RADIATION SYNTHESIS OF A NOVEL ANTIBACTERIAL HYDROGELS AS WOUND DRESSING

Nundhawan Nidhiprabhawat

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
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
2011

Thesis Title:	Radiation Synthesis of A Novel Antibacterial Hydrogels as Wound Dressing
By:	Nundhawan Nidhiprabhawat
Program:	Polymer Science
Thesis Advisors:	Prof. Pitt Supaphol

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

..... College Dean

(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:

.....

(Prof. Pitt Supaphol)

.....

(Assoc. Prof. Nuanchawee Wetprasit)

.....

(Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya)

ABSTRACT

5272014063: Polymer Science Program
Nundhawan Nidhiprabhawat: Radiation Synthesis of A Novel Antibacterial Hydrogels as Wound Dressing.
Thesis Advisor: Prof. Pitt Supaphol 109 pp.
Keywords: Gamma-irradiation/ Poly(vinyl alcohol)/ *N*-trimethyl chitosan chloride / Carboxymethyl chitosan/Colony count method

The poly (vinyl alcohol) (PVA) hydrogels were prepared by Gamma-irradiation technique that can produce the cross-linking network of PVA molecules. This work wanted to improve the water absorption and moisture retention of the PVA hydrogels by adding Carboxymethyl chitosan (CM-chitosan) into PVA hydrogels. CM-chitosan was synthesized by using monochloroacetic acid. The optimum condition used 10 % w/v of PVA and 15 % (w/w of PVA) of CM-chitosan, the blended solution was irradiated at 35 kGy. It was found that, the water absorption and water losing rate of the obtained hydrogels were about 311.54 % and -4.62×10^{-4} g/min respectively. To enhance the antibacterial activity of the blended hydrogels, *N*-trimethyl chitosan chloride (TMC) was added into the blended hydrogels. TMC was synthesized by using methyl iodide. The antibacterial activity was investigated by using colony count method. The result showed that an antibacterial activity of the blended hydrogels was increased with TMC content. The cytotoxicity of the antibacterial hydrogels was assessed by using an indirect cytotoxicity test against mouse fibroblast cells (L929) indicated that both the PVA hydrogels and the blended hydrogels released no substances at levels that were harmful to these cells. Therefore, the fabricated hydrogels can be used as a wound dressing for medical application.

บทคัดย่อ

นันทวัน นิธิประภาวัฒน์ : การเตรียมแผ่นปิดแผลต่อต้านแบคทีเรียชนิดไฮโดรเจลด้วยเทคนิคการฉายรังสี (Radiation Synthesis of A Novel Antibacterial Hydrogels as Wound Dressing) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. พิชญ์ ศุภผล 109 หน้า

การเตรียมแผ่นปิดแผลชนิดไฮโดรเจลโดยใช้เทคนิคการฉายรังสีแกมมาของสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์สามารถทำให้เกิดพันธะเชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ได้ส่งผลให้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์คงรูปร่างและมีลักษณะเป็นเจลใส ในงานวิจัยนี้ศึกษาและปรับปรุงประสิทธิภาพของการดูดซึมน้ำและอัตราการสูญเสียน้ำของแผ่นปิดแผลชนิดไฮโดรเจลพอลิไวนิลแอลกอฮอล์โดยผสมคาร์บอกซีเมทธิลไคโตซาน (Carboxymethyl chitosan) ซึ่งสังเคราะห์จากการทำปฏิกิริยาระหว่างไคโตซานกับโมโนคลอโรอะซิติกแอซิด พบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 10 %w/v สารละลายคาร์บอกซีเมทธิลไคโตซานเข้มข้น 15 %w/v of PVA และพลังงานของการฉายรังสีแกมมาเท่ากับ 35 kGy ทั้งนี้แผ่นปิดแผลไฮโดรเจลที่เตรียมได้สามารถดูดซึมน้ำได้ 311.54 เท่า และมีอัตราการการสูญเสียน้ำเท่ากับ - 4.62 10^{-1} g/min จากนั้นปรับปรุงความสามารถการต่อต้านแบคทีเรียแผ่นปิดแผลไฮโดรเจลพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมคาร์บอกซีเมทธิลไคโตซาน โดยผสมเอ็นไตรเมทธิลไคโตซานคลอไรด์ (*N*-trimethyl chitosan chloride) ลงในไฮโดรเจลดังกล่าว ซึ่งเอ็นไตรเมทธิลไคโตซานคลอไรด์สังเคราะห์จากการทำปฏิกิริยาระหว่างไคโตซานกับเมทธิลไอโอไดด์ จากนั้นศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธีอ้อมด้วยเซลล์ชนิด L929 (mouse fibroblast cells) และประสิทธิภาพการต่อต้านแบคทีเรียของแผ่นปิดแผลชนิดไฮโดรเจลโดยใช้เทคนิคการนับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย พบว่า ไฮโดรเจลผสมที่เตรียมได้ทุกชนิดไม่เป็นพิษต่อเซลล์ และสามารถเร่งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการต่อต้านแบคทีเรียในระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สามารถการต่อต้านแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเอ็นไตรเมทธิลไคโตซานคลอไรด์เพิ่มขึ้น ดังนั้นแผ่นปิดแผลชนิดไฮโดรเจลพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมคาร์บอกซีเมทธิลไคโตซานและเอ็นไตรเมทธิลไคโตซานคลอไรด์จึงเป็นวัสดุที่สามารถนำไปพัฒนาเป็นแผ่นปิดแผลเพื่อใช้ในอนาคตได้

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to extremely thank Prof. Pitt Supaphol for his guidance, sacrifice, useful advices, and great encouragement throughout this research.

The author would like to express Assoc. Prof. Nuanchawee Wetprasit, and Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya for being as advisory committees and giving the valuable comments and suggestions. The author would like to express Assoc. Prof. Prasit Pavasant, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University for his guidance in giving valuable theoretical and technical knowledges in cell culture and providing the instruments and the laboratory room. The author would like to give thankfulness to Assoc. Prof. Nuanchawee Wetprasit, Department of Biotechnology, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University for giving valuable theoretical and technical knowledges in bacteria culture and giving the useful suggestions.

The author is grateful for the scholarship and funding of the thesis work provided by the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University; and the National Center of Excellence for Petroleum, Petrochemical, and Advanced Materials, Thailand.

The author would like to thank the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University for being a great place and the author appreciates all professors, lecturers and staffs who have tendered knowledge and technical support. The author also appreciates for friendship, helpfulness and creative suggestions from all of her friends at the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University.

Finally, the author would like to express appreciation to her parents and her elder sister for their endless love, caring , support, understanding, and encouragement at all times.

TABLE OF CONTENTS

CHAPTER **PAGE**

CHAPTER **PAGE**

CHAPTER **PAGE**

LIST OF TABLES

TABLE **PAGE**

TABLE **PAGE**

TABLE **PAGE**

TABLE **PAGE**

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

ABBREVIATIONS

ATCC = American Type Culture Collection

D = Diameter

DMST = Department of Medical Sciences Culture Collection

g = Gram

h = Hour

H = Height

kGy = KiloGray (γ-radiation unit of measure)

m = Meter

min = Minute

mg = Milligram

ml = Milliliter

mm = Millimeter

MRSA = Methicillin resistance *Staphylococus aureus*

nm = Nanometer

rpm = Round per minute

w/v = Weight/Volume

w/w = Weight/Weight

γ = Gamma

µl = Microliter