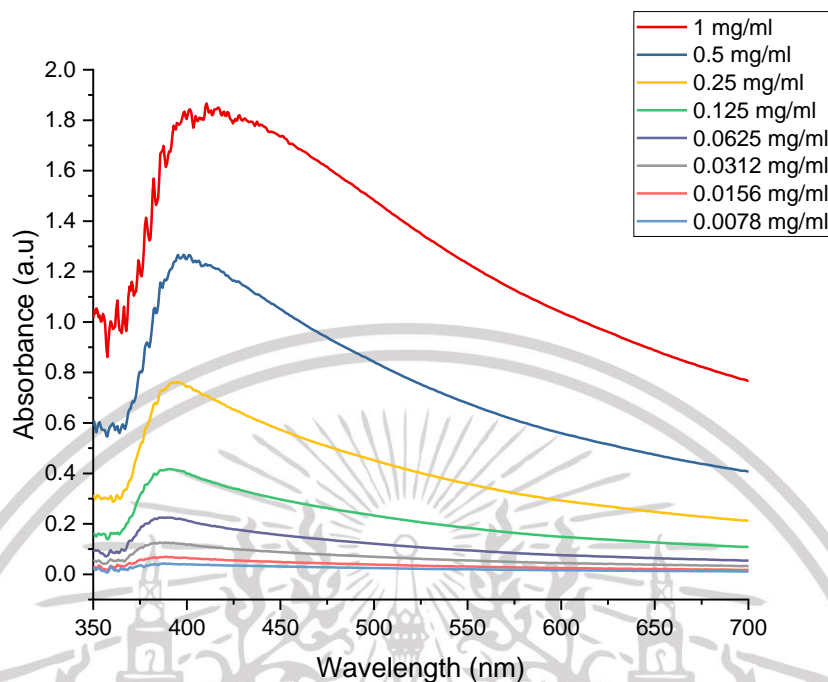
4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินและยาเคมีบำบัดดอกซูรูบิซิน (CP+DOX+ZnO)

#### 4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลองอนุมูลอิสระ DPPH

##### 4.1.1 ผลการศึกษาสมบัติทางแสงของสารละลาย

##### 4.1.1.1 การศึกษาสมบัติทางแสงของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

ผลการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ในช่วงความเข้มข้น 0.0078 ถึง 1.000 mg/mL แสดงในรูปที่ 4.1



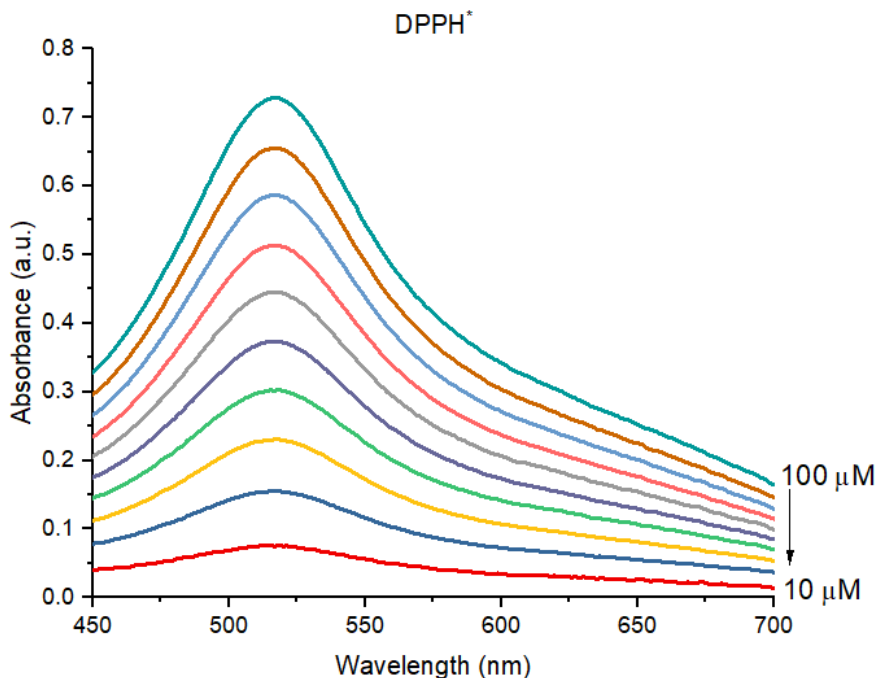
รูปที่ 4.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากกราฟแสดงให้เห็นว่า สารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความเข้มข้น 1.0000 mg/mL และพบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นต่ำลง จากรูปค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยมีพีคสูงสุดตรงกับความยาวคลื่นประมาณ 379 nm ซึ่งใกล้เคียงค่าแบนด์แก๊ปของซิงค์ออกไซด์ (3.2 eV หรือ 380 nm) [110]

เมื่อปริมาณความเข้มข้นของสารละลายเป็นสัดส่วนโดยตรงกับค่าการดูดกลืนตามหลักการวิเคราะห์กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต ดังนั้นเมื่อค่าความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มีค่าเพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงก็จะเพิ่มขึ้นไปด้วย

#### 4.1.1.2 การศึกษาสมบัติทางแสงของสารละลายอนุโมลอิสระ DPPH

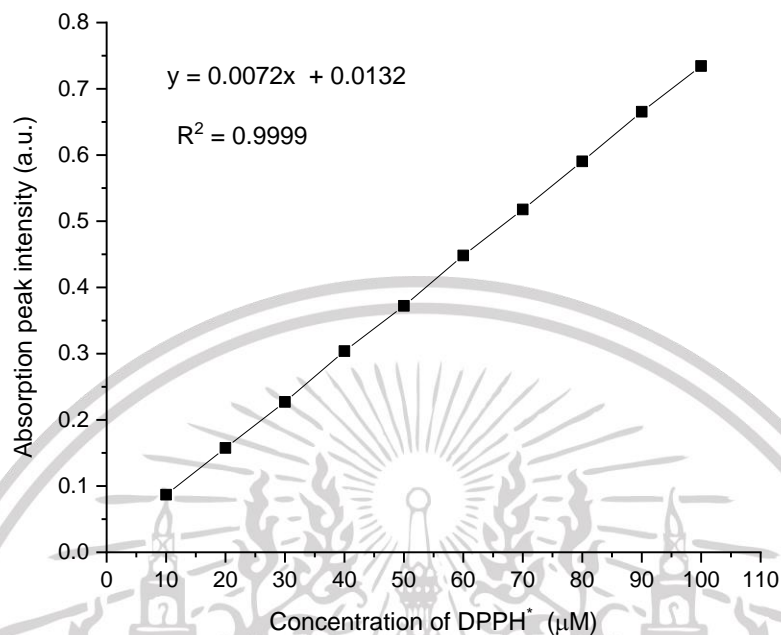
ผลการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายอนุโมลอิสระ DPPH ในช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 100  $\mu\text{M}$  แสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 10  $\mu\text{M}$  ถึง 100  $\mu\text{M}$

จากกราฟพบว่า สารละลายอนุมูลอิสระ DPPH มีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  และพบว่าค่าการดูดแสงจะลดลงเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นต่ำลง นั่นแสดงว่าค่าการดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert law) จากรูปค่าการดูดกลืนแสงมีพีคสูงสุดตรงกับความยาวคลื่นประมาณ 517 nm [111]

เมื่อนำค่าพีคการดูดกลืนสูงสุดของแต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ จะได้กราฟสอบเทียบมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 4.3 จากกราฟพบว่า ค่าการดูดกลืนของสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็นแบบเชิงเส้น โดยมีสมการเชิงเส้นคือ  $y = 0.072x + 0.0132$  และมีค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยเชิงเส้น  $R^2$  เท่ากับ 0.9999



รูปที่ 4.3 กราฟสอบเทียบของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH\*) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

#### 4.1.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งจำลองอนุมูลอิสระ DPPH

ปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH\* และสารต้านอนุมูลอิสระ ประกอบไปด้วย อนุภาคนาโน ZnO อนุภาคนาโน ZnO+UV ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาตินผสมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (CP+ZnO) และ CP+ZnO+UV เป็นไปตามกลไกจลนศาสตร์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงพยายามที่จะตรวจสอบธรรมชาติของพฤติกรรมจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH\* และตัวแทนยาต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิด การกำจัดอนุมูลอิสระแบบจลนศาสตร์ได้ดำเนินการสำหรับยาต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดจนกระทั่งถึงจุดอิ่มตัว เมื่อความเข้มข้นสูงสุดที่สุดของ อนุมูลอิสระ DPPH\* เปลี่ยนไปอย่างเห็นได้ชัด จากสีม่วง เป็นสีเหลืองอ่อนเมื่อปริมาณของยาต้านอนุมูลอิสระเปลี่ยนจากความเข้มข้นต่ำเป็นสูง ดังแสดงในรูปที่

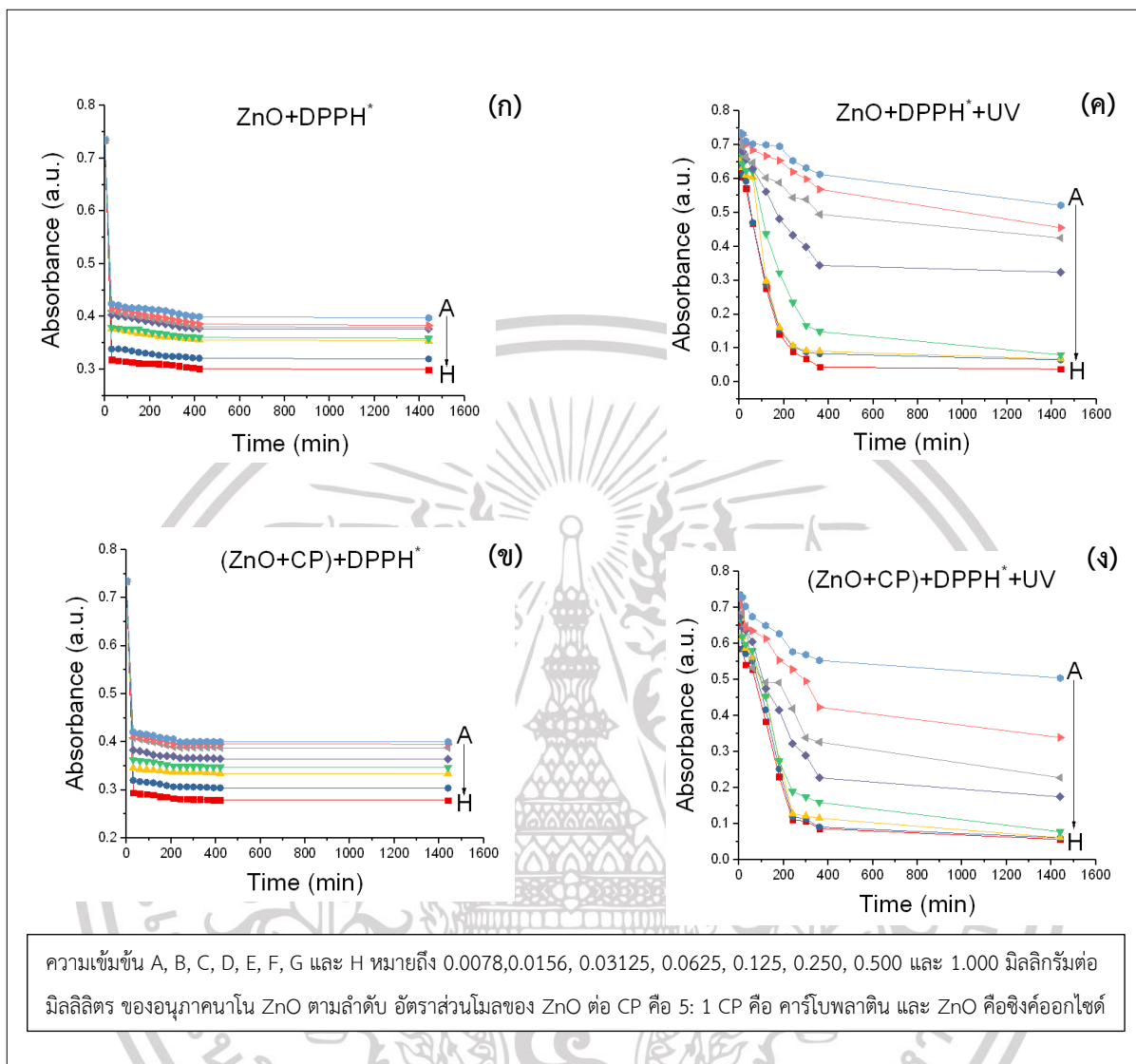
4.4



**รูปที่ 4.4** การเปลี่ยนไปของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH \*) ที่เกี่ยวกับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาแสดงในกราฟความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนกับเวลากระทั่งถึงจุดอิ่มตัวของความเข้มข้นที่แตกต่างกันของยาต้านอนุมูลอิสระ ดังแสดงในรูปที่ 4.5 จะเห็นได้ว่า การกำจัดอนุมูลอิสระจากอนุภาคนาโน ZnO ใน DPPH\* เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคนาโน ZnO เพิ่มขึ้น เวลาตอบสนองเพื่อเข้าสู่สถานะความอิ่มตัวเกิดขึ้นที่ 420 นาที ในขณะที่เดียวกันสำหรับอนุภาคนาโน ZnO + CP ซึ่งเวลาในการตอบสนองที่ต้องใช้เพื่อให้ถึงสถานะคงตัวก็คือ 420 นาที ในทางตรงกันข้าม ZnO + UV ไม่ถึงสภาวะอิ่มตัวที่ 420 นาที โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้น ZnO + UV ที่ต่ำกว่า แม้ว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นสูงกว่า ZnO + UV จะสูงกว่าที่ความเข้มข้น ZnO + UV ที่ต่ำกว่า แต่สถานะความอิ่มตัวยังคงไม่ถึง 420 นาที เช่นเดียวกับ ZnO + UV และ ZnO + CP + UV ไม่ถึงจุดอิ่มตัวที่ 420 นาทีที่ปริมาณสูงสุดของยาต้านอนุมูลอิสระ ที่ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับอนุภาคนาโน ZnO และ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคิน (CP) ดังนั้นในการศึกษาปัจจุบันโหมดเวลาตอบสนองคงที่ 420 นาทีไม่เหมาะสำหรับการประเมินคุณสมบัติของยาต้านอนุมูลอิสระและควรพิจารณาสถานะคงที่ที่ 1440 นาทีแทน และที่น่าสนใจคือปริมาณของ CP เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการศึกษาปัจจุบันน้อยกว่าที่รายงานในการทดสอบกับเซลล์มะเร็ง retinoblastoma ของ Kang และคณะ ใช้ปริมาณยาคาร์โบพลาคินที่ 10.0–37.5 mg/mL Shome และคณะ ใช้ยาในปริมาณ 10.0 mg/mL และ Kalita พร้อมคณะ ใช้ยาที่ปริมาณ 10 mg/mL [112,98,99] แต่ขนาดของ ZnO ที่ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการศึกษาปัจจุบันไม่ได้มีประสิทธิภาพสำหรับสิ่งมีชีวิต [113] แต่ยังมีประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางด้วยเช่นกัน [94,86]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

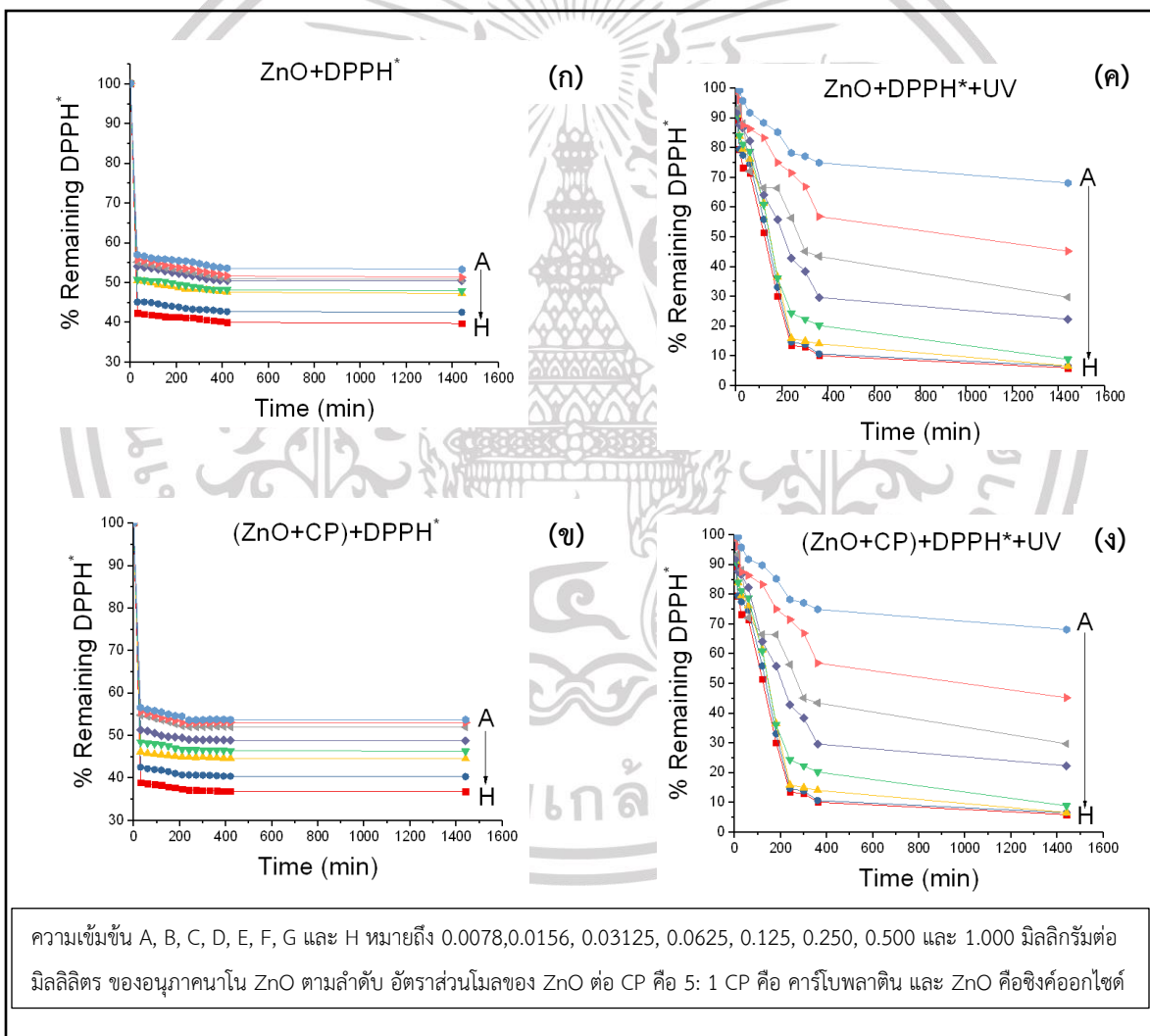


**รูปที่ 4.5** กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดซึ่งเป็นฟังก์ชันเวลาตอบสนองจากตัวแทนยาต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน

สำหรับ DPPH\* ที่เหลือที่สถานะความเข้มข้นตัวคำนวณจากเส้นโค้งการปรับเทียบแล้วถ่ายโอนไปยังรูปที่ 4.6 วิตามินซี (Ascorbic acid) มักถูกใช้เป็นโมเดลควบคุมในการประเมินเปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำงานของสารทดสอบโมเดลของอนุมูลอิสระ ปฏิกริยาระหว่างวิตามินซีและ DPPH\* นั้นรวดเร็วมากสามารถทำปฏิกิริยากันภายในไม่กี่นาที ดังนั้นจึงเป็นที่ชัดเจนว่าจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับลักษณะของสารต้านอนุมูลอิสระที่ผ่านการทดสอบ เวลาปฏิกิริยาของการกำจัด DPPH\*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

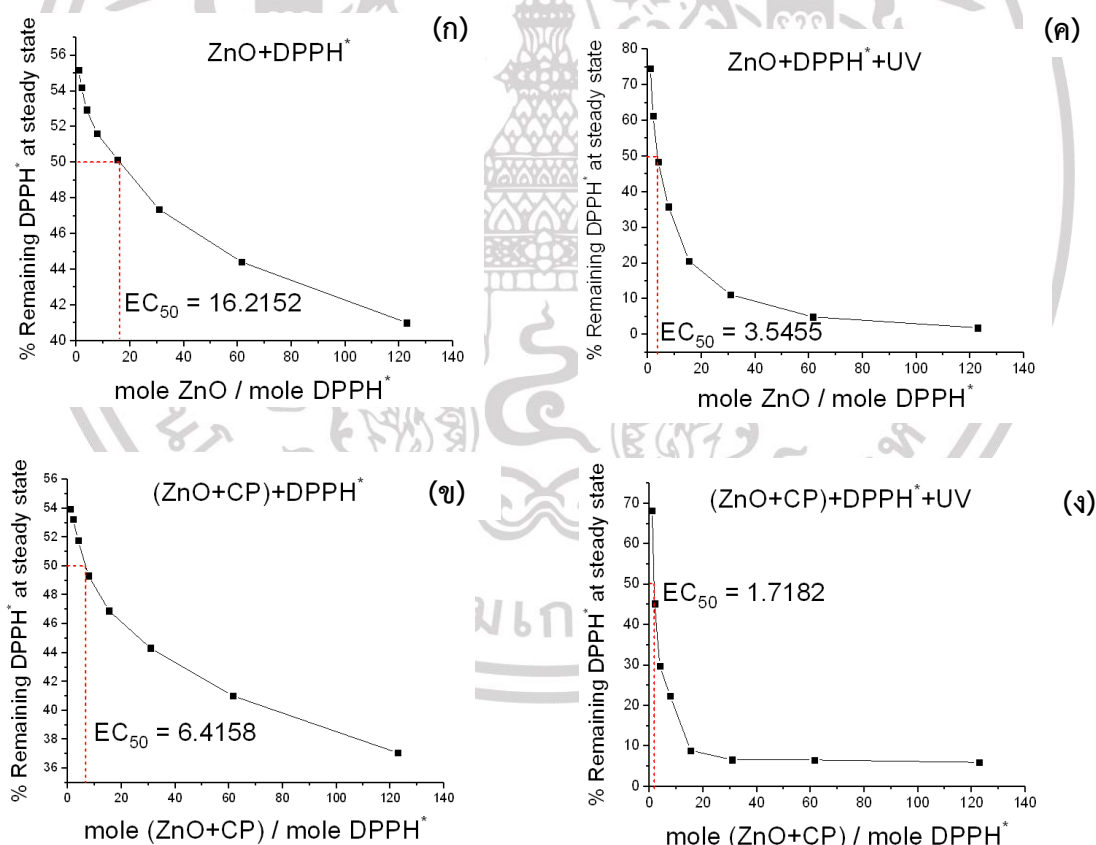
ด้วย ZnO และ ZnO + CP นั้นเร็วกว่า ZnO + UV และ ZnO + CP + UV ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระอาจแบ่งได้เป็นสองประเภทคือจลนศาสตร์กลางและช้า ในการศึกษาี้ พฤติกรรมจลนศาสตร์แรกมักจะทำปฏิกิริยากับ DPPH \* และเกี่ยวข้องกับ ZnO และ ZnO + CP ดังแสดงในรูปที่ 4.6 ปฏิกิริยาเหล่านี้ถึงสถานะคงตัวที่ 420 นาทีและถูกเรียกว่าจลนศาสตร์กลางเมื่อเทียบกับวิตามินซี พฤติกรรมจลนศาสตร์ที่สองช้าลงเมื่อทำปฏิกิริยากับ DPPH \* และเกี่ยวข้องกับ ZnO + UV และ ZnO + CP + UV เนื่องจากเวลาตอบสนองยังคงดำเนินต่อไปที่ 420 นาที ข้อมูลควรจะถูกวิเคราะห์ต่อไปจนกว่าจะถึงสถานะคงที่เพื่อหลีกเลี่ยงข้อผิดพลาดของข้อมูล สถานะคงที่จะถึง 1440 นาทีสำหรับปฏิกิริยาทั้งสองนี้ พฤติกรรมการเคลื่อนที่แบบซ้านี้แสดงโดยแผนภาพไฮเปอร์โบลิก



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ DPPH\* ที่เหลืออยู่กับเวลา จากยาต้านอนุมูลอิสระต่างชนิดกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DPPH\* ที่เหลือที่สถานะอิมิตัว แสดงถึงเปอร์เซ็นต์ของ DPPH\* ที่เหลืออยู่ที่สถานะอิมิตัวด้วย เวลาปฏิกิริยาจากความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นค่า  $EC_{50}$  ซึ่งเป็นหน้าที่ของจำนวนโมลของตัวแทนต้านอนุมูลอิสระต่อหนึ่งโมลของ DPPH\* ได้ถูกกำหนดไว้สำหรับตัวแทนการป้องกันอนุมูลอิสระแต่ละตัวดังแสดงในรูปที่ 4.6  $EC_{50}$  ในการศึกษาปัจจุบันมีความคล้ายคลึงกับ  $IC_{50}$  ในการทดสอบทางชีวภาพและพิจารณาว่าเป็นความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพที่จำเป็นในการลดความเข้มข้น DPPH\* เริ่มต้น 50% ค่านี้เขียนในรูปของอัตราส่วนโมลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อ DPPH\* ปัจจัยต่อต้านการต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญอีกประการหนึ่งของตัวแทนการต่อต้านอนุมูลอิสระ เช่นปริมาณสารสัมพันธ์ (Stoichiometry) ถูกกำหนดจากค่า  $EC_{50}$  ตัวอย่างเช่นค่า ARP เป็นการประมาณผกผันของค่า  $EC_{50}$  ค่า ARP ที่สูงขึ้นหมายถึงการกระทำต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น ค่าปริมาณสารสัมพันธ์ (stoichiometry) นั้นได้มาจากการคูณค่า  $EC_{50}$  ของสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละตัวด้วยสอง ค่าปริมาณสารสัมพันธ์ จะระบุจำนวนโมลของสารต้านอนุมูลอิสระที่จำเป็นในการลดหนึ่งโมลของ DPPH\*



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ DPPH\* ที่เหลืออยู่ที่สถานะอิมิตัวและค่า  $EC_{50}$  ของสารต้านอนุมูลอิสระ กับอัตราส่วนโมลของยาต้านอนุมูลอิสระต่อ DPPH\*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

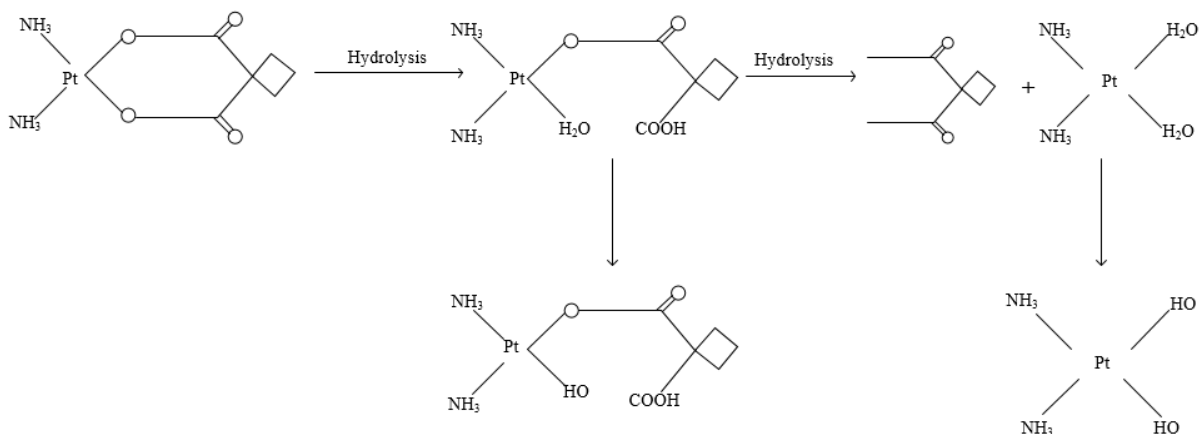
จากการศึกษาพบว่า ยาต้านอนุมูลอิสระที่ผ่านการทดสอบทั้งหมดไม่เคยทำปฏิกิริยากับ DPPH \* มากกว่า 75% ของความเข้มข้นดั้งเดิม ดังนั้น  $EC_{50}$  จึงจำเป็นที่ต้องการ การศึกษาปัจจุบันดังแสดงในรูปที่ 6 ด้วยการศึกษาวิเคราะห์ประเภทนี้กระบวนการต้านอนุมูลอิสระจะถูกวิเคราะห์ตามความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ของ DPPH\* อิมตัว เนื่องจากกลไกของปฏิกิริยาอยู่ในสภาวะอิมตัวและมีความสัมพันธ์กับอัตราส่วนโมลของยาต้านอนุมูลอิสระต่อ DPPH \* ในขณะที่เดียวกันก็มีความสัมพันธ์ระหว่าง  $EC_{50}$  และกำลังต้านอนุมูลอิสระ (ARP) ARP และถือเป็นค่าโดยประมาณของ  $EC_{50}$  ของแต่ละตัวแทนยาต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้น ARP จึงแสดงถึงอัตราส่วนโมลของ DPPH \* ต่อตัวแทนยาต้านอนุมูลอิสระ ในทางกลับกันค่า  $EC_{50}$  จะถูกกำหนดเป็นจำนวนของตัวแทนการป้องกันอนุมูลอิสระที่จำเป็นในการลดความเข้มข้นเริ่มต้นของ DPPH \* ลง 50% เมื่อค่า  $EC_{50}$  น้อยลง ARP จะเพิ่มขึ้น ดังนั้นขึ้นอยู่กับค่า ARP อันดับของการกำจัดอนุมูลอิสระของยาต้านอนุมูลอิสระจัดโดยรวมเป็น  $ZnO < ZnO + CP < ZnO + UV < ZnO + CP + UV$  ที่น่าสนใจค่า  $EC_{50}$  ที่ 1.72 เมื่อรวมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับคาร์โบพลาตินภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ต ( $ZnO+CP+UV$ ) ในการศึกษาปัจจุบันแสดงให้เห็นว่า การกำจัดอนุมูลอิสระของยาต้านอนุมูลอิสระต้านการเจริญของเซลล์ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอนุภาคนาโนโปรตีนที่บรรจุใน CP ในเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง retinoblastoma ( $EC_{50} = 4.20$ ) [97]

ปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของการกำจัดอนุมูลอิสระของยาต้านอนุมูลอิสระคือ ปริมาณสารสัมพันธ์ของยาต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิด ซึ่งแสดงถึงปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่จำเป็นต้องใช้ตามทฤษฎีเพื่อลดความเข้มข้นเริ่มต้นของ DPPH \* ที่ 100% ค่าปริมาณสารสัมพันธ์ (Stoichiometry) นั้นได้มาจากการคูณค่า  $EC_{50}$  ของยาต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดด้วยสอง

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบค่าพารามิเตอร์ต่างๆของสารต้านอนุมูลอิสระ

Antiradical test	Kinetic behavior	Effective concentration ( $EC_{50}$ )	Antiradical power (%) ARP)	Stoichiometry (=2* $EC_{50}$ )	Number of reduced DPPH* (=1/Stoichiometry)
ZnO	Intermediate	16.2152	60.2222	32.4304	0.0308
ZnO + CP	Intermediate	6.4158	63.1528	12.8316	0.0779
ZnO + UV	Slow	3.5455	94.0278	7.0910	0.1410
ZnO + CP + UV	Slow	1.7183	96.5667	3.3466	0.2988

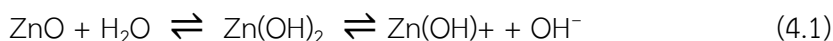
จากตารางที่ 4.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่ผ่านการทดสอบแสดงพฤติกรรมจลนศาสตร์สองประเภท นั้นขึ้นอยู่กับจำนวนของอะตอมไฮโดรเจนที่มีอยู่ในกลุ่มไฮดรอกซิล (OH) ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อะตอมไฮโดรเจนและการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากตัวแทนสารต้านอนุมูลอิสระ อาจนำไปสู่การเป็นกลางของ DPPH \* วิตามินซีไม่มีกลุ่มฟีนอลิกไฮดรอกซิล (Phenolic hydroxyl) และทำปฏิกิริยากับ DPPH \* ดังนั้นวิตามินซีจึงมีการทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วรวดเร็ว หากค่าของปริมาณสารสัมพันธ์ยิ่งสูงจำนวนของกลุ่มการทำงานที่มากขึ้นในการต้านอนุมูลอิสระและการกำจัดอนุมูลอิสระที่มากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ คาร์โบพลาติน หรือ 1,1-cyclobutylidicarboxylate ประกอบด้วยกลุ่มสารอินทรีย์ (คาร์บอกซิล) และกลุ่มอนินทรีย์ (Pt) หนึ่งโมเลกุลของ CP สามารถสร้างกลุ่มไฮดรอกซิลอย่างน้อยสามกลุ่มเพื่อลดโมเลกุล DPPH \* มากขึ้นดังแสดงในรูปที่ 4.7 โหมดระดับโมเลกุลของการกระทำของ CP อาจเกี่ยวข้องกับความว่องไวในการทำปฏิกิริยาที่คาดว่าจะออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามสมการที่ (1)



รูปที่ 4.8 ปฏิกิริยาการแตกตัวของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาติน (Carboplatin) ในกลุ่มไฮดรอกซิล

นอกจากนี้ยังชี้ให้เห็นว่ากลุ่ม dioxy สองกลุ่มและพันธะคู่เชื่อมโยงกันเป็นสองกลุ่มของ Ketonic ของ CP ส่งผลต่อคุณสมบัติการดูดซับที่สูงขึ้น [114,115]

การละลายและพื้นที่ผิวขนาดใหญ่ของอนุภาคนาโน ZnO แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลที่สำคัญในการดำเนินการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสามารถปลดปล่อย  $Zn^{2+}$  และ  $OH^-$  (ROS) เข้าสู่โมเลกุล DPPH \* ตามกระบวนการต่อไปนี้:

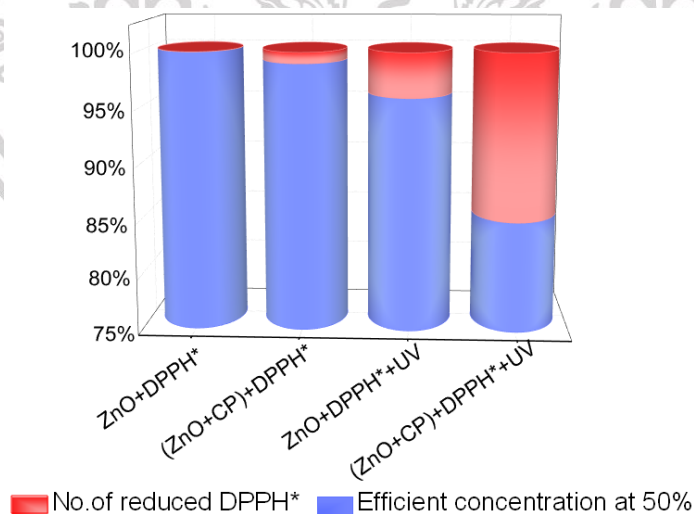


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เนื่องจากการฉายรังสีอาจทำให้เกิดศักยภาพของสารต้านอนุมูลอิสระของอนุภาคนาโน ZnO [95,96] สมบัติโฟโตคะตาไลติกของ ZnO ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV) จึงเป็นกลไกสำคัญอีกประการหนึ่งของกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากคู่อิเล็กตรอนจากสารกึ่งตัวนำ ZnO สามารถเปลี่ยน  $\text{OH}^-$  ไปเป็นไฮดรอกซิลอนุมูลอิสระ ( $\text{OH}^\cdot$ ) ซึ่งเป็น ROS [93] ที่แข็งแกร่งที่สุด ทำให้เกิดความว่องไวของปฏิกิริยาขึ้นอย่างรวดเร็ว

เนื่องจากจำนวนกลุ่มฟังก์ชันที่เฉพาะเจาะจงนั้นมีความสัมพันธ์อย่างมากกับ  $\text{EC}_{50}$  โดยอาศัยรูปแบบการตอบสนองการแข่งขันที่สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแข่งขันกับ DPPH\* ดังที่แสดงในรูปที่ 4.9 ถือเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญสำหรับการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ การกำจัดอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับค่า  $\text{EC}_{50}$  ประสิทธิภาพการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระได้จัดเป็น  $\text{ZnO} + \text{CP} + \text{UV} > \text{ZnO} + \text{UV} > \text{ZnO} + \text{CP} > \text{ZnO}$   $\text{ZnO} + \text{CP} + \text{UV}$  มีประสิทธิภาพมากกว่า  $\text{ZnO} + \text{UV}$  ประมาณสองเท่า  $\text{ZnO} + \text{CP} + \text{UV}$  มีประสิทธิภาพมากกว่า  $\text{ZnO} + \text{UV}$  ประมาณสองเท่า  $\text{ZnO} + \text{UV}$  มีประสิทธิภาพมากกว่า  $\text{ZnO} + \text{CP}$  ถึงสองเท่า  $\text{ZnO} + \text{CP}$  มีประสิทธิภาพมากกว่า  $\text{ZnO}$  สามเท่า ดังนั้น  $\text{ZnO} + \text{CP} + \text{UV}$  ซึ่งอยู่ในหมวดหมู่ของจลน์ศาสตร์ช้าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด ซึ่งมีจำนวนสูงสุดของกลุ่มไฮดรอกซิล  $\text{ZnO}$  มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพน้อยที่สุดด้วย จำนวนกลุ่มไฮดรอกซิลขั้นต่ำและอยู่ในหมวดหมู่ของจลน์เคลื่อนไหวระดับกลาง



**รูปที่ 4.9** ผลของความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพ ( $\text{EC}_{50}$ ) ในการกำจัดอนุมูลอิสระ และจำนวน DPPH\* ที่ลดลงในสารต้านอนุมูลอิสระสี่ชนิดที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

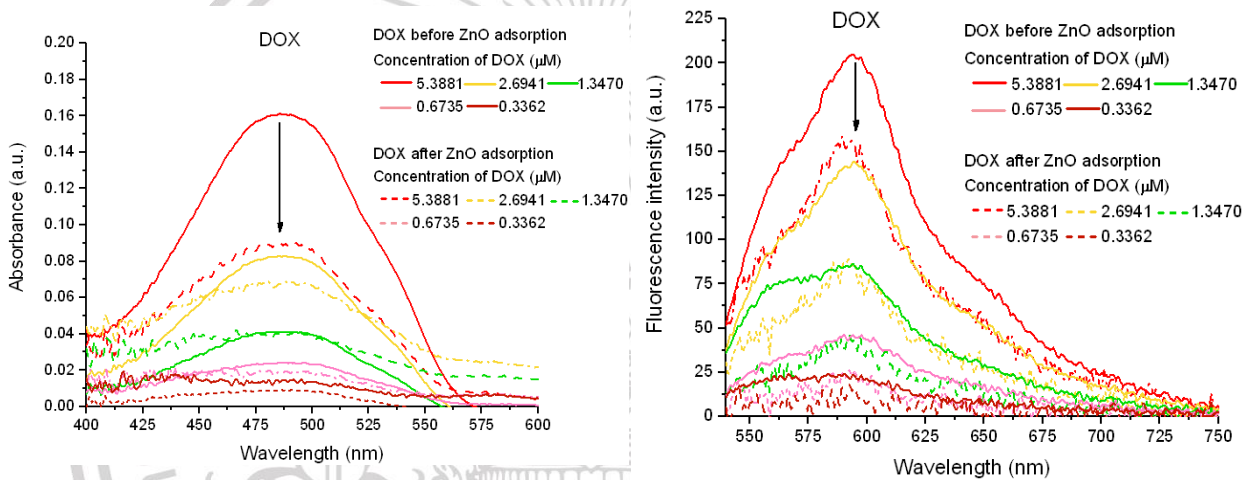
จากการศึกษายังพบว่า ประการแรก ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้มีค่ามากกว่าความเข้มข้นของ DPPH \* ประการที่สอง มีข้อจำกัดของปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องตรวจสอบช่วงปริมาณที่มีประสิทธิภาพของโมเลกุลที่ผ่านการทดสอบเหล่านี้ก่อนที่จะทำการทดสอบรายละเอียดในหลอดทดลองและในร่างกาย ประการที่สามวิธีการ DPPH ถูกออกแบบมาเพื่อทดสอบปฏิกิริยาที่เหมาะสมและเวลาตอบสนองของตัวแทนยาต้านอนุมูลอิสระ และสุดท้ายเนื่องจากวิธีการ DPPH ขึ้นอยู่กับกลไกที่ได้จากจลนพลศาสตร์ 420 นาที่ (ZnO และ ZnO + CP) มากกว่า 1440 นาที่ (ZnO + UV และ ZnO + CP + UV) อาจจำเป็นต้องได้รับสถานะคงที่ การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ อาจแนะนำให้ตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของยาต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้

## 4.2 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคินและยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน

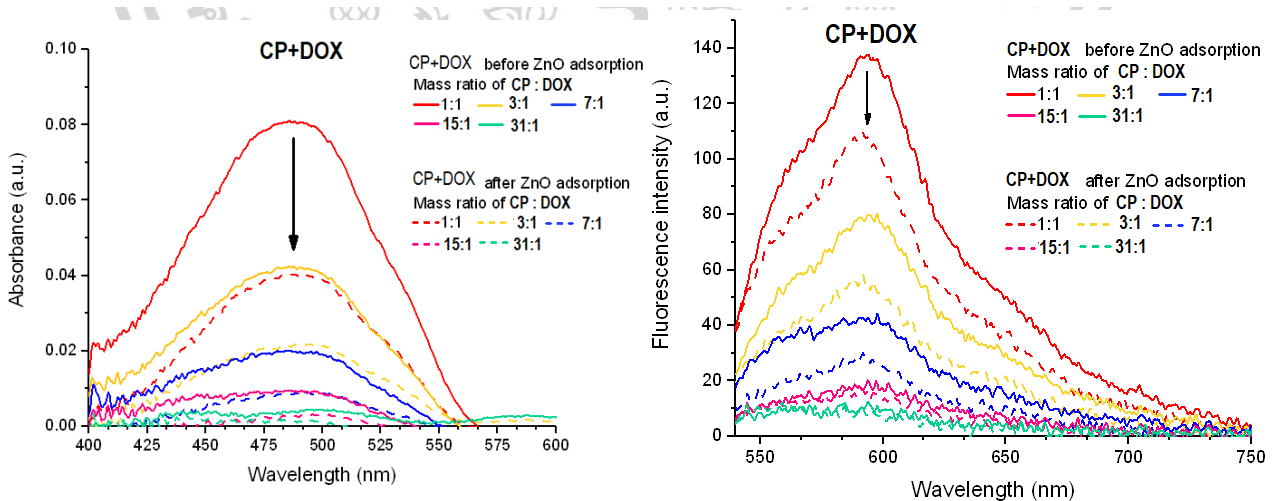
### 4.2.1 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางแสงของยาเคมีบำบัดและอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

ผลการศึกษาการดูดกลืนแสง และการเปล่งแสงของสารละลายยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (DOX) สารละลายยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคินผสมกับยาเคมีบำบัดดอกชูรูบิซิน (CP+DOX) ก่อนและหลังดูดซับอนุภาคซิงค์ออกไซด์ แสดงผลต่างกราฟแสดงความสัมพันธ์ก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ในรูปที่ 4.10 จากการศึกษาพบว่า สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการเปล่งแสง ก่อนและหลังดูดซับอนุภาคนาโน ZnO ของสารละลายยาเคมีบำบัด DOX และ CP+DOX มีค่าการดูดกลืนแสงและเปล่งแสงที่ความยาวคลื่น 485 และ 594 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยค่าการดูดกลืนแสงและค่าเปล่งแสงเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย หลังจากเติมอนุภาคนาโน ZnO ลงในสารละลายยาเคมีบำบัด DOX และ CP+DOX จะทำให้ค่าการดูดกลืนและการเปล่งแสงของสารละลายยาเคมีบำบัด DOX และ CP+DOX ลดลง เนื่องจากเกิดการเคลื่อนย้ายโมเลกุลของสารละลายยาเคมีบำบัดมายังผิวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ แล้วเกิดการเกาะที่ผิวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลโมเลกุลของยาเคมีบำบัดสามารถเกาะอยู่รอบ ๆ ผิวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ได้หลายชั้น (Multilayer) หรือในแต่ละชั้นของโมเลกุลสารถูกดูดซับจะติดอยู่กับชั้นของโมเลกุลของสารถูกดูดซับในชั้นก่อนหน้า โดยจำนวนชั้นจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารถูกดูดซับ และจะเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นที่สูงขึ้นของสารละลายยาเคมีบำบัด เมื่อระยะเวลาผ่านไปพบว่าจำนวนโมเลกุลของยาเคมีบำบัดไปเกาะติดกับพื้นผิวดูดซับเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่เดียวกันโมเลกุลของยาเคมีบำบัดบางส่วนที่เกาะติดกับ

พื้นผิวจะคายออกมา (Desorption) ซึ่งอัตราการคายออกมากจะเกิดน้อยกว่าอัตราการดูดซับ เมื่อปล่อยให้กระบวนการดูดซับดำเนินไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งอัตราการดูดซับเท่ากับอัตราการคายออกมาระบบจะเข้าสู่สภาวะสมดุล และเหลือจำนวนโมเลกุลของสารละลายยาเคมีบำบัดลดลง โดยปริมาณ (Capacity) และประสิทธิภาพ (Efficiency) ของยาเคมีบำบัด CP+DOX ในอัตราส่วนของยาเคมีบำบัด CP:DOX เท่ากับ 1:1 3:1 7:1 15:1 และ 31:1 ที่เกาะติดกับพื้นผิวของอนุภาคนาโน ZnO จะแสดงในตารางที่ 4.2 จากตารางที่ 4.2 จะพบว่าอัตราส่วนของยาเคมีบำบัด CP:DOX ที่ 31:1 มีความสามารถในการบรรจุยา (Loading capacity) ที่ผิวของอนุภาคนาโน ZnO ได้สูงสุดถึง 77.81% และมีประสิทธิภาพในการบรรจุยา (Loading efficiency) 99.05 %



(ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการเปล่งแสงก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO ของยาเคมีบำบัด DOX



(ข) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการเปล่งแสงก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO ของยาเคมีบำบัด CP+DOX

รูปที่ 4.10 ผลต่างของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการเปล่งแสงก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO ของยาเคมีบำบัด

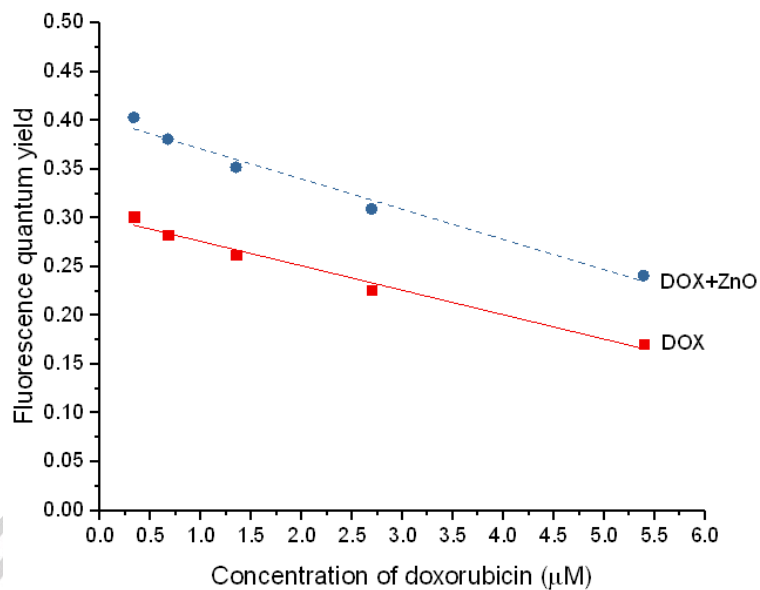
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** ตารางแสดงผลของ Loading capacity และ Loading efficiency ในกรณีของ CP: DOX ในอัตราส่วนต่างๆ ที่ยึดเกาะบนผิวอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

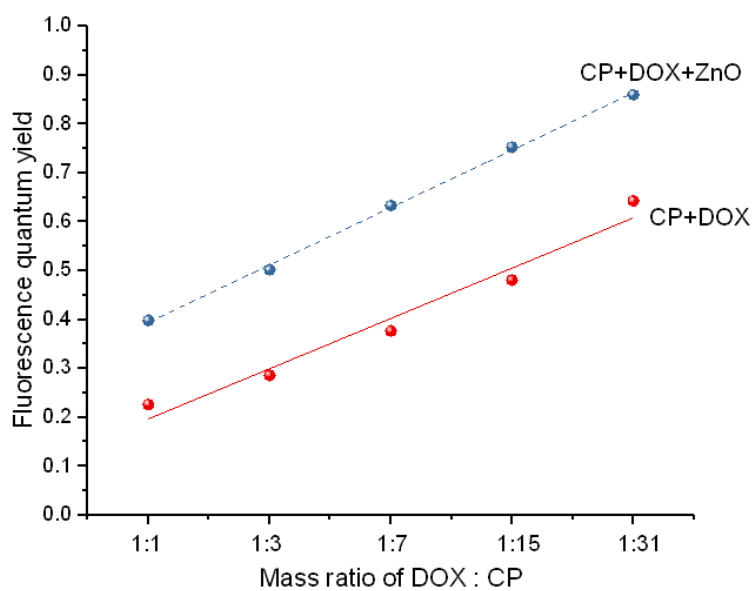
ZnO ( $\mu\text{g/mL}$ )	CP ( $\mu\text{M}$ )	DOX ( $\mu\text{M}$ )	CP:DOX = CP:1	Loading capacity	Loading efficiency
31.25	3.1250	3.1250	1	66.15	81.13
31.25	4.6880	1.5630	3	74.98	94.55
31.25	5.4690	0.7813	7	76.24	97.52
31.25	5.8600	0.3906	15	77.43	98.19
31.25	6.0550	0.1953	31	77.81	99.05

#### 4.2.2 ผลการศึกษาค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์

เมื่อนำค่าการดูดกลืนและพื้นที่ใต้กราฟของการเปล่งแสงของสารละลายยาเคมีบำบัด DOX และ CP+DOX ทั้งก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO และนำไปวัดค่าดัชนีหักเหแสง แล้วนำไปคำนวณหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ตามสมการที่ 3.6 จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายยาเคมีบำบัด DOX กับค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ ดังแสดงในรูปที่ 4.11 และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของ CP:DOX กับค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ ดังแสดงในรูปที่ 4.12 จากกราฟพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายยาเคมีบำบัด DOX ทั้งก่อนและหลังดูดซับอนุภาคนาโน ZnO ความสามารถในการเปล่งแสงจะลดน้อยลง (Quench) เนื่องจากมีความหนาแน่นของโมเลกุลมากเกินไป ส่งผลให้ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ลดลง โดยค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของ DOX ก่อนการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO มีค่าเท่ากับ 0.302 - 0.170 และค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของ DOX หลังการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO มีค่าเท่ากับ 0.403 - 0.241 ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายยาเคมีบำบัด CP+DOX ทั้งก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO ความสามารถในการเปล่งแสงของสารละลายจะเพิ่มขึ้น (Enhanced) ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์จึงเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ก่อนการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO ของสารละลายยาเคมีบำบัด CP+DOX มีค่าเท่ากับ 0.226 - 0.642 และค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ของสารละลายยาเคมีบำบัด CP+DOX หลังการดูดซับอนุภาคนาโน ZnO มีค่าเท่ากับ 0.399 - 0.860



รูปที่ 4.11 ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ของยาเคมีบำบัดดอกซูรูบิซิน (DOX)



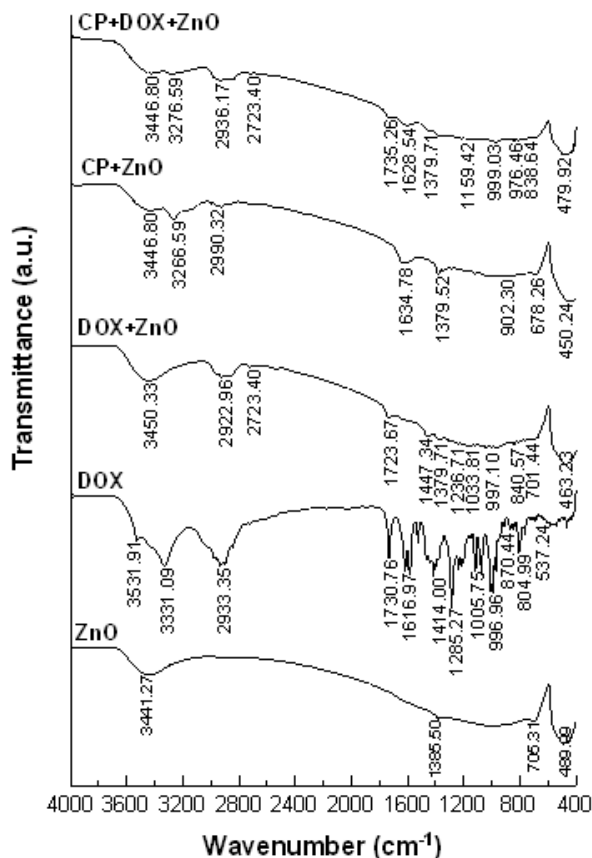
รูปที่ 4.12 ค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ก่อนและหลังการดูดซับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ของยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาตินและดอกซูรูบิซิน (CP+DOX)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ผลการศึกษาหมู่ฟังก์ชันและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัด

#### 4.3.1 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR)

ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FTIR) พบว่า สเปกตรัม FTIR ของยาเคมีบำบัดกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์แบ่งออกเป็นสามส่วนใหญ่ ๆ ในแง่ขององค์ประกอบของยา ประกอบด้วย อนุภาคนาโน ZnO แสดงตำแหน่งสเปกตรัมที่  $400-500\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ Zn-O และจุดสูงสุดกว้างที่  $3331-3441\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ O-H [116,117] สเปกตรัม FTIR ของยาเคมีบำบัดดอกชรูบิซิน (DOX) แสดงตำแหน่งสเปกตรัมที่  $1285\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C-O,  $1414\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C-C,  $1617\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ N-H,  $1730\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C=O,  $2933\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C-H และ  $3331-3441\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ O-H [118] สเปกตรัม FTIR ของ CP มีจุดสูงสุดหลายจุดที่  $1379\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ Pt-NH<sub>2</sub>,  $1634\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C=O,  $2990\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C-H และ  $3266\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ N-H [119] จุดสูงสุดของสเปกตรัม FTIR ของ อนุภาค CP+DOX+ZnO แสดงตำแหน่งสเปกตรัมที่  $1159\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C-O,  $1379\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C-C,  $1628\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ N-H,  $1735\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C=O และ  $2936\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ C-H ตำแหน่งสเปกตรัมมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เนื่องจากอันตรกิริยาของการเชื่อมโยงเอสเทอร์ระหว่างยาเคมีบำบัดกับอนุภาคนาโนของ ZnO ตำแหน่งสเปกตรัมที่เป็นเอกลักษณ์เหล่านี้ยืนยันว่าโมเลกุลที่ขอบน้ำของยาเคมีบำบัดถูกดูดซับลงบนพื้นผิวของอนุภาค ZnO ได้สำเร็จ การวิเคราะห์ FTIR ยืนยันเพิ่มเติมว่าความสามารถในการโหลดของยาเคมีบำบัดไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ในลักษณะผลึกของนาโน ZnO ที่เกี่ยวกับความถี่ในการสั่นสะเทือน จุดสูงสุดกว้างที่  $3331-3441\text{ cm}^{-1}$  ด้วยพันธะ O-H อาจเป็นผลมาจากการเคลื่อนย้ายของยาเคมีบำบัดไปยังรอบนอกของ ZnO พร้อมกับโมเลกุลของน้ำและความชื้นในบรรยากาศ [116] ดังแสดงในรูปที่ 4.13

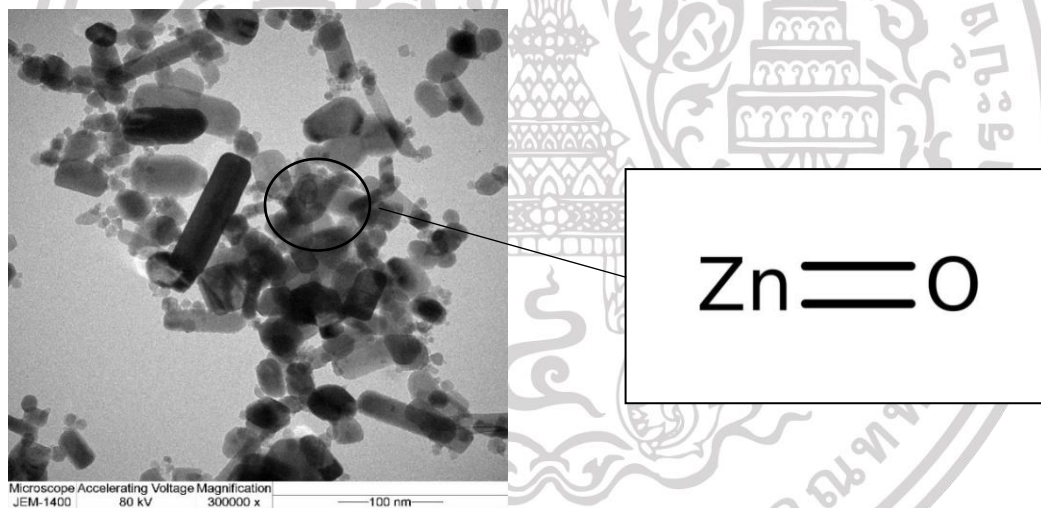


รูปที่ 4.13 สเปกตรัม FTIR ของ ZnO, DOX, DOX+ZnO, CP+ZnO และ CP+DOX+ZnO

**4.3.2 ผลการตรวจสอบสัณฐานวิทยาและโครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM)**

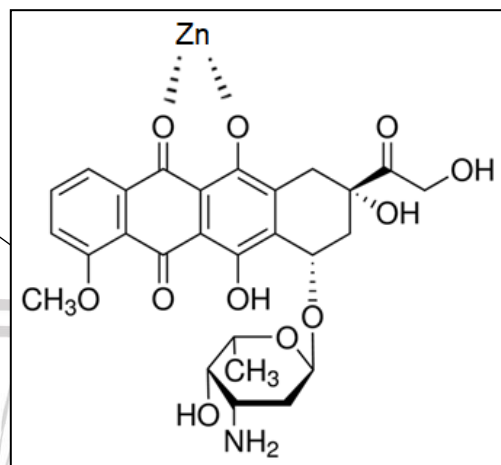
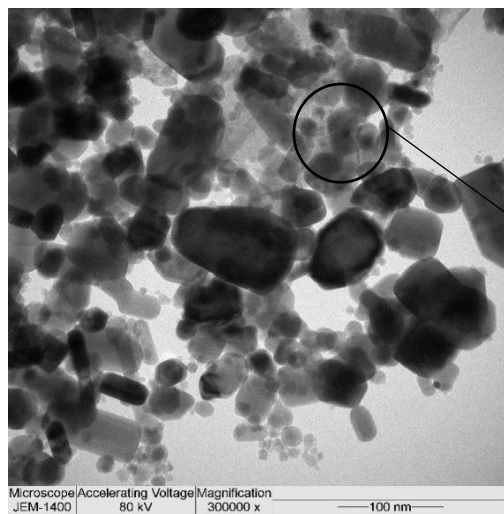
จากการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) พบว่า อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มี 2 รูปแบบ คือ แบบทรงกลม (Quantum dot) และแบบแท่ง (Nano rods) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 50 นาโนเมตร มีการกระจายตัวค่อนข้างสม่ำเสมอ ไม่เกาะกลุ่ม ทำให้พื้นที่ผิวมากพอสำหรับการเป็นตัวดูดซับ (Adsorbent) ในการกักสารละลายยาเคมีบำบัด เพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาเคมีบำบัดไปยังเป้าหมายที่กำหนด ดังแสดงรูปที่ 4.14 อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ล้อมรอบด้วยชั้นของยาเคมีบำบัดเป็นผลมาจากความเข้มข้นของสารละลายยาเคมีบำบัด จึงส่งผลต่อความแข็งแรงของแรงที่ใช้ในการยึดเหนี่ยวกันระหว่างอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และยาเคมีบำบัด จะพบว่าขนาดของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อนำมาบรรจุยาเคมีบำบัดทั้งสองชนิด เนื่องจากยาเคมีบำบัดคาร์โบพลลาติน (CP) มีส่วนในการเพิ่มการยึดเกาะกับยาเคมีบำบัดดอกซูโรบิซิน (DOX) ส่งผลให้อัตราส่วนการยึด

เกราะกันระหว่างยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินต่อยาเคมีบำบัดด็อกโซรูบิซิน (CP:DOX) มีแนวโน้มสูงขึ้นสำหรับการเกาะติดกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) เนื่องจากบริเวณที่มีพื้นผิวมากจะสามารถดูดซับโมเลกุลได้ดีกว่าบริเวณที่มีพื้นผิวน้อย และเมื่อเพิ่มปริมาณของยาเคมีบำบัดประสิทธิภาพของการดูดซับรวมถึงประสิทธิภาพในการรับน้ำหนักจะไม่เพิ่มขึ้น เพราะพื้นที่ผิวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) และความเข้มข้นของยาเคมีบำบัดเข้าสู่สภาวะสมดุล โดยขนาดของอนุภาคนาโนที่บรรจุยาเคมีบำบัดมีขนาดเฉลี่ย ดังนี้ อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่บรรจุยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทิน (CP+ZnO) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ  $68.6 \pm 3.69$  นาโนเมตร อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่บรรจุยาเคมีบำบัดด็อกโซรูบิซิน (DOX+ZnO) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ  $74.0 \pm 0.32$  นาโนเมตร และอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่บรรจุยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาทินและยาเคมีบำบัดด็อกโซรูบิซิน (CP+DOX+ZnO) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ  $81.6 \pm 2.00$  นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 4.13 อนุภาคเหล่านี้เป็นที่ยอมรับสำหรับการไหลเวียนของเคมีบำบัดทางหลอดเลือดดำอย่างเป็นระบบ (50–300 นาโนเมตร) [120]

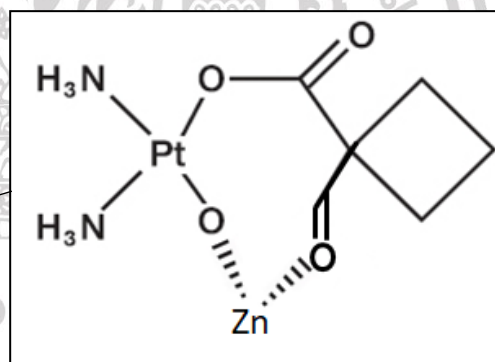
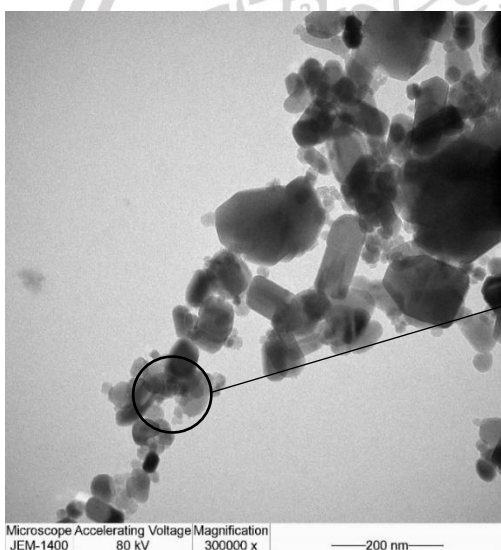


ก. ZnO

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

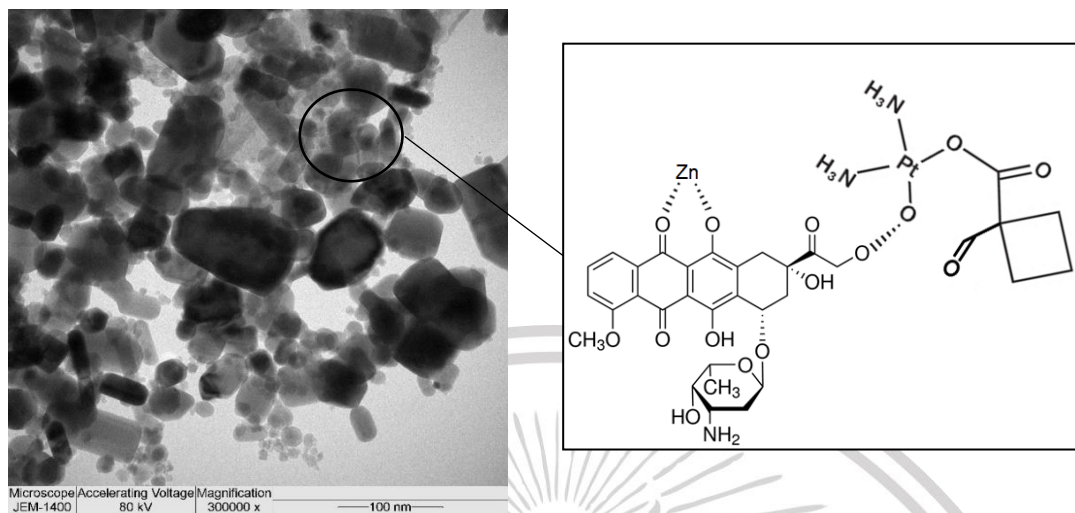


ข. CP+ZnO



ค. DOX+ZnO

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ง. CP+DOX+ZnO

รูปที่ 4.14 ภาพ TEM ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ก่อนและหลังผนวกกับยาเคมีบำบัด

#### 4.3.3 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคค่าศักย์ซีต้า (Zeta potential)

ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคค่าศักย์ซีต้า (Zeta potential) แสดงในตารางที่ 4.3 สำหรับค่าของศักย์ซีต้า เป็นค่าที่แสดงให้เห็นว่าสารตัวอย่างในระบบแขวนลอยมีความคงตัวมากน้อยเพียงใด จากตารางที่ 4.3 พบว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ที่กระจายตัวอยู่ในน้ำ มีค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ  $35.97 \pm 0.71$  มิลลิโวลต์ อนุภาคมีการกระจายตัวได้ดี เนื่องจากประจุลบของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) สามารถสร้างแรงดึงดูดที่ทำให้ไอออนประจุบวก (ประจุตรงกันข้าม) ที่อยู่ในน้ำวิ่งเข้ามาหาได้จึงเกิดการแอ็ดของไอออนประจุบวกใกล้ผิวอนุภาคทำให้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) มีเสถียรภาพสูง เมื่อนำอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มาไหลดยาเคมีบำบัดทำให้เกิดการดูดซับยาเคมีบำบัดที่ผิวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ทำให้เกิดระยะห่างระหว่างแรงดึงดูดที่ผิวของอนุภาคกับไอออนประจุบวก ส่งผลให้ค่าศักย์ซีต้ามีค่าลดลง จะเห็นว่ายาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคิน (CP) มีความสามารถในการดูดซับเกาะติดที่ผิวของอนุภาคของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ได้ดี มีค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ  $17.37 \pm 0.21$  มิลลิโวลต์ อนุภาคเกิดการกระจายตัวและตกตะกอน ยาเคมีบำบัดดอกซรูบิซิน (DOX) แสดงค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ  $21.87 \pm 1.02$  มิลลิโวลต์ อนุภาคเกิดการกระจายตัวและตกตะกอนค่อนข้างช้า และเมื่อนำยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคินและยา

เคมีบำบัดด็อกซุโรบิซินมาผสมด้วยอัตราส่วน CP:DOX ที่เหมาะสม จะทำให้เกิดการยึดเกาะที่ผิวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ทำให้อนุภาคเป็นสารแขวนลอยที่ดี โดยมีค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ  $24.43 \pm 0.31$  มิลลิโวลต์ ทั้งนี้จะเห็นว่าแรงที่ใช้ในการยึดเหนี่ยวที่ผิวของอนุภาคจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและความหนืดของสารละลายยาเคมีบำบัดด้วยเช่นกัน

**ตารางที่ 4.3** แสดงค่า Zeta potential ของสารตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	ค่า Zeta potential (mV)
ZnO	$35.97 \pm 0.71$
CP+ZnO	$17.37 \pm 0.21$
DOX+ZnO	$21.87 \pm 1.02$
CP+DOX+ZnO	$24.43 \pm 0.31$

#### 4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคินและยาเคมีบำบัดด็อกซุโรบิซิน (ZnO+CP+DOX)

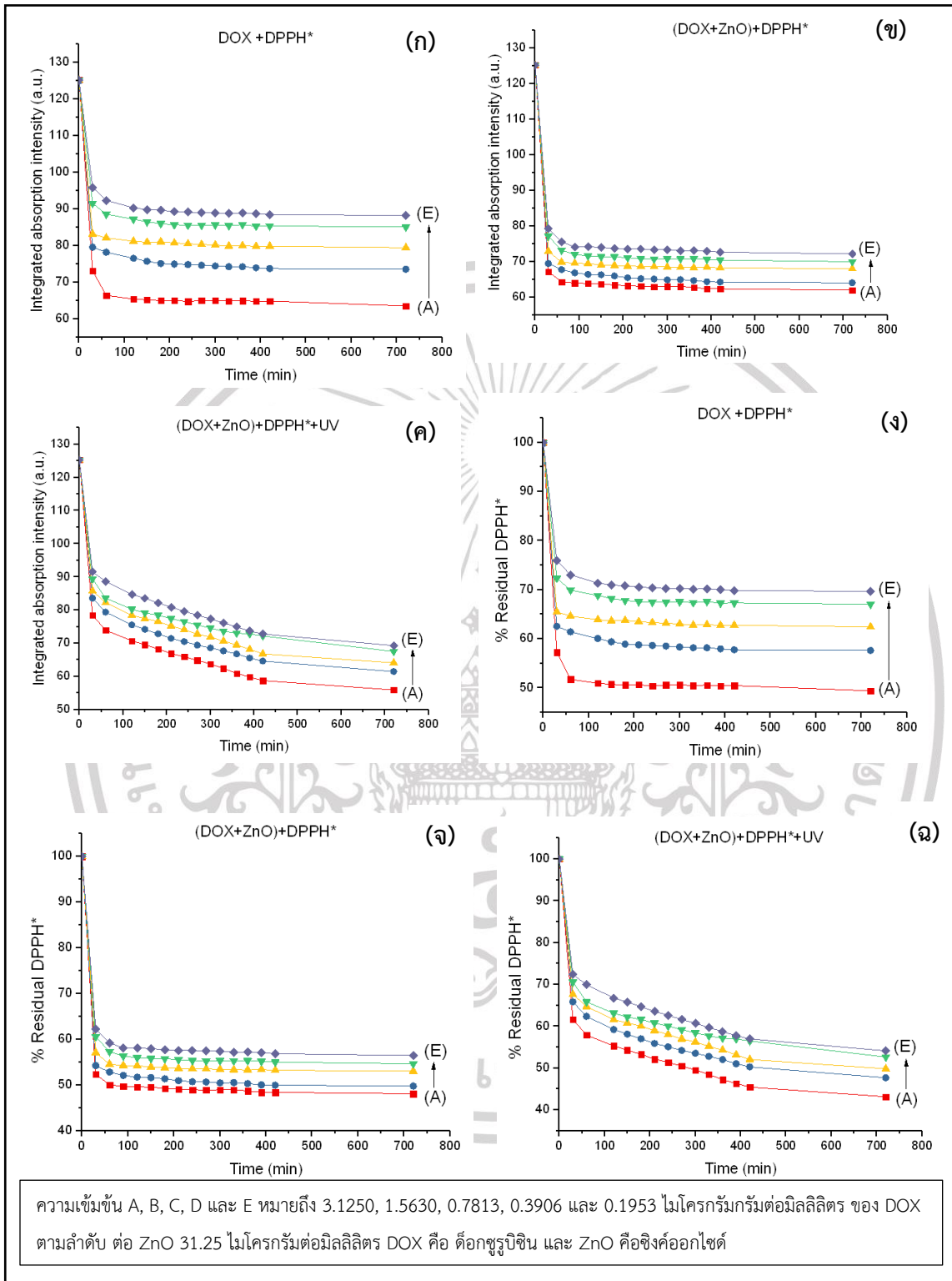
##### 4.4.1 เซลล์มะเร็งจำลองอนุมูลอิสระ DPPH\*

ปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH \* และสารต้านอนุมูลอิสระหรือยาเคมีบำบัด (Chemo drug formulation) เป็นไปตามกลไกจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาดังแสดงในตารางที่ 4.4 โดยยาเคมีบำบัดทั้ง 9 สูตรถูกแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 เป็นของจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาระดับกลาง (Intermediate) ปฏิกิริยาของยาในกลุ่มนี้จะแสดงให้เห็นว่าสมมูลของประสิทธิภาพการดูดซับนั้นเร็วมาก ประกอบด้วย CP, CP+ZnO, DOX, DOX+ZnO และ CP+DOX กลุ่มที่ 2 เป็นของจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาช้า (Slow) แสดงให้เห็นว่าคุณภาพของประสิทธิภาพการดูดซับนานกว่ากลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย CP+DOX+ZnO, CP+ZnO+UV, DOX+ZnO+UV และ CP+DOX+ZnO+UV ในกลุ่มที่ 2 พบว่า CP+ DOX+ZnO+ UV เหมาะสำหรับวัตถุประสงค์ในการจัดส่งยาเคมีบำบัดเนื่องจากทำให้จำนวน DPPH ลดลงมีค่าสูงสุด คือ 135.135

ตารางที่ 4.4 ผลของค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ

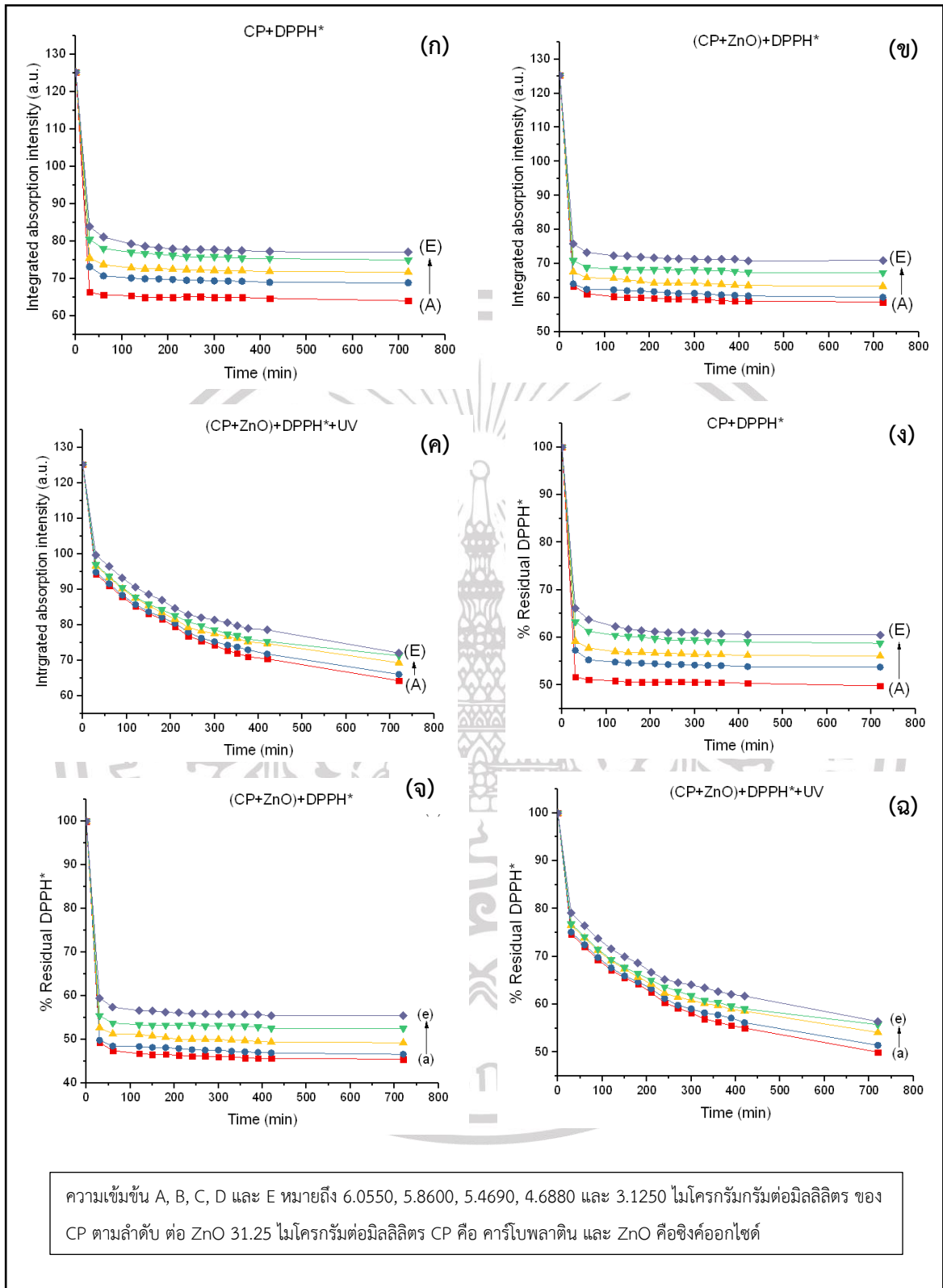
Chemo drug formulation	Reaction kinetics	IC <sub>50</sub> (mole drug/mole DPPH*)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Number of reduced DPPH*
ZnO	Intermediate	0.0765	2.515	6.536
CP	Intermediate	0.0817	2.410	6.120
CP+ZnO	Intermediate	0.0644	2.390	7.764
DOX	Intermediate	0.0516	1.895	9.689
DOX+ZnO	Intermediate	0.0254	1.473	19.685
CP+DOX	Intermediate	0.0447	1.278	11.185
CP+DOX+ZnO	Slow	0.0052	0.301	96.153
CP+ZnO+UV	Slow	0.0184	0.683	27.173
DOX+ZnO+UV	Slow	0.0127	0.736	39.370
CP+DOX+ZnO+UV	Slow	0.0037	0.214	135.135

ความเข้มข้นที่ต่างกันและการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากยาเคมีบำบัดแต่ละชนิดที่เกี่ยวข้องกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาแสดงไว้ในรูปที่ 4.15-4.17 เวลาในการตอบสนองคือ 0-720 นาที และอัตราส่วนโมลของ ZnO ต่อยาเคมีบำบัดเท่ากับ 5: 1 ความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้น ของ DPPH \* ลง 50% แสดงในรูปที่ 4.18



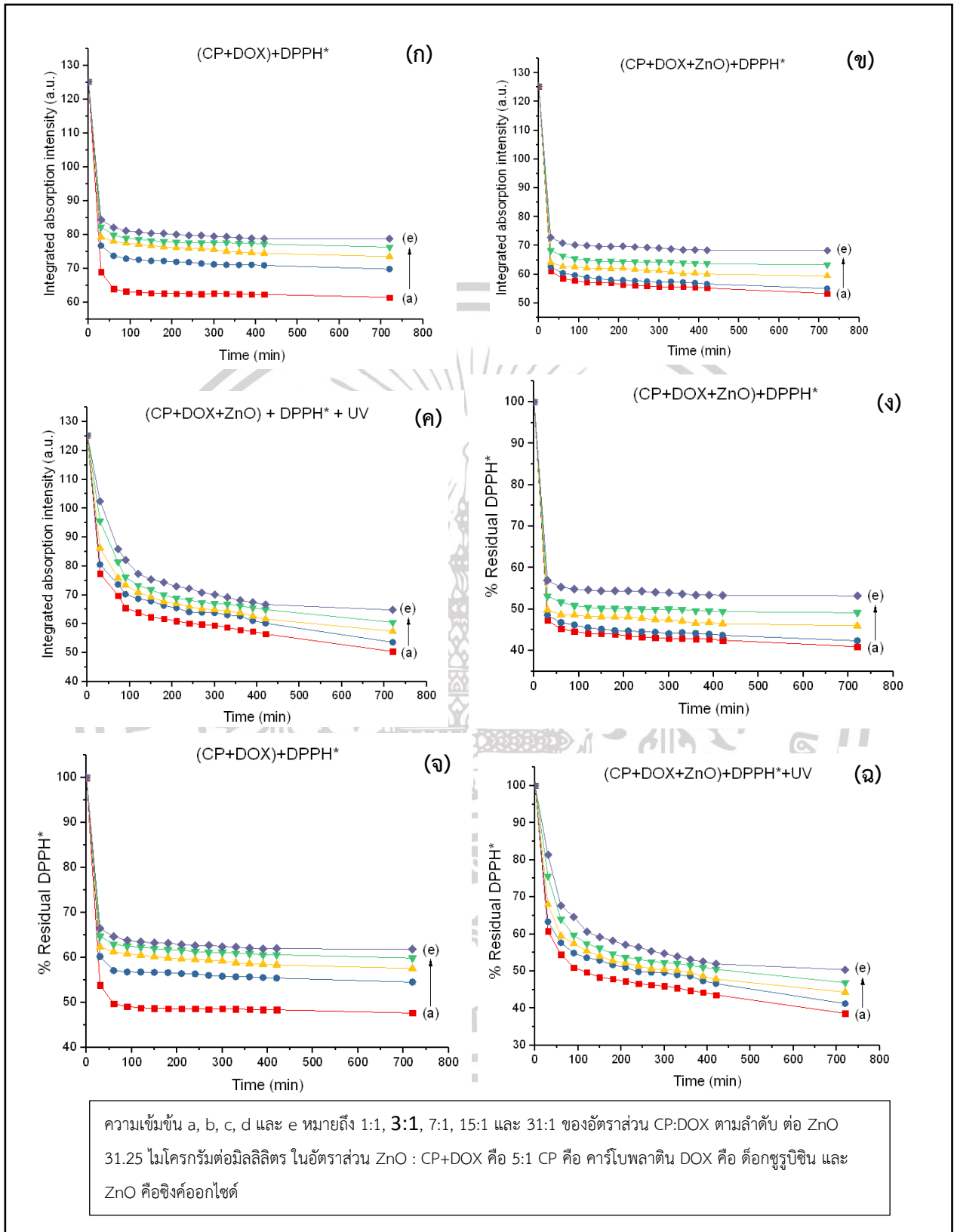
รูปที่ 4.15 ความเข้มข้นที่ต่างกันและการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของ DOX และ DOX+ZnO ที่เกี่ยวข้องกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



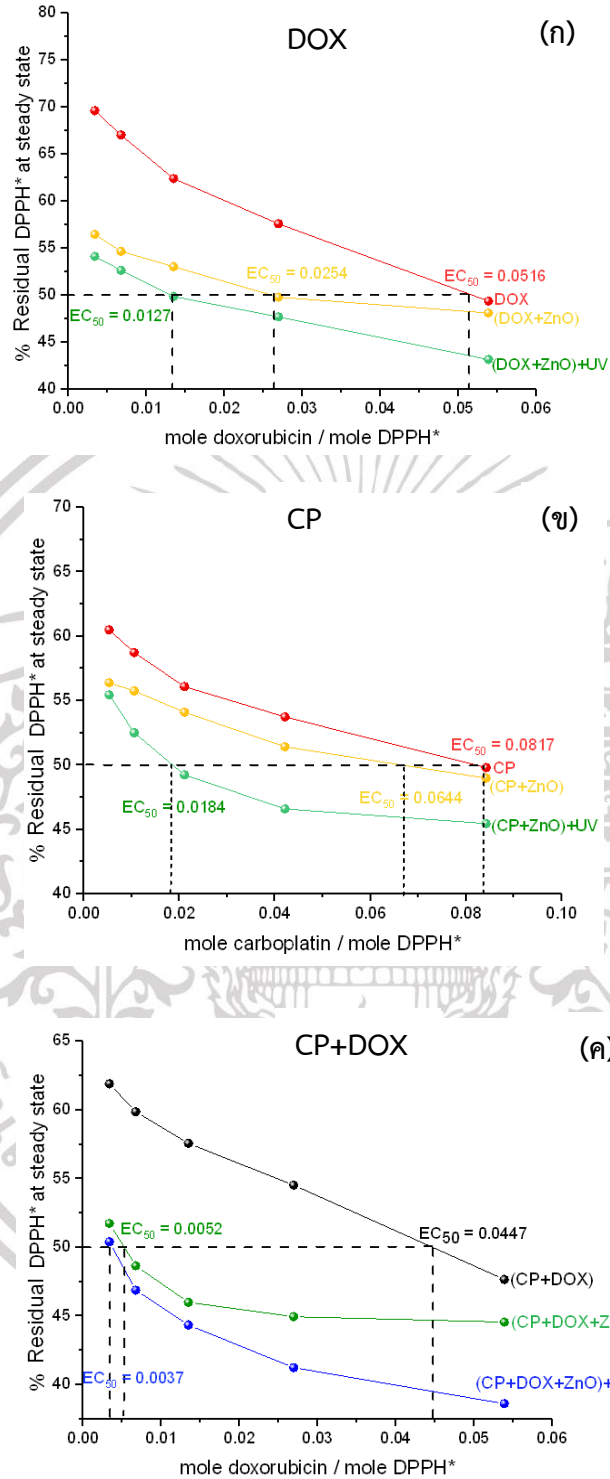
รูปที่ 4.16 ความเข้มข้นที่แตกต่างกันและการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากยาเคมีบำบัด CP และ CP+ZnO ที่เกี่ยวข้องกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 ความเข้มข้นที่แตกต่างกันและการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากยาเคมีบำบัด CP+DOX ที่เกี่ยวข้องกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา อัตราส่วนโมลของ ZnO ต่อยาเคมีบำบัดเท่ากับ 5: 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 ความเข้มข้นของยาเคมีบำบัดแต่ละชนิดที่ลดประสิทธิภาพของ DPPH\* ลง 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง

ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงทั้ง 5 ชนิด และ เซลล์ปกติ 1 ชนิด ประกอบด้วย เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ สายพันธุ์ HT-29 เซลล์มะเร็งในช่องปาก สายพันธุ์ KB เซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ MCF-7 เซลล์มะเร็งปากมดลูก สายพันธุ์ HeLa เซลล์มะเร็งตับ สายพันธุ์ HepG-2 และ เซลล์ปกติ สายพันธุ์ HaCat ของยาเคมีบำบัด แสดงในตารางที่ 4.5 จากตารางจะเห็นว่า CP+DOX+ZnO+ UV จะไม่ไวต่อการตอบสนองของเซลล์ปกติ สายพันธุ์ HaCat และพบว่าระดับการต่อต้านของเซลล์มะเร็งลดลง เมื่อมีการฉายรังสีจะเพิ่มความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้มากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับเซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ MCF-7 ค่า  $IC_{50}$  ของ CP+DOX+ZnO มีค่าเท่ากับ 0.208  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ค่า  $IC_{50}$  เปลี่ยนแปลงเป็น 0.137  $\mu\text{g}/\text{mL}$  หลังจากได้รับรังสี UV ในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ค่า  $IC_{50}$  ของยาเคมีบำบัด DOX คือ 1.528  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ค่า  $IC_{50}$  ของ CP+DOX+ZnO+UV ลดลงประมาณ 1.5 และ 11.1 เท่า เมื่อเทียบกับ CP+ DOX+ZnO และ DOX ตามลำดับ ข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ว่า CP+ DOX+ZnO+UV ได้รับการปลดปล่อยอย่างมีประสิทธิภาพและส่งผลกระทบต่อเซลล์มะเร็งได้มากกว่า CP+DOX +ZnO สอดคล้องกับการลดลงของจำนวน DPPH ที่สูงสุดซึ่งแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบยาเคมีบำบัดกับเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง

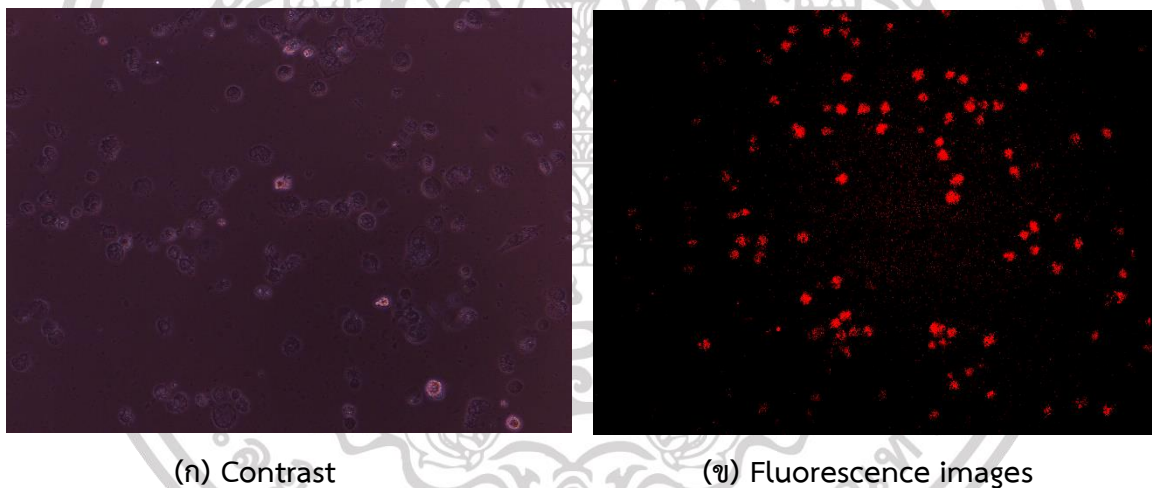
Chemo drug formulation	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )					Cell viability (%) HaCat
	HT-29	KB	MCF-7	HeLa	HepG-2	
UV (% cytotoxicity)	- (7.175)	- (8.982)	- (8.984)	- (7.011)	- (7.899)	91.73 (8.27)
ZnO	1.979	2.014	2.002	2.349	2.025	71.25
CP	1.924	2.019	1.975	2.311	1.950	70.05
CP+ZnO	1.828	1.963	1.944	2.162	1.885	71.84
DOX	1.594	1.661	1.528	1.484	1.375	71.55
DOX+ZnO	1.173	1.361	1.210	1.140	1.364	71.05
CP+DOX	1.065	1.258	1.111	1.075	1.129	71.05
CP+DOX+ZnO	0.241	0.224	0.208	0.221	0.209	71.06
CP+ZnO+UV	0.590	0.551	0.390	0.492	0.456	83.77
DOX+ZnO+UV	0.749	0.650	0.516	0.619	0.594	84.08
CP+DOX+ZnO+UV	0.173	0.150	0.137	0.144	0.140	88.11

เซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่แตกต่างกันมีความไวต่อยาเคมีบำบัดแต่ละสูตรแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระดับความแตกต่างและความแตกต่างของโครงสร้างของเซลล์ ภาพความคมชัด (Contrast images) และการเรืองแสง (Fluorescence images) ของเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงในกรณีของ CP+DOX+ZnO+UV หลังจากทำการรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจะแสดงในรูปที่ 4.19 และ 4.20 จะพบว่า ZnO จำนวนมากที่เข้าไปในเซลล์ [121] จะปล่อยสารเรืองแสงภายในที่เข้มข้นซึ่งเกิดจาก DOX เพื่อติดตามเซลล์ที่มีชีวิต [107] ในขณะที่ CP ช่วยเพิ่มการ Oxidizers ภายใต้การฉายรังสี UV [122] ไซโทพลาสซึม (Cytoplasm) ของเซลล์ที่มีชีวิตจึงมองเห็นเป็นสีแดง เซลล์ปกติของมนุษย์ สายพันธุ์ HaCat ส่วนใหญ่ยังคงมีชีวิตอยู่ได้หลังจากทำการรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากไม่มีรูปแบบการกำหนดเป้าหมายเซลล์มะเร็งที่เฉพาะเจาะจงซึ่งทำงานร่วมกับ ZnO และความมีชีวิตของเซลล์อาจเกิดจากการผลิออกซิเจนที่มีปฏิกิริยามากเกินไป แสดงรูปที่ 4.19 ความมีชีวิตของเซลล์ของ สายพันธุ์ HaCat ที่รักษาโดย CP+DOX+ZnO+UV เท่ากับ 88.11% แสดงในตารางที่ 4.5 บ่งชี้ว่าสามารถให้ยาเคมีบำบัดสูตรนี้สำหรับการให้ยาเคมีบำบัดตามเป้าหมายได้ เนื่องจากเกิดการซึมผ่านของแสง UV เพียงเล็กน้อยในร่างกาย เนื่องจากการซึมผ่านของแสง UV ในร่างกายเพียงเล็กน้อยจึงมีการวิเคราะห์การยับยั้งเซลล์ที่เกิดจากรังสียูวีเพื่อเป็นการควบคุม แม้ว่าแสง UV 400 นาโนเมตรจะไม่ทำให้ DNA/RNA เสียหายได้ง่ายเนื่องจากมีพลังงานโฟตอนต่ำ เวลาที่ได้รับรังสี UV นาน ๆ อาจทำให้ DNA/RNA เสียหายเล็กน้อย ดังนั้นความเป็นพิษต่อเซลล์ของเซลล์ทั้งหมดภายใต้การฉายรังสี UV จึงอยู่ที่ประมาณ 8.20% ดังนั้นการทำลายเซลล์มะเร็งของยาเคมีบำบัดภายใต้แสง UV ใน CP+DOX+ZnO จึงอยู่ที่ประมาณ 3.69%

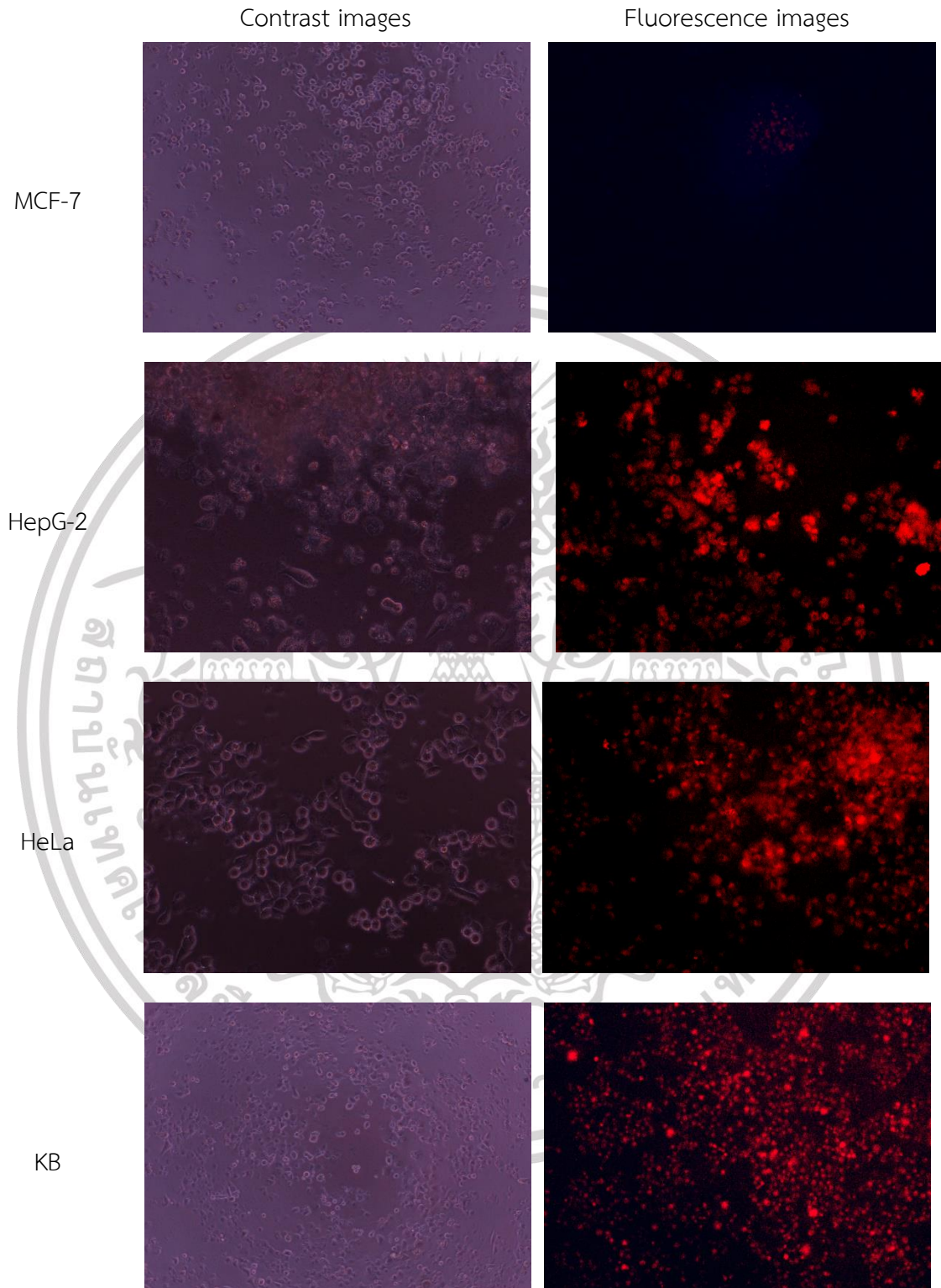
ในบรรดาเซลล์มะเร็งของมนุษย์ เซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ MCF-7 มีความไวต่อยาเคมีบำบัดมากที่สุด จากตารางที่ 4.5 จะพบว่า เมื่อใช้ออนุภาคนาโน ZnO เพียงอย่างเดียว จะส่งผลความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมให้ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.002  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และส่งผลความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งผิวหนังปกติของมนุษย์ (HaCat) เท่ากับ 28.75% เมื่อให้ยาเคมีบำบัด CP และ DOX จะให้ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.975  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ 1.528  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ตามลำดับ ส่งผลความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCat เท่ากับ 29.5% และ 28.5% ตามลำดับ เมื่อใช้ CP+DOX+ZnO ให้ค่า  $IC_{50}$  0.208  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ส่งผลความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCat เท่ากับ 28.94% และเมื่อทำการฉายรังสี UV (CP+DOX+ZnO+UV) จะให้ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.137  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และส่งผลความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCat เท่ากับ 11.89% จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่า การใช้ยาเคมีสูตร CP+DOX+ZnO+UV สามารถลดค่า  $IC_{50}$  ลง เมื่อเปรียบเทียบกับอนุภาคนาโน ZnO เท่ากับ 14.61 เท่า ยาเคมีบำบัด CP เท่ากับ 14.42 เท่า ยาเคมีบำบัด DOX เท่ากับ 11.15 เท่า และ CP+DOX+ZnO 1.52 เท่า นอกจากนี้ตัวยายังลดค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังปกติมนุษย์ (HaCat) ลง เมื่อเปรียบเทียบกับ ZnO เท่ากับ 16.86% CP เท่ากับ 17.61% DOX เท่ากับ 16.61% และ CP+DOX+ZnO เท่ากับ

17.05% ดังนั้น CP+DOX+ZnO+UV จึงจัดว่าเป็นตัวยาที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์เต้านม (MCF-7) และลดความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังปกติ (HaCat) ได้ดี

CP+DOX+ ZnO+UV หลังจากทำการรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภาพถ่ายเรืองแสง (Fluorescence images) แสดงให้เห็นเซลล์ที่มีชีวิตเพียงไม่กี่เซลล์ซึ่งบ่งชี้ถึงความเป็นพิษต่อเซลล์สูงสุด ยาเคมีบำบัดที่ปล่อยออกมาจาก CP+DOX+ZnO+UV ผ่านการเกิดปฏิกิริยาอย่างช้าๆและทำลายเซลล์มะเร็งดังแสดงที่รูป 4.20 การเรืองแสงสีแดงในภาพที่ได้จาก DOX หลังจากทำการรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ช่วยให้สามารถติดตามเซลล์ที่มีชีวิตได้ นอกจากนี้ ค่า  $IC_{50}$  ของ CP+DOX+ZnO เท่ากับ 0.137  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ใน MCF-7 ซึ่งต่ำกว่าตัวเลขที่รายงานในการศึกษาก่อนหน้านี้ Galam et al แสดงให้เห็นว่าอนุภาคของ CP-loaded silk fibroin particles มี  $IC_{50}$  เท่ากับ 10–200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ในเซลล์ MCF-7 [108] Ouyang et al รายงานว่า DOX-loaded pectin nanoparticles มี  $IC_{50}$  เท่ากับ 1-5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ในเซลล์ MCF-7 [109] Locharoenrat รายงานว่า DOX-loaded nano diamond แสดง  $IC_{50}$  0.4  $\text{mg}/\text{mL}$  ในเซลล์ MCF-7 [107]

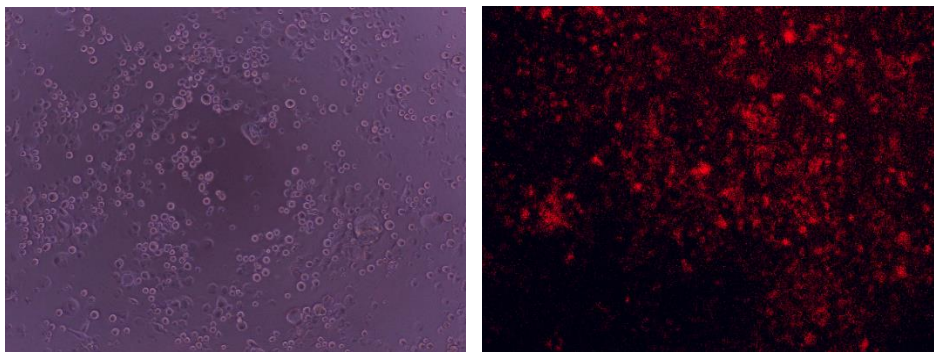


รูปที่ 4.19 ภาพเซลล์ปกติของมนุษย์ สายพันธุ์ HaCat หลังจากรักษาด้วยยาเคมีบำบัด CP +DOX + ZnO + UV เป็นเวลา 24 ชม. ภายใต้แสง UV



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

HT-29



**รูปที่ 4.20** ภาพระยะคอนทราสต์ของเซลล์มะเร็งและภาพเรืองแสงของเซลล์มะเร็งหลังจากได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด CP+DOX+ZnO+UV เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้แสง UV ไฮโทพลาซิมของเซลล์ที่มีชีวิตจะมองเห็นเป็นสีแดง

ทั้งนี้อาจกล่าวได้ว่า การดูดซึม CP+DOX+ZnO+ UV ในเซลล์ภายในหลอดทดลองโดยเซลล์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ สายพันธุ์ MCF-7 กระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์แบบ Apoptosis ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับการไหลดยาเพียงชนิดเดียว และตัวยามีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในการสร้างเซลล์ การจำลอง DNA ของเซลล์มะเร็ง กระบวนการนี้อยู่ในวัฏจักรเซลล์มะเร็งในระยะ Preparation phase หรือ Interphase ทำให้เซลล์มะเร็งไม่สามารถเข้าสู่ระยะแบ่งเซลล์ (Mitotic phase) ได้ ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็ง หากเปรียบเทียบระยะเวลาของการรักษามะเร็งด้วยยาสามารถรักษามะเร็งได้ในระยะที่ 1-3 เนื่องจากเป็นระยะที่ยังไม่มีการกระจายตัวของเซลล์มะเร็ง ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเนื้องอกผ่านการสะสมของสารต้านมะเร็งนี้เกิดจากสาเหตุดังต่อไปนี้

1. ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งโดยอนุภาคนาโน ZnO ดั้งเดิมไม่ได้เกิดจากความเป็นพิษของ ZnO ซึ่งเป็นไปตามผลที่รายงานในการศึกษาก่อนหน้านี้ [121,122]
2. DOX เป็นตัวบ่งชี้การเพิ่มจำนวนของเซลล์และอะพอพโทติก (Apoptosis) ให้สัญญาณการเรืองแสงที่เฉพาะเจาะจง ปรากฏการณ์ดังกล่าวเกิดจากข้อเท็จจริงที่ว่า DOX ส่งสัญญาณเรืองแสงสีแดงเข้ม แม้ในระดับความเข้มข้นต่ำและลดการใช้ยาที่ย้อมสีที่จำเป็นสำหรับการใช้งานในหลอดทดลองและในร่างกาย นอกจากนี้ปริมาณ DOX 0.1953  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ในการศึกษาที่ปลอดภัยสำหรับการรักษาโรคหัวใจที่เกิดจากการผิดปกติของกล้ามเนื้อหัวใจ (Cardiomyopathy) อัตราอุบัติการณ์ของ Cardiomyopathy ไม่เกิน 4% เมื่อผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วย DOX ขนาด 49.11–307.70  $\text{mg}/\text{m}^2$  [123].
3. เนื่องจากขนาดอนุภาคของยาเคมีบำบัดที่มีขนาด 69–82 นาโนเมตร อนุภาคนาโน ZnO ที่มียาเคมีบำบัดจะถูกยึดโดยพื้นผิวเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมายผ่านทาง Endocytosis ตามด้วยการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปล่อยโมเลกุลของยาเคมีบำบัดที่เป็นอิสระเข้าไปในไซโทพลาซึม (Cytoplasm) ของเซลล์ภายใต้สภาพแวดล้อมที่มีค่า pH ต่ำและภายใต้การฉายรังสี UV ตามที่ได้รับการยืนยันจากกลุ่มวิจัยของ Meshkini [124,125] ที่อ้างว่าสารประกอบ ZnO – Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ที่โหลด Methotrexate ภายใต้การฉายรังสี UV ทำให้เกิดการตายของเซลล์ MCF-7 แบบ Apoptosis ได้มากกว่า เมื่อเทียบกับ Free methotrexate และ UV เพียงอย่างเดียวโดยไม่มีผลต่อเซลล์ปกติ และ ZnO-hydroxyapatite ที่โหลด DOX ช่วยเพิ่มการตายของเซลล์ MCF-7 เมื่อเทียบกับ DOX และ UV เพียงอย่างเดียว

4. ด้วยคุณสมบัติของสารกึ่งตัวนำ (Semiconductor) ช่องว่างแถบ (Band gap) ของ ZnO สามารถสร้างคู่อิเล็กตรอน – โฮล (Electron-hole) ภายใต้การฉายรังสี UV ตามที่กลุ่มวิจัยหลายกลุ่มยืนยันก่อนหน้านี้ [126–129] อิเล็กตรอนถูกสร้างขึ้นในแถบการนำไฟฟ้า (Conduction band) ในขณะที่โฮลถูกสร้างขึ้นในแถบวาเลนซ์ (Valence band) ประจุเหล่านี้บางส่วนแพร่กระจายไปยังพื้นผิวผลึกของ ZnO และทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำที่ดูดซับเพื่อสร้างสายพันธุ์ออกซิเจนที่มีปฏิกิริยา (ROS) ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารพิษ และมีหน้าที่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงทำลายพันธะ N-H ในนิวเคลียสในเวลาต่อมา

5. การเติบโตของเซลล์มะเร็งจะถูกยับยั้งโดยการแพร่กระจายแบบพาสซีฟ (Passive diffusion) ของยาเคมีบำบัดโมเข้าสู่นิวเคลียส

ดังนั้นการใช้เคมีบำบัดร่วมกันนี้จะลดระดับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งส่งผลให้เซลล์ตายและเนื่องจากคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและเป็นพิษต่อเซลล์ที่ดีเยี่ยมของ CP+DOX+ZnO ต่อเนื้องอกของมนุษย์ภายใต้แสงยูวี ระบบการจัดส่งยาเคมีบำบัดของอนุภาคนาโนนี้จึงเป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับการรักษามะเร็งเต้านมของมนุษย์ สายพันธุ์ MCF-7 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

การทำวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) เป็นตัวแทนในการบรรจุยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคิน (CP) และยาเคมีบำบัดดอกซอร์บิซิน (DOX) ไปยังเซลล์มะเร็งเป้าหมาย โดยงานวิจัยได้ทำการศึกษาแบ่งได้ 2 หัวข้อคือ 1. การศึกษาการทดสอบความพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคิน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลองอนุมูลอิสระ DPPH ภายใต้การฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต และการศึกษาการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคิน และยาเคมีบำบัดดอกซอร์บิซิน (CP+DOX+ZnO) ภายใต้การฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต ผลการวิจัยสามารถสรุปตามหัวข้อได้ดังนี้

##### 5.1.1 สรุปผลการศึกษาการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคิน (ZnO+CP) ด้วยเซลล์มะเร็งจำลองอนุมูลอิสระ DPPH ภายใต้การฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต

ประสิทธิภาพของยาด้านอนุมูลอิสระรวมถึงอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ และ ยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาคิน (CP) ในสถานะที่มีและไม่มีแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ถูกกำหนดโดยวิธี DPPH โดยใช้รูปแบบอนุมูลอิสระ DPPH \* ซึ่งเป็นแบบจำลองสมมติฐานของเซลล์มะเร็งสำหรับการประยุกต์ใช้การรักษาโรคมะเร็งจอประสาทตาในเด็ก ผลการทดลองพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของยาเคมีบำบัดที่เป็นไปได้กับ DPPH \* ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของโครงสร้าง สารบางตัวตอบสนองได้ดีกับ DPPH \* โดยลดจำนวน DPPH \* และสอดคล้องกับปริมาณของกลุ่มไฮดรอกซิลที่มีอยู่ในบรรดาตัวแทนยาด้านอนุมูลอิสระทั้งสี่ชนิดประกอบด้วย ZnO CP ZnO+CP และ ZnO+CP+UV อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่บรรจุคาร์โบพลาคินภายใต้การให้แสงอัลตราไวโอเล็ต (ZnO+CP+UV) นั้นมีประสิทธิภาพมากที่สุด ในขณะที่อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพน้อยที่สุด อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ที่ได้รับรังสีอัลตราไวโอเล็ตกระตุ้นให้เกิดการสร้าง ROS รวมถึงอนุมูลไฮดรอกซิลซึ่งเป็นสายพันธุ์ออกซิไดซ์ที่มีศักยภาพ

### 5.1.2 สรุปผลการศึกษาการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ผนวกกับยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาตินและยาเคมีบำบัดดอกซูโรบิซิน ภายใต้การฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต

ในการศึกษานี้ทำการเตรียมอนุภาคนาโน ZnO ที่บรรจุยาเคมีบำบัดและมีฤทธิ์ต้านมะเร็งที่เพิ่มขึ้นโดยการฉายรังสียูวีในเซลล์มะเร็งของมนุษย์ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ สายพันธุ์ HT-29 เซลล์มะเร็งในช่องปาก สายพันธุ์ KB เซลล์มะเร็งปากมดลูก สายพันธุ์ HeLa เซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ MCF-7 และเซลล์มะเร็งตับสายพันธุ์ HepG-2 เมื่อบรรจุยาเข้าไปในอนุภาคนาโน ZnO อนุภาคจะมีขนาดเพิ่มขึ้น ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่าน (TEM) ระบุขนาดเฉลี่ยของอนุภาคนาโน ZnO เพิ่มขึ้นจาก 48 เป็น 69–82 นาโนเมตร หลังจากการดูดซับยาเคมีบำบัด จากการศึกษาโดยใช้เทคนิคอัลตราไวโอเล็ตและวิธีเบิลสเปกโทรสโคปี (UV-vis) พบว่า ความสามารถในการบรรจุยาของ CP+DOX+ZnO เท่ากับ 77.81% ซึ่งได้รับการยืนยันการเกาะตัวกันระหว่างอนุภาคนาโน ZnO และยาเคมีบำบัด CP+DOX โดยการใช้เทคนิค FTIR spectra ยาเคมีบำบัดทั้ง 9 ชนิดถูกนำไปทดสอบในเซลล์มะเร็งของมนุษย์และได้รับการรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กำหนดการทดสอบด้วยวิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT) ในบรรดา ยาเคมีบำบัดทั้ง 9 ชนิด ยาเคมีบำบัด CP+DOX+ZnO ภายใต้แสง UV แสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายมะเร็งเต้านม สายพันธุ์ MCF-7 และมีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง ที่ให้ค่า IC<sub>50</sub> ของ CP+DOX+ZnO เท่ากับ 0.137 µg/mL การดูดซับยาเคมีบำบัดในเซลล์จากอนุภาคนาโนของ ZnO ได้รับการยืนยันโดยการวัดการเรืองแสง และเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการบรรจุยาของ CP+DOX+ZnO เท่ากับ 99.05% ดังนั้นจึงยืนยันว่าปริมาณยาที่จำเป็นในการเข้าถึงบริเวณเนื้องอกที่เป็นเป้าหมายนั้นทำได้สำเร็จ การค้นพบนี้ชี้ให้เห็นว่ายาเคมีบำบัด CP+DOX+ZnO ภายใต้การฉายรังสี UV แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ MCF-7

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในการทำการทดลองการทำปฏิกิริยาระหว่าง กับอนุมูลอิสระ DPPH\* ควรทำในที่มืด เพื่อให้ปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ และทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกโลหะหนักให้ตกตะกอน ก่อนนำไปวิเคราะห์

5.2.2 การเตรียมสารควรเตรียมพร้อมกันทุกครั้ง และใช้ในครั้งเดียว ไม่ควรเตรียมทิ้งไว้เพื่อใช้ในวันถัดไป เพราะอาจส่งผลต่อการวัดและวิเคราะห์

5.2.3 อาจเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ยาเคมีบำบัด และลดเวลาในการฉายแสงลง

5.2.4 อาจใช้อนุภาคนาโนหรือยาเคมีบำบัดชนิดอื่นเพื่อนำมาเป็นระบบนำส่งยาไปยังเซลล์เป้าหมาย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] World Health Organization. 2020. **Cancer**. [Online]. Available : [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1).
- [2] National Cancer Institute. 2020. **Cancer in Thailand**. [Online]. Available : [http://www.nci.go.th/th/cancer\\_record/cancer\\_rec1.html](http://www.nci.go.th/th/cancer_record/cancer_rec1.html).
- [3] Wang, A. Z. Langer, R. and Farokhzad, O. C. 2012. “Nanoparticle Delivery of Cancer Drugs” *Annu. Rev. Med.* 63 : 185-198.
- [4] Rasmussen, J.W. Martinez, E. Louka, P. and Wingett, D.G. 2010. “Zinc Oxide Nanoparticles for Selective Destruction of Tumor Cell and Potential for Drug Delivery Application.” *Expert Opin. Drug. Deliv.* 7(9) : 1063 – 1077.
- [5] กมลรัตน์ ธนัทประภัสร์. 2014. นาโนเทอรานอสติกสำหรับโรคมะเร็ง. *Songkla Med J.* 32(5) : 339-352.
- [6] Meel, R. Fens, M.H. Vader, P. Solinge, W.W. Adefeso, O.E. and Schiffelers, R.M. 2014. “Extracellular vesicles as drug delivery systems: lessons from the liposome field,” *J Control Release.* 195 : 72-85.
- [7] Malhotra, S.P.K and Mandal, T.K. 2016. “Biomedical applications of zinc oxide nanomaterials in cancer treatment: A review.” *SCIREA Journal of Chemistry.* 67-68.
- [8] Bisht, G. and Rayamajhi, S. 2016. “ZnO nanoparticles: A promising anticancer agent,” *Nanobiomedicine.* 1-11.
- [9] Cai, X. Luo, Y. Zhang, W. Du, D. and Lin, Y. 2016. “pH-Sensitive ZnO Quantum Dots-Doxorubicin Nanoparticles for Lung Cancer Targeted Drug Delivery.” *ACS Applied Material & Interfaces.* 8(34) : 22442-22450.
- [10] Zhao, W. Wei, J.S. Zhang, P. Chen, J. Kong, J.L. Sun, L.H. Xiong, H.M. and M<sup>o</sup>hwald, H. 2017. “Self-Assembled ZnO nanoparticle Capsules for Carrying and Delivering Isotretinoin to Cancer Cells.” *ACS Applied Material & Interfaces.* 9(22) : 18474-18481.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [11] Liu, J. Ma, X. Jin, S. Xue, X. Zhang, C. Wei, T. Guo, W. and Liang, X.J. 2016 “Zinc Oxide Nanoparticles as Adjuvant to Facilitate Doxorubicin Intracellular Accumulation and Visualize pH-Responsive Release for Overcoming Drug Resistance”. *Molecular Pharmaceutics*. 13 (5) : 1723-1730.
- [12] Deng, Y. and Zhang, H. 2013. “The synergistic effect and mechanism of doxorubicin-ZnO nanocomplexes as a multimodal agent integrating diverse anticancer therapeutics,” *International Journal of Nanomedicine*. 8 : 1835–1841.
- [13] Nimse, S. B. and Pal, D. (2015). “Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms”. *RSC Advances*. 5(35) : 27986–28006.
- [14] Sharma, N. 2014. “Free Radicals, Antioxidants and Disease”. *Biology and Medicine*. 06 : 214.
- [15] Li, H. Horke, S. and Förstermann, U. 2013. “Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention”. *Trends in Pharmacological Sciences*. 34(6) : 313-9.
- [16] Pisoschi, A. M. and Negulescu, G. P. 2012. “Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review”. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 01(01).
- [17] Molyneux, P. 2004. “The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity”. *Songklanakarin J Sci Technol*. 26:211-219.
- [18] Brand-Williams W, Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity”. *Lebensm-Wiss u-Technol*. 28: 25-30.
- [19] Thaipong, K. Boonprakob, U. Crosby, K. Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D.H. 2006. “Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts”. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 669–675.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [20] Pisoschi AM, Cheregi MC and Danet AF (2009) Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Molecules* 14: 480-493.
- [21] Pellegrini, N. Serafini, M. Colombi, B. Del Rio, D. and Salvatore, S. 2003. "Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays". *J Nutr.* 133: 2812-2819.
- [22] Marc, F. Davin, A. Deglène-Benbrahim, L. Ferrand, C. and Baccaunaud, M. 2004. "Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation in food". *Med Sci* 20: 458-463.
- [23] Su, L. Yin, J.J. Charles, D. Zhou, K. Moore, J. 2007. "Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf". *Food Chem.* 100 : 990-997.
- [24] Gil, M.I. Tomas-Barberan, F.A. Hess-Pierce, B. and Kader, A.A. 2002. "Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from California". *J Agric Food Chem.* 50 : 4976-4982.
- [25] คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล. 2550. **ความรู้เรื่องมะเร็งสำหรับประชาชน**. กรุงเทพฯ : คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- [26] มะเร็งวิทยาสมาคมแห่งประเทศไทย. 2552. **ทำความเข้าใจกับโรคมะเร็งกันเถอะ**. กรุงเทพฯ: มะเร็งวิทยาสมาคม.
- [27] นลินี ศรีพวง. 2548. **โรคมะเร็งจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม**. กรุงเทพฯ : กลุ่มอบรมและเผยแพร่ประชาสัมพันธ์ สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข.
- [28] ปฐมวดี ญาณทัศนีย์จิต และศุภกิจ โขวุฒิชัยธรรม. 2555. "มะเร็ง: ความลับที่อยู่ในรหัสพันธุกรรม". *Thai Journal of Genetics.* 5(1) : 1-20
- [29] สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.). 2548. **สารน่ารู้พันธุศาสตร์**. กรุงเทพฯ: เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [30] Hanahan, D., and Weinberg, R.A. 2000. "The hallmarks of cancer". *Cell*. 7;100 (1), 57-70.
- [31] Bacac, M. and Stamenkovic, I. 2008. "Metastatic cancer cell". *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 3: 221-247.
- [32] ชมรมฟื้นฟูสุขภาพผู้ป่วยโรคมะเร็ง. 2555. การผ่าตัดรักษามะเร็ง. [Online]. Available : <http://www.siamca.com/>
- [33] ศูนย์มะเร็งฮอไรซัน. (ม.ป.ป.). เคมีบำบัด. [Online]. Available : <https://www.bumrungrad.com/thai>
- [34] สมศักดิ์ วรคามิน. 2555. "เรื่องของเซลล์มนุษย์และสเต็มเซลล์". *Journal of Bureau of Alternative Medicine*. 5(2) : 5-16.
- [35] Riss, T.L. Moravec, R.A. Niles, A.L. 2013. "Cell Viability Assays". *Assay Guidance Manual Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences*.
- [36] Liao, C. Jin, Y. Li, Y. and Tjong, S. C. 2020. "Interactions of Zinc Oxide Nanostructures with Mammalian Cells: Cytotoxicity and Photocatalytic Toxicity". *International Journal of Molecular Sciences*. 21(17). 6305.
- [37] John, P. I. Praveen, E. Vignesh, G. and Nithiananthi, P. 2017. "ZnO nanostructures with different morphology for enhanced photocatalytic activity". *Materials Research Express*. 4(12).
- [38] Sivakumar, P. Lee, M. Kim, Y.-S. and Shim, M. S. 2018. "Photo-triggered antibacterial and anticancer activities of zinc oxide nanoparticles". *Journal of Materials Chemistry B*. 6(30), 4852–4871.
- [39] Mohd Yusof, H. Mohamad, R. Zaidan, U. H. and Abdul Rahman, N. A. 2019. "Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review". *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 10(1) : 1-22.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [40] Yi, G. Li, X. Yuan, Y. and Zhang, Y. 2018. “Redox active Zn/ZnO duo generating superoxide ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) and  $\text{H}_2\text{O}_2$  in all conditions for environmental sanitation”. *Environmental Science: Nano*.68-74.
- [41] Kim, I. Viswanathan, K. Kasi, G. Thanakkasaranee, S. Sadeghi, K. and Seo, J. 2020. “ZnO Nanostructures in Active Antibacterial Food Packaging: Preparation Methods, Antimicrobial Mechanisms, Safety Issues, Future Prospects, and Challenges”. *Food Reviews International*. 1–29.
- [42] Sirelkhatim, A. Mahmud, S. Seenii, A. Kaus, N. H. M. Ann, L. C. Bakhori, S. K. M. and Mohamad, D. 2015. “Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism”. *Nano-Micro Letters*. 7(3) : 219–242.
- [43] Shen, Z. Nieh, M.-P. and Li, Y. 2016. “Decorating Nanoparticle Surface for Targeted Drug Delivery: Opportunities and Challenges”. *Polymers*, 8(3) : 83.1-18.
- [44] Dai, Y. Xu, C. Sun, X. and Chen, X. 2017. “Nanoparticle design strategies for enhanced anticancer therapy by exploiting the tumor microenvironment”. *Chemical Society Reviews*. 46(12) : 3830–3852.
- [45] Scherzad, A. Meyer, T. Kleinsasser, N. and Hackenberg, S. 2017. “Molecular Mechanisms of Zinc Oxide Nanoparticle-Induced Genotoxicity Short Running Title: Genotoxicity of ZnO NPs”. *Materials*. 1-19
- [46] Sharma, P. Jang, N.-Y. Lee, J.-W. Park, B. C. Kim, Y. K. and Cho, N.-H. 2019. “Application of ZnO-Based Nanocomposites for Vaccines and Cancer Immunotherapy”. *Pharmaceutics*. 11(10) : 493.1-20
- [47] Abdal Dayem, A. Hossain, M. Lee, S. Kim, K. Saha, S. Yang, G.-M. and Cho, S.-G. 2017. “The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles”. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(1) : 120.
- [48] Bisht, G. and Rayamajhi, S. 2016. “ZnO Nanoparticles: A Promising Anticancer Agent”. *Nanobiomedicine*, 3 : 9.1-11.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [49] Naveed Ul Haq, A. Nadhman, A. Ullah, I. Mustafa, G. Yasinzai, M. and Khan, I. 2017. "Synthesis Approaches of Zinc Oxide Nanoparticles: The Dilemma of Ecotoxicity". *Journal of Nanomaterials*. 1-15.
- [50] Singh, G. and Singh, S. P. 2020. "Synthesis of zinc oxide by sol-gel method and to study it's structural properties". *3rd international conference on condensed matter and applied physics*. ICC-2019.
- [51] Siswanto, Rochman, N. T. and Akwalia, P. R. 2017. "Fabrication and characterization of Zinc Oxide (ZnO) nanoparticle by sol-gel method". *Journal of Physics: Conference Series*. 853. 012041.
- [52] Wallace, R. Brown, A. P. Brydson, R. Wegner, K. and Milne, S. J. 2013. "Synthesis of ZnO nanoparticles by flame spray pyrolysis and characterisation protocol". *Journal of Materials Science*. 48(18) : 6393–6403.
- [53] Widiyandari, H. Ketut Umiati, N. A. and Dwi Herdianti, R. 2018. "Synthesis and photocatalytic property of Zinc Oxide (ZnO) fine particle using flame spray pyrolysis method". *Journal of Physics: Conference Series*. 1025. 012004.
- [54] ศุภมาส ด้านวิทยากุล. 2556. "ซิงค์ออกไซด์วัสดุนอกประสงค์". ห้องปฏิบัติการวัสดุสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากสารอันตราย. หน่วยวิจัยด้านสิ่งแวดล้อม ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ.
- [55] Gaddam, V. Kumar, R. R. Parmar, M. Nayak, M. M. and Rajanna, K. 2015. "Synthesis of ZnO nanorods on a flexible Phynox alloy substrate: influence of growth temperature on their properties". *RSC Advances*. 5(109).
- [56] Mohanan, A. A. Parthiban, R. and Ramakrishnan, N. 2015. "Alignment nature of ZnO nanowires grown on polished and nanoscale etched lithium niobate surface through self-seeding thermal evaporation method". *Materials Research Bulletin*. 68 : 35–41.
- [57] Mosquera-Sanchez, L.P. Arciniegas-Grijalba, P.A. Patino-Portela, M.A. Guerra-Sierra, B.E. Munoz-Florez, J.E. and Rodríguez-Paez, J.E. 2020. "Antifungal effect

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on *Colletotrichum* sp., causal agent of anthracnose in coffee crops”. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 25.
- [58] Sosnik, A. and Seremeta, K. P. 2015. “Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers”. *Advances in Colloid and Interface Science*. 223 : 40–54.
- [59] Abdou, P. Wang, Z. Chen, Q. Chan, A. Zhou, D. R. Gunadhi, V. and Gu, Z. 2020. “Advances in engineering local drug delivery systems for cancer immunotherapy”. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. e1632.
- [60] Saleh, Y. Abdelkarim, O. Herzallah, K. and Abela, G. S. 2020. “Anthracycline-induced cardiotoxicity: mechanisms of action, incidence, risk factors, prevention, and treatment”. *Heart Failure Reviews*.
- [61] Hur, W. and Yoon, S. 2017. “Molecular Pathogenesis of Radiation-Induced Cell Toxicity in Stem Cells”. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(12) : 2749.
- [62] Larionova, I. Cherdyntseva, N. Liu, T. Patysheva, M. Rakina, M. and Kzhyshkowska, J. 2019. “Interaction of tumor-associated macrophages and cancer chemotherapy”. *Oncolmmunology*. 8(7) : 1596004.
- [63] Siddik, Z. H. 2005. “Mechanisms of Action of Cancer Chemotherapeutic Agents: DNA-Interactive Alkylating Agents and Antitumour Platinum-Based Drugs”. *The Cancer Handbook*.
- [64] Rivankar, S. 2014. “An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy”. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 10(4) : 853.
- [65] Han, D. Serra, R. Gorelick, N. Fatima, U. Eberhart, C. G. Brem, H. and Steckl, A. J. 2019. “Multi-layered core-sheath fiber membranes for controlled drug release in the local treatment of brain tumor”. *Scientific Reports*. 9(1).

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [66] Bracci, F. Schiavoni, G. Sistigu, A. and Belardelli F. 2014. “Immune-based mechanisms of cytotoxic chemotherapy: implications for the design of novel and rationale-based combined treatments against cancer”. *Cell Death and Differentiation*. 21 : 15–25.
- [67] สถานวิทยามะเร็งศิริราช. 2549. Tumor registry: Statistical report 2005. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- [68] เพลินพิศ ธรรมนิภา, นันทนา ธนาโนวรรณ. การพยาบาลผู้ป่วยมะเร็งนรีเวชที่ได้รับยาเคมีบำบัด. ตำราการพยาบาลนรีเวช (ฉบับองค์รวม). กรุงเทพฯ: วี.พี.พี. 2553. หน้า 309-27.
- [69] ชวนพิศ นรเดชาพันธ์. 2547. เคมีบำบัด: หลักการพยาบาล. กรุงเทพฯ: คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- [70] คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2020. **Basic principle of chemotherapy**. [Online]. Available : [http://www.med.cmu.ac.th/dept/pediatrics/04-divisions\\_home\\_thai/08-hema-onco-home/Panja-book/chapter3.htm](http://www.med.cmu.ac.th/dept/pediatrics/04-divisions_home_thai/08-hema-onco-home/Panja-book/chapter3.htm)
- [71] Goodin S, Griffith N, Chuk K, Daouphars M, Doreau C, Patel RA, et al. 2011. “Safe handling of oral chemotherapeutic agents in clinical practice: recommendations from an international pharmacy panel”. *J Oncol Prac*. 7(1) : 7-12.
- [72] งานเตรียมยาเคมีบำบัด กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลชลบุรี. 2020. **คู่มือการบริหารจัดการเกี่ยวกับยาเคมีบำบัด**. [Online]. Available : <http://www.cbh.moph.go.th/~pcl/phar/data/chemo2553.pdf>
- [73] รักชาย บุหงาชาติ. 2550. สถานการณ์ปัจจุบันของมะเร็งรังไข่. *สงขลานครินทร์เวชสาร*. 25(6) : 537-47.
- [74] Trimble EL, Thompson S, Christian MC, Minasian L. 2008. “Intraperitoneal chemotherapy for women with epithelial ovarian cancer”. *The Oncologist*. 13 : 403-9.
- [75] สดใส เกตุไฉย. 2020. **การรั่วซึมของยาหรือสารเคมีออกนอกหลอดเลือด(Extravasation)**. [Online].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Available :

<http://www1.si.mahidol.ac.th/km/sites/default/files/u7057/extravasation.pdf>  
[har/data/chemo2553.pdf](http://www1.si.mahidol.ac.th/km/sites/default/files/u7057/extravasation.pdf)

- [76] กนธีร์ สังขาสี. 2541. Chemotherapy for gynecologic cancer. กรุงเทพฯ: หน่วยมะเร็งนรีเวชวิทยา กองสูตินรีเวชกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า. 26-46.
- [77] ฐิติพร อิงคถาวรวงศ์. 2541. การพยาบาลมะเร็งอวัยวะสืบพันธุ์สตรี. สงขลา: ชานเมืองการพิมพ์.
- [78] British Columbia Cancer Agency. 2020. **Extravasation of chemotherapy, prevention and management.** [Online].  
 Available : [http://www.bccancer.bc.ca/HPI/Chemotherapy Protocols/Policies.htm](http://www.bccancer.bc.ca/HPI/Chemotherapy%20Protocols/Policies.htm)
- [79] Woscan Cancer Nursing and Pharmacy Group. 2020. **Chemotherapy extravasation guideline.** [Online].  
 Available : <http://www.beatson.scot.nhs.uk/content/mediaassets/doc/extravasation%20guidance.pdf>
- [80] Perez Fidalgo, J.A. Fabregat, L.G. Cervantes, A. Margulies, A. Vidall, C. Roila F. 2012. “Management of chemotherapy extravasation: ESMO-EONS Clinical Practice Guidelines”. *Ann Oncol.* 23 : vii167-73.
- [81] Titus, D. James Jebaseelan Samuel, E. and Mohana Roopan, S. 2019. “Nanoparticle characterization techniques”. *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles.* 303-318.
- [82] วิศิษฎ์พงษ์ ยอดศรี. 2557. การทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบทรานสมิSSION. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์เชิงฟิสิกส์ หน่วยวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของวัสดุ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ.
- [83] อัจฉราพร ศรีอ่อน. 2559. หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนนิ่ง. ห้องปฏิบัติการวัสดุทางการแพทย์ หน่วยวิจัยวิศวกรรมชีวการแพทย์ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [84] Das, D. Nath, B. C. Phukon, P. kalita, A. and Dolui, S. K. 2013. "Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 111: 556–560.
- [85] Smijs, T. and Pavel. 2011. "Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness". *Nanotechnology, Science and Applications*. 95.
- [86] Lu, P.J. Huang, S.C. Chen, Y.P. Chiueh, L.C. and Shih, D. Y. C. 2015. "Analysis of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in cosmetics". *Journal of Food and Drug Analysis*. 23(3) : 587–594.
- [87] Bisht, G. and Rayamajhi, S. 2016. "ZnO nanoparticles: a promising anticancer agent". *Nanobiomedicine*. 3 : 9.
- [88] Bogdan, J. Pławiska-Czarnak, J. and Zarzyska, J. 2017. "Nanoparticles of titanium and zinc oxides as novel agents in tumor treatment: a review". *Nanoscale Research Letters*. 12(1).
- [89] Preedia Babu, E. Subastri, A. Suyavaran, A. Premkumar, K. Sujatha, V. Aristatile, B. and Thirunavukkarasu, C. 2017. "Size dependent uptake and hemolytic effect of zinc oxide nanoparticles on erythrocytes and biomedical potential of ZnO-ferulic acid conjugates". *Scientific Reports*. 7(1).
- [90] Jiang, J. Pi, J. and Cai, J. 2018. "The advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for biomedical applications". *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 1–18.
- [91] Martínez-Carmona, M. Gun'ko, Y. and Vallet-Regí, M. 2018. "ZnO nanostructures for drug delivery and theranostic applications". *Nanomaterials*. 8(4) : 268.
- [92] Chacko, B.J. Palanisamy, S. Gowrishankar, N.L. Honeypriya, J. and Sumathy, A. 2018. "Effect of surfactant coating on brain targeting polymeric nanoparticles; a review". *Indian J Pharm Sci*. 80(2) : 215–22.
- [93] Ancona, A. Dumontel, B. Garino, N. Demarco, B. Chatzitheodoridou, D. Fazzini, W. and Cauda, V. 2018. "Lipid-coated zinc oxide nanoparticles as innovative ros-generators for photodynamic therapy in cancer cells". *Nanomaterials*. 8(3) : 143.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [94] Lu, P. J. Fang, S. W. Cheng, W. L. Huang, S. C. Huang, M. C. and Cheng, H. F. 2018. “Characterization of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreen powder by comparing different measurement methods”. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26(3) : 1192–1200.
- [95] Yang, M.Y. Chang, K.C. Chen, L.Y. Wang, P.C. Chou, C.C. Wu, Z.B. and Hu, A. 2018. “Blue light irradiation triggers the antimicrobial potential of ZnO nanoparticles on drug-resistant *Acinetobacter baumannii*”. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 180 : 235–242.
- [96] Wozniak, A. Rapacka-Zdonczyk, A. Mutters, N. T. and Grinholc, M. 2019. “Antimicrobials Are a Photodynamic Inactivation Adjuvant for the Eradication of Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*”. *Frontiers in Microbiology*. 10.
- [97] Ahmed, F. Ali, M. J. and Kondapi, A. K. 2014. “Carboplatin loaded protein nanoparticles exhibit improve anti-proliferative activity in retinoblastoma cells”. *International Journal of Biological Macromolecules*. 70 : 572–582.
- [98] Shome, D. Kalita, D. Jain, V. Sarin, R. Maru, G.B. and Bellare, J.R. 2014. “Carboplatin loaded polymethylmethacrylate nano-particles in an adjunctive role in retinoblastoma: an animal trial”. *Indian J Ophthalmol*. 62(5) : 585–9.
- [99] Kalita, D. Shome, D. Jain, V. G. Chadha, K. and Bellare, J. R. 2014. “In vivo intraocular distribution and safety of periocular nanoparticle carboplatin for treatment of advanced retinoblastoma in humans”. *American Journal of Ophthalmology*. 157(5) : 1109–1115.
- [100] Karanam, V. Marslin, G. Krishnamoorthy, B. Chellan, V. Siram, K. Natarajan, T. and Franklin, G. 2015. “Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles of carboplatin: Preparation, characterization and in vitro cytotoxicity evaluation in U-87 MG cell lines”. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 130 : 48–52.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [101] Duan, X. He, C. Kron, S. J. and Lin, W. 2016. “Nanoparticle formulations of cisplatin for cancer therapy”. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 8(5) : 776–791.
- [102] Song, H. Quan, F. Yu, Z. Zheng, M. Ma, Y. Xiao, H. and Ding, F. 2018. “Carboplatin prodrug conjugated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for magnetically targeted drug delivery in ovarian cancer cells”. *Journal of Materials Chemistry B*. 7 : 433-442
- [103] Salaam, A. D. Hwang, P. McIntosh, R. Green, H. N. Jun, H.W. and Dean, D. 2014. “Nanodiamond-DGEA peptide conjugates for enhanced delivery of doxorubicin to prostate cancer”. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 5 : 937–945.
- [104] GUO, Y. WANG, L. LV, P. and ZHANG, P. 2015. “Transferrin-conjugated doxorubicin-loaded lipid-coated nanoparticles for the targeting and therapy of lung cancer”. *Oncology Letters*. 9(3) : 1065–1072.
- [105] Cai, X. Luo, Y. Zhang, W. Du, D. and Lin, Y. 2016. “pH-Sensitive ZnO quantum dots–doxorubicin nanoparticles for lung cancer targeted drug delivery”. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 8(34) : 22442–22450.
- [106] Liu, J. Ma, X. Jin, S. Xue, X. Zhang, C. Wei, T. and Liang, X.J. 2016. “Zinc oxide nanoparticles as adjuvant to facilitate doxorubicin intracellular accumulation and visualize ph-responsive release for overcoming drug resistance”. *Molecular Pharmaceutics*. 13(5) : 1723–1730.
- [107] Locharoenrat, K. 2019. “Efficacy of nanodiamond–doxorubicin complexes on human breast adenocarcinoma cell lines”. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 47(1) : 4053–4058.
- [108] Galam, N. Tulay, P. and Adali, T. 2020. “In vitro MCF-7 cells apoptosis analysis of carboplatin loaded silk fibroin particles”. *Molecules*. :25(5): 1110.
- [109] Ouyang, J. Yang, M. Gong, T. Ou, J. Tan, Y. Zhang, Z. and Li, S. 2020. “Doxorubicin-loading core–shell pectin nanocell: a novel nanovehicle for anticancer agent delivery with multidrug resistance reversal”. *PLoS One* :15(6) : e053500.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [110] Sáenz-Trevizo, A. Amézaga-Madrid, P. Pizá-Ruiz, P. Antúnez-Flores, W. and Miki-Yoshida, M. 2016. "Optical Band Gap Estimation of ZnO Nanorods". *Materials Research*. 19(suppl 1) : 33–38.
- [111] Indis, N. A. and Kurniawan, F. 2016. "Determination of free radical scavenging activity from aqueous extract of Curcuma manga by DPPH method". *Journal of Physics: Conference Series*. 710 : 012043.
- [112] Kang, S.J. Durairaj, C. Kompella, U.B. O'Brien, J. and Grossniklaus, H.E. 2009. "Subconjunctival nanoparticle carboplatin in the treatment of murine retinoblastoma". *Arch Ophthalmol*. 127(8) : 1043–7.
- [98] Shome D, Kalita D, Jain V, Sarin R, Maru GB, Bellare JR. Carboplatin loaded polymethylmethacrylate nano-particles in an adjunctive role in retinoblastoma: an animal trial. *Indian J Ophthalmol* 2014;62(5):585–9.
- [99]. Kalita D, Shome D, Jain VG, Chadha K, Bellare JR. In vivo intraocular distribution and safety of periocular nanoparticle carboplatin for treatment of advanced retinoblastoma in humans. *American J Ophthalmol* 2014;157(5):1109–15.
- [113] Locharoenrat, K. and Srivatcharakul, S. 2015. "Optical studies of zinc oxide nanoparticles and their biomedical application". *Chinese J Phys*. 53(4) : 080901.
- [94] Lu PJ, Fang SW, Cheng WL, Huang SC, Huang MC, Cheng HF. Characterization of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreen powder by comparing different measurement methods. *J Food Drug Anal* 2018;26(3):1192–200.
- [86] Lu PJ, Huang SC, Chen YP, Chiueh LC, Shih DY. Analysis of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in cosmetics. *J Food Drug Anal* 2015;23(3):587–94.
- [97] Ahmed F, Ali MJ, Kondapi AK. Carboplatin loaded protein nanoparticles exhibit improve anti-proliferative activity in retinoblastoma cells. *Int J Biol Macromol* 2014;70:572–82.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [114] Silva, M.M. Santos, M.R. Caroco, G. Rocha, R. Justino, G. and Mira, L. 2002. “Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids: a re-examination”. *Free Radicals*. 36(11) : 1219–27.
- [115] Suja, K.P. Jayalekshmy, A. and Arumugan, C. 2014. “Free radical scavenging behavior of antioxidant compounds of sesame (*Sesamum indicum* L.) in DPPH\* system”. *J Agric Food Chem*. 52(4) : 912–5.
- [96] Wozniak A, Rapacka-Zdonczyk A, Muters NT, Grinholc M. Antimicrobials are a photodynamic inactivation adjuvant for the eradication of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol* 2019;10:229.
- [95] Yang MY, Chang KC, Chen LY, Wang PC, Chou CC, Wu ZB, et al. Blue light irradiation triggers the antimicrobial potential of ZnO nanoparticles on drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Photochem Photobiol B* 2018;180:235–42
- [93] Ancona A, Dumontel B, Garino N, Demarco B, Chatzitheodoridou D, Fazzini W, et al. Lipid-coated zinc oxide nanoparticles as innovative ROS-generators for photodynamic therapy in cancer cells. *Nanomaterials (Basel)* 2018;8(3):e143.
- [116] Nagaraju, G. Udayabhanu, Shivaraj, Prashanth, S. A. Shastri, M. Yathish, K. V. and Rangappa, D. 2017. “Electrochemical heavy metal detection, photocatalytic, photoluminescence, biodiesel production and antibacterial activities of Ag–ZnO nanomaterial”. *Mater Res Bull*. 94 : 54–63.
- [117] Nosrati, H. Khodaei, M. Dehkordi, M.B. Alizadeh, M. Asadpour, S. Sharifi, E. Ai, J. and Soleimannejad, M. 2020. “Preparation and characterization of poly (ethylene oxide)/zinc oxide nanofibrous scaffold for chronic wound healing applications”. *Polim Med*. 50(1) : 41–51.
- [118] Danmaigoro, A. Selvarajah, G.T. Noor, M.H.M. Rozi, M. and Bakar, Z.M.D. 2017. “Development of cockleshell (*Anadara granosa*) derived  $\text{CaCO}_3$  nanoparticle for doxorubicin delivery”. *J Comput Theor Nanosci*. 14(10) : 5074–5086.
- [119] Iliescu, R.I. Andronescu, E. Ghitulica, C.D. Berger, D. and Ficai, A. 2011. “Montmorillonite–alginate nanocomposite beads as drug carrier for oral

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- administration of carboplatin–preparation and characterization”. *UPB Sci Bull B*. 73(3) : 3–16.
- [120] Eroglu, O. Kaya, H. Celik, E.G. Celen, M. Korkut, E. and Nizam, N. 2019. “Triple effect of doxorubicin, 5- fluorouracil, propranolol on cell survival on MCF-7 breast cancer cell line”. *J Biosci Med*. 7(2) : 74–85.
- [121] Mohammad, G.R.K.S. Tabrizi, M.H. Ardalan, T. Yadamani, S. and Safavi, E. 2019. “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles and evaluation of anti-angiogenesis, antiinflammatory and cytotoxicity properties”. *J Biosci*. 44(2) : 30.
- [107] Locharoenrat K. Efficacy of nanodiamond–doxorubicin complexes on human breast adenocarcinoma cell lines. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2019;47(1):4053–4058
- [122] Pairoj, S. Damrongsak, P. Damrongsak, B. Jinawath, N. Kaewkhaw, R. Leelawattananon, T. Ruttanasirawit, C. and Locharoenrat, K. 2019. Antiradical properties of chemo drug, carboplatin, in cooperation with ZnO nanoparticles under UV irradiation in putative model of cancer cells”. *Biocyber Biomed Eng*. 39(3) : 893–901.
- [108] Galam N, Tulay P, Adali T. In vitro MCF-7 cells apoptosis analysis of carboplatin loaded silk fibroin particles. *Molecules*. 2020;25(5): 1110.
- [109] Ouyang J, Yang M, Gong T, et al. Doxorubicin-loading core–shell pectin nanocell: a novel nanovehicle for anticancer agent delivery with multidrug resistance reversal. *PLoS One*. 2020;15(6): e0535090.
- [123] Harahap, Y. Amalia, S.N. and Anarta, A. 2020. “Analysis of doxorubicin and doxorubicinol in dried blood spot of breast cancer patients for monitoring the cardiotoxicity of doxorubicin”. *Int J Pharmacy Pharm Sci*. 12(4) : 36707.
- [124] Alavi, A.S. and Meshkini, A. 2018. “Fabrication of poly(ethylene glycol)-coated mesoporous nanocomposite ZnO@Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> for methotrexate delivery: an

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- integrated nanoplatform for dual-mode cancer therapy”. *Eur J Pharm Sci.* 115 : 144–157.
- [125] Behnamsani, A. and Meshkini, A. 2019. “Synthesis and engineering of mesoporous ZnO@HAP heterostructure as a pH-sensitive nano-photosensitizer for chemo-photodynamic therapy of malignant tumor cells”. *J Drug Deliv Sci Technol.* 53 : 101200.
- [126] Jefri, S.N.S. Abdullah, A.H. and Mohammad, E.N. 2019. “Response surface methodology: photodegradation of methyl orange by CuO/ZnO under UV light irradiation”. *Asian J Green Chem.* 3(2) : 271–287.
- [127] Mehr, E.S. Sorbiun, M. Ramazani, A. and Fardood, S.T. 2018. “Plant-mediated synthesis of zinc oxide and copper oxide nanoparticles by using *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss extract and comparison of their photocatalytic degradation of rhodamine B (RhB) under visible light irradiation”. *J Mater Sci Mater Electron.* 29(2) : 1333–1340.
- [128] Sorbiun, M. Mehr, E.S. Ramazani, A. and Fardood, S.T. 2018. “Green synthesis of zinc oxide and copper oxide nanoparticles using aqueous extract of oak fruit hull (Jaft) and comparing their photocatalytic degradation of basic violet 3”. *Int J Environ Res.* 12(1) : 29–37.
- [129] Fardood, S.T. Ramazani, A. Moradi A. and Asiabi, P.A. 2017. “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using arabic gum and photocatalytic degradation of direct blue 129 dye under visible light”. *J Mater Sci Mater Electron.* 28(18) : 13596–13601.

## ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเพื่อใช้ในการงานวิจัย

### ตอนที่ 1

การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

ซิงค์อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ปริมาณ 0.0200 g เติมหะทอนอลปริมาตร 10 mL จากนั้นนำไปใส่เครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เป็นสารแขวนลอย จะได้ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เท่ากับ 2 mg/mL

วิธีการคำนวณการเจือจางสารละลาย

สามารถคำนวณได้จากสูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ  $C_1$  คือ ความเข้มข้นของสารละลาย ZnO เริ่มต้น (mg/mL)

$C_2$  คือ ความเข้มข้นของสารละลาย ZnO ที่ต้องการ (mg/mL)

$V_1$  คือ ปริมาตรของสารละลาย ZnO เริ่มต้น (mL)

$V_2$  คือ ปริมาตรของสารละลาย ZnO ที่ตักแบ่งมา (mL)

แสดงการคำนวณ

1. เตรียมสารละลาย ZnO ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 2.00 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} \quad & (2\text{mg/mL}) (V_1) = (1 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 2 ความเข้มข้น 5 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย ZnO ปริมาตร 5 mL และเติมหะทอนอล ปริมาตร 5 mL

2. เตรียมสารละลาย ZnO ความเข้มข้น 0.5 mg/mL ปริมาตร 2 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} \quad & (1\text{mg/mL}) (V_1) = (0.5 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 3 ความเข้มข้น 0.5 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย ZnO ปริมาตร 5 mL และเติมหะทอนอล ปริมาตร 5 mL

3. เตรียมสารละลาย ZnO ความเข้มข้น 0.25 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.5 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.5\text{mg/mL}) (V_1) = (0.25 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 4 ความเข้มข้น 0.25 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย ZnO ปริมาตร 5 mL และเติมเมทานอล ปริมาตร 5 mL

4. เตรียมสารละลาย ZnO ความเข้มข้น 0.125 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.25 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.25 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.125 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 5 ความเข้มข้น 0.125 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย ZnO ปริมาตร 5 mL และเติมเมทานอล ปริมาตร 5 mL

5. เตรียมสารละลาย ZnO ความเข้มข้น 0.0625 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.125 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.125\text{mg/mL}) (V_1) = (0.0625 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 6 ความเข้มข้น 0.0625 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย ZnO ปริมาตร 5 mL และเติมเมทานอล ปริมาตร 5 mL

6. เตรียมสารละลาย ZnO ความเข้มข้น 0.03125 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.0625 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.0625\text{mg/mL}) (V_1) = (0.03125 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 7 ความเข้มข้น 0.03125 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย ZnO ปริมาตร 1 mL และเติมเมทานอล ปริมาตร 5 mL

7. เตรียมสารละลาย ZnO ความเข้มข้น 0.015625 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.03125 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

จากสูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$   
 จะได้  $(0.03125 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.015625 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL})$   
 $V_1 = 5 \text{ mL}$

ดังนั้น สารละลาย Sample 8 ความเข้มข้น 0.25 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย ZnO ปริมาตร 5 mL และเติมเมทานอล ปริมาตร 5 mL

### การเตรียมสารละลายยาเคมีบำบัดคาร์โบพลาดิน (CP)

สารละลายคาร์โบพลาดินจะเตรียมจากความเข้มข้น 0.8 mg/mL จากสารละลายความเข้มข้น 10 mg/mL

เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 0.8 mg/mL ปริมาตร 2 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 10 mg/mL ปริมาตร 45 mL)

จากสูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$   
 จะได้  $(10 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.8 \text{ mg/mL}) (5 \text{ mL})$   
 $V_1 = 0.4 \text{ mL}$

ดังนั้น สารละลาย Stock ความเข้มข้น 0.8 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 0.4 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 4.6 mL

1.เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 0.4 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.8 mg/mL ปริมาตร 5 mL)

จากสูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$   
 จะได้  $(0.8 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.4 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL})$   
 $V_1 = 5 \text{ mL}$

ดังนั้น สารละลาย Sample 1 ความเข้มข้น 0.4 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

2. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 0.2 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.4 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

จากสูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$   
 จะได้  $(0.8 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.4 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL})$   
 $V_1 = 5 \text{ mL}$

ดังนั้น สารละลาย Sample 2 ความเข้มข้น 0.2 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

3. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 0.1 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.2 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.2\text{mg/mL}) (V_1) = (0.1 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 3 ความเข้มข้น 0.1 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

4. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 0.05 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.1 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.1 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.05 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 4 ความเข้มข้น 0.05 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

5. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 0.025 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.05 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.05 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.025 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 5 ความเข้มข้น 0.025 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

6. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 0.0125 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.025 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.025 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.0125 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 6 ความเข้มข้น 0.0125 mg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

7. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 0.00625 mg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 0.0125 mg/mL ปริมาตร 10 mL)

จากสูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$   
 จะได้  $(0.0125 \text{ mg/mL}) (V_1) = (0.00625 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL})$   
 $V_1 = 5 \text{ mL}$

ดังนั้น สารละลาย Sample 7 ความเข้มข้น  $0.00625 \text{ mg/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร  $5 \text{ mL}$  และเติมน้ำเกลือ  $0.9\%$  ปริมาตร  $5 \text{ mL}$

8. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น  $0.003125 \text{ mg/mL}$  ปริมาตร  $10 \text{ mL}$  (จากสารละลาย ความเข้มข้น  $0.00625 \text{ mg/mL}$  ปริมาตร  $10 \text{ mL}$ )

จากสูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$   
 จะได้  $0.00625 \text{ mg/mL} (V_1) = (0.003125 \text{ mg/mL}) (10 \text{ mL})$   
 $V_1 = 5 \text{ mL}$

ดังนั้น สารละลาย Sample 8 ความเข้มข้น  $0.003125 \text{ mg/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร  $5 \text{ mL}$  และเติมน้ำเกลือ  $0.9\%$  ปริมาตร  $5 \text{ mL}$

#### การเตรียมสารละลายอนุโมลลิธระ DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH ที่  $100 \mu\text{M}$  ปริมาตร  $50 \text{ mL}$  จากสูตร

$$g = (N_1 \times V_1 \times MW) / 1000$$

เมื่อ  $g$  คือ ปริมาณสารที่ต้องการ (กรัม)  
 $MW$  คือ มวลโมเลกุลของสาร (มวลโมเลกุลของ DPPH  $394.32 \text{ g/mol}$ )  
 $V_1$  คือ ปริมาตรสารละลาย (มิลลิลิตร) ( $50 \text{ มิลลิลิตร}$ )  
 $N_1$  คือ ความเข้มข้นที่ต้องการ (โมลาร์)

จะได้  $g = (100 \times 10^{-6} \times 50 \times 394.32) / 1000$   
 $= 0.0020 \text{ g}$

ดังนั้นจะต้องชั่ง DPPH มา  $0.0020 \text{ g}$  แล้วเติมเมทานอล  $50 \text{ mL}$

## ตอนที่ 2

### การเตรียมสารละลาย Doxorubicin

ซึ่ง DOX มา 0.0002 g เติมน้ำเกลือ 0.9% 5 mL จะได้สารละลาย DOX ที่ความเข้มข้น 40  $\mu\text{g/mL}$

1.เตรียมสารละลาย DOX ความเข้มข้น 6.25  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 40  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 5 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & \quad C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & \quad (40 \mu\text{g/mL}) (V_1) = (6.25 \mu\text{g/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & \quad V_1 = 1.5625 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 1 ความเข้มข้น 6.25  $\mu\text{g/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย DOX ปริมาตร 1.563 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 8.437 mL

2. เตรียมสารละลาย DOX ความเข้มข้น 3.125  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 6.25  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & \quad C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & \quad (6.25 \mu\text{g/mL}) (V_1) = (3.125 \mu\text{g/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & \quad V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 2 ความเข้มข้น 6.25  $\mu\text{g/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย DOX ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

3. เตรียมสารละลาย DOX ความเข้มข้น 1.5625  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 3.125  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & \quad C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & \quad (3.125 \mu\text{g/mL}) (V_1) = (1.5625 \mu\text{g/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & \quad V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 3 ความเข้มข้น 1.5625  $\mu\text{g/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย DOX ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

4. เตรียมสารละลาย DOX ความเข้มข้น 0.78125  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 1.5625  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & \quad C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & \quad (1.5625 \mu\text{g/mL}) (V_1) = (0.78125 \mu\text{g/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & \quad V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 4 ความเข้มข้น 0.78125 µg/mL ได้จากการดูดสารละลาย DOX ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

5. เตรียมสารละลาย DOX ความเข้มข้น 0.39063 µg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลาย ความเข้มข้น 0.78125 µg/mL ปริมาตร 10 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (0.78125 \text{ µg/mL}) (V_1) = (0.39063 \text{ µg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 5 ความเข้มข้น 0.78125 µg/mL ได้จากการดูดสารละลาย DOX ปริมาตร 5 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5 mL

### การเตรียมสารละลาย Carboplatin

เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 20 µg/mL ปริมาตร 30 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 100 µg/mL ปริมาตร 8 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (100 \text{ µg/mL}) (V_1) = (20 \text{ µg/mL}) (30 \text{ mL}) \\ & V_1 = 6 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Stock ความเข้มข้น 20 µg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 6 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 24 mL

1. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 12.11 µg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 20 µg/mL ปริมาตร 30 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (20 \text{ µg/mL}) (V_1) = (12.11 \text{ µg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 6.055 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 1 ความเข้มข้น 12.11 µg/mL ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 6.055 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 3.945 mL

2. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 11.72 µg/mL ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 20 µg/mL ปริมาตร 30 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (20 \text{ µg/mL}) (V_1) = (11.72 \text{ µg/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5.860 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 2 ความเข้มข้น 12.11  $\mu\text{g/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 5.860 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 4.140 mL

3. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 10.938  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 20  $\text{mg/mL}$  ปริมาตร 30 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (20 \mu\text{g/mL}) (V_1) = (10.938 \mu\text{g/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 5.469 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 3 ความเข้มข้น 12.11  $\mu\text{g/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 5.469 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 4.531 mL

4. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 9.376  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 20  $\text{mg/mL}$  ปริมาตร 30 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (20 \mu\text{g/mL}) (V_1) = (9.376 \mu\text{g/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 4.688 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 4 ความเข้มข้น 12.11  $\mu\text{g/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 4.688 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 5.312 mL

5. เตรียมสารละลาย CP ความเข้มข้น 6.25  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 10 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 20  $\text{mg/mL}$  ปริมาตร 30 mL)

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} & C_1V_1 = C_2V_2 \\ \text{จะได้} & (20 \mu\text{g/mL}) (V_1) = (6.25 \mu\text{g/mL}) (10 \text{ mL}) \\ & V_1 = 3.125 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลาย Sample 5 ความเข้มข้น 12.11  $\mu\text{g/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย CP ปริมาตร 3.125 mL และเติมน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 6.875 mL

### การเตรียมสารละลาย ZnO

ชั่งอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ปริมาณ 0.0025 g เติมน้ำกลั่นปริมาณ 5 mL จากนั้นนำไปใส่เครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เป็นสารแขวนลอย จะได้ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เท่ากับ 500  $\mu\text{g/mL}$

เตรียมสารละลาย ZnO ความเข้มข้น 62.50  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 20 mL (จากสารละลายความเข้มข้น 500  $\mu\text{g/mL}$  ปริมาตร 5 mL)

จากสูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$   
 จะได้  $(500 \mu\text{g/mL})(V_1) = (61.50 \text{ mg/mL})(20 \text{ mL})$   
 $V_1 = 2.46 \text{ mL}$

ดังนั้น สารละลาย ZnO ความเข้มข้น 61.50  $\mu\text{g/mL}$  ได้จากการดูดสารละลาย ZnO ปริมาตร 2.46 mL และเติมเมทานอล ปริมาตร 17.54 mL



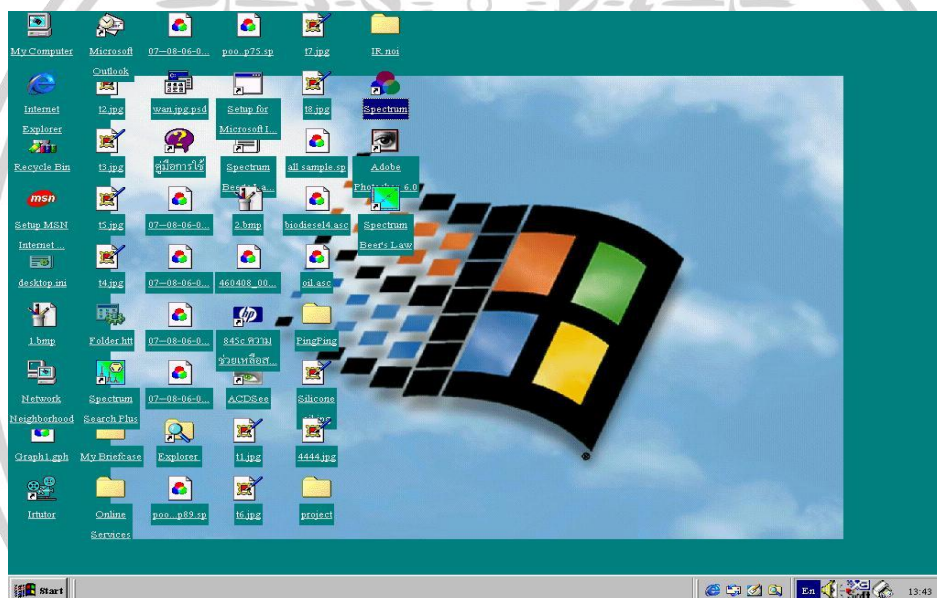
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### การเข้า Spectrum Software

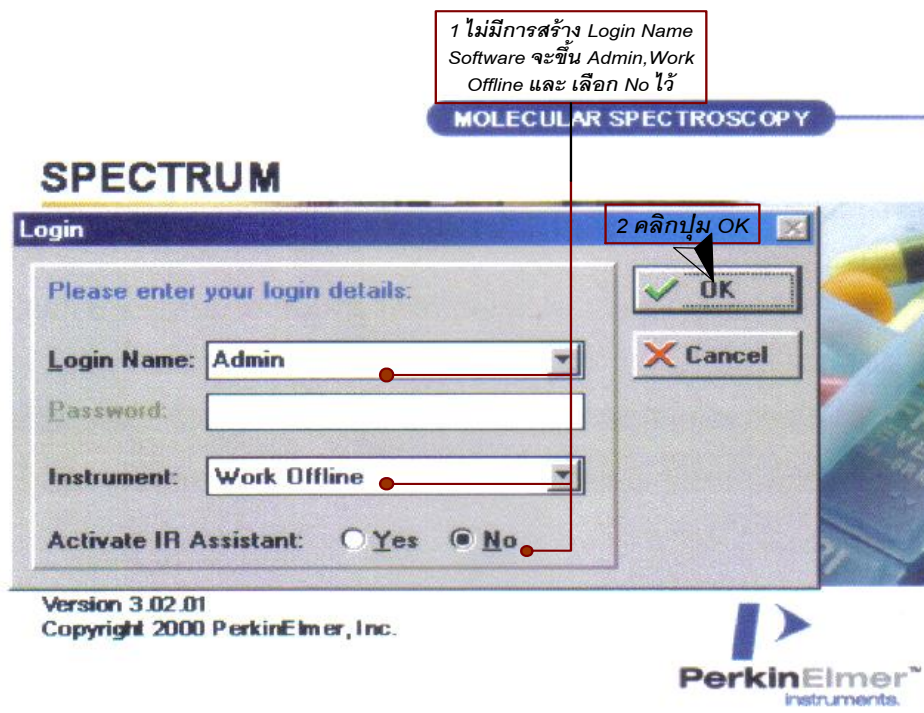
1. เครื่อง FT-IR จะต้องเปิดเครื่องอยู่ตลอดเวลาซึ่งจะปรากฏไฟสีเขียวสว่างที่ Power On และ Laser On ที่แผงหน้าปัดของเครื่อง การปฏิบัติงานกับเครื่องสามารถทำได้ดังนี้
1. เปิดเครื่อง UPS และเครื่อง Computer ใช้ระบบปฏิบัติการ Windows 98 โปรแกรมควบคุมคือ Spectrum ซึ่งเป็น Software ที่ใช้ในการควบคุมการทำงานของเครื่องมือ FTIR Spectrometer แล้วเข้า

Software Spectrum โดย Double click ที่ icon Spectrum  หรือ Click ที่ Start → Programs → PerkinElmer Application → Spectrum



รูปที่ 1 แสดงหน้าจอ ระบบปฏิบัติการ Windows 98

Software ก็จะปรากฏขึ้นบนจอภาพดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงหน้าต่างของ Software

กรณีที่มีการสร้าง Login Name และใส่ Password ไว้

- ให้เลือก Login Name ที่ต้องการ และใส่ Password ให้ตรง

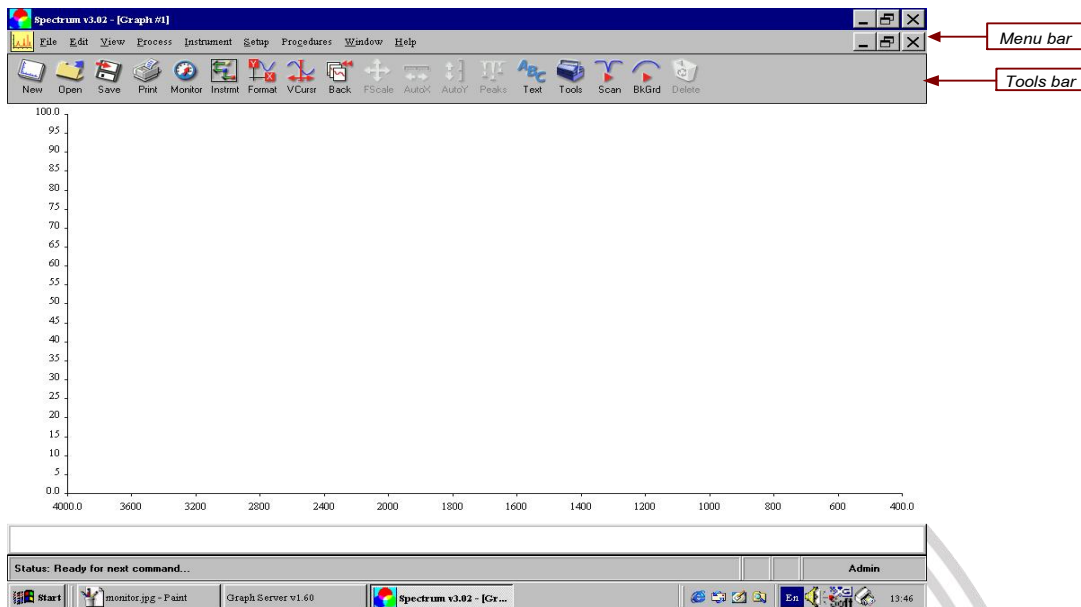
- ส่วนตรง Instrument เลือก Spectrum GX

กรณีไม่มีการสร้าง Login Name ไว้ Software จะขึ้น

Login Name : Admin

Instrument Work Offline แล้ว click OK ก็จะปรากฏหน้าจอภาพ ดังรูปที่ 14

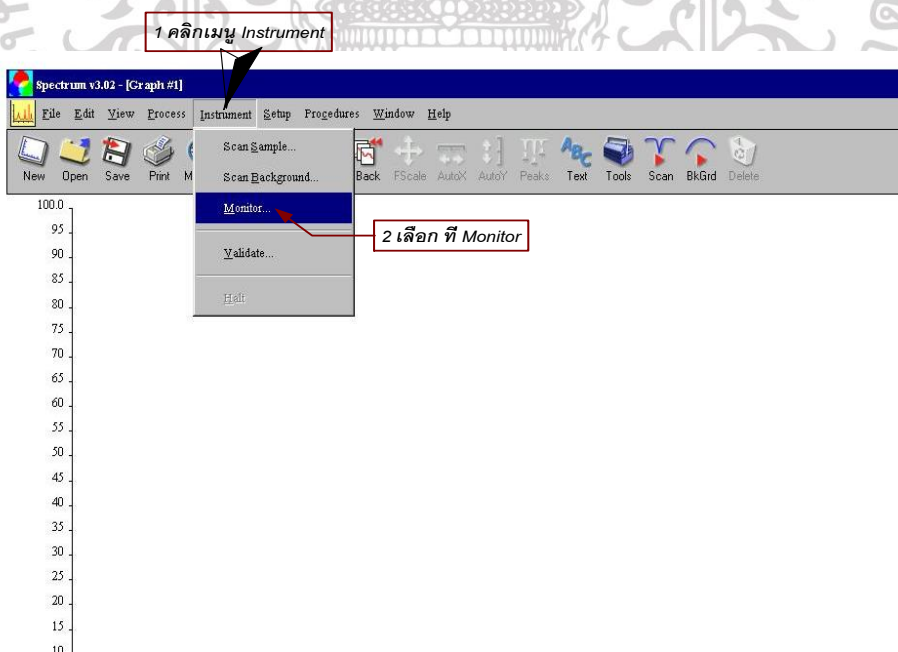
(สำหรับเครื่อง FT-IR เครื่องนี้ไม่ให้มีการให้สร้าง Login name ไว้)



รูปที่ 3 หน้าต่างแสดง Menu bar และ Tool bar ของ Software Spectrum

ดังรูป ประกอบด้วย Menu bar และ Tools bar ซึ่งสร้างมาจาก Menu เพื่อเรียกใช้ง่าย

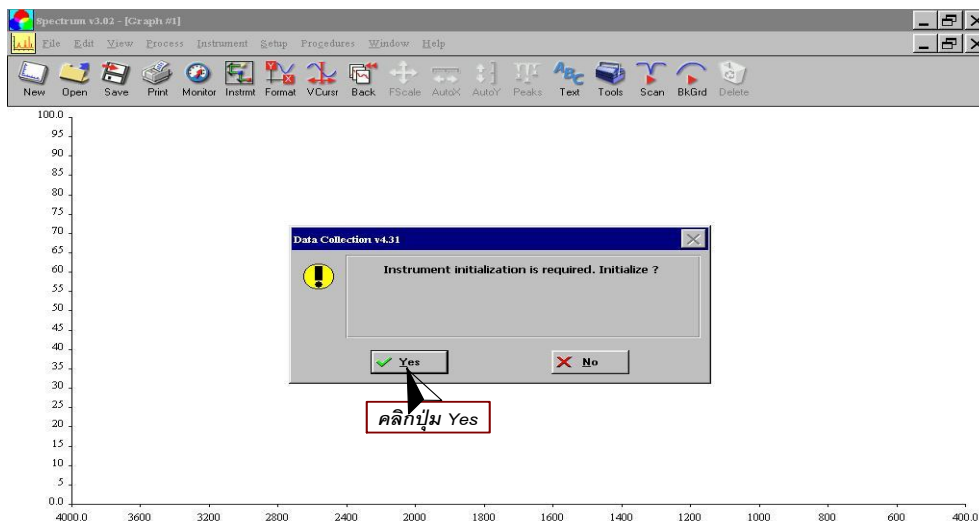
2. ทำการตรวจสอบความเข้มของแสง IR เพื่อดูพลังงานของแสงว่าเพียงพอกับการวิเคราะห์หรือไม่ โดย click เมนู Instrument ที่ Menu bar แล้วเลือก ที่ Monitor



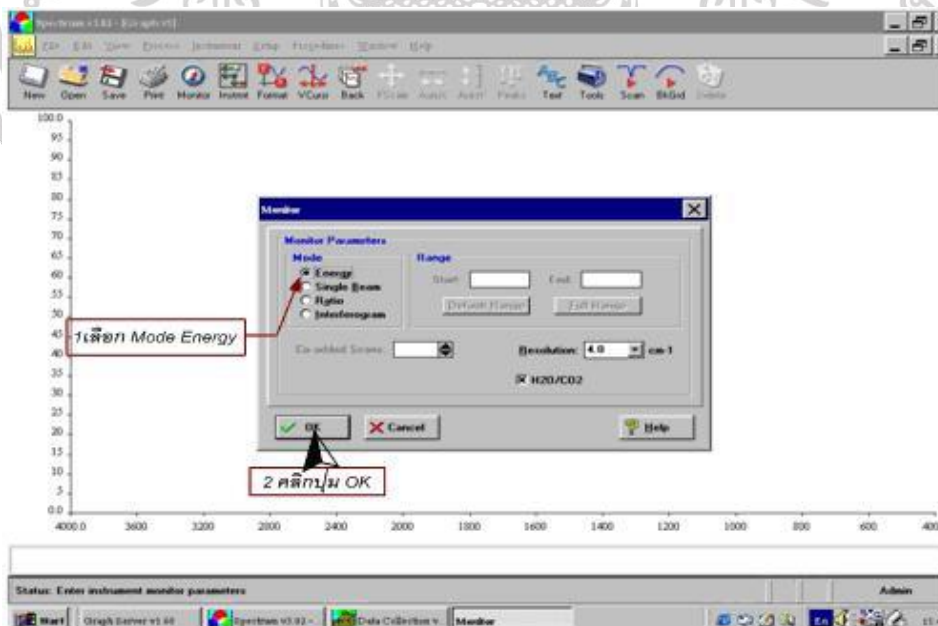
รูปที่ 4 หน้าต่างแสดงการเข้าสู่ตรวจสอบความเข้มของแสง IR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะปรากฏข้อความ Instrument initialization is required ? ขึ้นมาให้ click Yes



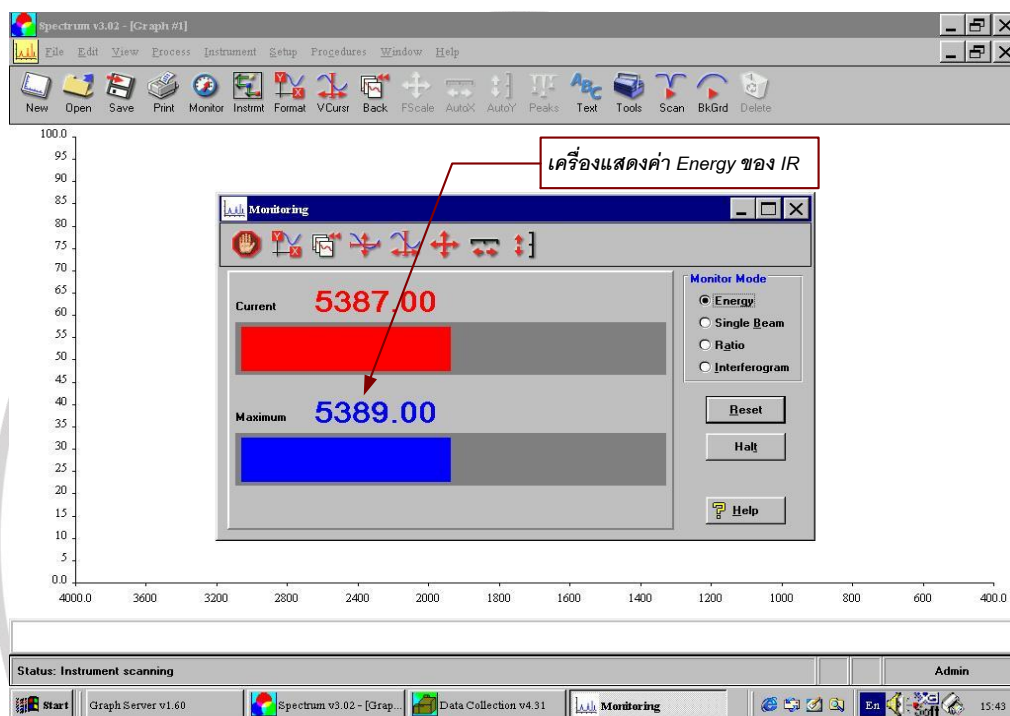
รูปที่ 5 เข้าสู่หน้าต่างความต้องการ initialization ของ Instrument  
 รอนกระทั่งปรากฏหน้าจอแสดงดังรูป ใช้ Mouse Click ที่ วงกลมหน้า Energy จะเกิดเป็นวงกลมสีดำ  
 แล้ว click OK



รูปที่ 6 หน้าจอแสดงการเลือก Mode Energy เพื่อตรวจสอบความเข้มของแสง IR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องจะแสดงค่า Energy ของ IR โดยจะแสดงค่าที่เป็นจริงในขณะนั้น (Current) และค่าสูงสุดที่เกิดขึ้น (Maximum) ค่า Energy จะบอกถึงพลังงานของแสง IR ว่ามีพลังงานสูงเท่าใดหากค่า Energy ลดลงมาก อาจจะเป็นไปได้ว่าแหล่งกำเนิดแสงมีความผิดปกติ หรือมีสิ่งกีดขวางเส้นทางการเดินของแสง หรืออาจจะเป็นมาจากสาเหตุอื่นๆ หลังจากการตรวจสอบ Energy เรียบร้อยแล้ว Click ที่ Halt เพื่อกลับสู่หน้าจอหลัก (Current ประมาณ 5000 กว่าๆ)

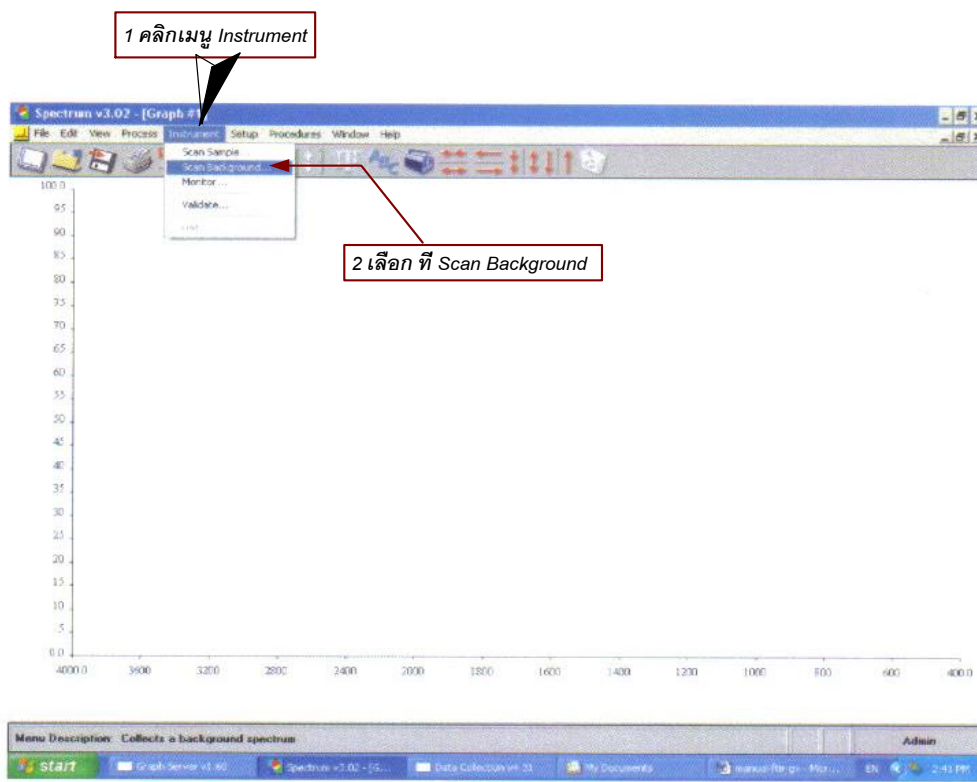


รูปที่ 7 เครื่องแสดงค่า Energy ของ IR ที่เป็นจริงในขณะนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ทำการ scan Background เนื่องจาก FTIR Spectrometer มีการทำงานเป็นลักษณะ Single Beam เพราะฉะนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้อง scan Background เก็บไว้ก่อน

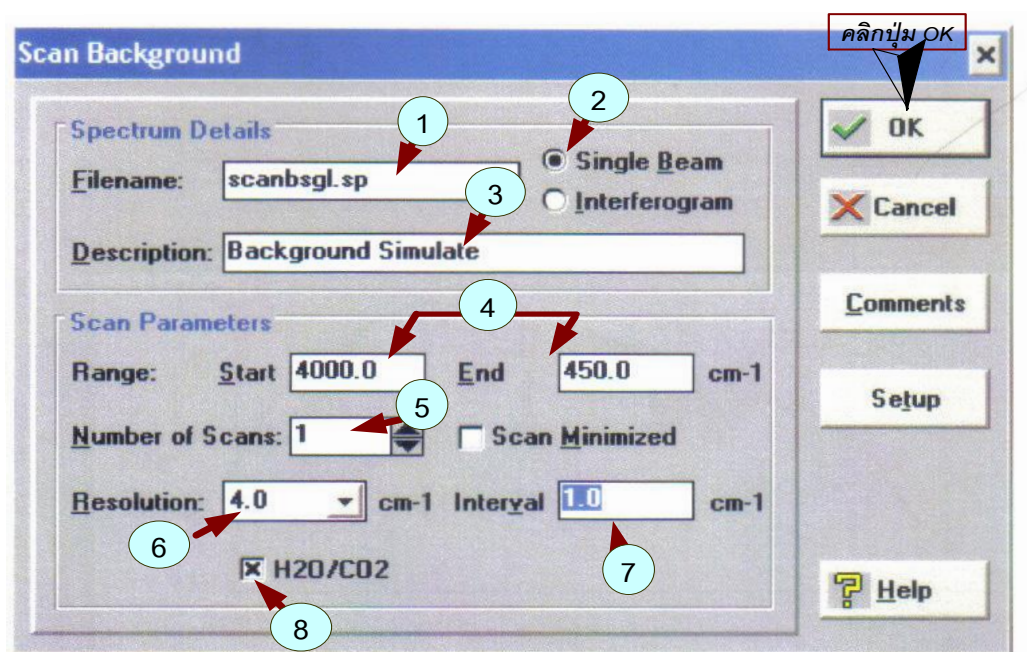
- ที่ Menu bar click Instrument เลือก scan Background



รูปที่ 8 หน้าตาแสดงการเลือก scan Background ในเมนู Instrument

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะปรากฏข้อความขึ้นดังนี้



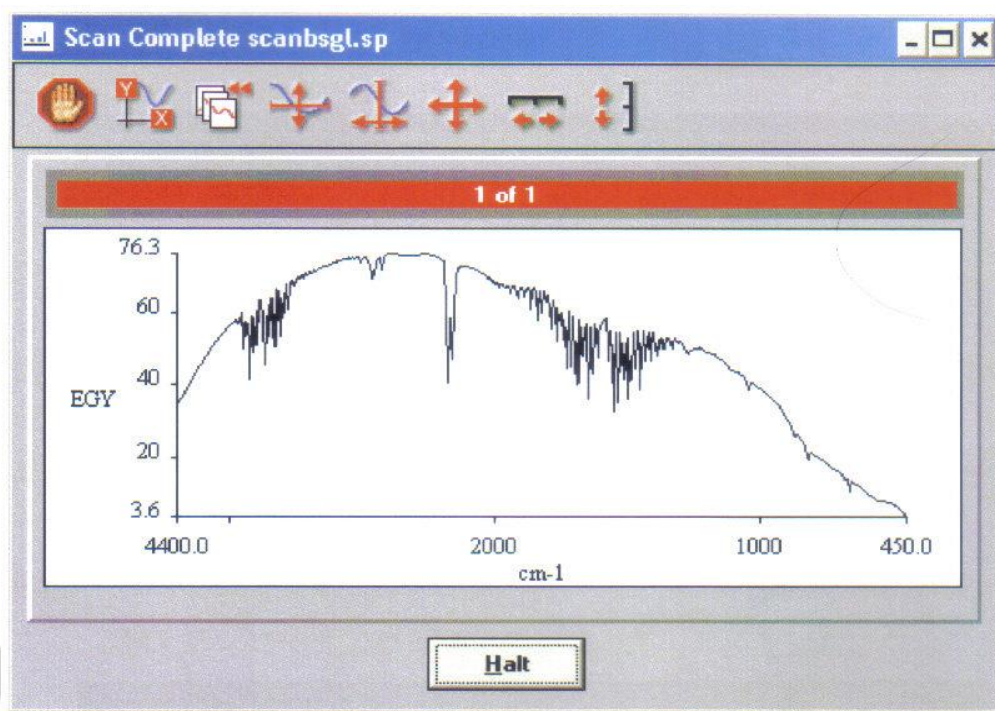
รูปที่ 9 หน้าต่างสำหรับตั้งค่าสัญญาณที่จะ scan Background

ในส่วนของหน้าต่างนี้จะให้มีการตั้งค่าสัญญาณที่จะ scan ซึ่งสามารถตั้งค่าเป็น Single Beam และ Interferogram การ scan โดยทั่วไปจะใช้การ scan เป็น Single Beam พร้อมทั้งตั้งชื่อ File ที่จะเก็บข้อมูลของการ scan และให้ตั้งค่าใน Parameters ต่าง ๆ ตามหมายเลขดังนี้

1. ใส่ชื่อ Filename ที่จะ scan เก็บไว้
2. เลือก Single Beam
3. ใส่ Description : คือรายละเอียดของ Spectrum เช่น Background Simulate จะปรากฏต่อท้าย file name ของ spectrum
4. Range คือช่วงความยาวคลื่นของการ scan ให้ Start ช่วง 4000 End 450  $\text{cm}^{-1}$
5. Number of Scans คือจำนวนรอบของการ scan ใช้ 1 รอบ (ในกรณีที่ Energy สูง แต่ถ้า Energy ต่ำให้เพิ่มรอบ scan เป็น 4, 8, 16.....)
6. Resolution คือ ความละเอียดของสัญญาณการ scan ใช้ 2 หรือ 4
7. Interval 1
8. เลือก  $\text{H}_2\text{O}/\text{CO}_2$  เพื่อให้ software ลบ peak น้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศโดย Background คือ อากาศ

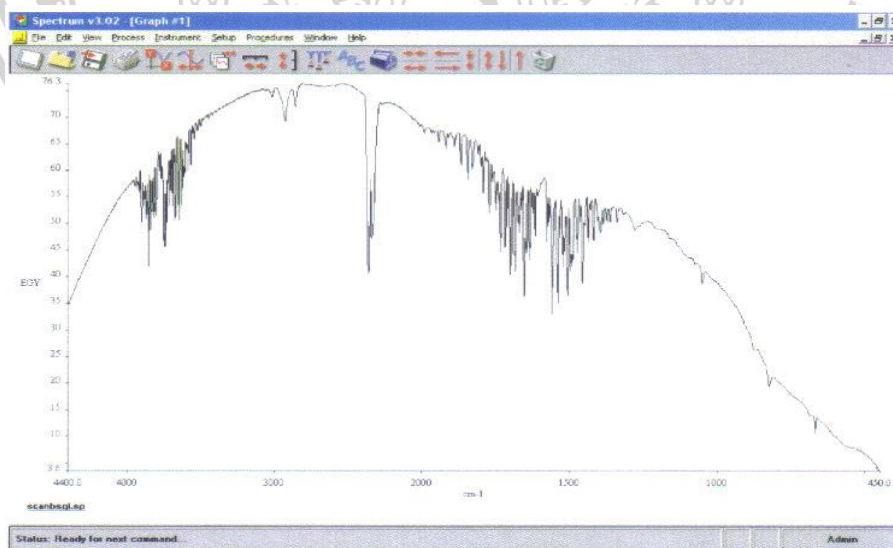
เมื่อตั้งค่าเรียบร้อยแล้ว click ที่ OK เครื่องจะทำ scan Background

โดยจะปรากฏหน้าจอ กำลัง scan Background ดังนี้



รูปที่ 10 หน้าต่าง แสดงเครื่องกำลัง Scan Background

ในกรณีที่ต้องการหยุดขณะทำการ scan Background ให้กดที่ Halt เมื่อทำการ scan Background เสร็จแล้วจะปรากฏ Spectrum บนหน้าจอดังนี้



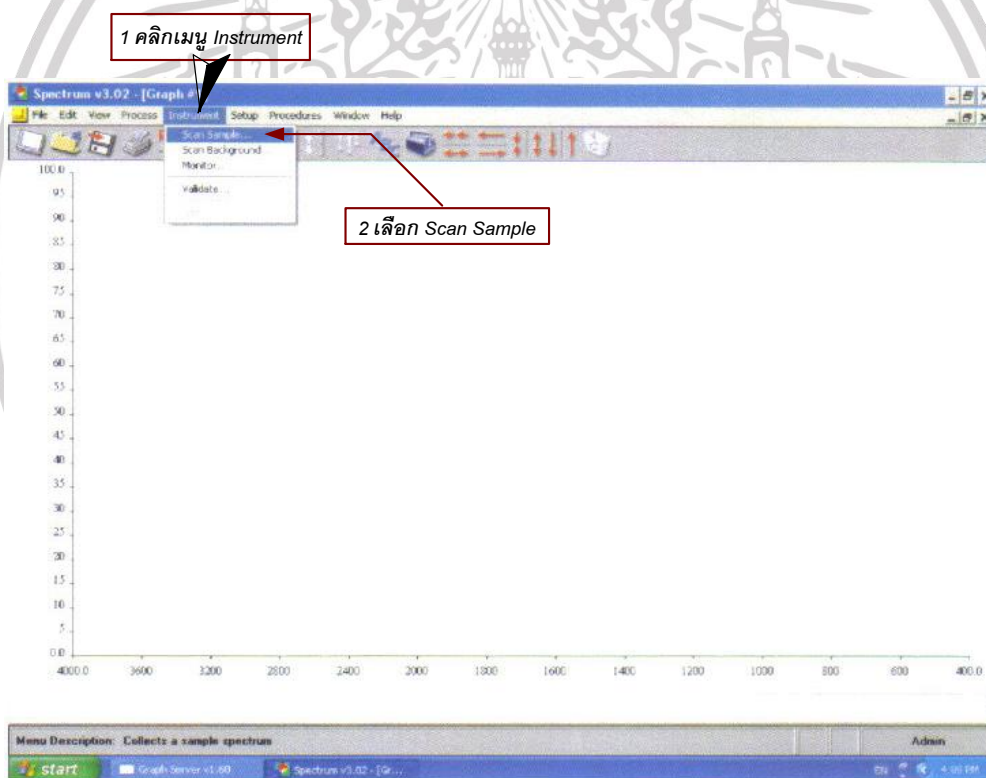
รูปที่ 11 หน้าต่างแสดง Spectrum เมื่อเครื่อง scan Background เสร็จสิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การ scan Background เป็นการ scan เพื่อที่จะวัดการดูดกลืนแสง IR ขององค์ประกอบของก๊าซต่างๆ และไอน้ำที่มีอยู่ในส่วนที่แสงเดินทางผ่าน การเลือก scan Background ซึ่งจะมีค่าการดูดกลืนอยู่ค่าหนึ่ง ค่าการดูดกลืนนี้จะเป็นค่าที่จะไป รบวงวนการวัดค่าการดูดกลืนแสงของ Sample จะวิเคราะห์ ฉะนั้นการ วัดค่าการดูดกลืนแสงของ Sample จะต้องวิเคราะห์ด้วยค่า Ratio คือเป็นการหักค่า Background ออก

4. หลังการ scan Background เมื่อมี spectrum Background แล้วก็สามารถที่จะทำการ scan Sample ได้เลย โดยการเตรียมตัวอย่างซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง แต่ที่สำคัญตัวอย่างที่นำมา ตรวจจะต้องปราศจากน้ำ เนื่องจากจะไปละลาย Windows แต่ถ้าหากไม่สามารถกำจัดน้ำออกจาก ตัวอย่างน้ำได้หมด ก็สามารถใช้เทคนิคอื่นๆ ที่น้ำไม่มีผลกับ Sample (จะอยู่ในหัวข้อการเตรียมตัวอย่าง)

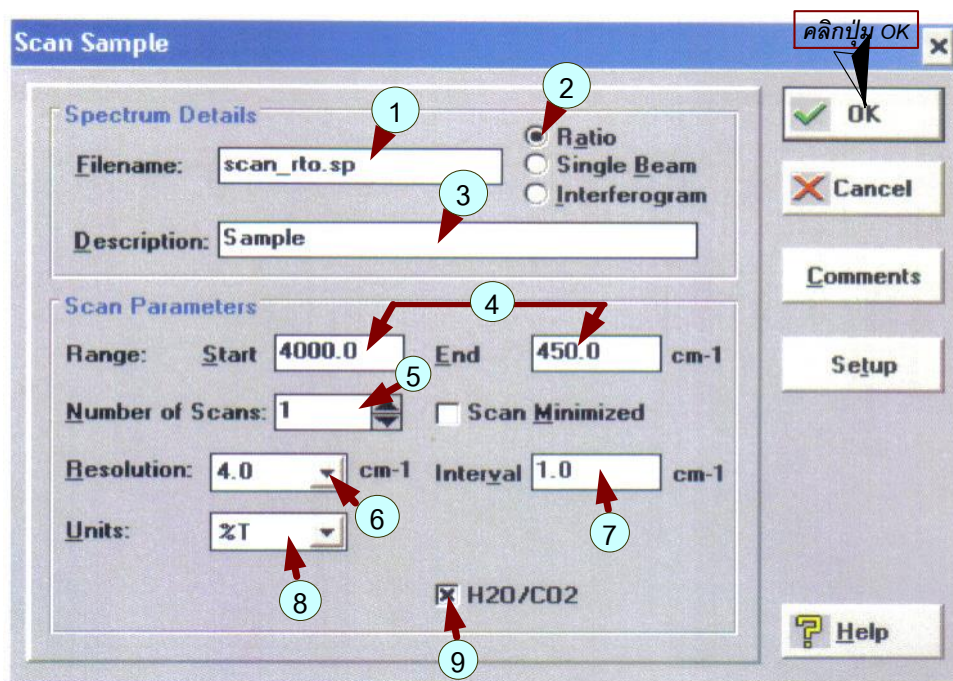
5. เมื่อเตรียมตัวอย่างเรียบร้อยแล้วให้นำ Sample ใส่ลงในช่อง Sample Holder แล้ว click ที่ เมนู Instruments เลือก scan Sample



รูปที่ 12 หน้าต่างแสดงการเลือก scan Sample ในเมนู Instrument

จะปรากฏข้อความดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



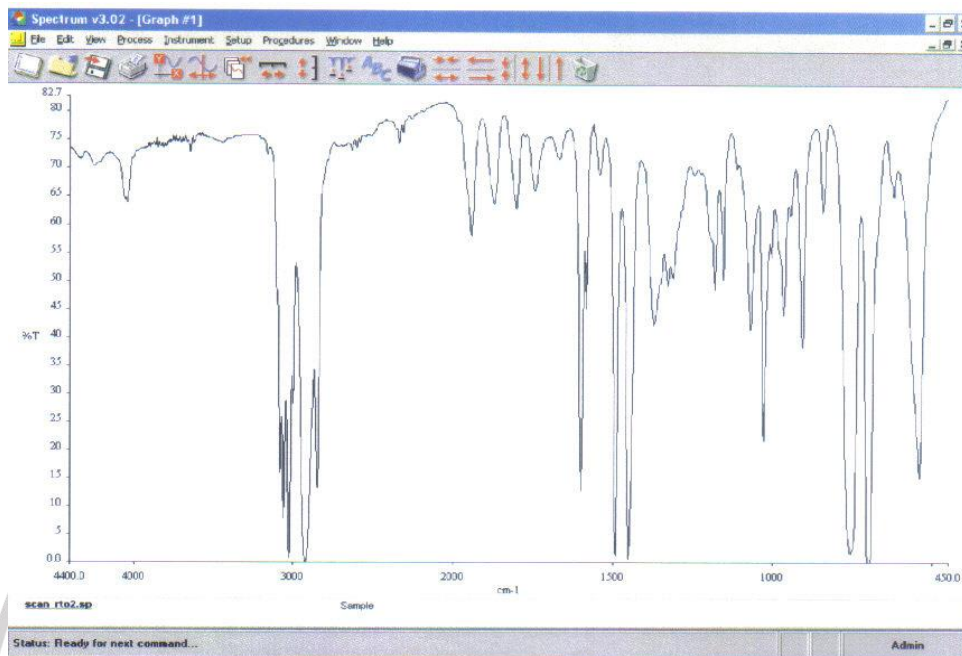
รูปที่ 13 หน้าต่างสำหรับตั้งค่าสัญญาณที่จะ scan Sample

การตั้งค่าใน scan Sample โดยทั่วไปจะใช้การ scan เป็น Ratio ทั้งตั้งชื่อ File ที่จะเก็บข้อมูลของ การ scan และให้ตั้งค่าใน Parameters ต่างๆ ตามหมายเลขดังนี้

1. ใส่ชื่อ Filename ที่จะ scan เก็บไว้
  2. เลือก Ratio คือการ scan ที่มีหักค่าการดูดกลืน IR ของ Background  
Single Beam คือการ scan ที่ไม่มีการหักค่าการดูดกลืน IR ของ Background  
Interferogram คือการ scan โดยที่สัญญาณที่ไต่ยังไม่ได้ Fourier Transform โดยปกติ จะเลือกใช้ Mode Ratio นอกจากนี้จะต้องตั้งค่า Parameter ต่างๆ ได้แก่
  3. ที่ Description ใส่ชื่อ Sample
  4. Range คือช่วงความยาวคลื่นของการ scan ใช้ ช่วง Start 4000 End 450 cm-1
  5. ใส่ Number of Scans 1 (ในกรณีที Energy สูง แต่ถ้า Energy ต่ำให้เพิ่มรอบ scan เป็น 4, 8, 16.....)
  6. Resolution ความละเอียดของสัญญาณของสัญญาณการ Scan ใส่เป็น 4.0
  7. Interval 1.0 คือ ช่วงการ scan และการอ่านสัญญาณ
  8. Unit คือค่าที่จะแสดงของ Peak ว่าจะแสดงในรูปของ %T ค่า A หรืออื่นๆ เลือกเป็น %T
- เมื่อตั้งค่า Parameters เรียบร้อยแล้ว click ที่ OK เครื่องจะทำการ scan Sample ออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้ว click OK เครื่องจะทำการ scan เมื่อ Scan เสร็จจะปรากฏ Spectrum ดังรูป



รูปที่ 14 หน้าต่างแสดง Spectrum ของ Sample เมื่อเสร็จสิ้นการ scan

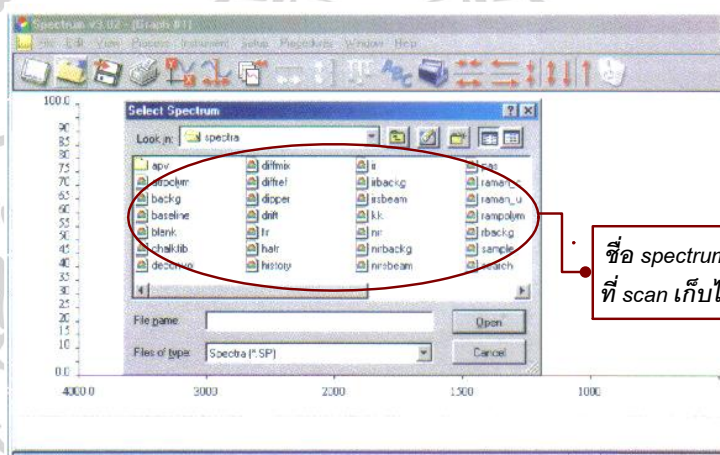
9. เลือก H<sub>2</sub>O/CO<sub>2</sub>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

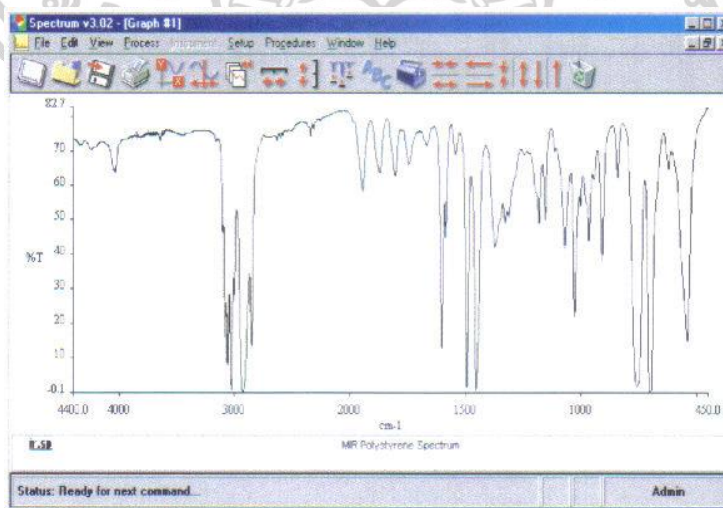
### การ Process Spectrum

ในกรณีที่ scan spectrum เสร็จแล้วต้องการจะรายงานผล หรือปรับแต่ง spectrum ก่อน รายงาน  
ผล ทำได้ดังนี้

1. การเปิด Spectrum เพื่อใช้ในการ Process ถ้าหน้าจอปรากฏ spectrum ที่ต้องการให้  
รายการได้เลยในกรณีที่ต้องการเปิด spectrum ที่เก็บไว้ ให้ click ที่ Tool bar Open หรือ Menu File  
\Open หน้าจอจะปรากฏดังรูป เพื่อเลือกชื่อ spectrum ที่ scan เก็บไว้ เก็บไว้ใน  
C:\pel\_data\spectra แล้วเลือกชื่อ filename ของ spectrum ที่เก็บไว้



รูปที่ 15 หน้าต่างแสดงชื่อ spectrum ที่ scan เก็บไว้  
เมื่อเลือก spectrum แล้วหน้าจอจะแสดง spectrum ดังรูป

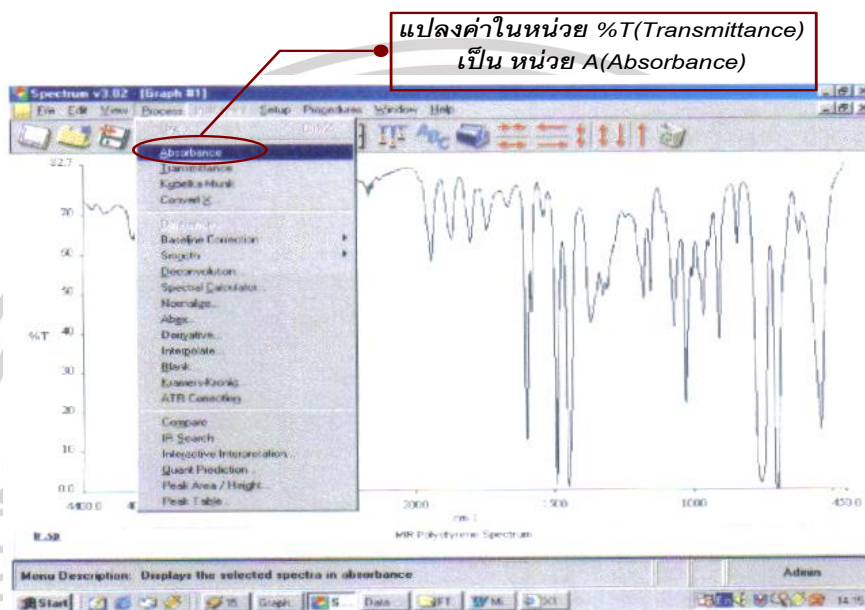


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## รูปที่ 16 แสดง spectrum ที่เลือก

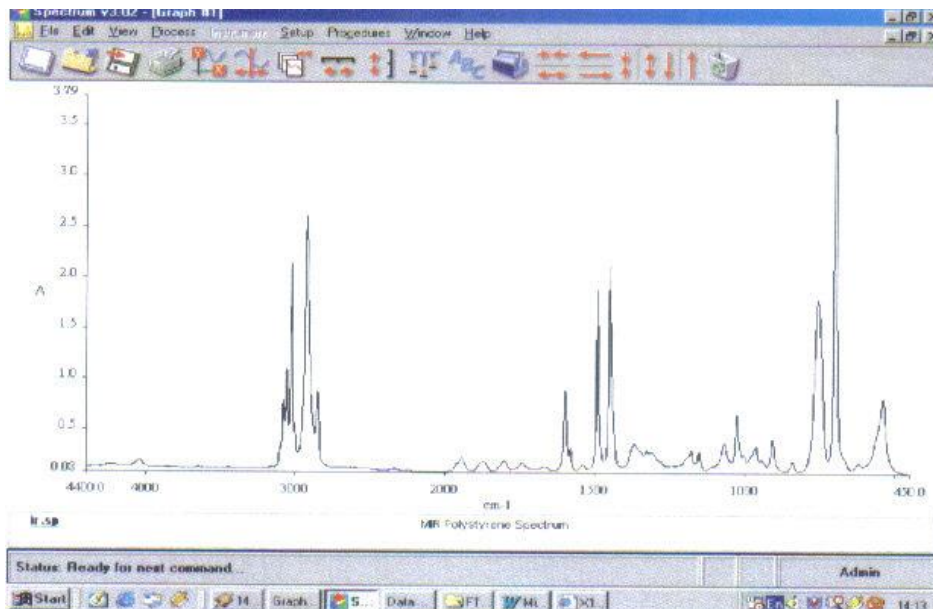
การแปลงหน่วย %Transmittance เป็น Absorbance

ในกรณีที่ต้องการแปลงค่าในหน่วย %T (Transmittance) เป็น หน่วย A(Absorbance) ให้เปิด spectrum ที่ต้องการจะ process แล้ว click ที่ Menu Process เลือก Absorbance ดังรูป



## รูปที่ 17 แสดงการแปลงหน่วย %Transmittance เป็น Absorbance

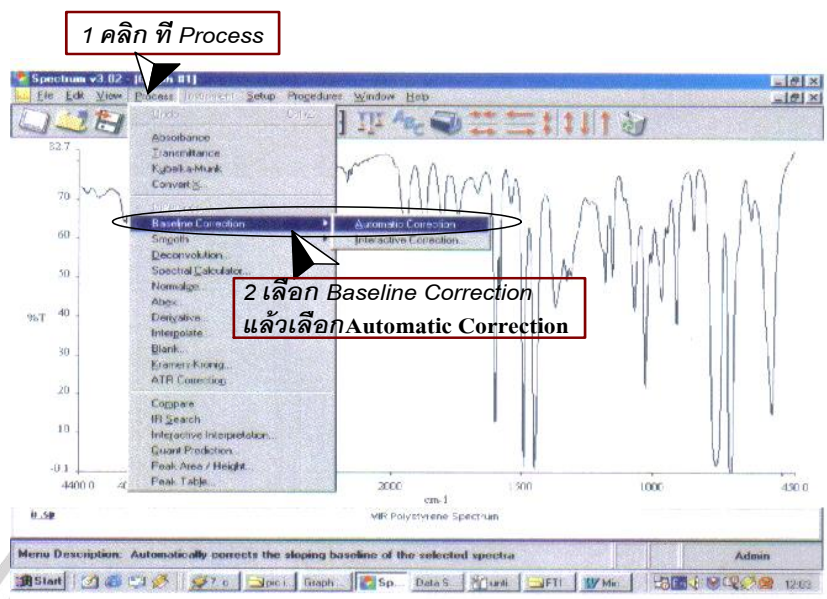
software จะทำการแปลงค่าให้อัตโนมัติ ดังรูป



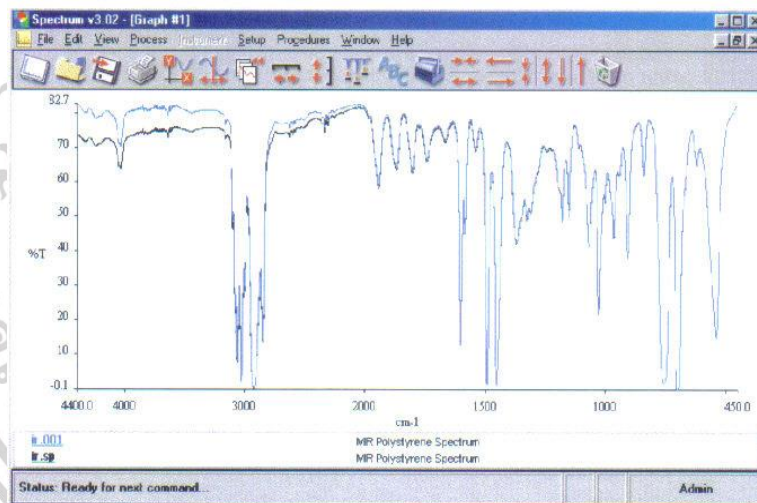
รูปที่ 18 แสดง spectrum เมื่อ แปลงหน่วย %Transmittance เป็น Absorbance แล้ว ส่วนในกรณีที่ scan spectrum เก็บไว้ในหน่วย Absorbance แล้วต้องการแปลงหน่วยเป็น %T ก็ทำเช่นเดียวกัน

#### การทำ Baseline Correction

ในกรณีที่ spectrum ที่ scan ได้แล้ว baseline ไม่ตรง ต้องการปรับ baseline ให้เสมอกัน มีวิธีทำ  
ได้ 2 แบบ คือ Automatic Correction และ Interactive Correction โดยถ้าเลือก Automatic ให้ click ที่  
Menu Process เลือก Baseline Correction เลือก Automatic Correction เครื่องจะทำการแก้ไข baseline ให้อัตโนมัติ ดังรูป

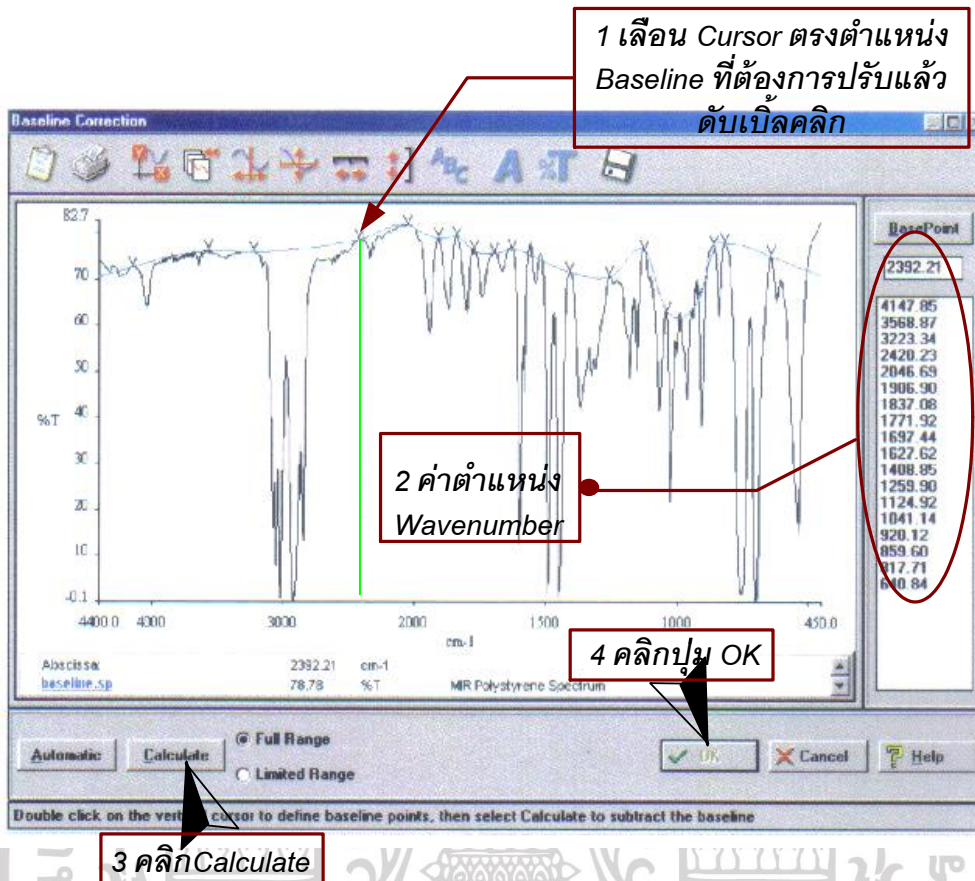


รูปที่ 19 แสดงการปรับ baseline ของ spectrum ให้เสมอกัน



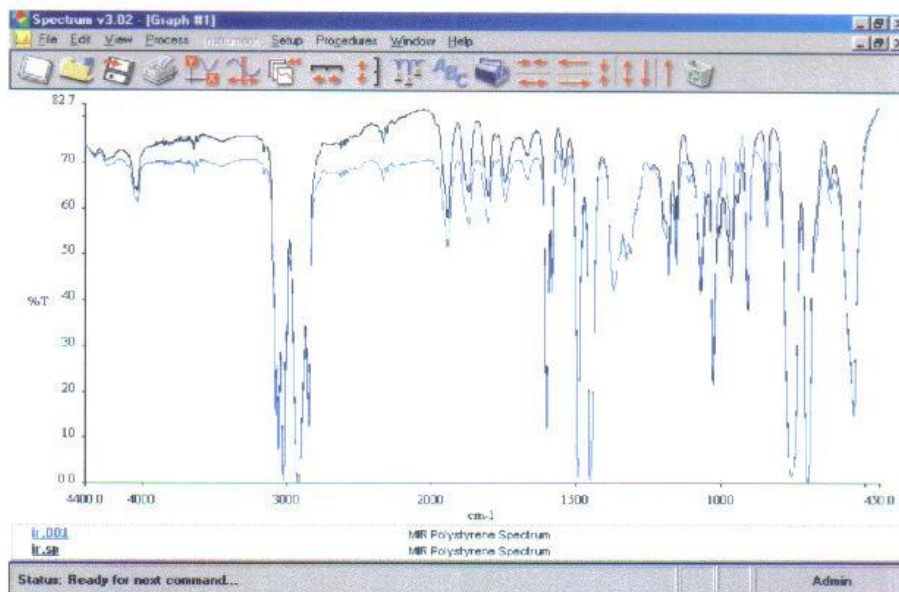
รูปที่ 20 แสดง baseline ที่เครื่องทำการแก้ไขให้อัตโนมัติ

ถ้าเลือก Interactive Correction หมายถึงต้องการปรับ baseline เอง โดย click เลือกที่ Menu Process เช่นเดียวกัน เมื่อเข้าสู่หน้า Baseline Correction เลื่อน Cursor ไปที่ตำแหน่ง baseline ที่ต้องการปรับแล้ว double click ที่เส้น Cursor นั้นๆ ค่าตำแหน่ง Wave number ก็จะมีปรากฏด้านขวามือของจอภาพดังรูป



รูปที่ 21 แสดงการปรับ baseline เอง

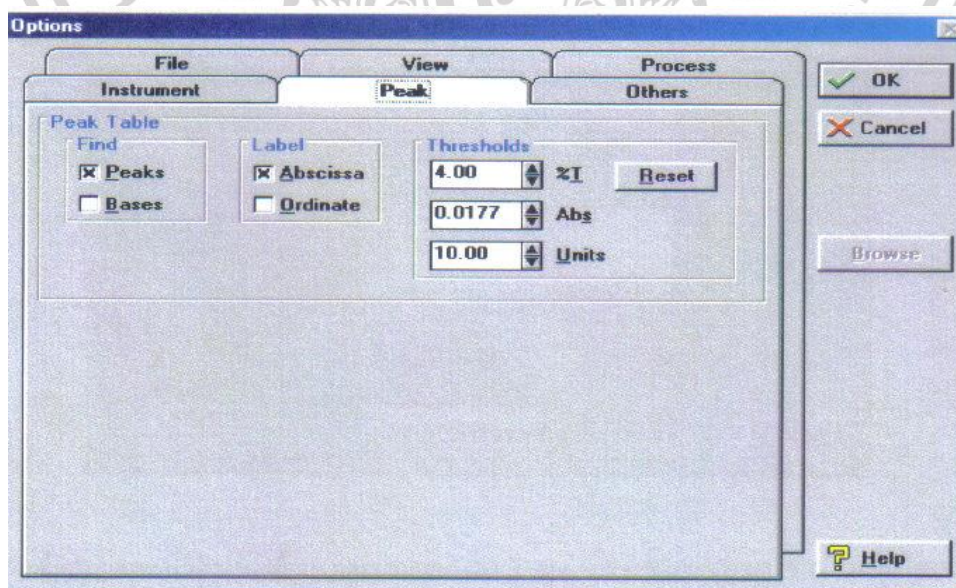
จากนั้นใช้คำสั่ง Calculate ด้านล่างของจอภาพ ก็จะได้ spectrum ที่มีการปรับแต่งแล้ว เมื่อ click OK spectrum ที่ได้ ก็จะไปปรากฏที่หน้าจอ spectrum ปกติ โดยชื่อ spectrum name ก็จะเป็นนามสกุล 001 ซึ่งเป็น temporally file เมื่อเปิด spectrum ก็จะไม่หายไป ถ้าต้องการ save ให้ click ที่ชื่อ file name แล้ว click คำสั่ง Save as ที่ Menu File แล้วตั้งชื่อ spectrum



รูปที่ 22 แสดง spectrum ที่มีการปรับแต่งแล้ว

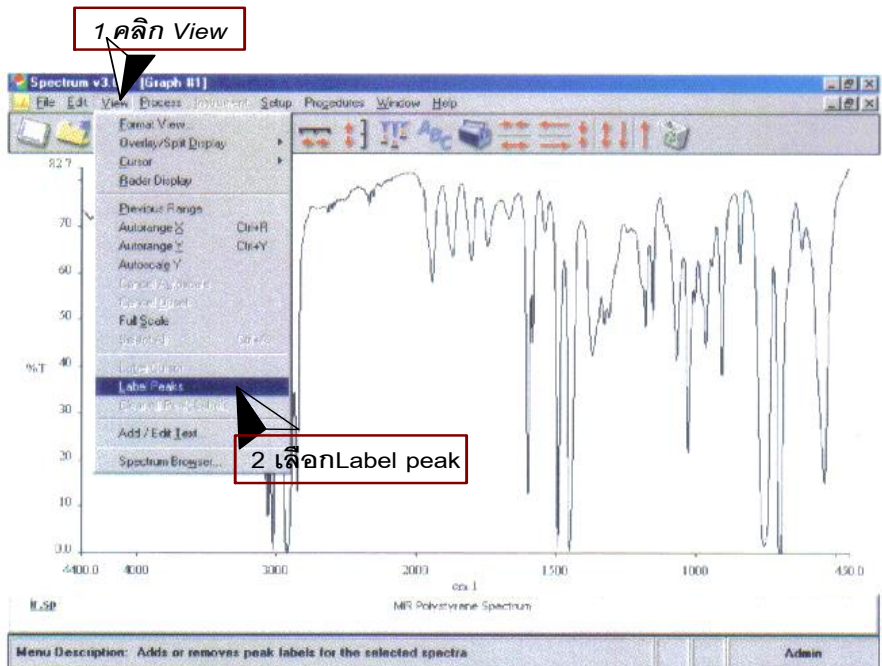
การวางตำแหน่ง Peak ลงบน Spectrum (Label peak)

เมื่อ scan ได้ spectrum แล้ว ต้องการทราบตำแหน่ง peak ใน Menu View ใช้คำสั่ง Label Peak ในคำสั่ง Label Peak นี้ software จะทำการ Label Peak ตามค่า Thresholds ที่ตั้งเอาไว้ในหน้า Peak ของ Option Menu ซึ่งหมายถึง Peak ที่วางมีค่าความสูงมากกว่าค่า Threshold สามารถตั้งได้ตั้งรูป



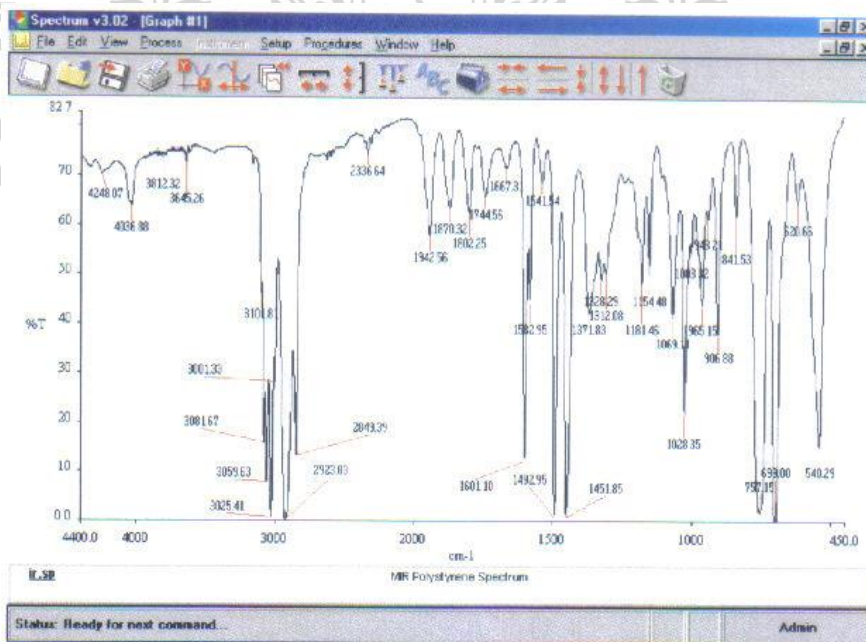
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 23 หน้าต่าง Option เพื่อตั้งค่า Threshold



รูปที่ 24 แสดงการวางตำแหน่ง peak ลงบน spectrum

หรือ click ที่ Tool bar รูป  Software จะทำการวางตำแหน่ง peak ให้ดังรูป

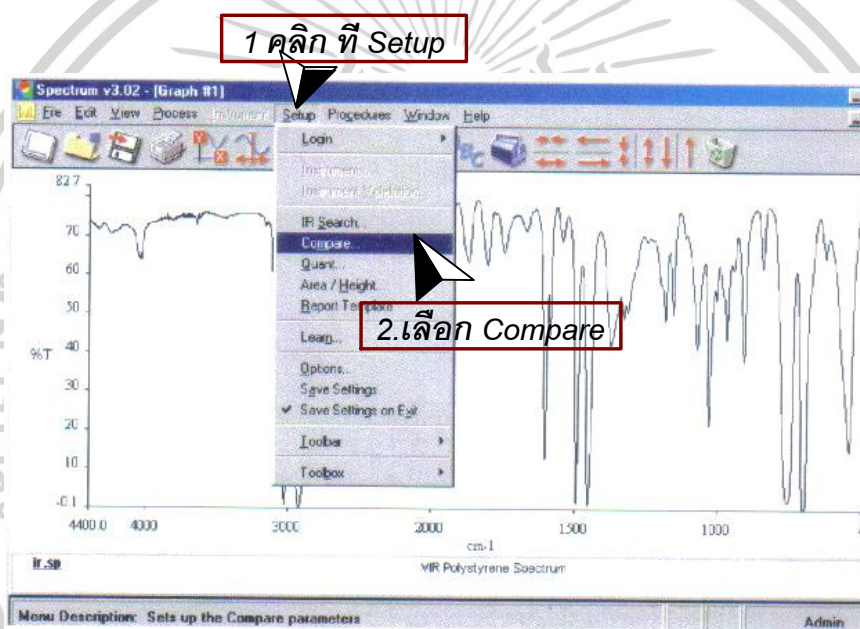


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 25 แสดง spectrum ที่มีการวางตำแหน่ง peak แล้ว

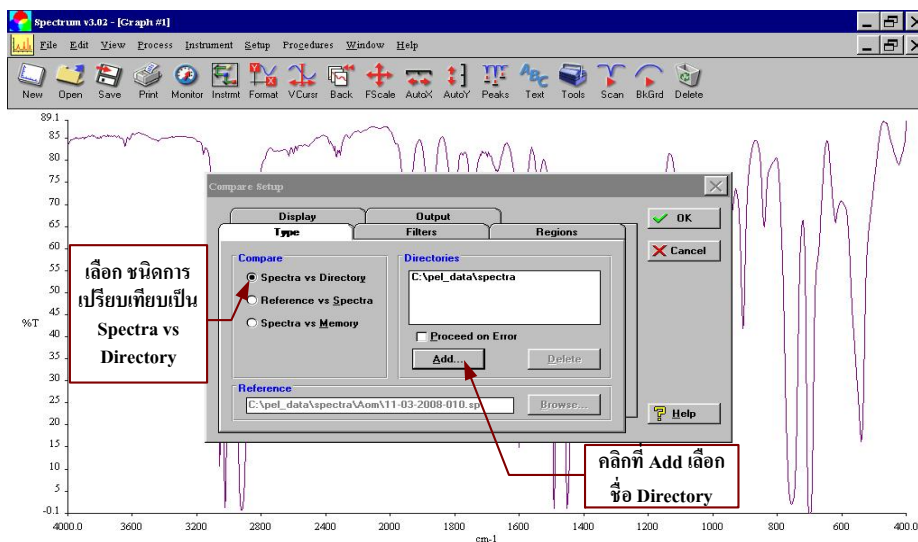
### การเปรียบเทียบ Spectrum(Compare Spectra)

ในกรณีที่ต้องการจะเปรียบเทียบว่าสารที่สงสัย (Unknown sample) ว่าเป็นสารตัวเดียวกันกับที่มี (standard) โดยที่อาจจะเป็นสารผสมหรือสารที่เราอาจไม่ทราบชื่อทางเคมีอย่างแท้จริง สามารถใช้คำสั่ง Compare ได้ โดยต้อง scan spectrum ของตัวที่เราทราบ (standard) เก็บไว้ และ scan spectrum ของ sample (File ของ sample ยังเปิดอยู่) แล้วใช้คำสั่ง Compare โดยใส่รายละเอียดที่ต้องการ Compare ก่อนใน Menu Setup เลือก Compare

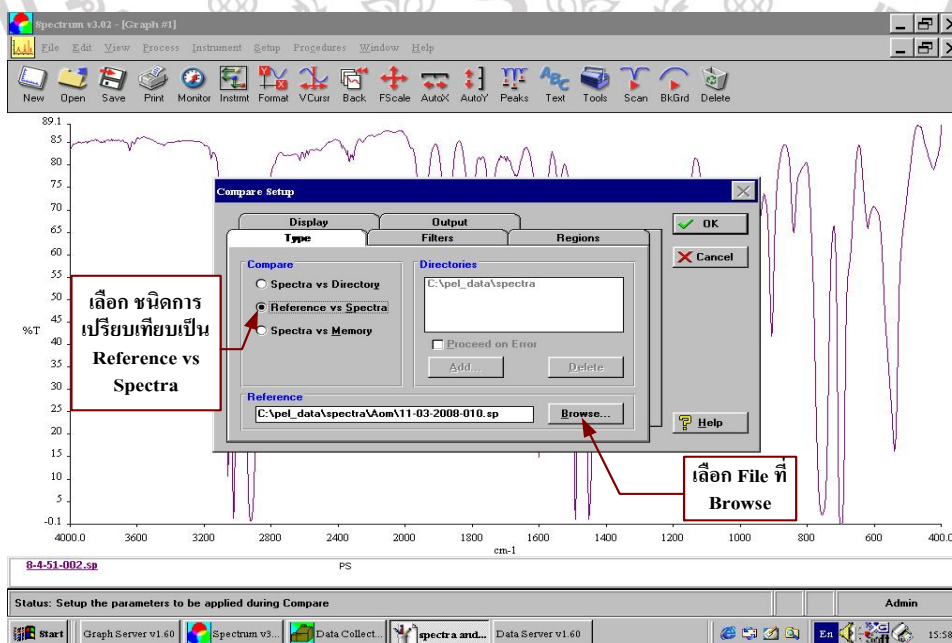


รูปที่ 26 แสดงการใช้ คำสั่ง Compare

ในหน้า Compare Setup เลือก Type เลือกชนิดของการเปรียบเทียบเช่น Spectra vs Directory คือ การเปรียบเทียบ Unknown กับตัว Standard ที่ scan เก็บไว้หลาย ๆ ตัวใน Directory หนึ่ง เมื่อเลือกชนิดนี้แล้วต้องเลือกชื่อ Directory ที่เก็บไว้ตรง Add

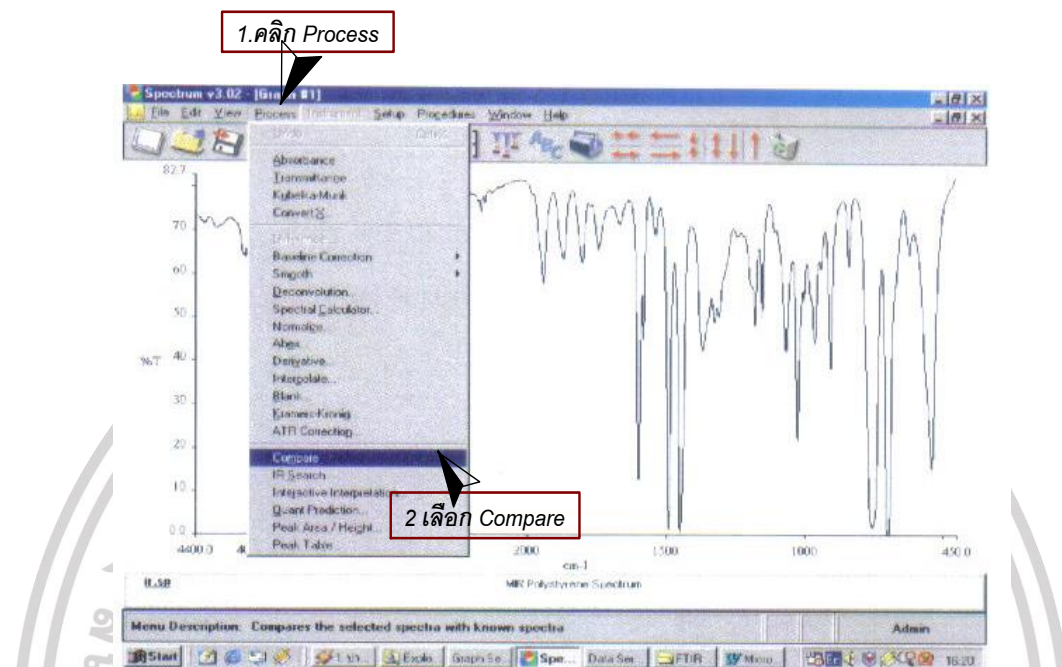


รูปที่ 27 แสดงเลือกชนิดการเปรียบเทียบเป็น Spectra vs Directory ส่วน Reference vs Spectra หมายถึงการเปรียบเทียบ Standard หรือ Reference spectra กับ Unknown spectra โดย scan spectrum ของ sample (File ของ sample ยังเปิดอยู่) แล้วเลือกเปรียบเทียบชนิดนี้แล้วต้องเลือก Reference spectra ที่ scan เก็บไว้ โดย click ที่ Browse ของ Reference แล้วเลือกชื่อ Reference spectra file ซึ่งจะแสดงชื่อของ Reference ไว้ในช่องว่าง แล้ว click OK

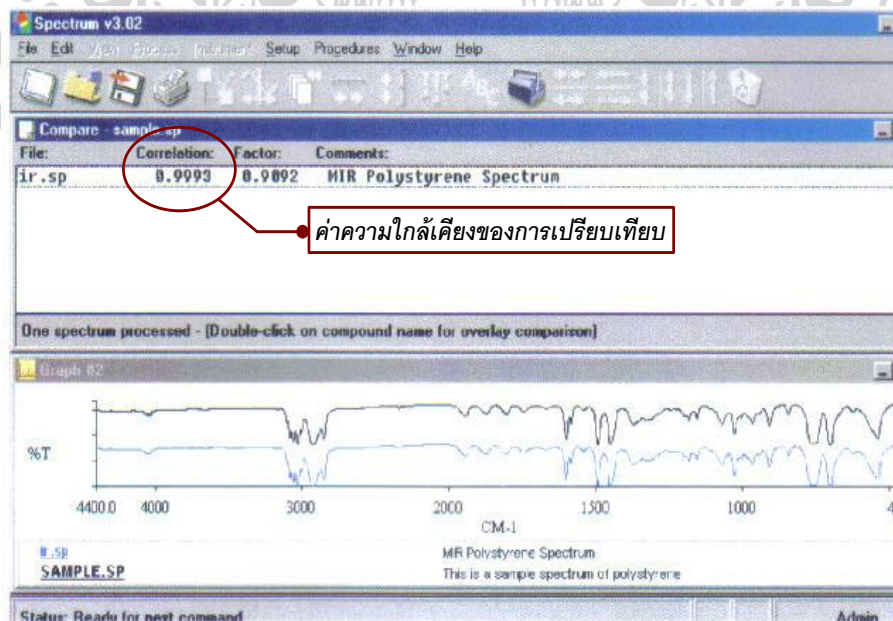


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 28 แสดงเลือกชนิดการเปรียบเทียบเป็น Reference vs Spectra  
เมื่อจะสั่ง Compare เลือกสั่ง Compare ในหน้า Menu Process



รูปที่ 29 แสดงการสั่ง Compare ใน Menu Process  
Software จะทำการเปรียบเทียบแล้วจะแสดงผลดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

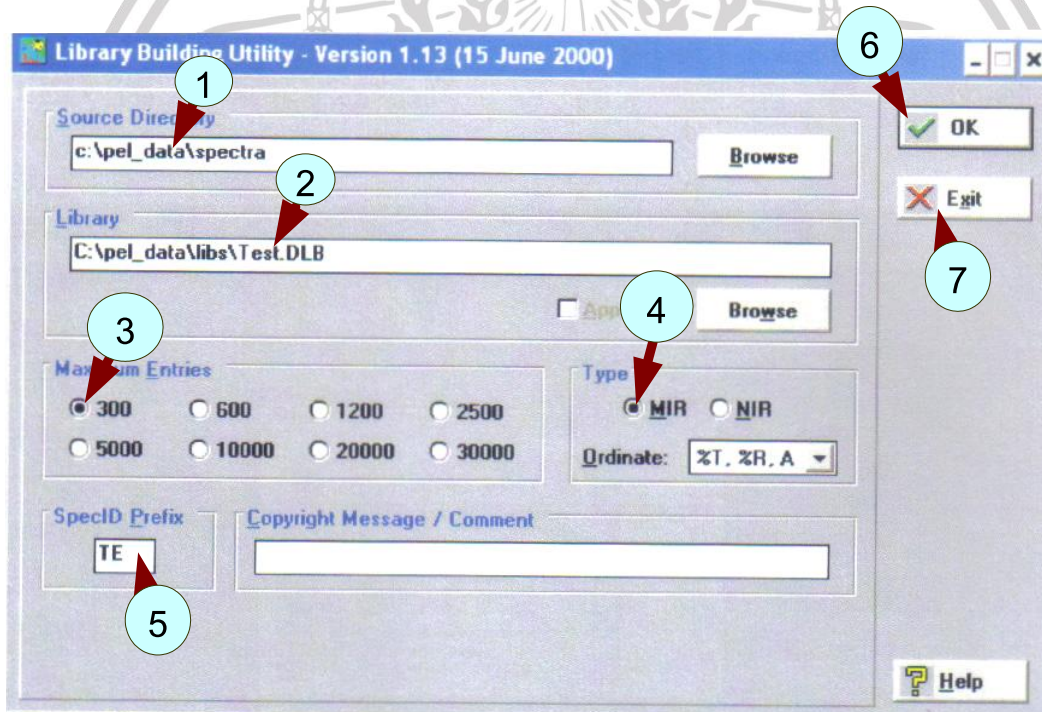
### รูปที่ 30 หน้าต่าง Compare แสดงค่า Correlation

หน้า Compare จะแสดงค่า Correlation หมายถึงค่าความใกล้เคียงของการเปรียบเทียบ โดยที่ถ้า

เหมือนกัน 100% ตัวเลขจะเท่ากับ 1.0000 ส่วนหน้า Graph#2 จะแสดง spectrum เปรียบเทียบของ Unknown กับ Standard ที่เปรียบเทียบ

### การสร้าง Library

เข้า Library building Utility โดย click ที่ Start → All Programs → PerkinElmer Applications → Library Building Utility จะปรากฏ ดังนี้



รูปที่ 31 หน้าต่างการสร้าง Library

1. Source Directory - เลือก directory ที่เก็บ spectrum standard ไว้โดย click ที่ Browse (กรณีนี้ต้อง scan standard เอาไว้ก่อน แล้วเก็บไว้ใน Directory ที่สร้างไว้)
2. Library - ให้ใส่ชื่อของ Library โดย click ที่ Browse จะปรากฏ directory ที่เก็บ Library พิมพ์ชื่อ Library ตรง file name
3. Maximum Entries - เลือกขนาดของ Library ที่จะเก็บ spectrum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Type – เลือก MIR
5. SpecID Prefix – ตั้งชื่อตัวหน้า ของ standard แต่ละตัวที่จะปรากฏใน Library สามารถตั้งเป็นตัวอักษรได้สูงสุด 2 ตัว เช่น TE
6. เสร็จแล้ว click OK
7. แล้ว click Exit ออกจากการสร้าง Library

#### การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้ Software Spectrum Beer's Law

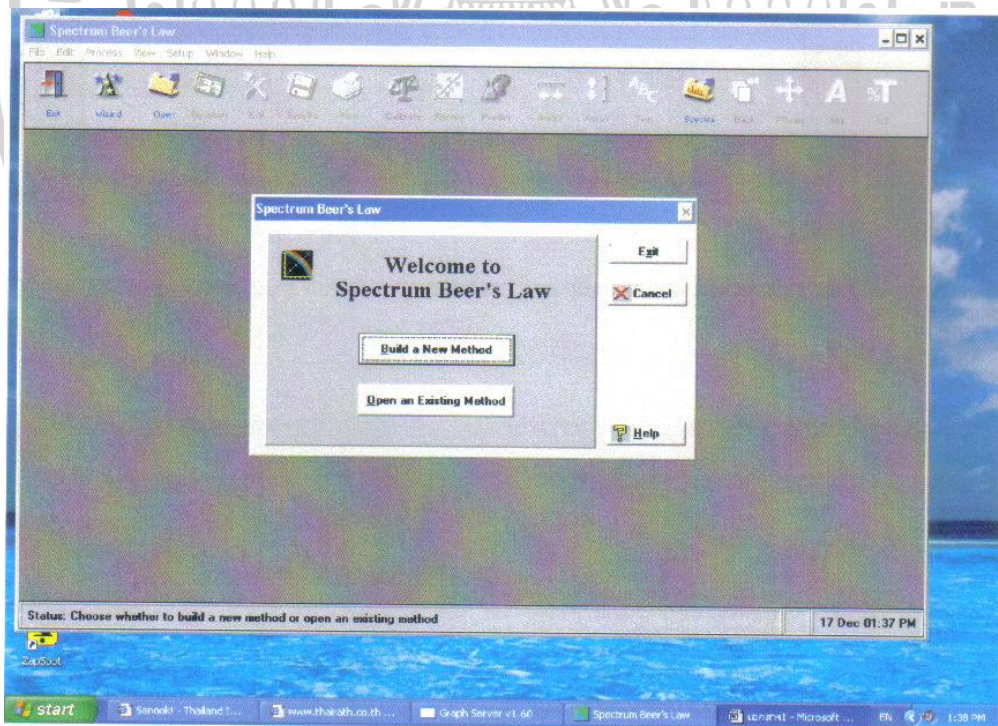
การหาปริมาณโดยเครื่อง FTIR นั้น อันดับแรกต้องทำการ scan spectrum ของ standard และ sample ก่อน อาจจะทำโดยการเตรียม sample ด้วยเทคนิค Liquid cell เมื่อได้ spectrum แล้วนำมาสร้าง calibration curve ด้วย Spectrum Bee's Law Software ดังนี้

1. เปิด Software Spectrum Bee's Law โดยการ double click ที่ icon



**Spectrum Beer's Law.Ink**

หรือ เปิดที่ Start → Program → PerkinElmer Applications → Spectrum Bee's Law  
เมื่อเข้าโปรแกรมแล้วจะปรากฏหน้าจอดังนี้



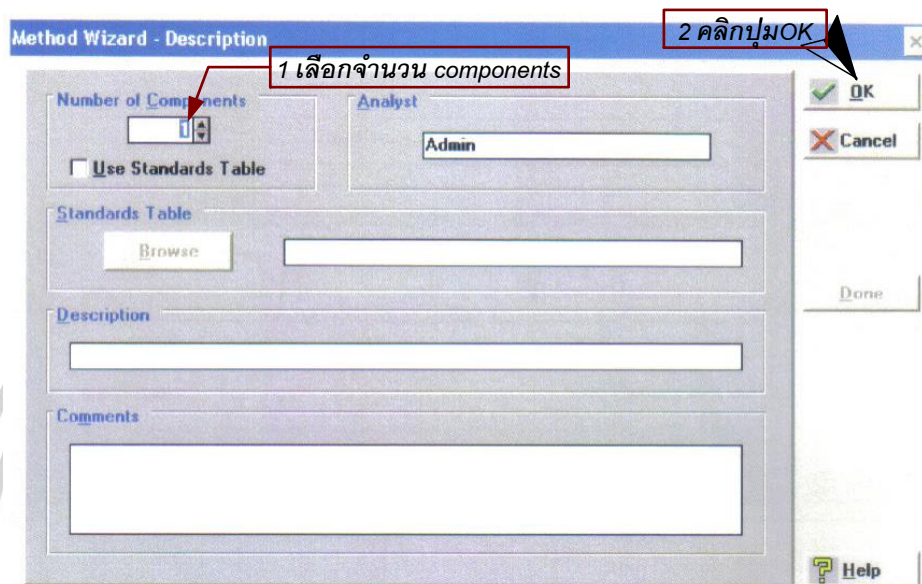
รูปที่ 32 หน้าต่าง Software Spectrum Beer's Law

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เลือก Build a New Method ในกรณีสร้าง Method หรือ Calibration curve ใหม่

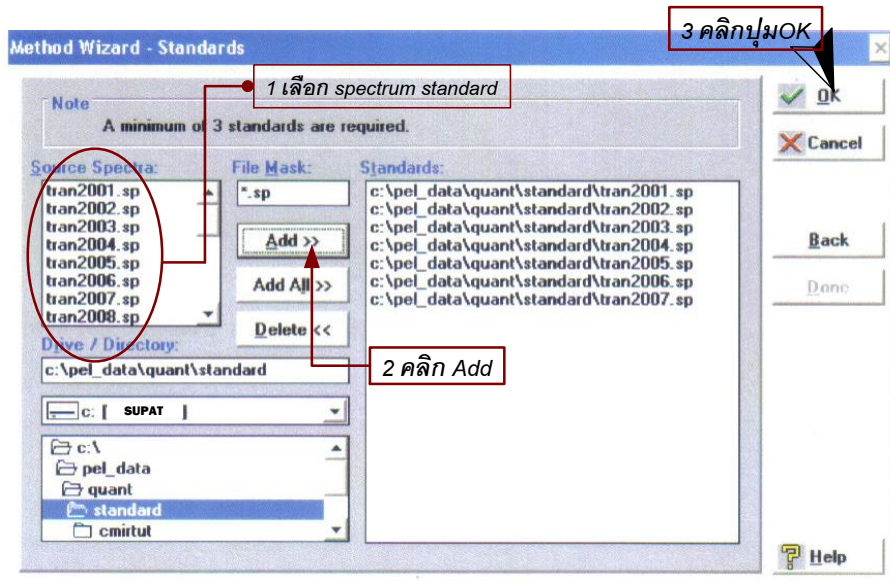
ให้เลือก Open an Existing Method ในกรณีที่สร้าง Method ไว้แล้ว

2. เมื่อเลือกสร้าง Method จะปรากฏหน้าต่าง Method Wizard – Description ให้เลือกจำนวน Components ที่จะทำการสร้าง curve แล้ว click OK



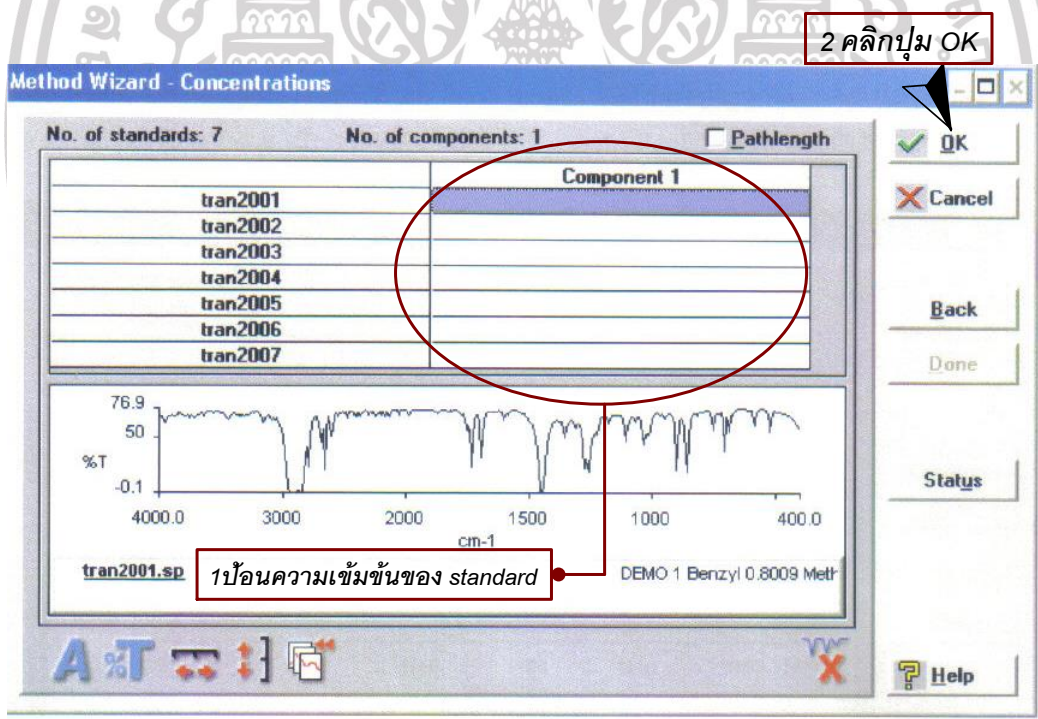
รูปที่ 33 หน้าต่าง Method Wizard Description ป้อนจำนวน Components ที่จะทำการสร้าง curve

3. เลือก spectrum standard อย่างน้อย 3 standard โดย click เลือกที่ file spectrum แล้ว click Add จากนั้น click OK



รูปที่ 34 แสดงการเลือก spectrum standard

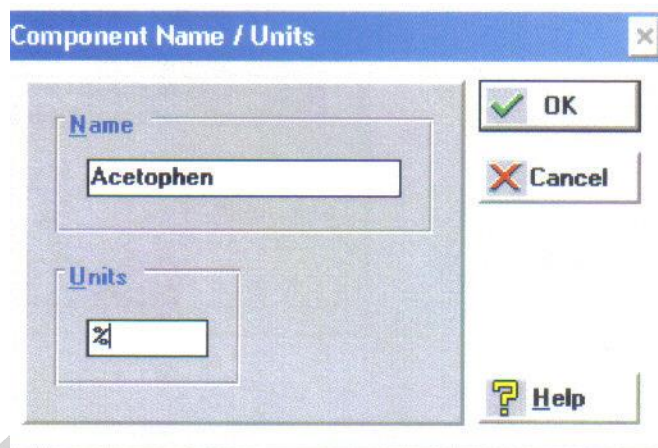
4. จากนั้นจะเข้าสู่หน้า Concentration ซึ่งให้ใส่ความเข้มข้นของ standard



รูปที่ 35 หน้าต่าง Concentration ให้ป้อนความเข้มข้นของ standard

ในกรณีที่ต้องการเปลี่ยนหัวข้อ Component เป็นชื่อสารที่วิเคราะห์ให้ click mouse ขวาตรงช่อง Component จะปรากฏดังนี้

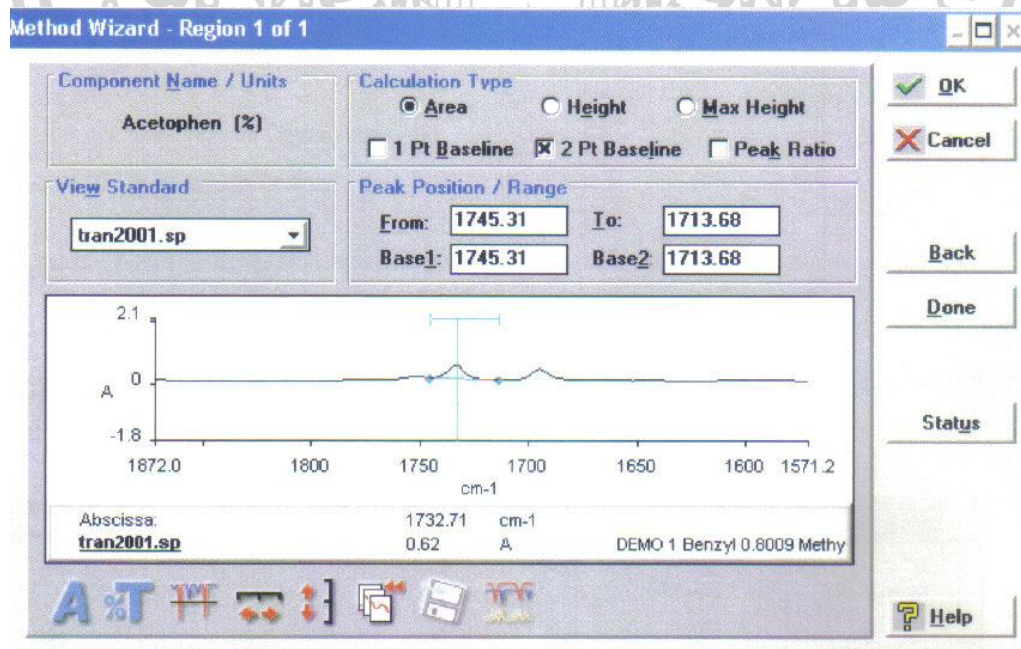
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 36 หน้าต่างแสดงการเปลี่ยนหัวข้อ Component เป็นชื่อสารที่วิเคราะห์

ให้พิมพ์ชื่อ Component name และหน่วยที่วิเคราะห์ลงไป แล้ว click OK

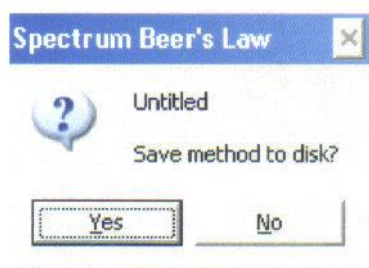
5. เลือก Calculation Type ว่าการคำนวณค่า Absorbance แบบ Peak Area, Peak Height หรือ Max Height แล้ว click เลือก การแก้ไข Baseline เป็นแบบ 1 Point Baseline หรือ 2 Point Baseline แล้วเลือก region ใน spectrum โดยใช้ mouse ลากให้ครอบคลุม Peak ที่จะคำนวณ โดย cursor ต้องวางที่ยอด Peak หรือจะพิมพ์ตำแหน่ง Peak ลงที่ช่อง Peak Position เลยก็ได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

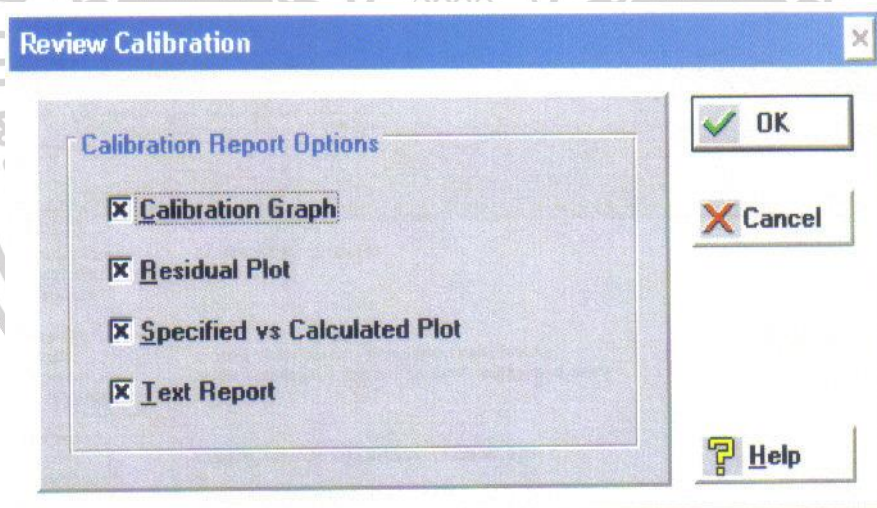
## รูปที่ 37 แสดงการคำนวณ Area

จากนั้น click OK จะปรากฏข้อความถามเพื่อ save ชื่อ Method click Yes แล้วพิมพ์ชื่อ Method ลงไป



## รูปที่ 38 หน้าต่างแสดงการ save method

6. click ที่ Tool bar Calibrate จะปรากฏข้อความให้เลือกแสดงผลดังนี้



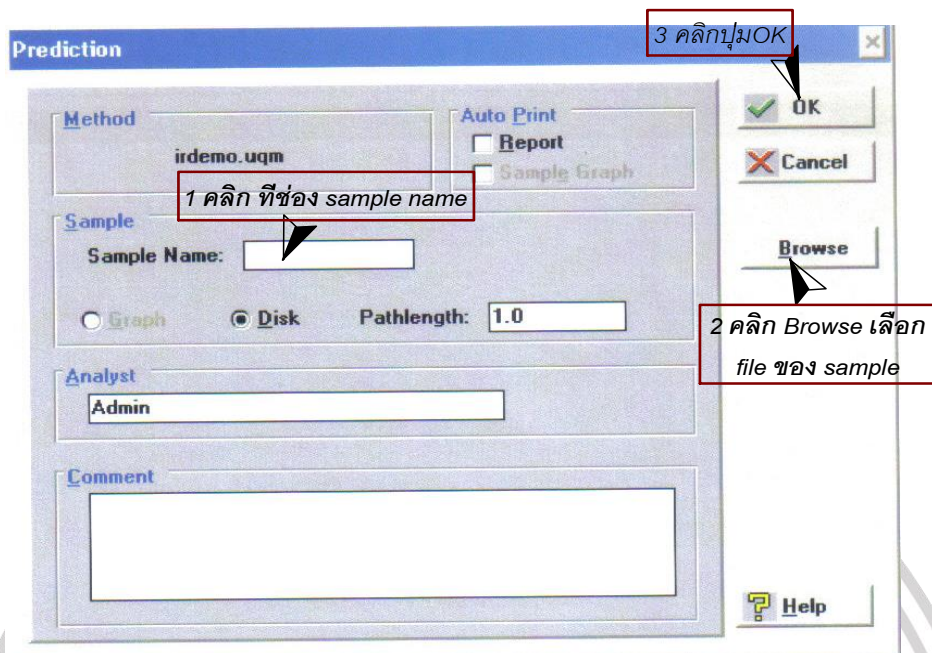
## รูปที่ 39 หน้าต่าง Review Calibration แสดง Calibration Report Option

ให้ click OK

7. เมื่อต้องการจะหาความเข้มข้นของ sample ให้ click ที่ Tool bar Predict จะปรากฏข้อความ

ให้เลือกดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 40 หน้าต่าง Prediction แสดงการหาความเข้มข้นของ sample

ให้ click ที่ช่อง Sample Name แล้ว click Browse เลือก Spectrum file ของ sample แล้ว click OK software จะแสดงผลของ sample ดังนี้

Spectrum Beer's Law - irdemo - [Prediction Report for Sample: tran2004.sp]

File Edit Process View Setup Window Help

Analysis:  
Date/Time: 19 Dec 2003 16:00:31  
Analyst: Admin  
Comment:

Sample:  
Name: c:\pel\_data\quant\standard\tran2004.sp  
Comment: DEMO 4 Benzyl 1 Methyl 3.0011 Acetoph 0.9989  
Pathlength: 1.0

Method:  
Name: c:\pel\_data\quant\methods\irdemo.uqm  
Version: 4  
Description: Demonstration Example - Spectrum Beer's Law  
Comment: Demo method, 16 standards containing 3 components in cyclohexane.  
Created: 05/07/96 09:54  
Last Modified: 05/07/96 10:15

Component:	Concentration:	Error of Prediction:
Benzyl	1.0683 %	0.1166
Methyl	3.1278 %	0.2177
Acetophen	0.9751 %	0.0861

ความเข้มข้นของ sample

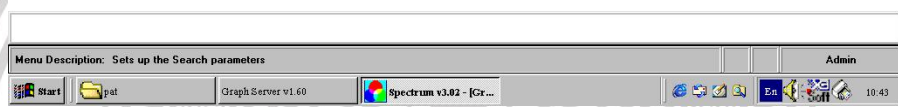
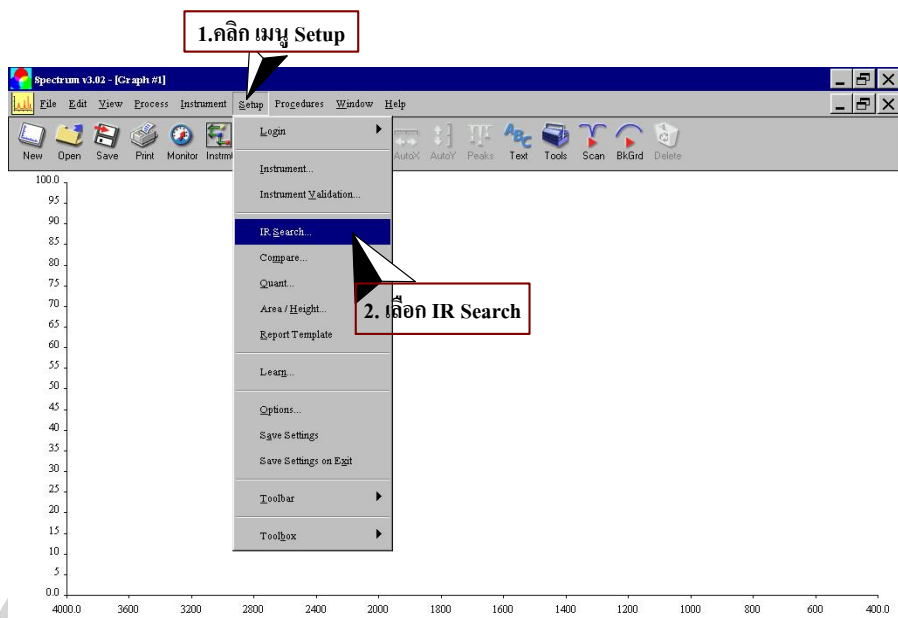
Status: Ready for next command 19 Dec 04:00 PM

รูปที่ 41 หน้าต่างรายงานความเข้มข้นของ sample

### การใช้ IR Search

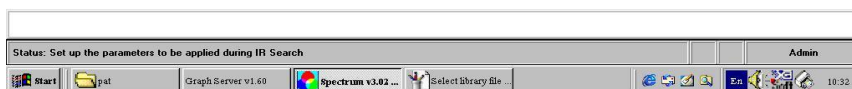
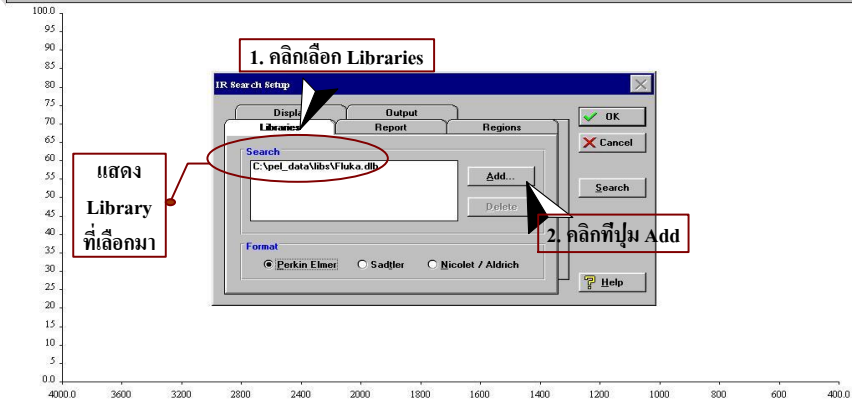
กรณีที่ต้องการค้นหาสารที่สงสัย (Unknown sample) ว่ามีสารประกอบใดบ้าง สามารถค้นหาจาก Libraries ของ IR Spectrum (DOMO-Program) ที่มีอยู่ ทำได้ดังนี้ โดย click ที่เมนู Setup ที่ Menu bar แล้วเลือกที่ IR Search

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 42 แสดงการสั่ง Search ใน Menu Set up

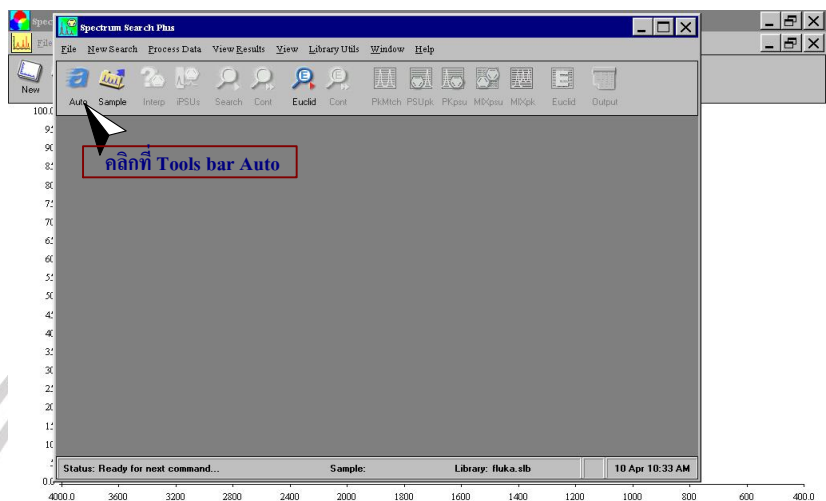
จะปรากฏหน้าต่าง IR Search Setup ให้ เลือก Libraries แล้ว click Add จะเข้าสู่หน้าต่าง Select File เลือก File Library (ในการเขียนเลือก Fluka) แล้ว click Open ชื่อ Library Fluka จะปรากฏที่ช่องว่าง Search



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

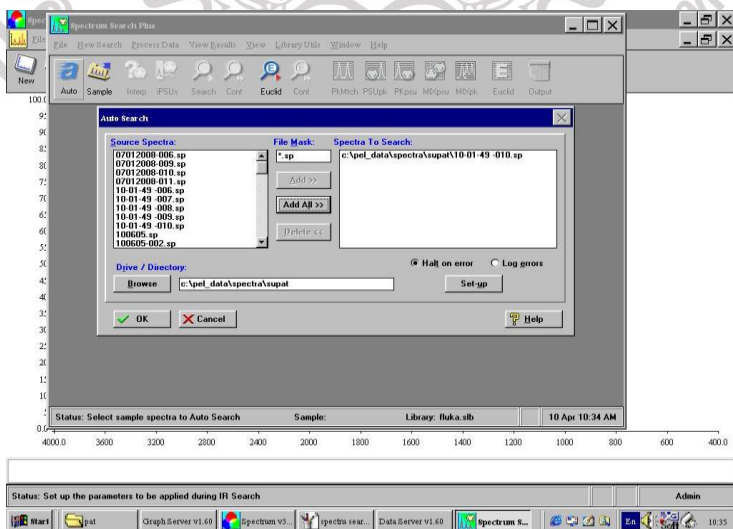
### รูปที่ 43 หน้า IR Search Setup แสดงการเลือก File Library

หลังจากนั้น ให้ click ที่ปุ่ม Search จะปรากฏหน้าต่าง Spectrum Search Plus ให้ click ที่ปุ่ม Auto



### รูปที่ 44 แสดงหน้าต่างต่าง Spectrum Search Plus

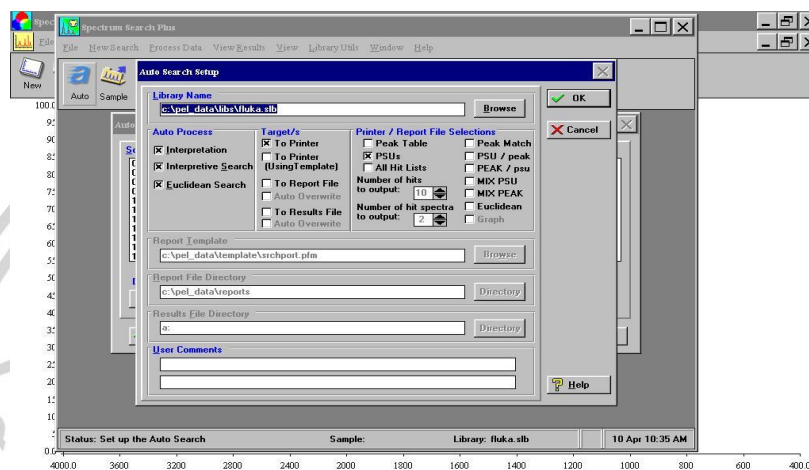
- เข้าสู่หน้า Auto Search ให้ click ที่ Browse เพื่อหา Drive/Directory ของ Spectrum unknown ที่ต้องการ Search เทียบกับ Library Fluka
- เมื่อพบแล้วให้ click ชื่อ File ที่ช่อง Source Spectra แล้ว click ที่ปุ่ม Add ชื่อ File นี้ก็จะปรากฏที่ช่อง Spectra to Search จากนั้นให้ click ที่ปุ่ม Setup



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

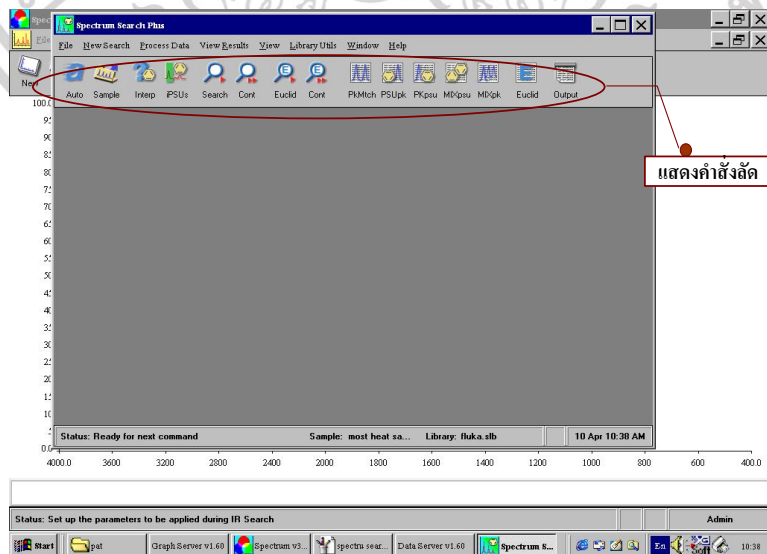
รูปที่ 45 แสดงการ Browse เพื่อหา Drive/Directory ของ Spectrum unknown

ก็ปรากฏหน้าจอดังรูปที่ 57 ที่ช่อง Library Name เป็น Library Fluka ที่เลือกไว้ และเลือก Target/S เป็น To Printer ส่วน Parameter อื่นๆ ให้เลือกตามความจำเป็นในการใช้งานของผู้ใช้งาน เมื่อเรียบร้อยแล้ว click ปุ่ม OK จะเข้าสู่หน้าจอ Auto Search อีกครั้งให้ click ปุ่ม OK



รูปที่ 46 แสดง Parameter ต่างๆ ในการให้ Software ประมวลผล

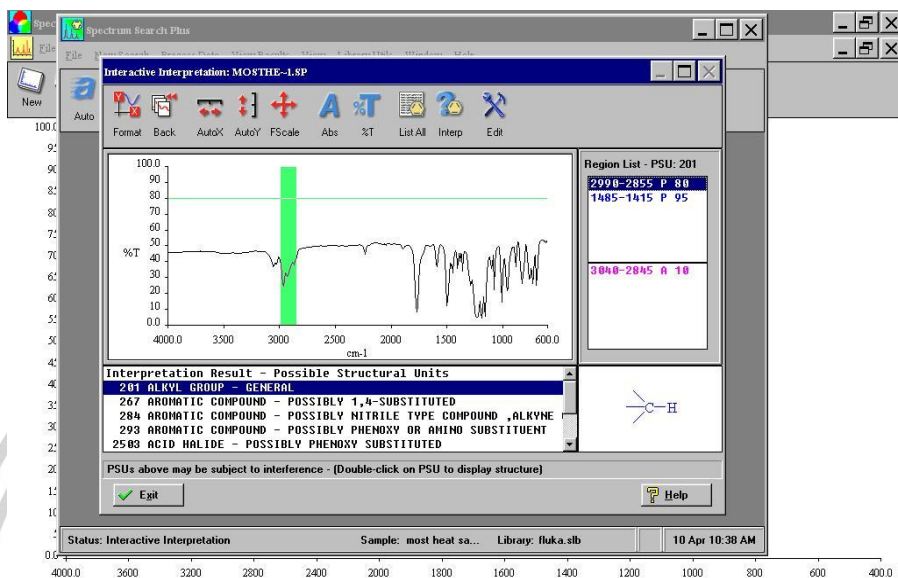
เข้าหน้า Spectrum Search Plus เมื่อต้องการให้ Software ประมวลผลใดๆ ให้ click คำสั่งต่างๆ ที่ Tools bar ในที่นี้ ต้องการดู Possible Structural Units จะ click ที่รูป iPSUs



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## รูปที่ 47 แสดงคำสั่งลัดที่ Tools bar

จะปรากฏดังรูป แสดง IR Spectrum ของ Unknown และบอกหมู่ฟังก์ชัน ของสาร



## รูปที่ 48 แสดง IR Spectrum ของ Unknown และบอกหมู่ฟังก์ชัน ของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวสุทธิรักษ์ ไพโรจน์
วัน เดือน ปีเกิด	20 เมษายน พ.ศ. 2533
ที่อยู่ปัจจุบัน	131 หมู่ 2 ต.บ้านกลาง อ.เมือง จังหวัดนครพนม รหัสไปรษณีย์ 48000
ประวัติการศึกษา	<ul style="list-style-type: none"> <li>- พ.ศ. 2555 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเครื่องมือวิทยาศาสตร์และอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง</li> <li>- พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง</li> <li>- พ.ศ. 2564 ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง</li> </ul>
ผลงานวิจัย	<p>ปี 2019</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Antiradical properties of chemo drug, carboplatin in cooperation with ZnO nanoparticles under UV irradiation in putative model of cancer cells</li> </ul> <p>ปี 2020</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Antitumor activities of carboplatin–doxorubicin–ZnO complexes in different human cancer cell lines (breast, cervix uteri, colon, liver and oral) under UV exposition</li> </ul>



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/bbe](http://www.elsevier.com/locate/bbe)



Original Research Article

# Antiradical properties of chemo drug, carboplatin, in cooperation with ZnO nanoparticles under UV irradiation in putative model of cancer cells



Suttirak Pairoj<sup>a</sup>, Pattareeya Damrongsak<sup>a</sup>, Badin Damrongsak<sup>b</sup>, Natini Jinawath<sup>c</sup>, Rossukon Kaewkhaw<sup>c</sup>, Tanaporn Leelawattananon<sup>a</sup>, Chinnapat Ruttanasirawit<sup>a</sup>, Kitsakorn Locharoenrat<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Biomedical Physics Research Unit, Department of Physics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand

<sup>b</sup> Department of Physics, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakornpathom, Thailand

<sup>c</sup> Program in Translational Medicine, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Bangkok, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 July 2019

Received in revised form

16 August 2019

Accepted 26 August 2019

Available online 4 September 2019

Keywords:

Antioxidants

Chemotherapy

DPPH

Nanoparticles

Tumor

ABSTRACT

The main objective of this study was to assess the antiradical properties of zinc oxide (ZnO) nanoparticles upon exposure to ultraviolet radiation with carboplatin, an anti-proliferative drug used in the treatment of retinoblastoma. For the purpose of this study, the decomposition of 2,2(diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical (DPPH<sup>\*</sup>) was used to assess the free radical capacity of antioxidants and was followed by MTT measurements. To test the antiradical capacity, the effective concentration, antiradical power, stoichiometry, and number of reduced DPPH<sup>\*</sup> were investigated. DPPH<sup>\*</sup> has a peak absorbance at a wavelength of 515 nm, which disappears upon the introduction of the antiradical agents. Four agents were reacted with DPPH<sup>\*</sup> and represented the possible reaction kinetic categories. ZnO nanoparticles and carboplatin-loaded ZnO nanoparticles reacted more strongly with DPPH<sup>\*</sup> and approached a saturation state at 420 min. The remaining two antiradical agents, ZnO nanoparticles under UV radiation and carboplatin-loaded ZnO nanoparticles under UV radiation, reacted a bit slower with DPPH<sup>\*</sup> and approached a steady state at 1440 min. Among the different four antiradical agents, carboplatin-loaded ZnO nanoparticles under UV light had the highest antiradical response with the lowest effective concentration value to the reduced DPPH<sup>\*</sup> molecules. ZnO nanoparticles alone were found to be poor antiradical agent. Possible mechanisms were attributed to the number of hydroxyl groups available to decrease the number of DPPH<sup>\*</sup>.

© 2019 Nalecz Institute of Biocybernetics and Biomedical Engineering of the Polish Academy of Sciences. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

\* Corresponding author at: Biomedical Physics Research Unit, Department of Physics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

E-mail address: [kitsakorn.lo@kmitl.ac.th](mailto:kitsakorn.lo@kmitl.ac.th) (K. Locharoenrat).

<https://doi.org/10.1016/j.bbe.2019.08.004>

0208-5216/© 2019 Nalecz Institute of Biocybernetics and Biomedical Engineering of the Polish Academy of Sciences. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Retinoblastoma is the most common intraocular problem in children globally. The most recently reported five-year survival rate for retinoblastoma was 95%, as informed by the American Society of Clinical Oncology [1]. Early diagnosis is imperative to reduce morbidity. Retinoblastoma therapy has dramatically advanced over the past decades, and significant trends away from systematic to intra-arterial chemotherapies are under development [2,3]. Among the systematic chemotherapeutic treatments for retinoblastoma, hybrid carboplatin (CP) compounds have recently demonstrated their ability to reduce morbidity. For instance, Ahmed et al. reported the efficiency of CP-loaded polyamidoamine nanoparticles in murine retinoblastoma [4]. Kang et al. used CP-loaded topotecan for the effective treatment of ophthalmic artery chemosurgery in retinoblastoma [5]. Shome et al. studied the CP-loaded polymethylmethacrylate nanoparticles for the efficient treatment of intraocular retinoblastoma in Sprague-Dawley rats and in humans [6,7]. Kalita et al. introduced CP-loaded apotransferrin and lactoferrin nanoparticles for the efficacious treatment of human retinoblastoma cell lines [8]. The CP-loaded apotransferrin (Apo-nano-carbo) and lactoferrin (Lacto-nano-carbo) nanoparticles showed greater intracellular uptake, sustained retention, and high anti-proliferative response to the retinoblastoma cell lines.

There are several uses of nanoparticles in the biomedicine. The differences in chemical and physical properties of these molecules in the context of their applications have recently been reported as follows. Wozniak et al. reported that a combination of blue light (411 nm) and green light + rose Bengal (515 nm) serving as the effective phototherapy together with doxycycline controlled the extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* strains [9]. Yang et al. reported that the photocatalytic zinc oxide (ZnO) nanoparticles without antibiotics under  $10.8 \text{ J/cm}^2$  blue light significantly affected the viability of *Acinetobacter baumannii* [10]. Lu et al. reported that ZnO in the powder form provided physicochemical information, which was an important factor to improve drug efficacy and reduce drug toxicity [11]. Ancona et al. reported that the lipid bilayer coated with ZnO nanoparticles were effectively internalized inside human epithelial carcinoma cells (HeLa) via a lysosomal pathway. The generation of reactive oxygen species (ROS) inside cancer cells leads to an increase in cell death [12]. Chacko et al. reported that the main benefits of using the non-ionic surfactant polysorbate coated nanoparticles as drug carriers included preferential accumulation at the target site, reduced toxicity, decreased drug dose of the therapeutic agent, reduced drug side effects, and increased drug viability to the brain tumors [13]. Martínez-Carmona et al. reported that ZnO quantum dots had outstanding luminescent properties, low-cost, low-toxicity, and biocompatibility. Additionally, ZnO quantum dots have high catalytic efficiency, strong adsorption capability, and high isoelectric point. These qualities make ZnO quantum dots primary candidates for drug delivery of bacterial infection and cancer treatments [14]. Jiang et al. reported that ZnO nanoparticles have

emerged a promising potential in anti-cancer and anti-bacterial fields. They can trigger excessive ROS production, release  $\text{Zn}^{2+}$ , and inducing cell apoptosis [15]. Babu et al. reported that ZnO nanoparticles exhibited a size-dependent impact on the red blood cells, particularly for cells  $<50 \text{ nm}$  in size. The extent of DNA damage and ROS generation on red blood cells was comparatively low for ZnO-ferulic acid conjugates than for ZnO alone [16]. Duan et al. reported that the liposomal and nanoparticle formulations of cisplatin have been explored to leverage the enhanced permeability and retention (EPR) effect in order to enhance the selective accumulation of cisplatin in tumor cells without increasing off-target effects and toxicities [17]. Bogdan et al. reported that the attachment of monoclonal antibodies with  $\text{TiO}_2$  and ZnO was used as drug carriers in photodynamic therapy (PDT) and sonodynamic therapy (SDT). PDT and SDT improved the selective distribution into the targeted organ or cell; hence, the therapy effectiveness was improved [18]. Bisht and Rayamajhi reported that ZnO nanoparticles were promising anticancer agents due to the EPR effect, electrostatic interaction, and selective cytotoxicity [19]. Karanam et al. prepared poly ( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL) nanoparticles of CP. They were efficiently absorbed and displayed profound cytotoxicity to U-87 MG (human glioma) cells compared to free CP, while reducing CP-induced hemolytic activity in rat erythrocytes [20]. Guo et al. prepared the DOX-loaded transferrin-conjugated lipid-coated poly D,L-lactic-co-glycolic acid nanoparticles, which serve as an efficient targeted drug-delivery system for lung cancer therapy. They showed anti-proliferative effect and inhibition on tumor growth in the A549 tumor-bearing mice [21]. Lu et al. used TEM to analyze ZnO and  $\text{TiO}_2$  nanoparticles with dimensions between 1 nm and 100 nm in commercial sunscreens; however, samples needed to be diluted before testing [22]. Smitjs and Pavel reported that the anatase  $\text{TiO}_2$  showed higher photocatalytic activity than rutile  $\text{TiO}_2$  and ZnO nanoparticles in commercial sunscreens [23].

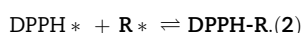
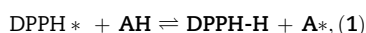
To our knowledge, the combination of CP and ZnO has not yet been studied for the treatment of retinoblastoma. When considering the physicochemical properties, nanomaterials, like semiconductor ZnO nanoparticles combined with CP, could improve globe salvage rates compared to CP alone in retinoblastoma therapy. ZnO is used in many applications, such as wastewater treatment, biomedicine, and agriculture. Additionally, it is also environmentally friendly due to its low-toxicity property. A combination of ZnO and CP is likely to improve tumor targeting in the near future. Therefore, understanding the effects of this new hybrid complex is of particular interest. This present study reports the available and upcoming therapeutic options, and offers a deep understanding into promising therapy for retinoblastoma.

To classify the antioxidative performance of the aforementioned antioxidant complexes, the complexes will be permitted to react with a radical, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>\*</sup>), which served as the putative model of cancer cells [24,25]. A decrease in DPPH<sup>\*</sup> is detected by observing a reduction in peak absorbance at a characteristic wavelength during the reaction time. Absorption of DPPH<sup>\*</sup> at a wavelength of 515 nm relies on the appropriate amount of antioxidant

**Table 1 – The details of the numerical values of antiradical parameters of the different tested antiradical agents. CP is carboplatin, and ZnO is zinc oxide. Antiradical power is considered with respect to the maximum concentration of ZnO nanoparticles of 1.0 mg/mL.**

Antiradical test	Kinetic behavior	Effective concentration (EC <sub>50</sub> )	Antiradical power (% ARP)	Stoichiometry (=2*EC <sub>50</sub> )	Number of reduced DPPH* (=1/Stoichiometry)
ZnO	Intermediate	16.2152	60.2222	32.4304	0.0308
ZnO + CP	Intermediate	6.4158	63.1528	12.8316	0.0779
ZnO + UV	Slow	3.5455	94.0278	7.0910	0.1410
ZnO + CP + UV	Slow	1.7183	96.5667	3.3466	0.2988

(AH) and/or a radical species (R\*). The dissipation of absorption is described by the following reactions :



Herein, we describe the research on selected antiradicals for the treatment of retinoblastoma. The well-known DPPH method to assess the antiradical properties of ZnO-CP was used. We attempted to clarify the antiradical activities of four different antiradical agents, including CP and ZnO nanoparticles under ultraviolet illumination. The number of hydroxyl groups required to reduced DPPH\* free radical scavenging assay played a role in antiradical activity. The general plots for fast, intermediate, and slow kinetic rankings will be introduced and discussed. The best antiradical efficiency of antiradical agent was determined. Lastly, we provided a description of the mechanism for the antiradical agents.

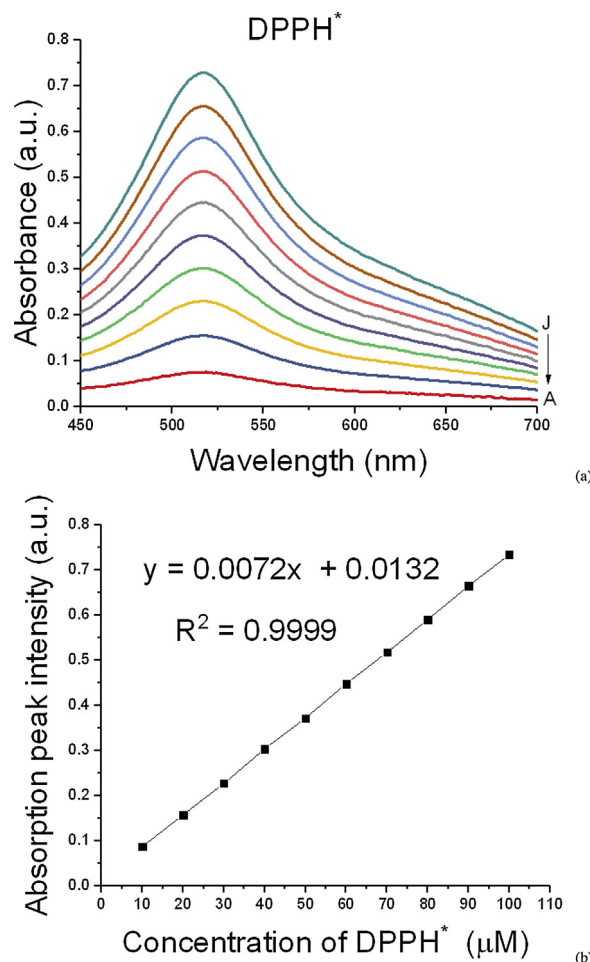
## 2. Material and methods

Two antiradical agents (ZnO > 99.0% purity and CP in a solution form) were tested in the present study. ZnO nanoparticles with a diameter of approximately 100 nm and DPPH\* as a putative model of cancer cells were purchased from Sigma Aldrich, USA. Methanol (>99.9% purity) was purchased from Merck KGaA, Germany. CP was a kind gift from Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Thailand. The 0.9% saline solution was purchased from General Hospital Products, Thailand. In order to achieve the completion of reaction kinetics as much as possible, a slightly higher concentration of DPPH\* was suitable to provide all essentially numerical values of antiradical parameters of antiradical test as shown in Table 1.

ZnO nanoparticles were dissolved in a polar medium (methanol) for the preparation of the first antiradical stock solution of 1 mg/mL, whereas CP was added to a 0.9% saline solution for the preparation of the second antiradical stock solution of 0.2 mg/mL. After that, ZnO nanoparticles were diluted to 0.0078, 0.0156, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, and 1.000 mg/mL. The molar ratio of ZnO to CP was 5:1 [26]. It was noted that the concentration of these two antiradical agents was kept as minimum as possible, because low concentrations result in a good evaluation of antiradical parameters linked to antiradical performance. Next, 1 mL of each prepared antiradical solution with different concentrations was mixed with

2 mL of a 100 μM methanolic DPPH\* solution by sonicator for 90 min at the ambient temperature of 27 °C [27].

Each mix solution was introduced in a 8 W, 400 nm UV cabinet (Spectroline: CX-21, Germany) as a source of photoexcitation of ZnO. Four antiradical agents were tested. Using a spectrophotometer (Avantes: AvaSpec, USA), the decrease in peak absorbance of the antiradical solution was detected at a wavelength of 515 nm for a time duration (0–1440 min) until a reaction reached a saturation state, where a further decrease in absorbance was not observed. A reduction of peak



**Fig. 1 – Absorption spectra (a) and a calibration curve of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH\*) at the different concentrations (b). A, B, C, D, E, F, G, H, I, and J denotes 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, and 100 μM of DPPH\*, respectively.**

absorbance with respect to the reaction time was exponential in nature and plotted for the antiradical agents at different concentrations. The percentage of residual DPPH\* with respect to the reaction time was therefore determined according to following equation:

$$\% \text{Remaining DPPH}^* = [C_{ss} \cdot 100] / C_{is} \quad (3)$$

where  $C_{is}$  and  $C_{ss}$  corresponded to concentration of DPPH\* at initial state and steady state, respectively.

The accurate concentration of DPPH\* ( $C_{DPPH^*}$ ) was determined from a calibration curve with equation,  $\text{absorbance}_{515\text{nm}} = 0.0072 \times (C_{DPPH^*}) + 0.0132$ , in which a linear regression represented a good fitting as shown in Fig. 1. Note that we used cells and cuvettes (Brand GmbH, Germany) for UV/Vis spectroscopy to determine the calibration curve for DPPH\*. Finally, the percentage of DPPH\* at the saturation state was plotted with respect to a molar ratio of the antiradical agent to DPPH\* in order to calculate the effective concentration ( $EC_{50}$ ) value. In order to determine the antiradical power (ARP), we used the following equation:

$$\text{Dependence of \% inhibition} = 100 \cdot (A_0 - A_{\text{mean}}) / A_0 \quad (4)$$

where the absorbance  $A_0$  is the radical solution of DPPH;  $A_{\text{mean}}$  is the mean absorbance value of a test solution containing an antioxidant.

It was noted that the characterization of ZnO nanoparticles during the CP adsorption to ZnO-CP was detected by fluorescence spectroscopy in order to show the uptake mechanism of ZnO-CP complexes as shown in Fig. 2. The optical setup was explained in Ref. [28]. The fluorescence peak was found at 545 nm. Due to Brownian dynamics, a small molecule of ZnO-CP excited by a 3 W, 450 nm LED light at 0 min could possibly emit high an intensity of fluorescence, whereas a large molecule of ZnO-CP excited in the same manner at 400 min could emit a small intensity of fluorescence.

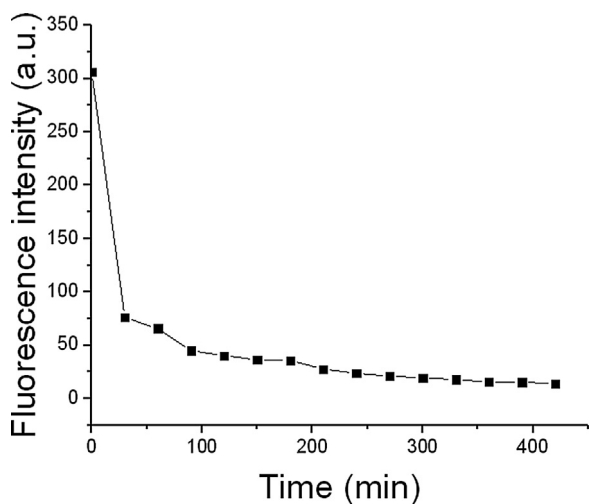


Fig. 2 – Representative fluorescence intensity of zinc oxide (ZnO) nanoparticles of 1.0 mg/mL during adsorption to ZnO-carboplatin (CP).



Fig. 3 – Disappearance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH\*) with respect to the different concentrations of ZnO nanoparticles. C, D, E, F, G, and H represent 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, and 1.000 mg/mL of ZnO nanoparticles, respectively.

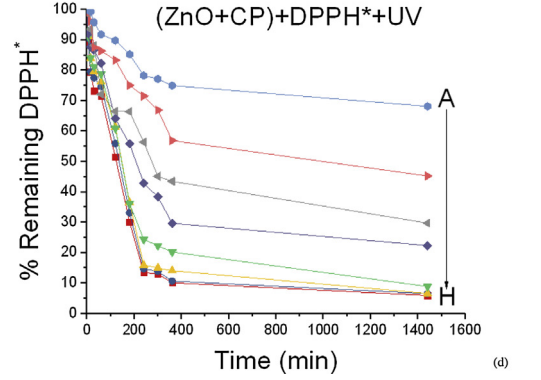
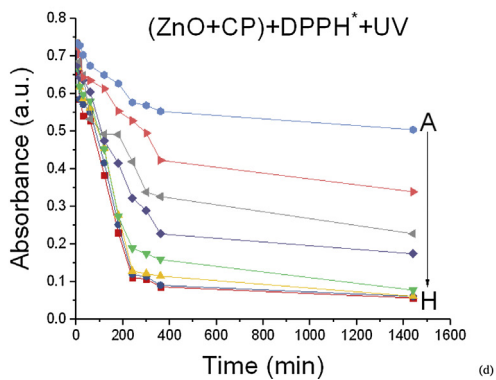
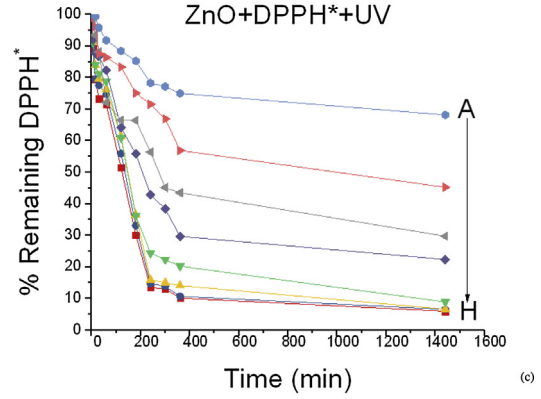
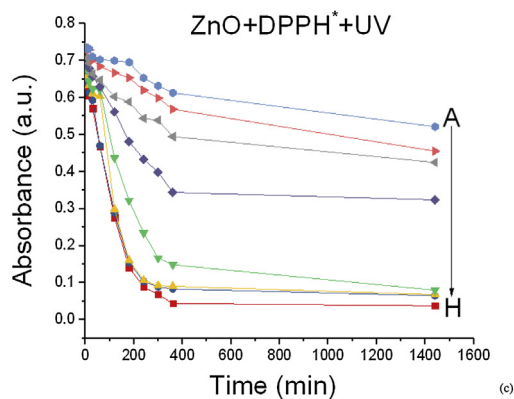
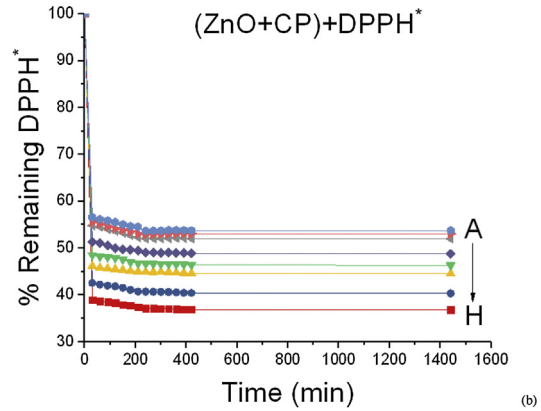
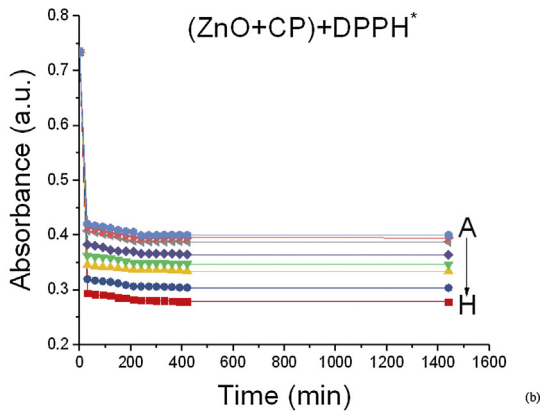
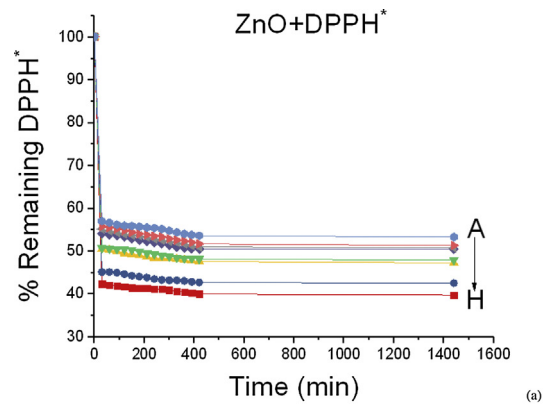
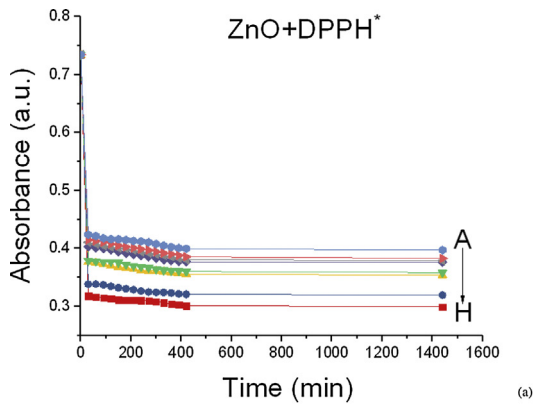
### 3. Results

Fig. 3 shows the absence of DPPH\* with respect to the different concentrations of ZnO nanoparticles. The color of DPPH\* visibly develops from purple to light yellow, when the amount of the antiradical agent changes from low to high concentrations.

The reaction kinetics was plotted for the individual tests of antiradical concentrations as shown in Fig. 4. The amount of residual DPPH\* at a saturation state was calculated from a calibration curve, and then transferred to Fig. 5. The residual DPPH\* at the saturation state indicates the percentage of DPPH\* remaining at a saturation state with respect to the reaction time from the different concentrations of antiradical agents. The  $EC_{50}$  value, as a function of the number of moles of antiradical agent to one mole of DPPH\*, was therefore determined for each antiradical agent as shown in Fig. 6.  $EC_{50}$  in the present study is similar to  $IC_{50}$  in a biological test and is determined as the effective concentration necessary to a reduction of the initial DPPH\* concentration by 50%. This value is written in terms of a molar ratio of antiradical agent to DPPH\*. Another significant antiradical factor of the antiradical agents, such as the stoichiometry, was determined from the  $EC_{50}$  value. For example, the ARP value is an inverse approximation of the  $EC_{50}$  value. Higher ARP values represent more effective antiradical actions. The stoichiometry value is obtained by multiplying the  $EC_{50}$  of each antiradical agent by two. Stoichiometric values indicate the number of moles of antiradical agent needed to decrease one mole of DPPH\*.

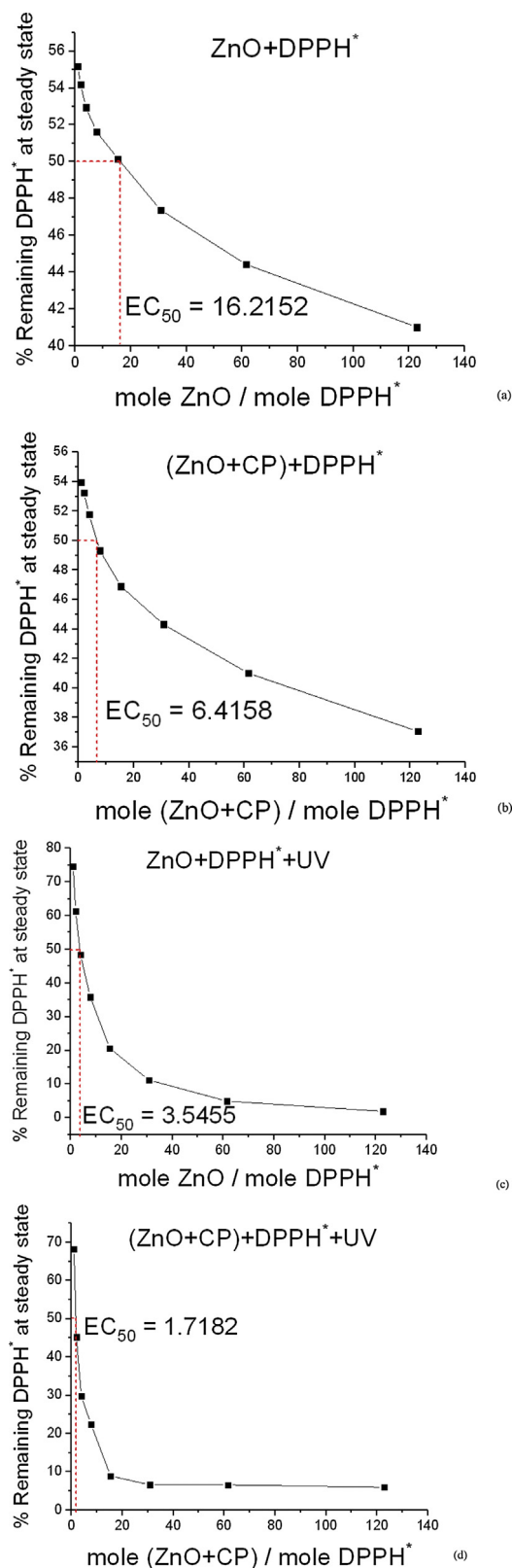
### 4. Discussion

A reaction between DPPH\* and an antiradical agent follows a kinetically driven mechanism. Thus, we first attempted to investigate the nature of kinetic behavior of the reaction between DPPH\* and each antiradical agent. Kinetic scans were performed for individual antiradical agents until the saturation state. At saturation, the maximum decrease in DPPH\* is reached. In our experiment, the reaction time required to reach a saturation state firmly depended on the nature of antiradical agent as shown in Fig. 4. DPPH\* radical scavenging by ZnO nanoparticles quickly increased with higher concentrations of ZnO nanoparticles. The reaction time to approach a saturation state occurred at 420 min. A similar result was observed for ZnO + CP nanoparticles, where the reaction time



**Fig. 4 – Peak absorbance as a function of reaction time from the different antiradical agents: ZnO (a), ZnO + CP (b), ZnO + UV (c), ZnO + CP + UV (d), at the different concentrations. A, B, C, D, E, F, G, and H represent 0.0078, 0.0156, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, and 1.000 mg/mL of ZnO nanoparticles, respectively. The molar ratio of ZnO to CP is 5:1. CP is carboplatin, and ZnO is zinc oxide.**

**Fig. 5 – Disappearance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH\*) with respect to reaction time from the different antiradical agents: ZnO (a), ZnO + CP (b), ZnO + UV (c), ZnO + CP + UV (d). A, B, C, D, E, F, G, and H represent 0.0078, 0.0156, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, and 1.000 mg/mL of ZnO nanoparticles, respectively. The molar ratio of ZnO to CP is 5:1. CP is carboplatin, and ZnO is zinc oxide.**



**Fig. 6 – Disappearance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH\*) with respect to a mole ratio of antiradical agent to DPPH\* from the different antiradical agents: ZnO (a), ZnO + CP (b), ZnO + UV (c), ZnO + CP + UV (d). The molar ratio of ZnO to CP is 5:1. CP is carboplatin, and ZnO is zinc oxide. The effective concentration (EC<sub>50</sub>) value of each antiradical agent is also presented.**

required to reach steady state was also 420 min. In contrast, ZnO + UV did not reach a saturation state at 420 min, especially at a lower ZnO + UV concentration. Although the scavenging capacity at higher concentration of ZnO + UV was higher than that at lower ZnO + UV concentration, saturation state was still not reached at 420 min. Similar to ZnO + UV, ZnO + CP + UV did not reach a saturation state at 420 min at the maximum dosages of antiradical agents (1.0 mg/mL for ZnO nanoparticles and 0.2 mg/mL for CP). Thus, in the present study, the fixed reaction time mode at 420 min is not suitable for estimating the antioxidant properties, and a steady state at 1440 min should be considered instead. Interestingly, the dosage of CP of 0.2 mg/mL in the present study is less than that reported in the retinoblastoma cell lines by Kang et al. (10.0–37.5 mg/mL), Shome et al. (10.0 mg/mL), and Kalita et al. (10 mg/mL) [5,7,8]. Instead, the dosage of ZnO of 1.0 mg/mL in the present study is not effective to living organisms [29] and it is also useful in the cosmetic products [11,22].

Ascorbic acid is generally used as a control molecule in a comparative assessment of antiradical performance of tested molecules. The reaction between ascorbic acid and DPPH\* is extremely rapid and reaches completion within minutes. Therefore, it is clear that the reaction kinetics are dependent upon the nature of tested antiradical agents. Reaction times of scavenging of DPPH\* with ZnO and ZnO + CP are faster than those of ZnO + UV and ZnO + CP + UV. Therefore, the antiradical agents possibly could be classified under two categories, intermediate and slow kinetics, in the present study. The first type of kinetic behavior usually reacts with DPPH\*, and concerned ZnO and ZnO + CP as shown in Fig. 5. These reactions reach a steady state at 420 min, and are called the intermediate kinetics compared to ascorbic acid. The second type of kinetic behavior slowly reacts with DPPH\*, and concerned ZnO + UV and ZnO + CP + UV. As the reaction time is still progressing at 420 min, the data should continue to be analyzed until a steady state is reached to avoid data error. Steady state would have been reached at 1440 min for these two reactions. This slow kinetic behavior is displayed by hyperbolic plots.

One method to investigate the antiradical activity is to calculate the concentrations of antiradical agents required to reduce the initial DPPH\* concentration by 100% (EC<sub>100</sub>). This classification of the antiradical activity is not possible in the present study, because all tested antiradical agents never react with more than 75% of the original concentration of DPPH\*. Therefore, EC<sub>50</sub> is preferred in the present study as shown in Fig. 6. With this type of analysis, the antiradical activity is analyzed based on a relationship between the percentage of residual DPPH\* as the reaction kinetics is approached at a saturation state with respect to the molar ratio of antiradical agent to DPPH\*. Meanwhile, there is a close relationship between EC<sub>50</sub> and ARP. ARP is calculated by Eq. (4), and it is considered as the approximate reciprocal of EC<sub>50</sub> of each antiradical agent. Thus, ARP represents a mole ratio of DPPH\* to antiradical agent. Contrarily, EC<sub>50</sub> value is determined as the number of antiradical agents needed to a reduction of the initial concentration of DPPH\* by 50%. When the EC<sub>50</sub> value is smaller, the antiradical power is increased. Thus, based on the ARP values, the overall rank of antiradical activities was arranged as ZnO < ZnO + CP < ZnO + UV < ZnO + CP + UV.

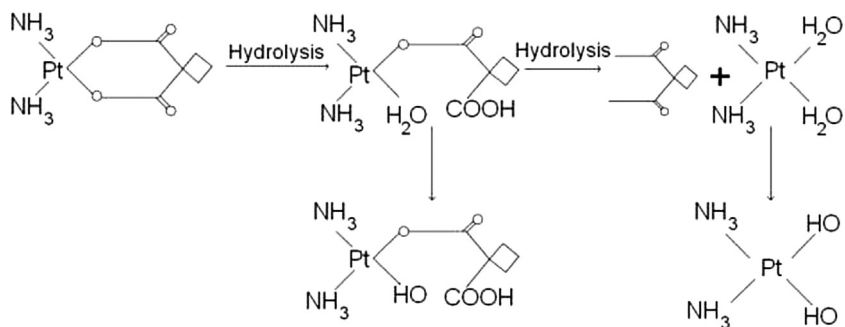


Fig. 7 – Possible destructions of carboplatin into the hydroxyl groups.

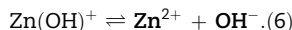
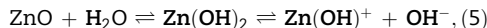
Interestingly, an EC<sub>50</sub> value of 1.72 when ZnO nanoparticles was combined with CP under UV light in the present study indicates improved anti-proliferative activity when compared to CP loaded protein nanoparticles in retinoblastoma cell lines (EC<sub>50</sub> = 4.20) [4].

Another essential factor of antiradical activity is stoichiometry of each antiradical agent, representing the amount of antiradical agent theoretically required to reduce initial concentration of DPPH\* by 100%. The stoichiometry value is obtained by multiplying the EC<sub>50</sub> of each antiradical agent by two. According to Table 1, the tested antiradical agents showing two types of kinetic behaviors are stoichiometrically dependent on the number of hydrogen atoms available in hydroxyl groups. The ability of a substance to donate hydrogen atoms and transfer electrons from the antiradical agent possibly leads to the neutralization of DPPH\* according to Eqs. (1)–(2). It is noted that ascorbic acid does not have a phenolic hydroxyl group and reacts with DPPH\* within a minute. Therefore, it is not a surprise that ascorbic acid has fast kinetic behavior. The higher the stoichiometry value, the larger the number of functional groups on the antiradical agent, and the stronger the antiradical activity. In the present

study, CP or 1,1-cyclobutyldicarboxylate is composed of organic (carboxyl group) and inorganic (Pt) groups. One molecule of CP is able to form at least three hydroxyl groups to reduced more DPPH\* molecules as shown in Fig. 7. The molecular mode of action of CP might involve the radical reactions that are expected to exert antiradical activity according to Eq. (1).

It has also suggested that the two dioxy groups and double bonds conjugated into two ketonic groups of CP might be responsible for higher scavenging properties [30,31].

The dissolubility and large surface area of ZnO nanoparticles show the important influence in antiradical action, because it is able to release toxic Zn<sup>2+</sup> and OH<sup>-</sup> (ROS) into the DPPH\* molecule according to the following processes:



Because the blue light irradiation can possibly trigger the antimicrobial potential of ZnO nanoparticles [9,10], the photocatalytic property of ZnO under UV light is suggested

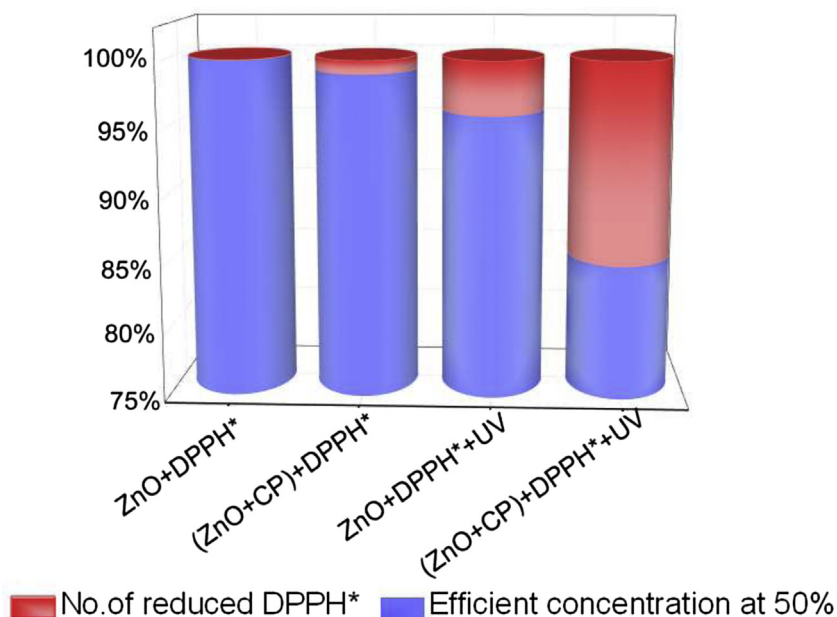


Fig. 8 – Contribution of effective concentration (EC<sub>50</sub>) and number of reduced 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH\*) in different four antiradical agents. CP is carboplatin, and ZnO is zinc oxide.

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

to be another important mechanism of antiradical action, because the electron-hole pair from semiconductor ZnO nanoparticles is able to further convert  $\text{OH}^-$  to hydroxyl radicals ( $\cdot\text{OH}$ ), which is the strongest ROS [12]. This is expected to strongly trigger the occurrence of radical reactions according to Eq. (2).

Because the number of specific functional groups is strongly correlated with  $\text{EC}_{50}$ , relying on a competitive reaction scheme in which the antiradical agent is able to compete with  $\text{DPPH}^*$  as shown in Fig. 8 is considered a key parameter for identifying the antiradical activity of an antiradical agent. Based on the  $\text{EC}_{50}$  values, antiradical performances of the antiradical agents were arranged as  $\text{ZnO} + \text{CP} + \text{UV} > \text{ZnO} + \text{UV} > \text{ZnO} + \text{CP} > \text{ZnO}$ .  $\text{ZnO} + \text{CP} + \text{UV}$  was about two times more efficient than  $\text{ZnO} + \text{UV}$ .  $\text{ZnO} + \text{UV}$  was two times more efficient than  $\text{ZnO} + \text{CP}$ .  $\text{ZnO} + \text{CP}$  was three times more efficient than  $\text{ZnO}$ . Therefore,  $\text{ZnO} + \text{CP} + \text{UV}$ , which falls in the slow kinetic category, was the most powerful antiradical agent with the maximum number of hydroxyl groups.  $\text{ZnO}$  has the least potent antiradical action with the minimum number of hydroxyl groups and falls in the intermediate kinetic category.

We note some aspects of the present study as follows. First, the concentrations of the antiradical agents used were greater than the concentration of  $\text{DPPH}^*$ . Second, there is a limitation of the volumes of the antiradical agents. It is therefore necessary to check the efficient dosage range of these tested molecules prior to performing detailed *in vitro* and *in vivo* tests. Third, the DPPH method is designed to investigate the appropriate reaction medium and reaction time of antiradical agents. Finally, because the DPPH method relies on a kinetic derived mechanism, 420 min ( $\text{ZnO}$  and  $\text{ZnO} + \text{CP}$ ) to more than 1440 min ( $\text{ZnO} + \text{UV}$  and  $\text{ZnO} + \text{CP} + \text{UV}$ ) might be required to reach a steady state. Other antioxidant assays could be suggested to validate the antiradical capacity of these antiradical agents.

## 5. Conclusions

Antiradical performances of antiradical agents, including ZnO nanoparticles and CP in the presence and absence of UV light, were determined by the DPPH method using the free radical form,  $\text{DPPH}^*$ , as the putative model of cancer cells for the possible application in retinoblastoma therapy. Experimental results have found that the interaction between the possible antiradical agents with  $\text{DPPH}^*$  was dependent of their structural properties. Certain agents react well with  $\text{DPPH}^*$ , by decreasing the amount of  $\text{DPPH}^*$  and conforming to the amount of available hydroxyl groups. Among four agent complexes, CP-loaded ZnO nanoparticles under UV illumination were the most powerful, while ZnO nanoparticles had the least potent antiradical action. UV-excited ZnO further induced the generation of ROS, including hydroxyl radicals, which are potent oxidizing species. This was expected to exert antiradical activity. Although, using  $\text{DPPH}^*$  offers a simple and speedy method to classify the antiradical performances of the tested antiradical agents, additional pharmacological assays (i.e. *in vitro*, *in vivo*, cellular assays) are necessary to

understand the true biological implications of these findings. The comparative study will be presented in the future.

## Data availability

All data used to support the findings of this study are presented in the article.

## Funding statement

This research was funded by King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand under grant number KREF046206.

## Author statement

Suttirak Pairoj participated in the research design, data collection, data analysis, write the manuscript. Kitsakorn Locharoenrat performed the research design, data analysis, research summary and recommendation, as well as write the manuscript. Pattareeya Damrongsak, Badin Damrongsak, Natini Jinawath, Rossukon Kaewkhaw, Tanaporn Leelawattananon, and Chinnapat Ruttanasirawit involved in the data analysis. All authors read and approved the final manuscript.

## REFERENCES

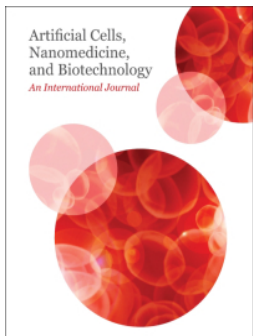
- [1] American Society of Clinical Oncology, Retinoblastoma - Childhood: Statistics. [www.cancer.net](http://www.cancer.net) (assessed on 08/2019).
- [2] Yang Q, Tripathy A, Yu W, Eberhart CG, Asnaghi L. Hypoxia inhibit growth, proliferation, and increases response to chemotherapy in retinoblastoma cells. *Exp Eye Res* 2017;162:48-61.
- [3] Jo DH, Lee K, Kim JH, Jun HO, Kim Y, Cho YL, et al. L1 increases adhesion-mediated proliferation and chemoresistance of retinoblastoma. *Oncotarget* 2017;8(9):15441-52.
- [4] Ahmed F, Ali MJ, Kondapi AK. Carboplatin loaded protein nanoparticles exhibit improve anti-proliferative activity in retinoblastoma cells. *Int J Biol Macromol* 2014;70:572-82.
- [5] Kang SJ, Durairaj C, Kompella UB, O'Brien JM, Grossniklaus HE. Subconjunctival nanoparticle carboplatin in the treatment of murine retinoblastoma. *Arch Ophthalmol* 2009;127(8):1043-7.
- [6] Francis JH, Gobin YP, Dunkel IJ, Marr BP, Brodie SE, Jonna G, et al. Carboplatin +/- topotecan ophthalmic artery chemosurgery for intraocular retinoblastoma. *PLoS One* 2013;8(8):e72441.
- [7] Shome D, Kalita D, Jain V, Sarin R, Maru GB, Bellare JR. Carboplatin loaded polymethylmethacrylate nano-particles in an adjunctive role in retinoblastoma: an animal trial. *Indian J Ophthalmol* 2014;62(5):585-9.
- [8] Kalita D, Shome D, Jain VG, Chadha K, Bellare JR. *In vivo* intraocular distribution and safety of periocular nanoparticle carboplatin for treatment of advanced retinoblastoma in humans. *American J Ophthalmol* 2014;157(5):1109-15.

เอ็กสารนี้เป็นเอ็กสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลให้เข้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอ็กสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [9] Wozniak A, Rapacka-Zdonczyk A, Mutters NT, Grinholc M. Antimicrobials are a photodynamic inactivation adjuvant for the eradication of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol* 2019;10:229.
- [10] Yang MY, Chang KC, Chen LY, Wang PC, Chou CC, Wu ZB, et al. Blue light irradiation triggers the antimicrobial potential of ZnO nanoparticles on drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Photochem Photobiol B* 2018;180:235-42.
- [11] Lu PJ, Fang SW, Cheng WL, Huang SC, Huang MC, Cheng HF. Characterization of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreen powder by comparing different measurement methods. *J Food Drug Anal* 2018;26(3):1192-200.
- [12] Ancona A, Dumontel B, Garino N, Demarco B, Chatzitheodoridou D, Fazzini W, et al. Lipid-coated zinc oxide nanoparticles as innovative ROS-generators for photodynamic therapy in cancer cells. *Nanomaterials (Basel)* 2018;8(3):e143.
- [13] Chacko BJ, Palanisamy S, Gowrishankar NL, Honeypriya J, Sumathy A. Effect of surfactant coating on brain targeting polymeric nanoparticles; a review. *Indian J Pharm Sci* 2018;80(2):215-22.
- [14] Martínez-Carmona M, Gun'ko Y, Vallet-Regí M. ZnO nanostructures for drug delivery and theranostic applications. *Nanomaterials (Basel)* 2018;8(4):e268.
- [15] Jiang J, Pi J, Cai J. The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. *Bioinorg Chem Appl* 2018;20181062562.
- [16] Babu EP, Subastri A, Suyavaran A, Premkumar K, Sujatha V, Aristatile B, et al. Size dependent uptake and hemolytic effect of zinc oxide nanoparticles on erythrocytes and biomedical potential of ZnO-ferulic acid conjugates. *Sci Rep* 2017;7:4203.
- [17] Duan X, He C, Kron SJ, Lin W. Nanoparticle formulations of cisplatin for cancer therapy. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2016;8(5):776-91.
- [18] Bogdan J, Plawinska-Czarnak J, Zarzynska J. Nanoparticles of titanium and zinc oxides as novel agents in tumor treatment: a review. *Nanoscale Res Lett* 2017;12:225.
- [19] Bisht G, Rayamajhi S. ZnO nanoparticles: a promising anticancer agent. *Nanobiomed* 2016;3:9.
- [20] Karanam V, Marslin G, Krishnamoorthy B, Chellan V, Siram K, Natarajan T, et al. Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles of carboplatin: preparation, characterization and in vitro cytotoxicity evaluation in U-87 MG cell lines. *Colloids Surf B Biointerf* 2015;130:48-52.
- [21] Guo Y, Wang L, Lv P, Zhang P. Transferrin-conjugated doxorubicin-loaded lipid-coated nanoparticles for the targeting and therapy of lung cancer. *Oncol Lett* 2015;9(3):1065-72.
- [22] Lu PJ, Huang SC, Chen YP, Chiueh LC, Shih DY. Analysis of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in cosmetics. *J Food Drug Anal* 2015;23(3):587-94.
- [23] Smijs TG, Pavel S. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechnol Sci Appl* 2011;4:95-112.
- [24] Aruoma OI, Cuppett SL. Antioxidant methodology: in vivo and in vitro concepts. New York: The American Oil Chemists Society; 1997.
- [25] Mishra K, Ojha H, Chaudhury NK. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH\* assay: a critical review and results. *Food Chem* 2012;130:1036-43.
- [26] Salaam AD, Hwang P, McIntosh R, Green HN, Jun WH, Dean D. Nanodiamond-DGEA peptide conjugates for enhanced delivery of doxorubicin to prostate cancer. *Beilstein J Nanotechnol* 2014;5:937-45.
- [27] Das D, Nath BC, Phukon P, Yotikalita A, Dolui SK. Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. *Colloids Surf B Biointerf* 2013;111:556-60.
- [28] Damrongsak P, Rammarat E, Locharoenrat K. Effects of gold nanoparticles on fluorescence polarization and emission spectra of rhodamine 6G solution. *Key Eng Mater* 2018;765:39-43.
- [29] Locharoenrat K, Srivatcharakul S. Optical studies of zinc oxide nanoparticles and their biomedical application. *Chinese J Phys* 2015;53(4):080901.
- [30] Silva MM, Santos MR, Caroco G, Rocha R, Justino G, Mira L. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids: a re-examination. *Free Radic Res* 2002;36(11):1219-27.
- [31] Suja KP, Jayalekshmy A, Arumughan C. Free radical scavenging behavior of antioxidant compounds of sesame (*Sesamum indicum* L.) in DPPH\* system. *J Agric Food Chem* 2004;52(4):912-5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



# Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology

## An International Journal

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/ianb20>

## Antitumor activities of carboplatin–doxorubicin–ZnO complexes in different human cancer cell lines (breast, cervix uteri, colon, liver and oral) under UV exposition

Suttirak Pairoj , Pattareeya Damrongsak , Badin Damrongsak , Natini Jinawath , Rossukon Kaewkhaw , Chinnapat Ruttanasirawit , Tanaporn Leelawattananon & Kitsakorn Locharoenrat

To cite this article: Suttirak Pairoj , Pattareeya Damrongsak , Badin Damrongsak , Natini Jinawath , Rossukon Kaewkhaw , Chinnapat Ruttanasirawit , Tanaporn Leelawattananon & Kitsakorn Locharoenrat (2021) Antitumor activities of carboplatin–doxorubicin–ZnO complexes in different human cancer cell lines (breast, cervix uteri, colon, liver and oral) under UV exposition, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 49:1, 120-135, DOI: [10.1080/21691401.2021.1876718](https://doi.org/10.1080/21691401.2021.1876718)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/21691401.2021.1876718>



© 2021 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



Published online: 25 Jan 2021.



[Submit your article to this journal](#)



Article views: 825



[View related articles](#)




[View Crossmark data](#)



Citing articles: 1 [View citing articles](#)

## Antitumor activities of carboplatin–doxorubicin–ZnO complexes in different human cancer cell lines (breast, cervix uteri, colon, liver and oral) under UV exposition

Suttirak Pairoj<sup>a</sup>, Pattareeya Damrongsak<sup>a</sup>, Badin Damrongsak<sup>b</sup>, Natini Jinawath<sup>c</sup>, Rossukon Kaewkhaw<sup>c</sup>, Chinnapat Ruttanasirawit<sup>a</sup>, Tanaporn Leelawattananon<sup>a</sup> and Kitsakorn Locharoenrat<sup>a</sup> 

<sup>a</sup>Department of Physics, Faculty of Science, Biomedical Physics Research Unit, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand; <sup>b</sup>Department of Physics, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakompathom, Thailand; <sup>c</sup>Program in Translational Medicine, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Bangkok, Thailand

### ABSTRACT

This study aimed to examine the pharmacological profiles of multiple chemo drug candidates in systematic circulation to enhance their specific interactions with five human cancer cell lines. ZnO nanoparticles were successfully bound with chemo drugs via physical adsorption. The drug loading capacity was confirmed by FTIR, whereas the loading efficiency was determined via UV–vis spectrometry. The mean hydrodynamic size increased to 69–82 nm after chemo-drug immobilization via non-covalent interaction with ZnO. Among the nine formulated chemo drugs, the carboplatin (CP)–doxorubicin (DOX)–ZnO complex under UV light irradiation exhibited high sensitivity towards human breast adenocarcinoma cells without affecting human keratinocyte immortal cells with an  $IC_{50}$  of 0.137  $\mu\text{g/mL}$ , whereas the loading capacity and efficiency of CP–DOX–ZnO were 77.81% and 99.05%, respectively. Fluorescence images confirmed that CP–DOX–ZnO using DOX served as a fluorescence enhancer specifically bound onto the cell membranes, which became almost saturated after 24 h incubation. Carboplatin–DOX–ZnO was possibly endocytosed by cancer cells and was selectively internalized into the target cells; thus, free chemo drug was released in the cytoplasm, which induced acute apoptosis. This resulted in complete inhibition of growth signal of target cancer cells.

### ARTICLE HISTORY

Received 21 July 2020  
Revised 30 December 2020  
Accepted 10 January 2021

### KEYWORDS

Antioxidant; chemotherapy; nanoparticles; semiconductor; tumour; zinc oxide

### Introduction

The development of effective chemotherapeutic agents remains a top priority for biomedical research worldwide because cancer still represents a significant threat to human health. Although currently, numerous treatment modalities are employed for tumour management, they have their own shares of drawbacks, such as toxicity due to non-specific action, side effects and chemoresistance that might develop during the treatment. Furthermore, the dosage of chemo drugs required to reach the targeted tumour site, which is associated with variations in individual patients, tumour microenvironments and complications in the molecular biology of cancer, is still under debate (Table 1). Sometimes, administering single chemo drugs for a long period of time is a challenging task because of the development of chemoresistance and severe side effects [1–13]. A double-chemo drug regimen is sufficient for very small tumours [14–18], whereas other chemo drugs might be used if these methodologies are not effective [19,20]. Meanwhile, some research progress has been made in nanoparticle-assisted drug delivery systems with different dosages for better treatment of

cancer [2–8]. To further improve the killing effect in the tumour microenvironment, a minimum dosage of multiple drug-loaded nanoparticles is a favoured modality for long-term anticancer therapy. It is hypothesized that their appropriate formulations can encapsulate or adsorb the antigen or DNA and thus increase the cellular uptake and immunogenicity so that drugs can be released into the cell and distribution into the target sites can be easily controlled.

In this study, we classify double-drug loaded nanoparticles and address some pharmacological parameters influencing drug efficacy. A basic understanding of these relationships will enable a more rational design of drug-loaded nanoparticle formulations, including zinc oxide (ZnO), doxorubicin (DOX) and carboplatin (CP); furthermore, UV light irradiation could be used as a stimulus. The formulated drug–nanoparticle complexes were prepared through physical adsorption and were then tested on several cell lines and with an oxidative assay DPPH. In addition, the mechanisms of molecular pathways governing cell death via these complexes are explained.

This study is novel because a combination of ZnO nanoparticles, which can response to light, and two types of

**Table 1.** Reported studies on therapeutic agents used for cancer treatment in the past 5 years.

Research group	Target cell	Drug carrier	Therapeutic agents
Smith et al. [1]	Human retinoblastoma	–	Carboplatin = 50 mg/mL
Galam et al. [2]	Human breast adenocarcinoma (MCF-7)	Silk fibroin	Carboplatin = 10–200 µg/mL
Ouyang et al. [3]	Human hepatocellular carcinoma (HepG-2) Human breast adenocarcinoma (MCF-7)	Pectin	Doxorubicin = 1–5 µg/mL
Locharoenrat [4]	Human breast adenocarcinoma (MCF-7)	Diamond	Doxorubicin = 0.4 mg/mL
Xia et al. [5,6]	Cervical cancer cells (HeLa) Colorectal cancer cells (HT-29)	RGDFC-Se	Derlin1-siRNA = 200 nM
Xia et al. [7]	Human liver cancer cells (HepG2)	Galactose-Se	Doxorubicin = 4 µg/mL
Xia et al. [8]	Cervical cancer cells (HeLa)	Hyaluronic acid-Se	Doxorubicin = 4 µg/mL
Vu et al. [9]	Human myeloid leukaemia	–	Doxorubicin = 0.5–1 µg/mL
Malky et al. [10]	Human breast adenocarcinoma (MCF-7)	–	Doxorubicin = 0.25–1 µg/mL
Christowitz et al. [11]	Murine breast tumour (E0771)	–	Doxorubicin = 6–15 mg/mL
Al-Harthy et al. [12]	Human breast adenocarcinoma (MCF-7)	–	Doxorubicin = 13–36 µg/mL
Matcovschii et al. [13]	Human glioblastoma	–	Doxorubicin = 2–20 µg/mL
Allen et al. [14]	Mouse gonads	–	Carboplatin = 0.1–1 µg/mL Cisplatin = 0.5–5 µg/mL
Kuittinen et al. [15]	Ovarian cancer cells	–	Carboplatin = 0.1–50 µg/mL Paclitaxel = 1–10 ng/mL
Corn et al. [16]	Human prostate cancer	–	Carboplatin = 3–4 mg/mL Cabazitaxel = 20–25 mg/mL
Lopes et al. [17]	Human and mouse ovary	–	Doxorubicin = 1–2 µg/mL Cisplatin = 5–10 µg/mL
Yu et al. [18]	Bladder cancer (MBT-2)	–	Doxorubicin = 0.62 µg/mL Lipodoxorubicin = 130 µg/mL
Eroglu et al. [19]	Human breast adenocarcinoma (MCF-7)	–	Doxorubicin = 0.01 mg/mL 5-Fluorouracil = 6 mg/mL Propranolol = 30 mg/mL
Escobar-Resendiz et al. [20]	Human lung carcinoma cell (A549)	–	Carboplatin = 515 µg/mL Cisplatin = 10 µg/mL AMB = 29 µg/mL A21 derivative = 67 µg/mL

drugs, which can enhance the anticancer effect compared with one type of drug, is studied. We chose ZnO nanoparticles as the nanocarrier in this study because they exhibit good anti-angiogenesis and anti-inflammatory properties for sustained drug release [21]. Furthermore, the cellular cytotoxicity of ZnO nanoparticles depends on the concentration and reaction time. DOX offers an excellent fluorescence signal [4], whereas a combination of ZnO and CP with UV ray offers an enhanced response of oxidizers [22].

## Methods

### Materials

ZnO, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl as the putative model of cancer cells (DPPH\*), and DOX were purchased from Sigma-Aldrich (Singapore). CP was obtained from the Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital (Bangkok, Thailand). Foetal bovine serum (FBS), Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), dimethylsulphoxide (DMSO) and phosphate-buffered saline (PBS) were purchased from Sigma-Aldrich (Singapore). Absolute methanol was bought from Honeywell (London, UK). Physiological saline solution was purchased from GH Products (Bangkok, Thailand).

### Cell culture

Human colon adenocarcinoma (HT-29), human oral cavity carcinoma (KB), human cervical adenocarcinoma (HeLa), human hepatocarcinoma (HepG-2) and human breast adenocarcinoma (MCF-7) cell lines were obtained from Scientific Instrument Center, Faculty of Science, King Mongkut's

Institute of Technology Ladkrabang (Bangkok, Thailand). Human keratinocyte immortal cells (HaCat) were used as the control cell line. All cells were cultured in flasks in DMEM containing 10% FBS in an incubator at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub> for 24 h, according to a previous protocol [23]. After washing twice with PBS to remove non-adherent cells, the adhered cells were resuspended in the culture medium at the final density of 5 × 10<sup>4</sup> cells/mL which were then ready for optical microscopic and spectroscopic measurements.

### Chemo drug preparation

Combinations of chemo drugs against DPPH\* and human cell lines were prepared as follows. Three stock solutions were used: first, a nanocarrier comprising 388.95 µM of ZnO nanoparticles dispersed in methanol; second, a chemo drug comprising 16.31 µM CP liquid dissolved in saline solution; and third, chemo drug comprising 5.39 µM DOX powder dissolved in saline solution. After homogenization of five different concentrations of chemo drug combinations as displayed in Table 2 (5 min of vortex for 30 min at 27 °C), ZnO was blended in the mix of chemo drugs (5 min of vortex for 24 h at 27 °C). The weight ratio of ZnO:(CP + DOX) was preserved at 5:1, in accordance with a previous protocol [4,22]. The mix solution was centrifuged at 5000 rpm for 15 min to obtain the pellet-bound chemo drug compound. The clear supernatant liquid was analysed via UV-vis spectrometry (Avantes AvaSpec, Louisville, CO) to obtain absorbance and fluorescence data and determine the fluorescence quantum yield [24]. The first set of residues was employed for the physical characterization. To the second set of residues, we added 1 mL methanol and sonicated the samples for 5 min to form

**Table 2.** Detailed preparation of chemo drug under various binding conditions.

ZnO ( $\mu\text{M}$ )	DOX ( $\mu\text{M}$ )	CP ( $\mu\text{M}$ )	Binding ratio of CP:DOX = CP:1	Loading capacity <sup>a</sup> (%)	Loading efficiency <sup>a</sup> (%)
388.95	5.39	8.42	1	66.15	81.13
388.95	2.69	12.63	3	74.98	94.55
388.95	1.35	14.73	7	76.24	97.52
388.95	0.67	15.78	15	77.43	98.19
388.95	0.34	16.31	31	77.81	99.05

CP: carboplatin; DOX: doxorubicin; ZnO: zinc oxide nanoparticles.

<sup>a</sup>See Ref. [4] for detailed calculations.

the suspension chemo drug that was used for the cytotoxicity test.

### Physical characterization

Morphological changes caused by each chemo drug – DOX + ZnO, CP + ZnO and CP + DOX + ZnO – in a comparison to a blank ZnO sample were observed via transmission electron microscopy (JEOL-JEM-1400, Tokyo, Japan). The zeta potential and size distribution were observed via dynamic light scattering (Malvern Zetasizer ZSP, Worcestershire, UK). Infra-red spectra were examined via Fourier transform infrared spectroscopy (PerkinElmer Inc., Buckinghamshire, UK).

### Antiradical test against DPPH\*

For comparison of antioxidant activity of each chemo drug on DPPH\* by the DPPH protocol [22,23], 1 mL of individual chemo drug solution was dispensed in a sterile test tube and sonicated with 2 mL of 0.1 nM methanolic DPPH\* for 90 min. Six chemo drugs were tested without UV exposure for 24 h at 37°C, while other three were introduced into the 8 W, 400 nm UV chamber for 24 h at 37°C (Spectroline: CX-21, Kleinblittersdorf, Germany). The treated solution was centrifuged, and the clear supernatant liquid was used to obtain absorbance and fluorescence data using the same UV-Vis spectrometer to determine the inhibitory concentration at 50% inhibition (IC<sub>50</sub>). The absorbance values of unloaded drug and released drug in the supernatants based on these UV-vis analyses were also used to determine the drug loading capacity, loading efficiency and drug release rate under pH 6.0 [4].

A calibration curve with a known amount of DPPH\* was generated at a wavelength of 515 nm using the formula  $Abs = [1.2221 \times C_{OC,EC}] + 3.3711$  (Figure 1). A reduction in the absorbance peak of DPPH\* caused by each chemo drug was observed at 515 nm under 0–720 min reaction time till the reactant were completely utilized, after which no further reduction in the absorbance peak was observed. A decrease in the integrated absorption intensity corresponding to the reaction time was plotted for each chemo drug. The remaining DPPH\* with respect to the reaction time was calculated using  $Residual\ DPPH^* = \frac{[C_{OC} \times 100]}{C_{EC}}$ , where Abs is the absorbance value of DPPH\*,  $C_{OC}$  is the concentration of DPPH\* at the original condition and  $C_{EC}$  is the concentration of DPPH\* at the equilibrium condition. IC<sub>50</sub> was finally determined using the remaining DPPH\* at the state of equilibrium with respect to the molar proportion of the chemo drug to DPPH\*.

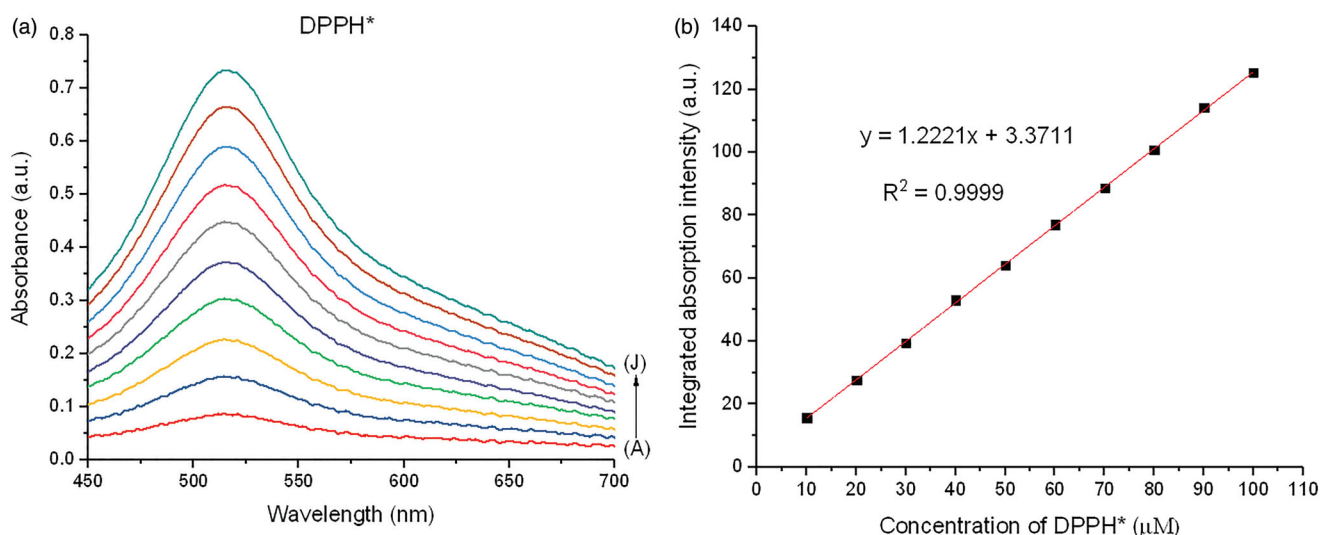
### Antitumor test against human cell lines

For comparative proliferation and apoptosis of human cell lines by each chemo drug via the MTT protocol [25], 0.1 mL of individual formulated chemo drug solution was exposed to 0.2 mL of the cell suspension in 96-well plates. The ranges of concentrations of free DOX and free CP were 0.34–5.39 and 8.42–16.31  $\mu\text{M}$ , respectively. The concentrations of CP and DOX were maintained at 6.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The six chemo drugs were tested without UV exposure for 24 h at 37°C, while the other three were introduced into the 8 W, 400 nm UV chamber for 24 h at 37°C (Spectroline: CX-21, Kleinblittersdorf, Germany). The UV lamp was placed at a distance of 20 cm from the cell line suspension in 96-well plates. Then, 10  $\mu\text{L}$  MTT (5 mg/mL in PBS) was added to the cells in each well and was incubated for 4 h at 37°C. After 4 h of incubation, the supernatant was aspirated and 100  $\mu\text{L}$  of 100% DMSO was added to each well. The optical density was measured at a wavelength of 570 nm after 30 min incubation to ensure the organization of adsorption–desorption equilibrium between drug-loaded ZnO and human cell lines. The cytotoxicity was determined as Percentofinhibition =  $\frac{[Abs_c - Abs_s]}{Abs_c} \times 100$ , where  $Abs_c$  is the absorbance value of the control before chemo drug treatment and  $Abs_s$  is the average absorbance value of the sample after chemo drug treatment. IC<sub>50</sub> was determined using the GraphPad Prism Software (La Jolla, CA).

As UV-light penetration is weak *in vivo*, UV-induced cell inhibition was analysed as a control in this study. After the incubation period for the internalization of chemo drugs into human cell lines, optical microscopy was performed to obtain phase contrast images of the treated cells for quantification, and fluorescence microscopy was employed to analyse the position and integrity of the internalized chemo drugs into the same group of cells. As DOX is a fluorescent probe with a bright red colour when visualized with a red filter, images of cellular uptake of the live cells were obtained without adding any staining solution. The fluorescent intensity was quantified by flow cytometry (FCM model: BD FACSCanto, Piscataway, NJ). R-phycoerythrin (R-PE) was used as the fluorescence signal.

### Statistical analysis

All experimental data generated and presented in tables and figures as the mean value were obtained from triplicate experiments using ANOVA followed by the Bonferroni *post hoc* test ( $p < .05$ ).



**Figure 1.** (a) Absorbance and (b) calibration curve at the various concentrations of DPPH\*. A, B, C, D, E, F, G, H, I and J represent 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 and 100 μM of DPPH\*, respectively.

## Results

### TEM and DLS data

ZnO has a mean diameter of approximately 50 nm (Figure 2). Due to the high ratio of surface active sites of the nano-adsorbent to adsorbate, the numbers of active adsorption sites were sufficient to accommodate adsorbates (chemo drugs), making them more superior in the targeted chemo drug delivery purposes. ZnO (zeta potential = 40 mV) surrounded by the layers of chemo drugs is affected by the viscosity and concentration of chemo drug solutions; thus, this affects the binding strength of drug-loaded ZnO (zeta potential = 17–24 mV). The aggregated particle size of drug-loaded ZnO had a mean value of 69–82 nm (Table 3).

### FTIR data

FTIR spectra of ZnO nanoparticles (Figure 3) showed an intense peak at  $400\text{--}500\text{ cm}^{-1}$  (Zn–O) and a broad peak at  $3331\text{--}3441\text{ cm}^{-1}$  (O–H) [26,27]. FTIR spectra of DOX exhibited multiple peaks at  $1285\text{ cm}^{-1}$  (C–O),  $1414\text{ cm}^{-1}$  (C–C),  $1617\text{ cm}^{-1}$  (N–H),  $1730\text{ cm}^{-1}$  (C–O),  $2933\text{ cm}^{-1}$  (C–H) and  $3331\text{--}3441\text{ cm}^{-1}$  (O–H) [28]. FTIR spectra of CP showed multiple peaks at  $1379\text{ cm}^{-1}$  (Pt–NH<sub>2</sub>),  $1634\text{ cm}^{-1}$  (C–O),  $2990\text{ cm}^{-1}$  (C–H) and  $3266\text{ cm}^{-1}$  (N–H) [29]. The peaks of the FTIR spectra of CP–DOX–ZnO complexes were slightly shifted to  $1159\text{ cm}^{-1}$  (C–O),  $1379\text{ cm}^{-1}$  (C–C),  $1628\text{ cm}^{-1}$  (N–H),  $1735\text{ cm}^{-1}$  (C–O) and  $2936\text{ cm}^{-1}$  (C–H).

### Fluorescence quantum yield

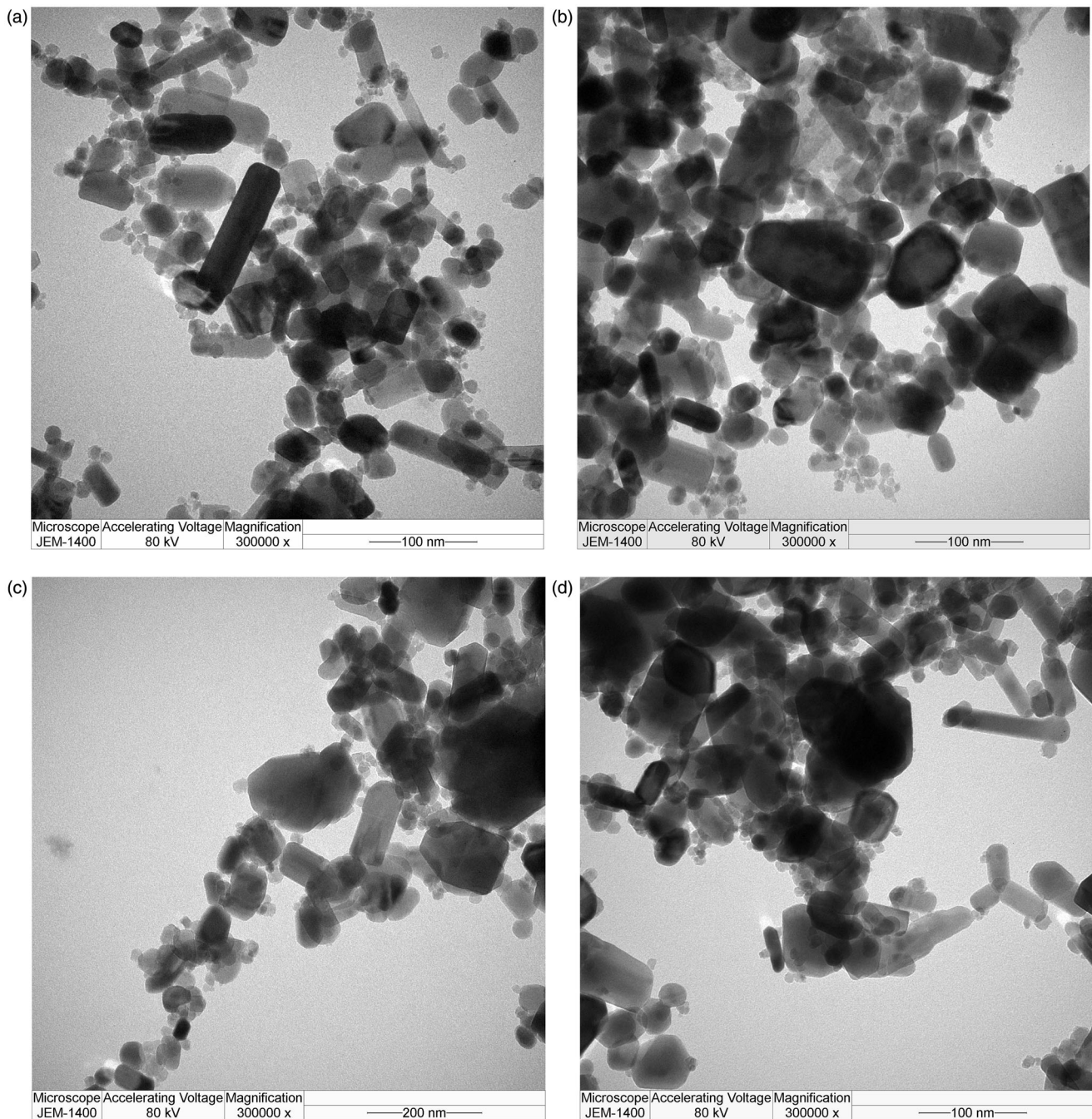
Figure 4 presents the absorbance, fluorescence and calculated fluorescence quantum yield of DOX and CP + DOX before and after ZnO adsorption. The absorbance and fluorescence peaks of drug-loaded ZnO nanoparticles were centred around 485 and 594 nm, respectively. Similar to CP + DOX, the absorbance of DOX was reduced after ZnO adsorption because of the poor absorption of incident

photon energy by DOX–ZnO complexes present in the ground state getting excited to the excited state. The integrated absorption and fluorescence intensities obtained by absorbance and fluorescence spectra at a reaction time of 0 min were used to understand the fluorescence quantum yield and are summarized in Table 3. The fluorescence quantum yield of native CP was undetectable because it is a non-fluorescent substance. The fluorescence quantum yield of DOX was quenched and was further quenched after ZnO adsorption, whereas the fluorescence quantum yield of DOX + CP was observed and was further enhanced after ZnO adsorption. The fluorescence quantum yield of CP + DOX + ZnO (0.860) was the highest.

### Cytotoxicity data

Based on the reaction kinetics shown in Table 3, the nine formulated chemo drugs were classified into two groups. Group 1 belongs to intermediate reaction kinetics, indicating that the equilibrium of adsorption efficiency is considerably fast (CP, CP + ZnO, DOX, DOX + ZnO and CP + DOX). Group 2 belongs to slow reaction kinetics, showing that the equilibrium of adsorption efficiency is longer than that of group 1 (CP + DOX + ZnO, CP + ZnO + UV, DOX + ZnO + UV and CP + DOX + ZnO + UV). Among group 2, CP + DOX + ZnO + UV was found to be suitable for targeted chemo drug delivery purposes because the number of reduced DPPH\* was the highest (135.135).

Although the loading capacity of CP + DOX + ZnO + UV of 77.81% indicates the saturation of immobilized drugs in cancer cells, the high loading efficiency of 99.05% confirms that the required drug dosage needed to reach the targeted tumour site is successfully achieved (Table 2). In addition, the drug release rate of this formulated chemo drug under different binding ratios under the acidic intracellular environment (pH = 6.0) is approximately 80% (Table 4). Thus, ZnO is possibly directed to the tumour site and can selectively release the chemo drugs under the acidic microenvironment of the tumour tissue.



**Figure 2.** TEM images of the formulated chemo drugs: (a) ZnO, (b) DOX + ZnO, (c) CP + ZnO and (d) CP + DOX + ZnO. CP: carboplatin; DOX: doxorubicin; ZnO: zinc oxide nanoparticles.

Integrated absorption intensities and disappearance of DPPH\* from each chemo drug with respect to the reaction times are shown in Figures 5–7. The reaction times were 0–720 min, and the molar ratio of ZnO to the chemo drug was 5:1. Disappearance of the DPPH\* peak with respect to the peak of the drug–DPPH\* interaction was therefore used to determine the inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) of each chemo drug, as shown in Figure 8.  $IC_{50}$  of DPPH\* from each chemo drug conforms to  $IC_{50}$  of human cancer cell lines from each chemo drug as shown in Table 5. Although CP + DOX + ZnO + UV is not sensitive to the human normal cell line (HaCat), it showed a significant decrease in cellular antitumor levels, which increased its synergistic cytotoxicity

for all human cancer cell lines, especially for MCF-7. The  $IC_{50}$  value of released CP + DOX + ZnO was 0.208  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , which was improved to 0.137  $\mu\text{g}/\text{mL}$  after UV exposure in the MCF-7 cell lines. The  $IC_{50}$  value of free DOX as a control group was 1.528  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The  $IC_{50}$  value of CP + DOX + ZnO + UV decreased by approximately 1.5 and 11.1 folds in comparison to those of CP + DOX + ZnO and free DOX, respectively. These data indicate that CP + DOX + ZnO + UV is efficiently released and internalized more than CP + DOX + ZnO, conforming to the high reduction in DPPH\* shown in Table 3.

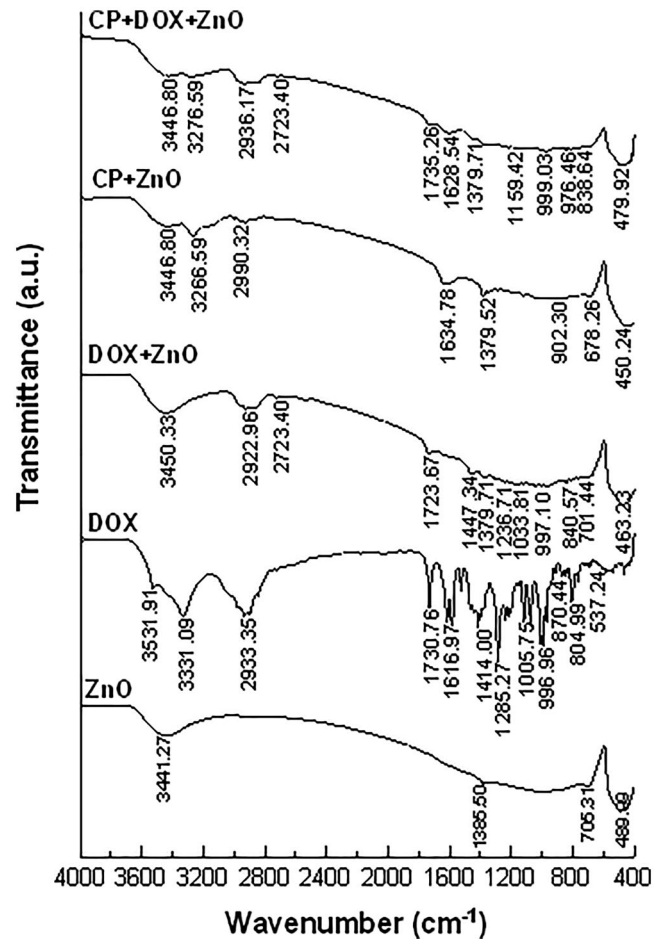
Different human cell lines have different sensitivities to each formulated chemo drug depending on the differentiation level and structural differences of cell lines. Phase

**Table 3.** Quantities of chemo drug in DPPH\*.

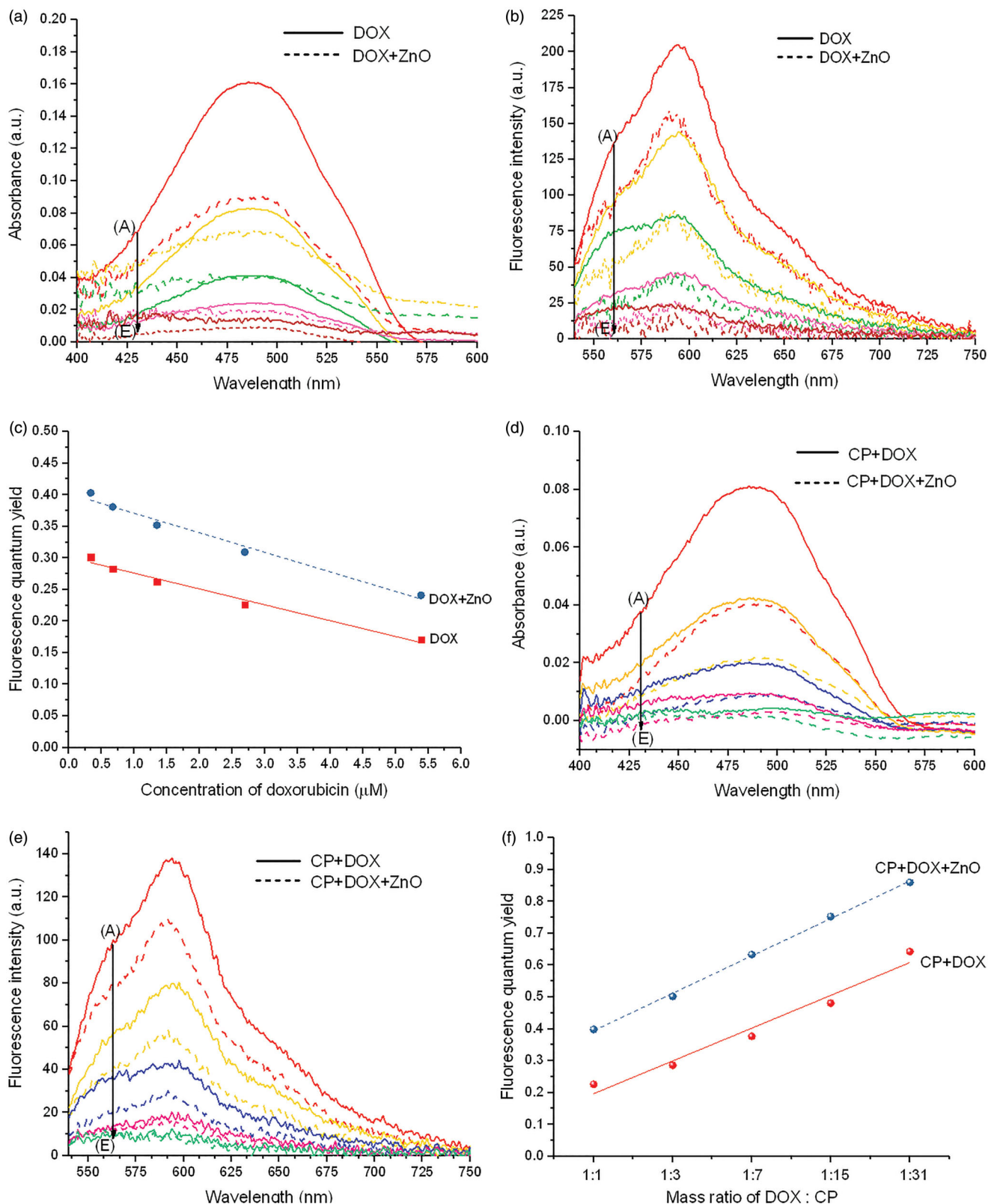
Chemo drug formulation	Reaction kinetics	IC <sub>50</sub> (mole drug/ mole DPPH*)	Number of reduced DPPH*	Zeta potential (mV)	Zeta average (nm)	Fluorescence quantum yield
ZnO	Intermediate	0.0765	6.536	35.9667	48.133	—
CP	Intermediate	0.0817	6.120	—	—	—
CP + ZnO	Intermediate	0.0644	7.764	17.3667	68.600	—
DOX	Intermediate	0.0516	9.689	—	—	0.170–0.302
DOX + ZnO	Intermediate	0.0254	19.685	21.8667	73.967	0.241–0.403
CP + DOX	Intermediate	0.0447	11.185	—	—	0.226–0.642
CP + DOX + ZnO	Slow	0.0052	96.153	24.4333	81.600	0.399–0.860
CP + ZnO + UV	Slow	0.0184	27.173	—	—	—
DOX + ZnO + UV	Slow	0.0127	39.370	—	—	—
CP + DOX + ZnO + UV	Slow	0.0037	135.135	—	—	—

CP: carboplatin; DOX: doxorubicin; ZnO: zinc oxide nanoparticles; IC<sub>50</sub>: inhibitory concentration at 50% inhibition.

Number of reduced DPPH\* was calculated by the inverse value of inhibitory concentration multiplied by 0.5 ( $p < .05$ ).

**Figure 3.** FTIR spectra of the formulated chemo drugs before UV-irradiation on DPPH\*.

contrast and fluorescence images of human cell lines cultured in the absence and presence of CP + DOX + ZnO + UV after 24 h incubation are displayed in Figures 9 and 10. Figure 11 confirms the mean fluorescent intensity (MFI) with corresponding cellular apoptosis, which was obtained using flow cytometry analysis. A significant number of ZnO transported into the cells [21] emits intense intrinsic fluorescence caused by DOX to track the live cells [4], whereas CP enhances the response of oxidizers under UV exposition [22]. The cytoplasm of the live cells was therefore visualized in red. Human normal cell lines (HaCat) mostly remain viable after 24 h incubation because no specific cancer-cell targeting motifs are functionalized with ZnO and cell viability is possibly caused by the excessive production of reactive oxygen species (Figure 9). The cell viability of HaCat treated by CP + DOX + ZnO + UV was 88.11% (Table 5), indicating that the formulated chemo drug could be used for targeted chemo drug delivery. As UV-light penetration is weak *in vivo*, UV-induced cell inhibition was analysed as a control; although 400 nm UV light does not easily cause DNA/RNA damage because of the low photon energy, long UV exposure times may cause slight DNA/RNA damage. Thus, the cytotoxicity of all cell lines under UV irradiation was approximately 8.20%. Therefore, the photochemical destruction of drugs under UV light in CP + DOX + ZnO was approximately 3.69%.



**Figure 4.** (a) Absorbance, (b) fluorescence and (c) fluorescence quantum yield of DOX, before and after ZnO adsorption at a reaction time of 0 min. A, B, C, D and E represent 5.39, 2.69, 1.35, 0.67 and 0.34  $\mu\text{M}$  of DOX, respectively. (d) Absorbance, (e) fluorescence and (f) fluorescence quantum yield of CP + DOX, before and after ZnO adsorption at a reaction time of 0 min. Notably, DOX or CP + DOX remained in the supernatant after facilitating adsorption to the drug-loaded nanoparticle complexes. Absorbance and fluorescence peaks are centred at 485 and 594 nm, respectively. See Ref. [24] for detailed equations of fluorescence quantum yield.

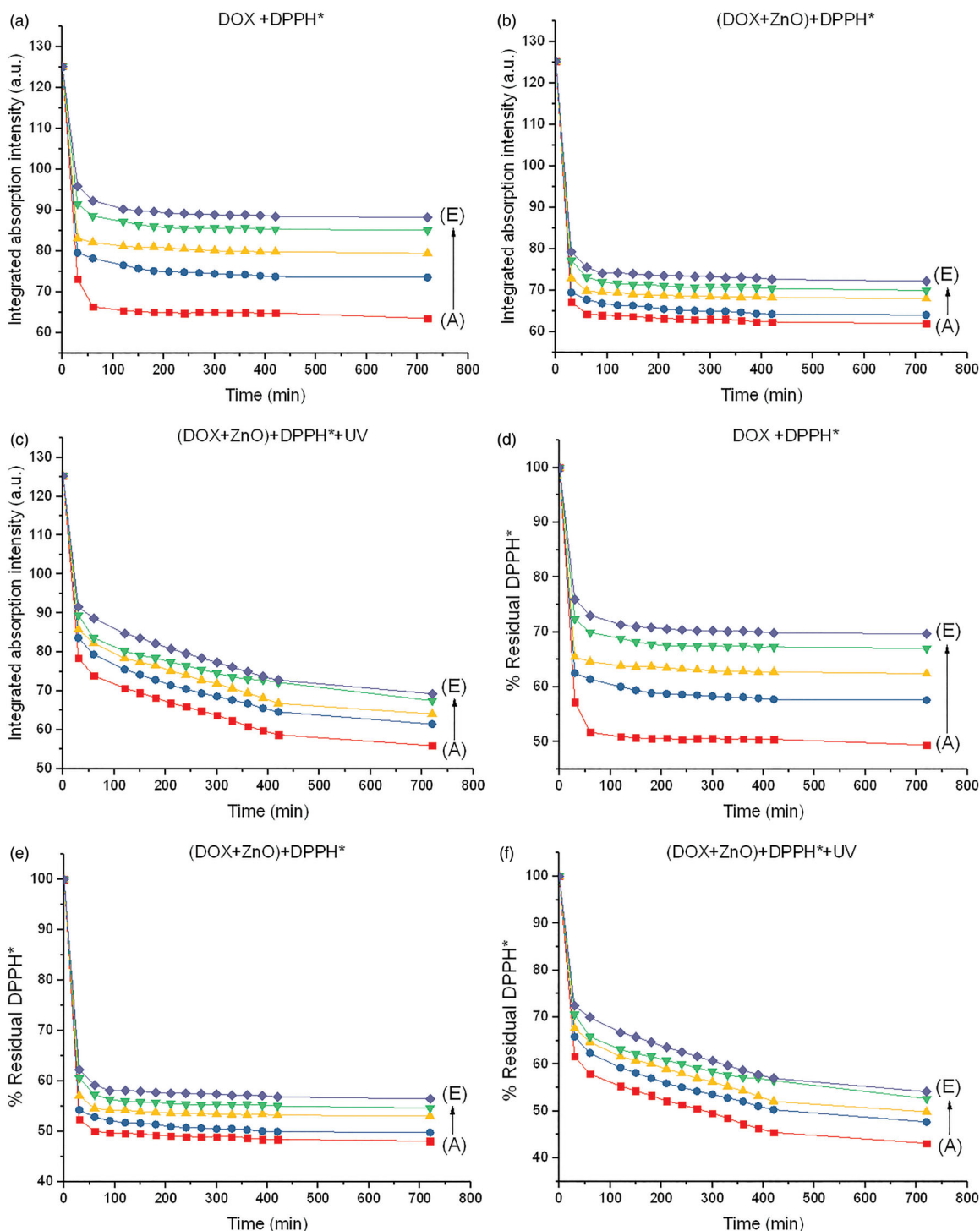
Among human cancer cell lines, MCF-7 is remarkably sensitive to CP + DOX + ZnO + UV after 24 h incubation; the fluorescence image showed few live cells, indicating the highest cytotoxicity using MFI data along with the smallest

dosage ( $\text{IC}_{50}$  CP-DOX-ZnO = 0.137  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). The chemo drugs released from CP + DOX + ZnO + UV through slow kinetics gradually kill the cells (Figure 10). As the intercalating anti-tumor agent, it has to be in the target cells effectively. The red

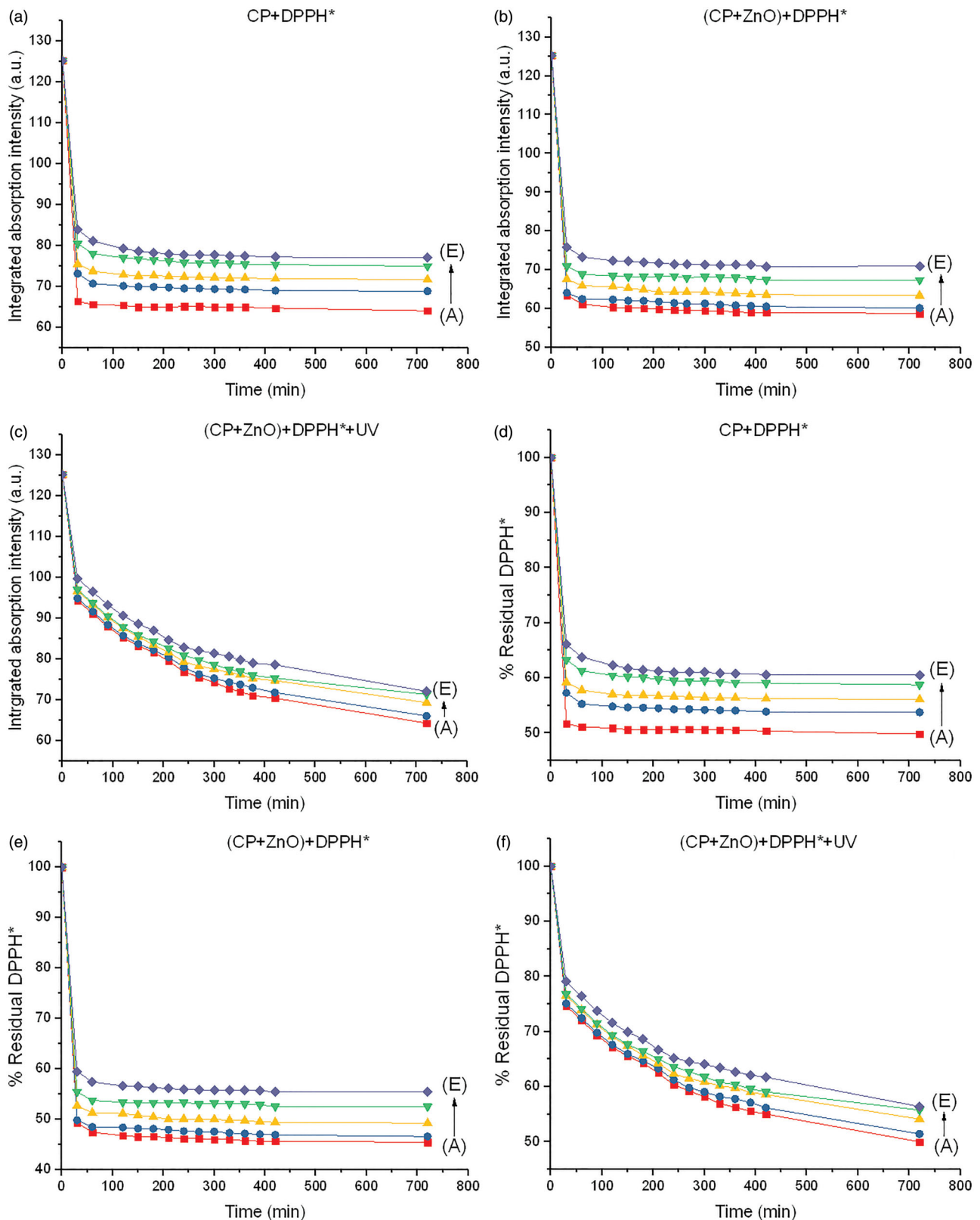
**Table 4.** Representative drug release rate of CP + DOX + ZnO + UV under different binding ratios (pH = 6.0).

Binding ratio of CP:DOX = CP:1	% Drug release rate at different time intervals (min)						
	10	30	60	90	180	360	720
1	20.15	29.41	45.2	58.76	68.94	78.15	80.18
3	22.08	35.05	49.98	64.20	71.98	78.48	80.05
7	30.05	41.22	54.81	68.94	74.52	78.01	80.01
15	36.25	48.82	64.32	74.94	77.64	79.55	80.06
31	41.02	52.70	68.48	78.19	79.89	80.06	80.12

CP: carboplatin; DOX: doxorubicin.

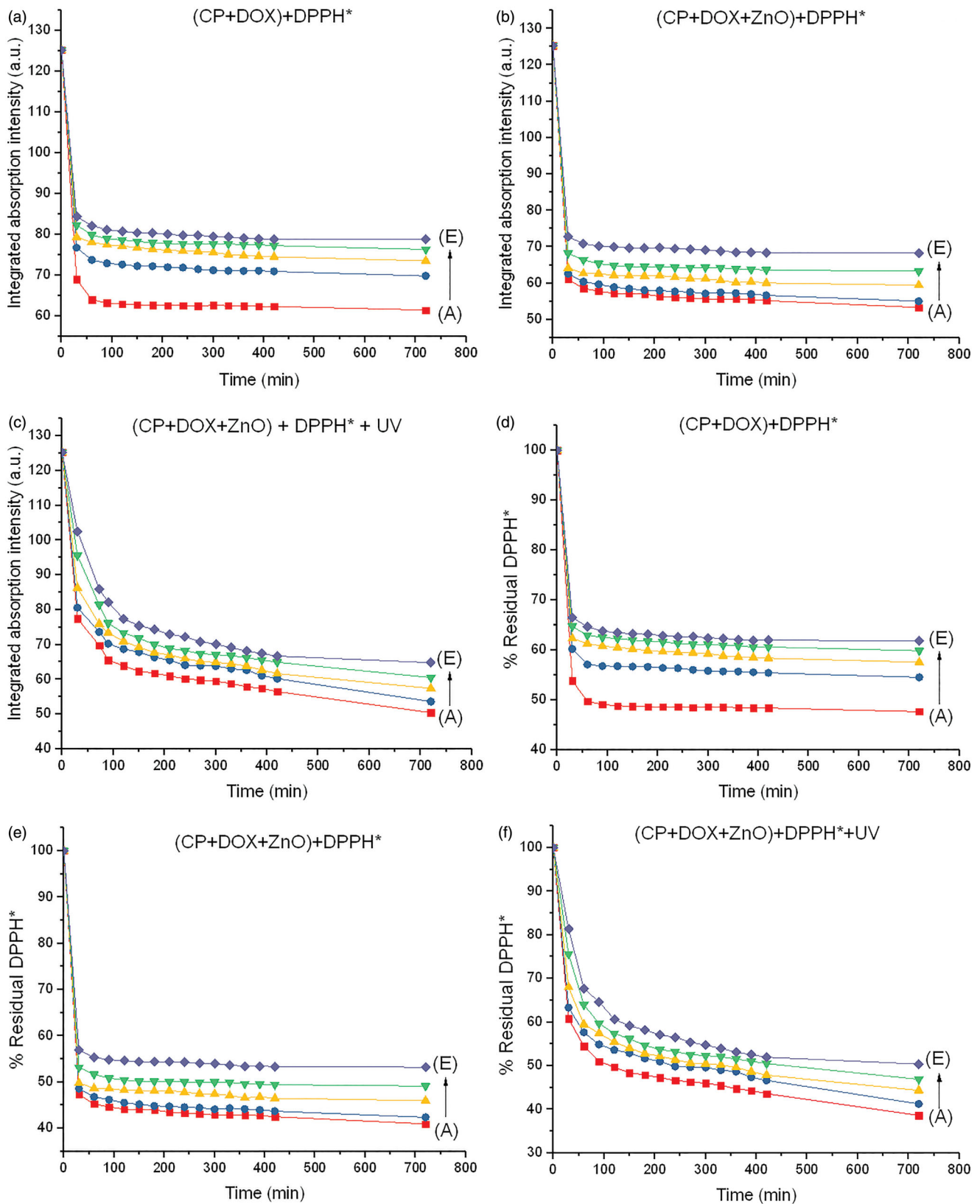
**Figure 5.** Integrated absorption intensities of DPPH\* caused by (a) DOX, (b) DOX + ZnO and (c) DOX + ZnO + UV as a function of reaction time from 0 to 720 min at different concentrations of DOX. Disappearance of DPPH\* caused by (d) DOX, (e) DOX + ZnO and (f) DOX + ZnO + UV as a function of reaction time from 0 to 720 min at different concentrations of DOX. Molar ratio of ZnO to DOX is 5:1. A, B, C, D and E represent 5.39, 2.69, 1.35, 0.67 and 0.34  $\mu\text{M}$  of DOX, respectively.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร



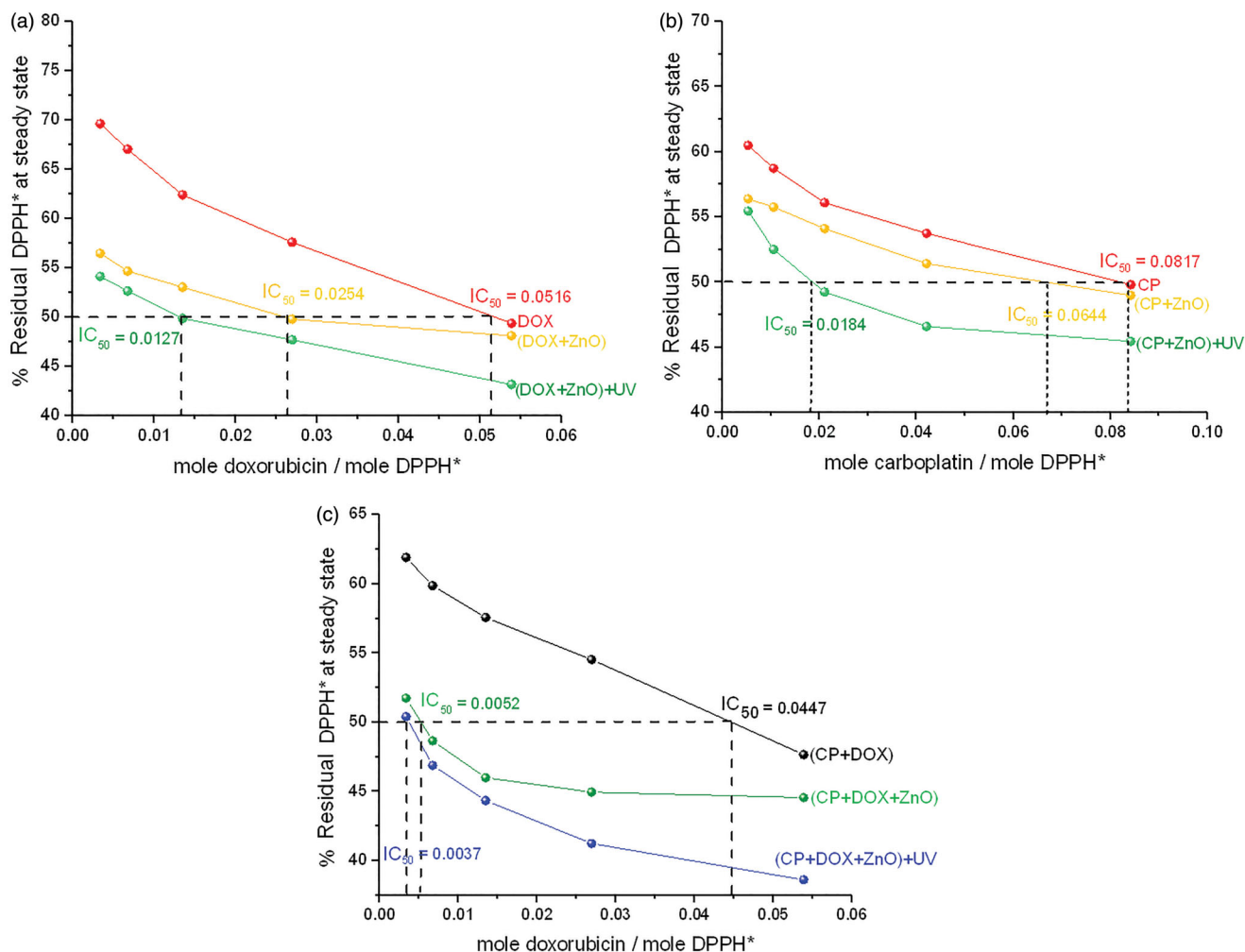
**Figure 6.** Integrated absorption intensities of DPPH\* caused by (a) CP, (b) CP + ZnO and (c) CP + ZnO + UV as a function of reaction time from 0 to 720 min at different concentrations of CP. Disappearance of DPPH\* caused by (d) CP, (e) CP + ZnO and (f) CP + ZnO + UV as a function of reaction time from 0 to 720 min at different concentrations of CP. Molar ratio of ZnO to CP is 5:1. A, B, C, D and E represent 16.31, 15.78, 14.73, 12.63 and 8.42  $\mu\text{M}$  of CP, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**Figure 7.** Integrated absorption intensities of DPPH\* caused by (a) CP + DOX, (b) CP + DOX + ZnO and (c) CP + DOX + ZnO + UV as a function of reaction time from 0 to 720 min at different ratios of CP and DOX. Disappearance of DPPH\* caused by (d) CP + DOX, (e) CP + DOX + ZnO and (f) CP + DOX + ZnO + UV as a function of reaction time from 0 to 720 min at different ratios of DOX and CP. Molar ratio of ZnO to (CP + DOX) is 5:1. A, B, C, D and E represent CP:DOX = 1:1, 3:1, 7:1, 15:1 and 31:1, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**Figure 8.** Disappearance of DPPH\* at a steady state with respect to drug-DPPH\*. (a) Molar ratio of ZnO to DOX is 5:1. (b) Molar ratio of ZnO to CP is 5:1. (c) Molar ratio of ZnO to (CP + DOX) is 5:1.  $IC_{50}$  value of each formulated chemo drug is also presented.

**Table 5.** Comparative cytotoxicity of chemo drug in DPPH\* in comparison to human cancer cell lines from triplicate experiments,  $p < .05$  using ANOVA followed by the Bonferroni *post hoc* test.

Chemo drug formulation	DPPH*	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )					Cell viability (%) HaCat
		HT-29	KB	MCF-7	HeLa	HepG-2	
UV (% cytotoxicity)	–	– (7.175)	– (8.982)	– (8.984)	– (7.011)	– (7.899)	91.73 (8.20)
ZnO	2.515	1.979	2.014	2.002	2.349	2.025	71.25
CP	2.410	1.924	2.019	1.975	2.311	1.950	70.05
CP + ZnO	2.390	1.828	1.963	1.944	2.162	1.885	71.84
DOX	1.895	1.594	1.661	1.528	1.484	1.375	71.55
DOX + ZnO	1.473	1.173	1.361	1.210	1.140	1.364	71.05
CP + DOX	1.278	1.065	1.258	1.111	1.075	1.129	71.05
CP + DOX + ZnO	0.301	0.241	0.224	0.208	0.221	0.209	71.06
CP + ZnO + UV	0.683	0.590	0.551	0.390	0.492	0.456	83.77
DOX + ZnO + UV	0.736	0.749	0.650	0.516	0.619	0.594	84.08
CP + DOX + ZnO + UV	0.214	0.173	0.150	0.137	0.144	0.140	88.11

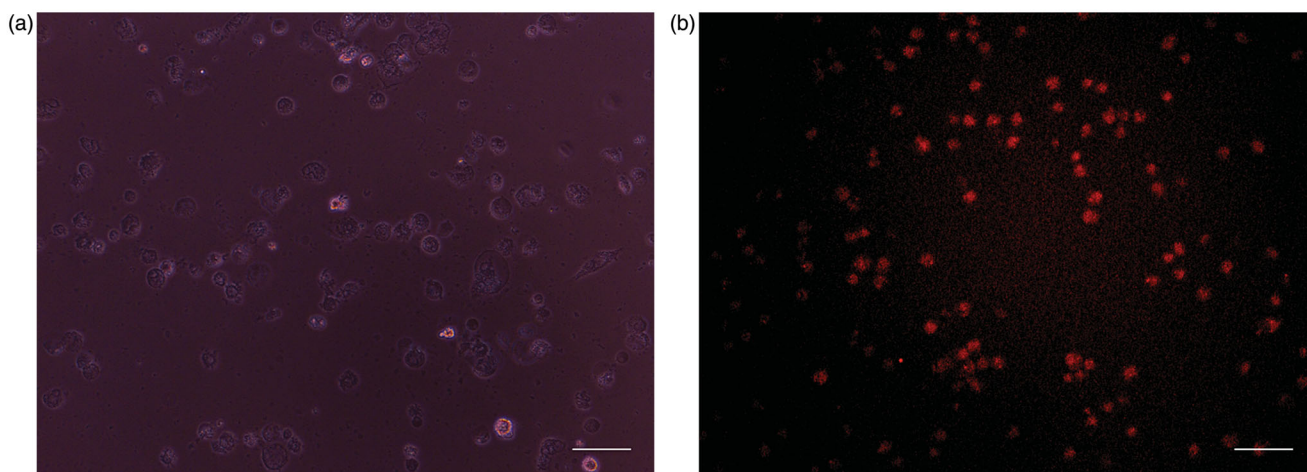
HT-29: human colon adenocarcinoma; KB: human oral cavity carcinoma; MCF-7: human breast adenocarcinoma; HeLa: human cervical adenocarcinoma; HepG-2: human hepatocarcinoma.

Human keratinocyte immortal cells (HaCat) is the normal human cell line.

fluorescence in images derived from DOX was strong after 24 h incubation, which allowing the tracking of live cells. Furthermore, the  $IC_{50}$  value of CP-DOX-ZnO was 0.137  $\mu\text{g/mL}$  in the MCF-7 cell line, which is lower than that numbers reported in previous studies, especially when two chemo drugs are loaded with the help of nanocarriers. Galam et al.

showed that CP-loaded silk fibroin particles had an  $IC_{50}$  of 10–200  $\mu\text{g/mL}$  in MCF-7 cells [2]. Ouyang et al. reported that DOX-loaded pectin nanoparticles had an  $IC_{50}$  of 1–5  $\mu\text{g/mL}$  in MCF-7 cells [3]. Locharoenrat showed that DOX-loaded nanodiamond exhibited an  $IC_{50}$  of 0.4  $\text{mg/mL}$  in MCF-7 cells [4].

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**Figure 9.** (a) Phase contrast images of human normal cell lines (HaCat) after incubation for 24 h under UV light. (b) Fluorescence image of human normal cell lines (HaCat) after incubation for 24 h in the presence of CP + DOX + ZnO + UV. Cytoplasm of live cells is shown in red. Scale bar indicates 50  $\mu\text{m}$ .

## Discussion

### Surface characterization

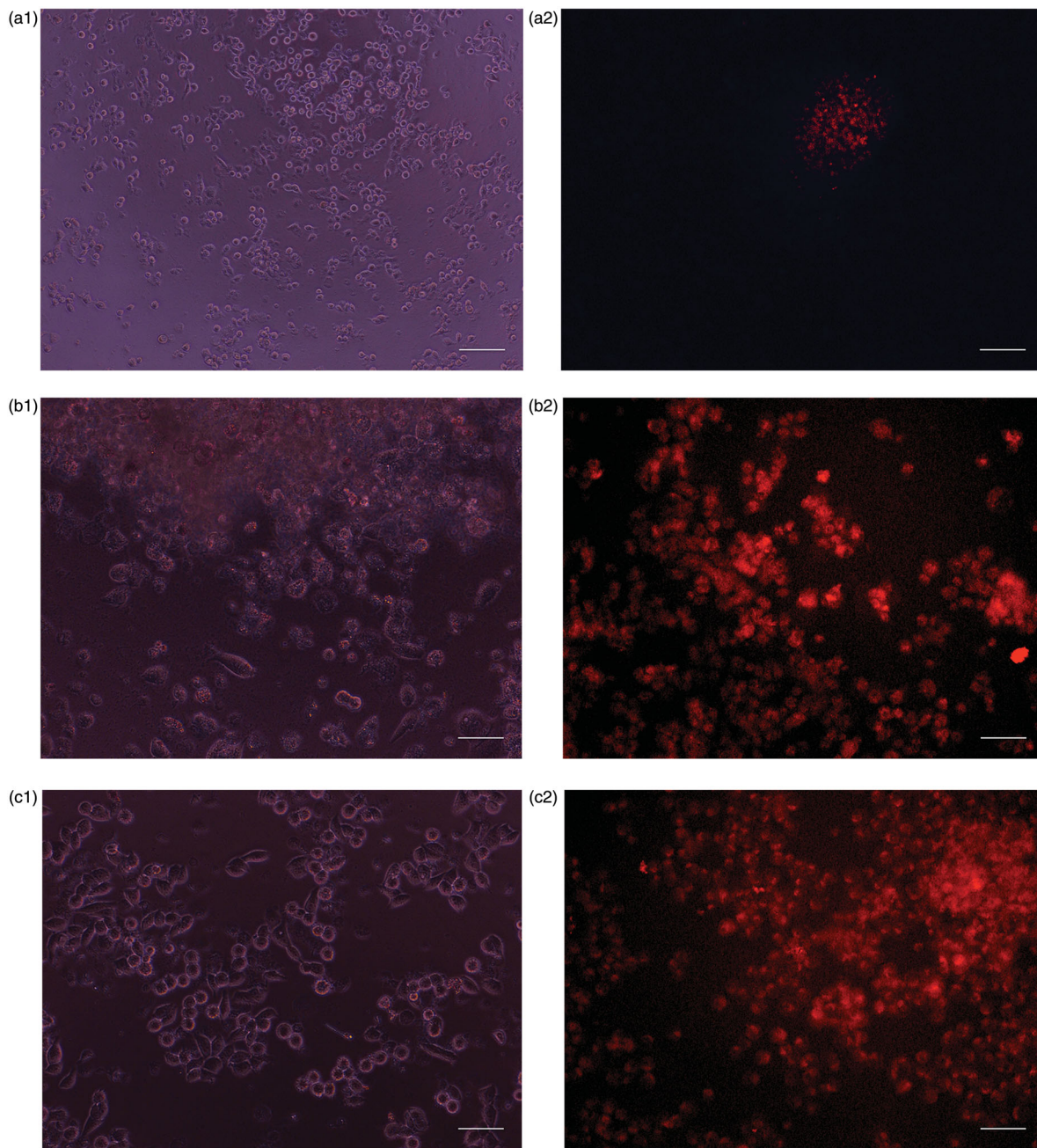
CP tends to enhance the binding ratio of CP:DOX because of the large amount of surface area available and the large number of free adsorption sites provided by DOX molecules and ZnO nanoparticles. The stronger binding sites are occupied first, and the binding strength decreases as more sites are occupied. With further increase in CP dosage, the adsorption efficiency including loading capacity would not increase significantly because both the surface of ZnO and chemo drug concentration settle to equilibrium. Drug-loaded ZnO with a mean diameter of 69–82 nm is finally obtained, and this value cannot be further increased. Spherical and cylindrical particles exhibit the highest cellular uptake in terms of weight and quantity, respectively. These particles are acceptable for systematic circulation of intravenous chemotherapy (50–300 nm) [30].

FTIR spectra of the formulated chemo drugs were divided into three major fractions in terms of the compositions of drugs: ZnO structure ( $400\text{--}500\text{ cm}^{-1}$ ) [26,27], CP structure ( $1379\text{ cm}^{-1}$ ) and DOX structure ( $1730\text{ cm}^{-1}$ ). The FTIR spectra of CP–DOX–ZnO complexes were slightly shifted because of effect of ester linkage between chemo drugs and ZnO nanoparticles. These unique spectral peaks confirm that the hydrophilic molecules of chemo drugs are successfully adsorbed onto the ZnO surface. FTIR analyses further confirmed that the loading capacity of chemo drug does not cause any alterations in the crystalline nature of the ZnO nanocarrier with respect to vibration frequencies. The broad peak at 3331–3441 (O–H) can be attributed to the migration of the chemo drug to the periphery of ZnO along with water molecules and atmospheric moisture [26].

### Intracellular uptake

The *in vitro* cellular uptake of CP + DOX + ZnO + UV by human breast adenocarcinoma cell line MCF-7 was significantly enhanced, which effectively triggered the apoptotic activity in comparison to loading a single drug. The strongest

efficiency of suppressing tumour growth through the abundant accumulation of this antitumor agent was caused because of the following reasons. One, the cell killing effect by native ZnO nanoparticles is not caused by the toxicity of ZnO, which conforms with the results reported in previous studies [21,22]. Two, DOX, as a cell proliferation and apoptotic marker, provides specific recognition fluorescence signals. The phenomenon is attributed to the fact that DOX emits a strong red fluorescence signal, even at low concentrations, and reduces the usage of staining solution required for *in vitro* and *in vivo* applications. Furthermore, a DOX dosage of 0.1953  $\mu\text{g/mL}$  in this study is safe for treatment of cardiomyopathy. The incidence rate of cardiomyopathy is no later than 4% when patients are treated with a DOX dosage of 49.11–307.70  $\text{mg/m}^2$  [31]. Three, because of the particle size of the formulated chemo drug (69–82 nm), ZnO nanoparticles carrying chemo drugs are taken up by cell membrane surface of the target cells via endocytosis, followed by release of the free chemo drug molecules into the cell cytoplasm under a low pH environment and under UV irradiation, as confirmed by the research group of Meshkini [32,33], who claimed that methotrexate-loaded ZnO–Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> complexes under UV light irradiation improved MCF-7 cellular apoptosis as compared to free methotrexate and UV alone without affecting normal cells. DOX-loaded ZnO-hydroxyapatite complexes enhanced the MCF-7 cellular death as compared to free DOX and UV alone. Four, a band gap containing the semiconductor (ZnO) could create electron–hole pairs under UV irradiation, as confirmed by numerous research groups previously [34–37]. The electrons are generated in the conduction band, whereas holes are generated in the valence band. Some of these charge carriers spread to the crystal surfaces of ZnO and react with the adsorbed water molecules to generate reactive oxygen species, which act as toxic-peroxidative substances and are responsible for inducing ss radical damage and subsequently destructing the N–H bonds in the nuclei. Five, the growth signal of target cancer cells is eventually inhibited by the passive diffusion of the chemo drug into the nucleus. Thus, this combination chemotherapy depresses the proliferation level of cancer cells, resulting in cell death. Due to the excellent antioxidant and cytotoxic



**Figure 10.** (a1) Phase contrast image of human breast adenocarcinoma (MCF-7) cells after incubation for 24 h under UV light. (a2) Fluorescence images of human breast adenocarcinoma (MCF-7) cells after incubation for 24 h in the presence of CP + DOX + ZnO + UV. (b1) Phase contrast images of human hepatocarcinoma (HepG-2) cells after incubation at 24 h under UV light. (b2) Fluorescence images of human hepatocarcinoma (HepG-2) after incubation at 24 h in the presence of CP + DOX + ZnO + UV. (c1) Phase contrast images of human cervical adenocarcinoma (HeLa) cells after incubation for 24 h under UV light. (c2) Fluorescence images of human cervical adenocarcinoma (HeLa) after incubation for 24 h in the presence of CP + DOX + ZnO + UV. (d1) Phase contrast images of human oral cavity carcinoma (KB) cells after incubation for 24 h under UV light. (d2) Fluorescence images of human oral cavity carcinoma (KB) after incubation for 24 h in the presence of CP + DOX + ZnO + UV. (e1) Phase contrast images of human colon adenocarcinoma (HT-29) cells after incubation for 24 h under UV light. (e2) Fluorescence images of human colon adenocarcinoma (HT-29) cells after incubation for 24 h in the presence of CP + DOX + ZnO + UV. Cytoplasm of the live cells is visualized in red. Scale bar indicates 50  $\mu$ m.

properties of CP + DOX + ZnO against human tumours under UV light, this nanoparticle-mediated delivery regime of chemo drugs is a good candidate for effective treatment of human breast adenocarcinoma (MCF-7).

## Conclusions

In this study, we reported the preparation of drug-loaded ZnO nanoparticles and its enhanced anticancer activity by UV

light irradiation in five human cancer cell lines – human colon adenocarcinoma (HT-29), human oral cavity carcinoma (KB), human cervical adenocarcinoma (HeLa), human breast adenocarcinoma (MCF-7) and human hepatocarcinoma (HepG-2). The size of drug-loaded ZnO increased significantly because of physical adsorption through non-covalent interaction between the chemo drugs and ZnO. TEM images indicated the mean size of the blank ZnO increased from 48 to 69–82 nm after two-drug adsorption onto ZnO. For detection

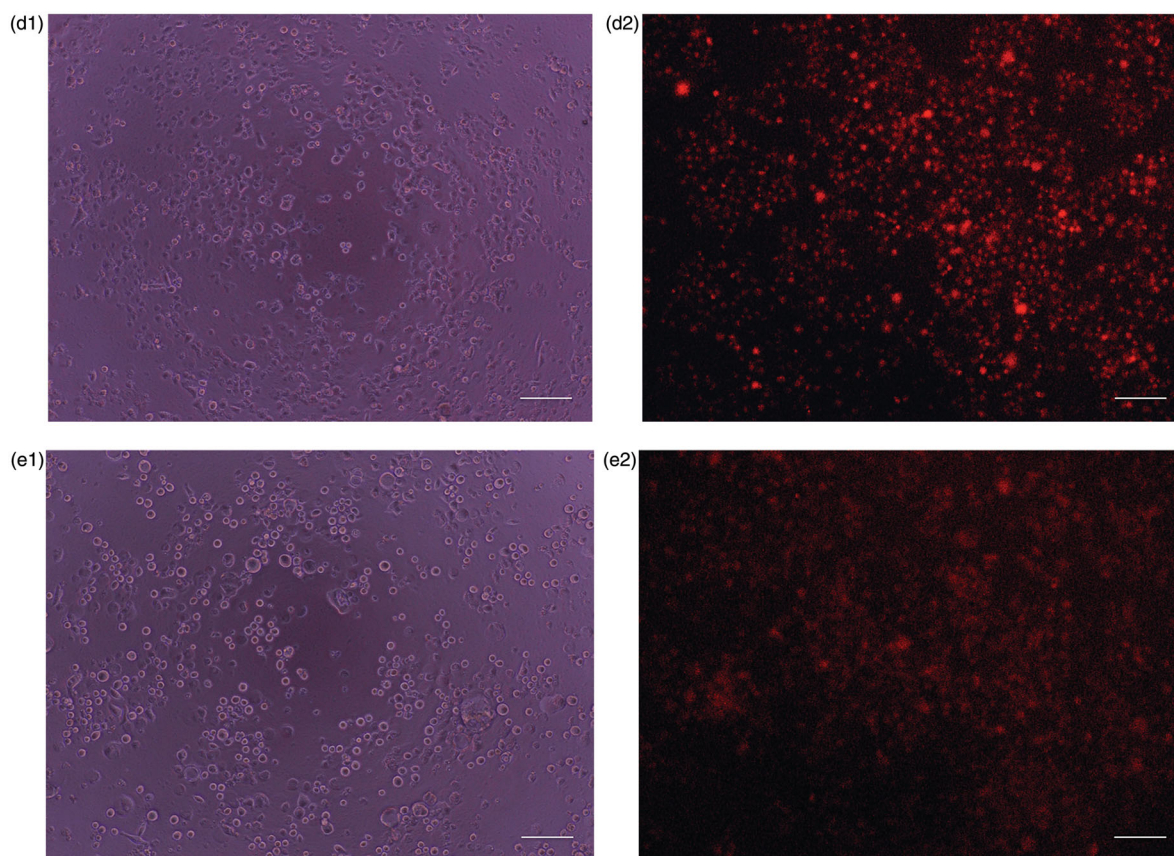


Figure 10. Continued

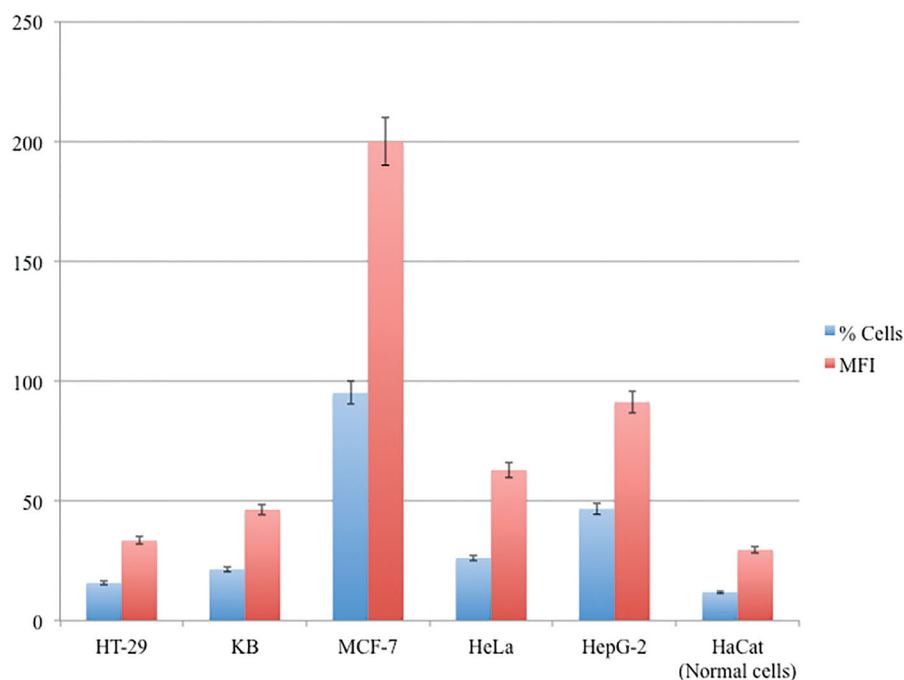


Figure 11. Representative median fluorescence intensity (MFI) and the percentages of cellular apoptosis treated by CP + DOX + ZnO + UV from three independent experiments analysed by flow cytometry,  $p < .05$  using ANOVA followed by the Bonferroni *post hoc* test.

of cell membrane potential and quantification of cell proliferation and apoptosis incidences, nine formulated chemo drugs on the human cancer cell lines were performed after the cell lines were treated for 24 h incubation determined by MTT assay. Among the nine formulated chemo drugs,

CP-DOX-ZnO complexes under UV light showed a remarkably enhanced accumulation in human breast adenocarcinoma (MCF-7) and had a superior cancer inhibitory activity (IC<sub>50</sub> of CP-DOX-ZnO = 0.137  $\mu$ g/mL). Based on UV-vis studies, CP-DOX-ZnO loading capacity was 77.81%, which was

confirmed by FTIR spectra. The loading efficiency of CP–DOX–ZnO was 99.05%, thereby confirming that the required drug dosage needed to reach the targeted tumour site was successfully achieved. Cellular uptake of chemo drugs from ZnO nanoparticles was confirmed by fluorescence measurements. This finding suggested that CP–DOX–ZnO complexes under UV light irradiation exhibited excellent chemo drug delivery efficiency to the target sites to attenuate oxidative stress activity in human breast adenocarcinoma (MCF-7).

## Disclosure statement

The authors declare that they have no conflicts of interest.

## Funding

This research was funded by King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand under grant No. [KREF046206].

## ORCID

Kitsakorn Locharoenrat  <http://orcid.org/0000-0001-9406-0941>

## Data availability statement

All data and material used to support the findings of this study are included within the article.

## References

- [1] Smith SJ, Pulido JS, Salomão DR, et al. Combined intravitreal and subconjunctival carboplatin for retinoblastoma with vitreous seeds. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(8):1073–1077.
- [2] Galam N, Tulay P, Adali T. In vitro MCF-7 cells apoptosis analysis of carboplatin loaded silk fibroin particles. *Molecules*. 2020;25(5):1110.
- [3] Ouyang J, Yang M, Gong T, et al. Doxorubicin-loading core-shell pectin nanocell: a novel nanovehicle for anticancer agent delivery with multidrug resistance reversal. *PLoS One*. 2020;15(6):e0535090.
- [4] Locharoenrat K. Efficacy of nanodiamond–doxorubicin complexes on human breast adenocarcinoma cell lines. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2019;47(1):4053–4058.
- [5] Xia Y, Tang G, Wang C, et al. Functionalized selenium nanoparticles for targeted siRNA delivery silence Derlin1 and promote antitumor efficacy against cervical cancer. *Drug Deliv*. 2020;27(1):15–25.
- [6] Xia Y, Tang G, Guo M, et al. Silencing KLK12 expression via RGDFC-decorated selenium nanoparticles for the treatment of colorectal cancer in vitro and in vivo. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020;110:110594.
- [7] Xia Y, Zhong J, Zhao M, et al. Galactose-modified selenium nanoparticles for targeted delivery of doxorubicin to hepatocellular carcinoma. *Drug Deliv*. 2019;26(1):1–11.
- [8] Xia Y, Xiao M, Zhao M, et al. Doxorubicin-loaded functionalized selenium nanoparticles for enhanced antitumor efficacy in cervical carcinoma therapy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020;106:110100.
- [9] Vu M, Kassouf N, Ofili R, et al. Doxorubicin selectively induce apoptosis through the inhibition of a novel isoform of Bcl-2 in acute myeloid leukaemia MOLM-13 cells with reduced Beclin 1 expression. *Int J Oncol*. 2020;57(1):113–121.
- [10] Malky HS, Damanhoury ZA, Al-Aama JY, et al. Cytotoxicity and cellular uptake in human breast cancer cells. *Breast Cancer Manag*. 2019;8(4):BMT31.
- [11] Christowitz C, Davis T, Isaacs A, et al. Mechanisms of doxorubicin-induced drug resistance and drug resistant tumour growth in a murine breast tumour model. *BMC Cancer*. 2019;19(1):757.
- [12] Al-Harthy SE, Al-Motairi MS, Al-Kreathy HM, et al. Enhancement of doxorubicin cytotoxicity by verapamil in human breast cancer cells. *J Pharm Res Int*. 2019;27(6):1–10.
- [13] Matcovschii V, Lisii D, Gudumac V, et al. Selective interstitial doxorubicin for recurrent glioblastoma. *Clin Case Rep*. 2019;7(12):2520–2525.
- [14] Allen CM, Lopes F, Mitchell RT, et al. Comparative gonadotoxicity of the chemotherapy drugs cisplatin and carboplatin on prepubertal mouse gonads. *Mol Hum Reprod*. 2020;26(3):129–140.
- [15] Kuittinen T, Rovio P, Luukkaala T, et al. Paclitaxel, carboplatin and 1,25-D3 inhibit proliferation of ovarian cancer cells in vitro. *Anticancer Res*. 2020;40(6):3129–3138.
- [16] Corn PG, Heath EI, Zurita A, et al. Cabazitaxel plus carboplatin for the treatment of men with metastatic castration-resistant prostate cancers: a randomised, open-label, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol*. 2019;20(10):1432–1433.
- [17] Lopes F, Liu J, Morgan S, et al. Single and combined effects of cisplatin and doxorubicin on the human and mouse ovary in vitro. *Reproduction*. 2020;159(2):193–204.
- [18] Yu DS, Yan HY, Wu CL, et al. Comparison of therapeutic efficacy of lipo-doxorubicin and doxorubicin in treating bladder cancer. *Urol Sci*. 2017;28(4):200–205.
- [19] Eroglu O, Kaya H, Celik EG, et al. Triple effect of doxorubicin, 5-fluorouracil, propranolol on cell survival on MCF-7 breast cancer cell line. *J Biosci Med*. 2019;7(2):74–85.
- [20] Escobar-Resendiz R, Reyes-Esparza J, Blake IO, et al. Evaluation of antitumoral effect of the combination of L-histidine methyl ester hydrochloride of amphotericin B with antineoplastics on A549 cells. *FASEB J*. 2020;34(S1):1.
- [21] Mohammad GRKS, Tabrizi MH, Ardalani T, et al. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles and evaluation of anti-angiogenesis, anti-inflammatory and cytotoxicity properties. *J Biosci*. 2019;44(2):30.
- [22] Pairoj S, Damrongsak P, Damrongsak B, et al. Antiradical properties of chemo drug, carboplatin, in cooperation with ZnO nanoparticles under UV irradiation in putative model of cancer cells. *Biocyber Biomed Eng*. 2019;39(3):893–901.
- [23] Locharoenrat K, Srivatcharakul S. Optical studies of zinc oxide nanoparticles and their biomedical application. *Chin J Phys*. 2015;53(4):80901.
- [24] Locharoenrat K. *Linear and nonlinear optics: materials, properties, and applications*. Singapore: Jenny Stanford; 2020.
- [25] Asadpour S, Kargozar S, Moradi L, et al. Natural biomacromolecule based composite scaffolds from silk fibroin, gelatin and chitosan toward tissue engineering applications. *Int J Biol Macromol*. 2020;154:1285–1294.
- [26] Ganganagappa N, Udayabhanua, Patil S, et al. Electrochemical heavy metal detection, photocatalytic, photoluminescence, biodiesel production and antibacterial activities of Ag–ZnO nanomaterial. *Mater Res Bull*. 2017;94:54–63.
- [27] Nosrati H, Khodaei M, Dehkordi MB, et al. Preparation and characterization of poly(ethylene oxide)/zinc oxide nanofibrous scaffold for chronic wound healing applications. *Polim Med*. 2020;50(1):41–51.
- [28] Danmaigoro A, Selvarajah GT, Noor MHM, et al. Development of cockleshell (*Anadara granosa*) derived CaCO<sub>3</sub> nanoparticle for doxorubicin delivery. *J Comput Theor Nanosci*. 2017;14(10):5074–5086.
- [29] Iliescu RI, Andronescu E, Ghitulica CD, et al. Montmorillonite–alginate nanocomposite beads as drug carrier for oral administration of carboplatin – preparation and characterization. *UPB Sci Bull B*. 2011;73(3):3–16.
- [30] Hoshyar N, Gray S, Han H, et al. The effect of nanoparticle size on *in vivo* pharmacokinetics and cellular interaction. *Nanomedicine*. 2016;11(6):673–692.

- [31] Harahap Y, Amalia SN, Anarta A. Analysis of doxorubicin and doxorubicinol in dried blood spot of breast cancer patients for monitoring the cardiotoxicity of doxorubicin. *Int J Pharmacy Pharm Sci.* 2020;12(4):36707.
- [32] Alavi AS, Meshkini A. Fabrication of poly(ethylene glycol)-coated mesoporous nanocomposite ZnO@Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> for methotrexate delivery: an integrated nanoplatform for dual-mode cancer therapy. *Eur J Pharm Sci.* 2018;115:144–157.
- [33] Behnamsani A, Meshkini A. Synthesis and engineering of mesoporous ZnO@HAP heterostructure as a pH-sensitive nano-photosensitizer for chemo-photodynamic therapy of malignant tumor cells. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2019;53:101200.
- [34] Jefri SNS, Abdullah AH, Mohammad EN. Response surface methodology: photodegradation of methyl orange by CuO/ZnO under UV light irradiation. *Asian J Green Chem.* 2019;3(2):271–287.
- [35] Mehr ES, Sorbiun M, Ramazani A, et al. Plant-mediated synthesis of zinc oxide and copper oxide nanoparticles by using *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss extract and comparison of their photocatalytic degradation of rhodamine B (RhB) under visible light irradiation. *J Mater Sci Mater Electron.* 2018;29(2):1333–1340.
- [36] Sorbiun M, Mehr ES, Ramazani A, et al. Green synthesis of zinc oxide and copper oxide nanoparticles using aqueous extract of oak fruit hull (Jafit) and comparing their photocatalytic degradation of basic violet 3. *Int J Environ Res.* 2018;12(1):29–37.
- [37] Fardood ST, Ramazani A, Moradi A, et al. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using arabic gum and photocatalytic degradation of direct blue 129 dye under visible light. *J Mater Sci Mater Electron.* 2017;28(18):13596–13601.