

Thesis Title Development and Evaluation of Antibacterial Oral Spray from Mangosteen Rind Extract

Author Mr. Pathom Jujun

Degree Master of Pharmacy (Pharmaceutical Science)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Yanee Pongpaibul	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Krisana Pootakham	Member
Asst. Prof. Dr. Chadarat Duangrat	Member
Assoc. Prof. Prasit Tharavijitkul	Member

ABSTRACT

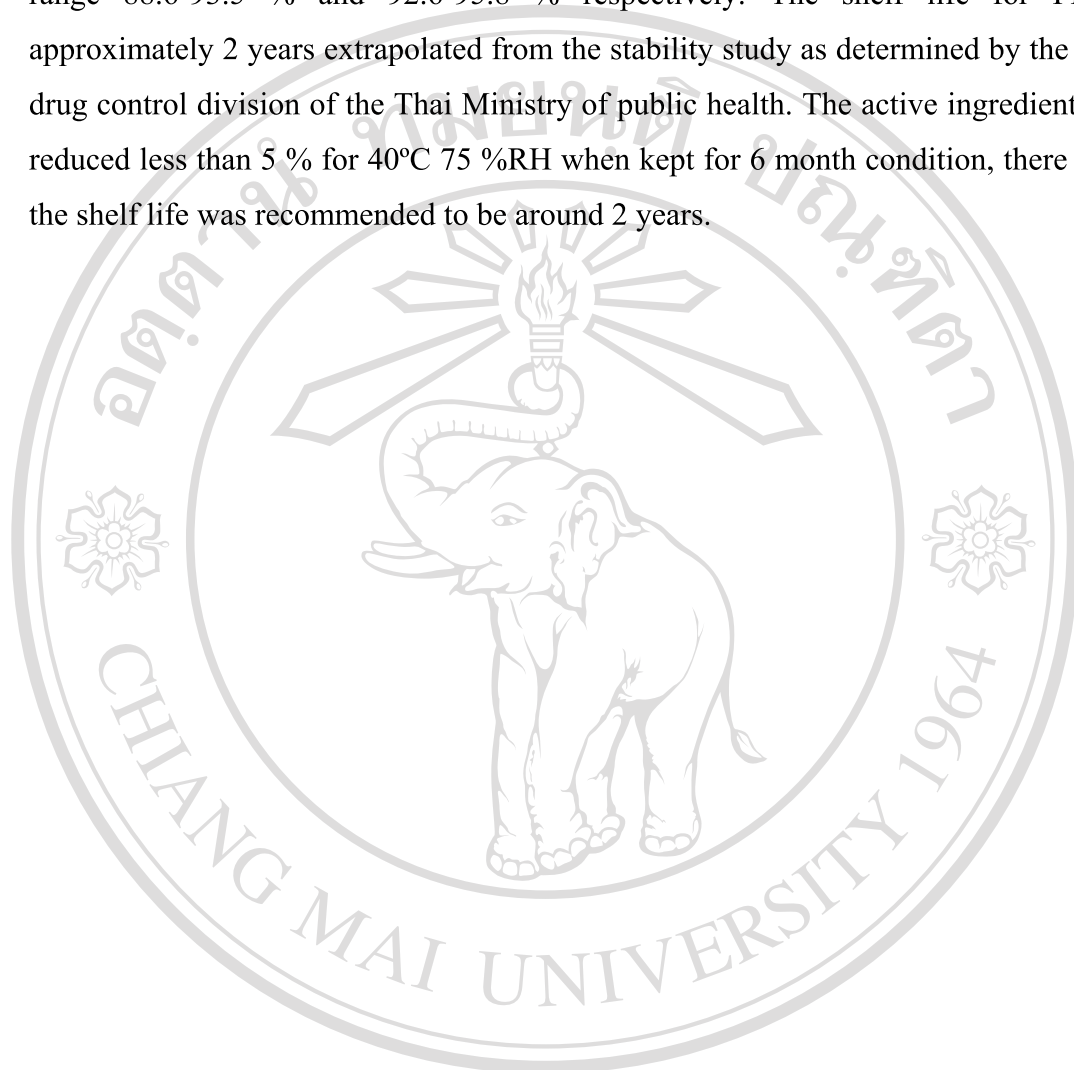
The development and evaluation of antibacterial oral spray from mangosteen rind extract are composed of 3 parts. First, the studies of acute oral toxicity according to OECD 420 method and the repeated dose 28 days oral toxicity according to OECD 407 methods were all carried out in rats. In the acute toxicity tests, oral administration of 2, 3 and 5 g/kg BW of crude extract showed no toxic signs, no mortalities and no effect on growth rate in both control and experiment groups. None of them showed gross pathological changes at necropsy stage. In the subacute toxicity Sprag-Dawley test, rats (13 of each sex in each group) were given mangosteen rind extract at the dose of 0, 50, 500 and 1,000 mg/kg BW day for 28 consecutive days. Rats in the satellite group were given the test material at the dose of 1,000 mg/kg BW for 28 days and observed thereafter for 14 days in order to study the chance of reversibility of the adverse effects. Results in the study showed that there were no the significant effects on average body weight, relative organ weight, histopathology of the organs, clinical biochemistry

and the hematological parameters of the treated rats. It was concluded that, the ethanol extract from the rind of mangosteen at the tested dose and time duration did not cause any acute or subacute oral toxicity in rats.

Second, a reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay was developed and validated for the determination of mangostin in mangosteen rind crude extract and in the oral spray preparation. The column was a C-18 analytical column; the conditions of the mobile phase consisted of methanol-water (95:5 %v/v), flow rate 1.5 ml/min, and the UV detector was set at 319 nm. The resulting chromatograms showed good resolution with a short retention time less than 5 minutes without any interfering peak. Standard curves were constructed in the concentration range of 25-125 µg/ml ($R^2 > 0.998$). The percentage recoveries at 3 levels of mangostin addition (30, 50 and 70 µg/ml) were between 94.73 to 98.39% for the crude extract and 94.14 and 99.87 % for the oral spray preparations with RSDs below 2% (n = 5) in all analyzed concentrations.

Third, Formulations of oral sprays are composed of 1 % w/w crude extract, 95 % ethanol, propylene glycol, sorbital, glycerine, peppermint oil, menthol, cinnamon, citric acid, ascorbic acid, saccharide sodium and water. The product characteristics are clear yellow solution, sweet, good flavor and have a cool feeling sensation upon spraying into the oral cavity. The product formulations A (FA) and B (FB) were observed for physical, chemical and biological changes after storage in various conditions, 4° C, room temperature (25-30° C), 30°C 65 % RH, 40 °C 75 %RH, for 180 days. The preparations were tested for their antibacterial activity against *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus*, which are considered the main causes of pharyngitis, by using broth dilution method. It was found that all preparations showed good antibacterial activity during the study period. The MIC for FA and FB against *Streptococcus pyogenes* after storage 180 days were 316.3 and 316.3 milligrams/liter respectively. The preparation of FA and FB were kept at 30° C and 40° C became darkened but the preparation were transparent. The degree of darkening depended on the storage temperature and the duration of storage. The remaining percentages of mangostin in FA and FB after storage for 180 days were in

range 88.6-93.5 % and 92.6-95.8 % respectively. The shelf life for FB is approximately 2 years extrapolated from the stability study as determined by the Thai drug control division of the Thai Ministry of public health. The active ingredient was reduced less than 5 % for 40°C 75 %RH when kept for 6 month condition, there fore, the shelf life was recommended to be around 2 years.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาและประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำยาพ่นช่องปากจากสารสกัดเปลือกมังคุด

ผู้เขียน นายปฐม จุจันทร์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ญานี พงษ์ไพบูลย์	ประธานกรรมการ
รศ. ดร. กฤษณา ภูตะคาม	กรรมการ
ผศ. ดร. ชฎารัตน์ ดวงรัตน์	กรรมการ
รศ. ประสิทธิ์ ธาราวิจิตรกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

การพัฒนาและประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำยาพ่นช่องปากจากสารสกัดเปลือกมังคุด งานวิจัยประกอบด้วย 3 ส่วน ส่วนที่ 1 ศึกษาพิษวิทยาเฉียบพลัน โคนวิธีกิน (OECD 420) และพิษวิทยาถึงเรื้อรัง โดยวิธีการกิน 28 วัน (OECD 407) ในหนูขาว การทดสอบพิษวิทยาเฉียบพลันโดยวิธีการกินให้ขนาด 2, 3 และ 5 กรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว ของสารสกัด ไม่ก่อให้เกิดอาการพิษ การตาย และการเจริญเติบโตผิดปกติ ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง นอกจากนี้หนูทดลองทั้งหมด ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ ในการทดสอบพิษถึงเฉียบพลัน ใช้หนู สแปก ดอเรย์ (13 ตัว ต่อเพศ ต่อกลุ่ม) ให้ในขนาด 0, 50, 500 และ 1,000 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม น้ำหนักตัว และ กลุ่ม 1,000 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม น้ำหนักตัวที่ให้สารสกัด 28 วันและหยุดให้ 14 วัน เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงอาการไม่พึงประสงค์ ต่าง ๆ การศึกษาพบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของร่างกาย น้ำหนักอวัยวะภายใน พยาธิวิทยาของอวัยวะภายใน ค่าทางชีวเคมีและ ค่าทางโลหิตวิทยา ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง สรุปสำหรับการทดสอบทางพิษวิทยา สารสกัดเปลือกมังคุดขนาดที่ใช้ทดสอบไม่ก่อให้เกิดพิษเฉียบพลันและถึงเฉียบพลันในหนู

ส่วนที่ 2 ได้ทำการพัฒนาวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงแบบวัฏภาคย้อนกลับ (RP-HPLC) สำหรับการวิเคราะห์ แเมงโกสทิน ในสารสกัดเปลือกมังคุด และผลิตภัณฑ์ยาพ่น ไซโคลลัม C-18 วัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วย เมธานอล-น้ำ (95:5 % v/v) อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตร/นาที และทำการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 319 นาโนเมตร โครมาโตแกรม แสดงการแยกพีคที่ดีและระยะเวลาการพบพีคแเมงโกสทินสั้น และไม่พบพีครบกวน กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณในความเข้มข้น 25-125 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ($R^2 = 0.998$) เปอร์เซ็นต์การคืนกลับ เมื่อเติมสารมาตรฐานแเมงโกสทิน 3 ระดับความเข้มข้น 30, 50 และ 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 94.73-98.39 สำหรับสารสกัดเปลือกมังคุด และ 94.14-99.87 % สำหรับยาพ่นคอ มีค่า RSD ต่ำกว่า 2.5 % (n=5)

ส่วนที่ 3 การตั้งตำรับยาพ่นคอจากสารสกัดเปลือกมังคุดประกอบด้วยสารสกัด 1 % w/w, 95 % เอทานอล โพรพิลีนไกลคอล ซอบิตอล กลีเซอริน น้ำมันเปปเปอร์มินท์ เมนทอล ซินนามอล กรดซิตริก น้ำตาลเทียม และน้ำ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ ไซ สี่เหลี่ยม หวาน รสดี และมีความรู้สึกเย็นสดชื่น เวลาสเปรย์เข้าช่องคอ ผลิตภัณฑ์ตำรับ A (FA) และ B (FB) เก็บไว้ที่สภาวะต่าง ๆ เพื่อทดสอบความคงสภาพทางกายภาพ เคมี ชีวภาพ เป็นระยะเวลา 6 เดือน เก็บที่อุณหภูมิ 4°C, อุณหภูมิห้อง (25-30°C), 30°C 65%RH, 40°C 75%RH ผลิตภัณฑ์ได้ทดสอบการต้านฤทธิ์ *Streptococcus pyogenes* DMST และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของคอหอยอักเสบ โดยวิธี macro broth dilution ผลิตภัณฑ์แสดงการต้านทานเชื้อแบคทีเรียได้ดีตลอดการศึกษา ค่า MIC ของตำรับ FA และ FB ต่อเชื้อ *Streptococcus pyogenes* DMST หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 180 วัน สำหรับตำรับ FA 316.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ FB 316.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลิตภัณฑ์ FA และ FB เก็บที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส สัมผัสความเข้มข้น แต่โปร่งแสง ระดับความเข้มข้นกับระยะเวลาการเก็บและอุณหภูมิที่เก็บ % ของแเมงโกสทินในตำรับ FA และ FB ที่เหลือหลังจากการเก็บที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 180 วัน อยู่ในช่วง 88.6-93.5 % สำหรับตำรับ FA และ 92.6-95.8 % สำหรับตำรับ FB อายุผลิตภัณฑ์ตำรับ FB มีอายุการใช้งานได้ 2 ปี เนื่องจากตามข้อกำหนดตามมาตรฐานวิธีการทดสอบเพื่อขึ้นทะเบียนตำรับยา คณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ปริมาณตัวยาสัมผัสต่อหลอดน้อยกว่า 5 % ที่ระยะเวลาการเก็บที่ 30 °C 65 % RH และ 40 °C 75 % RH