

546.671

1357

3

# ความสามารถในการรวมตัวของสารประกอบโบรอน กับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ

ปริณิพนธ์

ของ

หทัยชนก ศรีใส

19 S.ศ. 2539

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ

พฤษภาคม 2539

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

๑. ๕๒๔๖๕

คณะกรรมการควบคุมและกรรมการสอบได้นิยามาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้วเห็นสมควร  
รับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ  
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

คณะกรรมการควบคุม

..... ประธาน  
(ดร.จินดา แท้มบรรจง)  
..... กรรมการ  
(รศ.ดร.สมลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล)  
..... กรรมการ  
(ดร.สาธิตนัม ชรรณพิทักษ์)

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน  
(ดร.จินดา แท้มบรรจง)  
..... กรรมการ  
(รศ.ดร.สมลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล)  
..... กรรมการ  
(ดร.สาธิตนัม ชรรณพิทักษ์)  
..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม  
(ดร.พรทิพา นิษา)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ดร.ศิริมา พูลสุวรรณ)

วันที่ 10 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2539

## ประกาศคุณประการ

ปริญญานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือ และคำปรึกษาแนะนำเป็นอย่างดีจาก  
ดร.จินดา แต้มบรรจง รศ.ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล และดร.สายสนม ธรรมนิทกัณฑ์ รวมทั้ง  
ดร.พรทิชา นิชา ที่กรุณาช่วยเป็นกรรมการในการสอบ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้  
 ณ. ที่นี้

ขอขอบคุณธนาคารเลือกตั้งภาษาไทย ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์เลือด สำหรับใช้ในการ  
การแยกไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ

ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือกลาง คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ที่กรุณาให้  
ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่อง Ultracentrifuge สำหรับใช้ในการแยกไลโปโปรตีนความหนา  
แน่นต่ำจากเลือด

ขอขอบคุณห้องวิจัย รศ.ดร.สมศักดิ์ รุจิรวุฒิ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยมหิดล ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ด้านสารเคมีบางชนิด

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer  
และการใช้เครื่อง Mass Spectrophotometer ในการศึกษาโครงสร้างของสาร

ขอขอบคุณสำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม  
ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma Atomic  
Emission Spectrometer ในการหาปริมาณโบรอน

ขอโน้มรำลึกถึงพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในด้านการศึกษากับผู้  
วิจัยด้วยดีตลอดมา และขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้กล่าวนามในที่นี้ ที่ให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือใน  
ด้านต่าง ๆ จนปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยดี

หทัยชนก ศรีใส

# สารบัญ

บทที่

หน้า

|   |                                                                                           |    |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | บทนำ .....                                                                                | 1  |
|   | ภูมิหลัง .....                                                                            | 1  |
|   | เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย .....                                                      | 7  |
|   | ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า .....                                                      | 20 |
|   | ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า .....                                                         | 20 |
|   | ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า .....                                                            | 20 |
| 2 | วิธีการวิจัย .....                                                                        | 21 |
|   | อุปกรณ์และสารเคมี .....                                                                   | 21 |
|   | วิธีดำเนินการทดลอง .....                                                                  | 23 |
|   | การสังเคราะห์สารประกอบ carboric ester .....                                               | 23 |
|   | การเตรียม LDL จากเลือด .....                                                              | 24 |
|   | การรวม LDL กับสารประกอบ carboric ester .....                                              | 26 |
|   | การหาปริมาณ LDL และปริมาณโบรอนในสารประกอบ<br>carboranic ester ที่รวมตัวกับ LDL แล้ว ..... | 26 |
| 3 | ผลการวิจัย .....                                                                          | 29 |
| 4 | สรุปและอภิปรายผล .....                                                                    | 39 |
|   | ข้อเสนอแนะ .....                                                                          | 46 |

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| บรรณาการม .....             | 47 |
| ภาคผนวก .....               | 51 |
| ภาคผนวก ก .....             | 52 |
| ภาคผนวก ข .....             | 83 |
| ประวัติย่อของผู้วิจัย ..... | 85 |

# บัญชีตาราง

ตาราง

หน้า

|    |                                                                                                            |    |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1  | นิวไคลด์ที่มีภาคตัดขวางในการจับนิวตรอนสูง .....                                                            | 5  |
| 2  | ชนิดของไลโปโปรตีนและส่วนประกอบ .....                                                                       | 13 |
| 3  | สารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้นแล้วรวมตัวกับ LDL เพื่อศึกษา<br>ความสามารถในการทำสายและยับยั้งการแบ่งเซลล์ ..... | 17 |
| 4  | สมบัติทางกายภาพของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้.....                                                           | 30 |
| 5  | ข้อมูลทาง Infrared spectroscopy .....                                                                      | 31 |
| 6  | ข้อมูลทาง $^1\text{H}$ Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy .....                                       | 32 |
| 7  | ข้อมูลทาง $^{13}\text{C}$ Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy .....                                    | 33 |
| 8  | ข้อมูลทาง Mass spectroscopy .....                                                                          | 34 |
| 9  | ปริมาณของ LDL ที่รวมกับสารประกอบ carboranic ester .....                                                    | 35 |
| 10 | ปริมาณโบรอนในสารประกอบ carboranic ester<br>ที่รวมกับ LDL .....                                             | 36 |
| 11 | อัตราส่วนโดยน้ำหนักระหว่างปริมาณโบรอนต่อปริมาณ LDL<br>หลังจากการรวมกันแล้ว .....                           | 37 |
| 12 | ผลสรุปความสามารถในการรวมตัวของสารประกอบ<br>carboranic ester กับ LDL .....                                  | 38 |
| 13 | ค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของโบรอนในสารละลายมาตรฐาน .....                                              | 75 |
| 14 | ค่าการกระจายแสงกับความเข้มข้นของโบรอนในสารละลายมาตรฐาน .....                                               | 77 |

## บัญชีภาพประกอบ

### ภาพประกอบ

### หน้า

|    |                                                                                           |    |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1  | โครงสร้างของตัวรับ LDL .....                                                              | 8  |
| 2  | การนำ LDL เข้าไปภายในเซลล์ .....                                                          | 9  |
| 3  | ลักษณะของพลาสมาไลโปโปรตีน .....                                                           | 10 |
| 4  | ขนาดของไลโปโปรตีน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน .....                                    | 13 |
| 5  | การขนส่งไตรกลีเซอไรด์และโคเลสเตอรอลของไลโปโปรตีน .....                                    | 14 |
| 6  | การที่ LDL เป็นตัวพาเข้าไปในเซลล์มะเร็ง .....                                             | 16 |
| 7  | ขั้นตอนการสังเคราะห์สารประกอบ carboranic ester .....                                      | 25 |
| 8  | การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ carboranic acid chloride (film) .....                           | 53 |
| 9  | การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ<br>Stearyl carborane carboxylate (film) .....                   | 54 |
| 10 | การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ<br>Oleyl carborane carboxylate (film) .....                     | 55 |
| 11 | การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ<br>Elaidyl carborane carboxylate (film) .....                   | 56 |
| 12 | $^1\text{H}$ NMR สเปกตรัมของ<br>Stearyl carborane carboxylate ใน $\text{CCl}_4$ .....     | 57 |
| 13 | $^1\text{H}$ NMR สเปกตรัมของ<br>Oleyl carborane carboxylate ใน $\text{CCl}_4$ .....       | 58 |
| 14 | $^1\text{H}$ NMR สเปกตรัมของ<br>Elaidyl carborane carboxylate ใน $\text{CCl}_4$ .....     | 59 |
| 15 | $^{13}\text{C}$ NMR สเปกตรัมของ<br>Stearyl carborane carboxylate ใน $\text{CDCl}_3$ ..... | 60 |

|    |                                                                                                                                                                     |    |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 16 | $^{13}\text{C}$ NMR สเปกตรัมของ<br>Oleyl carborane carboxylate ใน $\text{CDCl}_3$ .....                                                                             | 61 |
| 17 | $^{13}\text{C}$ NMR สเปกตรัมของ<br>Elaidyl carborane carboxylate ใน $\text{CDCl}_3$ .....                                                                           | 62 |
| 18 | แมสสเปกตรัมของ Stearyl carborane carboxylate .....                                                                                                                  | 63 |
| 19 | แมสสเปกตรัมของ Oleyl carborane carboxylate .....                                                                                                                    | 64 |
| 20 | แมสสเปกตรัมของ Elaidyl carborane carboxylate .....                                                                                                                  | 65 |
| 21 | การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ LDL มาตรฐาน .....                                                                                                                         | 66 |
| 22 | การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ LDL-SCC<br>หลังจากกรวมน้ำแล้ว .....                                                                                                       | 67 |
| 23 | การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ LDL-OCC<br>หลังจากที่กรวมน้ำแล้ว .....                                                                                                    | 68 |
| 24 | การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ LDL-ECC<br>หลังจากที่กรวมน้ำแล้ว .....                                                                                                    | 69 |
| 25 | การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและฟลูออโรสโคป<br>ของ BCA reagent (หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อน<br>อุณหภูมิ $60^\circ\text{C}$ 1 ชั่วโมง) .....                              | 70 |
| 26 | การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและฟลูออโรสโคป<br>ของ LDL มาตรฐาน ที่ทำปฏิกิริยากับ BCA reagent<br>(หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ $60^\circ\text{C}$ 1 ชั่วโมง) ..... | 71 |
| 27 | การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและฟลูออโรสโคป<br>ของ LDL-SCC ที่ทำปฏิกิริยากับ BCA reagent<br>(หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ $60^\circ\text{C}$ 1 ชั่วโมง) .....     | 72 |
| 28 | การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและฟลูออโรสโคป<br>ของ LDL-OCC ที่ทำปฏิกิริยากับ BCA reagent<br>(หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ $60^\circ\text{C}$ 1 ชั่วโมง) .....     | 73 |



|    |                                                                                                                                                |    |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 29 | การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและวิธีบีล<br>ของ LDL-ECC ที่ทำปฏิกิริยากับ BCA reagent<br>(หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °C 1 ชั่วโมง) ..... | 74 |
| 30 | การนำมาตรฐานของไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ .....                                                                                                  | 76 |
| 31 | การนำมาตรฐานโบรอน .....                                                                                                                        | 78 |
| 32 | การบิดตัวเป็นเกลียวของส่วนที่เป็นแอลกอฮอล์ในสารประกอบ<br>carboranic ester .....                                                                | 79 |
| 33 | การจัดเรียงตัวที่มีโครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอล<br>ก. โคเลสเตอรอล ข. Stearyl alcohol .....                                                        | 80 |
| 34 | การจัดเรียงตัวที่มีโครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอล<br>ก. โคเลสเตอรอล ข. Oleyl alcohol .....                                                          | 81 |
| 35 | การจัดเรียงตัวที่มีโครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอล<br>ก. โคเลสเตอรอล ข. Elaidyl alcohol .....                                                        | 82 |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ภูมิหลัง

มะเร็งเป็นโรคร้ายแรงซึ่งนับวันจะคุกคามชีวิตมนุษย์มากขึ้น จึงเป็นสาเหตุให้มีการศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวางเกี่ยวกับสาเหตุและกลไกการเกิดมะเร็ง การป้องกันการเกิดมะเร็ง ตลอดจนการบำบัดรักษามะเร็ง เนื่องจากในปัจจุบันมะเร็งเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญของประชากรในเกือบทุกประเทศรวมทั้งประเทศไทย จากสถิติของกระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2537 ปรากฏว่ามะเร็งเป็นสาเหตุการตายของประชากรไทยสูงเป็นอันดับที่ 2 รองจากโรคหัวใจ (ไม่รวมอุบัติเหตุ) (สาธารณสุข . 2538) และมะเร็งยังเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศเป็นอันดับที่ 2 รองจากอุบัติเหตุจราจร เพราะมะเร็งเป็นโรคที่มีความรุนแรง ก่อให้เกิดการเจ็บป่วยและการตายสูงมาก ต้องใช้เวลาในการรักษาในโรงพยาบาลนานกว่าโรคอื่น มีการสูญเสียทางเศรษฐกิจและศักยภาพของชีวิต (Year of Potential Life Lost) สูง และในปัจจุบันมีอัตราการตายสูงขึ้นเรื่อย ๆ (คณะกรรมการระบาดวิทยาแห่งชาติ . 2530)

การรักษามะเร็งโดยทั่วไปมี 3 วิธี คือ

1. การผ่าตัด (Surgery) (Rosenberg, 1993 : 238-247)

ในสมัยก่อนการรักษาเป็นการผ่าตัด หรือการใช้รังสีเป็นส่วนใหญ่ซึ่งจะมีโอกาสรักษาหายได้เฉพาะผู้ป่วยที่อยู่ในระยะเริ่มแรก ที่ยังไม่มีมีการแพร่กระจายของมะเร็งเท่านั้น ผู้ป่วยส่วนมากมักจะมีการกระจายของมะเร็ง ทำให้ไม่สามารถรักษาหายหรือมีผลได้ ในปัจจุบันนี้การผ่าตัดทั่วไปนั้น 40 % มักจะเป็นการผ่าตัดที่เกี่ยวกับโรคมะเร็ง ผู้ป่วยโรคมะเร็งได้รับการรักษาโดยการผ่าตัดประมาณ 55 % (40 % เป็นการรักษาโดยการผ่าตัดอย่างเดียว) ขณะที่มีการใช้รังสี 34 % (ใช้รังสีรักษาอย่างเดียว 16 %) และได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัด 22 % เป็นการรักษาด้วยเคมีบำบัดอย่างเดียวหรือร่วมกับวิธีอื่น ๆ ในแต่ละปีผู้ป่วยโรคมะเร็งที่สามารถรักษาให้หายได้นั้นหายได้โดยการผ่าตัด 60 % การใช้รังสี 25 % และเคมีบำบัดเพียง 15 %

การรักษาโดยการผ่าตัดที่มีโอกาสหายได้นั้น ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีมะเร็งยังอยู่เฉพาะที่ ตำแหน่งเริ่มต้น ผู้ป่วยส่วนใหญ่ประมาณ 70 % มักมีการกระจายของมะเร็งไปยังบริเวณนอกเหนือจากจุดเริ่มต้นแล้ว ฉะนั้นจะเห็นได้ว่าการรักษาเสริมโดยเคมีบำบัดเพื่อทำลายเซลล์มะเร็งในส่วนนี้ จึงมีความสำคัญและเสริมให้ผลการผ่าตัดได้ดียิ่งขึ้น การผ่าตัดเพื่อหวังผลให้หายนั้น โอกาสที่ดีที่สุดคือการผ่าตัดครั้งแรก ที่สามารถเอาส่วนของมะเร็งออกได้หมด และไม่มีเซลล์มะเร็งตกหล่นไว้บริเวณผ่าตัดนั้น ซึ่งการผ่าตัดมะเร็งนั้นจะหลีกเลี่ยงไม่ตัดต้องตัวมะเร็งมากนัก บริเวณที่ผ่าตัดจะไม่ผ่านเข้าไปในเนื้อหรือก้อนมะเร็ง เพราะจะทำให้เซลล์มะเร็งมีโอกาสตกหล่นอยู่ในบริเวณผ่าตัดได้ หรือมีการกระจาย การผ่าตัดจะอยู่รอบนอกห่างจากตัวมะเร็ง ระยะจะมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดและตำแหน่งของมะเร็ง รวมทั้งเนื้อเยื่อส่วนที่อยู่ระหว่างนั้นด้วย ในกรณีที่มีมะเร็งมีลักษณะที่กระจายแทรกไปในเนื้อเยื่อข้างเคียงมาก ถ้าเป็นที่กล้ามเนื้อจะต้องตัดออกบริเวณกว้างและเอากล้ามเนื้อนั้นออกทั้งหมด ซึ่งอาจจะเกิดความพิการขึ้นได้ ดังนั้นก่อนจะผ่าตัดจะต้องรู้ และเข้าใจถึงลักษณะของมะเร็ง และการกระจายของมะเร็งแต่ละชนิด เพื่อนำมาประกอบในการวางแผนวิธีการผ่าตัดและเทคนิคการผ่าตัดนั้น

## 2. รังสีบำบัด (Radiotherapy) (Hellman, 1993 : 248-275)

หลักการสำคัญในการรักษาโรคมะเร็งทางรังสี คือ การทำลายเซลล์มะเร็งให้มากที่สุด โดยให้มีผลข้างเคียงต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อปกติน้อยที่สุด การที่จะทำได้ดังกล่าวจำเป็นที่จะต้องอาศัยปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวผู้ป่วย โรคที่เป็น รวมทั้งเครื่องมือและวิธีการรักษา ดังนั้นผู้ที่เกี่ยวข้องในการรักษา จะต้องเข้าใจในหลักการสำคัญของการรักษาทางรังสี เพื่อที่จะนำไปพัฒนาประกอบวางแผนในการรักษาผู้ป่วยให้ถูกต้องเหมาะสมต่อไป

ผลของรังสีจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ ในลักษณะที่อาจจะเป็นคุณหรือโทษก็ได้ สำหรับโทษของรังสีหากถูกนำไปใช้โดยผิดวิธี หรือรู้เท่าไม่ถึงการณ์ก็อาจก่อให้เกิดโรคมะเร็งหรืออันตรายถึงชีวิตได้ ผลการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อรังสีจะมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับปัจจัยเกี่ยวข้องหลายประการ ดังนั้นการรักษามะเร็งด้วยรังสี ชนิดของโรค พยาธิสภาพ ตำแหน่ง และลักษณะทั่วไปของก้อนมะเร็ง ล้วนแล้วแต่มีผลต่อการรักษาทั้งสิ้น โดยทั่วไปมะเร็งที่เกิดจากเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ไวต่อรังสี ก็จะเป็นมะเร็งที่ไวต่อรังสี ส่วนมะเร็งที่เกิดจากอวัยวะที่ไม่ไวต่อรังสี ก็จะเป็นมะเร็งที่ไม่ไวต่อรังสีด้วย เนื้อเยื่อในอวัยวะปกติหรือที่เป็นโรคมะเร็งก็ตาม จะตอบสนองต่อ

รังสีได้ไม่เท่ากัน เช่น มะเร็งที่ประกอบด้วยเซลล์อ่อน หรือเซลล์ที่กำลังมีการเจริญเติบโต และแบ่งตัว เซลล์เหล่านี้จะไวต่อรังสี ตรงกันข้ามกับมะเร็งที่เกิดจากเซลล์แก่ หรือเซลล์ที่ไม่มีการแบ่งตัวอีกแล้ว ก็จะไม่ไวต่อรังสี อย่างไรก็ตามการรักษามะเร็งโดยรังสีบำบัด สิ่งจำเป็นที่จะต้องคำนึงคือปริมาณของรังสีที่จะใช้ เนื่องจากหากปริมาณรังสีมากเกินไป ก็อาจจะทำให้เกิดอันตรายได้ เช่น การเป็นหมัน การหยุดการเจริญเติบโตบริเวณที่ฉายรังสี เป็นต้น

### 3. เคมีบำบัด (Chemotherapy) (DeVita. 1993 : 276-292)

การรักษาด้วยเคมีบำบัดจะต้องมีความระมัดระวังอย่างยิ่งในทุกขั้นตอน เริ่มจากผู้ให้ต้องมีความรู้เรื่องโรคมะเร็งนั้น ๆ ลักษณะการแพร่กระจาย ผลของการรักษาโดยวิธีการต่าง ๆ เช่น การผ่าตัด รังสีรักษา หรือเคมีบำบัด ในกรณีเลือกรักษาโดยเคมีบำบัด จะต้องมีความรู้เกี่ยวกับยาทั้งในแง่ชนิดของยา วิธีการใช้ยา จำนวนยาที่ใช้ในแต่ละครั้ง การประเมินผล และการติดตามผลการรักษาเหล่านี้ เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำยามาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งมากขึ้น ยาเคมีบำบัด ส่วนใหญ่มีสมบัติเด่น คือ การไปขัดขวาง ทำลายการทำงานของเอ็นไซม์ หรือสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการสร้าง DNA ของเซลล์ เซลล์มะเร็งมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว มีการสังเคราะห์ DNA เกือบตลอดเวลา ดังนั้นเซลล์มะเร็งจึงถูกทำลายได้ง่ายกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติในร่างกาย การรักษาด้วยเคมีบำบัดมีข้อจำกัดที่สำคัญ คือ การทำลายของเซลล์มะเร็ง การทำลายนี้เกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ เช่น การเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมของยา การขัดขวางการเข้าเซลล์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผลข้างเคียงของยา โดยทั่ว ๆ ไปแล้ว ยาที่มีประสิทธิภาพสูง แต่ไม่มีผลข้างเคียงนั้นเป็นยาที่ดีที่สุด แต่หาโอกาสที่จะได้ยาดังกล่าวนั้นน้อยมาก ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องคำนึงถึงผลข้างเคียงของยาด้วย ผลข้างเคียงที่พบได้บ่อย เช่น การมีแผลในกระเพาะอาหาร ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ ภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ เป็นต้น

ในปัจจุบันพบว่าการใช้ยาหลายชนิดร่วมกันสามารถทำลายเซลล์มะเร็งและให้ผลการรักษาดีขึ้น ทั้งนี้เพราะเมื่อใช้ยาเพียงตัวเดียวระหว่างการรักษาจะมีการต่อต้านยาเกิดขึ้นได้ง่าย การใช้ยาหลายตัวร่วมกันสามารถลดการต้านยาได้

การรักษาด้วยเคมีบำบัด จะใช้ใน 3 กรณี คือ

กรณีแรก ใช้ในการรักษามะเร็งในระยะแพร่กระจาย การใช้ยาในกรณีนี้จะให้ผลได้ดีมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับชนิดของมะเร็ง มะเร็งบางชนิดตอบสนองต่อการรักษาดีมาก แม้จะเป็นระยะแพร่

กระจายแล้วก็มีโอกาสหายได้ มะเร็งบางชนิดเมื่อแพร่กระจายแล้ว การรักษาด้วยเคมีบำบัดจะให้ผลเพียงบรรเทาอาการ

ส่วนมะเร็งบางชนิดการรักษาด้วยเคมีบำบัดได้ผลไม่ทัน

กรณีที่สอง ใช้ในการรักษามะเร็งร่วมกับการรักษาโดยวิธีอื่น ๆ โดยทั่วไปใช้ได้ผลในกรณีที่ก้อนมะเร็งถูกตัดออกแล้ว แต่มีโอกาสเกิดมะเร็งขึ้นใหม่ได้ เชื่อว่าการให้ยาในกรณีนี้เป็นการให้ยาเพื่อควบคุม และทำลายเซลล์มะเร็งที่เหลืออยู่

กรณีที่สาม ใช้ในการลดขนาดของก้อนมะเร็งลงก่อน เพื่อให้การรักษาโดยวิธีอื่น ๆ เช่น การผ่าตัด หรือรังสีรักษา สามารถทำได้ง่ายและได้ผลดียิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีนี้อาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) หรือเกิดมะเร็ง (carcinogenicity) ได้

การรักษามะเร็งวิธีต่างๆ ดังได้กล่าวมาแล้วยังไม่ปรากฏผลที่น่าพอใจ อีกทั้งยังมีผลข้างเคียงจากการรักษา ดังนั้นจึงมีการคิดค้นวิธีการรักษามะเร็งที่มีผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติน้อยที่สุดหรือไม่มีเลย แต่มีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งมากที่สุด การรักษานี้เป็นไปได้ต่อเมื่อวิธีการที่ใช้มีผลเฉพาะต่อเซลล์มะเร็งเท่านั้น

การรักษามะเร็งโดยกระบวนการจับนิวตรอน (Neutron Capture Therapy: NCT) เป็นการรักษาโดยอาศัยปฏิกิริยานิวเคลียร์ระหว่างนิวตรอนกับนิวไคลด์ (nuclide) ที่สามารถจับนิวตรอนแล้วให้อนุภาคและพลังงานมากพอที่จะทำลายเซลล์มะเร็งได้ นิวไคลด์ที่เหมาะสม คือ  $^{10}\text{B}$  เรียกว่า Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) เนื่องจากวิธีการนี้เป็นการทำลายเซลล์เฉพาะที่ ดังนั้นจึงเป็นวิธีหนึ่งที่มีแนวโน้มสูงในการรักษามะเร็งอย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต

การรักษาโดยกระบวนการ NCT นอกจาก  $^{10}\text{B}$  แล้วยังมีนิวไคลด์อื่นที่มีภาคตัดขวางในการจับนิวตรอนสูงดังแสดงในตาราง 1 แต่นิวไคลด์ส่วนใหญ่ให้รังสีแกมมาซึ่งทำลายเซลล์เป็นบริเวณกว้าง แม้ว่า  $^6\text{Li}$  และ  $^{235}\text{U}$  จะไม่ให้รังสีแกมมาแต่  $^6\text{Li}$  มีภาคตัดขวางในการจับนิวตรอนน้อยกว่า  $^{10}\text{B}$  ส่วน  $^{235}\text{U}$  เมื่อเกิดปฏิกิริยานิวเคลียร์แล้วให้อนุภาคที่มีเลขมวล 85-104 และ 130-149 อนุภาคที่เกิดจากปฏิกิริยาฟิชชัน (fission) นี้มีพลังงานมากกว่า  $^{10}\text{B}$  ถึง 30-40 เท่า จึงทำลายเซลล์เป็นบริเวณกว้างทำให้เกิดผลข้างเคียงกับเซลล์ปกติได้

$^{10}\text{B}$  เมื่อจับนิวตรอนพลังงานต่ำ (0.25 eV) จะเกิดปฏิกิริยาดังนี้



อนุภาคแอลฟาที่เกิดขึ้นสามารถไอออนไนส์สารเคมีในเซลล์หรือทำลายเซลล์ นิวตรอนพลังงานต่ำนี้ไม่มีอันตรายต่อร่างกาย และอนุภาคที่เกิดขึ้นอยู่ในรัศมี 9 ไมครอนจากจุดศูนย์กลางของปฏิกิริยา ดังนั้นจะทำลายเซลล์เฉพาะบริเวณรอบ ๆ ที่มี  $^{10}\text{B}$  อยู่

ตาราง 1 นิวไคลด์ที่มีภาคตัดขวางในการจับนิวตรอนสูง

| นิวไคลด์          | ภาคตัดขวางในการจับนิวตรอน<br>(barns) |
|-------------------|--------------------------------------|
| $^6\text{Li}$     | 873                                  |
| $^{113}\text{Cd}$ | 20,000                               |
| $^{149}\text{Sm}$ | 41,000                               |
| $^{151}\text{Eu}$ | 5,900                                |
| $^{157}\text{Gd}$ | 240,000                              |
| $^{135}\text{Xe}$ | 2,720,000                            |
| $^{199}\text{Hg}$ | 2,000                                |
| $^{235}\text{U}$  | 678                                  |
| $^{10}\text{B}$   | 3,837                                |

(Soloway, 1964 : 203-234)

แนวความคิดเกี่ยวกับ BNCT ได้เริ่มในปี 1936 โดยโลเชอร์ (Locher. 1936 : 1) ได้เสนอแนวคิดในการใช้อินนาคัลฟ่า ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา  $^{10}\text{B} (n, \alpha) ^7\text{Li}$  ในการทำลายเซลล์มะเร็ง แนวคิดนี้ได้นำไปใช้ทดลองในหนูที่เป็นมะเร็งชนิด ซาร์โคมา (sarcoma) คาซิโนมา (carcinoma) และลิมโฟมา (lymphoma) ผลปรากฏว่า BNCT ทำให้ก้อนมะเร็งเล็กลงอย่างเห็นได้ชัด (Kruger and others. 1940 : 181-192) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเปรียบเทียบการทำลายเซลล์พืชโดยใช้รังสีเอ็กซ์กับอินนาคัลฟ่าที่เกิดจากปฏิกิริยา  $^{10}\text{B} (n, \alpha) ^7\text{Li}$  พบว่าอินนาคัลฟ่ามีอำนาจในการทำลายเซลล์สูงกว่ารังสีเอ็กซ์มาก (Conger and Giles. 1950 : 397-417) ต่อมาในปี 1962 การศึกษาค้นคว้าทาง BNCT ได้หยุดชะงักลง เนื่องจากความล้มเหลวในการนำ BNCT ไปทดลองใช้กับคนไข้มะเร็งสมองในประเทศสหรัฐอเมริกา จนกระทั่ง 20 ปีต่อมา นักวิทยาศาสตร์กลุ่มหนึ่งได้ริเริ่มกระบวนการ BNCT ขึ้นมาใหม่ มีการศึกษากันอย่างจริงจังในหลายแห่งหลายมุม ทำให้ภาพพจน์เกี่ยวกับ BNCT เริ่มดีขึ้น (Barth and others. 1992 : 2995-3008)

ในประเทศญี่ปุ่นได้มีการนำ BNCT ไปทดลองรักษาคนไข้มะเร็งสมองขั้นสุดท้าย โดยใช้สารประกอบ BSH (Boron-10-mercaptoundecahydrododecaborate :  $\text{Na}_2\text{B}_{10}\text{H}_{12}\text{SH}$ ) รักษาคนไข้ที่เป็นไกลิโอเบลาสโตมา (glioblastoma) ที่ผ่านการรักษาด้วยเคมีบำบัดแล้วแต่ไม่ได้ผล พบว่า BNCT ทำให้อาการของคนไข้ดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด แต่เนื่องจากมะเร็งได้กระจายไปบริเวณอื่นๆ แล้วจึงเป็นเหตุให้คนไข้เสียชีวิตลงหลังจากบำบัดด้วย BNCT เป็นเวลา 4 เดือน ในการรักษาคนไข้อีกรายที่เป็น มาลิกแนนท์ โอลิโกเดนโดรโกลิโอมา (malignant oligodendroglioma) และคนไข้ที่เป็น มาลิกแนนท์ แอสโตรไซโตมา (malignant astrocytoma) ซึ่งได้ผ่านการรักษาโดยรังสีบำบัดมาเป็นเวลานาน 3 ปีแล้ว หลังจากบำบัดด้วย BNCT คนไข้มีอาการดีขึ้นและมีชีวิตอยู่อย่างปกติเป็นเวลา 1 ปี จึงเสียชีวิตลงเนื่องจากเซลล์สมองถูกทำลายมากจากการใช้รังสีบำบัดมาเป็นเวลานาน (Montagnano and others. 1988 : 238-240)

นอกจากการใช้ BNCT ทดลองกับเซลล์มะเร็งสมองแล้ว วิธีการดังกล่าวสามารถทำลายเซลล์มะเร็งผิวหนัง (malignant melanoma) และให้ผลที่น่าสนใจทั้งการศึกษาแบบ *In vitro* และ *In vivo* และสามารถรักษามะเร็งผิวหนังได้สำเร็จ (Mishima and others. 1987:15-17) อย่างไรก็ตามกระบวนการ BNCT จะทำลายเซลล์มะเร็งอย่างมีประสิทธิภาพและปราศจากผล

ข้างเคียงได้นั้นปริมาณ  $^{10}\text{B}$  ในบริเวณเซลล์มะเร็งต้องมีจำนวนมากเพียงพอ และ  $^{10}\text{B}$  ที่เข้าสู่ร่างกายจะต้องอยู่ในรูปสารประกอบที่มีความเป็นพิษน้อยหรือไม่มีเลย (Soloway, 1958:1572-1574)

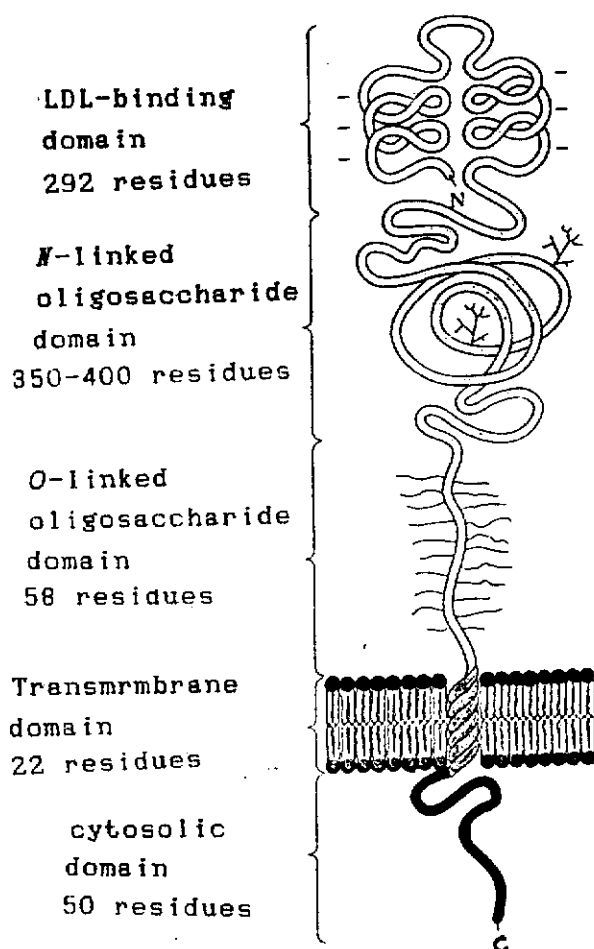
ปัจจุบันได้มีการศึกษาการสังเคราะห์สารประกอบโบรอน ที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการนี้ อย่างกว้างขวาง เช่น การสังเคราะห์สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดอะมิโน (amino acid) น้ำตาล นิวคลีโอไซด์ (nucleosides) พอร์ไฟริน (porphyrin) ฯลฯ และได้นำสารประกอบโบรอนที่สังเคราะห์ได้บางชนิดมาศึกษาความจำเพาะของสารต่อเซลล์มะเร็ง พบว่าให้ผลแตกต่างกันไป โดยสารประกอบโบรอนชนิดหนึ่งอาจมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งชนิดหนึ่ง ๆ เท่านั้น ดังนั้นงานวิจัยด้านนี้จึงยังมีสิ่งที่ต้องศึกษาอีกมาก และเป็นงานที่ท้าทายนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลก

สำหรับงานวิจัยนี้มุ่งที่จะสังเคราะห์สารประกอบโบรอน แล้วนำไปรวมตัวกับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (Low Density Lipoprotein : LDL) เพื่อใช้ในการรักษามะเร็งปากมดลูก เนื่องจากได้มีการศึกษาพบว่า LDL เป็นสารที่สะสมมากที่บริเวณปากมดลูก ดังนั้นหากสามารถสังเคราะห์สารประกอบโบรอนที่มีปริมาณโบรอนมากพอที่จะไปเกาะติดกับ LDL จึงคาดว่า LDL นำจะนำสารประกอบที่เกาะติดอยู่ ไปยังบริเวณที่เป็นมะเร็งที่ปากมดลูกในปริมาณเพียงพอที่จะใช้รักษาด้วยกระบวนการ BNCT ได้

### เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

LDL ประกอบด้วยโคเลสเตอรอล (cholesterol) กรดไขมัน (fatty acid) กรดอะมิโน และอะโปโปรตีนบี (apoprotein B) (Stryer, 1988 : 560-572) บริเวณผิวเซลล์ร่างกายมีตัวรับ (receptor) ที่จำเพาะสำหรับอะโปโปรตีนบี ทำให้ LDL สามารถเข้าไปภายในเซลล์ได้ง่าย สำหรับบุคคลที่มีโคเลสเตอรอลในเลือดสูงที่มีมาแต่กำเนิดจะไม่มีตัวรับ LDL เนื่องจากขาดยีนสำหรับการสร้างตัวรับ LDL บุคคลที่มีโคเลสเตอรอลในเลือดสูงเนื่องจากสาเหตุอื่น เช่น การมีไขมันสูงเนื่องจากอาหาร ความเครียด และความผิดปกติของฮอร์โมน เป็นต้น จะมีตัวรับ LDL แต่มีความผิดปกติในการนำ LDL เข้าเซลล์ คือไม่สามารถนำ LDL เข้าเซลล์โดยผ่านตัวรับได้ ตัวรับ LDL เป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 839 ตัว ซึ่งแบ่งเป็น 5 ส่วน โครงสร้างของตัวรับ LDL ดังภาพประกอบ 1 (Garrett, 1995: 792-797)

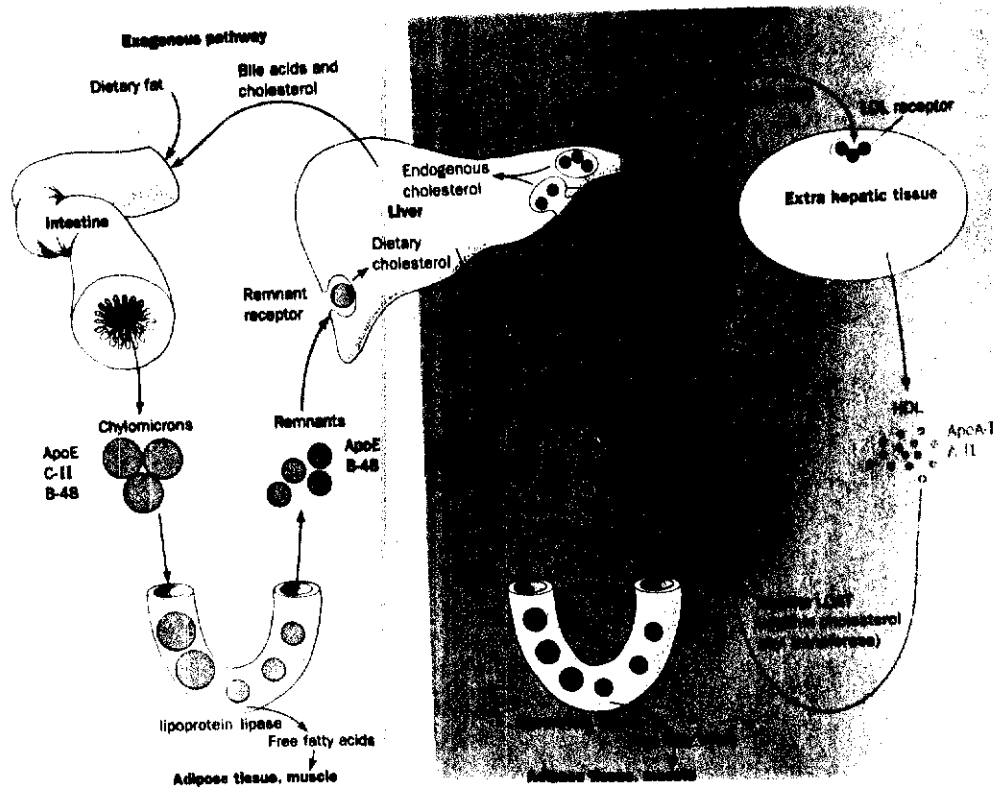




ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของตัวรับ LDL

การนำ LDL เข้าไปในเซลล์เป็นแบบเอนโดไซโทซิส (endocytosis) เป็นวิธีการนำสารเข้าสู่ภายในเซลล์ โดยผนังเซลล์เว้าเข้ามาในเซลล์ หรือผนังเซลล์ยื่นออกไปเพื่อหุ้มสาร โดย LDL จะจับกับตัวรับ LDL ก่อนที่จะถูกนำเข้าไปในเซลล์ แล้วรวมเข้าไปในไลโซโซม (lysosome) ซึ่งในไลโซโซมจะมีเอนไซม์ต่าง ๆ รวมทั้งไลเปส (lipase) ย่อย LDL ในสภาวะที่เป็นกรดให้สารต่างต่าง เช่น กรดอะมิโน โคเลสเตอรอล เป็นต้น ออกสู่ไซโทพลาสซึม (cytoplasm) (การนำ LDL เข้าไปในเซลล์ดังภาพประกอบ 2) จำนวนตัวรับ LDL มีการเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับความต้องการโคเลสเตอรอลของเซลล์ (Lehninger, Nelson and Cox, 1993 : 674-678) เซลล์มะเร็งที่มีการแบ่งตัวอย่างต่อเนื่อง ต้องการโคเลสเตอรอลจำนวนมากเพื่อนำไปใช้ในการสร้างเนื้อ

เชื้อต่าง ๆ เมื่อมีความต้องการโคเลสเตอรอลมากขึ้น ก็จะทำให้มีตัวรับ LDL มากขึ้นตามไปด้วย



ภาพประกอบ 2 การนำ LDL เข้าไปภายในเซลล์

### ไลโปโปรตีนในพลาสมา

พลาสมาที่ได้จากการเจาะเลือดหลังอดอาหารประมาณ 12 ชั่วโมง จะมีลิพิดทั้งหมดประมาณ 400-800 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Stryer, 1988 : 560-572) ลิพิดเหล่านี้จะอยู่ในพลาสมาเป็นสารละลายและมีการรวมตัวกับโปรตีนเป็นไลโปโปรตีน ไลโปโปรตีนประกอบด้วยลิพิดที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และอะโปโปรตีน ลิพิดอยู่ร่วมกับโปรตีนที่จำเพาะด้วยพันธะนอนโควาเลนต์ (non covalent) ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding) แรงดึงดูดไฟฟ้าสถิต (electrostatic force) และอันตรกิริยาของหมู่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ไลโปโปรตีนมีปริมาณลิพิดประมาณ 50-90 % ประกอบด้วย ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) และไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) นอกจากนี้ยังประกอบด้วย

โคเลสเตอรอล และโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ในปริมาณต่างกัน ไตรกลีเซอไรด์และโคเลสเตอรอล จะอยู่บริเวณด้านในของโมเลกุล ถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลที่ชอบน้ำซึ่งเป็นสายโซ่นอลิเพอติก หรือ ฟอสโฟลิพิด ชั้นนอกของไลโปโปรตีนนี้จะหันเข้าหาน้ำทำให้ไลโปโปรตีนละลายน้ำได้ ดังภาพประกอบ 3 (อภัสรา ชมิตต์. 2536 : 208-210)



ภาพประกอบ 3 ลักษณะของพลาสมาไลโปโปรตีน

ไลโปโปรตีน อาจแบ่งได้ดังนี้ (นันทยา ขนรัตน์. 2532 : 44-52)

1. ตามความหนาแน่น เนื่องจากไลโปโปรตีนมีอัตราส่วนของโปรตีนและลิพิดต่างกัน จึงทำให้ความหนาแน่นไม่เท่ากัน เมื่อปรับความหนาแน่นของพลาสมาให้เป็น 1.063 (g/ml) แล้วปั่นด้วยความเร็วสูง จะแยกไลโปโปรตีนออกมาตามค่าการลอยตัว (sf) (ซึ่งเป็นอัตราส่วนกลับของ

ความหนาแน่น) จากมากไปหาน้อยได้เป็น ไคโลไมครอน (Chylomicron) ไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำมาก (Very low density lipoprotein : VLDL) ไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (Low density lipoprotein : LDL) และไลโปโปรตีนความหนาแน่นสูง (High density lipoprotein : HDL) ตามลำดับ

2. ตามประจุและมวล เมื่อการแยกด้วยการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า แล้วย้อมด้วยสีที่ติดลิพิด จะเห็นการเคลื่อนที่ของไลโปโปรตีนต่าง ๆ คือ ไคโลไมครอน อยู่ตรงจุดเริ่มต้น และต่อไปเป็น ตรีบีตา- บีตา- และแอลฟา-ไลโปโปรตีน ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับการแยกตามความหนาแน่น จะตรงกับส่วน ไคโลไมครอน VLDL LDL และ HDL ตามลำดับ

3. ตามขนาด จะแยกไลโปโปรตีนตามขนาดโมเลกุลแบ่งได้เป็น เล็ก กลาง และใหญ่

องค์ประกอบและหน้าที่ของไลโปโปรตีนชนิดต่าง ๆ (Voet and Voet, 1990 :

304-313)

1. ไคโลไมครอน มีขนาดต่าง ๆ กัน มีขนาดตั้งแต่ 800-5000 อังสตรอม ลิพิดส่วนใหญ่ ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ 86% ฟอสโฟลิพิดประมาณ 8% โคเลสเตอรอลประมาณ 5% และโปรตีน 0.5-2.0% ไคโลไมครอนทำหน้าที่ขนส่งไตรกลีเซอไรด์ โคเลสเตอรอลและลิพิดชนิดอื่น จากอาหารโดยการดูดซึมจากลำไส้เล็กไปยังเนื้อเยื่อไขมันและเนื้อเยื่อรอบนอก (peripheral tissue) เช่น กล้ามเนื้อ ไคโลไมครอนจะถูกย่อยสลายด้วยไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) เพื่อปล่อยไตรกลีเซอไรด์ให้แก่เนื้อเยื่อไขมันและกล้ามเนื้อ และส่วนที่เหลือ คือไคโลไมครอนเรเมนท์ (chylomicron remnant) เป็นส่วนที่มีโคเลสเตอรอลสูงจะเข้าสู่ตับ ดังนั้นไคโลไมครอนจึงขนส่งโคเลสเตอรอลที่ได้จากการดูดซึมที่ลำไส้เล็กไปยังตับด้วย

2. ไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำมาก (VLDL) ขนาดของ VLDL มีตั้งแต่ 300-800 อังสตรอม ทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นส่วนประกอบ VLDL ประกอบด้วยลิพิด 90-92% โดยน้ำหนัก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไตรกลีเซอไรด์ถึง 88 % ที่เหลือเป็นโปรตีน VLDL ถูกสร้างขึ้นในตับ ทำหน้าที่ขนส่งไตรกลีเซอไรด์ ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในร่างกายจากตับไปยังเนื้อเยื่อไขมันและกล้ามเนื้อ เมื่อไตรกลีเซอไรด์ถูกสลายจาก VLDL โดยไลโปโปรตีนไลเปส VLDL จะกลายเป็นเรเมนท์ที่เรียกว่า IDL (intermediate density lipoprotein) ซึ่งมีโคเลสเตอรอลและเฮอร์ปริมาณ

สูง ครึ่งหนึ่งของ IDL จะเข้าสู่ตับอีกครั้งหนึ่งโดยเปลี่ยนไปเป็น LDL

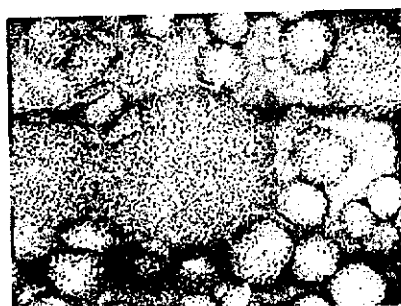
3. ไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (LDL) LDL มีขนาดตั้งแต่ 180-280 อังสตรอม มีลิพิด 75% และโปรตีน 25% ส่วนที่เป็นลิพิด เป็นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ประมาณ 50% โคเลสเตอรอลอิสระเพียง 10% ฟอสโฟลิพิด 30% และไตรกลีเซอไรด์ 10% ส่วนที่เป็นโปรตีนมี อะโปโปรตีนบี เป็นส่วนประกอบสำคัญ LDL ทำหน้าที่ขนส่งโคเลสเตอรอลในเลือด (โคเลสเตอรอลจากอาหาร) ไปยังเนื้อเยื่อรอบนอก และควบคุมการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลในเนื้อเยื่อเหล่านี้

4. ไลโปโปรตีนความหนาแน่นสูง (HDL) HDL มีขนาดเล็กที่สุดในกลุ่ม คือ มีขนาด 50-120 อังสตรอม ส่วนที่เป็นลิพิดจะเป็นฟอสโฟลิพิด 12-21% ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเลซิทีน โคเลสเตอรอลเอสเทอร์ 32% ส่วนที่เป็นโปรตีน ที่สำคัญ ได้แก่ อะโปโปรตีนเอ ซี ดี และ อี HDL มีปริมาณฟอสโฟลิพิดและโคเลสเตอรอลสูง ทำหน้าที่กำจัดโคเลสเตอรอลที่ปล่อยออกสู่กระแสเลือดโดยเนื้อเยื่อรอบนอกไปยังตับ โคเลสเตอรอลเหล่านี้ถูกปล่อยจากเซลล์ที่ตายหรือเยื่อหุ้มเซลล์ เอ็นไซม์เอซิลทรานส์เฟอเรส (acyl transferase) ใน HDL จะเปลี่ยนโคเลสเตอรอลเป็นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ HDL จะส่งโคเลสเตอรอลเอสเทอร์นี้ให้กับ VLDL หรือ LDL โดยทรานส์เฟอร์โปรตีน (transfer protein)

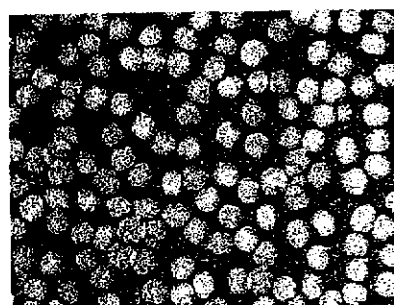
ตาราง 2 ชนิดของไลโปโปรตีนและส่วนประกอบ

| ชนิด       | ความหนาแน่น<br>(g/cm <sup>3</sup> ) | ค่าการลอยตัว<br>(Sf) | เส้นผ่านศูนย์กลาง<br>(nm) | ส่วนประกอบ    |              |               |
|------------|-------------------------------------|----------------------|---------------------------|---------------|--------------|---------------|
|            |                                     |                      |                           | โปรตีน<br>(%) | ลิพิด<br>(%) | ลิพิดหลัก     |
| ไคโลไมครอน | 0.95                                | 400-100,000          | 80-500                    | 2.0-0.5       | 99.5-98      | ไตรกลีเซอไรด์ |
| VLDL       | 0.95-1.006                          | 20-400               | 30-80                     | 12            | 88           | ไตรกลีเซอไรด์ |
| LDL        | 1.006-1.063                         | 12-20                | 18-28                     | 25            | 75           | โคเลสเตอรอล   |
| HDL        | 1.063-1.210                         | -                    | 5-12                      | 50            | 50           | โคเลสเตอรอล   |

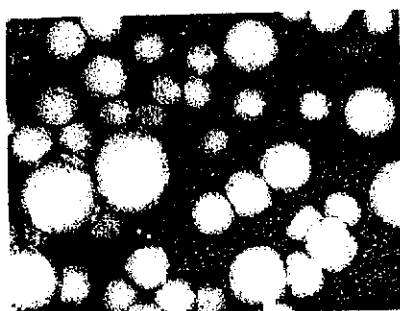
(Brown, M.S. and others, 1987 : 1651)



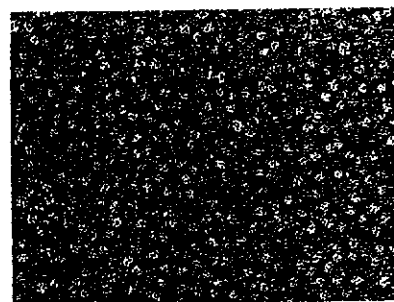
Chylomicrons



LDL

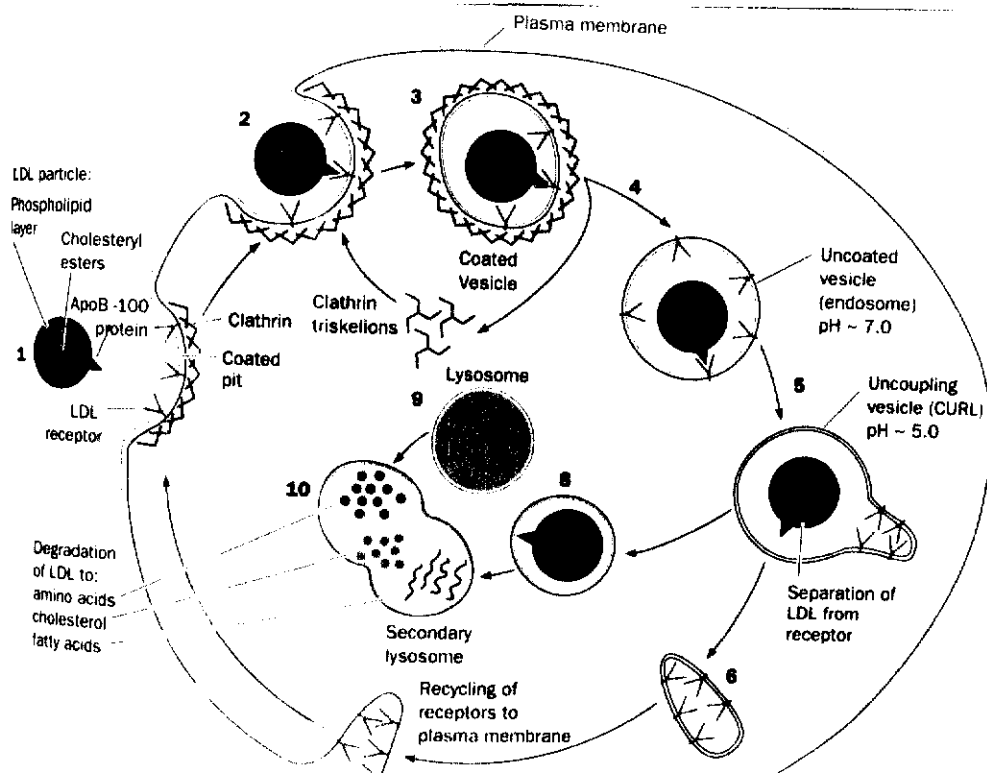


VLDL



HDL

ภาพประกอบ 4 ขนาดของไลโปโปรตีน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน



ภาพประกอบ 5 การขนส่งไตรกลีเซอไรด์และโคเลสเตอรอลของไลโปโปรตีน

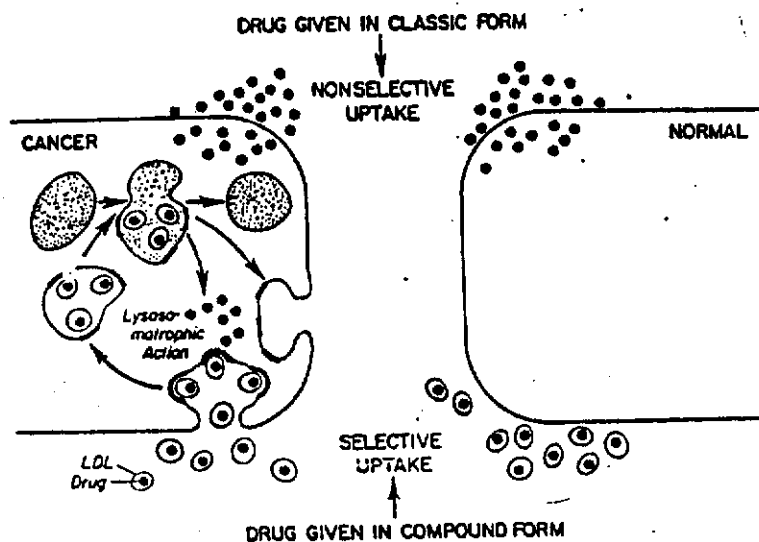
การศึกษามันต์ของตัวรับ LDL ในเนื้อเยื่อไฟโบรบลาสต์ (human fibroblasts) พบว่าตัวรับ LDL มีแรงยึดจับสูง (high affinity,  $K_d \sim 4 \text{ ug ของ LDL protein/ml}$ ) มีความจำเพาะต่อ LDL มากกว่า HDL ประมาณ 400 เท่า และพบว่าปริมาณของตัวรับ LDL จะลดลงเมื่อมี 25-ไฮดรอกซีโคเลสเตอรอล และโคเลสเตอรอลเพิ่มมากขึ้น (Basu and others, 1973: 3825-3856)

นอกจากนี้ยังพบว่าตัวรับ LDL ของเซลล์มะเร็งที่มีจุดกำเนิดจากเนื้อเยื่อผิวหนัง (Human carcinoma cells : A-431) มีตัวรับ LDL มากกว่าเซลล์ไฟโบรบลาสต์ 5 เท่า มากกว่าเซลล์จากรังไข่ของหนูแฮมสเตอร์ (Chinese hamster ovarian cells : CHO) 9 เท่า และมากกว่าเซลล์ปกติ 25 เท่า (Anderson and others, 1981 : 441-452)

การศึกษาเมตาบอลิซึมของ LDL ในเซลล์มะเร็งเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ โดยใช้เซลล์มะเร็งที่เชื่อมุ่้นนอกปากมดลูก (EC-50) เชื่อมุ่้นนอกช่องคลอด (EC-82) เชื่อมุ่้นในมดลูก (HECB-265) เชื่อมุ่้นในบริเวณช่องท้อง (AC-265) และเชื่อมุ่้นในช่องคลอด (AC-258) เซลล์ปกติที่ใช้ คือเซลล์ไฟโบรบลาสต์บริเวณปากมดลูก และเซลล์เชื่อมุ่้นในของมดลูก พบว่าทั้งเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็งจะมีเมตาบอลิซึมของ LDL เป็นแบบเดียวกัน แต่เซลล์มะเร็งจะมีเมตาบอลิซึมของ LDL ในอัตราที่มากกว่าเซลล์ปกติ โดยเฉพาะ EC-50 มีเมตาบอลิซึมของ LDL มากกว่าเซลล์ปกติถึง 20 เท่า ส่วนเซลล์มะเร็งชนิดอื่นคือ EC-82 HECB-296 AC-265 AC-258 มีอัตราเมตาบอลิซึมของ LDL มากกว่าเซลล์ปกติ 10 5 3 และ 2 เท่าตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์มะเร็งมีการแบ่งตัวอย่างต่อเนื่อง จึงต้องการโคเลสเตอรอลจำนวนมากเพื่อนำไปใช้สำหรับสังเคราะห์เยื่อหุ้มเซลล์ จึงน่าที่จะใช้สมบัติดังกล่าวเป็นประโยชน์ในการใช้รักษามะเร็งโดยวิธีเคมีบำบัดได้ (Gal and others, 1981 : 315-319)

ได้มีการศึกษาการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลภายในเซลล์มะเร็ง เมตาบอลิซึมในเซลล์มะเร็งเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ และบริเวณที่จำเพาะต่อ LDL โดยใช้เซลล์มะเร็ง EC-50 และ AC-258 และเซลล์ปกติที่ได้จากอวัยวะปกติของหนูไม่มีขน คือ หัวใจ ตับ ปอด ไต และสมอง พบว่าการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลภายในเซลล์ของ AC-258 มากกว่า EC-50 ถึง 3 เท่า เมตาบอลิซึมของ LDL ใน EC-50 และ AC-258 มากกว่าเซลล์ปกติ 15-50 เท่า ทั้ง EC-50 และ AC-258 มีตัวรับที่จำเพาะต่อ LDL โดย EC-50 มีบริเวณที่จำเพาะต่อ LDL มากกว่าเซลล์ปกติ 15-30 เท่า จากสมบัติดังกล่าวจึงคิดว่าน่าที่จะใช้ LDL เป็นตัวพาเข้าไปในเซลล์มะเร็งทั้งนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็ง และลดผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติอื่น ดังในภาพประกอบ 6 (Gal and others, 1981 : 877-885)

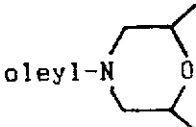
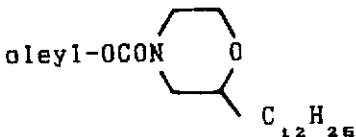
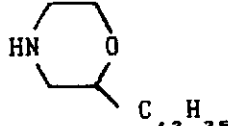
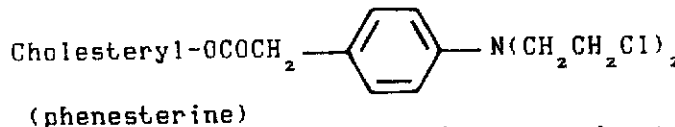




ภาพประกอบ 6 การที่ LDL เป็นตัวพาพาเข้าไปในเซลล์มะเร็ง

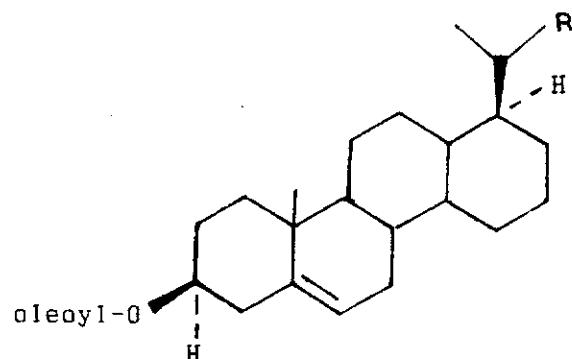
ได้มีการศึกษาความสามารถของสารที่สังเคราะห์ขึ้น (ตาราง 3) แล้วรวมตัวกับ LDL ในการทำลายและยับยั้งการแบ่งเซลล์ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ปกติ และจากบุคคลที่มีโคเลสเตอรอลในเลือดสูง พบว่าสารประกอบหมายเลข 24 และ 25 ปริมาณความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถทำลายและยับยั้งการแบ่งเซลล์ได้ เนื่องจากทั้งสองสารเป็นสารที่อยู่ในกลุ่ม alkylating agents ที่เมื่อเข้าไปภายในเซลล์แล้วสารทั้งสองสามารถแตกตัวได้ดี (hydrolysis) นอกจากนี้ยังเป็นสารที่จำเพาะกับเซลล์ปกติแต่ไม่จำเพาะกับเซลล์จากบุคคลที่มีโคเลสเตอรอลในเลือดสูง ดังนั้นสารประกอบหมายเลข 24 และ 25 ที่รวมกับ LDL แล้วนั้นน่าจะเป็นสารที่เข้าไปในเซลล์ปกติโดยวิถีทาง (pathway) ของ LDL

ตาราง 3 สารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้นแล้วรวมตัวกับ LDL เพื่อศึกษาความสามารถในการทำลาย  
และยับยั้งการแบ่งเซลล์ (Firestone and others. 1984)

| หมายเลข | สาร                                                                                                    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1       | <i>N</i> -oleylimidazole                                                                               |
| 2       | <i>N</i> -oleylmorpholine                                                                              |
| 3       | oleyl- $\text{OCON}-(\text{C}_{12}\text{H}_{25})\text{CH}_2-\text{CF}_3$                               |
| 4       | oleyl- $\text{OCON}-(\text{C}_{12}\text{H}_{25})_2-\text{CHF}_2$                                       |
| 5       | oleyl- $\text{OCON}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$                                               |
| 6       |                      |
| 7       |                     |
| 8       | $\text{C}_8\text{F}_{17}\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}_2$                                            |
| 9       | $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NHCH}_2\text{CF}_3$                                                   |
| 10      | $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NHCH}_2\text{CHF}_2$                                                  |
| 11      | $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$                                                         |
| 12      |                     |
| 13      | <i>N</i> -retinylmorpholine                                                                            |
| 14      | <br>(phenesterine) |
| 15      |                    |

## ตาราง 3 (ต่อ)

| หมายเลข | สาร |
|---------|-----|
|---------|-----|



## โครงสร้างของสารหมายเลข 16-25

- |    |                                                                                                                                   |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 16 | $R = \text{CON} \begin{array}{c} \diagup \text{O} \diagdown \\   \quad   \\ \text{C}_{12}\text{H}_{25} \end{array}$               |
| 17 | $R = \text{CH}_2\text{OCON} \begin{array}{c} \diagup \text{O} \diagdown \\   \quad   \\ \text{C}_{12}\text{H}_{25} \end{array}$   |
| 18 | $R = \text{COHN-oleyl}$                                                                                                           |
| 19 | $R = \text{CH}_2\text{OCONHC}_{12}\text{H}_{25}$                                                                                  |
| 20 | $R = \text{CH}_2\text{OCONHCH}_2\text{CH}_2\text{C}_8\text{F}_{17}$                                                               |
| 21 | $R = \text{CONMeOCON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$                                                                         |
| 22 | $R = \text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_3 \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ |

## ตาราง 3 (ต่อ)

| หมายเลข | สาร                                                                 |
|---------|---------------------------------------------------------------------|
| 23      | $R = (CH_2)_9 OCO(CH_2)_9 - \text{C}_6\text{H}_4 - N(CH_2CH_2Cl)_2$ |
| 24      | $R = CH_2 OCON(CH_2CH_2Cl)_2$                                       |
| 25      | $R = (CH_2)_9 OCON(CH_2CH_2Cl)_2$                                   |
| oleyl   | $= \text{CCCCCCCCC=CCCCCCCC}CH_2-$                                  |
| oleoyl  | $= \text{CCCCCCCCC=CCCCCCCC}CO-$                                    |
| retinyl | $= \text{C}_6\text{H}_{11}-\text{CH=CH-CH=CH-CH=CH-CH=CH}CH_2-$     |

(Firestone and others. 1984 : 1037-1043)

นอกจากนี้ยังได้ทดลองใช้ N-trifluoroacetyladiamycin-14-valerate (AD-32) ร่วมกับ LDL ติดฉลากรังสี  $^{125}I$  ฉีดเข้าไปในหนู หลังจาก 90 นาทีเก็บเลือด ตับ ม้าม และหัวใจ มาวิเคราะห์หาปริมาณ  $^{125}I$  พบว่า LDL ที่รวมกับ AD-32 เมื่อเข้าสู่กระแสโลหิต ถูกดูดซึมเข้าไปสะสมภายในอวัยวะต่าง ๆ เหมือนกับ LDL ปกติ จึงสรุปได้ว่า LDL น่าจะเป็นตัวพาพาเข้าสู่อวัยวะเป้าหมายที่ดี (Masquelier and others. 1986 : 3842-3847)

### ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อสังเคราะห์สารประกอบโบรอน (carboranic ester)
2. เพื่อแยกไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำจากเลือด
3. เพื่อศึกษาความสามารถในการรวมตัวของสารประกอบ carboranic ester กับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ

### ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. ทำให้ทราบความสามารถในการรวมตัวกันของสารประกอบ carboranic ester กับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ
2. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการรักษามะเร็งปากมดลูก โดยกระบวนการ BNCT

### ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. สังเคราะห์สารประกอบ carboranic ester จากปฏิกิริยาระหว่าง methyl-o-carboranic acid กับ แอลกอฮอล์ของกรดไขมันดังนี้ คือ
  - 1.1 Stearyl alcohol (C 18:0)
  - 1.2 Oleyl alcohol (C 18:1 ;  $\Delta^9$  cis)
  - 1.3 Elaidyl alcohol (C 18:1 ;  $\Delta^9$  trans)
2. แยกไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำจากเลือด โดยอาศัยความหนาแน่นของสารที่แตกต่างกันด้วยการเหวี่ยงความเร็วสูง (ultracentrifuge) เลือดที่นำมาใช้แยกไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ ได้จากธนาคารเลือดสภากาชาดไทย

## บทที่ 2

### วิธีการวิจัย

#### อุปกรณ์และสารเคมี

##### อุปกรณ์

1. Syringe filters (millipore)
2. Dialysis tubes (Benzoylated cellulose tubing, average fate width 9 mm, 10 ml/ft, Sigma)
3. เครื่องทำความเย็น (Freezer, FTS SYSTEMS model SF-1)
4. เครื่องทำให้แห้งโดยใช้ความเย็น (Lyophilizer, FTS SYSTEMS model no. FD-3-550-P)
5. เครื่อง Vortex
6. เครื่องเหวี่ยงแยกสาร (Centrifuge, Beckman model J2-21)
7. เครื่องเหวี่ยงแยกสารความเร็วสูง (Ultracentrifuge, Hitachi centrifuge model SCP 85H2)
8. เครื่อง Mass Spectrophotometer (Dupont model : GC-MS 409F, AEI-MS 902, GC-MS MAT 90)
9. เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer (Shimadzu model UV-160A)
10. เครื่อง Infrared Spectrophotometer (Jasco model IR-700)
11. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Varian model EM 360 L, 60 MHz)
12. เครื่อง Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer (Perkin Elmer model Plasma 1000/2000)

### สารเคมี

1. น้ำมันฝรั่ง (Sigma)
2. LDL มาตรฐาน (Sigma)
3. Stearyl alcohol (Sigma)
4. Oleyl alcohol (Sigma)
5. Elaidyl alcohol (Sigma)
6. Methyl-o-carboranic acid\*
7. Boric acid :  $H_3BO_3$  (Merck)
8. n-heptane : HPLC grade (Sigma)
9. ตัวอย่างเลือด (จากธนาคารเลือดสภากาชาดไทย)
10. 4-N,N-Dimethylaminopyridine : DMAP (Sigma)
11. Protein assay reagent : BCA reagent\* (Pierce)
12. Tricine : N-tris [hydroxymethyl] methyl glycine (Sigma)

### หมายเหตุ \*

a. methyl-o-carboranic acid เตรียมจาก methyl-o-carborane ทำปฏิกิริยากับ n-butyllitium ในสารละลาย n-hexane/ether ภายใต้บรรยากาศ  $N_2$  อุณหภูมิ 0 ถึง  $-5^{\circ}C$  เมื่อปฏิกิริยา lithilation สมบูรณ์แล้วเติม  $CO_2$  ลงไปอย่างรวดเร็วจะได้ methyl-o-carboranic acid วิธีการสังเคราะห์ methyl-o-carboranic acid เป็นวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Grafstein D. and J. Dvorek (Grafstein D. and J. Dvorek. 1963 : 1128-1133)

b. BCA Reagent มีส่วนประกอบดังนี้

B : sodium carbonate , sodium bicarbonate และ tartrate ใน 0.2 N sodium hydroxide

C : 4% cupric sulfate pentahydrate

A : สารละลาย BCA detection reagent (อัตราส่วนของ B:C:A คือ 24:1:25)

## วิธีดำเนินการทดลอง ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้

- ก. การสังเคราะห์สารประกอบ carbboranic ester
- ข. การเตรียมไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำจากเลือดคน
- ค. การรวมไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำกับสารประกอบ carbboranic ester
- ง. การหาปริมาณไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำและปริมาณโบรอนของสารประกอบ carbboranic ester ที่รวมตัวกับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำแล้ว

### ก. การสังเคราะห์สารประกอบ carbboranic ester

1. ละลาย methyl-o-carboranic acid (1) 1.0 มิลลิโมล (มวโมเลกุล 202) ใน toluene 10 มิลลิลิตร ค่อย ๆ เติม  $\text{PCl}_5$  1.1 มิลลิโมล จนหมดที่อุณหภูมิห้อง คนต่อที่อุณหภูมิ  $150^\circ\text{C}$  เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ตรวจสอบ acid chloride ที่เกิดขึ้นด้วย TLC เมื่อเกิด acid chloride หมดแล้วกลั่นตัวทำละลายออกตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยเทคนิค Infrared spectroscopy

2. นำ acid chloride (2) ที่ได้มาเติม DMAP 0.03 มิลลิโมล คนให้ทั่วแล้ว ค่อย ๆ เติมแอลกอฮอล์ของกรดไขมันปริมาณ 1.0 มิลลิโมล ที่ละลายใน toluene 5 มิลลิลิตร คนอย่างน้อย 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบสารที่เกิดขึ้นด้วย TLC และ Infrared spectroscopy

3. ระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator ทำสารละลายที่ได้ให้เป็นกลางโดยใช้  $\text{NaHCO}_3$  ที่อุณหภูมิประมาณ  $4^\circ\text{C}$

4. สกัดสารที่ได้ด้วย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  2 ครั้ง ล้างชั้นของ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ด้วยน้ำอีก 1 ครั้ง เติม anhydrous  $\text{MgSO}_4$  ลงในชั้นของ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  กรอง ระเหย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  โดยใช้เครื่อง rotary evaporator

5. แยกสารที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยใช้ column chromatography (silica gel เป็นตัวดูดซับ และใช้ hexane เป็นตัวชะ) วิเคราะห์โครงสร้างของสารที่ได้ (3) ด้วยเทคนิค



Infrared spectroscopy Mass spectroscopy และ Nuclear Magnetic resonance spectroscopy (ขั้นตอนการสังเคราะห์สารประกอบ carboranic ester ดังภาพประกอบ 7)

#### หมายเหตุ

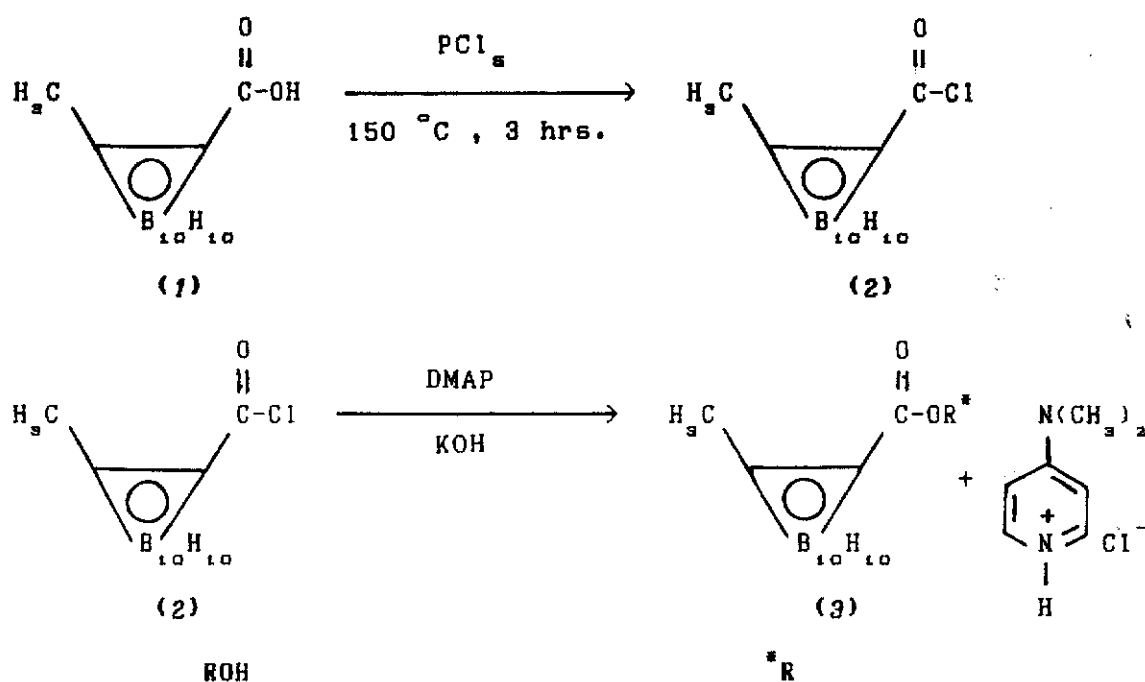
1. ขั้นตอนตั้งแต่ข้อ 1 และ 2 ทำภายใต้สภาวะ  $N_2$  และปราศจากความชื้น
2. TLC ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ และ hexane : ether (1:3) เป็นตัวชะ

#### ข. การเตรียม LDL จากเลือด

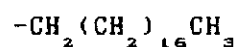
1. นำเลือด 200 มิลลิลิตร มาเหวี่ยงแยกพลาสมาออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ 1400 g เป็นเวลา 10 นาที ที่  $4^{\circ}C$  แยกชั้นพลาสมาออกโดยใช้ฟาสเจอร์บีเปิดปรับความหนาแน่นของพลาสมาจาก 1.0063 เป็น 1.019 กรัม/มิลลิลิตร โดยเติม KBr 0.0155 กรัม/มิลลิลิตรของพลาสมา เขย่าให้เข้ากัน เหวี่ยงแยกที่ 160000 g เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่  $4^{\circ}C$  แยก VLDL และเกล็ดออกจากชั้นล่างซึ่งมี LDL HDL และส่วนประกอบอื่นที่มีโมเลกุลใหญ่อยู่

2. เพิ่มความหนาแน่นของสารละลายที่มี LDL จาก 1.019 เป็น 1.063 กรัม/มิลลิลิตร โดยเติม KBr 0.0587 กรัม/มิลลิลิตรของพลาสมา เหวี่ยงแยกที่ 16000 g เป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่  $4^{\circ}C$  แยกชั้นบนสุดซึ่งเป็นชั้นของ LDL ออกด้วยฟาสเจอร์บีเปิด นำสารละลาย LDL มา dialyze ด้วย EDTA 0.3 มิลลิโมลาร์ pH 7.0 ที่  $4^{\circ}C$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อย่างน้อย 4 ครั้ง โดยเปลี่ยนสารละลาย EDTA ทุกครั้ง (1 ลิตร/1 ครั้ง)

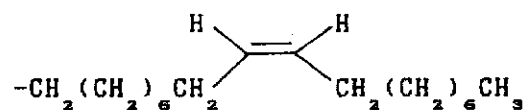
3. เติมแป้งมันฝรั่งลงในสารละลายที่ได้จากข้อ 2 (แป้งมันฝรั่งประมาณ 15 มิลลิกรัม/สารละลาย 300 ไมโครลิตร) เขย่าอย่างรวดเร็ว ทำสารละลายที่ได้ให้เป็นฟิล์มบาง ๆ เกาะอยู่ข้างหลอด โดยกลิ้งหลอดทดลองใน freezer จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่อง lyophilizer เก็บสารที่ได้ในบรรยากาศของก๊าซไนโตรเจนที่อุณหภูมิ  $-5^{\circ}C$



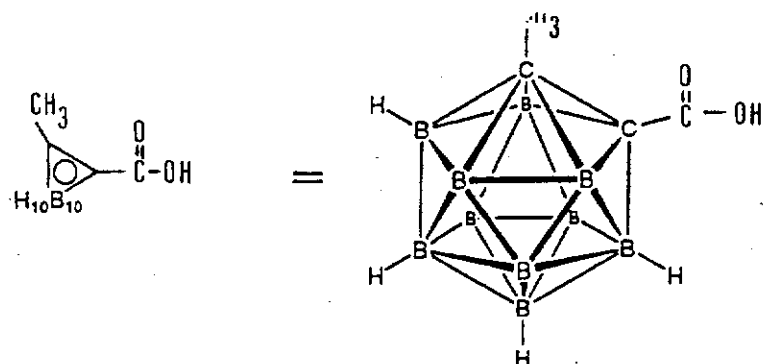
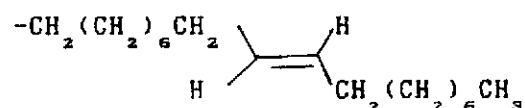
1. Stearyl alcohol



2. Oleyl alcohol



3. Elidyl alcohol



โครงสร้างของ methyl-o-carboranic acid

ภาพประกอบ 7 ขั้นตอนการสังเคราะห์สารประกอบ carboranic ester

### ค. การรวม LDL กับสารประกอบ carborenic ester

1. สกัดโคเลสเตอรอลจาก LDL โดยเติม n-heptane ที่อุณหภูมิ  $-4^{\circ}\text{C}$  ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในสารที่ได้จากข้อ ข เขย่าด้วย vortex ทุก ๆ 15 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารละลายมาเหวี่ยงที่ 1400 g เป็นเวลา 5 นาที ใช้ฟาสเจอร์บีเปิดคอคส่วนของ n-heptane ออกทำการสกัดอย่างน้อย 2 ครั้ง ระเหย n-heptane ที่เหลือด้วยก๊าซไนโตรเจน

2. เติมสารประกอบ carborenic ester (10 มิลลิกรัม / 250 ไมโครลิตร  $\text{CCl}_4$ ) ลงในสารที่ได้จากข้อ 1 เขย่าด้วย vortex ทุก 10-15 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ระเหย  $\text{CCl}_4$  ออกโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน

3. เติม 10 มิลลิโมลาร์ tricine (pH 8.6) 1 มิลลิลิตรเขย่าด้วย vortex อย่างรวดเร็ว เก็บที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  ประมาณ 14-18 ชั่วโมง นำมาเหวี่ยงที่ 1400 g 10 นาที คัดสารละลาย LDL ที่รวมตัวกับสารประกอบไบรอนออกจากแป้งโดยใช้ฟาสเจอร์บีเปิด กรองสารละลายที่ได้โดยใช้ 0.45 ไมโครเมตร syringe filter นำสารละลายที่กรองได้มา dialyze ใน 0.5 มิลลิโมลาร์ sodium phosphate และ 9% sodium chloride ที่ pH 7.4 อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมงอย่างน้อย 4 ครั้ง เก็บสารที่ได้ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$

4. ตรวจสอบ LDL ก่อนรวมตัว (ที่ได้จากขั้นตอน ข) และหลังรวมตัวกับ carborenic ester (ที่ได้จากขั้นตอน 3) ด้วยเทคนิค UV-Visible spectroscopy และ Infrared spectroscopy

### ง. การหาปริมาณ LDL และปริมาณไบรอนในสารประกอบ carborenic ester ที่รวมกับ LDL แล้ว

1. การหาปริมาณ LDL ใช้วิธีของเลาว์รี (Lowry and others, 1951 : 265-275) ดังนี้

1.1 เตรียม stock solution จาก LDL มาตรฐาน ให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

## 1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน ตามตารางดังนี้

| Stock solution<br>(ไมโครลิตร) | Distilled water<br>(มิลลิลิตร) | LDL concentration<br>(ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|
| 0                             | 2.00                           | 0.0                                        |
| 20                            | 1.98                           | 1.0                                        |
| 50                            | 1.95                           | 2.5                                        |
| 100                           | 1.90                           | 5.0                                        |
| 200                           | 1.80                           | 10.0                                       |

1.3 เตรียมสารตัวอย่าง 40 ไมโครลิตร ในน้ำกลั่น 1.96 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่างแต่ละหลอดเติม BCA reagent 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่ในอ่างน้ำร้อน 60 °C 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

1.4 ทำกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้นของ LDL ในสารละลายมาตรฐาน หาความเข้มข้นของ LDL ในสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน

1.5 ทำการทดลองซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง

## 2. หาปริมาณของโบรอน

2.1 เตรียม stock solution ของโบรอนโดยใช้ Boric acid ให้มีความเข้มข้นของโบรอน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน และสารตัวอย่างดังนี้

นำ stock solution ปริมาตร 0 2 4 6 10 มิลลิลิตร และสารตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ย่อยละลายในภาชนะทนความร้อนด้วย  $H_2SO_4$  เข้มข้น 18 โมลาร์ 2 มิลลิลิตร และ  $H_2O_2$

เข้มข้น 30% 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิประมาณ 200 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (Prachayasittikul. 2531 : 31-35) จะได้สารละลายมาตรฐานความเข้มข้นดังแสดงในตาราง เตรียมสารละลายมาตรฐาน และสารตัวอย่างด้วยวิธีการดังกล่าวอย่างน้อย 2 ครั้ง

| Stock solution<br>(มิลลิลิตร) | Boron concentration<br>(ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) |
|-------------------------------|----------------------------------------------|
| 0                             | 0                                            |
| 2                             | 20                                           |
| 4                             | 40                                           |
| 6                             | 60                                           |
| 10                            | 100                                          |

2.3 นำสารละลายทั้งหมดไปวัดปริมาณโบรอนด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (ICP-AES)

## บทที่ 3

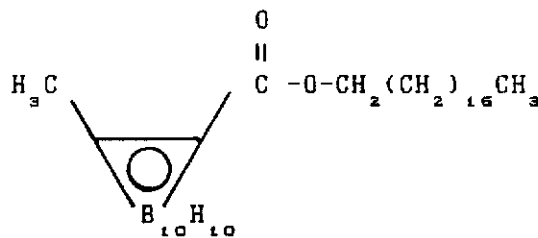
### ผลการวิจัย

#### ก. การสังเคราะห์สารประกอบ carboranic ester

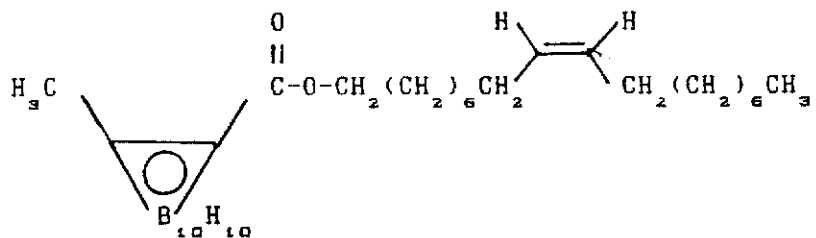
ผลการสังเคราะห์สารประกอบ carboranic ester โดยใช้แอลกอฮอล์ของกรดไขมัน 3 ชนิด (ภาพประกอบสเปกตรัมของสารแต่ละชนิดแสดงในภาคผนวก ก : ภาพประกอบ 9-18) ผลของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสังเคราะห์แสดงในตารางที่ 4

สูตรโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์

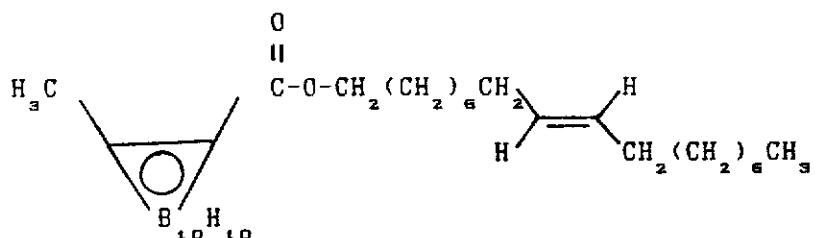
1. สาร ก



2. สาร ข



3. สาร ค



ตาราง 4 สมบัติทางกายภาพของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้

| สาร | ลักษณะของผลิตภัณฑ์      | จุดเดือด (°C)<br>(bp.) | จุดหลอมเหลว (°C)<br>(mp.) | ปริมาณร้อยละ<br>ผลิตภัณฑ์ |
|-----|-------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ก   | ของแข็ง<br>สีขาว        | -                      | 133-135                   | 57                        |
| ข   | ของเหลว<br>สีเหลืองอ่อน | 293                    | -                         | 45                        |
| ค   | ของเหลว<br>สีเหลืองอ่อน | 287                    | -                         | 39                        |

ตาราง 5 ข้อมูลทาง Infrared spectroscopy

| สาร | IR         |                         |
|-----|------------|-------------------------|
|     | $\nu$      | max (cm <sup>-1</sup> ) |
| ก   | 2930, 2850 | (CH) 1745 (C=O)         |
|     | 2580       | (BH) 1260 (C-O)         |
| ข   | 2920, 2860 | (CH) 1745 (C=O)         |
|     | 2590       | (BH) 1260 (C-O)         |
| ค   | 2920, 2840 | (CH) 1745 (C=O)         |
|     | 2580       | (BH) 1260 (C-O)         |



ตาราง 6 ข้อมูลทาง  $^1\text{H}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

| สาร | $\delta$ (ppm)                                                |
|-----|---------------------------------------------------------------|
| ก   | 0.7-2.0 (m , $16\text{CH}_2$ , $2\text{CH}_3$ , BH)           |
|     | 4.0-4.4 (m , $\text{O}-\text{CH}_2-$ , BH)                    |
| ข   | 0.7-2.3 (m , $14\text{CH}_2$ , $2\text{CH}_3$ , BH)           |
|     | 3.8-4.3 (m , $\text{O}-\text{CH}_2-$ , BH )                   |
|     | 5.20 (d , $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ , $J = 2 \text{ Hz}$ ) |
|     | 5.27 (d , $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ , $J = 2 \text{ Hz}$ ) |
| ค   | 0.5-2.0 (m , $14\text{CH}_2$ , $2\text{CH}_3$ , BH)           |
|     | 3.8-4.3 (m , $\text{O}-\text{CH}_2-$ , BH)                    |
|     | 5.24 (d , $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ , $J = 3 \text{ Hz}$ ) |
|     | 5.40 (d , $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ , $J = 3 \text{ Hz}$ ) |

หมายเหตุ m = multiplet

d = doublet

ตาราง 7 ข้อมูลทาง  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

| สาร | ppm.                                              | ชนิดของ C                      |
|-----|---------------------------------------------------|--------------------------------|
| ก   | 162                                               | C=O                            |
|     | 69                                                | $\text{CH}_2\text{-O}$         |
|     | 57                                                | $\text{CH}_3\text{-carborane}$ |
|     | 32, 30, 29.95, 29.9,<br>29.8, 29, 28, 28.5, 23    | $16\text{CH}_2$                |
|     | 14                                                | $\text{CH}_3\text{-CH}_2$      |
| ข   | 161                                               | C=O                            |
|     | 131, 130                                          | CH=CH                          |
|     | 69                                                | $\text{CH}_2\text{-O}$         |
|     | 57                                                | $\text{CH}_3\text{-carborane}$ |
|     | 32, 30.5, 30, 29.95, 29.3<br>29, 28, 27, 25.5, 23 | $14\text{CH}_2$                |
| ค   | 161                                               | C=O                            |
|     | 131, 130                                          | CH=CH                          |
|     | 69                                                | $\text{CH}_2\text{-O}$         |
|     | 57                                                | $\text{CH}_3\text{-carborane}$ |
|     | 33, 32, 30, 29.95, 29.3,<br>29, 28, 25, 23        | $14\text{CH}_2$                |
|     | 14                                                | $\text{CH}_3\text{-CH}_2$      |

ตาราง 8 ข้อมูลทาง Mass spectroscopy

| สาร | m/z (% RA)                                                                                                                                                                            |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ก   | $M^+$ 454 (1.9)<br>355(20.2) , 295(23.6) , 281(74.5) , 267(20.4) ,<br>221(100) , 207(47.2) , 147(32.6) , 73(75.4)                                                                     |
| ข   | $M^+$ 452 (1.0)<br>111(37.0) , 109(25.6) , 97(79.7) , 95(43.9) ,<br>85(21.6) , 83(97.8) , 81(56.9) , 69(99.7) ,<br>67(62.3) , 57(50.4) , 55(100)                                      |
| ค   | $M^+$ 452 (2.8)<br>223(40.9) , 131(22.2) , 109(20.0) , 99(39.8) ,<br>97(36.4) , 95(30.9) , 91(40.2) , 83(40.9) ,<br>81(40.3) , 79(30.2) , 69(60.5) , 67(50.3) ,<br>50(30.1) , 55(100) |

ข. ปริมาณของ LDL และปริมาณโบรอน

1. ปริมาณของ LDL ที่รวมกับสารประกอบ carboranic ester หาได้จากกราฟมาตรฐานที่เตรียมจาก LDL มาตรฐาน (กราฟมาตรฐานแสดงในภาคผนวก ก : ภาพประกอบ 30) ในตาราง 9

ตาราง 9 ปริมาณของ LDL ที่รวมกับสารประกอบ carboranic ester

| ชนิดของ<br>แอลกอฮอล์ใน<br>carboranic ester | ปริมาณ LDL (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) |            |            | เฉลี่ย |
|--------------------------------------------|----------------------------------|------------|------------|--------|
|                                            | ครั้งที่ 1                       | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |        |
| Stearyl alcohol                            | 342                              | 338        | 356        | 345    |
| Oleyl alcohol                              | 540                              | 558        | 524        | 541    |
| Elaidyl alcohol                            | 433                              | 416        | 500        | 450    |

2. ปริมาณโบรอนในสารประกอบ carborenic ester ที่รวมตัวกับ LDL แล้ว ซึ่งวัดได้จากเครื่อง ICP-AES เทียบกับกราฟมาตรฐาน (กราฟมาตรฐานโบรอนแสดงในภาคผนวก ก : ภาพประกอบ 31) ผลการทดลองแสดงในตาราง 10

ตาราง 10 ปริมาณโบรอนในสารประกอบ carborenic ester ที่รวมตัวกับ LDL

| ชนิดของ<br>แอลกอฮอล์ใน<br>carborenic ester | ปริมาณโบรอน (ไมโครกรัม / มิลลิตร) |            |            | เฉลี่ย |
|--------------------------------------------|-----------------------------------|------------|------------|--------|
|                                            | ครั้งที่ 1                        | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |        |
| Stearyl alcohol                            | 752                               | 685        | 673        | 703    |
| Oleyl alcohol                              | 774                               | 712        | 796        | 761    |
| Elaidyl alcohol                            | 674                               | 765        | 815        | 751    |

๓. อัตราส่วนระหว่างปริมาณของสารประกอบโบรอนต่อปริมาณของ LDL

ตาราง 11 อัตราส่วนโดยน้ำหนักระหว่างปริมาณโบรอนต่อปริมาณ LDL หลังจากรวมกันแล้ว

| ชนิดของ<br>แอลกอฮอล์ใน<br>carboranic ester | โบรอน/LDL  |            |            | เฉลี่ย   |
|--------------------------------------------|------------|------------|------------|----------|
|                                            | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |          |
| Stearyl alcohol                            | 2.19 : 1   | 2.03 : 1   | 1.89 : 1   | 2.04 : 1 |
| Oleyl alcohol                              | 1.43 : 1   | 1.28 : 1   | 1.52 : 1   | 1.41 : 1 |
| Elaidyl alcohol                            | 1.56 : 1   | 1.84 : 1   | 1.63 : 1   | 1.68 : 1 |

ตาราง 12 ผลสรุปความสามารถในการรวมตัวของสารประกอบ carborenic ester กับ LDL

| ชนิดของ<br>แอลกอฮอล์ใน<br>carborenic ester | โบรอน<br>(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | LDL<br>(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | โบรอน/LDL       |
|--------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------|
| Stearyl alcohol                            | ~703                           | ~345                         | $2.04 \pm 0.15$ |
| Oleyl alcohol (cis)                        | ~761                           | ~541                         | $1.41 \pm 0.11$ |
| Elaidyl alcohol (trans)                    | ~751                           | ~450                         | $1.68 \pm 0.09$ |

## บทที่ 4

### สรุปและอภิปรายผล

ในการสังเคราะห์สารประกอบ carboranic ester เริ่มต้นจาก methyl-o-carboranic acid ทำปฏิกิริยากับ  $\text{PCl}_5$  ที่อุณหภูมิ  $150^\circ\text{C}$  ได้ acid chloride จากการตรวจสอบด้วย TLC โดยใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ และ hexane : ether (1:3) เป็นตัวชะ เปรียบเทียบกับ methyl-o-carboranic acid พบว่า acid chloride ที่เกิดขึ้นจะมีค่า Rf มากกว่า methyl-o-carboranic acid (Rf acid chloride = 0.3, Rf methyl-o-carboranic acid = 0.16) ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค Infrared spectroscopy พบการดูดกลืนแสงที่  $1770\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดง  $\text{-C=O}$  ของ acid chloride เมื่อนำไปทำปฏิกิริยาต่อที่อุณหภูมิห้อง โดยเติม DMAP และแอลกอฮอล์ของกรดไขมันได้สารประกอบ carboranic ester ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับ methyl-o-carboranic acid และแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา พบว่าสารประกอบที่ได้มีค่า Rf มากกว่า methyl-o-carboranic acid และแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา (Rf product = 0.9 , Rf แอลกอฮอล์ = 0.6 , Rf methyl-o-carboranic acid = 0.16)

ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาทั้งหมดนี้ทำอย่างต่อเนื่อง โดยไม่ได้ทำการแยก acid chloride เนื่องจากในระหว่างการทำปฏิกิริยาหากมีความชื้นจะทำให้ acid chloride ถูก hydrolyzed กลายเป็น carboxylic acid ทำให้ไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อไปให้เกิดเป็นสารประกอบ carboranic ester แยกผลิตภัณฑ์ที่ได้ให้บริสุทธิ์ได้ด้วยวิธี column chromatography โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับและ hexane เป็นตัวชะ

การศึกษาข้อมูลทาง Infrared spectroscopy ของสาร ก ข และ ค พบว่ามีการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่  $1745\text{ cm}^{-1}$  และที่  $1260\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นจากการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของหมู่  $\text{C=O}$  และ  $\text{C-O}$  ตามลำดับ แสดงว่าเป็นสารประกอบเอสเทอร์ หมู่ BH ของ carborane จะดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่  $2580\text{ cm}^{-1}$  หรือ  $2590\text{ cm}^{-1}$



ข้อมูลทาง Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$  NMR : 60 MHz)

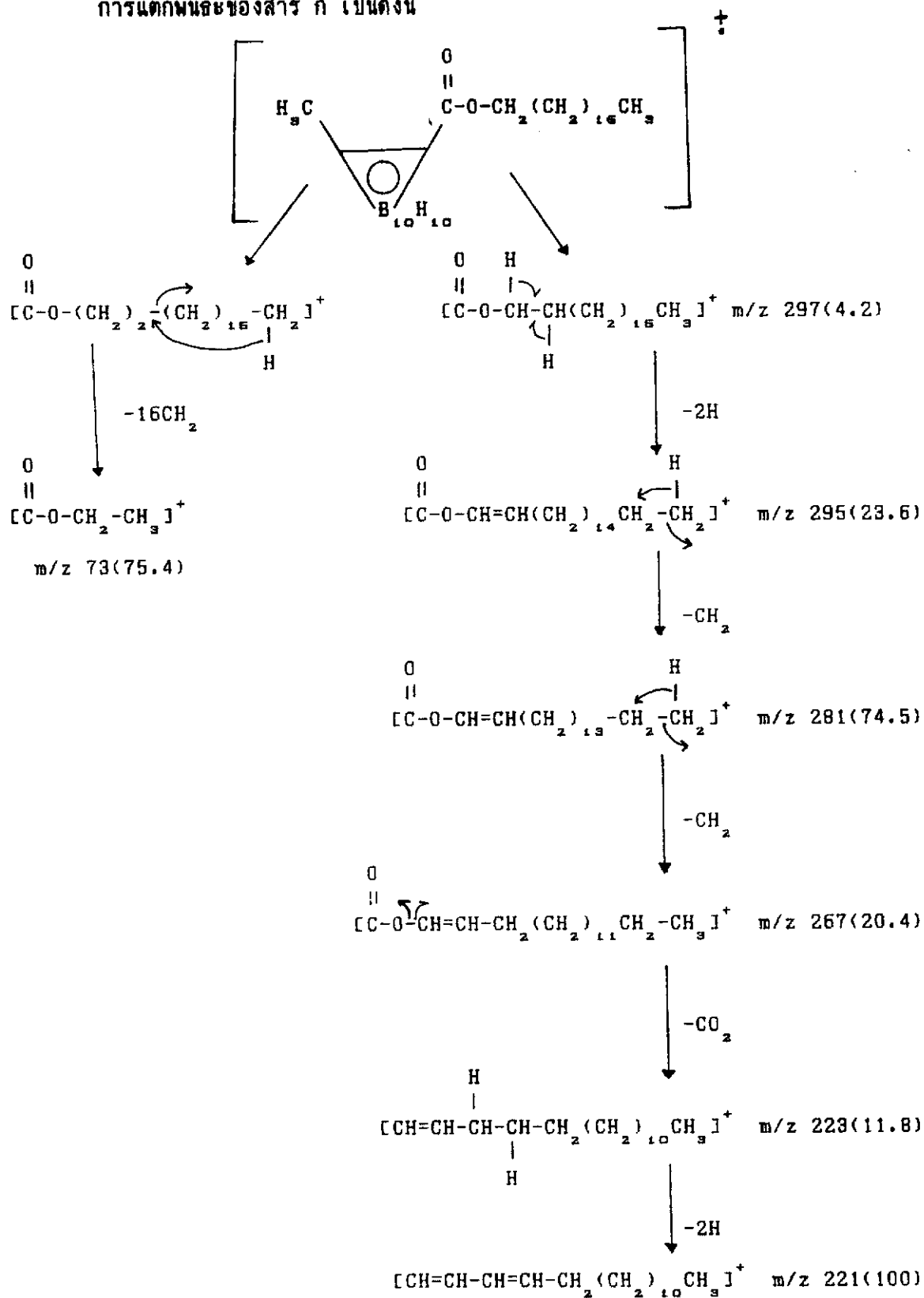
สาร ก มีสัญญาณเรโซแนนซ์ 2 สัญญาณที่ 0.7-2.0 ppm. เป็นเรโซแนนซ์ของ  $16\text{CH}_2$   $2\text{CH}_2$  และ BH และเรโซแนนซ์ที่ 4.0-4.4 ppm. ลักษณะแบบ multiplet เป็นเรโซแนนซ์ของ  $\text{O}-\text{CH}_2$  และ BH

สาร ข และสาร ค มีสัญญาณเรโซแนนซ์ 3 สัญญาณที่ 0.7-2.3 ppm. เป็นเรโซแนนซ์ของ  $14\text{CH}_2$  และ  $2\text{CH}_2$  ที่ 3.8-4.3 ppm. เป็นสัญญาณของ  $\text{O}-\text{CH}_2$  และ BH ส่วนสัญญาณที่ 5.2-5.4 ppm. เป็นสัญญาณที่เกิดจากการ Coupling ของ olefinic proton ทั้ง 2 ซึ่ง มีลักษณะแบบ broad doublet ค่า Coupling constant (J) ของสาร ข เท่ากับ 2 Hz ส่วนสาร ค มีค่า J เท่ากับ 3 Hz การที่ค่า J ของสาร ข และ ค ต่างกันเนื่องจากสารทั้งสองมีพันธะคู่เป็นแบบ cis และแบบ trans ตามลำดับ ซึ่งมีสเปกตรัมดัดภาพประกอบที่ 12-14

ข้อมูลของ  $^{13}\text{C}$  NMR จะเห็นว่าหมู่ methyl ( $\text{CH}_3$ ) 2 หมู่ที่ 14 และ 57 ppm. หมู่ methylene ( $\text{CH}_2$ ) มี 16 หมู่ อยู่ในช่วง 23-32 ppm. ซึ่งจะเห็นทั้งหมด 9 พีค ทั้งนี้อาจมีการซ้อนทับกันของ  $\text{CH}_2$  บางหมู่ และพีคที่ 69 ppm. เป็นพีคของ  $\text{CH}_2-\text{O}$  สำหรับ 2C ของ carborane นั้นไม่ปรากฏในสเปกตรัม สำหรับสาร ข และ ค ก็จะพบหมู่ methyl ( $\text{CH}_3$ ) 2 หมู่ที่ 14 และ 57 ppm. ส่วนคาร์บอนของหมู่ methylene ( $\text{CH}_2$ ) 14 หมู่ มีพีคในช่วง 23-32 ppm. พีคที่เกิดในช่วงนี้ของสารทั้ง 2 นี้จะต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากมีโครงสร้างแตกต่างกันตรงตำแหน่งพันธะคู่ที่เป็นแบบ cis และแบบ trans ส่วนในช่วง 69 ppm. เป็นพีคของ  $\text{CH}_2-\text{O}$  แต่ไม่พบพีคของ 2C ในวง carborane และพีคที่ 130, 131 ppm. เป็นพีคของ  $\text{CH}=\text{CH}$  ซึ่งมีสเปกตรัมดัดภาพประกอบที่ 15-17

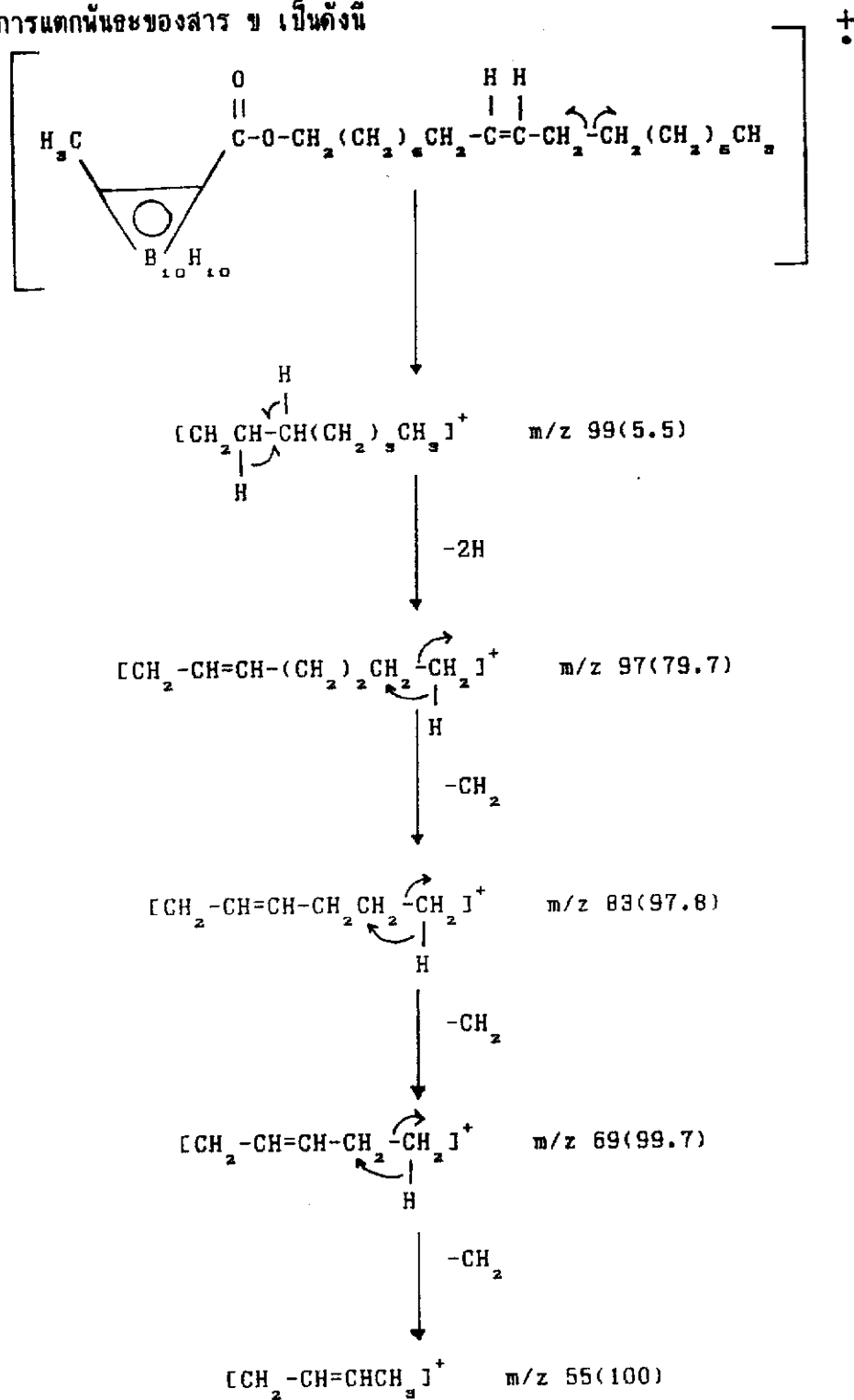
ข้อมูลทาง Mass spectroscopy แมสสเปกตรัมแสดงค่า m/z และร้อยละความสัมพัทธ์ (relative abundance : % RA) สาร ก มีมวลโมเลกุลจากการคำนวณเท่ากับ 454 สเปกตรัมของสาร ก พบพีคโมเลกุลาร์ไอออน ( $\text{M}^+$  454) % RA เท่ากับ 1.85 ปรากฏสเปกตรัมดัดภาพประกอบ 18

การแตกพันธะของสาร ก เป็นดังนี้



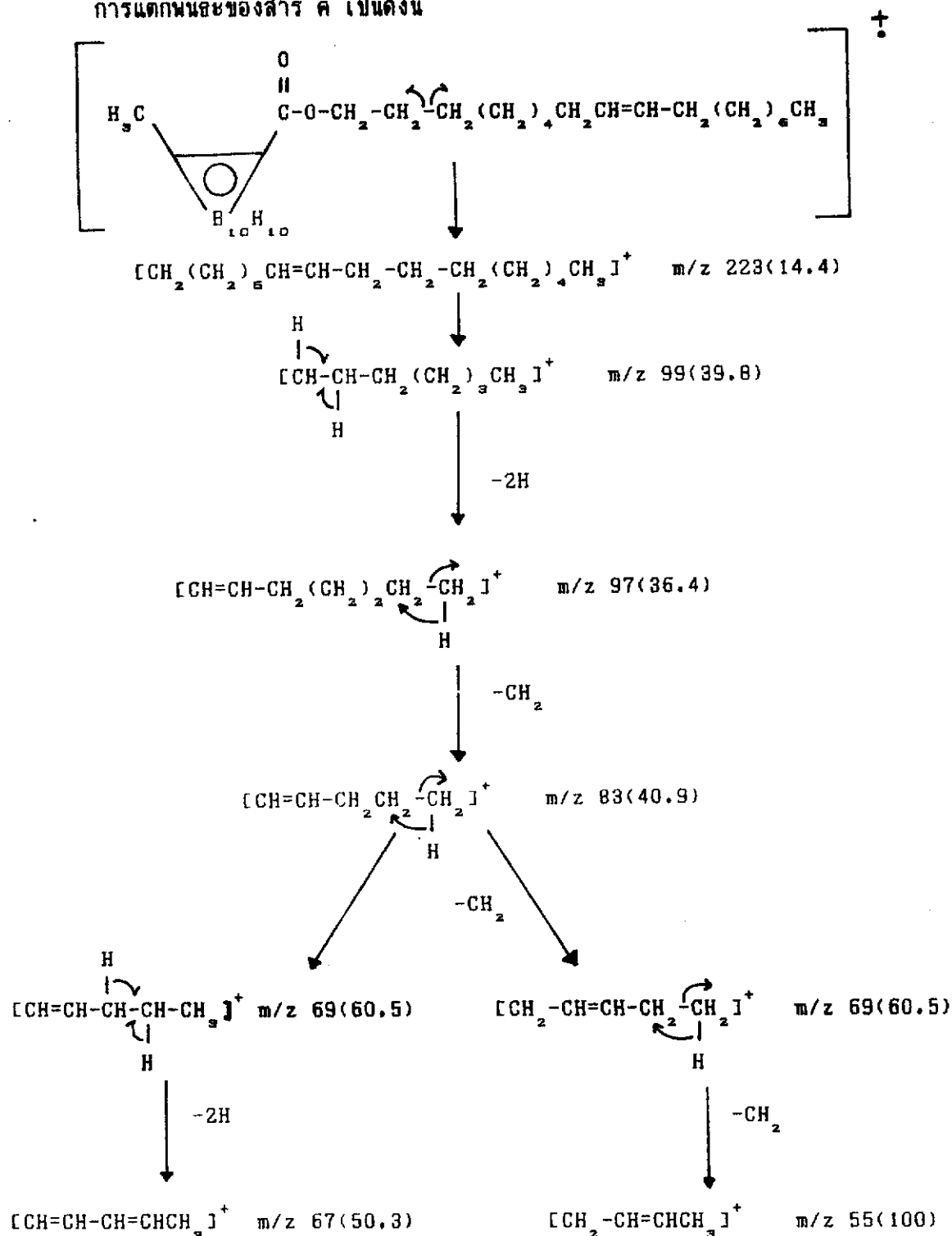
สาร ข มวลโมเลกุลจากการคำนวณเท่ากับ 452 จากสเปกตรัมพหุคูณโมเลกุลาร์ไอออน ( $M^+$  452) % RA เท่ากับ 1.02 ปรากฏสเปกตรัมดังภาพประกอบ 19

การแตกพันธะของสาร ข เป็นดังนี้



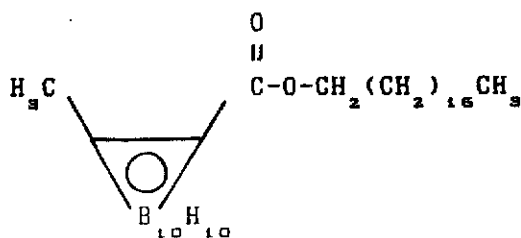
สาร ค มวลโมเลกุลจากการคำนวณเท่ากับ 452 จากสเปกตรัมพบพีคโมเลกุลาร์ไอออน ( $M^+$  452) % RA เท่ากับ 2.79 ปรากฏสเปกตรัมดังภาพประกอบ 20

การแตกพันธะของสาร ค เป็นดังนี้

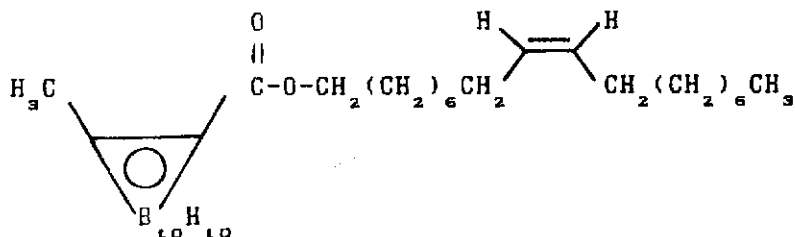


ข้อมูลทาง spectroscopy สารประกอบโบรอนทั้งสามสารน่าจะมีสูตรโครงสร้างดังนี้

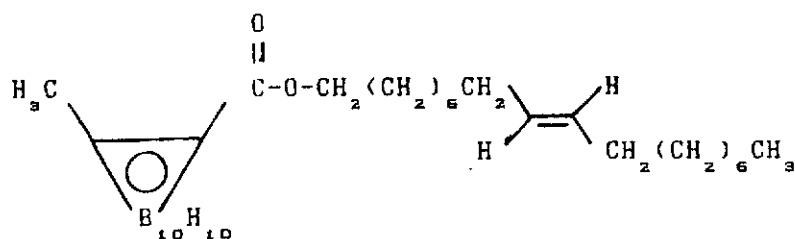
1. สาร ก (Stearyl carborane carboxylate : SCC)



2. สาร ข (Oleyl carborane carboxylate : OCC)



3. สาร ค (Elaidyl carborane carboxylate : ECC)



สารประกอบ SCC ที่สังเคราะห์ได้มีจุดหลอมเหลว 133-135 °C สารประกอบ OCC มีจุดเดือด 293 °C และสารประกอบ ECC มีจุดเดือด 287 °C สารตั้งต้นมีจุดเดือดและจุดหลอมเหลว ดังนี้ methyl-o-carboranic acid จุดหลอมเหลว = 140-150 °C (201-203 °C Grafstein, D. and J. Dvorak, 1963.) stearyl alcohol มีจุดหลอมเหลว = 59-60 °C oleyl alcohol จุดเดือด = 195 °C elaidyl alcohol จุดหลอมเหลว = 182-184 °C

ผลของ LDL ก่อนและหลังการรวมตัวกับสารประกอบ carboric ester ตรวจสอบด้วยเทคนิค UV-Visible spectroscopy (แสดงในภาพผนวก ก : ภาพประกอบ 25-29) โดยทำปฏิกิริยากับ BCA reagent ที่  $60^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสเปกตรัมของ LDL ก่อนรวมมีสเปกตรัมแบบเดียวกับสเปกตรัมของ BCA reagent สำหรับ LDL หลังรวมกับสารประกอบ carboric ester ทั้ง 3 สารพบว่ามีสเปกตรัมแบบเดียวกัน โดยในช่วง 400-800 นาโนเมตร จะมีสเปกตรัมเหมือนกับ LDL ก่อนรวม ส่วนสเปกตรัมในช่วง 200-400 นาโนเมตร จะเป็นแบบเดียวกันทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากสารทั้ง 3 มีโครโมฟอร์ที่คล้ายคลึงกัน เมื่อตรวจสอบ LDL ก่อนรวมและหลังรวมกับสารประกอบ carboric ester ด้วยเทคนิค Infrared spectroscopy (แสดงในภาพประกอบ 21-24) โดยเปรียบเทียบกับ LDL มาตรฐาน พบว่า LDL ทั้งก่อนรวมและหลังรวมกับสารประกอบ carboric ester มีลักษณะคล้ายกัน ไม่พบพีคของ B-H จากผลที่ได้ น่าจะเกิดจากการที่สารประกอบ carboric ester เข้าไปรวมใน LDL โดยแทนตำแหน่งของโคเลสเตอรอล และโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ ที่อยู่แกนกลางของ LDL ทำให้เกิดการบังจาก LDL ที่หุ้มอยู่ด้านนอกทำให้ไม่มีพีคที่เกิดจากการสั่นของ B-H

จากผลการทดลองหาปริมาณของ LDL ตามวิธีการของเลาว์รี จะเห็นได้ว่าปริมาณของ LDL ที่รวมตัวกับสารประกอบ carboric esters ทั้ง 3 สาร คือ SCC OCC และ ECC นั้น ปริมาณของ LDL ที่รวมตัวกับ OCC จะมากกว่า ECC และ SCC ตามลำดับ โดยปริมาณ LDL ที่รวมกับ OCC จะมากกว่าที่รวมกับ ECC 20% และมากกว่าที่รวมกับ SCC 57% โดยน้ำหนัก

จากการหาปริมาณโบรอนด้วยเทคนิค ICP-AES พบว่าในปริมาตรที่เท่ากันของสารที่รวมกับ LDL ทั้ง 3 สาร จะมีปริมาณโบรอนใกล้เคียงกัน OCC ที่รวมกับ LDL มีปริมาณของโบรอนมากกว่า SCC และ ECC ที่รวมกับ LDL เพียงเล็กน้อย (1-8% โดยน้ำหนัก)

อัตราส่วนระหว่างปริมาณโบรอนต่อปริมาณของ LDL ในสารประกอบ carboric esters ที่รวมตัวกับ LDL ทั้ง 3 สารนั้น SCC ที่รวมตัวกับ LDL มีอัตราส่วนของปริมาณโบรอนต่อปริมาณ LDL มากกว่าที่เกิดจากสาร 2 ชนิด คือมากกว่าที่เกิดจาก OCC 45% และ ECC 21% จากข้อมูลดังกล่าว LDL 1 ไมโครกรัม ซึ่งมีจำนวนโมเลกุลประมาณ  $2.01 \times 10^{14}$  โมเลกุล หรือ  $3.34 \times 10^{-13}$  โมลโมเลกุล (เมื่อมวลโมเลกุล LDL ประมาณ  $3.0 \times 10^6$  ดาลตัน) สามารถจะรวมกับโบรอนประมาณ  $6.84 \times 10^{-6}$  โมลอะตอม หรือ  $4.12 \times 10^{19}$  อะตอม

(LDL 1 ไมโครกรัม รวมกับโบรอนในสารประกอบ SCC ECC และ OCC ตามลำดับดังนี้  $6.51 \times 10^{-5}$   $6.96 \times 10^{-5}$  และ  $7.05 \times 10^{-5}$  โมลอะตอม) กล่าวคือ 1 โมเลกุล LDL สามารถรวมตัวกับโบรอนปริมาณ  $2.0 \times 10^5$  อะตอม

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อปริมาณ LDL เพิ่มขึ้น ก็จะมีปริมาณโบรอนมากขึ้นตามไปด้วย จึงสรุปได้ว่าปริมาณของสารประกอบ carboric ester ที่จะเข้าไปรวมกับ LDL ได้มากหรือน้อยนั้น ขึ้นอยู่กับปริมาณของ LDL ที่ทำการรวม นอกจากนี้แล้วโครงสร้างของสารที่รวมกับ LDL ก็มีความสำคัญเช่นเดียวกันดังจะได้อธิบายต่อไป (โครงสร้างของสารประกอบโบรอนแสดงในภาพประกอบ 7)

โครงสร้างทางเคมีของส่วนที่มาจากแอลกอฮอล์ของ carboric ester จะเห็นได้ว่า stearyl alcohol มีโครงสร้างที่มีมันตะเดี่ยวส่วน oleyl alcohol และ elaidyl alcohol มีโครงสร้างทางเคมีที่มีมันตะคู่ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 9 และ 10 แบบ cis และแบบ trans ตามลำดับ จากผลการทดลองที่พบว่า SCC รวมตัวกับ LDL ได้ดีกว่า OCC และ ECC ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของ SCC น่าที่จะจัดเรียงตัวใน LDL ได้ง่ายและมากกว่า OCC และ ECC เพราะส่วนของstearyl อาจมีการบิดเป็นเกลียว หรืออาจจัดเรียงตัวให้มีโครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอล ได้ (ดังแสดงในภาพประกอบ 32-35)

จากข้อมูลทั้งหมดดังได้กล่าวมาแล้วนั้น อาจสามารถสรุปได้ว่าความสามารถในการรวมตัวกันของสารประกอบ carboric ester กับ LDL ได้มากหรือน้อยนั้นนอกจากขึ้นอยู่กับปริมาณของ LDL แล้วอาจขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสารประกอบโบรอนนั้น ๆ ด้วย

#### ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาความสามารถในการรวมตัวของสารประกอบ carboric ester กับ LDL ขึ้นตอนต่าง ๆ ควรทำการทดลองอย่างต่อเนื่องตลอดการทดลอง
2. เลือดที่ใช้ในแยก LDL ควรเป็นเลือดใหม่ LDL ที่ใช้ในการศึกษาแต่ละครั้งควรได้มาจากเลือดของบุคคลเดียวกัน และได้จากการเหวี่ยงแยกครั้งเดียวกัน
3. LDL ที่แยกได้ควรใช้ต่อเลย เนื่องจาก LDL สลายตัวได้ หากจำเป็นต้องเก็บ LDL ควรเก็บที่อุณหภูมิประมาณ  $4^{\circ}\text{C}$

## บรรณานุกรม



## บรรณานุกรม

คณะกรรมการรชชาตวิทยาแห่งชาติ โรงพยาบาลองค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึกแห่งชาติ.

การวิเคราะห์สถานสุขภาพอนามัยและลำดับความสำคัญของโรคทางสาธารณสุขในประเทศไทย

ไทย. กรุงเทพฯ , 2530.

นันทา ชนรัตน์. สารไขมันในเลือด. หน้า 44-52. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2532.

สาธารณสุข, กระทรวง. สถิติสาธารณสุข.พ.ศ.2537. กรุงเทพฯ : กองสถิติสาธารณสุข , 2538.

อัสรา ชมิต์. ชีวเคมี. หน้า 208-210. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , 2536.

Anderson and others. "Inefficient Internalization of Receptor bound Low Density Lipoprotein in Human Carcinoma A-471 cells," The Journal of Cell Biology. 80 : 441-452 ; 1981.

Barth, R.F. and others. "Boron neutron capture therapy for cancer," Cancer. 70(12) : 2995-3008 ; 1992.

Basu, S.K. and others. "Characterization of the low density lipoprotein receptor in membranes prepared from human fibroblasts," The Journal of Biological Chemistry. 253(11) : 3852-3856 ; 1973.

Brown, M.S. and others. Principles of Internal Medicine. p. 1651. McGraw-Hill , 1987.

Conger, A.D. and N.H. Giles "The cytogenetic effect of slow neutron," Genetics. 35 : 397-417 ; 1950.

DeVita,V.T. "Principles of Chemotherapy," in Principle of Oncology. p.276-292. Philadelphia , 1993.

Firestone, R.A. and others. "Selective delivery of cytotoxic compounds to cell by the LDL pathway," Journal of Medicinal Chemistry. 27 : 1037-1043 ; 1984.

Gal, D. and others. "Cholesterol metabolism in cancer cells in monolayer culture. III. Low density lipoprotein metabolism," Journal of Cancer. 28 : 315-319 ; 1981.

Gal, D. and others. "Low density lipoprotein as a potential vehicle for chemotherapeutic agents and radionucleotides in the management of gynecologic neoplasms," Journal of Obstetrical Gynecology. 877-885 ; 1981.

Garrett, R.H. and C.M. Gristam. Lipid Biosynthesis. p.792-797 . United States of America , 1995.

Grafstein, D. and J. Dvorak. "Neocarborane, a New Family of Stable Organoboranes Isomeric with the carboranes," Inorganic Chemistry. 1128-1233. 1963.

Hellman, A. "Principles of Radiation Therapy," in Principles of Oncology. p.248-275. Philadelphia , 1993.

Kruger, P.G. and others. "Some biological effects of nuclear disintegration products on neoplastic tissue," Proceeding of The National Academy of Science of The United States of America. 26(1) : 181-192 ; 1940.

Lehninger, A.L., L.N. David and M.C. Michael Principles of Biochemistry. 674-678 ; 1993.

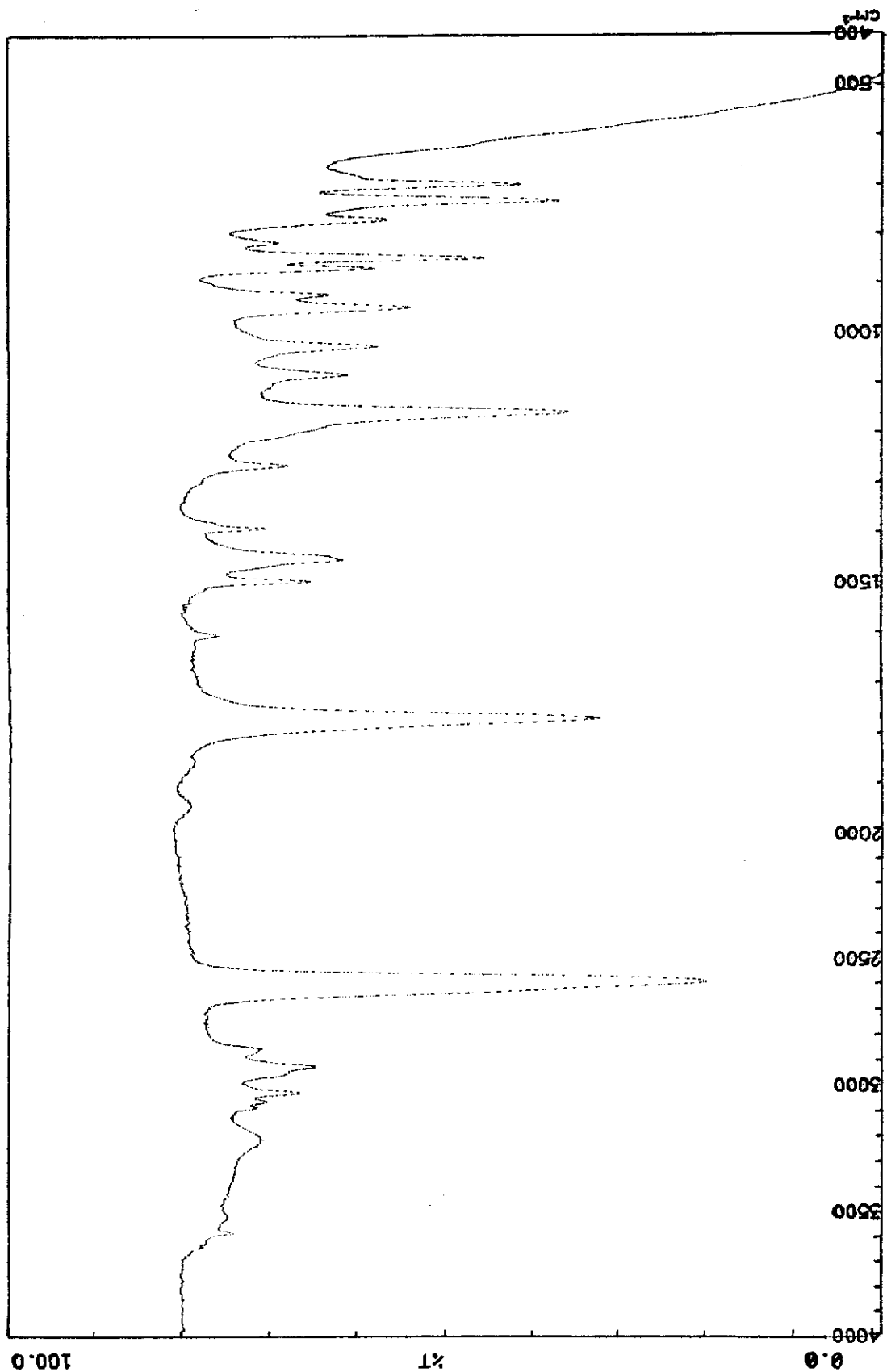
Locker, G.I. "Boron for neutron capture therapy," Journal of Roentgenology. 36 : 1 ; 1936.

Lowry, O.H. and others. "Protein measurement with the folin phenol reagent," The Journal of Biological Chemistry. 195 : 265-275 ; 1951

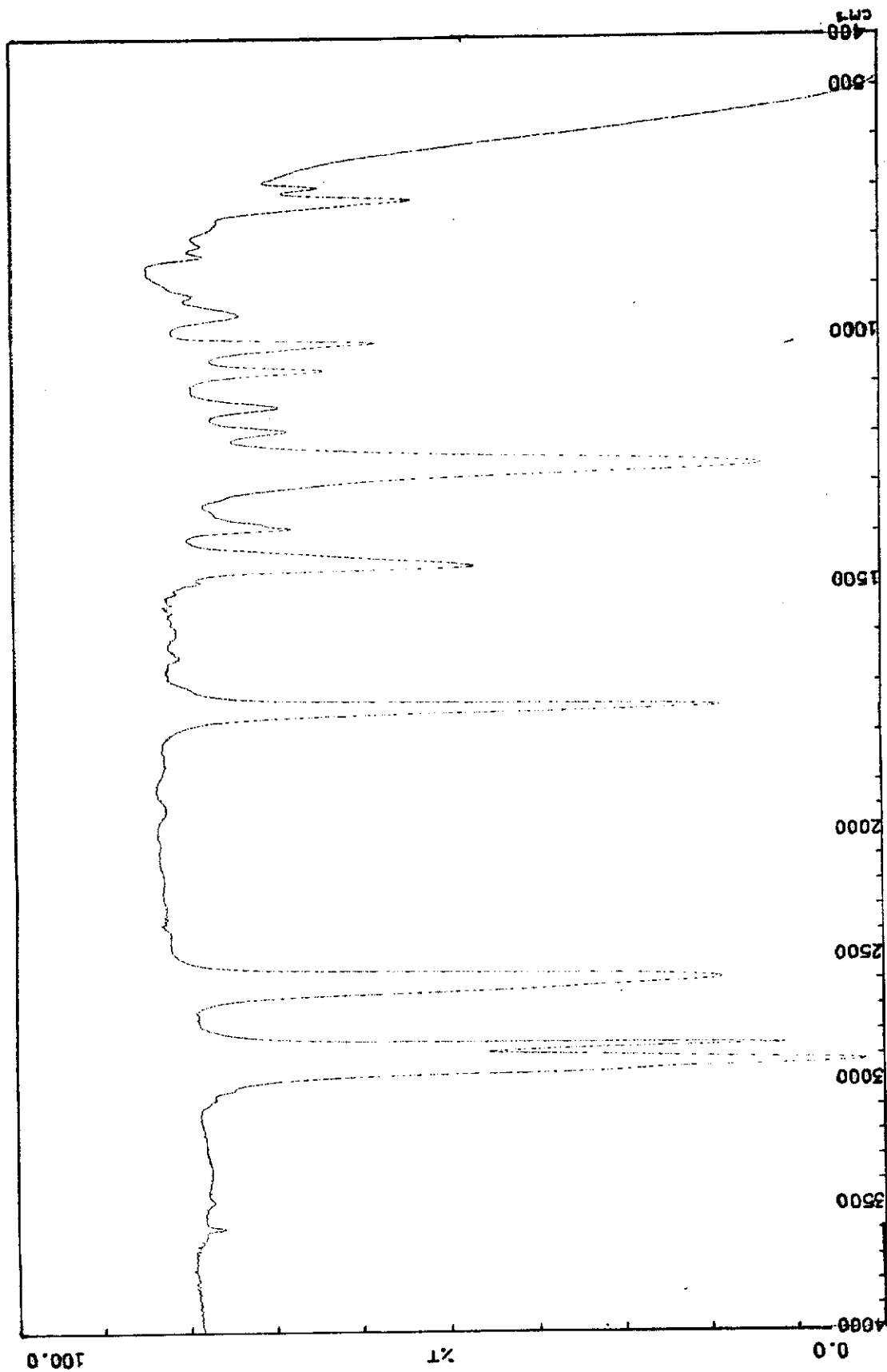
- Masquelier, M. and others. "Low density lipoprotein as a carrier of antitumoral drugs : *In vivo* fate of drug-human low density lipoprotein complexes in mice," Cancer Research. 46: 3842-3847 ; 1986.
- Mishima, Y. and others. "First human clinical trial of melanoma neutron capture diagnosis and therapy," Third international Symposium on NCT. 15-17 ; 1987.
- Montagno, E.de.A. and others. "Treatment of glioblastoma with boron neutron capture therapy," First International Symposium on NCT. 238-240 ; 1988.
- Prachayasittikul, S. and Z. Yosshida "Qualitative analysis of Trace elements in Medicinal Plants by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry," Srinakharinwirot University Science. 1 : 31-35 ; 2531.
- Rosenberg, S.A. "Principles of Surgical Oncology," in Principles of Oncology. p.238-247. Philadelphia , 1993.
- Stryer, L. Biochemistry. p. 560-572 . United States of America , 1988.
- Soloway, H.A. "Correlation of drug penetration of brain and chemical structure," Science. 128(19) : 1572-1574 ; December, 1958.
- Soloway, H.A. and others. "Boron compounds in cancer therapy," In Steinberg, H. and McCloskey, A.L. Progress in Boron Chemistry. p.203-234. New York : Macmillan Co., 1964.
- Voet, D. and J.G. Voet. Biochemistry. p. 304-313 . United States of America , 1990.

ภาคผนวก

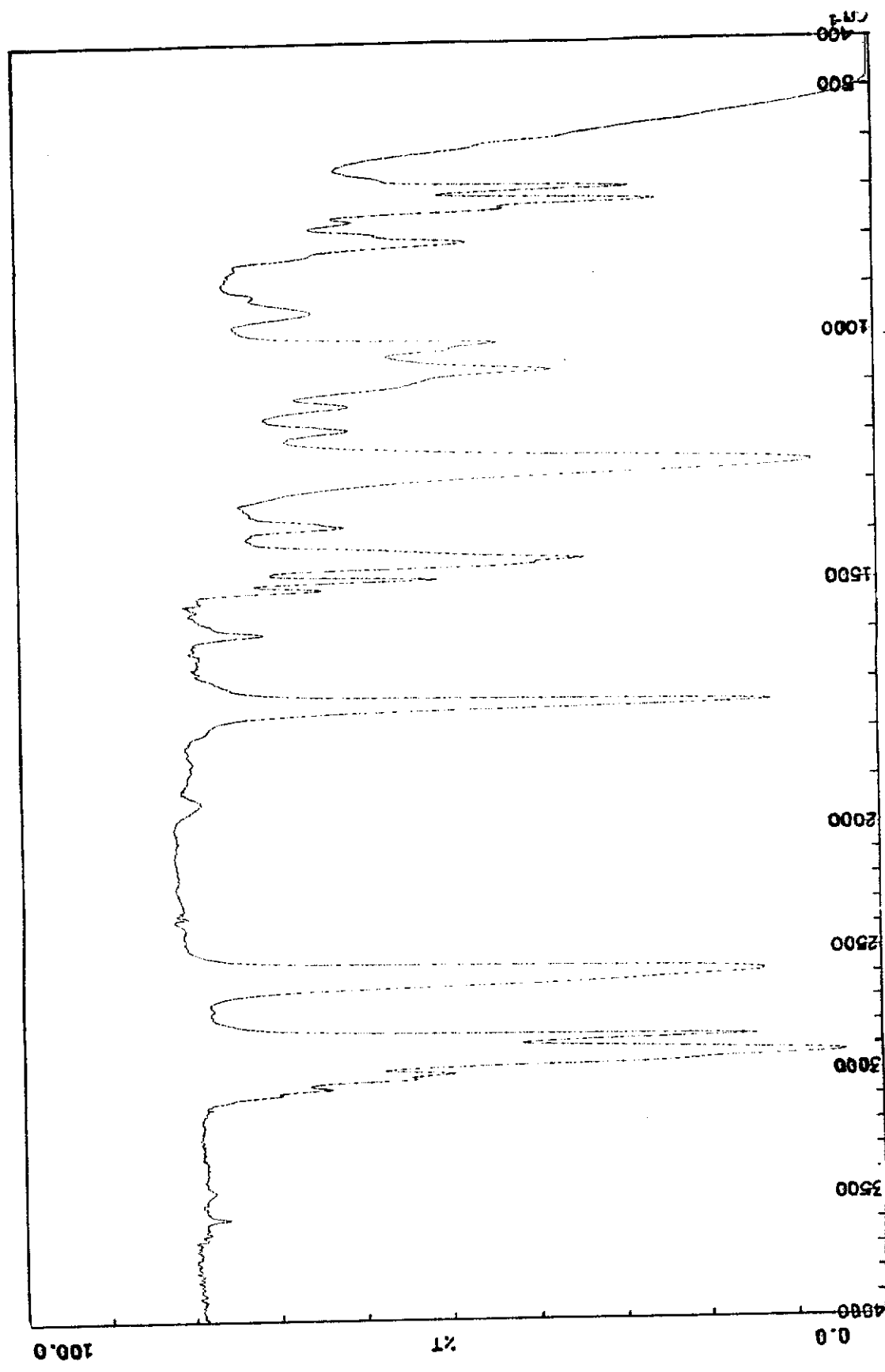
ภาคผนวก ก



ภาพประกอบ 8 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ carboronic acid chloride (film)

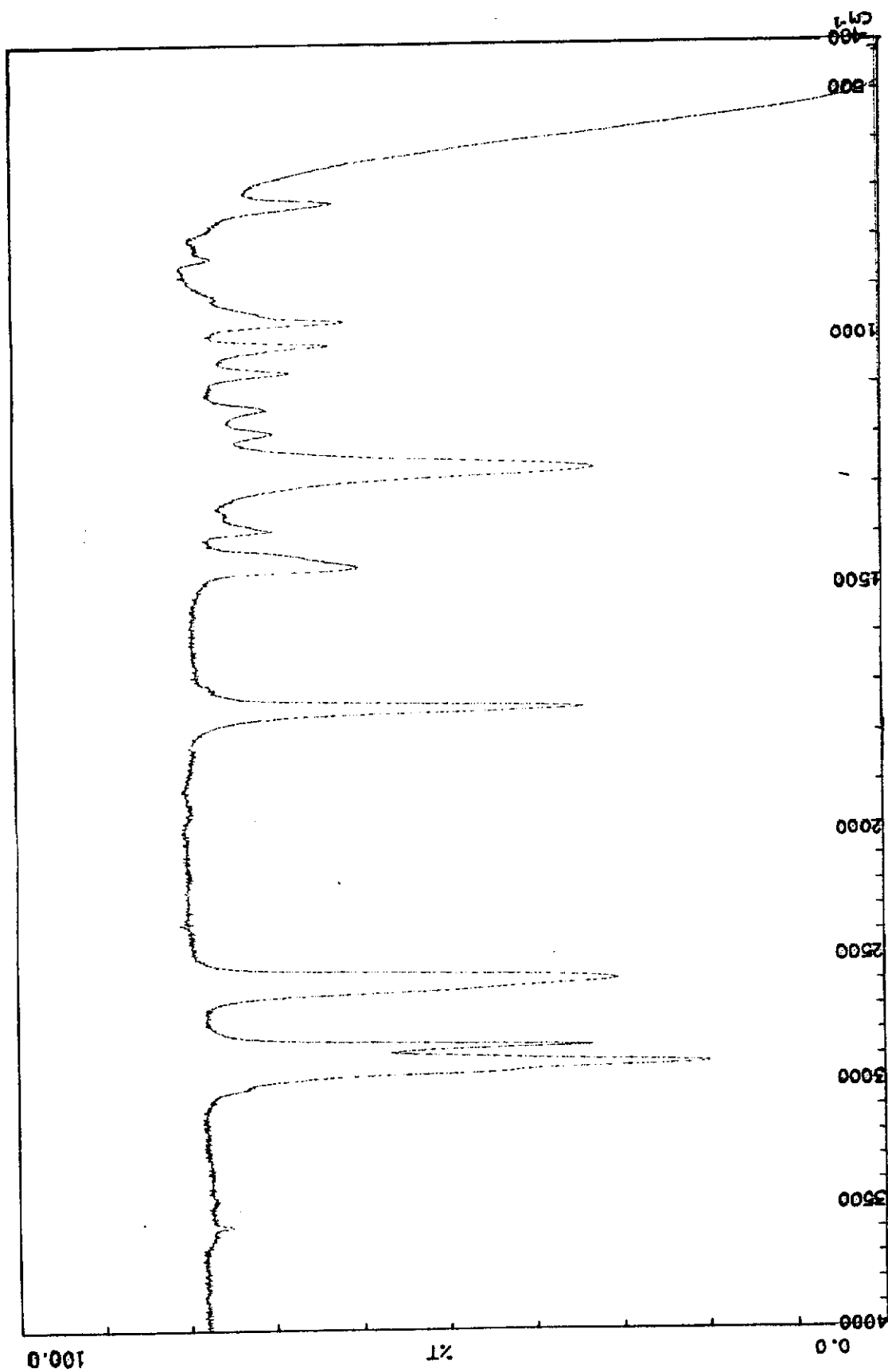


ภาพประกอบ 9 การเคลื่อนที่ของอินฟราเรดของ Stearyl carborane carboxylate (film)



ภาพประกอบ 10 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Oleyl carborane carboxylate (film)

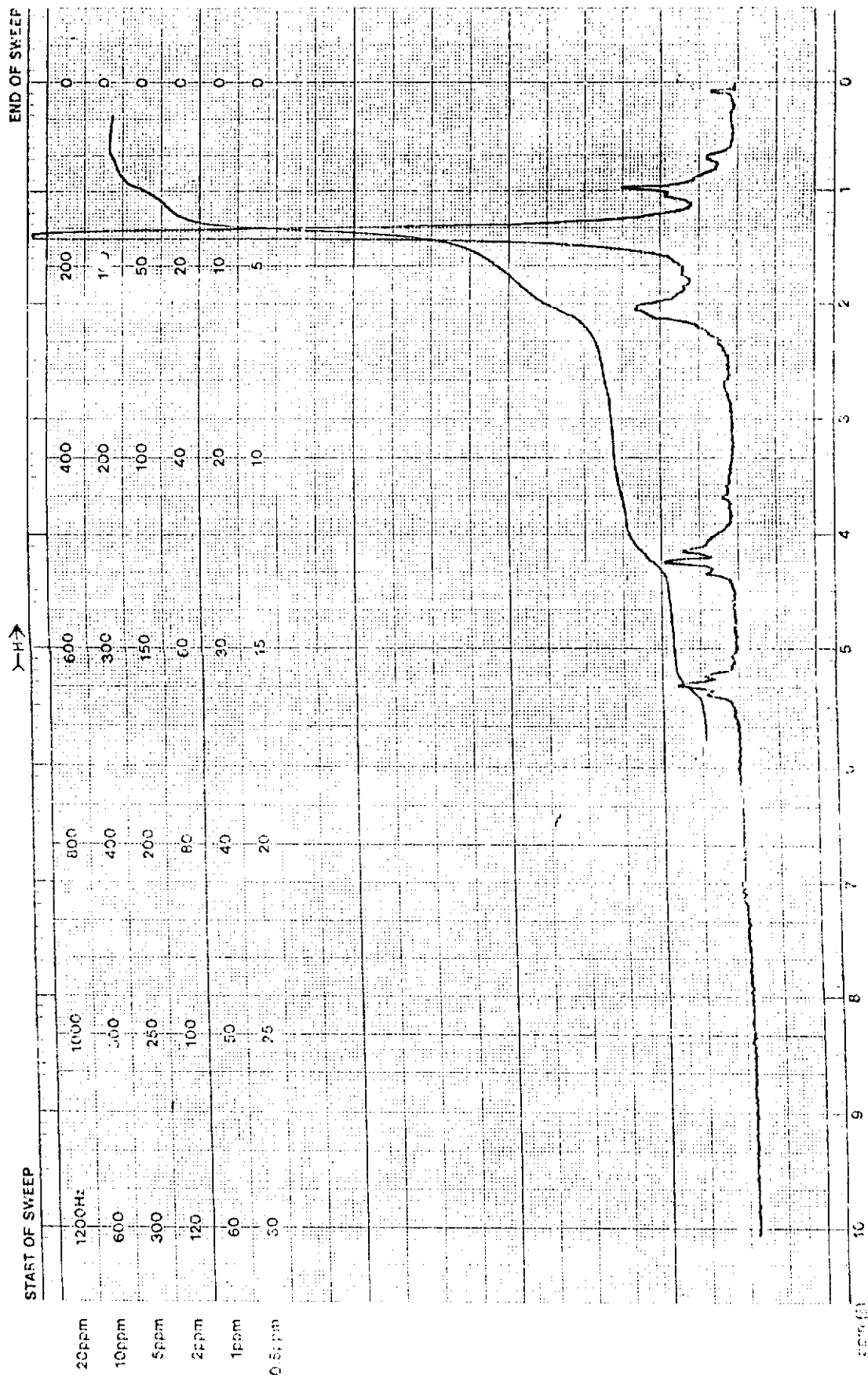




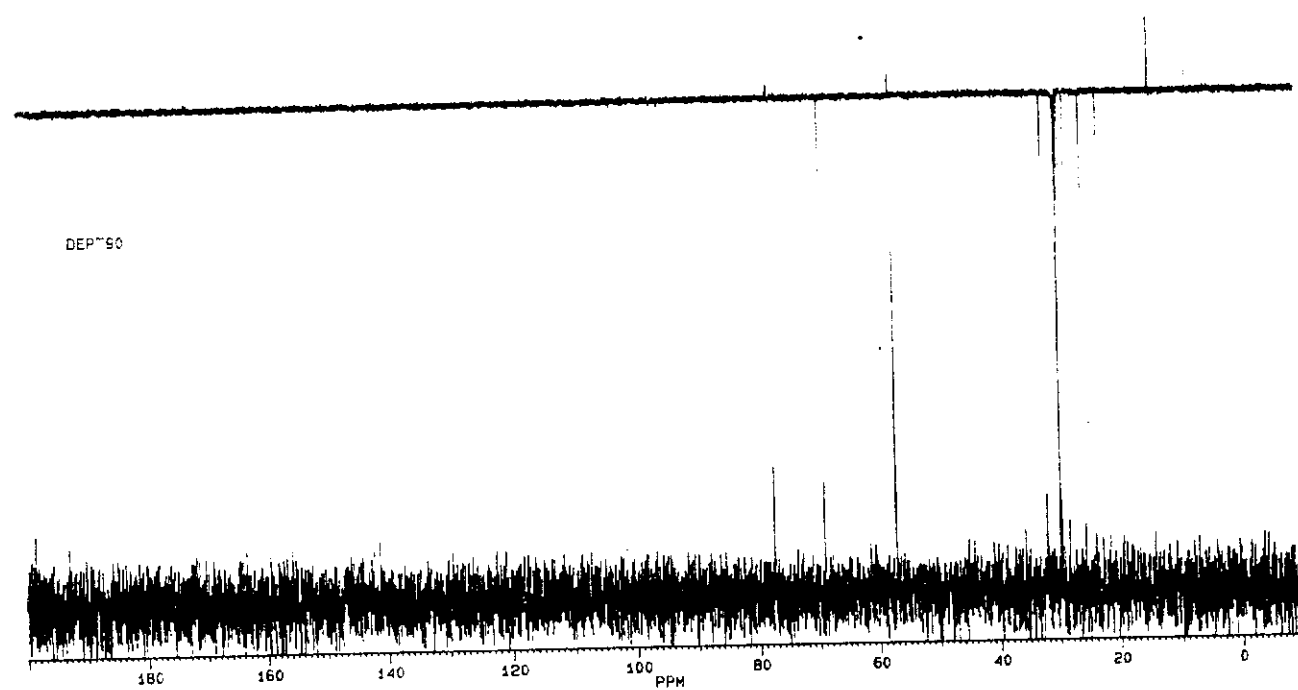
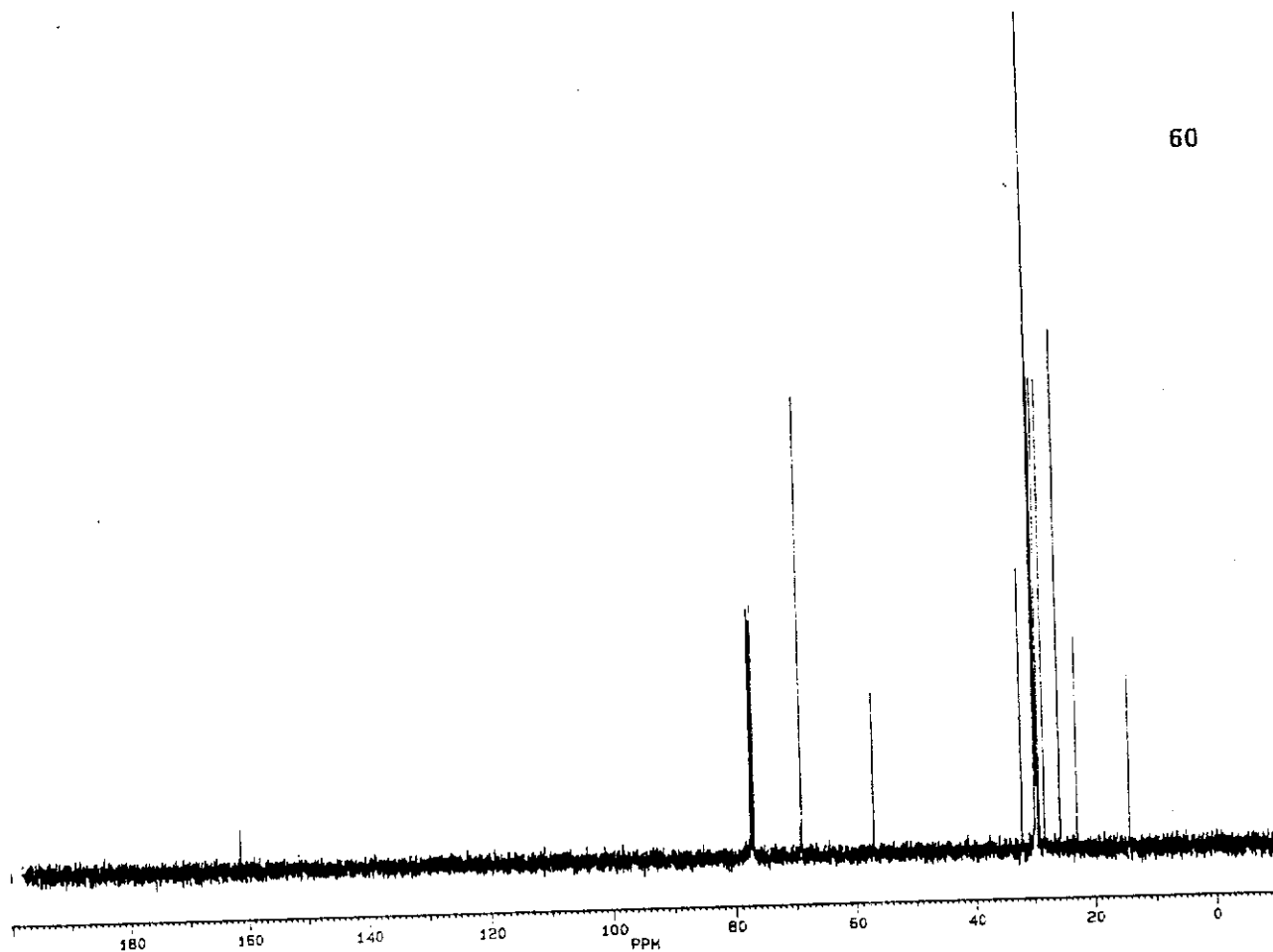
ภาพประกอบ 11 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Elaidyl carborane carboxylate (film)



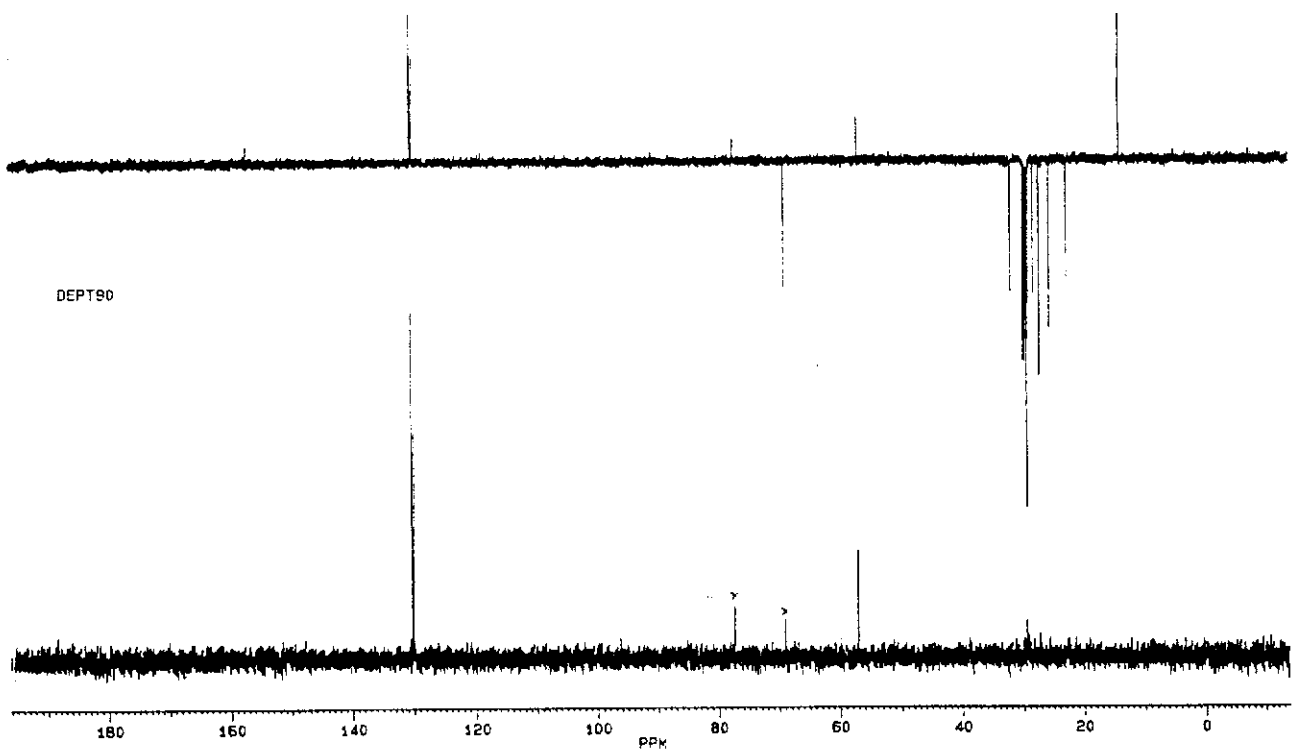
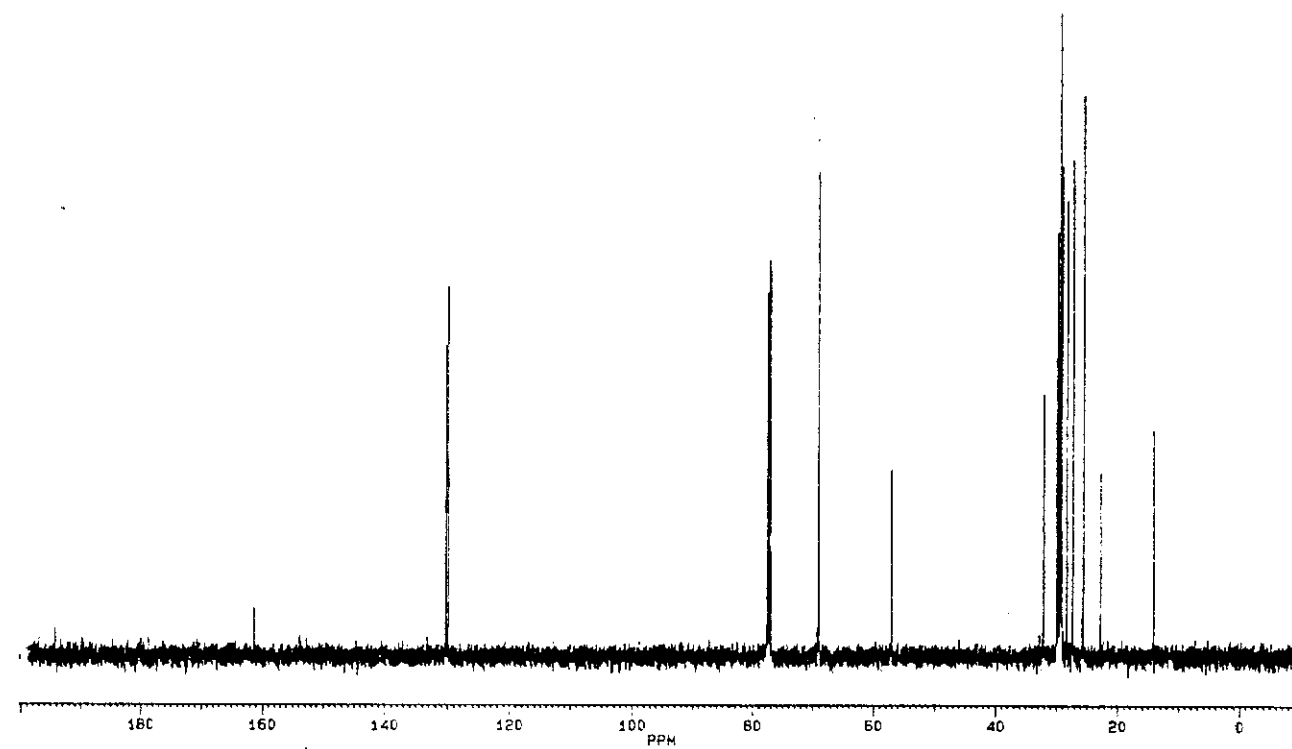




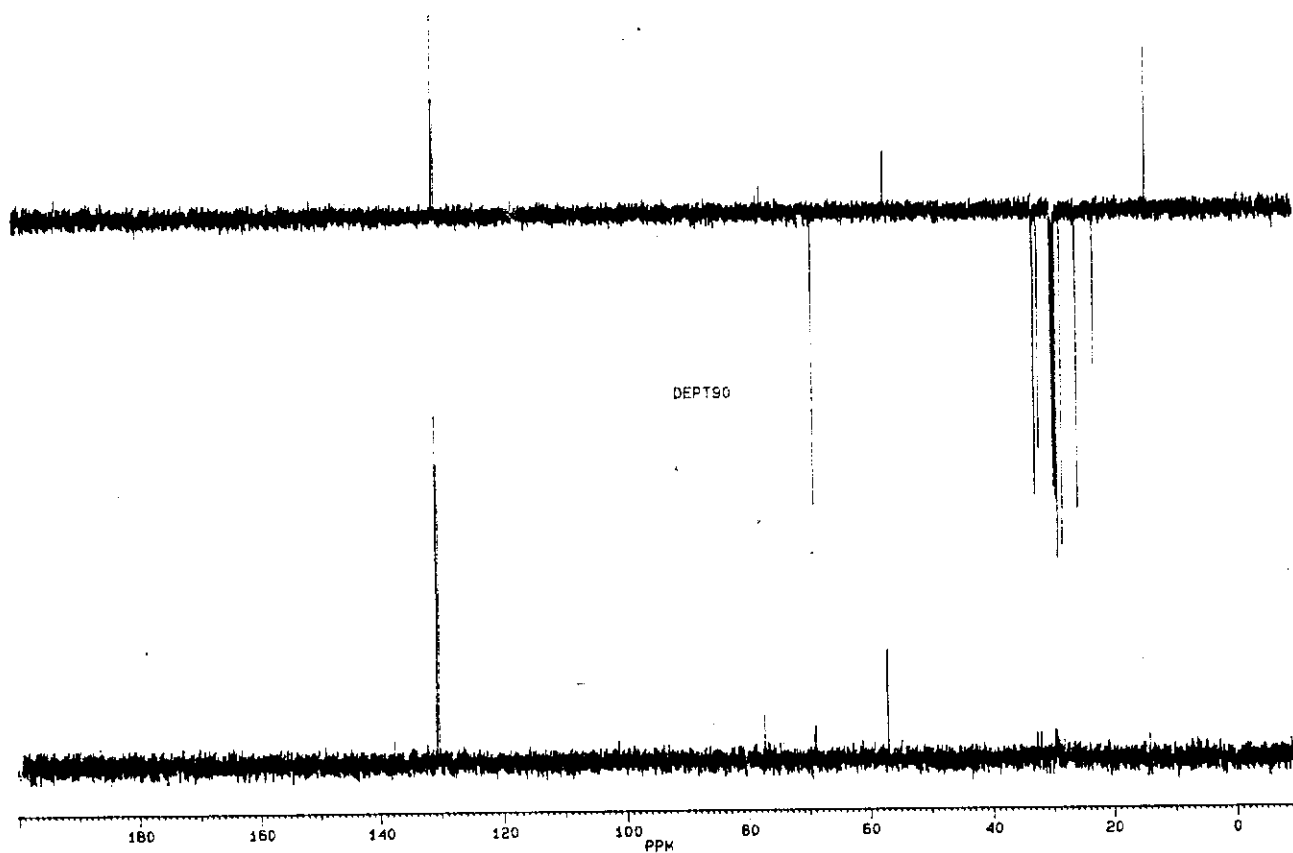
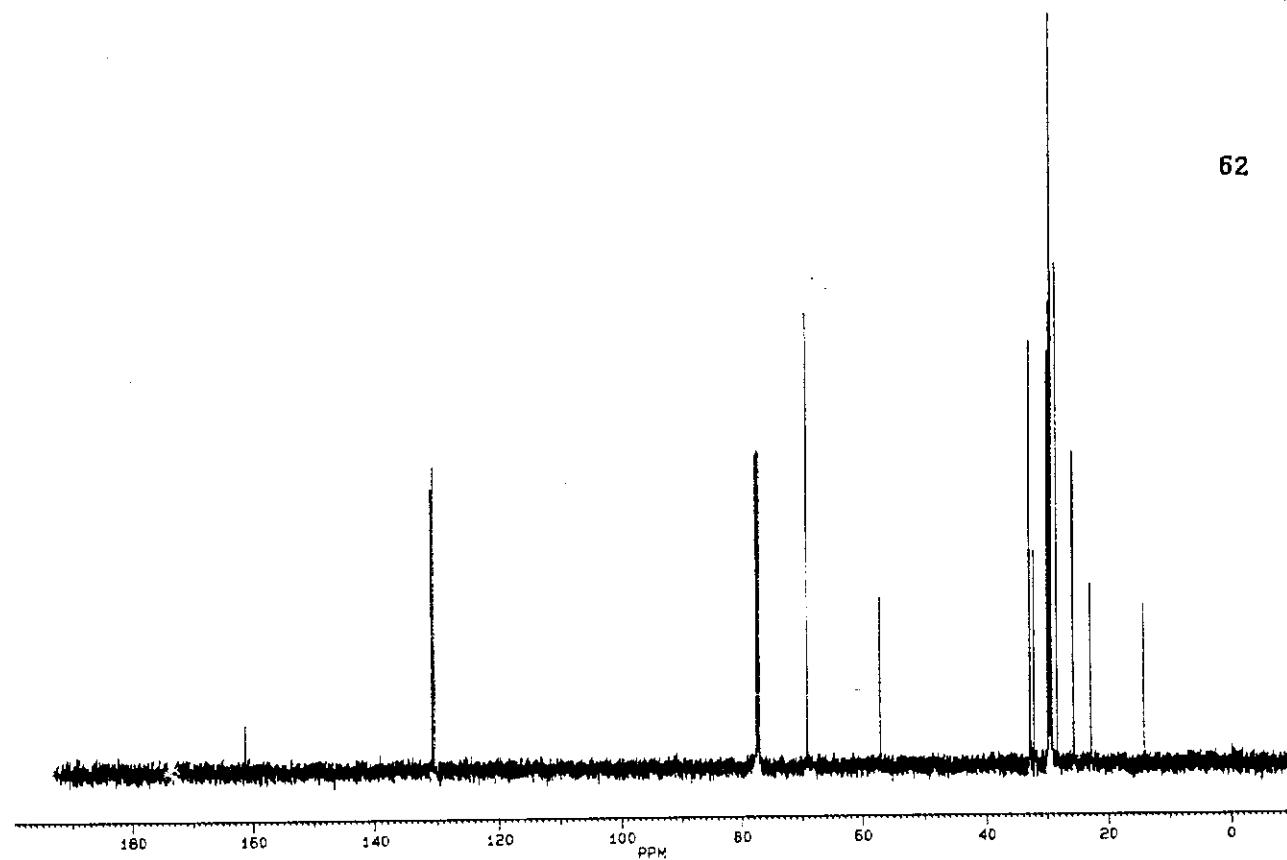
ภาพประกอบ 14 <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carborane carboxylate ใน CCl<sub>4</sub>.



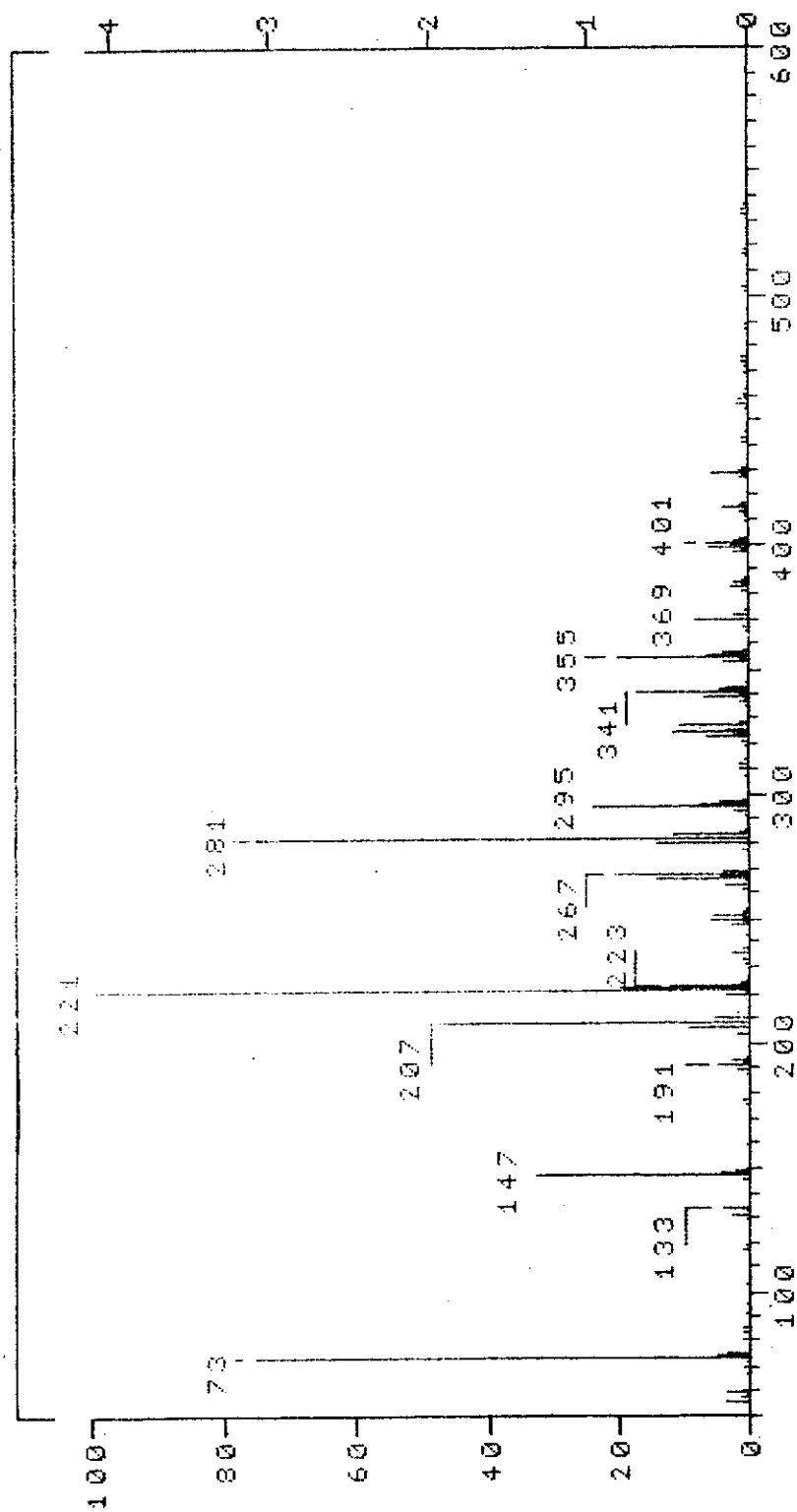
ภาพประกอบ 15  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ Stearyl carborane carboxylate ใน  $\text{CDCl}_3$



ภาพประกอบ 16  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ Oleyl carborane carboxylate ใน  $\text{CDCl}_3$

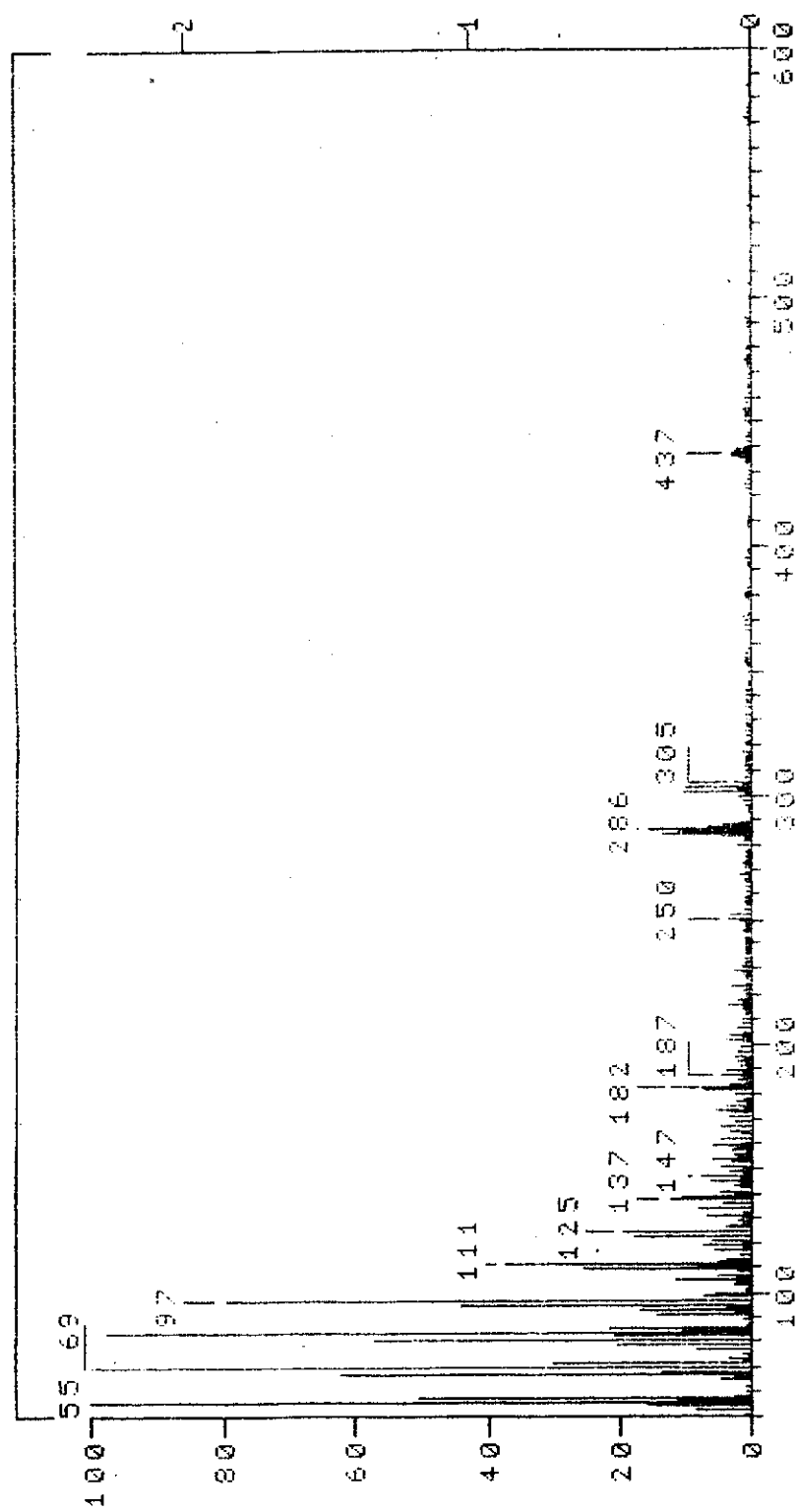


ภาพประกอบ 17  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carborane carboxylate ใน  $\text{CDCl}_3$

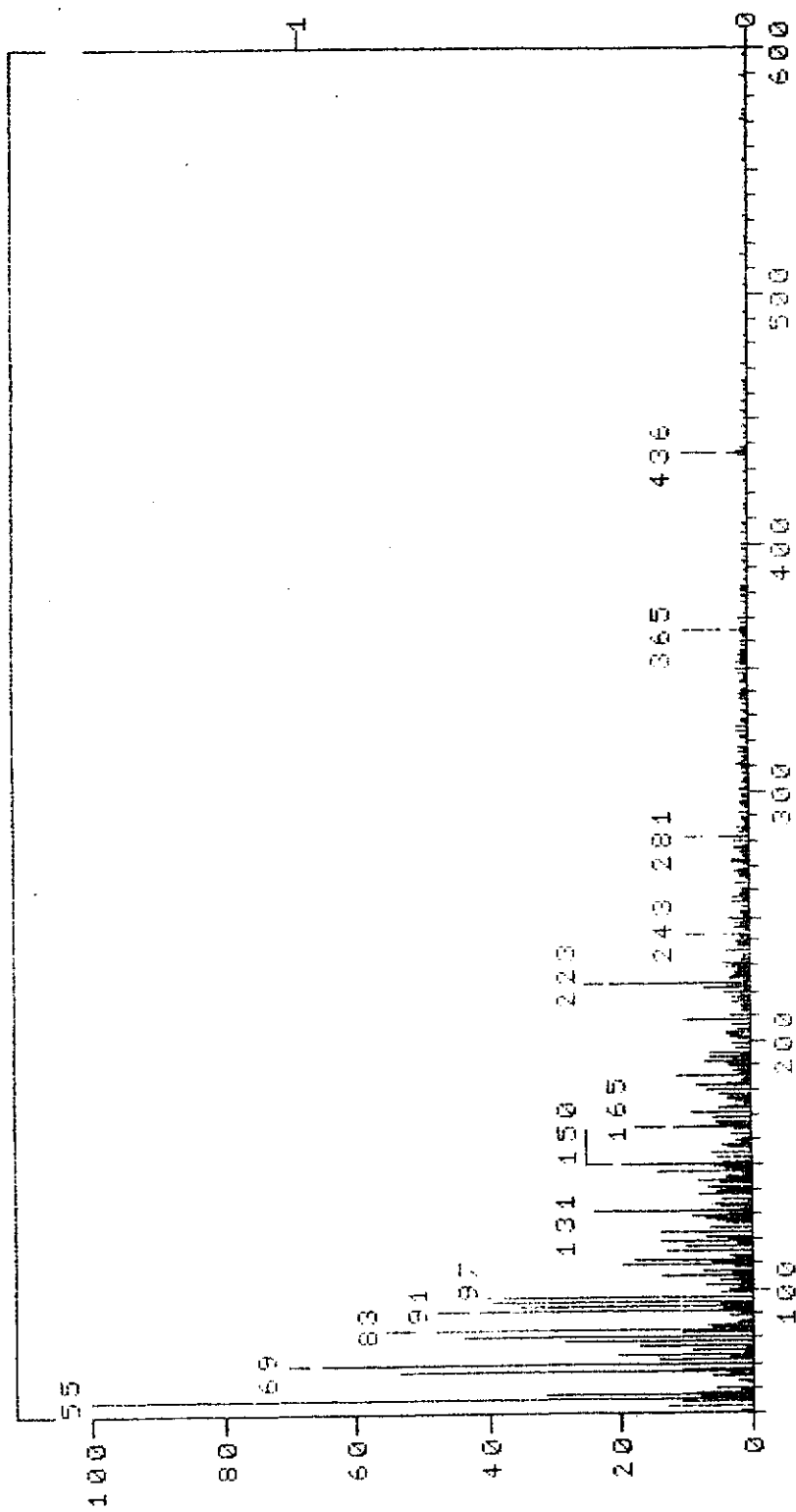


ภาพประกอบ 18 แผนภาพตรึงของ Stearyl carborane carboxylate



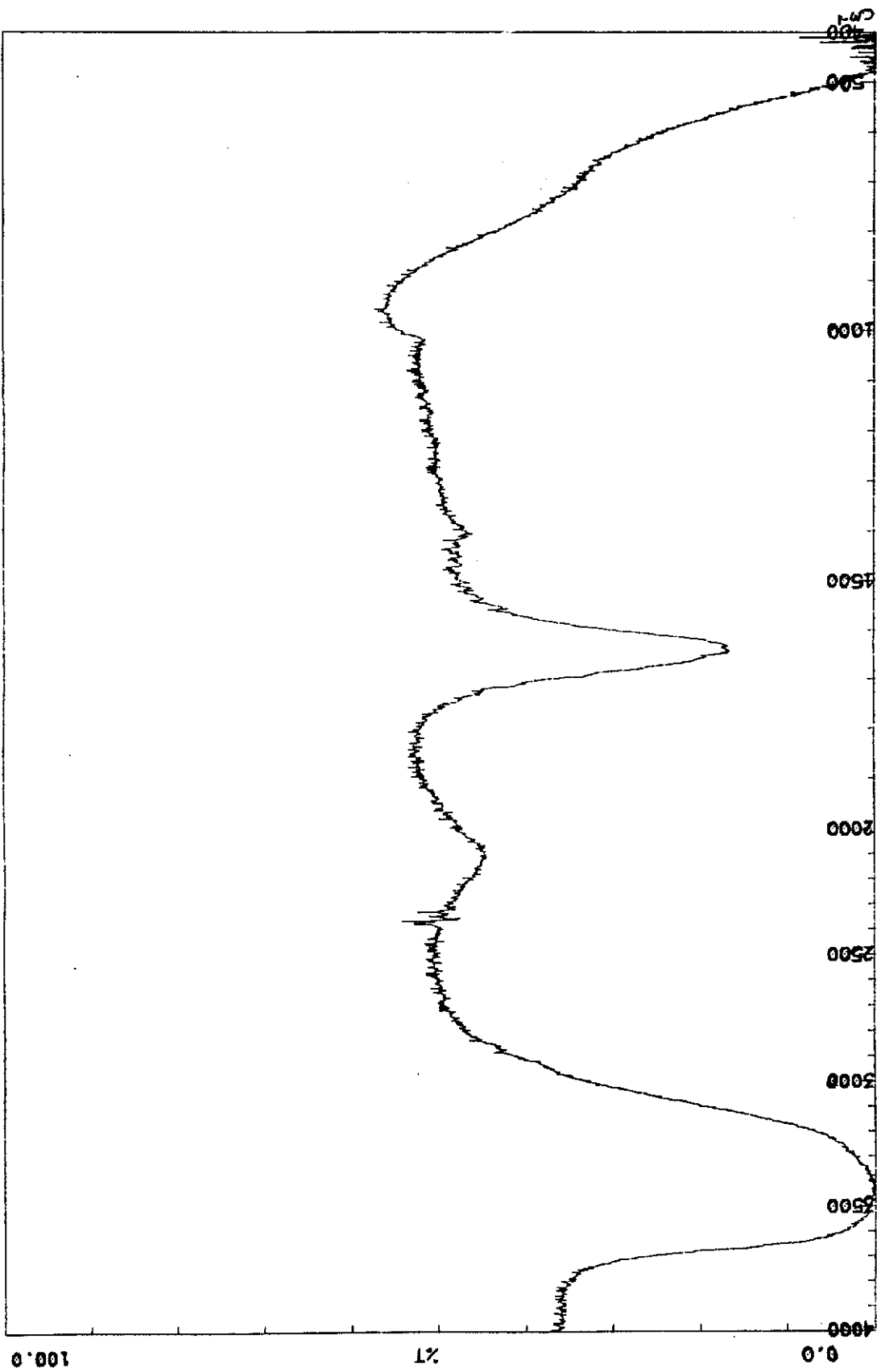


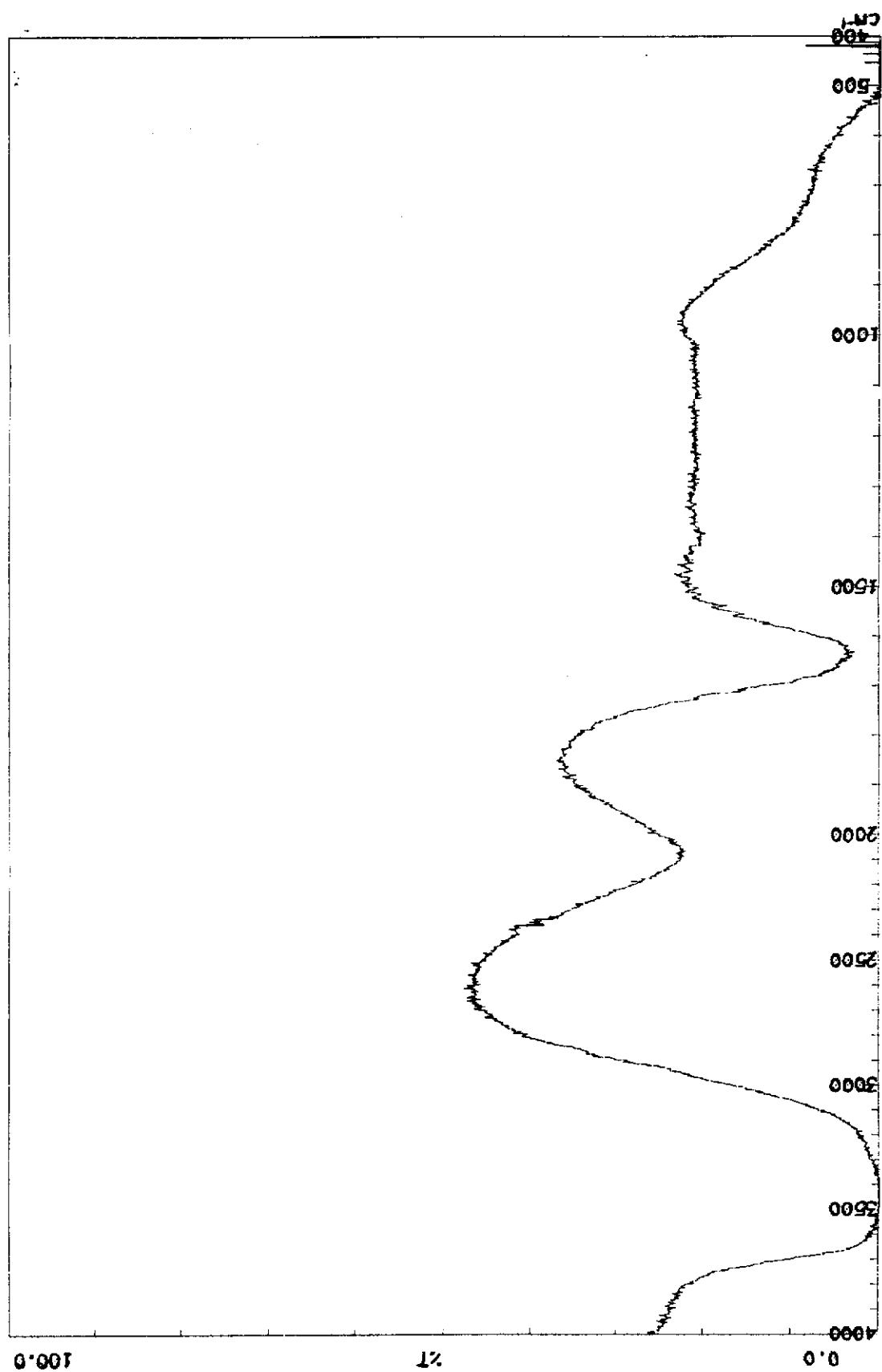
ภาพประกอบ 19 แผนภาพมวลของ Oleyl carborane carboxylate



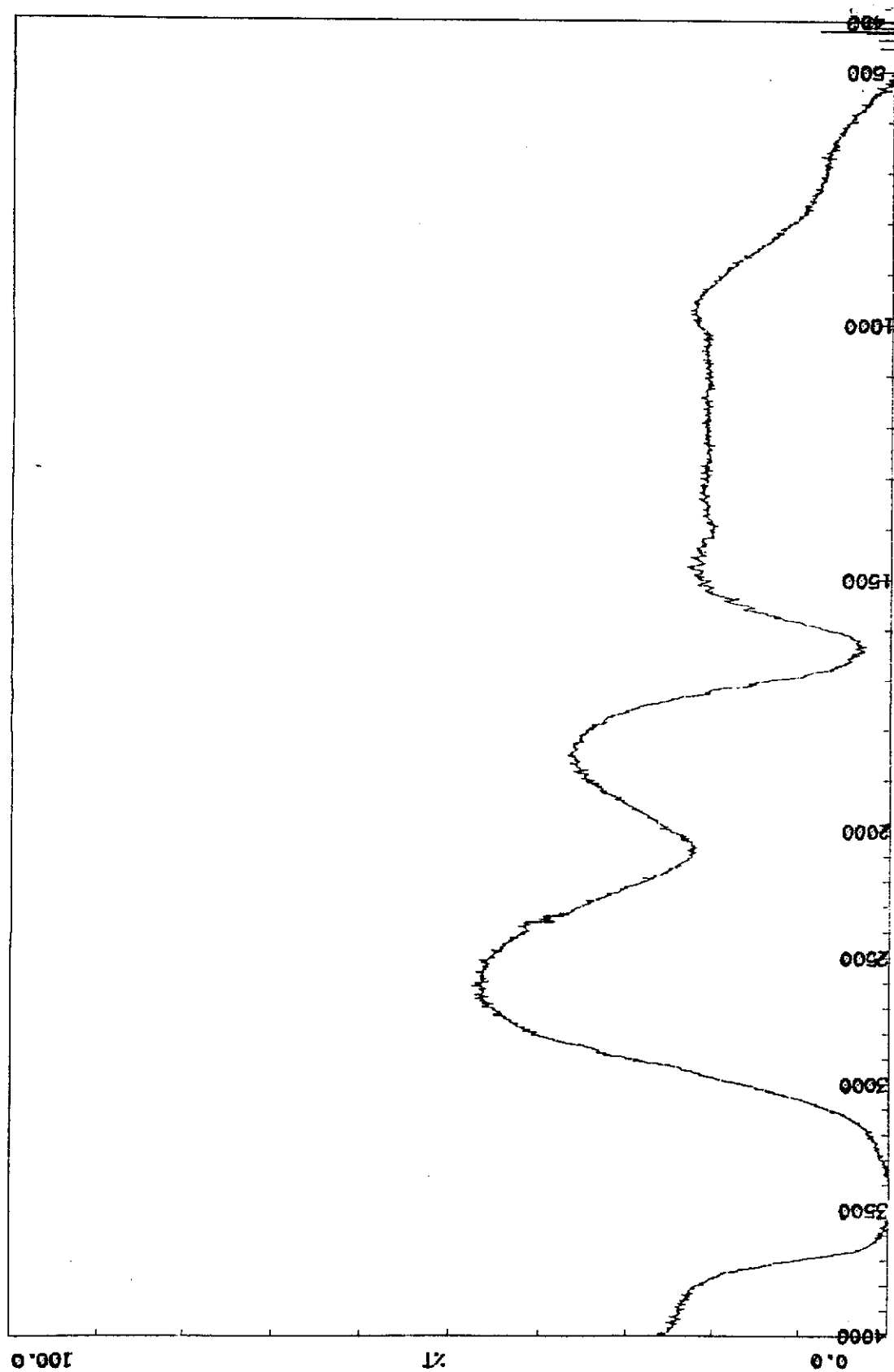
ภาพประกอบ 20 แสดงสเปกตรัมของ Elaidyl carborane carboxylate

ภาพประกอบ 21 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ LDL มาตรฐาน

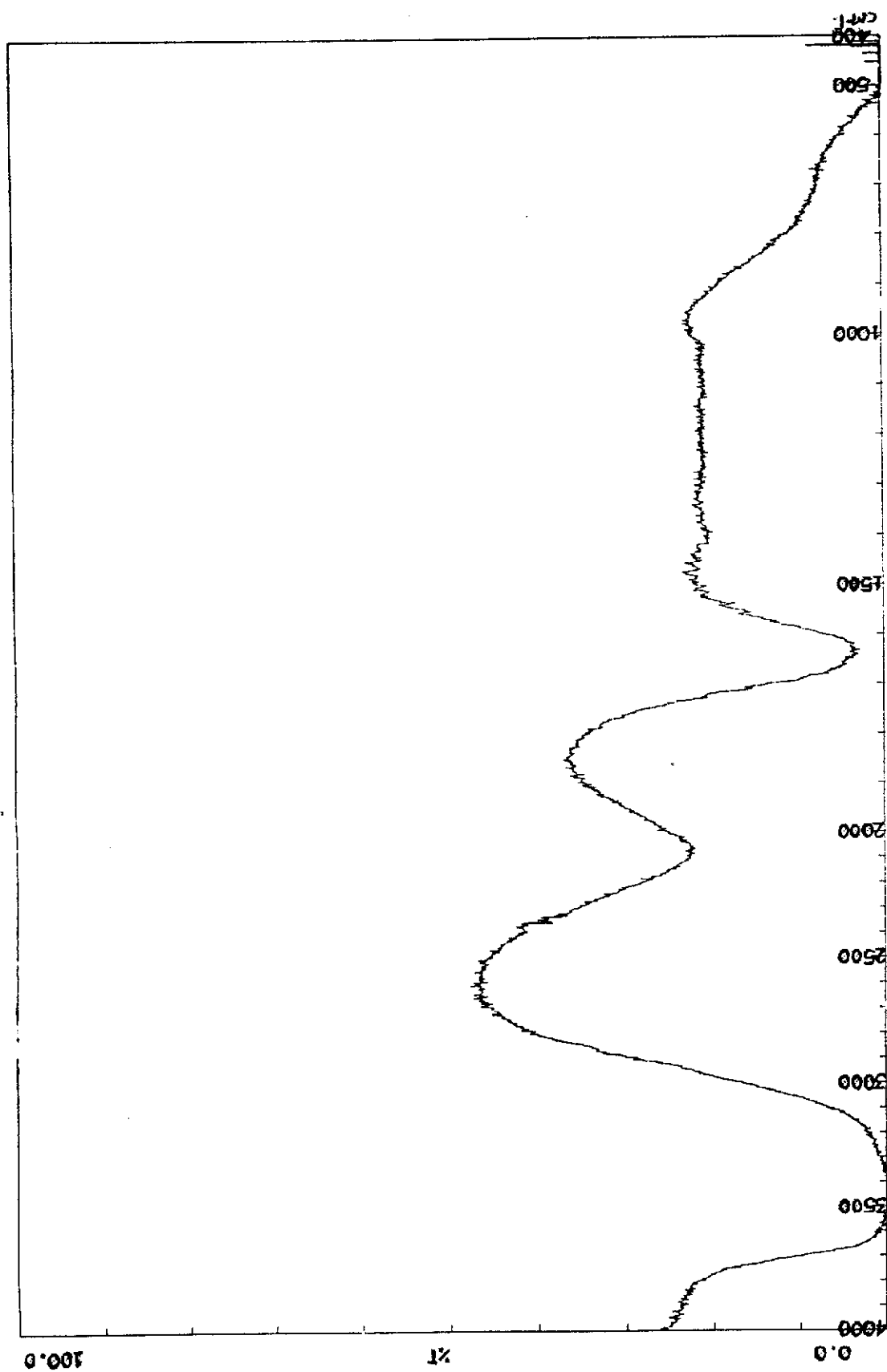




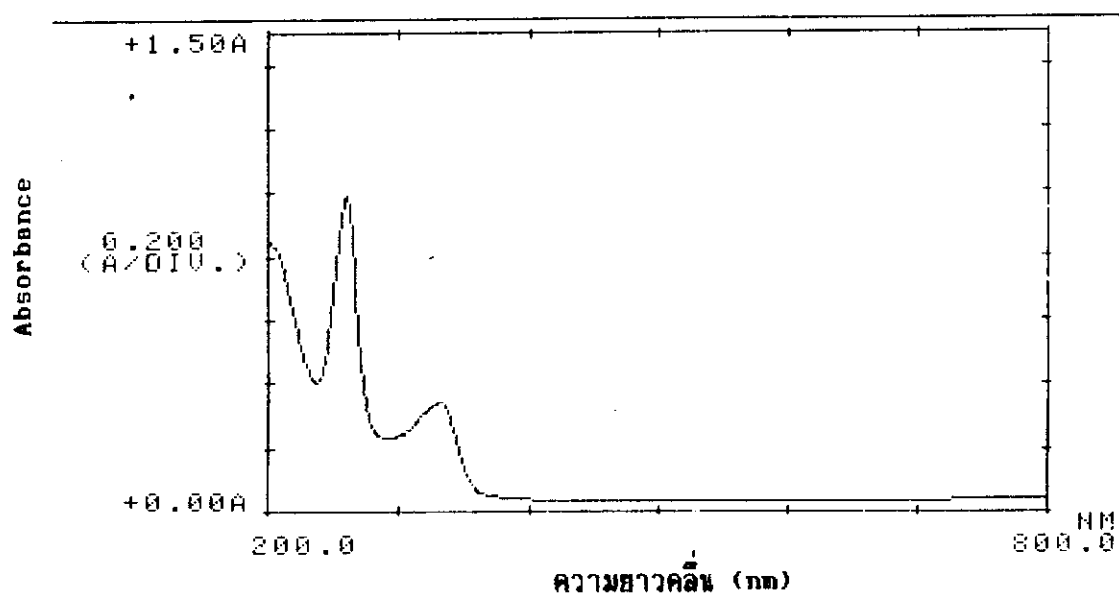
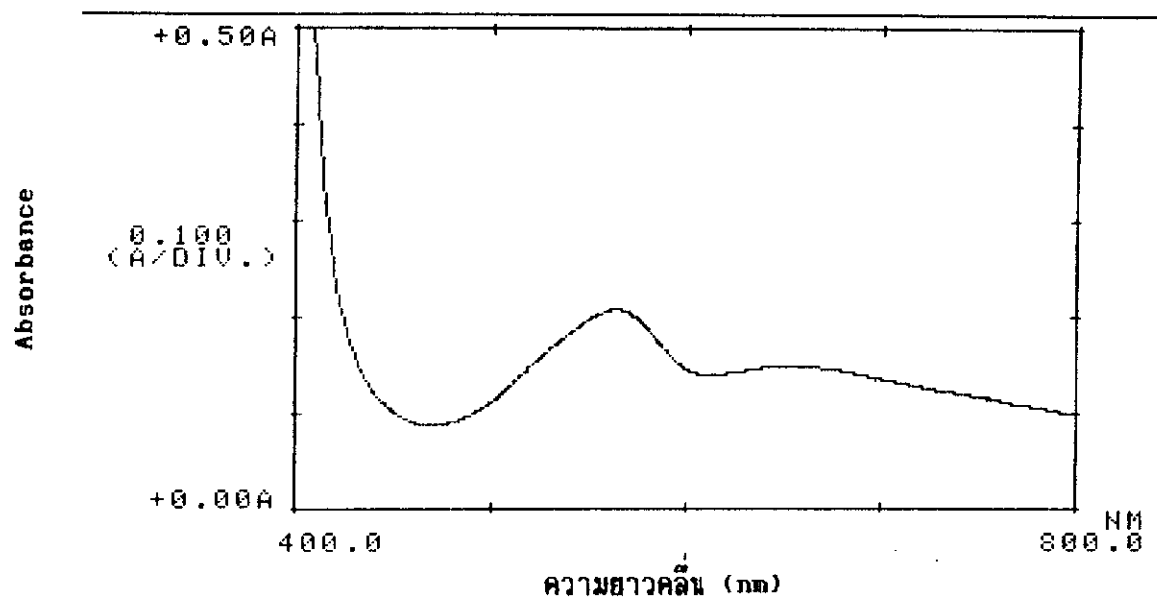
ภาพประกอบ 22 การดักคลื่นแสงอินฟราเรดของ LBL-SCC หลังจากการรวมกันแล้ว



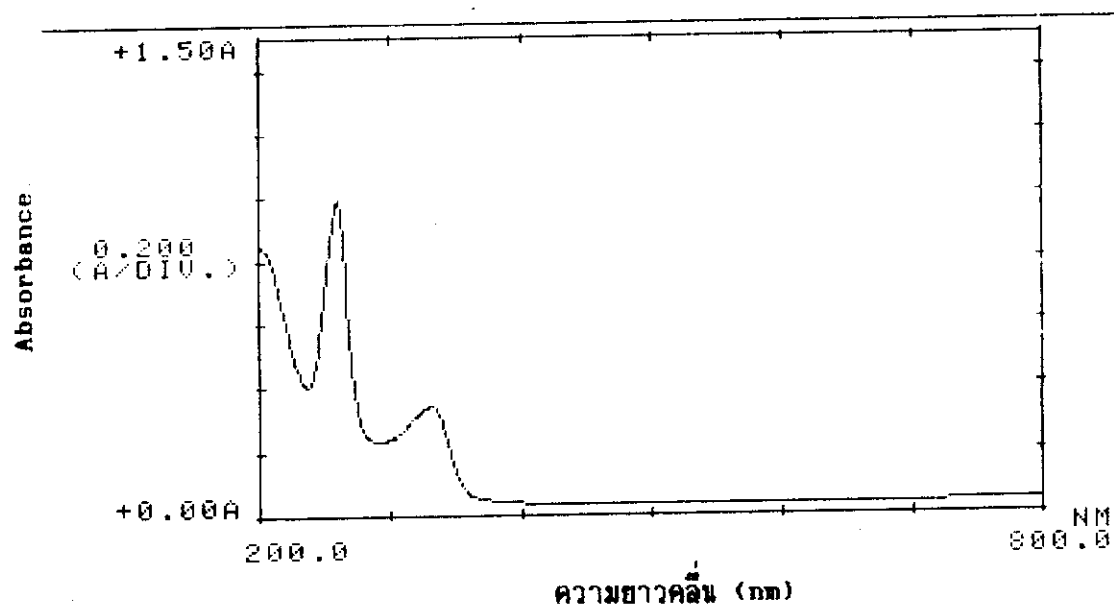
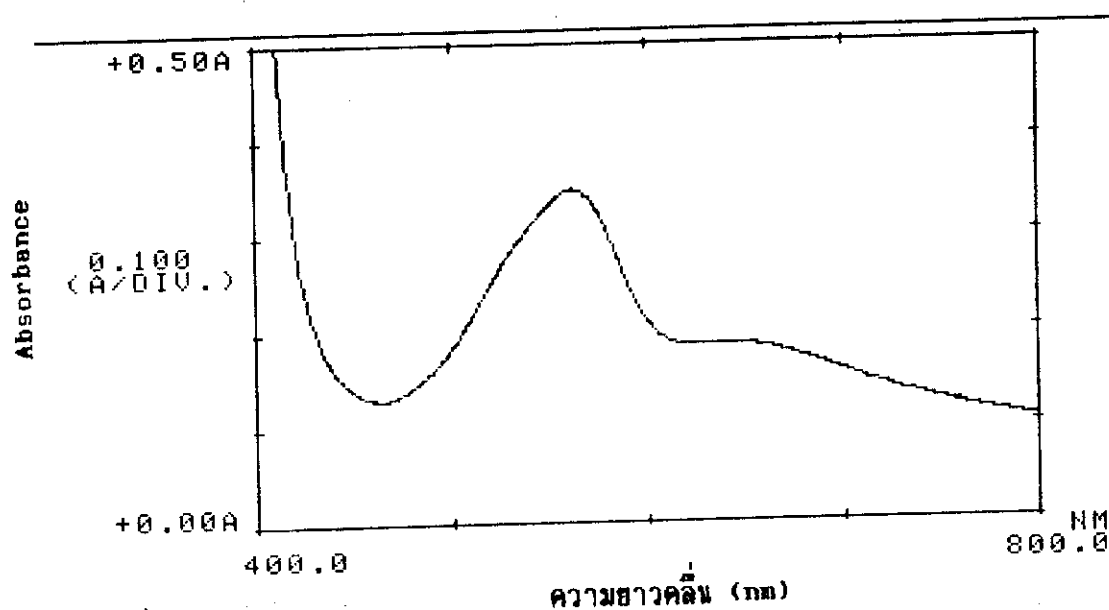
ภาพประกอบ 23 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ LD1-000 หลังจากการรวมกันแล้ว



ภาพประกอบ 24 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ LBL-ECC หลังจากรวมกันแล้ว

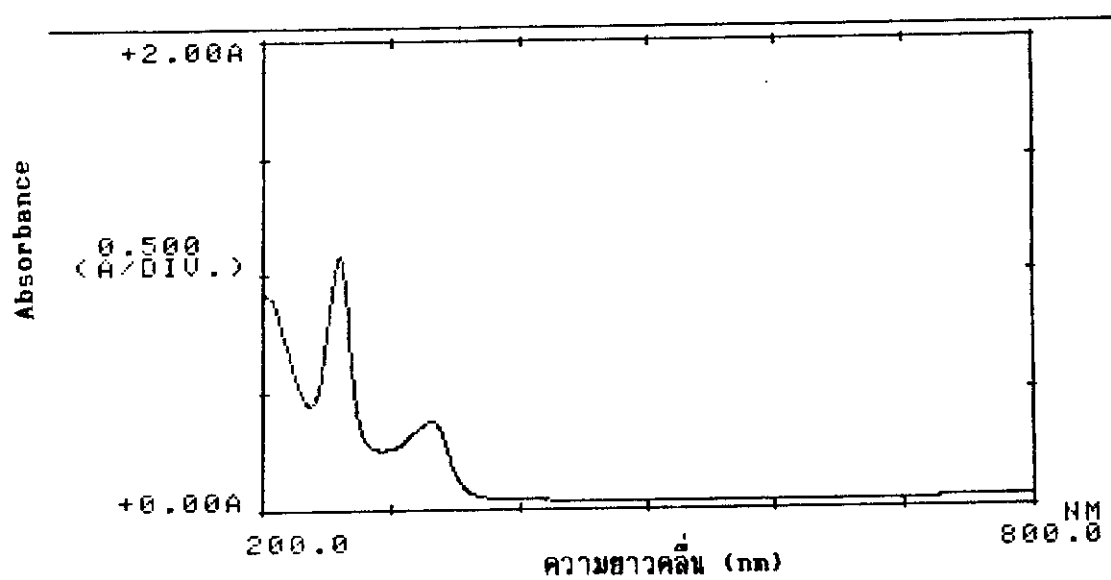
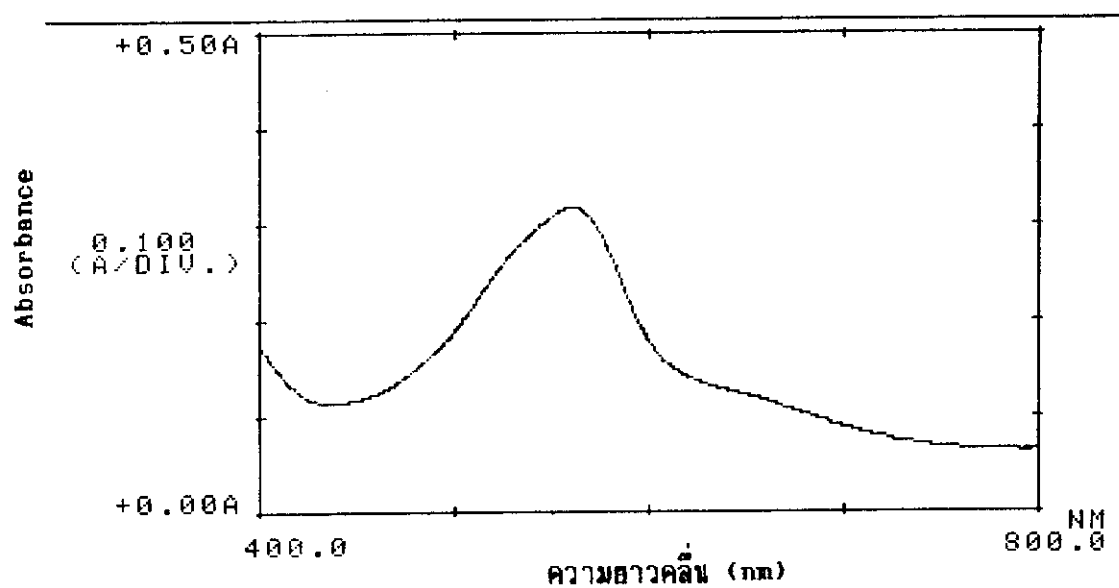


ภาพประกอบ 25 การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลของ BCA reagent (หลังจากที่  
 แช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °C 1 ชั่วโมง)

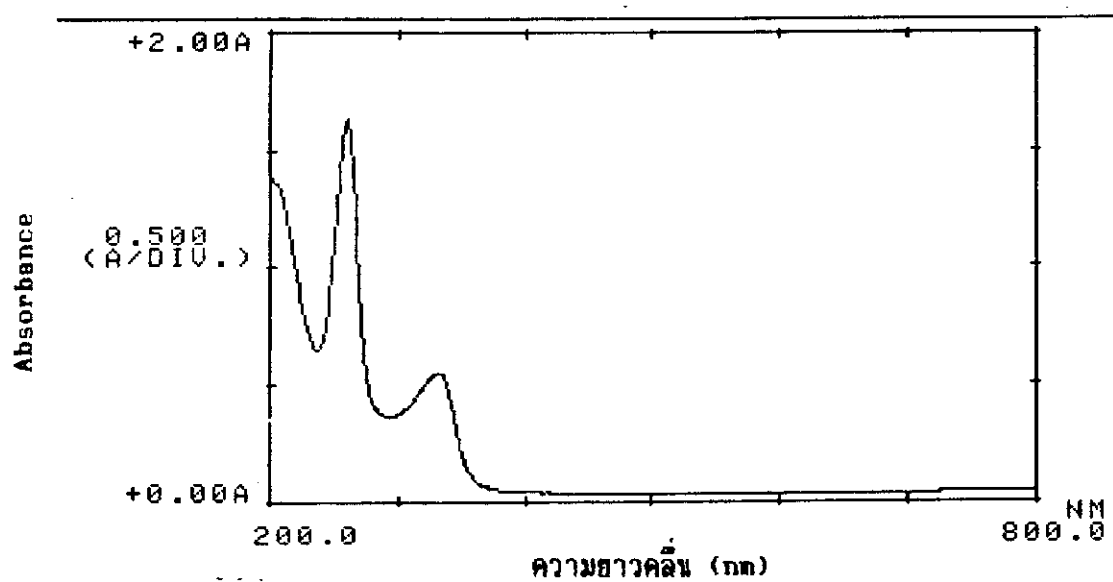
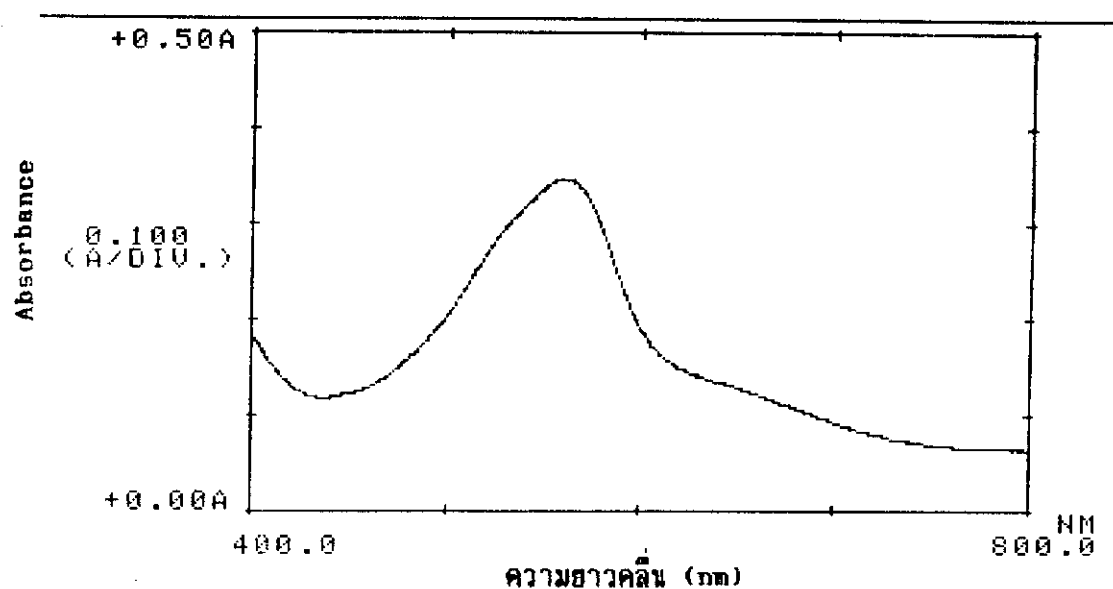


ภาพประกอบ 26 การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตและวิลิเบิลของ LDL มาตรฐาน ที่ทำปฏิกิริยากับ BCA reagent (หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °C 1 ชั่วโมง)

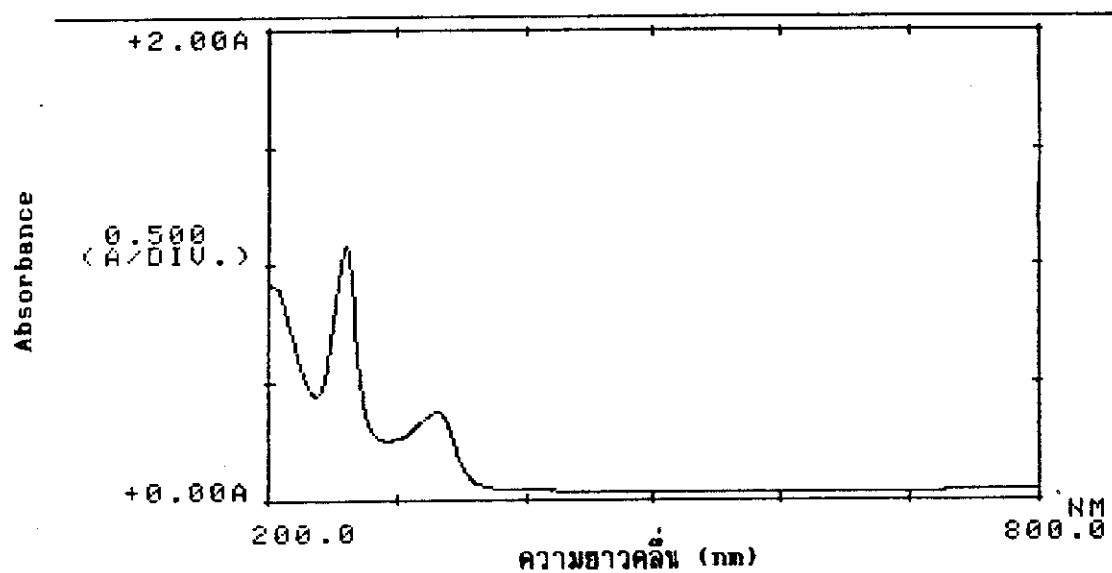
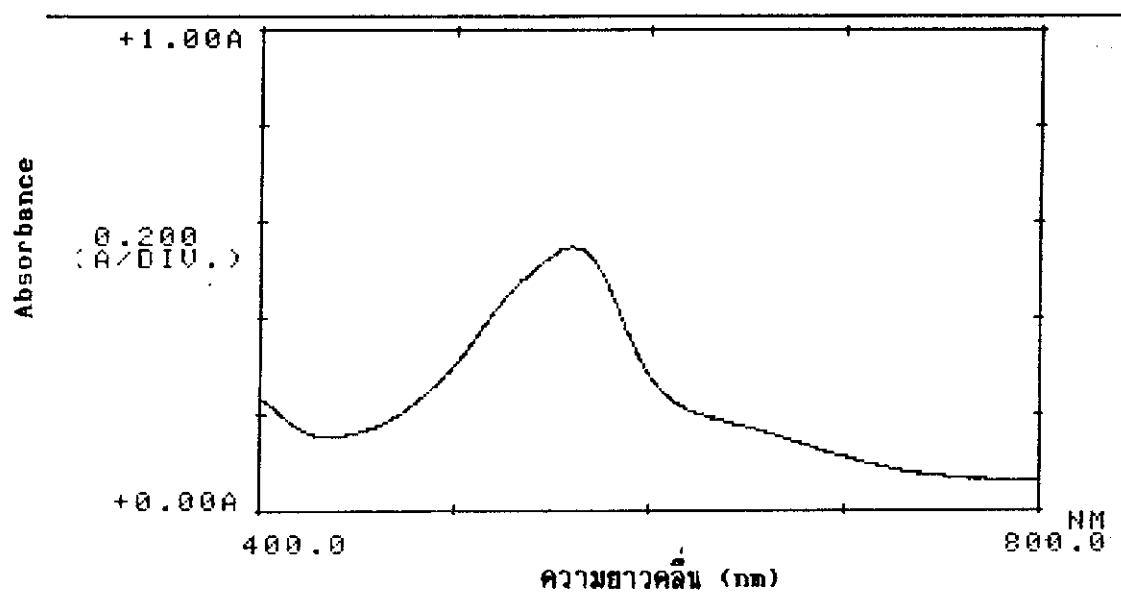




ภาพประกอบ 27 การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตและวิสิเบิลของ LDL-SCC ที่ทำปฏิกิริยากับ BCA reagent (หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °C 1 ชั่วโมง)



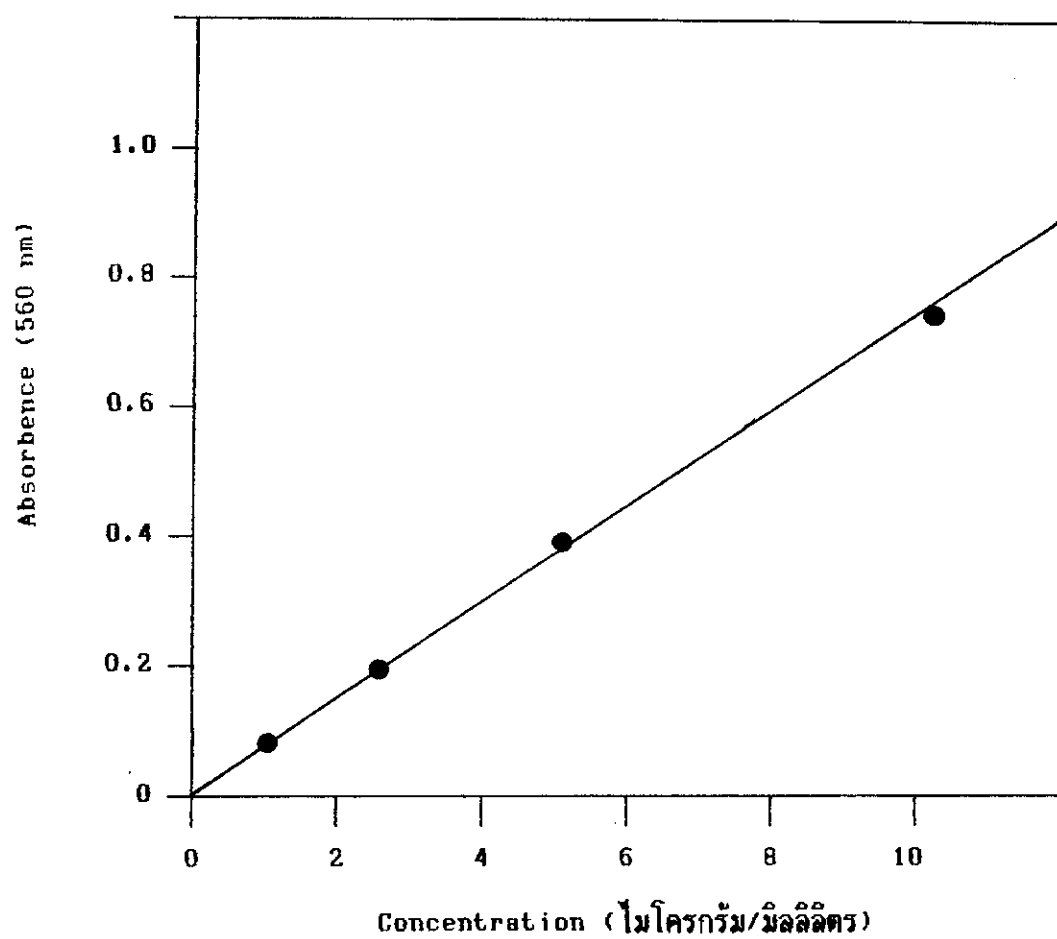
ภาพประกอบ 28 การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลของ LDL-OCC ที่ทำปฏิกิริยากับ BCA reagent (หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °C 1 ชั่วโมง)



ภาพประกอบ 29 การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลของ LDL-ECC ที่ทำปฏิกิริยากับ BCA reagent (หลังจากแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °C 1 ชั่วโมง)

ตาราง 13 ค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ LDL ในสารละลายมาตรฐาน

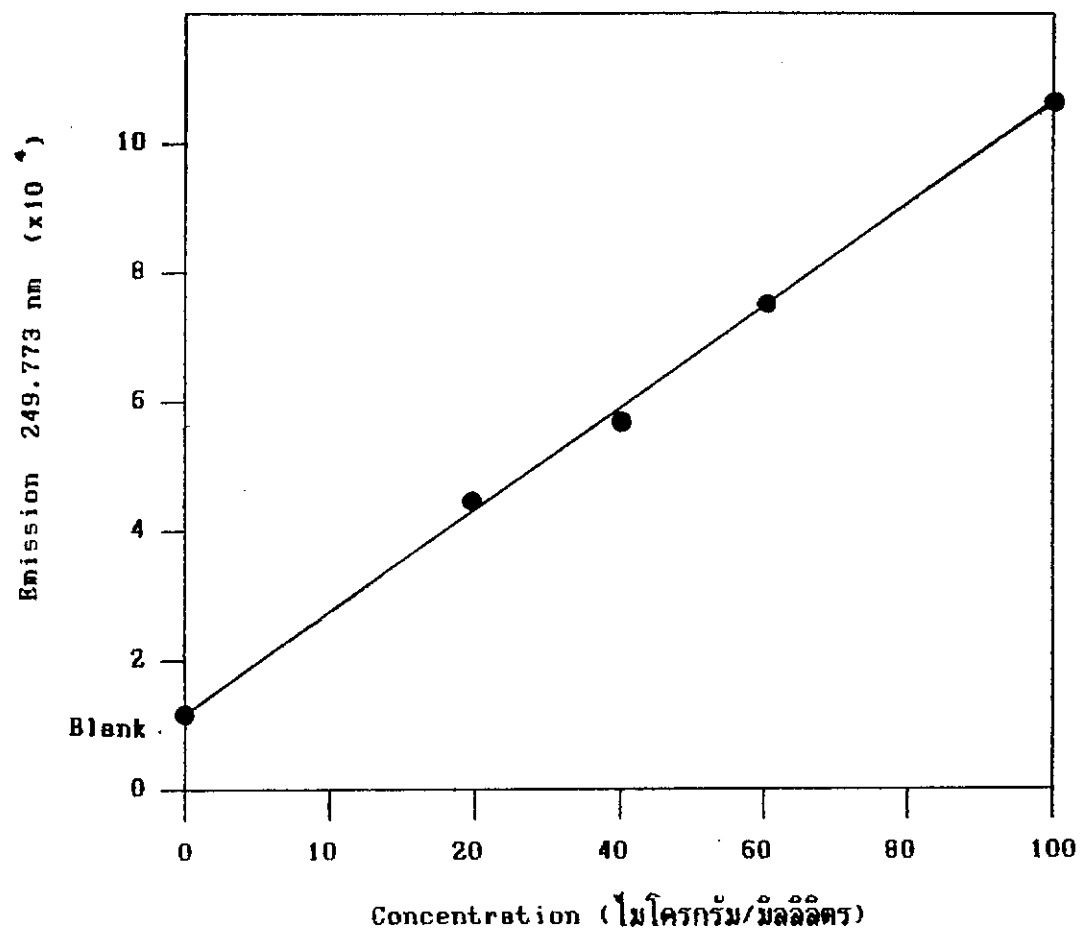
| Concentration<br>$\mu\text{ml}$ | Absorbance (560 nm) |            |            | เฉลี่ย |
|---------------------------------|---------------------|------------|------------|--------|
|                                 | ครั้งที่ 1          | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |        |
| 1.0                             | 0.083               | 0.082      | 0.082      | 0.082  |
| 2.5                             | 0.195               | 0.094      | 0.196      | 0.195  |
| 5.0                             | 0.394               | 0.393      | 0.394      | 0.394  |
| 10.0                            | 0.740               | 0.743      | 0.742      | 0.742  |



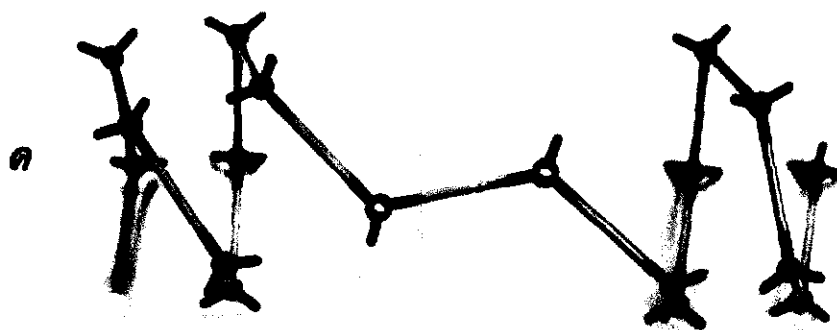
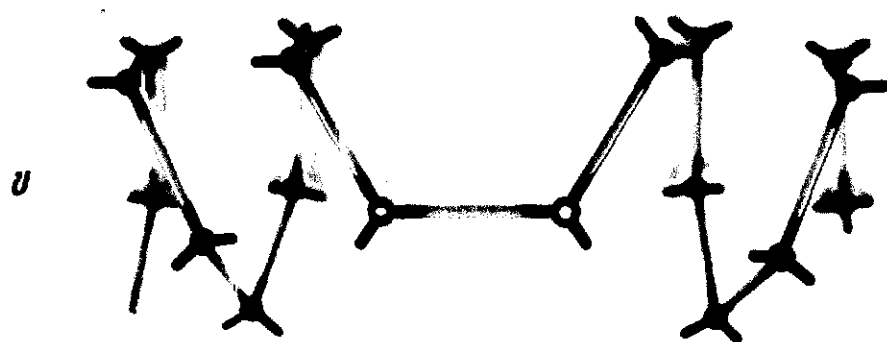
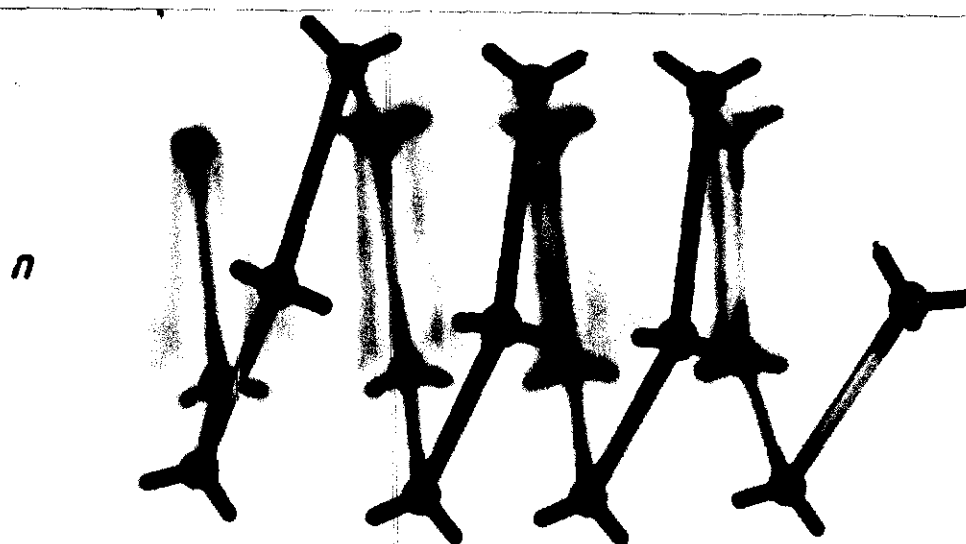
ภาพประกอบ 30 กราฟมาตรฐานของไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ

ตาราง 14 ค่าการกระจายแสงกับความเข้มข้นของโบรอนในสารละลายมาตรฐาน

| Concentration<br>$\mu\text{ml}$ | Emission (249.773 nm) |            |            | เฉลี่ย |
|---------------------------------|-----------------------|------------|------------|--------|
|                                 | ครั้งที่ 1            | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |        |
| 0                               | 0.175                 | 0.179      | 0.176      | 0.176  |
| 20                              | 4.06                  | 4.02       | 4.09       | 4.04   |
| 40                              | 5.10                  | 5.18       | 5.16       | 5.15   |
| 60                              | 7.58                  | 7.46       | 7.55       | 7.53   |
| 100                             | 10.11                 | 10.01      | 10.07      | 10.06  |



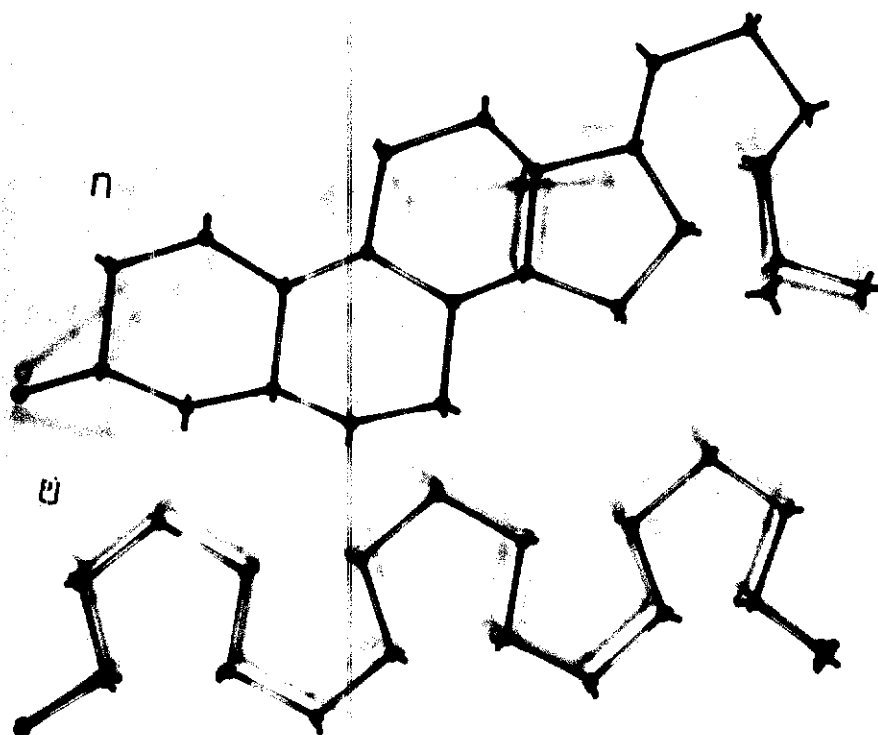
ภาพประกอบ 31 กราฟมาตรฐานโบรอน



ภาพประกอบ 32 การจับตัวเป็นเกล็ดของส่วนที่เป็นแอลกอฮอล์ในสารประกอบ carboranic ester

ก. Stearyl alcohol ข. Oleyl alcohol ค. Elaidyl alcohol

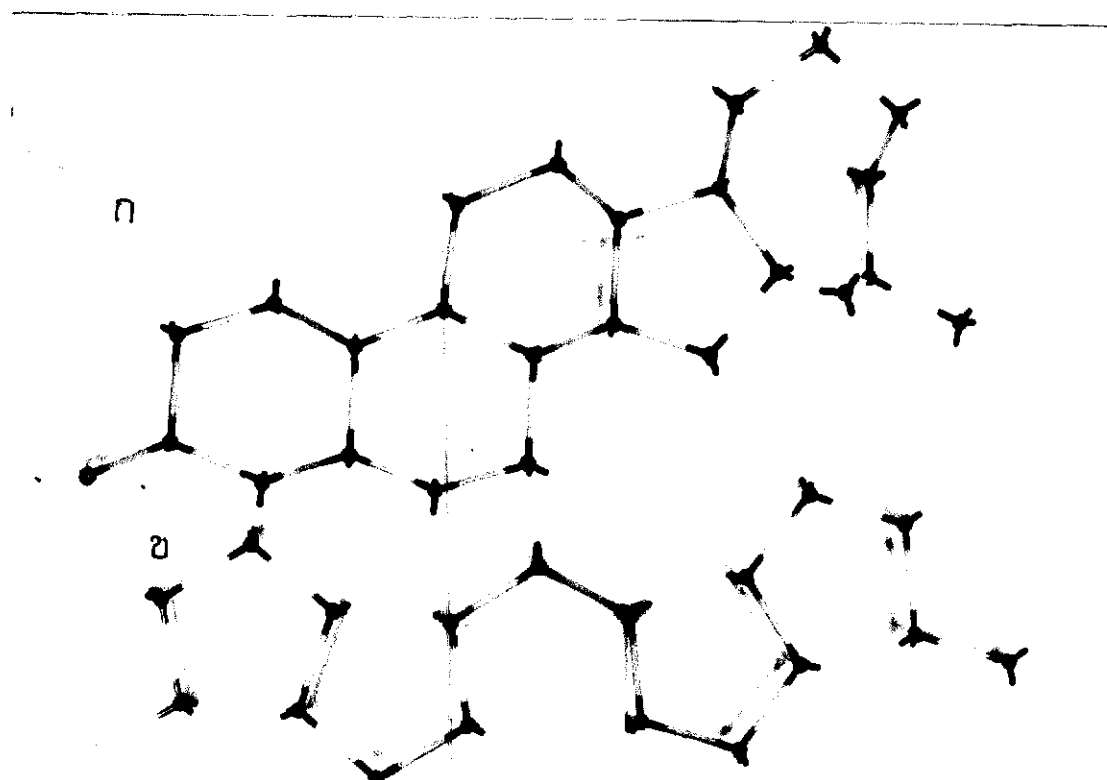




ภาพประกอบ 33 การจัดเรียงตัวที่มีโครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอล

ก. โคเลสเตอรอล

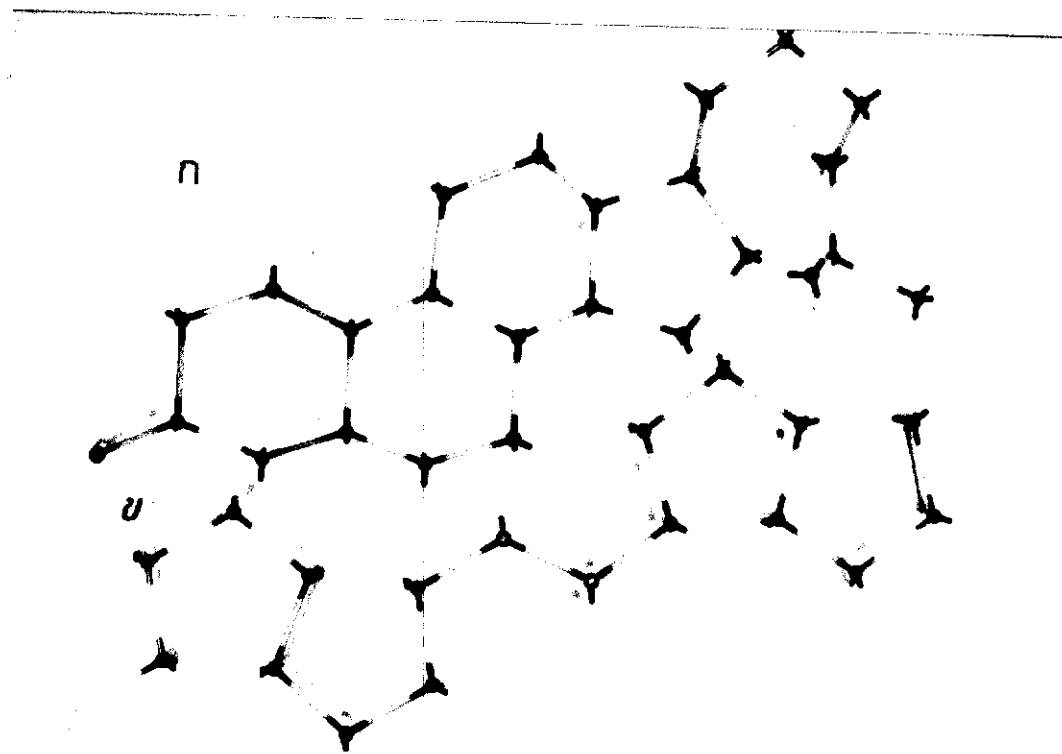
ข. Stearyl alcohol



ภาพประกอบ 34 การจัดเรียงตัวที่มีโครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอล

ก. โคเลสเตอรอล

ข. Oleyl alcohol



ภาพประกอบ 35 การจัดเรียงตัวที่มีโครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอล

ก. โคเลสเตอรอล

ข. Elaidyl alcohol

## ภาคผนวก ข

## การเตรียมสารเคมี

1. เตรียม 0.3 mM Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) pH 7.0

|                                       |       |           |
|---------------------------------------|-------|-----------|
| EDTA                                  | 1.112 | กรัม      |
| เติม $H_2O$ (distilled water) ให้เป็น | 1,000 | มิลลิลิตร |

2. เตรียม 10 mM Tricine pH 8.6

|                                       |       |           |
|---------------------------------------|-------|-----------|
| Tricine                               | 1.792 | กรัม      |
| เติม $H_2O$ (distilled water) ให้เป็น | 1,000 | มิลลิลิตร |

3. เตรียม 0.5 mM Sodium dihydrogen orthophosphate , 9% Sodium chloride  
pH 7.4

|                                       |       |           |
|---------------------------------------|-------|-----------|
| $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$                | 0.069 | กรัม      |
| NaCl                                  | 9.100 | กรัม      |
| เติม $H_2O$ (distilled water) ให้เป็น | 1,000 | มิลลิลิตร |

4. เตรียม Stock solutoin ของ LDL มาตรฐาน จาก LDL มาตรฐานเข้มข้น

0.57 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

|                                        |       |           |
|----------------------------------------|-------|-----------|
| LDL มาตรฐาน                            | 17.54 | ไมโครลิตร |
| เติม $H_2O$ (disstilled water) ให้เป็น | 1.000 | มิลลิลิตร |

5. เตรียม Stock solution ของโบรอน โดยใช้ Boric acid ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม  
ต่อมิลลิลิตร

|                                       |        |           |
|---------------------------------------|--------|-----------|
| $H_3BO_3$                             | 0.0062 | กรัม      |
| เติม $H_2O$ (distilled water) ให้เป็น | 100    | มิลลิลิตร |

## ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ นางสาวหทัยชนก ชื่อสกุล ศรีใส  
เกิดวันที่ 9 เดือนตุลาคม พุทธศักราช 2513  
สถานที่เกิด อุดรราชธานี  
สถานที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่ 7/1 ถนนเทศบาล 2  
อำเภอพิบูลมังสาหาร  
จังหวัดอุบลราชธานี 34110

### ประวัติการศึกษา

- พ.ศ.2532 มัธยมศึกษาปีที่ 6 (แผนกวิทยาศาสตร์) จากโรงเรียน  
เบญจมะมหาราช อุดรราชธานี  
พ.ศ.2535 กศบ.(เคมี) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม  
พ.ศ.2539 วท.ม. (เคมีชีวภาพ) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ  
ประสานมิตร