

Thesis Title Antioxidant Activity and Preparation of *Butea monosperma*
Flowers Extract Nanoparticles

Author Miss Phunsuk Anantaworasakul

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Chadarat Ampasavate	Advisor
Assoc. Prof. Dr. Pornngarm Dejkriengkraikul	Co-advisor
Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi	Co-advisor

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate an antioxidant activity of bioactive compounds which are responsible for the antioxidant activity and suitable nanoparticles systems of Bastard Teak [*Butea monosperma* (Lam.) Taubert] or Thong-Kwao flowers extract. Phytochemical analysis of the crude ethanolic extract indicated that the flowers extract of *B. monosperma* composed of anthraquinone glycoside, triterpene glycoside, cardiac glycoside, saponin glycoside and flavonoid glycoside, and phenolic compounds. Appropriate extraction protocols of dried flowers' powder were performed by both single solvent maceration with 80 % ethanol (ethanolic crude extract) and sequential maceration of with *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc), and 80 % ethanol (EtOH), respectively. Antioxidant activity-guide isolation of active compounds indicated the F2 fraction from a single ethanolic crude extract possessed the highest antioxidant activity (ABTS: TEAC value 24.72 ± 0.02 mM trolox equivalents/mg extract and IC_{50} 0.0269 ± 0.0000 mg/ml, FRAP: EC value 240.59 mM/mg extract, DPPH: IC_{50} 0.0306 mg/ml) and was selected to be as the active marker fraction for further study. From chromatographic and spectroscopic data, the bioactive principles were characterized as flavonoids: butin ($m/z = 274.1$

$[M+2H]^+$, butein ($m/z = 273.2 [M+H]^+$) and flavonoid glycosides: isomonospermoside ($m/z = 436.2 [M+2H]^+$), and monospermoside ($m/z = 435.2 [M+H]^+$). Polymeric and lipid-containing nanoparticular systems, five different nanoparticle systems, were selected for the entrapment of *B. monosperma* ethanolic crude extract. To study the optimal nanoparticle system for ethanolic crude extract, were evaluated the physical properties (size, size distribution and charge) and entrapment efficiency of each system. The result showed that nanostructured lipid carrier (NLC) and polylactide-co- glycolide (PLGA) nanoparticular systems presented the small size, narrow size distribution and higher percentage of entrapment when compared to the other systems. For the NLC formulation the palmitic acid –stearyl alcohol and jojoba oil were used as solid lipid and liquid lipid, respectively. The optimum ratio of solid lipid : liquid lipid was 7 : 3, yielding the particles size of 88.6 to 110.1 nm, polydispersity index (PDI) of 0.354 to 0.506, zeta potential of -34.8 to -40.2 mV and percentage of flavonoid entrapment efficiency of 23.82 – 30.01 %. The nanoparticles prepared from PLGA nanoparticles exhibited the particles size in the range of 141.8 to 212.3 nm, PDI were between 0.116 to 0.164, zeta potential were - 12.6 to - 14.3 mV and percentage of flavonoid entrapment was 21.84 – 37.74 %. However, the NLC is the most optimal system in this study for delivery the ethanolic crude extract because its advantages over PLGA such as cosmetic production using non-toxic lipid carriers, avoidance of using the organic solvents and convenience for large scale production.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และการเตรียมอนุภาคนาโนของสารสกัดดอกทองกวาว

ผู้เขียน

นางสาวพูนสุข อนันตวรสกุล

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เกษตรกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. ชฎารัตน์ อัมพะเสวต

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รศ. ดร. พรงาม เดชเกรียงไกรกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสำคัญที่สกัดจากดอกทองกวาว และพัฒนาระบบนำส่งสารระดับนาโนเมตรที่มีความเหมาะสมกับสารสกัดดอกทองกวาว จากการศึกษาทางพิษวิทยาเบื้องต้น พบว่าสารสกัดดอกทองกวาวส่วนแอลกอฮอล์ ประกอบด้วยสารในกลุ่มแอนทราควิโนน ไกลโคไซด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ซาโปนินไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ ไทรเทอร์พีน และสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ในการศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญจากดอกทองกวาวแห้งที่เหมาะสม ทำได้โดยการหมักสารสกัดด้วยสารละลายชนิดเดียวโดยใช้ 80 % แอลกอฮอล์ (เรียกสารสกัดส่วนเอธานอลิก) และการหมักด้วยสารละลายไล่ความเข้มข้นโดยใช้ เฮกเซน เอทิลเอซีเทต และ 80 % แอลกอฮอล์ ตามลำดับ การแยกสารสำคัญโดยอั้งฤทธิ์ต้านออกซิเดชันพบว่าสารสกัดดอกทองกวาวส่วนที่ 2 (F2) ที่แยกได้จากสารสกัด 80 % แอลกอฮอล์ เพียงอย่างเดียว ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด (ABTS: ค่า TEAC 24.72 ± 0.02 มิลลิโมล โทรลอกซ์เทียบต่อมิลลิกรัมสารสกัด และ ค่า IC_{50} 0.0269 ± 0.0000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร FRAP: ค่า EC 240.59 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัมสารสกัด DPPH: ค่า IC_{50} 0.0306 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังนั้นสารสกัดส่วนนี้จึงถูกเลือกใช้เป็นสารอ้างอิงสำหรับขั้นตอนต่อไปในการศึกษาครั้งนี้ จากข้อมูลทางโครมาโทกราฟี และสเปกโตรสโคปี พบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์มีโครงสร้างอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ บูทิน ($m/z = 274.1$ $[M+2H]^+$) บูเทอิน ($m/z = 273.2$ $[M+H]^+$) และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ ไอโซโมโนสเปอร์โมไซด์ ($m/z = 436.2$ $[M+2H]^+$) โมโนสเปอร์โมไซด์ ($m/z = 435.2$ $[M+H]^+$) เมื่อทำการศึกษาระบบนำส่งสารสกัดที่เหมาะสมต่อสารสกัดดอกทองกวาว ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้

เลือกทำการศึกษาระบบนำส่งที่แตกต่างกัน 5 ระบบ โดยพิจารณาคุณสมบัติทางกายภาพ (ขนาดอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาค และประจุที่ผิวอนุภาค) และร้อยละของความสามารถในการกักเก็บสารสกัด เพื่อประกอบการพิจารณาหาระบบนำส่งสารที่เหมาะสม ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ระบบ NLC และ PLGA ให้ขนาดอนุภาคที่เล็ก มีการกระจายตัวของอนุภาคที่แคบ และสามารถกักเก็บสารสกัดดอกทองกวาวส่วนเอธานอลิกได้ จากการทดลอง ดำรับ NLC ที่ใช้จะใช้ไขมันผสมระหว่าง ปามิติก แอซิด และ สเตียริลแอลกอฮอล์ เป็นไขมันแข็ง และ โจโจบาออย เป็นไขมันเหลว ในอัตราส่วน ระหว่างไขมันแข็ง : ไขมันเหลว เป็น 7 : 3 โดยมีขนาดอนุภาค 88.6 – 110.1 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวอยู่ในช่วง 0.354 – 0.506 ค่าประจุที่ผิวอยู่ในช่วง - 34.8 ถึง - 40.2 มิลลิโวลต์ และ กักเก็บสารสกัดดอกทองกวาวได้ ประมาณร้อยละ 23.82 – 30.01 ในส่วนของ PLGA มีขนาดอนุภาค 141.8 – 212.3 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวที่แคบ 0.116 – 0.164 ค่าประจุที่ผิวอยู่ในช่วง - 12.6 ถึง - 14.3 มิลลิโวลต์ และ กักเก็บสารสกัดดอกทองกวาวได้ ประมาณร้อยละ 21.84 – 37.74 แต่ถึงอย่างไร ระบบนำส่ง NLC ถูกจัดให้เป็นระบบนำส่งสารสกัดดอกทองกวาวที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจาก มีประโยชน์เหนือกว่า อนุภาคนาโน PLGA หลายประการทั้งทางด้านการผลิต เครื่องสำอาง ไม่มีพิษ การเตรียมเป็นกระบวนการที่หลีกเลี่ยงการใช้สารละลายอินทรีย์ และสามารถเพิ่มการผลิตเป็นขนาดใหญ่ได้ง่าย