

Thesis Title	Epigallocatechin Gallate Loaded Chitosan Nanoparticles	
Author	Miss Banthita Saengsitthisak	
Degree	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)	
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Chadarat Duangrat	Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi	Member

ABSTRACT

The main objectives of this study were to study the factors which effect on the preparation of epigallocatechin gallate (EGCG) nanoparticles and investigate the physicochemical properties of the prepared CS nanoparticles. Nanoparticles were prepared by methods based on ionotropic complexation between chitosan (CS) and sodium carboxymethylcellulose (SCMC). Various factors influencing in nanoparticles preparation, such as concentration, pH, ratio of the polymers, mixing duration and amount of EGCG, were systematically optimized by evaluating size, size distribution, surface charge and entrapment efficiency of the prepared nanoparticles. The EGCG release profiles at pH 1.2, 6.8 and 7.4 and the stability of EGCG in the nanoparticles at -20° C, 30° C and 40 ° C were further examined by HPLC-UV. The antioxidant activity of EGCG in nanoparticles and compared with the extract was investigated by 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) method and ferric reducing/antioxidant power (FRAP) methods. The best nanoparticulate system showed the average smallest size of 228.25 ± 7.47 nanometer with narrow range of size distribution (0.28 ± 0.03) and high loading efficiency

(98.04 ±0.60%). Maximal EGCG loading was obtained by adding the appropriate amount of SCMC into the EGCG containing CS solution. The suitable condition was 0.1% CS (pH 3) solution and 1% SCMC with the mixing ratio between CS and SMCC was 1:1. Morphology of the nanoparticles inquired by transmission electron microscopy (TEM) demonstrated that the nanoparticles with and without EGCG extract were of spherical shape. The release study indicated an initial burst release of EGCG extract from the nanoparticles after 15 min in a medium, pH 1.2. Sustained and limit release of EGCG was observed at the higher pHs. This was due to high extent of EGCG degradation at neutral and basic pHs. However, at different storage temperatures, the stability of EGCG could be preserved in the nanoparticles compared with the untrapped EGCG. Antioxidant activity of EGCG analysis by ABTS and FRAP methods showed that the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) value EGCG nanoparticles suspension was 54.96 ± 4.46 mmol/mg and the equivalent concentration as the concentration of antioxidant having a ferric-TPTZ reducing ability equivalent to that of a the concentration of $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (EC_1) was 8.96 ± 0.62 mmol/mg, respectively.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

อนุภาคไคโตซานขนาดนาโนที่บรรจุอีพีแอลแคททีซิน

ผู้เขียน

แกลเลท

นางสาว บัณฑิตา แสงสิทธิศักดิ์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรเกสรกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. ชฎารัตน์ ดวงรัตน์

ประธานกรรมการ

รศ.ดร. ศิริพร โอโกโนกิ

กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมอนุภาคขนาดนาโนจากไคโตซานและศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของอนุภาคขนาดนาโนที่เตรียมได้จากไคโตซาน โดยวิธีการเตรียมอนุภาคขนาดนาโนดังกล่าวได้อาศัยการเกิดไอโอโนโทรปิก คอมเพลกเซชันระหว่าง

ไคโตซานและโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส โดยทำการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเตรียมอนุภาคขนาดนาโน เช่น ความเข้มข้นของโพลีเมอร์ ความเป็นกรด-ด่าง อัตราส่วนระหว่างโพลีเมอร์

ระยะเวลาในการปั่นและปริมาณของอีพีแอลแคททีซิน แกลเลท ถูกปรับให้ได้สภาวะที่เหมาะสม

ในการเตรียมอนุภาคขนาดนาโน โดยพิจารณาจากขนาดอนุภาค การกระจายตัวขนาดอนุภาค ประจุบนผิวอนุภาคและประสิทธิภาพในการเก็บกักสารของอนุภาคขนาดนาโน จากนั้นจึงนำอนุภาคที่

เตรียมได้มาศึกษาการปลดปล่อยอีพีแอลแคททีซิน แกลเลท ที่ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 1.2, 6.8

และ 7.4 และ ตรวจสอบความคงตัวของอีพีแอลแคททีซิน แกลเลท ที่อุณหภูมิ -20, 30 และ 40

องศาเซลเซียส สารสกัดที่มีอยู่ในอนุภาคนาโนศึกษาโดยอาศัยวิธีการวิเคราะห์โดย HPLC-UV ทำการตรวจสอบลักษณะรูปร่างของอนุภาคดังกล่าวอาศัยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน. นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในอนุภาคนาโน โดยวิธี 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS method) และ วิธี Ferric reducing/antioxidant power (FRAP method) ซึ่งเป็นการวัดความสามารถของสารในการรีดิวซ์เฟอริกให้เป็นเฟอร์รัส โดยอพิเกลโลแคททิซิน แกลเลทอนุภาคที่เตรียมได้จากสภาวะที่เหมาะสมมีขนาดอนุภาคที่เล็กที่สุด คือ 228.25 ± 7.47 นาโนเมตร มีค่าการกระจายตัวขนาดอนุภาคแคบ (0.28 ± 0.03) และประสิทธิภาพในการเก็บกักสารสูง ($98.04 \pm 0.60\%$) พบว่าการเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสปริมาณที่เหมาะสมลงในสารผสมของสารละลายอพิเกลโลแคททิซิน แกลเลท และสารละลายไคโตซานให้ผลการเก็บกักอพิเกลโลแคททิซิน แกลเลทในปริมาณที่มากที่สุด โดยสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอนุภาคนาโนได้จากการเตรียมสารละลายไคโตซานให้มีความเข้มข้น 0.1% และมีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 และสารละลายโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีความเข้มข้น 1% ทำการผสมไคโตซานต่อโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสในอัตราส่วน เท่ากับ 1:1 เมื่อตรวจสอบจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องผ่านพบว่าอนุภาคที่มีการเก็บกักและไม่เก็บกักสารสกัดมีลักษณะเป็นทรงกลม จากการศึกษการปลดปล่อยสารสกัดอพิเกลโลแคททิซิน แกลเลทในอนุภาคนาโนพบว่าที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 1.2 มีการปลดปล่อยแบบทันทีหลังจากการแช่ในตัวกลางเป็นเวลา 15 นาที ในความเป็นกรด-ด่างที่สูงขึ้นพบว่าการปลดปล่อยสารสกัดอพิเกลโลแคททิซิน แกลเลท เป็นแบบเนิ่นและจำกัด ทั้งนี้เนื่องจากอพิเกลโลแคททิซิน แกลเลทมีการสลายตัวในสภาวะที่เป็นกลาง และด่างค่อนข้างสูง การศึกษาความคงสภาพของอพิเกลโลแคททิซิน แกลเลทในสภาวะอุณหภูมิที่

แตกต่างกัน พบว่าอีพิกัลโลแคททิจิน แกลเลทในอนุภาคขนาดนาโนมีความคงสภาพมากกว่าที่ไม่ได้ถูกเก็บกัก จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของอีพิกัลโลแคททิจิน แกลเลทด้วยวิธี ABTS พบว่าอีพิกัลโลแคททิจิน แกลเลทในอนุภาคขนาดนาโนจากไคโตซานและโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส มีค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) เท่ากับ 54.96 ± 4.46 mmol/mg. ส่วนการวัดด้วยวิธี FRAP พบว่าอีพิกัลโลแคททิจิน แกลเลท ในอนุภาคขนาดนาโนจากไคโตซานและโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ให้ค่า EC_{50} เท่ากับ 8.96 ± 0.62 mmol/mg.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved