

## การพัฒนาและศึกษาคุณลักษณะตำรับว่านชักมดลูก ในระบบตัวพาไขมันแข็งขนาดนาโนเมตร

ดำรงศักดิ์ จินารัตน์<sup>1</sup>, บัญชา ยิ่งงาม<sup>2</sup>, อภิชาติ สุขสำราญ<sup>3</sup>, วันดี รังสีจิตรประภา<sup>4\*</sup>

Received: 31 January 2017

Accepted: 3 April 2017

### บทคัดย่อ

**บทนำ:** ว่านชักมดลูกเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้เพื่อรักษาอาการผิดปกติของทางเดินสืบพันธุ์ในเพศหญิง เพราะเป็นพืชที่มีสารไฟโตเอสโตรเจน ปัจจุบันมีการศึกษาการออกฤทธิ์อย่างกว้างขวาง แต่เนื่องจากปัญหาการดูดซึมในระบบทางเดินอาหารและความเสี่ยงต่อผลไม่พึงประสงค์ จึงมีการศึกษาการให้ผ่านทางผิวหนัง ตัวพาไขมันแข็งขนาดนาโนเมตรเป็นระบบนำส่งที่เข้ากันได้ดีกับตัวยาที่ไม่มีขี้ สามารถกักเก็บ นำส่ง และมีความคงตัวที่ดี การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณส่วนประกอบที่เหมาะสม คุณลักษณะความสามารถกักเก็บรวมถึงความคงตัวของระบบเพื่อบรรจุตัวยาสำคัญในสารสกัดว่านชักมดลูก

**วิธีดำเนินการวิจัย:** ตำรับตัวพาไขมันแข็งขนาดนาโนเมตรถูกเตรียมและศึกษาขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค (PDI) ค่าศักย์ซีต้า ร้อยละการกักเก็บ ร้อยละการบรรจุสารสำคัญ และการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางความร้อน และศึกษาความคงตัวของตำรับและปริมาณสารสำคัญ ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 40°C เป็นเวลา 180 วัน **ผลการวิจัย:** ส่วนประกอบที่เหมาะสมต่อคุณลักษณะอนุภาคเพื่อบรรจุสารสกัดว่านชักมดลูกประกอบด้วย สารลดแรงตึงผิว (Poloxamer® 188) 2.5 %w/w สัตส่วนไขมันเหลว (Myritol® 318) 30 %w/w ในไขมันรวม และมีปริมาณไขมันรวมในระบบ 7.5 %w/w ได้อนุภาคระบบที่ไม่บรรจุและบรรจุสารสกัดขนาด 200 – 225 นาโนเมตร PDI อยู่ในช่วง 0.215 – 0.270 ค่าศักย์ซีต้าประมาณ -30 mV อนุภาคสามารถบรรจุตัวยาได้ดีและกักเก็บได้มากกว่าร้อยละ 90 อนุภาคของระบบมีความเป็นออสัญฐาน และอนุภาคยังมีความคงตัวได้ดีเมื่อเก็บในที่อุณหภูมิต่างกัน **สรุปผลการวิจัย:** ตัวพาไขมันแข็งขนาดนาโนเมตรเป็นระบบที่เหมาะสมที่ใช้กักเก็บสารสกัดว่านชักมดลูก มีขนาดอนุภาคที่เหมาะสมและมีความคงตัวดี

**คำสำคัญ:** ตัวพาไขมันแข็งขนาดนาโนเมตร, ว่านชักมดลูก, ความคงตัว, ร้อยละการกักเก็บ, คุณสมบัติทางความร้อน  
วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2560; 13 (ฉบับพิเศษ): 163-172

<sup>1</sup> นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา หลักสูตรเภสัชศาสตร์ชุมชนบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

<sup>2</sup> พร.ด. (เภสัชศาสตร์) อาจารย์ กลุ่มวิชาเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

<sup>3</sup> พร.ด. (เคมีอินทรีย์) ศาสตราจารย์ สาขาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

<sup>4</sup> Dr. rer. nat (Pharmaceutical Technology) รองศาสตราจารย์ กลุ่มวิชาเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

\* **ติดต่อผู้พิมพ์:** รศ.ดร.วันดี รังสีจิตรประภา กลุ่มวิชาเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โทร. 045-353615 e-mail: wandeeim@yahoo.com

## Development and Characterization of *Curcuma comosa* Extract Loaded Nanostructured Lipid Carriers

Damrongsak Jinarat<sup>1</sup>, Bancha Yingngam<sup>2</sup>, Apichart Suksamram<sup>3</sup>, Wandee Rungseevijitprapa<sup>4</sup>

### Abstract

**Introduction:** *Curcuma comosa* Roxb. has been used for treatment a wide range of women reproductive disorders in Thai folk medicine because it contains phytoestrogens. Currently, it has been studied several bioactives. However, the extract has been reported the low bioavailability with some adverse effects by oral administration. Nanostructured lipid carriers (NLC) is the delivery system compatible with the lipophilic extract. The objectives of this study were to optimize the NLC compositions and study their stabilities. **Methods:** NLC was developed and determined the particle size, polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP), entrapment efficiency, loading capacity and thermal analysis. The obtained formulations were kept at 4, 25 and 40 °C for 180 days, and then were investigated the particle characterization and drug quantity. **Results:** The optimized formulation contained 2.5 %w/w surfactant, 30 %w/w of liquid lipid in lipid phase and 7.5 %w/w lipid phase in formulation. The particle size, PDI, ZP and %EE of the blank and incorporated-NLC were 200 – 225 nm, 0.215 - 0.0270, -30 mV and over 90 % EE, respectively. The NLC showed amorphous property and good stability. **Conclusion:** Nanostructured lipid carriers is appropriate to encapsulate *C. comosa* extract with small particle size and good stability.

**Keywords:** Nanostructured lipid carriers, *Curcuma comosa*, Stability, Entrapment efficiency, DSC  
IJPS 2017; 13 (Supplement): 163-172

---

<sup>1</sup> Graduate student, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University

<sup>2</sup> Ph.D.(Pharmaceutical Sciences), Lecturer, Faculty of Pharmaceutical Science, Ubon Ratchathani University

<sup>3</sup> Ph.D.(Organic Chemistry), Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Ramkhamkaeng University

<sup>4</sup> Dr. rer. nat (Pharmaceutical Technology), Associate Professor, Faculty of Pharmaceutical Science,  
Ubon Ratchathani University

\* **Corresponding author:** Wandee Rungseevijitprapa, Faculty of Pharmaceutical Science,  
Ubon Ratchathani University, Tel. 045-353615, e-mail: wandeeim@yahoo.com

## บทนำ

ว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa* Roxb. วงศ์ Zingiberaceae) เป็นสมุนไพรไทยที่มีการใช้ทางการแพทย์พื้นบ้านมายาวนานเพื่อรักษาอาการผดผื่นคันของทางเดินสืบพันธุ์ในสตรีโดยเฉพาะในวัยหมดประจำเดือน เพราะมีสารไฟโตเอสโตรเจน กลุ่ม diarylheptanoids และเมื่อสกัดด้วย hexane ตัวทำละลายไม่มีขั้วจะมีส่วนประกอบของ (4E,6E) 1,7-diphenylhepta-4,6-diene-3-ol (DA) ในปริมาณสูง (Suksamram, 2008) มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างกว้างขวาง นอกจากนี้พบว่ามี ความสามารถจับกับเอสโตรเจนรีเซปเตอร์ได้ดี และมีศักยภาพใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนเนื่องจากลดผลข้างเคียงจากการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนลงได้ (Winutthayanon, 2009) แต่ด้วยคุณสมบัติที่เป็น lipophilic จึงมีค่าชีวประสิทธิผล (bioavailability) ต่ำเมื่อให้โดยการรับประทาน และถูกขจัดจากร่างกายอย่างรวดเร็ว (Su, 2013) ดังนั้น การให้ทางผิวหนังจึงเป็นวิถีบริหารยาที่ควรศึกษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของตัวยา แม้ว่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวแสดงด้วยค่า log P ของสาร DA เท่ากับ 4.36 ซึ่งสูงกว่าค่าที่เหมาะสมกับการให้ทางผิวหนัง แต่น้ำหนักโมเลกุลของ DA เท่ากับ 264.36 เพียงพอต่อการซึมผ่านผิวหนัง มีรายงานการเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังในรูปแบบแผ่นแปะเพื่อผลเป็นฮอร์โมนทดแทน โดยให้สารละลายอิมัลชันของสารสกัดว่านชักมดลูกใน transcutol และ terpene (Tantiyasawasdikul, 2016)

อย่างไรก็ตาม ควรมีการพัฒนาให้เป็นตำรับที่สามารถใช้กับพื้นที่ผิวหนังบริเวณกว้างเพื่อเพิ่มช่องทางดูดซึมยา โดยเฉพาะเพื่อให้ยาออกฤทธิ์ต่อเซลล์ผิวหนังโดยตรง ตัวพาไขมันเชิงขนาดนาโนเมตร หรือ nanostructured lipid carriers (NLC) เป็นระบบที่มีประสิทธิภาพกักเก็บและนำส่งตัวยาที่ละลายในน้ำมันได้ดี ขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตรช่วยเพิ่มการพาดตัวยาเข้าสู่/ผ่านผิวหนัง ไขมันแข็งและไขมันเหลวในส่วนประกอบทำ

ให้อนุภาคมีส่วนที่เป็นอนุฐาน ส่งผลให้สามารถกักเก็บตัวยาได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับระบบเดิมคือ solid lipid nanoparticle (SLN) รวมถึงลดการผลึกตัวยาวออกจากอนุภาค นอกจากนี้ยังเป็นระบบที่มีความคงตัวดี (Pardeike, 2009) ส่วนประกอบที่เลือกใช้ในระบบพิจารณาจากคุณสมบัติความเข้ากันได้กับตำรับและความปลอดภัย ไขมันแข็ง Olivax<sup>®</sup> หรือ Hydrogenated olive oil (and) Olea Europaea (Olive) Fruit oil (and) Olea Europaea (Olive) oil unsaponificables เป็นสารที่ย่อยสลายได้ (biodegradable) มีจุดหลอมเหลวประมาณ 60 - 70 °C (Hallstar, 2014) ซึ่งค่อนข้างต่ำจึงมีผลดีต่อความคงตัวต่ออุณหภูมิของตัวยาสำคัญ ไขมันเหลว Caprylic / Capric triglycerides (Myritol<sup>®</sup> 318) ถูกเลือกใช้ในตำรับยาและเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย ส่วน Poloxamer<sup>®</sup> 188 เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีความปลอดภัยสูงใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับต่างๆ รวมถึงตำรับยาตาและยานี้ด

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและศึกษาคุณสมบัติของอนุภาคตัวพาไขมันเชิงขนาดนาโนเมตรที่บรรจุสารสกัดว่านชักมดลูกในด้านคุณลักษณะอนุภาคความสามารถกักเก็บตัวยาสำคัญรวมถึงความคงตัวของตำรับ

## วิธีดำเนินการวิจัย

### พืชสมุนไพรและสารเคมี

ว่านชักมดลูกส่วนเหง้าจาก อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม สกัดด้วยเฮกเซนโดยใช้ Soxhlet apparatus จากนั้นจึงระเหยตัวทำละลายด้วย rotary evaporator จนได้สารสกัดที่มีลักษณะเป็นน้ำมันข้นสีเหลือง-น้ำตาล (Jantaratanotai, 2006) สารมาตรฐาน (4E,6E)1,7-diphenylhepta-4,6-diene-3-ol (DA) ได้รับจาก ศ.ดร.อภิชาติ สุขสำราญ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง, Olivax<sup>®</sup> (Hallstar, Italy), Myritol<sup>®</sup> 318 (BASF,

Germany), Kolliphor® P188 (Sigma-Aldrich, USA)

### วิธีการทดลอง

การพัฒนาาระบบและเตรียมตำรับว่านชักมดลูกในระบบนำส่งตัวพาไขมันแข็งขนาดนาโนเมตร ปริมาณของสารลดแรงตึงผิว: 0.5, 1.25, 2.5, 5 และ 7.5 %w/w สัดส่วนปริมาณไขมันเหลว: 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 %w/w ของไขมันในระบบ (total lipid) และปริมาณไขมันรวม: 2.5, 5, 7.5 และ 10 %w/w ของทั้งระบบ เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบ พัฒนาให้ได้ระบบที่เหมาะสม เตรียมตำรับโดยหลอมวัฏภาคน้ำมันที่อุณหภูมิ 70 °C และให้ความร้อนกับวัฏภาคน้ำที่อุณหภูมิสูงกว่าวัฏภาคน้ำมันเล็กน้อย บั่นผสมทั้งสองวัฏภาคด้วย high speed homogenizer (Ultra-tuax T-10, IKA, Germany) ที่ความเร็วประมาณ 12500 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วลดขนาดอนุภาคด้วยคลื่นเหนือเสียง (ultrasonication) นาน 10 นาที ระบบที่เหมาะสมถูกนำมาบรรจุสารสกัดว่านชักมดลูก 1, 1.5 และ 2 % เพื่อศึกษาคุณลักษณะ ร้อยละการกักเก็บและความคงตัวต่อไป

การศึกษาคุณลักษณะอนุภาค เจือจางตำรับ NLC ประมาณ 1 ต่อ 800 ด้วย deionized water วัดขนาดอนุภาค (size), การกระจายขนาดอนุภาค (polydispersity index, PDI) และค่าประจุไฟฟ้าที่ผิวอนุภาคหรือศักย์ซีตา (zeta potential, ZP) ด้วยเครื่อง Zetasizer® Nano-ZS (Mavem instrument, UK)

การวิเคราะห์ปริมาณการกักเก็บและบรรจุสารสกัดว่านชักมดลูกในอนุภาค ด้วยเทคนิค centrifugal filtration วิธีการโดยย่อคือ บรรจุ NLC 100 ไมโครลิตร ใน 30 kDa centrifugal filtration ปั่นที่ 7500 rpm 15 นาที ที่ 25 °C แล้วล้างอนุภาคด้วย DI water 100 ไมโครลิตร โดยปั่นที่สภาวะเดียวกันอีก 2 รอบ เก็บเฉพาะส่วนอนุภาคโดยการ reverse spin collection ทำ 3 รอบ ด้วย DI water 500 ไมโครลิตร รวมอนุภาคที่เก็บได้ทั้งสามรอบละลายด้วยเมทานอลจนได้ปริมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปนำไป ultrasonication

เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อให้สารสกัดถูกปลดปล่อยจากอนุภาค วิเคราะห์ปริมาณสารเครื่องหมาย DA ด้วย HPLC ปริมาณการกักเก็บสารสกัดแสดงด้วยค่าร้อยละการกักเก็บ (% entrapment efficiency, EE) คำนวณจากสมการ:

$$\%EE = \frac{W_E}{W_T} \times 100$$

และปริมาณการบรรจุสารในอนุภาคแสดงด้วยค่าร้อยละการบรรจุตัวยา (% drug loading capacity) คำนวณจาก:

$$\% \text{ drug loading capacity} = \frac{W_E \times 100}{W_E + W_L}$$

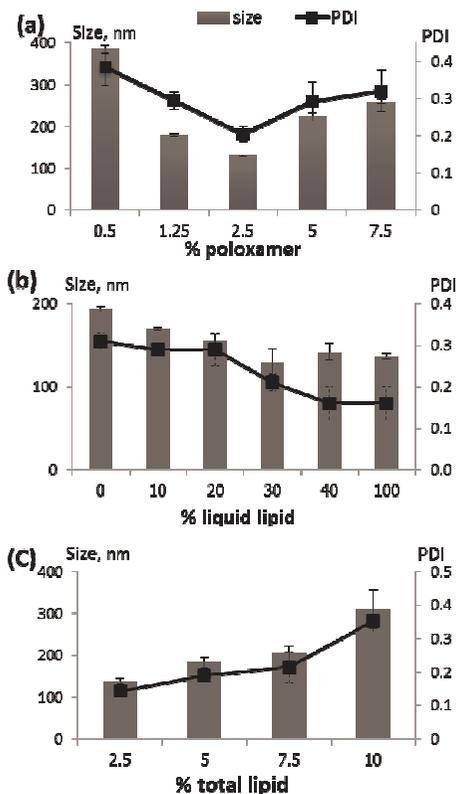
โดย  $W_E$ ,  $W_T$  และ  $W_L$  คือ ปริมาณสารที่ถูกกักเก็บ, ปริมาณสารที่เติมในตำรับและปริมาณไขมันรวมในอนุภาคตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณสารเครื่องหมายด้วย HPLC ละลายอนุภาคระบบนำส่งด้วยเมทานอลและคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์หาปริมาณ DA ที่กักเก็บในอนุภาค ด้วยเครื่อง HPLC (Dionex, Gemay), RP-C18 column 25 เซนติเมตร ปริมาณตัวอย่างที่ฉีด 20 ไมโครลิตร ภายใต้ multistep gradients ของ methanol และ 0.5% acetic acid อัตราส่วนเริ่มต้นที่ 70 : 30 เพิ่มอัตราส่วนเมทานอลจนถึง 100 : 0 อย่างช้าๆ ก่อนลดลงมาที่อัตราส่วนเริ่มต้น โดยใช้ flow rate 1 ml/min ใช้ความยาวคลื่น 254 nm พบ retention time ของ DA ที่ 17 นาที

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางความร้อนของอนุภาค ด้วย Differential Scanning Calorimetry, DSC เปรียบเทียบความแตกต่างของอนุภาค NLC กับไขมันแข็งที่ใช้ในตำรับ (Olivax®) แสแกนตั้งแต่อุณหภูมิ 20 – 90 °C ที่อัตราเร็ว 10 °C ต่อนาที ด้วยเครื่อง DSC822<sup>i</sup> (Mettler Toledo, Switzerland) คำนวณดัชนีความเป็นผลึกของอนุภาค (crystallization index, CI) จากสมการ (Siekman, 1994):

$$CI = (M_s / M_p) \times 100$$

เมื่อ  $M_w$  และ  $M_p$  แทนค่าเอนทาลปีการหลอมเหลว ( $J.g^{-1}$ ) ของอนุภาคและของไขมันแข็ง ตามลำดับ ขณะที่  $f_L$  แทนร้อยละของไขมันแข็งในระบบ



รูปที่ 1 ขนาดอนุภาค (size) และค่าการกระจายขนาดอนุภาคที่แปรผันตามปริมาณของสารลดแรงตึงผิว (a), สัดส่วนไขมันเหลวในอนุภาคไขมัน (b) และปริมาณไขมันรวมในตำรับ (c), (n = 3)

การศึกษาความคงตัว เก็บตำรับ NLC ในโถก้นความชื้นที่มีสารละลายอิมิตัว sodium chloride เพื่อควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ 75% และเก็บในตู้หรือห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 4, 25 และ 40 °C ทดสอบความคงตัวของตำรับจากการวัดขนาดอนุภาค ค่าการกระจายขนาดอนุภาคและค่าดัชนีซีต้า ณ วันที่ 1, 30, 60, 90 และ 180 และหาปริมาณ

สารสำคัญคงเหลือในตำรับด้วย HPLC

การวิเคราะห์ทางสถิติ แสดงผลเป็นค่า mean ± sd ทดสอบความแตกต่างด้วย independent t-test ที่นัยสำคัญ  $p < 0.01$

## ผลการวิจัย

### ผลของส่วนประกอบในระบบ

ปริมาณสารลดแรงตึงผิว, สัดส่วนไขมันเหลวต่อไขมันแข็งในอนุภาคไขมันและปริมาณไขมันรวมในระบบต่างเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณลักษณะอนุภาค

**ผลของสารลดแรงตึงผิว:** เมื่อให้ไขมันเหลวมีสัดส่วน 30 %w/w ในอนุภาคไขมัน และปริมาณไขมันรวมเท่ากับ 2.5 %w/w ในระบบเป็นค่าคงที่ ผันแปรปริมาณสารลดแรงตึงผิวตั้งแต่ 0.5 ถึง 7.5 %w/w ผลเป็นไปตามที่คาดคือ เมื่อเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวตั้งแต่ 0.5 – 2.5 % ขนาดอนุภาคลดลงจาก 390 – 130 นาโนเมตร (รูปที่ 1.a) เนื่องจากเมื่อ สารลดแรงตึงผิวมีปริมาณเพิ่มขึ้นจึงเพียงพอในการห่อหุ้มอนุภาคเล็กๆ ที่เกิดจากการลดขนาดได้ดีและให้ความคงตัว แต่เมื่อเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวขึ้นจะทำให้อนุภาคจะมีขนาดใหญ่ขึ้น เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวส่วนที่เกินจะห่อหุ้มทำให้เพิ่มขนาดอนุภาค (Saksirworapong, 2014) โดยเฉพาะโครงสร้างสายพอลิเมอร์ของ Poloxamer<sup>®</sup> ที่เป็นโครงสร้างระเกะระกะ (steric hindrance)

**ผลของสัดส่วนไขมันเหลว:** ให้ทั้งปริมาณสารลดแรงตึงผิวและปริมาณไขมันรวมที่ 2.5 %w/w ผันแปรสัดส่วนไขมันเหลวในอนุภาคไขมันตั้งแต่ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 %w/w พบว่า เมื่อเพิ่มสัดส่วนไขมันเหลวจาก 0 ถึง 30 % ขนาดอนุภาคมีแนวโน้มลดลงจากนั้นคงที่เมื่อเพิ่มสัดส่วนขึ้นไปอีก (รูปที่ 1.b) เนื่องจากในอนุภาคที่มีเฉพาะไขมันแข็ง (SLN) มีค่าความเป็นผลึกสูง มีความหนืดมากทำให้

ต้องใช้แรงในการลดขนาดมาก ขณะที่ไขมันเหลว ช่วยลดความหนืดของระบบลง ที่แรงเท่ากันจึง

สามารถลดขนาดอนุภาคได้ดีกว่า

### ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในตำรับวุ้นชัมมดลูก-NLC

ส่วนประกอบ	ร้อยละ
C. comosa extract	1, 1.5 และ 2
Oliwax <sup>®</sup> (ไขมันแข็ง)	5.25
Myritol <sup>®</sup> 318 (MCT, ไขมันเหลว)	2.25
Kolliphor <sup>®</sup> P188 (สารลดแรงตึงผิว)	2.5
DI Water	q.s.

**ผลของปริมาณไขมันรวม:** ปริมาณไขมันรวมในระบบเป็นปัจจัยสำคัญต่อการกักเก็บตัวยา ที่ 2.5% poloxamer 188 และ 30% Myritol 318 ในไขมันรวม ปริมาณไขมันรวมถูกแปรผันตั้งแต่ 2.5, 5, 7.5 และ 10 %w/w พบว่า ขนาดอนุภาคมากขึ้นตามปริมาณไขมันรวม (รูปที่ 1.c) เนื่องจากปริมาณไขมันส่งผลให้ระบบมีความหนืดเพิ่มขึ้น การใช้แรงผสมและเวลาเท่าเดิมทำให้ประสิทธิภาพการลดขนาดต่ำลง อย่างไรก็ตามปริมาณไขมันรวม 7.5% w/w อนุภาคมีขนาด  $206 \pm 14.2$  นาโนเมตร ยังเหมาะสมในการพัฒนาเพื่อบรรจุสารสกัดวุ้นชัมมดลูกต่อไป

**ผลของปริมาณสารสกัดในระบบ:** จากผลของปัจจัยข้างต้น ระบบที่ถูกนำมาใช้บรรจุสารสกัดประกอบด้วยส่วนประกอบดังตารางที่ 1 จากการเตรียมขนาดอนุภาคของระบบที่ไม่บรรจุสารสกัดคือ  $200.1 \pm 1.7$  นาโนเมตร และเพิ่มเป็น 212 – 225 นาโนเมตร เมื่อบรรจุสารสกัด (ตารางที่ 2) ทุกตำรับมีค่า PDI ไม่เกิน 0.3 และ ZP มีค่าลบต่ำกว่า -30 มิลลิโวลต์ ดังที่ทราบกันดีว่า ขนาดอนุภาคเป็นปัจจัยสำคัญต่อการนำส่งตัวยาเข้าสู่ผิวหนังและยังส่งผลดีต่อการเคลือบผิว (occlusive effect) เพื่อรักษาความชุ่มชื้น ค่า PDI แสดงว่าขนาดอนุภาคค่อนข้างสม่ำเสมอ ระบบที่ได้จึงเหมาะสมกับการใช้ทางผิวหนัง (Khurana, 2013) นอกจากนี้ค่าศักย์ซีต้ายังบ่งชี้ว่าระบบมีความคงตัวทางกายภาพที่ดีเพราะแสดงว่าที่ผิวอนุภาคมีค่าประจุไฟฟ้าทำให้เกิดแรงผลัก

กัน ลดปัญหาการเกาะกันระหว่างอนุภาค ซึ่งค่าศักย์ซีต้าที่ส่งผลดีต่อความคงตัวควรมีค่าสูงกว่า +30 หรือต่ำกว่า -30 มิลลิโวลต์

นอกจากนี้ อนุภากระบบนำส่งที่บรรจุสารสกัดมีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคที่ไม่มีสารสกัด และเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดเป็น 1.5 และ 2% อนุภาคมีขนาดเพิ่มจากตำรับสารสกัด 1% อย่างมีนัยสำคัญ ขนาดที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากมีปริมาณไขมันจากสารสกัดเพิ่มขึ้นในอนุภาค และยังมีผลให้การกระจายขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ขณะที่ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ผิวอนุภาคมีค่าเป็นลบเกิดจากการดัดไขมันของไขมันเหลวในส่วนประกอบเป็นหลัก ดังจะเห็นได้จากค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคที่ไม่บรรจุและบรรจุสารสกัดไม่มีความแตกต่างกัน

### ปริมาณการกักเก็บและบรรจุสารสกัดวุ้นชัมมดลูกในอนุภาค

ส่วนประกอบไขมันเหลวระบบ NLC สามารถลดความเป็นผลึกของอนุภาคลงเมื่อเทียบกับอนุภาค SLN มีผลให้ลดปัญหาการผลึกตัวยาวออกเมื่ออนุภาคเย็นตัวลงจึงกักเก็บตัวยาได้มากขึ้น ดังจะเห็นจากค่าร้อยละการกักเก็บมากกว่าร้อยละ 90 (ตารางที่ 2.) นอกจากนี้ ปริมาณการบรรจุสารในอนุภาคคำนวณจากปริมาณสารเครื่องหมาย (DA) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดในระบบ ค่าร้อยละการบรรจุตัวยาเพิ่มขึ้น แสดงว่าระบบยังสามารถบรรจุสารสกัดไว้ได้

**ตารางที่ 2** คุณลักษณะอนุภาคหลังเตรียมตำรับในวันที่ 1 และค่าร้อยละการกักเก็บของตำรับว่านชักมดลูก 1.0, 1.5 และ 2.0 % (n=3)

% comosa	Size, nm	PDI	ZP, mV	%EE (DA)	% loading
Blank	200.1 ± 1.7	0.215 ± 0.008	-35.7 ± 3.5	-	
1.0	212.3 ± 2.9 <sup>a</sup>	0.231 ± 0.009	-32.9 ± 0.7	94.7 ± 0.9	1.3 ± 0.0
1.5	225.2 ± 3.2 <sup>ab</sup>	0.269 ± 0.031 <sup>a</sup>	-37.1 ± 2.3	92.9 ± 4.7	1.9 ± 0.1
2.0	225.0 ± 1.0 <sup>ab</sup>	0.256 ± 0.003 <sup>a</sup>	-34.2 ± 2.4	95.5 ± 3.6	2.6 ± 0.1

<sup>a</sup> มีความแตกต่างจากตำรับ blank ที่  $p < 0.01$

<sup>b</sup> มีความแตกต่างจากตำรับ 1% comosa ที่  $p < 0.01$

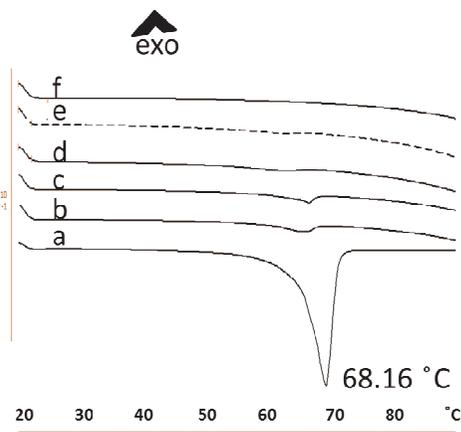
### การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางความร้อนของอนุภาค

จุดหลอมเหลวของไขมันแข็ง (Oliwax<sup>®</sup>) วัดได้ 68.16 °C ค่าเอนทาลปีการหลอมเหลวเท่ากับ -150.87 J.g<sup>-1</sup> (รูปที่ 2.) ในระบบนำส่ง SLN ค่าเอนทาลปีการหลอมเหลวและ %CI เท่ากับ -8.35 J.g<sup>-1</sup> และ 73.8% ตามลำดับ เมื่อผสมไขมันเหลวให้เป็นระบบ NLC ตำรับ 10% Myritol<sup>®</sup> และ 30% Myritol<sup>®</sup> NLC ค่าเอนทาลปีการหลอมเหลวลดลงเท่ากับ -7.22 และ -3.72 J.g<sup>-1</sup> ตามลำดับ และค่า %CI ลดลงเหลือ 70.9 และ 47.0 % ตามลำดับ นอกจากนี้ เมื่อบรรจุสารสกัดในระบบ ค่าเอนทาลปีการหลอมเหลวและ %CI ลดลงเหลือเพียง -2.30 J.g<sup>-1</sup> และ 29.0% ตามลำดับ เป็นผลมาจากไขมันเหลวและสารลดแรงตึงผิวทำให้อนุภาคเป็นอสัณฐานมากขึ้น จึงมีช่องว่างบรรจุตัวยาได้มากขึ้นตามวัตถุประสงค์การพัฒนาตัวพาไขมันแข็งขนาดนาโนเมตร (Gunullu, 2015) ในขณะที่ระบบที่มีเฉพาะไขมันเหลวหรือ nanoemulsion ไม่มีค่าการหลอมเหลวและความเป็นผลึกอยู่ในอนุภาค

### ความคงตัวของระบบนำส่ง

เมื่อเก็บระบบนำส่งที่บรรจุสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 40 °C เป็นเวลา 180 วัน พบว่าคุณลักษณะอนุภาคมีความเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 2.) มีเฉพาะระบบที่บรรจุสารสกัด 2 % ที่เก็บไว้ในทุกอุณหภูมิ ณ วันที่ 180 และเฉพาะอุณหภูมิ 40 °C ในวันที่ 90 ที่ขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ยังมีเพียงตำรับที่บรรจุสารสกัด 1% ที่อุณหภูมิ 25 °C ณ วันที่ 180 เท่านั้นที่ขนาดเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ



**รูปที่ 2** กราฟ DSC ของ Oliwax<sup>®</sup> (a), blank-SLN (b), blank-10% Myritol<sup>®</sup> NLC (c), blank-30% Myritol<sup>®</sup> NLC (d), ว่านชักมดลูกใน 30% Myritol<sup>®</sup> NLC (e) และ blank-nanoemulsion (f)

แม้ว่าอนุภาคนาโนลิปิดสามารถรักษาความคงตัวของสารเคมีที่กักเก็บโดยลดปฏิกิริยาการเสื่อมสลายต่างๆ รวมถึงออกซิเดชัน ไฮโดรไลซิสและโฟโตไลซิส แต่อุณหภูมิการเก็บมีผลต่อความคงตัวของสารสำคัญที่ถูกรักษาในระบบ จากรูปที่ 3 ที่อุณหภูมิ 4 °C เมื่อผ่านไป 180 วัน ทุกตำรับยังสามารถ

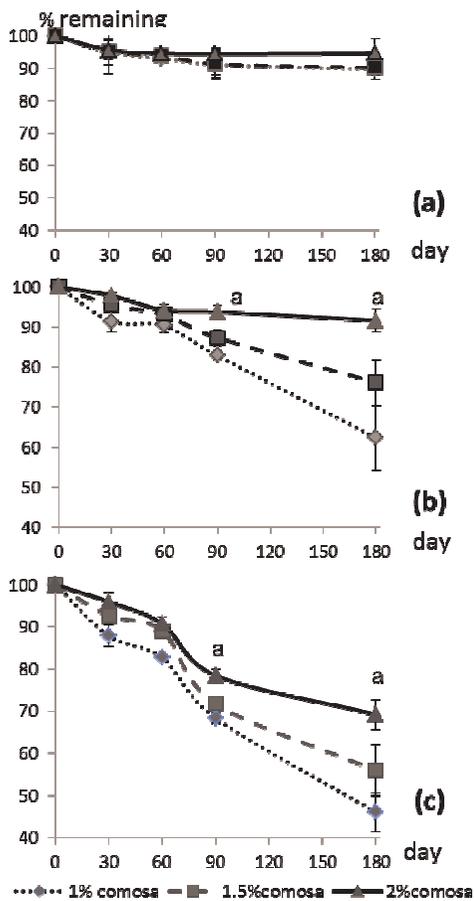
**ตารางที่ 3** คุณลักษณะอนุภาคเมื่อระบบถูกเก็บที่ 4, 25 และ 40 °C เป็นเวลา 180 วัน

4°C		1 % comosa			1.5 % comosa			2 % comosa		
day	Size, nm	PDI	ZP, mV	Size, nm	PDI	ZP, mV	Size, nm	PDI	ZP, mV	
1	212.3 ± 2.9	0.23 ± 0.01	-32.9 ± 0.7	225.2 ± 3.2	0.25 ± 0.01	-37.1 ± 2.3	225.0 ± 1.0	0.26 ± 0.00	-34.2 ± 2.4	
30	207.8 ± 1.1	0.22 ± 0.03	-31.0 ± 2.9	222.3 ± 1.2	0.24 ± 0.01	-32.6 ± 1.3	224.1 ± 3.9	0.24 ± 0.01	-32.8 ± 5.4	
60	214.9 ± 2.2	0.23 ± 0.02	-32.4 ± 7.0	229.0 ± 1.3	0.25 ± 0.01	-40.5 ± 0.4	225.3 ± 0.6	0.24 ± 0.01	-40.7 ± 2.6	
90	214.6 ± 3.7	0.24 ± 0.02	-28.8 ± 3.9	225.3 ± 6.0	0.24 ± 0.01	-34.3 ± 4.2	228.1 ± 3.9	0.27 ± 0.02	-37.8 ± 4.3	
180	217.9 ± 0.2	0.22 ± 0.00	-29.3 ± 1.9	233.5 ± 3.3	0.25 ± 0.01	-34.3 ± 2.5	237.2 ± 1.8 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.01	-33.4 ± 2.1	
25°C		1 % comosa			1.5 % comosa			2 % comosa		
Day	Size, nm	PDI	ZP, mV	Size, nm	PDI	ZP, mV	Size, nm	PDI	ZP, mV	
1	212.3 ± 2.9	0.23 ± 0.01	-32.9 ± 0.7	225.2 ± 3.2	0.25 ± 0.01	-37.1 ± 2.3	225.0 ± 1.0	0.26 ± 0.00	-34.2 ± 2.4	
30	211.4 ± 1.8	0.25 ± 0.01	-33.7 ± 3.3	218.2 ± 2.4	0.25 ± 0.00	-31.0 ± 0.9	219.2 ± 3.5	0.27 ± 0.02	-36.6 ± 2.1	
60	215.1 ± 0.7	0.23 ± 0.01	-24.3 ± 0.2	226.8 ± 0.5	0.26 ± 0.04	-34.6 ± 3.9	221.9 ± 2.6	0.26 ± 0.03	-36.1 ± 1.9	
90	215.7 ± 1.8	0.23 ± 0.01	-33.4 ± 3.4	226.9 ± 3.1	0.25 ± 0.01	-35.3 ± 7.2	227.3 ± 4.5	0.25 ± 0.01	-37.2 ± 4.1	
180	221.7 ± 1.7 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.01	-30.9 ± 4.1	232.2 ± 2.8	0.24 ± 0.00	-36.6 ± 1.3	234.6 ± 3.4 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.01	-34.6 ± 1.0	
40°C		1 % comosa			1.5 % comosa			2 % comosa		
day	Size, nm	PDI	ZP, mV	Size, nm	PDI	ZP, mV	Size, nm	PDI	ZP, mV	
1	212.3 ± 2.9	0.23 ± 0.01	-32.9 ± 0.7	225.2 ± 3.2	0.25 ± 0.01	-37.1 ± 2.3	225.0 ± 1.0	0.26 ± 0.00	-34.2 ± 2.4	
30	209.4 ± 0.4	0.24 ± 0.00	-35.3 ± 2.0	220.8 ± 3.0	0.29 ± 0.04	-35.8 ± 5.8	221.7 ± 0.4	0.25 ± 0.01	-38.5 ± 1.0	
60	217.0 ± 1.4	0.24 ± 0.02	-32.1 ± 3.6	224.1 ± 2.9	0.26 ± 0.00	-36.6 ± 1.3	231.5 ± 3.3	0.25 ± 0.01	-36.1 ± 0.8	
90	217.6 ± 0.2	0.23 ± 0.00	-30.9 ± 2.3	231.3 ± 1.7	0.24 ± 0.02	-34.5 ± 1.6	238.6 ± 1.5 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.01	-32.9 ± 0.4	
180	222.0 ± 1.6	0.22 ± 0.02	-35.6 ± 1.2	229.7 ± 0.6	0.24 ± 0.01	-33.9 ± 1.4	236.8 ± 2.3 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.01	-32.6 ± 3.4	

<sup>a</sup> มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 1

วิเคราะห์ปริมาณ DA ได้มากกว่าร้อยละ 90 ในขณะที่อุณหภูมิ 25 และ 40 °C ปริมาณ DA ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเวลาผ่านไปมากกว่า 60 วัน อย่างไรก็ตามในตำรับที่บรรจุสารสกัด 2% สาร DA มีเปอร์เซ็นต์การสลายน้อยกว่าตำรับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าอนุภาคกักเก็บสารสำคัญทั้ง 1, 1.5 และ 2 % ไว้

ภายใน มีเฉพาะส่วนที่ผิวภายนอกซึ่งมีปริมาณเท่ากันในทุกตำรับขึ้นกับขนาดอนุภาคที่จะเกิดปฏิกิริยาเสื่อมสลาย (Junyaprasert, 2009) เมื่อเทียบสัดส่วนจึงพบว่า ตำรับสารสกัด 2% จึงมีค่าร้อยละการสลายมากกว่าตำรับอื่น



รูปที่ 3 ร้อยละของสารสำคัญ DA เก็บที่ อุณหภูมิ 4 °C (a), 25 °C (b) และ 40 °C (c) เป็นเวลา 180 วัน

### อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ส่วนประกอบในระบบตัวพาไขมันแข็งขนาดนาโนเมตรที่เหมาะสมเพื่อบรรจุสารสกัดว่านชักมดลูกประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว (Poloxamer® 188) 2.5 %w/w สัตส่วนไขมันเหลว (Myritol® 318) 30 %w/w ในไขมันรวมโดยใช้ Oliwax® เป็นไขมันแข็ง และมีปริมาณไขมันรวมในระบบ 7.5 %w/w เมื่อบรรจุสารสกัดว่านชักมดลูก ระบบมีคุณลักษณะอนุภาคที่เหมาะสม มีความคงตัวทางกายภาพ และสามารถกัก

เก็บสารสำคัญได้มากเนื่องจากอนุภาคมีลักษณะเป็นอัสัญฐานทำให้มีพื้นที่บรรจุยา นอกจากนี้ ระบบยังมีความคงตัวที่ดี ทนต่อการเก็บในอุณหภูมิต่างๆ ได้

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณาจารย์และบุคลากรคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในงานวิจัย

## References

- Gunullu U, Uner M, Yener G, et al. Formulation and characterization of solid lipid nanoparticles, nanostructured lipid carriers and nanoemulsion of lornoxicam for transdermal delivery. *Acta Pharm* 2015, 65: 1-13.
- Jantarotnait N, Utaisincharoen P, Piyachaturawat P, et al. Inhibitory effect of *Curcuma comosa* on NO production and cytokine expression in LPS-activated microglia. *Life Sci* 2006, 78: 571-577.
- Janyaprasert V B, Teeranachaideekul V, Souto E B, et al. Q<sub>10</sub>-loaded NLC versus nanoemulsions: Stability, rheology and in vitro skin permeation. *Int J Pharm* 2009, 377: 207-214.
- Hallstar. Oliwax [Online]. 2014 May 19 [cited 2014 Oct 27]. Available from: <https://www.hallstar.com/product/oliwax/>
- Khurana S, Jain N K, and Bedi P M S. Development and characterization of a novel controlled release drug delivery system based on nanostructured lipid carriers gel for meloxicam. *Life Sci* 2013, 93: 763-772.
- Pardeike J, Hommoss A, and Muller R H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *Int J Pharm* 2009, 366: 170-184.
- Suksiriworapong J, Rungvimolsin T, A-gomol A, et al. Development and Characterization of Lyophilized Diazepam-Loaded Polymeric Micelles. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2014, 15(1): 52-64.
- Siekmann B, and Westesen P. Thermoanalysis of the recrystallization process of melt-homogenized glyceride nanoparticles. *Colloids Surf B* 1994, 3: 159-175.
- Su J, Sripanidkulchai K, Hu Y, et al. Increase in situ intestinal absorption of phytoestrogenic diarylheptanoids from *Curcuma comosa* in nanoemulsion. *AAPS Pharm Sci Tech* 2013, 14(3): 1055-1062.
- Suksamram A, Ponglikitmongkol M, Wongkrajang K, et al. Diarylheptanoids, new phytoestrogens from the rhizomes of *Curcuma comosa*: Isolation, chemical modification and estrogenic activity evaluation. *Bioorg Med Chem* 2008, 16: 6891-6902.
- Tantiyasawasdikul S, Limpongsa E, Jaipakdee N, and Sripanidkulchai B. Effects of vehicles and enhancers on the skin permeation of phytoestrogenic diarylheptanoids from *Curcuma comosa*. *AAPS Pharm Sci Tech* 2016, doi:10.1208/s12249-016-0582-3.
- Winutthayanon W, Piyachaturawat P, Suksamram A, et al. Diarylheptanoids phytoestrogens isolated from the medicinal plant *Curcuma comosa*: Biologic action in vitro and in vivo indicate estrogen receptor-dependent mechanisms. *Environ Health Perspect* 2009; 117: 1155-1161.
- Ying-ngam B, Phimpanit Y, Wongkasemchai N, et al. Encapsulation of rice bran oil in solid lipid nanoparticles (SLN) for skin hydration and viscoelasticity. *IJPS* 2007; 3(2): 8-22.

