



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

พอลิเอทธิลีน ไกลคอล-พอลิเอสเทอร์ ไดบล็อก โค
พอลิเมอร์ที่สามารถสลายตัวทางชีวภาพ สำหรับ
ใช้ควบคุมการปลดปล่อยยา

โดย ยอดธง ไบมาก

ตุลาคม 2550

สัญญาเลขที่ DBG4880008

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

พอลิเอทธิลีน ไกลคอล-พอลิเอสเทอร์ ไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่
สามารถสลายตัวทางชีวภาพ สำหรับ
ใช้ควบคุมการปลดปล่อยยา

ยอดธง ใบมาก

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ชุดโครงการทุนวิจัยพื้นฐานแบบกำหนดทิศทางเคมีทางยา

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการวิจัยแบบมุ่งเป้า: เคมีทางยา สัญญาเลขที่ DBG4880008 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือและสถานที่ในการวิจัยนี้

ยอดธง ไบมาก

ตุลาคม 2550

บทคัดย่อ

ไดบล็อก โคพอลิเมอร์ของ เมทอกรีต พอลิ(เอทิลีน ไกลคอล)-บล็อก-พอลิ(ดี, แอล-แลคไทด์-โค-ไกลโคลได์-โค-เอปไซลอน-แคโพรแลคโตน) (MPEG-*b*-PDLLGL) ที่มีอัตราส่วน DLL:G:CL เท่ากับ 100:0:0 80:20:0 และ 80:15:5 เปอร์เซ็นต์โมล ถูกสังเคราะห์ด้วยกระบวนการพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง MPEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 2,000 และ 5,000 กรัมต่อโมล และสแตนนัส ออกโทเอทถูกใช้เป็นระบบเริ่มปฏิกิริยา ไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่เป็นพอลิเมอร์อสัณฐาน โดยอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ลดลง เมื่อความยาวบล็อก MPEG เพิ่มขึ้น และเมื่อมีการพอลิเมอไรส์ร่วมกับไกลโคลได์และเอปไซลอน-แคโพรแลคโตน อนุภาคนาโนคอลลอยด์ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ถูกเตรียมด้วยวิธี modified-spontaneous emulsification solvent diffusion โดยมีและไม่มีสารลดแรงตึงผิว สารผสมของอะซิโตน/เอทานอลถูกใช้เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ขนาดของอนุภาคนาโนคอลลอยด์ถูกเปลี่ยนแปลงโดยอัตราส่วนของอะซิโตน/เอทานอล และอัตราส่วน DLL:G:CL แต่สารลดแรงตึงผิวพบว่าไม่มีผลกระทบ อนุภาคนาโนที่ได้เป็นอนุภาคนิ่มที่มีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีผิวเรียบ ปริมาณยาที่บรรจุและอัตราการปลดปล่อยยาของอนุภาคนาโนคอลลอยด์ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่บรรจุยาอินโดเมทาซินถูกเปลี่ยนแปลงโดยความยาวบล็อก MPEG และอัตราส่วน DLL:G:CL

Abstract

Methoxy poly(ethylene glycol)-*b*-poly(D,L-lactide-co-glycolide-co- ϵ -caprolactone) diblock copolymers (MPEG-*b*-PDLLGCL) with DLL:G:CL ratios of 100:0:0, 80:20:0 and 80:15:5 (mol%) were synthesized by ring-opening polymerization. The MPEG with molecular weights of 2,000 and 5,000 g/mole and stannous octoate were used as the initiating system. The resulted diblock copolymers were amorphous polymers. Glass transition temperature of the diblock copolymers decreased as the MPEG block length was increased and the glycolide and ϵ -caprolactone monomers were copolymerized. Colloidal nanoparticles of the diblock copolymers were prepared by the modified-solvent emulsification solvent diffusion method with and without any surfactant. Acetone/ethanol mixture was used as the organic solvent. The colloidal nanoparticle sizes were affected by acetone/ethanol ratio and DLL:G:CL ratio but surfactant did not. The obtained nanoparticles were soft particles with spherical shape and smooth surface. The drug loading content and rate of drug release of the indomethacin-loaded colloidal nanoparticles of diblock copolymers were affected by the MPEG block length and DLL:G:CL ratio.

Executive Summary

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้เป็นการออกแบบและพัฒนาระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยของไคบล็อค โคพอลิเมอร์ ของเมธอกซี พอลิเอทรีลีน ไกลคอล-บล็อค-พอลิเอสเทอร์ (methoxy polyethylene glycol-b-polyester, MPEG-b-polyester) โดย MPEG มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน คือ 2,000 และ 5,000 กรัมต่อโมล และบล็อคของพอลิเอสเทอร์มีอัตราส่วนโดยโมลเปอร์เซ็นต์ของ ดี,แอล-แลคไทด์ (D,L-lactide, DLL) ไกลโคไลด์ (glycolide,G) และเอปไซลอน-แคโพรแลคโตน (ε-caprolactone, CL) ต่างกัน คือ DLL:G:CL เท่ากับ 100:0:0 80:20:0 และ 80:15:5 โมลเปอร์เซ็นต์

การสังเคราะห์ไคบล็อค โคพอลิเมอร์ดังกล่าว พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์คือ อุณหภูมิ 130 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน โดยไคบล็อค โคพอลิเมอร์ที่ได้เป็นพอลิเมอร์อสัณฐาน โดยค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไคพอลิเมอร์ที่ได้มีค่าลดลงเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของ MPEG เพิ่มขึ้นและเมื่อมีการเติมไกลโคไลด์และแคโพรแลคโตนลงในบล็อคพอลิเอสเทอร์

จากการศึกษาปัจจัยในการเตรียมอนุภาคนาโนของไคบล็อค โคพอลิเมอร์ ด้วยเทคนิค modified spontaneous emulsification solvent diffusion method โดยอนุภาคนาโนที่ได้เป็นอนุภาคนิ่มที่เป็นทรงกลมและผิวเรียบ และพบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อขนาดอนุภาค ได้แก่ อัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายผสม และ อัตราส่วน DLL:G:CL ของบล็อคพอลิเอสเทอร์ โดยสารก่ออิมัลชันไม่มีผลต่อขนาดอนุภาคนาโน เมื่อทำการบรรจุยาอินโดเมทาซิน พบว่ามีประสิทธิภาพการบรรจุยาของอนุภาคนาโนที่น้อย โดยเมื่อความยาวบล็อค MPEG เพิ่มขึ้น และเมื่อเติมแคโพรแลคโตน และ/หรือไกลโคไลด์ ทำให้มีประสิทธิภาพการบรรจุยาลดลง อย่างไรก็ตามอนุภาคนาโนของไคบล็อค โคพอลิเมอร์ที่บรรจุยามีรูปแบบการปลดปล่อยยาแบบเนิ่น โดยปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราการปลดปล่อยยาสอดคล้องกับปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการบรรจุยา

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
Executive summary	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ	1
1.2 ทางเลือกและแนวทางการแก้ปัญหา	3
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	6
บทที่ 2 การทดลอง	7
2.1 สารเคมี	7
2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	8
2.3 การเตรียมมอนอเมอร์	8
2.4 การสังเคราะห์ไดโบล็อก โคพอลิเมอร์	10
2.5 การหาลักษณะเฉพาะของไดโบล็อก โคพอลิเมอร์	14
2.6 ศึกษาปัจจัยการเตรียมที่มีผลต่ออนุภาคนาโนของ MPEG5000-	14
PDLL	

	หน้า
2.6.1 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอล	14
2.6.2 ศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิว	15
2.7 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของ DLL:G:CL ของบล็อกพอลิเอสเทอร์ที่มี ผลต่ออนุภาคนาโน	15
2.8 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลที่มีผลต่อการ บรรจุยาอินโดเมทาซินในอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL และ MPEG2000-PDLL	16
2.9 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของ DLL:G:CL ที่มีผลต่อการบรรจุยาอินโด เมทาซินในอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL	16
2.10 การหาลักษณะเฉพาะของอนุภาคนาโน	17
2.11 การศึกษาการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินแบบ อิน วิโทร	17
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	19
3.1 การสังเคราะห์และหาลักษณะเฉพาะของไดบล็อก โคพอลิเมอร์	19
3.1.1 การศึกษาโครงสร้างโดยเทคนิค FT-IR spectroscopy	19
3.1.2 การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลโดยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC)	20
3.1.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและน้ำหนักโมเลกุลโดยเทคนิค ¹ H-NMR	21
3.1.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนโดยเทคนิค Differential Scanning Calorimetry (DSC)	24
3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL	27
3.2.1 อิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอล	27

	หน้า
3.2.2 ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว	30
3.3 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วน DLL:G:CL ของบล็อกพอลิเอสเทอร์ที่มีผลต่อ ลักษณะเฉพาะของอนุภาคนาโนของไดบล็อก โคพอลิเมอร์	31
3.4 กราฟมาตรฐานของยาอินโดเมทาซินในคลอโรฟอร์ม	34
3.5 อิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลที่มีผลต่อการบรรจุยาอินโดเมทาซินในอนุภาคนาโนของ MPEG2000-PDLL และ MPEG5000-PDLL	35
3.6 อิทธิพลของอัตราส่วนของ DLL:G:CL ที่มีผลต่อการบรรจุยาอินโดเมทาซินในอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL	37
3.7 การปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินแบบ อิน วิโทร	38
3.7.1 อิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลที่มีผลต่อการ ปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินในอนุภาคนาโนของ MPEG2000-PDLL และ MPEG5000-PDLL	38
3.7.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของ DLL:G:CL ที่มีผลต่อการบรรจุยาอินโดเมทาซินในอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL	39
4. สรุปผลการทดลอง	41
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก Output จากโครงการ	50

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย	7
2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	8
3.1 คำนวณน้ำหนักโมเลกุลจากเทคนิค GPC ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์	21
3.2 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของไดบล็อก โคพอลิเมอร์	23
3.3 เปรียบเทียบค่าน้ำหนักโมเลกุลของไดบล็อก โคพอลิเมอร์จากเทคนิค GPC และ $^1\text{H-NMR}$	24
3.4 ค่า T_g ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์	27
3.5 อิทธิพลของอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมของอะซิโตน/เอทานอลต่อขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคขนาดนาโน (MPEG5000-PDLL 0.4 กรัม และน้ำกลั่น 160 มล. ในการเตรียม)	29
3.6 อิทธิพลของความเข้มข้นของ Tween 80 ต่อขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคขนาดนาโน (MPEG5000-PDLL 0.4 กรัม และใช้อัตราส่วนของตัวทำละลาย อะซิโตน/เอทานอล = 3/2 โดยปริมาตรในการเตรียม)	31
3.7 อิทธิพลของอัตราส่วนของอัตราส่วน DLL:G:CL ของบล็อกพอลิเอสเทอร์ต่อขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคขนาดนาโน	33
3.8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอินโดเมทาซินในเมทิลีนคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	35
3.9 อิทธิพลของตัวทำละลายต่อ %DLC ของอนุภาคขนาดนาโนของ MPEG-PDLL ที่บรรจุยาอินโดเมทาซิน	36

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
3.10 อัตราส่วน DLL:G:CL ต่อ %DLC ของอนุภาคนาโนที่บรรจุยาอินโดเมทาซิน	37

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 ระดับความเข้มข้นของยาในเลือดผู้ป่วย (plasma concentration of drug) กับ เวลา เมื่อมีการให้ยา (*) ในแต่ละครั้ง (---) กับการให้ยาในรูปแบบควบคุมการ ปลดปล่อยยา (—)	2
1.2 Possible mechanism of nanoparticle-formation by the modified-SESD method. Solid lines: the diffusion of ethanol; dotted lines; the diffusion of acetone.	6
2.1 (a) การสังเคราะห์ low mol.wt. PDLLA จากการทำ polycondensation ของ DL- lactic acid หรือ Glycolic acid (b) การเตรียม DL-lactide จาก thermal decomposition ของ mol.wt. PDLLA	9
2.2 การกลั่นแบบลดความดันในการทำ ϵ -caprolactone ให้บริสุทธิ์	10
2.3 การสังเคราะห์ไดโบล็อก โคพอลิเมอร์	12
2.4 การสังเคราะห์ MPEG- <i>b</i> -PDLL diblock copolymer	12
2.5 การสังเคราะห์ MPEG- <i>b</i> -PDLLG diblock copolymer	13
2.6 การสังเคราะห์ MPEG- <i>b</i> -PDLLGCL diblock copolymer	13
3.1 สเปกตรัม FT-IR ของ (a) MPEG5000 (b) MPEG5000-PDLL (c) MPEG5000-PDLLG และ (d) MPEG5000-PDLLGCL	20
3.2 GPC curve ของ MPEG5000-PDLLGCL	21
3.3 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ (a) MPEG5000-PDLL (b) MPEG5000-PDLLG และ (c) MPEG5000-PDLLGCL	22

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.4 DSC curves ของ (a) MPEG2000 และ (b) MPEG5000 (จาก first heating scan)	25
3.5 DSC thermograms ของ (a) MPEG2000-PDLL (b) MPEG2000-PDLLG (c) MPEG2000-PDLLGCL (d) MPEG5000-PDLL (e) MPEG5000-PDLLG และ (f) MPEG5000-PDLLGCL ไบบล็อก โคพอลิเมอร์ (จาก second heating scan)	26
3.6 ภาพสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL โดยใช้ตัว ทำละลายผสมในอัตราส่วนต่างๆเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น จากซ้ายไปขวา: น้ำ กลั่น สารแขวนลอยของอนุภาคนาโนเตรียมโดยใช้ 3/1 3/2 และ 3/3 โดย ปริมาตรของ อะซิโตน/เอทานอล ตามลำดับ	28
3.7 กราฟแสดงขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายผสมในอัตราส่วน (a) 3/1 (b) 3/2 และ (c) 3/3 โดยปริมาตรของ อะซิโตน/เอทานอล	28
3.8 SEM micrographs ของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL ที่เตรียม โดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายผสมในอัตราส่วน 3/1 โดยปริมาตรของ อะ ซิโตน/เอทานอล (a) อนุภาคนาโน (b) การรวมตัวกันของอนุภาคนา นาโน	30
3.9 กราฟแสดงขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL เตรียมโดยใช้ความเข้มข้นของ Tween 80 (a) 0% (b) 1% และ (c) 2% (w/v)	31

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.10 ภาพสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ของ MPEG5000 เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น จากซ้ายไปขวา: น้ำกลั่น สารแขวนลอยของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL MPEG5000-PDLLG และ MPEG5000-PDLLGCL ตามลำดับ	32
3.11 กราฟแสดงขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนของ (a) MPEG5000-PDLL (b) MPEG5000-PDLLG และ (c) MPEG5000-PDLLGCL	33
3.12 SEM micrographs ของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL ที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายผสมในอัตราส่วน 3/2 โดยปริมาตร ของ อะซิโตน/เอทานอล (a) กำลังขยาย 2,500 เท่า (b) กำลังขยาย 15,000 เท่า	34
3.13 กราฟมาตรฐานของยาอินโดเมทาซินในในเมทริลีนคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	35
3.14 กราฟการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของ MPEG2000-PDLL ที่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายผสมอะซิโตนและเอทานอลในอัตราส่วนเท่ากับ (■) 3/1 (▲) 3/2 (×) 3/3 โดยปริมาตร และ (◆) ชุดควบคุม	38
3.15 กราฟการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL ที่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายผสมอะซิโตนและเอทานอลในอัตราส่วนเท่ากับ (■) 3/1 (▲) 3/2 (×) 3/3 โดยปริมาตร และ (◆) ชุดควบคุม	39

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.16 กราฟการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของ (■) MPEG5000-PDLL (▲) MPEG5000-PDLLG (×) MPEG5000-PDLLGCL ที่ เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายผสมอะซิโตนและเอทานอลในอัตราส่วนเท่ากับ 3/2 โดยปริมาตร และ (◆) ชุดควบคุม	40

บทที่ 1

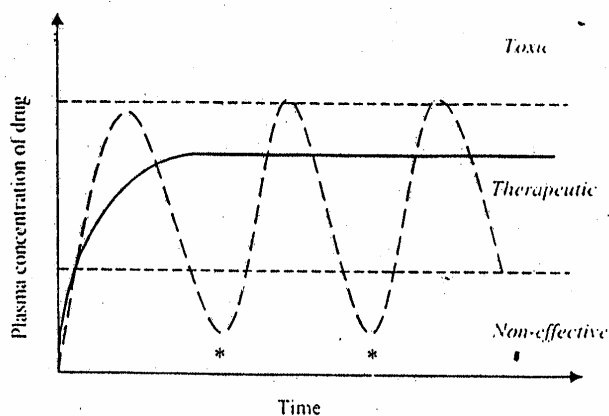
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ

การรักษาโรคโดยการให้ยา (drug therapy) ทั้งการรับประทาน หรือ การฉีดนั้น ผู้ทำการรักษาจะต้องทำการควบคุมระดับความเข้มข้นของยาในพลาสมาของผู้ป่วย (plasma concentration of drug) ให้มีค่าให้อยู่ในช่วงของการรักษา (therapeutic level) เพื่อให้ยาเกิดผลในการรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะหากความเข้มข้นของยามีค่ามากกว่า therapeutic level จะทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการข้างเคียงจากการได้รับยาเกินขนาด และหากความเข้มข้นของยามีค่าต่ำกว่า therapeutic level จะทำให้ไม่มีประสิทธิภาพในการรักษา ดังนั้นจำเป็นต้องมีการให้ยาแก่ผู้ป่วยหลาย ๆ ครั้งในการรักษา โดยความเข้มข้นของยาจะมีค่ามากขึ้นเมื่อมีการให้ยาในแต่ละครั้ง ซึ่งบางครั้งอาจทำให้มีความเข้มข้นของยามากกว่า therapeutic level จากนั้นความเข้มข้นของยาจะมีค่าลดลง ซึ่งบางครั้งอาจมีค่าลดลงต่ำกว่า therapeutic level ซึ่งการให้ยาแบบดังกล่าวจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาเป็นแบบฟันเลื่อย โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาที่เป็นแบบฟันเลื่อยได้ดังเส้นปะ (---) ในรูปที่ 1.1 ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย (controlled-release drug delivery systems) ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบของอนุภาคนำส่งยาคขนาดเล็ (drug-loading colloidal-sized particles) ขนาดไมโคร หรือ ขนาดนาโน โดยยาจะค่อย ๆ ถูกปลดปล่อยออกมาจากอนุภาคนำส่งยาจะทำให้ความเข้มข้นของยามีค่าคงที่ในช่วงของการรักษาตลอดระยะเวลา

ของการปลดปล่อย โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาได้ตั้งเส้นทึบ (—) ในรูปที่ 1.1 ซึ่งนอกจากจะเป็นการช่วยลดอาการข้างเคียงที่เกิดจากการได้รับยาเกินขนาดแล้วยังเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการบริหารยาด้วย นอกจากนี้ยาเก่าที่ถูกเลิกใช้เพราะมีอาการข้างเคียงที่รุนแรงอาจได้รับการพัฒนานำกลับมาใช้ในรูปแบบระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยได้อีกด้วย

ระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยที่ได้รับความสนใจทำการศึกษาวิจัยในปัจจุบัน ส่วนใหญ่ทำด้วยพอลิเมอร์ที่สลายตัวได้ทางชีวภาพ (biodegradable polymers) โดยเฉพาะ polyesters ที่สามารถสลายตัวได้ด้วยปฏิกิริยา simple hydrolysis ในร่างกายมนุษย์ และให้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ ได้แก่ poly(L-lactide) (PLL) poly(DL-lactide) (PDLL) polyglycolide (PGL) และ poly(ϵ -caprolactone) (PCL) ซึ่ง polyesters เหล่านี้ได้มีการผลิตและใช้ทางการแพทย์แล้ว ได้แก่ ไหมเย็บแผลชนิดละลายได้ และ ระบบนำส่งยาบางชนิด เป็นต้น



รูปที่ 1.1 ระดับความเข้มข้นของยาในเลือดผู้ป่วย (plasma concentration of drug) กับเวลา เมื่อมีการให้ยา (*) ในแต่ละครั้ง (---) กับการให้ยาในรูปแบบควบคุมการปลดปล่อยยา (—) [1]

การพัฒนาระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยนับว่ามีความสำคัญมาก โดยเฉพาะ ยาที่ละลายน้ำได้น้อย (poorly water-soluble drugs) เนื่องจากเมื่อยาประเภทนี้เข้าสู่ร่างกาย

จะมีการกระจายตัวและระยะเวลาอยู่ในร่างกายได้น้อย โดยจะถูกกำจัดออกอย่างรวดเร็วเหมือนเป็นสิ่งแปลกปลอม และเนื่องจากละลายน้ำได้น้อยจึงทำให้ต้องมีการให้ยาในปริมาณที่มากขึ้น เพื่อให้มียาในปริมาณที่เหมาะสมและสามารถมีประสิทธิภาพในการรักษาในบริเวณที่ต้องการได้ ระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยจะช่วยให้ poorly water-soluble drugs สามารถกระจายตัวและเพิ่มระยะเวลาอยู่ในร่างกายของผู้ป่วยได้มากขึ้น โดยที่พื้นผิวของระบบนำส่งยาจะมีส่วนที่เป็น hydrophilic ที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลของพอลิเมอร์โดยตรง หรือ เป็นส่วนที่มาจากการปรับแต่งพื้นผิวนั้นจะทำให้สามารถป้องกันการจับของโปรตีน หรือ เซลล์ต่างๆ เพื่อถูกกำจัดออกจากร่างกายเหมือนสิ่งแปลกปลอมอื่นๆทำให้ระบบนำส่งยาดังกล่าวสามารถอยู่ในร่างกายได้นานขึ้น ส่วนของ hydrophilic ที่มีการสนใจศึกษาและวิจัยในปัจจุบัน ได้แก่ poly(ethylene glycol) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้กับร่างกายสิ่งมีชีวิต (biocompatible polymers) และสามารถทำการสังเคราะห์เชื่อมต่อกับโมเลกุลของ polyesters ได้เป็น block copolymers ในการใช้เป็นตัวนำส่งยา (drug carriers) [2]

1.2 ทางเลือกและแนวทางการแก้ปัญหา

ในช่วง 3 - 4 ปีที่ผ่านมา พบว่าได้มีการสังเคราะห์ diblock copolymers โดยใช้ methoxy polyethylene glycol (MPEG) ในระบบเริ่มปฏิกิริยา โดยโมเลกุลของ diblock copolymers จะประกอบด้วย hydrophilic block คือ polyethylene glycol และ hydrophobic block คือ homopolyesters (PDLL [3,4] PLL [5,6] PG [7] และ PCL [8-11]) หรือ copolyesters เหล่านี้ [12-14] สำหรับประยุกต์ใช้เป็นระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยยา โดยเฉพาะพวก poorly water-soluble drugs ต่างๆ โดยเฉพาะ PDLL ซึ่งเป็นพอลิเมอร์อสัณฐาน (amorphous polymer) ซึ่งคาดว่าจะทำให้มีการกระจายตัวของยาที่ดีกว่าพอลิเอสเทอร์ที่เป็นพอลิเมอร์กึ่งผลึก (semi-crystalline polymers) ได้แก่ PLL PG และ PCL

โดย hydrophobic blocks ส่วนใหญ่จะหันเข้าด้านในของอนุภาคนำส่งยาและจะสามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวและกักเก็บตัวยาประเภทนี้ไว้ได้ดี ขณะที่ส่วน hydrophilic blocks ส่วนใหญ่จะอยู่ด้านนอกของอนุภาคนำส่งยา ทำให้เกิดเป็นลักษณะ core-shell particles โดย poorly water-soluble drugs จะถูกบรรจุอยู่ภายในส่วน core ของ particles

สำหรับกลไกการปลดปล่อยยาจากอนุภาคนำส่งยาได้มีการเสนอ 2 กลไกที่คาดว่าน่าจะเป็นไปได้มากที่สุด คือ กลไกที่ยาเกิดการแพร่ผ่านอนุภาคออกมาเป็นลักษณะแบบ bulk erosion และ กลไกที่ยาถูกปลดปล่อยออกมาเนื่องจากการสลายตัวของอนุภาคนำส่งเป็นลักษณะแบบ surface erosion ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อกลไกเหล่านี้เป็นองค์ความรู้ที่กำลังได้มีการศึกษาและวิจัยกันอย่างต่อเนื่องเพื่อทำให้การนำระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยนี้สามารถใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพและทำนายการปลดปล่อยได้อย่างแม่นยำ

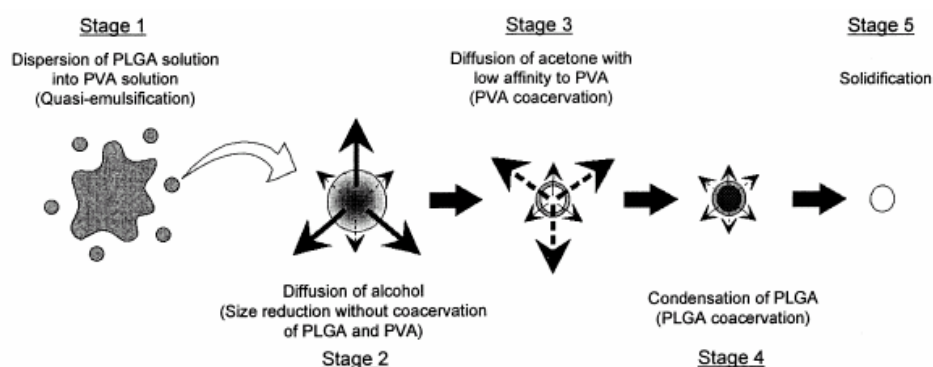
ในงานวิจัยนี้จะได้ทำการศึกษาวิจัยการสังเคราะห์และประยุกต์ใช้เป็นระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยของ MPEG-b-P(DLL-co-CL-co-GL) diblock copolymers ซึ่งเป็น novel biodegradable polymers โดยจะใช้ยาอินโดเมทาซิน (indomethacin, IMC) ซึ่งเป็น poorly water-soluble drugs เป็น model drug ในการศึกษาวิจัยนี้ IMC เป็น non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) ใช้บรรเทาอาการเจ็บปวดหรือการอักเสบที่เกิดจากอาการบวมในผู้ป่วยที่เป็นโรคเกาต์ หรือ โรคกล้ามเนื้อและข้ออักเสบ (Rheumatoid arthritis) โดยมีการให้ยาครั้งละ 20-40 มก. วันละ 2-4 ครั้ง และมีอาการข้างเคียงจากการได้รับยาเกินขนาดได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียนศีรษะหรือปวดศีรษะอย่างรุนแรงและระคายเคืองกระเพาะอาหาร เป็นต้น ซึ่งปัจจุบันยังคงพบงานวิจัยที่ทำการศึกษาและวิจัยการควบคุมการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินด้วย biodegradable polymers [8,9,15,16]

ปัจจัยที่ผู้วิจัยได้ทำการพิจารณาในการออกแบบ MPEG-b-P(DLL-co-CL-co-GL) diblock copolymers สำหรับประยุกต์เป็นระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อยในโครงการวิจัยนี้ ได้แก่ ประสิทธิภาพของพอลิเมอร์ อัตราการสลายตัว และ ราคา สำหรับใน

ด้านประสิทธิภาพของพอลิเมอร์เหล่านี้ พบว่าพอลิเมอร์เหล่านี้ได้มีการศึกษาวิจัยในการประยุกต์ด้าน biomedical applications เป็นเวลามากกว่า 30 ปีแล้ว และได้มีมูลค่าทางการค้าแล้ว ดังนั้นพอลิเมอร์เหล่านี้จึงมีประสิทธิภาพอย่างมากสำหรับ biomedical applications ต่างๆ สำหรับอัตราการสลายตัวพบว่าอัตราการสลายตัวสำหรับ homopolymers คือ $PGL > PDLL > PCL$ และ co- และ terpolymers ของ monomer เหล่านี้ซึ่งจะมีอัตราการสลายตัวที่เร็วกว่า homopolymers ที่เป็น main component ดังนั้นเมื่อต้องการควบคุมการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซิน ซึ่งต้องการปลดปล่อยออกมาในช่วงเวลา 1-2 วันเท่านั้นนั้น hydrophobic block ซึ่งเป็นส่วนที่กักเก็บยาควรจะต้องเป็น amorphous region และสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว ซึ่ง PGL และ PCL เป็น crystalline polyesters อาจจะทำให้เกิดการกระจายตัวของยาในระบบนำส่งที่ไม่สม่ำเสมอ ขณะที่ PDLL เป็น amorphous polyester แต่สลายตัวได้ช้าจึงมีการออกแบบ terpolymer block สำหรับเหตุผลดังกล่าว สำหรับราคาจะมีลำดับดังนี้ $PGL > PDLL > PCL$ ในงานวิจัยนี้จะใช้ PDLL เป็นองค์ประกอบหลัก มีส่วนของ PGL เพื่อช่วยเพิ่มอัตราการสลายตัว และ PCL เพื่อช่วยทำให้พอลิเมอร์ที่เตรียมได้มีราคาที่ลดลง

สำหรับเทคนิค modified spontaneous emulsification solvent diffusion method (modified-SESD method) เป็นเทคนิคการเตรียมอนุภาคนาโนที่ไม่ใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง เช่น homogenizer และ sonicator เป็นต้น และไม่ใช้ตัวทำละลายพอลิเมอร์ที่มีความเป็นพิษมาก เช่น chloroform dichloromethane และ dimethylsulfoxide เป็นต้น [17] ดังนั้นเทคนิคนี้จึงมีความเป็นไปได้ในการ scale up การผลิตอนุภาคนาโน โดยสมมุติฐานของกลไกได้แสดงในรูปที่ 2.1 โดยการใช้อะซิโตน ซึ่งเป็นตัวทำละลายพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ และมีการผสมแอลกอฮอล์ด้วย ดังนั้นจะทำให้เกิดกลไกการแพร่เป็นชั้น คือ ในชั้นแรกจะเป็นการแพร่ของแอลกอฮอล์ซึ่งมีความชอบน้ำมากกว่า ซึ่งในชั้นนี้จะเป็นชั้นตอนที่ทำให้หยดของอิมัลชันมีขนาดเล็กลง ต่อจากนั้นจะเป็นการแพร่และการระเหยของอะซิโตนซึ่งจะทำให้ได้อนุภาคนาโน

โดยการปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็วรอบ 200 – 600 รอบต่อนาที โดยในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิค modified-SESD method ในการเตรียมอนุภาคนาโน



รูปที่ 1.2 Possible mechanism of nanoparticle-formation by the modified-SESD method.

Solid lines: the diffusion of ethanol; dotted lines; the diffusion of acetone. [17]

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.3.1 ทำการออกแบบ สังเคราะห์ และหาลักษณะเฉพาะของ biodegradable methoxy

polyethylene glycol-b-poly(DL-lactide-co-ε-caprolactone-co-glycolide) (MPEG-

b-P(DLL-co-CL-co-GL)) diblock copolymers ที่มีขนาดความยาวของบล็อก

MPEG และ อัตราส่วนโดยโมลของ DLL:G:CL ที่ แตกต่างกัน

1.3.2 ทำการเตรียมและหาลักษณะเฉพาะของอนุภาคนำส่งยาขนาดเล็กที่บรรจุยาอินโด

เมทาซิน โดยศึกษาปัจจัยในการเตรียมที่มีผลต่อลักษณะเฉพาะของอนุภาคนำส่งยา

1.3.3 ทำการทดสอบการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินจากอนุภาคนำส่งยาขนาดเล็กแบบ

in vitro

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 สารเคมี

ตารางที่ 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

สารเคมี	หน้าที่	ความบริสุทธิ์	บริษัทผู้ผลิต
D,L-Lactic acid solution	Monomer precursor	90%	Fluka
Glycolic acid	Monomer precursor	99%	Acros
ε-Caprolactone	Monomer	99%	Acros
Stannous octoate	Initiator	95%	Sigma
Methoxy polyethylene glycol (M.W. 2000 และ 5000 กรัมต่อโมล)	Co-initiator	99%	Fluka
Ethyl acetate	Solvent	Commercial*	Merck
Chloroform	Solvent	AR	Merck
n-Hexane	Non-solvent	Commercial*	Merck
Acetone	Solvent	AR	Merck
Ethanol	Co-solvent	AR	Merck
Tween 80	Surfactant	99%	Lab Chem
Indomethacin	Model drug	95%	Sigma

* ทำให้บริสุทธิ์ก่อนใช้โดยการกลั่นลำดับส่วน

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

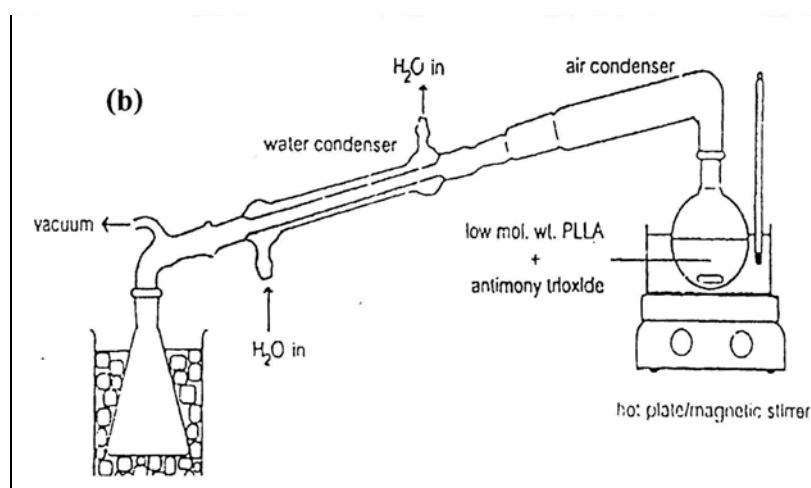
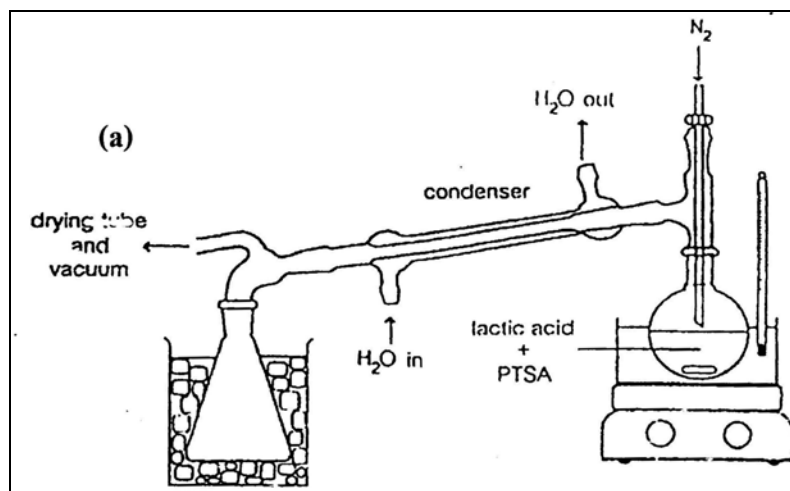
ตารางที่ 2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือ	บริษัทผู้ผลิต	รุ่น
Vacuum oven	MMM-group	Vacucell
^1H -NMR spectrometer	Bruker	DPX-300
Gel permeation chromatography	Waters	717 Autosampler
Differential scanning calorimeter	Perkin Elmer	Pyris Diamond DSC
FT-IR spectrophotometer	Perkin Elmer	Spectrum GX
Scanning electron microscope	JEOL	JSM-6460 LV
Light scattering particle size analyzer	Beckman Coulter	LS 230
Incubator shaker	Jouan Nordic	Heto SBD 50
UV-Vis spectrophotometer	Perkin Elmer	Lamda 25

2.3 การเตรียมมอนอเมอร์

D,L-lactide และ glycolide มอนอเมอร์สามารถเตรียมจาก D,L-lactic acid และ glycolic acid ตามลำดับ โดยทำการสังเคราะห์ poly(D,L-lactic acid) ที่ 150°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และทำการสลาย poly(D,L-lactic acid) ที่ได้ที่ 240°C ที่ความดันต่ำ จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น D,L-lactide และทำการสังเคราะห์ poly(glycolic acid) ที่ 220°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และทำการสลาย poly(glycolic acid) ที่ได้ที่ 340°C ที่ความดันต่ำ จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น glycolide ดังตัวอย่างรูปการเตรียมอุปกรณ์สังเคราะห์ lactide ในรูปที่ 2.1

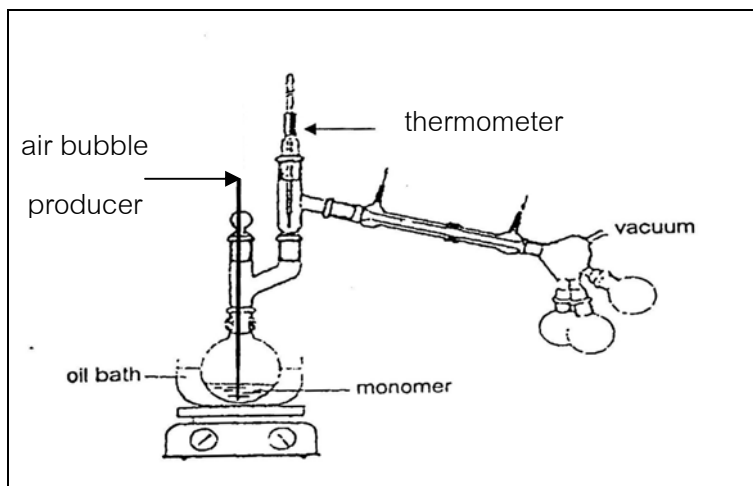
D,L-lactide และ glycolide ที่เตรียมได้ทำให้บริสุทธิ์โดยการ re-crystallization ด้วย distilled ethyl acetate อย่างน้อย 4 ครั้ง และนำไปอบใน vacuum oven ที่ 50°C เป็นเวลา 4 - 5 วัน ก่อนนำไปใช้



รูปที่ 2.1 (a) การสังเคราะห์ low mol.wt. PDLLA จากการทำ polycondensation ของ DL-lactic acid หรือ Glycolic acid

(b) การเตรียม DL-lactide จาก thermal decomposition ของ mol.wt. PDLLA

สำหรับ ϵ -caprolactone ทำให้บริสุทธิ์โดยการกลั่นแบบลดความดัน ดังรูปที่ 2.2 และเก็บไว้ในตู้เย็นก่อนนำไปใช้ สำหรับ MPEG จะทำการอบที่ $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ ใน vacuum oven เป็นเวลา 4 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้



รูปที่ 2.2 การกลั่นแบบลดความดันในการทำ ϵ -caprolactone ให้บริสุทธิ์

2.4 การสังเคราะห์ไดโบล็อก โคพอลิเมอร์

1) ทำการชั่ง initiator $[\text{Sn}(\text{Oct})_2]$ coinitiator (MPEG) และ monomers (DLL, G และ CL) ลงใน 25 ml round bottom flasks (reaction flasks) ที่สะอาดและแห้ง และมีแท่งแม่เหล็กอยู่ (โดยทำการอบที่ $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 24 ชั่วโมง และทำให้เย็นใน desiccator ก่อนนำมาใช้ เพื่อป้องกัน moistures ต่างๆตกค้างซึ่งสามารถทำหน้าที่เป็น co-initiators ได้ส่งผลทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโคพอลิเมอร์มีค่าต่ำกว่าที่ต้องการ)

2) ปิด reaction flasks ด้วย glass stopcock ทำการ de-gas โดยจุ่มลงในน้ำอุ่น 50°C พร้อมทำการลดความดัน (~ 10 hPa) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

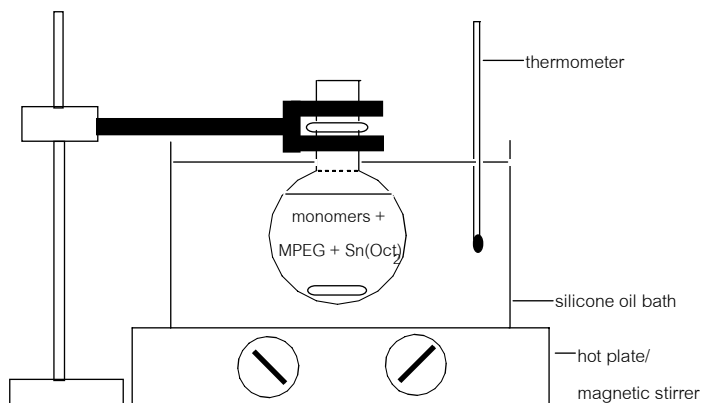
3) นำ reaction flasks เข้าในถุงพลาสติกขนาดใหญ่ ทำการ flow ด้วยก๊าซ N_2 เป็นเวลา 20 นาที ก่อนปิด reaction flasks ด้วย glass stopper แทน glass stopcock

4) จุ่ม reaction flasks ลงใน oil bath ที่ 130°C 24 ชั่วโมง พร้อมทำการปั่นกววน ดังรูปที่ 2.3

5) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ยก reaction flasks ขึ้น และนำพอลิเมอร์ที่ได้ออกจาก reaction flask ทิ้งให้เย็นใน desiccator ทำโคพอลิเมอร์ที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยละลายใน chloroform แล้วตกตะกอนใน hexane ที่เย็น

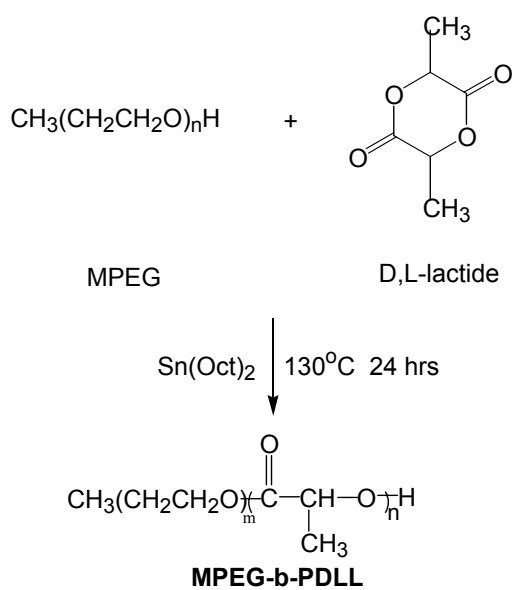
6) ทำการกรอง และนำไปอบใน vacuum oven ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทำการสังเคราะห์ diblock copolymers ได้แก่ (ในวงเล็บเป็นน้ำหนักโมเลกุลของแต่ละบล็อก (g/mol))

- MPEG(2,000)-*b*-PDLL(60,000) เรียกเป็น MPEG2000-PDLL
- MPEG(2,000)-*b*-P(DLL-G) (60,000) โดย DLL:G = 80:20 mol% เรียกเป็น MPEG2000-PDLLG
- MPEG(2,000)-*b*-P(DLL-CL-G) (60,000) โดย DLL:G:CL = 80:15:5 mol% เรียกเป็น MPEG2000-PDLLGCL
- MPEG(5,000)-*b*-PDLL(60,000) เรียกเป็น MPEG5000-PDLL
- MPEG(5,000)-*b*-P(DLL-G) (60,000) โดย DLL:G = 80:20 mol% เรียกเป็น MPEG5000-PDLLG
- MPEG(5,000)-*b*-P(DLL-CL-G) (60,000) โดย DLL:G:CL = 80:15:5 mol% เรียกเป็น MPEG5000-PDLLGCL

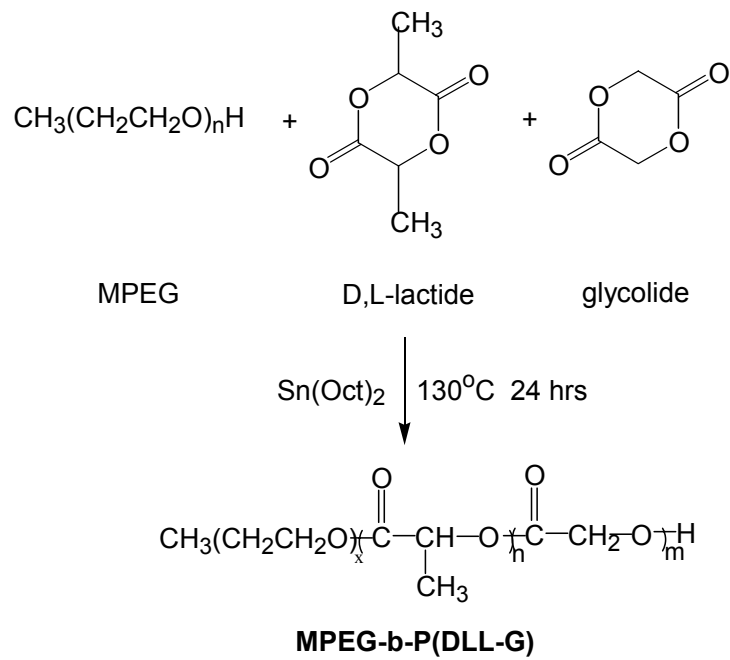


รูปที่ 2.3 การสังเคราะห์ไดบล็อก โคพอลิเมอร์

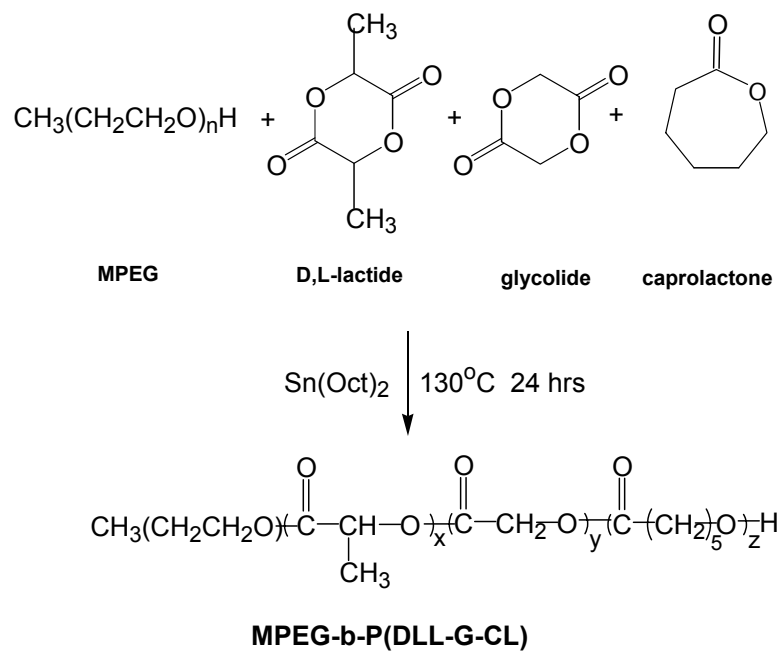
โดยปฏิกิริยาการสังเคราะห์ของ MPEG-PDLL MPEG-PDLLG และ MPEG-PDLLGCL ได้
แสดงในรูปที่ 2.4 – 2.6 ดังนี้



รูปที่ 2.4 การสังเคราะห์ MPEG-*b*-PDLL diblock copolymer



รูปที่ 2.5 การสังเคราะห์ MPEG-*b*-PDLLG diblock copolymer



รูปที่ 2.6 การสังเคราะห์ MPEG-*b*-PDLLGCL diblock copolymer

2.5 การหาลักษณะเฉพาะของไคบล็อค โคพอลิเมอร์

ทำการหาลักษณะเฉพาะโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ต่างๆ ดังนี้

- FT-IR spectroscopy ศึกษาโครงสร้างไคบล็อค โคพอลิเมอร์
- Gel permeation chromatography (GPC) หาค่าน้ำหนักโมเลกุลและการกระจายของน้ำหนักโมเลกุล
- $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy หาค่าองค์ประกอบทางเคมี น้ำหนักโมเลกุล และการจัดเรียงมอนอเมอร์ในโมเลกุล
- Differential scanning calorimetry (DSC) หาคุณสมบัติทางความร้อน

2.6 ศึกษาปัจจัยการเตรียมที่มีผลต่ออนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL

2.6.1 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอล

- 1) ทำการละลาย MPEG5000-PDLL ปริมาณ 0.4 กรัมด้วย 20 มล. ของตัวทำละลายผสมอะซิโตน/เอทานอล (อัตราส่วน 3/1 3/2 และ 3/3 โดยปริมาตร)
- 2) ทำการหยดสารละลายจากข้อ 1) ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 160 มล ที่ทำการปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็วรอบ 600 รอบต่อนาที
- 3) ทำการระเหยตัวทำละลายในตู้ดูดควันพร้อมปั่นกวนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
- 4) ทำการกรองสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนที่ได้จากข้อ 3) โดยกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.2 ไมครอน เพื่อกำจัดอนุภาคที่เกาะตัวกัน

2.6.2 ศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิว

- 1) ทำการละลาย MPEG5000-PDLL ปริมาณ 0.4 กรัมด้วย 20 มล. ของตัวทำละลายผสม (อะซิโตน/เอทานอล = 3/2 โดยปริมาตร)
- 2) ทำการหยดสารละลายจากข้อ 1) ลงในสารละลาย Tween 80 [ความเข้มข้น 1% และ 2% (w/v)] ปริมาตร 160 มล. ที่ทำการปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็วรอบ 600 รอบต่อนาที
- 3) ทำการระเหยตัวทำละลายในตู้ดูดควันพร้อมปั่นกวนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
- 4) ทำการกรองสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนที่ได้จากข้อ 3) โดยกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.2 ไมครอน เพื่อกำจัดอนุภาคที่เกาะตัวกัน

2.7 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของ DLL:G:CL ของบล็อกพอลิเอสเทอร์ที่มีผลต่อ

อนุภาคนาโน

- 1) ทำการละลายโพลีบล็อก โคลิเมอร์ของ MPEG5000 ปริมาณ 0.4 กรัมด้วย 20 มล. ของตัวทำละลายผสม (อะซิโตน/เอทานอล = 3/2 โดยปริมาตร)
- 2) ทำการหยดสารละลายจากข้อ 1) ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 160 มล. ที่ทำการปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็วรอบ 600 รอบต่อนาที
- 3) ทำการระเหยตัวทำละลายในตู้ดูดควันพร้อมปั่นกวนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
- 4) ทำการกรองสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนที่ได้จากข้อ 3) โดยกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.2 ไมครอน เพื่อกำจัดอนุภาคที่เกาะตัวกัน

2.8 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลที่มีผลต่อการบรรจุยาอินโดเมธาซินในอนุภาคขนาดนาโนของ MPEG5000-PDLL และ MPEG2000-PDLL

- 1) ทำการละลายไคบลิค โคพอลิเมอร์ ปริมาณ 0.4 กรัม และยาอินโดเมธาซินประมาณ 0.04 กรัมด้วย 20 มล. ของตัวทำละลายผสม (อะซิโตน/เอทานอล = 3/2 โดยปริมาตร)
- 2) ทำการหยดสารละลายจากข้อ 1) ลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 160 มล ที่ทำการปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็วรอบ 600 รอบต่อนาที
- 3) ทำการระเหยตัวทำละลายในตู้ดูดควันพร้อมปั่นกวนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
- 4) ทำการกรองสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนที่ได้จากข้อ 3) โดยกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.2 ไมครอน เพื่อกำจัดอนุภาคที่เกาะตัวกัน

2.9 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของ DLL:G:CL ที่มีผลต่อการบรรจุยาอินโดเมธาซินในอนุภาคขนาดนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL

- 1) ทำการละลายไคบลิค โคพอลิเมอร์ปริมาณ 0.4 กรัม และยาอินโดเมธาซินประมาณ 0.04 กรัมด้วย 20 มล. ของตัวทำละลายผสม (อะซิโตน/เอทานอล = 3/2 โดยปริมาตร)
- 2) ทำการหยดสารละลายจากข้อ 1) ลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 160 มล ที่ทำการปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็วรอบ 600 รอบต่อนาที
- 3) ทำการระเหยตัวทำละลายในตู้ดูดควันพร้อมปั่นกวนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
- 4) ทำการกรองสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนที่ได้จากข้อ 3) โดยกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.2 ไมครอน เพื่อกำจัดอนุภาคที่เกาะตัวกัน

2.10 การหาลักษณะเฉพาะของอนุภาคนาโน

ทำการหาลักษณะเฉพาะของอนุภาคนาโน โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ต่างๆ ดังนี้

- Light Scattering Particle Size Analyzer ศึกษาขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโน
- Scanning Electron Microscopy (SEM) ศึกษารูปร่างและพื้นที่ผิวของอนุภาคนาโน
- UV-Visible spectrophotometry (UV-Vis) ศึกษาปริมาณยาอินโดเมทาซินที่บรรจุอยู่ในอนุภาคนาโน

2.11 การศึกษาการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินแบบ อิน วิโทร

ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษา drug release profiles โดยบรรจุอนุภาคนาโนส่งยาขนาดนาโนใน dialysis tube (MW. Cut off 6-8000) โดยทำการแช่ใน phosphate buffer pH 7.4 (medium solution) ที่ 37 ± 1 °C ใน incubator shaker และทำการวัดปริมาณยาอินโดเมทาซินที่ปลดปล่อยออกมาแต่ละเวลาด้วยเทคนิค UV-Vis ที่ $\lambda_{\max} = 319$ nm และทำการวิเคราะห์ปริมาณยาอินโดเมทาซินที่ปลดปล่อยออกมาในแต่ละเวลาด้วยเทคนิค UV-Vis spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 319 nm โดยมีขั้นตอนดังนี้

- 1) นำ colloidal nanoparticles ปริมาตร 2.0 มล. ที่เตรียมได้บรรจุลงใน Dialysis tube (ที่แช่ในน้ำ 40-50 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง)
- 2) ทำการถ่วง dialysis tube จากข้อ 1) โดยผูกติดกับ magnetic bar มัดปลายทั้งสองข้างด้วยเชือกเพื่อใช้เป็น ก้อนใส่ลงใน 200 mL medium solution

- 3) ทำการทดสอบการปลดปล่อยยาด้วยเครื่อง Shaker Incubator ที่อุณหภูมิ 37 ± 1 °C อัตราการเขย่าที่ 150 รอบ/นาที
- 4) เก็บตัวอย่าง medium solution 10 มล. ที่ได้จากการทดสอบการปลดปล่อยยา ที่เวลาต่าง ๆ ดังนี้ 1, 2, 3, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง (โดยทำการเติม fresh medium solution 10 มล. ลงไปแทนที่ทุกครั้ง)
- 5) นำสารละลาย medium solution ที่ได้จากการทดสอบการปลดปล่อยยาที่เวลาต่าง ๆ ไปวิเคราะห์หาปริมาณยาด้วยวิธี UV-VIS Spectrophotometry ที่ $\lambda_{\max} = 319 \text{ nm}$ โดยทำการคำนวณเปรียบเทียบกับ standard curve ของยาใน medium solution
- 6) ทำการพล็อตกราฟระหว่าง ปริมาณยาอินโดเมทาซินที่ปลดปล่อยออกมา (mg) กับ เวลา (ชั่วโมง)

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์และหาลักษณะเฉพาะของไดบล็อก โคพอลิเมอร์

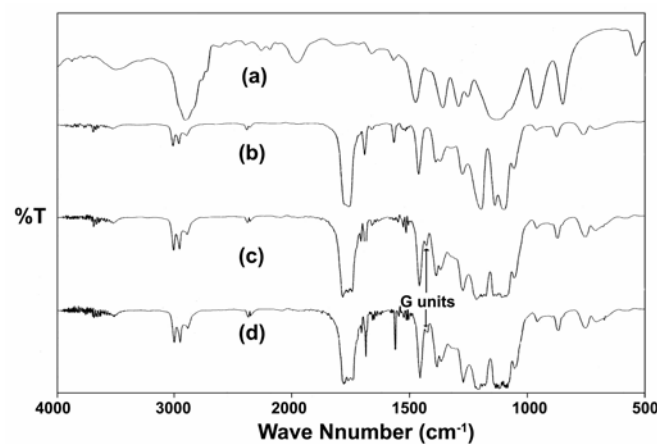
จากการสังเคราะห์ไดบล็อก โคพอลิเมอร์ของ MPEG-PDLLGCL ที่มีน้ำหนักโมเลกุลของบล็อก MPEG = 2,000 และ 5,000 กรัมต่อโมล และบล็อกพอลิเอสเทอร์ = 60,000 กรัมต่อโมล โดยมีอัตราส่วน DLL:G:CL ขอบล็อกพอลิเอสเทอร์ที่ต่างกัน คือ 100:0:0 80:20:0 และ 80:15:5 เปอร์เซนต์โมล โดยใช้สภาวะในการสังเคราะห์ คือ 130 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน หลังการทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการละลายและตกตะกอนพบว่าไดบล็อก โคพอลิเมอร์ทั้งหมดมี %yield มากกว่า 90%

การหาลักษณะเฉพาะของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ได้ใช้เทคนิคการวิเคราะห์หลายวิธีต่าง ๆ ร่วมกัน ดังนี้

3.1.1 การศึกษาโครงสร้างโดยเทคนิค FT-IR spectroscopy

หมู่ฟังก์ชันของ MPEG และไดบล็อก โคพอลิเมอร์สามารถศึกษาและยืนยันได้จากสเปกตรัม FT-IR ดังแสดงตัวอย่างของ MPEG5000 และไดบล็อก โคพอลิเมอร์ในรูปที่ 3.1 พบว่าแบนสำคัญที่แสดงถึงโครงสร้างของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ คือ แบนที่ 2900 - 3000 cm^{-1} (C-H stretching) 1760 cm^{-1} (ester C=O stretching) และ 1100 cm^{-1} (O-CH₂ stretching) จากการเปรียบเทียบสเปกตรัม FT-IR ของ MPEG (รูปที่ 3.1 (a)) กับ ไดบล็อก โคพอลิเมอร์ (รูปที่ 3.1 (b) – (d)) สามารถยืนยันปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง MPEG และพอลิเอสเทอร์ โดยพบว่าความเข้มของแบนที่ 3500 cm^{-1} (O-H stretching) ในสเปกตรัมของ MPEG5000 ในรูปที่

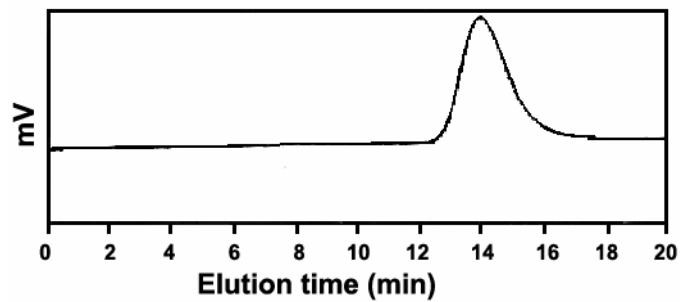
3.1(a) ได้ลดลงในสเปกตราของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ ในรูปที่ 3.1(b)-3.1(d) แสดงว่าหมู่ไฮดรอกซิลของ MPEG ได้เกิดปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลของแลคไทด์ ไกลโคไลด์ และแคโพรแลคโตน นอกจากนี้ยังสามารถพบแบนของ CH_2 stretching ที่ 1421 cm^{-1} ของไกลโคไลด์ ในสเปกตรา FT-IR ของ MPEG5000-PDLLG และ MPEG5000-PDLLGCL ขณะที่สเปกตราของ MPEG2000 และไดบล็อก โคพอลิเมอร์พบว่าการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกัน



รูปที่ 3.1 สเปกตรา FT-IR ของ (a) MPEG5000 (b) MPEG5000-PDLL (c) MPEG5000-PDLLG และ (d) MPEG5000-PDLLGCL

3.1.2 การวิเคราะห์ค่าน้ำหนักโมเลกุลโดยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC)

จากเส้นโค้ง GPC ของไดบล็อกโคพอลิเมอร์พบว่ามีค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวน (number-average molecular weight, $\bar{M}_n$) และค่าการกระจายของน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight distribution, MWD) แสดงในตารางที่ 3.1 พบว่ามีค่าน้ำหนักโมเลกุลที่สังเคราะห์ใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่ต้องการสังเคราะห์ซึ่งคำนวณได้จาก feed ratios และพบว่าไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่ได้ทั้งหมดมีค่า MWD ต่ำกว่า 2.0 โดยมีการกระจายน้ำหนักโมเลกุลแบบเดี่ยว (monodisperse) ดังแสดงตัวอย่างในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 GPC curve ของ MPEG5000-PDLLGCL

ตารางที่ 3.1 คำนวณน้ำหนักโมเลกุลจากเทคนิค GPC ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์

Diblock copolymer	$\bar{M}_n$ (g/mol)		MWD^b
	Feed ratio ^a	GPC ^b	
MPEG2000-PDLL	62,000	58,200	1.86
MPEG2000-PDLLG	62,000	54,400	1.78
MPEG2000-PDLLGCL	62,000	56,900	1.85
MPEG5000-PDLL	65,000	73,600	1.88
MPEG5000-PDLLG	65,000	68,800	1.83
MPEG5000-PDLLGCL	65,000	74,500	1.84

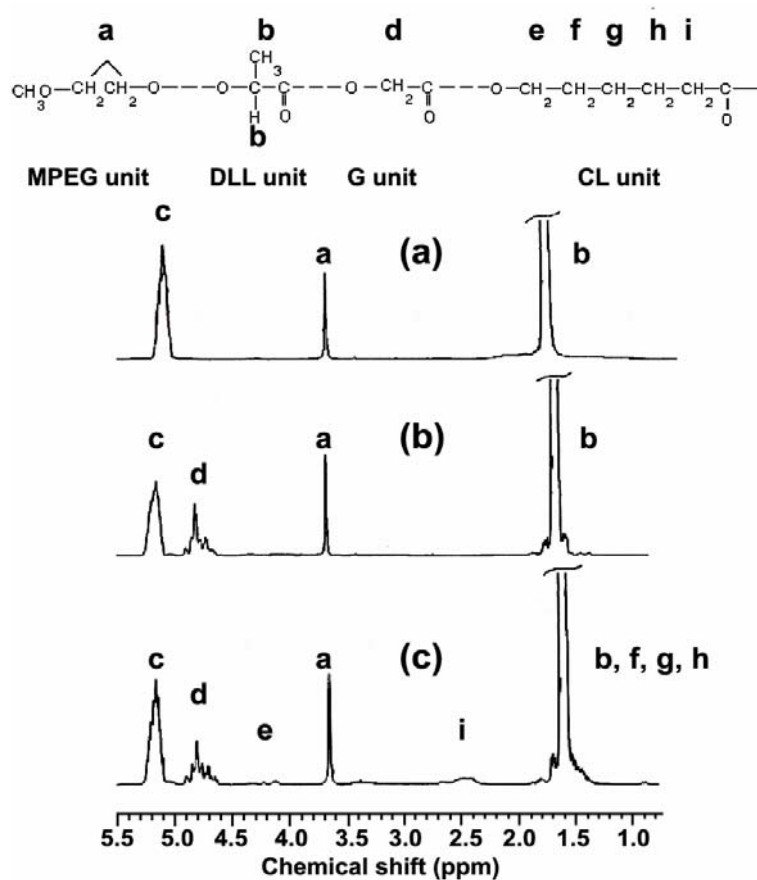
^a Calculated from comonomer feed ratios.

^b Determined from GPC curves.

3.1.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและน้ำหนักโมเลกุลโดยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$

ค่าองค์ประกอบทางเคมีของโคพอลิเมอร์ (copolymer chemical composition) สามารถคำนวณได้จาก integral peak areas ของ ethylene oxide (EO) DLL G และ CL units จาก $^1\text{H-NMR}$ spectra ดังแสดงตัวอย่างในรูปที่ 3.3 สำหรับ MPEG5000-PDLL MPEG5000-

PDLLG และ MPEG5000-PDLLGCL พร้อมทั้ง peak assignments ในงานวิจัยนี้ได้ใช้พีคของ ethylene oxide (EO) methylene protons ที่ $\delta = 3.4 - 3.6$ ppm, DLL methine protons ที่ $\delta = 5.0-5.3$ ppm, G methylene protons ที่ $\delta = 4.5 - 4.9$ ppm และ CL ϵ -methylene protons ที่ $\delta = 3.9 - 4.2$ ppm ในการคำนวณค่า copolymer compositions ของ diblock copolymer โดยผลการคำนวณ copolymer composition ของ diblock copolymer ได้แสดงในตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.3 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ (a) MPEG5000-PDLL (b) MPEG5000-PDLLG และ (c) MPEG5000-PDLLGCL

ตารางที่ 3.2 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของไดบล็อก โคพอลิเมอร์

Diblock copolymer	$\bar{M}_n$ of MPEG (g/mol)	EO:DLL:G:CL (mol%)		DLL:G:CL (mol%)	
		Feed ratio ^a	¹ H NMR ^b	Feed ratio ^a	¹ H NMR ^b
MPEG2000-PDLL	2,000	10:90:0:0	8:91:0:0	100:0:0	100:0:0
MPEG2000-PDLLG	2,000	10:72:18:0	10:71:19:0	80:20:0	79:21:0
MPEG2000-PDLLGCL	2,000	9:72:14:5	10:71:14:5	80:15:5	78:16:6
MPEG5000-PDLL	5,000	22:78:0:0	21:79:0:0	100:0:0	100:0:0
MPEG5000-PDLLG	5,000	21:63:16:0	21:67:12:0	80:20:0	85:15:0
MPEG5000-PDLLGCL	5,000	21:63:12:4	20:66:10:4	80:15:5	83:12:5

^a Calculated from comonomer feed ratios.

^b Calculated from ¹H-NMR spectra.

จากตารางที่ 3.2 ค่า copolymer compositions ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่คำนวณได้จาก ¹H-NMR spectra พบว่ามีค่าใกล้เคียงค่า comonomer feed ratios แสดงว่าการเกิดปฏิกิริยาของการสังเคราะห์ diblock copolymer ในงานวิจัยนี้เกิดขึ้นใกล้เคียง 100% conversion และเมื่อทำการคำนวณน้ำหนักโมเลกุลจากค่า copolymer compositions และน้ำหนักโมเลกุลของบล็อก MPEG พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับค่าน้ำหนักโมเลกุลที่ได้จากเทคนิค GPC ดังแสดงการเปรียบเทียบในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 เปรียบเทียบค่าน้ำหนักโมเลกุลของไดบล็อก โคพอลิเมอร์จากเทคนิค GPC และ

$^1\text{H-NMR}$

Diblock copolymer	M_n (g/mol)		
	Feed ratio ^a	GPC ^b	$^1\text{H-NMR}$ ^c
MPEG2000-PDLL	62,000	58,200	59,300
MPEG2000-PDLLG	62,000	54,400	58,100
MPEG2000-PDLLGCL	62,000	56,900	58,400
MPEG5000-PDLL	65,000	73,600	67,700
MPEG5000-PDLLG	65,000	68,800	65,000
MPEG5000-PDLLGCL	65,000	74,500	67,300

^a Calculated from comonomer feed ratios.

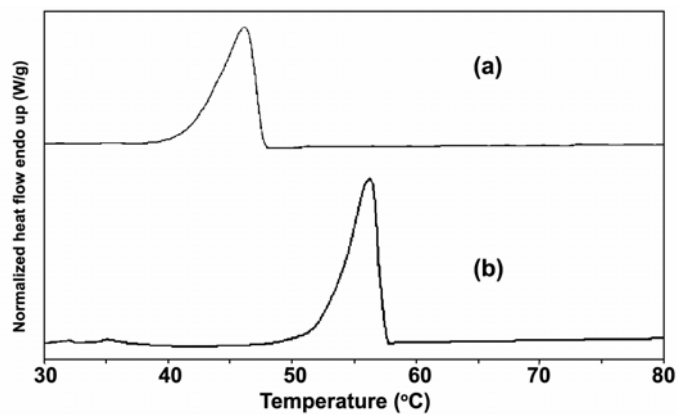
^b Determined from GPC curves.

^c Calculated from copolymer compositions from ^1H NMR spectra on basis of MPEG molecular weights.

3.1.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนโดยเทคนิค Differential Scanning

Calorimetry (DSC)

คุณสมบัติทางความร้อน (thermal properties) ของ diblock copolymer ศึกษาโดยใช้เทคนิค DSC พบว่าจาก first heating scan MPEG5000 และ MPEG2000 เป็นพอลิเมอร์กึ่งผลึก โดยมีจุดหลอมเหลว [melting temperature (T_m)] เท่ากับ 46 และ 56 °C ตามลำดับ และมีค่าความร้อนหลอม [heats of melting (ΔH_m)] เท่ากับ 145.3 และ 174.7 J/g ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 3.4



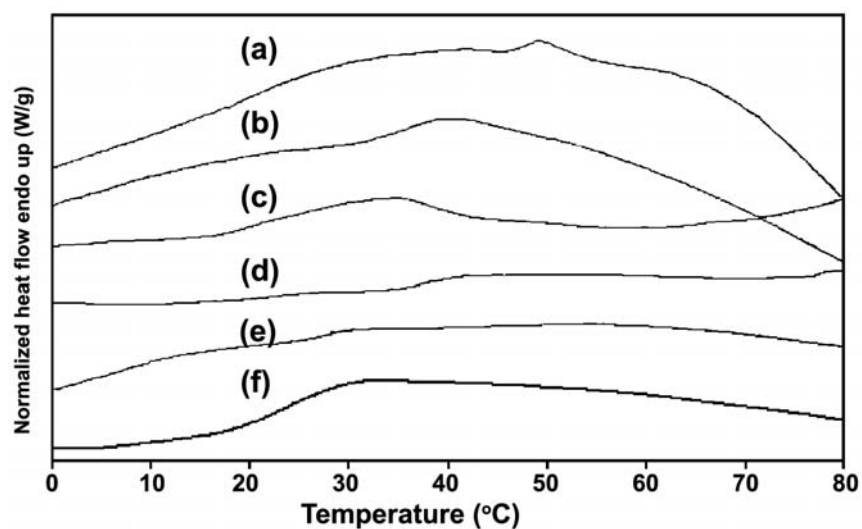
รูปที่ 3.4 DSC curves ของ (a) MPEG2000 และ (b) MPEG5000 (จาก first heating scan)

สำหรับโพลีเอทิลีน โพลีเอทิลีนทุกตัวที่เตรียมได้ พบว่าไม่มีจุดหลอมเหลว ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าโพลีเอทิลีน โพลีเอทิลีนที่สังเคราะห์ได้เป็นโพลีเอทิลีนอสัญฐาน (amorphous polymers) โดยพบว่ามีค่า glass transition temperature (T_g) จาก second heating scan ดังแสดงในรูปที่ 3.5 โดยค่า T_g ของ MPEG และ PDLL มีค่าเท่ากับ -60 และ 60°C ตามลำดับ ดังนั้นการคาดการณ์ของบล็อกของ MPEG และ PDLL จะทำให้มีค่า T_g ของโพลีเอทิลีน โพลีเอทิลีน 2 ค่า ดังกล่าว จาก DSC thermograms ของโพลีเอทิลีน โพลีเอทิลีนในรูปที่ 3.5 พบว่าสามารถตรวจพบ T_g ของโพลีเอทิลีน โพลีเอทิลีนเพียงค่าเดียวเท่านั้น โดยมีค่าอยู่ในช่วง $20 - 50^\circ\text{C}$ โดยสรุปในตารางที่ 3.4 โดย T_g มีค่าลดลงเมื่อบล็อก MPEG มีความยาวมากขึ้นและมีการเติมไกลโคไลด์และแคโพรแลกโตนลงในบล็อกโพลีเอทิลีน ซึ่งคาดว่าเป็น T_g ของบล็อกโพลีเอทิลีน โดยไม่พบจุดหลอมเหลวของ MPEG แสดงว่าบล็อกของ PDLL ที่เชื่อมต่อกับบล็อก MPEG ไปขัดขวางการเกิดผลึกของโมเลกุลของ MPEG

ค่า T_g ของบล็อกของโพลีเอทิลีนสามารถคำนวณได้จากค่าองค์ประกอบทางเคมีของบล็อกโพลีเอทิลีนโดยใช้ Fox equation ดังนี้

$$\frac{w_{DLL}}{T_{gDLL}} + \frac{w_G}{T_{gG}} + \frac{w_{CL}}{T_{gCL}} = \frac{1}{T_{gDLLGCL}} \quad (1)$$

เมื่อ w_{DLL} , w_G , w_{CL} คือ weight fractions ของ DLL, G และ CL units ที่คำนวณจากค่าองค์ประกอบทางเคมีจาก $^1\text{H NMR}$ T_{gDLL} (338 K), T_{gG} (308 K) and T_{gCL} (213 K) คือ T_g (K) values ของ PDLL, PG and PCL โพลิเมอร์ที่ได้จากเอกสารอ้างอิง [18] ค่า T_g ของไดโบล็อก โคลิเมอร์ที่คำนวณได้จาก Fox equation ได้แสดงเปรียบเทียบกับค่า T_g ที่ได้จาก DSC thermograms ในตารางที่ 3.4 พบว่ามีค่ามากกว่าค่าจริงที่ตรวจวัดได้ คาดว่าบล็อก MPEG สามารถทำหน้าที่เป็นตัวหล่อลื่น (plasticizer) ของไดโบล็อก โคลิเมอร์ จึงทำให้ค่า T_g มีค่าลดลง



รูปที่ 3.5 DSC thermograms ของ (a) MPEG2000-PDLL (b) MPEG2000-PDLLG (c) MPEG2000-PDLLGCL (d) MPEG5000-PDLL (e) MPEG5000-PDLLG และ (f) MPEG5000-PDLLGCL ไดโบล็อก โคลิเมอร์ (จาก second heating scan)

ตารางที่ 3.4 ค่า T_g ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์

Diblock copolymer	T_g ($^{\circ}\text{C}$)	
	Calculated T_g^a	Observed T_g^b
MPEG2000-PDLL	65	48
MPEG2000-PDLLG	59	37
MPEG2000-PDLLGCL	53	30
MPEG5000-PDLL	65	37
MPEG5000-PDLLG	61	28
MPEG5000-PDLLGCL	54	22

^a Calculated from Fox equation.

^b Mid-point of DSC glass transition curves.

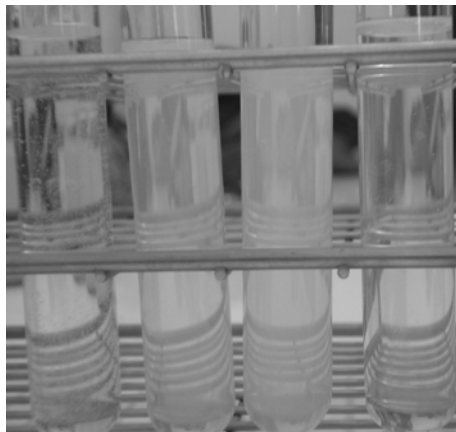
3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL

3.2.1 อิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอล

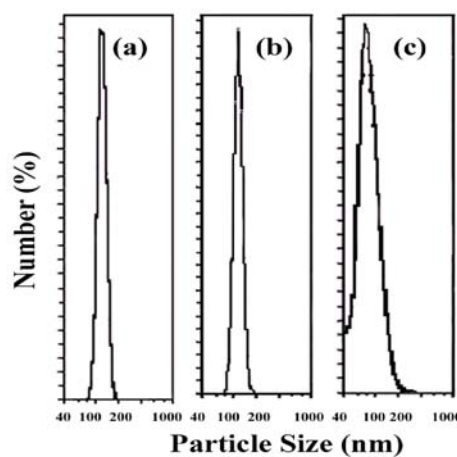
อนุภาคนาโนสามารถเตรียมได้ด้วยเทคนิค modified emulsification solvent evaporation technique [17] นี้แขวนลอยอยู่ในน้ำโดยสารแขวนลอยจะมีลักษณะใสตั้งแสดงตัวอย่างในรูปที่ 3.6

ขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่างๆ (อะซิโตน/เอทานอล = 3/1 3/2 และ 3/3 โดยปริมาตร) ศึกษาโดยใช้เทคนิค light scattering particle size analysis ได้แสดงในรูปที่ 3.7 และสรุปในตารางที่ 3.5 พบว่ามีขนาดอนุภาคลดลงเมื่ออัตราส่วนของเอทานอลในสารละลายผสมมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งคาดว่า

เนื่องจากปริมาณของเอทานอลที่มากขึ้นส่งผลให้การแพร่ของเอทานอลปริมาณที่มาก (ก่อนการแพร่ของอะซิโตน) ทำให้น้ำขนาดของหยดสารละลายพอลิเมอร์มีขนาดลดลงมากกว่าจึง ทำให้น้ำขนาดอนุภาคมีขนาดเล็กกว่า อย่างไรก็ตามเมื่ออัตราส่วนของเอทานอลมากกว่า 3/3 โดย ปริมาตร พบว่าไม่สามารถละลายไดบล็อกโคพอลิเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์



รูปที่ 3.6 ภาพสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL โดยใช้ตัวทำละลายผสมในอัตราส่วนต่างๆเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น จากซ้ายไปขวา: น้ำกลั่น สารแขวนลอยของอนุภาคนาโนเตรียมโดยใช้ 3/1 3/2 และ 3/3 โดยปริมาตรของ อะซิโตน/เอทานอลตามลำดับ

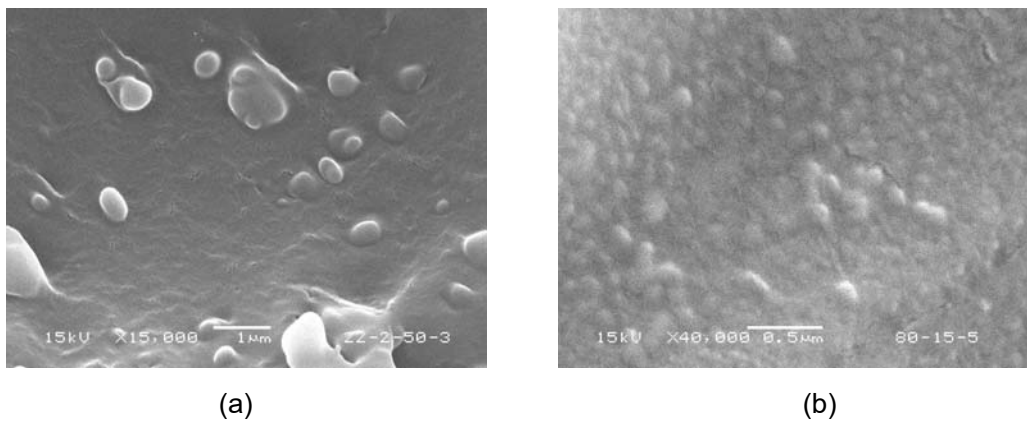


รูปที่ 3.7 กราฟแสดงขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายผสมในอัตราส่วน (a) 3/1 (b) 3/2 และ (c) 3/3 โดยปริมาตรของ อะซิโตน/เอทานอล

ตารางที่ 3.5 อิทธิพลของอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมของอะซิโตน/เอทานอลต่อขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโน (MPEG5000-PDLL 0.4 กรัม และน้ำกลั่น 160 มล. ในการเตรียม)

อะซิโตน/เอทานอล (โดยปริมาตร)	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)
3/1	124 ± 16
3/2	118 ± 15
3/3	86 ± 29

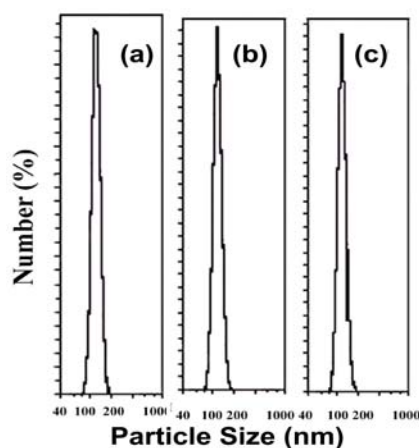
รูปร่างของอนุภาคนาโนศึกษาโดยใช้เทคนิค SEM ทำโดยหยดสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนลงบนสตัปทองเหลืองและนำไปทำให้แห้งในตู้อบสูญญากาศที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนนำมาเคลือบด้วยไอของทองคำเพื่อเพิ่มการนำไฟฟ้าในการศึกษาด้วยเทคนิค SEM โดย SEM micrographs ของอนุภาคนาโนได้แสดงในรูปที่ 3.8 จากรูปที่ 3.8 (a) พบว่าอนุภาคนาโนมีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีพื้นผิวเรียบ อย่างไรก็ตามพบว่าอนุภาคนาโนส่วนใหญ่มีการเกาะและเชื่อมติดกัน ดังแสดงในรูปที่ 3.8 (b) จึงยากที่จะสังเกตอนุภาคนาโนที่ชัดเจน ทั้งนี้อาจเนื่องจากโพลีเมอร์มีค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วที่ต่ำจึงทำให้อนุภาคมีลักษณะที่คล้ายยางและเกิดการเกาะติดกันเมื่อทำให้แห้ง



รูปที่ 3.8 SEM micrographs ของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL ที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายผสมในอัตราส่วน 3/1 โดยปริมาตรของ อะซิโตน/เอทานอล (a) อนุภาคนาโน (b) การรวมตัวกันของอนุภาคนาโน

3.2.2 ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว

ขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนที่เตรียมโดยใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) ต่างๆ (0% 1% และ 2% (w/v)) โดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายคองที่ (อะซิโตน/เอทานอล = 3/2 โดยปริมาตร) ศึกษาโดยใช้เทคนิค light scattering particle size analysis ได้แสดงในรูปที่ 3.9 และสรุปในตารางที่ 3.6 พบว่ามีขนาดอนุภาคมีค่าใกล้เคียงกันในช่วง 118 – 125 นาโนเมตร แสดงว่าสารลดแรงตึงผิวไม่มีผลต่อขนาดอนุภาคนาโนที่เตรียมด้วยเทคนิค modified-SESD method นี้ ทั้งนี้รูปร่างของอนุภาคนาโนที่เตรียมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวไม่สามารถถ่ายภาพ SEM ได้เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวไม่ระเหยและเคลือบบนสตัปเป็นผิวเรียบมัน



รูปที่ 3.9 กราฟแสดงขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL เตรียมโดยใช้ความเข้มข้นของ Tween 80 (a) 0% (b) 1% และ (c) 2% (w/v)

ตารางที่ 3.6 อิทธิพลของความเข้มข้นของ Tween 80 ต่อขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโน (MPEG5000-PDLL 0.4 กรัม และใช้อัตราส่วนของตัวทำละลาย อะซิโตน/เอทานอล = 3/2 โดยปริมาตรในการเตรียม)

Tween 80 (% w/v)	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)
0	118 ± 15
1	125 ± 16
2	118 ± 16

3.3 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วน DLL:G:CL ของบล็อกพอลิเอสเทอร์ที่มีผลต่อ

ลักษณะเฉพาะของอนุภาคนาโนของไดบล็อก โคพอลิเมอร์

อนุภาคนาโนของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ของ MPEG5000 สามารถเตรียมได้ด้วยเทคนิค modified emulsification solvent evaporation technique นี้แขวนลอยอยู่ในน้ำ 3/2

โดยปริมาตร อะซิโตน/เอทานอลถูกใช้เป็นตัวทำละลายผสม โดยสารแขวนลอยจะมีลักษณะใส ดังแสดงในรูปที่ 3.10

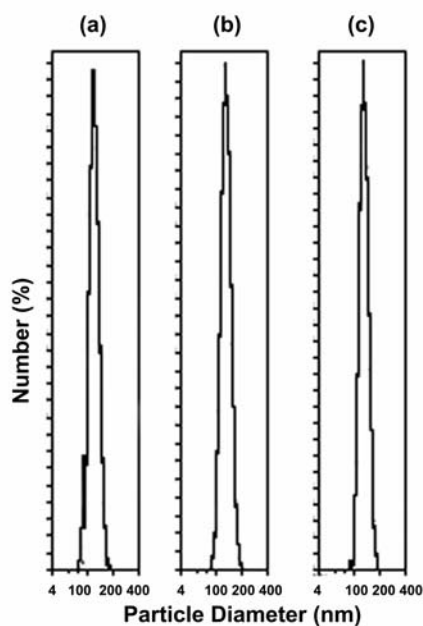


รูปที่ 3.10 ภาพสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนของไดบลิค โคพอลิเมอร์ของ MPEG5000 เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น จากซ้ายไปขวา: น้ำกลั่น สารแขวนลอยของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL MPEG5000-PDLLG และ MPEG5000-PDLLGCL ตามลำดับ

ขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้ศึกษาโดยใช้เทคนิค light scattering particle size analysis ได้แสดงในรูปที่ 3.11 และสรุปในตารางที่ 3.7 พบว่ามีขนาดอนุภาคมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อมีการเติมไกลโคไลด์และแคโปรแลคโตนลงในบลิคพอลิเอสเทอร์ คาดว่าเนื่องมาจากการเติมมอนอเมอร์ทั้งสองดังกล่าวทำให้พอลิเมอร์มีค่า T_g ที่ต่ำลง จึงทำให้อนุภาคพอลิเมอร์มีความอ่อนตัวมากขึ้นและพองได้มากขึ้น

รูปร่างของอนุภาคนาโนศึกษาโดยใช้เทคนิค SEM ทำโดยหยดสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนลงบนสตัปทองเหลืองและนำไปทำให้แห้งในตู้อบสูญญากาศที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนนำมาเคลือบด้วยไอของทองคำเพื่อเพิ่มการนำไฟฟ้าในการศึกษาด้วยเทคนิค SEM โดย SEM micrographs ของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL ได้แสดงเป็นตัวอย่างในรูปที่ 3.12 ที่กำลังขยายต่างกัน จากรูปที่ 3.12 (a) พบว่าอนุภาคเกือบทั้งหมดมีการเกาะติดและรวมเป็นเนื้อเดียวกัน แต่บางส่วนได้แสดงถึงขั้นตอนแรกของอนุภาคที่

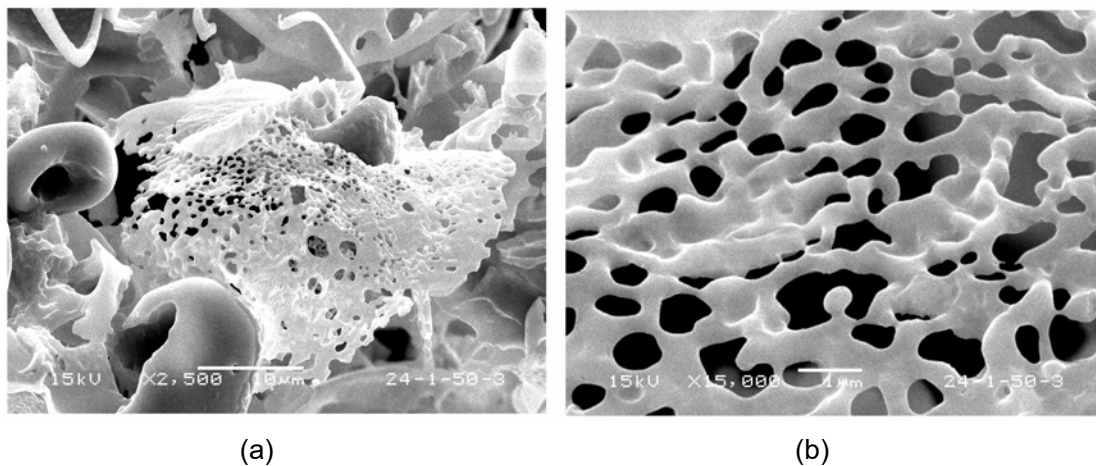
เกาะติดกันเป็นร่างแหก่อนดังแสดงในรูปที่ 3.12 (b) ซึ่งยืนยันว่าอนุภาคนาโนมีรูปร่างเป็นทรงกลมและเป็นอนุภาคที่อ่อนนุ่ม



รูปที่ 3.11 กราฟแสดงขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโนของ (a) MPEG5000-PDLL (b) MPEG5000-PDLLG และ (c) MPEG5000-PDLLGCL

ตารางที่ 3.7 อิทธิพลของอัตราส่วนของอัตราส่วน DLL:G:CL ของบล็อกพอลิเอสเทอร์ต่อขนาดและการกระจายของขนาดของอนุภาคนาโน

Diblock Copolymer	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)
MPEG5000-PDLL	121 ± 16
MPEG5000-PDLLGL	128 ± 17
MPEG5000-PDLLGCL	132 ± 17



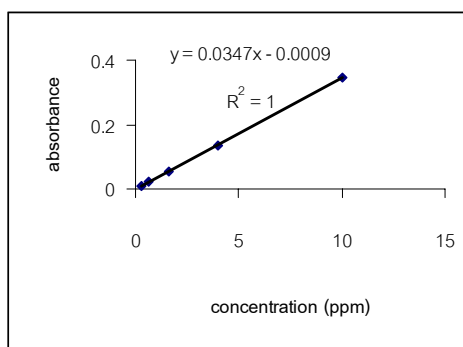
รูปที่ 3.12 SEM micrographs ของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL ที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายผสมในอัตราส่วน 3/2 โดยปริมาตรของ อะซิโตน/เอทานอล (a) กำลังขยาย 2,500 เท่า (b) กำลังขยาย 15,000 เท่า

3.4 กราฟมาตรฐานของยาอินโดเมทาซินในคลอโรฟอร์ม

การทำกราฟมาตรฐานของยาอินโดเมทาซินในตัวทำละลายเมทิลีนคลอไรด์ทำได้โดยเตรียมสารละลายของยาที่มีความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\text{max}} = 319$ นาโนเมตร ได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.8 และนำไปพลอตกราฟมาตรฐานได้ดังแสดงในรูปที่ 3.13 จะได้สมการกราฟเส้นตรงที่มีสมการ คือ $y = 0.0346x + 0.0001$

ตารางที่ 3.8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอินโดเมทาซินในเมทิลีนคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง ($\lambda_{\max} = 319 \text{ nm}$)
0.2560	0.0091
0.6400	0.0218
1.600	0.0537
4.000	0.1370
10.0000	0.3468



รูปที่ 3.13 กราฟมาตรฐานของยาอินโดเมทาซินในเมทิลีนคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

3.5 อิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลที่มีผลต่อการบรรจุยาอินโด

เมทาซินในอนุภาคนาโนของ **MPEG2000-PDLL** และ **MPEG5000-PDLL**

ปริมาณยาที่บรรจุอยู่ในอนุภาคนาโนที่ปราศจากสารลดแรงตึงผิววิเคราะห์ได้ โดยทำการปั่นเหวี่ยงสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนที่เตรียมด้วยอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลต่างๆ (3/1 3/2 และ 3/3 โดยปริมาตร) ด้วยเครื่อง Ultracentrifuge ที่ความเร็วรอบ 50,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนนำไปทำให้แห้งโดยเทคนิค freezing drying ทำการละลายด้วยเมทิลีนคลอไรด์และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max} = 319 \text{ nm}$ นำค่าการ

ดูดกลืนแสงไปคำนวณปริมาณยาที่บรรจุอยู่โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานในรูปที่ 3.13 และทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์ยาที่บรรจุอยู่ในอนุภาค [% drug loading content (%DLC)] ตามสมการข้างล่าง

$$\%DLC = \text{น้ำหนักยาในอนุภาค (มก.)} \times 100 / \text{น้ำหนักอนุภาคที่บรรจุยา (มก.)}$$

ผลการคำนวณแสดงในตารางที่ 3.9 พบว่าอัตราส่วนของอะซิโตน/เอทานอลที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคที่บรรจุยาอินโดเมทาซินงานวิจัยนี้ไม่มีผลต่อ %DLC อย่างไรก็ตามพบว่าค่า %DLC มีค่าน้อยมากทั้งอาจเนื่องจากการที่อนุภาคเป็นอนุภาคที่นุ่มและพองตัวอยู่ในน้ำ ดังนั้นยาอาจมีการแพร่ออกมาได้ง่ายหลังการเตรียม ดังนั้นปริมาณยาที่เหลืออยู่ในอนุภาคจึงมีค่าที่น้อยมาก และพบว่าอนุภาคของ MPEG2000-PDLL มีค่า %DLC ที่มากกว่าอนุภาคของ MPEG5000-PDLL ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอนุภาค MPEG5000-PDLL มี hydrophilic block ที่ยาวกว่าจึงมีความชอบน้ำมากกว่า ทำให้ยาสามารถแพร่ออกมาได้มากหลังการเตรียม ดังนั้นปริมาณยาที่บรรจุอยู่จึงมีค่าน้อยกว่าอนุภาค MPEG2000-PDLL

ตารางที่ 3.9 อิทธิพลของตัวทำละลายต่อ %DLC ของอนุภาคขนาดนาโนของ MPEG-PDLL ที่บรรจุยาอินโดเมทาซิน

โคพอลิเมอร์	อะซิโตน/เอทานอล (v/v)	%DLC
MPEG2000-PDLL	3/1	1.45
	3/2	1.88
	3/3	1.56
MPEG5000-PDLL	3/1	0.61
	3/2	0.58
	3/3	0.59

3.6 อิทธิพลของอัตราส่วนของ DLL:G:CL ที่มีผลต่อการบรรจุยาอินโดเมทาซินในอนุภาคขนาดนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL

ผลการคำนวณ %DLC แสดงในตารางที่ 3.10 พบว่าอัตราส่วนของ DLL:G:CL ของ MPEG-*b*-PDLLGCL ที่ใช้ตัวทำละลายผสม (อะซิโตน/เอทานอล = 3/2 โดยปริมาตร) ในการเตรียมอนุภาคที่บรรจุยาอินโดเมทาซินงานวิจัยนี้มีผลต่อ %DLC โดยเมื่อมีไกลโคไลต์และแคปโพรแลคโตน จะทำให้การบรรจุยาอินโดเมทาซินในอนุภาคขนาดนาโนได้ลดลง อาจเนื่องจากว่า MPEG5000-PDLLG และ MPEG5000-PDLLGCL มีค่า T_g ที่ต่ำกว่า MPEG5000-PDLL ทำให้อนุภาคนาโนที่ได้มีความพองตัวมากกว่า ดังนั้นยาที่บรรจุอยู่หลังการเตรียมจึงสามารถแพร่ออกมาได้มาก ทำให้มีปริมาณยาที่บรรจุอยู่ในอนุภาคน้อยกว่า MPEG5000-PDLL

ตารางที่ 3.10 อัตราส่วน DLL:G:CL ต่อ %DLC ของอนุภาคขนาดนาโนที่บรรจุยาอินโดเมทาซิน

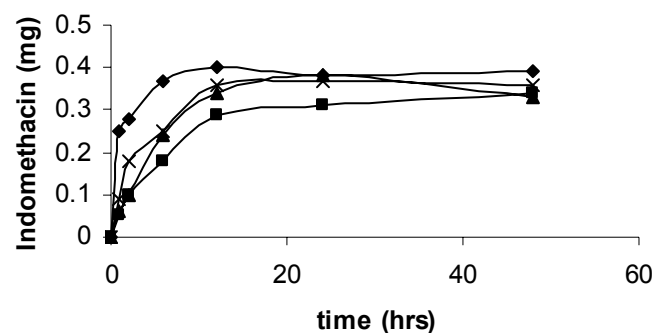
โคพอลิเมอร์	%DLC
MPEG5000-PDLL	0.58
MPEG5000-PDLLG	0.49
MPEG5000-PDLLGCL	0.42

3.7 การปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินแบบ อิน วิโทร

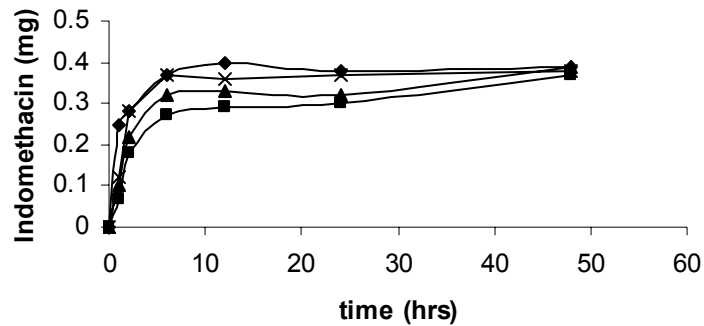
3.7.1 อิทธิพลของอัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลที่มีผลต่อการปลดปล่อยยาอิน

โดเมทาซินในอนุภาคนาโนของ MPEG2000-PDLL และ MPEG5000-PDLL

จากการทดสอบการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของ MPEG2000-PDLL และ MPEG5000-PDLL แบบ อิน วิโทร ผลการทดสอบแสดงในรูปที่ 3.14 และ 3.15 ตามลำดับ พบว่าชุดควบคุมซึ่งเป็นการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินที่อยู่ในรูปสารละลายออกจากถุงไตอะไลซีส์ด้วยอัตราการปลดปล่อยที่เร็วที่สุด ขณะที่อนุภาคนาโนที่บรรจุยาของ MPEG2000-PDLL และ MPEG5000-PDLL มีการปลดปล่อยยาด้วยอัตราที่ช้ากว่า แสดงว่าอนุภาคนาโนของ MPEG2000-PDLL สามารถชะลอการปลดปล่อยยาได้ และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของเอทานอลในตัวทำละลายผสมที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคนาโนจะพบว่ามีแนวโน้มการปลดปล่อยยาด้วยอัตราที่เร็วมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อเพิ่มอัตราส่วนเอทานอลจะทำให้อนุภาคนาโนมีขนาดเล็กลง ซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวของอนุภาคนาโน จึงส่งผลทำให้มีการแพร่ของยาออกมาได้มากกว่าเมื่ออัตราส่วนของเอทานอลที่ใช้ในการเตรียมมีค่ามากขึ้น



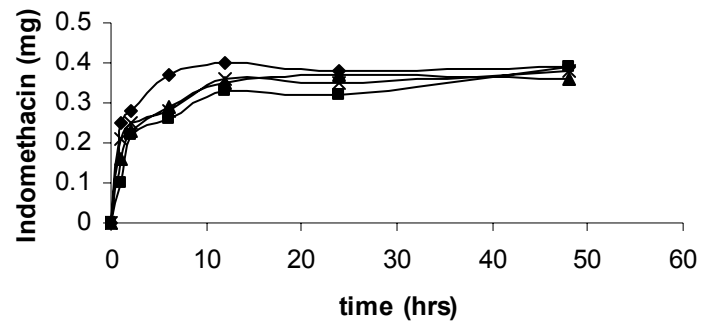
รูปที่ 3.14 กราฟการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของ MPEG2000-PDLL ที่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายผสมอะซิโตนและเอทานอลในอัตราส่วนเท่ากับ (■) 3/1 (▲) 3/2 (×) 3/3 โดยปริมาตร และ (◆) ชุดควบคุม



รูปที่ 3.15 กราฟการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL ที่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายผสมอะซิโตนและเอทานอลในอัตราส่วนเท่ากับ (■) 3/1 (▲) 3/2 (×) 3/3 โดยปริมาตร และ (◆) ชุดควบคุม

3.7.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของ DLL:G:CL ที่มีผลต่อการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินในอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLLGCL

จากการทดสอบการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL MPEG5000-PDLLG และ MPEG5000-PDLLGCL แบบ อิน วิโทร ผลการทดสอบแสดงในรูปที่ 3.16 พบว่าชุดควบคุมซึ่งเป็นการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินที่อยู่ในรูปสารละลายออกจากถุงไดอะไลซิสด้วยอัตราการปลดปล่อยที่เร็วที่สุด ขณะที่อนุภาคนาโนที่บรรจุยาของ MPEG5000-PDLL MPEG5000-PDLLG และ MPEG5000-PDLLGCL มีการปลดปล่อยยาด้วยอัตราที่ช้ากว่า แสดงว่าอนุภาคนาโนของไคบิล็อก โคพอลิเมอร์ทั้งสามสามารถชะลอการปลดปล่อยยาได้ และพบว่าไคบิล็อก โคพอลิเมอร์ทั้งสามมีแนวโน้มของอัตราการปลดปล่อยยาดังนี้ MPEG5000-PDLLGCL > MPEG5000-PDLLG > MPEG5000-PDLLGCL ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อทำการพอลิเมอร์ไรซ์แคปโรแลคโตน และ/หรือ ไกลโคไลด์ จะทำให้อนุภาคมีการพองตัวและมีขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น ดังนั้นจึงคาดว่าจะมีช่องว่างให้ยาแพร่ออกมาได้เร็วขึ้น



รูปที่ 3.16 กราฟการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของ (■) MPEG5000-PDLL (▲) MPEG5000-PDLLG (×) MPEG5000-PDLLGCL ที่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายผสมอะซิโตนและเอทานอลในอัตราส่วนเท่ากับ 3/2 โดยปริมาตร และ (◆) ชุดควบคุม

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

4.1 การสังเคราะห์และหาลักษณะเฉพาะของไดบล็อก โคพอลิเมอร์

ไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยบล็อก hydrophilic MPEG ที่มีความยาวบล็อก 2,000 และ 5,000 g/mol และมีอัตราส่วน DLL:G:CL 100:0:0 80:20:0 และ 80:15:5 โดยโมล สามารถสังเคราะห์ได้ที่อุณหภูมิ 130 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน โดยไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่ได้มี %yield ทั้งหมดมากกว่า 90% สำหรับไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์แสดงในตารางที่ 4.1

จากสเปกตรัม FTIR สามารถยืนยันโครงสร้างของบล็อก MPEG และ PDLLGCL ได้ และพบว่าการเกิดปฏิกิริยาที่หมู่ไฮดรอกซิลของ MPEG โดยค่าความเข้มของแบนของไฮดรอกซิลดังกล่าวมีค่าลดลงเมื่อเป็นไดบล็อก โคพอลิเมอร์ น้ำหนักโมเลกุลและองค์ประกอบทางเคมีของไดบล็อก โคพอลิเมอร์พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับที่คำนวณได้จาก feed ratios ดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยน้ำหนักโมเลกุลของบล็อก PDLLGCL ที่ต้องการประมาณ 60,000 g/mol ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเทคนิคและสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ไดบล็อก โคพอลิเมอร์เหล่านี้มีความเหมาะสม

สำหรับคุณสมบัติทางความร้อน (ค่า T_g และ T_m) ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์สามารถวิเคราะห์ได้จาก DSC curves พบว่าบล็อก PDLLGCL ที่เชื่อมต่อกับบล็อก MPEG สามารถขัดขวางการเกิดผลึกของบล็อก MPEG ได้ โดยไดบล็อก โคพอลิเมอร์ทั้งหมดไม่มีความเป็นผลึก จึงสรุปได้ว่าไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้เป็นพอลิเมอร์อสัณฐาน และยังพบว่าค่า T_g ของบล็อก PDLLGCL มีค่าต่ำกว่าค่า T_g ที่คำนวณได้จาก Fox equation แสดงว่าบล็อก

MPEG อาจทำหน้าที่เป็นสารหล่อลื่นระดับโมเลกุล (plasticizer) จึงทำให้บล็อก PDLLGCL เคลื่อนขยับได้ง่าย จึงทำให้มีค่า T_g ลดลง

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักโมเลกุลของแต่ละบล็อกและองค์ประกอบทางเคมีของไดบล็อก โคพอลิเมอร์

ไดบล็อก โคพอลิเมอร์	$\bar{M}_n$ ของบล็อก MPEG	$\bar{M}_n$ ของบล็อก PDLLGCL ^a	DLL:G:CL (mol%)	
			Feed ratio ^b	¹ H-NMR ^c
MPEG2000-PDLL	2,000	56,200	100:0:0	100:0:0
MPEG2000-PDLLG	2,000	52,400	80:20:0	79:21:0
MPEG2000-PDLLGCL	2,000	54,900	80:15:5	78:16:6
MPEG5000-PDLL	5,000	68,600	100:0:0	100:0:0
MPEG5000-PDLLG	5,000	63,800	80:20:0	85:15:0
MPEG5000-PDLLGCL	5,000	69,500	80:15:5	83:12:5

^a ของบล็อก PDLLGCL = ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์ (จาก GPC) – ของบล็อก MPEG

^b calculate from feed ratios

^c calculate from ¹H-NMR spectra

4.2 การเตรียมและศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะเฉพาะของอนุภาคนาโนของไคบล็อค โคพอลิเมอร์

อนุภาคนาโนของไคบล็อค โคพอลิเมอร์สามารถเตรียมได้โดยใช้เทคนิค modified-SESD method โดยทำการละลายพอลิเมอร์ด้วยตัวทำละลายผสมของอะซิโตนและเอทานอล ก่อนหยดลงใน aqueous phase พร้อมทั้งทำการปั่นกวและระเหยตัวทำละลายในตู้ดูดควัน ซึ่งปัจจัยการเตรียมที่ได้มีการศึกษา ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายผสม และความเข้มข้นของ Tween 80 (สารก่ออิมัลชัน) และปัจจัยของอัตราส่วน DLL:G:CL ของบล็อค PDLLGCL ที่มีผลต่ออนุภาคนาโน

ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายผสมของอะซิโตนและเอทานอลในอัตราส่วน อะซิโตน/เอทานอล = 3/1 3/2 และ 3/3 โดยปริมาตร ทำให้ได้อนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL อยู่ในช่วง 86 – 124 nm โดยอนุภาคนาโนดังกล่าวมีขนาดเล็กลงเมื่ออัตราส่วนเอทานอลในตัวทำละลายผสมมีค่าเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มปริมาณเอทานอลทำให้ขั้นตอนการแพร่ของเอทานอลมีการแพร่ที่มากขึ้น จึงทำให้ขนาดหยดของสารละลายพอลิเมอร์มีขนาดเล็กลง ก่อนที่จะแข็งตัว สำหรับฐานันฐานวิทยาของอนุภาคนาโนศึกษาด้วยเทคนิค SEM ซึ่งพบว่าอนุภาคนาโนมีการเกาะติดกันเมื่อทำให้แห้งด้วยเทคนิค Freeze-drying ซึ่งให้เห็นว่าอนุภาคนาโนที่เตรียมได้เป็นอนุภาคที่นิ่ม (soft nanoparticles) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการที่ MPEG5000-PDLL มีค่า T_g ที่ต่ำจึงทำให้อนุภาคมีความอ่อนนุ่ม

สำหรับปัจจัยความเข้มข้นของ Tween 80 พบว่าไม่มีผลต่อขนาดอนุภาคนาโน โดยมีขนาดใกล้เคียงกับอนุภาคนาโนที่เตรียมได้โดยไม่มี Tween 80 แสดงว่าบล็อกลิพophilic MPEG สามารถทำหน้าที่เป็นเปลือก (shell) และป้องกันการรวมตัวของหยดสารละลายพอลิเมอร์ในอิมัลชันได้ ดังนั้นจึงคาดว่าอนุภาคนาโนที่เตรียมได้จะมีโครงสร้างเป็นแบบ core-shell particles

ปัจจัยของอัตราส่วน DLL:G:CL ของ MPEG5000-PDLLGCL พบว่ามีผลต่อขนาดอนุภาคนาโน โดยอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL MPEG5000-PDLLG และ MPEG5000-PDLLGCL ที่เตรียมโดยใช้ 3/2 อะซิโตน/เอทานอล เป็นตัวทำละลายผสม โดยไม่มีการใช้สารก่ออิมัลชัน พบว่ามีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 121 – 132 nm โดยอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อมีแคปโพรแลคโตน และ/หรือ โกลโคไลต์ในบล็อกพอลิเอสเทอร์ ทั้งอาจเนื่องมาจากการเติมมอนอเมอร์ดังกล่าวทำให้ไดบล็อก โคพอลิเมอร์มีค่า T_g ที่ลดลง จึงทำให้อนุภาคนาโนมีความนิ่มมากขึ้น อนุภาคจึงพองหรือบวมตัวได้มากขึ้น

4.3 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการบรรจุยาอินโดเมธาซินของอนุภาคนาโนของไดบล็อก โคพอลิเมอร์

ปัจจัยที่ทำการศึกษาถึงอิทธิพลที่มีต่อประสิทธิภาพการบรรจุยาของอนุภาคนาโน ได้แก่ อัตราส่วนของอะซิโตน/เอทานอล ความยาวของบล็อก MPEG และ อัตราส่วน DLL:G:CL ของบล็อกพอลิเอสเทอร์ โดยได้ผลการทดลองดังนี้

อัตราส่วนของอะซิโตนและเอทานอลในตัวทำละลายผสมไม่มีผลต่อ %drug loading content โดยพบว่าสามารถบรรจุยาเข้าในอนุภาคนาโนในปริมาณที่น้อยมาก อาจเนื่องมาจากการที่อนุภาคเป็นอนุภาคที่นิ่มและพองตัว ยาจึงอาจแพร่ออกมาได้อย่างรวดเร็วหลังการเตรียม และอนุภาคนาโนของ MPE2000-PDLL มี %drug loading content ที่มากกว่าอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคนาโนของ MPEG5000-PDLL มีการพองตัวที่มากกว่า เพราะมีค่า T_g ที่น้อยกว่า จึงทำให้ยาแพร่ออกมาได้มากกว่าหลังการเตรียม

สำหรับอิทธิพลของอัตราส่วน DLL:G:CL ของบล็อกพอลิเอสเทอร์ ที่มีต่อ %drug loading content พบว่าขึ้นอยู่กับค่า T_g ของไดบล็อก โคพอลิเมอร์เช่นกัน โดยไดบล็อก โคพอลิเมอร์ที่มีค่า T_g ต่ำกว่าจะทำให้ไดอนุภาคนาโนที่มีขนาดใหญ่กว่า หรือ พองมากกว่า ดังนั้นจะ

สามารถแพร่ออกมาหลังการเตรียมได้มากกว่า จึงทำให้ได้อนุภาคนาโนที่มีค่า %drug loading content น้อย

4.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปลดปล่อยยาอินโดเมทาซินของอนุภาคนาโนของไดบล็อค โคพอลิเมอร์ แบบ อิน วิโทร

จากผลการทดลองพบว่าอนุภาคนาโนที่บรรจุยาอินโดเมทาซินของไดบล็อค โคพอลิเมอร์สามารถชะลอการปลดปล่อยยาได้ โดยอัตราการปลดปล่อยยาขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมที่ใช้เตรียมอนุภาคนาโน โดยเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของเอทานอลจะทำให้ได้อนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กลง จึงเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวของระนาบส่งยา ดังนั้นการแพร่ออกของยาจึงแพร่ได้เร็วกว่า อย่างไรก็ตามความอ่อนนุ่มของอนุภาคนาโน ซึ่งเป็นผลกระทบจากค่า T_g นั้นเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ยาแพร่ออกมาได้เร็วด้วย เช่น อนุภาคนาโนที่บรรจุยาของ MPEG5000-PDLL จะมีอัตราการปลดปล่อยยาที่มากกว่า MPEG2000-PDLL เป็นต้น และเมื่อมีการเติมแคปโรแลคโตน และ/หรือ โกลโคไลต์ ในบล็อคพอลิเอสเทอร์ ซึ่งทำให้ค่า T_g ลดลง ดังนั้นอนุภาคนาโนที่ได้จึงมีความพองนุ่มมากกว่า ดังนั้นจึงมีการปลดปล่อยยาในอัตราที่มากกว่า

จากผลการทดลองพบว่าในงานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์ไดบล็อค โคพอลิเมอร์ตามที่ต้องการแบบไว้ได้ และสามารถเตรียมอนุภาคนาโนของไดบล็อค โคพอลิเมอร์ได้ด้วยเทคนิค modified-SESD method โดยได้ศึกษาถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลต่ออนุภาคนาโน ประสิทธิภาพการบรรจุยา และการปลดปล่อยยา แบบ อิน วิโทร โดยใช้ยาอินโดเมทาซินเป็นยาตัวอย่าง สำหรับผลงานวิจัยจากโครงการนี้สามารถทำวิจัยต่อยอดได้ โดยทำการเตรียมอนุภาคนาโนในสารละลายโคโคซาน และเทเป็นฟิล์ม พบว่าสามารถเตรียมฟิล์มนาโนคอมพอสิตของโคโคซาน

ที่มีอนุภาคนาโนของไคบล็อค โคพอลิเมอร์กระจายอยู่ ดังแสดงผลงานวิจัยในภาคผนวก
(Output จากการวิจัยต่อยอดผลการวิจัยของโครงการ)

เอกสารอ้างอิง

1. U. Edlund and A. -C. Albertsson, Degradable Polymer Microspheres for Controlled Drug Delivery In: Degradable Aliphatic Polyesters, *Adv. Polym. Sci.*, A.-C. Albertsson, Ed.; Springer: Berlin, 157, 2002, 72.
2. G. S. Kwon and T. Okano, Polymeric Micelles as New Drug Carriers, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 21, 1996, 107-116.
3. S. Y. Kim, I. G. Shin and Y. M. Lee, Preparation and Characterization of Biodegradable Nanospheres Composed of Methoxy Poly(ethylene glycol) and DL-Lactide Block Copolymer as Novel Drug Carriers, *J. Contr. Rel.*, 56, 1998, 197-208.
4. R.T. Liggins and H.M. Burt, Polyether-Polyester Diblock Copolymers for the Preparation of Paclitaxel Loaded Polymeric Micelles formulations, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54, 2002, 191-202.
5. S. Y. Kim et al., Drug-Releasing Kinetics of MPEG/PLLA Block Copolymer Micelles with Different PLLA Block Lengths, *J. Appl. Polym. Sci.*, 82, 2001, 2599-2605.
6. Y. Dong and S. -S. Feng, Methoxy Poly(ethylene glycol)-Poly(lactide) (MPEG-PLA) Nanoparticles for Controlled Delivery of Cancer Drugs, *Biomaterials*, 25, 2004, 2843-2849.
7. S. Y. Kim, I. G. Shin and Y. M. Lee, Amphiphilic Diblock Copolymeric Nanoparticles Composed of Methoxy Poly(ethylene glycol) and Glycolide: Properties, Cytotoxicity and Drug Release Behaviour, *Biomaterials*, 20, 1999, 1033-1042.

8. I. G. Shin et al., Methoxy Poly(ethylene glycol)/ ϵ -Caprolactone Amphiphilic Block Copolymeric Micelle Containing Indomethacin. I. Preparation and Characterization, *J. Contr. Rel.*, 51, 1998, 1-11.
9. S. Y. Kim et al., Methoxy Poly(ethylene glycol)/ ϵ -Caprolactone Amphiphilic Block Copolymeric Micelle Containing Indomethacin.II. Micelle Formation and Drug Release Behaviours, *J. Contr. Rel.*, 51, 1998, 13-22.
10. S. Y. Kim and Y. M. Lee, Taxol-Loaded Block Copolymer Nanospheres Composed of Methoxy Poly(ethylene glycol) and Poly(ϵ -caprolactone) as Novel Anticancer Drug Carriers, *Biomaterials*, 22, 2001, 1697-1704.
11. X. Shuai et al., Micellar Carriers Based On Block Copolymers of Poly(ϵ -caprolactone) and Poly(ethylene glycol) for Doxorubicin Delivery, *J. Contr. Rel.*, 98, 2004, 415-426.
12. A. Beletsi et al., Effect of Preparative Variables on the Properties of Poly(dl-lactide-co-glycolide)-Methoxy Poly(ethylene glycol) Copolymers Related to Their Application in Controlled Drug Delivery, *Int. J. Pharm.*, 182, 1999, 187-197.
13. K. Avgoustakis et al., PLGA-mPEG Nanoparticles of Cisplatin: In Vitro Nanoparticle Degradation, In Vitro Drug Release and In Vivo Drug Residence in Blood Properties, *J. Contr. Rel.*, 79, 2002, 123-135.
14. M. L. T. Zweers, G. H. M. Engbers, D. W. Grijpma and J. Feijen, In Vitro Degradation of Nanoparticles Prepared from Polymers Based on DL-Lactide, Glycolide and Poly(ethylene oxide), *J. Contr. Rel.*, 100, 2004, 347-356.

15. C. Chretien, V. Boudy, P. Allain and J. C. Chaumeil, Indomethacin Release from Ion-Exchange Microspheres: Impregnation with Alginate Reduces Release Rate, *J. Contr. Rel.*, 96, 2004, 369-378.
16. Y. Sato, Y. Kawashima, H. Takeuchi and H. Yamamoto, In Vitro Evalution of Floating and Drug Releasing Behaviors of Hollow Microspheres (Microballoons) Prepared by the Emulsion Solvent Diffusion Method, *Eur. J. Pharm Biopharm.*, 57, 2004, 235-243.
17. Murakami, H., Kobayashi, M., Takeuchi, H. and Kawashima, Y., Preparation of poly(D,L-lactide-co-glycolie) nanoparticles by modified spontaneous emulsification solvent diffusion method, *Int. J. Pharm.*, 1999, 187, 143-152.
18. Perrin, D.E.; English, J.P.; in Handbook of Biodegradable Polymers. Domb, A.J.; Kost, J.; Wiseman, D.M.; editors, Harwood Academic Publishers, Amsterdam. 1997, Chaps 1 and 3.

ภาคผนวก

Output ที่ได้จากโครงการ

1. Output ตามวัตถุประสงค์โครงการ

การประชุมวิชาการระดับชาติ

1. **Baimark, Y.***, Srisa-ard, M., Synthesis and characterization of methoxy polyethylene glycol-b-poly(D,L-lactide-co-glycolide-co-ε-caprolactone) diblock copolymers for potential used in controlled-release drug delivery, การประชุมนักวิจัยรุ่นใหม่ พบ เมธีวิจัยอาวุโส สกว. 12-14 ตุลาคม 2549 โรงแรมริเจนท์ชะอำ เพชรบุรี หน้าที่ 20 (เสนอผลงานแบบโปสเตอร์ P-S1A-20)
2. **Yodthong Baimark***, Mangkorn Srisa-ard and Nongnit Morakot, Study on Preparation of Surfactant-Free Nanoparticles of Biodegradable Methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(D,L-lactide) Diblock Copolymer by Modified Spontaneous Emulsification Solvent Diffusion Method, การประชุมวิชาการนาโนเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 1 เรื่อง วัสดุนาโน เกสซ์ภัณฑ์ อุปกรณ์และการประยุกต์ใช้ 14-16 สิงหาคม 2550 โรงแรมเซ็นทรัลดงตะวัน เชียงใหม่ หน้าที่ 22 (เสนอผลงานแบบบรรยาย R 22)

การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. N. Morakot; M. Srisa-ard and **Y. Baimark***, Preparation of surfactant-free nanocolloids of methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(D,L-lactide-co-glycolide) diblock copolymers, 10th International Symposium on the Properties of Water (ISOPOW 10) September 2-7, 2007 Bangkok, Thailand, p. 131 (Poster presentation PP IV-02).
2. **Yodthong Baimark***, Mangkorn Srisa-ard and Jirasak Threeprom, Surfactant-Free Colloidal Nanoparticles of Biodegradable Methoxy Poly(ethylene glycol)-b-Poly(D,L-lactide-co-glycolide-co-ε-caprolactone) : Effects of organic solvent and polymer composition, International Conference on Advances in Polymer Science & Technolog, January 28 – 31, 2008 India Habitat Centre, New Delhi, India (Accepted for Oral Presentation).

การตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. **Yodthong Baimark***, Mangkorn Srisa-ard, Jirasak Threeprom and Nual-Anong Narkkong, Preparation of nanoparticle colloids of methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(D,L-lactide) : effects of surfactant and organic solvent, Colloid and Polym. Sci., 2007, 285, 1521-1525. (Impact factor 2005 = 1.263)

2. **Yodthong Baimark***, Mangkorn Srisa-ard, Jirasak Threeprom, Robert Molloy and Winita Punyodom, Synthesis and characterization of methoxy polyethylene glycol-b-poly(D,L-lactide-co-glycolide-co- ϵ -caprolactone) diblock copolymers: Effects of block lengths and compositions, E-polymer, *in press* (Impact factor 2005 = 0.926)

2. Output จากการวิจัยต่อยอดผลการวิจัยของโครงการ

การประชุมวิชาการระดับชาติ

1. Noi Niamsa and **Yodthong Baimark***, Study on Morphology and thermal properties of Biodegradable Chitosan and Methoxy Poly(ethylene glycol)-b-Poly(ϵ -caprolactone) Diblock copolymer Nanocomposite Films, การประชุมวิชาการนาโนเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 1 เรื่อง วัสดุนาโน เกสท์ทัศน์ อุปกรณ์และการประยุกต์ใช้ 14-16 สิงหาคม 2550 โรงแรมเซ็นทรัลดวงตะวัน เชียงใหม่ หน้า 82 (เสนอผลงานแบบโปสเตอร์ P 41)
2. Supawut Khamhan, **Yodthong Baimark*** and Noi Niamsa, Preparation and morphology study of biodegradable chitosan/methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(ϵ -caprolactone) nanocomposite films, การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 3 6-7 กันยายน 2550 โรงแรมดักศิลา มหาสารคาม หน้า 64 (เสนอผลงานแบบบรรยาย OS04)

การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. Supawut Khamhan, Mangkorn Sirsa-ard, Noi Niamsa and **Yodthong Baimark***,
Preparation and characterization of methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(ϵ -caprolactone)/chitosan nanocomposite films, The 2nd International Conference
Advances in Petrochemicals and Polymers, June 25-28, 2007 Bangkok,
Thailand, p. 342 (Poster presentation NN-P3).

การตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. **Yodthong Baimark***, Noi Niamsa, Nongnit Morakot and Jirasak Threeprom,
Preparation and Morphology Study of Biodegradable Chitosan/Methoxy
Poly(ethylene glycol)-b-Poly(ϵ -caprolactone) Nanocomposite Films, Int. J. Polym.
Anal. Cha., *in press* (Impact factor 2005 = 0.500).

Output ตามวัตถุประสงค์โครงการ
การประชุมวิชาการระดับชาติ ลำดับที่ 1

Synthesis and characterization of methoxy polyethylene glycol-b-
poly(D,L-lactide-co-glycolide-co-ε-caprolactone) diblock
copolymers for potential used in controlled-release
drug delivery

Baimark, Y.*, Srisa-ard, M.

การประชุมนักวิจัยรุ่นใหม่ พบ เมธีวิจัยอาวุโส สกว. 12-14 ตุลาคม

2549 โรงแรมริเจนท์ชะอำ เพชรบุรี หน้าที่ 20

(เสนอผลงานแบบโปสเตอร์ P-S1A-20)

Output ตามวัตถุประสงค์โครงการ
การประชุมวิชาการระดับชาติ ลำดับที่ 2

Study on Preparation of Surfactant-Free Nanoparticles of
Biodegradable Methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(D,L-lactide)
Diblock Copolymer by Modified Spontaneous Emulsification
Solvent Diffusion Method

Yodthong Baimark*, Mangkorn Srisa-ard and Nongnit Morakot

การประชุมวิชาการนาโนเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 1 เรื่อง
วัสดุนาโน เกสซ์ภัณฑ์ อุปกรณ์และการประยุกต์ใช้ 14-16 สิงหาคม
2550 โรงแรมเซ็นทรัลดวงตะวัน เชียงใหม่ หน้าที่ 22
(เสนอผลงานแบบบรรยาย R 22)

Output ตามวัตถุประสงค์โครงการ
การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ ลำดับที่ 1

**Preparation of surfactant-free nanocolloids of methoxy
poly(ethylene glycol)-b-poly(D,L-lactide-co-glycolide)
diblock copolymers**

N. Morakot; M. Srisa-ard and Y. Baimark*

10th International Symposium on the Properties of Water (ISOPOW

10) September 2-7, 2007 Bangkok, Thailand, p. 131 (Poster

presentation PP IV-02).

Output ตามวัตถุประสงค์โครงการ
การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ ลำดับที่ 2

**Surfactant-Free Colloidal Nanoparticles of Biodegradable Methoxy
Poly(ethylene glycol)-*b*-Poly(D,L-lactide-co-glycolide-co- ϵ -
caprolactone) :**
Effects of organic solvent and polymer composition

Yodthong Baimark*, Mangkorn Srisa-ard and Jirasak Threeprom

**International Conference on Advances in Polymer Science &
Technolog, January 28 – 31, 2008 India Habitat Centre, New Delhi,
India (Accepted for Oral Presentation)**

Output ตามวัตถุประสงค์โครงการ
การตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ลำดับที่ 1

Preparation of nanoparticle colloids of methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(D,L-lactide) : effects of surfactant and organic solvent

Colloid and Polym. Sci., 2007, 285, p. 1521-1525.

(Impact factor 2005 = 1.263)

**Yodthong Baimark*, Mangkorn Srisa-ard, Jirasak Threeprom
and Nual-Anong Narkkong**

Output ตามวัตถุประสงค์โครงการ
การตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ลำดับที่ 2

Synthesis and characterization of methoxy polyethylene glycol-b-
poly(D,L-lactide-co-glycolide-co- ϵ -caprolactone) diblock
copolymers: Effects of block lengths and compositions

E-polymer, *in press* (Impact factor 2005 = 0.926)

Yodthong Baimark*, Mangkorn Srisa-ard, Jirasak Threeprom,

Robert Molloy and Winita Punyodom,

Output จากการวิจัยต่อยอดผลการวิจัยของโครงการ

การประชุมวิชาการระดับชาติ ลำดับที่ 1

Study on Morphology and thermal properties of Biodegradable

**Chitosan and Methoxy Poly(ethylene glycol)-b-Poly(ϵ -
caprolactone) Diblock copolymer Nanocomposite Films**

Noi Niamsa and Yodthong Baimark*

การประชุมวิชาการนาโนเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 1 เรื่อง

วัสดุนาโน เกสซ์ภัณฑ์ อุปกรณ์และการประยุกต์ใช้ 14-16 สิงหาคม

2550 โรงแรมเซ็นทรัลวิวตะวัน เชียงใหม่ หน้าที 82

(เสนอผลงานแบบโปสเตอร์ P 41)

Output จากการวิจัยต่อยอดผลการวิจัยของโครงการ

การประชุมวิชาการระดับชาติ ลำดับที่ 2

Preparation and morphology study of biodegradable

chitosan/methoxy poly(ethylene glycol)-b- poly(ϵ -caprolactone)

nanocomposite films

Supawut Khamhan, Yodthong Baimark* and Noi Niamsa

การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 3 6-7

กันยายน 2550 โรงแรมทักษิลา มหาสารคาม หน้าที 64

(เสนอผลงานแบบบรรยาย OS04)

Output จากการวิจัยต่อยอดผลการวิจัยของโครงการ

การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ ลำดับที่ 1

Preparation and characterization of methoxy poly(ethylene glycol)-

b-poly(ϵ -caprolactone)/chitosan nanocomposite films

Supawut Khamhan, Mangkorn Sirsa-ard, Noi Niamsa

and Yodthong Baimark*

The 2nd International Conference Advances in Petrochemicals and

Polymers, June 25-28, 2007 Bangkok, Thailand, p. 342

(Poster presentation NN-P3).

**Output จากการวิจัยต่อยอดผลการวิจัยของโครงการ
การตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ลำดับที่ 1**

**Preparation and Morphology Study of Biodegradable
Chitosan/Methoxy Poly(ethylene glycol)-*b*-Poly(ϵ -
caprolactone) Nanocomposite Films**

Int. J. Polym. Anal. Cha., *in press*

(Impact factor 2005 = 0.500).

Yodthong Baimark*, Noi Niamsa, Nongnit Morakot and

Jirasak Threeprom