

การศึกษาปัจจัยและองค์ประกอบของเจลก่อตัวเองโดยมีพอลิเมอร์ PLGA เป็นสารก่อเจลหลัก

พิกขามณูญ์ ญาณศุภวงศ์¹, วริศรา ทิพย์คุณอก¹, วริษฐา ศิลาล่อน², ไพจิตร ศรีธนาวัฒน์³, อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ^{2*}

บทคัดย่อ

บทนำ: เจลก่อตัวเองถูกพัฒนาเป็นระบบนำส่งยาอย่างต่อเนื่องเพื่อทดแทนรูปแบบฝัง เพื่อลดความเจ็บปวดจากการใช้สำหรับการรักษาโรคเหงือกอักเสบเรื้อรัง **วัตถุประสงค์:** งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับเจลก่อตัวเองสำหรับใช้ในช่องเหงือก ที่เตรียมจาก poly(lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA) ในตัวทำละลายอินทรีย์ N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) ด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนสารละลาย โดยศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมของ PLGA และตัวทำละลาย ในอัตราส่วน 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10 และ 1:15 และศึกษาผลของสารช่วย ได้แก่ polyvinylpyrrolidone (PVP), Poloxamer 407[®] และ Poloxamer 188[®] และเปรียบเทียบผลของคุณสมบัติทางกายภาพ ความหนืด การก่อเจล การฉีดผ่านเข็มฉีดยา และการสูญเสียพอลิเมอร์ ผลการวิจัย: จากผลการก่อเจล (in situ gel forming) และ ความหนืด (viscosity) ของ PLGA ต่อ NMP พบว่า อัตราส่วน 1:3, 1:4, และ 1:5 สามารถก่อเจลและขึ้นรูปดี (เวลาน้อยกว่า 1 นาที) แต่มีความหนืดสูง (11.803 ± 1.857 Pa.s, 2.576 ± 0.385 Pa.s และ 0.955 ± 0.076 Pa.s ตามลำดับ) เมื่อเพิ่มสารช่วยในตำรับ พบว่า ความหนืดลดลง ฉีดผ่านเข็มฉีดยาดีขึ้นและมีการสูญเสียพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับจำนวนรูพรุนภายในโครงสร้างจาก SEM พบว่าเมื่อเติมสารช่วยในตำรับจะพบลักษณะรูพรุนเกิดขึ้นภายในโครงสร้าง โดยรูพรุนที่เกิดจากการเติม Poloxamer ทั้งสองชนิดมีขนาดสม่ำเสมอและมีผนังบางพื้นผิวเรียบมีรูพรุน ขณะที่สารช่วย PVP จะทำให้เกิดพื้นผิวเรียบมีลักษณะคล้ายเส้นใยและรูพรุนภายในมีขนาดไม่สม่ำเสมอผนังหนา นอกจากนี้ที่อัตราส่วน 1:3 ของ PLGA/PVP: NMP พบการสูญเสียของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นในสัปดาห์แรกจากนั้นเริ่มคงที่ในสัปดาห์ที่ 2-4 (ร้อยละ 14.37, 19.83, 18.46 และ 19.18 ตามลำดับ) จึงสามารถทำนายได้ว่าวัสดุที่เตรียมจาก PLGA/PVP น่าจะทำให้เกิดการปลดปล่อยยาอย่างช้าๆ และคงที่ในสัปดาห์ที่ 2 สรุปผลการวิจัย: สารช่วยกลุ่ม Poloxamer หรือ PVP มีความจำเป็นสำหรับการเตรียมเจลก่อตัวเองโดยวิธีแลกเปลี่ยนตัวทำละลายเพื่อช่วยให้วัสดุมีคุณลักษณะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในช่องเหงือก

คำที่สำคัญ: เจลก่อตัวเอง, พอลิ(แล็กติกแอซิด-โค-ไกลโคลิกแอซิด)พอลิเมอร์, โรคเหงือกอักเสบ, การแลกเปลี่ยนตัวทำละลาย

วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2559; 11(ฉบับพิเศษ): 135-143

¹ กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190

² ผู้ช่วยศาสตราจารย์ กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190

³ อาจารย์ กลุ่มวิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190

* **ติดต่อผู้พิมพ์:** อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190 โทรศัพท์: +66-45353602 e-mail: utsana@gmail.com

The study of factors and components in situ forming gel formulation comprising of PLGA

Pichamon Yarnsuphawong¹, Warisara Thipkunok¹, Warisada Silaon², Phajit Sritananuwat³, Utsana Puapermpoonsiri^{2*}

Abstract

Introduction: In situ forming gel implants is developed continuously for implant replacement in order to reduce pain from the administration for periodontitis treatment. **Objective:** The purpose of this research is to develop in situ forming gel formulation for implant in periodontitis treatment. Poly(lactic acid-co-glycolic acid)(PLGA) was dissolved in N-methyl pyrrolidone (NMP) and the in situ gel was formed by solvent exchange mechanism. The effect of the ratio of PLGA:NMP was studied at ratio 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10 and 1:15 and the effect of the additives addition such as polyvinylpyrrolidone (PVP), Poloxamer 407® and Poloxamer 188® was also performed. The physical properties including viscosity, gel forming, injectability, and weight loss of polymer were evaluated for all formulations. **Results:** The gel forming and viscosity of developed gel indicated that the selected ratios for later study were PLGA: NMP ratio at 1:3, 1:4 and 1:5 because gel was formed within 1 minute. However, the high viscosity was observed with those ratios (11.803 ± 1.857 Pa.s, 2.576 ± 0.385 Pa.s and 0.955 ± 0.076 Pa.s, respectively). The reduction of viscosity and injection time and the increasing of polymer weight loss were also observed when the additives were added. It might be due to the internal porous structure. As SEM micrograph, the internal porous structure was observed when the additives were added. The addition of either Poloxamer 407® or Poloxamer 188® produced a consistency porous with a thin wall and smooth surface with tiny pore whilst PVP would produce a fluffy texture and a smooth surface with a thick wall and also had different size of porous within structure. Moreover, the polymer weight loss of PLGA/PVP: NMP with ratio at 1:3 was increased dramatically at the first week and the rate of weight loss was increase slowly to plateau since week 2 to 4 of study (% weight loss from week 1 to week 4; 14.37, 19.83, 18.46 and 19.18, respectively). Thus it is predictable that the in situ gel from PLGA/PVP might create a slow release until plateau since week 2 of administration. **Conclusion:** The additives such as Poloxamer or PVP are required for in situ gel forming formulation comprising of PLGA with solvent exchange method to suit for periodontitis treatment application.

Keywords: in situ gel forming, poly(lactic acid-co-glycolic acid), polymer, periodontitis, solvent exchange

IJPS 2016; 11(Supplement): 135-143

* **Corresponding author:** Utsana Puapermpoonsiri Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Warinchamrab District, Ubon Ratchathani 34190 Tel. 045-353630 E-mail: sureewan.d@ubu.ac.th

บทนำ

โรคปริทันต์ (Periodontitis) เป็นการอักเสบจากเชื้อแบคทีเรียบริเวณเหงือกและเนื้อเยื่อรอบๆ ที่ทำหน้าที่ยึดฟันทำให้เกิดช่องว่างระหว่างเหงือกกับฟัน หากปล่อยไว้ไม่รักษาจะทำให้เกิดร่องลึกจนฟันโยกและหลุดไปในที่สุด (National Institutes of Health, 2012) การนำส่งยาจึงพบว่ามีปัญหาทั้งการไปถึงตำแหน่งเป้าหมายและระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของยา (Suresh และคณะ, 2011)

In situ forming implants เป็นรูปแบบที่มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อนำมาใช้ทางเภสัชกรรมมากขึ้น เนื่องจากยาเตรียมสามารถเข้าสู่เป้าหมายได้ดีและใช้วัสดุที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable) จึงเป็นการลดขั้นตอนและลดการบาดเจ็บจากการผ่าตัดนำวัสดุที่ฝังออกจากร่างกาย (Mahadlek, 2012) การศึกษานี้เลือกวิธีการแลกเปลี่ยนตัวทำละลายมาใช้ในการผลิตยาฝังโดยเจลก่อตัวเอง เพราะง่ายและมีต้นทุนต่ำ และพอลิเมอร์ poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) ถูกนำมาใช้เป็นสารก่อเจลหลักเนื่องจากคุณสมบัติที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable), ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย (biocompatible) สามารถก่อเจลได้เมื่ออยู่ในร่างกาย และมีการรับรองการใช้ในทางการแพทย์ว่ามีความปลอดภัยโดย FDA จากผลการวิจัยของ Do. ในปี ค.ศ. 2015 ใช้ตัวทำละลายเป็น N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) เนื่องจากเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายพอลิเมอร์ได้หลายชนิด มีความเป็นพิษต่ำ (Setthajindalert et al, 2012) และนิยมนำมาใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมยาในระบบนำส่งยาชนิดต่างๆ ได้แก่ aspirin, leuprolide acetate, naltrexone HCl, และ heparin เป็นต้น (Thakur, 2014)

จากงานวิจัยของ Ramchandani ในปี ค.ศ. 1998 แสดงให้เห็นว่าพอลิเมอร์ชนิด PLGA สามารถเตรียมให้อยู่ในรูปแบบที่ควบคุมการปลดปล่อยยาออกฤทธิ์นั้นได้ และการเติม 3% PVP ผสมกับ PLGA พบว่าจะทำให้การแยกเฟสของ PLGA ที่ละลายอยู่ใน NMP เกิดขึ้นได้เร็วขึ้นถึง 8 เท่าและไม่มีผลต่ออัตราการซึมผ่านของน้ำเข้าสู่วัสดุ (Brodbeck et al,

การศึกษาปัจจัยและองค์ประกอบของเจลก่อตัวเองโดยมีพอลิเมอร์

PLGA เป็นสารก่อเจลหลัก

อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ และคณะ

1999) รวมถึงมีรายงานจาก Zeng และคณะ ในปี 2014 ว่าการใช้สารช่วย poloxamer ในการเตรียมไฮโดรเจลเพื่อใช้ในการนำส่งยาเซลล์บุทามอลบริเวณกระพุ้งแก้ม จะช่วยปรับปรุงอุณหภูมิที่ใช้เปลี่ยนสถานะจากสารละลายกลายเป็นเจล (sol-gel transition temperature) ให้เหมาะสมเพื่อประโยชน์ในการเตรียมตำรับและการก่อเจลได้เมื่อเข้าสู่ร่างกายและยังไม่มีผลต่อความหนืดของตำรับด้วย

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการก่อเจลของระบบเจลก่อตัวเองโดยใช้พอลิเมอร์หลักเป็น PLGA และศึกษาผลของสารช่วย/สารเติมแต่ง 3 ชนิด ได้แก่ polyvinylpyrrolidone (PVP), Poloxamer 407[®] และ Poloxamer 188[®] จากนั้นประเมินคุณสมบัติของตำรับจากคุณสมบัติทางกายภาพ, ความหนืด, การก่อเจล, ความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยา, การสลายตัว และการดูดซับน้ำ โดยมีสมมติฐานงานวิจัยว่าสารช่วยในตำรับได้แก่ polyvinylpyrrolidone (PVP), Poloxamer 407[®] และ Poloxamer 188[®] สามารถช่วยส่งเสริมคุณสมบัติทางกายภาพ ความหนืด ความสามารถในการก่อเจล ความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยา การสลายตัว และการดูดซับน้ำของพอลิเมอร์ PLGA ในตำรับเจลก่อตัวเองเพื่อใช้ในช่องเหงือกได้

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. อุปกรณ์ และสารเคมี

DL-lactide/Glycolide copolymer (Purasorb[®] PDLG 5010, Purac), Sodium chloride (Carlo erba, France), di-Sodium hydrogen phosphate anhydrous (Carlo erba, France), Potassium chloride (Carlo erba, France), Potassium dihydrogen phosphate (Carlo erba, France), Poloxamer 407[®] (Sigma-aldrich, USA), Poloxamer 188[®] (Sigma-aldrich, USA), Polyvinylpyrrolidone K90, N-methyl-2-pyrrolidone (Sigma-aldrich, USA)

2. การเตรียมเจลก่อตัวเองจาก PLGA

โพรยพอลิเมอร์ PLGA (PLA:PGA = 50:50) ในตัวทำละลาย NMP พร้อมกับคนผสมให้เข้ากัน ในสัดส่วน PLGA: NMP เท่ากับ 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10 และ 1:15 (%w/w) คนผสมให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เข้าสู่สมดุลเป็นเวลา 24 ชั่วโมงผสมอีกครั้งจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นประเมินความหนืด, การก่อเจลและการขึ้นรูปเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมของพอลิเมอร์ต่อตัวทำละลายจากความหนืดการก่อเจลและการขึ้นรูป เพื่อศึกษาผลของสารช่วยของตำรับต่อไปในกรณีระบบก่อเจลตัวเองที่มีสารช่วยจะเตรียมจากการนำพอลิเมอร์ PLGA 1 ส่วนผสมกับสารช่วย 1 ส่วน (1:1) รวมกันเป็นปริมาณพอลิเมอร์ในตำรับ 1 ส่วน จากนั้นจึงละลายด้วย NMP ในอัตราส่วนที่เลือกมาข้างต้นเช่นเดิม

3. การทดสอบความหนืด

นำสารละลายที่ได้จากการเตรียมในข้อ 2 ปริมาณ 0.4 มิลลิลิตร มาทำการวัดความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) โดยเครื่อง Rheometer (Model. HAAKE MARS III, Thermo Scientific, Germany) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสด้วย cone and plate (Model. C35/2° TiL and TMP 35) ที่แรงเฉือน (shear rate) ในช่วง 0.05-500 ต่อวินาที ความหนืดปรากฏที่ได้จะถูกวิเคราะห์และประมวลผลโดยโปรแกรม RheoWin

4. การทดสอบความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยา

นำสารละลายที่ได้จากการเตรียมในข้อ 2 บรรจุในกระบอกฉีดยาที่ตั้งอยู่บนขาตั้ง จากนั้นนำน้ำหนักมาตรฐานขนาด 500 กิโลกรัม วางบนกระบอกฉีดยา เพื่อให้แรงดันกับสารละลายในขนาดที่เท่ากันสำหรับทุกตัวอย่าง บันทึกเป็นเวลา (ในหน่วยนาที่) ต่อปริมาณของสารละลายที่ไหลผ่านกระบอกฉีดยา (ต่อ 0.2 มิลลิลิตร)

5. การทดสอบความสามารถในการก่อเจล

นำสารละลายที่ได้จากการเตรียมในข้อ 2 บรรจุลงในกระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร ปริมาณ 0.3 มิลลิลิตร แล้วปล่อยสารละลายลงในตัวกลางที่เป็นสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการสังเกตและบันทึกเวลาที่เวลา 0, 1, 5, 10, 20 และ 30 นาทีเก็บตัวอย่างที่เวลา 1, 3, 5 และ 10 นาทีเพื่อศึกษาลักษณะเจล

6. การทดสอบการสูญเสียน้ำหนักของพอลิเมอร์

นำวัสดุขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนัก (W_1) และจุ่มในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ปริมาณ 5 มิลลิลิตรที่ 37 องศาเซลเซียส เก็บวัสดุทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบเวลานำวัสดุออกจากสารละลาย นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นและซับสารละลายส่วนเกินด้วยกระดาษกรองและนำวัสดุไปทำแห้งด้วย dessicator ที่อุณหภูมิห้อง จนวัสดุมีน้ำหนักคงที่แล้วบันทึกน้ำหนักสุดท้ายที่ได้ (W_3) สามารถคำนวณร้อยละการหายไปของน้ำหนักของพอลิเมอร์ดังสมการที่ (1) (Azahari et al., 2011)

$$\text{Weight loss (\%)} = \frac{(W_1 - W_3)}{W_1} \times 100 \dots \dots \dots \text{สมการ (1)}$$

โดย W_1 คือ น้ำหนักของตัวอย่างก่อนจุ่มสารละลาย มีหน่วยกรัม และ W_3 คือ น้ำหนักแห้งสุดท้ายของตัวอย่าง มีหน่วยกรัม

7. การศึกษาลักษณะทางกายภาพโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM)

ลักษณะทางกายภาพของวัสดุที่แห้งแล้วสามารถทำได้โดยการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM, Model JSM-6010LV, USA) โดยนำตัวอย่างแห้งวางบนแท่นโลหะจากนั้นเคลือบด้วยทองคำภายใต้ระบบสุญญากาศโดยเครื่อง Sputter coater รุ่น SPI-Module แล้วทำการสังเกตและถ่ายภาพที่ 5 กิโลโวลต์ กำลังขยาย 75, 250, 600 และ 1000

สถิติที่ใช้ในการวิจัย

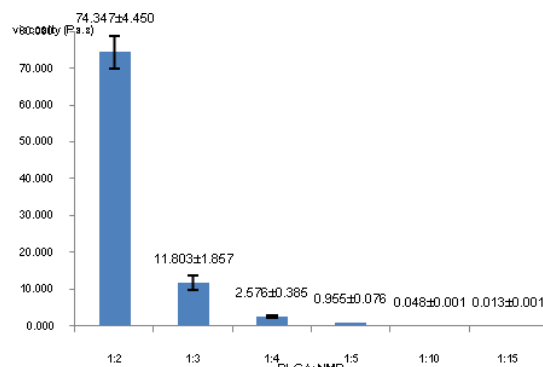
ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบในการวิจัยนี้ทำซ้ำ 3 ตัวอย่าง ($n=3$) สำหรับทุกการศึกษา และนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD) และสถิติที่ใช้ทดสอบได้แก่ independent t-test

ผลการศึกษาราย

1. การศึกษาเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกอัตราส่วนของพอลิเมอร์ PLGA กับตัวทำละลาย NMP ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาต่อไป

1.1 คุณสมบัติการละลายและความหนืด

การละลาย PLGA ด้วย NMP ในอัตราส่วน 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10 และ 1:15 พบว่า PLGA ไม่สามารถละลายจนเป็นเนื้อเดียวกันได้ในเบื้องต้น แต่เมื่อทำการผสมหลังจากตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง การทดสอบด้านความหนืดของ PLGA ด้วย NMP พบว่าที่อัตราส่วน 1:2 มีความหนืดมากที่สุด (74.347 ± 4.450 Pa.s) ไม่สามารถฉีดผ่านเข็มฉีดยาเบอร์ 20 ได้ 1:2 จึงไม่ถูกนำมาใช้ในการศึกษาต่อไปมาทำการศึกษาต่อ (รูปที่ 1)

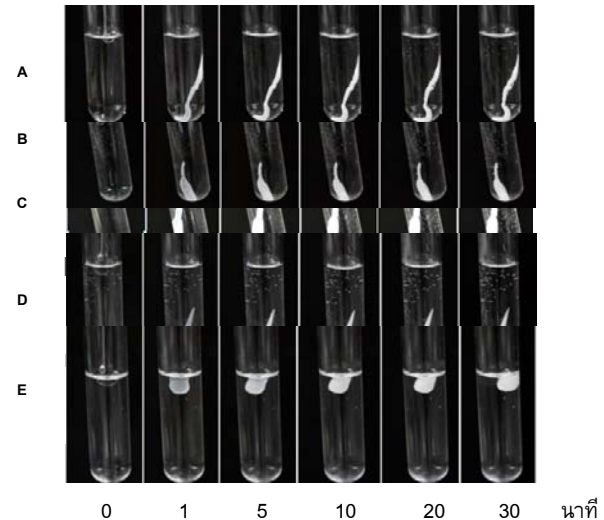


รูปที่ 1 ค่าความหนืด (Pa.s) ของตำรับเจลก่อดำรงที่มีอัตราส่วน PLGA:NMP จากซ้ายไปขวาคือ 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10 และ 1:15

1.2 คุณสมบัติการก่อกเจล (In situ gel forming) และการขึ้นรูป

สารละลายพอลิเมอร์ทุกอัตราส่วนสามารถก่อกเจลได้ตั้งแต่เวลาที่ 1 เป็นต้นไป ลักษณะเจลมีความแข็งขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปโดยสังเกตจากสีของเจล (รูปที่ 2) เมื่อนำ PLGA ที่ก่อกเจล ณ เวลา 0, 1, 5, 10, 20 และ

30 นาที มาศึกษาลักษณะทางกายภาพพบว่า ที่อัตราส่วน 1:10 ณ เวลาที่ 0 นาที และอัตราส่วน 1:15 ณ เวลาที่ 0-1 นาที ไม่สามารถคงรูปร่างได้



รูปที่ 2 การก่อกเจลของ PLGA/NMP ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS) pH 7.4 ที่เวลา 0, 1, 5, 10, 20 และ 30 นาที (ซ้ายไปขวา) ของอัตราส่วน 1:3-1:15 (A-E)

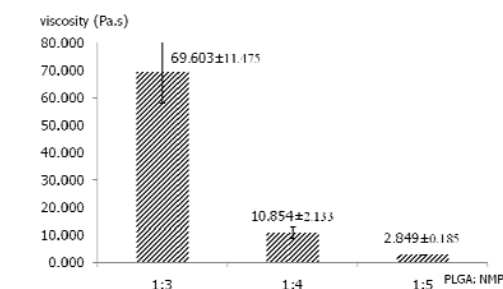
ที่อัตราส่วน 1:10 และ 1:15 พบว่าหากนำไปใช้อาจมีผลต่อความเป็นพิษของร่างกายเนื่องจากมีปริมาณตัวทำละลายมาก นอกจากนี้อาจทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนสูงในช่วงแรกซึ่งส่งผลให้เกิดการเจ็บปวดและเกิด burst effect เกิดขึ้นได้ และแม้ว่าตัวทำละลายที่เลือกจะมีรายงานความเป็นพิษต่ำ แต่ทั้งนี้ยังมีข้อมูลด้านความเป็นพิษในมนุษย์น้อย เนื่องจากข้อมูลความเป็นพิษส่วนใหญ่มักทำการทดลองในสัตว์ทดลอง ดังนั้นจึงควรใช้ NMP ในปริมาณที่น้อยที่สุด ผู้วิจัยจึงต้องการพัฒนาดำรงโดยการลดความหนืด และทำให้เจลมีความนุ่มขึ้น จึงทำการศึกษาในส่วนที่ 2 ต่อไป

2. การศึกษาผลของการเติมสารช่วยในสูตรตำรับ PLGA ต่อ NMP ที่ 1:3, 1:4 และ 1:5

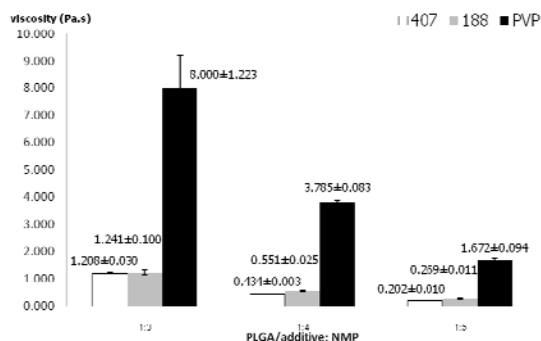
2.1 คุณสมบัติด้านความหนืด (Viscosity)

จากรูปที่ 3 แสดงว่าการละลายสาร PLGA ด้วย NMP พบว่ามีความหนืด 69.60 ± 11.48 , 10.85 ± 2.1 , และ 2.85 ± 0.19 Pa.s ในอัตราส่วน PLGA:

NMP เท่ากับ 1:3, 1:4 และ 1:5 ตามลำดับ และจากผลการทดสอบความหนืดของระบบที่ผสมสารช่วยจะมีความหนืดลดลงในทุกอัตราส่วน (1:3, 1:4 และ 1:5) เมื่อพิจารณาที่อัตราส่วนเดียวกันแต่ต่างชนิดของสารช่วย พบว่า Poloxamer 188® และ Poloxamer 407® มีแนวโน้มที่จะสามารถลดความหนืดได้ดีกว่า PVP (รูปที่ 4) พิจารณาอัตราส่วน 1:3 เมื่อเติมสารช่วยชนิด Poloxamer 407® และ Poloxamer 188® ทำให้ความหนืดลดลง (viscosity มีค่าเท่ากับ 1.208 ± 0.030 และ 1.241 ± 0.100 Pa.s ตามลำดับ) กว่าสารเติมแต่งชนิด PVP (viscosity มีค่าเท่ากับ 8.000 ± 1.223 Pa.s) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากสารช่วยที่เติมเป็นสารที่มีความหนืดน้อยกว่าและเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นพลาสติก-ไซเซอร์ (plasticizers)



รูปที่ 3 ค่าความหนืด (Pa.s) ของตำรับเจลก่อตัวเองที่มีอัตราส่วน PLGA:NMP จากซ้ายไปขวาคือ 1:3, 1:4 และ 1:5 (n=3, mean ± SD)

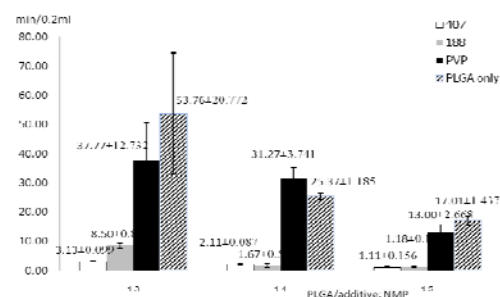


รูปที่ 4 ค่าความหนืด (Pa.s) ของตำรับเจลก่อตัวเองที่มีอัตราส่วน PLGA ผสมสารช่วย (Poloxamer 407®, แท่งสีขาว, Poloxamer 188®, แท่งสีเทา และ PVP; แท่งสีดำ)

แท่งสีดำ) ต่อ NMP เป็น 1:3, 1:4 และ 1:5 (n=3, mean ± SD)

2.2 ความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยา (Injectability)

ผลการทดสอบความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยา (Injectability) พบว่า สารละลาย PLGA ที่ยังไม่มีสารช่วย มีแนวโน้มของความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยาได้ยากที่สุดในทุกอัตราส่วนเมื่อเทียบกับสารละลาย PLGA ที่มีสารช่วย (รูปที่ 5) พบว่าความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยาดีขึ้นซึ่งสอดคล้องกับผลด้านความหนืดที่ว่า สารช่วยที่เติมซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพลาสติก-ไซเซอร์ (plasticizers) จะช่วยให้ความหนืดลดลงได้ โดยที่ปริมาณสารช่วยในตำรับเท่ากับ Poloxamer 188® และ Poloxamer 407® ทำให้ความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยาดีขึ้นกว่า PVP

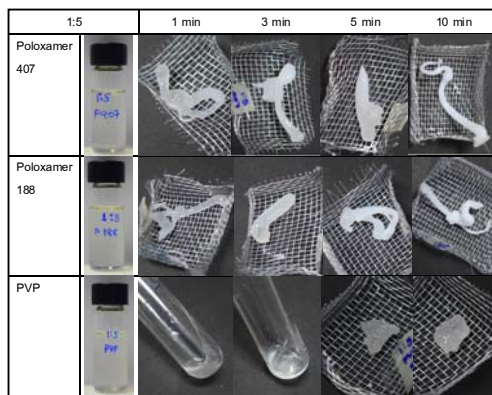


รูปที่ 5 ค่าความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยาของตำรับเจลก่อตัวเองที่มีอัตราส่วน PLGA ผสมสารช่วย (Poloxamer 407; แท่งสีขาว, Poloxamer 188; แท่งสีเทา, PVP; แท่งสีดำ และ PLGA เดี่ยว; แท่งลายขวาง) ต่อ NMP จากซ้ายไปขวาคือ 1:3, 1:4 และ 1:5 (n=3, mean ± SD)

2.3 ลักษณะทางกายภาพและการขึ้นรูปของเจลที่เวลาต่าง ๆ

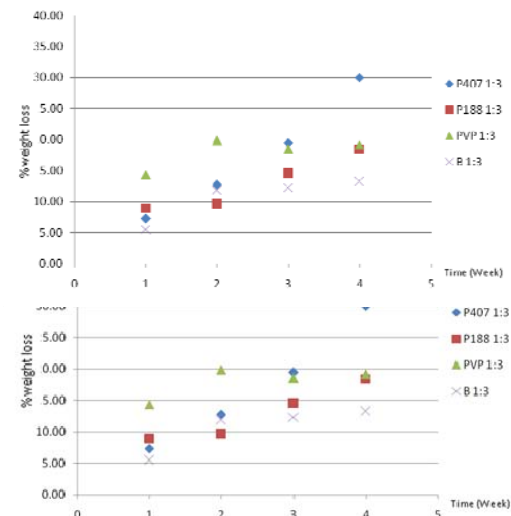
ที่อัตราส่วน PLGA/additive: NMP เป็น 1:3 พบว่า ตำรับที่เติมสารช่วยแตกต่างกันสามารถก่อตัวที่ตั้งแต่ 1 นาที เป็นต้นไปได้เหมือนกัน แต่สารช่วย Poloxamer 407® และ Poloxamer 188® เจลสามารถคงรูปได้เมื่อนำขึ้นมามากบนตะแกรง แตกต่างกับสาร

ช่วย PVP ที่เจลไม่สามารถคงตัวได้ (ตารางที่1)จะเห็นการคงตัวของเจลได้ที่ตั้งแต่นาทีที่ 3 เป็นต้นไป พิจารณานาทีที่1 พบว่า ลักษณะเจลที่มี Poloxamer 407®มีความแข็งแรงโดยสังเกตจากสีของเจลที่มีความขุ่นมากกว่า Poloxamer 188® ที่มีความใสมากกว่า ตารางที่1ลักษณะทางกายภาพของเจล ที่เวลา 1, 3, 5, และ 10 นาทีอัตราส่วน PLGA/additive: NMP คือ 1:3



2.4 การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของพอลิเมอร์ PLGA เมื่อเติมสารช่วย

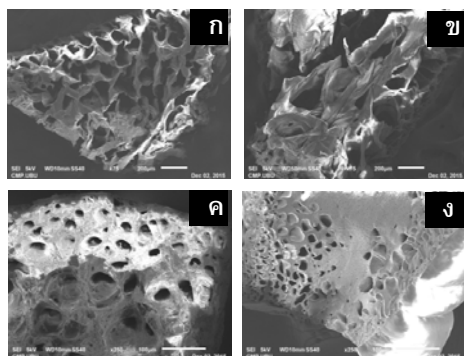
น้ำหนักที่หายไปของวัสดุที่เตรียมจากพอลิเมอร์ PLGA ต่อ NMP ในอัตราส่วน 1:3 เมื่อเปรียบเทียบกับพอลิเมอร์ PLGA ที่เติมสารช่วยทั้ง 3 ชนิด (รูปที่6) พบว่าส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก (% weight loss) ของวัสดุลดลงมากขึ้นเมื่อเทียบกับวัสดุที่เตรียมจากพอลิเมอร์ PLGA เพียงชนิดเดียว เมื่อพิจารณาการเติมสารช่วยกลุ่ม poloxamer พบว่ามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักลดลงมากขึ้นอย่างต่อเนื่องและพบการสูญเสียน้ำหนักของวัสดุที่ใช้ Poloxamer 407®และ Poloxamer 188® เป็นสารช่วยอยู่ในช่วง 7-30% และ 8-19% ตามลำดับ แต่วัสดุที่เติมสารช่วย PVP จะพบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักที่ลดลงมากในช่วงสัปดาห์แรก จากนั้นน้ำหนักจะเริ่มลดลงอย่างคงที่เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 2 ถึง 4 และพบการสูญเสียน้ำหนักอยู่ในช่วง 15-20%



รูปที่ 6 ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของเจลก่อดวงที่เตรียมจาก PLGA; PLGA: NMP ในอัตราส่วน 1:3 (กากบาท) PLGA ที่ผสมสารช่วย Poloxamer 407®: NMP ในอัตราส่วน 1:3 (สี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน), PLGA ที่ผสมสารช่วย Poloxamer 188®: NMP ในอัตราส่วน 1:3 (สี่เหลี่ยมจัตุรัส) และ PLGA ที่ผสมสารช่วย PVP: NMP ในอัตราส่วน 1:3 (สามเหลี่ยม)

ทั้งนี้ไม่พบวัสดุได้มีการสูญเสียน้ำหนักเกิน 40% และจากการสังเกตวัสดุระหว่างการวิจัยพบว่าสามารถคงรูปร่างได้ตลอดการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

2.5 ลักษณะภายนอกภายใน และลักษณะรูพรุนของเจลก่อดวงโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)



รูปที่ 7 ภาพจาก SEM แสดงรูพรุนของวัสดุที่มีอัตราส่วนพอลิเมอร์ต่อ NMP คือ 1:5 ก่อนทดสอบการสูญเสียน้ำหนักที่กำลังขยาย 75 เท่า (ก) Poloxamer407®+PLGA/NMP, (ข) Poloxamer188®+PLGA/NMP, (ค) PVP+PLGA / NMP, (ง) PLGA / NMP

เมื่อเปรียบเทียบขนาดและลักษณะของรูพรุนที่อัตราส่วนเดียวกันเช่น อัตราส่วน 1:5 (รูปที่ 7)พบว่าลักษณะรูพรุนของพอลิเมอร์ PLGA และพอลิเมอร์ PLGAที่ผสมสารช่วย PVP มีรูปร่างรูพรุนมีลักษณะกลมคล้ายกัน ขนาดรูพรุนประมาณ 2-40 μm และ 10-80 μm ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาเนื้อของวัสดุพบว่าพอลิเมอร์ PLGA ที่ผสมสารช่วย PVP จะมีลักษณะเป็นเส้นใยมากกว่า ส่วนลักษณะรูเมื่อผสมสารช่วยกลุ่ม Poloxamer จะมีขนาดรูพรุนใหญ่ ประมาณ 90-220 μm และ 180-270 μm ใน Poloxamer407® และ Poloxamer188® ตามลำดับ และมีผนังรูพรุนบาง

อภิปรายและสรุปผล

ขั้นตอนการละลายพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถละลาย PLGA ละลายจนเป็นเนื้อเดียวกันได้ในทันทีต้องตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนจึงผสมเข้ากันจนหมดเนื่องมาจากในกระบวนการละลายของพอลิเมอร์ขั้นตอนแรกโมเลกุลของตัวทำละลายจะต้องแทรกตัวเข้าไปอยู่ในกลุ่มก้อนของพอลิเมอร์ที่อยู่ในสภาพแห้งก่อน จากนั้นพอลิเมอร์จะเกิดการพองตัวอย่างรวดเร็วและสายพอลิเมอร์จะถูกแยกออกจากกัน ค่อยๆกร่อนละลายออกมาเข้าไปอยู่ในระบบของตัวทำละลาย(อรลักษณ์,2552)

การทดสอบความหนืดจะพบความหนืดมากในตำรับที่มีปริมาณพอลิเมอร์ PLGA มาก เช่นอัตราส่วน 1:2 ทั้งนี้เพราะตัวทำละลายจะทำให้สายพอลิเมอร์เกิดการแผ่ออก สามารถยืดเหยียดได้เต็มที่ที่ทำให้ตำรับมีความหนืดสูง ดังนั้นการที่มีปริมาณพอลิเมอร์ PLGA ที่เท่ากันในทุกตำรับ การเพิ่มตัวทำละลาย NMP จะทำให้ความหนืดลดลงจากการที่มีปริมาณตัวทำละลายอิสระเป็นตัวช่วยให้สายพอลิเมอร์ทั้งนี้การที่พอลิเมอร์มีความหนืดมากจะส่งผลต่อการปลดปล่อยยาช้าลง เพราะการแพร่ของยาและอัตราการกร่อนของพอลิเมอร์เกิดได้ช้า(Thakur, 2014) ต่อมาเมื่อเติมสารช่วยทั้งสามชนิดได้แก่ Poloxamer407®, Poloxamer188® และ PVP พบว่ามีความหนืดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากสารช่วยที่เติมมีคุณสมบัติเป็นพลาสติกไซเซอร์ (plasticizers) จะช่วยลดพันธะภายในระหว่างสายพอลิเมอร์ ทำให้ปริมาณอิสระระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น และยังพบว่าสามารถลดอุณหภูมิกลาสแทรนสิชันของพอลิเมอร์ ทำให้มีแนวโน้มยืดหยุ่นมากขึ้น (Vieira และคณะ, 2011) นอกจากนี้การที่ความหนืดลดลงยังสัมพันธ์กับความสามารถในการฉีดผ่านเข็มฉีดยาที่ดีขึ้นผลของสารช่วยต่อการสูญเสียน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเกิดจากสารช่วยทั้งสามชนิดมีส่วนของโครงสร้างที่ชอบน้ำ (hydrophilic polymer) ทำให้เพิ่มการสลายตัวของเจลก่อตัวเองได้มากขึ้น แต่ที่พบการสลายตัวมากในช่วงแรกเมื่อเพิ่มสารช่วย PVP แต่ไม่พบใน poloxamer นั้น เพราะในส่วนโครงสร้างของ poloxamer มีส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophilic structure) อยู่ด้วยและมีผลการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการเติม PVP ในตำรับพอลิเมอร์ PLGA เพียง 3% จะทำให้การแยกเฟสของของเหลวเร็วขึ้นถึง 8 เท่าแต่ไม่ผลต่ออัตราการซึมเข้าผ่านของน้ำเข้าสู่วัสดุ (Zeng et al, 1999) สอดคล้องกับผล ลักษณะภายใน และลักษณะรูพรุนจากกล้อง SEM เมื่อผสมสารช่วย Poloxamer พบว่ารูพรุนมีขนาดใหญ่ขึ้น ผนังรูพรุนบางลงเมื่อเทียบกับพอลิเมอร์ PLGA ที่ไม่เติมสารช่วย ทำให้น้ำผ่านเข้าของไปในพอลิเมอร์ได้มาก เพิ่มโอกาสในการสัมผัสกันของน้ำและพอลิเมอร์จึงมีการสูญเสียพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นต่อเนื่องแตกต่างจากสารช่วย PVP จะพบว่ารูพรุนทั้งขนาดและความหนาของผนังไม่แตกต่างจากพอลิเมอร์ PLGA ทำให้การสัมผัสกันของน้ำและพอลิเมอร์น้อยกว่า และอาจ

มีคุณสมบัติเหมาะสมในการควบคุมการปลดปล่อยยา ออกฤทธิ์เนิ่นได้ดีกว่า poloxamer นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าการสูญเสียพอลิเมอร์ (degradation) มีผลต่อการปลดปล่อยยามากกว่าเมื่อเทียบกับปริมาณ การตกผลึก (degree of crystallinity) (Zilberman, 2008) ดังนั้นจากการทดลองไม่พบวัสดุใดที่มีการสูญเสีย น้ำหนักเกิน 40% และคงรูปร่างได้ตลอดการทดลอง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ วัสดุเพื่อควบคุมการปลดปล่อยยาได้ ดังนั้น จาก การศึกษานี้สรุปได้ว่าสารช่วยกลุ่ม poloxamer หรือ PVP มีความจำเป็นสำหรับการเตรียมเจลก่อตัวเองที่ เตรียมจากพอลิเมอร์ PLGA เป็นหลัก โดยวิธี แลกเปลี่ยนตัวทำละลายเพื่อช่วยให้วัสดุมีคุณลักษณะที่ เหมาะสมสำหรับใช้ในช่องเหงือก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้การสนับสนุนด้าน สารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

อรรถกฤษณ์ แพร่ตฤณ. เทคโนโลยีการเคลือบทางเภสัช

กรรม (Pharmaceutical coating

technology). นครนายก: สาขาวิชา

เทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, 2552.

Brodbeck KJ, McHugh AJ. Phase inversion

dynamics of PLGA solutions related to

drug delivery. *J. Control. Release* 1999;

54: 233-245.

Do MP. In situ forming implants for the treatment

of periodontitis. Human health and

pathology. Universit e du Droit et de la

Sant e - Lille II, 2014.

Setthajindalert O, Phaechamud T. Solvent

Exchanged In Situ Forming Gel. *Thai*

Pharm Health Sci J 2012; 7(3):137-142.

Ramchandania M, Robinson D. In vitro and in vivo release of ciprofloxacin from PLGA 50:50 implants. *J. Control. Release* 1998; 54: 167-175.

Thakur R, McMillan H, Jones D. 2014. Solvent induced phase inversion-based in situ forming controlled release drug delivery implants. *J. Control. Release* 176:8-23.

Vieira M, Silva M, dos Santos LO. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *Eur. Polym. J.* 2011; 47; 254-263

Zeng N, Dumortier G, Maury M, et al. Influence of additives on a thermosensitive hydrogel for buccal delivery of salbutamol: Relation between micellization, gelation, mechanic and release properties. *Int. J. Pharm.* 2014; 467: 70-83.

Zilberman M, Malka A. Drug controlled release from structured bioresorbable films used in medical devices-A mathematical model. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater* 2009;89B(1):155-164.