

รหัสโครงการ SUT1-102-53-24-03



รายงานการวิจัย

การจำลองโมเลกุลและการเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์เพื่อใช้เป็น
ระบบนำส่งยา

(Molecular Simulation and Preparation of Block Copolymer Micelle
for Drug Delivery Application)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การจำลองโมเลกุลและการเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์เพื่อใช้เป็น
ระบบนำส่งยา
(Molecular Simulation and Preparation of Block Copolymer Micelle
for Drug Delivery Application)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิสิทธิ์ แวสูงเนิน

สาขาวิชาเคมี

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2550

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ตุลาคม 2556

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้การช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ในการทำวิจัยนี้ และ Laboratory of Macromolecular Assemblies, Department of Macromolecular Science, Osaka University, Japan ที่อนุเคราะห์สถานที่และให้ความช่วยเหลือแนะนำการทดลองในส่วนการสังเคราะห์และการวิเคราะห์โคพอลิเมอร์ไมเซลล์ ด้วยเทคนิค Light Scattering และ Fluorescence Spectroscopy งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2553-2554



บทคัดย่อ

ได้สังเคราะห์และวิเคราะห์ พอลิแลคไทด์-พอลิเอธิลีนไกลคอล-พอลิแลคไทด์ (PLA-PEG-PLA) ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ในการใช้เป็นสารละลายไมเซลล์โดยมีเป้าหมายเพื่อประยุกต์เป็นระบบนำส่งและควบคุมการปล่อยยา งานวิจัยนี้เริ่มจากใช้เทคนิคการจำลองเชิงโมเลกุลเพื่อออกแบบโครงสร้าง PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ที่เหมาะสมในการเกิดไมเซลล์และการจับกับยา โดยพิจารณาจากมีการเอ็ตราส่วนมอนอเมอร์ LA/EG ก่อนทำการสังเคราะห์จริง โดยใช้การจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ระดับ Mescale ได้แก่ เทคนิค MesoDyn เพื่อทำนายแผนภาพเฟสของสารละลายโคพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ และเทคนิค Dissipative Particle Dynamic (DPD) เพื่อศึกษาพฤติกรรมเฟส ค่า critical micelle concentration (cmc) และอัตราเร็วในการเกิดไมเซลล์ จากนั้นจึงเป็นการสังเคราะห์และวิเคราะห์สมบัติของ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์รวมทั้งลักษณะการเกิดไมเซลล์ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy และ Light Scattering ผลการทดลองที่ได้พบว่าค่อนข้างสอดคล้องกับผลการทำนายจากเทคนิคการจำลองโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์ คือ จะมีเพียงบางค่าของอัตราส่วน LA/EG ที่เหมาะสมเท่านั้นที่สามารถเตรียมให้เกิดไมเซลล์ที่มีรูปร่างทรงกลมตามต้องการได้ และบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีอัตราส่วน LA/EG ที่สูงขึ้นจะสามารถจับโมเลกุลยาได้ในปริมาณที่มากกว่า



Abstract

The synthesis and characterization of poly lactide - poly ethylene glycol - poly lactide triblock (PLA-PEG-PLA) copolymer in micellar solution was performed with an aim to apply this copolymer as a target for controlled-release drug delivery systems . This research started from molecular modeling techniques to design the suitable molecular structure of PLA-PEG-PLA triblock copolymers , which can form micelle in solution and encapsulate drugs by considering the LA/EG ratio prior to actual synthesis . By using mesoscale simulation techniques, MesoDyn was employed to predict the phase diagram of the copolymers solution at various concentrations and Dissipative Particle Dynamic (DPD) simulation was used to study the critical micelle concentration (cmc) and the rate of micelle formation. Then synthesis and characterization of PLA-PEG-PLA were performed by experiments , including the nature of micelle and cmc by fluorescence spectroscopy and light scattering. Experimental results were found to be quite consistent with the prediction from computational molecular modeling such that only certain values of the LA/ EG ratio were appropriated to prepare the micelle with spherical shape and block copolymers with higher LA/EG ratio can encapsulate larger quantities of drug.



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย.....	4
1.5 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์.....	4
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย.....	5
2.2 PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์.....	7
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน ผลและการอภิปรายผลการวิจัย	
3.1 การจำลองเชิงโมเลกุลของไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์.....	17
3.1.1 วิธีการดำเนินงาน.....	17
3.1.2 ผลและการอภิปรายผลการวิจัย.....	21
3.1.3 สรุปผลการวิจัย.....	26
3.2 การเตรียมไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์.....	27
3.2.1 วิธีการดำเนินงาน.....	27
3.2.2 ผลและการอภิปรายผลการวิจัย.....	29
3.2.3 สรุปผลการวิจัย.....	34
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย.....	35
บรรณานุกรม.....	36
ประวัติผู้วิจัย.....	39

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 แสดงการออกแบบสายโซ่แบบเกาส์เซียนของ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์.....	21
ตารางที่ 3.2 แสดงตัวแปรที่ใช้ในการจำลองเชิงโมเลกุลแบบ DPD.....	21
ตารางที่ 3.3 แสดงตัวแปรที่ใช้ในการจำลองเชิงโมเลกุลแบบมีโซคายน.....	21
ตารางที่ 3.4 แสดงเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ต่อขนาดของ ไมเซลล์ในรูปของ end to end distance จากการจำลองด้วยเทคนิค DPD...	24
ตารางที่ 3.5 แสดงเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของยาต่อขนาดของไมเซลล์ จากการจำลองด้วยเทคนิค DPD.....	26
ตารางที่ 3.6 สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ PLA-PEO-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ โดย พอลิเมอร์เซชันแบบเปิดวงที่มี Stannous octanoate เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา....	27
ตารางที่ 3.7 แสดงการคำนวณสัดส่วนของพอลิเมอร์องค์ประกอบ และน้ำหนักโมเลกุล ของบล็อกโคพอลิเมอร์สังเคราะห์.....	30
ตารางที่ 3.8 แสดงผลการวิเคราะห์ด้วย Light scattering ของ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์.....	32
ตารางที่ 3.9 แสดงข้อมูลสรุปที่ได้จากการเตรียมไตรบล็อกโคพอลิเมอร์.....	34

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1.1 แสดงการเกิด Lactic acid จากวัฏจักรในธรรมชาติ การเกิด Lactide, Polylactide (PLA) และการย่อยสลาย	3
รูปที่ 2.1 แสดงปฏิกิริยาการเตรียม Polylactide จาก Lactide โดยอาศัยปฏิกิริยาการเปิดวงแหวน (Ring opening polymerization).....	9
รูปที่ 3.1 ลักษณะสัณฐานที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของพอลิเมอร์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของ LA ₄ EG ₅ LA ₄ , LA ₈ EG ₅ LA ₈ และ LA ₁₂ EG ₅ LA ₁₂	22
รูปที่ 3.2 แสดง isosurface ของ LA และ EG species ในโมเชลล์ทรงกลมที่เกิดจาก LA ₈ EG ₅ LA ₈ ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร.....	23
รูปที่ 3.3 แสดงภาพจำลองโมเชลล์ทรงกลมจากเทคนิค DPD ของ LA ₈ EG ₅ LA ₈ ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร.....	23
รูปที่ 3.4 เปรียบเทียบขนาดของโมเชลล์ทรงกลมของ LA ₈ EG ₅ LA ₈ และ LA ₁₂ EG ₅ LA ₁₂ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร.....	25
รูปที่ 3.5 แสดงการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโมเชลล์ทรงกลมตามความเข้มข้นของโมเลกุลยาของ LA ₈ EG ₅ LA ₈ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร.....	25
รูปที่ 3.6 แสดง excitation spectra (at emission wavelength 390 nm) ของ pyrene เทียบกับความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ของ TB1, TB2 และ TB3.....	31
รูปที่ 3.7 แสดงการพลอต intensity ratio I_{336}/I_{334} กับลึอกกาติที่ความเข้มข้นบล็อกโคพอลิเมอร์ของ TB2 และ TB3.....	31
รูปที่ 3.8 แสดงการพลอต Hydrodynamic radius (R_H) กับความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ TB2 และ TB3.....	33

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

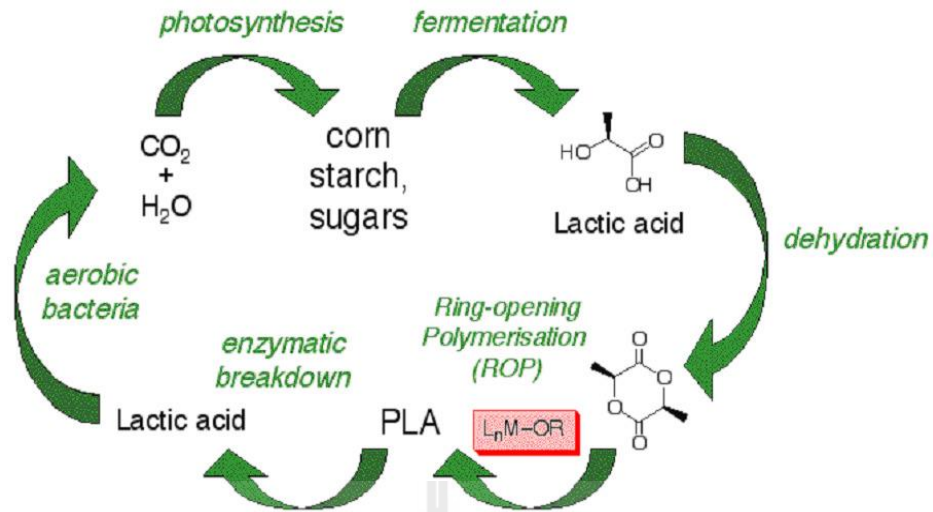
ได้มีการพัฒนาระบบนำส่งยาหรือสารพันธุกรรมที่ไม่อาศัยไวรัสเป็นตัวพา (non-viral delivery system) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดปัญหาที่เกิดขึ้นจากการนำส่งด้วยไวรัส อย่างไรก็ตามระบบนำส่งยาที่พัฒนาขึ้นมา มักมีปัญหาความไม่มีประสิทธิภาพเมื่อนำมาทดสอบในร่างกายเนื่องจากระบบมีความไวต่อเซรัม ปัญหาความไม่คงตัวของสารเชิงซ้อนระหว่างตัวพาและยา/DNA และกลไกในการจับเซลล์และเข้าสู่เซลล์ไม่แน่ชัด โดยทั่วไปการออกแบบระบบควบคุมการปล่อยยามักขึ้นอยู่กับสมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์และสมบัติจลนพลศาสตร์ของยา ระบบที่ใช้ในอดีตมักมีข้อจำกัดที่เกี่ยวข้องกับช่วงเวลาที่ยาอยู่ในกระแสเลือดและการปล่อยยาจากเม็ค จากเหตุผลดังกล่าวได้มีการใช้พอลิเมอร์ในการนำส่งยา โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเพิ่มเสถียรภาพ ความสามารถในการละลาย และสมบัติการขนส่งของโมเลกุลยา ระบบนำส่งยาที่พัฒนาเพื่อช่วยนำส่งยาได้อย่างเฉพาะเจาะจงมีอยู่หลายรูปแบบ ได้แก่ ไลโปโซม ไมโครพาร์ติเคิล นาโนพาร์ติเคิล การเชื่อมพันธะทางเคมีระหว่างพอลิเมอร์-ยา และพอลิเมอร์ไมเซลล์ เป็นต้น ทั้งนี้การเตรียมในรูปแบบต่างๆก็จะได้ลักษณะทางเคมีเชิงฟิสิกส์และสมบัติการปล่อยยาที่แตกต่างกันออกไป ข้อดีของการใช้วัสดุพอลิเมอร์ในระบบควบคุมการปล่อยยา ได้แก่

1. รักษาระดับ therapeutic ของปริมาณยา
2. ลดผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายจากยา
3. ลดปริมาณยาที่ต้องใช้เตรียมในตำรับ
4. ลดช่วงเวลาในการลำเลียงยาภายในร่างกายไปสู่เซลล์เป้าหมาย

พอลิเมอร์ไมเซลล์เป็นตัวพาโมเลกุลยาชนิดหนึ่งที่มีสมบัติที่ดีมากสำหรับยาแบบไม่ชอบน้ำ การใช้พอลิเมอร์ไมเซลล์มีข้อดีหลายประการ เช่น ประสิทธิภาพในการบรรจุยาสูง การนำส่งยาที่เป้าหมายจำเพาะและมีความเป็นพิษต่ำ โดยได้นำมาใช้เป็นตัวนำส่งยาครั้งแรกในปี 1984 เนื่องจากมีศักยภาพในการเป็นระบบพายาที่มีการละลายน้ำไม่ดีและสามารถละลายยาไว้ในส่วนแกนและมีขนาดเล็ก < 200 nm นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มช่วงเวลาที่อยู่ในระบบหมุนเวียนของร่างกายและลดการทำลายจากระบบ mononuclear phagocyte system (MPS) ส่วนประกอบของโคพอลิเมอร์ที่ก่อตัวเป็นไมเซลล์มีส่วนสำคัญต่อสมบัติต่างๆ เช่น ขนาด ความไม่ชอบน้ำของพื้นผิว ความไวต่อความเป็นกรดและคุณสมบัติการติดเยื่อเมือกซึ่งส่งผลต่อการดูดซึมยาจากทางเดินอาหารและส่วนอื่นของร่างกาย งานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางเภสัชกรรมมักมุ่งเน้นพอลิเมอร์ไมเซลล์ที่มีโครงสร้างแบบบล็อก

โดยมีส่วนประกอบที่เป็นแกนไม่ชอบน้ำและเปลือกที่ชอบน้ำ โดยทั่วไปส่วนที่เป็นแกนไม่ชอบน้ำมักเป็นพอลิเมอร์ชนิดที่สลายตัวได้ทางชีวภาพซึ่งสามารถใช้บรรจุยาที่ละลายน้ำได้ไม่ดีหรือไม่ละลายโดยช่วยป้องกันยาจากการสัมผัสกับสิ่งแวดล้อม เช่น poly(β -benzyl-L-aspartate) PBLA, poly(DL-lactic acid) PDLLA หรือ poly(ϵ -caprolactone) PCL เป็นต้น ทั้งนี้ พอลิเมอร์ที่ใช้ต้องไม่เป็นพิษและน้ำหนักโมเลกุลต้องน้อยพอที่ถูกขับออกจากไตได้ การสังเคราะห์ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์โดยเลือกชนิดและอัตราส่วนระหว่างมอนอเมอร์องค์ประกอบที่เหมาะสมจะทำให้ได้ตัวนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพสูงได้ เช่น โคพอลิเมอร์ชนิด amphiphilic เมื่ออยู่ในน้ำจะจับกันระหว่างโมเลกุลเพื่อให้ได้โครงสร้างแบบ core-shell ที่มีบริเวณภายในที่บรรจุยาได้โดยมีตัวอย่างยาในกลุ่มรักษาโรคมะเร็งซึ่งได้ใช้เทคนิคการนำส่งยาโดยใช้ไมเซลล์ที่เกิดขึ้นจากบล็อกโคพอลิเมอร์เพื่อเพิ่มเสถียรภาพและประสิทธิภาพของยา

โครงการวิจัยนี้จะเกี่ยวข้องกับการเตรียมพอลิเมอร์ไมเซลล์ที่สามารถควบคุมการปล่อยยาได้โดยใช้ องค์ประกอบส่วนหนึ่งเป็น Polylactide ซึ่งเป็นพลาสติกชีวภาพที่มีความตื่นตัวมากในประเทศไทยในปัจจุบัน เนื่องจากมอนอเมอร์ Lactic Acid หรือ Lactide เป็นสารอนุพันธ์ที่เกิดจากการย่อยแป้งโดยจุลินทรีย์บางชนิด เช่น แป้งข้าวโพด หรือ แป้งมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภูมิภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วน PEG ซึ่งมีโครงสร้างเป็น HO-(CH₂CH₂O)_n-OH ที่มีความยาวโมเลกุลต่างๆสามารถหาซื้อได้ในราคาไม่สูงมากนักและมีสมบัติการเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต จึงได้นำ PEG มาสังเคราะห์ร่วมกับแลคไทด์เพื่อเป็นแกนกลางของไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ เนื่องจากส่วนของ PEG ชอบน้ำแต่ PLA ไม่ชอบน้ำ ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ที่ได้จึงจัดตัวอยู่ในรูปของไมเซลล์เมื่ออยู่ในสารละลาย โดยหันส่วนชอบน้ำ PEG เข้าหาสู่เฟสตัวทำละลายและส่วนไม่ชอบน้ำ PLA จะเป็นแกนกลางซึ่งจะเป็นที่อยู่ของโมเลกุลยาที่มีปัญหาการละลาย เมื่อไมเซลล์แพร่ไปสู่เซลล์เป้าหมายก็จะเกิดกระบวนการหลอมตัวกับผนังเซลล์เพื่อปล่อยยาเข้าสู่ภายในเพื่อจับกับโมเลกุลเป้าหมายในการออกฤทธิ์ต่อไป เนื่องจากโครงสร้างไตรบล็อกโคพอลิเมอร์มีทั้งส่วนชอบและไม่ชอบน้ำ ดังนั้น การใช้เทคนิคการจำลองโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์จึงสามารถนำมาช่วยในการออกแบบโมเลกุลพอลิเมอร์ที่เหมาะสมต่อการจับกับโมเลกุลยา เช่น ความยาวของสายโซ่ของ PEG และ PLA อัตราส่วนระหว่าง PEG/PLA ต่อยาเป้าหมาย โดยในโครงการวิจัยนี้จะเลือกใช้เทคนิคการจำลองโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์ชนิดใหม่ คือ MesoDyn และ/หรือ DPD (Dissipative Particle Dynamics) มาเป็นแนวทางการคำนวณเพื่อหาโครงสร้างที่เหมาะสมต่อการจับโมเลกุลยา



รูปที่ 1.1 แสดงการเกิด Lactic acid จากวัฏจักรในธรรมชาติ การเกิด Lactide, Polylactide (PLA) และการย่อยสลาย

1.2 วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1.2.1 เพื่อใช้วิธีทางทฤษฎีและการจำลองโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์ในการศึกษาและออกแบบโครงสร้างโมเลกุล PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ที่เหมาะสมเพื่อให้มีสมบัติควบคุมการปล่อยยา

1.2.2 เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และความสัมพันธ์ระดับโครงสร้างโมเลกุลที่มีผลต่อการจับและการปลดปล่อยยาของไมเซลล์ที่เกิดจาก PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์

1.2.3 เพื่อพัฒนาวัสดุพอลิเมอร์ไมเซลล์ต้นแบบที่มีสมบัติการควบคุมการปล่อยยาบางชนิดได้พอลิเมอร์

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 การทำนายโดยการจำลองโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์เพื่อศึกษาโครงสร้างและสมบัติของโมเลกุล PLA-PEG-PLA บล็อกโคพอลิเมอร์ ตามอัตราส่วน PLA/PEG และความเข้มข้นของพอลิเมอร์

1.3.2 การทำนายการจับกันระหว่างโมเลกุลยาและ PLA-PEG-PLA ไมเซลล์โดยการจำลองแบบโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์

1.3.3 การสังเคราะห์ PLA-PEG-PLA บล็อกโคพอลิเมอร์ ที่อัตราส่วน PLA/PEG และน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ

1.3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติของ PLA-PEG-PLA บล็อกโคพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ใน การเกิดไมเซลล์ในสารละลายและการทดสอบการจับและการปลดปล่อยระหว่างยา/พอลิเมอร์ไม เซลล์

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1.4.1 แก้ปัญหาในการดำเนินงานของหน่วยงานที่ทำการวิจัย

- มีการผลิตนักวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของพอลิเมอร์ การ จำลองแบบโมเลกุลวัสดุพอลิเมอร์ด้วยคอมพิวเตอร์ Polymer Drug Delivery

1.4.2 เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

มีผลงานวิจัยตีพิมพ์

1.4.3 อื่น ๆ

- ประยุกต์วิธีทางทฤษฎีและการจำลองแบบโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์มาใช้ ศึกษาโคพอลิเมอร์ระดับโมเลกุลเพื่อลดค่าใช้จ่ายและเวลาในขั้นตอนการ ทดลอง
- ได้วัสดุพอลิเมอร์ไมเซลล์ต้นแบบที่มีสมบัติการควบคุมการปล่อยยาบางชนิด

1.5 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1.5.1 สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ ทางด้าน Bioplastics จาก Polylactide

1.5.2 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ ทางด้าน Nanoencapsulation

1.5.3 ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ ทางด้าน Large Scale Simulation

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย (Conceptual Framework)

บล็อกโคพอลิเมอร์ได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาทั้งในส่วนของวงการวิชาการวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์และในการประยุกต์เนื่องจากนักวิทยาศาสตร์สามารถออกแบบและสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์สำหรับการประยุกต์เป็นการจำเพาะได้ในหลายลักษณะความสามารถของไมเซลล์ที่เกิดขึ้นจากบล็อกโคพอลิเมอร์จะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มสมบัติการละลายของยาจากการเกิดอันตรกิริยากับส่วนที่ไม่ชอบน้ำในโมเลกุลบล็อกโคพอลิเมอร์ทั้งแบบที่เป็นอันตรกิริยาทางกายภาพ พันธะเคมีและแรงทางไฟฟ้า ขึ้นอยู่กับโครงสร้างและสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของโมเลกุล นอกจากการเพิ่มความสามารถในการละลายแล้ว การใช้บล็อกโคพอลิเมอร์เป็นตัวนำส่งยา ยังมีข้อดีในแง่ของการช่วยมีการนำส่งยาที่บริเวณจำเพาะของเนื้อเยื่อในร่างกาย นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มช่วงเวลาการคงตัวของยาในกระแสโลหิตซึ่งมีผลต่อการออกฤทธิ์ของยาในการรักษาอีกด้วย โดยทั่วไปพอลิเมอร์ไมเซลล์จะมีขนาดใหญ่พอ (> 50 kDa) เพื่อหลีกเลี่ยงขบวนการจับถ่ายในร่างกาย และเล็กพอ (< 200 nm) ที่จะเกิดการแพร่ผ่านผนังเซลล์ที่ต้องการ ดังนั้นความคงตัวของยาจะขึ้นอยู่กับเสถียรภาพของของไมเซลล์และอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลยาและพอลิเมอร์ ซึ่งได้มีงานวิจัยเพื่อที่จะเพิ่มเสถียรภาพเชิงกายภาพของตัวนำส่งยาไม่ให้เกิดการแตกตัวในกระแสโลหิตและปรับสมบัติทางเคมีเพื่อให้จับกับโมเลกุลยาให้ดีขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งยาในกลุ่มไม่ชอบน้ำซึ่งระบบนำส่งยาดังกล่าวจะมีสมบัติการปล่อยยาในลักษณะที่ควบคุมในช่วงเวลาที่นานได้ ซึ่งข้อกำหนดชนิดของพอลิเมอร์ที่สำคัญในที่นี้คือต้องสามารถเข้ากันได้ในเชิงชีวภาพในร่างกาย พอลิเมอร์สองชนิดที่น่าสนใจซึ่งมีสมบัติข้างต้นในที่นี้คือพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่เกิดจาก poly (lactide) (PLA) และ poly (ethylene glycol) (PEG) โดย PLA นั้นได้มีการนำไปใช้ในเทคโนโลยีการนำส่งยามาเป็นเวลานานแล้ว ซึ่งมีจุดเด่นคือสามารถสลายตัวทางชีวภาพได้และไม่มีผลข้างเคียงต่อระบบโลหิตและเนื้อเยื่อในร่างกาย สำหรับ PEO นั้นจะมีข้อดีคือมีสมบัติที่ชอบน้ำ เป็นสารมีขั้วและเข้ากันได้เชิงชีวภาพซึ่งมีการนำมาใช้ทางชีวการแพทย์ด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการช่วยเพิ่มความเสถียรของวัสดุที่ต้องมีหน้าสัมผัสกับเลือด ดังนั้น การสังเคราะห์โคพอลิเมอร์ระหว่าง PEO/PLA จึงมีความสำคัญและน่าสนใจเนื่องจากสามารถปรับสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของโมเลกุลโคพอลิเมอร์ได้โดยการปรับความยาวของสายโซ่และอัตราส่วนระหว่างมอนอเมอร์ทั้งสองในการจับกับโมเลกุลยาเป้าหมายและเพิ่มความสามารถในการนำส่งยาในร่างกาย

เนื่องจากการสังเคราะห์พอลิเมอร์ให้มีสมบัติจำเพาะในการประยุกต์สำหรับระบบการควบคุมการปล่อยยาเป็นขั้นตอนที่ใช้เวลาและการลงทุนที่สูง จึงได้มีนักวิทยาศาสตร์พยายามใช้

เทคนิคการจำลองโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์ในขั้นตอนการออกแบบโครงสร้างโมเลกุลที่เหมาะสม การศึกษาวัสดุพอลิเมอร์โดยวิธีการจำลองแบบโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์ได้พัฒนามาเป็นลำดับในช่วงเวลาไม่กี่สิบปีที่ผ่านมาในต่างประเทศ วิธีดังกล่าวจัดเป็นเทคโนโลยีขั้นสูงที่จะมีความสำคัญอย่างมากในอนาคตสำหรับการออกแบบวัสดุพอลิเมอร์ชนิดใหม่ให้มีสมบัติต่างๆตามต้องการก่อนที่จะมีการสังเคราะห์ขึ้นภายหลัง หรือเรียกว่า Computer-Aided Material Design (CAMD) ซึ่งจะเป็นการลดค่าใช้จ่ายและเวลาที่ใช้ในขั้นตอนการทดลองได้เป็นอย่างมาก ตัวอย่างเช่น การจัดให้งานวิจัยแขนงนี้เป็นแผนงานวิจัยเชิงยุทธศาสตร์ในอนาคตของประเทศสหรัฐอเมริกา หรือ ญี่ปุ่น ทางสาขาวัสดุศาสตร์และทางหน่วยงานของรัฐได้ให้การสนับสนุนงบประมาณการวิจัยที่สูงมาก สำหรับภาคเอกชน โดยเฉพาะบริษัทขนาดใหญ่ที่ดำเนินธุรกิจที่เกี่ยวข้องกับวัสดุพอลิเมอร์ในต่างประเทศก็ได้เริ่มมีความตื่นตัวในการรับเทคโนโลยีดังกล่าวเพื่อใช้ในแผนงานวิจัยและพัฒนาในการสร้างและศึกษาวัสดุพอลิเมอร์ใหม่ๆเพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขัน

การศึกษาสมบัติวัสดุพอลิเมอร์ที่โครงสร้างระดับนาโนเมตรนั้นมีความน่าสนใจทั้งในเชิงวิชาการขั้นสูงและการประยุกต์ใช้งานจริง ความเข้าใจของปัญหานี้จะมีความสำคัญต่อเทคโนโลยีหลายประเภท ในอดีตที่ผ่านมาได้มีการใช้ทฤษฎีทางฟิสิกส์เพื่อศึกษาระบบพอลิเมอร์ แต่การวิจัยโดยวิธีทฤษฎีมักมีข้อจำกัดให้ผลการทำนายเพียงสมบัติต่างๆของระบบในเชิงคุณภาพเท่านั้น คำตอบที่ได้จากการศึกษาโดยวิธีทฤษฎีจึงเป็นความเข้าใจคร่าวๆและไม่สามารถบอกข้อแตกต่างในรายละเอียดทางเคมีของวัสดุพอลิเมอร์แต่ละชนิด นอกจากนี้การทดลองเพื่อศึกษาสมบัติเชิงพื้นผิววัสดุพอลิเมอร์กลุ่มนี้ในปัจจุบันยังมีความซับซ้อนและเสียค่าใช้จ่ายสูงซึ่งไม่อาจดำเนินการได้โดยสะดวกที่ประเทศไทย โดยเหตุผลเหล่านี้ทำให้ความเข้าใจของความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและสมบัติของวัสดุพอลิเมอร์ยังไม่ดีพอในปัจจุบัน การศึกษาโดยเทคนิคการจำลองแบบโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเพื่อเสริมหรือทดแทนการศึกษาโดยวิธีทฤษฎีและการทดลองเพื่อสร้างความเข้าใจโครงสร้างจุลภาคและสมบัติของวัสดุพอลิเมอร์

ทฤษฎีของการจำลองโมเลกุลเทคนิค Mesoscale Simulation เช่น แนวคิดพื้นฐานของ MesoDyn ก็คือ ทฤษฎี Density Functional Theory ที่ใช้กับระบบอนุภาคโดยกำหนดให้ free energy (F) ในระบบที่มีมากกว่า 1 เฟสเป็นฟังก์ชันของความหนาแน่นซึ่งจะทำให้สามารถคำนวณหาฟังก์ชันเทอร์โมไดนามิกส์อื่นๆได้ แบบจำลองที่ใช้ใน MesoDyn จะเป็นหน่วยอนุภาคที่มีแรงกระทำต่อกัน โดยใช้แบบจำลองสายโซ่แก๊สเฉียนที่มีฟังก์ชันศักย์ในการยึด-หดรระหว่างหน่วยเป็นแบบฮาร์โมนิกส์และอันตรกิริยากับหน่วยอื่นๆในระบบจะใช้เป็นค่าสนามเฉลี่ย แต่ละหน่วยที่กำหนดจะแทนหมู่เคมีหรือหมู่ออนอเมอร์จำนวนหนึ่งซึ่งจะมีวิธีการเทียบเคียงขึ้นอยู่กับความแข็งของสายโซ่ พลวัตของโมเลกุลจะถูกกำหนดโดยสมการฟังก์ชันนอล Langevin ซึ่งก็คือรูปแบบหนึ่งของสมการการแพร่ นั่นเองโดยเพิ่มส่วนของแรงสุ่มเข้าไป โดยในโครงการวิจัยนี้จะใช้เทคนิค MesoDyn หรือ คล้ายคลึง

กับ DFT จากโปรแกรม Material Studio จากความร่วมมือกับศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติผ่าน Computational Nanoscience Consortium และ โมดูล SUSHI ในชุดโปรแกรม OCTA จากความร่วมมือกับกลุ่มนักวิจัยญี่ปุ่น (เคยจัด OCTA workshop ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปี 2550 โดยเชิญผู้เชี่ยวชาญจาก Kyoto University ซึ่งในปัจจุบันมี MOU ระหว่างกันแล้ว)

2.2 PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์

การพัฒนาวัสดุพอลิเมอร์ที่มีอยู่แล้วมาปรับให้มีการใช้ประโยชน์มากขึ้นนั้นมีความแนวทางที่แตกต่างกันหลายประการแต่อาจแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ได้แก่ การนำมาผสมกันทางกายภาพ (blends) หรือ การปรับสมบัติโดยการเกิดพันธะเคมี (chemical modification) ได้มีแนวคิดการใช้วัสดุจำพวกพอลิเมอร์มาประยุกต์ทางเภสัชกรรมมาบ้างแล้ว ตัวอย่างเช่น การนำวัสดุพอลิเมอร์บางชนิด ได้แก่ Polyethylene glycol, Polyvinyl alcohol, Polyvinyl pyrrolidone, Chitosan ฯลฯ มาใช้เป็นสารช่วยกระจายยา ดังเห็นได้จากงานวิจัยที่ตีพิมพ์ทางสาขาเภสัชเคมีเป็นจำนวนมาก วัสดุพอลิเมอร์ที่ใช้ทางเภสัชกรรมอาจเตรียมได้หลายรูปแบบ เช่น ฟิล์มบาง เส้นใย อนุภาคทรงกลมขนาดเล็ก (ไมโครสเฟียร์หรือนาโนพาร์ติเคิล) ไมเซลล์ เป็นต้น ทั้งนี้การเตรียมในรูปแบบต่างๆก็จะได้ลักษณะทางเคมีเชิงฟิสิกส์และสมบัติการปล่อยยาที่แตกต่างกันออกไป ข้อดีของการใช้วัสดุพอลิเมอร์ในระบบควบคุมการปล่อยยา ได้แก่

1. รักษาระดับ therapeutic ของปริมาณยา
2. ลดผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายจากยา
3. ลดปริมาณยาที่ต้องใช้เตรียมในตำรับ
4. ลดช่วงเวลาในการลำเลียงยาภายในร่างกายไปสู่เซลล์เป้าหมาย

โดยทั่วไปการออกแบบระบบควบคุมการปล่อยยามักขึ้นอยู่กับสมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์และสมบัติจลนพลศาสตร์ของยา ระบบที่ใช้ในอดีตมักมีข้อจำกัดที่เกี่ยวข้องกับช่วงเวลาที่ยาอยู่ในกระแสเลือดและการปล่อยยาจากเม็ด ซึ่งระบบที่ใช้ในการนำส่งมีข้อจำกัดอื่นๆ เช่น ความเข้ากันได้ของระบบกับเนื้อเยื่อในร่างกาย ความเป็นพิษต่อเซลล์ และการกำจัดออกจากร่างกายเมื่อผ่านการใช้งานแล้ว เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวการพัฒนาาระบบนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพจึงเป็นที่นิยมศึกษากันอย่างแพร่หลาย วิธีการหนึ่งที่สามารถแก้ปัญหาได้คือ การพัฒนาาระบบนำส่งยาโดยใช้ตัวกลางที่พัฒนาจากพอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางธรรมชาติที่มีขนาดเล็ก เช่น พอลิเมอร์ไมเซลล์ซึ่งเป็นวัสดุตัวพาที่สามารถเตรียมให้มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรซึ่งเป็นขนาดที่เล็กกว่าจะถูกกำจัดออกจากร่างกายทำให้ตัวยาสสามารถไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดได้นาน ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการรักษาเพิ่มมากขึ้น พอลิเมอร์ที่เป็นที่นิยมศึกษากันในปัจจุบันได้แก่ บล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีทั้งส่วนที่ชอบและไม่ชอบน้ำอยู่ใน

โครงสร้างเดียวกัน โดยพอลิเมอร์ดังกล่าวจะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดพอลิเมอร์ไมเซลล์ได้ด้วยตัวมันเอง (Self-assembly) เมื่อละลายลงไปในตัวกลางที่เหมาะสมและมีความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์ yet(Critical micelle concentration : cmc) พอลิเมอร์ไมเซลล์ที่เกิดขึ้นประกอบด้วยส่วนแกนกลางที่เกิดจากการรวมตัวกันของส่วนที่ไม่ชอบน้ำและถูกห้อมล้อมด้วยส่วนที่ชอบน้ำที่ช่วยทำให้โครงสร้างมีความเสถียร โดยการรักษาไมเซลล์และป้องกันส่วนแกนกลางไม่ให้ถูกทำลายได้โดยง่าย นั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้รูปแบบตัวพาดังกล่าวเหมาะที่จะนำมาใช้ในการนำส่งยาที่ไม่ชอบน้ำโดยการไหลคโมเลกุลละลายไปในส่วนแกนกลางของไมเซลล์ และเมื่อไปถึงเซลล์เป้าหมายด้วยยาสามารถปลดปล่อยออกมาผ่านการย่อยสลายของส่วนแกนกลาง และเมื่อด้วยยาถูกปลดปล่อยหมดแล้ววัสดุพอลิเมอร์ต้องสามารถกำจัดออกไปจากร่างกายได้โดยง่ายและปลอดภัย ดังนั้นวัสดุตัวพาดังกล่าวจะต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถสลายตัวได้ทางชีวภาพ หรือสามารถสลายตัวได้ภายในร่างกายมนุษย์ โดยกระบวนการย่อยสลายผ่านกระบวนการต่างๆ ที่สำคัญได้แก่ กระบวนการสลายตัวโดยการไฮโดรไลซิส โดยใช้เอนไซม์หรือโดยแบคทีเรีย ซึ่งผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายต้องไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายด้วย

ปัจจุบันงานวิจัยด้านวัสดุนำส่งยาในรูปแบบพอลิเมอร์ไมเซลล์นี้จำเป็นต้องมีสมบัติสำคัญๆ 2 ประการ ได้แก่

- มีสมบัติความไม่ชอบน้ำของโครงสร้าง (Hydrophobic) ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้โครงสร้างของวัสดุไม่เปียกน้ำ ไม่ดูดซึมน้ำ และไม่เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ง่ายๆ
- มีสมบัติความชอบน้ำ (Hydrophilic) ซึ่งจะเป็นส่วนที่สามารถเปียกน้ำ ดูดซึมน้ำ รวมถึงการกระจายตัวอยู่ในน้ำได้ ทำให้สามารถเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสได้

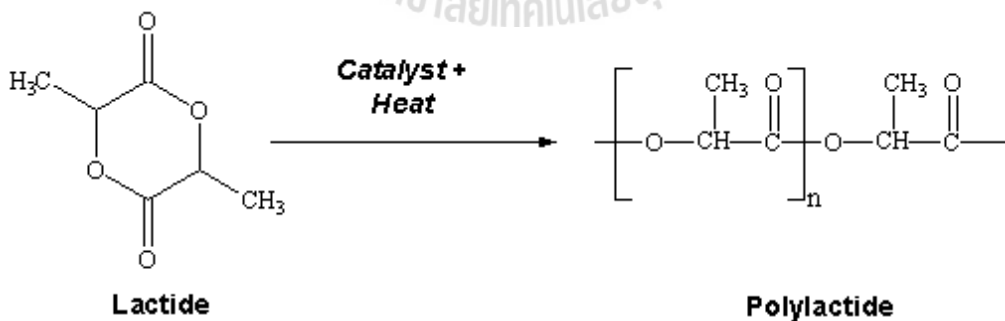
ดังนั้นสำหรับวัสดุนำส่งยาประเภทนี้จะสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้โดยการจับโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำไว้ในส่วนไม่ชอบน้ำของโครงสร้าง เมื่อนำส่งไปถึงเซลล์เป้าหมายจะปลดปล่อยตัวย่อออกมาได้โดยเริ่มเกิดการไฮโดรไลซิสจากภายนอกคือส่วนที่ชอบน้ำเข้าไปภายในซึ่งเป็นส่วนไม่ชอบน้ำและกักเก็บโมเลกุลยา

วัสดุพอลิเมอร์ที่ได้รับความสนใจและมีการศึกษากันมากเพื่อนำมาเตรียมพอลิเมอร์ไมเซลล์คือไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างเป็น PLA-PEG-PLA เมื่อ PLA = polylactide และ PEG = polyethylene glycol เนื่องจากมีพอลิเมอร์องค์ประกอบที่มีคุณสมบัติเฉพาะตัวที่น่าสนใจ กล่าวคือ PLA ถือเป็นพอลิเมอร์ย่อยสลายทางธรรมชาติที่เตรียมได้จากกระบวนการหมักวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น มันสำปะหลัง ข้าวโพด ชานอ้อย เป็นต้น โดยมอนอเมอร์เริ่มต้นที่ได้คือ lactide ซึ่งเมื่อนำมาผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยการเปิดวงโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาและสภาวะที่เหมาะสมจะได้เป็นพอลิเมอร์สายโซ่ที่ยาวขึ้นคือ PLA โดยความยาวสายโซ่สามารถควบคุมได้โดยปริมาณตัวเร่งต่อมอนอเมอร์ ระยะเวลาการสังเคราะห์ โดย PLA นี้เป็นพอลิเมอร์ในกลุ่มที่สามารถสลายตัวได้ทาง

ชีวภาพที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เป็นพอลิเมอร์ในกลุ่มอะลิฟาติกพอลิเอสเทอร์ (Aliphatic polyester) ด้วยความที่เป็นพอลิเมอร์ที่มีหมู่เอสเทอร์อยู่ในโครงสร้างจึงสามารถสลายตัวได้ง่ายโดยผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสโดยน้ำในร่างกาย และได้ผลผลิตที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกายคือ คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ในขณะที่ PEG ซึ่งคือ PEO ที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่เกิน 20,000 เป็นพอลิเมอร์ที่นำมาใช้ประโยชน์หลากหลาย เช่น PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 600 นำมาใช้ด้านเครื่องสำอาง เกษษ และสารหล่อลื่น เป็นต้น โดย PEG เป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ดี มีสมบัติสลายตัวได้ทางชีวภาพ และยังช่วยทำให้โครงสร้างพอลิเมอร์เสถียรมากขึ้นเมื่ออยู่ในตัวกลางเช่นน้ำ

PLA-PEG-PLA ที่นิยมศึกษาในด้านวัสดุนำส่งยาในรูปแบบพอลิเมอร์ไมเซลล์นี้จะเน้นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างโมเลกุลต่อความสามารถในการจับโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำ ตัวแปรหลักที่สนใจในที่นี้ ได้แก่ อัตราส่วนระหว่าง LA/EG และความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ นอกจากนี้จะมีการนำเทคนิคการจำลองแบบโมเลกุลในระดับมิโซสเกลเพื่อใช้ในการทำนายลักษณะสัณฐานเพื่อเป็นการทำนายผลการทดลองด้วย เช่น การเกิดเป็นไมเซลล์โครงสร้างคล้ายดอกไม้ โดยจะทำให้ส่วนปลายของโซ่ที่มีลักษณะไม่ชอบน้ำจับกลุ่มกันแน่นเป็นแกนกลางและล้อมด้วยส่วนรัศมีที่ขวม เมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้นจะทำให้ส่วนที่ไม่ชอบน้ำในแต่ละโมเลกุลมาจับกันทำให้ได้โครงสร้างคล้ายตาข่ายหรือเกาะกลุ่มขนาดใหญ่ขึ้นอยู่กับว่ามีอัตราส่วนระหว่าง LA/EG และความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์มากน้อยเพียงใด

ในการสังเคราะห์ PLA-PEG-PLA จะมีพื้นฐานมาจากปฏิกิริยาการเตรียม Polylactide จาก การเปิดวง Lactide โดยอาศัยขั้นการเปิดวงแหวนของมอนอเมอร์ในระบบที่แห้งสนิท ปราศจากน้ำ และความชื้นใดๆ ที่อุณหภูมิประมาณ 100-150 องศาเซลเซียส ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสม



รูปที่ 2.1 แสดงปฏิกิริยาการเตรียม Polylactide จาก Lactide โดยอาศัยปฏิกิริยาการเปิดวงแหวน (Ring opening polymerization)

ส่วนการสังเคราะห์ PLA-PEG-PLA ที่มีความยาวสายโซ่ต่าง ๆ กันสามารถเตรียมได้โดยใช้สารตั้งต้นเดียวกันเพียงแต่มีการเติม Polyethylene Glycol (PEG) หรือ $\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-H}$ ที่มีความยาวของสายโซ่ต่าง ๆ และมีหมู่ปลายเป็นหมู่ Hydroxy ทั้ง 2 ด้าน ซึ่งการเตรียม PLA-PEG-PLA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่าง ๆ สามารถเตรียมได้โดยใช้ PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลตามต้องการที่มีส่วนปลายสายโซ่ทั้ง 2 ด้าน เป็น Hydroxy จากนั้นจะอาศัยตัวเร่งเพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาการเปิดวงของ Lactide แล้วเติมเข้าไปที่ส่วนปลายของ PEG ให้ได้ขนาดความยาวสายโซ่ของ PLA ตามต้องการ โดยตัวเร่งปฏิกิริยาที่นำมาใช้ในการสังเคราะห์มีหลากหลายแบบ ไม่ว่าจะเป็นสารประกอบของดีบุก สารประกอบของสังกะสี calcium hydride และ acetic acid bismuth แต่อย่างไรก็ตามตัวเร่งปฏิกิริยาที่นิยมใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ คือ Stannous (II) 2-ethyl hexanoate เนื่องจากเป็นตัวเร่งที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อปฏิกิริยาสูง และให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่สูงกว่าตัวเร่งอื่นๆ

ได้มีการสังเคราะห์ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ มาบ้างในงานวิจัยที่ผ่านมา เช่น โดยนักวิจัยจาก University of Massachusetts at Amherst (Prof. Gregory Tew) และ Nanyang Technological University สิงคโปร์ (Prof. Subbu Venkatraman) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและสมบัติในการก่อเจลตามน้ำหนักโมเลกุลของสายโซ่ ได้ทดสอบการจับและการปลดปล่อยโมเลกุลยาโดยพบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมากต่อปริมาณ PLA ซึ่งเป็นส่วนไม่ชอบน้ำและเนื่องจาก PLA มีโครงสร้างได้ทั้ง D หรือ L ซึ่งจะส่งผลต่อลักษณะการจัดโครงสร้างผลึกของแกนกลางเมื่อเกิดเป็นไมเซลล์และทำให้พฤติกรรมการปลดปล่อยยาและการสลายตัวขึ้นอยู่กับโครงสร้างดังกล่าวอีกด้วยนอกจากความยาวของสายโซ่

ในการศึกษาระบบ PLA-PEG-PLA เพื่อนำไปใช้ในการนำส่งยาในรูปแบบพอลิเมอร์ไมเซลล์ สมบัติเบื้องต้นที่จำเป็นต้องทราบ คือ

- ความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration: cmc) ที่สามารถศึกษาได้หลายวิธี ได้แก่ การวัดค่า surface tension การวัดค่าความขุ่น (turbidity) การวัดการดูดกลืนแสงหรือการคายแสงของโมเลกุลโพรบ เช่น methyl orange ไพริน ซึ่งแต่ละวิธีจะให้ค่า cmc ที่แตกต่างกันเนื่องจากใช้หลักการดูความเข้มข้นที่เกิดไมเซลล์ที่ต่างกัน เช่น การคายแสงของโมเลกุลไพรีนด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ ที่อาศัยหลักการว่าค่าความเข้มแสงจากไพรีนที่คายออกมาจะแตกต่างกันเมื่อโมเลกุลไพรีนอยู่ในตัวกลางที่มีความเป็นขั้วที่ต่างกัน

- อุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์ (critical micelle temperature: cmt)
- ขนาดและรูปร่างของพอลิเมอร์ไมเซลล์ ศึกษาโดยใช้เทคนิค light scattering, cryo-transmission electron microscopy (Cryo-TEM), emission scanning electron microscopy (SEM), field emission scanning electron microscope (FESEM)

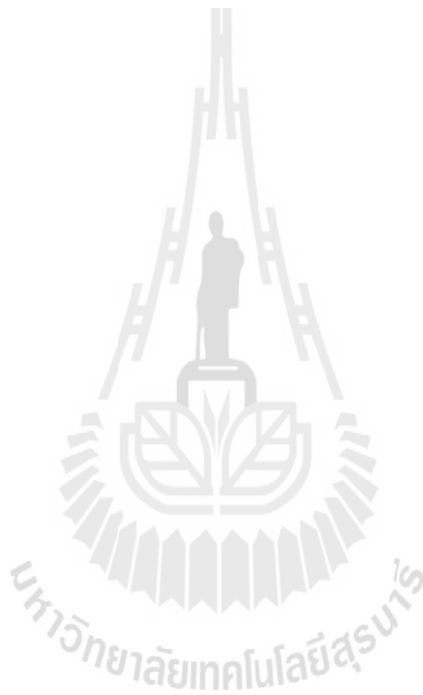
- ความสามารถในการจับและปลดปล่อยโมเลกุลยา fluorescence, UV-visible spectrometry

ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาเบื้องต้นของ PLA-PEG-PLA มาบ้างแล้ว แต่งานในอดีตที่ผ่านมายังมีเฉพาะภาคการทดลองโดยยังต้องใช้เวลาค่อนข้างมากในการสังเคราะห์และการวิเคราะห์ PLA-PEG-PLA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆกันเพื่อหาคุณสมบัติตามต้องการ โครงการวิจัยนี้จึงเสนอขึ้นมาเพื่อประยุกต์เทคนิคการจำลองโมเลกุลด้วยคอมพิวเตอร์ในการออกแบบโครงสร้างโมเลกุลที่เหมาะสมในการเกิดเป็นไมเซลล์โดยจะทำนาย Critical Micelle Concentration (cmc) เพื่อให้ได้โครงสร้างไมเซลล์ที่เหมาะสมต่อการจับโมเลกุลยาที่สนใจ

นอกจากนี้ยังมีความสนใจในการประยุกต์วิธีทางทฤษฎีและการจำลองโมเลกุลที่ได้พัฒนาขึ้นใหม่ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา คือ เทคนิคมีโซไดนามิกส์ (MesoDyn) เพื่อทำนายเฟสและลักษณะพื้นฐานของบล็อกโคพอลิเมอร์ในสารละลายโดยใช้เพียงตัวแปรทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับระดับโมเลกุล โดย ซึ่งเทคนิคการคำนวณดังกล่าวจะเกี่ยวข้องกับการแก้สมการของทฤษฎีฟังก์ชันนอลความหนาแน่น (Density functional theory) ด้วยเทคนิคสนามเฉลี่ยแบบพลวัต (dynamic mean field) โดยการแพร่ของพอลิเมอร์และพลวัตของการแยกเฟสจะกำหนดโดยสมการ Langevin รวมถึงเทคนิค Dissipative particle dynamics (DPD) ที่ใช้หลักการเคลื่อนที่ของนิวตันมาใช้ในการเคลื่อนที่ของกลุ่มอนุภาคเพื่อใช้คุณสมบัติหยาบๆ ของระบบ ข้อดีของการใช้ระเบียบวิธีเหล่านี้ซึ่งเป็นเทคนิคในกลุ่มมีโซสเกลคือไม่จำเป็นต้องสมมุติลักษณะของเฟสขึ้นมาก่อนทำการคำนวณเหมือนเทคนิคอื่นๆ นอกจากนี้ยังสามารถติดตามพลศาสตร์ของการเปลี่ยนเฟสซึ่งทำได้ยากโดยวิธีทดลองอีกด้วย ขั้นตอนการดำเนินการในส่วนของการจำลองโมเลกุลจะเริ่มจากการสร้างแบบจำลองหยาบของบล็อกโคพอลิเมอร์โดยเทียบเคียงขนาดความยาวของโซ่โมเลกุลกับแฟกเตอร์โครงสร้างของพอลิเมอร์ระดับอะตอมและอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลกับข้อมูลการทดลอง เช่น ความดันไอ เป็นต้น หากสามารถสร้างชุดตัวแปรได้เหมาะสมแล้วก็จะสามารถทำนายลักษณะของเฟสที่เสถียรและพลวัตในการเกิดเฟสใหม่ได้ตามทฤษฎีข้างต้น จากงานวิจัยที่ผ่านมามีการใช้เทคนิคมีโซไดนามิกส์ศึกษาพลวัตของการแยกเฟส และลักษณะทางพื้นฐานของไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ในน้ำและตัวทำละลายอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็น Pluronic® ซึ่งเป็นไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ของ PEG และ PPO (poly propylene oxide) นอกจากนี้ยังมีระบบโคพอลิเมอร์อื่นๆ ด้วย สำหรับการประยุกต์ใช้เทคนิค DPD นิยมนำมาใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมเฟส เช่น เป็นไมเซลล์ทรงกลม เป็นแท่ง เป็นทรงหกหน้า หรือเป็นชั้น รวมถึงรายละเอียดในระดับสายโซ่ว่าพอลิเมอร์ไมเซลล์ที่เกิดขึ้นมีการจัดวางตัวยัง

ในโครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างเป็น PLA-PEG-PLA เมื่อ PLA = polylactide และ PEG = polyethylene glycol ตามลำดับ โดยจะเน้น การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างโมเลกุลต่อความสามารถในการจับโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำ ตัวแปร

หลักที่สนใจในที่นี้ ได้แก่ อัตราส่วนระหว่าง LA/EG และความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ นอกจากนี้จะมีการนำเทคนิคการจำลองแบบโมเลกุลในระดับมีโซสเกลเพื่อใช้ในการทำนายลักษณะสัณฐานเพื่อเป็นการทำนายผลการทดลองด้วย เช่น การเกิดเป็นไมเซลล์ โครงสร้างคล้ายดอกไม้ โดยจะทำให้ส่วนปลายของโซ่ที่มีลักษณะไม่ชอบน้ำจับกลุ่มกันแน่นเป็นแกนกลางและล้อมด้วยส่วนรัศมีที่บวม เมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้นจะทำให้ส่วนที่ไม่ชอบน้ำในแต่ละโมเลกุลมาจับกันทำให้ได้โครงสร้างคล้ายตาข่ายหรือเกาะกลุ่มขนาดใหญ่ขึ้นขึ้นอยู่กับว่ามีอัตราส่วนระหว่าง LA/EG และความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์มากน้อยเพียงใด



บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน ผลและการอภิปรายผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ เน้นการเตรียมพอลิเมอร์ไมเซลล์จากบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีสมบัติพิเศษที่สามารถสลายตัวได้ทางชีวภาพ และมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อร่างกาย ซึ่งจะศึกษาทั้งด้านการจำลองเชิงโมเลกุลและการทดลองจริงในห้องปฏิบัติการ โดยเริ่มต้นจากการจำลองเชิงโมเลกุลเพื่อออกแบบระบบที่เหมาะสมสำหรับนำไปเตรียมพอลิเมอร์ไมเซลล์ได้ ก่อนทำการทดลองสังเคราะห์ระบบดังกล่าวเพื่อนำมาเตรียมพอลิเมอร์ไมเซลล์ นำไปศึกษาสมบัติของพอลิเมอร์ไมเซลล์ และการทดสอบความสามารถในการจับ โมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำเบื้องต้น

3.1 การจำลองเชิงโมเลกุลของไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์

3.1.1 วิธีการดำเนินงาน

- **Mesoscopic dynamics (Mesodyn)** แนวคิดพื้นฐานของ MesoDyn ก็คือ ทฤษฎี Density Functional Theory ที่ใช้กับระบบอนุภาคโดยกำหนดให้ free energy (F) ในระบบที่มีมากกว่า 1 เฟสเป็นฟังก์ชันของความหนาแน่นซึ่งจะทำให้สามารถคำนวณหาฟังก์ชันเทอร์โมไดนามิกส์อื่นๆได้ แบบจำลองที่ใช้ใน MesoDyn จะเป็นหน่วยอนุภาคที่มีแรงกระทำต่อกัน โดยใช้แบบจำลองสายโซ่เกาส์เซียนที่มีฟังก์ชันศักย์ในการยึด-หดรระหว่างหน่วยเป็นแบบฮาร์โมนิกส์และอันตรกิริยากับหน่วยอื่นๆในระบบจะใช้เป็นค่าสนามเฉลี่ย แต่ละหน่วยที่กำหนดจะแทนหมู่เคมีหรือหมู่มอนอเมอร์จำนวนหนึ่งซึ่งจะมีวิธีการเทียบเคียงขึ้นอยู่กับความแข็งของสายโซ่ พลวัตของโมเลกุลจะถูกกำหนดโดยสมการฟังก์ชันนอนอล Langevin ซึ่งก็คือรูปแบบหนึ่งของสมการการแพร่ที่ตนเองโดยเพิ่มส่วนของแรงลุ่มเข้าไป

สำหรับสเกลของเวลาที่เกิดขึ้นในแบบจำลองหยาบ $\rho^0(r)$ จะนิยามเป็นสนามความเข้มข้นรวมของหน่วย i ที่เวลาหนึ่งๆ เพื่อใช้เป็นตัวแทนเทียบ โดยจะมีการกระจายตำแหน่งพิกัดของแต่ละหน่วยจากฟังก์ชัน $\Psi(R_{11}, \dots, R_{ys})$ ซึ่งจะทำให้สนามความเข้มข้นรวมของหน่วย s ของทุกสายโซ่หาได้ โดย density operator

$$\rho_1 \Psi(r) \equiv \sum_{r=1}^n \sum_{s=1}^N \delta_{IS}^k \text{Tr} \Psi \delta(r - R_{ys}) \quad (1)$$

เมื่อ δ_{IS}^k คือ Kronecker function โดยมีค่าเป็น 1 เมื่อ $s=1$ และเป็น 0 สำหรับค่าอื่นๆ และกำหนดให้ระบบมีกลุ่มฟังก์ชันการกระจาย Ψ ตามสมการจำกัด $\rho_1^0(r) = \rho_1[\Psi](r)$ ซึ่งแต่ละฟังก์ชัน Ψ จะได้ค่า $\rho^0(r)$ เดียวกัน ทำให้ได้

$$\Omega = \left\{ \Psi(R_{11}, \dots, R_{nN}) \mid \rho_1[\Psi](r) = \rho_1^0(r) \right\} \quad (2)$$

จากนั้น free-energy function $F[\Psi]$ หาได้โดย

$$F[\Psi] = Tr(\Psi H^{id} + \beta^{-1} \Psi \ln \Psi) + F^{nid}[\rho^0] \quad (3)$$

พจน์แรกเป็นค่าเฉลี่ยของ Hamiltonian สำหรับอันตรกิริยาแบบ โช้เกาส์เซียน พจน์ที่สองและสามแสดง Gibbs entropy ของการกระจาย $-k_B T \Psi \ln \Psi$ และส่วนของอันตรกิริยาที่แทนพฤติกรรมแบบไม่อุดมคติจากสนามเฉลี่ย Ψ จะมีค่าไม่ขึ้นอยู่กับเหตุการณ์ก่อนหน้าและถูกกำหนดโดยข้อจำกัดที่แสดงการกระจายความหนาแน่นและทำให้ฟังก์ชัน free-energy ลดต่ำลงโดยข้อจำกัดดังกล่าวจะแทนด้วยสนามภายนอก U_i

ทำให้ได้ free-energy ที่เหมาะสมที่สุดซึ่งเทียบเท่าความสัมพันธ์กับการกระจายความหนาแน่น ตามสมการ

$$\beta F[\rho] = n \ln \Phi + \beta^{-1} \ln n! - \sum_1 \int U_1(r) \rho_1(r) dr + \beta F^{nid}[\rho] \quad (4)$$

จากนั้นจึงเป็น free-energy ส่วนที่ไม่ใช่อุดมคติ ดังสมการ

$$\begin{aligned} F^{nid}[\rho] = & \frac{1}{2} \iint \epsilon_{ii}(|r-r'|) \rho_i(r) \rho_i(r') + \\ & \epsilon_{ij}(|r-r'|) \rho_i(r) \rho_j(r') + \epsilon_{ji}(|r-r'|) \rho_j(r) \rho_i(r') + \\ & \epsilon_{jj}(|r-r'|) \rho_j(r) \rho_j(r') dr dr' \end{aligned} \quad (5)$$

เมื่อ $\epsilon_{ij}(|r-r'|)$ เป็นค่าอันตรกิริยาจากสนามเฉลี่ยระหว่างหน่วย $i-j$ ที่ระยะ $r-r'$ ตามลำดับ ฟังก์ชัน chemical potentials หาได้จากอนุพันธ์ของ free energy คือ $\mu_i(r) = \delta F / \delta \rho_i(r)$ ที่จุดสมดุล $\mu_i(r)$ = ค่าคงที่ ซึ่งจะทำได้สมการ self-consistent field ของแบบจำลองโช้เกาส์เซียนในสนามเฉลี่ย โดยทั่วไปคำตอบของสมการนี้จะมีมากกว่า 1 คำตอบโดยจะมีคำตอบหนึ่งที่เป็นสถานะที่มี free energy ต่ำสุดและสถานะอื่น ๆ มีลักษณะเป็นแบบ metastable จากกลุ่มสมการเหล่านี้จะเป็นพื้นฐานของทฤษฎี Ginzburg-Landau ที่ขึ้นกับเวลา สมการ functional Langevin สำหรับพลวัตการแพร่ของสนามความหนาแน่นสามารถเขียนได้ ดังนี้

$$\frac{\partial \rho_i}{\partial t} = M v_j \nabla \rho_i \rho_j \nabla [\mu_i - \mu_j] + \eta \quad (6)$$

$$\frac{\partial \rho_j}{\partial t} = M v_j \nabla \rho_i \rho_j \nabla [\mu_j - \mu_i] + \eta \quad (7)$$

ส่วนพจน์ของการกระจายแรงคู่แบบเกาส์เซียนจะเป็นไปตามทฤษฎีบท fluctuation-dissipation ดังนี้

$$\langle \eta(r, t) \rangle = 0 \quad (8)$$

$$\langle \eta(r, t) \rangle \langle \eta(r', t') \rangle = -\frac{2M v_j}{\beta} \delta(t-t') \nabla_r \times \delta(r-r') \rho_i \rho_j \nabla_{r'} \quad (9)$$

เมื่อ M เป็นพารามิเตอร์การเคลื่อนที่ของหน่วย สัมประสิทธิ์พลวัต $M v_j \rho_i \rho_j$ จะแทนกลไกการสลับตำแหน่ง สมการ Langevin จะสร้างขึ้นสำหรับระบบไม่อัดตัวเทียบกับสมการข้อจำกัด

$$(\rho_i(r, t) + \rho_j(r, t)) = \frac{1}{v_j} \quad (10)$$

เมื่อ v_j เป็นปริมาตรเฉลี่ยของหน่วยย่อย

พารามิเตอร์ของแบบจำลอง MesoDyn จะมีพารามิเตอร์ 2 กลุ่มที่ใช้ในการอธิบายธรรมชาติทางเคมีของระบบ คือ 1) ลักษณะของโครงสร้างโมเลกุลพอลิเมอร์โดยเน้นตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับความแข็งของโมเลกุลเทียบกับแบบจำลองโซ่เกาส์เซียนซึ่งเป็นตัวเทียบความยืดหยุ่นสูงสุด และ 2) อันตรกิริยาระหว่างหน่วยโดยเทียบกับค่าคงที่พารามิเตอร์ Flory-Huggins กับ solubility parameter ตามสมการ

$$N_{meso} = \frac{N_{mon}}{C_\infty} \quad (11)$$

$$v^{-1} \varepsilon_{ij} = \chi_{ij} RT \quad (12)$$

- **Dissipative particle dynamics (DPD)**

DPD เป็นเทคนิคการจำลองเชิงโมเลกุลแบบ stochastic coarse-grained ซึ่งจะใช้ปัดแทนกลุ่มอะตอมหรือปริมาตรของของไหล แรงคู่กระทำระหว่างแต่ละบีดหาได้จากผลรวมของ conservative force F_{ij}^C , a dissipative force F_{ij}^D และ random force F_{ij}^R ดังสมการ

$$f_i = \sum_{j \neq i} (F_{ij}^C + F_{ij}^D + F_{ij}^R) \quad (13)$$

เมื่อ

$$F_{ij}^C = \begin{cases} a_{ij}(1-r_{ij})\hat{r}_{ij} & (r_{ij} < 1) \\ 0 & (r_{ij} \geq 1) \end{cases} \quad (14)$$

$$F_{ij}^D = \frac{-\sigma^2(\omega(r_{ij}))^2}{2kT} (\hat{r}_{ij} \square v_{ij}) \hat{r}_{ij} \quad (15)$$

$$F_{ij}^R = \frac{\sigma\omega(r_{ij})\hat{r}_{ij}\zeta}{\sqrt{\delta_i}} \quad (16)$$

เมื่อ $r_{ij} = r_i - r_j$, $r_{ij} = |r_{ij}|$, $\hat{r}_{ij} = r_{ij} / r_{ij}$ และ $v_{ij} = v_i - v_j$ ในขณะที่ k คือค่าคงที่ของ Boltzman ค่า σ คือ noise strength ζ คือค่าความแปรปรวน ค่า δ_i คือ time step และ a_{ij} คือแรงผลักดันมากที่สุดระหว่างบีด ซึ่งเป็นตัวแปรที่ขึ้นกับแรงกระทำระหว่างอะตอมและมีความสัมพันธ์กับตัวแปร Flory-Huggins (χ_{ij}) ดังสมการ

$$a_{ij} = a_{ii} + 3.27 \chi_{ij} \quad (17)$$

$$\chi_{ij} = \frac{(\delta_i - \delta_j)^2 V_{ij}}{RT} \quad (18)$$

เมื่อ V_{ij} คือปริมาตรโมลาร์เฉลี่ยของบีด i และ j ในขณะที่ δ_i และ δ_j คือ solubility parameter ของบีด i และ j ตามลำดับซึ่งตัวแปรดังกล่าวขึ้นอยู่กับธรรมชาติทางเคมีของพอลิเมอร์แต่ละชนิดและสามารถหาได้จากทั้งจากการทดลองและการจำลองในระดับอะตอม

3.1.2 ผลและการอภิปรายผลการวิจัย

3.1.2.1 รายละเอียดการจำลองเชิงโมเลกุล

ในการศึกษานี้ได้ใช้การจำลองเชิงโมเลกุลในระดับมีโซสเกลโดยเทคนิคมีโซไดนามิกส์และ DPD เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วน LA/EG และการเติมโมเลกุลยาต่อพฤติกรรม การเปลี่ยนแปลงเฟสและการเกิดไมเซลล์ของไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ PLA-PEG-PLA 3 ระบบในน้ำ โดยลักษณะโครงสร้างและตัวแปรที่ใช้ในการจำลองเชิงโมเลกุลแต่ละระบบแสดงดังตารางที่ 3.1 3.2 และ 3.3

ตารางที่ 3.1 แสดงการออกแบบสายโซ่แบบเกาส์เซียนของ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์

Real system	LA/EG block ratio	Coarse grain bead
PLA ₁₅ PEG ₂₃ PLA ₁₅	0.65	LA4EG5LA4
PLA ₂₈ PEG ₂₃ PLA ₂₈	1.22	LA8EG5LA8
PLA ₄₁ PEG ₂₃ PLA ₄₁	1.78	LA12EG5LA12
Haloperidol	-	D1
Water	-	W 1

ตารางที่ 3.2 แสดงตัวแปรที่ใช้ในการจำลองเชิงโมเลกุลแบบ DPD

α_{ij}	W	D	LA	EG
W	25.00			
D	107.03	25.00		
LA	71.37	30.29	25.00	
EG	36.92	38.49	33.24	25.00

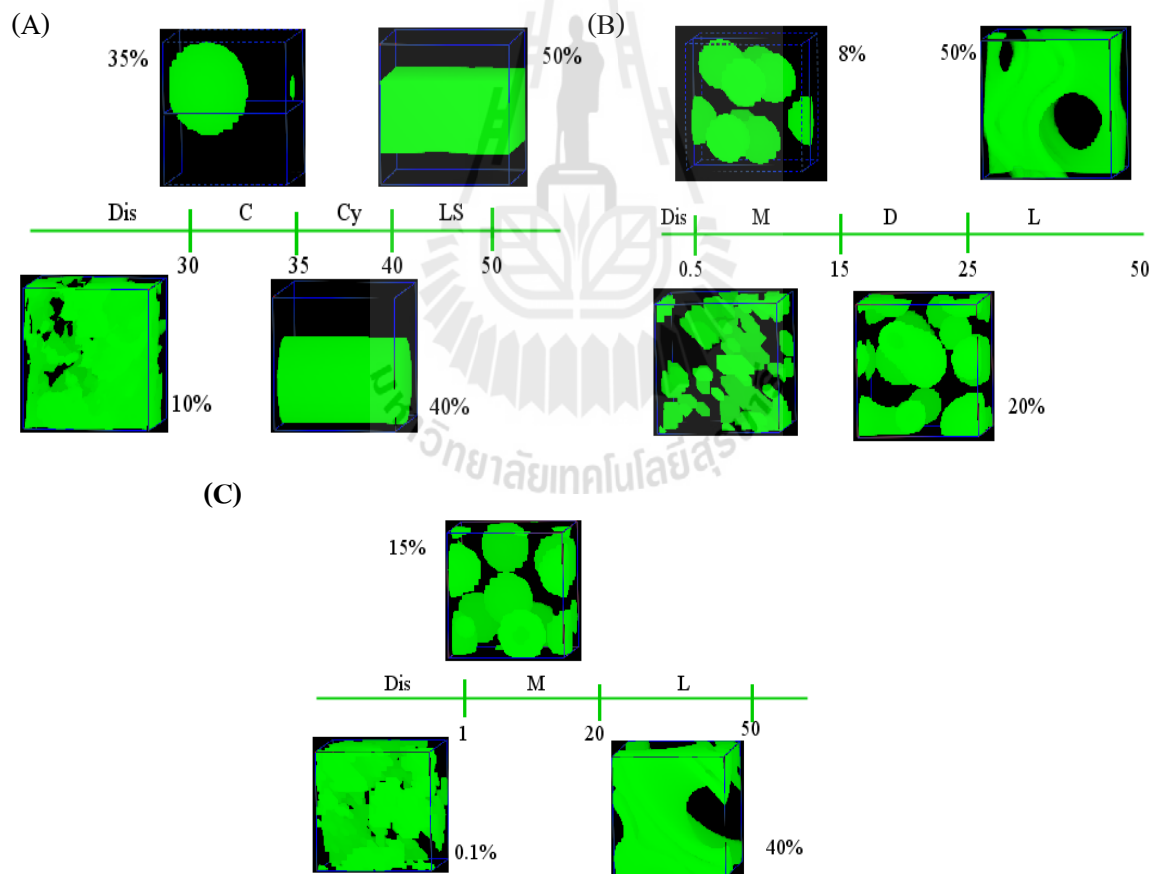
ตารางที่ 3.3 แสดงตัวแปรที่ใช้ในการจำลองเชิงโมเลกุลแบบมีโซไดนามิกส์

$U^{-1}\epsilon_{ij}$	W	D	LA	EG
W	-			
D	25.09	-		
LA	14.18	1.62	-	
EG	3.65	4.13	2.52	-

3.1.2.2 ผลและการอภิปราย

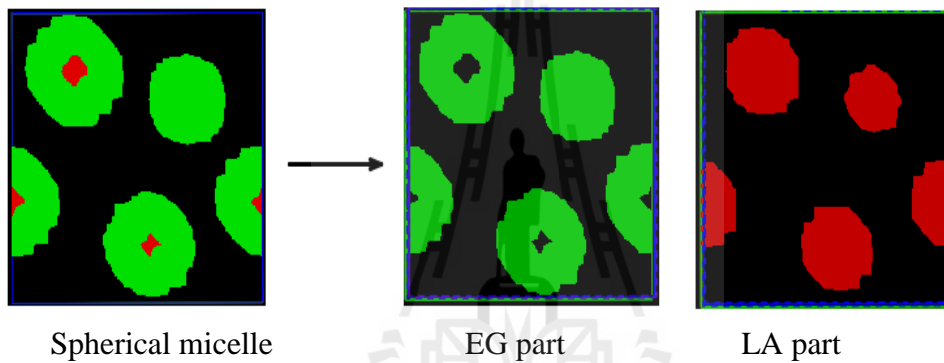
- ผลของความเข้มข้น

แบบจำลองแบบหยาบของ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ 3 ระบบ ที่ใช้ศึกษาในงานวิจัยนี้ด้วยเทคนิคมิโซสเกลแสดงดังตารางที่ 3.1 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนบล็อกของ LA/EG 3 ค่า จากผลการศึกษาพบว่าทั้งพฤติกรรมเฟสมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์ทั้ง 3 ระบบ ดังแสดงด้วยพื้นผิวของสนามความหนาแน่นของ LA บล็อกดังแสดงในรูปที่ 3.1 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าระบบ $LA_4EG_5LA_4$, $LA_8EG_5LA_8$ และ $LA_{12}EG_5LA_{12}$ มีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมเฟสเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น $LA_8EG_5LA_8$ และ $LA_{12}EG_5LA_{12}$ มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจาก disorder เป็นเฟสรูปร่างต่างๆ เช่น cylindrical หรือ lamellar โดยความเข้มข้นเริ่มต้นที่เกิดไมเซลล์ของแต่ละระบบก็แตกต่างกันไป คือร้อยละ 20, 1 และ 0.5 โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีอัตราส่วนบล็อก LA/EG ต่ำที่สุดจะเกิดไมเซลล์ได้ที่ความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูง ดังเห็นได้จากรูปที่ 3.1

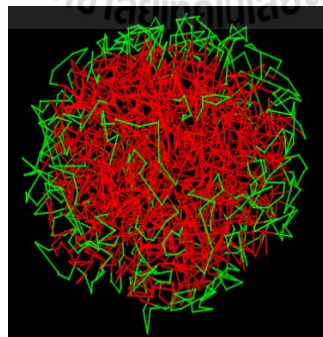


รูปที่ 3.1 ลักษณะพื้นฐานที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของพอลิเมอร์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ของ (A) $LA_4EG_5LA_4$, (B) $LA_8EG_5LA_8$ และ (C) $LA_{12}EG_5LA_{12}$ เมื่อ Dis = disorder phase, M = micelle, C = big cluster, Cy = cylindrical, D = disk-like micelle และ L = lamellar

นอกจากนี้เพื่อให้เข้าใจรายละเอียดของไมเซลล์ทรงกลมที่เกิดขึ้น จึงได้นำเสนอข้อมูลโดยใช้ภาพตัดขวางสนามความหนาแน่น (density field) ของพอลิเมอร์แต่ละชนิดภายในไมเซลล์ทรงกลมของ $LA_8EG_5LA_8$ บล็อกโคพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร ดังรูปที่ 3.2 ซึ่งจะเห็นได้ว่าไมเซลล์ทรงกลมจะประกอบด้วยส่วนของ EG บล็อกในเฟสน้ำ ในขณะที่ไม่ปรากฏเฟสน้ำภายในแกนกลางของไมเซลล์ซึ่งเป็นส่วนของ LA แสดงว่า ไมเซลล์ที่เกิดขึ้นนี้มีการจัดตัวกันอย่างแน่นหนาสำหรับส่วนของ LA การจัดเรียงตัวของแต่ละส่วนภายในไมเซลล์นี้ยืนยันด้วยรูปจำลองจากเทคนิค DPD ที่แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ไมเซลล์ทรงกลมที่เกิดขึ้นนี้มีการรวมกลุ่มกันของ LA บล็อกเป็นแกนกลางและถูกล้อมรอบด้วย EG บล็อกที่เรียงตัวในลักษณะที่เป็นแบบห่วง (loop) จึงอาจกล่าวได้ว่ารูปร่างไมเซลล์ที่เกิดขึ้นนี้มีลักษณะคล้ายดอกไม้ (flower-like micelle) ดังรูปที่ 3.3 นั่นเอง



รูปที่ 3.2 แสดง isosurface ของ LA และ EG species ในไมเซลล์ทรงกลมที่เกิดจาก $LA_8EG_5LA_8$ ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร



รูปที่ 3.3 แสดงภาพจำลองไมเซลล์ทรงกลมจากเทคนิค DPD ของ $LA_8EG_5LA_8$ ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร

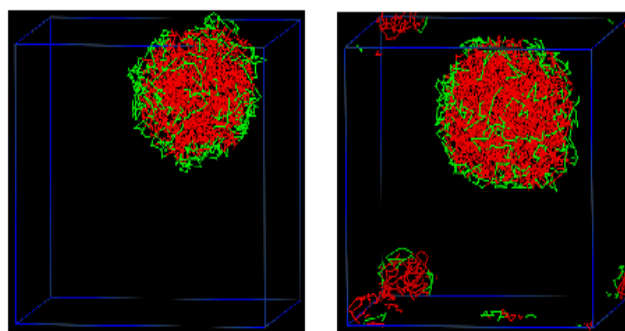
ผลของอัตราส่วน LA/EG

บล็อกโคพอลิเมอร์จะเกาะกลุ่มกันอย่างรวดเร็วทันทีที่สายโซ่โมเลกุลอยู่ในน้ำและมีความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์ (cmc) ทำให้การใช้เทคนิคมิโซคายนซ์เพื่อติดตามพฤติกรรมในเชิงพลวัตไม่ได้ ดังนั้นข้อมูลสำคัญที่ศึกษาถึงผลของอัตราส่วนบล็อกของพอลิเมอร์องค์ประกอบต่อจากนี้ไปจะทำโดยใช้เทคนิค DPD ในการศึกษาบล็อกโคพอลิเมอร์ สำหรับระบบ $LA_8EG_5LA_8$ และ $LA_{12}EG_5LA_{12}$ เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนและอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่กว้าง

รูปที่ 3.4 แสดงผลของอัตราส่วน LA/EG ต่อลักษณะพื้นฐานของไมเซลล์ที่เกิดขึ้นสำหรับ $LA_8EG_5LA_8$ และ $LA_{12}EG_5LA_{12}$ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร จะเห็นว่าไมเซลล์ที่ได้จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเพิ่มความยาวของส่วน LA บล็อก ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับข้อมูลจากการทดลองที่รายงานโดย Venkatraman และคณะ การเปลี่ยนแปลงขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์ตามความเข้มข้นของสารละลายทั้ง $LA_8EG_5LA_8$ และ $LA_{12}EG_5LA_{12}$ ที่คำนวณจากเทคนิค DPD แสดงในตารางที่ 3.4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นอย่างไรก็ดี $LA_{12}EG_5LA_{12}$ มีการเปลี่ยนแปลงขนาดของไมเซลล์ตามความเข้มข้นชัดเจนกว่าระบบ $LA_8EG_5LA_8$ ซึ่งจะมีข้อมูลที่มีการกระจายมากกว่า คาดว่าเป็นผลมาจากการมีอัตราส่วน LA/EG ที่ค่อนข้างต่ำและทำให้ไมเซลล์ที่เกิดขึ้นไม่มีความเสถียรพอ

ตารางที่ 3.4 แสดงเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ต่อขนาดของไมเซลล์ จากการจำลองด้วยเทคนิค DPD

Polymer concentration	$LA_{12}EG_5LA_{12}$		$LA_8EG_5LA_8$	
	Size	S.D.	Size	S.D.
0.5	1.76	0.58	1.73	0.62
1	2.41	0.91	1.92	0.70
2	2.45	0.92	2.83	1.01
4	3.19	1.21	2.81	1.05
6	3.56	1.39	2.90	1.01
8	3.69	1.39	3.22	1.14
12	3.87	1.56	3.30	1.25



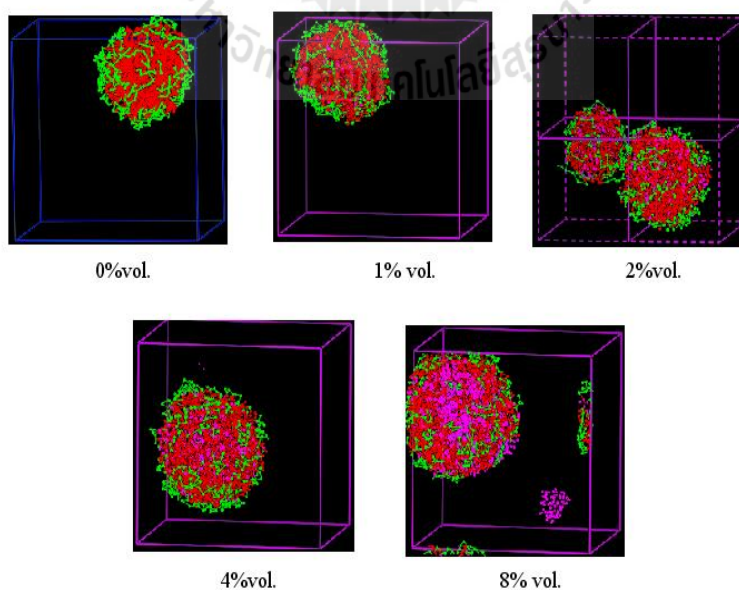
(A)

(B)

รูปที่ 3.4 เปรียบเทียบขนาดของไมเซลล์ทรงกลมของ (A) $LA_8EG_5LA_8$ และ (B) $LA_{12}EG_5LA_{12}$ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร

ผลของการเติมโมเลกุลยา (ยาที่ไม่ชอบน้ำ)

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิค DPD เพื่อศึกษาผลของการเติมโมเลกุลยาต่อการเกิดไมเซลล์ของบล็อกโคพอลิเมอร์ในน้ำ โดยใช้ระบบ $LA_8EG_5LA_8$ ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตรเป็นระบบศึกษา จากผลการจำลองพบว่า เมื่อเติมยาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 - 4 โดยปริมาตรลงไปจะยังคงทำให้เกิดไมเซลล์รูปร่างทรงกลม แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยามากกว่าร้อยละ 4 โดยปริมาตรจะส่งผลให้ไมเซลล์ทรงกลมไม่สามารถห่อหุ้มยาทั้งหมดเอาไว้ได้ ทำให้มีโมเลกุลยาบางส่วนจับกลุ่มกันเองภายนอกไมเซลล์ในสารละลาย ดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 แสดงการเปลี่ยนแปลงลักษณะของไมเซลล์ทรงกลมตามความเข้มข้นของโมเลกุลยาของ $LA_8EG_5LA_8$ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร

นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมโมเลกุลยาลงไปในระบบจะมีผลทำให้ขนาดของไมเซลล์โตขึ้นตามสัดส่วนของยาที่เติมลงไป ดังข้อมูลตามตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 แสดงเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของยาต่อขนาดของไมเซลล์จากการจำลองด้วยเทคนิค DPD

drug content	LA ₁₂ EG ₅ LA ₁₂		LA ₈ EG ₅ LA ₈	
	Size	S.D.	Size	S.D.
0.0	3.69	1.39	3.22	1.14
1.0	3.68	1.30	3.27	1.26
2.0	3.86	1.58	3.12	1.17
4.0	3.92	1.52	3.47	1.38
8.0	4.07	1.67	3.47	1.42
12.0	4.50	1.92	3.78	1.60

3.1.3 สรุปผลการวิจัยในส่วนของการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์

จากผลการศึกษาผลของอัตราส่วน LA/EG บล็อก ความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ และการเติมโมเลกุลยาต่อพฤติกรรมเฟสและการเกิดไมเซลล์ของ LA_x-EG_y-LA_x ในส่วนการจำลองโดยใช้โมเดลอย่างหยาบ ได้แก่ เทคนิคมิโซคายนส์และ DPD พบว่าอัตราส่วนบล็อกของพอลิเมอร์องค์ประกอบมีส่วนอย่างมากต่อการเกิดไมเซลล์โดยที่อัตราส่วนที่เหมาะสมเท่านั้นที่จะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดไมเซลล์ทรงกลมได้ โดยการเพิ่มอัตราส่วนบล็อกจะส่งผลต่อทั้งความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์และขนาดของไมเซลล์ด้วย นอกจากนี้พบว่า การเติมโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำลงไปในระบบทำให้เกิดไมเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และขนาดที่เปลี่ยนไปนี้จะเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของยาที่เติมลงไป โดยบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีอัตราส่วน LA/EG บล็อกที่สูงกว่ามีประสิทธิภาพในการจับยาได้มากกว่า

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากไมเซลล์เกิดขึ้นอย่างทันทีทันใดที่พอลิเมอร์ละลายในน้ำทำให้ไม่สามารถติดตามการเกิดในเชิงพลวัตได้

3.2 การเตรียมไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์

3.2.1 วิธีการทดลอง

3.2.1.1 การสังเคราะห์ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์

การสังเคราะห์ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ PLA-PEO-PLA ที่มีความยาวสายโซ่ PLA ค่าต่างๆ โดยกำหนดให้ PEG มีน้ำหนักโมเลกุลคงที่ที่ประมาณ 1,000 g/mol เป็นบล็อกกลาง การสังเคราะห์ทำได้โดยใช้กระบวนการพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงแหวนของมอนอเมอร์ L-lactide โดยใช้ Stannous (II) ethyl octanoate เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ตามขั้นตอนดังนี้

- เติม L-lactide และ PEG ลงในขวดก้นกลมสามคอ ที่ต่อกับ vacuum pump และปลายด้านหนึ่งปิดด้วย rubber septum
- ดูดอากาศออกจากขวดก้นกลมผ่าน vacuum pump ซ้ำ ๆ และเติมแก๊สอาร์กอนเข้าไปในขวดเพื่อทำให้บรรยากาศภายในปราศจากความชื้นและแก๊สออกซิเจน
- นิดสารละลายของตัวเร่งปฏิกิริยาลงไปในขวดก้นกลม โดยใช้กระบอกฉีดยา และผ่านแก๊สไนโตรเจนอีกครั้งเพื่อกำจัดตัวทำละลาย
- วางขวดก้นกลมบนอ่างน้ำมันที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความยาวสายโซ่ของ PLA ที่ต้องการ
- เมื่อครบกำหนดเวลา เอาขวดก้นกลมออกจากอ่างน้ำมัน รอให้เย็น ก่อนทำการละลายและตกตะกอนด้วย dichloromethane และ petroleum ether 2-3 ครั้ง
- นำบล็อกโคพอลิเมอร์ที่ได้ไปอบให้แห้งใน vacuum oven ก่อนนำไปวิเคราะห์ลักษณะและการทดลองในขั้นต่อไป

ตารางที่ 3.6 สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ PLA-PEO-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ โดยพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงที่มี Stannous octanoate เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

System	LA/EG block ratio	Weight of LA in feed (g) [*]	Weight of PEG in feed (g)
TB1	0.61	1.0000	0.4953
TB2	1.22	1.0000	0.2480
TB3	2.00	1.0000	0.1510

* หมายเหตุ เป็นค่าที่คำนวณทางทฤษฎี

3.2.1.3 ความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration: cmc)

ความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์ของสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์แต่ละตัวที่สังเคราะห์นั้นสามารถหาได้โดยวิธี Pyrene Probe Fluorescence ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

- เตรียม stock solution ของ pyrene ใน acetone และ บล็อกโคพอลิเมอร์ในน้ำกลั่น
- หยดสารละลาย pyrene ที่เตรียมไว้ลงในหลอดทดลองที่แห้ง สะอาด ทิ้งให้ acetone ระเหย
- เติมสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์ลงในหลอดทดลองที่มี pyrene อยู่ตามปริมาณที่คำนวณไว้แล้ว จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายในหลอดทดลองตามค่าความเข้มข้นต่างๆ ที่ต้องการ ตั้งสารละลายให้เกิดสมดุลในที่มืด
- วัด excitation spectra ของโมเลกุล pyrene ของสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์โดยวัดจากความเข้มข้นน้อยไปหามาก
- นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่าง excitation spectra ของ pyrene กับความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ เพื่อคำนวณหาค่า cmc ต่อไป

3.2.1.4 ขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์

เมื่อเตรียมสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์ได้ตามต้องการแล้ว สามารถนำไปวิเคราะห์เพื่อหาขนาดของไมเซลล์ที่เกิดขึ้นได้โดยใช้เทคนิคการกระเจิงแสง (Light scattering) ที่ใช้ในการหาขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์ในรูปของรัศมีไฮโดรไดนามิกส์ (Hydrodynamic radius, R_H) โดยได้เดินทางไปทำการทดลองที่ Laboratory of Macromolecular Assemblies, Department of Macromolecular Science, Osaka University ประเทศญี่ปุ่น

3.2.1.5 ความสามารถของพอลิเมอร์ไมเซลล์ในการจับโมเลกุลยา

ในการศึกษาความสามารถในการจับโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำของบล็อกโคพอลิเมอร์จะใช้วิธีการหาค่า Partition coefficients of pyrene โดยอาศัยแนวความคิดว่าค่า cmc ที่หาโดยวิธี pyrene probe fluorescence นั้นมาจากการวิเคราะห์อัตราส่วนของโมเลกุล pyrene ที่กระจายตัวระหว่างเฟสของตัวทำละลายและบริเวณภายในส่วนแกนกลางของพอลิเมอร์ไมเซลล์ การวิเคราะห์ค่าดังกล่าวจะทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับสมบัติของแกนกลางในพอลิเมอร์ไมเซลล์ที่มีต่อโมเลกุลยาที่ไม่ละลายน้ำ เช่น โมเลกุล pyrene ที่ใช้เป็นตัวแทนจำลองของโมเลกุลยาที่ไม่ละลายน้ำ ในการทำนายค่า Partition coefficients of pyrene ระหว่างเฟสน้ำและแกนกลางของพอลิเมอร์ไมเซลล์นั้นสามารถหาได้จากความสัมพันธ์โดยสมการ

$$\frac{[Py]_m}{[Py]_w} = \frac{K_v \chi_{PLA} (c - cmc)}{1000 \rho_{PLA}} \quad (1)$$

$$\frac{[Py]_m}{[Py]_w} = \frac{F - F_{\min}}{F_{\max} - F} \quad (2)$$

เมื่อ

$[Py]_m$ และ $[Py]_w$ คือ ความเข้มข้นของ pyrene ในแกนกลางของพอลิเมอร์ไมเซลล์และในเฟสตัวทำละลายหรือน้ำ ตามลำดับ

K_v คือ สัมประสิทธิ์การกระจายของโมเลกุลภายในเฟสตัวทำละลายและในไมเซลล์ที่สภาวะสมดุล

c คือ ความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)

χ_{PLA} คือ สัดส่วนโดยน้ำหนักของ PLA ในบล็อกโคพอลิเมอร์ และ

ρ_{PLA} คือ ความหนาแน่นของ PLA (1.2 กรัม/มิลลิลิตร)

3.2.2 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

3.2.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบและน้ำหนักโมเลกุลของโคพอลิเมอร์

การวิเคราะห์องค์ประกอบและน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ทำได้โดยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ โดยนำตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ไปละลายใน CDCl_3 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ $^1\text{H-NMR}$ ที่ความถี่ 300 MHz บันทึกสัญญาณในช่วง 0 - 7 ppm จากนั้นคำนวณหาองค์ประกอบได้โดยการหาพื้นที่ใต้กราฟของ methine proton ของ L-lactide ซึ่งปรากฏสัญญาณที่ตำแหน่ง $\delta \approx 5.2$ ppm และ methylene proton ของ PEO ที่ตำแหน่ง $\delta \approx 3.6$ ppm เนื่องจากตำแหน่งของสัญญาณโปรตอนเหล่านี้ค่อนข้างชัดเจนและไม่ซ้อนทับกับสัญญาณโปรตอนอื่นๆ การคำนวณจึงพิจารณาเฉพาะโปรตอนที่อยู่ในสายโซ่หลักเท่านั้น จากการหาพื้นที่ใต้กราฟประกอบกับผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแยกขนาด (SEC หรือ GPC) ที่วัดโดยใช้เครื่อง JASCO GPC-900 equipped with a Shodex Asahipak GF-7M HQ column และมี THF เป็นตัวทำละลายชะ ข้อมูลดังกล่าวนำมาคำนวณหาปริมาณพอลิเมอร์องค์ประกอบและน้ำหนักโมเลกุลของบล็อกโคพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ดังตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 สัดส่วนของพอลิเมอร์องค์ประกอบและน้ำหนักโมเลกุลของบล็อกโคพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้น

System	Polymer	LA/EG block in feed	LA/EG block in product ^a	\overline{DP}_{PLA} ^b	\overline{Mn}_{total} ^c
TB1	PLA ₂₉ PEG ₂₃ PLA ₂₉	0.61	2.56	29	5,188
TB2	PLA ₅₆ PEG ₂₃ PLA ₅₆	1.22	4.88	56	9,076
TB3	PLA ₈₃ PEG ₂₃ PLA ₈₃	2.00	7.28	83	12,964

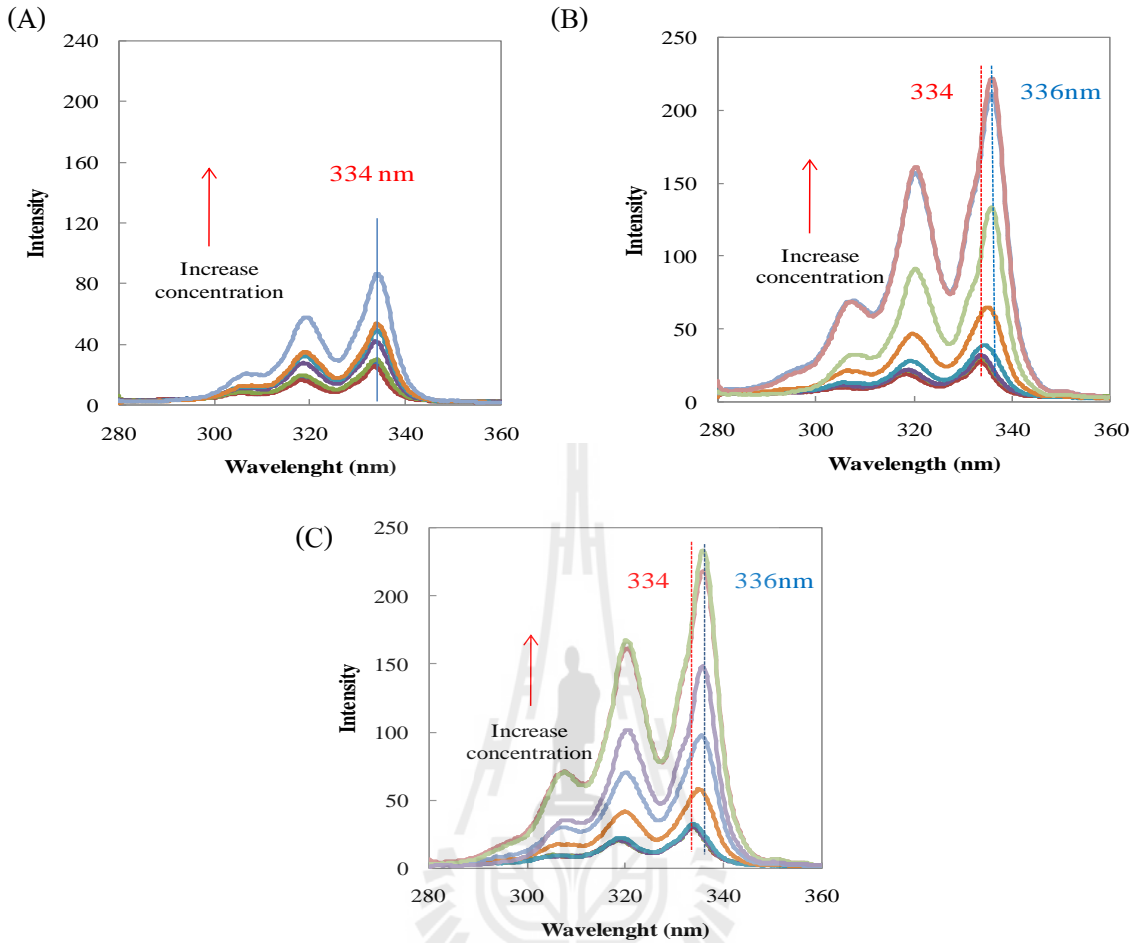
^a Integration ratio of resonance due to PEG blocks at 3.6 ppm ($-O-CH_2CH_2-$) and to the PLA blocks at 5.2 ppm ($Me-CH^*<$) in the ¹H NMR

^b $\overline{DP}_{PLA} \approx \overline{DP}_{PEG} \times (LA/EG) / 2$

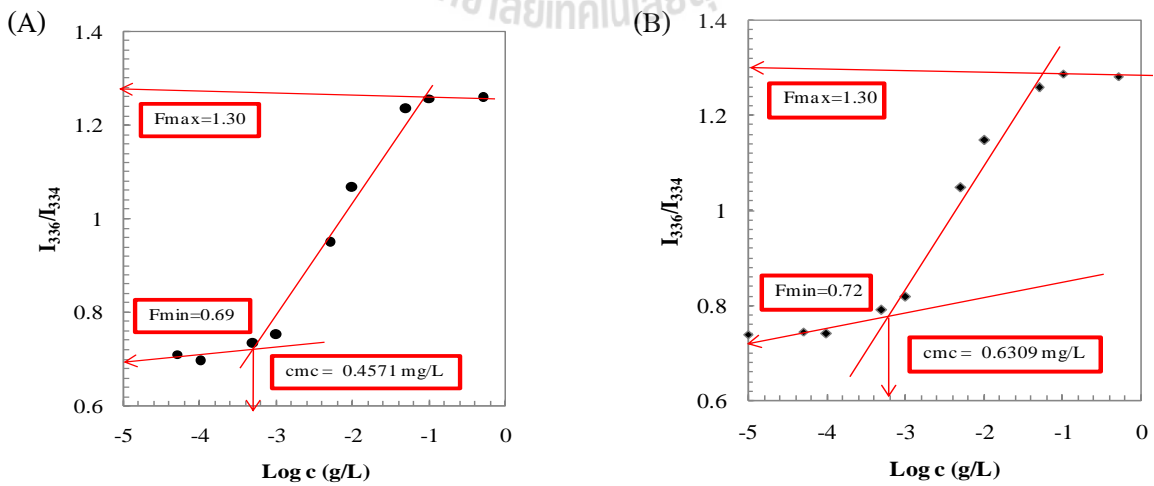
^c $\overline{Mn}_{total} \gg (\overline{DP}_{PLA} \times 144) + (\overline{DP}_{PEG} \times 44)$

3.2.2.2 ความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration: cmc)

ความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์สามารถหาได้โดยวิธี Pyrene Probe Fluorescence ซึ่งวัดการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ของ pyrene ในสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์ผลเพื่อหาค่า cmc จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Excitation spectrum กับความเข้มข้นของสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์ดังรูปที่ 3.6 ซึ่งจะพบว่าความเข้มของ Excitation spectrum เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์ เมื่อนำค่าสัดส่วนความเข้มของสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 336 และ 334 nm มาเขียนกราฟเทียบกับความเข้มข้นจะสามารถหาค่า cmc ของสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์ได้ดังวิธีที่แสดงในรูป 3.7



รูปที่ 3.6 excitation spectra (ความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น 390 nm) ของ pyrene เทียบกับความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ (A) ระบบ TB1 (B) ระบบTB2 และ (C) ระบบTB3



รูปที่ 3.7 อัตราส่วนของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนส์ I_{336}/I_{334} กับลอการิทึมของความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ (A) ระบบ TB2 และ (B) ระบบ TB3

จากการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่าบล็อกโคพอลิเมอร์ให้ค่า cmc ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับส่วนของแต่ละบล็อก เมื่ออัตราส่วน LA/EO เพิ่มขึ้นพบว่าค่าของ cmc จะเพิ่มขึ้น โดยเหตุว่าอัตราส่วน LA/EO ที่เพิ่มขึ้นหมายถึงการมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำภายใน โครงสร้างพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นและจะส่งผลให้ไมเซลล์เกิดขึ้นได้ยากกว่าเนื่องจากพอลิเมอร์ต้องใช้เวลาในการจัดเรียงตัวมากขึ้น สำหรับบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีอัตราส่วน LA/EO ต่ำสุดนั้น (ระบบ TB1) จะไม่สามารถเกิดไมเซลล์ได้เลย ดังนั้น จะมีเฉพาะบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีอัตราส่วน LA/EO ที่มากพอเท่านั้น (ระบบ TB2 และ TB3) ที่จะสามารถเกิดไมเซลล์ในตัวทำละลายที่เหมาะสมได้ ดังข้อมูลสรุปในตารางที่ 3.9

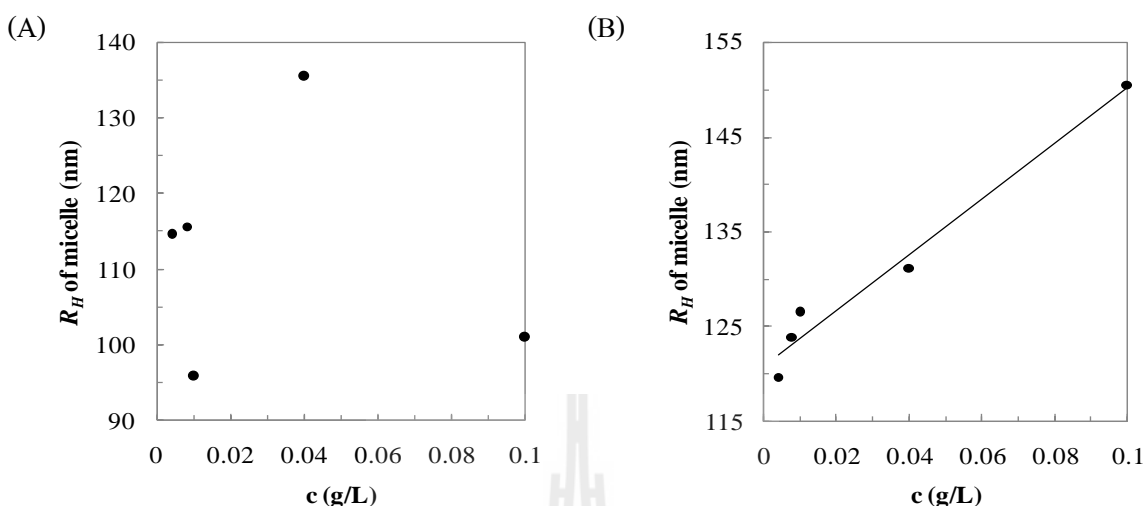
3.2.2.3 ขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์

การวิเคราะห์ขนาดของไมเซลล์ในสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์ ทำได้โดยใช้เทคนิคการกระเจิงแสง (Light scattering) โดยที่ขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์ที่จะอยู่ในรูปของรัศมีไฮโดรไดนามิก (Hydrodynamic Radius, R_H) เนื่องจากสารละลาย TB1 นั้นไม่สามารถเกิดเป็นพอลิเมอร์ไมเซลล์ได้ ดังนั้น ขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์ที่รายงานในที่นี้จะมีเพียงระบบ TB2 และ TB3 โดยทำการทดลองที่ Laboratory of Macromolecular Assemblies, Department of Macromolecular Science, Osaka University โดยวิเคราะห์จากผลการทดลองที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายบล็อกโคพอลิเมอร์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสได้ ดังข้อมูลในตารางที่ 3.8 ซึ่งแสดงให้เห็นได้ว่าขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์นั้นจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ TB3

ตารางที่ 3.8 แสดงผลการวิเคราะห์ด้วย Light scattering ของ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์

Polymer	c (g/L)	τ/k^2 (10^{-8})	$R_{H, app}$ (nm)
TB2	0.1	2.85	100.96
PLA ₂₈ PEG ₂₃ PLA ₂₈	0.04	2.89	135.55
	0.01	2.93	95.84
	0.008	2.97	115.73
	0.004	2.83	114.64
	TB3	0.1	2.73
PLA ₄₁ PEG ₂₃ PLA ₄₁	0.04	2.99	131.19
	0.01	2.96	126.46
	0.008	2.93	123.91
	0.004	3.83	119.68

อย่างไรก็ดี ขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์จะค่อนข้างไม่มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์สำหรับระบบ TB2 ดังแสดงในรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 แสดงการพลอต Hydrodynamic radius (R_H) กับความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ (A) TB2 และ (B) TB3

3.2.2.4 ความสามารถของไมเซลล์ในการจับโมเลกุลยา

การศึกษาความสามารถในการจับโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำของบล็อกโคพอลิเมอร์ไมเซลล์นี้ทำได้โดยวิธีการหาสัมประสิทธิ์การแยก (Partition coefficients) ของโมเลกุล pyrene โดยใช้หลักการว่าค่า cmc ที่หาโดยวิธี pyrene probe fluorescence นั้นสามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์ค่าสัดส่วนของโมเลกุล pyrene ที่กระจายระหว่างเฟสของตัวทำละลายและภายในส่วนแกนกลางของพอลิเมอร์ไมเซลล์ การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การแยกจะทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับสมบัติของพอลิเมอร์ไมเซลล์ต่อโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำ ในการทดลองสามารถคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การแยกของ pyrene โดยการเขียนกราฟความสัมพันธ์ดังตัวอย่างในรูป 3.7 เพื่อหาค่า F , F_{min} และ F_{max} ก่อนนำไปหาค่าสัมประสิทธิ์การแยก pyrene โดยใช้สมการ (1) และ (2) โดยค่าดังกล่าวสามารถหาได้เช่นที่แสดงในรูป 3.7 ซึ่งเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $[Py]_m/[Py]_w$ กับความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ TB2 และ TB3 จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้พบว่าแกนกลางของพอลิเมอร์ไมเซลล์สามารถจับโมเลกุลของ pyrene ได้มากขึ้นเมื่อมีความยาวสายโซ่ LA สูงขึ้น โดยพิจารณาจากค่าคงที่ K ดังสรุปในตารางที่ 3.9

ตารางที่ 3.9 แสดงข้อมูลสรุปที่ได้จากการ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์

System	Triblock copolymer	LA/EG ratio	PLA fraction	cmc (mg/L)	K_p ($\times 10^5$)
TB1	PLA ₂₉ PEG ₂₃ PLA ₂₉	2.56	0.80	- *	- *
TB2	PLA ₅₆ PEG ₂₃ PLA ₅₆	4.88	0.89	0.46	1.60
TB3	PLA ₈₃ PEG ₂₃ PLA ₈₃	7.28	0.92	0.63	3.42

3.2.3 สรุปผลการวิจัย

ได้ศึกษาผลอัตราส่วน LA/EG ความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ และการเติมยาที่ไม่ชอบน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงในการเกิดไมเซลล์ระบบ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ 3 ระบบ ได้แก่ PLA₂₉PEG₂₃PLA₂₉ PLA₅₆PEG₂₃PLA₅₆ และ PLA₈₃PEG₂₃PLA₈₃ ซึ่งเตรียมจากปฏิกิริยาการเปิดวงแหวนของ Lactide โดยมี stannous octoate เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากการเตรียมสารละลายไมเซลล์ของบล็อกโคพอลิเมอร์ทั้ง 3 ระบบ พบว่าที่อัตราส่วน LA/EG ที่สูงพอ (PLA₅₆PEG₂₃PLA₅₆ และ PLA₈₃PEG₂₃PLA₈₃) และความเข้มข้นของบล็อกโคพอลิเมอร์ที่เหมาะสมเท่านั้นที่สามารถเกิดไมเซลล์ที่มีรูปร่างทรงกลมได้ นอกจากนี้ยังพบว่าบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีอัตราส่วน LA/EG บล็อกสูงกว่าจะสามารถจับโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำได้มากกว่า

บทที่ 4

สรุปผลการวิจัย

ได้ศึกษาผลของอัตราส่วนบล็อกของ LA/EG ต่อการเตรียมพอลิเมอร์ไมเซลล์ระบบ PLA-PEG-PLA ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์โดยการจำลองเชิงโมเลกุลด้วยเทคนิค MesoDyn ต่อแผนภาพเฟสและลักษณะการเกิดไมเซลล์ในสารละลาย พบว่าเฉพาะอัตราส่วน LA/EG ที่เหมาะสมเท่านั้นที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดไมเซลล์รูปร่างทรงกลมได้และมีผลต่อลักษณะเฟสอื่นๆของละลายพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น การเพิ่มอัตราส่วน LA/EG มีผลทำให้ได้พอลิเมอร์ไมเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของการเกิดไมเซลล์ก็เพิ่มขึ้นด้วยสอดคล้องกับผลการทดลองหาขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์โดยเทคนิคการกระเจิงแสง (light scattering) อย่างไรก็ตาม ขนาดของพอลิเมอร์ไมเซลล์จะไม่ค่อยมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นสารละลายพอลิเมอร์สำหรับระบบที่มีอัตราส่วน LA/EG ต่ำเกินไป นอกจากนี้ยังพบว่าพอลิเมอร์ไมเซลล์ที่เตรียมจากบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีอัตราส่วน LA/EG สูงกว่าจะมีความสามารถในการจับโมเลกุลยาที่ไม่ชอบน้ำได้มากขึ้น โดยจะถูกจับไว้บริเวณแกนกลางของไมเซลล์ซึ่งเกิดจากการเกาะกลุ่มกันของหมู่ LA และถูกล้อมรอบด้วย ส่วนของ EG ซึ่งช่วยให้โครงสร้างไมเซลล์มีความเสถียรในตัวกลางที่เป็นน้ำ



บรรณานุกรม

- Agrawal, S. K., Sanabria-DeLong, N., Coburn, J. M., Tew, G. N. and Bhatia, S. R. (2006). Novel drug release profiles from micellar solutions of PLA–PEO–PLA triblock copolymers. **Journal of Controlled Release** 112(1): 64-71.
- Alexandridis, P., Holzwarth, J. F. and Hatton, T. A. (1994). Micellization of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association. **Macromolecules** 27(9): 2414-2425.
- Almgren, M., Brown, W. and Hvidt, S. (1995). Self-aggregation and phase behavior of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymers in aqueous solution. **Colloid and Polymer Science** 273(1): 2-15.
- Cho, H., Cheong, I., Lee, J. and Kim, J. (2010). Polymeric nanoparticles, micelles and polymersomes from amphiphilic block copolymer. **Korean Journal of Chemical Engineering** 27(3): 731-740.
- Cohn, D. and Younes, H. (1988). Biodegradable PEO/PLA block copolymers. **Journal of Biomedical Materials Research** 22(11): 993-1009.
- Dai, Z., Piao, L., Zhang, X., Deng, M., Chen, X. and Jing, X. (2004). Probing the micellization of diblock and triblock copolymers of poly(l-lactide) and poly(ethylene glycol) in aqueous and NaCl salt solutions. **Colloid and Polymer Science** 282(4): 343-350.
- Ganta, S., Devalapally, H., Shahiwala, A. and Amiji, M. (2008). A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. **Journal of Controlled Release** 126(3): 187-204.
- Gaucher, G., Dufresne, M.-H., Sant, V. P., Kang, N., Maysinger, D. and Leroux, J.-C. (2005). Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery. **Journal of Controlled Release** 109(1–3): 169-188.

Hagan, S. A., Coombes, A. G. A., Garnett, M. C., Dunn, S. E., Davies, M. C., Illum, L., Davis, S. S., Harding, S. E., Purkiss, S. and Gellert, P. R. (1996). Polylactide–Poly(ethylene glycol) Copolymers as Drug Delivery Systems. 1. Characterization of Water Dispersible Micelle-Forming Systems. **Langmuir** 12(9): 2153-2161.

He, G., Ma, L. L., Pan, J. and Venkatraman, S. (2007). ABA and BAB type triblock copolymers of PEG and PLA: A comparative study of drug release properties and “stealth” particle characteristics. **International Journal of Pharmaceutics** 334(1–2): 48-55.

Jiao, Y.-H., Li, Y., Wang, S., Zhang, K., Jia, Y.-G. and Fu, Y. (2010). Layer-by-Layer Assembly of Poly(lactic acid) Nanoparticles: A Facile Way to Fabricate Films for Model Drug Delivery. **Langmuir** 26(11): 8270-8273.

Kremer, K. (2003). Computer Simulations for Macromolecular Science. **Macromolecular Chemistry and Physics** 204(2): 257-264.

Kricheldorf, H. R. and Meier-Haack, J. (1993). Polylactones, 22 ABA triblock copolymers of L-lactide and poly(ethylene glycol). **Die Makromolekulare Chemie** 194(2): 715-725.

Kumari, A., Yadav, S. K. and Yadav, S. C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 75(1): 1-18.

Kwon, G. S., Naito, M., Kataoka, K., Yokoyama, M., Sakurai, Y. and Okano, T. (1994). Block copolymer micelles as vehicles for hydrophobic drugs. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 2(4): 429-434.

Kwon, G. S. and Okano, T. (1999). Soluble Self-Assembled Block Copolymers for Drug Delivery. **Pharmaceutical Research** 16(5): 597-600.

Lam, Y.-M. and Goldbeck-Wood, G. (2003). Mesoscale simulation of block copolymers in aqueous solution: parameterisation, micelle growth kinetics and the effect of temperature and concentration morphology. **Polymer** 44(12): 3593-3605.

Lam, Y.-M., Goldbeck-Wood, G. and Boothroyd, C. (2004). Mesoscale simulation and cryo-TEM of nanoscale drug delivery systems. **Molecular Simulation** 30(4): 239-247.

Lee, S.-H., Kim, S. H., Han, Y.-K. and Kim, Y. H. (2002). Synthesis and characterization of poly(ethylene oxide)/polylactide/poly(ethylene oxide) triblock copolymer. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry** 40(15): 2545-2555.

Li, S. M., Rashkov, I., Espartero, J. L., Manolova, N. and Vert, M. (1996). Synthesis, Characterization, and Hydrolytic Degradation of PLA/PEO/PLA Triblock Copolymers with Long Poly(L-lactic acid) Blocks. **Macromolecules** 29(1): 57-62.

Linse, P. (1994). Adsorption and phase behaviour of Pluronic block copolymers in aqueous solution. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects** 86(0): 137-142.

Loh, W. (2002). Block Copolymer Micelles. **Encyclopedia of Surface and Colloid Science**: 802-813.

Mata, J., Joshi, T., Varade, D., Ghosh, G. and Bahadur, P. (2004). Aggregation behavior of a PEO–PPO–PEO block copolymer + ionic surfactants mixed systems in water and aqueous salt solutions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects** 247(1–3): 1-7.

Mishra, B., Patel, B. B. and Tiwari, S. (2010). Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine** 6(1): 9-24.

Nair, L. S. and Laurencin, C. T. (2007). Biodegradable polymers as biomaterials. **Progress in Polymer Science** 32(8–9): 762-798.

Oh, J. K. (2011). Polylactide (PLA)-based amphiphilic block copolymers: synthesis, self-assembly, and biomedical applications. **Soft Matter** 7(11): 5096-5108.

Rapoport, N. (2004). Combined cancer therapy by micellar-encapsulated drug and ultrasound. **International Journal of Pharmaceutics** 277(1-2): 155-162.

Ruan, G. and Feng, S.-S. (2003). Preparation and characterization of poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid) (PLA-PEG-PLA) microspheres for controlled release of paclitaxel. **Biomaterials** 24(27): 5037-5044.

Sung, J. C., Pulliam, B. L. and Edwards, D. A. (2007). Nanoparticles for drug delivery to the lungs. **Trends in Biotechnology** 25(12): 563-570.

Torchilin, V. P. (2007). Micellar Nanocarriers: Pharmaceutical Perspectives. **Pharmaceutical Research** 24(1): 1-16.

Venkatraman, S. S., Jie, P., Min, F., Freddy, B. Y. C. and Leong-Huat, G. (2005). Micelle-like nanoparticles of PLA-PEG-PLA triblock copolymer as chemotherapeutic carrier. **International Journal of Pharmaceutics** 298(1): 219-232.

Whittlesey, K. J. and Shea, L. D. (2004). Delivery systems for small molecule drugs, proteins, and DNA: the neuroscience/biomaterial interface. **Experimental Neurology** 190(1): 1-16.

Wilhelm, M., Zhao, C. L., Wang, Y., Xu, R., Winnik, M. A., Mura, J. L., Riess, G. and Croucher, M. D. (1991). Poly(styrene-ethylene oxide) block copolymer micelle formation in water: a fluorescence probe study. **Macromolecules** 24(5): 1033-1040.

Winzenburg, G., Schmidt, C., Fuchs, S. and Kissel, T. (2004). Biodegradable polymers and their potential use in parenteral veterinary drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews** 56(10): 1453-1466.

- Xin, D. G., Jeremy, P. K. T., Sung, H. K., Li, J. Z., Ying, Z., James, L. H., Yi, Y. Y. and Yu, Q. (2009). Computational studies on self-assembled paclitaxel structures: Templates for hierarchical block copolymer assemblies and sustained drug release. **Biomaterials** 30(33): 6556-6563.
- Xiao, R. Z., Zeng, Z. W., Zhou, G. L., Wang, J. J., Li, F. Z. and Wang, A. M. (2010). Recent advances in PEG-PLA block copolymer nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine** 5(1): 1057-1065.
- Xiaozhi, Z., Dongsheng, M., Jiangling, W., Huibi, X. and Xiangliang, Y. (2009). A novel method for the separation and determination of non-encapsulated pyrene in plasma and its application in pharmacokinetic studies of pyrene-loaded MPEG-PLA based nanoparticles. **Nanotechnology** 20(12): 125701.
- Zhang, Y., Jin, T. and Zhuo, R.-X. (2005). Methotrexate-loaded biodegradable polymeric micelles: Preparation, physicochemical properties and in vitro drug release. **Colloids and Surfaces B: Bio interfaces** 44(2-3): 104-109.
- Zhang, X., Yuan, S., Xu, G. and Liu, C. (2007). Mesoscopic Simulation of the Phase Separation on Triblock Copolymer in Aqueous Solution. **Acta Physico-Chimica Sinica** 23(2): 139-144.
- Zhu, K. J., Xiangzhou, L. and Shilin, Y. (1990). Preparation, characterization, and properties of polylactide (PLA)-poly(ethylene glycol) (PEG) copolymers: A potential drug carrier. **Journal of Applied Polymer Science** 39(1): 1-9.

ประวัตินักวิจัย

ดร.วิศิษฐ์ แวสูงเนิน เกิดที่ อำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา วันที่ 19 กันยายน 2515 ได้รับการศึกษาชั้นประถมศึกษาที่โรงเรียนพงษ์ศิริวิทยาและมัธยมศึกษาตอนต้นที่โรงเรียนมัธยมด่านขุนทด จากนั้นได้ผ่านการคัดเลือกให้รับทุน โครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท) และได้เดินทางไปศึกษาต่อระดับมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนแก่นนครวิทยาลัยจนจบมัธยมศึกษาปีที่ 6 หลังจากนั้นจึงเข้าศึกษาต่อระดับอุดมศึกษาที่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยเลือกสาขาเคมีเป็นวิชาเอก จบการศึกษาระดับปริญญาตรีด้วยเกียรตินิยมอันดับ 1 ในปี พ.ศ. 2537 และได้เดินทางไปศึกษาต่อที่ประเทศสหรัฐอเมริกาด้วยทุนโครงการ พสวท. โดยเลือกศึกษาที่สาขาวิชา Polymer Science มหาวิทยาลัย Akron มลรัฐ Ohio จนจบการศึกษาระดับปริญญาเอกในปี 2542 ได้เดินทางกลับประเทศไทยในปีเดียวกันและเริ่มปฏิบัติงานที่สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา โดยรับผิดชอบการสอนและเป็นอาจารย์ที่ปรึกษานักศึกษาทั้งระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษา ต่อมาในปี 2546 จึงได้เดินทางไปทำวิจัยเพิ่มเติมทางด้านการจำลองแบบ โมเลกุลของระบบพอลิเมอร์ผสมและบล็อกโคพอลิเมอร์ที่ภาควิชา Material Science and Engineering, Seoul National University, South Korea เป็นเวลา 6 เดือน

งานวิจัยหลักที่สนใจจะเกี่ยวข้องกับเคมีเชิงฟิสิกส์ของพอลิเมอร์ การจำลองแบบโมเลกุลและเคมีคำนวณ นอกจากนี้ยังได้เริ่มทำงานวิจัยประยุกต์ 2 หัวข้อ ได้แก่ การศึกษาพอลิเมอร์อิเล็กโตรไลต์และพอลิเมอร์นาโนคอมโพสิตเพื่อใช้เป็นสารอิเล็กโตรไลต์ในแบตเตอรี่และการศึกษาพอลิเมอร์ไมเซลล์เพื่อใช้ในการขนส่งยาในร่างกาย นอกจากนี้ยังมีผลงานการเขียนหนังสือ 1 เล่ม คือ เคมีเชิงฟิสิกส์ของพอลิเมอร์ เพื่อใช้ประกอบการสอนวิชาหัวข้อเลือกสรรทางเคมีเชิงฟิสิกส์ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี