PROCESS OPTIMIZATION DESIGNS BASE ON SILK FIBROIN PROTEIN IN UNIQUE FIBROUS MORPHOLOGY FOR WOUND DRESSING APPLICATION

Jesada Chutipakdeevong

A Dissertation Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma,
and Case Western Reserve University
2014

Thesis Title:	Process Optimization Designs Base on Silk Fibroin Protein in Unique Fibrous Morphology for Wound Dressing Application
By:	Jesada Chutipakdeevong
Program:	Polymer Science
Thesis Advisors:	Prof. Pitt Supaphol
	Dr. Uracha Ruktanonchai

Accepted by The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy.

.... College Dean

(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:

....	....
(Asst. Prof. Pomthong Malakul)	(Prof. Pitt Supaphol)
Uracha Ruktanonchai	Hathaikarn M.
(Dr. Uracha Ruktanonchai)	(Asst.Prof.Hathaikarn Manuspiya)

Pimolpun K.

(Dr. Pimolpun Niamlang)

ABSTRACT

5082002063: Polymer Science Program

Jesada Chutipakdeevong: Process Optimization Designs Base on Silk Fibroin Protein in Unique Fibrous Morphology for Wound Dressing Application

Thesis Advisors: Prof. Pitt Supaphol and Dr. Uracha Ruktanonchai, 118 pp.

Keywords: Silk/ Fibroin/ Electrospun/ Wound dressing

Nowadays, there are numerous researches regarding to the relative efficiency of the various kinds of material for effective wound healing. Biopolymers and fabrication techniques have been studied not only for covering in order to prevent infection but also have extraordinary properties which promote the healing process. In this work, Thailand domesticated, *Bombyx mori,* silk fibroin fibres, which is well known in the textile industry for centuries, was used to develop as active wound dressing . Silk fibroin from the silk cocoon is generally defined as an attractive biomaterial because of its unique characteristics such as high mechanical strength, excellent biocompatibility, controllable structure and morphology, and wide variety of constructive properties on tissue engineering. One of the most effective methods for this is electrospinning, a proven technique that precisely creates the fibrous structure that can mimic nanofibrillar structure and the biological functions of the natural extracellular matrix. Electrospun fibrous mats also combine extremely large surface area to volume ratios with high porosity, features that are needed for the application of these materials in wound healing. In this study, we aimed to optimize the preparation process of ultra-fine silk fibroin fibers for wound dressing application. These findings open an exciting opportunity to fabricate biocompatible scaffold structures that could be used as next generation effective wound healing materials.

บทคัดย่อ

เจษฎา ชุติภักดีวงศ์ : การออกแบบกระบวนการขึ้นรูปเส้นใยที่เหมาะสมสำหรับโปรตีนไหมไฟโบรอินเพื่อการใช้งานเป็นวัสดุปิดแผล (Process Optimization Designs Base on Silk Fibroin Protein in Unique Fibrous Morphology for Wound Dressing Application) อ. ที่ปรึกษา: ศาสตราจารย์ ดร. พิชญ์ ศุภผล และ ดร.อุรชา รักษ์ตานนท์ชัย 118 หน้า

ในปัจจุบันได้มีงานวิจัยจำนวนมากศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของวัสดุหลากหลายชนิดเพื่อช่วยในการรักษาแผล โพลิเมอร์ชีวภาพและเทคนิคในการขึ้นรูปวัสดุจึงได้มีการศึกษาเพิ่มเติม ไม่เพียง แค่สำหรับป้องกันแผลจากสิ่งแวดล้อมภายนอก หรือเพื่อป้องกันการติดเชื้อ แต่ยังมีคุณสมบัติ พิเศษที่ช่วยส่งเสริมกระบวนหายของแผล ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการปรับปรุงพัฒนา เส้นในไหมสายพันธุ์ท้องถิ่นในประเทศไทย ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในอุตสาหกรรมสิ่งทอมานานหลายศตวรรษ เพื่อใช้ในการพัฒนาวัสดุปิดแผลที่มีประสิทธิภาพ เส้นใยไหมที่สาวออกจากรังไหมแล้วจะถูกนำมาสกัดอยู่ในรูปของโปรตีนไหมไฟโบรอิน ซึ่งโดยทั่วไปว่าเป็นวัสดุที่มีความน่าสนใจสนใจมาก เนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์ เช่น ความแข็งแรง, มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดี, มีโครงสร้างและสัณฐานวิทยาที่สามารถควบคุมได้, และมีความหลากหลายของคุณสมบัติที่สร้างสรรค์ทางด้านวิศวกรรมชีวภาพ หนึ่งในวิธีการที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับการขึ้นรูปสำหรับแผ่นปิดแผล คือ เทคนิคอิเล็คโทรสปินนิ่ง ซึ่งมีการการพิสูจน์แล้วว่า มีความแม่นยำในการสร้างโครงสร้างเส้นใย ที่สามารถเลียนแบบโครงสร้างเส้นใยนาโน และการทำงานทางชีวภาพของเอ็กตราเซลลูล่า เมทริค ในร่างกาย เส้นใยอิเล็คโทรสปินยังมีความสามารถรวมถึงในเรื่องของพื้นที่ผิวที่มีขนาดใหญ่ เทียบกับอัตราส่วนโดยปริมาตร และมีความเป็นรูพรุนสูง ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่มีความจำเป็นสำหรับการใช้งานวัสดุเหล่านี้ในรูปแบบของวัสดุที่ใช้ในการรักษาแผล ในงานวิจัยนี้ เรามีวัตถุประสงค์เพื่อ คิดค้นวิธีเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการเตรียมเส้นใยไหมไฟโบรอินสำหรับทำแผ่นปิดแผล ซึ่งการค้นพบนี้ จะเปิดโอกาสในการคิดค้นเพิ่มเติมสำหรับการสร้างวัสดุโครงสร้างที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และสามารถนำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผลที่มีประสิทธิภาพต่อไป

ACKNOWLEDGEMENTS

Appreciation is expressed to those who have made contributions to this dissertation. First the author gratefully acknowledges his advisors, Prof. Pitt Supaphol from The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, and Dr. Uracha Ruktanonchai from National Nanotechnology Center, National science and Technology Development Agency for giving their invaluable knowledge, meaningful guidance and encouragement all along the way.

He gratefully acknowledges all faculty members and staffs at The Petroleum and Petrochemical College. Chulalongkorn University for their knowledge and assistance. Moreover he would like to give his special thanks to all members in his research group and all of his friends for their kind assistance, continual encouragement and wonderful friendship.

Asst. Prof. Pomthong Malakul, Prof. Pitt Supaphol. Dr. Uracha Ruktanonchai, Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya, and Dr. Pimolpun Niamlang are further acknowledged for being his dissertation committees, making valuable comments and suggestions.

He wishes to express his deep gratitude to his family for their unconditioned love, understanding and very supportive during all these years spent for his Ph.D. study.

Finally, he is grateful for the partial support received from The Petroleum and Petrochemical College, The National Nanotechnology Center; and The Center of Excellence for Petrochemicals and Materials Technology, Thailand and a doctoral scholarship received from the Thailand Graduate Institute of Science and Technology (TGIST) (TG-55-09-51-035D). This work would not be carried out successfully without all financial supports..

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES

TABLE **PAGE**

TABLE PAGE

CHAPTER V

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

CHAPTER II

CHAPTER III

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

ABBREVIATIONS

AAS	Atomic absorption spectroscope
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium
DMF	Dimethyl formamide
DMSO	Dimethyl sulfoxide
EDC	One-ethly-3-(dimethylaminoproply) carbodiimide hydrochloride
EFS	Electric field strength
e-spinning	Electrospinning
e-spun	Electrospun
eSF	Electrospun silk fibroin
FT-IR	Fourier-transform infrared spectroscopy
HFF	Human foreskin fibroblast
HPLC	High pressure liquid chromatography
MTT	Methyl 4-hydroxybenzoate
NHS	N-hydroxysuccinimide
NHDF	Normal human dermal fibroblast
PBS	Phosphate buffer saline
PCL	Poly (ε-caprolactone)
PEO	Poly(ethylene oxide)
RH	Relative humidity
SEM	Scanning electron microscopy
SF	Silk fibroin
SFM	Serum-free medium
TCPS	Tissue-culture polystyrene plete
UV	Ultra-violet
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy