สรุปโครงการ (Executive Summary)
ทุนส่งเสริมกลุ่มวิจัย ปี 2551

1) ชื่อโครงการ

(ภาษาไทย) **การปรับแต่งพื้นผิวของพอลิเมอร์และอนุภาคคอลลอยด์เพื่อการประยุกต์ในทางชีวการแพทย์**

(ภาษาอังกฤษ) **Surface Modification of Polymers and Colloidal Particles for Biomedical Applications**

ประกอบด้วย 4 โครงการย่อย ได้แก่

โครงการย่อยที่ 1 ***การปรับแต่งพื้นผิวของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากน้ำยางธรรมชาติด้วยอนุภาคนาโนเพื่อพัฒนาการเตรียมถุงมือทางการแพทย์***

Surface Modification of Natural Rubber Latex Film by Using Nanoparticles for the Development of Medical Gloves' Preparation

โครงการย่อยที่ 2 ***การพัฒนาวัสดุควบคุมการปลดปล่อยยาในรูปแบบนาโนไฟเบอร์โดยใช้พอลิแลคไทด์และอนุพันธ์***

Preparation and Characterization of Drug Controlled-Release Materials from Nanofibers Polylactide and Its Derivatives

โครงการย่อยที่ 3 ***การพัฒนาแผ่นปิดชนิดไวต่อแรงกดที่ทำจากยางธรรมชาติเพื่อประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์***

Natural Rubber-based Pressure Sensitive Adhesive Patch for Medical Applications

โครงการย่อยที่ 4 ***การเตรียมอนุภาคนาโนพอลิเมอร์ที่มีสมบัติแม่เหล็กเพื่อใช้ในการแยกเซลล์เม็ดเลือด***

Preparation of Magnetic Polymeric Nanoparticle for Blood Cell Isolation

2) ชื่อหัวหน้าโครงการ

ชื่อ นามสกุล **ศาสตราจารย์ ดร. ประมวล ตั้งบริบูรณ์รัตน์**

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ถ. พระราม 6 พญาไท กรุงเทพมหานคร 10400
โทรศัพท์ 0 2201 5135 Fax 0 2354 7165
e-mail: scptb@mahidol.ac.th

3) วัตถุประสงค์ (Objectives)

1. เพื่อปรับแต่งผิวของแผ่นยางธรรมชาติให้มีความขรุขระเพื่อให้แรงเสียดทานที่ผิวลดลง และ/หรือให้สามารถยึดติดกับแผ่นยางซิลิโคน และ/หรือแผ่นยางธรรมชาติที่กำจัดโปรตีนออกได้
2. เพื่อสังเคราะห์อนุภาคพอลิเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันที่เหมาะสม และ/หรือมีสมบัติแม่เหล็ก และ/หรือห่อหุ้มยาฆ่าเชื้อโรค และศึกษาวิจัยเพื่อประยุกต์ใช้ในการชีวการแพทย์
3. เพื่อสังเคราะห์พอลิเมอร์ย่อยสลายได้ แล้วเตรียมเป็นพอลิเมอร์ผสม โคพอลิเมอร์ (graft และ/หรือ block copolymer) เพื่อนำไปใช้ยึดเกาะบนผิวของอนุภาคพอลิเมอร์ และ/หรือปรับแต่งผิวของแผ่นยางธรรมชาติ และ/หรือประยุกต์ใช้ในการควบคุมอัตราการปลดปล่อยยา

4) บทคัดย่อ (Abstract)

งานวิจัยนี้แบ่งเป็น 4 โครงการย่อย โครงการย่อยที่ 1 เป็นการปรับแต่งให้ผิวของถุงมือยางพารามีความขรุขระ ส่งผลให้แรงเสียดทานที่ผิวต่ำลง ด้วยการติดอนุภาคแข็งขนาดนาโนของพอลิเมทิล เมทราคริเลต (PMMA) บนผิวของฟิล์มยาง พบว่า การติด PMMA ที่มีอนุภาคขนาดใหญ่ผสมกับอนุภาคขนาดเล็ก ทำให้ลดแรงเสียดทานที่ผิวของแผ่นยางได้อย่างมีประสิทธิภาพ และการที่อนุภาค PMMA ปกคลุมผิวของแผ่นยางทำให้การสัมผัสโดยตรงระหว่างแผ่นฟิล์มยางกับผิวหนังลดลง จึงได้สกัดแผ่นยางที่พรีวัลคาไนซ์ด้วยกำมะถันที่มีอนุภาค PMMA เคลือบอยู่ แล้วนำสารที่สกัดได้ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 พบว่า สารสกัดที่ความเข้มข้น <13%, 37°C, 24 ชั่วโมง ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ ทั้งนี้ ได้สังเคราะห์อนุภาค PMMA ที่มีไคโตแซนเป็นสารช่วยให้เสถียรที่ย่อยสลายได้ และมีสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียเพื่อนำไปติดบนแผ่นฟิล์มยางต่อไป งานวิจัยที่ทำควบคู่กัน คือ การเตรียมถุงมือยางพาราสำหรับบุคลากรทางการแพทย์ โดยทำให้มีโครงสร้างเป็น 3 ชั้น ประกอบด้วยชั้นของแคปซูลของพอลิเมอร์ที่ห่อหุ้มยาฆ่าเชื้อโรค (chlorhexidine digluconate; CHD) แทรกอยู่ระหว่างชั้นของฟิล์มยาง โดยศึกษาผลของชนิด และน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่หุ้มแคปซูลต่อประสิทธิภาพการกักเก็บยา แล้วนำแคปซูลที่เตรียมจากพอลิเมทิล อะคริเลต (PMA) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (550K) ซึ่งกักเก็บ CHD ได้มากกว่า 90% ไปติดลงบนแผ่นฟิล์มยางที่พรีวัลคาไนซ์ แล้วจึงขึ้นรูปเป็นฟิล์มยางปิดทับชั้นของแคปซูลอีกชั้นหนึ่ง และเพื่อลดขั้นตอนการขึ้นรูปฟิล์ม จึงได้เตรียมอนุภาคคอมพอสิทแบบแกน-เปลือก (core-shell) ที่มีแคปซูลของ CHD-PMA เป็นแกนห่อหุ้มด้วยชั้นของอนุภาคยางสกิมที่พรีวัลคาไนซ์ด้วยกำมะถัน แล้วนำอนุภาคคอมพอสิทไปติดลงบนแผ่นฟิล์มของยาง เมื่ออนุภาคยางสกิมแห้งจะได้เป็นฟิล์มชั้นบนของถุงมือ 3 ชั้น ภายในขั้นตอนเดียว

งานอีกส่วนหนึ่งของโครงการย่อยที่ 1 คือ การวิจัยเพื่อนำแผ่นยางธรรมชาติหรืออนุภาคพอลิเมอร์คอลลอยด์มาเป็นตัวรองรับโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อให้เป็นเคมิคอลเซนเซอร์ ซึ่งพอลิเมอริกเซนเซอร์นี้จะเพิ่มความไว หรือขยายสัญญาณเมื่อใช้ตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ เช่น นิวคลีโอไทด์ โลหะอิออน และกรดอะมิโน นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาเพื่อนำผลิตภัณฑ์ยางธรรมชาติกลับมา

ใช้ใหม่ โดยเตรียมพอลิเมอร์ผสมระหว่างเศษถุงมือยางพารากับโฟมของพอลิสไตรีนที่ทำให้มีโครงสร้างร่างแหแบบกึ่งสอดไขว้ (semi-IPNs) แล้วเสริมแรงด้วยเส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากใบอ้อย และใบข้าวโพด เพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นวัสดุประเภทไม้เทียม

โครงการย่อยที่ 2 เป็นการวิจัยเพื่อนำพอลิเมอร์ที่สลายตัวได้และเข้ากันได้กับร่างกาย ซึ่งมีพอลิแลคไทด์ (PLA) เป็นองค์ประกอบ มาใช้ในทางชีวการแพทย์ โดยเตรียมวัสดุพอลิเมอร์หรือโคพอลิเมอร์ให้อยู่ในหลายรูปแบบ เช่น เตรียมเป็นเส้นใยนาโน หรือนำไปเคลือบบนผิวอนุภาคนาโนที่มีสมบัติความเป็นแม่เหล็ก (MNP) หรือนำไปเคลือบผิวของวัสดุทางการแพทย์ รวมทั้งแผ่นยางธรรมชาติ เพื่อใช้เป็นถุงมือทางการแพทย์ หรือแผ่นปิดแผลที่มีสมบัติในการปลดปล่อยยา หรือใช้เป็นสารเชื่อมโยงสายโซ่ (crosslinking agent) ของยางธรรมชาติที่มีหมู่อิพอกไซด์ (Epoxidized Natural Rubber; ENR) เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ยางที่มีสมบัติเชิงกลที่ดี และย่อยสลายได้

โครงการย่อยที่ 3 เป็นการศึกษาเพื่อพัฒนาระบบการขนส่งยาทางผิวหนัง (transdermal drug delivery; TDD) ให้เป็นทางเลือกใหม่ของการขนส่งยาเข้าสู่ร่างกายนอกจากการรับประทานและการฉีด โดยมุ่งเน้นไปที่การพัฒนายางธรรมชาติให้เป็นวัสดุรองด้านหลังซึ่งอยู่ด้านนอกของ TDD และต้องสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมในระหว่างที่ใช้งาน จึงต้องสามารถทนต่อสารเคมี เข้ากันได้กับสารเติมเนื้อยา และทำให้ผู้ใช้รู้สึกสบาย จากการวัดค่าความแข็งแรงเชิงกล การผ่านของออกซิเจน และการจำกัดการผ่านของไอน้ำ พบว่า ยางธรรมชาติที่ปรับแต่งแล้ว เช่น ENR มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัสดุรองด้านหลัง และผลการศึกษาสมบัติต่างๆ แสดงว่า แผ่นยางธรรมชาติที่ปรับแต่งพื้นผิวด้วยโคพอลิเมอร์ของ PLA อาจจะนำมาทำเป็นกาวที่ไวต่อแรงกดซึ่งมีสมบัติเข้ากับร่างกาย ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ทดสอบ และสามารถบรรจุยาสำหรับนำส่งยาได้

โครงการย่อยที่ 4 เป็นการสังเคราะห์อนุภาคพอลิเมอร์คอลลอยด์ที่มีสมบัติความเป็นแม่เหล็ก (MPNP) แล้วนำมายึดติดกับโปรตีน หรือสารชีวภาพ เพื่อใช้ในการแยกโปรตีนออกจากส่วนผสม หรือใช้ในการตรวจสอบเชื้อโรคโดยอาศัยสมบัติการยึดเกาะกับโปรตีน โดยได้ติดแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียและแอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียบนอนุภาค MPNP ที่มีหมู่ฟังก์ชันอยู่ที่ผิว เพื่อพัฒนาวิธีทางภูมิคุ้มกันในการแยกแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อมาลาเรียและตัวเชื้อมาลาเรีย นอกจากนี้ ยังได้ยึดติดสายโอลิโกนิวคลีโอไทด์จำเพาะบนอนุภาค MPNP เพื่อตรวจวินิจฉัยหาความผิดปรกติของยีน *BCR/ABL* ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังด้วยเทคนิคใหม่ที่ได้พัฒนาขึ้น เรียกว่า Magneto-PCR enzyme linked gene assay พบว่า ให้ผลการตรวจที่รวดเร็ว และมีความไวเทียบเท่าวิธีมาตรฐานที่ใช้ในปัจจุบัน (วิธี Real-time PCR) โดยมีความจำเพาะ มีความแม่นยำสูง ลดการใช้และสัมผัสสารพิษของผู้ปฏิบัติงานอีกด้วย นอกจากนี้ การที่ MPNP สามารถใช้แทนเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสได้ จึงนำมาใช้ในขั้นตอนการตรวจสอบผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยา PCR เพื่อประยุกต์ใช้ในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในเชิงปริมาณ โดยใช้ *Vibrio cholerae* และ *Enterotoxigenic E. coli* เป็นแบคทีเรียต้นแบบ ทำให้ได้กระบวนการทางเลือกในการตรวจหาเชื้อ

แบคทีเรียที่มีความสะดวก รวดเร็ว และสามารถวิเคราะห์เชื้อในเชิงปริมาณได้อย่างมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับเทคนิค PCR-ELISA

This research project consists of 4 subprojects. Subproject 1 focused on the surface modification of natural rubber (NR) glove for increasing the surface roughness and, hence, reduction of the surface friction by depositing poly(methyl methacrylate; PMMA) latex particles onto the NR or sulphur prevulcanized (SP)NR film. It was found that the adsorption of both large and small sizes of PMMA particles effectively reduced the surface friction of rubber film. Since the direct contact between skin and the modified SPNR film was decreased, it was expected that the cytotoxicity caused by the leachable proteins or other additives in SPNR glove and the allergic problem to certain sensitive individuals would be lowered. The culture medium of L929 fibroblasts was used for extracting the modified SPNR film and subjected to the *in vitro* cytotoxicity evaluation. Results showed that at the extract concentration of < 13% for 24h at 37°C, no toxicity potential was detected. In order to improve both the binding ability with SPNR and antimicrobial activity, the PMMA-chitosan core-shell particles were prepared for further depositing onto the ungrafted SPNR film. In parallel, we prepared the medical gloves consisting of three-layer thin film where the outermost and inner layers were prevulcanized NR and the active middle layer containing the polymeric capsule of disinfectant agent (chlorhexidine digluconate; CHD). The effects of types and molecular weight (MW) of the polymeric shell on the encapsulation efficiency were studied. The deposition of CHD-poly(methyl acrylate) (PMA) (550K) capsules having > 90% encapsulation efficiency onto the prevulcanized NR film was achieved by using the coagulant dipping process. The CHD-PMA capsules in the second layer were then coated with another prevulcanized NR layer to finally furnish a three-layer film. In order to reduce the preparation step, the composite particle composing of prevulcanized skim particles surrounding a CHD-PMA capsule was prepared and then used for coating the prevulcanized NR substrate in one step.

The rest part of subproject 1 emphasized on the employment of NR film or colloidal particles as a template for the construction of sensing material, i.e., chemical sensor, by using the synthesized organic molecules. The sensor benefits from high sensitivity and amplified output signal for the selective detection of nucleotides, metal ions and amino acids. For the sustainability purpose, the NR glove residue was blended with polystyrene foam waste to obtain the semi-IPNs structure. The material was reinforced with cellulose obtained from sugar cane and corn leaves and would be potentially used as artificial wood.

Subproject 2 aimed to utilize the biodegradable and biocompatible polylactide (PLA) based polymer for biomedical applications. The PLA and their copolymers could be fabricated in the form of nanofiber or used for coating magnetic nanoparticle (MNP) surface or medical devices including NR sheet for the preparation of medical gloves or an adhesive patch for drug controlled release. The PLA block copolymer was also applied as a crosslinking agent of epoxidized NR (ENR) which offered good mechanical property and biodegradability.

Subproject 3 focused on the study and development of transdermal drug delivery (TDD) which could be used as an alternative option apart from normal intake and injection. This subproject focused on the development of NR or prevulcanized NR as a backing material which must have good chemical property (i.e., chemical resistance to the external environment during the usage), miscibility with the drug (blending) and contact feeling (comfortable). From the mechanical properties, oxygen and water vapor transmission rates, it was found that the modified NR, i.e., ENR, attained the requirements for a backing material in the TDD system. In addition, the NR film surface adsorbed with the PLA block copolymer could be used as a sensitive adhesive patch containing controlled release drug and provided less toxicity to cells and good biocompatibility.

Subproject 4 involved the preparation of magnetic polymeric nanoparticle (MPNP) whose surface was immobilized with proteins and/or biological molecules. These particles could be employed for the separation of proteins from the biological matrix or for the detection of microorganisms, e.g., bacteria or parasite. The adsorption of malaria antigen or antibody onto the functionalized MPNP or the preparation of immunolatex was attempted for the diagnostic and separation purposes. A novel tool for the detection of *BCR/ABL* fusion gene in chronic myelogenous leukemia by the immobilization of MPNP with oligonucleotides was successfully developed. Our technique, named a "Magneto-PCR enzyme linked gene", provided the detection with high specificity and its sensitivity was commensurate to the current Real-time PCR method. The technique also minimizes the exposure to the toxic chemicals. Since the MPNP acted as peroxidase mimic, it could be used in the PCR protocol and further employed for the detection of *Vibrio cholerae* and *Enterotoxigenic E. coli.* This prompts the preparation of efficient method for the detection of food-borne pathogen with high efficiency and the sensitive compromising to the PCR-ELISA technique.

5) คำหลัก (Keywords)

Rubber, Latex, NanoParticle, Colloid, Copolymer, Polylactide, Sensor, Biomedical