

อิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบต่อการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยและการประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมิน



นางสาวณัฐกานต์ จันทร์ทอง

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวเวช (สหสาขาวิชา) คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2560  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF ANIONIC SURFACTANTS ON THE GELATION OF THAI SILK FIBROIN AND ITS  
APPLICATION ON CONTROLLED RELEASE OF CURCUMIN

Miss Nattakan Chantong



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Engineering Program in Biomedical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

อิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบต่อการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยและการประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมิน

โดย

นางสาวณัฐกานต์ จันทร์ทอง

สาขาวิชา

วิศวกรรมชีวเวช (สหสาขาวิชา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์จุฑามาศ รัตนวราภรณ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ศาสตราจารย์สุทธิลักษณ์ ปทุมราช

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จุฑามาศ รัตนวราภรณ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(ศาสตราจารย์สุทธิลักษณ์ ปทุมราช)

..... กรรมการ  
(สุพรรณิการ์ ถวิลหวัง)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(วรายุทธ สะโจอมแสง)

ณัฐกานต์ จันทร์ทอง : อิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบต่อการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยและการประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมิน (EFFECT OF ANIONIC SURFACTANTS ON THE GELATION OF THAI SILK FIBROIN AND ITS APPLICATION ON CONTROLLED RELEASE OF CURCUMIN) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
 หลัก: ผศ.จุฑามาศ รัตนวราภรณ์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ศ.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช,  
 119 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย (SF) ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ เพื่อประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินและใช้เป็นเจลทากระตุ้นการหายของแผล โดยได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ได้แก่ sodium octyl sulfate (SOS), sodium dodecyl sulfate (SDS) และ sodium tetradecyl sulfate (STS) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเคมีคล้ายกัน แต่มีความยาวของสายอัลคิลแตกต่างกัน ต่อพฤติกรรมการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย พบว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิด สามารถเร่งการเกิดเจล ณ อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$ , pH 7.4 ได้ในช่วงระยะเวลา 14 นาที ถึง 144 ชั่วโมง ขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว กลไกการเกิดเจลดังกล่าวเป็นการเกิดร่วมกันระหว่างอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ อัตราการขยายตัวของโพลีเมอร์ของไฟโบรอินไหมไทยและโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวและการเกิดเจลตามธรรมชาติของไฟโบรอินไหมไทย โดยกลไกดังกล่าวจะกระตุ้นการเกิดโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$ -sheet ซึ่งมีเสถียรภาพและผันกลับไม่ได้ งานวิจัยนี้ พบว่า ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่กระตุ้นด้วย STS 0.09% โดยน้ำหนัก มีระยะเวลาการเกิดเจลรวดเร็ว (20 นาที) เจลมีความคงตัวสูง อัตราการย่อยสลายช้า และสามารถปลดปล่อยเคอร์คูมินได้เนิ่นนาน นอกจากนี้ยังไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของหนู เมื่อทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO 10993 part 5 และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพของไฮโดรเจลในการยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลชนิดสุญเสียทั้งชั้นในหนูทดลองพบว่า ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ไม่บรรจุและบรรจุเคอร์คูมินสามารถยับยั้งการอักเสบของแผลได้ในช่วง 3 วันแรกของการรักษา และเร่งการหายของแผลโดยการกระตุ้นการสร้างเซลล์เยื่อบุผิวได้ดีเทียบเท่ากับแผลกลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล อันเนื่องมาจากไฟโบรอินไหมมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ และมีอัตราการย่อยสลายที่เหมาะสม ส่วนเคอร์คูมินมีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบ จึงสรุปได้ว่า ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยนี้มีประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินและการกระตุ้นการหายของแผล

สาขาวิชา วิศวกรรมชีวเวช (สหสาขาวิชา)

ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

# # 5870142021 : MAJOR BIOMEDICAL ENGINEERING

KEYWORDS: THAI SILK FIBROIN / ANIONIC SURFACTANT / HYDROGEL / CURCUMIN

NATTAKAN CHANTONG: EFFECT OF ANIONIC SURFACTANTS ON THE GELATION OF THAI SILK FIBROIN AND ITS APPLICATION ON CONTROLLED RELEASE OF CURCUMIN. ADVISOR: ASST. PROF.JUTHAMAS RATANAVARAPORN, Ph.D., CO-ADVISOR: PROF.SUTHILUK PATUMRAJ, Ph.D., 119 pp.

This research aimed to develop Thai silk fibroin (SF) hydrogel by the induction of anionic surfactants for controlled release of curcumin and application as a topical gel for wound healing acceleration. The effects of various types of anionic surfactants including sodium octyl sulfate (SOS), sodium dodecyl sulfate (SDS) and sodium tetradecyl sulfate (STS), which have similar chemical structure but different alkyl chain length, on the gelation behavior of Thai silk fibroin were investigated. The results revealed that the 3 types of anionic surfactants could induce the gelation of Thai silk fibroin at 37°C, pH 7.4 within 14 min to 144 hours, depending on the type and concentration of anionic surfactant. The gelation mechanisms were explained by the combination of hydrophobic interaction, electrostatic interaction, and the self-transition of silk fibroin which promoted the formation of stable and irreversible  $\beta$ -sheet structure in the gel. It was found that the Thai silk fibroin hydrogel induced by 0.09% STS formed gel quickly (20 min). This hydrogel showed slow degradation rate and sustained the release of curcumin while it was not toxic to L929 mouse fibroblast cells when tested according to ISO 10993 part 5. When applied as topical gel in full-thickness wound of mouse, the Thai silk fibroin hydrogels induced by 0.09% STS without and with curcumin encapsulation reduced the inflammation in wound at 3 days after treatment and accelerated the wound closure by the promotion of re-epithelialization in wound as effective as the fibrin gel. This was because the biocompatibility and appropriate degradation rate of silk fibroin and the anti-inflammation activity of curcumin. In summary, the hydrogel developed in this research had potential for controlled release of curcumin.

Field of Study: Biomedical Engineering Student's Signature .....

Academic Year: 2017 Advisor's Signature .....

Co-Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือจากหลายๆท่าน ซึ่งผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. จุฑามาศ รัตนวราภรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษา, ศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม, ศ.ดร. ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล รศ.ดร. โศรดา กนกพานนท์ และ อ. ดร. พีรพัฒน์ ทองนีก เป็นอย่างสูงสำหรับการให้คำปรึกษาต่องานวิจัย การออกแบบและวางแผนการวิจัย และแนวทางในการดำเนินงานวิจัยได้อย่างถูกต้อง

ขอขอบคุณ คณะกรรมการ ซึ่งได้แก่ อ.ภญ.ดร.สุพรรณิการ์ ถวิลหัง และ ดร.วรายุทธ สะโจนแสง ที่ท่านได้สละเวลาอันมีค่ามาสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณศุภกานดา สุขแพทย ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการทดลองในสัตว์ทดลอง, คุณชาวี เหล่ามีผล ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในทุกด้านของการทำการทดลอง

ขอขอบคุณ ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถจังหวัดนครราชสีมา สำหรับความอนุเคราะห์รังไหมสำหรับใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ ทูตส่งเสริมนักวิจัยรุ่นใหม่ของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (TRG 5880213)

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมวัสดุการแพทย์ ห้องปฏิบัติการภาคชีวสารวิทยา คณะแพทยศาสตร์ และศูนย์สัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับสถานที่ อุปกรณ์เครื่องมือ คำแนะนำ และความช่วยเหลือในการทำการทดลอง จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัย กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวที่เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนตลอดมา จนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ .....	4
1.3 ขอบเขตงานวิจัย .....	4
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ.....	6
บทที่ 2 .....	7
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	7
2.1 ระบบนำส่งยา (Drug delivery systems).....	7
2.1.1 นิยามของระบบนำส่งยา .....	7
2.1.2 เส้นทางการให้ยา (routes of drug administration) .....	7
2.1.2.1 การให้ยาชนิดออกฤทธิ์ทั่วร่างกาย.....	7
2.1.2.2 การให้ยาชนิดออกฤทธิ์เฉพาะที่.....	7
2.1.3 รูปแบบการปลดปล่อยยา.....	7
2.1.4 ตัวพาหยา (carrier).....	8
2.1.4.1 ตัวพาหยาขนาดนาโน.....	8
2.1.4.2 ตัวพาหยาขนาดไมครอน .....	9
2.1.4.3 ตัวพาหยาที่มีขนาดใหญ่กว่าไมครอน .....	10
2.2 ไฟโบรอินไหม (Fibroin silk).....	11

2.2.1	โครงสร้างทางเคมีของไฟโบรอินไหม	12
2.2.2	สมบัติของไฟโบรอินไหม	14
2.2.3	สารละลายไฟโบรอินไหม	15
2.2.4	การกระตุ้นการเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินไหม	16
2.2.4.1	อุณหภูมิ	16
2.2.4.2	ค่าความเป็นกรด-เบส	16
2.2.4.3	แรงกล	17
2.2.4.4	การเติมสารเคมีกระตุ้นการเชื่อมขวางภายในโมเลกุล	17
2.2.5	การประยุกต์ใช้ไฟโบรอินไหมในทางการแพทย์	18
2.2.5.1	ไหมเย็บแผล	18
2.2.5.2	แผ่นปิดแผล	19
2.2.5.3	โครงเลี้ยงเซลล์	19
2.2.5.4	ตัวพายาในระบบนำส่งยา	19
2.3	สารลดแรงตึงผิว (surfactant)	22
2.3.1	โครงสร้างทางเคมี	22
2.3.2	ประเภทของสารลดแรงตึงผิว	22
2.3.2.1	สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ	23
2.3.2.2	สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวก	24
2.3.2.3	สารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ	24
2.3.2.4	สารลดแรงตึงผิวประเภท Amphoteric/Zwitterionic	24
2.3.3	การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบในทางการแพทย์	24
2.3.3.1	Sodium dodecyl sulfate (SDS)	25
2.3.3.2	Sodium tetradecyl sulfate (STS)	26



2.4 เคอร์คูมิน (curcumin) .....	26
2.4.1 องค์ประกอบทางเคมี .....	27
2.4.2 สมบัติทั่วไปของเคอร์คูมิน .....	28
2.4.3 สมบัติทางชีวภาพของเคอร์คูมิน .....	29
2.4.3.1ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ .....	29
2.4.3.2 ฤทธิ์ต้านการอักเสบและรักษาบาดแผล .....	29
2.4.3.3 ฤทธิ์ต้านมะเร็ง .....	29
2.4.3.5 ลดอาการอักเสบของกล้ามเนื้อ .....	30
2.4.3.6 ลดการสะสมของคอเรสเตอรอล .....	30
2.4.3.7 รักษาโรคเบาหวาน .....	30
2.4.4 งานวิจัยที่ใช้เคอร์คูมินในการรักษาแผล .....	32
บทที่ 3 .....	36
วัสดุและวิธีดำเนินงานวิจัย .....	36
3.1 วัสดุและสารเคมี .....	36
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ .....	37
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย .....	38
3.3.1 โครงสร้างเคมีและสมบัติของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ 3 ชนิด .....	39
3.3.1.1 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นวิกฤต (critical micelle concentration: CMC) ของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ .....	39
3.3.1.2 การวิเคราะห์หาค่าศักย์เซต้า (zeta potential) และขนาดไมเซลล์ (micelle size) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ .....	39
3.3.2 การขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยโดยการกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ และศึกษาสมบัติของไฮโดรเจล .....	39

3.3.2.1 การเตรียมสารละลายไฟโบรอินใหม่ไทย .....	39
3.3.2.2 การเตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ.....	41
3.3.2.3 การศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆต่อ ระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินใหม่ไทย ด้วยการสังเกตและการวัดการ เปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer.....	41
3.3.2.4 การศึกษาโครงสร้างพื้นฐานของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้น ด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิค Scanning electron microscope (SEM).....	41
3.3.2.5 การวิเคราะห์ค่าศักย์เซต้า (zeta potential) ของสารผสมระหว่าง สารละลายไฟโบรอินใหม่ไทยและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด ต่างๆ.....	42
3.3.2.6 การวิเคราะห์โครงสร้างเคมีและโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิว ประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared (FT-IR spectroscopy) .....	42
3.3.2.7 การวิเคราะห์สัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (gel fraction) ของไฮโดรเจลไฟโบ รอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ ชนิดต่างๆ .....	43
3.3.2.8 การศึกษาความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบ รอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ ชนิดต่างๆ ในสารละลายเอนไซม์ โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สภาวะ จำลองผิวหนัง (pH 5.5).....	43
3.3.2.9 การศึกษาความเป็นพิษของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย การเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ กับเซลล์ผิวหนังหนู (L929 mouse fibroblasts) ในระดับ..... ห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5 .....	44

3.3.3 การขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยโดยการกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ และบรรจุเคอร์คิวมิน.....	45
3.3.3.1 การศึกษาความสามารถในการละลายของเคอร์คิวมินในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ .....	45
3.3.3.2 การขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่บรรจุเคอร์คิวมิน ด้วยการผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทยกับสารละลายเคอร์คิวมินที่ละลายในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ.....	46
3.3.4 การศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คิวมินของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส14 (protease XIV) ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5).....	46
3.3.5 การศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ปลดปล่อยเคอร์คิวมิน ในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง .....	47
3.3.5.1 สัตว์ทดลอง .....	47
3.3.5.2 การเตรียมบาดแผล .....	47
3.3.5.3 การแบ่งกลุ่มการทดสอบ .....	47
3.3.5.4 การตรวจวิเคราะห์ผลการรักษา.....	47
บทที่ 4 .....	49
ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง .....	49
4.1 สมบัติของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ .....	50
4.1.1 ความเข้มข้นวิกฤต (critical micelle concentration: CMC) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ .....	50
4.1.2 ค่าศักย์เซต้า (zeta potential) และขนาดไมเซลล์ (micelle size) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ .....	53
4.2 อิทธิพลของชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบต่อพฤติกรรมและระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย.....	53

4.2.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS และความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอินใหม่ไทยต่อระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินใหม่ไทย.....	53
4.2.2 อิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อพฤติกรรมและระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินใหม่ไทย ณ อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4.....	58
4.3 สมบัติต่างๆของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยโดยการกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ.....	60
4.3.1 ลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างสัณฐานของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ.....	60
4.3.2 ค่าศักย์เซต้า (zeta potential) ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินใหม่ไทยและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ.....	64
4.3.3 หมู่ฟังก์ชันทางเคมีและโครงสร้างทุติยภูมิ(secondary structure)ของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ.....	66
4.3.4 สัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (gel fraction) ของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ.....	73
4.3.5 อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5).....	74
4.3.6 ความเป็นพิษของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆกับเซลล์ผิวหนังหนู (L929 mouse fibroblasts) ในระดับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5.....	77
4.4 ความสามารถในการละลายของเคอร์คิวมินในสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ.....	82

4.5 อัตราการปลดปล่อยเอนไซม์ของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5) .....	83
4.6 ประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ปลดปล่อยเอนไซม์ในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง .....	85
4.6.1 ร้อยละพื้นที่ของแผลที่ปิดหลังทำการรักษา .....	85
4.6.2 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลที่เข้ามาบริเวณเนื้อเยื่อแผล .....	88
4.6.3 ร้อยละการสร้างเซลล์เยื่อผิวหนังบริเวณเนื้อเยื่อบาดแผล .....	91
บทที่ 5 .....	97
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	97
5.1 สรุปผลการทดลอง .....	97
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	99
รายการอ้างอิง .....	100
ภาคผนวก ก .....	109
ภาคผนวก ข .....	113
ภาคผนวก ค .....	115
ภาคผนวก ง .....	117
ภาคผนวก จ .....	118
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	119

## สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2. 1 รูปแบบต่างๆการปลดปล่อยยา .....	8
รูปที่ 2. 2 รูปแบบตัวพาขนาดนาโน .....	9
รูปที่ 2. 3 รูปแบบตัวพาขนาดไมครอน (micro-carrier) ชนิดอนุภาคทรงกลมขนาดไมครอนที่ผลิตจากไฟโบรอินไหมผสมกับเจลาติน .....	10
รูปที่ 2. 4 ตัวพาที่มีขนาดใหญ่กว่าไมครอน ชนิดไฮโดรเจล (hydrogel) ที่ผลิตจากไฟโบรอินไหมที่กระตุ้นการเกิดเจลโดยการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบส.....	11
รูปที่ 2.5 องค์ประกอบหลักที่พบในเส้นใยไหม .....	12
รูปที่ 2.6 โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ชนิดเบตาชีท ( $\beta$ -sheet) ของ H-chain ในไฟโบรอินไหม .....	13
รูปที่ 2.7 ลำดับของกรดอะมิโนในไฟโบรอินไหม .....	13
รูปที่ 2.8 พฤติกรรมการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิ .....	16
รูปที่ 2.9 พฤติกรรมเกิดเจลของไฟโบรอินไหมเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบส [3].....	17
รูปที่ 2.10 ผลิตภัณฑ์ไหมเย็บแผลที่ผลิตจากไหมไฟโบรอินไหม ชื่อทางการค้า DemeTech's...18	
รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของสารลดแรงตึงผิวและการจัดเรียงตัวแบบไมเซลล์.....	22
รูปที่ 2.12 ระยะเวลาการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ .....	25
รูปที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของ SDS และผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของ SDS.....	26
รูปที่ 2.14 โครงสร้างทางเคมีของSTS และผลิตภัณฑ์ SOTRADECOL <sup>®</sup> ที่ใช้ในการฉีดยาเพื่อรักษาเส้นเลือดอุดตัน .....	26
รูปที่ 2.15 โครงสร้างทางเคมีของสารเคอร์คูมินนอยด์ 3 ชนิดที่เป็นองค์ประกอบหลักในขมิ้นชัน.....	28
รูปที่ 2.16 ประโยชน์ในการรักษาอาการและโรคต่างๆของเคอร์คูมิน .....	31

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 3.1 แผนผังการดำเนินงานวิจัย.....	38
รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการกำจัดเซรีซินออกจากรังไหม .....	40
รูปที่ 3.3 ขั้นตอนการละลายเส้นใยไฟโบรอินไหมไทยในเกลือลิเทียมโบรไมด์ .....	40
รูปที่ 3.4 ภาพถ่ายชิ้นเนื้อบริเวณบาดแผลที่ผ่านการย้อมด้วยเทคนิค H&E ที่กำลังขยาย 4X.....	48
รูปที่ 4. 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ .....	52
รูปที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ ก) SDS ข) STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	59
รูปที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ .....	61
รูปที่ 4.4 โครงสร้างสัณฐานของไฮโดรไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.09, 0.45% โดยน้ำหนัก .....	63
รูปที่ 4.5 สเปกตรัมของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ .....	68
รูปที่ 4.6 กลไกการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ได้แก่ SOS SDS และ STS.....	72
รูปที่ 4.7 ร้อยละสัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำของของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย .....	74
รูปที่ 4.8 ร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ .....	76
รูปที่ 4.9 ร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ L929 ภายหลังเลี้ยงในตัวอย่างสารสกัดของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ.....	78
รูปที่ 4.10 ความเข้มข้นของเคอร์คูมินสูงสุดที่ละลายในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ .....	83

## สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.11 ร้อยละการปลดปล่อยสะสมคอร์คูมินของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS.....	85
รูปที่ 4. 12 ลักษณะและพื้นที่ของแผลหลังทำการรักษา .....	87
รูปที่ 4. 13 ร้อยละพื้นที่แผลที่เหลือเมื่อเทียบกับพื้นที่แผลเริ่มต้น หลังทำการรักษา.....	88
รูปที่ 4. 14 จำนวนเซลล์นิวโทรฟิลเฉลี่ยที่เข้ามาบริเวณเนื้อเยื่อบาดแผล (Infiltration of neutrophil) ต่อภาพที่กำลังขยาย 40X หลังทำการรักษา.....	91
รูปที่ 4. 15 ภาพถ่ายชิ้นเนื้อที่ย้อมสีด้วยเทคนิค H&E ที่กำลังขยาย 4X ณ ตำแหน่งบริเวณเนื้อเยื่อของบาดแผล หลังทำการรักษา.....	93
รูปที่ 4. 16 ร้อยละการสร้างของเซลล์เยื่อบุผิวบริเวณเนื้อเยื่อบาดแผล หลังทำการรักษา .....	94
รูปที่ ก. 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	109
รูปที่ ก. 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	110
รูปที่ ก. 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1.5% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	111
รูปที่ ก. 4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	112
รูปที่ ข. 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1.5% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	113



## สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ ข. 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	114
รูปที่ ค. 1 กราฟแสดงเทคนิค FTIR Spectra Deconvolution ของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก.....	115
รูปที่ ค. 2 กราฟแสดงเทคนิค FTIR Spectra Deconvolution ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ความเข้มข้น 0.09% SDS โดยน้ำหนัก.....	115
รูปที่ ค. 3 กราฟแสดงเทคนิค FTIR Spectra Deconvolution ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ความเข้มข้น 0.09% STS โดยน้ำหนัก.....	116
รูปที่ ง. 4 กราฟมาตรฐานของเคอร์คูมินในสารละลายบัฟเฟอร์ normal saline (pH 5.5) ที่ความยาวคลื่น 430 nm.....	117
รูปที่ จ. 1 ใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ เลขที่โครงการวิจัย 021/2560.....	118

## สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2. 1 ร้อยละกรดอะมิโนชนิดต่างๆที่พบในไฟโบรอินไหม	14
ตารางที่ 2. 2 งานวิจัยที่ศึกษาการใช้ไฟโบรอินไหมในรูปแบบต่างๆ	20
ตารางที่ 2. 3 ชนิดของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ [36]	23
ตารางที่ 2. 4 ตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาการใช้เคอร์คูมินในการรักษาแผล	32
ตารางที่ 3. 1 เลขคลื่นและลักษณะโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินไหมไทย	43
ตารางที่ 4. 1 โครงสร้างเคมีและมวลโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ sodium octyl sulfate (SOS) sodium dodecyl sulfate (SDS) และ sodium tetradecyl sulfate (STS)	49
ตารางที่ 4. 2 ความเข้มข้นวิกฤต, ค่าศักย์เซต้าและขนาดของไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ	52
ตารางที่ 4. 3 ระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย เมื่อผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5, 2% โดยน้ำหนัก กับสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS ความเข้มข้น 0.01-0.06% โดยน้ำหนัก	56
ตารางที่ 4. 4 ระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย เมื่อผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 1.5 และ 2% โดยน้ำหนัก กับสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS ความเข้มข้น 0.01-0.12% โดยน้ำหนัก	57
ตารางที่ 4. 5 ระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย เมื่อผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก กับสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ความเข้มข้น 0.03-0.045% โดยน้ำหนัก	60
ตารางที่ 4. 6 ค่าศักย์เซต้าของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก	65
ตารางที่ 4. 7 ร้อยละของโครงสร้างทุติยภูมิของไฮโดรไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิว	69

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

ปัจจุบันระบบนำส่งยา (drug delivery system) ที่สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาในระยะเวลาและบริเวณที่ต้องการได้ (controlled release) ได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายในการนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ เนื่องจากสามารถช่วยลดขนาด (dose) ของยาที่ต้องให้กับผู้ป่วย ลดจำนวนครั้งที่ผู้ป่วยต้องเข้ารับการรักษา หลีกเลี่ยงผลข้างเคียงจากการที่ผู้ป่วยได้รับยาเกินขนาด หรือรับยาต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานๆ และสามารถออกแบบให้มีความจำเพาะต่อบริเวณที่ต้องการรักษา ทั้งยังช่วยรักษาความคงตัวของยา (stability of drug) ทำให้ยาอยู่ในร่างกายได้นานขึ้น [1] รูปแบบของระบบนำส่งยาที่สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยมีหลายรูปแบบ อาทิเช่น อนุภาคทรงกลมขนาดไมครอน (microsphere) และขนาดนาโน (nanosphere), ไฮโดรเจลชนิดฝัง (implantable hydrogel) เป็นต้น ซึ่งแต่ละรูปแบบจะถูกออกแบบให้เหมาะสมกับวิธีการรักษา สมบัติและขนาดของยา วิธีการนำส่ง และอวัยวะเป้าหมาย วัสดุที่ใช้ในการผลิตระบบนำส่งยานี้จะต้องมีคุณสมบัติสำคัญ คือ มีความเข้ากันได้กับชีวภาพในร่างกาย (biocompatibility) ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ และสามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย (biodegradability) โดยสามารถควบคุมอัตราการย่อยสลายให้เหมาะสมกับอัตราการปล่อยยาได้ ไพโบรอินใหม่เป็นชีววัสดุที่มีคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นและเริ่มได้รับความสนใจในการนำมาใช้ในทางการแพทย์อย่างแพร่หลายโดยเฉพาะเส้นใยไหมได้ผลิตจากหนอนไหมสายพันธุ์ *Bombyx mori* [2]

ไหมไทยจัดเป็นวัตถุดิบที่สามารถหาได้ง่ายในประเทศไทย เนื่องด้วยสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหนอนไหม ไพโบรอินที่สกัดได้จากไหมเป็นโปรตีนที่มีหมู่กรดอะมิโน ไกลซีน อะลานีน เซอรีน และไทโรซีน เป็นองค์ประกอบหลักของโครงสร้างปฐมภูมิ และมีการจัดเรียงตัวของโครงสร้างทุติยภูมิชนิดเบตาชีต ( $\beta$ -sheet) ซึ่งประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรง ทำให้โปรตีนไพโบรอินใหม่มีสมบัติทางกลที่ดีมากเมื่อเทียบกับโปรตีนและพอลิเมอร์ธรรมชาติชนิดอื่นๆ โครงสร้างทุติยภูมิที่แข็งแรงนี้ ทำให้ไพโบรอินใหม่มีอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพในร่างกายช้า นอกจากนี้ร่างกายไม่มีเอนไซม์ที่จำเพาะต่อการย่อยไพโบรอินใหม่ ดังนั้น ไพโบรอิน

โหมจึงเป็นตัวเลือกสำหรับการนำมาผลิตระบบนำส่งยาที่สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาได้เนิ่นนาน สำหรับไฟโบรอินโหมที่นำประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ มักถูกเตรียมอยู่ในรูปแบบสารละลายเพื่อสามารถนำไปขึ้นรูปเป็นรูปแบบต่างๆที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้งาน ในการเตรียมสารละลายไฟโบรอินโหม ทำได้โดยทำลายพันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างทุติยภูมิด้วยเกลือ เช่น เกลือลิเทียมโบรไมด์ (LiBr) โครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet จึงเปลี่ยนเป็นชนิดขดลวดเกลียว (random coil) และได้ไฟโบรอินโหมในรูปแบบสารละลาย อย่างไรก็ตาม โครงสร้างแบบขดลวดเกลียวในสารละลายไฟโบรอินโหมจะกลับคืนสู่โครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet ได้ตามธรรมชาติ เรียกกระบวนการนี้ว่า การเกิดเจล สมบัติการเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินโหมนี้ นอกจากจะเกิดขึ้นได้ตามธรรมชาติแล้ว ยังสามารถเกิดได้ด้วยการถูกระตุ้นด้วยปัจจัยต่างๆ เช่น การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเบส การได้รับแรงกระทำภายนอก หรือการกระตุ้นด้วยการเติมสารบางชนิดลงไปเพื่อให้เกิดการเชื่อมขวางภายในโมเลกุล [3] ในปี 2014 Ji Hun และคณะ ได้ศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทต่างๆต่อพฤติกรรมเกิดเจลของไฟโบรอินโหม พบว่า สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบสามารถกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินโหมได้เร็วกว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวกและประเภทไม่มีประจุ ทั้งยังเป็นการเกิดเจลโดยสมบูรณ์ ไม่ใช่การเกิดตะกอน (aggregates) [4] การกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินโหมอธิบายได้ด้วยกลไกการเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ของสารลดแรงตึงผิวที่มีรูปร่างโมเลกุลเหมือนโมเซลล์ [5] ในปัจจุบันมีสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบบางชนิดได้รับการรับรองมาตรฐานความปลอดภัยจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (The United States Food and Drug Administration: US-FDA) และถูกใช้อย่างแพร่หลายในด้านอาหาร ยา และเครื่องสำอาง อาทิ sodium dodecyl sulfate (SDS) โดย SDS สามารถกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินโหมด้วยกระบวนการดังกล่าวและสามารถนำมาขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจล ข้อดีของไฮโดรเจล คือ สามารถฉีดขึ้นรูปได้ง่าย ไม่มีข้อจำกัดด้านรูปร่างของเจล และจัดเป็นการรักษาที่รุกรานต่ำ (minimal invasion) ไฮโดรเจลไฟโบรอินโหมสามารถนำมาประยุกต์ใช้นำส่งยาหรือสารสำคัญโดยเฉพาะยาที่มีสมบัติละลายน้ำต่ำ เนื่องจากมีรายงานว่ายาที่มีสมบัติละลายน้ำต่ำมีอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำกับโครงสร้างของไฟโบรอินโหม [6]

เคอร์คูมินเป็นสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) ที่เป็นองค์ประกอบหลักในพืชสมุนไพรขมิ้นชัน ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายทั้งในวงการอาหาร เครื่องสำอาง และการแพทย์ เนื่องจากในโครงสร้างเคอร์คูมินประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) และหมู่คีโตน (ketone group) ที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเกิดการอักเสบ และนำไปสู่การตายของเซลล์ [7] และมีรายงานว่า เคอร์คูมินมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammation) โดยการยับยั้งเพิ่มขึ้นของยีนส์ เช่น NF-E2-related factor 2, Heme oxygenase 1 ไซโตไคน์ เช่น Interleukin 1 beta factor, tumor necrosis alpha factor, Interferons gamma factor และ transcription factor เช่น NF kappa B, Phospho-PI3 Kinase, Phospho-Akt, Phospho-GSK-3b beta ที่เกี่ยวกับข้องกับการอักเสบของเซลล์อักเสบได้ จึงมีการนำเคอร์คูมินมาใช้รักษาโรคที่ต้องการต้านการอักเสบ เช่น โรคข้อเสื่อม โรครูมาตอยด์ หรือใช้กระตุ้นการหายของแผลที่เกิดการอักเสบติดเชื้อง่าย เช่น แผลในผู้ป่วยโรคเบาหวาน เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เคอร์คูมินเป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย จึงทำให้มีชีวปริมาณการออกฤทธิ์ในร่างกาย (bioavailability) และมีประสิทธิภาพในการรักษาต่ำ ดังนั้นระบบนำส่งที่สามารถเพิ่มความสามารถในการละลาย และควบคุมอัตราการปลดปล่อยเคอร์คูมินไปยังบริเวณเป้าหมายได้ จึงน่าจะเป็นประโยชน์อย่างมาก

สำหรับงานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ เพื่อเป็นระบบนำส่งและปลดปล่อยเคอร์คูมินและประยุกต์ใช้เป็นเจลรักษาแผล โดยไฮโดรเจลที่ผลิตขึ้นนี้ขึ้นรูปได้ง่าย มีความคงตัว มีประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินได้เนิ่นนาน และไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5 ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นเจลทาแผล เพื่อกระตุ้นการหายของแผลได้ นอกจากนี้ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆต่อพฤติกรรมการเกิดเจล และโครงสร้างทางเคมี สมบัติทางกายภาพ และทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยเพื่อให้เกิดความเข้าใจในกลไกการเกิดเจลดังกล่าวเพื่อต่อยอดองค์ความรู้ทางด้านชีววัสดุ

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆต่อเวลาและกลไกการเกิดเจลและศึกษาโครงสร้างทางเคมี สมบัติทางกายภาพและชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย

1.2.2 ศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมิน

1.2.3 ทดสอบประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่บรรจุเคอร์คูมินในการรักษาแผลในสัตว์ทดลอง

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาโครงสร้างเคมีและสมบัติของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ 3 ชนิด ได้แก่ sodium octyl sulfate (SOS) sodium dodecyl sulfate (SDS) และ sodium tetradecyl sulfate (STS)

1.3.1.1 วิเคราะห์ความเข้มข้นวิกฤต (critical micelle concentration: CMC) ของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ จากการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer

ตัวแปรที่ศึกษา ได้แก่

- ชนิดของสารลดแรงตึงผิวประจุลบ: SOS SDS และ STS

- ชนิดของตัวทำละลาย: น้ำปราศจากไอออน และ HEPES buffer (pH 7.4)

ตัวแปรควบคุม ได้แก่ อุณหภูมิ 37 °C

1.3.1.2 วิเคราะห์ค่าศักย์เซต้า (zeta potential) และขนาดของไมเซลล์ (micelle size) ของสารลดแรงตึงผิวประจุลบชนิดต่างๆ

ตัวแปรที่ศึกษา คือ ชนิดของสารลดแรงตึงผิวประจุลบ: SOS SDS และ STS

ตัวแปรควบคุม ได้แก่ อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4

1.3.2 การขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประจุลบชนิดต่างๆ และศึกษาสมบัติต่างๆของไฮโดรเจล

1.3.2.1 ศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆต่อระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย ด้วยการสังเกต และการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer

ตัวแปรที่ศึกษา ได้แก่

- ชนิดของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ: SOS SDS และ STS
- ความเข้มข้นสุดท้ายของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ: 0.01-0.45 % โดยน้ำหนัก
- ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายไฟโบรอินไหมไทย: 0.5-2 % โดยน้ำหนัก

ตัวแปรควบคุม ได้แก่ อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4

1.3.2.2 ศึกษาลักษณะทางกายและโครงสร้างพื้นฐานของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ด้วยการสังเกตและเทคนิค Scanning electron microscope (SEM)

1.3.2.3 วิเคราะห์ค่าศักย์เซต้า (zeta potential) ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยและสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

1.3.2.4 วิเคราะห์โครงสร้างเคมีและโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy

1.3.2.5 วิเคราะห์สัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (gel fraction) ของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

1.3.2.6 ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5)

1.3.2.7 ศึกษาความเป็นพิษของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ กับเซลล์ผิวหนังหนู (L929 mouse fibroblasts) ในระดับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5

1.3.3 การขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยโดยการกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ และบรรจุเคอร์คิวมิน

1.3.3.1 ศึกษาความสามารถในการละลายของเคอร์คูมินในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ ชนิดต่างๆ

1.3.3.2 ขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่บรรจุเคอร์คูมิน ด้วยการผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทยกับสารละลายเคอร์คูมินที่ละลายในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ

1.3.4 ศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5)

1.3.5 ศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ปลดปล่อยเคอร์คูมิน ในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง

#### 1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

1.4.1 ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบปลดปล่อยเคอร์คูมินได้เนิ่นนาน เพื่อประยุกต์ใช้เป็นเจลทารักษาแผล

1.4.2 ความเข้าใจในกระบวนการและกลไกการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

1.4.3 การเพิ่มมูลค่าให้กับไหมไทย ซึ่งเป็นชีววัสดุทางสรีรกรรมที่ราคาถูกและหาได้ง่ายในประเทศ

1.4.4 องค์ความรู้ด้านการพัฒนาชีววัสดุเพื่องานทางการแพทย์



## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ระบบนำส่งยา (Drug delivery systems)

##### 2.1.1 นิยามของระบบนำส่งยา

ระบบนำส่งยา หมายถึง รูปแบบหนึ่งของการนำยาเข้าสู่อวัยวะในร่างกาย โดยใช้ตัวพาพา (carrier) ที่สามารถกักเก็บและควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาและระยะเวลาการออกฤทธิ์ของยาในบริเวณอวัยวะเป้าหมายที่ต้องการเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการออกฤทธิ์และลดผลข้างเคียงและความถี่ของการให้ยาลงได้ [8]

##### 2.1.2 เส้นทางการให้ยา (routes of drug administration)

วิธีการรับยาเข้าสู่ร่างกายขึ้นอยู่กับสมบัติทางกายภาพของยา อัตราเร็วในการดูดซึมของยาในร่างกาย และอวัยวะเป้าหมาย ซึ่งเส้นทางการให้ยาจะส่งผลต่ออัตราเร็วและชีวปริมาณการออกฤทธิ์ของยาที่ต้องการนำส่ง จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเลือกเส้นทางการให้ยาให้เหมาะสมกับตัวยานั้นๆ เส้นทางการให้ยาสามารถแบ่งตามการออกฤทธิ์ของยาที่เกิดขึ้นได้ดังนี้ [9]

##### 2.1.2.1 การให้ยาชนิดออกฤทธิ์ทั่วร่างกาย (Systemic administration) ได้แก่

- การให้ยาผ่านระบบทางเดินอาหาร เช่น การรับประทาน อมใต้ลิ้น สวนทวาร
- การให้ยาโดยไม่ผ่านระบบทางเดินอาหาร เช่น ฉีดเข้าหลอดเลือด (Intravenous: IV) การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (Intramuscular: IM) การฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (Subcutaneous: SC) เป็นต้น

2.1.2.2 การให้ยาชนิดออกฤทธิ์เฉพาะที่ (Local administration) เช่น การทาบนผิวหนัง การสูดดม เป็นต้น

##### 2.1.3 รูปแบบการปลดปล่อยยา

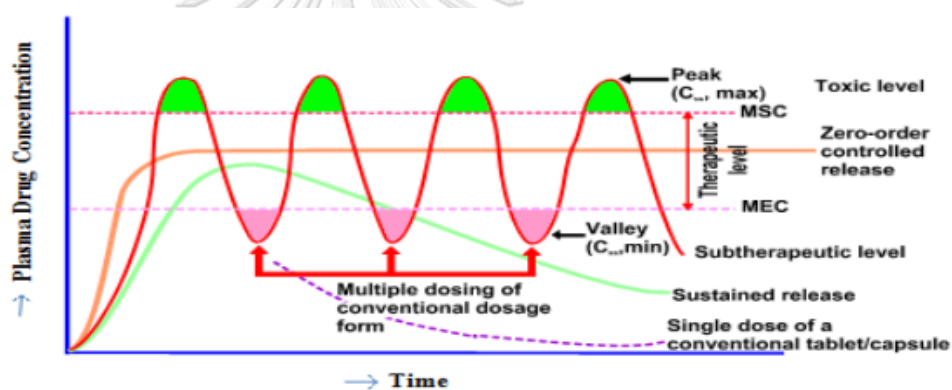
รูปที่ 2.1 แสดงถึงรูปแบบการปลดปล่อยยาต่างๆ

- ระบบนำส่งยาชนิดที่ไม่มีการควบคุม (conventional profile) ในช่วงแรก ความเข้มข้นของยาที่ให้อาจสูงกว่าความเข้มข้นมากที่สุดที่ปลอดภัยในการรักษา (maximum safety concentration: MSC) และระดับของยาจะลดลงอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการรักษา (therapeutic level) ได้ระยะหนึ่งก่อนความเข้มข้นจะลดลงอย่างรวดเร็วจนต่ำกว่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่มีประสิทธิภาพในการรักษา (minimum effective concentration: MEC) จึงต้องมีการให้ยา

ซ้ำ (multiple dosing) ในลักษณะเดียวกันนี้เป็นจำนวนหลายรอบ ทำให้ผู้ป่วยจะได้รับปริมาณยา มากเกินจำเป็น และอาจทำให้เกิดอันตรายจากผลข้างเคียงของยาได้

- ระบบนำส่งยาชนิดปลดปล่อยยาเนิ่นนาน (sustained release) ความเข้มข้นของยาจะอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการรักษาได้ยาวนานกว่าระบบนำส่งยาชนิดที่ไม่มีการควบคุม แต่ความเข้มข้นของยาก็จะค่อยๆ ลดลงจนต่ำกว่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่มีประสิทธิภาพในการรักษา [10]

- ระบบควบคุมการปลดปล่อยยา (zero order controlled release) เป็นระบบที่ผู้ป่วยได้รับปริมาณยาคงที่ตลอดการรักษา ความเข้มข้นของยาไม่น้อยกว่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่มีประสิทธิภาพในการรักษา และไม่สูงกว่าความเข้มข้นมากที่สุดที่ปลอดภัยในการรักษา กล่าวคือ ความเข้มข้นยาจะคงที่อยู่ในช่วงระดับที่เหมาะสมต่อการรักษา ทำให้ผู้ป่วยไม่ต้องรับยาซ้ำหรือได้รับผลข้างเคียงจากการรับยาเกินขนาด



รูปที่ 2.1 รูปแบบต่างๆการปลดปล่อยยา [10]

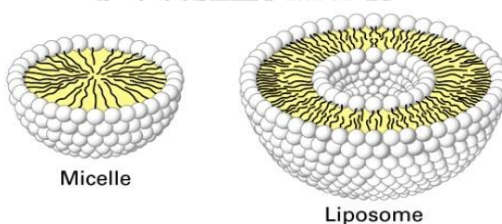
#### 2.1.4 ตัวพาหยา (carrier)

ในปัจจุบันมีการพัฒนาตัวพาหยาในหลายรูปแบบ โดยแต่ละรูปแบบจะถูกออกแบบให้เหมาะสมกับวิธีการรักษา สมบัติและขนาดของยา วิธีการนำส่ง และอวัยวะเป้าหมาย ตัวพาหยาสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท เมื่อพิจารณาตามขนาด

**2.1.4.1 ตัวพาหยาขนาดนาโน (nano carrier)** เช่น ไมเซลล์ (micelle) และไลโปโซม (liposome) ถูกใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถฉีดเข้าสู่กระแสเลือดและอยู่ในกระแสเลือดได้นาน นำส่งยาเข้าสู่เซลล์ได้ และสามารถบรรจุยาที่มีสมบัติไม่ละลายน้ำได้ ตัวพาหยาขนาดนาโนบางชนิดสามารถบรรจุยาได้มากกว่าหนึ่งชนิดในอนุภาค [11] ดังตัวอย่างที่แสดงในรูปที่ 2.2

- อนุภาคไมเซลล์ เกิดจากการจัดเรียงตัวของสารประกอบชนิดแอมฟิฟิลิก (amphiphilic) เช่น กรดไขมัน (fatty acid) โดยหันส่วนหางซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) เข้าหากัน แขนกลางของไมเซลล์จึงใช้ในการบรรจุยาที่มีสมบัติไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้ต่ำ ในขณะที่ส่วนหัวของสารประกอบมีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilicity) จะหันออกหาน้ำหรือตัวทำละลาย ทำหน้าที่ช่วยให้อนุภาคเคลื่อนที่อยู่น้ำได้

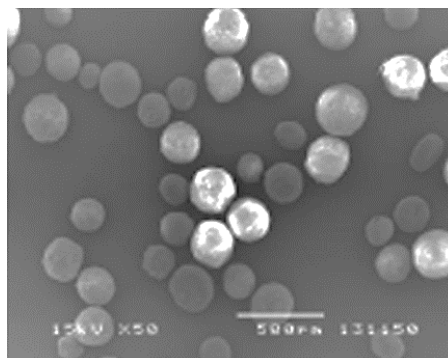
- ไลโปโซม ผลิตจากสารประกอบกลุ่มฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ที่มีโครงสร้างไขมันสองชั้น (lipid bilayer) มาจัดเรียงตัวกันเป็นสองชั้นหรือมากกว่า โดยหันส่วนหางซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) เข้าหากันและหันส่วนหัวซึ่งมีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilicity) ออกหาน้ำหรือตัวทำละลาย ด้วยการจัดเรียงโครงสร้างหลายชั้นนี้ ทำให้ไลโปโซมสามารถบรรจุได้ทั้งยาที่ละลายน้ำได้ดี และยาที่ไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้ต่ำ



รูปที่ 2. 2 รูปแบบตัวพายาขนาดนาโน ไมเซลล์ (ซ้าย) ไลโปโซม (ขวา)

(<http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/112>)

2.1.4.2 ตัวพายาขนาดไมครอน (micro-carrier) เป็นอนุภาคที่มีขนาดอยู่ในช่วง 1-1,000 ไมครอนหากรูปทรงเป็นทรงกลมจะเรียกว่า อนุภาคทรงกลมขนาดไมครอน (microsphere) อนุภาคขนาดไมครอนสามารถกักเก็บยาได้ปริมาณมากเนื่องจากมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง นำส่งยาได้หลายเส้นทาง เช่น การฉีดเข้าสู่บริเวณเป้าหมายโดยตรงการกิน เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีขั้นตอนการเตรียมที่ไม่ยุ่งยากเมื่อเทียบกับอนุภาคขนาดนาโนที่มีขั้นตอนการเตรียมยุ่งยากกว่า และต้องใช้เครื่องมือเฉพาะในการตรวจสอบคุณสมบัติ [11]



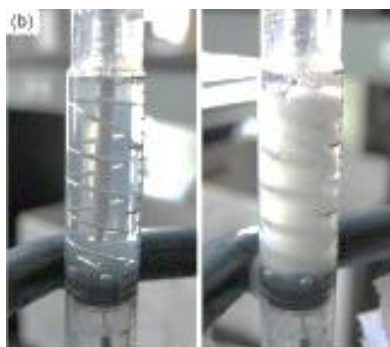
**รูปที่ 2.3** รูปแบบตัวพาขนาดไมครอน (micro-carrier) ชนิดอนุภาคทรงกลมขนาดไมครอนที่ผลิตจากไฟโบรอินไหมผสมกับเจลาติน [12]

#### 2.1.4.3 ตัวพาที่มีขนาดใหญ่กว่าไมครอน ได้แก่

- ยาในรูปแบบเม็ดหรือแคปซูล (capsule) ที่มีการบรรจุยาไว้ภายใน โดยยาจะถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อแคปซูลละลายหรือย่อยสลาย ตัวพาชนิดนี้อาจไม่สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาได้ตามต้องการ และมีความจำเพาะต่ออวัยวะเป้าหมายต่ำ

- ตัวพาชนิดฝัง (implantable carrier) เป็นตัวพาที่กักเก็บยาได้ปริมาณมาก สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาได้ตามต้องการและช่วยลดความถี่ในการให้ยา แต่มีข้อเสียคือต้องมีการผ่าตัดเพื่อฝังตัวพาไปในร่างกาย และสำหรับตัวพาชนิดฝังที่ผลิตจากวัสดุที่ไม่ย่อยสลาย จำเป็นต้องมีการผ่าตัดซ้ำเพื่อเอาตัวพาออกเมื่อปลดปล่อยยาหมดแล้ว ตัวพาที่ผลิตจากพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ จึงได้รับความนิยมมากกว่า โดยอัตราการปลดปล่อยยาสามารถควบคุมได้จากอัตราการย่อยสลายของตัวพาพอลิเมอร์ และอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์กับตัวยา

- ไฮโดรเจล (hydrogel) มีความสามารถในการกักเก็บและควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาได้ดี มีความจำเพาะต่ออวัยวะเป้าหมาย ลดความถี่ในการให้ยา และสามารถฉีดขึ้นรูปได้ง่ายและกำหนดให้มีรูปร่างตามลักษณะที่ต้องการได้ พอลิเมอร์ที่นิยมใช้ผลิตไฮโดรเจล คือพอลิเมอร์กลุ่มที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ย่อยสลายได้ และสามารถกระตุ้นให้เกิดเจลได้ [13] ยกตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจลชนิดอินซิทู (in situ) สามารถเกิดเจลได้ด้วยการกระตุ้นรูปแบบต่างๆ เช่น การตอบสนองต่ออุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส แสงกล หรือสารเติมสารกระตุ้นต่างๆ ข้อดีของไฮโดรเจลชนิดอินซิทูคือสามารถนำส่งยาได้โดยการฉีดผ่านเข็มฉีดยา รูปที่ 2.4 แสดงตัวอย่างไฮโดรเจลที่ผลิตจากไฟโบรอินไหมที่กระตุ้นการเกิดเจลโดยการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบส

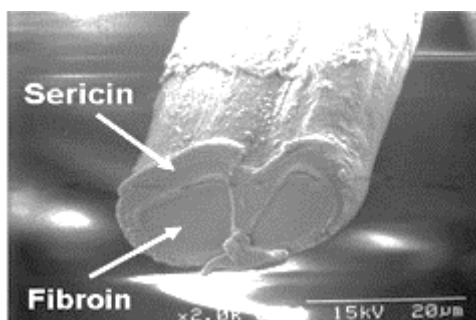


**รูปที่ 2. 4** ตัวพายที่มีขนาดใหญ่กว่าไมครอน ชนิดไฮโดรเจล (hydrogel) ที่ผลิตจากไฟโบรอินไหมที่กระตุ้นการเกิดเจลโดยการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบส[14]

## 2.2 ไฟโบรอินไหม (Fibroin silk)

ไหมเป็นโปรตีนที่สร้างจากต่อมของสัตว์ที่สามารถสร้างเส้นใยได้ เช่น หนอนไหม แมงมุม แมงป่อง ผีเสื้อ เห็บไร เป็นต้น [15] สัตว์เหล่านี้จะปั่นเส้นใยออกมาในช่วงหนึ่งของการเจริญเติบโต สำหรับประเทศไทยโดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เส้นใยไหมที่ผลิตจากหนอนไหมสายพันธุ์ Bombyx mori ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมสิ่งทอ และในระยะหลัง ได้รับความสนใจในการนำมาใช้ในการแพทย์มากขึ้น เนื่องด้วยสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหนอนไหม ทำให้มีปริมาณผลผลิตมาก โดยมีไหมสายพันธุ์นางน้อยศรีษะเกษ 1 เป็นไหมสายพันธุ์ไทยแท้ นอกจากนี้ ได้มีการพัฒนาพันธุ์ไหมลูกผสมระหว่างไหมสายพันธุ์ไทยแท้กับไหมพันธุ์ต่างประเทศขึ้น เช่น ไหมพันธุ์เหลืองโพโรจน์ ซึ่งเป็นไหมลูกผสมระหว่างไหมพันธุ์นางลายผสมกับไหมญี่ปุ่นพันธุ์ J108 เป็นต้น

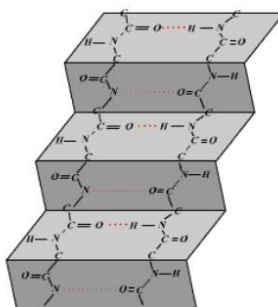
เส้นใยไหมที่ผลิตได้จากหนอนไหมสายพันธุ์ Bombyx mori จะประกอบด้วยโปรตีนหลัก 2 ชนิดได้แก่ ไฟโบรอิน เป็นโปรตีนเส้นใยที่เป็นองค์ประกอบหลักพบประมาณ 75-80% ของเส้นใยไหม และเซรีซิน เป็นส่วนของโปรตีนกาวที่เชื่อมเส้นใยไฟโบรอินไหมให้ติดกัน พบประมาณ 25-30% ของเส้นใยไหม ดังแสดงในรูปที่ 2.5 นอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบของเม็ดสี (pigment) แวกซ์ (wax) และสิ่งปนเปื้อนอื่นๆอีกในปริมาณเล็กน้อย ไฟโบรอินไหมเริ่มมีการนำมาประยุกต์ใช้เป็นชีววัสดุทางการแพทย์มาตั้งแต่อดีตในรูปแบบไหมเย็บแผล จนปัจจุบัน มีการนำไฟโบรอินไหมมาใช้ในการวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และระบบนำส่งยามากขึ้น



รูปที่ 2.5 องค์ประกอบหลักที่พบในเส้นใยไหม [16]

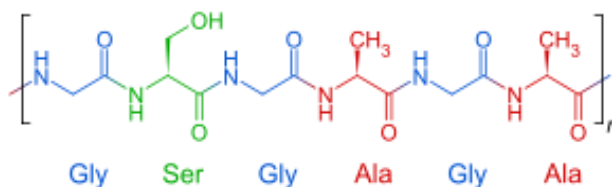
### 2.2.1 โครงสร้างทางเคมีของไฟโบรอินไหม

โครงสร้างของไฟโบรอินไหมประกอบด้วยสายโซ่โปรตีน 3 ชนิด [17] ได้แก่ Heavy-chain (H-fibroin) มีมวลโมเลกุลประมาณ 350 กิโลดาลตันและ Light chain (L-fibroin) ที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 26 กิโลดาลตัน โดยสายโซ่ทั้งสองเชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ที่หมู่คาร์บอกซิลในโมเลกุล และมีไกลโคโปรตีน P25 ซึ่งมีมวลโมเลกุลประมาณ 30 กิโลดาลตัน ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการรักษาความสมดุลของโครงสร้างของไหม ถูกเชื่อมด้วยอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic interaction) โดยโปรตีนทั้ง 3 ชนิดข้างต้นมีอัตราส่วนประมาณ 6:1:1 ตามลำดับ ใน H-chain ซึ่งเป็นโปรตีนส่วนใหญ่ของไหมจะพบทั้งส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic domain) และส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic domain) เรียงตัวสลับกัน โดยส่วนที่ไม่ชอบน้ำประกอบด้วยหมู่อะมิโนที่เรียงตัวเป็นหน่วยซ้ำ คือ (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser)<sub>n</sub> ซึ่งจัดเรียงตัวอยู่ในรูปเบตาชีท ( $\beta$ -sheet) ดังแสดงในรูปที่ 2.6 มีลักษณะเหมือนแผ่นพับซ้อนทับกันไปมา เชื่อมด้วยพันธะไฮโดรเจน ในส่วนที่ชอบน้ำประกอบด้วยหมู่อะมิโนที่มีประจุ ได้แก่ อาร์จินีน (Arginine) และไลซีน (Lysine) กรดแอสพาทิก (Aspartic acid) และกรดกลูตามิก (Glutamic acid) เป็นต้น นอกจากนี้โปรตีน L-chain จะมีสมบัติความชอบน้ำ (Hydrophilic) มากกว่าและมีความยืดหยุ่นกว่าโปรตีน H-chain [18]



รูปที่ 2.6 โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ชนิดเบตาชีท ( $\beta$ -sheet) ของ H-chain ใน  
ไฟโบรอินไหม (<http://www.introbiol.org/protein/protein.php>)

โครงสร้างปฐมภูมิของไฟโบรอินไหม ประกอบด้วยกรดอะมิโน 18 ชนิด ซึ่งสามารถเรียงลำดับ ปริมาณที่พบมากไปหาน้อยได้ดังนี้ ไกลซีนพบมากที่สุด 34.51% รองลงมาคือ อะลานีน 28.25% เซอรีน 12.49% ไทโรซีน 11.56% วาลีน 2.94% แอสพาทิก 2.33% ทรีโอนีน 1.21% ฟีนิลอะลานีน 1.08% และกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ดังรูปที่ 2.7 และตารางที่ 2.1 [19] เมื่อโมเลกุลของกรดอะมิโนเรียงตัวกันเป็นสายโซ่ที่มีหน่วยซ้ำๆกัน เกิดพันธะไดซัลไฟด์ และมีการเชื่อมต่อกันของหมู่เอมีนกับหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนด้วยพันธะไฮโดรเจน [17] จึงเกิดเป็นโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ชนิดเบตาชีท ( $\beta$ -sheet) ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ซึ่งพบประมาณ 57% ของโครงสร้างทุติยภูมิทั้งหมด ลักษณะเด่นของโครงสร้างนี้ คือมีลักษณะเหมือนแผ่นพับซ้อนทับกันไปมาจึงทำให้ไฟโบรอินไหมมีคุณสมบัติเชิงกลที่ดีกว่าพอลิเมอร์ธรรมชาติชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\alpha$ -helix ประมาณ 30% จากทั้งหมด รวมถึงโครงสร้างชนิด  $\beta$ -turn และ random coil พบรวมกันประมาณ 22% ในไฟโบรอินไหมอีกด้วย [20, 21]



รูปที่ 2.7 ลำดับของกรดอะมิโนในไฟโบรอินไหม

([http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Textiles/Animal\\_Fibres.html](http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Textiles/Animal_Fibres.html))

ตารางที่ 2. 1 ร้อยละกรดอะมิโนชนิดต่างๆที่พบในไฟโบรอินไหม [19]

Amino acid	Composition (%)
Gly	34.51
Ala	28.25
Ser	12.49
Tyr	11.56
Val	2.94
Asp	2.33
Glu	2.00
Thr	1.21
Phe	1.08
Ile	0.85
Arg	0.83
Pro	0.47
Lys	0.41
NH <sub>3</sub>	0.36
His	0.31
Leu	0.18
Met	0.16
Cys	0.06

### 2.2.2. สมบัติของไฟโบรอินไหม ได้แก่

- มีสมบัติทางกลที่ดีเนื่องจากไฟโบรอินไหมมีโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$ -sheet ซึ่งภายในโมเลกุลจะประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจน ร่วมกับแรงแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals) และอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interactions) [22]



- มีความเข้ากันได้กับร่างกาย (biocompatibility) ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ เนื่องจากเป็นโปรตีนที่สกัดสารจากธรรมชาติ

- สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย (biodegradability) และอัตราการย่อยสลายค่อนข้างช้า เนื่องจากไฟโบรอินใหม่มีโครงสร้างทุติยภูมิที่แข็งแรงและร่างกายไม่มีเอนไซม์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโปรตีนไฟโบรอินใหม่

- ไม่ละลายในน้ำและเอทานอล เนื่องจากโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินใหม่มีพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรง แต่ละลายได้ดีในกรด/เบสแก่ เช่น กรดซัลฟูริก ลิเทียมโบรไมด์ ฯลฯ

- มีค่าไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric point: pI) ของอยู่ในช่วง 3.8 – 4.5 ดังนั้น ไฟโบรอินใหม่มีประจุสุทธิเป็นบวกเมื่ออยู่ในสภาวะสารละลายที่มีค่า pH ต่ำกว่าค่า pI ในขณะที่มีประจุสุทธิเป็นลบเมื่ออยู่ในสภาวะสารละลายที่มีค่า pH มากกว่าค่า pI

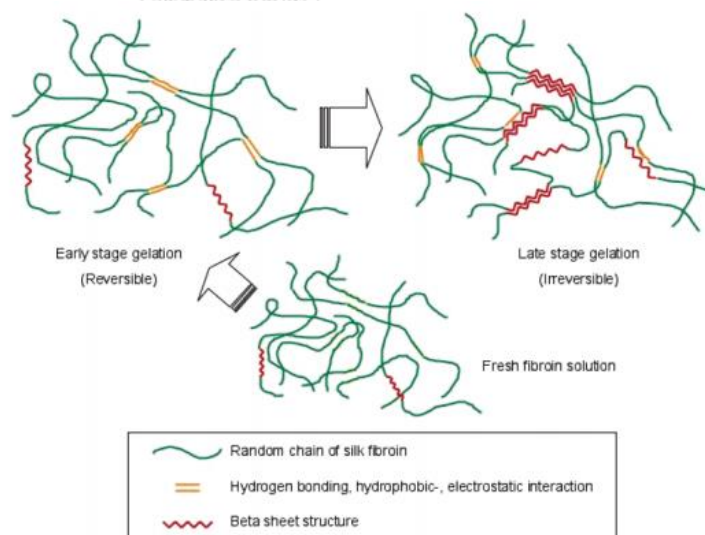
### 2.2.3 สารละลายไฟโบรอินใหม่

การจะนำไฟโบรอินใหม่ไปใช้งานในทางการแพทย์ เพื่อจะให้ได้ชิ้นงานที่เหมาะสมกับรูปแบบการรักษา จะต้องมีการเตรียมสารละลายไฟโบรอินใหม่ที่เรียกว่า regenerated fibroin solution จากเส้นใยไฟโบรอินใหม่ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเส้นใยใหม่หลังจากมีการกำจัดกาวไหมออก ด้วยสารละลาย Sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) แล้ว จะนำเส้นใยที่ได้มาละลายในตัวทำละลายกรด/เบสแก่ที่มีความเข้มข้นสูง เช่น แคลเซียมคลอไรด์, ลิเทียมโบรไมด์ เป็นต้น แรงจากประจุของตัวทำละลาย จะช่วยให้เกิดการคลายตัวของโครงสร้างโมเลกุล ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$ -sheet เป็น random coil แต่เนื่องจากวิธีการดังกล่าวทำให้เกิดการไม่เสถียรของโครงสร้างภายในโมเลกุลของโปรตีน สารละลายไฟโบรอินใหม่จึงสามารถกลับมาเป็นโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีเสถียรภาพกว่าได้ อย่างไรก็ตาม การผันกลับคืนสู่โครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet ตามธรรมชาติของสารละลายไฟโบรอิน ใช้ระยะเวลาหลายสัปดาห์ถึงหลายเดือน จึงได้มีการสนใจศึกษาวิธีการที่จะช่วยเร่งการเปลี่ยนแปลงกลับสู่โครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet และพบว่า การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความ-เป็นกรดเบส ได้รับแรงกลกระทำหรือการเติมสารกระตุ้นบางชนิด สามารถเร่งกระบวนการเปลี่ยนแปลงกลับสู่โครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet และพอร์มไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่เพื่อประยุกต์ใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อและระบบนำส่งยาได้ ซึ่งกระบวนการดังกล่าวไม่สามารถผันกลับได้ (irreversible process)

## 2.2.4 การกระตุ้นการเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินไหม

การเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินไหมมีความเกี่ยวข้องกับทั้งการเกิดอันตร-กิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) อันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) ภายในโครงสร้างโมเลกุล ซึ่งสามารถถูกกระตุ้นได้จากปัจจัยหลายประการ ดังต่อไปนี้

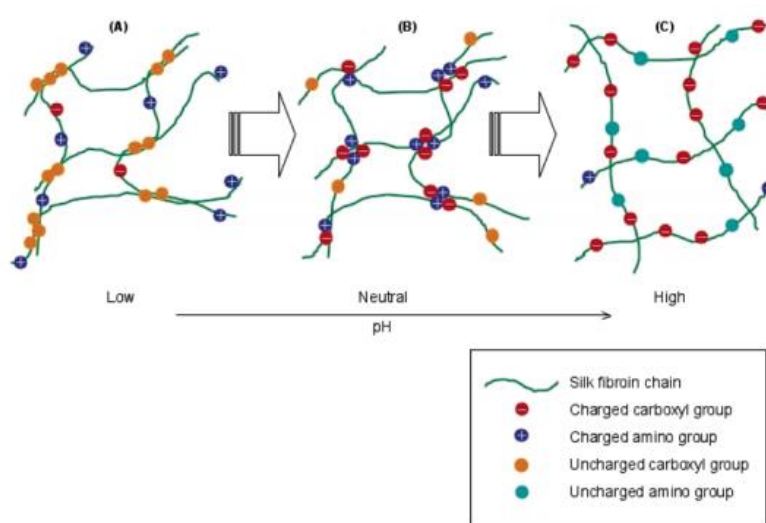
**2.2.4.1 อุณหภูมิ** มีรายงานว่าอัตราการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมจะเร็วขึ้นเมื่อมีการเพิ่มของอุณหภูมิเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้เกิดกระบวนการดึงน้ำออก (dehydration process) จากโมเลกุลของไฟโบรอินไหม ทำให้เกิดโครงสร้างส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic domain) มากขึ้น และเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ ก่อตัวเป็นโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet โดยในช่วงแรกของการเกิดเจลจะเป็นการชักนำด้วยการเกิดปฏิกิริยาที่ไม่แข็งแรงนัก เช่น พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ และอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตในช่วงนี้เป็นกระบวนการที่สามารถผันกลับได้ (reversible) แต่เมื่อเข้าสู่ช่วงที่สองโมเลกุลเริ่มเข้าสู่เสถียรภาพ เกิดโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet มากขึ้น ทำให้มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเป็นแบบผันกลับไม่ได้ (irreversible) [3] ดังแสดงในรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 พฤติกรรมการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิ [3]

**2.2.4.2 ค่าความเป็นกรด-เบส** ในสภาวะปกติ ประจุภายในโมเลกุลของไฟโบรอินไหมจะประกอบด้วยทั้งประจุบวกและลบและมีสมดุลของปฏิกิริยาทางไฟฟ้า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบส ทำให้ความสมดุลของประจุสูญเสียไป หากสภาวะเป็นกรดมากขึ้น กลุ่มของหมู่

คาร์บอกซิลที่ไม่มีประจุ (uncharged carboxyl group) จะเพิ่มสูงขึ้น ทำให้สมบัติความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) เพิ่มสูงขึ้น และก่อตัวเป็นโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet จึงกระตุ้นการเกิดเจลให้เร็วขึ้น ในทางตรงข้าม ในสภาวะที่เป็นเบสเพิ่มขึ้น ปฏิกริยาทางไฟฟ้าจะลดลง เนื่องจากพบกลุ่มของหมู่คาร์บอกซิลที่ไม่มีประจุน้อยลง ทำให้สมบัติความชอบน้ำ (hydrophilicity) เพิ่มสูงขึ้น พฤติกรรมการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมจึงเกิดอย่างซ้ำๆ [3] ดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 พฤติกรรมเกิดเจลของไฟโบรอินไหมเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบส [3]

**2.2.4.3 แรงกล** มีรายงานว่า การให้แรงกล จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติความยืดหยุ่น (viscoelastic properties) ของสารละลายไฟโบรอินไหม และเกิดการจับตัวอย่างเป็นระเบียบของโมเลกุล (crystalline phase) ได้เร็วกว่าปกติ ซึ่งก็คือเกิดการเจล [23]

**2.2.4.4 การเติมสารเคมีกระตุ้นการเชื่อมขวางภายในโมเลกุล** มีรายงานการใช้เอทานอล [24] กลีเซอรอล (glycerol) น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) [25] สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ เช่น poloxamer และสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ เช่น sodium dodecyl sulfate (SDS) เพื่อกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหม SDS จัดเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบที่มีรูปร่างเหมือนไมเซลล์ จึงสามารถชักนำให้เกิด hydrophobic interaction ภายในสายโซ่ของไฟโบรอินไหม และเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet อย่างไรก็ตาม การเกิดกลไกนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ SDS หากความเข้มข้น SDS มากเกินไป จะเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าจากประจุลบของ SDS กับประจุลบของสายโซ่ไหมไฟโบรอิน ซึ่งสามารถชะลอการเกิดเจลได้ [5]

## 2.2.5 การประยุกต์ใช้ไฟโบรอินไหมในทางการแพทย์

ไฟโบรอินไหมมีคุณสมบัติ เข้ากันได้ดีทางชีวภาพ ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ ย่อยสลายได้ในร่างกาย ขึ้นรูปได้หลายแบบ มีสมบัติทางกลที่ดี ฯลฯ จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านการแพทย์ในลักษณะต่างๆ ได้แก่

### 2.2.5.1 ไหมเย็บแผล (suture)

DemeTech's Silk suture เป็นชื่อทางการค้าของผลิตภัณฑ์ไหมเย็บแผลที่ผลิตจากไฟโบรอินไหม โดยการนำเส้นไหมผ่านการกำจัดแร่ซัลเฟอร์และกาวไหม (sericin) และทำให้ปราศจากเชื้อผลิตภัณฑ์ไหมเย็บแผลดังกล่าว มีลักษณะเฉพาะคือมีสีดำเด่นชัด จึงมองเห็นได้ง่ายในเนื้อเยื่อ ดังแสดงในรูปที่ 2.10 และมีหลายขนาดให้เลือกใช้ตามความเหมาะสม ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ และเป็นไหมเย็บแผลชนิดย่อยสลาย โดยจะค่อยๆสูญเสียสมบัติเชิงกลในระยะเวลา 1 ปี และสลายอย่างสมบูรณ์ภายใน 2 ปี นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ไหมเย็บแผลจากไฟโบรอินไหมยี่ห้ออื่นๆ อีกเช่น Monodek®, SINORGMED® เป็นต้น



รูปที่ 2.10 ผลิตภัณฑ์ไหมเย็บแผลที่ผลิตจากไหมไฟโบรอินไหม ชื่อทางการค้า DemeTech's

(<http://www.demetech.us/silk.html>)

### 2.2.5.2 แผ่นปิดแผล (wound dressing)

ในปี 2016 Kim H. J และคณะ ศึกษาประสิทธิภาพของแผ่นปิดแผลไฟโบรอินไหม ที่ผลิตโดยวิธี electrospinning ที่มีเส้นใยขนาดนาโน ในการรักษาแผลไฟไหม้ในหนูทดลอง เทียบกับการรักษาด้วยผ้าก๊อชธรรมดา พบว่าแผ่นปิดแผลไฟโบรอินไหมมีประสิทธิภาพในการลดขนาดของแผลไฟไหม้ กระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์เยื่อบุผิวหนัง ช่วยลดระดับของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบต่างๆ ได้แก่ Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) และ interleukin IL-1, 6 และ 10 เมื่อเทียบกับแผลที่ปิดด้วยผ้าก๊อชธรรมดา [26]

### 2.2.5.3 โครงเลี้ยงเซลล์ (scaffold)

ในปี 2012 Correia, C และคณะ พัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ไฟโบรอินไหมที่เตรียมจากการละลายไฟโบรอินไหมความเข้มข้นต่างๆ พบว่าขนาดของรูพรุนและสมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอินไหม โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจากสารละลายไฟโบรอินไหมความเข้มข้นต่ำจะมีความพรุน (porosity) ความเชื่อมโยงของรูพรุน (interconnectivity) และความสามารถในการดูดซับน้ำ (water uptake) สูง ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจากสารละลายไฟโบรอินไหมความเข้มข้นสูง จะมีสมบัติทางกลสูงขึ้น และมีขนาดของรูพรุนใหญ่ขึ้น นอกจากนี้โครงเลี้ยงเซลล์ไฟโบรอินไหมดังกล่าวยังสามารถย่อยสลายในร่างกายภายใน 30 วัน งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงสมบัติเชิงกล เคมี และชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ไฟโบรอินไหมที่เหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อและกระดูก [27]

### 2.2.5.4 ตัวพาในระบบนำส่งยา (carrier)

มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการใช้ไฟโบรอินไหมในรูปแบบต่างๆ เพื่อประยุกต์เป็นระบบนำส่งยา ดังตัวอย่างในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2. 2 งานวิจัยที่ศึกษาการใช้ไฟโบรอินไหมในรูปแบบต่างๆเพื่อประยุกต์เป็นระบบส่งยา

รูปแบบตัวพา	วิธีการขึ้นรูปตัวพา	โมเดลยา	ผลการทดลอง	อ้างอิง
แผ่นฟิล์มไฟโบรอินไหม	ขึ้นรูปบนแม่พิมพ์เทฟลอนและทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 37 °C ความดัน 500 mbar จากนั้นบ่มในเมทานอลเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติ	Dextrans ที่มีช่วงน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ	- ฟิล์มไฟโบรอินไหมที่มีการบ่มในเมทานอลจะมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลเป็นโครงสร้างผลึก จึงปลดปล่อย Dextrans ช่วงน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 4 ถึง 40 kDa ในขณะที่ฟิล์มที่ไม่ได้บ่มในเมทานอลจะปลดปล่อย Dextrans ช่วงน้ำหนักโมเลกุล 40 kDa เท่านั้น - ฟิล์มที่มีการบ่มในเมทานอลจะไม่พบการปลดปล่อยอย่างฉับพลันในตอนแรก และจะปลดปล่อยอย่างช้าๆและต่อเนื่องในช่วงวันที่ 3-11	[28]
อนุภาคทรงกลมขนาดไมครอนไฟโบรอินไหม (microspheres)	อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ (water/oil/water)	Dexamethasone sodium phosphate (DSP)	อนุภาคไฟโบรอินไหมที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลมประสิทธิภาพการกักเก็บยาเฉลี่ย 56.43- 99.07% โดยในช่วงแรกของการปลดปล่อยจะเกิดขึ้นอย่างฉับพลัน จากนั้นก็จะมีอัตราการปลดปล่อยที่คงที่	[29]

อนุภาคทรงกลม ขนาดไมครอน ไฟโบรอินไหม (microspheres)	อิมัลชันชนิดน้ำใน น้ำมันในน้ำ (water/oil/water)	Recombinant human bone morphogene tic protein-2 (rhBMP-2)	อนุภาคทรงกลมที่ผลิตจาก สารละลายไฟโบรอินไหม ปลดปล่อย rhBMP-2 ได้ เนิ่นนานกว่าอนุภาคทรง กลมที่เตรียมจากพอลิ เมอร์ PLGA	[30]
ไฮโดรเจล ไฟโบรอินไหม	การเติมเอทานอล กระตุ้นการเกิดเจล	Diclofenac sodium	ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหม สามารถควบคุมการ ปลดปล่อยโมเดลยา diclofenac sodium ได้ เนิ่นนานขึ้นถึงสองเท่าเมื่อ เทียบกับกลุ่มสารละลาย ไฟโบรอินไหมที่ไม่เกิดเจล โดยใช้เอทานอล	[31]
ไฮโดรเจล ไฟโบรอินไหม	เทคนิค photo- polymerization	Dextrans	ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมที่ ได้ดูดซับน้ำได้ดี สามารถ กักเก็บยา Dextrans ได้ มาก และปลดปล่อยยา ได้มากขึ้นในระยะเวลา 7 วัน เมื่อเทียบกับไฮโดรเจล ที่ผลิตจาก PVA เพียง อย่างเดียว	[32]
ไฮโดรเจล ไฟโบรอินไหม	การกระตุ้นการเกิด เจลด้วยการ เปลี่ยนแปลง อุณหภูมิและ pH	Buprenor- phine	พฤติกรรมปลดปล่อย ยา buprenorphine ของ โปรตีนไฟโบรอินไหมมวล โมเลกุลสูงจะเกิดขึ้นอย่าง ช้าๆและคงที่ ซึ่งอัตราการ ปลดปล่อยจะขึ้นอยู่กับ	[33]

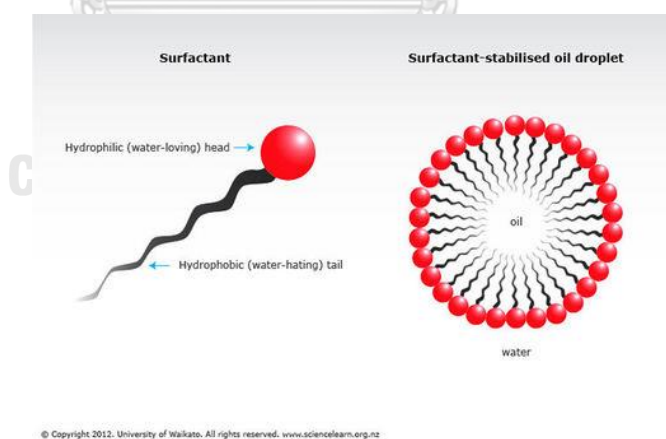
			ความเข้มข้นของ ไฟโบรอินไหมมวล์โมเลกุล สูง	
--	--	--	---	--

## 2.3 สารลดแรงตึงผิว (surfactant)

สารลดแรงตึงผิว เป็นสารที่มีความสามารถในการลดแรงตึงผิวของของเหลว ทำให้เกิดการแพร่กระจายของโมเลกุลได้ดีขึ้น ทั้งยังสามารถลดแรงที่เกิดขึ้นบริเวณที่ผิวของของเหลวสัมผัสกับของเหลวอื่นหรือสารสถานะอื่นๆ (interfacial tension) เช่น น้ำกับน้ำมัน ในระบบที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันที่เรียกว่า อิมัลชัน (emulsion) สารลดแรงตึงผิวจัดเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ (emulsifier) ทำหน้าที่เป็นตัวประสานให้สารอิมัลชันอยู่รวมกันได้ [34]

### 2.3.1 โครงสร้างทางเคมี

สารลดแรงตึงผิวประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic chain) และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic chain) ในโมเลกุลเดียวกัน [35] ดังแสดงในรูปที่ 2.11 เมื่ออยู่ในน้ำ โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นแบบไมเซลล์ (micelle) คือ หันส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหากัน และหันส่วนที่มีขั้วออกไปสัมผัสกับน้ำโดยรอบ



รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของสารลดแรงตึงผิวและการจัดเรียงตัวแบบไมเซลล์  
(<http://www.natureprof.com/mobile/web/product-detail.php?id=7>)

### 2.3.2 ประเภทของสารลดแรงตึงผิว [34]

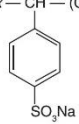
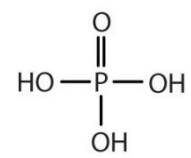
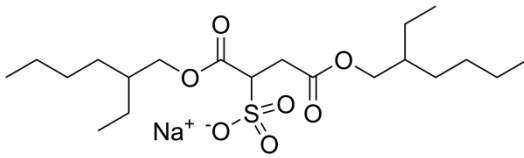
สารลดแรงตึงผิวแบ่งออกเป็น 4 ประเภท ตามชนิดของส่วนที่มีขั้วดังนี้



### 2.3.2.1 สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ (anionic surfactants)

กลุ่มของสารลดแรงตึงผิวที่มีส่วนที่มีขั้วเป็นประจุลบ ถูกใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการกำจัดคราบน้ำมันและสิ่งสกปรก แบ่งออกเป็น 5 ชนิดตามหมู่ฟังก์ชันที่พบในโครงสร้าง ดังแสดงในตารางที่ 2.3 [36]

ตารางที่ 2. 3 ชนิดของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ [36]

ชนิดของหมู่ฟังก์ชันประจุลบ ของส่วนที่มีขั้ว	ตัวอย่างสารลดแรงตึงผิว
Carboxylates	สบู่, ผงซักฟอก
Alkyl sulfates and sulfonates	Sodium hexyl sulfate: : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{SO}_4\text{Na}$ Sodium octyl sulfate (SOS): $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{SO}_4\text{Na}$ Sodium decyl sulfate: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{SO}_4\text{Na}$ Sodium dodecyl sulfate (SDS): $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4\text{Na}$ Sodium tetradecyl sulfate (STS): $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{SO}_4\text{Na}$ Sodium hexadecyl sulfate: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{SO}_4\text{Na}$
Petroleum and lignin sulfonates	Alkyl-benzenesulfonate $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_x-\text{CH}-(\text{CH}_2)_y-\text{CH}_3$ 
Phosphate esters	Phosphoric acid phosphates 
Sulfosuccinate esters	2-bis (ethyl-hexyl) sodium sulfosuccinate 

### 2.3.2.2 สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวก (cationic surfactants)

กลุ่มของสารลดแรงตึงผิวที่มีส่วนที่มีขั้วเป็นประจุบวก ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบจำพวก แอมโมเนียม (ammonium) ถูกใช้งานแพร่หลายในการผลิตยาฆ่าเชื้อและสารกันบูด เพราะมีความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวกได้แก่ benzalkonium chloride cetylpyridinium chloride เป็นต้น

### 2.3.2.3 สารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ (non-ionic surfactants)

กลุ่มของสารลดแรงตึงผิวที่มีส่วนที่มีขั้วไม่มีประจุ เช่น สารประกอบจำพวก polyoxyethylene, polyoxypropylene หรือ polyol derivatives และส่วนไม่มีขั้วเป็นพวกกรดไขมันอิ่มตัว/ไม่อิ่มตัว หรือ fatty alcohols ลักษณะเฉพาะของสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้คือ ทนต่อน้ำกร่อย และก่อความระคายเคืองได้น้อยกว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบและบวก และเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ที่ดี มีความสามารถในการกำจัดน้ำมันที่ตีเยียม ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้ได้แก่ กลุ่ม polyol esters (glycol, glycerol esters และ sorbitan) กลุ่ม polyoxyethylene esters (polyethylene glycol) และ poloxamers

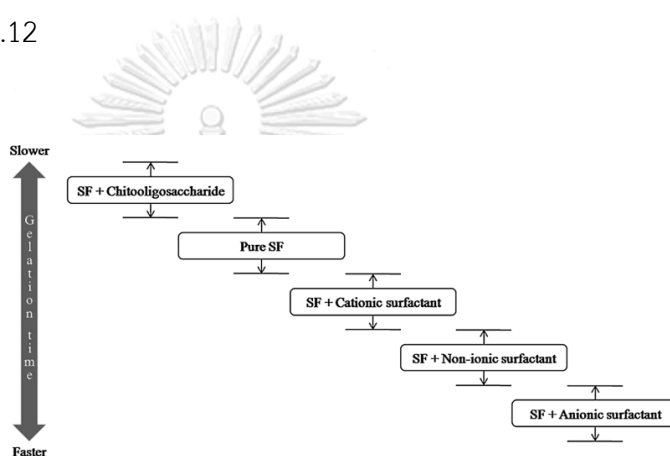
### 2.3.2.4 สารลดแรงตึงผิวประเภท Amphoteric/Zwitterionic (Amphoteric/Zwitterionic surfactants)

เป็นกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้กันในกลุ่มผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แชมพู น้ำยาล้างจาน เนื่องจากมีฟองมากและไม่ระคายเคืองต่อผิวหนัง สารลดแรงตึงผิวประเภท Amphoteric/Zwitterionic สามารถที่จะเปลี่ยนเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทอื่นๆได้ ขึ้นกับความเป็นกรด-เบสของน้ำ โดยกลุ่มที่มีหมู่ ammonium เป็นส่วนประกอบ มักเปลี่ยนเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวกได้ ในขณะที่กลุ่มที่มี carboxylate, sulphate หรือ sulphonate เป็นส่วนประกอบมักเปลี่ยนเป็นสารลดแรงตึงผิวประจุลบได้

### 2.3.3 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวประจุลบในทางการแพทย์

ในปี 2014 Ji Hun และคณะ ศึกษาระยะเวลาการเจลของไฟโบรอินไหม เมื่อถูกกระตุ้นสารลดแรงตึงผิวประเภทต่างๆ ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ (anionic surfactant) สารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ (non-ionic surfactants) และสารลดแรงตึงผิวประจุบวก (cationic surfactants) พบว่าสารลดแรงตึงผิวไปทำให้เกิดการดึงน้ำ (dehydration) ออกจากสายโซ่ของ

ไฟโบรอินใหม่ ส่งผลให้เกิดอัตราการเกิดเจลของส่วนที่ไม่ชอบน้ำภายในโมเลกุลมากขึ้น ไฟโบรอินใหม่จึงเปลี่ยนแปลงจากโครงสร้างชนิด random coil เป็น  $\beta$ -sheet ดังนั้นอัตราเร็วในการเกิดเจลของไฟโบรอินใหม่ ขึ้นอยู่กับความสามารถในการดึงน้ำออกจากสายโซ่ไฟโบรอินใหม่ของสารลดแรงตึงผิว โดยพบว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบสามารถกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินใหม่ได้เร็วกว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุถึง 10 เท่า ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวก ทำให้ไฟโบรอินใหม่ตกตะกอนแยกชั้นออกมาโดยไม่เกิดการเจล เนื่องจากมีอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตที่แข็งแกร่ง งานวิจัยนี้สรุปอัตราเร็วในการเกิดเจลของไฟโบรอินใหม่เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทต่างๆได้ ดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 ระยะเวลาการเกิดเจลของไฟโบรอินใหม่เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ [4]

**2.3.3.1 Sodium dodecyl sulfate (SDS)** หรืออีกชื่อหนึ่งคือ sodium lauryl sulfate สูตรโครงสร้าง  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4\text{Na}$  น้ำหนักโมเลกุล 288.38 g/mol จัดเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ได้รับการรับรองมาตรฐานความปลอดภัย สำหรับนำมาใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารและยาจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (The United States Food and Drug Administration: US-FDA) ในปัจจุบันมีการใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดร่างกายและเครื่องสำอาง เช่น แชมพู ยาสีฟัน โฟมล้างหน้า เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 2.13

$$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{O}-\text{S}(=\text{O})_2\text{ONa}$$


<b>Drug Facts</b>	<b>Drug Facts (continued)</b>	<b>Drug Facts (continued)</b>
<b>Active ingredient:</b> CRESTOL (SODIUM TETRADECYL SULFATE) 1.0% (w/w) (10.0 mg/g)	<b>Purpose:</b> For cavity and plaque prevention. Crestol is a sodium salt of a long-chain alkyl sulfate. It is a surfactant that helps to break up plaque and remove it from the teeth. It also helps to break up food particles and remove them from the teeth. Crestol is also a mild abrasive that helps to polish the teeth and remove surface stains.	<b>Warnings:</b> Do not use with a toothbrush that has a hard bristle toothbrush head. Crestol is a mild abrasive and may cause toothbrush bristles to break. Crestol is also a surfactant and may cause toothbrush bristles to become frayed. Crestol is also a mild abrasive and may cause toothbrush bristles to become frayed.
<b>Directions:</b> Brush your teeth twice a day, morning and evening, for at least 2 minutes. Spit out the toothpaste and do not swallow. Crestol is a mild abrasive and may cause toothbrush bristles to become frayed. Crestol is also a surfactant and may cause toothbrush bristles to become frayed.	<b>Other information:</b> Crestol is a mild abrasive and may cause toothbrush bristles to become frayed. Crestol is also a surfactant and may cause toothbrush bristles to become frayed.	<b>Other information:</b> Crestol is a mild abrasive and may cause toothbrush bristles to become frayed. Crestol is also a surfactant and may cause toothbrush bristles to become frayed.

รูปที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของ SDS และผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของ SDS

(<http://www.mpbio.com/product.php?pid=02102918&country=209>)

### 2.3.3.2 Sodium tetradecyl sulfate (STS) สูตรโครงสร้างทางเคมี $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{SO}_4\text{Na}$

น้ำหนักโมเลกุล 316.43 g/mol จัดเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ได้รับการรับรองมาตรฐานความปลอดภัยจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (The United States Food and Drug Administration: US-FDA) เช่นเดียวกับ SDS ในปัจจุบันมีการจำหน่ายในท้องตลาด โดยใช้ชื่อทางการค้า SOTRADECOL® ใช้ในการฉีดเพื่อรักษาเส้นเลือดอุดตัน ดังแสดงในรูปที่ 2.14



$$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2-\text{O}-\text{S}(=\text{O})_2\text{ONa}$$

รูปที่ 2.14 โครงสร้างทางเคมีของ STS และผลิตภัณฑ์ SOTRADECOL® ที่ใช้ในการฉีดเพื่อรักษาเส้น

เลือดอุดตัน ([www.fda.gov/downloads/Drugs/.../ucm054378.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../ucm054378.pdf))

## 2.4 เคอร์คูมิน (curcumin)

เคอร์คูมินเป็นสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) ที่เป็นองค์ประกอบหลักในพืชสมุนไพรขมิ้นชัน ที่มีชื่อสามัญว่า Turmeric. และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa*. จัดอยู่ใน

วงศ์ขิง (ZINGIBERACEAE) และถูกใช้อย่างแพร่หลายทั้งในวงการอาหาร เครื่องสำอาง และการแพทย์ โดยปลูกมากแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตั้งแต่อินเดีย ไทย บังคลาเทศ ศรีลังกา อินโดนีเซีย ใต้หวัน บางส่วนของจีนและเกาะจาไมก้า

#### 2.4.1 องค์ประกอบทางเคมี

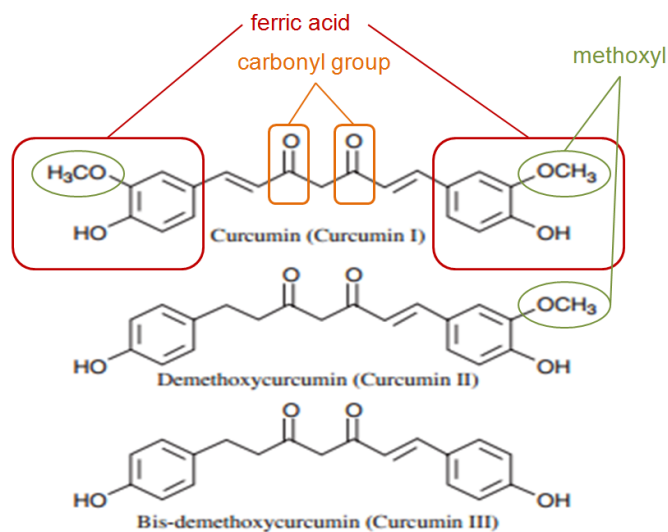
สารเคอร์คูมินอยด์เป็นสารสีเหลืองจัดเป็นสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenolic compound) โครงสร้างทางเคมีของสารเคอร์คูมินอยด์ประกอบด้วย ferric acid 2 โมเลกุลเชื่อมต่อกันด้วยหมู่คาร์บอนิล (carbonyl group) ดังแสดงในรูปที่ 2.15 สารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน มีอยู่ 3 ชนิด [37] ได้แก่

- Bis-(feruloyl)methane หรือ 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-eptadiene-3,5-dione หรือ curcumin( $C_{21}H_{20}O_6$ ) เป็นเคอร์คูมินอยด์ที่พบมากที่สุดที่พบมากที่สุดในขมิ้นชัน คือ ประมาณ 78%

- Feruloyl-(p-hydroxycinnamoyl)methane หรือ demethoxycurcumin ( $C_{20}H_{10}O_5$ ) พบประมาณ 17%

- Bis(p-hydroxycinnamoyl)methane หรือ bisdemethoxycurcumin ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) พบน้อยที่สุดในเคอร์คูมินอยด์ 3 ชนิด คือประมาณ 3%

โครงสร้างทางเคมีของสารเคอร์คูมินอยด์ทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.15 โดยโครงสร้างจะประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ methoxyl group มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ไดคีโตน (diketone) ซึ่งมีหมู่คีโตน 2 ตำแหน่ง และพันธะคู่ (double bond) ซึ่งทั้งสองส่วนหลังนี้มีคุณสมบัติเกี่ยวข้องกับการต้านการอักเสบ ต้านสารก่อกลายพันธุ์ และต้านมะเร็ง [7]



รูปที่ 2.15 โครงสร้างทางเคมีของสารเคอร์คูมินชนิด 3 ชนิดที่เป็นองค์ประกอบหลักในขมิ้นชัน [38]

#### 2.4.2 สมบัติทั่วไปของเคอร์คูมิน [38, 39]

ชื่อทางเคมี (chemical name)	Curcumin
สูตรโครงสร้าง (molecular formula)	$C_{21}H_{20}O_6$
น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight)	368.37 g/mol
ลักษณะทางกายภาพ (physical properties)	ผลึกแข็งสีเหลืองอมส้ม
จุดหลอมเหลว (melting point)	183°C
ความเป็นกรด-เบส (pH)	เคอร์คูมินที่มีสีเหลือง จะมีค่า pH ประมาณ 2.5 ถึง 7 ส่วนเคอร์คูมินที่มีสีส้มเข้ม จะมีค่า pH มากกว่า 7 เมื่อละลายในตัวทำละลายไม่มีขั้ว
สมบัติการละลาย (solubility)	มีความสามารถในการละลายในน้ำต่ำ เนื่องจากเป็นโมเลกุลไม่มีขั้ว จึงละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น

	dimethylsulfoxide (DMSO), ethanol, acetone
<b>ความถ่วงจำเพาะ (Specific Gravity)</b>	0.9348 g/cm <sup>3</sup> ที่อุณหภูมิ 3°C เมื่อละลายในตัวทำละลายไม่มีขั้ว

### 2.4.3 สมบัติทางชีวภาพของเคอร์คูมิน

เคอร์คูมินได้รับการศึกษาวิจัยอย่างแพร่หลายว่ามีฤทธิ์และสมบัติทางชีวภาพในการรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ติดเชื้อ หรือโรคเรื้อรังอื่นๆ ดังแสดงในรูปที่ 2.16 ฤทธิ์ที่สำคัญของเคอร์คูมิน ได้แก่

#### 2.4.3.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidative activity)

การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเคอร์คูมินเป็นผลมาจากการมีหมู่ฟีนอลิกและเมทอกซีอยู่ภายในวงแหวนฟีนอลและ 1,3-ไดคีโตน [40] นอกจากนี้เคอร์คูมินสามารถทำหน้าที่เป็นสื่อกลางกับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) เช่น superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการอักเสบ, โรคหัวใจ และโรคมะเร็ง [40]

#### 2.4.3.2 ฤทธิ์ต้านการอักเสบและรักษาบาดแผล (anti-inflammation and wound-healing activity)

การอักเสบมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับกระบวนการรักษาและฟื้นฟูเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผล การอักเสบรุนแรงและเรื้อรังมีผลทำให้แผลหายช้า มีงานวิจัยจำนวนมากที่รายงานฤทธิ์ของเคอร์คูมินในการกระตุ้นการรักษาแผล โดยช่วยลดการแสดงออกของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการอักเสบ นอกจากนี้เคอร์คูมินยังมีส่วนช่วยในการสร้างของคอลลาเจน ส่งผลให้แผลที่รักษาด้วยเคอร์คูมินสมานได้เร็วกว่าแผลที่ไม่ได้รับการรักษา [41, 42]

#### 2.4.3.3 ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (anticancer activity)

กลไกการยับยั้งมะเร็งของเคอร์คูมินเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเกิดสารอนุมูลอิสระ (Reactive oxygen species, ROS) การต่อต้านการอักเสบ การลดบทบาทของเอนไซม์ ornithine decarboxylase ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์มะเร็ง การยับยั้งการเพิ่ม

จำนวนของเซลล์มะเร็งโดยการลดบทบาทของยีนส์บางชนิดที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ เช่น cHa-ras c-jun, c-fos การยับยั้งโปรตีนไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase) และโปรตีนไคเนสซี (kinase C) ที่มีผลควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง, การชักนำให้เกิดทำงานของ glutathione S-transferase (GST) ซึ่งช่วยในการกำจัดสารพิษออกจากเซลล์ โดยผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการสร้างหลอดเลือด (anti-angiogenesis) ที่จะเข้าไปเลี้ยงเซลล์มะเร็งเป็นต้น [43-47]

#### 2.4.3.4 ป้องกันการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด

เคอร์คูมินสามารถลดการเกาะของไขมันภายในผนังหลอดเลือด ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะหลอดเลือดหัวใจแข็งตัวและตีบลง จนเลือดไปเลี้ยงหัวใจไม่เพียงพอ โดยการควบคุมระดับของ glutathione (GSH) malonaldehyde (MDA) myeloperoxidase (MPO) และ lactate dehydrogenase (LDH) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนและไขมัน [48-50]

#### 2.4.3.5 ลดอาการอักเสบของกล้ามเนื้อ

เคอร์คูมินออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B) ซึ่งเป็น transcription factor ที่มีผลต่อการอักเสบและสามารถช่วยกระตุ้นให้เกิดกระบวนการสร้างกล้ามเนื้อใหม่ ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอได้เร็วขึ้น [51]

#### 2.4.3.6 ลดการสะสมของคอเลสเตอรอล

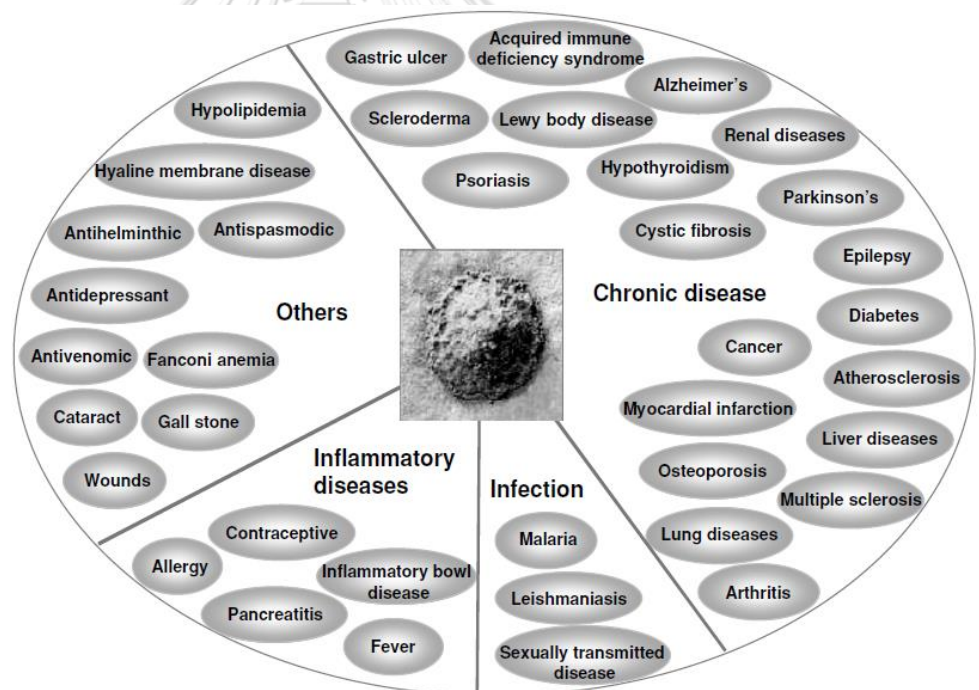
เคอร์คูมินสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดผ่านกลไกหลายรูปแบบได้แก่เพิ่มตัวรับแอลดีแอลทีดับ (hepatic LDL receptors), กระบวนการเกิดออกซิเดชันของแอลดีแอล เพิ่มการหลั่งกรดน้ำดี (bile acid secretion) ให้เกิดการแตกตัวของไขมันมากขึ้น และเพิ่มการขับคอเลสเตอรอลออกจากร่างกาย หรือยับยั้งการแสดงออกของยีนส์ที่เกี่ยวข้องในการสร้างคอเลสเตอรอล [52]

#### 2.4.3.7 รักษาโรคเบาหวาน

มีรายงานประสิทธิภาพของเคอร์คูมินในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่1 ที่เกิดจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อนถูกทำลายโดยทำการทดลองใช้สาร streptozotocin (STZ) ฉีดกระตุ้นให้หนูป่วยเป็นโรคเบาหวาน สาร STZ จะเข้าไปแย่งจับกับตัวรับ GLUT2 ของเบต้าเซลล์ในตับอ่อน ส่งผลให้เบต้าเซลล์ ไม่สามารถนำกลูโคสเข้าเซลล์ได้ตามปกติ และหลังอินซูลินได้น้อยลง จึงทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น การให้เคอร์คูมินกับหนูทดลองด้วยการกินผ่านทางสายยาง สามารถออกฤทธิ์



รักษาโรคเบาหวานได้ กล่าวคือ เมื่อเบต้าเซลล์ทำงานผิดปกติ จะทำให้ภายในเซลล์เกิดสภาวะเครียด (cellular stress) เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดการอักเสบ มีการแสดงออกของยีนส์ (Nrf-2, HO-1) ไซโตไคน์ (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) และ transcription factor (NF $\kappa$ B, p-PI3K, p-Akt, p-GSK3 $\beta$ ) ที่เกี่ยวกับข้ออักเสบเพิ่มสูงขึ้น เคอร์คูมินจะเข้าไปยับยั้งการเพิ่มของสารเหล่านี้ และต่อต้านอนุมูลอิสระ จึงสามารถลดจำนวนเบต้าเซลล์ที่อักเสบและตาย เมื่อเบต้าเซลล์กลับสู่สภาวะปกติ ก็จะสามารถที่จะนำกลูโคสเข้าเซลล์ได้ และหลังอินซูลินได้ตามปกติ ระดับน้ำตาลในเลือดก็จะลดลงจนเข้าสู่สภาวะปกติ [53] จากกลไกดังกล่าวจะเห็นได้ว่าเคอร์คูมินออกฤทธิ์รักษาที่ต้นเหตุของโรคเบาหวาน คือ รักษาความผิดปกติของเบต้าเซลล์ ซึ่งต่างจากการรักษาด้วยการฉีดอินซูลินที่เป็นการรักษาโรคที่ปลายเหตุ นอกจากนี้ ยังมีรายงานประสิทธิภาพของเคอร์คูมินในการรักษาแผลที่เกิดจากโรคเบาหวานอีกด้วย โดยเคอร์คูมินสามารถลดการอักเสบของแผลเบาหวาน ช่วยให้เบาหวานช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น



รูปที่ 2.16 ประโยชน์ในการรักษาอาการและโรคต่างๆของเคอร์คูมิน [54]

#### 2.4.4 งานวิจัยที่ใช้เคอร์คูมินในการรักษาแผล

ตารางที่ 2. 4 ตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาการใช้เคอร์คูมินในการรักษาแผล

วัสดุที่ใช้ ขึ้นรูปตัว พยายา	ปริมาณ เคอร์ คูมินที่ให้	ปริมาณ เคอร์ คูมินที่ ได้รับต่อ 0.6x0.6 cm <sup>2</sup>	โมเดลสัตว์ทดลอง และกลุ่มตัวอย่าง	ผลการทดลอง	อ้างอิง
-	5, 10 mg/mL	250, 500 µg	หนู Sprague- Dawley Albino rat อายุ 3-5 สัปดาห์ เพศผู้ น้ำหนัก 250- 350 g สร้างบาดแผล บริเวณเย็บโพรง จมูก การรักษาแผล จะหยุดยาที่แผล จำนวน 3 เวลา/วัน โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ - กลุ่มที่ไม่ได้รับการ รักษา - กลุ่มที่รักษาด้วย การให้ปริมาณเคอร์คู มิน ความเข้มข้นต่ำ (5 mg/mL)	กลุ่มที่รักษาด้วยการให้ เคอร์คูมินความเข้มข้น สูง (10 mg/mL) มี ประสิทธิภาพในการลด การอักเสบและกระตุ้น การหายของแผลได้ ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ การรักษา โดยสามารถ กระตุ้นการเจริญของ เซลล์เย็บ ลดการ เสื่อมของเซลล์ ประสาท กระตุ้นการ สร้างของหลอดเลือด ลดปริมาณของเซลล์ เม็ดเลือดขาวเข้ามายัง บริเวณบาดแผล	[55]

			<ul style="list-style-type: none"> <li>- กลุ่มที่รักษาด้วย การให้เคอร์คูมิน ความเข้มข้นสูง (10 mg/mL)</li> <li>- กลุ่มที่รักษาด้วย การให้สาร dimethyl sulfoxide</li> </ul>		
เส้นใย เจลลาติน ที่เชื่อม ขวางด้วย 25% glutaral dehyde (Glt NM)	10 mg/ml	500 µg	<p>หนู Sprague- Dawley Albino rat โตเต็มวัย เพศผู้ น้ำหนัก 250-350 g สร้างบาดแผลบริเวณ หลัง(full-thickness) ขนาด 6x6 mm การ รักษาแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- กลุ่มที่ไม่ได้รับการ รักษา</li> <li>- กลุ่มที่รักษาด้วย เส้นใย Glt NM ไม่ บรรจุเคอร์คูมิน</li> <li>- กลุ่มที่รักษาด้วย เส้นใย Glt NM ที่ บรรจุเคอร์คูมิน</li> </ul>	เส้นใย Glt NM ที่ บรรจุเคอร์คูมิน ช่วย ยับยั้งอาการอักเสบ ของแผล กระตุ้นการ ทำงานของเซลล์ไฟโบ รบลาส ลดการ แสดงออกของโปรตีน monocyte chemoattractant protein-1	[56]

-	40 mg/kg ต่อ น้ำหนัก ตัว	2000 µg	หนู albino Wistar strain rats อายุ 10 เดือน เพศผู้ น้ำหนัก 500-600 g สร้างบาดแผลบริเวณหลัง (full-thickness) ขนาด 2 cm <sup>2</sup> การรักษาแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ - กลุ่มควบคุม: ให้รับประทาน physiological saline - กลุ่มที่รักษาโดยให้รับประทาน เคอร์คูมิน	กลุ่มที่รักษาด้วยการรับประทานเคอร์คูมิน แผลหายเร็วกว่า เคอร์คูมินช่วยกระตุ้นการสร้างของเซลล์เยื่อผิวหนัง เพิ่มการสร้างคอลลาเจน ยับยั้งไซโตคายน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติในการต่อต้านการอักเสบของเคอร์คูมิน	[57]
อนุภาคนาโน chitosa n-PEG	5 mg/ml	250 µg	หนู Balb/c mice อายุ 6-8 สัปดาห์ เพศผู้ น้ำหนัก 500-600 g สร้างบาดแผลบริเวณหลัง (full-thickness) ขนาด 5x5 mm การรักษาแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่	อนุภาคนาโนช่วยเพิ่มชีวปริมาณการออกฤทธิ์ของเคอร์คูมิน ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการลดการอักเสบ ลดการเติบโตของแบคทีเรียบริเวณแผล เพิ่มการสร้างคอลลาเจน การสร้างเซลล์เยื่อผิวหนังและหลอดเลือด	[58]

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- กลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา</li> <li>- กลุ่มที่รักษาด้วยการทา silver sulfadiazine</li> <li>- กลุ่มที่รักษาด้วยอนุภาคนาโนไม่บรรจุเคอร์คูมิน</li> <li>- กลุ่มที่รักษาด้วยเคอร์คูมิน</li> <li>- กลุ่มที่รักษาด้วยอนุภาคนาโนบรรจุเคอร์คูมิน</li> </ul>	<p>ใหม่</p> <p>ช่วยกระตุ้นการหายของแผล</p>	
--	--	---	--	--

### บทที่ 3

#### วัสดุและวิธีดำเนินงานวิจัย

##### 3.1 วัสดุและสารเคมี

- 3.1.1 รังไหมไทยจากหนอนไหม *bombyx mori* (สายพันธุ์เหลืองไฟโรจน์ ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ จังหวัดนครราชสีมา)
- 3.1.2 Curcumin (95%,  $C_{21}H_{20}O_6$ , MW = 368.38 g/mol, Sigma Co., USA)
- 3.1.3 Lithium Bromide (LiBr, MW = 86.84 g/mol, Sigma-Aldrich laborchemikalien, Germany)
- 3.1.4 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)
- 3.1.5 Sodium carbonate ( $Na_2CO_3$ , MW = 105.98 g/mol, Ajax Finechem, Pty, Ltd, Australia)
- 3.1.6 Sodium octyl sulfate (SOS,  $CH_3(CH_2)_7SO_4Na$ , MW = 232.27g/mol, Sigma-Aldrich laborchemikalien, Germany)
- 3.1.7 Sodium dodecyl sulfate (SDS,  $CH_3(CH_2)_{11}SO_4Na$ , MW = 288.38 g/mol, Sigma-Aldrich laborchemikalien, Germany)
- 3.1.8 Sodium tetradecyl sulfate (STS,  $CH_3(CH_2)_{13}SO_4Na$ , MW = 316.43 g/mol, Sigma-Aldrich laborchemikalien, Germany)
- 3.1.9 4- (2- Hydroxyethyl) piperazine- 1- ethanesulfonic acid (HEPES buffer,  $C_8H_{18}N_2SO_4$ , MW = 238.30 g/mol, pH 7.4, Sigma-Aldrich laborchemikalien, Germany)
- 3.1.10 Hydrochloric acid (HCl, 36.5-38%, MW =36.46 g/mol, J.T. Baker, NJ, USA)
- 3.1.11 Sodium bicarbonate ( $NaHCO_3$ , MW = 84.01 g/mol, Ajax Finechem, Pty, Ltd, Australia)
- 3.1.12 Phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4, Bio basic Inc, Canada)
- 3.1.13 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, HyClone Thermo Scientific, USA)
- 3.1.14 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) (MTT, Sigma-Aldrich,USA)

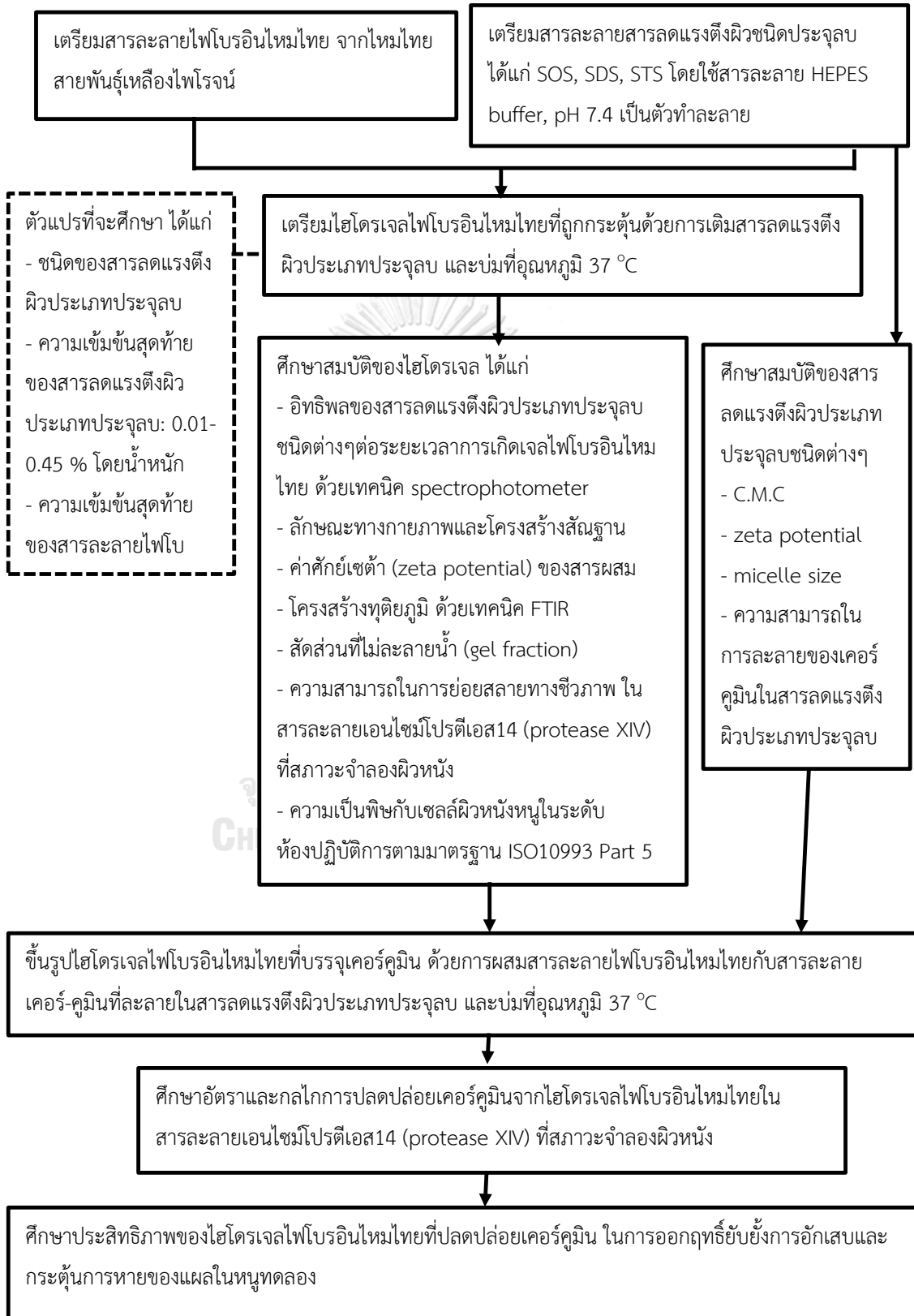
- 3.1.15 Protease enzyme<sup>14</sup> ( Protease XIV, from Streptomyces griseus, cat# P5147, 3.5 unit/mg, Sigma-Aldrich, USA)

### 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1.16 เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (Universal 320R, Hettich, Germany)
- 3.1.17 Autopipette (Eppendorf, Germany)
- 3.1.18 Magnetic stirrer/Hot plate (RCT Basic, Ika labortechnik, Germany)
- 3.1.19 ถังไดอะไลซิส (MWCO 12,000-16,000, Vikase Company Inc., Japan)
- 3.1.20 ตู้เย็น 4°C (NR-BU343, Panasonic, Thailand)
- 3.1.21 ตู้แช่แข็ง -20°C (Sandenintercool, Thailand)
- 3.1.22 ตู้แช่แข็ง -40°C (Haier, China)
- 3.1.23 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dry, CHRIST®, Germany)
- 3.1.24 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (1235 PC, Shel-Lab, USA)
- 3.1.25 เครื่อง Microplate Reader (FLUOstar Omega, BMG LABTECH, Germany)
- 3.1.26 96 well UV-transparent plates (Corning, USA)
- 3.1.27 Shaking incubator (SI-100R, HANYANG SCIENTIFIC EQUIPMENT CO., LTD, Korea)
- 3.1.28 เครื่อง Zetasizer (650, Malvern, England)

### 3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

แผนผังการดำเนินงานวิจัย แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังการดำเนินงานวิจัย



### 3.3.1 โครงสร้างเคมีและสมบัติของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ 3 ชนิด ได้แก่

sodium octyl sulfate (SOS) sodium dodecyl sulfate (SDS) และ sodium tetradecyl sulfate (STS)

#### 3.3.1.1 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นวิกฤต (critical micelle concentration: CMC) ของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

เตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิว ในน้ำปราศจากประจุ (pH 6) และสารละลาย HEPES buffer (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C pH 7.4 วิเคราะห์หาความเข้มข้นวิกฤต (critical micelle concentration: CMC) ซึ่งคือความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดไมเซลล์จากการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 250 nm โดยใช้เครื่อง Microplate Reader (FLUOstar Omega, BMG LABTECH, Germany) เพื่อหาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ซึ่งแสดงถึงค่าความเข้มข้นวิกฤต (CMC) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดนั้นๆ [59]

#### 3.3.1.2 การวิเคราะห์หาค่าศักย์เซต้า (zeta potential) และขนาดไมเซลล์ (micelle size) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

ในการวิเคราะห์ค่าศักย์เซต้าของสารลดแรงตึงผิว เตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 0.25% โดยน้ำหนัก ในสารละลาย HEPES buffer (pH 7.4) สำหรับการวิเคราะห์ขนาดของไมเซลล์ เตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนัก ในสารละลาย HEPES buffer (pH 7.4) วัดค่าศักย์เซต้า และขนาดไมเซลล์โดยใช้เครื่อง Zetasizer (650, Malvern, England)

### 3.3.2 การขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยโดยการกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ และศึกษาสมบัติของไฮโดรเจล

#### 3.3.2.1 การเตรียมสารละลายไฟโบรอินไหมไทย

ดัดแปลงมาจากวิธีของ [60] แบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่

- การกำจัดเซรีซิน โดยการต้มรังไหม 40 g ในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 0.02 M เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำรังไหมที่ต้มแล้วมาล้างในน้ำปราศจากไอออน

(Deionized water) 4-5 ครั้ง เพื่อกำจัดเซรีซินและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ทำตามขั้นตอนข้างต้นซ้ำอีก 1 รอบ จากนั้นนำเส้นไหมที่ได้ไปผึ่งจนแห้ง ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการกำจัดเซรีซินออกจากรังไหม

- การเตรียมสารละลายไฟโบรอินไหมไทย โดยการฉีกเส้นไหมที่ผ่านขั้นตอนกำจัดเซรีซินให้ฟูๆ แล้วละลายเส้นไหมในสารละลายลิเทียมโบรไมด์ (LiBr) ความเข้มข้น 9.3 M ด้วยอัตราส่วนน้ำหนักไหม 4 g ต่อปริมาตรสารละลายลิเทียมโบรไมด์ 12 ml ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ดังรูปที่ 3.3 แล้วจึงนำสารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ได้มาไดอะไลซิสในน้ำปราศจากไอออนเป็นเวลา 3 วัน โดยขั้นแรกเปลี่ยนน้ำที่เวลา 20, 40, 60 นาที จากนั้นเปลี่ยนน้ำวันละ 3 ครั้ง เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนไดอะไลซิสให้นำสารละลายไฟโบรอินไหมมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน ความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยสามารถคำนวณได้โดยการนำสารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ทราบน้ำหนักไปอบแห้ง และชั่งน้ำหนักแห้ง สารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่เตรียมได้จะมีความเข้มข้นประมาณ 5-6% โดยน้ำหนัก



รูปที่ 3.3 ขั้นตอนการละลายเส้นใยไฟโบรอินไหมไทยในเกลือลิเทียมโบรไมด์

### 3.3.2.2 การเตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ

เตรียมสารละลาย HEPES buffer ความเข้มข้น 20 mM โดยชั่งสาร 4-(2-Hydroxyethyl) piperazine-1-ethanesulfonic acid ปริมาณ 238.30 g และละลายในน้ำปราศจากประจุ 1000 ml และปรับ pH ของสารละลายให้เท่ากับ 7.4 โดยใช้สารละลาย Sodium Hydroxide (NaOH) จากนั้นเตรียมสารลดแรงตึงผิวประจุลบ 3 ชนิด ได้แก่ Sodium octyl sulfate (SOS) Sodium dodecyl sulfate (SDS), Sodium tetradecyl sulfate (STS) ในสารละลาย HEPES buffer (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นโดยน้ำหนักต่างๆ (0.03, 0.09, 0.15, 0.21, 0.27, 0.33, 0.39 และ 0.45% โดยน้ำหนัก)

### 3.3.2.3 การศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆต่อระยะเวลา

การเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย ด้วยการสังเกตและการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer

ผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทยกับสารลดแรงตึงผิวประจุลบชนิด SOS SDS และ STS ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของไฟโบรอินไหมไทย 0.5-2 % โดยน้ำหนัก และความเข้มข้นสุดท้ายของสารลดแรงตึงผิว 0.01-0.45 % โดยน้ำหนัก และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C pH 7.4 สังเกตพฤติกรรมและหาระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยด้วยการสังเกตและวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 nm (วัดทุก 2 นาที เป็นเวลา 120 นาที) โดยใช้เครื่อง Microplate Reader (FLUOstar Omega, BMG LABTECH, Germany)

### 3.3.2.4 การศึกษาโครงสร้างพื้นฐานของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประจุลบชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิค Scanning electron microscope (SEM)

นำไฮโดรไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประจุลบชนิดต่างๆไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จากนั้นตัดไฮโดรเจลในภาคตัดขวาง และศึกษาโครงสร้างพื้นฐานของไฮโดรเจลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM, JSM-5410LV, JEOL Ltd, Japan) และบันทึก ภาพที่กำลังขยาย 30, 100 และ 500 เท่า

### 3.3.2.5 การวิเคราะห์ค่าศักย์เซต้า (zeta potential) ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

เตรียมสารละลายผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทย กับสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายไฟโบรอินไหมไทย 2% และความเข้มข้นสุดท้ายของสารลดแรงตึงผิว 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 37°C pH 7.4 วัดค่าศักย์เซต้า (Zeta Potential:  $\zeta$ ) โดยใช้เครื่อง Zetasizer (650, Malvern, England)

### 3.3.2.6 การวิเคราะห์โครงสร้างเคมีและโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared (FT-IR spectroscopy)

ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ โดยนำไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ได้มาจากการผสมของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก ณ อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4 ไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดและผสมกับโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) แล้วจึงนำมาอัดขึ้นรูปเป็นเหรียญขนาดเล็ก (disc) นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR, Spectrum GX, Perkin Elmer, UK) ด้วยโหมด Mid-Infrared (IR) spectroscopy ความละเอียด 4 cm<sup>-1</sup> ที่ความยาวคลื่นในช่วงเลขคลื่น 500-4000 nm เพื่อตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันที่บ่งชี้ถึงคุณลักษณะเฉพาะของไฟโบรอินไหมไทย นอกจากนี้ นำข้อมูลช่วงความยาวเลขคลื่น 1577-1725 cm<sup>-1</sup> ที่ได้มาทำ Fourier self-deconvolution (FSD) และการทำ Curve-fitting เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของโครงสร้างทุติยภูมิของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย ดังตารางที่ 3.1 [61]

ตารางที่ 3.1 เลขคลื่นและลักษณะโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินไหมไทย

เลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	โครงสร้างทุติยภูมิ
1590-1605	tyrosine
1608-163, 1697-1700	β-sheet
1638-1653	random coil
1654-1662	alpha helix
1663-1696	beta turn

### 3.3.2.7 การวิเคราะห์สัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (gel fraction) ของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

นำไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ มาตัดเป็นชิ้นทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm ออบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C แล้วชั่งน้ำหนัก (Wi) จากนั้นนำชิ้นงานไปแช่ในน้ำปราศจากประจุ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงแยกชิ้นงานส่วนที่ไม่ละลายออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C ชั่งน้ำหนัก (Wf) คำนวณหาร้อยละสัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (gel fraction) จากสมการต่อไปนี้

$$\text{Gel fraction (\%wt)} = \frac{wf}{wi} \times 100$$

### 3.3.2.8 การศึกษาความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5)

ศึกษาระยะเวลาการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ที่สภาวะจำลองร่างกาย โดยการบ่มไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ทราบน้ำหนักเริ่มต้น ในสารละลาย normal saline (pH 5.5) ที่มีเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ความเข้มข้น 3 unit/ml ที่อุณหภูมิ 37 °C โดยสารละลายเอนไซม์จะ

ถูกเปลี่ยนทุกๆ 2 วันเพื่อรักษากิจกรรมของเอนไซม์ตลอดระยะเวลาการศึกษา จากนั้นทำการเก็บไฮโดรเจลที่ช่วงเวลาต่างๆ ได้แก่ 6 ชั่วโมง 1 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน มาล้างและวิเคราะห์น้ำหนักคงเหลือ

### 3.3.2.9 การศึกษาความเป็นพิษของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ กับเซลล์ผิวหนังหนู (L929 mouse fibroblasts) ในระดับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5

ศึกษาความเป็นพิษของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ กับเซลล์ผิวหนังหนู (L929 mouse fibroblasts) ในระดับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5 โดยวิธีทางอ้อม (Indirect method) โดยการทดลองแบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่

#### - การเตรียมสารสกัดจากไฮโดรเจล

เริ่มจากการเตรียมไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ปราศจากเชื้อ (Sterilization) ด้วยการกรองสารละลายไฟโบรอินไหมไทย สารละลายผสมของสารลดแรงตึงผิวและสารละลายเคอร์คูมินผ่านเยื่อกรองที่ทำจาก cellulose acetate หรือ plastic polymer ที่มีขนาดของรูเยื่อกรอง  $0.22 \mu\text{m}$  ซึ่งสามารถกรองเชื้อจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่านี้ได้ จากนั้นนำสารละลายที่ปราศจากเชื้อข้างต้น มาขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่สภาวะปลอดเชื้อ นำไฮโดรเจลที่ได้ไปแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่ไม่มีซีรัมเป็นองค์ประกอบ บ่มที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้สารสกัดจากไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย 100% ซึ่งจะถูกนำไปเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีซีรัมเป็นองค์ประกอบ เพื่อให้ได้สารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ

#### - การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังหนู (L929 mouse fibroblasts)

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ L929 ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 well-plate โดยเพาะเลี้ยงเซลล์เริ่มต้นที่ความหนาแน่น  $1 \times 10^4 \text{ cell}/100 \mu\text{l}$  ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ที่มีซีรัม 10% โดยปริมาตร บ่มในตู้เพาะเชื้อที่สภาวะความดันบรรยากาศที่มี  $\text{CO}_2$  5 %โดยปริมาตร อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์ยึดเกาะและแผ่ตัวเป็นแบบชั้นเดียว (Monolayer) บนจานเพาะเชื้อ จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกและเติมตัวอย่างสารสกัดจากไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปในแต่ละหลุมและเพาะเลี้ยงตามสภาวะข้างต้นเป็นเวลาอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการ

ประเมินจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ด้วยเทคนิค 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT assay) [62] โดยกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุมเชิงบวก (Positive control) คือ กลุ่มที่เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยสารละลาย zinc acetate ความเข้มข้น 20 ppm

กลุ่มที่ 2 กลุ่มควบคุมเชิงลบ (Negative control) คือ กลุ่มที่เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยซีรัม ความเข้มข้น 10% โดยปริมาตร

กลุ่มที่ 3 กลุ่มควบคุม (Blank control) คือ กลุ่มที่เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีซีรัม เป็นองค์ประกอบ

กลุ่มที่ 4 กลุ่มตัวอย่าง (Sample group) คือ กลุ่มที่เลี้ยงเซลล์ในตัวอย่างสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ (100%, 50%, 25% และ 12.5%)

### 3.3.3 การขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยโดยการกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ และบรรจุเคอร์คูมิน

#### 3.3.3.1 การศึกษาความสามารถในการละลายของเคอร์คูมินในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

ศึกษาความสามารถในการละลายของเคอร์คูมินในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.06, 0.18, 0.3, 0.42, 0.54, 0.66, 0.78 และ 0.9% โดยน้ำหนัก ที่ใช้เป็นตัวทำละลาย โดยการนำเคอร์คูมิน 1 mg มาละลายในสารลดแรงตึงผิวปริมาตร 1 ml และบ่มที่ 37 °C, ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เคอร์คูมินเกิดการละลายได้มากที่สุด จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงสาร ความเร็วรอบ 9000 rpm เป็นเวลา 5 นาที และเก็บเคอร์คูมินส่วนที่ตกตะกอน (ไม่ละลายในสารลดแรงตึงผิว) ไปอบแห้งในตู้อบที่ 40 °C จนแห้งสนิท และชั่งน้ำหนักที่คงเหลือ แล้วนำไปสกัดออกจากน้ำหนักเคอร์คูมินเริ่มต้นเพื่อคำนวณหาน้ำหนักของเคอร์คูมินส่วนที่ละลายในสารลดแรงตึงผิว และความเข้มข้นมากที่สุดของเคอร์คูมินที่ละลายได้ในสารลดแรงตึงผิวความเข้มข้นต่างๆ

### 3.3.3.2 การขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่บรรจุเคอร์คูมิน ด้วยการผสมสารละลายไฟโบรอินใหม่ไทยกับสารละลายเคอร์คูมินที่ละลายในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ

ผสมสารละลายไฟโบรอินใหม่ไทยกับสารละลายเคอร์คูมินความเข้มข้น 0.7 mg/ml ที่ละลายในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายไฟโบรอินใหม่ไทย 2% และความเข้มข้นสุดท้ายของสารลดแรงตึงผิว 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C pH 7.4 จะได้ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆและบรรจุเคอร์คูมินความเข้มข้น 0.7 mg/ml

### 3.3.4 การศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5)

นำไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS และบรรจุเคอร์คูมินที่ได้จากการทดลองข้างต้น มาแช่ในสารละลาย normal saline (pH 5.5) ที่มีเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ความเข้มข้น 3 unit/ml ในสภาวะที่สารละลายที่ใช้รองรับมีปริมาณมากกว่า 10 เท่าของปริมาตรที่ใช้ในการเตรียมสารละลายอิมตัวของสารออกฤทธิ์ เรียกว่า sink condition จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C และเก็บส่วนของสารละลายที่เวลาต่างๆ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 nm เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของเคอร์คูมินที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมจากเคอร์คูมินความเข้มข้นต่างๆ และคำนวณหาร้อยละการปลดปล่อยสะสมของเคอร์คูมิน (Ci) จากสมการต่อไปนี้

$$C_i = \sum_{i=0}^t (M_i)$$

$$\text{ร้อยละการปลดปล่อยสะสม} = \frac{C_i}{C_t} \times 100$$

โดย  $M_i$  คือปริมาณเคอร์คูมินที่ถูกปลดปล่อยจากไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ช่วงเวลา  $i$

$C_i$  คือปริมาณของเคอร์คูมินที่ถูกปลดปล่อยจากไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยในแต่ละช่วงเวลา

$C_t$  คือปริมาณของเคอร์คูมินทั้งหมดที่บรรจุอยู่ในไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทย



### 3.3.5 การศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ปลดปล่อยคอร์คูมิน ในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง

**3.3.5.1 สัตว์ทดลอง** หนูทดลอง BALB/cMlac mice เพศผู้ น้ำหนัก 20-25 g จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล (NLAC-MU) โดยเลี้ยงในระบบหนู 1 ตัวต่อกรง อุณหภูมิ  $25\pm 3$  °C ให้อาหารและน้ำที่ปราศจากเชื้อตลอดเวลา, กำหนดให้มีช่วงกลางวัน และกลางคืนอย่างละ 12 ชั่วโมง ทั้งนี้หนูทดลองที่นำมาศึกษาวิจัยทั้งหมดผ่านการอนุมัติ เห็นชอบจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เลขที่โครงการวิจัย 021/2560

**3.3.5.2 การเตรียมบาดแผล** ทำการฉีดสาร sodium pentobarbital ความเข้มข้น 55 mg ต่อน้ำหนักตัว 1 kg เพื่อกล่อมประสาท และสร้างแผลชนิดสูญเสียทั้งชั้นผิวหนัง (full-thickness wound) จำนวน 2 แผล ขนาด  $0.6\times 0.6$  cm<sup>2</sup> บนกลางหลังหนูแต่ละตัว [63] ตรึงแผลด้วยการเย็บด้วยไหมเย็บแผล

**3.3.5.3 การแบ่งกลุ่มการทดสอบ** การรักษาบาดแผลแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว ได้แก่

- กลุ่มที่ 1 ไม่ได้รับการรักษา
- กลุ่มที่ 2 รักษาด้วยการทาไฟบรินเจลซึ่งเป็นเจลรักษาแผลที่ใช้งานทางการแพทย์
- กลุ่มที่ 3 รักษาด้วยการทาไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ไม่ได้บรรจุคอร์คูมิน
- กลุ่มที่ 4 รักษาด้วยการทาไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่บรรจุคอร์คูมิน

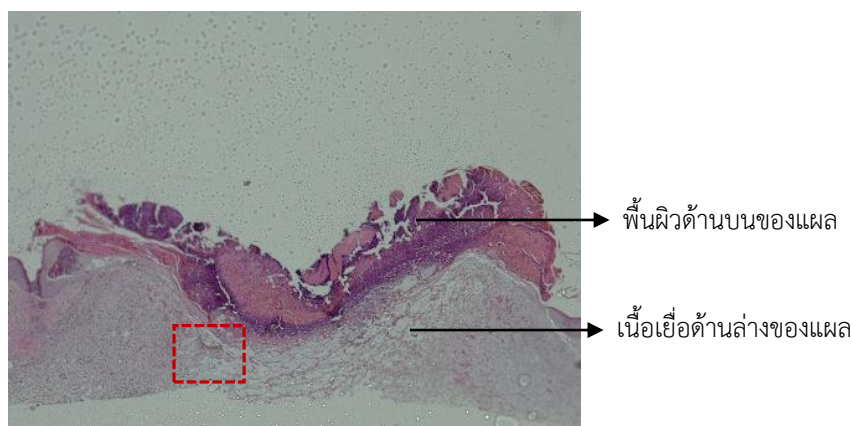
**3.3.5.4 การตรวจวิเคราะห์ผลการรักษา** ประเมินผลการรักษาด้วยเทคนิคต่างๆ ดังนี้

- ประเมินพื้นที่ของแผลที่ปิด (Wound closure) หลังทำการรักษา โดยถ่ายภาพในวันที่ 3, 7 และ 14 และวิเคราะห์พื้นที่ของแผลด้วยโปรแกรม Image Pro Plus 6.1 และคำนวณหาร้อยละพื้นที่ของแผลที่เหลือหลังทำการรักษา จากสมการต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละของพื้นที่แผลที่เหลือ} = \frac{\text{พื้นที่แผลที่เหลือ}}{\text{พื้นที่แผลเริ่มต้น}} \times 100$$

- วิเคราะห์จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลที่เข้ามาบริเวณเนื้อเยื่อแผล (Infiltration of neutrophil) โดยทำการเก็บชิ้นเนื้อบริเวณแผลและเนื้อเยื่อข้างเคียงในวันที่ 3 และ 7 มาแช่ใน

สารละลายฟอร์มาดีไฮด์ ความเข้มข้น 10% โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตัดและตรึงบนพาราฟิน ย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยเทคนิค Hematoxylin and Eosin (H&E) และวิเคราะห์จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล ที่เข้ามาบริเวณเนื้อเยื่อแผล (บริเวณที่อยู่ในกรอบสี่เหลี่ยมในรูปที่ 3.4) ด้วยกล้องจุลทรรศน์และโปรแกรม Image Pro Plus 6.1 โดยวิเคราะห์จากภาพที่กำลังขยาย 40X



**รูปที่ 3.4** ภาพถ่ายชิ้นเนื้อบริเวณบาดแผลที่ผ่านการย้อมด้วยเทคนิค H&E ที่กำลังขยาย 4X (สี่เหลี่ยมสีแดงแสดงบริเวณที่ใช้ในการวิเคราะห์จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลเฉลี่ย)

- วิเคราะห์การสร้างเซลล์เยื่อบุผิว (Re-epithelization) ซึ่งบ่งบอกถึงการสมานของแผล จากภาพถ่ายเนื้อเยื่อตัวอย่างที่เก็บในวันที่ 7 และ 14 และย้อมด้วยเทคนิค H&E ข้างต้น วิเคราะห์หาระยะเซลล์เยื่อบุผิวที่เกิดขึ้น และระยะของแผลด้วยโปรแกรม Image Pro Plus 6.1 จากภาพที่กำลังขยาย 4X เพื่อคำนวณหาร้อยละการสร้างเซลล์เยื่อบุผิวหลังทำการรักษา จากสมการต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละการสร้างเซลล์เยื่อบุผิว} = \frac{\text{ระยะของเซลล์เยื่อบุผิวที่เกิดขึ้น}}{\text{ระยะของแผล}} \times 100$$

### 3.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นวิเคราะห์ความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยวิธี ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p-value < 0.05) ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 22

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ โดยได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ได้แก่ sodium octyl sulfate (SOS), sodium dodecyl sulfate (SDS) และ sodium tetradecyl sulfate (STS) ต่อพฤติกรรมการเกิดเจล โครงสร้างทางเคมี และสมบัติทางกายภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยเพื่อให้เกิดความเข้าใจในกลไกการเกิดเจลดังกล่าว สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิดที่เลือกมาศึกษาในงานนี้มีสูตรโครงสร้างเคมีคล้ายกัน แต่มีความยาวของสายอัลคิลและน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.1 SOS มีจำนวนหมู่อัลคิลและน้ำหนักโมเลกุลน้อยที่สุด คือเท่ากับ 7 หมู่ และ 232.27 g/mol ตามด้วย SDS ที่มีจำนวนหมู่อัลคิล 11 หมู่ และมีน้ำหนักโมเลกุล 288.38 g/mol และ STS ที่มีจำนวนหมู่อัลคิลและน้ำหนักโมเลกุลมากที่สุด คือเท่ากับ 13 หมู่ และ 316.43 g/mol ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.1** โครงสร้างเคมีและมวลโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ sodium octyl sulfate (SOS) sodium dodecyl sulfate (SDS) และ sodium tetradecyl sulfate (STS) (<https://digital.lib.washington.edu/researchworks/handle/1773/24169>)

	SOS	SDS	STS
โครงสร้างเคมี	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{O}-\text{S}(\text{O})_2-\text{ONa}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{O}-\text{S}(\text{O})_2-\text{ONa}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{O}-\text{S}(\text{O})_2-\text{ONa}$
สูตรเคมี	$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NaSO}_4$	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaSO}_4$	$\text{C}_{14}\text{H}_{29}\text{NaSO}_4$
จำนวนของ $\text{CH}_2$	7	11	13
มวลโมเลกุล (g/mol)	232.27	288.38	316.43

ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ จะถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นระบบนำส่งและควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินเพื่อใช้เป็นเจลทากระตุ้นการหายของแผล จึงได้ทำการศึกษาสมบัติทางชีวภาพของไฮโดรเจล ได้แก่ อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์ในระดับ

ห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5 ประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อย เคอร์คูมินจากไฮโดรเจลและประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง

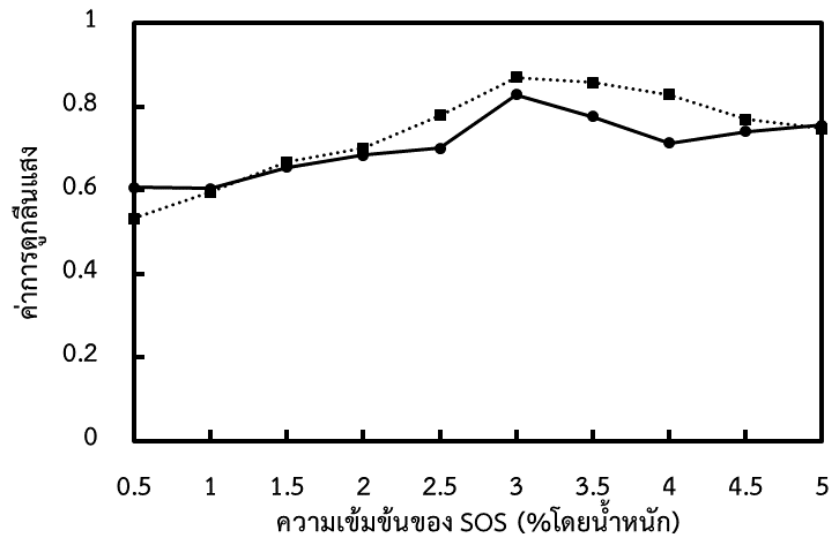
#### 4.1 สมบัติของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

##### 4.1.1 ความเข้มข้นวิกฤต (critical micelle concentration: CMC) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

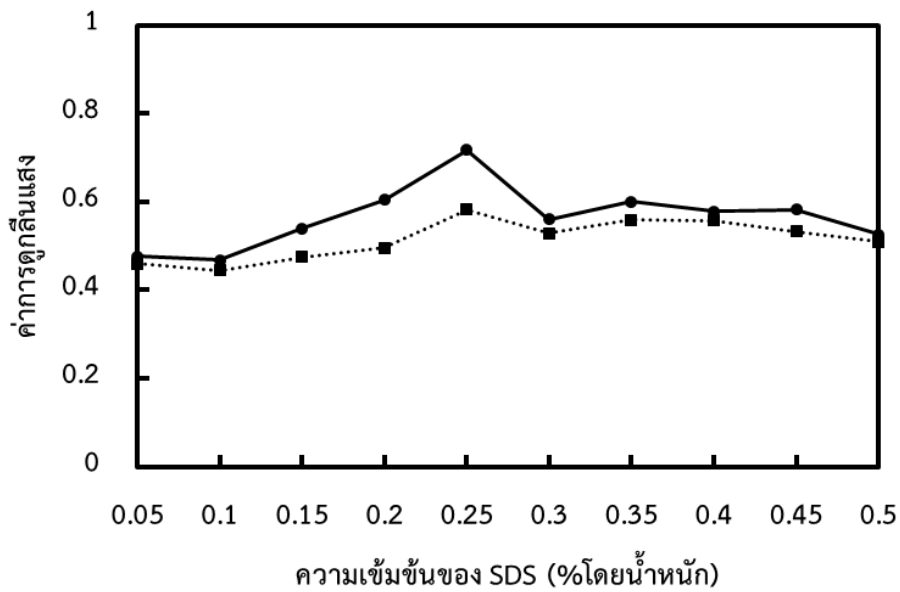
ความเข้มข้นวิกฤต (critical micelle concentration: CMC) เป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ทำให้สารลดแรงตึงผิวจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์เมื่อละลายอยู่ในน้ำ จัดเป็นคุณสมบัติที่จำเพาะของสารลดแรงตึงผิวแต่ละประเภท การเพิ่มหรือลดปริมาณของสารลดแรงตึงผิว จะส่งผลต่อสมบัติแรงตึงผิวของสาร สามารถเร่งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาของสารลดแรงตึงผิวกับสารอื่นๆได้ โดยขึ้นกับอุณหภูมิและชนิดของสารลดแรงตึงผิว [4] การวิเคราะห์หาความเข้มข้นวิกฤตของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ละลายในตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ น้ำปราศจากไอออน (pH 6) และสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ทำโดยการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 200 นาโนเมตร อุณหภูมิ 37°C เพื่อหาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ซึ่งแสดงถึงค่าความเข้มข้นวิกฤต (CMC) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดนั้นๆ [59] ดังรูปที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นวิกฤตของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิด แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า STS ซึ่งมีสายโซ่อัลคิลยาวที่สุด จะมีความเข้มข้นวิกฤตน้อยที่สุด เท่ากับ 0.065% โดยน้ำหนัก ถัดมาคือ SDS และ SOS ที่มีสายโซ่อัลคิลสั้นลง มีความเข้มข้นวิกฤตเท่ากับ 0.25% และ 3% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน ไม่มีผลกระทบต่อค่าความเข้มข้นวิกฤตของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิด กล่าวคือ ความเข้มข้นวิกฤตของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ละลายในน้ำปราศจากไอออน (pH 6) และละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) มีค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎีที่ว่า ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความเข้มข้นวิกฤตของสารลดแรงตึงผิวประเภทมีประจุ คือความยาวของสายโซ่อัลคิลหรือส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic domain) หากความยาวสายโซ่อัลคิลเพิ่มขึ้น จะส่งผลให้ความเข้มข้นวิกฤตลดลง ในทางกลับกัน ความเข้มข้นวิกฤตของสารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ ขึ้นอยู่กับปริมาณของส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic domain) ถ้าส่วนที่ชอบน้ำลดลง ความเข้มข้นวิกฤตก็จะลดลงด้วย [59] และถ้าหากเปรียบเทียบความเข้มข้นวิกฤตของสารลดแรงตึงผิวประเภทมีประจุและไม่มีประจุ จะพบว่า สารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุจะมีค่าความเข้มข้นวิกฤตน้อยกว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทมีประจุ เนื่องจากหมู่ฟีนอล (phenyl group) ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic domain) ของ

สารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ จะเพิ่มคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ให้กับโมเลกุลได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับสายโซ่อัลคิลของสารลดแรงตึงผิวประเภทมีประจุที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากัน [59]

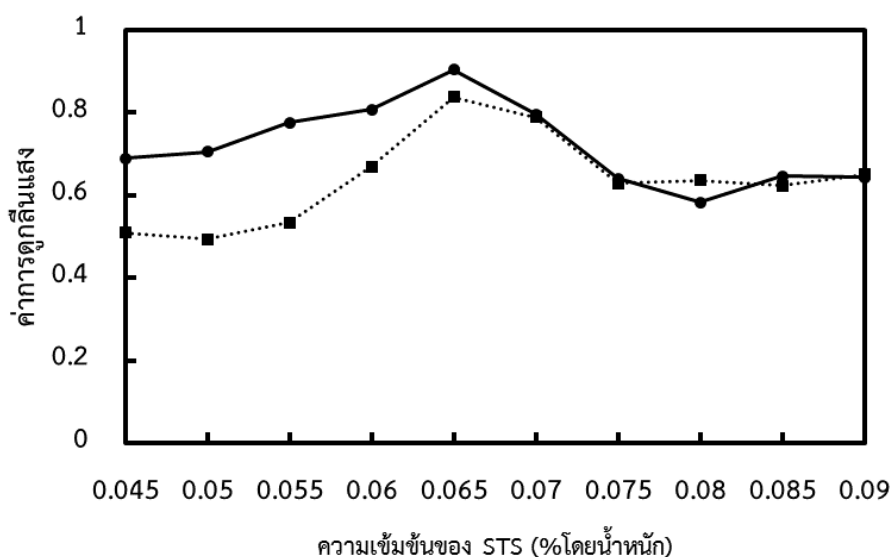
ก)



ข)



ค)



รูปที่ 4. 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ก) SOS ข) SDS ค) STS ที่ละลายในน้ำปราศจากไอออน (···■··· DI, pH 6) และละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (—●— HEPES, pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 250 nm อุณหภูมิ 37°C

ตารางที่ 4. 2 ความเข้มข้นวิกฤต, ค่าศักย์เซตต้าและขนาดของไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆที่ละลายในน้ำปราศจากไอออน (DI, pH 6) และละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4)

	SOS	SDS	STS
ความเข้มข้นวิกฤต (% โดยน้ำหนัก) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน, pH 6	3	0.25	0.065
ความเข้มข้นวิกฤต (% โดยน้ำหนัก) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES, pH 7.4	3	0.25	0.065
ศักย์เซตต้า (mv), pH 7.4	-23.43 ± 2.89	-52.36 ± 0.72	-68.00 ± 7.14
ขนาดของไมเซลล์ (nm), pH 7.4	2.07 ± 0.16	1.14 ± 0.02	1.09 ± 0.01

#### 4.1.2 ค่าศักย์เซต้า (zeta potential) และขนาดไมเซลล์ (micelle size) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

ศักย์เซต้า (Zeta Potential:  $\zeta$ ) คือ ความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าบริเวณหนึ่งเทียบกับอีกบริเวณบนพื้นผิวของอนุภาค ซึ่งหากศักย์เซต้ามีค่าเป็นบวก ก็จะแสดงว่าพื้นผิวอนุภาคมีประจุรวมเป็นบวก และศักย์เซต้ามีค่าเป็นลบ ก็จะแสดงว่าพื้นผิวอนุภาคมีประจุรวมเป็นลบ ปัจจัยที่มีผลต่อศักย์เซต้า ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-เบส (pH), ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) เป็นต้น [64] จากผลการวิเคราะห์ค่าศักย์เซต้าของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิดดังแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS แสดงค่าศักย์เซต้าเป็นลบสูงที่สุด เท่ากับ  $-68$  mV ในขณะที่ SDS และ SOS มีค่าศักย์เซต้าเป็นลบน้อยกว่า คือเท่ากับ  $-52.36$  และ  $-23.43$  mV ตามลำดับ SOS มีค่าศักย์เซต่าน้อยกว่า SDS และ STS อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจาก SOS มีหมู่อัลคิลเพียง 7 หมู่ ในขณะที่ SDS และ STS มีหมู่อัลคิลจำนวน 11 และ 13 หมู่ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ค่าศักย์เซต้าของ SDS และ STS ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากหมู่อัลคิลของ SDS กับ STS มีจำนวนใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาโครงสร้างทางเคมีของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิด พบว่าค่าศักย์เซต้ามีแนวโน้มที่จะเป็นลบมากขึ้น เมื่อความยาวของสายโซ่อัลคิลของโมเลกุลเพิ่มขึ้น [65] เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวที่มีสายโซ่อัลคิลยาวจะมีอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลสูงเวลาจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์ ส่งผลให้ไมเซลล์จัดเรียงตัวแน่นขึ้น (more close packed) และฟอร์มไมเซลล์ขนาดเล็ก ซึ่งมีพื้นที่ผิวมากกว่าไมเซลล์ที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิวที่มีสายโซ่อัลคิลสั้นกว่า ดังนั้นประจุรวมบนพื้นผิวของไมเซลล์สารลดแรงตึงผิวที่มีสายโซ่อัลคิลยาวจึงเป็นลบมากกว่าประจุรวมบนพื้นผิวของไมเซลล์สารลดแรงตึงผิวที่มีสายโซ่อัลคิลสั้น [66] จากการวิเคราะห์ขนาดไมเซลล์ แสดงให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS มีขนาดของไมเซลล์ใหญ่ที่สุด เท่ากับ  $2.07 \pm 0.16$  nm ในขณะที่ SDS และ STS มีค่าขนาดของไมเซลล์เท่ากับ  $1.14 \pm 0.02$  และ  $1.09 \pm 0.01$  nm ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎีที่อ้างอิงข้างต้น

#### 4.2 อิทธิพลของชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบต่อพฤติกรรมและระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย

##### 4.2.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS และความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยต่อระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย

การทดลองนี้เป็นการศึกษาช่วงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบและสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย โดยเลือกใช้ STS เป็นตัวแทนของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบอีก 2 ชนิด โดยระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยจะวิเคราะห์จากการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่

ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ตารางที่ 4.3 แสดงระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย เมื่อผสมสารละลายไหม (SF) ความเข้มข้นของ 0.5, 1, 1.5, 2% โดยน้ำหนัก กับสารละลาย STS ความเข้มข้น 0.01, 0.03, 0.04, 0.06% โดยน้ำหนัก และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C โดยติดตามผลภายในระยะเวลา 120 นาที พบว่า ระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอินไหมไทย และ STS สารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนัก เมื่อผสมกับสารละลาย STS ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.03, 0.04, 0.06% โดยน้ำหนัก ไม่เกิดเจลภายในระยะเวลา 120 นาทีที่ศึกษา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยเป็น 1, 1.5, 2% โดยน้ำหนัก และผสมกับสารละลาย STS ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.04 และ 0.06% โดยน้ำหนัก สามารถเกิดเจลได้ภายในเวลา 25-90 นาที นอกจากนี้ ยังสังเกตเห็นความแตกต่างของสมบัติของเนื้อเจลที่ได้จากสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยพบว่าเจลไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก จะมีลักษณะไม่คงรูป เนื่องจากมีความเข้มข้นของไฟโบรอินไหมไทยน้อยเกินไป จึงไม่เหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาต่อ ในงานนี้ จึงเลือกไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1.5 และ 2% โดยน้ำหนัก ไปผสมกับสารละลาย STS ที่ความเข้มข้นในช่วงที่กว้างขึ้น ได้แก่ 0.01, 0.03, 0.04, 0.06, 0.07, 0.09, 0.10, 0.12% โดยน้ำหนัก เพื่อศึกษาระยะเวลาและพฤติกรรมการกระตุ้นการเกิดเจลอย่างละเอียดต่อไป ระยะเวลาเกิดเจลข้างต้นแสดงในตารางที่ 4.4 สารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1.5% โดยน้ำหนักเมื่อผสมกับสารละลาย STS ความเข้มข้น 0.03-0.12% โดยน้ำหนัก สามารถเกิดเจลได้ในเวลา 20-95 นาที และสารละลาย STS ที่ความเข้มข้น 0.09-0.10% โดยน้ำหนัก สามารถกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยได้เร็วที่สุด ภายใน 20 นาที เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายไฟโบรอินไหมไทยเป็น 2% โดยน้ำหนัก และผสมกับสารละลาย STS ความเข้มข้น 0.04-0.12% โดยน้ำหนัก พบว่าจะเกิดเจลได้ภายในเวลา 25-40 นาที และเกิดเจลเร็วที่สุดภายใน 25 นาที เมื่อผสมกับสารละลาย STS ที่ความเข้มข้น 0.07-0.09% โดยน้ำหนัก จากผลการศึกษาของการทดลองนี้ พบช่วงความเข้มข้นของสารละลาย STS ในการกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยใกล้เคียงกับช่วงความเข้มข้นของ SDS ที่กระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหม (1-33 mM) ที่รายงานในการศึกษาวิจัยของ Wu, X. และคณะ ในปี 2012

ดังนั้นงานวิจัยในส่วนต่อไปนี้จะสนใจที่จะศึกษาผลกระทบของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ได้แก่ SOS SDS และ STS ที่มีสูตรโครงสร้างเคมีคล้ายกัน แต่มีความยาวของสายอัลคิลและน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ต่อระยะเวลาและกลไกการเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินไหมไทย โดยเลือกศึกษาที่ความเข้มข้นสารละลายไฟโบรอินไหมไทย 2% และความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิดในช่วง 0.09-0.45% โดยน้ำหนัก และทำการศึกษา



โครงสร้างทางเคมี และสมบัติทางกายภาพ ของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยเพื่อสนับสนุนความเข้าใจ  
ในกลไกการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยให้มากยิ่งขึ้น



ตารางที่ 4. 3 ระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย เมื่อผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5, 2% โดยน้ำหนัก กับสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS ความเข้มข้น 0.01-0.06% โดยน้ำหนัก โดยศึกษาภายในระยะเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิ 37 °C pH 7.4

ความเข้มข้น SF (%โดยน้ำหนัก)	ความเข้มข้น STS (%โดยน้ำหนัก)	ระยะเวลาการเกิดเจล (นาที)
0.5%	-	N/A
	0.01%	N/A
	0.03%	N/A
	0.04%	N/A
	0.06%	N/A
1%	-	N/A
	0.01%	N/A
	0.03%	55
	0.04%	35
	0.06%	30
1.5%	-	N/A
	0.01%	N/A
	0.03%	90
	0.04%	60
	0.06%	25
2%	-	N/A
	0.01%	N/A
	0.03%	N/A
	0.04%	75
	0.06%	30

\*N/A = เกิดเจลไม่สมบูรณ์ในระยะเวลา 120 นาที

ตารางที่ 4. 4 ระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย เมื่อผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 1.5 และ 2% โดยน้ำหนัก กับสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS ความเข้มข้น 0.01-0.12% โดยน้ำหนัก โดยศึกษาภายในระยะเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิ 37 °C pH 7.4

ความเข้มข้น SF (%โดยน้ำหนัก)	ความเข้มข้น STS (%โดยน้ำหนัก)	ระยะเวลาการเกิดเจล (นาที)
1.5%	-	N/A
	0.01%	N/A
	0.03%	95
	0.04%	50
	0.06%	25
	0.07%	25
	0.09%	20
	0.10%	20
	0.12%	30
2%	-	N/A
	0.01%	N/A
	0.03%	N/A
	0.04%	40
	0.06%	30
	0.07%	25
	0.09%	25
	0.10%	30
	0.12%	40

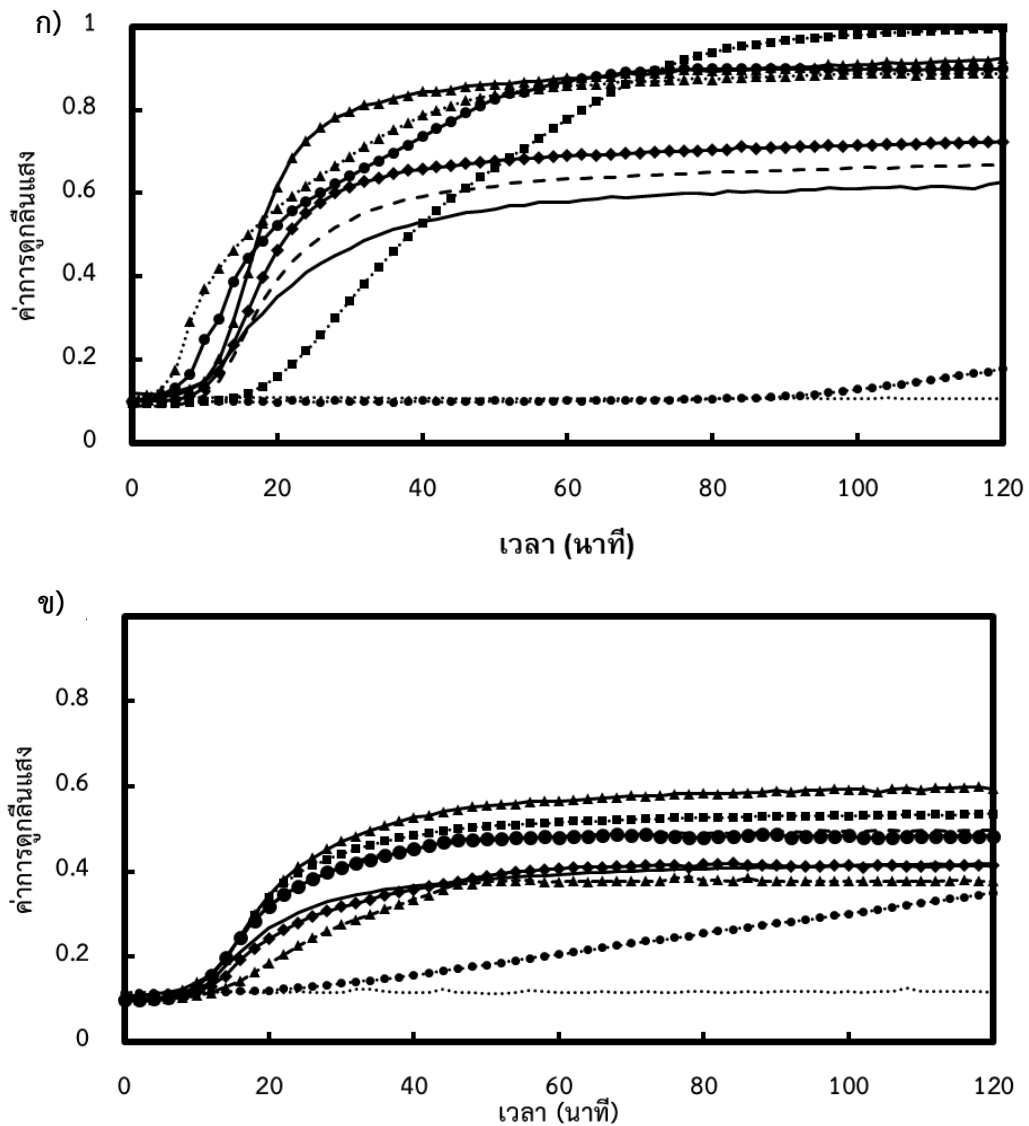
\*N/A = เกิดเจลไม่สมบูรณ์ในระยะเวลา 120 นาที

#### 4.2.2 อิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อพฤติกรรมและระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย ณ อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4

ในการทดลองนี้ ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อพฤติกรรมและระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยที่อุณหภูมิ 37°C, pH 7.4 โดยวิเคราะห์ระยะเวลาการเกิดเจลจากการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ดังรูปที่ 4.2 พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทุกสูตรที่เติม SDS และ STS ค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ส่งผลให้กราฟที่ได้มีลักษณะชันขึ้น จนกระทั่งถึง ณ เวลาหนึ่งๆ ค่าการดูดกลืนแสงจะค่อยๆคงที่ การเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงนี้ แสดงให้เห็นถึงค่าความขุ่นที่เพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายไฟโบรอินไหมเปลี่ยนแปลงไปเป็นเจล ระยะเวลาการเกิดเจลสามารถวิเคราะห์ได้จากการหาค่า half-maximum value ของการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง จากผลการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิดสามารถกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยได้ตั้งแต่ 14 นาทีถึง 144 ชั่วโมง ดังตารางที่ 4.5 โดย SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.09-0.45% โดยน้ำหนักสามารถกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยได้ภายในช่วงเวลา 14-42 นาที โดยระยะเวลาการเกิดเจลขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ เมื่อพิจารณาชนิดของสารลดแรงตึงผิว โครงสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันที่ความยาวของสายโซ่อัลคิล ซึ่งเป็นส่วนไม่ชอบน้ำของโมเลกุล (hydrophobic domain) น่าจะเป็นหนึ่งในปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย โดยพบว่า SOS ซึ่งมีความยาวของสายโซ่อัลคิลสั้นที่สุด ใช้เวลาในการกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยนานที่สุด ที่ความเข้มข้นเท่ากัน เมื่อเทียบกับ SDS และ STS ซึ่งมีความยาวของสายโซ่อัลคิลยาวกว่า ปรากฏการณ์นี้สามารถอธิบายเพิ่มเติมได้ว่าความยาวของสายโซ่อัลคิลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบบมีผลโดยตรงต่อการเกิดเจล เพราะเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยชักนำให้เกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหม ด้วยกระบวนการดึงน้ำออก (dehydration) [4] อีกทั้งสายโซ่อัลคิลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบบยังสามารถที่จะเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) กับโมเลกุลของไฟโบรอินไหมได้อีกด้วย [5]

เมื่อพิจารณาผลกระทบของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ พบว่า SDS ที่ความเข้มข้น 0.15% โดยน้ำหนัก กระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยได้เร็วที่สุดในเวลา 14 นาที และ STS ที่ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก กระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยได้เร็วที่สุดในเวลา 20 นาที ในขณะที่ SDS และ STS ที่ความเข้มข้นสูงจะชะลอการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ จะไปเพิ่มปริมาณ

ประจุลบในระบบให้มีมากเกินไปจนเกิดแรงผลักทางไฟฟ้า (repulsive force) ระหว่างโมเลกุลประจุลบของไฟโบรอินใหม่ไทยกับโมเลกุลประจุลบของสารลดแรงตึงผิว ทำให้ชะลอการเกิดเจลของไฟโบรอินใหม่ได้ [5]



รูปที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินใหม่ไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ ก) SDS ข) STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ( ..... 0 ..... 0.03 ..... 0.09 ---- 0.15 —●— 0.21 —▲— 0.27 —◆— 0.33 --- 0.39 —■— 0.45) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น  $550\text{ cm}^{-1}$  อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  ในระยะเวลา 120 นาที

ตารางที่ 4. 5 ระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย เมื่อผสมสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก กับสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ความเข้มข้น 0.03-0.045% โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4

ความเข้มข้น SF (% โดยน้ำหนัก)	ความเข้มข้นสารลดแรง ตึงผิวประเภทประจุลบ (% โดยน้ำหนัก)	ระยะเวลาการเกิดเจล (นาที)		
		SOS*	SDS**	STS**
2%	0.03%	~144 ชม	N/A***	N/A***
	0.09%	~135 ชม	42	20
	0.15%	~128 ชม	14	30
	0.21%	~127 ชม	18	28
	0.27%	~113 ชม	18	24
	0.33%	~119 ชม	20	30
	0.39%	~119 ชม	20	30
	0.45%	~121 ชม	24	30

\*SOS ระยะเวลาการเกิดเจล วิเคราะห์ด้วยการสังเกตด้วยตา

\*\*SDS, STS ระยะเวลาการเกิดเจล วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer

















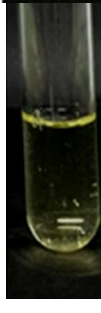







\*\*\*N/A = เกิดเจลไม่สมบูรณ์ในระยะเวลา 120 นาที เมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer

#### 4.3 สมบัติต่างๆของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยโดยการกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

##### 4.3.1 ลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างพื้นฐานของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

ลักษณะทางกายภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, 0.21, 0.27, 0.33, 0.39 และ 0.45% โดยน้ำหนัก ณ อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4 แสดงดังรูปที่ 4.3 พบว่าไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ได้จะมีลักษณะคล้ายวุ้น สีขุ่น มีน้ำเป็นองค์ประกอบจำนวนมาก

เมื่อทดสอบด้วยการพลิกกลับด้านจะไม่ไหล (Vial test) ใน 30 วินาที [60] และยังสามารถได้วาระดับความขุ่นของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยแต่ละสูตร มีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่เติม

ชนิดของ	ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ (% โดยน้ำหนัก)							
ไฮโดรเจล	0.03	0.09	0.15	0.21	0.27	0.33	0.39	0.45
SF + SOS								
SF + SDS								
SF + STS								

**รูปที่ 4.3** ลักษณะทางกายภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

โครงสร้างสัณฐานภายในไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.09, 0.45% โดยน้ำหนัก ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SOS ไม่สามารถทดสอบได้เนื่องจากไม่มีความคงตัวหลังจากผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) แสดงดังรูปที่ 4.4 พบว่า

โครงสร้างภายในไฮโดรเจลมีลักษณะคล้ายกับผนัง (wall-like structure) จำนวนมากและเชื่อมโยงกันเป็นโครงข่าย ไม่พบความแตกต่างระหว่างไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SDS และ STS แต่หากพิจารณาที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่เติม พบว่า ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติม SDS และ STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก มีผนังเรียบ เป็นเนื้อเดียว ในขณะที่ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นการเติม SDS และ STS ความเข้มข้น 0.45% โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มากที่สุดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีผนังไม่เรียบ เกิดเส้นใยหรือตะกอนบนพื้นผิวผนังของไฮโดรเจล ซึ่งจะเห็นได้ชัดที่กำลังขยาย 500 เท่า เส้นใยหรือตะกอนนี้อาจเป็นผลจากการเกิดแรงผลักทางไฟฟ้า (repulsive force) ระหว่างโมเลกุลประจุลบของไฟโบรอินไหมไทยกับโมเลกุลประจุลบของสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นสูงๆ ทำให้โมเลกุลบางส่วนของไฟโบรอินไหมไทยเกิดการตกตะกอนแยกออกมา [3, 67] ส่วนไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SOS ไม่สามารถทดสอบได้เนื่องจากไม่มีความคงตัวหลังจากผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying)

Chunmin และคณะ ในปี 2013 ได้กล่าวถึงลักษณะโครงสร้างพื้นฐานของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวกว่า มีลักษณะโครงสร้างรูพรุนที่มีผนังขนาดใหญ่ (macropore wall) รูปร่างเป็นแผ่นที่แยกออกจากกัน (separate lamellar structures) ขนาดประมาณ 20-100 nm ซึ่งคล้ายเส้นใย extracellular matrix (ECM) ที่พบในสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้งานวิจัยของ Ji Hun และคณะ ในปี 2012 ได้อธิบายไว้ว่า ลักษณะโครงสร้างพื้นฐานของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุและประจุลบมีลักษณะคล้ายใบไม้ (leaf-like morphologies) และมีรูพรุนเชื่อมต่อกัน (interconnected pores) โดยขนาดของรูพรุนของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวจะมีขนาดใหญ่กว่ารูพรุนของไฟโบรอินไหมที่เจลตามธรรมชาติ [68]



ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ (% โดยน้ำหนัก)

กำลัง

ขยาย

(เท่า)

0.09%

0.45%

SDS

STS

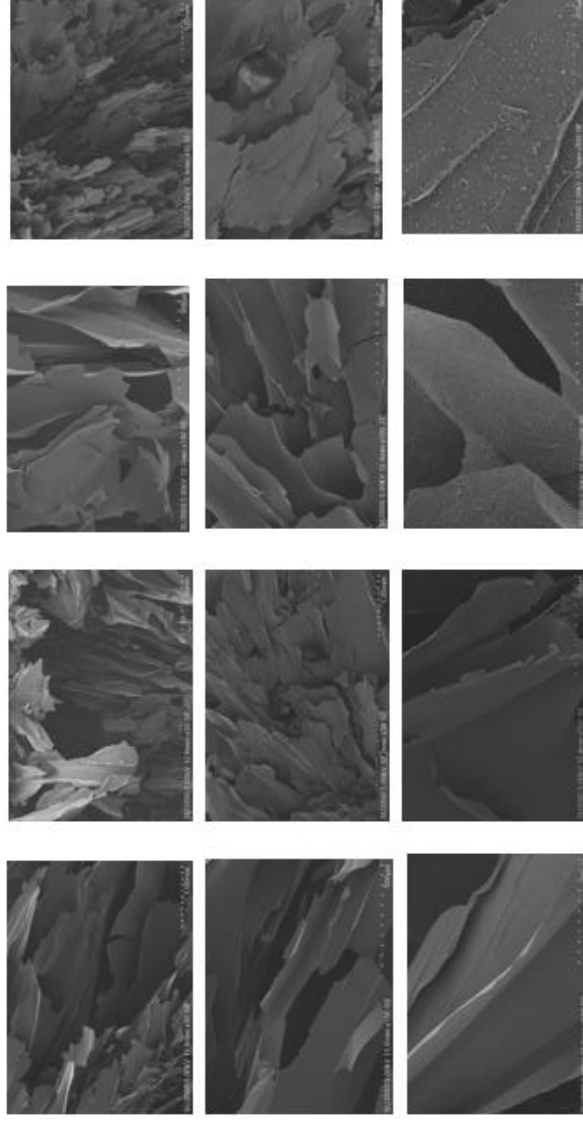
SDS

STS

30

100

500



**รูปที่ 4.4** โครงสร้างสัณฐานของไฮโดรโฟบิโพรอินใหม่ไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.09, 0.45% โดยน้ำหนัก วิเคราะห์โดยเทคนิค Scanning electron microscope (SEM) ที่กำลังขยายต่างๆ

#### 4.3.2 ค่าศักย์เซต้า (zeta potential) ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

เนื่องจากประจุลบของสารลดแรงตึงผิวอาจมีผลกระทบต่อกลไกการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาค่าศักย์เซต้า (zeta potential) ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก และสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 37°C, pH 7.4 ดังแสดงผลในตารางที่ 4.6 สารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ยังไม่ได้ผสมกับสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ มีค่าศักย์เซต้าเป็นลบ เท่ากับ  $-2.98 \pm 0.31$  mV และหลังจากผสมกับสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิดจะส่งผลให้ค่าศักย์เซต้าเป็นลบมากขึ้น และมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -4 ถึง -25 mV ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ โดยสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยและ STS จะแสดงค่าศักย์เซต้าเป็นลบมากที่สุด (-9 ถึง -25 mV) รองลงมาคือ สารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยและ SDS (-7 ถึง -24 mV) และสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยและ SOS แสดงค่าศักย์เซต้าเป็นลบน้อยที่สุด ( $\sim -4$  mV) ตามลำดับ และพบว่าในกรณีของ SDS และ STS ค่าศักย์เซต้าของสารผสมเป็นลบมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่เพิ่มขึ้น โดยสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยและ SDS หรือ STS ที่ความเข้มข้น 0.15-0.45% โดยน้ำหนัก มีค่าศักย์เซต้าของสูงกว่าสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยและ SDS หรือ STS ที่ความเข้มข้น 0.03% โดยน้ำหนัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเป็นที่น่าสนใจว่าที่ความเข้มข้นของ SDS และ STS ช่วงหนึ่งๆ ค่าศักย์เซต้าของสารผสมมีค่าเป็นลบสูงขึ้นอย่างชัดเจน ยกตัวอย่าง SDS ที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.09-0.15% โดยน้ำหนัก ค่าศักย์เซต้าของสารผสมเป็นลบมากขึ้นจาก -7.9 เป็น -22.90 mV เป็นต้น ซึ่งช่วงความเข้มข้นของ SDS และ STS ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าศักย์เซต้าของสารผสมอย่างมากนี้ ค่อนข้างใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวทั้ง 2 ชนิดที่กระตุ้นการเกิดเจลได้เร็วที่สุด (ตารางที่ 4.5) ผลค่าศักย์เซต้าของสารผสมนี้น่าจะแสดงถึงอิทธิพลของประจุลบต่อระยะเวลาในการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยได้ กล่าวคือ สารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ผสมกับ SDS ความเข้มข้น 0.15% โดยน้ำหนัก หรือ STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก อาจจะเป็นจุดที่เกิดสมดุลระหว่างอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) และอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) ภายในโมเลกุลของสารผสม ทำให้สารละลายไฟโบรอินไหมไทยเกิดเจลได้เร็วที่สุด ในขณะที่เมื่อความเข้มข้นของ SDS และ STS มีค่าสูงกว่านี้ อาจส่งผลให้มีประจุลบภายในระบบมากขึ้น และเกิดแรงผลักของอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิต ซึ่งชะลอการเกิดเจลได้ นอกจากนี้ ผลจากศักย์เซต้าที่เป็นลบมากของ STS ทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุลในสารผสม

มากกว่ากรณีของ SDS ที่มีประจุลบน้อยกว่า จึงทำให้สารละลายไฟโบรอินไหมไทยเกิดเจลช้ากว่ากรณีของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SDS ที่ความเข้มข้นเดียวกัน เช่น สารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้น 0.33% โดยน้ำหนัก สารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SDS เกิดเจลที่เวลา 20 นาที ในขณะที่สารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS เกิดเจลที่เวลา 30 นาที เป็นต้น

จากงานวิจัยของ Wu, X. และคณะ ในปี 2012 ได้ศึกษาค่าศักย์เซต้าของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนัก และสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด SDS ความเข้มข้น 2-24 mM พบว่า ศักย์เซต้าของสารละลายผสมในช่วงความเข้มข้นของ SDS ระหว่าง 2-12 mM มีค่าอยู่ในช่วง -1.53 ถึง -1.43 mV และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสาร SDS ให้มากกว่า 12 mM ค่าศักย์เซต้าของสารผสมจะเป็นลบมากขึ้นอย่างชัดเจน นับว่าจุดเปลี่ยนอย่างฉับพลัน (turning point) ของระบบ ซึ่งเป็นจุดที่ทำให้โมเลกุลภายในของไฟโบรอินเกิดการแรงผลักทางไฟฟ้าเนื่องจากประจุลบของ SDS ขึ้น จึงชะลอระยะเวลา การเกิดเจลไฟโบรอินไหมให้ช้าลง ซึ่งหากพิจารณาจากผลดังที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้มากเกินไปจนเกินกว่าจุดที่เกิดสมดุลระหว่างอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) และอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) ภายในโมเลกุลของสารผสม หรือจุดที่เกิดเจลเร็วที่สุด จะพบว่าประจุลบที่เพิ่มมากขึ้น สามารถชะลอระยะเวลาการเกิดเจลได้ หรือเรียกว่าพบจุด turning point ของระบบได้เช่นเดียวกัน [5]

**ตารางที่ 4. 6** ค่าศักย์เซต้าของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4

SF	ชนิดของสารลดแรงตึงผิว	ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ (% โดยน้ำหนัก)				
		0	0.03	0.09	0.15	0.45
	SOS		-4.71±0.39	-4.89±0.32	-4.92±0.06	-4.61±0.30
2%	SDS	-2.98±0.31	-7.56±0.76	-7.90±1.13	-22.90±7.65*	-24.93±1.10*
	STS		-9.54±0.63	-18.13±7.38	-24.40±3.24*	-25.20±1.73*

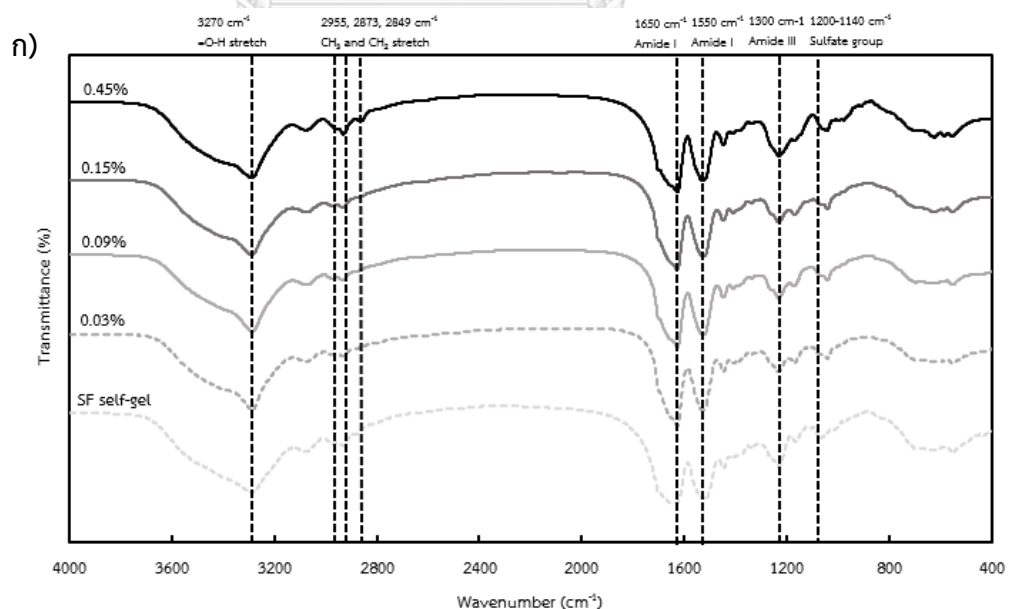
(\* = แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,  $p < 0.05$ )

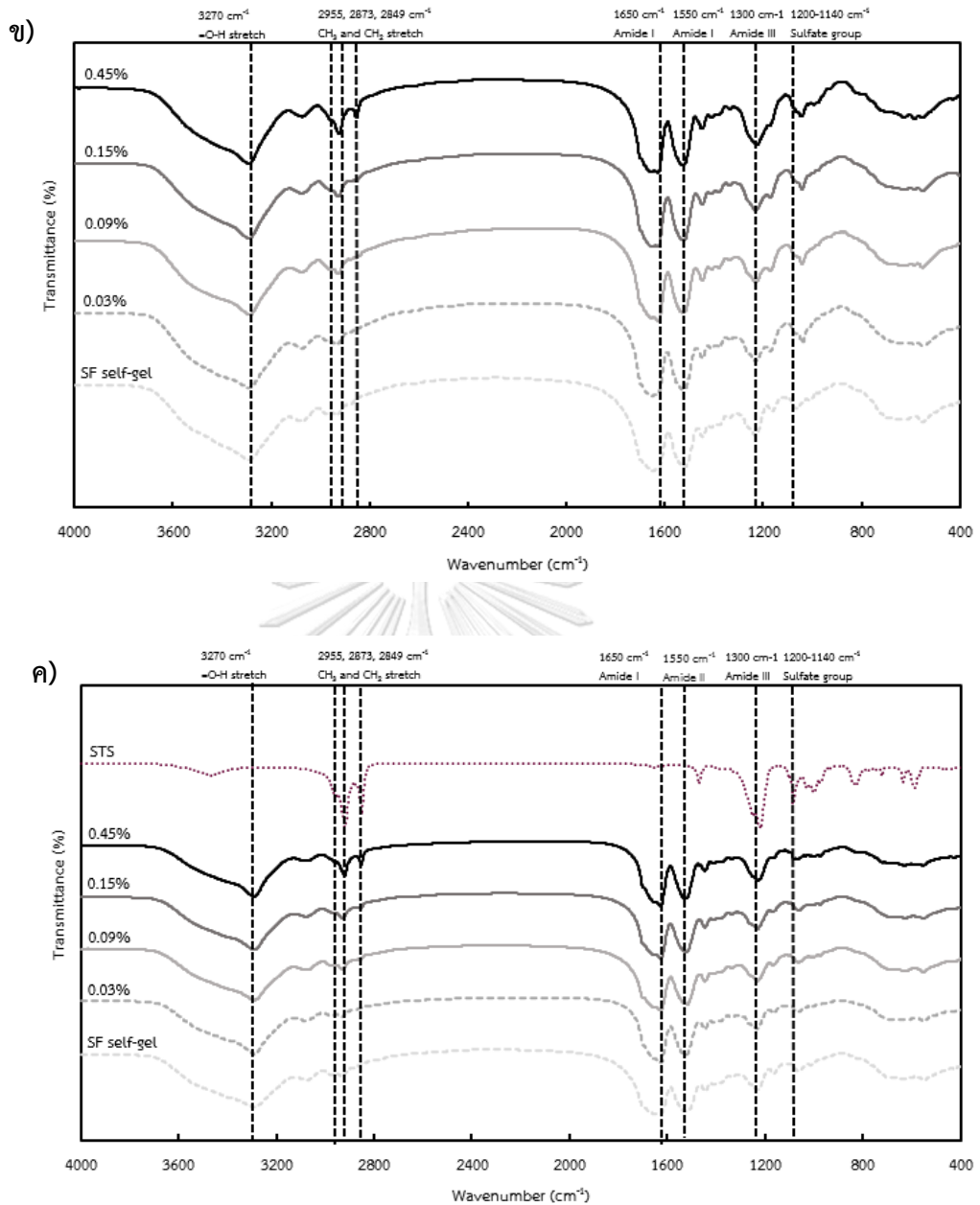
#### 4.3.3 หมู่ฟังก์ชันทางเคมีและโครงสร้างทุติยภูมิ(secondary structure)ของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

สารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกเตรียมด้วยการทำลายพันธะไฮโดรเจลระหว่างโมเลกุล จะมีโครงสร้างทุติยภูมิชนิด random coil เมื่อถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ จะเกิดเป็นเจลที่มีโครงสร้างทุติยภูมิเปลี่ยนแปลงเป็นชนิด  $\beta$ -sheet ที่เรียงตัวกันเป็นระเบียบแข็งแรงมากขึ้น โครงสร้างทางเคมีของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยนี้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้โดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (FT-IR spectroscopy) โดยเปรียบเทียบกับโครงสร้างไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่เจลตามธรรมชาติ (self-gelled SF) รูปที่ 4.5 แสดงสเปกตรัมของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 37°C, pH 7.4 พบว่าสเปกตรัมของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยทุกสูตรแสดงพีคที่จำเพาะของโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน ได้แก่ amide I, II, และ III ที่เลขคลื่น 1650, 1550 และ 1300 $\text{cm}^{-1}$  ตามลำดับ [69] และแสดงพีคจำเพาะของสารลดแรงตึงผิวประจุลบ ได้แก่ หมู่อัลคิล  $\text{CH}_3$  และ  $\text{CH}_2$  ที่เลขคลื่น 2955, 2873, 2849  $\text{cm}^{-1}$  และหมู่ซัลเฟต (sulfate group) ที่เลขคลื่น 1200-1140  $\text{cm}^{-1}$  [70] นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ จะสังเกตเห็นพีคของหมู่อัลคิลที่เด่นชัดขึ้น ในที่นี้พีค Amide I ซึ่งเป็นพีคหลักที่ใช้ในการวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน มีลักษณะกว้าง จึงไม่สามารถศึกษาโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนได้อย่างละเอียด ต้องใช้โมเดลทางคณิตศาสตร์ Fourier self-deconvolution (FSD) ใช้ในการวิเคราะห์ร่วมด้วย โดยพีคที่เกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ สามารถที่จะจำแนกชนิดของโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินไหมไทย ได้แก่ โครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet (1590-1605, 1697-1700  $\text{cm}^{-1}$ ), tyrosine (1590-1605  $\text{cm}^{-1}$ ), random coil (1638-1653  $\text{cm}^{-1}$ ), alpha helix (1654-1659  $\text{cm}^{-1}$ ) และ  $\beta$ -turn (1660-1696  $\text{cm}^{-1}$ ) [61] ตารางที่ 4.7 แสดงร้อยละของโครงสร้างทุติยภูมิของไฮโดรไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก จากการศึกษาพบว่าโครงสร้างทุติยภูมิที่พบมากที่สุดไนไฟโบรอินไหมไทยที่เจลตามธรรมชาติ คือโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet พบประมาณ 33.17% ส่วนโครงสร้างชนิดอื่นๆ ได้แก่ tyrosine, random coil, alpha helix และ  $\beta$ -turn จะพบ 3.86, 9.00, 9.31, 24.59 ตามลำดับ ในขณะที่ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบพบว่า มีร้อยละของโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet เพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 35-49% ขึ้นกับชนิด และความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารลดแรงตึงผิวประจุลบทั้ง

3 ชนิดมีแนวโน้มที่จะกระตุ้นการเกิดไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่มีโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet มากขึ้นกว่ากรณีไฟโบรอินไหมไทยที่เจลตามธรรมชาติ [3] เป็นที่น่าสังเกตว่า ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ที่ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก มีร้อยละโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet มากที่สุด คือ 49.15% ซึ่งน่าจะแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมไทยด้วยกันเอง รวมถึงการเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลไฟโบรอินไหมไทยกับสายโซ่อัลคิลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบภายในไฮโดรเจลชนิดนี้

งานวิจัยของ Ji Hun และคณะ ในปี 2012 ได้อธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมจากชนิด random coil เป็น  $\beta$ -sheet จากการปรากฏของพีคที่เลขคลื่น  $1631\text{ cm}^{-1}$  หลังจากกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุที่เวลา 15 ชั่วโมง โดยอธิบายไว้ว่า ในสารละลายไฟโบรอินไหมมีน้ำเป็นส่วนประกอบเป็นจำนวนมาก เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุลงไป จะเกิดการดึงน้ำออก (dehydration) จากโครงสร้างไฟโบรอินไหม และเพิ่มโอกาสในการเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) และเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างของโมเลกุลของไฟโบรอินไหม ส่งผลให้สารละลายไฟโบรอินไหมเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิที่เสถียรขึ้น เกิดเป็นไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมที่มีโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet [4]





รูปที่ 4.5 สเปกตรัมของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ (ก) SOS (ข) SDS และ (ค) STS ที่ความเข้มข้น --- 0 --- 0.03 — 0.09 — 0.15 — 0.45% โดยน้ำหนัก วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค FT-IR spectroscopy

เลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	โครงสร้างทุติยภูมิ	ร้อยละของโครงสร้างทุติยภูมิ (%)												
		ไฮโดรเจนไพบอริอนใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงดึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ												
		ความเข้มข้นของ SOS (%โดยน้ำหนัก)			ความเข้มข้นของ SDS (%โดยน้ำหนัก)			ความเข้มข้นของ STS (%โดยน้ำหนัก)			ความเข้มข้นของ STS (%โดยน้ำหนัก)			
	ไฟโบรอินใหม่ไทยที่เจือ	ตามธรรมชาติ	0.03	0.09	0.15	0.45	0.03	0.09	0.15	0.45	0.03	0.09	0.15	0.45
1590-1605	tyrosine	3.86	1.11	1.61	0.60	6.46	3.69	1.92	3.15	5.26	1.00	7.52	6.10	
1608-1637 1697-1700	$\beta$ -sheet	33.17	38.17	36.72	38.11	36.95	37.06	39.32	35.57	35.54	49.15	38.66	39.05	
1638-1653	random coil	9.00	11.27	10.37	9.57	21.16	20.40	10.20	12.55	13.23	10.67	9.27	9.25	
1654-1662	alpha helix	9.31	10.44	25.56	19.88	0.57	12.61	20.03	17.88	20.28	11.13	19.21	19.73	
1663-1696	beta turn	24.59	39.38	24.78	31.83	34.85	26.24	28.53	30.85	22.36	24.11	25.34	25.88	

**ตารางที่ 4.** 7 ร้อยละของโครงสร้างทุติยภูมิของไฮโดรเจนไพบอริอนใหม่ไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงดึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก วิเคราะห์โดยเทคนิค Fourier self-deconvolution (FSD) จากพีค Amide I (เลขคลื่น 1650 cm<sup>-1</sup>) ของสเปกตรัมของไฮโดรเจนไพบอริอนใหม่ไทย

จากผลการทดลองข้างต้น สามารถที่จะอธิบายถึงกลไกการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิด ได้ดังรูปที่ 4.6 ในสภาวะปกติของสารละลายไฟโบรอินไหมไทย โครงสร้างภายในสายโซ่ของไฟโบรอินไหมไทยจะประกอบด้วยส่วนไม่ชอบน้ำ (hydrophobic domain) ในสัดส่วนที่มากกว่าส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic domain) สายโซ่โมเลกุลมากมายเกี่ยวพันกันเป็นโครงข่ายที่ไม่เป็นระเบียบ โดยโครงสร้างทุติยภูมิที่พบมากที่สุด คือ โครงสร้างทุติยภูมิชนิด random coil ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบละลายในน้ำจะเกิดการจับเรียงตัวให้มีรูปร่างแบบไมเซลล์ (micelle) โดยหมู่ซัลเฟต (SO<sub>4</sub>) เป็นส่วนที่ชอบน้ำหรือส่วนหัว (หันออกสัมผัสกับน้ำโดยรอบ) และสายโซ่อัลคิลเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำหรือส่วนหางของโมเลกุล (อยู่ด้านในโครงสร้าง) ในงานวิจัยนี้ พบว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถในการกระตุ้นให้โครงสร้างทุติยภูมิของไหมเปลี่ยนแปลงจากโครงสร้างทุติยภูมิชนิด random coil เป็นโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$ -sheet โดยสารลดแรงตึงผิวทั้ง 3 ชนิดมีแตกต่างกันที่ความยาวของสายโซ่อัลคิลและประจุ

ผลจากความแตกต่างดังกล่าว อาจทำให้เกิดกลไกการกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทย 3 กรณีด้วยกัน ได้แก่

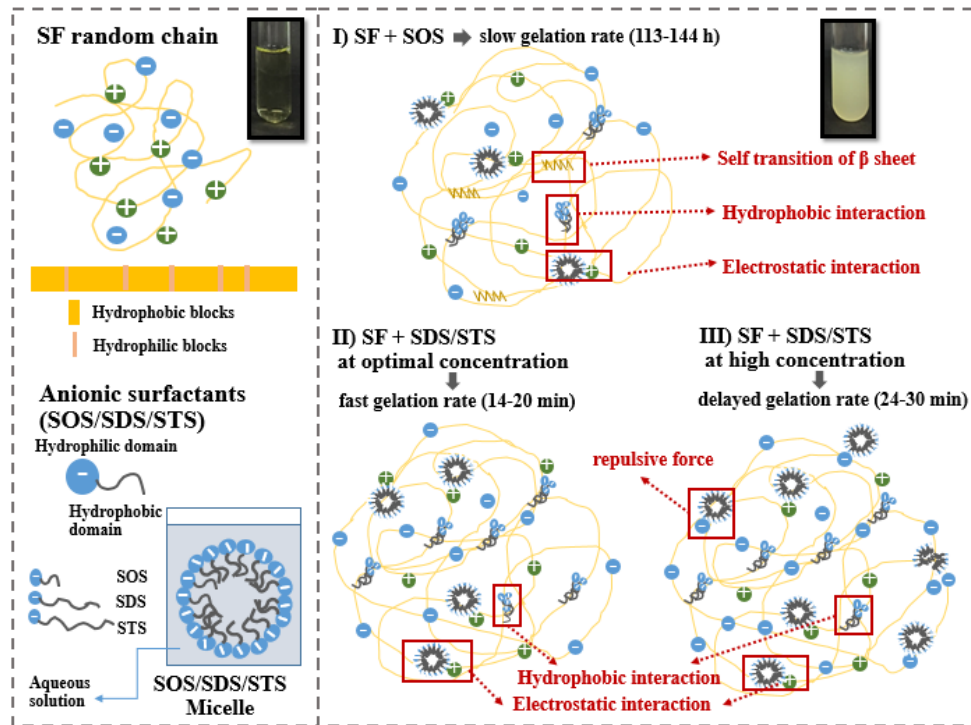
1) การกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยอย่างช้าๆ (Slow gelation rate) ระยะเวลาการเกิดเจลอยู่ในช่วงประมาณ 113-144 ชั่วโมง การเกิดเจลในกรณีนี้จะพบในกลุ่มไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SOS ซึ่งมีความยาวของสายโซ่อัลคิลสั้นที่สุด ( $CH_2 = 7$ ) มีค่าศักย์เซต้าเป็นลบน้อยที่สุด และความเข้มข้นวิกฤตมากที่สุด ทำให้ความสามารถในการชักนำให้เกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมไทยเกิดขึ้นอย่างช้าๆ และเนื่องจากความยาวของสายโซ่อัลคิลสั้น จึงมีโอกาสดังกล่าวในการเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมไทยกับสายโซ่อัลคิลของ SOS ได้น้อยกว่ากรณีของ SDS และ STS นอกจากนั้น อาจเกิดอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) ระหว่างโมเลกุลส่วนที่แสดงประจุบวกของสายโซ่ไฟโบรอินไหมไทยและโมเลกุลประจุลบของ SOS ไปพร้อมๆ กับการจัดเรียงตัวของโครงสร้างของไฟโบรอินไหมไทยเองตามธรรมชาติ (Self transition of  $\beta$ -sheet) อีกด้วย

2) การกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยอย่างรวดเร็ว (Fast gelation rate) จะพบในกลุ่มของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SDS ที่ความเข้มข้น 0.15% โดยน้ำหนัก และ STS ที่ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก กรณีนี้ระยะเวลาการเกิดเจลจะอยู่ในช่วงเวลาประมาณ 14-20 นาที เนื่องจากสายโซ่อัลคิลของ SDS และ STS ยาวกว่า SOS จึงสามารถชักนำให้เกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมไทยได้ดี ทั้งยังมีโอกาสในการเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมไทยกับสายโซ่อัลคิลของ SDS และ



STS ได้อีกด้วย นอกจากนั้นแล้วยังสามารถเกิดอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลส่วนที่แสดงประจุบวกของสายโซ่ไฟโบรอินไหมไทยและโมเลกุลประจุลบของ SDS และ STS ได้ดีมาก เพราะค่าศักย์เซตต้าของ SDS และ STS เป็นลบมาก โดยในกรณีนี้ น่าจะพบกลไกการจัดเรียงตัวของโครงสร้างของไฟโบรอินไหมไทยเองตามธรรมชาติ (Self transition of  $\beta$ -sheet) น้อยมาก เนื่องจากเกิดเจลเร็วมาก

3) การชะลอการกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทย (Delayed gelation rate) จะพบในกลุ่มของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SDS และ STS ที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.15% และ 0.09% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ โดยระยะเวลาการเกิดเจลจะอยู่ในช่วงประมาณ 24-30 นาที ในกรณีนี้สามารถเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมไทยและระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมไทยกับสายโซ่อัลคิลของ SDS และ STS ไปพร้อมๆกับการเกิดอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลส่วนที่แสดงประจุบวกของสายโซ่ไฟโบรอินไหมไทยและโมเลกุลประจุลบของ SDS และ STS ได้เช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ SDS และ STS ทำให้ประจุลบภายในระบบเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ประจุลบดังกล่าวจะทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้า (repulsive force) ระหว่างโมเลกุลส่วนที่แสดงประจุบวกของไฟโบรอินไหมไทยกับโมเลกุลประจุลบของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งจะชะลอการเกิดเจลได้ หากพิจารณาควบคู่กับลักษณะโครงสร้างพื้นฐานของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.45% โดยน้ำหนัก จะพบว่า ที่กำลังขยาย 500 เท่า ผนังของโครงสร้างจะมีลักษณะผิวไม่เรียบ เกิดเส้นใยหรือตะกอนบนพื้นผิวผนัง ซึ่งอาจเป็นผลจากการเกิดแรงผลักดังกล่าว ทำให้โมเลกุลบางส่วนของไฟโบรอินไหมไทยเกิดการตกตะกอนแยกออกมา



รูปที่ 4.6 กลไกการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ได้แก่ SOS SDS และ STS

งานวิจัยของ Wu, X. และคณะ ในปี 2012 ได้อธิบายกลไกการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมด้วยการกระตุ้นจากสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบไว้ว่า เมื่อสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบละลายในน้ำจะเกิดการจับเรียงตัวให้มีรูปร่างแบบไมเซลล์ (micelle) โดยสายโซ่อัลคิลภายในโมเลกุลเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic domain) และหมู่ซัลเฟต ( $\text{SO}_4$ ) เป็นส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic domain) ซึ่งส่วนซัลเฟต ( $\text{SO}_4$ ) ที่ชอบน้ำนี้จะช่วยดึงน้ำออกจากโมเลกุลของไฟโบรอินไหม ทำให้ไปเพิ่มสมบัติความไม่ชอบน้ำของโมเลกุลของไฟโบรอินไหมให้มากยิ่งขึ้น จึงสนับสนุนการเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมให้มากขึ้นด้วย อีกทั้ง ส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโมเลกุลไฟโบรอินไหมยังสามารถเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำกับสายโซ่อัลคิลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ กระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิจากชนิด random coil เป็น  $\beta$ -sheet ซึ่งทำให้โครงสร้างมีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบมากยิ่งขึ้น [5]

นอกจากนี้งานวิจัยของ Ji Hun และคณะ ในปี 2012 ได้อธิบายถึงผลของสารลดแรงตึงผิวประเภทต่างๆ ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ (anionic surfactant) สารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ (non-ionic surfactants) และสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวก (cationic surfactants) ต่อการกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหม พบว่ากลไกที่ทำให้สารละลายไฟโบรอินไหม

เกิดเจลเกิดจากการที่สารลดแรงตึงผิวไปทำให้เกิดการดึงน้ำ (dehydration) ออกจากสายโซ่ของไฟโบรอินไหม ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำภายในโมเลกุลมากขึ้น ไฟโบรอินไหมจึงเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิจากชนิด random coil เป็น  $\beta$ -sheet โดยพบว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบสามารถกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมได้เร็วกว่าที่สารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุถึง 10 เท่า ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวก ทำให้ไฟโบรอินไหมตกตะกอนแยกชั้นออกมาโดยไม่เกิดเป็นเจล เนื่องจากเกิดอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตที่แข็งแรงระหว่างประจุบวกของสารลดแรงตึงกับประจุลบของสายโซ่ไฟโบรอินไหม [4]

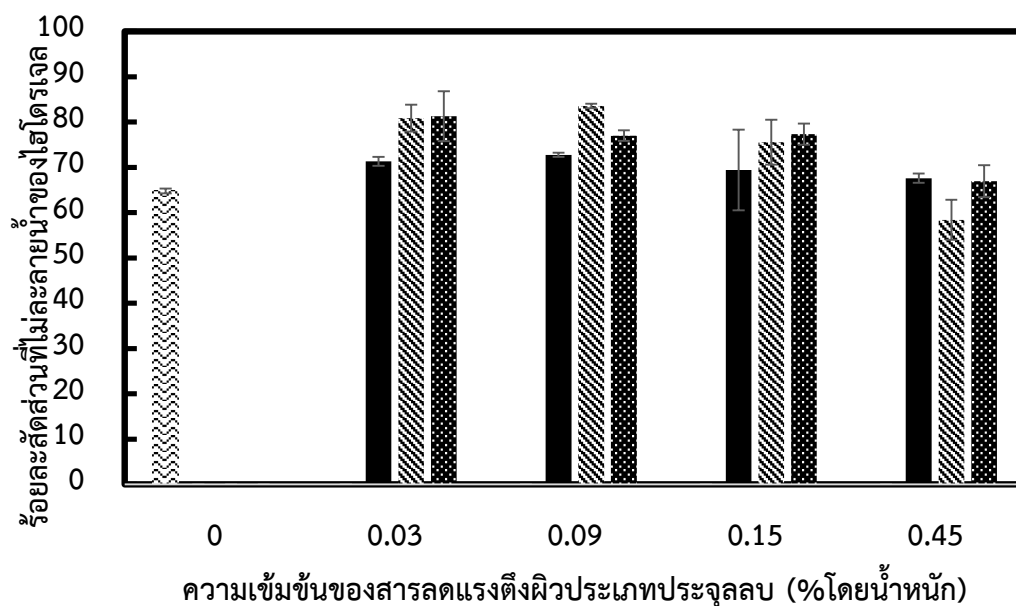
งานวิจัยของ Chunmin และคณะ ในปี 2013 ได้ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวประเภทต่างๆ ในการกระตุ้นให้สารละลายไฟโบรอินไหมเกิดเจล พบว่า สารลดแรงตึงผิวสามารถเร่งระยะเวลาการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมให้เร็วขึ้นเมื่อเทียบกับการปล่อยให้เกิดเจลตามธรรมชาติ โดยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบสามารถเร่งการเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินไหมได้เร็วที่สุด โดยที่การเกิดเจลของไฟโบรอินไหมเป็นผลจากการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบมากขึ้นของโมเลกุลภายใน (crystalline structure) [68]

งานวิจัยของ Matsumoto Chen และคณะในปี 2006 รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงสถานะของสารละลายไฟโบรอินไหมเป็นไฮโดรเจลไฟโบรอินไหม เป็นผลจากการอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ พันธะไฮโดรเจน และอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตภายในโมเลกุลของไฟโบรอินไหม ส่งผลให้โมเลกุลเริ่มเข้าสู่เสถียรภาพ เกิดโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$ -sheet มากขึ้น และโครงสร้างทุติยภูมิชนิด random coil ลดลง ทำให้มีโครงสร้างมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเป็นแบบผันกลับไม่ได้ (irreversible) ซึ่งอัตราเร็วของการเกิดเจล ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอินและสารเคมีเติมแต่งเพื่อกระตุ้นการเกิดเจล [3]

#### 4.3.4 สัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (gel fraction) ของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

การวิเคราะห์สัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำของไฮโดรเจล จะบ่งบอกถึงความสามารถในการเกิดพันธะหรือเกิดโครงสร้างที่ไม่ละลายน้ำภายในโมเลกุลของไฮโดรเจล รูปที่ 4.7 แสดงร้อยละสัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย (SF) ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.09, 0.15, และ 0.45% โดยน้ำหนัก ณ อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4 พบว่า ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่เจลตามธรรมชาติมีสัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำ  $64.79 \pm 0.55\%$  ในขณะที่ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ มีสัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำอยู่ในช่วงตั้งแต่  $58.41 \pm 4.44$  ถึง  $83.53 \pm 0.52\%$  ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ โดย

ภาพรวมการเติมสารลด-แรงตึงผิวประเภทประจุลบมีแนวโน้มเพิ่มสัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย ซึ่งค่อนข้างสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิของไฮโดรเจลในหัวข้อ 4.3.3 ที่พบว่า การเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิดมีแนวโน้มที่จะกระตุ้นการเกิดไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่มีโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่ละลายน้ำมากขึ้น



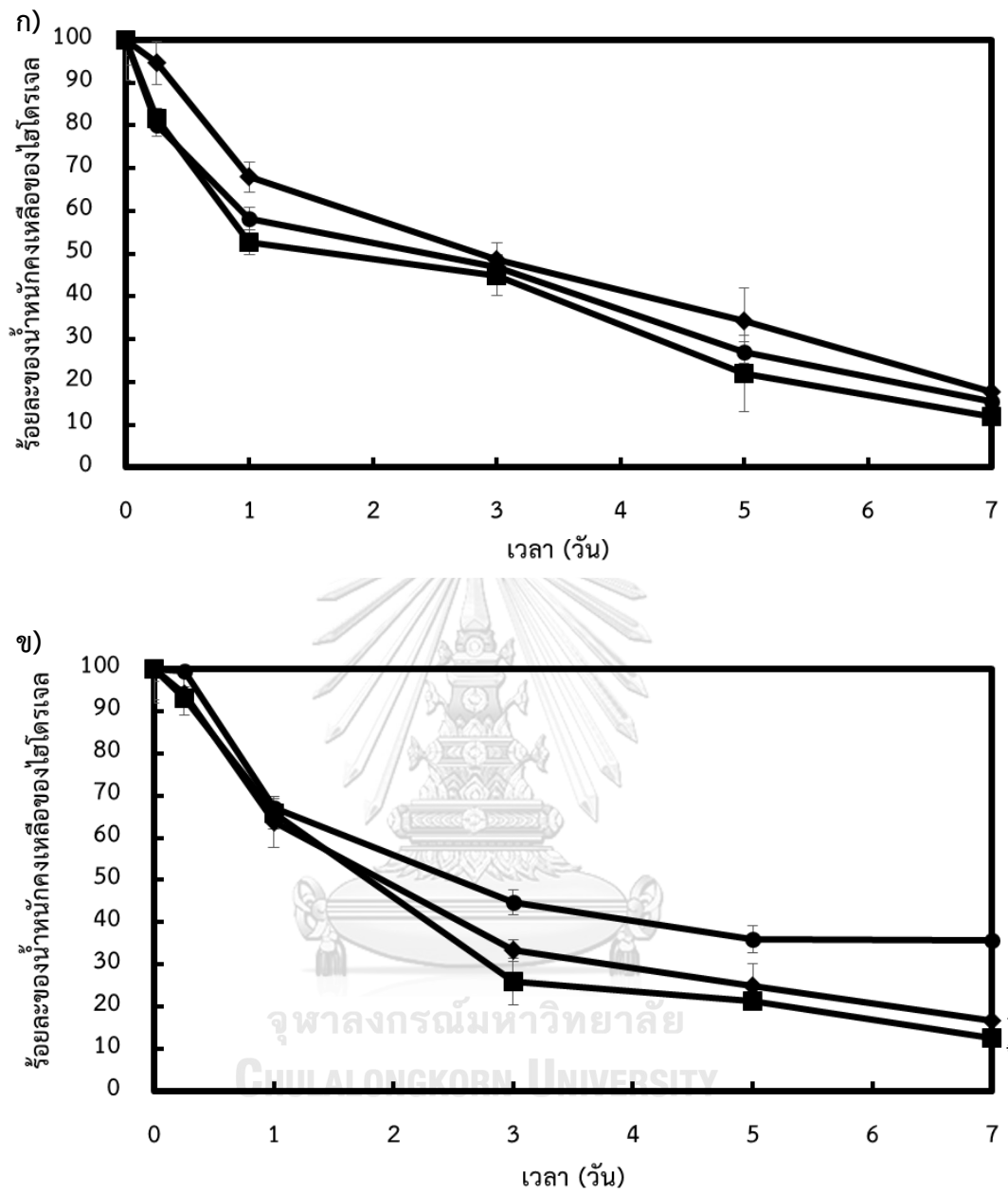
รูปที่ 4.7 ร้อยละสัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำของของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย (SF) ที่เจลาตามธรรมชาติ (☞) และไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ SOS (■) SDS (▨) STS (▩) ที่ความเข้มข้น 0, 0.03, 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก

4.3.5 อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5)

การศึกษาอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่สภาวะจำลองผิวหนังนี้ ทำให้ทราบคร่าวๆถึงระยะเวลาที่ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยจะย่อยสลายเมื่อนำไปประยุกต์ใช้เป็นเจลาทาแพล และเป็นการเปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายระหว่างไฮโดรเจลแต่ละสูตร อีกทั้งยังช่วยในการวิเคราะห์กลไกการปลดปล่อยเคอร์คูมินจากไฮโดรเจลได้อีกด้วย อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภท

ประจุลบชนิด SDS และ STS ที่ความเข้มข้น 0.09, 0.15 และ 0.45% โดยน้ำหนัก ประเมินจากร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย ภายหลังแช่ในสารละลาย normal saline pH 5.5 ที่มีเอนไซม์ protease ความเข้มข้น 3 unit/ml อุณหภูมิ 37 °C ที่ช่วงเวลา 6 ชั่วโมง 1, 3, 5 และ 7 วัน ดังแสดงในรูปที่ 4.8 ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SOS ไม่สามารถทดสอบได้เนื่องจากไม่มีความคงตัวหลังจากผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) จากผลการทดลอง ไฮโดรเจลทุกสูตรย่อยสลายได้อย่างต่อเนื่องในสภาวะดังกล่าว โดยมีร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือเพียง 10-35% หลังจากผ่านไป 7 วัน เมื่อพิจารณาไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SDS ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือของทั้ง 3 สูตร ในขณะที่ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS พบว่า ที่เวลา 7 วัน ไฮโดรเจลที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนักมีร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือ  $35.67 \pm 3.21$  ซึ่งมากกว่าไฮโดรเจลที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.15 และ 0.45% โดยน้ำหนัก ซึ่งมีร้อยละน้ำหนักแห้งคงเหลือเพียง 12-16 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

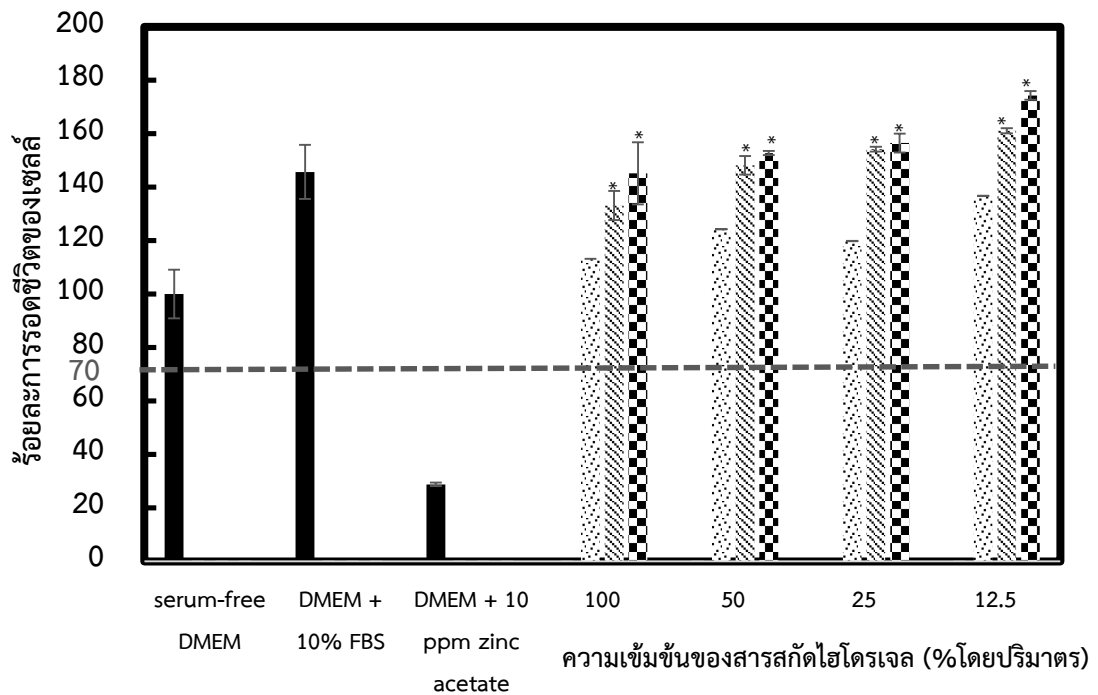
ผลอัตราการย่อยสลายของไฮโดรเจลนี้สอดคล้องกับผล FT-IR spectra deconvolution ในหัวข้อ 4.3.3 ที่พบว่า โครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$ -sheet ของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก มีปริมาณมากที่สุด โครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet จัดเป็นโครงสร้างทุติยภูมิที่แข็งแรง ถูกย่อยสลายทางชีวภาพด้วยเอนไซม์โปรตีเอส 14 ได้ยากกว่าโครงสร้างชนิดอื่นเช่น random coil [71] จึงทำให้ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ย่อยสลายในอัตราที่ช้าที่สุดเมื่อเทียบกับไฮโดรเจลสูตรอื่นที่มีปริมาณโครงสร้างชนิด  $\beta$ -sheet ในโครงสร้างน้อยกว่า และสอดคล้องกับรายงานของ Cao and Wang ในปี 2009 ที่กล่าวไว้ว่าอัตราการย่อยสลายของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมขึ้นอยู่กับปริมาณของโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$ -sheet ของไฟโบรอินไหม [71]



รูปที่ 4.8 ร้อยละน้ำหนักรักษาที่เหลือของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ ก) SDS ข) STS ความเข้มข้น  $\bullet$  0.09  $\blacksquare$  0.15  $\blacksquare$  0.45% โดยน้ำหนักรักษาในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5 อุณหภูมิ 37 °C) (\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,  $p < 0.05$  เมื่อพิจารณาเทียบกับไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนักรักษา)

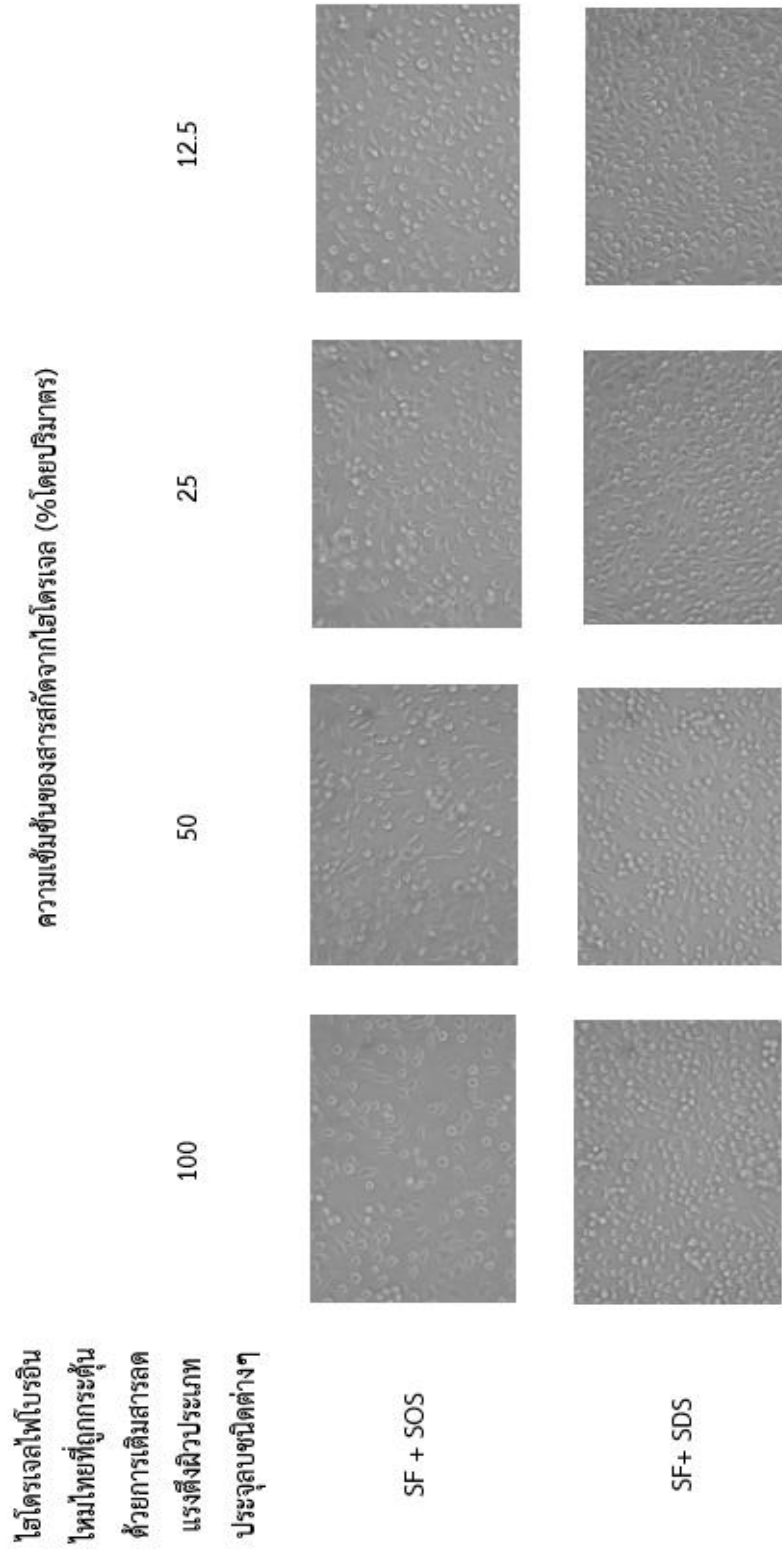
#### 4.3.6 ความเป็นพิษของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆกับเซลล์ผิวหนังหนู (L929 mouse fibroblasts) ในระดับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5

ความเป็นพิษของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆต่อเซลล์ผิวหนังหนู (L929 mouse fibroblasts) สามารถประเมินได้จากร้อยละของเซลล์ที่รอดชีวิตภายหลังจากการเลี้ยงในตัวอย่างสารสกัดของไฮโดรเจลแต่ละสูตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงบวก ได้แก่ อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยสารละลาย zinc acetate ความเข้มข้น 20 ppm กลุ่มควบคุมเชิงลบ ได้แก่ อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยซีรัมความเข้มข้น 10% และกลุ่มควบคุม blank ได้แก่ อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีซีรัมเป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในรูปที่ 4.9 พบว่า เซลล์ L929 ที่เลี้ยงในตัวอย่างสารสกัดของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยทั้ง 3 ชนิดที่ทุกความเข้มข้น มีร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์อยู่ในช่วง 113-174 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิด ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5 (มีร้อยละการรอดชีวิตสูงกว่า 70) เมื่อพิจารณารูปร่างเซลล์ L929 ที่เลี้ยงในตัวอย่างสารสกัดของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยแต่ละสูตร ดังแสดงในรูปที่ 4.10 พบว่ารูปร่างของเซลล์มีความใกล้เคียงกับเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีและมีซีรัมเป็นองค์ประกอบ ซึ่งยืนยันถึงความไม่เป็นพิษของสารสกัดจากไฮโดรเจลที่พัฒนาในงานวิจัยนี้ต่อเซลล์ L929

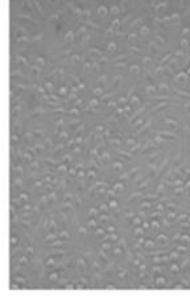
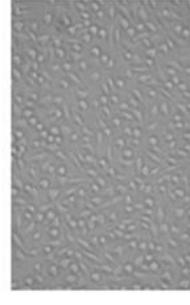
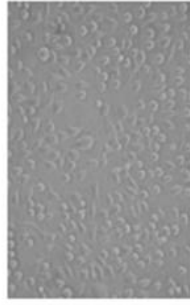
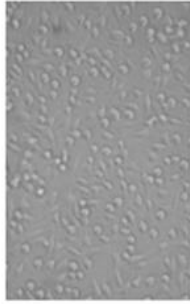


รูปที่ 4.9 ร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ L929 ภายหลังจากเลี้ยงในตัวอย่างสารสกัดของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด ( ··· ) SOS ( ▨ ) SDS และ ( ▩ ) STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก เมื่อเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ (100% 50% 25% และ 12.5%) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 37 °C กลุ่มควบคุมเชิงบวก ได้แก่ อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยสารละลาย zinc acetate ความเข้มข้น 20 ppm, กลุ่มควบคุมเชิงลบ ได้แก่ อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยซีรัม ความเข้มข้น 10% และกลุ่มควบคุม blank ได้แก่ อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีซีรัมเป็นองค์ประกอบ ( \* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,  $p < 0.05$  เมื่อพิจารณาเทียบกับสารสกัดไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SOS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก)

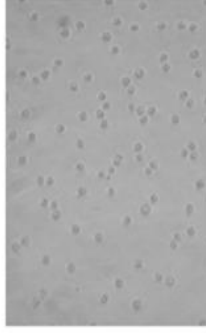




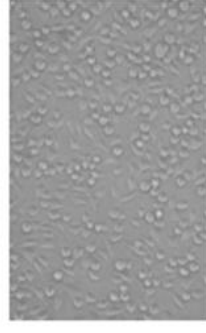
SF + STS

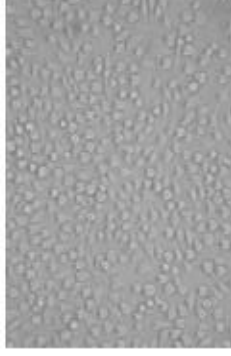


กลุ่มควบคุมเชิงบวก  
(อาหารเลี้ยงเซลล์ที่  
ประกอบด้วยสารละลาย zinc  
acetate ความเข้มข้น 20  
ppm)



กลุ่มควบคุมเชิงลบ  
(อาหารเลี้ยงเซลล์ที่  
ประกอบด้วยซีรัม ความ  
เข้มข้น 10%)





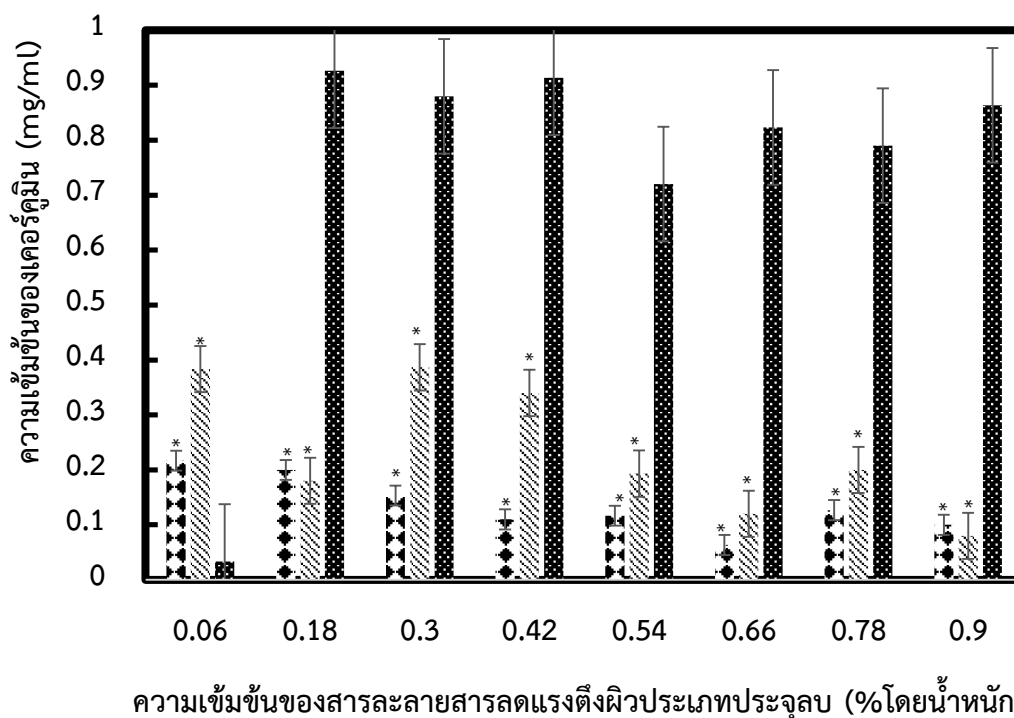
กลุ่มควบคุม blank  
(อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีซีรัม  
เป็นองค์ประกอบ)

รูปที่ 4.10 รูปร่างของเซลล์ L929 ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10X ภายหลังเลี้ยงในตัวอย่างสารสกัดของไฮโดรเจลไฟโบรอิน ไทเมไทป์ที่ถูกระดมด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด SOS SDS และความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่ความเข้มข้นต่างๆ (100% และเจือจาง 50% 25% และ 12.5%) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 37 °C และกลุ่มควบคุมเชิงบวก (อาหารเลี้ยงเชื้อเซลล์ที่ระกอกด้วยสารละลายของ zinc acetate ความเข้มข้น)

#### 4.4 ความสามารถในการละลายของเคอร์คูมินในสารละลายสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ

ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่พัฒนาขึ้นนี้จะนำไปประยุกต์ใช้ในการนำส่งเคอร์คูมินซึ่งมีสมบัติละลายน้ำต่ำ มีรายงานว่าการลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของเคอร์คูมินได้ โดยการเกิดเป็นไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวที่หันหัวส่วนที่ชอบน้ำออกหาโมเลกุลน้ำ และหันหางส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหากันและบรรจุโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำไว้ข้างใน [72] งานวิจัยนี้จะทำการบรรจุเคอร์คูมินในไฮโดรเจล โดยทำการละลายเคอร์คูมินในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ความเข้มข้นเคอร์คูมินสูงสุดก่อน จากนั้นจะนำเคอร์คูมินที่ละลายในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบนี้ออกไปผสมกับสารละลายไฟโบรอินไหมไทย เพื่อกระตุ้นการเกิดเจลไปพร้อมๆกับการบรรจุเคอร์คูมินในไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทย ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาความเข้มข้นของเคอร์คูมินสูงสุดที่ละลายได้ในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง SOS, SDS และ STS ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.06, 0.18, 0.3, 0.42, 0.54, 0.66, 0.78 และ 0.9 % โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นความเข้มข้นเริ่มต้นของสารลดแรงตึงผิวก่อนผสมกับสารละลายไฟโบรอินไหมไทย ดังแสดงในรูปที่ 4.11

ผลการทดลอง พบว่า STS ในช่วงความเข้มข้น 0.18-0.9% โดยน้ำหนักสามารถละลายเคอร์คูมินได้มากที่สุด คือประมาณ 0.72-0.93 mg/ml ในขณะที่ SDS และ SOS ทุกความเข้มข้นละลายเคอร์คูมินได้ไม่เกิน 0.4 mg/ml เท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับความเข้มข้นวิกฤต (CMC) ของสารลดแรงตึงผิวทั้ง 3 ชนิดที่แสดงในตารางที่ 4.2 STS มีความเข้มข้นวิกฤตน้อยที่สุด นั่นคือสามารถเกิดไมเซลล์ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า SOS และ SDS ซึ่งความสามารถในการเกิดไมเซลล์นี้จะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของเคอร์คูมินได้ [73]



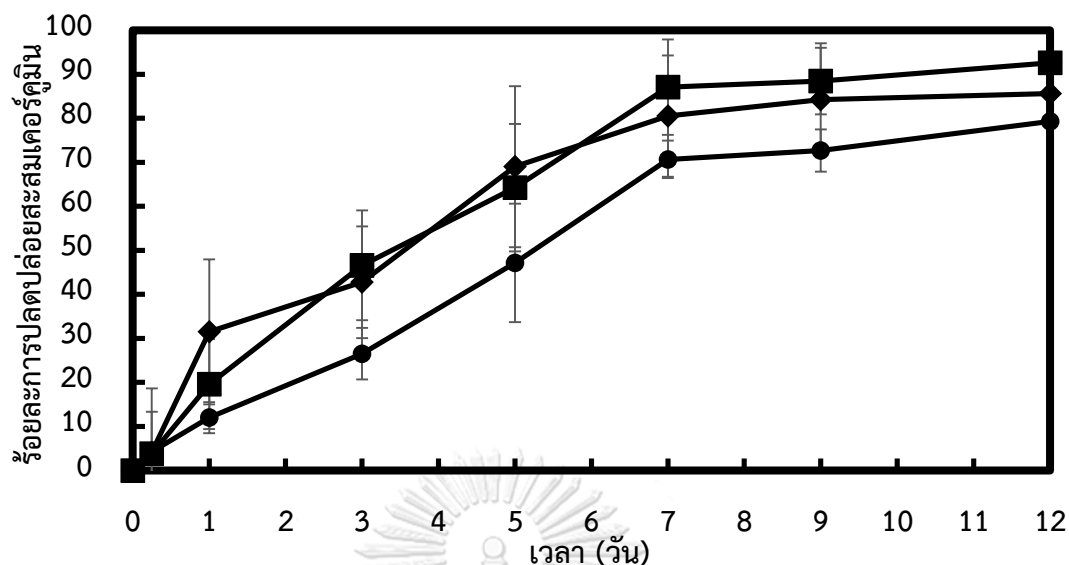
รูปที่ 4.10 ความเข้มข้นของเคอร์คูมินสูงสุดที่ละลายในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ (---) SOS (///) SDS และ (■) STS) ที่ความเข้มข้น 0.06, 0.18, 0.3, 0.42, 0.54, 0.66, 0.78 และ 0.9% โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 37 °C, pH 7.4 (\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,  $p < 0.05$  เมื่อพิจารณาเทียบกับ STS)

#### 4.5 อัตราการปลดปล่อยเคอร์คูมินของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ในสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส 14 (protease XIV) ที่สถานะจำลองผิวหนัง (pH 5.5)

จากผลการศึกษาความสามารถในการละลายของเคอร์คูมินในสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ในหัวข้อ 4.4 พบว่า STS สามารถละลายเคอร์คูมินได้มากที่สุด ดังนั้น ในการทดลองต่อจากนี้ จะเลือก STS ความเข้มข้น 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก มาละลายเคอร์คูมินและผสมกับสารละลายไฟโบรอินไหมไทย เพื่อขึ้นรูปไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่บรรจุเคอร์คูมิน โดยความเข้มข้นเคอร์คูมินที่เลือกมาศึกษาคือ 0.7 mg/ml เนื่องจากความเข้มข้นเคอร์คูมินสูงกว่านี้เกิดการตกตะกอนของเคอร์คูมินในไฮโดรเจล ร้อยละการปลดปล่อยสะสมเคอร์คูมินของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ที่ความเข้มข้น 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก ภายหลังแช่ในสารละลาย normal saline (pH 5.5) ที่มีเอนไซม์ protease ความเข้มข้น 3 unit/ml อุณหภูมิ 37 °C ที่ช่วงเวลา 6 ชั่วโมง 1, 3, 5, 7, 9 และ 12 วัน แสดงดังรูปที่ 4.12 พบว่า เคอร์คูมินถูก

ปลดปล่อยจากไฮโดรเจลทั้ง 3 สูตรอย่างต่อเนื่อง ในช่วง 6 ชั่วโมงแรก ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของร้อยละการปลดปล่อยสะสมเคอร์คูมินของทั้ง 3 สูตร และหลังจากวันที่ 1 เป็นต้นไป พบว่าไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก มีร้อยละการปลดปล่อยเคอร์คูมินน้อยกว่าไฮโดรเจลอีก 2 สูตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเข้าสู่วันที่ 7 ร้อยละการปลดปล่อยสะสมเคอร์คูมินของทั้ง 3 สูตร เริ่มช้าลงและเข้าสู่สภาวะคงที่ ที่เวลา 12 วัน ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก มีร้อยละการปลดปล่อยสะสมน้อยที่สุด เท่ากับ 79 ในขณะที่ไฮโดรเจลอีก 2 สูตร มีร้อยละการปลดปล่อยสะสมประมาณ 85-92 ผลร้อยละการปลดปล่อยสะสมเคอร์คูมินนี้เป็นไปในทางเดียวกันกับอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลในหัวข้อ 4.3.5 ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก มีอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพช้าที่สุด จึงทำให้ปลดปล่อยเคอร์คูมินได้ในอัตราช้าที่สุดเช่นกัน

จากงานวิจัยของ Kasoju N และ Bora U. ในปี 2012 และ Gupta, Aseh และคณะในปี 2009 รายงานว่าเคอร์คูมินสามารถที่จะเกิดอันตรกิริยาไม่ชอบน้ำกับโครงสร้างที่ไม่ชอบน้ำของไฟโบรอินไหม โดยสามารถเห็นพิกคุณลักษณะของเคอร์คูมินที่เกาะอยู่ในโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$  sheet ของไฟโบรอินไหมได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR และเทคนิคย้อมสีฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นอัตราการปลดปล่อยเคอร์คูมินขึ้นกับปริมาณของส่วนที่ไม่ชอบน้ำของไฟโบรอินไหม และปริมาณของอันตรกิริยาไม่ชอบน้ำที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลเคอร์คูมินกับโครงสร้างที่ไม่ชอบน้ำของไฟโบรอินไหม ในงานวิจัยนี้ ที่พบว่า STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก สามารถกระตุ้นการเกิดไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่มีปริมาณโครงสร้างชนิด  $\beta$  sheet มากที่สุด จึงอาจทำให้เพิ่มโอกาสในการเกิดอันตรกิริยาไม่ชอบน้ำกับโมเลกุลเคอร์คูมินมากขึ้น กอปรกับอัตราการย่อยสลายที่ช้าที่สุด จึงเป็นเหตุให้อัตราการปลดปล่อยเคอร์คูมินจากไฮโดรเจลนี้ช้าที่สุด [6, 74]



รูปที่ 4.11 ร้อยละการปลดปล่อยสะสมเคอร์คูมินของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด STS ความเข้มข้น 0.09, 0.15, 0.45% โดยน้ำหนัก ที่สภาวะจำลองผิวหนัง (pH 5.5, อุณหภูมิ 37 °C)

#### 4.6 ประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ปลดปล่อยเคอร์คูมิน ในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง

จากผลการศึกษาสมบัติของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยสูตรต่างๆ ผู้วิจัยได้เลือกไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่บรรจุเคอร์คูมิน นำไปศึกษาประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง เนื่องจากเป็นสูตรที่สามารถบรรจุเคอร์คูมินได้มากที่สุด มีความคงตัวในสภาวะจำลองผิวหนังมากที่สุด (อัตราการย่อยสลายช้าที่สุด) และสามารถควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินได้เนิ่นนานที่สุด และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ในระดับห้องปฏิบัติการที่ทดสอบตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5
















##### 4.6.1 ร้อยละพื้นที่ของแผลที่ปิดหลังทำการรักษา

การทดลองนี้ ได้ทำการสร้างบาดแผลขนาด 0.6 X 0.6 cm<sup>2</sup> บนหลังของหนูทดลอง และทำการรักษาโดยแบ่งเป็น 4 กลุ่มการทดสอบ ได้แก่ (1) กลุ่มที่ไม่ทำการรักษา (2) กลุ่มที่รักษาด้วยไฟโบรอินเจลซึ่งเป็นเจลรักษาแผลที่ใช้รักษาแผลทางการแพทย์ (3) กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่กระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก และไม่บรรจุเคอร์คูมิน และ (4) กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่บรรจุ

เคอร์คูมิน 35  $\mu\text{g}$  (0.7 mg/ml) การศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ปลดปล่อย เคอร์คูมินนี้ในการกระตุ้นการหายของแผล ทำโดยการประเมินพื้นที่แผลหลังทำการรักษาในช่วงเวลา ต่างๆ ได้แก่ วันที่ 3, 7 และ 14 จากการถ่ายภาพและวิเคราะห์รอยละพื้นที่แผลด้วยโปรแกรม Image Pro Plus 6.1 ดังรูปที่ 4.13 แสดงลักษณะและขนาดของแผลของกลุ่มการทดสอบต่างๆที่เวลา 0, 3, 7 และ 14 วัน พบว่า ในวันที่ 3 หลังทำการรักษา บาดแผลในหนูทดลองของกลุ่มที่ไม่ทำการรักษา จะมีลักษณะแฉะ มีสีแดงสด แผลยังไม่ปิด แต่ไม่พบการเกิดหนองหรือการอักเสบใดๆ ในขณะที่บาดแผล ของอีกสามกลุ่มที่ได้รับการรักษามีลักษณะแห้ง แผลยังไม่ปิดทั้งหมด และไม่พบการเกิดหนองหรือ การอักเสบใดๆเช่นเดียวกัน รูปที่ 4.14 แสดงรอยละพื้นที่บาดแผลเมื่อเทียบกับพื้นที่แผลเริ่มต้น พบว่า ที่เวลา 3 วันหลังการรักษา กลุ่มที่ไม่ทำการรักษามีพื้นที่แผลเหลือมากถึงร้อยละ 85 ของพื้นที่ แผลเริ่มต้น รองลงมาคือ กลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล มีพื้นที่แผลเหลือร้อยละ 76 ในขณะที่กลุ่มที่ รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ไม่บรรจุและที่บรรจุเคอร์คูมิน มีรอยละพื้นที่แผลเหลือเพียง 32-42 ซึ่งน้อยกว่าอีก 2 กลุ่มแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 7 พบว่าบาดแผลของหนูทุกกลุ่ม ยกเว้นกลุ่มที่ไม่ทำการรักษา จะมีลักษณะแห้ง และเล็กลงจากเดิมอย่างชัดเจน พบการเกิดของสะเก็ด แผลในกลุ่มที่รักษาด้วยไฟบริลเจล โดยกลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล และไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ ไม่บรรจุและที่บรรจุเคอร์คูมิน มีรอยละพื้นที่แผลเหลือประมาณ 18-24 และไม่พบความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของพื้นที่แผลของทั้ง 3 กลุ่มนี้ ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ทำการรักษาเหลือพื้นที่ แผลมากที่สุดถึงร้อยละ 60 ซึ่งมากกว่าอีก 3 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ในวันที่ 14 พบว่า ในทุกกลุ่มการรักษา แผลมีลักษณะแห้ง และปิดเกือบจะสนิท เหลือพื้นที่แผลไม่ถึงร้อยละ 20 ของพื้นที่แผลเริ่มต้น และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของรอยละพื้นที่แผลของทั้ง 4 กลุ่มการทดสอบ



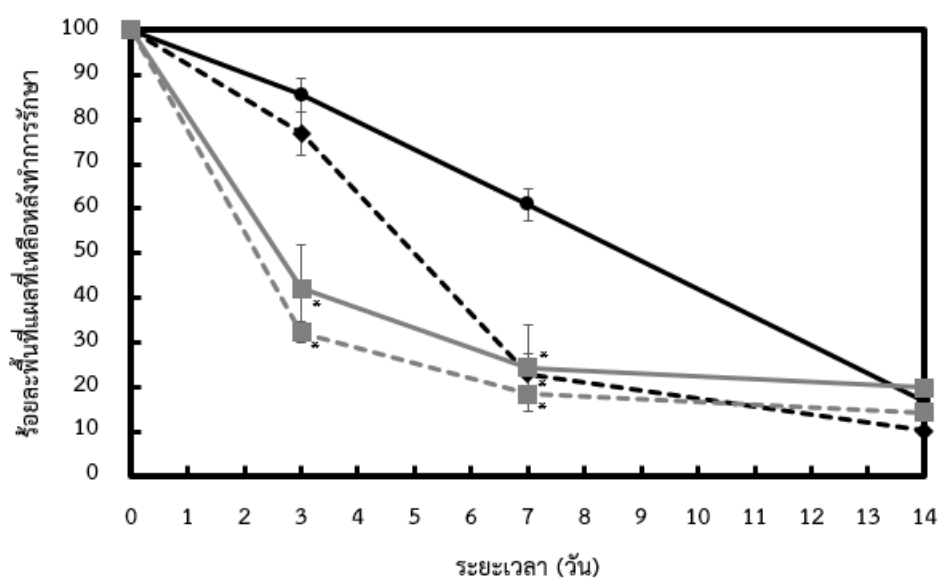
กลุ่มการทดสอบ

วันที่	ไม่ได้ทำการรักษา	ไฟบริลเจล	ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ กระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก และไม่ บรรจุเคอร์คูมิน	ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ กระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่บรรจุ เคอร์คูมิน
0				
3				
7				
14				

รูปที่ 4. 12 ลักษณะและพื้นที่ของแผลหลังทำการรักษาด้วยกลุ่มการทดสอบ 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ไม่ทำการรักษา (2) กลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล

(3) กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่กระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก และไม่บรรจุเคอร์คูมิน และ

(4) กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่กระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่บรรจุเคอร์คูมิน ที่เวลา 0, 3, 7 และ 14 วัน



**รูปที่ 4. 13** ร้อยละพื้นที่แผลที่เหลือเมื่อเทียบกับพื้นที่แผลเริ่มต้น หลังทำการรักษาด้วยกลุ่มการทดสอบ 4 กลุ่ม ได้แก่ ● กลุ่มที่ไม่ทำการรักษา —◆— รักษาด้วยไฟบรินเจล —■— รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก และไม่บรรจุเคอร์คูมิน และ —■— รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่บรรจุเคอร์คูมิน เป็นเวลา 3, 7 และ 14 วัน (\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,  $p < 0.05$  เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ทำการรักษา ที่ช่วงเวลาเดียวกัน)

#### 4.6.2 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลที่เข้ามาบริเวณเนื้อเยื่อแผล

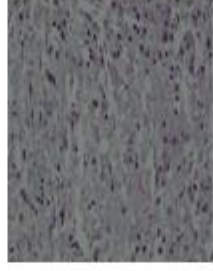
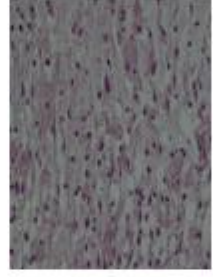
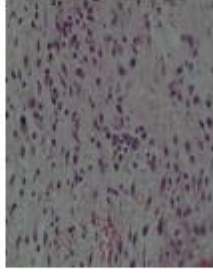
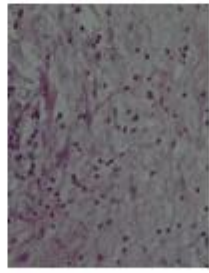
จากภาพถ่ายชิ้นเนื้อที่ย้อมสีด้วยเทคนิค H&E ที่กำลังขยาย 40X ณ ตำแหน่งบริเวณเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผล ดังรูปที่ 4.15 สามารถวิเคราะห์จำนวนเซลล์นิวโทรฟิล (neutrophil) ที่เข้ามาบริเวณเนื้อเยื่อแผล โดยเซลล์นิวโทรฟิลจะย้อมติดสีน้ำเงินม่วง มีลักษณะนิวเคลียสเป็นพูเพราะมีหลายนิวเคลียส [75] รูปที่ 4.16 แสดงจำนวนของเซลล์นิวโทรฟิลเฉลี่ยที่เข้ามาบริเวณเนื้อเยื่อบาดแผล (Infiltration of neutrophil) ของทั้ง 4 กลุ่มการรักษาต่อภาพ H&E กำลัง 40X พบว่าวันที่ 3 หลังการรักษา จำนวนของเซลล์นิวโทรฟิลเฉลี่ยที่เข้ามาบริเวณบาดแผลของกลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ไม่บรรจุและที่บรรจุเคอร์คูมินมีประมาณ 14-19 เซลล์ต่อภาพที่กำลังขยาย 40X ซึ่งน้อยกว่ากรณีของบาดแผลกลุ่มที่ไม่ทำการรักษา (48 เซลล์ต่อภาพที่กำลังขยาย 40X) และกลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล (38 เซลล์ต่อภาพที่กำลังขยาย 40X) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่บาดแผลกลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่บรรจุเคอร์คูมิน พบเซลล์นิวโทรฟิลน้อยที่สุด และในวันที่ 7 หลังการรักษา เซลล์นิวโทรฟิลเฉลี่ยที่พบในบาดแผลทุก กลุ่มมีจำนวนลดลงจากวันที่ 3

โดยพบจำนวนนิวโทรฟิลเฉลี่ย 7-24 เซลล์ต่อภาพที่กำลังขยาย 40X และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทั้ง 4 กลุ่ม ส่วนในวันที่ 14 หลังการรักษา พบเซลล์นิวโทรฟิลในบริเวณบาดแผลทุกกลุ่มน้อยมากจนถึงไม่พบเลย

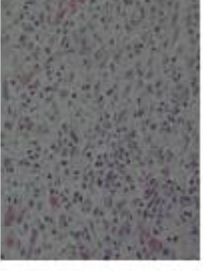
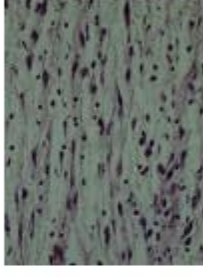
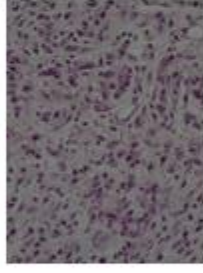
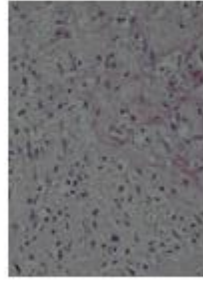


กลุ่มการทดสอบ

วันที่	ไม่ได้ทำการรักษา	ไฟบริลเจล	ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่	ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่
			ไทยที่กระดูกต้นด้วย STS	ไทยที่กระดูกต้นด้วย STS
			ความเข้มข้น 0.09%	ความเข้มข้น 0.09%
			โดยน้ำหนัก และไม่บรรจุ	โดยน้ำหนัก ที่บรรจุ
			เคอร์คูมิน	เคอร์คูมิน

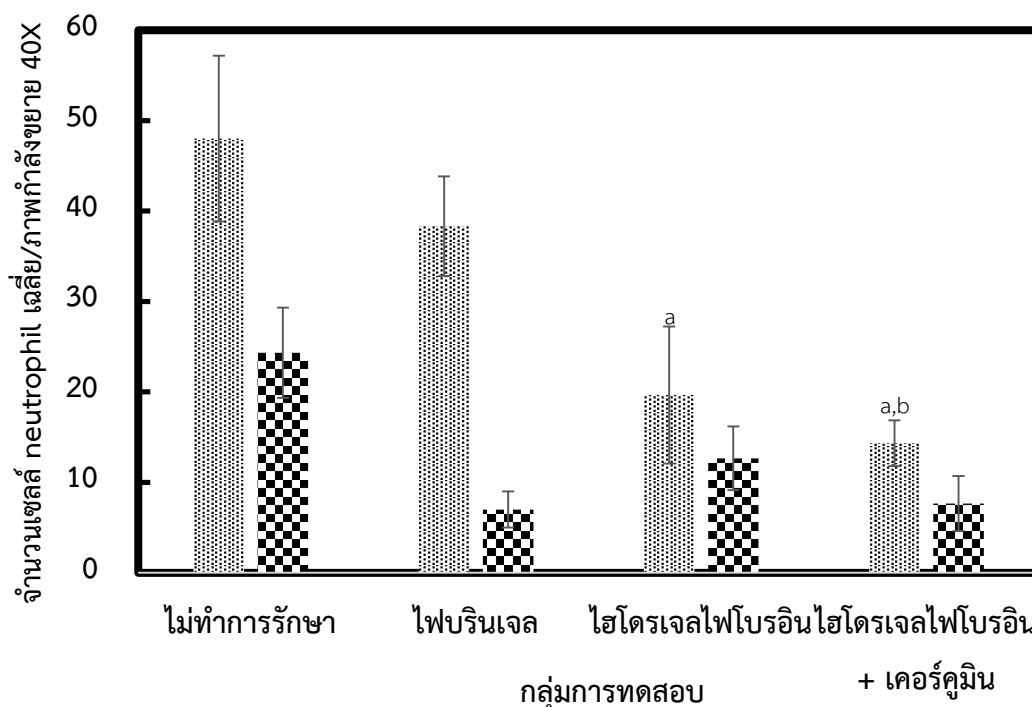




3



7

รูปที่ 4. 15 ภาพถ่ายชิ้นเนื้อที่ย้อมสีด้วยเทคนิค H&E ที่กำลังขยาย 40X ณ ตำแหน่งบริเวณเนื้อเยื่อด้านกลางของบาดแผลหลังทำการรักษาด้วยกลุ่มการทดสอบ 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ไม่ทำการรักษา (2) กลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจลซึ่งเป็นเจลซึ่งเป็นการรักษาแผลที่ใช้ทางการแพทย์ (3) กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่กระดูกต้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก และไม่บรรจุเคอร์คูมิน และ (4) กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่กระดูกต้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่บรรจุเคอร์คูมิน เป็นระยะเวลา 3 และ 7 วัน



รูปที่ 4. 14 จำนวนเซลล์นิวโทรฟิลเฉลี่ยที่เข้ามาบริเวณเนื้อเยื่อบาดแผล (Infiltration of neutrophil) ต่อภาพที่กำลังขยาย 40X หลังทำการรักษาด้วยกลุ่มการทดสอบ 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ไม่ทำการรักษา กลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนักและไม่บรรจุเคอร์คูมิน และกลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่บรรจุเคอร์คูมิน เป็นระยะเวลา  3 วัน และ  7 วัน (a แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,  $p < 0.05$  เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ทำการรักษา b แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,  $p < 0.05$  เมื่อเทียบกับกลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล)

#### 4.6.3 ร้อยละการสร้างเซลล์เยื่อบุผิวบริเวณเนื้อเยื่อบาดแผล

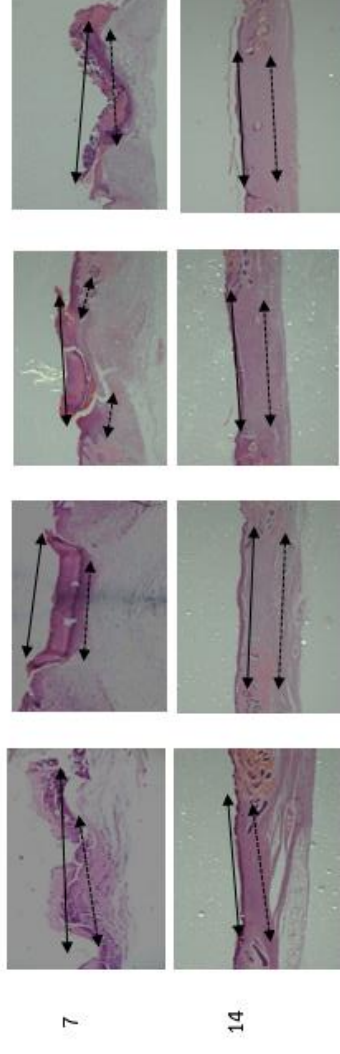
การสร้างเซลล์เยื่อบุผิวที่บริเวณเนื้อเยื่อบาดแผล (Re-epithelization) วิเคราะห์ได้จากการวัดระยะเซลล์เยื่อบุผิวที่เกิดขึ้นเทียบกับระยะบาดแผลจากภาพถ่ายชิ้นเนื้อที่ย้อมสีด้วยเทคนิค H&E ที่กำลังขยาย 4X ดังรูปที่ 4.17 เนื่องจาก วันที่ 3 หลังการรักษา บาดแผลทุกกลุ่มยังไม่เกิดการสร้างเซลล์เยื่อบุผิว จึงไม่สามารถวิเคราะห์การสร้างเซลล์เยื่อบุผิวได้ รูปที่ 4.18 แสดงร้อยละการสร้างเซลล์เยื่อบุผิวที่บริเวณเนื้อเยื่อบาดแผลของทั้ง 4 กลุ่มการรักษาที่เวลา 7 และ 14 วันหลังการรักษา พบว่าในวันที่ 7 บาดแผลกลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล และกลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ไม่บรรจุและบรรจุเคอร์คูมิน มีร้อยละการสร้างเซลล์เยื่อบุผิวมากกว่ากลุ่มที่ไม่ทำการรักษา แต่ไม่พบ

ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนวันที่ 14 ผลทุกกลุ่มการรักษาปิดเกือบสนิท จึงมีร้อยละ การสร้างเซลล์เยื่อบุผิวเป็น 100%

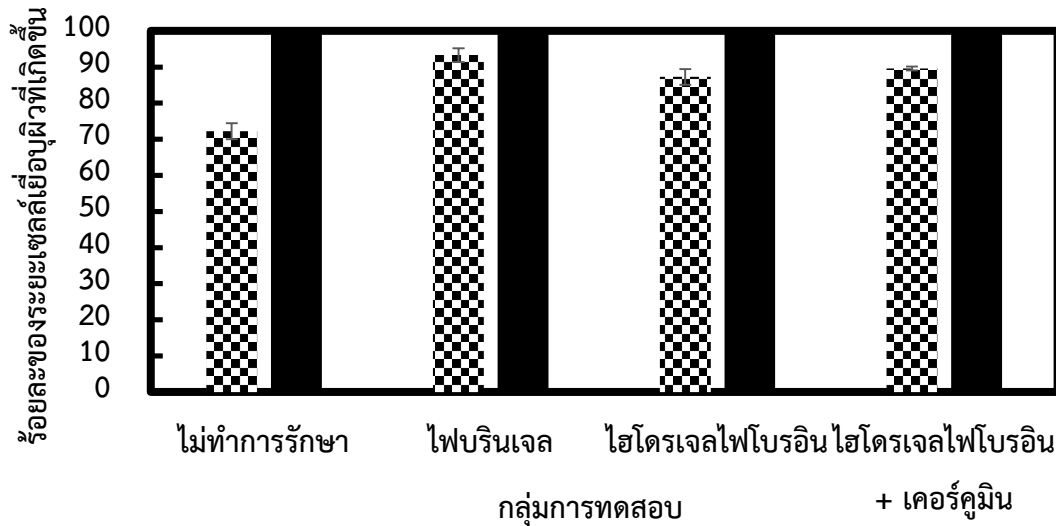




กลุ่มการทดสอบ

วันที่	ไม่ได้ทำการรักษา	ไฟบรินเจล	ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่	ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่
			ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่	ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่
			ไทยที่กระตุ้นด้วย STS	ไทยที่กระตุ้นด้วย STS
			ความเข้มข้น 0.09% โดย	ความเข้มข้น 0.09% โดย
			น้ำหนัก และไม่บรรจุเคอร์คูมิน	น้ำหนัก ที่บรรจุ
			เคอร์คูมิน	เคอร์คูมิน



**รูปที่ 4. 15** ภาพถ่ายชิ้นเนื้อที่ย้อมสีด้วยเทคนิค H&E ที่กำลังขยาย 4X ณ ตำแหน่งบริเวณเนื้อเยื่อของงาบาดแผล หลังทำการรักษาด้วยกลุ่มการทดสอบ 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่ไม่ทำการรักษา (2) กลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจลซึ่งเป็นเจลรักษาแผลที่ใช้ทางการแพทย์ (3) กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกรกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก และไม่บรรจุเคอร์คูมิน และ (4) กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกรกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนักที่บรรจุเคอร์คูมิน ที่เวลา 7 และ 14 วัน ( ←----→ ระยะเซลล์เยื่อผิวที่เกิดขึ้น ↔ ระยะบาดแผล)



รูปที่ 4. 16 ร้อยละการสร้างของเซลล์เยื่อบุผิวบริเวณเนื้อเยื่อบาดแผล หลังทำการรักษาด้วยกลุ่มการทดสอบ 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ไม่ทำการรักษา กลุ่มที่รักษาด้วยไฟบรินเจล กลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่กระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนักและไม่บรรจุเคอร์คูมิน และกลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่กระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่บรรจุเคอร์คูมิน เป็นระยะเวลาที่  7 วัน และ  14 วัน

จากผลการรักษาแผลข้างต้น สรุปได้ว่า ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ไม่บรรจุและบรรจุเคอร์คูมินมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการหายของแผลได้อย่างชัดเจนในช่วง 3-7 วันแรกของการรักษา เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ทำการรักษา โดยไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่บรรจุเคอร์คูมินสามารถลดจำนวนเซลล์อักเสบชนิดนิวโทรฟิลที่เข้ามาในบริเวณบาดแผลได้อย่างมีนัยสำคัญ ในกระบวนการรักษาบาดแผลตามธรรมชาติ ประกอบด้วย 3 ระยะ ได้แก่ ระยะการอักเสบ (inflammation) เป็นช่วงตั้งแต่เกิดบาดแผลขึ้น ทำให้เนื้อเยื่อเกิดการฉีกขาด ร่างกายจึงต้องมีการเรียก platelet มาเพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการแข็งตัวของเลือดบริเวณบาดแผล และหลังสารชักนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์อักเสบชนิดต่างๆมายังบาดแผล ระยะดังกล่าวจะเกิดในช่วง 1-4 วันแรก หลังจากนั้นจะเข้าสู่ช่วงที่สองของกระบวนการรักษาแผล คือ ระยะการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (Proliferation) จะเริ่มตั้งแต่วันที่ 4 - 12 หลังการเกิดบาดแผล โดย Platelet-derived growth factor (PDGF) ซึ่งเป็น chemotactic factor จะเป็นตัวกระตุ้นให้ fibroblast เข้ามายังบริเวณบาดแผล เพื่อสร้าง



คอลลาเจนและสमानแผล ในระยะนี้ยังมีการเกิดกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) โดยมีโปรตีนสำคัญ เช่น Transforming growth factor beta 1 (TGF- $\beta$ 1) และ Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) เป็นต้น เป็นสารกระตุ้นกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ ระยะสุดท้ายของการรักษาบาดแผล คือ ระยะการสร้างเซลล์เยื่อบุผิว (re-epithelialization) เป็นระยะของการจัดเรียงตัวของคอลลาเจนที่สร้างมาก่อนหน้านี้ให้เป็นระเบียบมากยิ่งขึ้น โดยเริ่มแรกจะเรียงตัวกันเพียงชั้นเดียว หลังจากนั้นจึงมีการแบ่งตัวมากยิ่งขึ้น จนเข้าสู่ภาวะสมดุล [76] จากระยะการรักษาบาดแผลตามธรรมชาติข้างต้น สามารถนำมาอธิบายผลการรักษาแผลในงานวิจัยนี้ได้ โดยกลุ่มบาดแผลที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่บรรจุเคอร์คูมิน มีการปลดปล่อยเคอร์คูมินออกมาโดยเฉพาะในช่วงวันแรกๆที่อยู่ในระยะการอักเสบ จากผลการทดลองอัตราการปลดปล่อยเคอร์คูมินของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทย ที่สภาวะจำลองผิวหนัง ดังการทดลองที่ 4.5 พบว่า ในวันที่ 3 ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย 0.09% STS ปลดปล่อยเคอร์คูมินออกมาเท่ากับ 9.5  $\mu$ g บาดแผลที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่บรรจุเคอร์คูมินนี้ มีจำนวนเซลล์นิวโทรฟิลน้อยกว่าบาดแผลกลุ่มอื่น เนื่องจากเคอร์คูมินมีสมบัติยับยั้งการอักเสบได้โดยการลดการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับอักเสบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการอักเสบ ลดการแสดงออกของโปรตีน monocyte chemoattractant protein-1 ทั้งยังสามารถลดการเติบโตของแบคทีเรียบริเวณแผล [56-58] Kant V. และคณะ ในปี 2015 Prasad R. และคณะ ในปี 2017 รายงานว่า เคอร์คูมินมีสมบัติช่วยให้การอักเสบของแผลในวันที่ 3 ให้น้อยลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รักษา [77, 78] ในวันที่ 7-14 ซึ่งเป็นระยะการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน การสร้างหลอดเลือดใหม่ และการสร้างเซลล์เยื่อบุผิว พบจำนวนเซลล์อักเสบน้อยลง และพบการสร้างของเนื้อเยื่อคอลลาเจนและเซลล์เยื่อบุผิวอย่างชัดเจนในบาดแผลทุกกลุ่ม โดยแผลที่รักษาด้วยไฟโบรอินเจล และไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ไม่บรรจุและบรรจุเคอร์คูมินมีการสร้างคอลลาเจนและเซลล์เยื่อบุผิวมากกว่าแผลกลุ่มที่ไม่ได้รักษา แผลจึงมีขนาดลดลงมากกว่า (รูปที่ 4.13) อธิบายได้ว่า โครงสร้างสามมิติของเจลมีสมบัติช่วยลดการหดตัวของแผล [79] ช่วยให้คอลลาเจนที่สร้างขึ้นใหม่ในแผลของกลุ่มที่ทำการรักษา มีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบกว่ากรณีแผลของกลุ่มที่ไม่ได้ทำการรักษา (รูปที่ 4.17) งานวิจัยของ Nien และคณะ ในปี 2003 ได้อธิบายไว้ว่า เมทริกซ์ของโปรตีนช่วยส่งเสริมการจัดเรียงตัวของชั้นคอลลาเจนที่สร้างใหม่ และลดการเกิดแผลเป็น (scar) ที่เกิดขึ้นจากการจัดเรียงตัวที่ไม่สมบูรณ์ของคอลลาเจน โดยรายงานว่าการโปรตีนไฟโบรโนเจนและไฟโบริน สามารถที่จะลดการหดตัวของชั้นคอลลาเจนได้ เมื่อพิจารณาปริมาณเคอร์คูมินที่ใช้ในงานวิจัยนี้เทียบกับงานวิจัยอื่นๆ (ตารางที่ 2.4) จะพบว่างานวิจัยนี้ใช้ปริมาณเคอร์คูมินต่อบาดแผลน้อยกว่างานอื่น อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาทดลองใน

หนู mice ซึ่งแตกต่างจากงานอื่นที่ศึกษาในหนูrat สายพันธุ์ของหนูทดลองและลักษณะของโมเดลบาดแผลเป็นปัจจัยสำคัญที่มีต่อผลการตอบสนองต่อปริมาณเคอร์คูมินที่ใช้ในการรักษา [80]

นอกจากนี้ยังมีรายงาน สมบัติของเคอร์คูมินในการกระตุ้นการหายของแผลโดยตรง โดยการกระตุ้นการสร้างหลอดเลือด การสร้างของเซลล์เยื่อบุผิว และการสร้างคอลลาเจน [80] ทั้งนี้เคอร์คูมินที่ปลดปล่อยออกมาจากไฮโดรเจลสามารถที่เข้าสู่เซลล์ได้ทั้งในรูปแบบที่บรรจุอยู่ภายในไมเซลล์และเคอร์คูมินอิสระ โดยเคอร์คูมินที่บรรจุอยู่ภายในไมเซลล์จะเข้าสู่เซลล์ด้วยกระบวนการเอนโดไซโทซิส (endocytosis) เป็นการลำเลียงสารที่มีโมเลกุลใหญ่เข้าสู่เซลล์ ในขณะที่เคอร์คูมินอิสระจะเข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีแอกทีฟทรานสปอร์ต (active transport) ซึ่งเป็นการแพร่ของสารโดยใช้โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์เป็นตัวพาและใช้พลังงานจาก ATP (adenosine triphosphate) ปริมาณและความเร็วในการเข้าสู่เซลล์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ค่าความเป็นกรดเบส อุณหภูมิ รูปร่างของไมเซลล์ ฯลฯ [80-82]

อีกประเด็นที่น่าสนใจคือ ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยช่วยกระตุ้นการหายของแผลได้ดีกว่าหรือดีเทียบเท่าไฟบรินเจลที่ใช้เป็นเจลรักษาแผลในทางการแพทย์ งานวิจัยของ Ju Lee และคณะ ในปี 2016 ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลไฟไหม้ในหนูทดลองของโครงเลี้ยงเซลล์จากไฟโบรอินไหมที่ขึ้นรูปด้วยเทคนิค Electrospinning เทียบกับผลิตภัณฑ์แผ่นปิดแผลที่ขายในท้องตลาดพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์จากไฟโบรอินไหมมีลักษณะของโครงสร้างภายในใกล้เคียงกับ extracellular matrix (ECM) ที่พบในร่างกาย คือมีรูพรุนที่เชื่อมต่อกันมากมาย จึงดูดซับน้ำได้ดี ส่งผลเซลล์เข้ามายังบริเวณบาดแผลได้ดี ทั้งยังลดการแสดงออกของ pro-inflammatory cytokine ชนิด IL-1 เพิ่มระดับของ growth factor ชนิด TGF-1 เพิ่มการเกิดของเซลล์เยื่อบุผิวและการสร้างของชั้นคอลลาเจน เป็นผลอันเนื่องมาจากคุณสมบัติของไฟโบรอินไหม [81] ในงานวิจัยนี้ ข้อดีของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยคือมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกายได้ดี ไม่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันหรือการอักเสบ สามารถขึ้นรูปง่าย และควบคุมอัตราการย่อยสลาย และอัตราการปลดปล่อยเคอร์คูมินได้เนิ่นนาน อีกทั้งยังเป็นวัสดุที่หาได้ง่ายในประเทศ หากสามารถพัฒนาไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่บรรจุเคอร์คูมินหรือสารกระตุ้นการหายของแผลชนิดอื่นเป็นเจลรักษาแผลได้ จะช่วยลดการนำเข้าเจลรักษาแผลที่มีราคาแพงจากต่างประเทศ และช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับไหมไทยอีกด้วย

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาพัฒนาไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ โดยได้ทำการศึกษาคุณสมบัติต่างๆของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ได้แก่ sodium octyl sulfate (SOS) sodium dodecyl sulfate (SDS) และ sodium tetradecyl sulfate (STS) แล้วจึงศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิดต่างๆ ต่อพฤติกรรมของการเกิดเจล โครงสร้างทางเคมี และสมบัติทางกายภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยเพื่อให้เกิดความเข้าใจในกลไกการเกิดเจลดังกล่าว ตลอดจนทำการศึกษาสมบัติทางชีวภาพของไฮโดรเจล ได้แก่ อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์ในระดับห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5 รวมถึงนำไปประยุกต์ใช้เป็นระบบนำส่งและควบคุมการปลดปล่อยเคอร์คูมินเพื่อใช้เป็นเจลทาในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง การศึกษาคุณสมบัติต่างๆของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบทั้ง 3 ชนิด พบว่า STS ซึ่งมีสายโซ่อัลคิลยาวที่สุด มีความเข้มข้นวิกฤตน้อยที่สุด บ่งบอกความสามารถในการจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์เมื่อละลายอยู่ในน้ำได้ที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุด ทั้งนี้ยังมีค่าศักย์เซต้าเป็นลบสูงที่สุด จากคุณสมบัติดังกล่าวส่งผลต่อพฤติกรรมของการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทย คือ STS ใช้เวลาในการกระตุ้นการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทยเร็วที่สุด เมื่อเทียบกับ SOS และ SDS ที่ความเข้มข้นเท่ากัน ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าความยาวของสายโซ่อัลคิลของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบมีผลโดยตรงต่อการเกิดเจล เพราะเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยชักนำให้เกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหม ซึ่งสามารถยืนยันได้จากผลร้อยละโครงสร้างทุติยภูมิชนิด  $\beta$ -sheet ที่เพิ่มสูงที่สุดในกรณี 0.09%STS นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบมีผลต่อระยะเวลาการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย โดย SDS และ STS ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นจะชะลอการเกิดเจลไฟโบรอินไหมไทย เนื่องจากเพิ่มปริมาณประจุลบในระบบให้มีมากเกินไปจนเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุลประจุลบของไฟโบรอินไหมไทยกับโมเลกุลประจุลบของสารลดแรงตึงผิว

กลไกการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยด้วยการกระตุ้นด้วยสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบชนิด SOS SDS และ STS สามารถแบ่งได้เป็น 3 กรณี ดังต่อไปนี้

1) การกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยอย่างช้าๆ (Slow gelation rate) ระยะเวลาการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยที่อยู่ในช่วงประมาณ 113-144 ชั่วโมง จะพบในกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วย SOS ซึ่งมีความยาวของสายโซ่อัลคิลสั้นที่สุด มีค่าศักย์เซต้าเป็นลบน้อยที่สุด และความเข้มข้นวิกฤตมากที่สุด ทำให้ความสามารถในการชักนำให้เกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมด้วยกันและเกิดอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลของไฟโบรอินไหมกับโมเลกุลของ SOS ได้อย่างช้าๆ ทั้งสามารถเกิดการเจลเองตามธรรมชาติของโครงสร้างไฟโบรอินไหมไทย (Self transition of  $\beta$  sheet) อีกด้วย

2) การกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยอย่างรวดเร็ว (Fast gelation rate) จะพบในกลุ่มของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SDS ที่ความเข้มข้น 0.15% โดยน้ำหนัก และ STS ที่ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก กรณีนี้ระยะเวลาการเกิดเจลจะอยู่ในช่วงประมาณ 14-20 นาที เนื่องจากความยาวของสายโซ่อัลคิลของ SDS และ STS มากกว่าเมื่อเทียบกับ SOS จึงสามารถชักนำให้เกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลไหมด้วยกันเองและยังสามารถเกิดอันตรกิริยากับส่วนที่ไม่ชอบน้ำของสารลดแรงตึงผิวได้อีกด้วย ทั้งเกิดอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตได้ดี เนื่องจากค่าศักย์เซต้าที่เป็นลบมาก แต่ในกรณีนี้ไม่น่าจะพบ Self transition of  $\beta$  sheet เนื่องจากเกิดเจลเร็วมาก

3) การชะลอการกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทย (Delayed gelation rate) จะพบในกลุ่มของสารละลายไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย SDS และ STS ที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.15% และ 0.09% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ โดยระยะเวลาการเกิดเจลจะอยู่ในช่วงประมาณ 24-30 นาที ในกรณีนี้สามารถเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำและอันตรกิริยาของไฟฟ้าสถิตได้เช่นเดียวกับการกระตุ้นการเกิดเจลของไฟโบรอินไหมไทยอย่างรวดเร็ว แต่เนื่องจากความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ SDS และ STS ทำให้ประจุลบภายในระบบเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ประจุลบดังกล่าวจะทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้า (repulsive force) ระหว่างโมเลกุลประจุลบของไฟโบรอินไหมไทยกับโมเลกุลประจุลบของสารลดแรงตึงผิว ชะลอการเกิดเจลได้

ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยข้างต้นได้ถูกนำไปบรรจุเคอร์คิวมินเพื่อประยุกต์ใช้เป็นเจลทาแผล จากการศึกษาอัตราการปลดปล่อยเคอร์คิวมินของไฮโดรเจล พบว่า ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก มีอัตราการปลดปล่อยช้าที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ

อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรเจลดังกล่าว นอกจากนี้ไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยนี้ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ในระดับห้องปฏิบัติการที่ทดสอบตามมาตรฐาน ISO10993 Part 5 จากผลการทดลองข้างต้น ผู้วิจัยจึงเลือกไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ถูกกระตุ้นด้วย STS ความเข้มข้น 0.09% โดยน้ำหนัก ที่ไม่บรรจุและบรรจุเคอร์คูมินไปศึกษาประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง

จากผลการรักษาแผลในหนูทดลอง พบว่าแผลกลุ่มที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่บรรจุเคอร์คูมินช่วยลดการอักเสบของแผลลงได้โดยเฉพาะในช่วง 3 วันแรกของการรักษา เนื่องจากเคอร์คูมินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการอักเสบ และสามารถลดการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มบาดแผลที่รักษาด้วยไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ไม่บรรจุเคอร์คูมินก็มีแนวโน้มที่จะให้ผลการรักษาที่ดีกว่าหรือดีเทียบเท่าแผลกลุ่มที่รักษาด้วยไฟรินเจล ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ คาดว่าป็นผลอันเนื่องมาจากคุณสมบัติความเข้ากันได้ดีทางชีวภาพ ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบและอัตราการย่อยสลายที่เหมาะสมของไฟโบรอินใหม่ไทย จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่า ไฟโบรอินใหม่ไทย ซึ่งเป็นผลผลิตจากวัสดุที่หาได้ง่ายในประเทศ สามารถขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลได้ง่าย มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกายได้ดี ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ ทั้งยังสามารถที่จะนำไปบรรจุเคอร์คูมินเพื่อประยุกต์เป็นเจลรักษาแผลได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสมที่จะได้รับการพัฒนาต่อไป

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลไฟโบรอินใหม่ไทยที่ปลดปล่อยเคอร์คูมินในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและกระตุ้นการหายของแผลในหนูทดลอง เนื่องจากการรักษามีการทำเจลเพียง 1 ครั้งในวันแรกโดยไม่ได้มีการให้เจลซ้ำ ผลการรักษาจึงเห็นได้ชัดเจนเพียงช่วง 3-7 วันแรกเท่านั้น หากมีการทาเจลซ้ำอาจจะเห็นผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น
2. เนื่องจากโมเดลหนูที่ทำการศึกษเป็นการสร้างบาดแผลบนตัวหนูปกติ ดังนั้นจึงมีกลไกของร่างกายมาช่วยในการสมานของบาดแผล ทำให้เห็นการออกฤทธิ์ทางการรักษาของเคอร์คูมินได้ไม่ชัดเจนนัก หากศึกษาในโมเดลแผลที่มีการกระตุ้นการอักเสบ เช่น แผลในโรคเบาหวาน อาจเห็นประสิทธิภาพของเคอร์คูมินในการรักษาได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

## รายการอ้างอิง

1. Park, K., *Controlled drug delivery systems: Past forward and future back*. Journal of Controlled Release, 2014. 190: p. 3-8.
2. Lawrence, B.D., 3 - *Processing of Bombyx mori silk for biomedical applications* A2 - Kundu, S.C, in *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2014, Woodhead Publishing. p. 78-99.
3. Matsumoto, A., et al., *Mechanisms of Silk Fibroin Sol–Gel Transitions*. The Journal of Physical Chemistry B, 2006. 110(43): p. 21630-21638.
4. Ji Hun, P., et al., *Effect of surfactants on sol–gel transition of silk fibroin*. Journal of Sol-Gel Science and Technology 2014. 71: p. 364–371.
5. Wu, X., et al., *Sodium dodecyl sulfate-induced rapid gelation of silk fibroin*. Acta Biomaterialia, 2012. 8(6): p. 2185-2192.
6. Kasoju, N. and U. Bora, *Fabrication and characterization of curcumin-releasing silk fibroin scaffold*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2012. 100B(7): p. 1854-1866.
7. Anuchapreeda, S., et al., *Effect of pure curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin on WT1 gene expression in leukemic cell lines*. Vol. 62. 2008. 585-94.
8. Debjit, B., et al., *Controlled Release Drug Delivery Systems*. Journal of Pharmaceutical Innovation, 2012. 1(10): p. 24-32.
9. Goodman, L.S., *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: The Dynamics of Drug Absorption, Distribution, Action, and Elimination* The Pharmacological Basis of Therapeutics, 2006. 8: p. 137-317.
10. Elhassan, G., R. Ahmed Khan, and K. Qureshi, *DESIGN AND IN VITRO EVALUATION OF DICLOFENAC SODIUM MATRIX TABLETS*. Vol. 5. 2015. 98-106.
11. Gemma, V., T.-P. Judit, and A. Fernando, *Polymers and Drug Delivery Systems*. Current Drug Delivery, 2012. 9(4): p. 367-394.

12. Ratanavaraporn, J., S. Kanokpanont, and S. Damrongsakkul, *The development of injectable gelatin/silk fibroin microspheres for the dual delivery of curcumin and piperine*. Vol. 25. 2013.
13. Hoare, T.R. and D.S. Kohane, *Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges*. *Polymer*, 2008. 49(8): p. 1993-2007.
14. David L., K., et al., *PH INDUCED SILK GELS AND USES THEREOF* 2011: United States
15. Sutherland, T.D., et al., *Insect Silk: One Name, Many Materials*. *Annual Review of Entomology*, 2009. 55(1): p. 171-188.
16. Babu, K.M., *Silk: Processing, properties and applications*. 2013. 1-182.
17. Xinfang, L. and Z. Ke-Qin, *Silk Fiber — Molecular Formation Mechanism, Structure- Property Relationship and Advanced Applications*. 2014.
18. อุดมกิจเดชา, ว., เครื่องมือวิจัยทางวัสดุศาสตร์: ทฤษฎีและหลักการเบื้องต้น (*Materials science research instruments: theories and basic principles*). 2543, สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
19. Lingshuang, W., et al., *The Cytocompatibility of Genipin-Crosslinked Silk Fibroin Films*. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 2013. 4: p. 213-221.
20. Zhou, G., et al., *Silk Fibers Extruded Artificially from Aqueous Solutions of Regenerated Bombyx mori Silk Fibroin are Tougher than their Natural Counterparts*. *Advanced Materials*, 2009. 21(3): p. 366-370.
21. Litvinov, Rustem I., et al., *The  $\alpha$ -Helix to  $\beta$ -Sheet Transition in Stretched and Compressed Hydrated Fibrin Clots*. *Biophysical Journal*, 2012. 103(5): p. 1020-1027.
22. Koh, L.-D., et al., *Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials*. *Progress in Polymer Science*, 2015. 46: p. 86-110.
23. Yucel, T., P. Cebe, and D.L. Kaplan, *Vortex-Induced Injectable Silk Fibroin Hydrogels*. *Biophysical Journal*, 2009. 97(7): p. 2044-2050.

24. Numata, K., S. Yamazaki, and N. Naga, *Biocompatible and Biodegradable Dual-Drug Release System Based on Silk Hydrogel Containing Silk Nanoparticles*. *Biomacromolecules*, 2012. 13(5): p. 1383-1389.
25. Hanawa, T., et al., *New Oral Dosage Form for Elderly Patients. III. Stability of Trichlormethiazide in Silk Fibroin Gel and Various Sugar Solutions*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2000. 26(10): p. 1091-1097.
26. Kim, H.-J., et al., *Silk Nanofiber-Networked Bio-Triboelectric Generator: Silk Bio-TEG*. *Advanced Energy Materials*, 2016. 6(8): p. 1502329-n/a.
27. Correia, C., et al., *Development of silk-based scaffolds for tissue engineering of bone from human adipose derived stem cells*. *Acta Biomaterialia*, 2012. 8(7): p. 2483-2492.
28. Hofmann, S., et al., *Silk fibroin as an organic polymer for controlled drug delivery*. *Journal of Controlled Release*, 2006. 111(1): p. 219-227.
29. Rui-Juan, X., et al., *The Preparation of Silk Fibroin Drug-loading Microspheres*. *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*, 2008. 40: p. 2345-2350.
30. Guziewicz, N., et al., *Lyophilized Silk Fibroin Hydrogels for the Sustained Local Delivery of Therapeutic Monoclonal Antibodies*. *Biomaterials*, 2011. 32(10): p. 2642-2650.
31. Agostini de Moraes, M., et al., *Formation of silk fibroin hydrogel and evaluation of its drug release profile*. Vol. 132. 2014. n/a-n/a.
32. Kundu, J., et al., *Silk fibroin/poly(vinyl alcohol) photocrosslinked hydrogels for delivery of macromolecular drugs*. *Acta Biomaterialia*, 2012. 8(5): p. 1720-1729.
33. Fang, J.-Y., et al., *Characterization and Evaluation of Silk Protein Hydrogels for Drug Delivery*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2006. 54(2): p. 156-162.
34. Muthuprasanna, P., et al., *Basics and Potential Applications of Surfactants - A Review*. Vol. 1. 2009.
35. Schramm, L., *Surfactants: Fundamentals and Applications in the Petroleum Industry*. Vol. 16. 2010.



36. Jean-Louis, S., *Surfactants - Types and Uses*. Vol. 2. 2002, Venezuela Laboratorio FIRP.
37. Limtrakul, P., S. Anuchapreeda, and D. Buddhasukh, *Modulation of human multidrug-resistance MDR-1 gene by natural curcuminoids*. BMC Cancer, 2004. 4: p. 13-13.
38. Aggarwal, B., et al., *Curcumin - Biological and medicinal properties*. 2006.
39. Tonnesen, H.H. and J. Karlsen, *Studies on curcumin and curcuminoids. XL stabilization of photolabile drugs in serum samples by addition of curcumin*. International Journal of Pharmaceutics, 1988. 41(1): p. 75-81.
40. Motterlini, R., et al., *Curcumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress*. Free Radical Biology and Medicine, 2000. 28(8): p. 1303-1312.
41. Srimal, R.C. and B.N. Dhawan, *Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent\**. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1973. 25(6): p. 447-452.
42. Sidhu, G., et al., *Enhancement of wound healing by curcumin in animals*. Wound Repair Regen 1998. 6(2): p. 167-177.
43. Sharma, R.A., et al., *Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral Curcuma extract in patients with colorectal cancer*. Clinical Cancer Research, 2001. 7(7): p. 1894.
44. Chuang, D.-M., et al., *Neuroprotective effects of lithium in cultured cells and animal models of diseases*. Bipolar Disorders, 2002. 4(2): p. 129-136.
45. Tanaka, N., et al., *The receptor for advanced glycation end products is induced by the glycation products themselves and tumor necrosis factor-alpha through nuclear factor-kappa B, and by 17beta-estradiol through Sp-1 in human vascular endothelial cells*. The Journal of Biological Chemistry 2004. 275: p. 25781-25790.
46. Inano, H., et al., *Chemoprevention by curcumin during the promotion stage of tumorigenesis of mammary gland in rats irradiated with  $\gamma$ -rays*. Carcinogenesis, 1999. 20(6): p. 1011-1018.

47. Bisht, S., et al., *Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy*. Journal of Nanobiotechnology, 2007. 5(1): p. 3.
48. Dikshit, M., et al., *Prevention of ischaemia-induced biochemical changes by curcumin & quinidine in the cat heart*. The Journal of Medical Research, 1995. 101: p. 31-35.
49. Punithavathi, D., N. Venkatesan, and M. Babu, *Protective effects of curcumin against amiodarone-induced pulmonary fibrosis in rats*. British Journal of Pharmacology, 2003. 139(7): p. 1342-1350.
50. Nirmala, C., S. Anand, and R. Puvanakrishnan, *Curcumin treatment modulates collagen metabolism in isoproterenol induced myocardial necrosis in rats*. Molecular and Cellular Biochemistry, 1999. 197(1): p. 31-37.
51. Thaloor, D., et al., *Systemic administration of the NF- $\kappa$ B inhibitor curcumin stimulates muscle regeneration after traumatic injury*. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 1999. 277(2): p. C320-C329.
52. Shehzad, A., G. Rehman, and Y.S. Lee, *Curcumin in inflammatory diseases*. BioFactors, 2013. 39(1): p. 69-77.
53. Rashid, K. and P.C. Sil, *Curcumin enhances recovery of pancreatic islets from cellular stress induced inflammation and apoptosis in diabetic rats*. Toxicology and Applied Pharmacology, 2015. 282(3): p. 297-310.
54. Aggarwal, B.B., et al., *CURCUMIN: THE INDIAN SOLID GOLD*, in *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*, B.B. Aggarwal, Y.-J. Surh, and S. Shishodia, Editors. 2007, Springer US: Boston, MA. p. 1-75.
55. Emiroglu, G., et al., *The Effects of Curcumin on Wound Healing in a Rat Model of Nasal Mucosal Trauma*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017. 2017: p. 6.
56. Dai, X., et al., *Nano-formulated curcumin accelerates acute wound healing through Dkk-1-mediated fibroblast mobilization and MCP-1-mediated anti-inflammation*. Npg Asia Materials, 2017. 9: p. e368.

57. Panchatcharam, M., et al., *Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2006. 290(1): p. 87-96.
58. Krausz, A.E., et al., *Curcumin-encapsulated nanoparticles as innovative antimicrobial and wound healing agent*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2015. 11(1): p. 195-206.
59. Tharwat F., T., *Chapter 2 Physical Chemistry of Surfactant Solutions. Applied Surfactants: Principles and Applications*. 2005.
60. Kim, U.-J., et al., *Three-dimensional aqueous-derived biomaterial scaffolds from silk fibroin*. *Biomaterials*, 2005. 26(15): p. 2775-2785.
61. Lu, Q., et al., *Water-insoluble silk films with silk I structure*. *Acta Biomaterialia*, 2010. 6(4): p. 1380-1387.
62. Mosmann, T., *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays*. *Journal of Immunological Methods*, 1983. 65(1): p. 55-63.
63. Wu, Y., et al., *Mesenchymal Stem Cells Enhance Wound Healing Through Differentiation and Angiogenesis*. *STEM CELLS*, 2007. 25(10): p. 2648-2659.
64. Hunter, R.J., *Chapter 1 – Introduction. Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications*, ed. 1. 2013. 98-106.
65. Bengt, K., H. Krister, and L. Bjorn, *Surface Chemistry of Surfactants and Polymers*. 2014: p. 257-262.
66. Chakrabarty, D., et al., *Effect of alkyl chain length and size of the headgroups of the surfactant on solvent and rotational relaxation of Coumarin 480 in micelles and mixed micelles*. Vol. 122. 2005. 184516.
67. Kim, U.-J., et al., *Structure and Properties of Silk Hydrogels*. *Biomacromolecules*, 2004. 5(3): p. 786-792.
68. Chunmin, D., Z. Tianyi, and Z. Baoqi, *Surfactant-induced Nanofibrous Architecture of Silk Fibroin Hydrogels*. *Materials Science Forum*, 2013. 745-746: p. 453-458.

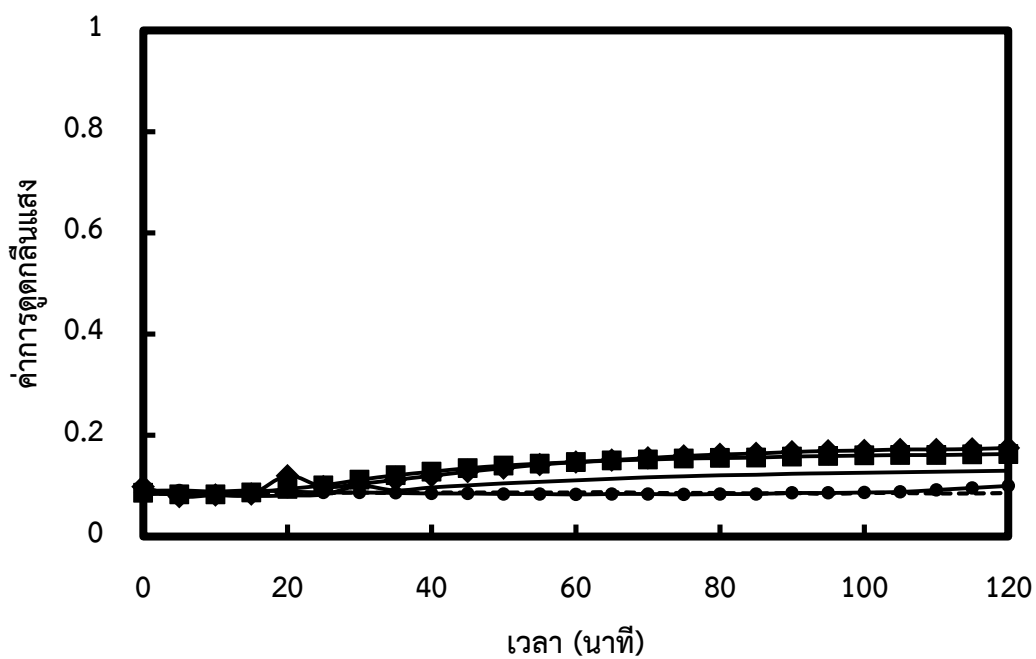
69. Hu, X., D. Kaplan, and P. Cebe, *Dynamic Protein–Water Relationships during  $\beta$ -Sheet Formation*. *Macromolecules*, 2008. 41(11): p. 3939-3948.
70. Rommel B., V., S. Albérico B. F. da, and P. André S., *Infrared Spectroscopy of Anionic, Cationic, and Zwitterionic Surfactants*. *Advances in Physical Chemistry*, 2012: p. 1-14.
71. Cao, Y. and B. Wang, *Biodegradation of Silk Biomaterials*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2009. 10(4): p. 1514-1524.
72. Liu, L., et al., *Curcumin loaded polymeric micelles inhibit breast tumor growth and spontaneous pulmonary metastasis*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013. 443(1): p. 175-182.
73. Li, X., et al., *Preparation of curcumin micelles and the in vitro and in vivo evaluation for cancer therapy*. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2014. 10(8): p. 1458-1468.
74. Gupta, V., et al., *Fabrication and characterization of silk fibroin-derived curcumin nanoparticles for cancer therapy*. *International Journal of Nanomedicine*, 2009. 4: p. 115-122.
75. Olga L., B., T.-F. Julie, and S.-S. Sergio, *Chapter 3: Skin Biopsy Diagnosis of Langerhans Cell Neoplasms*. *Skin Biopsy - Diagnosis and Treatment*, 2013: p. 27-29.
76. เจนวิถีสุข, ก., *กระบวนการหายของแผลและหลักการรักษา (Basic Wound Healing and Wound Bed Preparation)*. *ศรินครินทร์เวชสาร*, 2013. 28: p. 11-17.
77. Kant, V., et al., *Curcumin-induced angiogenesis hastens wound healing in diabetic rats*. *Journal of Surgical Research*, 2015. 193(2): p. 978-988.
78. Prasad, R., et al., *Curcumin Enhanced Cutaneous Wound Healing by Modulating Cytokines and Transforming Growth Factor in Excision Wound Model in Rats*. Vol. 6. 2017. 2263-2273.
79. Nien, Y.-D., et al., *Fibrinogen inhibits fibroblast-mediated contraction of collagen*. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 2003. 11(5): p. 380-385.

80. Thomas, L., et al., *Development of Curcumin loaded chitosan polymer based nanoemulsion gel: In vitro, ex vivo evaluation and in vivo wound healing studies*. International Journal of Biological Macromolecules, 2017. 101: p. 569-579.
81. Ju, H.W., et al., *Wound healing effect of electrospun silk fibroin nanomatrix in burn-model*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. 85: p. 29-39.

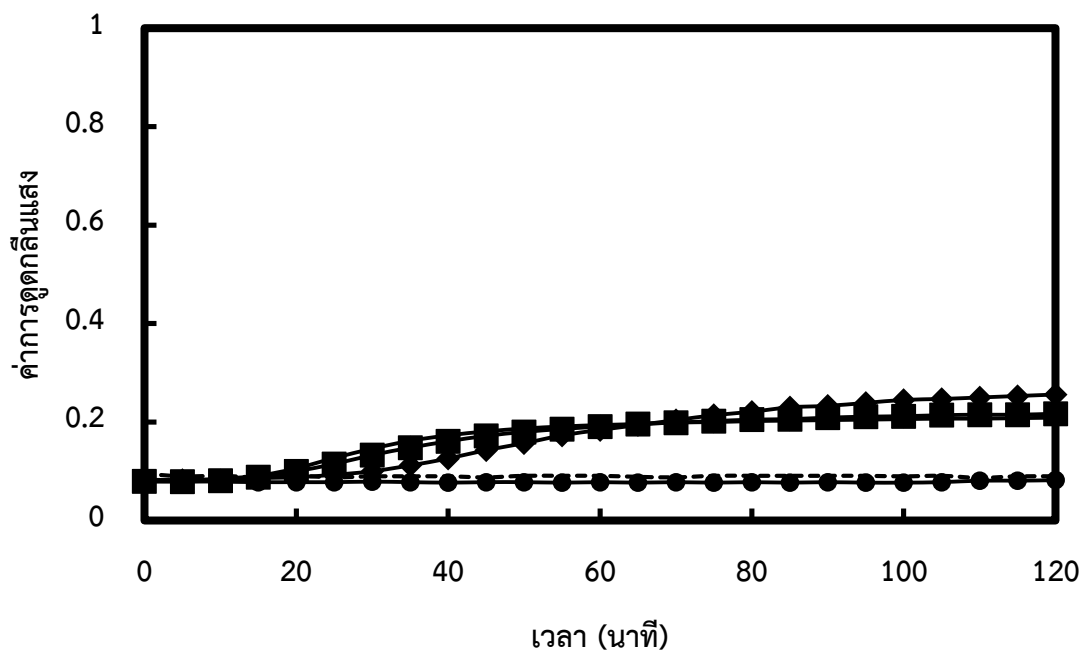




## ภาคผนวก ก

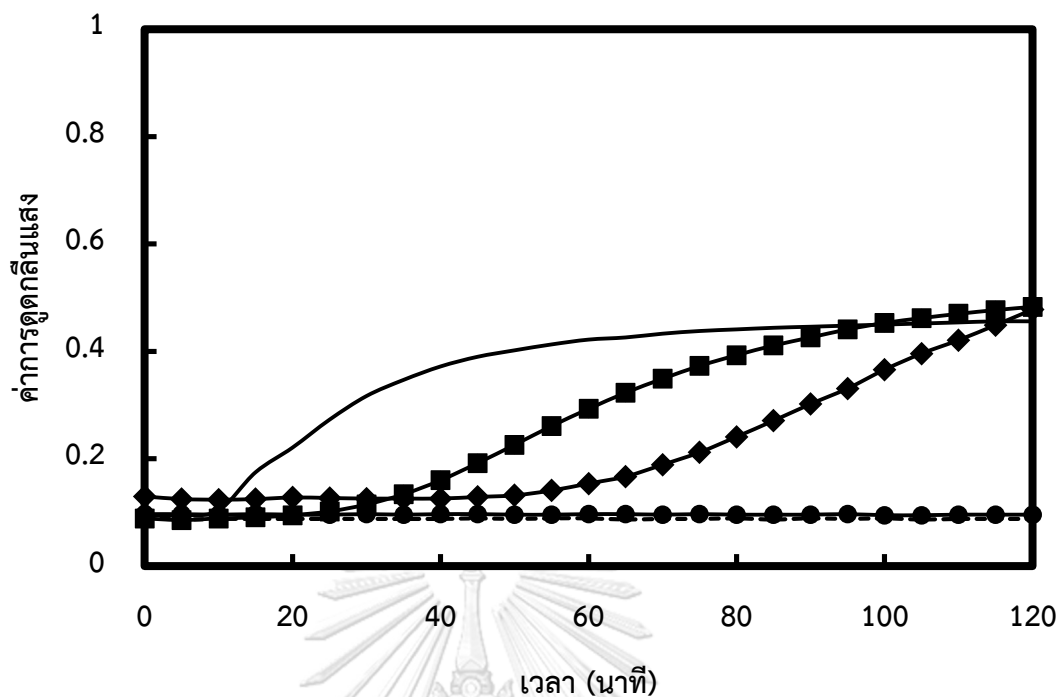


รูปที่ ก. 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (----- 0% ●— 0.01% ■— 0.03% ▲— 0.04%, — 0.06%) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น  $550\text{ cm}^{-1}$  อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  ในระยะเวลา 120 นาที

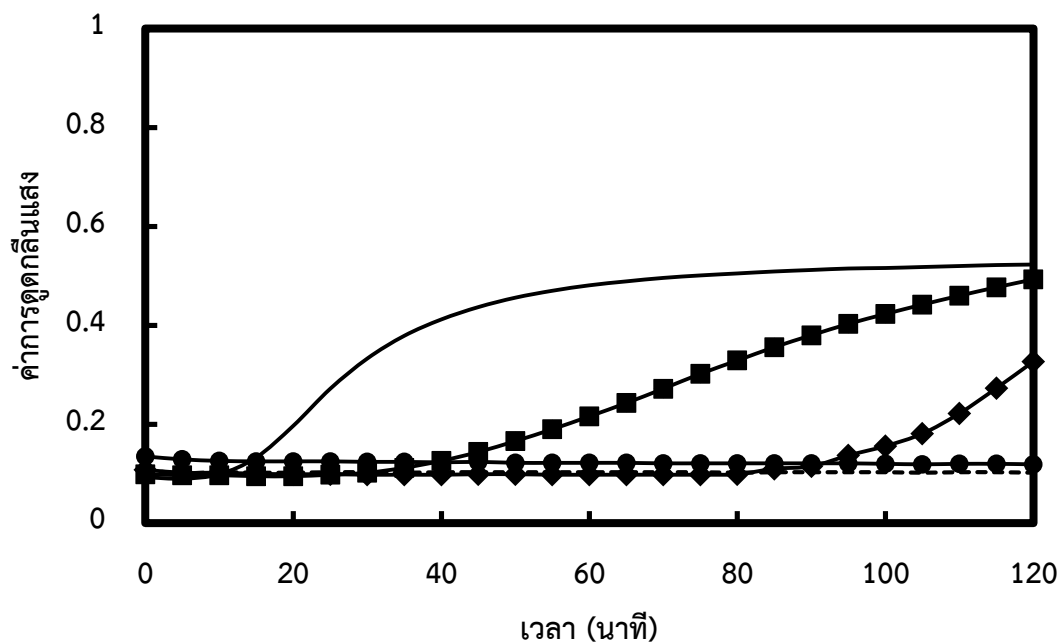


รูปที่ ก. 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (----- 0% —●— 0.01% —◆— 0.03% —■— 0.04%, —▲— 0.06%) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น  $550\text{ cm}^{-1}$  อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  ในระยะเวลา 120 นาที



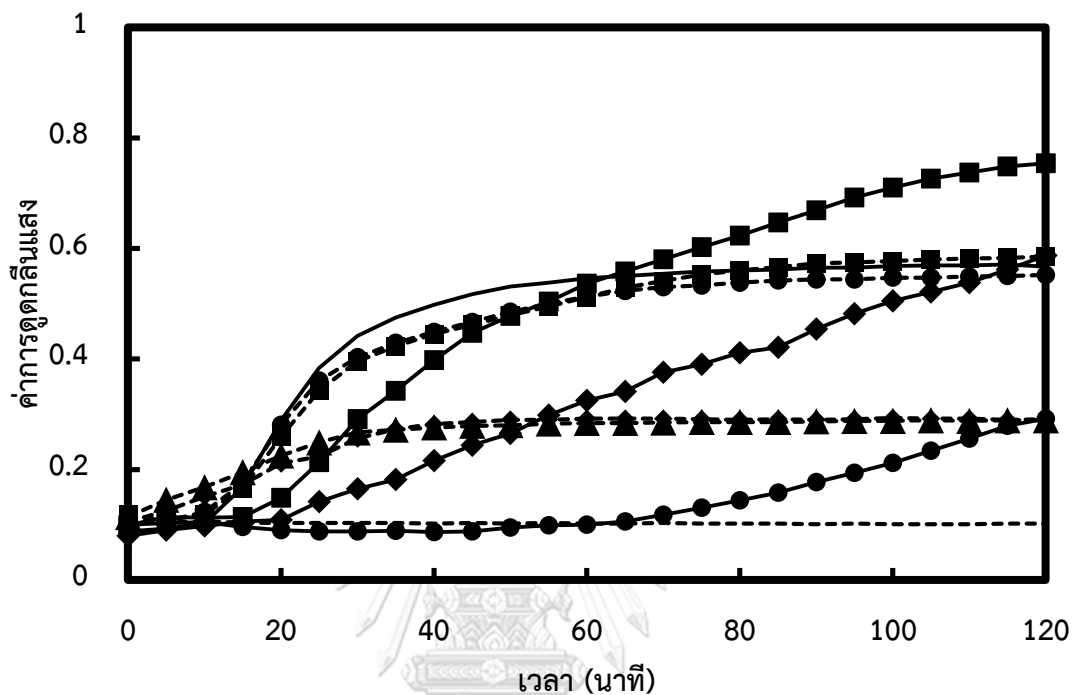


รูปที่ ก. 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1.5% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ( - - - - 0% —●— 0.01% —◆— 0.03% —■— 0.04% ——— 0.06%) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น  $550 \text{ cm}^{-1}$  อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  ในระยะเวลา 120 นาที

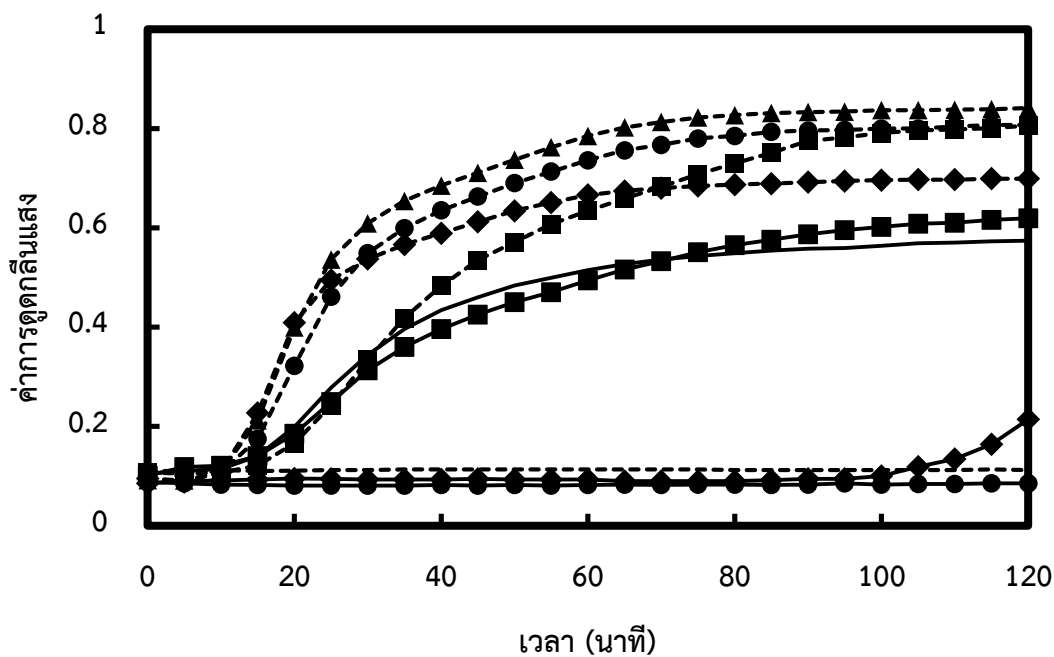


รูปที่ ก. 4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไพโบรอินใหม่ไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (----- 0% —●— 0.01% —◆— 0.03% —■— 0.04% ——— 0.06%) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น  $550\text{ cm}^{-1}$  อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  ในระยะเวลา 120 นาที

## ภาคผนวก ข

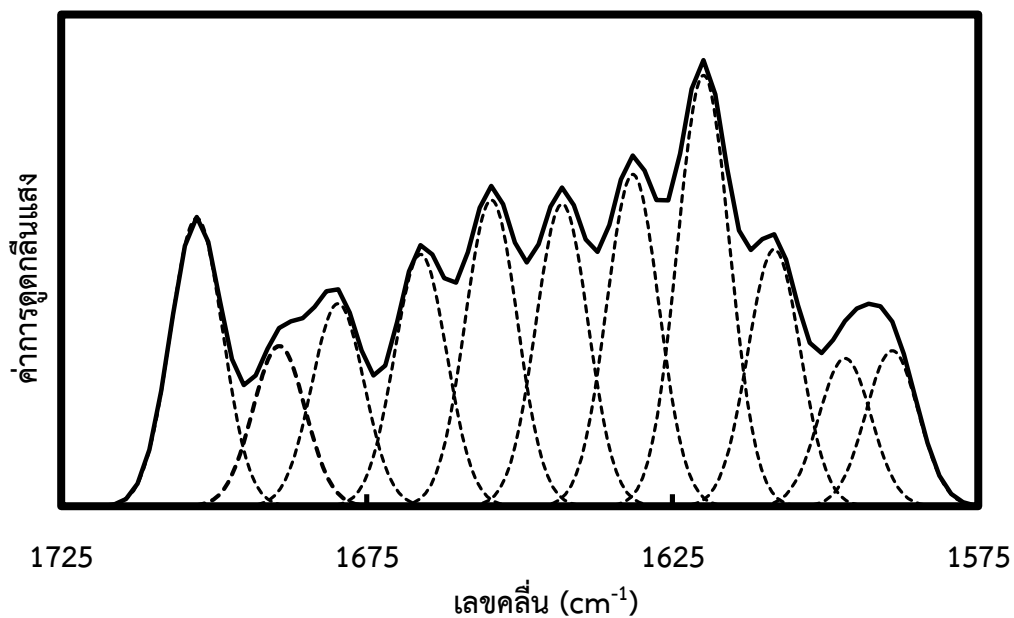


รูปที่ ข. 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 1.5% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (----- 0% —●— 0.01% —◆— 0.03% —■— 0.04% ——— 0.06% —●— 0.07% —▲— 0.09% —◆— 0.10% —■— 0.12%) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น  $550\text{ cm}^{-1}$  อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  ในระยะเวลา 120 นาที

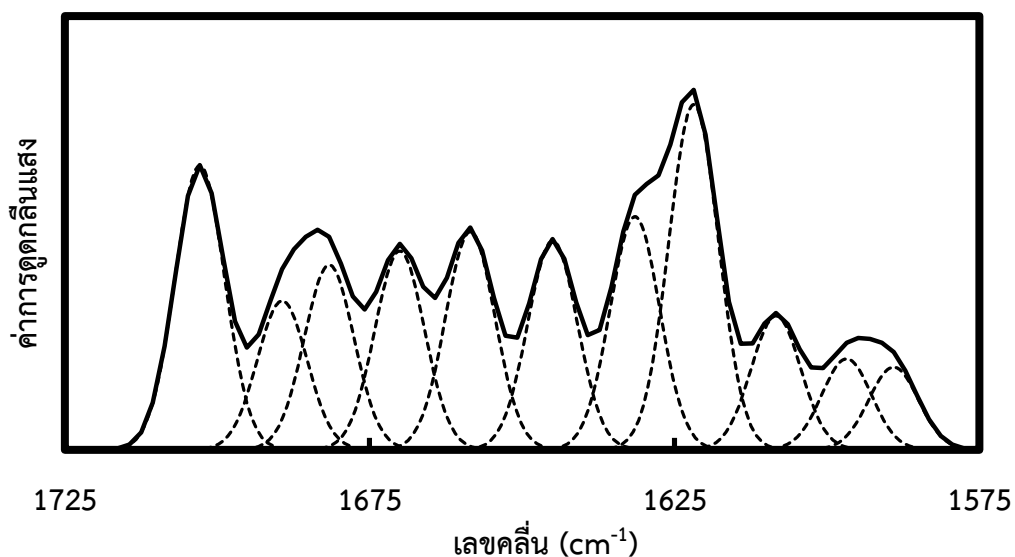


รูปที่ ข. 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบ STS ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (pH 7.4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (----- 0% —●— 0.01% —◆— 0.03% —■— 0.04% ——— 0.06% -●- 0.07% -▲- 0.09% -◆- 0.10% -■- 0.12%) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น  $550\text{ cm}^{-1}$  อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  ในระยะเวลา 120 นาที

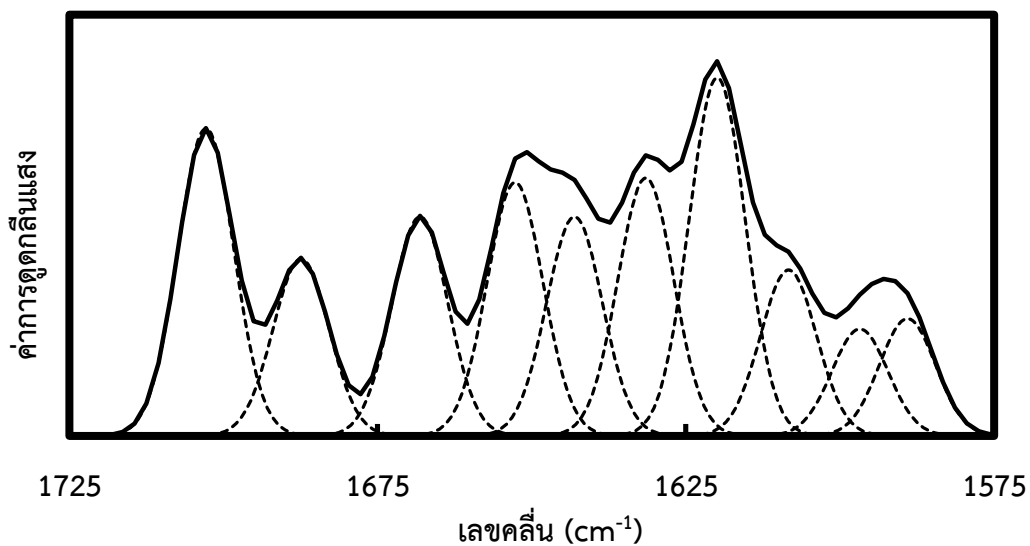
## ภาคผนวก ค



รูปที่ ค. 1 กราฟแสดงเทคนิค FTIR Spectra Deconvolution ของสารละลายไฟโบรอินไหมไทย ความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก (----- Curve-fitted spectrum, — Deconvoluted spectrum)

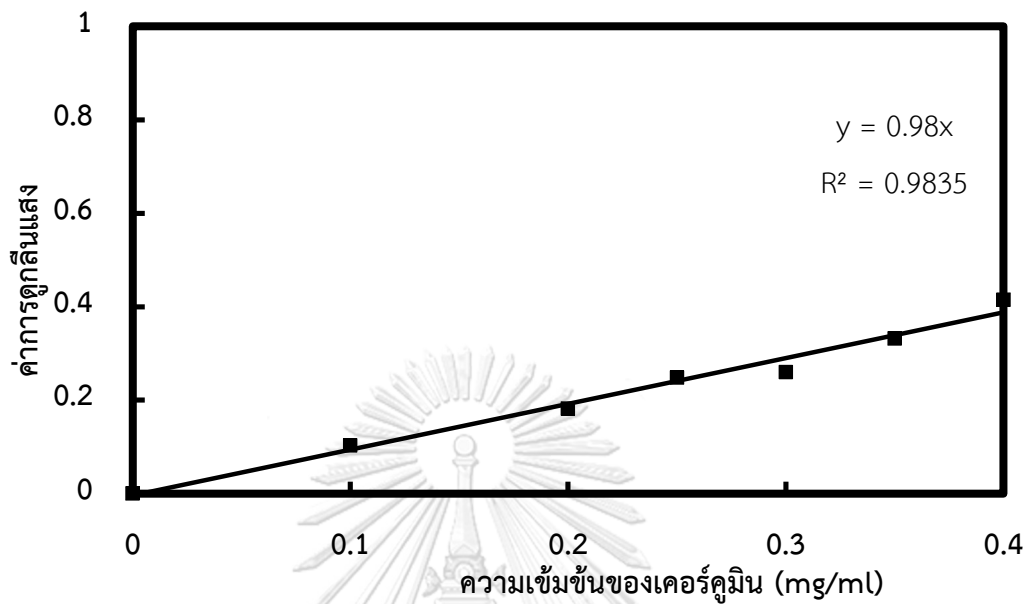


รูปที่ ค. 2 กราฟแสดงเทคนิค FTIR Spectra Deconvolution ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ความเข้มข้น 0.09% SDS โดยน้ำหนัก (----- Curve-fitted spectrum, — Deconvoluted spectrum)



รูปที่ ค. 3กราฟแสดงเทคนิค FTIR Spectra Deconvolution ของสารผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินไหมไทยความเข้มข้น 2% โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุลบที่ความเข้มข้น 0.09%STS โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (----- Curve-fitted spectrum, — Deconvoluted spectrum)


## ภาคผนวก ง



รูปที่ ง. 4 กราฟมาตรฐานของเคอร์คูมินในสารละลายบัฟเฟอร์ normal saline (pH 5.5) ที่ความยาวคลื่น 430 nm

ภาคผนวก จ

## ผลการพิจารณาจริยธรรมสัตว์ทดลอง

เลขที่ใบรับรอง 01/2561		เลขที่โครงการวิจัย 021/2560
คณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย		
-----		
ใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ณ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย		
ชื่อโครงการวิจัย		
(ภาษาไทย) ไฮโดรเจลไฟโบรอินไหมไทยบรรจุเคอร์คูมินสำหรับการรักษาแผลในหนูทดลอง		
(ภาษาอังกฤษ) THAI SILK FIBROIN HYDROGEL CONTAINING CURCUMIN FOR THE TREATMENT OF WOUND IN MICE MODEL		
ผู้เสนอโครงการใช้สัตว์ทดลอง ศาสตราจารย์ ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช		
หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย		
ขอเสนอโครงการใช้สัตว์ทดลองนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์แล้ว เห็นว่า มีความสอดคล้องกับจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์สภาวิจัยแห่งชาติ จึงเห็นสมควรให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์ตามที่ขอเสนอโครงการใช้สัตว์ทดลองนี้ได้		
ลงนาม..... (รองศาสตราจารย์ นายแพทย์สมพล สงวนวงศ์วิกุล) ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์	ลงนาม..... (ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ) คณบดี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	
วันที่รับรอง : มกราคม พ.ศ. 2561		
วันหมดอายุ : มกราคม พ.ศ. 2562		

รูปที่ จ. 1 ใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์  
เลขที่โครงการวิจัย 021/2560



## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวณัฐกานต์ จันทร์ทอง เกิดเมื่อวันที่ 20 กันยายน พ.ศ. 2533 ที่จังหวัดนครศรีธรรมราช

เข้าศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาที่โรงเรียนจุฬาภรณราชวิทยาลัย จังหวัดตรัง สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมชีวการแพทย์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2552 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวเวช เมื่อปีการศึกษา 2558 คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ถูกนำเสนอการในการประชุมผลงานทางวิชาการระดับนานาชาติ The 5th Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology 2017 ในวันที่ 28 กุมภาพันธ์ ถึง 2 มีนาคม 2560 ณ Maruay Garden Hotel, Bangkok, Thailand

ผลงานที่นำเสนอ

Nattakan C., Siriporn D., Suthiluk P., and Juthamas R (2017). “Effect of anionic surfactants on the gelation of silk fibroin and solubility of curcumin for controlled release application”. The 5th Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology 2017: 126-136

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY