

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจะพัฒนาแผ่นแปะที่มีประสิทธิภาพในการสมานแผล และลดการอักเสบ โครงสร้างของแผ่นแปะประกอบไปด้วยสารสกัดโปรตีนจากรังไหม ได้แก่ ไฟโบรอิน และมีสารสกัดจากกุ้งว่าน หางจะเข้กระจายตัวอยู่ทั่วแผ่นแปะ โดยใช้หลักการเตรียมสารสกัดให้อยู่ในรูปสารละลายแล้วเทลงแม่พิมพ์ รังไหมที่ใช้ในการศึกษานี้มี 2 ชนิดคือรังไหมสีขาวและสีเหลือง จากวิธีการสกัดที่พัฒนาขึ้นทำให้ได้สารสกัดจากรังไหมที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายล้าลี การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในสารสกัดโดยใช้ ดิซี โปรตีน แอสเส คิท พบว่าสารสกัดจากรังไหมสีขาว และสีเหลืองมีปริมาณโปรตีนโดยเฉลี่ยเท่ากับ 85.8 ± 2.2 และ 92.7 ± 2.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักตามลำดับ ในส่วนของการตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารสกัดโปรตีนจากรังไหมได้ใช้วิธี เอสดีเอส-เพจ พบว่าสารสกัดที่ได้จากรังไหมขาวและเหลืองจะปรากฏแถบของโปรตีนไฟโบรอินซึ่งมีลักษณะเป็น แถบกว้างในช่วง 100 - 250 กิโลดาลตัน และพบแถบบางๆ ของโปรตีนที่ 45 กิโลดาลตัน สำหรับเอกลักษณ์ทาง เคมีของโปรตีนที่สกัดได้จากรังไหมทำการพิสูจน์โดยใช้เทคนิคเอพีไออาร์ สเปคโตรสโคปี อาจกล่าวได้ว่าสาร สกัดจากรังไหมขาวและรังไหมเหลือง มีเอกลักษณ์ทางเคมีไม่แตกต่างจากเอกลักษณ์ทางเคมีของโปรตีนไฟโบร อินที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ สำหรับการสกัดโปรตีนจากกุ้งว่านหางจะเข้ พบว่าสารสกัดกุ้งว่านหางจะเข้ที่ ตกตะกอนโปรตีนโดย 35 และ 55 เปอร์เซ็นต์ของแอมโมเนียมซัลเฟตมีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายล้าลี และมี ปริมาณโปรตีนเฉลี่ย 4.2 ± 0.8 และ 4.8 ± 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักตามลำดับ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเฉลี่ย 1.7 ± 0.2 และ 1.6 ± 0.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบแถบของโปรตีนที่แยกออกมาโดยวิธีเอสดีเอส-เพจ อย่าง ชัดเจนที่ 25 กิโลดาลตัน แผ่นแปะที่เตรียมจากสารสกัดจากรังไหมสีเหลืองในปริมาณ 1.95 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักต่อปริมาตร ผสมกับสารสกัดจากกุ้งว่านหางจะเข้ตกตะกอนโปรตีนด้วย 35 เปอร์เซ็นต์ของแอมโมเนียม ซัลเฟตในปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (สูตร Y35A0.05P) มีจะมีประสิทธิภาพในการสมาน แผลและลดการอักเสบแผลที่ผิวหนังของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดยสเตรปโตโซโตซินดีทีที่สุด บาดแผลที่ ปรากฏหายสนิทเมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ชี้ให้เห็นว่าความหนาแน่น และ ลักษณะคอลลาเจน รวมทั้งการกระจายตัวของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ผ่านการรักษาโดยใช้แผ่น แปะสูตร Y35A0.05P มีลักษณะที่ไม่แตกต่างกับเนื้อเยื่อผิวหนังของหนูปกติ (หนูที่ไม่เป็นเบาหวาน) นอกจากนั้นแผ่นแปะดังกล่าวยังมีความแข็งแรง โดยมีค่าความแข็งแรงเชิงกลเท่ากับ 42.44 ± 1.90 เมกะ ปาสคาลต่อตารางมิลลิเมตร ความสามารถในการดูดซับน้ำเท่ากับ 37.9 ± 2.6 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการพองตัว ภายหลังจากดูดซับน้ำเท่ากับ 0.6 ± 0.1 และสามารถคงรูปอยู่ได้เมื่อสัมผัสกับน้ำ แผ่นแปะนี้ยังมีความคงตัว ทางกายภาพเมื่อเก็บแผ่นแปะไว้ที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28 ± 2 องศาเซลเซียส) และความชื้นต่ำ ปริมาณโปรตีนในแผ่นแปะลดลงประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์จากปริมาณโปรตีนตั้งต้น หลังจากถูกเก็บในสภาวะ ดังกล่าวเป็นเวลา 120 วัน และจากการตรวจสอบเอกลักษณ์ของโปรตีนโดยเอสดีเอส-เพจ ยังคงพบแถบโปรตีน ของไฟโบรอินและสารสกัดจากกุ้งว่านหางจะเข้

Abstract

The aim of this study was to develop patch with wound healing and anti-inflammatory activity. The patch composed of the protein extract from silk cocoon, namely fibroin, blended with the protein extract from aloe gel, and was prepared by the casting technique. Two sources of silk cocoon, yellow and white type, were used to prepare the silk protein extract. Our developed procedure provided the silk extracts with a cotton-like characteristic. Protein analysis using DC Protein Assay Kit indicated the protein content in an amount of 85.8 ± 2.2 and $92.7 \pm 2.1\%$ w/w for the white and yellow silk cocoon extract, respectively. Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) method was used to clarify the characteristic of the extracted fibroin protein. A densely stained protein bands with a wide range of molecular weight of 100 -250 kDa and a specific band at 45 kDa were found. Infrared spectra obtained from the fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy technique indicated that the chemical characteristics of the fibroin extracts were not different from those previously reported. Focusing on the extract from the aloe gel, the extract precipitated in 35% or 55% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ showed a cotton-like characteristic. The amounts of protein and carbohydrate contained in the 35% or 55% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ precipitation were 4.2 ± 0.8 or $4.8 \pm 1.0\%$ w/w, respectively, and 1.7 ± 0.2 or $1.6 \pm 0.1\%$ w/w, respectively. SDS-PAGE technique revealed a specific protein band at 25 kDa. The patch prepared from 1.95% w/v of the protein extract from the yellow silk cocoon blended with 0.05% w/v of the 35% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ precipitated protein of the aloe gel (Y35A0.05P formula) showed best efficacy on wound healing and anti-inflammatory activity in streptozotocin-induced diabetes in rats. The wound was completely healed after 21 day of treatment. Histology study indicated the similarity of the density and distribution pattern of collagen and fibroblast cell between the skin tissue samples obtained from the wound area of the diabetes rat and those obtained from the non- diabetes rat. Additionally, the Y35A0.05P patch showed the mechanical strength with $42.44 \pm 1.90 \text{ MPa/mm}^2$ of the tensile strength value. Its water uptake ability and swelling ratio was $37.9 \pm 2.6\%$ and 0.6 ± 0.1 , respectively. It also showed retainability. The patch showed a physical stability when being kept at room temperature ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) with low humidity. After being kept at such conditions, the protein content in the patch was decreased by 25% of an initial content, and the protein characteristic from SDS-PAGE still revealed the protein bands of the silk fibroin and aloe gel proteins.