ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาเจลต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีสารสกัดบัวบกและไคโตซาน

ผู้เขียน นางสาวขวัญหทัย เสนีวงศ์ ณ อยุธยา

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ภญ. ดร.ลัดดา วงศ์พายัพกุล	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
รศ. ภก.สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ผศ. ดร.สาคร พรประเสริฐ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

สารสกัดบัวบกและไคโตซานได้มีผู้ศึกษาและพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนสำหรับการพัฒนายาเตรียมที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกและไคโตซาน การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเจลต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีสารสกัดบัวบกและไคโตซาน โดยขั้นตอนแรกทำการเตรียมสารสกัดบัวบกจากตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดบัวบกด้วยเอทานอล ไดคลอโรมีเทนและน้ำ และนำสารสกัดทั้งสามชนิดมาตรวจสอบเอกลักษณ์ว่ามีสารกลุ่มซาโปนิน กลัยโคไซด์ โดยวิธีเขย่าให้เกิดฟอง วิธีทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกและ Liebermann-Burchard test ได้ผลว่าสารสกัดบัวบกทั้ง 3 ชนิดมีสารกลุ่มซาโปนิน กลัยโคไซด์ เป็นองค์ประกอบ ขั้นตอนที่สองได้ทำการหาค่าการละลายของสารสกัดบัวบกในตัวทำละลายชนิดต่างๆจำนวน 18 ชนิด สารสกัดบัวบกทั้ง 3 ชนิดละลายได้ดีที่สุดในเอ็นเมธิลไพโรลิโดน หลังจากนั้นได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดบัวบก ด้วยวิธี Agar cup method เทียบกับยาแวนโคมัยซิน พบว่าสารสกัดบัวบกด้วยเอทานอล ไดคลอโรมีเทนและน้ำที่มีความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอ็นเมธิลไพโรลิโดน มีขอบเขตในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย 23.0, 24.0 และ 22.5 มิลลิเมตรตามลำดับ ในขณะที่ยาแวนโคมัยซินที่มีความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงขอบเขตในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

25.0 มิลลิเมตรนอกจากนี้ยังได้ทำการหาค่า MIC ของสารสกัดบัวบกด้วยวิธี Broth dilution method และ Agar cup method พบว่าค่า MIC ของสารสกัดบัวบกทั้ง 2 วิธีเท่ากับ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนการหาค่า MBC ของสารสกัดบัวบกโดยวิธี Streak plate method และ วิธี Pour plate method พบว่าร้อยละของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 100% มีความเข้มข้นของสารสกัดบัวบก 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในส่วนของไคโตซานที่นำมาศึกษาครั้งนี้ ใช้ไคโตซาน 2 ชนิด ได้แก่ ไคโตซาน A และไคโตซาน B ที่มีค่า Degree of Deacetylation เท่ากับ 97.34% และ 96.58% ตามลำดับ และเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าขอบเขตในการยับยั้งเชื้อของไคโตซาน A และไคโตซาน B มีค่าเท่ากับ 39.5 และ 37.5 มิลลิเมตรตามลำดับ ส่วนการตั้งตำรับเจลของสารสกัดบัวบกนั้นได้ใช้สารก่อเจลชนิดต่างๆได้แก่ ไฮดรอกซีโพรพิวเมธิลเซลลูโลส คาร์โบพอล 940 ไคโตซาน A และไคโตซาน B โดยมีทั้งการใช้สารก่อเจลเพียงชนิดเดียวหรือสองชนิดร่วมกัน ในด้านลักษณะทางกายภาพนั้นพบว่า ตำรับเจลที่มีไฮดรอกซีโพรพิวเมธิทเซลลูโลส ไคโตซาน A และไคโตซาน B เป็นสารก่อเจลให้ลักษณะปรากฏที่ดีกว่าตำรับอื่น เมื่อทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ขั้นตอนต่อมาได้เตรียมเจลของสารสกัดบัวบกที่มีความเข้มข้น 2.0, 3.0 และ 4.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้ผลว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดบัวบกเพิ่มขึ้นย่อมมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นด้วย ส่วนขั้นตอนสุดท้ายได้ทดสอบความคงสภาพของตำรับเจลที่มีสารสกัดบัวบกและไคโตซาน รวมถึงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยการเก็บตำรับเจลที่อุณหภูมิต่างๆกัน คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้องและ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 สัปดาห์ได้ผลว่า ตำรับเจลที่มีความคงสภาพทางเคมีกายภาพทั้งด้านลักษณะปรากฏ ค่าความเป็นกรดด่าง และค่าความหนืด ที่เหมาะสมที่สุดคือตำรับที่ประกอบด้วยสารสกัดบัวบก 2.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักร่วมกับไคโตซาน A หรือไคโตซาน B 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่วนฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียนั้น พบว่าตำรับเจลที่มีสารสกัดบัวบกและไคโตซานยังคงมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเหมือนเดิมเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากข้อมูลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าตำรับเจลที่ประกอบด้วยสารสกัดบัวบก ไคโตซานและไฮดรอกซีโพรพิวเมธิลเซลลูโลส มีความคงสภาพทั้งด้านเคมีกายภาพและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้มากกว่าตำรับชนิดอื่น ดังนั้นจึงควรนำตำรับเจล ดังกล่าวไปทำการพัฒนาและผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Development of Antibacterial Gel Containing *Centella asiatica* Extract and Chitosan

Author Miss. Kwanhatai Saneewong na ayutaya

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Ladda Wongpayapkul	Advisor
Assoc. Prof. Sorasak Lhieochaiphant	Co-advisor
Assist. Prof. Dr. Sakorn Pornprasert	Co-advisor

Abstract

The antibacterial activity of the centella extract and chitosan had been studied. However, the development of the pharmaceutical products containing centella extract and chitosan is not interested from researching scope. The purposes of this study were to investigate the antibacterial activity and develope the gel formulation from the centalla extract and chitosan. First of all, the centella extracts were prepared with 3 solvents including ethanol, dichloromethane and water. Saponin glycosides were identified by shaking method, hemolysis test and Liebermann-Burchard test. The results showed that saponin glycosides were found in all extracts. Secondly, by a test of centella solubility test of centella extracts was performed in 18 various solvents. The bast solvent for dissolving 3 centella extracts in n-methylpyrrolidone. After that, the antibacterial (*Staphylococcus aureus*) activity of the centella extracts was investigated by using agar cup method. The inhibition zones of centella extracts were compared to those of vancomycin. The ethanolic extract, the dichloromethane extract and the water extract which were dissolved in n-methylpyrrolidone at the concentration of 10 mg/ml showed the diameter of inhibition zones at

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

23.0 mm, 24.0 mm and 22.5 mm, respectively while an inhibition zone of vancomycin at 250 µg/ml was 25.0 mm. Moreover, the minimum inhibition concentration (MIC) of the centella extract was analyzed by using the broth dilution method and the agar cup method and found that both methods showed the similar of 125 mg/ml. The minimum bactericidal concentration (MBC) of the centella extract was analyzed by streak plate and pour plate methods. A hundred percentage of bacteriacidal activity was observed at MBC of 250 mg/ml. Chitosan A and chitosan B with 97.34 and 96.58%, respectively were used in this study. The *S. aureus* inhibition zones of chitosan A and B were 39.5 mm and 37.5 mm, respectively. The formulation of centella extract gel was prepared by the different gelling agents such as hydroxypropylmethylcellulose, carbopol 940, chitosan A and chitosan B. The results showed that the gels containing of hydroxylpropylmethylcellulose and chitosan A or chitosan B had a better appearances than the other formulations when kept at 4°C and room temperature for 8 weeks. The antibacterial activity of the centella extract gel at concentration of 2.0, 3.0 and 4.0%w/w were assessed and found the diameter of inhibition zone was correlated with the concentration of centella extract. Finally the physicochemical and antibacterial stability of centella extract gel was determined after storaging at 4°C, room temperature and 45°C for 24 weeks. Found that, the gel formulation composed of 2.5% centella extract with 1.0% chitosan A or chitosan B had a better physicochemical stability than the other formulations. Moreover, the antibacterial activity still observed in the gel formulation composed of centella extract and chitosan A or chitosan B after storaging at 4°C and room temperature for 8 weeks. In conclusion, the gel formulation containing centella extract, chitosan and hydroxypropylmethylcellulose showed the better physicochemical and antibacterial stability than the other formulations. Therefore, this formulation may be benefit for development and production of industrial for the further study.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved