MODIFIED CARBON NANOTUBES FOR DRUG DELIVERY APPLICATIONS

MISS CHULARAT IAMSAMAI

A DISSERTATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY PROGRAM IN NANOSCIENCE AND TECHNOLOGY
(INTERDISCIPLINARY PROGRAM)
GRADUATE SCHOOL
CHULALONGKORN UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2010

MODIFIED CARBON NANOTUBES FOR DRUG DELIVERY APPLICATIONS

Miss Chularat Iamsamai

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Nanoscience and Technology
(Interdisciplinary Program)
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2010

ท่อคาร์บอนนาโนดัดแปรเพื่อการประยุกต์ใช้ในการนำส่งยา

นางสาวจุฬารัตน์ เอี่ยมสมัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์นาโนและเทคโนโลยี (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553

Thesis title	MODIFIED CARBON NANOTUBES FOR DRUG DELIVERY APPLICATIONS
By	Miss Chularat Iamsamai
Field of study	Nanoscience and Technology
Thesis Advisor	Professor Supot Hannongbua, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Stephan Thierry Dubas, Ph.D.
	Uracha Ruktanonchai, Ph.D.
	Apinan Soottitantawat, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Doctoral Degree.

....Dean of the Graduate School
(Associate Professor Pornpote Piumsomboon, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

....Chairman
(Associate Professor Vudhichai Parasuk, Ph.D.)

....Thesis Advisor
(Professor Supot Hannongbua, Ph.D.)

....Thesis Co-advisor
(Stephan Thierry Dubas, Ph.D.)

....Thesis Co-advisor
(Uracha Ruktanonchai, Ph.D.)

....Thesis Co-advisor
(Apinan Soottitantawat, Ph.D.)

....Examiner
(Assistant Professor Sukkaneste Tungasamita, Ph.D.)

....Examiner
(Associate Professor Suwabun Chirachanchai, Ph.D.)

....External Examiner
(Associate Professor Satit Puttipipatkhachorn, Ph.D.)

จุฬารัตน์ เอี่ยมสมัย : ท่อคาร์บอนนาโนดัดแปรเพื่อการประยุกต์ใช้ในการนำส่งยา. (MODIFIED CARBON NANOTUBES FOR DRUG DELIVERY APPLICATIONS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ดร. สเตฟาน เทียรี่ ดูบาส, ดร. อุรชา รักษ์ตานนท์ชัย, ดร. อภินันท์ สุทธิธารธวัช, ... หน้า.

E 47264

การดัดแปรพื้นผิวของท่อคาร์บอนนาโนผนังหลายชั้น (MWCNTs) แบบนอนโควาเลนต์ โดยการเคลือบพื้นผิวแบบชั้นเดียวด้วยไคโตซานได้ถูกนำเสนอในงานวิจัยนี้ ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (*%DD*) ของไคโตซาน (61%, 71%, 78%, 84%, 90% และ 93%) และความเข้มข้นของไคโตซานที่แตกต่างกัน มีผลต่อความสามารถในการกระจายตัวและความเสถียรของท่อคาร์บอนนาโนผนังหลายชั้น ผลการทดลองแสดงว่า ไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่ำที่สุด (61%) สามารถปรับปรุงการกระจายตัวของท่อคาร์บอนนาโนผนังหลายชั้น จากการวัดค่า zeta potential ยืนยันได้ว่า ไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 61% สามารถปกคลุมพื้นผิวท่อคาร์บอนนาโนผนังหลายชั้นได้สูงกว่าสองเท่าเมื่อเทียบกับไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 93% เพื่อศึกษาไคโตซานซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ว่าช่วยเพิ่มความสามารถในการกระจายตัวและความเสถียรให้กับท่อคาร์บอนนาโนได้อย่างไร ดังนั้น Molecular Dynamics Simulation ถูกนำมาใช้เพื่อทำการศึกษา 3 ระบบ ได้แก่ *i)* ท่อคาร์บอนนาโนที่ไม่ผ่านการดัดแปรทั้งคู่ (*p*CNT-*p*CNT), *ii)* ท่อคาร์บอนนาโนที่ไม่ผ่านการดัดแปรกับไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 60% (*p*CNT-*cw*CNT) และ *iii)* ท่อคาร์บอนนาโนที่ผ่านการดัดแปรด้วยไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 60% ทั้งคู่ (*cw*CNT-*cw*CNT) การรวมตัวกันของท่อคาร์บอนนาโนเกิดขึ้นในกรณีที่เป็น *p*CNT-*p*CNT และ *p*CNT-*cw*CNT เนื่องจากแรง van der Waals ที่เกิดขึ้นระหว่างวงแหวนอะโรมาติกของท่อคาร์บอนนาโนและการเกาะกันระหว่างท่อคาร์บอนนาโนด้วยไคโตซาน ตามลำดับ ส่วนในกรณี *cw*CNT-*cw*CNT พบว่า เกิดการผลักกันระหว่างประจุส่งผลให้ท่อทั้งสองแยกออกจากกันและกระจายตัวได้ในสารละลาย แม้ว่าท่อคาร์บอนนาโนผนังหลายชั้นที่ผ่านการดัดแปรโดยการเคลือบพื้นผิวแบบชั้นเดียวด้วยไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่ำ จะสามารถปรับปรุงความสามารถในการกระจายตัวของท่อคาร์บอนนาโนผนังหลายชั้นได้ แต่ความเสถียรของท่อคาร์บอนนาโนดัดแปรด้วยไคโตซานดังกล่าวยังไม่เพียงพอต่อการนำมาใช้เพื่อเป็นตัวนำส่งยา ด้วยเหตุนี้เทคนิค layer-by-layer deposition เป็นวิธีที่มีศักยภาพที่ถูกเลือกใช้เพื่อเตรียมฟิล์มบางหลายชั้นระหว่างพอลิ(ไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียม คลอไรด์) (PDADMAC) และพอลิ(โซเดียม 4-สไตรีน ซัลโฟเนต) (PSS) เพื่อเคลือบบนท่อคาร์บอนนาโนที่ผ่านการดัดแปรทางเคมี เป็นที่น่าสนใจว่า การเตรียมฟิล์มบางชั้นที่ 1, 2 และ 3 บนท่อคาร์บอนนาโนที่ผ่านการดัดแปรทางเคมี สามารถเตรียมได้ด้วยวิธีที่ง่ายโดยใช้ “just enough polyelectrolyte” ซึ่งปราศจากการผ่านขั้นตอนการปั่นเหวี่ยง ทำให้ท่อคาร์บอนนาโนดัดแปรด้วยวิธีดังกล่าวมีความเสถียรอยู่ในสารละลายสูง ท่อคาร์บอนนาโนดัดแปรดังกล่าวถูกนำมาใช้เพื่อ load ยาโมเดลที่ละลายน้ำ ได้แก่ ยาเจนเชียนไวโอเลตและยาไดโคลฟีแนค พบว่า ยาเจนเชียนไวโอเลตสามารถ load ลงบนท่อคาร์บอนนาโนดัดแปรที่มีพื้นผิวเป็นประจุลบได้ดี ในขณะที่ยาไดโคลฟีแนคไม่สามารถ load ลงบนท่อคาร์บอนนาโนดัดแปรชนิดใดได้เลย ทั้งนี้ท่อคาร์บอนนาโนที่ผ่านดัดแปรด้วยหมู่ดัดแปรที่แตกต่างกันถูกนำมาทดสอบเพื่อประเมินค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ด้วย MTT assay พบว่า ท่อคาร์บอนนาโนที่ผ่านการดัดแปรทางเคมีปริมาณ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ในขณะที่ท่อคาร์บอนนาโนดัดแปรที่เคลือบหนึ่งชั้นด้วย PDADMAC มีความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ที่ปริมาณ 12.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

สาขาวิชา...วิทยาศาสตร์นาโนและเทคโนโลยี... ลายมือชื่อนิสิต.......................................

ปีการศึกษา........2553......... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.......................

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.......................

....

....

4989718720 : MAJOR NANOSCIENCE AND TECHNOLOGY

KEYWORDS: CARBON NANOTUBES / SURFACE MODIFICATION / DRUG DELIVERY

CHULARAT IAMSAMAI: MODIFIED CARBON NANOTUBES FOR DRUG DELIVERY APPLICATIONS. THESIS ADVISOR: PROFESSOR. SUPOT HANNONGBUA, Ph.D., THESIS COADVISORS: STEPHAN THIERRY DUBAS, Ph.D., URACHA RUKTANONCHAI, Ph.D., APINAN SOOTTITANTAWAT, Ph.D. 140 pp.

Noncovalent surface modification of multiwall carbon nanotubes (MWCNTs) using chitosan coating as a monolayer is presented. The different degree of deacetylation (%*DD*) (61%, 71%, 78%, 84%, 90% and 93%) of chitosan and chitosan concentration affected to carbon nanotubes's dispersion efficiency and their stability. Results showed that the dispersion of MWCNTs could be improved when using chitosan with the lowest degree of deacetylation (61%*DD*). Zeta potential measurements confirmed that the chitosan surface coverage on the MWCNTs was twice as high when modifying the nanotubes surface with the 61%*DD* than when using the 93%*DD* chitosan. To study how a chitosan-polysaccharide increases the dispersion efficiency and stability of CNTs, molecular dynamics simulation done on the three models: *i*) two pristine CNTs (*p*CNT-*p*CNT), *ii*) a pristine CNT-a chitosan wrapped CNT (*p*CNT-*cw*CNT) and *iii*) two chitosan wrapped CNTs (*cw*CNT-*cw*CNT). As a result, the CNT aggregation was found in *p*CNT-*p*CNT and *p*CNT-*cw*CNT due to van der Waals interaction between the tube-tube aromatic rings, and intertube bridging by chitosan, respectively. In case of *cw*CNT-*cw*CNT, charge-charge repulsion was found to separate the two tubes and well disperse in aqueous solution. Although the monolayer coating MWCNTs with low %DD chitosan was improved the dispersion of MWCNTs, their stability was insufficient to be used as drug carrier. Therefore, the layer-by-layer deposition technique was selected as a potential method for preparing mulltilayers between poly(diallyldimethylammonium chloride) (PDADMAC) and poly(sodium 4-styrenesulfonate) (PSS) coating on treated MWCNTs surface. Interestingly, we found the simple method to prepare primary, secondary and tertiary layers on treated MWCNT with "just enough polyelectrolyte" without centrifugation process. Multilayer coating on MWCNT was provided high stability in aqueous solution. Gentian violet and diclofenac were used as hydrophilic model drugs for loading on modified MWCNTs. Gentian violet selectively loaded on negatively charged surface of MWCNT while diclofenac cannot be achieved to load in any kind of MWCNTs. The cytotoxicity of modified MWCNTs with different functional groups was evaluated by MTT assay. Treated MWCNTs were toxic to L929 cells when the concentration reached 25μg/ml while primary coating MWCNTs with PDADMAC was toxic at concentration 12.5μg/ml.

Field of study: ..Nanoscience and Technology... Student's signature..........................

Academic year: ....2010......... Advisor's signature..........................

Co-advisor's signature..........................

U. Ruktanonchai

....

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my deepest gratitude to Professor Dr. Supot Hannongbua, Dr. Stephan Thierry Dubas, Dr. Uracha Ruktanonchai and Dr. Apinan Soottitantawat, my advisors team, for their valuable guidance, advice and encouragement throughout this research work.

I wish to extend my sincere thanks to committee; Associate Professor Dr. Vudhichai Parasuk, Associate Professor Dr. Satit Puttipipatkhajorn, Associate Professor Dr. Suwabun Chirachanchai, and Assistant Professor Dr. Sukkaneste Tungasamita for their advice, motivating comments, participation as dissertation committees and assistance for my study and the Doctor of Philosophy Program in Nanoscience and Technology, Graduate School, Chulalongkorn University for graduate courses and financial supporting throughout my Ph. D study.

I gratefully acknowledge the generous access to research facilities and chemical support from Metallurgy and Materials Science Research Institute, Chulalongkorn University and Dr. Kritsana Siralertmukul. I would like to thank Thailand Graduate Institute of Science and Technology, (TGIST) and Graduate School, Chulalongkorn University for providing special research scholarships: TGIST (TG-55-09-50-059D) and The 90th Anniversary of Chulalongkorn University Fund (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund), respectively.

I would like to thank Dr. Thanyada Rungrotmongkol, Miss Uthumporn Arsawang and Mr. Arthit Vongachariya for supporting computational simulation data to fulfill my research work. I would like to sincere thank to all colleagues, nano-friends and Miss Chindarat Pinkeaw for their encouragement and help along my Ph.D. study in this program.

Finally, I would like to express my deepest appreciation to my *FAMILY* for their love, great encouragement and worthy moral support throughout my whole life's study.

CONTENTS

CHAPTER Page

CHAPTER Page

LIST OF TABLES

TABLE Page

LIST OF FIGURES

FIGURE Page

FIGURE Page

FIGURE Page

FIGURE Page

FIGURE Page

FIGURE Page

LIST OF ABBREVIATIONS

CNT(s)	:	Carbon nanotube(s)
MWCNT(s)	:	Multiwall carbon nanotube(s)
SWCNT(s)	:	Singlewall carbon nanotube(s)
DD	:	Degree of deacetylation
PEL	:	Polyelectrolyte
PEM	:	Polyelectrolyte Multilayer Thin Films
LbL	:	Layer-by-Layer technique
ESA	:	Electrostatic self - assembly
PDADMAC	:	Poly(diallyldimethylammonium chloride)
PSS	:	Poly(sodium 4-styrene sulfonate)
RDF	:	Radial Distribution Function
τ	:	Torsion angle
Sg	:	Distance between CNTs surface
Cg	:	Distance between center of mass of CNTs
Cw	:	Chitosan wrapped
p	:	Pristine
mM	:	milli Molar
M	:	Molar
nm	:	nanometer
A°	:	Angstorm
min	:	minute
ps	:	picosecond
fs	:	femtosecond
et al.	:	*et alii*