Thesis Title Development of Nanoparticular Formulation Entrapping Mineral Water for Topical Use

Author Miss. Walailak Witkittilak

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Assoc.Prof.Dr. Aranya Manosroi Chairperson

Assoc.Prof.Dr. Jiradej Manosroi Member

Prof.Dr. Kenji Sugibayashi Member

ABSTRACT

The objective of this study was to develop the nanoparticular formulations, which entrap mineral water for topical use. The formulations were evaluated by vesicle formation, physical and chemical stability, entrapment efficiency, transdermal absorption and skin conductivity test on human skin. The characteristics and stability of nanoparticles entrapped with mineral water from various hot spring locations in Thailand comparing with the nanoparticles entrapped with distilled water (control) were investigated. The selected sources of mineral water, that contained high contents of metals (such as Mg^{2+}, Ca^{2+}, and Na^{+}), which are useful for skin were On-Luay (Sankamphaeng district), Pong Kum (Doi Saket district); Chiang Mai Province and Boh Nam Ron; Ranong Province. The bilayer vesicles were prepared by the conventional chloroform film method with sonication. The nanoparticles were composed of Tween 20, 60, 61, 80 and Span 20, 40, 60, 80 and 85 mixed with cholesterol in the molar ratio of 1:1. The total concentration of the non-ionic surfactants and cholesterol was adjusted to 20 mM. The morphology of the particles entrapped with mineral water observed under optical microscope was small unilamellar vesicles with the diameter range of 300-1000 nm,which were significantly

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

($p<0.05$) smaller than the control (1-3.5μM)(n=12). The order of the increased particle sizes of niosomes entrapped with Sankamphaeng mineral water was Span 40<60<20<80< Tween 61<60<80<20. Span 85 could not form niosomes because no film was obtained. Span 20, 40 and 60 showed the best stability at 4±2, 25±2 and 45±2^{0}C observed for 6 months because of least sedimentation and layer separation as well as the unchanged particle sizes. Na^+ contents were determinated by atomic absorption spectroscopy. The amounts of Na^+ in Span 40, 60, and 20 niosomes were 150.12±15.76, 148.19±31.04, and 150.11±16.77 ppm with the entrapment efficiency of 24.9±1.81%, 5.66±0.46% and 5.14±0.42% respectively. Percentage of entrapment decreased with times. The stable niosomal formulations of Span 20, 40, and 60 were selected for transdermal study through pig ear skin by Franz diffusion cells at 37±2^{0}C for 48 hours. Na^+ was used as a marker for the permeation studies, analyzed by ionchromatography at initial time, 0.5, 1- 8, 12, 24, 36 and 48 hours. Cumulative amount of Na^+ in the receiver chamber decreased according to the order of niosomal Span 20>60>40 and niosomes entrapped with mineral water in 15%NaCl solution (ET+NaCl) > blank niosome in 15%NaCl solution (BLK+NaCl) > niosome entrapped with mineral water (ET) > niosome entrapped with water (BLK). Niosomal Span 40 entrapped with mineral water appeared to control the rate of Na^+ release profile different significantly from the control (15%NaCl)($p\leq0.05$). The penetration study of deuterium ion on pig ear skin by Franz diffusion cells of the niosomal Span 40 entrapped with mineral water dissolved in deuterium water (ET+DT) was compared with Span 40 ingredient (Ing+DT) without niosomes. The deuterium ion in the receiver chamber was detected by infrared spectrophotometer at 2512 cm^{-1}. ET+DT gave the lower absorbance than Ing+DT. This result agreed with the above permeation study of sodium ion that Span 40 niosomes showed lower amount of ion in the receiver compartment than other Span niosomal formulations. In the performance test on the skin of human volunteers, niosomal Span 40 entrapped with mineral water gave higher moisture effect on skin than the niosomal Span 40 entrapped with water, 5% glycerin and 15%NaCl solution. This might be due to the effects of mineral from the mineral water. The niosomal Span 40 entrapped with mineral water incorporates in gel gave good stability at 4±2, 30±2 and 45±2^{0}C for 6 months. The Na^+ amount in the gel incorporated with Span 40 entrapped with mineral

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

water decreased with times, but less than the niosomal suspension. This study has suggested that not only niosomal Span 40 entrapped with mineral water indicated the most chemical and physical stability, but also the greatest retention of Na^+ and water in the skin. This has also confirmed by the performance test. Thus, niosomal Span 40 entrapping with mineral water can be potentially used to incorporate in many dermatological preparations for moisturing effects on skin in cosmetic and pharmaceutical applications of several skin diseases such as atopic dermatitis.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาตำรับอนุภาคขนาดเล็กที่เก็บกักน้ำแร่เพื่อใช้ทางผิวหนัง

ผู้เขียน นางสาววลัยลักษณ์ วิทย์กิตติลักษณ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. อรัญญา มโนสร้อย	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. จีรเดช มโนสร้อย	กรรมการ
Prof. Dr. Kenji Sugibayashi	กรรมการ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับนีโอโซมที่กักเก็บน้ำแร่เพื่อใช้ทางผิวหนังโดยประเมินจากการเกิดของอนุภาค ความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี ประสิทธิภาพในการเก็บกักน้ำแร่ การดูดซึมผ่านผิวหนังและความสามารถในการเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังในอาสาสมัคร ได้ศึกษาเปรียบเทียบสมบัติและความคงตัวของนีโอโซมที่กักเก็บน้ำแร่จากแหล่งน้ำพุร้อนต่างๆในประเทศไทยเปรียบเทียบกับอนุภาคนีโอโซมที่เก็บกักน้ำกลั่น (control) ได้สุ่มตัวอย่างน้ำแร่จากแหล่งน้ำซึ่งมีแร่ธาตุที่มีประโยชน์ต่อผิวหนังในปริมาณที่สูง (เช่น แร่ธาตุแมกนีเซียม, แคลเซียม และ โซเดียม) ซึ่งได้แก่ อ่อนหลวย (อ.สันกำแพง) โป่งคุ้ม (อ. ดอยสะเก็ด) จังหวัดเชียงใหม่ และบ่อน้ำร้อน จังหวัดระนอง มาเตรียมตำรับนีโอโซมโดยใช้วิธีคลอโรฟอร์มฟิล์มและคลื่นความถี่สูงตำรับนีโอโซมประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุต่างๆซึ่งได้แก่ ทวีน 20, 60, 61, 80 และ สแปน 20, 40, 60, 80 ในอัตราส่วนโมลาร์ผสมกับโคเลสเทอรอลเท่ากับ 1:1 โดยมีความเข้มข้นของส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุและโคเลสเทอรอลในทุกตำรับเท่ากับ 20 มิลลิโมลาร์ เมื่อตรวจสอบขนาดอนุภาคภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่านีโอโซมที่เก็บกักน้ำแร่ทุกแหล่งเป็นอนุภาคขนาดเล็กที่มีผนังสองชั้นเพียงชุดเดียวและมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 300-1000 นาโนเมตร ซึ่งเล็กกว่านีโอโซมที่กักเก็บน้ำปราศจากไอออน (control) (1-3.5ไมโครเมตร)(n=12) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) การ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลำดับขนาดอนุภาคนีโอโซมที่เก็บกักน้ำแร่สันกำแพงจากเล็กไปใหญ่มีดังนี้ นีโอโซมสแปน40<60< 20<80<นีโอโซมทวีน61<60<80<20 ไม่สามารถเตรียมนีโอโซมจากสแปน85 เนื่องจากไม่เกิดแผ่นฟิล์ม พบว่านีโอโซมสแปน20, 40และ 60 มีความคงตัวทางกายภาพดีที่อุณหภูมิ 4±2, 30±2และ 45±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 เดือน เนื่องจากไม่ตกตะกอนและขนาดอนุภาคไม่เปลี่ยนแปลง การวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุโซเดียมด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์บชั่นสเปคโตรสโคปี พบว่าปริมาณแร่ธาตุโซเดียมในนีโอโซมที่เตรียมจากสแปน 40, 60 และ 20 เท่ากับ 150.12±15.76, 148.19±31.04, 150.11±16.77 ppm ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเก็บกักในนีโอโซมเท่ากับ 24.9±1.81%, 5.66±0.46% และ 5.14±0.42% ตามลำดับ โดยทุกตำรับมีเปอร์เซ็นต์การเก็บกักลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ได้เลือกตำรับนีโอโซมสแปน 20, 40 และ 60 ที่มีความคงตัวทางด้านกายภาพมาศึกษาการซึมผ่านหนังหูหมูด้วย Franz diffusion cells ที่อุณหภูมิ 37±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้แร่ธาตุโซเดียมเป็นมาร์คเกอร์และวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโตรกราฟฟี ได้สุ่มตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น 0.5, 1- 8, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณโซเดียมในส่วน receiver chamber ที่ตรวจวัดได้ลดลงในตำรับดังต่อไปนี้ นีโอโซมสแปน 20>60>40 โดยตำรับนีโอโซมมีการกักเก็บน้ำแร่ในอนุภาคและมีสารละลาย15%โซเดียมคลอไรด์ภายนอก (ET+NaCl) จะให้ค่าโซเดียมที่มากกว่าตำรับนีโอโซมที่มิได้มีการกักเก็บน้ำแร่ในอนุภาคและมีสารละลาย 15%โซเดียมคลอไรด์ภายนอก (BLK+NaCl) มากกว่าตำรับที่มีการกักเก็บน้ำแร่ในอนุภาคนีโอโซม (ET) และมากกว่าตำรับที่กักเก็บน้ำปราศจากไอออน (BLK) ตามลำดับ โดยนีโอโซมสแปน 40 ที่มีการกักเก็บน้ำแร่ภายในอนุภาค (ET 40) สามารถควบคุมอัตราการแพร่ผ่านของโซเดียมออกจากผิวหนังได้นานที่สุดเมื่อเทียบกับ15%สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (control) ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ได้ศึกษาผลของตำรับนีโอโซมสแปน 40 ที่กักเก็บน้ำแร่และกระจายตัวในน้ำดิวเทอเรียมต่อการกักเก็บแร่ธาตุในผิวหนังโดยเทียบกับส่วนประกอบของสแปน 40 ที่มิได้เป็นนีโอโซม ผ่านหนังของหูหมู โดยใช้ Franz diffusion cells ตรวจสอบดิวเทอเรียมใน receiver chamber ด้วยอินฟราเรด สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาการผ่านหนังหูหมูของโซเดียมข้างต้นโดยนีโอโซมสแปน 40 ให้ปริมาณโซเดียมใน receiver chamber น้อยกว่าสูตรอื่นๆ เนื่องจากได้ค่าดูดกลืนแสงต่ำกว่าส่วนประกอบของสแปน 40 ที่ไม่เป็นนีโอโซม เมื่อวัดด้วยเครื่องอินฟราเรดที่ 2512 เซนติเมตร$^{-1}$ การทดลองในอาสาสมัครพบว่านีโอโซมสแปน 40 ที่กักเก็บน้ำแร่ให้ผลการเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้ดีกว่านีโอโซมสแปน 40 ที่ไม่กักเก็บน้ำแร่, 5%กลีเซอรีน และ 15%สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ทั้งนี้อาจเป็นผลของแร่ธาตุในน้ำแร่ ตำรับเจลที่มีส่วนผสมของนีโอโซมสแปน 40 ที่กักเก็บน้ำแร่ พบว่าให้ความคงตัวทางกายภาพดีเมื่อเก็บไว้ที่ 4±2, 30±2 และ 45±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 เดือน เมื่อเวลาผ่านปริมาณโซเดียมในตำรับจะลดลงแต่จะลดลงช้ากว่าในตำรับนีโอโซมที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นสารแขวนตะกอน การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าตำรับนีโอโซมที่เตรียมจากสแปน 40 ที่กักเก็บน้ำแร่ไม่เพียงแต่มีความคงตัวทั้งทางเคมีและกายภาพดีที่สุด ยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยแร่ธาตุโซเดียมออกจากผิวหนังได้ช้าที่สุดและทำให้มีการกักเก็บน้ำในผิวหนังได้มากที่สุด ซึ่งผลดังกล่าวได้ยืนยันจากการทดสอบในอาสาสมัคร ดังนั้นจะสามารถนำนีโอโซมสแปน 40 ที่กักเก็บน้ำแร่ไปผสมในเบสของผลิตภัณฑ์ใช้ทางผิวหนังต่างๆเพื่อให้ความชุ่มชื้นผิวในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ยาทาภายนอกสำหรับโรคผิวหนังต่างๆ เช่น โรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนังได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved