

ชื่อวิทยานิพนธ์	การปลดปล่อยโปรตีนจากสารไคโตซานที่ผสมอยู่ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์
ผู้เขียน	นางสาวอารยา ลิมาภรณ์วัฒน์
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก
ปีการศึกษา	2548

บทคัดย่อ

บทนำ: กระจกไอโอโนเมอร์ (GIC) และไคโตซาน (CS) มีใช้กันอย่างแพร่หลายในทางการแพทย์และทางเภสัชกรรม เนื่องจากคุณสมบัติที่สามารถเข้ากับเนื้อเยื่อได้ดีและสามารถปลดปล่อยสารที่นำมาผสมได้ GIC เป็นวัสดุทางทันตกรรมที่อาศัยการก่อตัวจากปฏิกิริยากรด-เบส (acid-base reaction) ระหว่างกรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic acid) และฟลูออโรอะมิโนซิลิเกตกระจก (fluoroaminosilicate glass) GIC เป็นวัสดุที่มีความสามารถยึดติดกับกระดูกและโลหะ ไคโตซานเป็นโพลีเมอร์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่ดีได้มาจากปฏิกิริยาคีโอะซิไทเลชัน (deacetylation) ของไคติน โดยความเป็นจริงแล้วด้วยคุณสมบัติของไคโตซานมีความเป็น bioactive อยู่แล้วเมื่อนำมาประยุกต์ร่วมกับยาหรือสารต่างๆทำให้เพิ่มประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น **วัตถุประสงค์:** ศึกษาการปลดปล่อยโปรตีนและความเป็นพิษของวัสดุใหม่ที่เกิดจากการผสมระหว่าง GIC และ CS **วัสดุและวิธีการ:** โปรตีนที่ใช้คืออัลบูมิน (AL) สัดส่วน 1.5% โดยน้ำหนัก CS สัดส่วน 20% โดยน้ำหนักผสมกับ GIC และใช้เป็น carrier สำหรับการปลดปล่อยอัลบูมิน ชิ้นทดสอบถูกเตรียมในแบบหล่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตรหนา 2 มิลลิเมตร และเตรียมเป็น 3 กลุ่มคือ GIC ผสม CS (GIC+CS), GIC ผสม AL (GIC+AL) และ GIC ผสม CS ผสม AL (GIC+CS+AL) หลังจากการก่อตัวขึ้นทดสอบทุกชิ้นอบที่ 37° C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปแช่ใน phosphate buffered saline (PBS) และเปลี่ยน PBS ที่เวลา 1, 6, 12, 24, 48, 72, 168 และ 336 ชั่วโมง นำมาหาโปรตีนด้วยการใช้ชุดหาโปรตีน BCA และการทำ electrophoresis ทดสอบความเป็นพิษของชิ้นทดสอบด้วยเซลล์จากโพรงประสาทฟันของคน โดยการเตรียมชิ้นทดสอบและแช่ในน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตรเป็นเวลา 24 48 และ 168 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ผ่านการแช่มาทำให้ปลอดเชื้อด้วยการกรอง (filtered sterile) และทดสอบด้วยการทำ MTT assay กับเซลล์โพรงประสาทฟันของคน อบในตู้เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ผลการทดลองกลุ่ม GIC+CS+AL มีการปลดปล่อยอัลบูมินแบบ burst effect ในชั่วโมงที่ 1 และค่อยๆ ลดการปลดปล่อย เมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 2 สัปดาห์ สำหรับกลุ่ม GIC+AL มีรูปแบบการปลดปล่อยที่คล้ายกับกลุ่ม GIC+CS+AL แต่น้อยกว่าประมาณ 3 เท่า พบว่าไม่มีการปลดปล่อยหลัง

จาก 6 ชั่วโมงผ่านไป สำหรับการทดสอบความเป็นพิษของวัสดุพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม GIC และกลุ่ม GIC+CS สรุปผลการทดลอง: วัสดุผสม ระหว่าง GIC+CS มีความสามารถในการปลดปล่อยโปรตีนได้ดีกว่ากลุ่ม GIC และไม่เพิ่มความเป็นพิษต่อเซลล์โพรงประสาทฟัน

Thesis Title Protein Releasing from Chitosan Modified Glass-Ionomer Cement
Author Miss Araya Limapornvanich
Major Program Oral Health Sciences
Academic Year 2005

ABSTRACT

Introduction: Glass-ionomer cements (GIC) and Chitosan is widely used in biomedical and pharmaceutical applications due to its biocompatibility and the slow release of active molecules. GIC are dental material based on the acid-base reaction between polyacrylic acid and fluoroaluminosilicate glass. GIC is osteoconductive and is able to bond to bone and metals. Chitosan is a natural biodegradable polyaminosaccharide obtained by alkaline deacetylation of chitin. Chitosan is claimed to be a candidate system for mucosal drug delivery due to its mucoadhesiveness and permeabilizer. **Objectives:** This study intended to establish a new material by combining GIC and chitosan in order to prolong releasing of protein with low cytotoxicity. **Materials and methods:** Albumin was used as a tested protein at a final concentration of 1.5% albumin, by weight. The experimental GIC was modified by addition of 20% chitosan, by weight, and was used as a carrier for the *in vitro* release of albumin. The specimens were prepared in the mold, 10 mm diameter and 2 mm thick, and were divided into three groups; GIC + Chitosan (GIC+CS), GIC + albumin (GIC+AL) , and GIC + chitosan + albumin (GIC+CS+AL). After setting, all specimens were incubated at 37° C for 1 hour. Each specimen was then submerged in 1 mL phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4). The PBS of each specimen was changed and collected at 1, 6, 12, 24, 48, 72, 168, and 336 hours. The collected PBS was concentrated and subjected to protein analysis using BCA protein assay and electrophoresis. The cytotoxicity of the experimental GIC was investigated on human dental pulp cells. The specimens were submerged in 2 mL PBS for 24, 48, or 72 hours. The supernatant from each specimen was collected from each time point and then filtered sterilized. The sterilized supernatant was added into 2 x MEM cultured media and the tested media were incubated with human dental pulp cells for 48 or 72 hours. The MTT assay was used to determine cytotoxicity. **Results:** The GIC+CS+AL released a burst of albumin, in the first 60 min, and then slowly

released of albumin, at different rate, up to 2 weeks. The profile of *in vitro* protein release of GIC+AL showed similar pattern as found in GIC+CS+AL, however, albumin released from GIC+AL was 3 times less than what released from GIC+CS+AL. No further albumin was released from GIC+AL during the following 6 hours. Cytotoxicity studies showed no significant different between GIC and GIC+CS. **Conclusion:** These studies demonstrate that GIC+CS combination is a promising biocompatible vehicle which can be used to sustain delivery of protein.