

**THE EFFECT OF MOLECULAR WEIGHT OF PLGA ON
DEX-P LOADED PLGA NANOPARTICLES
ENCAPSULATION EFFICIENCY**

Surachet Duanghathaipornsuk

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Degree of Master of Science
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University in
Academic Partnership with The University of Michigan,
The University of Oklahoma, and Case Western Reserve University
2015

I 28369312

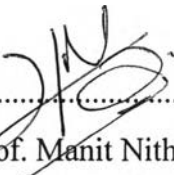
580074

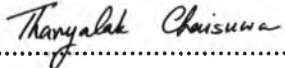
Thesis Title: The Effect of Molecular Weight of PLGA on DEX-P Loaded
PLGA Nanoparticles on Encapsulation Efficiency
By: Surachet Duanghathaipornsuk
Program: Polymer Science
Thesis Advisor: Asst. Prof. Manit Nithitanakul

Accepted by The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn
University, in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master of
Science.


..... College Dean
(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:


.....
(Asst. Prof. Manit Nithitanakul)


.....
(Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan)


.....
(Asst. Prof. Pornsri Sapsrithong)

ABSTRACT

5672024063: Polymer Science Program

Surachet Duanghathaipornsuk: Effect of Molecular Weight of PLGA on DEX-P Loaded PLGA Nanoparticles on Encapsulation Efficiency

Thesis Advisor: Asst. Prof. Manit Nithitanakul 40 pp.

Keywords: PLGA polymer/ Dexamethasone/ Double emulsion technique

Biodegradable polymer is one of the most suitable polymers for drug delivery system in human body. One of these polymers is poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA), which has properties like biodegradability, biocompatibility, and non-toxicity. Magnetic PLGA nanoparticles were synthesized by the water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsion technique using poly(vinyl alcohol) as a surfactant. Dexamethasone Phosphate (DEX-P) was used as a model drug. The concentration of drug in the water inner phase was varied using high and low molecular weight of PLGA in order to study the concentration of drug on loading efficiency and release profile. In this study, magnetization and magnetite loading to PLGA nanoparticles were determined by a vibrating sample magnetometer (VSM) and thermogravimetric analyzer (TGA), respectively. Particle size and the aggregation of magnetite (Fe_3O_4) in PLGA nanoparticles were evaluated by TEM. Moreover, the zeta potential of PLGA nanoparticles was determined by dynamic light scattering technique. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used and studied the drug loading and the drug release profile of the loaded sample.

บทคัดย่อ

ศุรเชษฐ ดวงหทัยพรสุข : อิทธิพลของมวลโมเลกุลของพอลิดีแอลแลคไทด์โคโกลโคไลด์ต่อการประสิทธิภาพในการห่อหุ้มเดกซามิทาโซนโซเดียมฟอสเฟตในอนุภาคของพอลิดีแอลแลคไทด์โคโกลโคไลด์ (The effect of Molecular Weight of PLGA on DEX-P Loaded PLGA Nanoparticles on Encapsulation Efficiency) อ.ที่ปรึกษา ผศ. ดร. มานิตย์ นิธิธนากุล 40 หน้า

พอลิดีแอลแลคไทด์โคโกลโคไลด์ (poly(D,L-lactide-co-glycolide)) (PLGA) เป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้และเหมาะสมสำหรับใช้เป็นระบบนำส่งยาในร่างกายมนุษย์ เนื่องจากคุณสมบัติในการย่อยสลายทางชีวภาพและปราศจากความเป็นพิษ อนุภาคนาโนแมกนีไทท์ไม่มีขั้ว (hydrophobic magnetite nanoparticle) ที่ถูกห่อหุ้มด้วยพอลิดีแอลแลคไทด์โคโกลโคไลด์สังเคราะห์ด้วยกระบวนการวิภาคน้ำในน้ำมันในน้ำของอิมัลชัน (water-in-oil-in-water emulsion method) โดยใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (poly vinyl alcohol) (PVA) เป็นตัวกระจายอนุภาคและเดกซามิทาโซนโซเดียมฟอสเฟต (dexamethasone sodium phosphate) เป็นยาต้นแบบ งานวิจัยนี้ศึกษาอิทธิพลของน้ำหนักเริ่มต้นของเดกซามิทาโซนโซเดียมฟอสเฟต (1 มก., 2 มก., 3 มก., 4 มก.) ต่อประสิทธิภาพในการห่อหุ้มและปริมาณปลดปล่อยสะสมในพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำและมวลโมเลกุลสูง ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาศึกษาได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscopy) (TEM) โดยอนุภาคของนาโนแมกนีไทท์และเดกซามิทาโซนโซเดียมฟอสเฟตที่ถูกห่อหุ้มด้วยพอลิเมอร์มีลักษณะกลม การศึกษาขนาดอนุภาคและค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคด้วยเครื่องกระจายแสงแบบไดนามิก (dynamic light scattering) (DLS) พบว่าอนุภาคของนาโนแมกนีไทท์และเดกซามิทาโซนโซเดียมฟอสเฟตที่ถูกห่อหุ้มด้วยพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำมีขนาดเฉลี่ย 348.4 นาโนเมตร และที่มีมวลโมเลกุลสูงมีขนาดเฉลี่ย 414.3 นาโนเมตร โดยค่าศักย์ไฟฟ้าทั้งสองชนิดของพอลิเมอร์ประมาณ -20 มิลลิโวลต์ การศึกษาประสิทธิภาพในการห่อหุ้มและปริมาณปลดปล่อยสะสมด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography) (HPLC) พบว่าพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลสูงมีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มมากกว่าพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ในส่วนของปริมาณปลดปล่อยสะสมพบว่า พอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลสูงมีความสามารถในการปลดปล่อยเดกซามิทาโซนโซเดียมฟอสเฟตในระยะเวลาที่ยาวนานกว่าพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ

ACKNOWLEDGEMENTS

This thesis would not have been accomplished without the guidance and the support from many persons. I would like to take this opportunity to extend my heartfelt gratitude to the following.

First of all, I would like to express my profound gratitude to Asst. Prof. Manit Nithitanakul for providing me with valuable supports. He always gives me the constructive and concrete suggestions so that I can come up with the best solution to all problems. Without his generosity and understanding, I cannot overcome all problems of my research. Besides, he is not only my best professor, but also my perfect role model. Most of his working time involved laying the foundation for the high quality of education. I admire him for his compassion, dedication, and integrity.

Second, I would like to express my cordial thanks to The Petroleum and Petrochemical College. This college provided me with the greatest opportunity to broaden my intellectual horizon and fulfill my knowledge of polymer science. All faculties and staff members treated me as one of their family. This is why I would like to attribute my success to The Petroleum and Petrochemical College. Moreover, I have to say thank to Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan and Asst. Prof. Pronsri Sapsrithong for being the generous thesis committee.

Finally, I am grateful for partial scholarship and partial funding of the thesis work provided by The Petroleum and Petrochemical College. Moreover, this research work was partially supported by the Ratchadapisek Sompoch Endowment Fund (2013), Chulalongkorn University (CU-56-900-FC) and Thailand Research Fund (IRG5780012).

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
Title Page	i
Abstract (in English)	ii
Abstract (in Thai)	iii
Acknowledgements	iv
Table of Contents	v
List of Tables	ix
List of Figures	x
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II LITERATURE REVIEW	4
2.1 Theoretical Background	4
2.2 Literature Review	4
2.2.1 Poly(D, L-lactic-co-glycolide) (PLGA)	4
2.2.2 Superparamagnetic Iron Oxide (Fe ₃ O ₄)	5
2.2.3 Water-In-Oil-In-Water (w/o/w) Double Emulsion	6
2.2.4 The Factors Affect PLGA Nanoparticle's Properties	7
2.2.5 Dexamethasone Phosphate (DEX)	10
2.2.6 Application for Drug Carrier	10
2.3 Objectives	12
2.3.1 Synthesize Superparamagnetic Iron Oxide (Fe ₂ O ₃) PLGA Nanoparticles	12
2.3.2 Study the Effect of the Initial Concentration of Dexamethasone Sodium Phosphate (DEX) on the Loading Efficiency and Release Behavior	12

CHAPTER	PAGE
2.3.2 Compare Loading Efficiency and Release Behavior between Low and High Molecular Weight of Superparamagnetic Iron Oxide (Fe ₃ O ₄) PLGA Nanoparticles	12
III METHODOLOGY	
3.1 Material	13
3.2 Synthesis of Hydrophobic Magnetite	13
3.3 Synthesis of Dexamethasone Sodium Phosphate Loaded on Non-Porous Superparamagnetic Iron Oxide PLGA Nanoparticles	13
3.4 Characterization of Dexamethasone Sodium Phosphate Loaded on Iron Oxide PLGA Nanoparticles	14
3.4.1 Characterization of OA-coated Magnetite	14
3.5 Determination of Loading Efficiency and DEX Release Profile	14
3.5.1 Particle Sizing and Zeta Potential	14
3.5.2 Transmission Electron Microscopy (TEM)	14
3.5.3 Magnetization Measurement	14
3.5.4 Thermogravimetric Analysis (TGA)	15
3.5.5 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	15
3.5.6 Drug Loading	15
3.5.7 In Vitro Release Study	15

CHAPTER		PAGE
IV	RESULTS AND DISCUSSION	17
	4.1 Particle Analysis	17
	4.1.1 Characterization of Hydrophobic Magnetite	17
	4.1.2 Characterization of PLGA Nanoparticles	19
	4.2 Encapsulation Efficiency	22
	4.3 In Vitro Drug Release Studies	23
	4.3.1 The Effect of Molecular Weight of PLGA on Drug Release Profile	25
	4.3.2 The Effect of the Initial Mass of Dexamethasone on Drug Release Profile	26
V	CONCLUSIONS	29
	REFERENCES	30
	APPENDICES	36
	Appendix A Size Distribution of Dexamethasone Loaded Low Molecular Weight Superparamagnetic Iron Oxide PLGA Nanoparticles	36
	Appendix B Size Distribution of Dexamethasone Loaded High Molecular Weight Superparamagnetic Iron Oxide PLGA Nanoparticles	37
	Appendix C Zeta Potential of Dexamethasone Loaded Low Molecular Weight Superparamagnetic Iron Oxide PLGA Nanoparticles	38

CHAPTER	PAGE
Appendix D Zeta Potential of Dexamethasone Loaded High Molecular Weight Superparamagnetic Iron Oxide PLGA Nanoparticles	39
CURRICULUM VITAE	40

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
1	Calculation of the percentage of encapsulation efficiency of four initial mass of dexamethasone loaded low and high molecular weight PLGA nanoparticles	21

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
2.1 The double emulsion solvent evaporation method.	7
2.2 The chemical structure of dexamethasone sodium phosphate.	10
4.1 FTIR spectra of (A) pure OA; (B) Fe ₃ O ₄ coated with OA.	18
4.2 Plot of magnetization, (a) pure magnetite nanoparticles, (b) PLGA nanoparticles loaded magnetite nanoparticles.	18
4.3 Thermo-gravimetric curve of OA-coated magnetite and PLGA encapsulated Magnetite.	19
4.4 TEM images of synthesized PLGA nanoparticles loaded with SPION coated oleic acid.	20
4.5 The percentages of encapsulation efficiency on low and high molecular weight PLGA with varying the initial mass of dexamethasone.	21
4.6 In vitro release profiles of dexamethasone loaded low and high molecular weight of PLGA sub-micro particles; (A) 1 mg of an initial mass, (B) 2 mg of an initial mass.	23
4.7 In vitro release profiles of dexamethasone loaded low and high molecular weight of PLGA sub-micro particles; (C) 3 mg of an initial mass, and (D) 4 mg of an initial mass.	24
4.8 In vitro release profiles of 1, 2, 3 and 4 mg of dexamethasone loaded PLGA nanoparticles; (A) loaded low molecular weight, (B) loaded high molecular weight.	27
A1 Size distribution of dexamethasone loaded low molecular weight superparamagnetic iron oxide PLGA nanoparticles using malvern zetalyzer nano series.	36
B1 Size distribution of dexamethasone loaded high molecular weight superparamagnetic iron oxide PLGA nanoparticles using Malvern zetalyzer nano series	37

FIGURE	PAGE
C1 Zeta potential of dexamethasone loaded LOW molecular weight superparamagnetic iron oxide PLGA nanoparticles using malvern zetasizer nano series.	38 .
D1 Zeta potential of dexamethasone loaded high molecular weight superparamagnetic iron oxide PLGA nanoparticles using malvern zetasizer nano series.	39