

Thesis Title Development of *Phyllanthus emblica* L. Extract Tablets as a Dietary Supplement Product

Author Miss Kritsana Japanya

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Songwut Yotsawimonwat

Advisor

Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi

Co-advisor

ABSTRACT

The aim of this study was to develop the *Phyllanthus emblica* L. extract tablet as a dietary supplement for antioxidant and antiglycation. The fresh fruits of *P. emblica* were dried and macerated with 95% ethanol, then the concentrated extract was fractionally extracted with different solvents; hexane, chloroform, ethyl acetate, and butanol, respectively by their polarity. All of concentrated fractional and crude extracts were tested for antioxidant activity, total phenolic content (TPC), and antiglycation activity to select the extract that had suitable properties for tablet formulation. The ethyl acetate fraction showed the highest antioxidant activity with IC₅₀ value of 12.08±2.62 µg/ml and EC value of 177.91±22.43 mM/mg corresponding to its highest total phenolic contents in terms of GAE value of 51.65±7.69 mg/g dry extract. The correlations between antioxidant activity and the total phenolic content were evaluated. All of the relationships had correlation coefficients (r) more than 0.9 or less than -0.7. It could indicate that there were good correlations between these parameters. Antiglycation activity of *P. emblica* crude and fractional extracts was also determined and the ethyl acetate fractional extract also showed the highest on antiglycation activity with IC₅₀ value of 19.20±1.99 µg/ml. The ethyl acetate fractional extract was lighter in color and had lower viscosity than that of the crude

extract and was selected to develop the dietary supplement tablets by wet granulation method. The appropriate formula of *P. emblica* ethyl acetate fractional extract (PEF) tablet was composed of 250 mg of ethyl acetate fractional extract, 40% Avicel[®] PH101 as a diluent, 5% Ac-Di-Sol[®] as a disintegrant, 2% purified talcum as a glidant and 0.5% magnesium stearate as a lubricant. The quality control of the finished product showed that PEF tablets (average weight of 514.9 ± 9.3 mg) contained 63.13 mg gallic acid per tablet by HPLC (High performance liquid chromatography) analysis. They exhibited the acceptable pharmaceutical properties; the average hardness of 78.52 ± 0.23 N; the friability of 0.0058% and the disintegration time of 19.19 ± 2.32 min. The dissolution study revealed that gallic acid dissolved relatively fast, more than 90% within 60 min in phosphate buffer pH 6.8. The stability of antioxidant activity, antiglycation activity and gallic acid content in PEF tablets were studied by storage the tablets in an ambient condition (30°C, 65% RH) and an accelerated condition (45°C, 75% RH) for 120 days. The percentage changes of antioxidant activity, TPC, and antiglycation activity were investigated. The results showed that percentage changes of the IC₅₀ (DPPH), EC, GAE, IC₅₀ (Antiglycation) and gallic acid content were 5.59%, 13.90%, 10.25%, 42.29% and 19.39% after storage at 30°C, 65% RH for 120 days, and were 35.15%, 26.57%, 13.59%, 44.23% and 27.28% after storage at 45°C, 75% RH for 120 days. From the results, it can be concluded that PEF tablet formulation developed in this study was suitable for the application as dietary supplement product for antioxidant and antiglycation. It had the acceptable pharmaceutical properties and was relatively stable at ambient condition.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนายาเม็ดสารสกัดมะขามป้อมเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	
ผู้เขียน	นางสาว กฤษณา จาปัญญา	
ปริญญา	เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. ทรงวุฒิ ยศวิมลวัฒน์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนายาเม็ดสารสกัดมะขามป้อม เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับด้านออกซิเดชันและด้านไกลเคชัน ผลมะขามป้อมสดจะถูกนำมาล้าง อบแห้ง และสกัดด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอลร้อยละ 95 สารสกัดเข้มข้นที่ได้จะถูกนำมาสกัดแบบแยกส่วนด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เอทิลอะซิเตต, และ บิวทานอล ตามลำดับ เรียงตามสภาพขั้วของตัวทำละลาย สารสกัดหยาบและสารสกัดแบบแยกส่วนในตัวทำละลายชนิดต่างกันจะถูกนำมาศึกษาฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ด้านไกลเคชัน เพื่อหาสารสกัดที่เหมาะสมสำหรับนำไปพัฒนาตำรับยาเม็ด สารสกัดในชั้นเอทิลอะซิเตต มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.08 ± 2.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า EC เท่ากับ 177.91 ± 22.43 มิลลิโมลลาร์ต่อมิลลิกรัม สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สูงที่สุด ซึ่งแสดงเป็นค่า GAE เท่ากับ 51.65 ± 7.69 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง การหาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ด้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่า ค่าสหสัมพันธ์มีค่ามากกว่า 0.9 และน้อยกว่า -0.7 แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างดีระหว่างฤทธิ์ด้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม การศึกษาฤทธิ์ด้านไกลเคชันของสารสกัดหยาบและสารสกัดแบบแยกส่วนในตัวทำละลายพบว่า สารสกัดในชั้นเอทิลอะซิเตต มีฤทธิ์ด้านไกลเคชันสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 19.20 ± 1.99 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดแบบแยกส่วนในชั้นของเอทิลอะซิเตตมีสีและความหนืดน้อยกว่าสารสกัดหยาบ จึงถูกนำมาใช้ในการพัฒนาตำรับยาเม็ด

เสริมอาหารด้วยวิธีการทำแกรนูลเปียก สูตรตำรับที่เหมาะสมของยาเม็ดสารสกัดเอทิลอะซิเตดมะขามป้อม (พีอีเอฟ) ประกอบด้วย สารสกัดในชั้นเอทิลอะซิเตดปริมาณ 250 มิลลิกรัม โดยใช้ Avicel® PH101 ร้อยละ 40 ในตำรับ เป็นสารเพิ่มปริมาณ Ac-Di-Sol® ร้อยละ 5 ในตำรับ เป็นสารช่วยแตกตัว ทาลคัมร้อยละ 2 ในตำรับ เป็นสารช่วยไหล และ แมกนีเซียม สเตียเรต ร้อยละ 0.5 ในตำรับเป็นสารช่วยลื่น การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สำเร็จของยาเม็ด ยาเม็ดสารสกัดเอทิลอะซิเตดมะขามป้อม (น้ำหนักเฉลี่ย 514.9 ± 9.3 มิลลิกรัม) พบว่ามีปริมาณกรดกอลลิกเท่ากับ 63.13 มิลลิกรัมต่อเม็ด เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีโครมาโตกราฟฟีสมรรถนะสูง ยาเม็ดมีสมบัติทางเภสัชกรรมเป็นที่ยอมรับ คือมีความแข็งเฉลี่ย 78.52 ± 0.23 นิวตัน มีค่าร้อยละของความกร่อนเท่ากับ 0.0058 และระยะเวลาการแตกตัวเท่ากับ 19.19 ± 2.32 นาที จากการศึกษาการละลายแสดงให้เห็นว่า กรดกอลลิกละลายออกมาได้เร็ว โดยละลายมากกว่าร้อยละ 90 ที่เวลา 60 นาที ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.8 การศึกษาความคงสภาพของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านไกลโคเจน และปริมาณกรดกอลลิก ในยาเม็ด เมื่อเก็บที่สภาวะปกติ (30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65) และ สภาวะเร่ง (45 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75) เป็นเวลา 120 วัน พบว่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงของค่า IC_{50} (ดีพีพีเอช), EC, GAE, IC_{50} (ฤทธิ์ต้านไกลโคเจน) และปริมาณกรดกอลลิกในยาเม็ดเท่ากับร้อยละ 5.59, 13.90, 10.25, 42.29 และ 19.39 เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 เป็นเวลา 120 วัน และมีค่าร้อยละ 35.15, 26.57, 13.59, 44.23 และ 27.28 เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เป็นเวลา 120 วัน จากผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า ตำรับยาเม็ดสารสกัดเอทิลอะซิเตดมะขามป้อม ที่พัฒนาขึ้นในการศึกษานี้มีความเหมาะสมในการนำไปใช้เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับต้านออกซิเดชันและต้านไกลโคเจน ยาเม็ดที่ได้มีสมบัติทางเภสัชกรรมเป็นที่ยอมรับได้ และมีความคงสภาพค่อนข้างดีเมื่อเก็บไว้ที่สภาวะปกติ