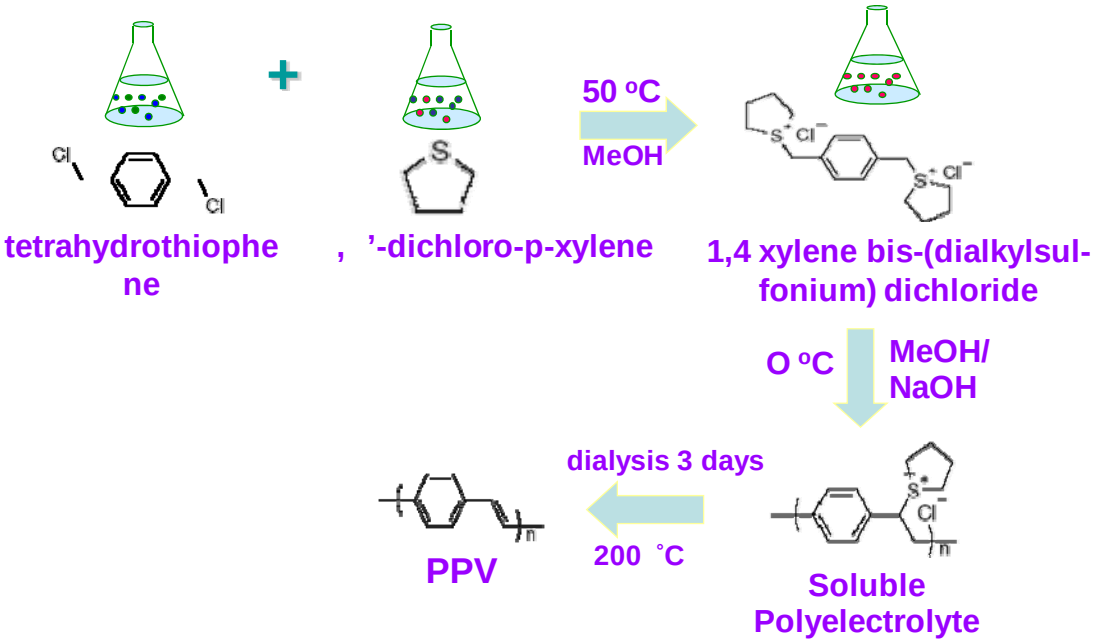
บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

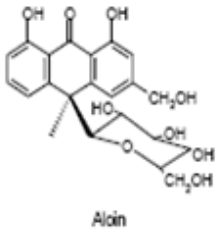
การขึ้นรูปแผ่นแปะยาจากพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิพาราฟีนิลีนไวนิลีนและพอลิอะคริลาไมด์

1) ทำการสังเคราะห์พาราฟีนิลีนไวนิลีนผ่าน sulfonium precursor ดังแสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 การสังเคราะห์พอลิพาราฟีนิลีนไวนิลีนผ่าน sulfonium precursor [16]

2) โดปยาสมุนไพรไทยที่สกัดได้จากว่านหางจระเข้ ติดลงบนพอลิพาราฟีนิลีนไวนิลีน ด้วยวิธี acid-assisted redox doping reaction โดยตัวยาที่จะใช้ในการวิจัยนี้เป็นยาที่ออกฤทธิ์รักษาแผลไฟไหม้ คือ Aloin ซึ่งแสดงสูตรโครงสร้างในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 สูตรโครงสร้าง Aloin

3) หาปริมาณยาที่สามารถโดปติดลงบนพอลิพาราฟินิลีนไวนิลีนด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy

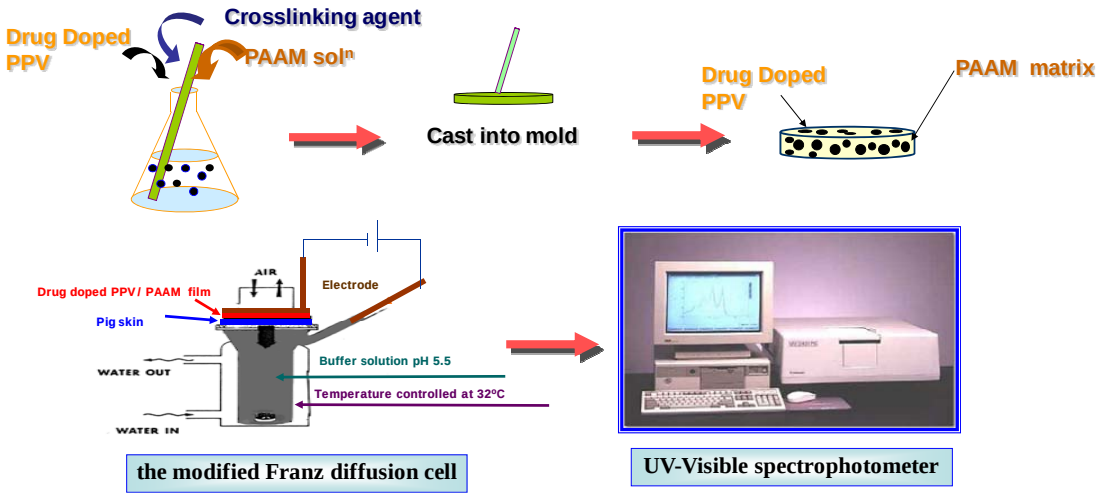
4) ขึ้นรูปแผ่นแปะยาจากพอลิเมอร์ผสมพอลิพาราฟินิลีนไวนิลีนและพอลิอะคริลาไมด์ไฮโดรเจล ที่สัดส่วนพอลิพาราฟินิลีนไวนิลีน/พอลิอะคริลาไมด์ในพอลิเมอร์ผสมต่างๆ ดังแสดงใน รูปที่ 3

5) ทดสอบหาปริมาณยาที่คงอยู่หลังจากเก็บแผ่นแปะยาหลังจากขึ้นรูปแล้วที่เวลาต่างๆ ตั้งแต่เตรียมแผ่นแปะยาจนกระทั่งเก็บครบ 6 เดือน (โดยระยะเวลาระหว่างนี้จะเก็บข้อมูลอาทิตย์ละ 1 ครั้ง) โดยการหาปริมาณยาที่คงอยู่นั้นสามารถหาได้ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer และ ICP

หมายเหตุ: ตามที่คณะอนุกรรมการเทคนิคฯ ได้มีความเห็นให้ศึกษาอายุการใช้งานของแผ่นแปะอย่างน้อย 1 ปี นั้นโครงการจะศึกษาส่วนนี้ต่อจนกระทั่งครบเวลา 1 ปี นับตั้งแต่เตรียมแผ่นแปะยา โดยจะรายงานผลเฉพาะส่วนดังกล่าวให้ศูนย์ฯได้ทราบ ภายหลังจากกำหนดปิดโครงการ

6) ทดสอบและวิเคราะห์สมบัติต่าง ๆ เช่น วัดความนำไฟฟ้าของพอลิเมอร์นำไฟฟ้าหลังโดปตัวยาลงไปแล้ว,โครงสร้างทางเคมี, ลักษณะสัณฐาน, ขนาดรูพรุนของไฮโดรเจล

7) ทดลองนำพอลิเมอร์ผสมที่เตรียมได้มาทดลองใช้กับสภาวะเลียนแบบผิวหนังมนุษย์ โดยใช้หนังหมูที่ตายแทนหนังคน ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ในช่วง 0 – 0.1 V (เนื่องจากผลการทดลองจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าที่ความต่างศักย์มากกว่า 0.1 V นั้นรูพรุนของพอลิอะคริลาไมด์ไฮโดรเจลจะหดตัวเมื่อเพิ่มความต่างศักย์) โดยจะทำการทดลองนำส่งยาที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส และ ความเป็นกรดด่าง (pH) = 5.5 ดังแสดงในรูปที่ 3.3 และคำนวณหาปริมาณยาที่สามารถนำส่งผ่านผิวหนังหมูมาได้ด้วยการใช้หลักการคำนวณหาความเข้มข้นของสารด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy



รูปที่ 3.3 วิธีเตรียมพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิเมอร์นำไฟฟ้าและไฮโดรเจลเพื่อนำมาทดสอบเป็นแผ่นแปะยา

3.1 สารเคมีที่ใช้

- Aloin (AR grade, Fluka)
- Acrylamide, AAM (AR grade, Fluka, China)
- N,N′ methylenebisacrylamide, (N,N′-MBA) (AR grade, Fluka)
- Tetramethylenediamine, TEMED (AR grade, Fisher Scientific)
- Ammonium peroxodisulfate (AR grade, Fluka)
- Sodium acetate (AR grade, Ajax Chemicals)
- Glacial acetic acid (AR grade, Mallinckrodt Chamicals)
- α,α'-dichloro-p-xylene
- Tetrahydrothiophene, THT (AR grade, Aldrich,)
- Acetone
- Methanol (AR grade, Merck)

3.2 การสังเคราะห์ *poly(p-phenylene vinylene)*

พอลิพาราฟีนิลีนไวนิลีนถูกสังเคราะห์ผ่านวิธี *polyelectrolyte precursor* [*16*] เตรียมสารละลาย α,α'-dichloro-p-xylene 10 กรัมละลายในเมทานอล 150 มิลลิลิตร และเติม Tetrahydrothiophene 15 มิลลิลิตร นำสารละลายไปให้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นตกตะกอนด้วยอะซีโตน

ได้เกลือ *p-phenylene dimethylene bis tetramethylene sulfonium chloride* ที่ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำเกลือที่ได้มาล้างด้วยสารละลายอะซีโตนที่ อุณหภูมิห้อง แล้วอบให้แห้ง

นำเกลือที่ล้างด้วยอะซีโตนแล้วมาทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 *M* เป็นเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส และหยุดปฏิกิริยาด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.4 *M* แล้วนำมา *dialyzed* เป็นเวลา 3 วัน เพื่อกำจัดโมเลกุลเล็กและสารเจือปน นำ *poly(p-phenylene)bis(tetrahydrothiophenechloride)* ที่สังเคราะห์ได้มาอบที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมงที่สุญญากาศ จะได้ *poly(p-phenylene vinylene)* ออกมา

3.3 การเตรียมแผ่นแปะยา *Aloin-Loaded Polyacrylamide Hydrogel (Aloin/PAAM)*

1.27% *w/w* ของแผ่นแปะยาถูกเตรียมจากปฏิกิริยา *free radical polymerization* โดยนำ 2.32 กรัม ของ *acrylamide* มอนอเมอร์ละลายในสารละลายอะโลอินโดยใช้ *N'N-methylenebisacrylamide* เป็นตัวเชื่อมโยง โดยใช้ *Ammonium peroxodisulfate* และ *Tetramethylenediamine* เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยาและตัวเร่งปฏิกิริยาตามลำดับ เพื่อศึกษาผลของขนาดของรูพรุนของไฮโดรเจล *Aloin/PAAM* ไฮโดรเจลถูกเตรียมขึ้นที่อัตราการเชื่อมโยงต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมพอลิอะคริลาไมด์ที่อัตราการเชื่อมโยงต่างๆ

สารเคมี / ตัวอย่าง	มอนอเมอร์ (Acrylamide monomer), กรัม	ตัวเชื่อมโยง (Methylenebisacrylamide), กรัม	ตัวเร่งปฏิกิริยา (Tetramethylenediamine) ไมโครลิตร	ตัวริเริ่มปฏิกิริยา (Ammonium peroxodisulfate), กรัม
PAAM_01	2.32	0.0116	20	0.01
PAAM_02	2.32	0.0232	20	0.01
PAAM_03	2.32	0.0500	20	0.01
PAAM_04	2.32	0.0800	20	0.01
PAAM_05	2.32	0.1220	20	0.01
PAAM_06	2.32	0.1856	20	0.01

3.4 การโดปยา *aloin* ที่สกัดได้จากว่านหางจระเข้ ติดลงบน *Poly(p-phenylene vinylene)*

สารอะโลอินที่ถูกนำมาเป็นยาต้นแบบในงานวิจัยนี้ ถูกนำมาโดปติดลงบนพอลิพาราฟินิลีนไวนิลีนด้วยวิธี acid –assisted redox doping reaction เพื่อนำไปผสมกับพอลิอะคริลาไมด์ไฮโดรเจลเพื่อนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นแปะยาสมุนไพร [17]

3.5 การเตรียมแผ่นแปะยา *Aloin-doped Poly(p-phenylene vinylene)/ Polyacrylamide Hydrogel (Aloin doped PPV/PAAM)*

เตรียมจากปฏิกิริยา *free radical polymerization* โดยนำ 2.32 กรัมของ *acrylamide* มอนอเมอร์ละลายในสารละลาย *Aloin-doped Poly(p-phenylene vinylene)* โดยใช้ *N'N-methylenebisacrylamide* เป็นตัวเชื่อมโยง โดยใช้ *Ammonium peroxodisulfate* และ *Tetramethylenediamine* เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยาและตัวเร่งปฏิกิริยาตามลำดับ

3.6 วิเคราะห์โครงสร้างของอะโลอินโดปพอลิพาราฟินิลีนไวนิลีน

พอลิพาราฟินิลีนไวนิลีนถูกตรวจสอบความสำเร็จในการสังเคราะห์ และการโดปติดของยาอะโลอินบนพอลิพาราฟินิลีนไวนิลีนด้วยเครื่อง FTIR spectroscopy (Fourier Transform Infrared spectroscopy) และการวัดการนำไฟฟ้าของพอลิพาราฟินิลีนไวนิลีนและอะโลอินบนพอลิพาราฟินิลีนไวนิลีน ด้วยเครื่องวัดที่สร้างขึ้นเอง แบบ Two point probe ซึ่งต่อกับตัวจ่ายไฟ (Voltage supplier) ซึ่งสามารถวัดความต่างศักย์ตกคร่อมและกระแสได้ โดยคำนวณค่าการนำไฟฟ้าจาก = (I/KVt) เมื่อ I คือกระแสที่วัดได้, V คือความต่างศักย์ตกคร่อม (V), t คือ ความหนา,และ K คือค่าคงที่ซึ่งคำนวณจากการวัดซิลิคอนเวเฟอร์ที่ทราบความต้านทาน [18].

3.7 การทดสอบคุณสมบัติของไฮโดรเจล

การหาสัดส่วนการพองตัว (Swelling ratio, SR)

เป็นการวัดความสามารถในการดูดซับน้ำของแผ่นไฮโดรเจลที่สังเคราะห์ขึ้นโดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 37.0 ± 1.0 C ซึ่งเท่ากับอุณหภูมิของร่างกาย ในการหาค่าสัดส่วนการพองตัว (Swelling ratio, SR) ได้มาจากการนำค่าการดูดซับน้ำของไฮโดรเจลที่เวลาต่างๆ จากการหาปริมาณน้ำสมดุลข้างต้นมาคำนวณ

ตามสมการ (3) ซึ่งเป็นตัวแปรหนึ่งที่บ่งบอกถึงความสามารถในการดูดซับน้ำ โดยจะเปรียบเทียบกับน้ำหนักแห้ง 1.0 กรัม ของไฮโดรเจล และในสมการที่ 4 แสดงการคำนวณหาค่าน้ำหนักที่สูญเสียของไฮโดรเจลเมื่อมีการบวมตัวในน้ำ [19]

$$\text{Degree of swelling (\%)} = \frac{M \quad M_d}{M_d} \text{ x } 100 \qquad (3)$$

$$\text{Weight loss (\%)} = \frac{M_i \quad M_d}{M_i} \text{ x } 100 \qquad (4)$$

โดยที่ M = น้ำหนักของไฮโดรเจลที่บวมน้ำ

M_d = น้ำหนักของไฮโดรเจลที่แห้ง

M_i = น้ำหนักของไฮโดรเจลก่อนนำไปแช่น้ำ

วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของแผ่นแปะสารสกัดจากว่านหางจระเข้จากพอลิอะคริลาไมด์ไฮโดรเจล

โครงสร้างของไฮโดรเจลถูกศึกษาโดยนำไฮโดรเจลที่บวมน้ำแล้วมาทำการระเหิดน้ำออกด้วยเครื่อง Freeze dry จากนั้นเราไฮโดรเจลแห้งมาทำการส่งดูโครงสร้างภายในเพื่อศึกษาขนาดและลักษณะของรูพรุนด้วยเครื่อง SEM (Scaning Electron Microscope)

ขนาดของรูพรุนของไฮโดรเจลถูกคำนวณจากสมการ (5)

$$v_{2,s}^{\frac{1}{3}} C_n \left(\frac{2M_c}{M_r}\right)^{1/2} l \qquad (5)$$

โดยที่ = ขนาดรูพรุนของไฮโดรเจล

M_c = *น้ำหนักโมเลกุลระหว่างสายโซ่ที่ถูกเชื่อมโยง*

M_r = *น้ำหนักโมเลกุลของโมโนเมอร์*

C_n = Flory characteristic ratio ของพอลิอะคริลาไมด์ = 8.8

$v_{2,s}$ = สัดส่วนโดยปริมาตรของพอลิเมอร์ในสภาวะบวมน้ำ

l = ความยาวพันธะระหว่างคาร์บอน-คาร์บอน =1.54 Å

หาน้ำหนักโมเลกุลระหว่างสายโซ่โดยคำนวณจากสมการ (6)

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} \frac{\frac{\bar{v}}{\bar{V}_1} \ln(1 - v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi_1 v_{2,s}^2}{v_{2,r} \left(\frac{v_{2,s}}{v_{2,R}}\right)^{1/3} - \frac{1}{2} \frac{v_{2,s}}{v_{2,r}}} \qquad (6)$$

M_n คือ น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ก่อนเกิดปฏิกิริยาเชื่อมโยง หาไว้ให้แล้ว 36,400 g/mol),

$\bar{v}$ คือ ปริมาตรจำเพาะของไฮโดรเจล = 0.741 mL/g ,

$\bar{V}_1$ คือ ปริมาตรด้วยโมลของน้ำ (18.1 mL/mol).

$v_{2,r}$ คือ อัตราส่วนของพอลิเมอร์ต่อปริมาตรก่อนทดสอบการบวม

$v_{2,s}$ คือ อัตราส่วนของพอลิเมอร์ต่อปริมาตรในขณะที่พอลิเมอร์บวม

interaction parameter of PAAM-water, is 0.48