GELATIN AND ALGINATE HYDROGELS AS BIO-INTERACTIVE DRESSINGS

Panprung Sikareepaisan

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
2011

Thesis Title:	Gelatin and Alginate Hydrogels as Bio-interactive Dressings
By:	Panprung Sikareepaisan
Program:	Polymer Science
Thesis Advisor:	Prof. Pitt Supaphol
	Dr. Uracha Ruktaononchai

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

..... College Dean

(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:

....

(Asst. Prof. Pomthong Malakul) (Prof. Pitt Supaphol)

Uracha Ruktaononchai Hathaikarn M

....

(Dr. Uracha Ruktaononchai) (Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya)

C. M

.....

(Asst. Prof. Chidchanok Meechaisue)

ABSTRACT

4882005063: Polymer Science Program

Panprung Sikareepaisan: Gelatin and Alginate Hydrogels as Bio-interactive Dressings

Thesis Advisors: Prof. Pitt Supaphol and Dr. Uracha Ruktaononchai, 141 pp.

Keywords: Gelatin/ Alginate/ Hydrogel/ Wound dressing

To improve the wound healing, wound dressing can be developed from traditional passive materials that simply covered and concealed the wound to the active dressing that focused on moisture management and active ingredients delivery in the local wound environment. In this work, three types of active wound dressing are developed from gelatin and alginate hydrogels. They are nanofibrous gelatin mats containing an herbal *Centella asiatica* extract prepared by electrospining technique, asiaticoside-loaded alginate films obtained by solvent casting process and gelatin hydrogel containing silver nanoparticles achieved by gamma irradiation synthesis. As-loaded *Centella asiatica* extract and asiaticoside are commonly known for wound healing activity, increasing collagen synthesis and reducing in keliod production, while as-loaded silver nanoparticles are an effective broad-spectrum antibacterial agent. Consequently these as-prepared wound dressings were expected to possess wound healing property or antibacterial activity satisfactory to use as bio-interactive dressing that can facilitate the healing process. Physical properties such as gel fraction, moisture retention, swelling and weight loss behaviour, mechanical properties of wound dressings and the release characteristic of the active substances from theses wound dressing in buffer solutions were evaluated. The potential use of these wound dressings was further assessed in terms of the indirect cytotoxicity with normal human dermal fibroblast (NHDF) cells and the antibacterial activity evaluation.

บทคัดย่อ

ปานปรุง สิขรีไพศาล : ไฮโดรเจลจากเจลาตินและอัลจิเนตที่มีสารสำคัญออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อการใช้งานเป็นวัสดุปิดแผล (Gelatin and alginate hydrogels as bio-interactive dressings) อ. ที่ปรึกษา: ศาสตราจารย์ ดร. พิชญ์ ศุภผล และ ดร. อุรชา รักษ์ตานนท์ชัย 141 หน้า

ในปัจจุบันวัสดุปิดแผลโดยทั่วไปทำหน้าที่ปิดแผลไว้เพียงเพื่อป้องกันบาดแผลไม่ให้สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอกเท่านั้นไม่ได้มีส่วนร่วมในกระบวนการหายของแผล เพื่อให้แผ่นปิดแผลมีส่วนช่วยส่งเสริมให้การหายของแผลเป็นไปอย่างรวดเร็ว การพัฒนาวัสดุปิดแผลจึงได้เปลี่ยนจากวัสดุแบบเก่าไปเป็นวัสดุที่มีหน้าที่จัดการความชื้นและปลดปล่อยสารสำคัญออกมาสู่บริเวณแผลได้ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเตรียมวัสดุปิดแผล 3 ประเภท จากเจลาตินและอัลจิเนตไฮโดรเจล วัสดุปิดแผลดังกล่าวได้แก่ แผ่นเส้นใยนาโนจากเจลาตินที่ผสมสารสกัดจากใบบัวบกซึ่งเตรียมด้วยวิธีการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต, แผ่นฟิล์มอัลจิเนตที่ผสมสารเอเซียติโคไซด์ซึ่งเตรียมด้วยวิธีการระเหยตัวทำละลาย, และแผ่นเจลาตินไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงินนาโนผสมอยู่ซึ่งเตรียมด้วยวิธีการฉายรังสีแกมมา สารสกัดจากใบบัวบกและสารเอเซียติโคไซด์ที่มีอยู่ในวัสดุปิดแผลเหล่านี้มีคุณสมบัติในการสมานแผล เร่งการสร้างเนื้อเยื่อและช่วยลดรอยแผลเป็น ส่วนอนุภาคเงินนาโนก็มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นวัสดุปิดแผลที่มีสารเหล่านี้จึงมีคุณสมบัติช่วยให้แผลหายเร็วขึ้นหรือช่วยต่อต้านเชื้อแบคทีเรียซึ่งเหมาะสมอย่างยิ่งในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุปิดแผลชนิดใหม่ที่มีส่วนร่วมอย่างมากในการช่วยส่งเสริมการหายของแผล ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของวัสดุปิดแผลที่เตรียมได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด คุณสมบัติทางกายภาพ ความสามารถในการบวมน้ำและการสูญเสียมวล คุณสมบัติเชิงกล และการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากวัสดุปิดแผลโดยใช้วิธีการทดลองแบบจุ่มในสารละลายบัฟเฟอร์ และได้ประเมินความเป็นไปได้ในการนำวัสดุดังกล่าวไปใช้งานทางการแพทย์ โดยทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ รวมถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของวัสดุปิดแผลดังกล่าวอีกด้วย

ACKNOWLEDGEMENTS

Appreciation is expressed to those who have made contributions to this dissertation. First the author gratefully acknowledges her advisors, Prof. Pitt Supaphol from The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University and Dr. Uracha Ruktanonchai from National Nanotechnology Center, National Science and Technology Development Agency for giving her invaluable knowledge, meaningful guidance and their encouragement all along the way. She also would like to express her sincere thanks to Prof. Apichart Suksamrarn from the Department of Chemistry, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Dr. Pratana Kewsuwan from the Chemistry and Material Science Research Program, Office of Atoms for Peace for giving her useful advises and suggestions.

She gratefully acknowledges all faculty members and staffs at The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University for their knowledge and assistance. Moreover she would like to give her special thanks to all members in her research group and all of her friends for their kind assistance continual encouragement and wonderful friendship.

Asst. Prof. Pomthong Malakul, Prof. Pitt Supaphol, Dr. Uracha Ruktanonchai, Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya and Asst. Prof. Chidchanok Meechaisue are further acknowledged for being her dissertation committees, making valuable comments and suggestions.

She wishes to express her deep gratitude to her family for their unconditioned love, understanding and very supportive during all these years spent for her Ph.D. study.

Finally, she is grateful for the partial support received from the National Research Council of Thailand, the National Nanotechnology Center, the Petroleum and Petrochemical College; and the National Center of Excellence for Petroleum, Petrochemicals, and Advanced Materials, Thailand and a doctoral scholarship received from the Thailand Graduate Institute of Science and Technology (TGIST) (TG-55-09-50-060D). This work would not be carried out successfully without all financial supports.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

CHAPTER IV

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

ABBREVIATIONS

AAS	Atomic absorption spectroscope
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium
DMF	Dimethyl formamide
DMSO	Dimethyl sulfoxide
e-spinning	Electrospinning
e-spun	Electrospun
FBS	Fetal bovine serum
G	α-L-guluronic acid
GTA	Glutaraldehyde
HPLC	High pressure liquid chromatography
M	β-D-mannuronic acid
mCA	Methanolic crude extract of *Centella asiatica*
MTT	3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-tetrazoluim bromide
nAg	Silver nanoparticles
NHDF	Normal human dermal fibroblast cell
PAC	Pure asiaticoside
PBS	Phosphate buffer saline
Rf	Retention factor
RH	Relative humidity
SBF	Simulated body fluid
SEM	Scanning electron microscopy
SFM	Serum-free medium
SM	Stereo microscope
TCPS	Tissue-culture polystyrene plate
TLC	Thin-layer chromatography
TEM	Transmission electron microscope
UV-vis	UV-visible spectrophotometer

LIST OF SYMBOLS

W_i	Initial weight of the sample in its dry state
W_s	Weight of the sample in its wet, swollen state
W_d	Weight of the dried sample after immersing in buffer
M_c	The number-average molecular weight of the chain segments between cross-linking points
ρ_G	Density of gelatin
ρ_w	Density of water
V_1	Molar volume of water
χ	Flory-Huggins interaction parameter between water and gelatin
v_G	Volume fraction of gelatin in hydrogel specimens in their equilibrium swollen state
W_0	Initial dry weight of the specimens
W	Weight of the specimens in their equilibrium swollen state
N_A	Avogadro's number
V_e	The cross-link density in terms of the number of elastically effective chains per unit volume of the gelatin hydrogel network
A	Numbers of bacterial colonies for the plates that had been smeared with washing solutions from the nAg-loaded gelatin hydrogel specimens
B	Numbers of bacterial colonies for the plates that had been smeared with washing solutions from the neat gelatin hydrogel specimens
γ-rays	Gamma rays