ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E46266

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PREPARATION OF *Butea monosperma* FLOWERS EXTRACT NANOPARTICLES

PHUNSUK ANANTAWORASAKUL

MASTER OF SCIENCE
IN PHARMACEUTICAL SCIENCES

THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
OCTOBER 2011

b00256093

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E46266

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PREPARATION OF *Butea monosperma* FLOWERS EXTRACT NANOPARTICLES

PHUNSUK ANANTAWORASAKUL

THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND
RESEARCH LIBRARY

A THESIS SUBMITTED TO THE GRADUATE SCHOOL IN
PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
IN PHARMACEUTICAL SCIENCES

THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
OCTOBER 2011

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PREPARATION OF *Butea monosperma* FLOWERS EXTRACT NANOPARTICLES

PHUNSUK ANANTAWORASAKUL

THIS THESIS HAS BEEN APPROVED
TO BE A PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN PHARMACEUTICAL SCIENCES

EXAMINING COMMITTEE

.....CHAIRPERSON
Dr. Chirasak Kusonwiriyawong

.....MEMBER
Asst. Prof. Dr. Chadarat Ampasavate,

.....MEMBER
Assoc. Prof. Dr. Pornngarm Dejkriengkraikul

.....MEMBER
Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi

THESIS ADVISORY COMMITTEE

.....ADVISOR
Asst. Prof. Dr. Chadarat Ampasavate

.....CO-ADVISOR
Assoc. Prof. Dr. Pornngarm Dejkriengkraikul

.....CO-ADVISOR
Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi

19 October 2011

© Copyright by Chiang Mai University

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere gratitude and appreciation to my thesis advisor, Asst. Prof. Dr. Chadarat Ampasavate, and co-advisors, Assoc. Prof. Dr. Pornngarm Dejkriangkraikul, and Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi, for giving me the opportunity to work in the laboratories. With their guidances, continued encouragement, dedication towards this research project as well as supporting me in everything, I have been able to achieve the success presented in my thesis.

I would also like to thank Dr. Chirasak Kusonwiriyawong for serving on examining committee in this research.

I would like to gratefully thank Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi, and Assoc. Prof. Dr. Pornngarm Dejkriangkraikul for their kindly giving me the opportunity to work and use some materials and instruments in their laboratory.

I would like to recognize the help of our collaborators on this project, Rungsinee Phongpradist, Pimporn Anantaworasakul, Pantiwa Iangcharoen, and Nichthima Warinthip for providing assistance and ideas whenever obstacles were encountered, without their helps, this project would not have been possible.

I would like to grateful thank The Chiangmai Laboratory of the Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd. for providing the liquid chromatography coupled with atmospheric pressure ionization mass spectrometry (LC/API-MS).

In addition, I would like to thanks to staffs in the Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Sciences, Chiang Mai University, for their support during the course of this work. Thank you my every friends, especially, Wantida Chaiyana, Rattiros Khonkarn, Umaporn Phusod, Narakorn Khamfoo, Kritsana Japanya, Suchada Sudtiyanwimon, Waranya Neimkhum, Rinrumpai Puttipun, Ornchuma Naksuriya, Kanogorn Saenasa, for good friendship and kindly providing assistance in everything to make this project succeeded.

Most of all, I would like to thank my parents, my brother, my sister, my friends and all of my beloved ones for their unconditional love, understanding, encouragement, support, and patience throughout this entire process.

Finally, I am grateful for the Faculty of Pharmacy and graduate school of Chiang Mai University for providing me their support for my thesis research.

Phunsuk Anantaworasakul

Thesis Title Antioxidant Activity and Preparation of *Butea monosperma* Flowers Extract Nanoparticles

Author Miss Phunsuk Anantaworasakul

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Chadarat Ampasavate	Advisor
Assoc. Prof. Dr. Pornngarm Dejkriengkraikul	Co-advisor
Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi	Co-advisor

ABSTRACT

E46266

The purpose of this study was to investigate an antioxidant activity of bioactive compounds which are responsible for the antioxidant activity and suitable nanoparticles systems of Bastard Teak [*Butea monosperma* (Lam.) Taubert] or Thong-Kwao flowers extract. Phytochemical analysis of the crude ethanolic extract indicated that the flowers extract of *B. monosperma* composed of anthraquinone glycoside, triterpene glycosidde, cardiac glycoside, saponin glycoside and flavonoid glycoside, and phenolic compounds. Appropriate extraction protocols of dried flowers' powder were performed by both single solvent maceration with 80 % ethanol (ethanolic crude extract) and sequential maceration of with *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc), and 80 % ethanol (EtOH), respectively. Antioxidant activity-guide isolation of active compounds indicated the F2 fraction from a single ethanolic crude extract possessed the highest antioxidant activity (ABTS: TEAC value 24.72 ± 0.02 mM trolox equivalents/mg extract and IC_{50} 0.0269 ± 0.0000 mg/ml, FRAP: EC value 240.59 mM/mg extract, DPPH: IC_{50} 0.0306 mg/ml) and was selected to be as the active marker fraction for further study. From chromatographic and spectroscopic data, the bioactive principles were characterized as flavonoids: butin (m/z = 274.1

E46266

$[M+2H]^+$), butein (m/z = 273.2 $[M+H]^+$) and flavonoid glycosides: isomonospermoside (m/z = 436.2 $[M+2H]^+$), and monospermoside (m/z = 435.2 $[M+H]^+$). Polymeric and lipid-containing nanoparticular systems, five different nanoparticle systems, were selected for the entrapment of *B. monosperma* ethanolic crude extract. To study the optimal nanoparticle system for ethanolic crude extract, were evaluated the physical properties (size, size distribution and charge) and entrapment efficiency of each system. The result showed that nanostructured lipid carrier (NLC) and polylactide-co- glycolide (PLGA) nanoparticular systems presented the small size, narrow size distribution and higher percentage of entrapment when compared to the other systems. For the NLC formulation the palmitic acid –stearyl alcohol and jojoba oil were used as solid lipid and liquid lipid, respectively. The optimum ratio of solid lipid : liquid lipid was 7 : 3, yielding the particles size of 88.6 to 110.1 nm, polydispersity index (PDI) of 0.354 to 0.506, zeta potential of -34.8 to - 40.2 mV and percentage of flavonoid entrapment efficiency of 23.82 – 30.01 %. The nanoparticles prepared from PLGA nanoparticles exhibited the particles size in the range of 141.8 to 212.3 nm, PDI were between 0.116 to 0.164, zeta potential were - 12.6 to - 14.3 mV and percentage of flavonoid entrapment was 21.84 – 37.74 %. However, the NLC is the most optimal system in this study for delivery the ethanolic crude extract because its advantages over PLGA such as cosmetic production using non-toxic lipid carriers, avoidance of using the organic solvents and convenience for large scale production.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และการเตรียมอนุภาคนาโนของสารสกัดดอกทองกวาว
ผู้เขียน	นางสาวพูนสุข อนันตวรสกุล
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. ชฎารัตน์ อัมพะเศวต อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รศ. ดร. พรงาม เดชเกรียงไกรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

E46266

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสำคัญที่สกัดจากดอกทองกวาว และพัฒนาระบบนำส่งสารระดับนาโนเมตรที่มีความเหมาะสมกับสารสกัดดอกทองกวาว จากการศึกษาทางพฤกษเคมีเบื้องต้น พบว่าสารสกัดดอกทองกวาวส่วนแอลกอฮอล์ ประกอบด้วยสารในกลุ่มแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ซาโปนินไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ ไทรเทอร์พีน และสารประกอบกลุ่มฟีโนลิก ในการศึกษานี้วิธีการสกัดสารสำคัญจากดอกทองกวาวแห้งที่เหมาะสม ทำได้โดยการหมักสารสกัดด้วยสารละลายชนิดเดียวโดยใช้ 80 % แอลกอฮอล์ (เรียกสารสกัดส่วนเอธานอลิก) และการหมักด้วยสารละลายไล่ความมีขั้วโดยใช้เฮกเซน เอทิลแอซีเทต และ 80 % แอลกอฮอล์ ตามลำดับ การแยกสารสำคัญโดยอ้างอิงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันพบว่าสารสกัดดอกทองกวาวส่วนที่ 2 (F2) ที่แยกได้จากสารสกัด 80 % แอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด (ABTS: ค่า TEAC 24.72 ± 0.02 มิลลิโมลโทรลอกซ์เทียบต่อมิลลิกรัมสารสกัด และ ค่า IC_{50} 0.0269 ± 0.0000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร FRAP: ค่า EC 240.59 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัมสารสกัด DPPH: ค่า IC_{50} 0.0306 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังนั้นสารสกัดส่วนนี้จึงถูกเลือกใช้เป็นสารอ้างอิงสำหรับขั้นตอนต่อไปในการศึกษาครั้งนี้ จากข้อมูลทางโครมาโทกราฟฟี และสเปคโตรสโครปี พบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์มีโครงสร้างอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ บูทิน ($m/z = 274.1 [M+2H]^+$) บูเทอิน ($m/z = 273.2 [M+H]^+$) และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์

E46266

ไอโซโมโนสเปอร์โมไซด์ (m/z = 436.2 $[M+2H]^+$) โมโนสเปอร์โมไซด์ (m/z = 435.2 $[M+H]^+$) เมื่อทำการศึกษาหาระบบนำส่งสารสกัดที่เหมาะสมต่อสารสกัดดอกทองกวาว ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้เลือกทำการศึกษาระบบนำส่งที่แตกต่างกัน 5 ระบบ โดยพิจารณาคุณสมบัติทางกายภาพ (ขนาดอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาค และประจุที่ผิวอนุภาค) และร้อยละของความสามารถในการกักเก็บสารสกัด เพื่อประกอบการพิจารณาหาระบบนำส่งสารที่เหมาะสม ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ระบบ NLC และ PLGA ให้ขนาดอนุภาคที่เล็ก มีการกระจายตัวของอนุภาคที่แคบ และสามารถกักเก็บสารสกัดดอกทองกวาวส่วนเอธานอลิกได้ จากการทดลอง ตำรับ NLC ที่ใช้จะใช้ไขมันผสมระหว่าง ปามิติก แอซิด และ สเตียริลแอลกอฮอล เป็นไขมันแข็ง และ โจโจบาออย เป็นไขมันเหลว ในอัตราส่วน ระหว่างไขมันแข็ง : ไขมันเหลว เป็น 7 : 3 โดยมีขนาดอนุภาค 88.6 – 110.1 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวอยู่ในช่วง 0.354 – 0.506 ค่าประจุที่ผิวอยู่ในช่วง - 34.8 ถึง – 40.2 มิลลิโวลต์ และกักเก็บสารสกัดดอกทองกวาวได้ ประมาณร้อยละ 23.82 – 30.01 ในส่วนของ PLGA มีขนาดอนุภาค 141.8 – 212.3 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวที่แคบ 0.116 – 0.164 ค่าประจุที่ผิวอยู่ในช่วง - 12.6 ถึง – 14.3 มิลลิโวลต์ และ กักเก็บสารสกัดดอกทองกวาวได้ ประมาณร้อยละ 21.84 – 37.74 แต่ถึงอย่างไร ระบบนำส่ง NLC ถูกจัดให้เป็นระบบนำส่งสารสกัดดอกทองกวาวที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจาก มีประโยชน์เหนือกว่า อนุภาคนาโน PLGA หลายประการทั้งทางด้านทางการผลิต เครื่องสำอาง ไม่มีพิษ การเตรียมเป็นกระบวนการที่หลีกเลี่ยงการใช้สารละลายอินทรีย์ และสามารถเพิ่มการผลิตเป็นขนาดใหญ่ได้ง่าย

TABLE OF CONTENTS

	Page
ACKNOWLEDMENTS	iii
ABSTRACT (ENGLISH)	v
ABSTRACT (THAI)	vii
LIST OF TABLES	xi
LIST OF FIGURES	xiii
ABBREVIATIONS AND SYMBOLS	xvi
CHAPTER 1 GENERAL INTRODUCTION	1
1.1 Statement and significance of the problem	1
1.2 Aims of the study	3
CHAPTER 2 LITERATURE REVIEWS	4
2.1 *Butea monosperma* (Lam.) Taubert	4
2.2 Antioxidant	7
2.3 Nanotechnology	9
2.4 Method Validation	22
CHAPTER 3 MATERIALS AND METHODS	25
3.1 Chemicals and instruments	25
3.2 Acquisition of bioactive compounds from *B. monosperma* flowers	30
3.3 Phytochemical screening of *B. monosperma* flowers extract	31
3.4 Isolation of *B. monosperma* flowers extract	35
3.5 Antioxidant activity	37
3.6 Structure Elucidation	38
3.7 Development of nanoparticles protocol	40
3.8 Particles diameter size and zeta potential	43
3.9 Characterization of ethanolic crude extract loaded nanoparticles	44

3.10 Assay Validation 44
3.11 Percentage of entrapment efficiency 44
3.12 *In vitro* release of ethanolic crude extract loaded nanoparticle 45
3.13 Statistical analysis 45

CHAPTER 4 RESULTS 46
4.1 Medicinal plant materials 46
4.2 Extract preparation 47
4.3 Quality control of the extract 48
4.4 Antioxidant activity of *B. monosperma* flowers extract (crude extract) 57
4.5 Isolation of *B. monosperma* flowers extract 61
4.6 Antioxidant activity of the isolation of ethyl acetate fraction and ethanolic crude extract from *B. monosperma* flowers 62
4.7 Structure Elucidation 68
4.8 Assay Validation 82
4.9 Particle size, size distribution and zeta potential 84
4.10 Characterization of ethanolic crude extract loaded nanoparticles 95
4.11Percentage of entrapment efficiency 95
4.12 *In vitro* release of ethanolic crude extract loaded nanoparticle 98

CHAPTER 5 DISCUSSION 99

CHAPTER 6 CONCLUSION 106

REFERENCES 108

VITA 116

LIST OF TABLES

Table		Page
1	Types of polymers, method of nanoparticles, and nature of the particles	10
2	The mixture of toluene and ethanol in the gradient composition.	36
3	HPLC conditions for quality control of *B. monosperma* flowers extract	39
4	MS conditions for *B. monosperma* flowers extract	39
5	DSC conditions for quality control of *B. monosperma* flowers extract	40
6	The percent yield for powder from fresh *B. monosperma*. Flowers	47
7	The yield values of *B. monosperma* flowers extracts	47
8	Alkaloids screening test	56
9	Glycosides screening test	56
10	Phenolic and Tannin test	57
11	The percent yield of combined fractions (F1-F7) from ethyl acetate crude extract	61
12	The percent yield of combined fractions (F1-F5) of ethanolic crude extract.	62
13	Wavelength (λ) of the crude extract and the combined fractions of *B. monosperma*, which had the antioxidant activity	69
14	The gradient condition for isolation *B. monosperma* flowers extract using HPLC	70
15	The spectroscopic data of F2 ethanolic crude extract compare with butin	77
16	The spectroscopic data of F2 ethanolic crude extract compare with butin	78
17	The spectroscopic data of F2 ethanolic crude extract compare with isomonospermoside	79
18	The spectroscopic data of F2 ethanolic crude extract compare with butein	80
19	The spectroscopic data of F2 ethanolic crude extract compare with monospermoside	81
20	The intra-day accuracy and precision of analytical method	83

21 Effect of polymer ratio and concentration of *Butea monosperma* flowers extract (CS : SCMC = 1:1) 85

22 Effect of polymer ratio and concentration of *Butea monosperma* flowers extract (CS : SCMC = 2:1) 85

23 Effect of the concentration of *Butea monosperma* flowers extract (chitosan-alginate) 87

24 Effect of the concentration of *Butea monosperma* flowers extract (PLGA nanoparticles) 88

25 Effect of the concentration of *Butea monosperma* flowers extract (SLN) 91

26 Effect of the solid lipid and liquid lipid ratio 93

27 Effect of the concentration of *Butea monosperma* flowers extract 93

28 The percentage of entrapment efficiency (%EE) of chitosan : SCMC : ethanolic extract 96

29 The percentage of entrapment efficiency of PLGA nanoparticles with ethanolic crude extract 97

30 The percentage of entrapment efficiency which the ratio of solid lipid : liquid lipid = 3:7, 5:5, and 7:3 97

31 The percentage of entrapment efficiency which the ratio of solid lipid : liquid lipid = 7:3 98

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	*Butea monosperma* (Lam.) Taubert flowers	4
2	Schematic of drug encapsulated or absorbed at the surface of a polymeric nanoparticle	10
3	Chitosan (CS) structure	11
4	Sodium carboxymethylcellulose (SCMC) structure	12
5	The structure of alginate monomers: β-D-mannuronic acid (M) and α-L-guluronic acid (G)	13
6	The structure of chain conformation of alginate	14
7	The structure of polylactide-co-glycolide (PLGA)	15
8	Hydrolysis of PLGA nanoparticles	15
9	Basic type of solid lipid nanoparticles	16
10	Perfect crystal in SLN comparable with a brick wall and structure with imperfections due to spacially very different molecules in NLC type 1	18
11	Different types of NLC (versus SLN with high crystallinity)	19
12	Flow chart of the overall experimental methods	29
13	The herbarium specimen of *B. monosperma*	46
14	The characterization of *B. monosperma*	47
15	Appearance of *B. monosperma* flowers extract	48
16	The results from alkaloid testing with specific reagents	49
17	The result from anthracene / anthraquinone glycoside	50
18	The result from the sterol glycoside/ triterpene glycoside testing	51
19	The result from cardiac glycoside testing	51
20	The result from saponin glycoside	52
21	The result from flavonoid glycoside	52
22	The result from anthocyanine glycoside in acidic solution	53
23	The result from anthocyanine glycoside	53
24	The result from coumarin testing in visible light and under the UV lamp	54
25	The result from the phenolic and tannin testing	55

26 Free radical-scavenging activity of *B. monosperma* flowers crude extracts by ABTS method 58-59

27 Reducing power of *B. monosperma* flowers extracts were expressed as EC value, Crude extract 60

28 Free radical-scavenging activity of *B. monosperma* flowers extracts were expressed as IC_{50} value, Crude extract 60

29 The combined fractions of *B. monosperma* flowers EtOAc crude extracts examined by TLC 61

30 The combined fractions of *B. monosperma* flowers ethanolic crude extracts examined by TLC 62

31 Free radical-scavenging activity of *B. monosperma* flowers extracts were expressed as TEAC value of EtOAc extract (A), Ethanolic extract (C) and IC_{50} value of EtOAc extract (B), Ethanolic extract (D) by ABTS method 63-64

32 Reducing power of *B. monosperma* flowers extracts were expressed as EC value, EtOAc extract (A), and Ethanolic extract (B) by FRAP method 65

33 Free radical-scavenging activity of *B. monosperma* flowers extracts were expressed as IC_{50} value, EtOAc extract (A), and Ethanolic extract (B) by DPPH method 66-67

34 Correlation between free radical scavenging activity versus reducing power (A), free radical scavenging activities in different method, ABTS versus DPPH, between TEAC-IC_{50} (B) of the crude extract and the combined fractions of *B. monosperma* flowers extract 67-68

35 The UV Spectrum of *B. monosperma* flowers extract (Ethanolic extract) 69

36 HPLC chromatograms were developed under gradient condition 70-71

37 HPLC chromatograms were developed under isocratic condition 71-72

38 The structures of Butin (A), Isomonospermoside (B), Butein (C), and Monospermoside (D). 73

39 The HPLC chromatogram of ethanolic crude extract was developed in isocratic condition (ACN : DI water = 17 : 83). 73
40 Mass spectrum of ethanolic crude extract at 9.994 min 74
41 Mass spectrum of ethanolic crude extract at 44.371 min 74
42 FT-IR spectrogram of F2 ethanolic crude extract from *B. monosperma* flowers 75
43 The structure of reference compounds 76
44 Standard curve of *B. monosperma* flowers extract 82
45 The nanoparticles were prepared from chitosan and SCMC in different ratio 84
46 The nanoparticles were prepared from chitosan and alginate 86
47 The PLGA nanoparticles were prepared from PLGA and 1% PVA in different concentration of ethanolic crude extract 88
48 The DSC thermogram of *B. monosperma* flowers extract and the mixtures of lipid 90
49 The solid lipid nanoparticle was prepared from Palmitic acid and Stearyl alcohol 92
50 The nanostructured lipid carrier was prepared from palmitic acid and stearyl alcohol for solid lipid and jojoba oil for liquid lipid in different ratio between solid lipid and liquid lipid, and different concentration 94
51 TEM photography of NLC blank (50000x) 95
52 TEM photography of ethanolic crude extract loaded NLC (50000x) 95
53 Release profile of ethanolic extract and ethanolic extract loaded NLC 98

ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

%	Percent
λ_{max}	Maximum wavelength
ACN	Acetonitrile
BHA	Butylated hydroxyanisole
BHT	Butylated hydroxytoluene
°C	Degree Celsius
CC	Column chromatography
$CHCl_3$	Chloroform
cm	Centimeter
CS	Chitosan
DI water	Deionized distilled water
DMSO	Dimethylsulfoxide
d.nm	Diameter in nanometer
DS	Degrees of substitution
DSC	Differential Scanning Calorimeter
% EE	Percentage of entrapment efficiency
EC	Equivalent concentration
EtOAc	Ethyl acetate
EtOH	Ethanol
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
FT-IR	Fourier transform infrared spectroscopy
g	Gram
GA	Gallic acid
h	Hour
^{1}H-NMR	Proton nuclear magnetic resonance
HCl	Hydrochloric acid
HPH	High pressure homogenization
HPLC	High performance liquid chromatography
Hz	Hertz

IC_{50}	50% Inhibition concentration
KBr	Potassium bromide
KCl	Potassium chloride
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
KH_2PO_4	Dibasic potassium phosphate
KOH	Potassium hydroxide
kV	Kilovolt
l	Liter
LC/API-MS	Liquid Chromatography Coupled with Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry
L.O.D.	Limit of detection
L.O.Q.	Limit of quantitation
M	Molar
mg	Milligram
MIC	Minimum inhibition concentration
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mmol	Millimole
mp	Melting point
MS	Mass spectrum
mV	Millivolt
MW	Molecular weight
N	Normal
NaOH	Sodium hydroxide
NaCl	Sodium chloride
$NaHCO_3$	Sodium bicarbonate
Na_2CO_3	Sodium carbonate

NaH_2PO_4	Dibasic sodium phosphate
Na_2HPO_4	Monobasic sodium phosphate
NLC	Nanostructured lipid carrier
nm	Nanometer
PCL	Poly(ε-caprolactone)
PCS	Photon Correlation Spectroscopy
PDI	Polydispersity index
PEG	Polyethylene glycol
PEMA	Poly(ethylene-*alt*-maleic acid)
PGA	Poly (glycolic acid)
pH	Potential (or power) of hydrogen
PLA	Poly(D,L-lactic acid)
PLGA	Poly(DL-lactic-coglycolic acid)/ poly(lactide-*co*-glycolide)
ppm	Part per million
PVA	Polyvinyl alcohol
QCT	Quercetin
ROS	Reactive oxygen species
rpm	Revolution per minute
s	Second
SCMC	Sodium carboxymethylcellulose
SLN	Solid lipid nanoparticles
TBHQ	*tert*-butyl hydroquinone
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TEM	Transmission Electron Microscopy
TLC	Thin layer chromatography
UA	Uranyl acetate
US FDA	United State of America Federal Drug Administration
UV	Ultraviolet
µg	Microgram

µl	Microliter
µm	Micrometer