FROM CHITOSAN FLAKES TO CHITOSAN NANOSPHERES: INVESTIGATION OF NANOSPHERE STRUCTURE AND FACTOR RELATED TO NANOSPHERE FORMATION AND MODEL DRUG INCORPORATION

Chantiga Choochottiros

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
2009

Thesis Title:	From Chitosan Flake to Chitosan Nanospheres: Investigation of Nanosphere Structure and Factor Related to Nanosphere Formation and Model Drug Incorporation
By:	Chantiga Choochottiros
Program:	Polymer Science
Thesis Advisors:	Assoc. Prof. Suwabun Chirachanchai
	Dr. Rangrong Yoksan

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:

..... (Assoc. Prof. Nantaya Yanumet)

..... (Assoc. Prof. Suwabun Chirachanchai)

..... (Prof. Mitsuru Akashi)

..... (Dr. Rangrong Yoksan)

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

ABSTRACT

4682005063: Polymer Science Program
Chantiga Choochottiros: From Chitosan Flakes to Chitosan Nanospheres: Investigation of Nanosphere Structure and Factor Related to Nanosphere Formation and Model Drug Incorporation
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Suwabun Chirachanchai, and Dr. Rangrong Yoksan, 86 pp
Keywords: Chitosan/ Nanospheres/ Drug delivery/ pH-responsive/ Surface charge/ Proteins

Development of chitosan as nanomaterial is proposed by modification of functional group on chitosan chain. Grafting phthalic anhydride and α–caboxylpropyl–ω–methoxy polyethylene glycol (mPEG–COOH) on chitosan exhibits spherical form via self-assembly process in aqueous system. The molecular weight of mPEG plays an important role to control the particle size. As compared to mPEG 2000, which gives a bimodal nanosphere (~200, and ~300 nm), mPEG 5000 initiates a monodispersed nanosphere with the smaller size (150 nm). In aqueous solution, the nanosphere surface is negatively charged resulting in a well dispersion in neutral to high pH but a significant precipitation in low pH. The studies on model drug (lidocaine, campthotecin, and proteins) incorporation with chitosan nanospheres exhibit efficiency of nanosphere as drug and/or vaccine carrier.

บทคัดย่อ

จันทิกา ชูโชติรส : จากแผ่นไคโตซาน เป็นไคโตซานนาโนสเฟียร์: การตรวจสอบโครงสร้างของไคโตซานนาโนสเฟียร์และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการก่อรูปเป็นนาโนสเฟียร์ และการอยู่ร่วมกันกับโมเลกุลยาต้นแบบ (From Chitosan Flakes to Chitosan Nanospheres: Investigation of Nanosphere Structure and Factor Related to Nanosphere Formation and Model Drug Incorporation) อ. ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. สุวบุญ จิรชาญชัย และ ดร. รังรอง ยกส้าน, 86 หน้า

การพัฒนาไคโตซานเพื่อเป็นวัสดุที่มีขนาดระดับนาโนเมตรถูกเสนอโดยการปรับหมู่ฟังก์ชั่นบนสายโซ่ไคโตซาน การติดหมู่พทาลิกแอนไฮไดด์ และ α-คาร์บอกซิลโพรพิล-ω-เมทอกซี พอลีเอทิลลีน ไกลคอล (mPEG-COOH) บนไคโตซาน จะก่อรูปเป็นสเฟียร์โดยผ่านกระบวนการรวมตัวกันเองในระบบที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ น้ำหนักโมเลกุลของ mPEG เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการควบคุมขนาดของอนุภาคนาโนสเฟียร์ เมื่อเปรียบเทียบอนุภาคที่ได้จากการติดหมู่ mPEG 2000 อนุภาคนาโนสเฟียร์ที่ได้จะมีลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาคแบบคู่ (~200 และ ~300 นาโนเมตร) กรณี mPEG 5000 จะได้อนุภาคนาโนสเฟียร์ที่มีการกระจายอนุภาคแบบเดี่ยว และมีขนาดอนุภาคที่เล็กกว่า (150 นาโนเมตร) เมื่อไคโตซานนาโนสเฟียร์กระจายตัวในน้ำ ค่าประจุที่ผิวของอนุภาคจะแสดงค่าเป็นลบ ซึ่งส่งผลต่อการกระจายตัวในอนุภาคที่สภาวะพีเอชต่างๆ ได้แก่ การเกิดการกระจายตัวในสภาวะที่เป็นกลางถึงเบส แต่จะเกิดการตกตะกอนในสภาวะที่เป็นกรด การศึกษาการเก็บกักหรือการตรึงโมเลกุลยาต้นแบบ (ลิโดเคน แคมโทเทซิน และ โปรตีน) แสดงถึงประสิทธิภาพในการนำไคโตซานนาโนสเฟียร์ไปใช้เป็นตัวนำส่งยาหรือโปรตีน

ACKNOWLEDGEMENTS

The present dissertation would not have been accomplished without her advisor, Associate Professor Suwabun Chirachanchai, who not only originated this work, but also provided her continuous guidance, intensive suggestions and discussions, constructive criticisms, encouragement, and the opportunity to do the research in Japan.

She would like to extend her appreciation to her co-advisor, Dr. Rangrong Yoksan (Department of Packing Technology and Materials, Kasetsart University), who gave valuable advice and discussions.

She would like to acknowledge Professor Mitsuru Akashi and Assistant Professor Michiya Matsusaki (Graduate School of Engineering, Osaka University, JAPAN) who not only provided recommendation and valuable discussion but also encouragement during staying in Japan.

She is deeply indebted to the National Research Council of Thailand for fully support this research work. She is grateful for the partial scholarship and partial funding of the thesis work provided by the Petroleum and Petrochemical College, and by the National Center of Excellence for Petroleum, Petrochemicals, and Advanced Materials, Thailand. In addition, she acknowledges JASSO and Osaka University scholarships for the short-term student exchange promotion program for supporting research fund for her research period in Japan.

She is indebted to Seafresh Chitosan (Lab) Company Limited, Thailand for providing chitin-chitosan flakes. Deep gratitude is expressed to Hitachi High-Technologies Corporation for TEM analyses.

Special thanks are to all members in Akashi's laboratory for their warm hospitality and valuable recommendation and helps during her research period in Japan.

She wishes to thank all Suwabun's group members both her juniors and her friends for their friendship and all good memories.

Finally, she wished to dedicate all the best thing in this dissertation to her family for their love, encouragement and the constant inspiration.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF SCHEMES

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

CHAPTER V

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**