DEGRADATION AND BIOLOGICAL EVALUATION OF IMMOBILIZED-ELECTROSPUN POLYCAPROLACTONE FOR BONE TISSUE ENGINEERING

Piyada Poomsurard

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,
Case Western Reserve University, and Institut Français du Pétrole
2013

Thesis Title:	Degradation and Biological Evaluation of Immobilized-Electrospun Polycaprolactone for Bone Tissue Engineering
By:	Piyada Poomsurard
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)

.....
(Prof. Prasit Pavasant)

.....
(Asst. Prof. Manit Nithithanakul)

Boontharika Chuenjitkuntaworn
.....
(Dr. Boontharika Chuenjitkuntaworn)

ABSTRACT

5472031063: Polymer Science Program
Piyada Poomsurard: Degradation and Biological Evaluation of Immobilized-Electrospun Polycaprolactone for Bone Tissue Engineering.
Thesis Advisors: Prof. Pitt Supaphol 46 pp.
Keywords: Polycaprolactone/ Electrospinning/ Degradation/ Bovine Serum Albumin

Polymeric scaffolds for bone tissue engineering application have been produced and developed to mimic the native extracellular matrix (ECM). In this study, polycaprolactone (PCL), the promising biodegradable polymer candidate in this field, have been used to produce fibrous scaffolds, fabricated by electrospinning technique. The obtained PCL fiber mats were first modified the surface to promote their biocompatibility and the subsequent immobilization of bovine serum albumin (BSA) onto their surfaces. The result shows that the aminolyzing time did not influence on the mechanical properties of PCL fibrous scaffolds. In order to meet the concept of being scaffolds, biomaterials are expected to have the rate of degradation matching the rate of tissue regeneration. Hence, the degradation behaviours play an important role in the tissue engineering. In this study, PCL nanofibrous scaffolds have been systematically investigated up to 30 days in enzymatic solution at 37°C. The scaffolds were examined in terms of weight loss and pH change, also using Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Scanning Electron Microscopy (SEM) were investigated. Moreover, the PCL fibrous scaffolds were evaluated in vitro with mouse calvaria-derived preosteoblastic cells (MC3T3-E1). The biological evaluation illustrated that no toxic was released and harm to cells.

บทคัดย่อ

ปิยดา ภูมิสุราษฎร์ : การสลายตัวและการทดสอบทางชีวภาพของเส้นใยอิเล็กโทรสปันพอลิคาโปรแลคโตนที่มีการตรึงโปรตีนสำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก (Degradation and Biological Evaluation of Immobilized-Electrospun Polycaprolactone for Bone Tissue Engineering) อ.ที่ปรึกษา: ศ. ดร. พิชญ์ ศุภผล 46 หน้า

โครงเนื้อเยื่อ (scaffolds) จากพอลิเมอร์ถูกนำมาใช้และพัฒนาเพื่อจำลองและเลียนแบบพฤติกรรมของสารเคลือบเซลล์ (extracellular matrix) ในงานวิจัยนี้ พอลิคาโปรแลคโตน (PCL) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพได้ถูกนำมาผลิตเป็น เส้นใยอิเล็กโทรสปัน โดยวิธีปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางการแพทย์ เส้นใยอิเล็กโทรสปันที่ได้จะถูกนำไปปรับปรุงพื้นผิว เพื่อให้วัสดุมีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อ (biocompatibility) และจากการทดลอง พบว่า เวลาที่ใช้ในการปรับปรุงพื้นผิวของวัสดุ ไม่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกลของวัสดุ หลังจากนั้น จึงนำโปรตีนโบวีน เซรั่ม อัลบูมิน มาตรึงที่ผิวของวัสดุ และเพื่อที่จะตอบสนองแนวคิดของการเป็นโครงเนื้อเยื่อ วัสดุชีวภาพดังกล่าวจึงควรมีอัตราการสลายตัวที่เหมาะสมกับอัตราการเกิดใหม่ของเนื้อเยื่อ จะเห็นได้ว่าพฤติกรรมการสลายตัวของวัสดุ มีบทบาทสำคัญในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาพฤติกรรมการสลายตัวของวัสดุชีวภาพในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีเอนไซม์ไลเปส ที่อุณหภูมิ 37°Cเป็นเวลา 30 วัน วัสดุจะถูกศึกษาในแง่ของการสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงค่า pH และการเก็บรักษาน้ำ นอกจากนี้ ยังศึกษาสมบัติทางความร้อน โดยใช้ DSC และ ศึกษาสมบัติทางกายภาพ จาก SEM นอกจากนั้นยังได้ นำวัสดุไปทดสอบทางชีวภาพ ด้วยเซลล์ mouse calvaria-derived preosteoblastic (MC3T3-E1) เพื่อศึกษาความเป็นพิษของวัสดุ และพบว่า สารที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากวัสดุ ไม่มีความเป็นพิษ หรือเป็นอันตรายต่อเซลล์

ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to express my sincere thanks to my thesis advisor, Prof. Pitt Supaphol, for his professional suggestions, guidance and support that helped me through any obstacles in my research project. I am most grateful for his teaching and advice not only the methodologies research but also many other methodologies in life. This thesis would not be completed without all the support that I have always received from him.

I would like to thanks to Prof. Prasit Pavasant for all of his suggestions, and comments on cell culture which is a new thing for me. Thank you for providing me with a laboratory and all the equipments needed. I would like to give thanks to Dr. Boontharika Chuenjitkuntaworn for being my thesis committees.

In addition, I would also like to thank everyone at the laboratory of the Petroleum and Petrochemical College for their help and hospitality throughout my year here. I want to say thank you very much, P'Pook, P'Jib and P'Jate for your suggestions on cell culture techniques. Especially, P'Ton, I want to thank you so much for everything. I really don't have enough words to say except I will never forget your kindness.

My thanks also go to the Petroleum and Petrochemical College for providing research fund and laboratory facilities throughout my year here.

Last but not least, I would also like to thank my parents and my friends in PS group who always encourage, support and beside me throughout the period of this research.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

ABBREVIATIONS

ATR-FTIR	Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy
BSA	Bovine Serum Albumin
DC	Direct Current
DCM	Dichloromethane
DMF	N,N'-dimethylformamide
DSC	Differential Scanning Calorimetry
HMD	1,6-Hexamethylenediamine
IPA	Isopropanol
PCL	Polycaprolactone
PBS	Phosphate Buffer Saline
SEM	Scanning Electron Microscopy
SFM	Serum Free Media
TCPS	Tissue Culture Polystyrene
T_g	Glass Transition Temperature
T_m	Melting Temperature
UV-vis	Ultraviolet-visible
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy