

Thesis Title Development of Nanocream Formulation of Active Extract from Rhizome of *Tacca chantrieri* Andre.

Author Miss Suchada Sudtiyanwimon

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi	Advisor
Assoc. Prof. Dr. Wirat Niwatananun	Co-advisor
Asst. Prof. Dr. Songwut Yotsawimonwat	Co-advisor

ABSTRACT

The aims of the present study were to develop a nanocream of active extract from rhizomes of *Tacca chantrieri* Andre. and to characterize the saponin compounds existing in the partial pure extract (PPE) of *T. chantrieri*. The development of the nanocream started with the test of anti-inflammatory activity and entrapment of the PPE into chitosan-alginate nanoparticles in order to improve its stability before incorporating in nanocream bases. The results revealed that the saponin type of the PPE was triterpene glycosides. The PPE dissolved easily in water, DMSO, and ethanol but not in nonpolar solvents. The aqueous solution of the extract (1 %w/v of PPE in DI water) gave acidic pH of about 3.48 ± 0.05 . The anti-inflammatory test by using an enzymatic assay showed that the PPE (4 mg/ml) and a standard aspirin (4 mg/ml) possessed cyclooxygenase-2 inhibition of 27.74 ± 15.48 % and 55.66 ± 1.81 %, respectively. The IC_{50} of anti-inflammatory action of PPE was found to be 4.97 mg/ml. In the formulation process, the nanocream with PPE of 1.5 %w/v was considered to be developed. The effects of molecular weight (MW) and degree of deacetylation (DD) of chitosan, and the concentration of PPE on particle size,

polydispersity index (PDI), zeta potential and encapsulation efficiency were investigated. It was found that all these factors played an important role on the size, size distribution, and zeta potential as well as the encapsulation efficiency of the PPE loaded nanoparticles. Using chitosan with MW of 22,000 kDa and 94% DD and PPE at 0.5% w/v was found to be the appropriate condition to prepare the chitosan-alginate nanoparticles. This condition could yield chitosan-alginate nanoparticles with particle size of 229.73 ± 7.38 nm, size distribution of 0.25 ± 0.01 , and encapsulation efficiency of 72.16 ± 0.28 %. The result from scanning electron microscope indicated that the morphology of the empty and PPE loaded chitosan-alginate nanoparticles were of spherical shape. The developed PPE nanocream after keeping at room temperature (28-30 °C), 4 °C, and 45 °C for 3 months and at heating-cooling condition for 6 cycles demonstrated good stability. Moreover, the developed PPE nanocream showed no irritation to the skin of the tested animals.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาตำรับครีมนาโนของสารสกัดออกฤทธิ์จากเหง้า
ของเนระพูสีไทย

ผู้เขียน นางสาวสุชาดา สุทธิญาณวิมล

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
รศ. ดร. วิรัตน์ นิวัฒน์นันท์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ผศ. ดร. ทรงวุฒิ ยศวิมลวัฒน์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพัฒนาตำรับครีมนาโนของสารสกัดออกฤทธิ์จากเหง้าของเนระพูสีไทยและศึกษาชนิดของสารซาโปนิน ซึ่งเป็นสารสำคัญของสารสกัดกิ่งปรีสุทธิของเหง้าเนระพูสีไทย (พีพีอี) ในการพัฒนาตำรับได้ทำการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดรวมทั้งศึกษาการกักเก็บสารสกัดพีพีอีในอนุภาคไลโปโซม-อัลจินต เพื่อปรับปรุงความคงตัวของสารสกัดก่อนนำไปผสมลงในครีมพื้นนาโน ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าซาโปนินที่พบจากส่วนของพีพีอี เป็นชนิด triterpene glycosides การศึกษาการละลายพบว่าพีพีอี สามารถละลายใน น้ำ, ไดเมทิลซัลฟอกไซด์และแอลกอฮอล์ แต่ไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว สารละลายร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของพีพีอีในน้ำปราศจากไอออนมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 3.48 ± 0.05 การศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของพีพีอีโดยใช้วิธีการทดสอบเอนไซม์ พบว่าพีพีอีอาจมีฤทธิ์ต่อกระบวนการยับยั้งกระบวนการเกิดการอักเสบเช่นเดียวกับยาแอสไพริน โดยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2) โดยพบว่าพีพีอีและยาแอสไพรินที่ความเข้มข้นเดียวกันคือ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 27.74 ± 15.48 และ 55.66 ± 1.81 ตามลำดับ ค่าการยับยั้งที่ร้อยละ 50 ของพีพีอีต่อการยับยั้งการอักเสบของ COX-2 มีค่าเท่ากับ 4.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การพัฒนาตำรับได้พิจารณาตั้งสูตรตำรับที่มีความเข้มข้นของพีพีอีเท่ากับร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในการศึกษาการกักเก็บสารสำคัญในอนุภาคไลโปโซม-อัลจินต ได้ทำการศึกษาปัจจัยของ น้ำหนักโมเลกุลของไลโปโซม (MW) ปริมาณคืออะเซทิลเลชัน (% DD) ของ

ไคโตซาน และความเข้มข้นของพีพีอีต่อขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ผิวของอนุภาค และประสิทธิภาพในการกักเก็บสาร ผลการศึกษาพบว่าทั้งสามปัจจัยมีผลต่อทั้งขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ผิวของอนุภาค และประสิทธิภาพในการกักเก็บสาร โดยพบว่าสภาวะที่มีความเหมาะสมที่สุดในการกักเก็บสารคือ ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 22,000 กิโลดาลตัน มีค่า %DD เท่ากับร้อยละ 94 และใช้ค่าความเข้มข้นของสารพีพีอีที่ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยจะให้ขนาดอนุภาคเท่ากับ 229.73 ± 7.38 นาโนเมตร มีการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.25 ± 0.01 และมีประสิทธิภาพการกักเก็บร้อยละ 72.16 ± 0.28 ผลการศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าลักษณะภายนอกของอนุภาคไคโตซานอัลจินเตนาโนพาคีเกิดทั้งที่มีสารสกัด PPE และที่ไม่มีสารสกัด PPE มีลักษณะเป็นทรงกลม การศึกษาด้านความคงตัวโดยเก็บนาโนครีมของ PPE ในสภาวะอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส), อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือนและสภาวะเร่งโดยเก็บที่อุณหภูมิสูงสลับกับอุณหภูมิต่ำจำนวน 6 รอบ (heating-cooling cycle) พบว่านาโนครีมที่พัฒนาได้มีความคงสภาพดี นอกจากนี้ยังพบว่านาโนครีมจากสารสกัดพีพีอีที่เตรียมได้นั้นไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองใดๆ ต่อผิวของสัตว์ทดลอง