Thesis Title Synthesis and Fabrication Poly(L-lactide-*co*-*ε*-caprolactone) Biodegradable Nerve Guides with Controlled Dimensions and Microporosity

Author Miss Daranee Khunphet

Degree Master of Science (Chemistry)

Thesis Advisory Committee

Assistant Professor Dr. Winita Punyodom Advisor

Dr. Robert Molloy Co-advisor

ABSTRACT

The main aim of this research project is to control dimensions and microporosity of porous poly(L-lactide-*co*-*ε*-caprolactone), PLC tubes for use as a temporary scaffold in reconstructive nerve surgery. PLC was synthesized by ring-opening polymerization (ROP) at 120 °C for 72 hours using 0.1 mole% stannous octoate and 0.01 mole% 1-hexanol as the initiating system. The PLC random copolymer (LL:CL = 49:3:50.7 mole%) was amorphous with an intrinsic viscosity, [η], of 1.01 dl/g in chloroform at 25°C.

The PLC nerve guides tubes were prepared by different techniques such as dip-coating, dip-coating/phase immersion precipitation, dip-coating/porosifying agent leaching, dip-coating/phase immersion precipitation/ porosifying agent leaching and electrospinning. The suitable porous nerve guides tubes (pore size = 9.70 ± 6.05 μm, pore distribution = 0.83 and porosity = 46.8 %) could be prepared via dip-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

coating/phase immersion precipitation/poly(ethylene glycol), PEG leaching techniques. The suitable condition for preparation PLC porous tubes was as following. PLC and PEG-$\overline{M}_w$8,000 solution (85:15 %wt) using chloroform as solvent was dip-coated on the K-wire mold and then immersed into 50:50 v/v of DMF: 1,4-dioxane as mixed-solvent for 5 mins. After that the polymers coating were immersed into water as non-solvent bath at 30°C for 1 day and dried in vacuum oven. A three-component phase diagram (copolymer-solvent/non-solvent) could explain the creation of a porous structure during the solvent evaporation. Electrospinning technique was also used to fabricate PLC porous nerve guides in this research. The optimal electrospinning condition to produce consistent and uniform nanofibers from PLC was 14% w/v polymer concentration in 7:3% DMC:DMF, 15 cm of distance between the needle and collector, 15 kV of applied electric field strength. It was found that PLC electrospun tubes with the interconnect pore were produced by electrospinning technique. The thickness and porosity of this tube were 218±20 nm and 60.4 % respectively. However, the nanofibers in electrospun PLC tubes which produced form this condition were agglomerated after spun for 3 weeks that are not suitable for use as nerve guides.

The *in vitro* hydrolytic degradation of porous PLC tubes prepared by dip-coating/phase immersion precipitation/ poly(ethylene glycol), PEG leaching techniques and non-porous PLC tubes prepared by dip-coating were evaluated by immersion in a phosphate buffer saline (PBS) solution at pH 7.40 and a temperature of 37.0 °C in an incubator for 25 weeks. The porous tubes degraded faster than the non-porous PLC tubes because of the water can be diffused rapidly into the porous tubes. The pH change of PBS solution basically synchronized with the weight loss of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

the tubes. The difference in the property loss profiles as described by autocatalysed simple hydrolysis preferentially of ester bonds demonstrates the sensitivity of biodegradability to changes in porosity. From the SEM micrographs, hydrolytic degradation was considered to proceed via surface rather than bulk erosion, leading to surface microcrack formation and ultimately fragmentation. The introduction of porosity of nerve guides is important to control the degradation rate, which is expected to improve the efficiency of nerve repair.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การสังเคราะห์และการขึ้นรูปท่อนำเส้นประสาทที่สลายตัวทางชีวภาพ พอลิ(แอล-แลคไทด์-โค-เอปไซลอน-แคโพรแลคโทน) ที่ถูกควบคุมขนาดและรูพรุนระดับไมโคร

ผู้เขียน นางสาว ดารณี ขันเพ็ชร

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วินิตา บุณโยดม อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ดร. โรเบิร์ต มอลลอย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยนี้คือ เพื่อควบคุมขนาดและรูพรุนระดับไมโครของท่อ พอลิ(แอล-แลคไทด์-โค-เอปไซลอน-แคโพรแลคโทน) (พีแอลซี) ที่มีรูพรุนสำหรับใช้เป็นโครงยึดชั่วคราวในศัลยกรรมเส้นประสาท พีแอลซีได้ถูกสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาการพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยใช้สแตนนัส ออกโทเอทและเฮกซานอลเป็นระบบริเริ่มปฏิกิริยา โคพอลิเมอร์พีแอลซีแบบสุ่มอัตราส่วน 49.3 :50.7 เปอร์เซ็นต์โดยโมลที่สังเคราะห์ได้มีโครงสร้างเป็นแบบอสัณฐาน ค่าความหนืดอินทรินสิกในตัวทำละลายคลอโรฟอร์มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเท่ากับ 1.01 เดซิลิตรต่อกรัม

ได้ทำการเตรียมท่อนำเส้นประสาทพีแอลซีโดยใช้หลายเทคนิค เช่น เทคนิคการจุ่มเคลือบ เทคนิคการจุ่มเคลือบ/การตกตะกอนเพื่อแยกเฟส เทคนิคการจุ่มเคลือบ/การเติมสารที่มีรูพรุนแล้วดึงออก เทคนิคการจุ่มเคลือบ/การตกตะกอนเพื่อแยกเฟส/การเติมสารที่มีรูพรุนแล้วดึงออก และ เทคนิคอิเลคโทรสปินนิง สา มารถเตรียมท่อนำเส้นประสาทที่มีรูพรุนที่เหมาะสมได้โดยเทคนิคการจุ่มเคลือบ/การตกตะกอนเพื่อแยกเฟส/การเติมพอลิ(เอธิลีน ไกลคอล) (พีอีจี) แล้วดึงออก มีขนาดของรูเท่ากับ 9.70± 6.05 ไมครอน การกระจายของรูเท่ากับ 0.83 และความเป็นรูพรุนเท่ากับ 46.8 เปอร์เซ็นต์ สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพีแอลซีที่มีรูพรุนคือ สารละลายพีแอลซีและพีอีจีที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก 8000 อัตราส่วน 85 :15 โดยน้ำหนัก มีคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายได้ถูกจุ่มเคลือบบนลวดต้นแบบ หลังจากนั้นจุ่มลงในตัวทำละลายผสมระหว่างไดเมธิลฟอร์มาไมด์ต่อ 1,4-ไดออกเซน อัตราส่วน 50 :50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นจุ่มในน้ำซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวไม่ละลายที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน และทำให้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แห้งในตู้อบสุญญากาศ ในการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เฟสไดอะแกรมสามองค์ประกอบ (โคพอลิเมอร์-ตัวทำละลาย -ตัวไม่ละลาย) อธิบายการเกิดรูพรุนในช่วงการระเหยได้ นอกจากนี้ได้ใช้เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงในการขึ้นรูปท่อนำเส้นประสาทพีแอลซีที่มีรูพรุนในงานวิจัยนี้ด้วย สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเส้นใยนาโนที่มีขนาดสม่ำเสมอ คือ สารละลายพอลิเมอร์มีความเข้มข้น 14 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทนต่อไดเมธิลฟอร์มาไมด์ อัตราส่วน 7:3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ระยะระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับเท่ากับ 15 เซนติเมตร ความต่างศักย์ 15 กิโลโวลต์ ท่อที่เตรียมได้มีความหนา 218±20 นาโนเมตร และ ความเป็นรูพรุนเท่ากับ 60.4 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามเส้นใยนาโนในท่อพีแอลซีที่เตรียมโดยเทคนิคอิเลคโทรสปินนิง เกิดการรวมตัวกันเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 สัปดาห์ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นท่อนำเส้นประสาท

การทดสอบการสลายตัวภายนอกร่างกายแบบไฮโดรไลติกของท่อพีแอลซีที่มีรูพรุนที่เตรียมโดยเทคนิค การจุ่มเคลือบ/การตกตะกอนเพื่อแยกเฟส /การเติมพอลิ(เอธิลีน ไกลคอล) (พีอีจี) แล้วดึงออก และ ท่อพีแอลซีที่มีรูพรุนที่เตรียมโดยเทคนิค การจุ่มเคลือบ ได้ถูกศึกษาโดยจุ่มในสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ซาไลน์ พีเอช 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในตู้อินควิเบเตอร์เป็นเวลา 25 สัปดาห์ พบว่าท่อที่มีรูพรุนสลายตัวเร็วกว่าท่อที่ไม่มีรูพรุนเนื่องจากน้ำสามารถแพร่ผ่านเข้าไปได้มากกว่า การเปลี่ยนแปลงพีเอชของสารละลายจะสอดคล้องกับการสูญเสียน้ำหนักของท่อ ความแตกต่างของการสูญเสียน้ำหนักของท่อ สามารถอธิบายได้โดยกระบวนการไฮโดรไลซิสอย่างง่ายของพันธะเอสเทอร์ที่แสดงให้เห็นว่ากระบวนการสลายตัวขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงความเป็นรูพรุน จากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด อธิบายการสลายตัวแบบไฮโดรไลติกได้ว่าเกิดที่ผิวมากกว่าที่จะเกิดการทำลายโดยรวม ซึ่งจะนำไปสู่การการแตกที่ผิวในระดับไมโครและแตกเป็นชิ้นเล็กๆ ในที่สุด การที่ทำให้ท่อนำเส้นประสาทมีรูพรุนนี้เป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการควบคุมอัตราการสลายตัว ซึ่งคาดว่าจะสามารถปรับปรุงประสิทธิภาพของการซ่อมแซมเส้นประสาทได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved