

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

"การนำ Pluronic-Grafted Chitosan มาใช้ในระบบนำพายา"

Pluronic-Grafted Chitosan for Drug Delivery

โดย

ผศ. ดร. ขวัญชนก พสุวัต

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

รายงานนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากเงินงบประมาณประจำปี 2551

600255325



250350

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์



โครงการวิจัยเรื่อง

"การนำ Pluronic-Grafted Chitosan มาใช้ในระบบนำพายา"

Pluronic-Grafted Chitosan for Drug Delivery

โดย

ผศ. ดร. ขวัญชนก พสุวัต

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

รายงานนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากเงินงบประมาณประจำปี 2551

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ Pluronic[®] F-127 จะถูกนำมาสังเคราะห์กับไคโตซาน เพื่อทำให้เกิดเป็น Pluronic[®] F-127 grafted Chitosan copolymer เพื่อใช้ในระบบ ควบคุมการปลดปล่อยยา โดยในงานวิจัยนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 5 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 ศึกษาการสังเคราะห์ Pluronic[®] F-127 grafted Chitosan copolymer โดยใช้วิธี EDC/NHS ส่วนที่ 2 เป็นการศึกษาคุณสมบัติต่างๆของ copolymer ส่วนที่ 3 เป็นการศึกษาความเป็นพิษของสารโคโพลิเมอร์ ส่วนที่ 4 เป็นการศึกษาอัตราการละลาย (Dissolution rate) ของ copolymer และในส่วนสุดท้ายเป็นการศึกษาการปลดปล่อยยา Doxorubicin จากเจล copolymer จากผลการทดลองพบว่า วิธีที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ Copolymer คือวิธี EDC/NHS และ เจล Copolymer ที่สังเคราะห์ได้ยังคงมีคุณสมบัติในการเปลี่ยนกลับไปมาได้ตามอุณหภูมิ (Thermoreversible) และไม่มีความเป็นพิษหากเลือกใช้ปริมาณของโคโพลิเมอร์ให้น้อยกว่าค่า IC_{50} โดยในกรณีที่ปริมาณของ Chitosan ใน Copolymer มีค่าคงที่ อัตราการสลายตัวของเจลจะแปรผกผันกับความเข้มข้นของสารละลาย สำหรับกรณีที่ความเข้มข้นของสารละลายคงที่ อัตราการสลายตัวของเจล Copolymer จะแปรผกผันกับปริมาณของ Chitosan ใน Copolymer นอกจากนี้ ยังพบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บยาจะแปรผันตรงกับปริมาณของ Chitosan ใน Copolymer ซึ่งอัตราการปลดปล่อยยา Doxorubicin จากเจล Copolymer เป็นไปตามอันดับที่ 0 (Zeroth order) ในช่วง 90% แรกของการปลดปล่อยยา และอัตราการปลดปล่อยยา Doxorubicin จากเจล Copolymer เป็นไปตามอัตราการละลายของเจล ซึ่งแสดงว่า กระบวนการปลดปล่อยยา Doxorubicin ขึ้นอยู่กับการละลายของเจล Copolymer เป็นหลัก นั่นคือ เจล Copolymer มีกลไกการปลดปล่อยยาแบบการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation) จากผลการทดลองยังทำให้สามารถหาค่าคงที่การปลดปล่อยยา Doxorubicin จากเจล Copolymer ซึ่งจะนำมาใช้ในสมการทางคณิตศาสตร์อย่างง่าย เพื่อที่จะใช้ในการทำนายอัตราการปลดปล่อยยาในช่วง 90% แรกของการปลดปล่อยยาได้ต่อไป

Abstract

250350

In this study, Pluronic[®] F-127 grafted Chitosan copolymer was synthesized from Pluronic[®] F-127 and Chitosan to be used as a thermoreversible vector for drug delivery applications. This project focused on four main parts: (1) the synthesis of Pluronic[®] F-127 grafted Chitosan copolymer, (2) the characterization of this copolymer, (3) the toxicity of copolymer, (4) the dissolution rate of the copolymer gel and finally, (5) the release kinetics of Doxorubicin from the copolymer gel. Chitosan was successfully grafted onto Pluronic using the EDC/NHS method, as confirmed by an FTIR analysis. This copolymer also possesses Pluronic's thermoreversible property. And not toxic if the amount of copolymer used is less than the IC50 value. In the case that the amount of Chitosan in copolymer is constant, the decomposition rate of the gel will depend on the concentration of the solvent. In case the concentration of the solvent is constant, the rate of decomposition of copolymer gel will depend on the amount of Chitosan in the copolymer. In addition it was found that the ability to store the drug will depend on the amount of Chitosan in the copolymer. The rate of release of Doxorubicin from copolymer gel is according to zeroth order in the first 90% zone of the release process. And the rate of release of Doxorubicin of copolymer gel is according to the rate of dissolve of the gel. This shows that the release of Doxorubicin is mostly dependent on the dissolution of copolymer gel. Therefore, copolymer gel has a biodegradation release mechanism. Results show that the release constant of releasing Doxorubicin from copolymer gel can be found and can be easily used in mathematical calculations for the prediction of rate of release in the first 90% zone of the release process.

สารบัญ

	หน้า
รายการตารางประกอบ	ฉ
รายการรูปประกอบ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 งานวิจัยที่ผ่านมา	2
1.3 วัตถุประสงค์	6
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย	6
1.5 ประโยชน์ของงานวิจัย	7
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย	
2.1 ความเป็นมาของระบบการปลดปล่อยยา	8
2.2 การใช้โพลิเมอร์ในระบบการปลดปล่อยยา และกลไกการปลดปล่อยยา	12
2.3 สมการทางคณิตศาสตร์ที่เกี่ยวข้องในการ ปลดปล่อยยา	19
2.4 สมบัติของโพลิเมอร์กลุ่ม Pluronic	26
2.5 Pluronic F127	38
2.6 Chitosan	40
2.7 Doxorubicin	43
2.8 วิธีการ Grafted Copolymers	44
บทที่ 3 การดำเนินโครงการงานวิจัย	
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	48
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	48
3.3 วิธีการทดลอง	48
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 การวิเคราะห์ Functional group ด้วยเครื่อง FTIR ของสารต่างๆ ที่ได้จากการสังเคราะห์โคโพลิเมอร์	53
4.2 การทดสอบความเป็นพิษของโคโพลิเมอร์	61
4.3 อัตราการสลายตัวของโคโพลิเมอร์	63
4.4 ลักษณะการปลดปล่อยยา Doxorubicin	67

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	74
5.2 ข้อเสนอแนะ	75
เอกสารอ้างอิง	76
ภาคผนวก ก. เครื่องมือที่ใช้ทดลองและดำเนินงานวิจัย	79
ภาคผนวก ข. วิธีการทดสอบความเป็นพิษของโคโพลิเมอร์	82
ภาคผนวก ค. วิธีการเตรียมสารละลาย Phosphate Buffer Solution (PBS)	84
ภาคผนวก ง. ตารางบันทึกผลการทดลองและกราฟแสดงผลการทดลอง	85

รายการตารางประกอบ

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงถึงปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อลักษณะและกลไกการปลดปล่อยยาของ hydrogel	15
ตารางที่ 2 แสดงค่า n และ δ เป็นค่าที่ขึ้นอยู่กับรูปทรงของตัวส่งยา	25
ตารางที่ 3 แสดงเวลาการย่อยสลายของโพลิเมอร์	36
ตารางที่ 4 แสดงสมบัติทางกายภาพของ PF-127	39
ตารางที่ 5 ค่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ที่ถูกเพาะเชื้อที่ค่าความเข้มข้นต่างๆ เทียบกับค่าที่ควบคุมและค่า IC_{50}	60
ตารางที่ 6 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ที่ถูกเพาะเชื้อที่ค่าความเข้มข้นต่างๆ เทียบกับค่าที่ควบคุมและค่า IC_{50}	61
ตารางที่ 7 แสดงความสามารถในการกักเก็บยา Doxorubicin ของเจล Copolymer ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	67
ตารางที่ 8 แสดงค่า Least squares regression (R^2)	70
ตารางที่ 9 แสดงค่าคงที่ของการปลดปล่อยยา K_r	71
ตารางที่ 10 แสดง Calibration curve	84
ตารางที่ 11 แสดงอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 ความเข้มข้น 25 %w/w	85
ตารางที่ 12 แสดงอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 25 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 5 %wt	86
ตารางที่ 13 แสดงอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 25 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 10 %wt	88
ตารางที่ 14 แสดงอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 25 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 15 %wt	90
ตารางที่ 15 แสดงอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 ความเข้มข้น 30 %w/w	92

	หน้า
ตารางที่ 16 แสดงอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 30 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 5 %wt	93
ตารางที่ 17 แสดงอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 30 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 10 %wt	95
ตารางที่ 18 แสดงอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 30 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 15 %wt	97
ตารางที่ 19 แสดงอัตราการปลดปล่อยยาของเจล Pluronic [®] F-127 ความเข้มข้น 25 %w/w	99
ตารางที่ 20 แสดงอัตราการปลดปล่อยยาของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 25 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 5 %wt	100
ตารางที่ 21 แสดงอัตราการปลดปล่อยยาของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 25 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 10 %wt	101
ตารางที่ 22 แสดงอัตราการปลดปล่อยยาของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 25 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 15 %wt	103
ตารางที่ 23 แสดงอัตราการปลดปล่อยยาของเจล Pluronic [®] F-127 ความเข้มข้น 30 %w/w	105
ตารางที่ 24 แสดงอัตราการปลดปล่อยยาของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 30 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 5 %wt	106
ตารางที่ 25 แสดงอัตราการปลดปล่อยยาของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 30 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 10 %wt	107
ตารางที่ 26 แสดงอัตราการปลดปล่อยยาของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ความเข้มข้น 30 %w/w มีปริมาณไคโตซาน 15 %wt	109

รายการรูปประกอบ

		หน้า
รูปที่ 1	แสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์ Pluronic grafted Chitosan copolymer	4
รูปที่ 2	แสดงความเข้มข้นของยาเมื่อเข้าสู่ร่างกายด้วยวิธีการให้ยาแบบดั้งเดิม	9
รูปที่ 3	แสดงความเข้มข้นของยาเมื่อเข้าสู่ร่างกายด้วยวิธีการให้ยาแบบใช้ระบบการปลดปล่อยยา	10
รูปที่ 4	แสดงการเปรียบเทียบความเข้มข้นของยาระหว่างการให้ยาแบบดั้งเดิมกับการใช้ระบบการปลดปล่อยยา	11
รูปที่ 5	แสดงภาพระดับไมโครของอนุภาคที่ใช้ในการขนส่งยาไปยังปอด	13
รูปที่ 6	แสดงกลไกการปล่อยยาแบบแพร่ผ่านยาของโพลิเมอร์	14
รูปที่ 7	แสดงการปล่อยยาแบบการบวมน้ำของโพลิเมอร์	15
รูปที่ 8	แสดงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโพลิเมอร์	16
รูปที่ 9	แสดงโพลิเมอร์ที่มีการปล่อยยาแบบย่อยสลายตัวเอง	17
รูปที่ 10	ลักษณะของอนุภาค ระดับไมโคร PLGA	18
รูปที่ 11	PLGA ที่มีการย่อยสลายภายในร่างกาย	18
รูปที่ 12	Polyorthoesters ในตัวกระด้าง	20
รูปที่ 13	แสดงลักษณะของการปลดปล่อยยาของระบบแบบที่ควบคุมทางเคมี	21
รูปที่ 14	แสดงลักษณะของระบบการปลดปล่อยยาที่ย่อยสลายทางชีวภาพ	21
รูปที่ 15	แสดงกลไกการปลดปล่อยยาของโพลิเมอร์ชนิดสี่ก่กร่อน	21
รูปที่ 16	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปลดปล่อยยากับเวลา	24
รูปที่ 17	แสดงโครงสร้างของ Pluronic	26
รูปที่ 18	แสดงโครงสร้างของ Pluronic	27
รูปที่ 19	แสดงลักษณะของ Diblock และ Triblock copolymer	28
รูปที่ 20	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มความยาวของกลุ่มโพลิเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) หรือลดความยาวของกลุ่มโพลิเมอร์ที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และการเกิดการรวมตัวกันเองของไมเซลล์ (micelle)	29
รูปที่ 21	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเรียงตัวของ Block copolymer และการรวมตัวเป็นไมเซลล์	30
รูปที่ 22	แสดง Block copolymer รวมตัวกันกลายเป็นไมเซลล์	30
รูปที่ 23	แสดงขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงเฟสของ Block copolymer	31
รูปที่ 24	แสดงไมเซลล์เมื่อมียาที่ไม่ชอบน้ำเข้ามาอยู่ในแกนกลาง	32

	หน้า	
รูปที่ 25	แสดงอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีต่อการเปลี่ยนแปลง Elastic Modulus (G) ของ Pluronic F127	33
รูปที่ 26	แสดง phase diagram ของ Pluronic F127	34
รูปที่ 27	แสดงตัวอย่างของโพลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติการย่อยสลายทางชีวภาพได้	35
รูปที่ 28	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบของโคโพลิเมอร์มีความเป็นผลึกที่แตกต่างกัน และการย่อยสลายของ Pluronic F127	36
รูปที่ 29	แสดงการย่อยสลายของโพลิเมอร์	38
รูปที่ 30	แสดงลักษณะการเรียงตัวของ Pluronic F127	38
รูปที่ 31	โครงสร้างทางเคมีของโคโคซาน	40
รูปที่ 32	แสดงลักษณะโครงสร้างของยา Doxorubicin	43
รูปที่ 33	แสดงผลการตรวจสอบ functional group ของ Chitosan ด้วยเครื่อง FTIR	52
รูปที่ 34	แสดงผลการตรวจสอบ functional group ของ Pluronic® F-127 ด้วยเครื่อง FTIR	53
รูปที่ 35	แสดงผลการตรวจสอบ functional group ของ Monocarboxy pluronic® F-127 ด้วยเครื่อง FTIR	54
รูปที่ 36	(a) แสดงสารละลายคอลลอยด์ที่ได้จากการสังเคราะห์ Monocarboxy Pluronic® F-127 (b) แสดงตะกอนสีขาวขุ่น Monocarboxy Pluronic® F-127 ที่ได้จากการระเหยตัวทำละลายออกไป	55
รูปที่ 37	แสดงสารละลายที่ได้จากการสังเคราะห์ Pluronic® F-127 grafted Chitosan copolymer	56
รูปที่ 38	แสดงผลการตรวจสอบ functional group ของ Pluronic® F-127 grafted Chitosan copolymer ที่ได้จากวิธีระเหยในระบบสุญญากาศ ด้วยเครื่อง FTIR	56
รูปที่ 39	แสดงผลการตรวจสอบ functional group ของ Pluronic® F-127 grafted Chitosan copolymer ที่ได้จากวิธีการกรองผ่านกระดาษกรอง ด้วยเครื่อง FTIR	57
รูปที่ 40	แสดงผลการตรวจสอบ functional group ของ Pluronic® F-127 grafted Chitosan copolymer ที่ได้จากวิธี Centrifuge membrane ด้วยเครื่อง FTIR	57
รูปที่ 41	แสดงผงโคโพลิเมอร์ที่ได้หลังจากแยกตัวทำละลายออกไป	58

	หน้า	
รูปที่ 42	แสดงผลการตรวจสอบ functional group ของ Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan copolymer ด้วยเครื่อง FTIR	58
รูปที่ 43	แสดงผลการตรวจสอบ functional group (a) Chitosan (b) Chitosan-Pluronic (c) Pluronic ด้วยเครื่อง FTIR ของงานวิจัยที่ผ่านมา	59
รูปที่ 44	กราฟแสดงการเปรียบเทียบลักษณะและอัตราการลดลงของน้ำหนักของเจล Pluronic [®] F-127 ที่มีความเข้มข้นต่างกัน	62
รูปที่ 45	กราฟแสดงการเปรียบเทียบลักษณะและอัตราการลดลงของน้ำหนักของเจล โคลิโพลิเมอร์ที่ความเข้มข้นของโคลิโพลิเมอร์ 25 %w/w ที่ปริมาณของไคโตซานในโคลิโพลิเมอร์ที่ต่างกัน	64
รูปที่ 46	กราฟแสดงการเปรียบเทียบลักษณะและอัตราการลดลงของน้ำหนักของเจล โคลิโพลิเมอร์ที่ความเข้มข้นของโคลิโพลิเมอร์ 25 %w/w ที่ปริมาณของไคโตซานในโคลิโพลิเมอร์ที่ต่างกัน	64
รูปที่ 47	กราฟแสดงลักษณะการปลดปล่อยยา Doxorubicin ของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan Copolymer ที่ความเข้มข้น 25% w/w ซึ่งมีปริมาณของ Chitosan ใน Copolymer ที่แตกต่างกัน	66
รูปที่ 48	กราฟแสดงลักษณะการปลดปล่อยยา Doxorubicin ของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan Copolymer ที่ความเข้มข้น 30% w/w ซึ่งมีปริมาณของ Chitosan ใน Copolymer ที่แตกต่างกัน	67
รูปที่ 49	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปลดปล่อยยา Doxorubicin กับอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan Copolymer ที่ความเข้มข้นของเจล โคลิโพลิเมอร์ 25% w/w	69
รูปที่ 50	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการปลดปล่อยยา Doxorubicin กับอัตราการละลายของเจล Pluronic [®] F-127 grafted Chitosan Copolymer ที่ความเข้มข้นของเจล โคลิโพลิเมอร์ 30% w/w	69
รูปที่ 51	กราฟแสดงลักษณะทางจลนศาสตร์ของการปลดปล่อยยา Doxorubicin ของเจล Copolymer	71
รูปที่ 52	แสดงตู้ควบคุมอุณหภูมิ	78
รูปที่ 53	แสดงเครื่อง FTIR	78
รูปที่ 54	แสดงอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	79
รูปที่ 55	แสดงเครื่องวัดความเข้มแสง UV Spectrophotometer	79
รูปที่ 56	แสดงเครื่อง Shaker	80

รูปที่ 57 แสดง calibration curve ระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มขุ่นยา

หน้า

84