

จิตภา มุสิกะ : การพัฒนาตัวพาไขมันขนาดนาโนเพื่อเพิ่มการดูดซึมในกระเพาะอาหาร  
และลำไส้ของสารฟลาโวนอยด์จากพืช (DEVELOPING OF LIPID-BASED  
NANOCARRIERS FOR INCREASING GASTRO-INTESTINAL ABSORPTION OF  
PLANT FLAVONOIDS). อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.นวลน้อย จุฑะพงษ์,  
95 หน้า

เคอซิทินและลูปีนิ โพลินเป็นสารฟลาโวนอยด์จากพืช ซึ่งมีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอยู่  
หลายประการ สารทั้งสองมีแนวโน้มจะมีชีวปริมาณการออกฤทธิ์ต่ำเนื่องจากมีความสามารถในการ  
ละลายน้ำได้น้อย วัตถุประสงค์หลักของการศึกษานี้คือการพัฒนาตัวพาไขมันขนาดนาโนเพื่อใช้  
เป็นระบบนำส่งยาโดยมีเคอซิทินและลูปีนิ โพลิน (สกัดจากต้นชะเอมไทย) เป็นโมเดลต้นแบบ ตัว  
พาไขมันขนาดนาโนที่ผลิตขึ้นแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ solid lipid nanoparticles (SLN)  
nanostructured lipid carriers (NLC) และ nanoemulsions (NE) ซึ่งถูกเตรียมด้วยเทคนิค  
emulsification-sonification ตัวพาที่บรรจุเคอซิทินถูกผลิตขึ้นด้วยการเติมเกลือ น้ำดีที่มีความเข้มข้น  
ตั้งแต่ 0.5 10 และ 15 มิลลิโมลาร์เข้าในส่วนผสม โดยสูตรที่ประสบความสำเร็จ คือ NLC ที่บรรจุ  
เคอซิทิน (quercetin-loaded NLC; QNLC) ซึ่งมีส่วนประกอบของไขมันคือ glycerol monostearate  
(GMS) และน้ำมันมะกอก ส่วนตัวพาลูปีนิ โพลินขนาดนาโนที่ผลิตได้ทั้ง 3 แบบ คือ LSLN LNLC  
และ LNE นั้นมีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะสามารถพัฒนาต่อเป็นระบบส่งยาที่ดีได้ โดยมี  
ส่วนประกอบของไขมันคือ Dynasan<sup>®</sup> 116 และ/หรือ ไตรกลีเซอไรด์สายขนาดกลาง (MCT)

ได้ทำการตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและการปล่อยยาของตัวพาไขมันที่บรรจุ  
ด้วยเคอซิทินและลูปีนิ โพลิน พบว่าองค์ประกอบที่เหมาะสมของ QNLCs คือการเติมเกลือ น้ำดีใน  
ขนาดความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ โดยได้ขนาดอนุภาคในระดับนาโนที่  $115.5 \pm 2.0$  นาโนเมตร  
มีการกระจายของขนาดอนุภาคแบบสม่ำเสมอ (ดูจากค่า PDI ที่เท่ากับ 0.200) และมีความเสถียรสูง  
(เห็นได้จากค่าประจุที่ผิวอนุภาคที่เป็นลบ ( $-41.12 \pm 0.38$  มิลลิโวลต์) เคอซิทินถูกบรรจุลงในตัวพา  
ขนาดนาโนด้วยเปอร์เซ็นต์การห่อหุ้มสูง (99.5%) และมีการบรรจุเคอซิทินในไขมันเท่ากับ 0.5%  
เมื่อวัดการปล่อยเคอซิทินในสภาวะเลียนแบบทางเดินอาหาร พบว่าเคอซิทินถูกปล่อยออกมา 16.2%  
ภายในเวลา 4 ชั่วโมง นอกจากนั้นผลการทดลองยังชี้ว่า QNLCs มีการปลดปล่อยยาอย่างช้าๆ ใน  
ระบบหมุนเวียนเลือดแบบจำลอง ในกรณีของลูปีนิ โพลิน พบว่าตัวพาไขมันขนาดนาโนที่ดีที่สุดคือ  
LNLC ซึ่งมีขนาดอนุภาค  $151.5 \pm 0.1$  นาโนเมตร มีการกระจายของขนาดอนุภาคแบบสม่ำเสมอด้วย  
PDI เท่ากับ 0.243 ค่าประจุที่ผิวอนุภาคเป็นลบที่  $-41.18 \pm 0.67$  มิลลิโวลต์ มีเปอร์เซ็นต์การห่อหุ้มที่  
99.3% และมีความสามารถในการบรรจุลูปีนิ โพลินในไขมันสูง (5.0%) และเมื่อเปรียบเทียบกับ

QNLCs พบว่า LNLC มีการปลดปล่อยลูปีนิโพลินออกมาในระบบหมุนเวียนเลือดแบบจำลองอย่างช้าๆ เช่นกัน แต่มีการปลดปล่อยสารออกมาในทางเดินอาหารต่ำกว่า คือเพียง 3.7%

ความสามารถในการซึมผ่านลำไส้ของตัวพานานาโน ได้รับการประเมินในแบบจำลองผนังลำไส้ที่ใช้เซลล์ร่วมกันสามชนิด คือ Caco-2, HT29 และ Raji B ผลการศึกษาการขนส่งยาข้ามผนังลำไส้เล็กจำลองชี้ให้เห็นว่า QNLC ที่ประกอบด้วยเกลือน้ำดีขนาด 5 มิลลิโมลาร์ เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการนำส่งยาเนื่องจากพบว่าสามารถเพิ่มการดูดซึมเคอซีดินอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเคอซีดินแบบดั้งเดิม ประสิทธิภาพในการดูดซึมเคอซีดินจากทางเดินอาหารที่เพิ่มขึ้นนี้ได้รับการยืนยันโดยการศึกษาการดูดซึมผ่านลำไส้เล็กที่แยกจากตัวของสัตว์ทดลอง อย่างไรก็ตาม ในกรณีของลูปีนิโพลิน เนื่องจากความไวในการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ร่วมกับข้อมูลความเป็นพิษต่อเซลล์ ทำให้ความเข้มข้นที่เหมาะสมของลูปีนิโพลินในการทดสอบต่ำกว่าที่จะตรวจพบได้จากการทดสอบการส่งยาผ่านผนังลำไส้เล็กจำลองในหลอดทดลอง ดังนั้นการศึกษาโดยใช้รูปแบบการดูดซึมผ่านลำไส้เล็กของสัตว์ทดลองที่กลับเอาด้านในออกจึงมีความน่าเชื่อถือมากกว่า ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ลูปีนิโพลินถูกดูดซึมผ่านระบบส่งยา LNLC ได้มากกว่าลูปีนิโพลินแบบดั้งเดิมถึง 16 เท่า สรุปได้ว่าการศึกษานี้ประสบความสำเร็จในการผลิตตัวพาไขมันขนาดนาโนที่บรรจุด้วยเคอซีดินและลูปีนิโพลินเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาในการเพิ่มปริมาณการดูดซึม โภชนเภสัชภัณฑ์ทั้งสองชนิดนี้จากระบบทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นจะต้องทำการทดสอบในสัตว์ทดลองเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลจากการศึกษานี้

สาขาวิชาปรีคลินิก

ปีการศึกษา 2561

ลายมือชื่อนักศึกษา \_\_\_\_\_

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา \_\_\_\_\_




JIDAPA MUSIKA : DEVELOPING OF LIPID-BASED NANOCARRIERS  
FOR INCREASING GASTRO-INTESTINAL ABSORPTION OF PLANT  
FLAVONOIDS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. NUANNOI  
CHUDAPONGSE, Ph.D. 95 PP.

QUERCETIN/ NANOSTRUCTURE LIPID CARRIER/ BILE SALT/ LUPINIFOLIN  
/ ORAL BIOAVAILABILITY

Quercetin and lupinifolin, plant flavonoids, have been reported to possess various pharmacological effects. Both compounds are most likely to exert low oral bioavailability because of their poor water solubility. The objective of this study was to develop lipid nanocarriers as drug delivery systems by using quercetin and lupinifolin (extracted from *Albizia myriophylla* Benth.) as the models of choices. Three types of nanocarriers; solid lipid nanoparticles (SLN), nanostructured lipid carriers (NLC) and nanoemulsions (NE) were prepared by emulsification-sonification technique. Quercetin-loaded nanocarriers were merged with 0, 5, 10, and 15 mM bile salts. The successful formulation of quercetin was quercetin-loaded NLC (QNLC), of which lipid compositions were glycerol monostearate (GMS) and olive oil. All three types of nanocarriers loaded with lupinifolin, LSLN, LNLC, and LNE, were successfully synthesized, of which lipid component were Dynasan<sup>®</sup>116 and/or medium chain triglyceride (MCT).

Physicochemical characterizations along with releasing profile of QNLCs and lupinifolin-loaded lipid nanocarriers were investigated. The optimal composition of QNLCs, which added with 5 mM of bile salts, exhibited nanoscale-size of  $115.5 \pm 2.0$  nm, monodispersity distribution (as shown by PDI value of 0.200) and high stability (as

indicated by zeta potential  $-41.12 \pm 0.38$  mV). Quercetin was loaded in the nanocarriers with high percentage of encapsulation (99.5%) and 0.5% loading capacity. The QNLCs released quercetin in gastro-intestinal condition up to 16.2% in 4 hours and they showed a sustained release in simulated circulatory system. In the case of lupinifolin, the best lipid nanocarriers was LNLC, which demonstrated the particle size of  $151.5 \pm 0.1$  nm, monodispersity distribution with PDI of 0.243, negative surface charge at  $-41.18 \pm 0.67$  mV, high encapsulation (99.3%) and high loading capacity (5.0%). Compare to QNLCs, LNLC exhibited prolonged release in simulated circulatory system, but produced lower release in gastro-intestinal condition (3.7%).

Intestinal permeability of the nanocarriers was further evaluated in triple co-culture cell model (Caco-2, HT29 and Raji B cells). The results from the *in vitro* transepithelial transport study indicated that QNLC with 5 mM bile salt was the optimal formulation as it significantly increased the absorption, compared to native quercetin. This enhancement in GI absorption was confirmed by an *ex vivo* intestinal permeability study. However, due to the sensitivity of HPLC along with toxicity data, the suitable concentration of lupinifolin could not be detected in the *in vitro* transepithelial transport model. Thus an inverted small intestine model was more reliable. The results from the *ex vivo* study indicated that lupinifolin was absorbed through LNLC with 16 times higher than the native form. In conclusion, quercetin- and lupinifolin-loaded lipid nanocarriers were successfully formulated as delivery systems to enhance oral bioavailability of these nutraceutical compounds. However, further *in vivo* experiment is needed to validate the results from this study.

School of Preclinic

Student's Signature \_\_\_\_\_ 

Academic Year 2018

Advisor's Signature \_\_\_\_\_ 