

อนุภาคนาโน 4-คาร์บอกซีเบนซีนซัลโฟนาไมด์-โคโคซานเพื่อเป็นระบบนำส่งคือกโชรูบิซิน



นางสาวกุลธิดา ทรงสุรางค์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาปีโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4-CARBOXYBENZENESULFONAMIDE-CHITOSAN NANOPARTICLES AS
DOXORUBICIN DELIVERY SYSTEM


Miss Kultida Songsurang

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Petrochemistry and Polymer Science
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2009
Copyright of Chulalongkorn University

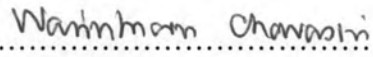
521777


Thesis Title 4-CARBOXYBENZENESULFONAMIDE-CHITOSAN
 NANOPARTICLES AS DOXORUBICIN DELIVERY
 SYSTEM
By Miss Kultida Songsurang
Field of Study Petrochemistry and Polymer Science
Thesis Advisor Associate Professor Nongnuj Muangsin, Ph.D.
Thesis Co-Advisor Krisana Siralermukul, Ph.D.

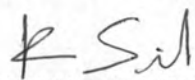
Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

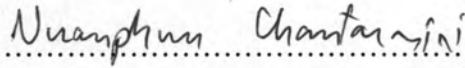
.....Dean of the Faculty of Science
(Professor Supot Hannongbua, Dr.rer.nat.)

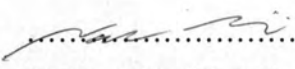
THESIS COMMITTEE

..... Chairman
(Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.)

..... Thesis Advisor
(Associate Professor Nongnuj Muangsin, Ph.D.)

..... Thesis Co-Advisor
(Krisana Siralermukul, Ph.D.)

..... Examiner
(Associate Professor Nuanphun Chantarasiri, Ph.D.)

..... External Examiner
(Nalena Praphiraksit, D.V.M., Ph.D.)

กุลธิดา ทรงสุรางค์: อนุภาคนาโน 4-คาร์บอกซีเบนซีนซัลโฟนาไมด์-ไลโดซานเพื่อเป็นระบบนำส่งด็อกโซรูบิซิน (4-CARBOXYBENZENESULFONAMIDE CHITOSAN NANOPARTICLES AS DOXORUBICIN DELIVERY SYSTEM) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.ดร.นงนุช เหมือนสิน, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ.ดร.กฤษณา ศิริเลิศมุกด, 127 หน้า.

ด็อกโซรูบิซินเป็นยาที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการรักษาโรคมะเร็งและเนื้องอก แต่อย่างไรก็ตาม ด็อกโซรูบิซินเป็นยาที่มีผลข้างเคียงต่าง ๆ มากมาย นำไปสู่การพัฒนาของระบบนำส่งยาด็อกโซรูบิซินในรูปแบบต่างๆ ไมโครแคปซูล และอนุภาคนาโน เป็นต้น เพื่อลดผลข้างเคียงและเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา โดยมุ่งเน้นให้ยาถูกปลดปล่อยที่อวัยวะเป้าหมาย ในอัตราเร็วและปริมาณที่กำหนด ลดอาการข้างเคียง และควบคุมจำนวนครั้งในการใช้ยาเมื่อเทียบกับยาในรูปแบบธรรมดา ดังนั้น งานวิจัยนี้ให้ระบบนำส่งยาแบบใหม่สำหรับด็อกโซรูบิซินที่มีสมบัติเกาะติดเนื้อเยื่อของเซลล์มะเร็งได้ดี เพื่อเพิ่มความสามารถเกาะติดยากับเนื้อเยื่อเซลล์มะเร็งจึงมีโอกาสนำยาเข้าสู่เนื้อเยื่อได้มากขึ้นและนานขึ้น เพิ่มการดูดซึมยาเข้าสู่เซลล์มะเร็งและสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาภายในระยะเวลาตามที่ต้องการ โดยเลือกอนุภาคนาโนไลโดซานและดัดแปรไลโดซานด้วย 4-คาร์บอกซีเบนซีนซัลโฟนาไมด์ ร่วมกับพอลิแลกติกแอซิด โดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิ่ง โดยขึ้นต้นได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคได้แก่ เบอร์เข็ม ศักย์ไฟฟ้า อัตราการไหลของพอลิเมอร์เมื่อออกจากเข็ม และระยะทางจากปลายเข็มถึงผิวหน้าของสาร นอกจากนี้ ยังศึกษาลักษณะทางกายภาพ เช่น SEM, Particle size analyzer, FT-IR, DSC และ TGA รวมทั้งประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้ อัตราการปลดปล่อยยา และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโปไอโซเมอร์เรส II โดยภาพรวมอนุภาคนาโนไลโดซานดัดแปรด้วย 4-คาร์บอกซีเบนซีนซัลโฟนาไมด์ ร่วมกับพอลิแลกติกแอซิด อัตราส่วน 1:2 w/w ที่มีด็อกโซรูบิซิน 2% มีประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อยด็อกโซรูบิซินดีกว่าสูตรผสมอื่นๆ นานถึง 26 วัน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโปไอโซเมอร์เรส II ได้สูงถึง 78.69 เปอร์เซ็นต์

สาขาวิชา ปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ ลายมือชื่อนิสิต...กุลธิดา...ทรงสุรางค์.....
 ปีการศึกษา 2552..... ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
 ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5172226923: MAJOR PETROCHEMISTRY AND POLYMER SCIENCE

KEYWORDS: DOXORUBICIN/ CHITOSAN/ POLY (LACTIC ACID)/
NANOPARTICLES/ ELECTROSPRAY/ DRUG DELIVERY SYSTEM

KULTIDA SONGSURANG: 4-CARBOXYBENZENESULFONAMIDE
CHITOSAN NANOPARTICLES AS DOXORUBICIN DELIVERY SYSTEM.
THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. NONGNUJ MUANGSIN, Ph.D.,
THESIS CO-ADVISOR: KRISANA SIRALERTMUKUL, PhD., 127 pp.

Doxorubicin (DOX) is a commercial and widely used anticancer drug. Nevertheless, it also has certain severe side effects. In order to minimize these detrimental effects, various drug delivery systems, including polymer-drug delivery systems have been developed. It has been demonstrated that a chitosan-based delivery system, especially in nanoparticles, can reduce such side effects and extend the release time. Therefore, this thesis develops new drug delivery systems for doxorubicin in order to enhance adhesion between tumor tissues and the drug, giving an opportunity for the drug to contact with the cancer tissues for a longer period of time. Moreover, it may increase drug metabolism in cancer cells and control drug release during the required time. The nanoparticles of chitosan and 4-carboxybenzenesulfonamide-chitosan with poly (lactic acid) by the electrospray technique were studied. In preliminary study, the effects of electrospray factors on the shape and size distribution have been investigated, including needle gauge, applied voltage, flow rate and working distance. In addition, the physical properties such as the surface morphology, particle size distribution, Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR), Differential scanning calorimetry (DSC), Thermogravimetric analysis (TGA), encapsulation efficiency, and *in vitro* release behavior were investigated. The composite polymer-doxorubicin nanoparticles produced high entrapment efficiency and gave the prolonged release profiles of doxorubicin. The release profiles of doxorubicin were greatly improved upon using modified-chitosan with the increasing ratio of poly (lactic acid). Overall, it was clearly shown that the formulation of 2.0% doxorubicin loaded composite modified-chitosan/poly (lactic acid) at the ratio of 1:2 could provide controlled release for 26 days. Moreover, the (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-2% showed the most potent inhibition of Topoisomerase II enzyme (78.69% inhibition).

Field of Study: Petrochemistry and Polymer Science Student's Signature: Kultida Songsurang
Academic Year: 2009 Advisor's Signature: N. Muangsin
Co-Advisor's Signature: KSM

CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (IN THAI).....	iv
ABSTRACT (IN ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES	xiii
LIST OF FIGURES	xiv
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xviii
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
1.1 Introduction	1
1.2 The objectives of this research.....	5
1.3 The scope of research.....	5
CHAPTER II BACKGROUND AND LITERATURE REVIEWS.....	7
2.1 Cancer.....	7
2.2 Doxorubicin.....	8
2.2.1 Mechanism of action	9
2.2.2 Physicochemical properties.....	9
2.3 Topoisomerase.....	11
2.4 Polymer in pharmaceutical field.....	13
2.4.1 Mucoadhesion.....	14
2.4.2 Mucoadhesive polymers.....	14
2.4.3 Chitosan.....	16

	PAGE
2.4.4 Carboxybenzenesulfonamide – Chitosan (4-CBS-CS).....	19
2.4.5 Poly (lactic acid).....	21
2.5 Controlled release system	22
2.5.1 Advantages of controlled release.....	22
2.5.2 Methods of achieving controlled release.....	23
2.6 Preparation of polymeric nanoparticles.....	25
2.7 Electrospray.....	26
CHAPTER III MATERIALS AND METHODS.....	29
3.1 Materials.....	29
3.2 Instruments.....	31
3.3 Methods.....	32
3.3.1 Synthesis of 4-carboxybenzenesulfonamide-chitosan (4-CBS-CS) conjugates.....	33
3.3.2 Preparation of hydrophobic chitosan (sodium dodecyl sulfate–chitosan complex).....	33
3.3.3 Particles preparation.....	33
3.3.3.1 Chitosan (CS) and 4-carboxybenzenesulfonamide- chitosan (m-CS) nanoparticles.....	33
3.3.3.2 Chitosan and 4-carboxybenzenesulfonamide-chitosan mixed poly (lactic acid) nanoparticles.....	34
3.3.4 Characterization of polymer-drug nanoparticles.....	35
3.3.4.1 Scanning electron microscope (SEM).....	35

	PAGE
3.3.4.2 Particle size and size distribution.....	35
3.3.4.3 Zeta potential.....	36
3.3.4.4 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR).....	36
3.3.4.5 Differential scanning calorimetry (DSC).....	36
3.3.4.6 Thermogravimetric analysis (TGA).....	36
3.3.5 Evaluation of drug entrapment efficiency.....	37
3.3.5.1 Calibration curve of doxorubicin for UV spectroscopy	37
3.3.5.2 Determination of drug entrapment efficiency (EE).....	37
3.3.6 <i>In vitro</i> drug release.....	37
3.3.7 Topoisomerase II inhibition.....	38
3.3.7.1 Preparation of pBR322 plasmid DNA.....	38
3.3.7.2 Topoisomerase II assay.....	38
3.3.8 Statistical analysis.....	39
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION.....	40
4.1 Preliminary Study.....	40
4.1.1 Effect of needle gauge.....	40
4.1.2 Effect of applied voltage.....	42
4.1.3 Effect of the flow rate.....	45
4.1.4 Effect of working distance.....	46
4.2 Effect of pure polymer with DOX.....	48

	PAGE
4.2.1 Doxorubicin loaded chitosan and 4-carboxybenzenesulfonamide-chitosan nanoparticles.....	48
4.2.2 Characterization of CS and m-CS with and without DOX Nanoparticles.....	48
4.2.2.1 Morphology.....	48
4.2.2.2 Particle size and size distribution.....	51
4.2.2.3 Zeta potential.....	51
4.2.2.4 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).....	54
4.2.2.5 Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	57
4.2.2.6 Thermogravimetric analysis (TGA).....	60
4.2.3 Evaluation of drug encapsulation efficiency (%EE).....	63
4.2.4 <i>In vitro</i> DOX release profiles.....	64
4.2.4.1 Effect of amount DOX loaded CS.....	64
4.2.4.2 Effect of DOX loaded m-CS.....	66
4.3 Effect of anionic and cationic copolymer matrix of m-CS with DOX.....	68
4.3.1 Morphology.....	68
4.3.2 <i>In vitro</i> DOX release profiles.....	68
4.4 Effect of anionic copolymer matrix of CS and m-CS with DOX...	69
4.4.1 Hydrophobic chitosan (sodium dodecyl sulfate-chitosan complex) mixed poly (lactic acid).....	70

	PAGE
4.4.1.1 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).....	70
4.4.1.2 Thermogravimetric analysis (TGA).....	71
4.4.1.3 Powder x-ray diffraction (XRD).....	72
4.4.2 Doxorubicin loaded chitosan and 4- carboxybenzenesulfonamide-chitosan mixed poly (lactic acid) nanoparticles.....	73
4.4.3 Characterization of CS and m-CS mixed PLA with and without DOX nanoparticles.....	73
4.4.3.1 Morphology.....	74
4.4.3.2 Particle size and size distribution.....	77
4.4.3.3 Zeta potential.....	80
4.4.3.4 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).....	80
4.4.3.4.1 Effect of presenting chitosan (CS) and m- chitosan (CS) with poly (lactic acid).....	80
4.4.3.4.2 Effect of presenting CS/PLA and m-CS/PLA with DOX.....	83
4.4.3.5 Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	85
4.4.3.5.1 Effect of presenting chitosan (CS) and m- chitosan (CS) with poly (lactic acid).....	85
4.4.3.5.2 Effect of presenting CS/PLA and m-CS/PLA with DOX.....	87
4.4.1.2 Thermogravimetric analysis (TGA).....	89

	PAGE
4.4.3.6.1 Effect of presenting chitosan (CS) and m- chitosan (CS) with poly (lactic acid).....	89
4.4.3.6.2 Effect of presenting CS/PLA and m-CS/PLA with DOX.....	91
4.4.4 Evaluation of drug encapsulation efficiency (%EE)	93
4.4.5 <i>In vitro</i> DOX release profiles.....	94
4.4.5.1 Effect of CS and m-CS mixed poly (lactic acid) with DOX.....	94
4.4.5.2 Effect of m-CS and poly (lactic acid) with DOX.....	95
4.4.6 Preparation of pBR322 plasmid DNA.....	98
4.4.7 Topoisomerase II assay.....	98
CHAPTER V CONCLUSIONS.....	100
REFERENCES.....	101
APPENDICES.....	108
Appendix A.....	109
Appendix B.....	111
Appendix C.....	126
VITAE.....	127

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
2.1 The relative bioadhesive property of various polymers.....	15
3.1 Instruments.....	31
3.2 The parameters studied for the nanoparticles preparation by using electrospray technique.....	35
4.1 Effect of needle gauge on particle size of chitosan.....	42
4.2 Effect of applied voltage on particle size of chitosan	44
4.3 Effect of flow rate on particle size of chitosan.....	46
4.4 Effect of working distance on particle size of chitosan.....	47
4.5 Effect of composition on morphology of the and zeta potential produced by optimal condition.....	49
4.6 Encapsulation and loading capacity of doxorubicin loaded polymer nanoparticles.....	63
4.7 Effect of composition on morphology of the and zeta potential produced by optimal condition.....	74
4.8 Encapsulation and loading capacity of doxorubicin loaded polymer nanoparticles.....	93

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
1.1 Chemical structures of (a) chitosan, (b) chitosan-poly (lactide-co-glycolide), (c) 4-carboxybenzenesulfonamide-chitosan conjugate, (d) poly (lactic acid).....	2
2.1 Cell division of normal and cancer cell.....	8
2.2 Chemical structure of doxorubicin.....	9
2.3 DNA topoisomerase II mechanism.....	12
2.4 Structure of chitin and chitosan.....	17
2.5 Structure of 4-carboxybenzenesulfonamide-chitosan.....	19
2.6 EDAC as coupling reagent for the formation of 4-CBS-CS conjugate.....	20
2.7 Structure of poly (lactic acid).....	21
2.8 Hypothetical serum drug concentrations of various oral dosage forms....	23
2.9 Presentation of diffusion controlled release.....	24
2.10 Presentation of swelling controlled release.....	24
2.11 Presentation of erosion controlled release-(a) bulk erosion and (b) surface erosion.....	25
2.12 The droplet is generated by electrical force.....	26
2.13 Electropray ionization apparatus.....	28
3.1 Flow chart of methodology.....	32
3.2 Electropray ionization apparatus.....	34

FIGURE	PAGE
4.1 Effect of needle gauge on size measured by SEM.....	41
4.2 A diagram of the steps of electrospraying technique.....	43
4.3 Effect of applied voltage on size measured by SEM.....	44
4.4 Effect of flow rate on size measured by SEM.....	45
4.5 Effect of working distance on size measured by SEM.....	47
4.6 SEM of particles (a) CS at wide screen, (b) CS (capture of one particle), (c) m-CS at wide screen, (d) m-CS (capture of one particle), (e) CS- DOX 0.25%, (f) CS-DOX 0.5%, (g) CS-DOX 1.0% at wide screen.....	50
4.7 Size distribution of CS and m-CS nanoparticles (a) graph log, (b) graph divide by period of size.....	52
4.8 Size distribution of CS and CS-DOX nanoparticles (a) graph log, (b) graph divide by period of size.....	53
4.9 FTIR spectra of (a) CS, (b) m-CS.....	54
4.10 FT-IR spectra of (a) CS, (b) DOX, (c) CS-DOX 0.25%, (d) CS-DOX 0. 5%, (e) CS-DOX 1.0%.....	56
4.11 DSC thermograms of of (a) CS, (b) m-CS nanoparticles.....	57
4.12 DSC thermograms of (a) CS, (b) CS-DOX 0.25%, (c) CS-DOX 0. 5%, (d) CS-DOX 1.0%.....	59
4.13 TGA thermograms of of (a) CS, (b) m-CS nanoparticles.....	60
4.14 TGA thermograms of (a) CS, (b) CS-DOX 0.25%, (c) CS-DOX 0. 5%, (d) CS-DOX 1.0%.....	62
4.15 Release of doxorubicin (DOX) from chitosan nanoparticles at pH 7.4, 37°C (average± SD, n=3).....	65

FIGURE	PAGE
4.16 Release of doxorubicin (DOX) from CS and m-CS nanoparticles at pH 7.4, 37°C (average± SD, n=3).....	67
4.17 SEM of particles (a) m-CS/CS, (b) m-CS/Alg nanoparticles.....	68
4.18 Release of doxorubicin (DOX) from m-CS/CS and m-CS/Alg nanoparticles at pH 7.4, 37°C (average± SD, n=3).....	69
4.19 FTIR spectra of (a) CS, (b) HB-CS.....	71
4.20 TGA thermograms of (a) CS, (b) HB-CS.....	72
4.21 X-ray diffractograms of (a) CS, (b) HB-CS.....	73
4.22 SEM of particles (a) CS/PLA (b) m-CS/PLA (c) (CS/PLA)-DOX (1:1 w/w)-1% (d) (m-CS/PLA)-DOX (1:1 w/w)-1% (e) (m-CS/PLA)-DOX (2:1 w/w)-1% (f) (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-1% (h) (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-2%.....	76
4.23 Size distribution of CS, m-CS, CS/PLA and m-CS/PLA nanoparticles (a) graph log, (b) graph divide by period of size.....	78
4.24 Size distribution of (CS/PLA):DOX (1:1 w/w)-1%, (m-CS/PLA):DOX (1:1 w/w)-1%, (m-CS/PLA):DOX (2:1 w/w)-1%, (m-CS/PLA):DOX (1:2 w/w)-1%, (m-CS/PLA):DOX (1:2 w/w)-2% nanoparticles (a) graph log (b) graph divide by period of size.....	79
4.25 FT-IR spectra of (a) CS, (b) m-CS (c) PLA (d) CS/PLA (e) m-CS/PLA..	82
4.26 FTIR spectra of (a) CS, (b) m-CS, (c) PLA, (d) DOX, (e) (CS/PLA)-DOX (1:1 w/w)-1%, (f) (m-CS/PLA)-DOX (1:1 w/w)-1%, (g) (m-CS/PLA)-DOX (2:1 w/w)-1%, (h) (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-1%, (i) (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-2%.....	84

FIGURE	PAGE
4.27 DSC thermograms of (a) CS, (b) m-CS, (c) PLA, (d) CS/PLA, (e) m-CS/PLA.....	86
4.28 DSC thermograms of (a) CS, (b) m-CS, (c) PLA, (d) (CS/PLA)-DOX (1:1 w/w)-1%, (e) (m-CS/PLA)-DOX (1:1 w/w)-1%, (f) (m-CS/PLA)-DOX (2:1 w/w)-1%, (g) (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-1%, (h) (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-2%.....	88
4.29 TGA thermograms of (a) CS, (b) m-CS, (c) PLA, (d) CS/PLA, (e) m-CS/PLA.....	90
4.30 TGA thermograms of (a) CS, (b) m-CS, (c) PLA, (d) (CS/PLA)-DOX (1:1 w/w)-1%, (e) (m-CS/PLA)-DOX (1:1 w/w)-1%, (f) (m-CS/PLA)-DOX (2:1 w/w)-1%, (g) (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-1%, (h) (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-2%.....	92
4.31 Release of doxorubicin (DOX) from CS/PLA and m-CS/PLA nanoparticles at pH 7.4, 37°C (average± SD, n=3).....	95
4.32 Release of doxorubicin (DOX) from (m-CS/PLA)-DOX (2:1 w/w)-1%, (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-1% and (m-CS/PLA)-DOX (1:2 w/w)-2% nanoparticles at pH 7.4, 37°C (average± SD, n=3).....	97
4.33 Representative of agarose gel profile of pBR322 plasmid DNA band.....	98
4.34 Inhibitory effects of tested compounds on human DNA topoisomerase II.	99

LIST OF ABBREVIATIONS

%	percentage
µg	microgram
µL	microliter
µmol	micromole
APDs	avalanche photodiode array
aq	aqueous
cm	centimeter
cm ⁻¹	unit of wave number
conc.	concentration
4-CBS	4-carboxybenzenesulfonamide
CS	chitosan
°C	degree Celsius (centigrade)
DOX	doxorubicin
DSC	Differential Scanning Calorimeter
%DD	degree of deacetylation
EE	entrapment efficiency
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectrophotometer
g	gram
h	hour
kDa	kilodalton
kV	kilovolt
M	concentration in molar
m-CS	modified-chitosan
mg	milligram
min	minute
mL	milliliter
mL/h	milliliter per hour
MW	molecular weight

nm	nanometer
PDI	polydispersity index
pH	power of hydrogen ion or the negative logarithm (base ten)
PLA	poly (lactic acid)
ppm	part per million
KBr	potassium bromide disk
r^2	correlation coefficient
rpm	round per minute
S.D.	standard deviation
SEM	Scanning Electron Microscope
t	time
TGA	Thermogravimetric Analysis
T_m	melting temperature
UV	ultraviolet
v/v	volume/volume
w/w	weight/weight
XRD	X-ray diffraction