

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RMU5180019

ชื่อโครงการ การปรับปรุงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ย่อยสลายทางชีวภาพชนิดโพลีเอสเทอร์เพื่อใช้เตรียมอนุภาคนาโนในการนำส่งยา

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน รองศาสตราจารย์ ดร. วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ
ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
447 ถนนศรีอยุธยา ราชเทวี กรุงเทพฯ

E-mail Address pyvbp@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี (15 พฤษภาคม 2551 ถึง 14 พฤษภาคม 2554)

การปรับปรุงสายโพลีเมอร์ที่สลายตัวทางชีวภาพเพื่อใช้ในการนำส่งยาเป็นที่น่าสนใจอย่างมากในทางเภสัชกรรม การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะปรับปรุงสายโพลีเมอร์โพลีเอสเทอร์ชนิด polycaprolactone ซึ่งเป็นโพลีเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ด้วยการเติมกลุ่ม polyethylene glycol (PEG 4000) ลงในสายโซ่เพื่อให้มีความเป็น hydrophilic เพิ่มขึ้น และ graft ด้วยยา nicotinic acid ซึ่งเป็นสารมวลโมเลกุลเล็กลงบนสายโพลีเมอร์นี้ด้วยสภาวะที่ไม่รุนแรง ด้วยปฏิกิริยา 1,3-dipolar cycloaddition ที่รู้จักกันในชื่อ click reaction โดยการ copolymerization ของ α -chloro- ϵ -caprolactone (α Cl ϵ CL) และ ϵ -caprolactone (ϵ CL) ด้วยวิธี ring opening polymerization โดยใช้ PEG 4000 และ Tin (II) Octanoate (SnOct₂) เป็น catalyst จากนั้นปรับเปลี่ยน กลุ่มคลอไรด์บนสายโซ่ ให้เป็น azide ซึ่งจะเป็นตำแหน่งที่เชื่อมติดกับ but-3-ynyl nicotinate ด้วย click reaction จากการศึกษาโครงสร้างและการตรวจสอบสมบัติของโพลีเมอร์ที่ได้ด้วย ¹H-NMR Spectroscopy, FT-IR Spectroscopy และ Gel Permeation Chromatography พบว่าสามารถ graft ด้วยยา nicotinic acid ที่สัดส่วนต่างๆ (10%, 20% และ 30%) ลงบนสายโซ่ของ poly- ϵ -caprolactone (ϵ CL) ได้สำเร็จด้วยการใช้สภาวะไม่รุนแรงและใช้ระยะเวลาที่สั้น จึงไม่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของโพลีเมอร์ ผลของการศึกษา thermal property พบว่าจำนวนโมลและชนิดของหมู่หรือโมเลกุลที่ติดบนสายโซ่โพลีเมอร์นั้นมีผลต่อค่า T_g และ T_m ของโพลีเมอร์ โดยผลการทดลองระบุว่าการติดหมู่หรือโมเลกุลบนสายโซ่และการเพิ่มจำนวนโมลของหมู่ที่ติดมีผลเปลี่ยนรูปผลึกของโพลีเมอร์จาก semi-crystalline เป็น amorphous มากขึ้น ดังนั้นปริมาณ nicotinic acid ที่ติดบนสายโซ่โพลีเมอร์ส่งผลต่อสมบัติเฉพาะทางกายภาพและเคมีของโพลีเมอร์

การศึกษาคือความเป็นพิษของโพลีเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ต่อเซลล์ปกติ ผลการศึกษาพบว่าโพลีเมอร์ที่ติดโมเลกุล nicotinic acid ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ HUVECs เช่นเดียวกับโพลีเมอร์ต้นแบบ (P(ϵ CL)-co-PEG) ที่ความเข้มข้น 500 μ g/mL เมื่อนำโพลีเมอร์ที่ติด nicotinic acid ที่สังเคราะห์ได้ ไปเตรียมเป็นอนุภาคนาโนด้วยวิธี nanoprecipitation และศึกษา

คุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนที่ได้ พบว่าอนุภาคนาโนที่ไม่มีการบรรจุยา มีรูปร่างทรงกลม และจำนวนโมลของ nicotinic acid ที่ติดบนสายโซ่โพลีเมอร์ส่งผลต่อคุณสมบัติของอนุภาคนาโน โดยที่จำนวนโมลของ nicotinic acid ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ขนาดอนุภาคนาโนเพิ่มขึ้นเนื่องจากความเป็น hydrophobic ที่เพิ่มขึ้นและ steric hindrance ของหมู่ที่ยื่นออกจากแกนของโพลีเมอร์ที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ในรูปของอนุภาคนาโนพบว่าอนุภาคนาโนที่ติดโมเลกุล nicotinic acid ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 0.20 mg/mL ดังนั้น การติดโมเลกุล nicotinic acid มีผลเพิ่มความเป็นพิษต่อเซลล์ และเมื่อเพิ่ม % โมลของ nicotinic acid มีผลเพิ่มความเป็นพิษต่อเซลล์

การศึกษาผลของ nicotinic acid ที่ติดบนสายโซ่โพลีเมอร์ต่อกักเก็บยาต้นแบบ 2 ชนิด คือ ibuprofen และ indomethacin พบว่าหลัง incorporate ยาทั้ง 2 ชนิดมีผลทำให้อนุภาคนาโนมีขนาดใหญ่ขึ้น และการบรรจุยาของอนุภาคนาโนที่มีโมเลกุล nicotinic acid ติดอยู่มีประสิทธิภาพมากกว่าอนุภาคนาโนที่ไม่มีการติดโมเลกุล nicotinic acid ที่เตรียมจากโพลีเมอร์ P(ECL)-co-PEG แต่เมื่อเพิ่ม % โมลของ nicotinic acid ที่ติดบนสายโซ่โพลีเมอร์ ประสิทธิภาพในการบรรจุยาของอนุภาคนาโนไม่ได้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพในการบรรจุยาของอนุภาคนาโนยังขึ้นอยู่กับค่าอัตราการละลายของตัวยาเองด้วย ซึ่งจะมีผลต่อการแบ่งภาคระหว่างอนุภาคนาโนกับวัฏภาคน้ำในขั้นตอนการ incorporate ตัวยา การศึกษาการปลดปล่อยตัวยา ibuprofen และ indomethacin จากอนุภาคนาโนที่เตรียมจากโพลีเมอร์ที่ติดโมเลกุล nicotinic acid และโพลีเมอร์ต้นแบบ พบว่ามีการปลดปล่อยเป็นไปตาม Higuchi model แสดงให้เห็นว่ากลไกการปลดปล่อยยาเป็นแบบ Fickian diffusion การปลดปล่อยยา ibuprofen จากอนุภาคนาโนน้อยกว่าและช้ากว่า indomethacin ถึงแม้ว่า ibuprofen มีค่าอัตราการละลายน้ำมากกว่า indomethacin เนื่องจากเกิด interaction ระหว่าง ibuprofen กับสายโซ่โพลีเมอร์ที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคนาโน สรุปได้ว่า การติดโมเลกุล nicotinic acid บนสายโซ่โพลีเมอร์มีผลต่อทั้งปริมาณและอัตราการปลดปล่อยยาจากอนุภาคนาโน เนื่องจากการติดโมเลกุล nicotinic acid ส่งผลต่อคุณสมบัติเคมีกายภาพของอนุภาคนาโน ได้แก่ ขนาดอนุภาคนาโน %drug loading ความเป็นผลึกของสายโซ่โพลีเมอร์ และการเกิด interaction ระหว่างโมเลกุลยากับสายโซ่โพลีเมอร์

คำหลัก: โพลีเอสเตอร์ โพลีคาโพรเลคโตน นาโนพาร์ทิเคิล ปฏิกริยาคลิ๊ก กรดนิโคตินิก

Abstract

Project Code RMU5180019

Project Title Structure modification of polyester biodegradable polymers for preparation of nanoparticles for drug delivery

Investigator Assoc. Prof. Varaporn Junyaprasert
Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy
Mahidol University
447 Sri-Ayutthaya Rd., Rajathavee, Bangkok 10400

E-mail Address pyvbp@mahidol.ac.th

Project Period 3 years (15 May 2008 ถึง 14 May 2011)

Modification of biodegradable polymers has been gained much attention in the field of pharmaceutical applications. This study was aimed to modify polycaprolactone polymer, one of polyester biodegradable polymers, by being conjugated with polyethylene glycol (PEG 4000) to increase the hydrophilicity and grafting with nicotinic acid, a small drug molecule, onto the polymer using mild conditions of 1,3-dipolar cycloaddition, known as click reaction. The reaction was performed by copolymerization of α -chloro- ϵ -caprolactone (α Cl ϵ CL) and ϵ -caprolactone (ϵ CL) by ring opening polymerization using PEG 4000 and Tin (II) octanoate (SnOct_2) as catalysts. Subsequently, the chloride groups on the polymer were replaced with azide at which but-3-ynyl nicotinate was conjugated using click reaction. From the characterization by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy, FT-IR spectroscopy and gel permeation chromatography, the results showed that the grafting of nicotinic acid onto the poly- ϵ -caprolactone (ϵ CL) copolymer was successful at different drug to polymer ratios (10%, 20% and 30%) with the use of this mild and short time reaction so as to prevent the polymer degradation. From the study of thermal properties of the grafted copolymer, it was found that amount and type of grafting functional groups could affect T_g and T_m of the copolymer. When increasing the amount of grafting functional groups, the crystallinity of the copolymer was changed from semi-crystalline to more amorphous. As a result, grafting nicotinic acid onto the copolymer affected the physicochemical properties of the copolymer.

From the cytotoxicity study of the synthesis polymer to the normal cell lines, the results showed that the nicotinic acid grafted polymer was not toxic to HUVECs cells at 500 $\mu\text{g/mL}$, similar to P(ϵ CL)-co-PEG. Consequently, the nicotinic acid grafted

copolymer was used to prepare nanoparticles by nanoprecipitation and the physicochemical properties of the nanoparticles were studied. The results showed that the nanoparticles were spherical in shape. In addition, the amount of nicotinic acid influenced the properties of the nanoparticles. When the amount of nicotinic acid increased, the particle size increased due to the increased hydrophobicity and steric hindrance of the grafting function groups. From the cytotoxicity study, the nanoparticles did not cause toxicity to the cells at 0.20 mg/mL. However, the increased amount of nicotinic acid increased the cytotoxicity to the cells.

The effect of nicotinic acid grafted on the polymers to the entrapment of 2 model drugs, ibuprofen and indomethacin, was studied. It was found that incorporation of the drugs increased the size of the nanoparticles, and drug loaded in nicotinic acid grafted nanoparticles was higher than ungrafted nanoparticles. However, the drug loading efficiency increased insignificantly when the amount of nicotinic acid on the polymer increased. Moreover, drug loading efficiency depended on the solubility of the loaded drug which could affect the partition between the nanoparticles and water phase during drug incorporation. The release of ibuprofen and indomethacin from the nicotinic acid grafted nanoparticles was found to follow Higuchi model indicating that the release was Fickian diffusion. The release of ibuprofen from the nanoparticles was lower and slower than that of indomethacin due to the interaction between indomethacin and the polymer. In conclusion, the grafting nicotinic acid on the polymer affected both amount and rate of drug release from the nanoparticles due to the influence of nicotinic acid to the physicochemical properties of the nanoparticles including the particle size, %drug loading, crystallinity of the polymer and interaction between the drug molecule and the polymer.

Keywords: polyester, polycaprolactone, nanoparticles, click reaction, nicotinic acid