DESIGN AND SYNTHESIS OF MULTIFUNCTIONAL CHITOSAN FROM WATER-BASED REACTION SYSTEM FOR POTENTIALLY BIOMEDICAL MATERIALS

Jatesuda Jirawutthiwongchai

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment 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:	Design and Synthesis of Multifunctional Chitosan from Water-based Reaction System for Potentially Biomedical Materials
By:	Jatesuda Jirawutthiwongchai
Program:	Polymer Science
Thesis Advisor:	Prof. Suwabun Chirachanchai

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

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

Thesis Committee:

..... (Asst. Prof. Pomthong Malakul)

..... (Prof. Suwabun Chirachanchai)

..... (Dr. Gerald Draeger)

..... (Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya)

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

..... (Asst. Prof. Rangrong Yoksan)

..... (Dr. Katanchalee Mai-ngam)

ABSTRACT

5392002063: Polymer Science Program
Jatesuda Jirawutthiwongchai: Design and Synthesis of Multifunctional Chitosan from Water-based Reaction System for Potentially Biomedical Materials
Thesis Advisor: Prof. Suwabun Chirachanchai 158 pp.
Keywords: Chitosan/ Water-based system/ Multifunctional chitosan/ Biomedical material

The present work focuses on molecular design, synthesis, systematic studying of multifunctional chitosan to use as promising biomedical materials. Here, the strategies of nanoparticle self assembly and hybridization of chitosan-inorganic nanoparticle are proposed to produce multifunctional chitosan. However, the use of chitosan without acidic solvent is still required. Thus, the multifunctional chitosan from 2 strategies are prepared by chemical functionalization based on water-based reaction system and mild condition. In the first part, biomolecules, phenylalanine and polyethylene glycol, are derivatized on chitosan chain via CS-HOBt water soluble system and conjugating reaction. This chitosan derivative shows the colloidal stability in water, nanoparticle forming, and ability to form allergen. This design system is proposed to use in allergen delivery system. In the second part, chitosan is functionalized with active molecule called as oxanorbornadiene. The chitosan-oxanorbornadiene is proposed as a novel type of chitosan derivative which can be further coupled with azido-modified substrates to provide various types of functional groups on chitosan chain via Cu-free Click. The reaction can be done in aqueous solution without catalyst and purification steps. In the final part, chitosan-oxanorbornadiene is developed to be a water-soluble chitosan derivative to hybridize with inorganic nanoparticles, azido-gold nanoparticles. The success of hybridization provides the gold aggregation via Cu-free Click. This part is extended to use this chitosan-oxanorbornadiene as a linker between gold nanoparticles and antigens to provide the gold aggregated acceleration in naked-eye detection of antigens.

บทคัดย่อ

เจตสุดา จิรวุฒิวงศ์ชัย : การออกแบบและสังเคราะห์ไคโตซานหลากหลายฟังก์ชันจากระบบปฏิกิริยาพื้นฐานในน้ำ เพื่อความเป็นไปได้สำหรับวัสดุทางชีวแพทย์ (Design and Synthesis of Multifunctional Chitosan from Water-based Reaction System for Potentially Biomedical Materials) อ. ที่ปรึกษา: ศาสตราจารย์ ดร. สุวบุญ จิรชาญชัย 158 หน้า

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มุ่งเน้นถึงการออกแบบโมเลกุล การสังเคราะห์ และการศึกษาอย่างมีระบบของไคโตซานหลากหลายฟังก์ชัน เพื่อใช้เป็นวัสดุทางชีวแพทย์อย่างเป็นไปได้ ในงานนี้ผู้วิจัยเลือกกลวิธี การรวมแบบอัตโนมัติ และการผสมระหว่างไคโตซานและอนุภาคอนินทรีย์ระดับนาโน เพื่อการผลิตไคโตซานหลากหลายฟังก์ชัน อย่างไรก็ตามการหลีกเลี่ยงการใช้สารละลายไคโตซานในอะซิติกยังคงมีความต้องการ ดังนั้น ไคโตซานหลากหลายฟังก์ชันจากกลวิธี 2 แบบข้างต้น จึงถูกเตรียมโดยการเติมแต่งหมู่ฟังก์ชันทางเคมีบนพื้นฐานของระบบปฏิกิริยาพื้นฐานในน้ำ และปฏิกิริยาที่ไม่รุนแรง ในส่วนแรก โมเลกุลทางชีวภาพ ได้แก่ ฟีนิลอะลานีน และพอลิเอทิลีนไกลคอล ถูกเติมแต่งบนสายโซ่ไคโตซานผ่านระบบ CS-HOBt ที่ละลายน้ำและผ่านปฏิกิริยาแบบจับคู่ อนุพันธ์ไคโตซานนี้แสดงสมบัติคอลลอยด์ได้ในน้ำ มีขนาดอนุภาคระดับนาโน และมีความสามารถในการกักเก็บสารก่อภูมิแพ้ (allergen) ระบบที่ถูกออกแบบนี้ถูกเสนอขึ้นเพื่อใช้ในระบบขนส่งสารก่อภูมิแพ้ ในส่วนที่สอง ไคโตซานถูกเติมแต่งฟังก์ชันด้วยโมเลกุลที่มีความสามารถในการกระตุ้น ที่เรียกว่า ออกซานอร์บอร์นะไดอีน (oxanorbornadiene) ไคโตซาน-ออกซานอร์บอร์นะไดอีนนี้ถูกเสนอให้เป็นอนุพันธ์ไคโตซานแบบใหม่ที่สามารถเข้าคู่กันกับ อะซิโดโมดิฟายด์ซับสเตรตหลายๆ แบบ เพื่อก่อให้เกิดหมู่ฟังก์ชันหลากหลายแบบบนสายโซ่ไคโตซานผ่านทางปฏิกิริยาเคมีคลิกแบบปราศจากคอปเปอร์ ปฏิกิริยานี้สามารถถูกเตรียมได้ในสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบโดยปราศจากสารเร่งปฏิกิริยา (catalyst) และกระบวนการทำสารให้บริสุทธิ์ ในส่วนสุดท้าย ไคโตซาน-ออกซานอร์บอร์นะไดอีนถูกพัฒนาให้เป็นอนุพันธ์ไคโตซานที่ละลายน้ำได้ เพื่อผสมกับอนุภาคอนินทรีย์ระดับนาโน ที่เรียกว่า อนุภาคอะซิโด-ทอง ความสำเร็จของการผสมก่อให้เกิดการรวมกลุ่มของอนุภาคทองผ่านทางปฏิกิริยาเคมีคลิกแบบปราศจากคอปเปอร์ ในงานส่วนนี้ถูกขยายให้ใช้ไคโตซาน-ออกซานอร์บอร์นะไดอีนเป็นตัวเชื่อมระหว่างอนุภาคทองระดับนาโนและแอนติเจนเพื่อทำให้เกิดการเร่งการรวมกลุ่มของอนุภาคทองระดับนาโนสำหรับการตรวจสอบสารแอนติเจนด้วยตาเปล่า

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to express her grateful thanks to Professor Suwabun Chirachanchai, her advisor, who gave her many valuable suggestions, patience, and worth inspiration during Ph.D. and Master degree programs under his supervision.

She would like to acknowledge the Dutsadee Pipat fund, Chulalongkorn University for Ph.D. Scholarship, and Thailand Graduate Institute of Science and Technology (TGIST) for Master degree Scholarship, National Research Council of Thailand (NRCT), The Petroleum and Petrochemical College, and The Center of Excellence on Petrochemical and Materials Technology, Thailand for funding of the thesis research.

She is greatly indebted to Dr. Amornpun Sereemaspun and I-yanut klaharn for very nice collaboration in biological testing at Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

She would like to acknowledge Dr. Gerald Draeger, Dr. Andreas Krause, and Dr. Nadine Bluhm (Institute of Organic Chemistry, Leibniz University of Hannover) and Dr. Csaba Laszlo Sajti (Nanotechnology Department, Laser Zentrum Hannover) for taking care of her during her work at Germany and providing gold nanoparticles.

She would like to thank Dr. Katanchalee Mai-ngam from the National Metal and Materials Technology Center (MTEC) for very kind suggestion, Monoclonal Antibody Production Laboratory, the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), National Science and Technology Development Agency (NSTDA) for Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), Assoc. Prof. Praneet Opanasopit (Faculty of Pharmacy, Silpakorn University) for their HPLC guidance, and Asst. Prof. Rath Pichayangkura, Head of Chitin Research Center, Chulalongkorn University for chitosan (raw material).

In addition, she would like to thank all Suwabun's group members for being such a good friends and cheer her up through the hard moment.

Finally, she wishes to thank her family members, especially, Kowit, Manthanee, and Piyanart for believing in her, understanding, supporting her from their hearts, especially invaluable love.

TABLE OF CONTENTS

CHAPTER PAGE

CHAPTER PAGE

CHAPTER **PAGE**

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

APPENDICES

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

LIST OF SCHEMES

SCHEMES **PAGE**

CHAPTER III

CHAPTER IV

APPENDICES