การเกิดและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของมัลติเลเยอร์ฟิล์มประกอบจากอนุพันธ์ที่มีประจุของไคโทซาน

นางสาววิไลพร ไกรสุวรรณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550

FORMATION AND BIOCOMPATIBILITY OF MULTILAYER FILMS ASSEMBLED FROM CHARGED DERIVATIVES OF CHITOSAN

Miss Wilaiporn Graisuwan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Petrochemistry and Polymer Science
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2007

Thesis Title	FORMATION AND BIOCOMPATIBILITY OF MULTILAYER FILMS ASSEMBLED FROM CHARGED DERIVATIVES OF CHITOSAN
By	Miss Wilaiporn Graisuwan
Field of Study	Petrochemistry and Polymer Science
Thesis Advisor	Assistant Professor Voravee P. Hoven, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Professor Suda Kiatkamjornwong, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....Dean of the Faculty of Science
(Professor Supot Hannongbua, Dr.rer.nat.)

THESIS COMMITTEE

.....Chairman
(Associate Professor Supawan Tantayanon, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Assistant Professor Voravee P. Hoven, Ph.D.)

.....Thesis Co-advisor
(Professor Suda Kiatkamjornwong, Ph.D.)

.....Member
(Assistant Professor Varawut Tangpasuthadol, Ph.D.)

.....Member
(Associate Professor Nuanphun Chantarasiri, Ph.D.)

วิไลพร ไกรสุวรรณ: การเกิดและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของมัลติเลเยอร์ฟิล์มประกอบจากอนุพันธ์ที่มีประจุของไคโทซาน (FORMATION AND BIOCOMPATIBILITY OF MULTILAYER FILMS ASSEMBLED FROM CHARGED DERIVATIVES OF CHITOSAN) อ. ที่ปรึกษา: ผศ.ดร. วรวีร์ โฮเว่น, อ.ที่ปรึกษาร่วม: ศ.ดร. สุดา เกียรติกำจรวงศ์, 84 หน้า.

อนุพันธ์ที่มีประจุของไคโทซาน, เอ็น-[(2-ไฮดรอกซิล-3-ไตรเมทิลแอมโมเนียม)โพรพิว]ไคโทซาน คลอไรด์, เอ็น-ซักซินิลไคโทซาน และเอ็น-ซัลโฟเฟอร์ฟูริลไคโทซาน ถูกเตรียมขึ้นโดยปฏิกิริยาเปิดวงของไกลซิดิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์, ปฏิกิริยาการเปิดวงของซักซินิกแอนไฮไดรด์ด้วยหมู่แอมิโนของไคโทซาน และปฏิกิริยารีดักทีฟอัลคิลเลชันโดยใช้เกลือโซเดียมของ 5-ฟอร์มิล-2-ฟิวแรนซัลโฟนิกแอซิดเป็นรีเอเจนต์ ตามลำดับ วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้ด้วยโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์และเอฟทีไออาร์ เตรียมมัลติเลเยอร์ฟิล์มของอนุพันธ์ที่มีประจุของไคโทซานและพอลิอิเล็กโทรไลต์ที่มีประจุตรงข้ามได้โดยวิธีการดูดซับแบบประกอบชั้นต่อชั้นบนพื้นผิวซับสเตรตของพอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลตที่ผ่านการบำบัดพื้นผิวได้ ติดตามกระบวนการประกอบเป็นฟิล์มด้วยควอตซ์คริสทัลไมโครบาลานซ์ ผลจากการวัดมุมสัมผัสของน้ำแสดงให้เห็นว่ามัลติเลเยอร์ฟิล์มมีลักษณะเป็นชั้น ตรวจสอบการปกคลุมของฟิล์มที่ประกอบขึ้นด้วยอะตอมมิกฟอร์ซไมโครสโกปีและเอทีอาร์เอฟทีไออาร์สเปกโทรสโกปี จากการทดสอบการตอบสนองทางชีวภาพของฟิล์มที่ประกอบขึ้นที่มีต่อการยึดเกาะและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในหลอดทดลอง แสดงแนวโน้มแบบสลับเล็กน้อยขึ้นกับฟิล์มชั้นนอกสุด ผลจากงานวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็นว่าอนุพันธ์ที่มีประจุทั้งสามชนิดของไคโทซานเป็นตัวเลือกที่มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ทางด้านชีวการแพทย์

สาขาวิชา ปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ ลายมือชื่อนิสิต วิไลพร ไกรสุวรรณ

ปีการศึกษา 2550 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

4872471623 : MAJOR PETROCHEMISTRY AND POLYMER SCIENCE
KEY WORD: CHARGED DERIVATIVE / LAYER-BY-LAYER ADSORPTION / MULTILAYER FILM / POLYELETROLYTE / BIOCOMPATIBILITY

WILAIPORN GRAISUWAN: FORMATION AND BIOCOMPATIBILITY OF MULTILAYER FILMS ASSEMBLED FROM CHARGED DERIVATIVES OF CHITOSAN. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. VORAVEE P. HOVEN, Ph.D, THESIS CO-ADVISOR: PROF. SUDA KIATKAMJORNWONG, Ph.D, 84 pp.

Charged derivatives of chitosan, *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl] chitosan chloride (HTACC), *N*-succinyl chitosan (SCC), and *N*-sulfofurfuryl chitosan (SFC) were prepared by ring opening of glycidyltrimethylammonium chloride (GTMAC), ring opening of succinic anhydride (SA) by amino groups of chitosan, and reductive alkylation using 5-formyl-2-furansulfonic acid, sodium salt (FFSA) as a reagent, respectively. The chemical structures of the charged derivatives were verified by ^{1}H NMR and FTIR. Multilayer films of charged derivatives of chitosan and selected oppositely charged polyelectrolytes on the surface-treated poly(ethylene terephthalate) (treated PET) substrates were fabricated by alternate layer-by-layer assembly. The assembly process was monitored by quartz crystal microbalance (QCM). Stratification of the multilayer film was demonstrated by water contact angle data. The coverage of the assembled films was characterized by atomic force microscopy and ATR-FTIR spectroscopy. Biological responses of the assembled films as assessed by *in vitro* cell adhesion and proliferation of fibroblasts showed slight alternating trend depending on the outermost layer. The results also suggest that these three charged derivatives of chitosan are potential candidates for biomedical applications.

Field of study Petrochemistry and Polymer Science Student' signature Wilaiporn Graisuwan
Academic year 2007 Advisor's signature Vp. Hoven.
Co-Advisor's signature Suda Kiatkamjornwong

ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to express my sincere and deep gratitude to my advisor, Assistant Professor Dr. Voravee P. Hoven and my co-advisor, Professor Dr. Suda Kiatkamjornwong for their thoughtful guidance, steady encouragement and support, and consistent generosity and consideration. Working with them has been the best course of my study. I would also like to thank all my committee members, Associate Professor Dr. Supawan Tantayanon, Assistant Professor Dr. Varawut Tangpasuthadol and Associate Professor Dr. Nuanphun Chantarasiri for their valuable suggestions and time to review the thesis.

I gratefully acknowledge the financial support provided by a Research Team Promotion Grant from the Thailand Research Fund (RTA4780004 and RTA5080004).

My thanks also go to Spectroscopy Research Group and Associate Professor Dr. Sanong Egkasit for ATR-FTIR facility and Ms. Songchan Puthong from the Institute of Biotechnology and Genetic Engineering, Chulalongkorn University for her excellent assistance and suggestions on cell culture studies.

I wish to thank all members of Organic Synthesis Research Unit (OSRU), and all my friends, for their friendliness, helpful discussions, cheerful attitude and encouragements during my thesis work.

Finally, I also wish to especially thank my family members for their love, kindness and support throughout my entire study.

CONTENTS

Page

Page

LIST OF TABLES

Table Page

LIST OF FIGURES

Figure Page

Figure Page

LIST OF SCHEMES

LIST OF ABBREVIATION

AFM	:	Atomic Force Microscopy
ATR-FTIR	:	Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy
CHI	:	Chitosan
DD	:	Degree of deacetylation
DMSO	:	Dimethylsulfoxide
FBS	:	Fetal bovine serum
FFSA	:	5-Formyl-2-furansulfonic acid, sodium salt
FTIR	:	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GTMAC	:	Glycidyltrimethylammonium chloride
HATCC	:	*N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride
IRE	:	Internal reflection element
L929	:	Fibroblast cell
LBL	:	Layer-by-layer
MTT	:	3-(4,5-Dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide
NMR	:	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
OD	:	Optical density
PAA	:	Poly(acrylic acid), sodium salt
PAH	:	Poly(allylamine hydrochloride)
PSS	:	Poly(sodium styrene sulfonate)
QCM	:	Quartz Crystal Microbalance
RPMI	:	Roswell Park Memorial Institute

SA	: Succinic anhydride
SCC	: *N*-succinyl chitosan
SFC	: *N*-sulfofurfuryl chitosan
SPM	: Scanning Probe Microscopy
TBO	: Toluidine blue O
TCPS	: Tissue culture polystyrene
TSM	: Thickness shear mode