ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E46261

การตั้งตำรับแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากไซโลกลูแคนเมล็ดมะขาม ชื่งผสมสารสกัดบัวบก

นางสาวธิรัญญา อัสนี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรม ภาควิชาเภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

b00256077

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่ง
E46261

การตั้งตำรับแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากไซโลกลูแคนเมล็ดมะขาม ซึ่งผสมสารสกัดบัวบก

นางสาวจิรัญญา อัสนี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรม ภาควิชาเภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4876559033

FORMULATION OF FILMS PREPARED FROM TAMARIND SEED XYLOGLUCANS CONTAINING *CENTELLA ASIATICA* EXTRACT

Miss Jirunya Assanee

A Thesis Submitted Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Pharmaceutics

Department of Pharmacy

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

Thesis Title	FORMULATION OF FILMS PREPARED FROM TAMARIND SEED XYLOGLUCANS CONTAINING CENTELLA ASIATICA EXTRACT
By	Miss Jirunya Assanee
Field of Study	Pharmaceutics
Thesis Advisor	Associate Professor Suchada Chutimaworapan, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....Dean of the Faculty of Pharmaceutical Sciences
(Associate Professor Pornpen Pramyothin, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman
(Associate Professor Uthai Suvanakoot, Ph.D.)

..... Thesis Advisor
(Associate Professor Suchada Chutimaworapan, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor
(Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.)

..... Member
(Associate Professor Thitima Pengsuparp, Ph.D.)

..... Member
(Assistant Professor Pol. Lt. Walaisiri Muangsiri, Ph.D.)

จิรัญญา อัสนี: การตั้งตำรับแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากไซโลกลูแคนเมล็ดมะขามซึ่งผสมสารสกัดบัวบก (FORMULATION OF FILMS PREPARED FROM TAMARIND SEED XYLOGLUCANS CONTAINING *CENTELLA ASIATICA* EXTRACT) อ. ที่ปรึกษา: รศ. ดร.สุชาดา ชุติมา วรพันธ์, อ. ที่ปรึกษาร่วม:ผศ.ดร.ชำนาญ ภัตรพานิช, 161 หน้า.

E46261

การศึกษาขั้นตอนการกำจัดไขมัน และการทำให้ตะกอนนอนก้นของไซโลกลูแคนจากเมล็ดมะขามเพื่อคัดเลือกวิธีที่เหมาะสมในการสกัดไซโลกลูแคน พบว่า วิธีที่ 1 ซึ่งคัดเลือกเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดโดยใช้การผสมแช่ผงเมล็ดมะขามกับเฮกเซนก่อนแล้วจึงผสมกับน้ำ และทำให้ตะกอนนอนก้นโดยการหมุนเหวี่ยงในทันที นอก จากนี้ได้ศึกษาหาสภาวะการพ่นแห้งที่เหมาะสมที่สุดด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง ได้ศึกษาผลของปัจจัยเกี่ยวกับกระบวนการได้แก่ อุณหภูมิลมเข้า และอัตราการไหลของอากาศต่อปริมาณผลผลิตและปริมาณความชื้นโดยใช้วิธีการออกแบบส่วนประกอบกลางที่ผิว พบว่าโมเดลกำลังสองเหมาะสมเข้ากับเปอร์เซ็นต์ปริมาณผลผลิต และโมเดลเชิงเส้นเหมาะสมเข้ากับเปอร์เซ็นต์ความชื้น ($P<0.05$) โดยใช้การพล็อตโอเวอร์เลย์สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดได้ และทดลองทำซ้ำพบว่าค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ปริมาณผลผลิตและเปอร์เซ็นต์ความชื้นที่ได้อยู่ในช่วงที่คาดการณ์ไว้ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่า 50.04±4.13 เปอร์เซ็นต์ และ 6.07±0.37 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แสดงว่าโมเดลดังกล่าวเหมาะสมเข้ากันได้ดีกับผลการทดลอง การศึกษาคุณสมบัติของผงพ่นแห้งไซโลกลูแคน พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย 1% น้ำหนักต่อปริมาตรของผงแห้งไซโลกลูแคนในน้ำเท่ากับ 7.83 ค่าการละลายของไซโลกลูแคนในน้ำประมาณ 6.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลาย ไซโลกลูแคนมีการไหลแบบซูโดพลาสติก แผ่นฟิล์มที่เตรียมจากผงไซโลกลูแคนซึ่งผสมสารสกัดบัวบกในความเข้มข้นเทียบเท่ากับเอเชียติโคไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อประเมินจากคุณสมบัติเชิงกลพบว่าฟิล์มมีลักษณะแข็งและเหนียว และมีคุณสมบัติยึดติดดีมีค่าแรงยึดติดเท่ากับ 3.70±1.11 นิวตันต่อตารางเซนติเมตร ผลจากดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิงแคลอรีเมทรี และพาวเดอร์เอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคชันแสดงให้เห็นว่าสารสกัดบัวบกอาจจะกระจายในแผ่นฟิล์มในระดับโมเลกุล และ/หรืออยู่ในรูปอสัณฐานแบบของแข็งกระจายตัว การปลดปล่อยเอเชียติโคไซด์จากแผ่นฟิล์มมากกว่า 50% ที่เวลา 8 ชั่วโมง การวิเคราะห์กลไกการปลดปล่อยของสารเอเชียติโคไซด์ พบว่าการปลดปล่อยเป็นสัดส่วนกับรากที่สองของเวลา แสดงได้ว่าสารเอเชียติโคไซด์อาจจะปลดปล่อยออกจากแผ่นฟิล์มโดยการแพร่ การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังใช้ผิวหนังหน้าท้องของลูกหมูเป็นเมมเบรนโมเดล พบว่ามีเอเชียติโคไซด์ในผิวหนังอยู่ประมาณ 1.30±1.28 เปอร์เซ็นต์ การตรวจพบเอเชียติโคไซด์ในปริมาณน้อยอาจเกิดจากการไฮโดรลิซิสของเอเชียติโคไซด์เป็นกรดเอเชียติดซึ่งเป็นสารออกฤทธิหนึ่งของสารสกัดบัวบก

ภาควิชา	เภสัชกรรม	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา	เภสัชกรรม	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา	2550	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

47876559033 : MAJOR PHARMACEUTICS

KEY WORD: XYLOGLUCAN / SPRAY DRYING / *CENTELLA ASIATICA* EXTRACT / TAMARIND SEED / ADHESIVE PROPERTY / FILM

JIRUNYA ASSANEE: FORMULATION OF FILMS PREPARED FROM TAMARIND SEED XYLOGLUCANS CONTAINING *CENTELLA ASIATICA* EXTRACT. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SUCHADA CHUTIMAWORAPAN, Ph.D., THESIS COADVISOR: ASST. PROF. CHAMNAN PATARAPANICH, 161 pp.

E46261

The process of defatting and sedimentation of xyloglucan from tamarind seed were investigated in order to select the appropriate method for xyloglucan extraction. The selected Method I was performed by soaking tamarind seed powder with hexane prior to mixing with water and then sedimentation by centrifugation. In addition, the optimized spraying condition was estimated by response surface methodology. The effect of two process parameters, inlet temperature and aspirator rate on yield and moisture content was studied. A face centered design showed a quadratic model fitted for %yield and a linear model for %moisture content ($P < 0.05$). The optimum region by overlay plot was carried out using the best condition to evaluate the repeatability of the spray-drying technique. The observed means obtained for %yield and %moisture content were in range of the prediction intervals at 95% confidence level as, 50.40±4.13% and 6.07±0.37%, respectively. The result clearly showed that the model fitted the experimental data well. The properties of xyloglucan spray dried powder were determined. The pH value of 1%w/v solution of xyloglucan in water was 7.83. The solubility in water of xyloglucan was 6.28 mg/ml. The solution of xyloglucan exhibited typical pseudoplastic flow. The film prepared from xyloglucan powder containing *Centella asiatica* extract in equivalent amount of asiaticoside at 1%w/w, from mechanical property evaluation, was hard and tough and had good adhesive property with adhesive force of 3.703±1.11 N/cm^2. Differential scanning calorimetry and powder x-ray diffraction studies revealed that *Centella* extract might molecularly disperse with film formulation and/or exist in an amorphous state as a solid dispersion. The release of asiaticoside more than 50% from film formulation was achieved at 8 hours. The analysis of release mechanism showed that the release of asiaticoside was proportional to the square root of time, indicating that asiaticoside might be released from the film formulation by diffusion. The skin permeation study using porcine skin as model membrane showed that asiaticoside permeated into skin approximately 1.30±1.28%. The detection of small amount of asiaticoside permeated might be due to hydrolysis of asiaticoside to Asiatic acid, one of active compounds of *Centella* extract.

Department : Pharmacy Student's Signature: Jirunya Assanee

Field of Study : Pharmaceutics Advisor's Signature: Suchada Chutimaworapan

Academic Year : 2007 Co-Advisor's Signature: Chamnan P.

ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to express my gratitude to my advisor Associate Professor Suchada Chutimaworapan, Ph.D. for suggesting the main topic of this study and for providing excellent working facilities. I am most grateful for her scientific guidance as well as for her advice, constant enthusiasm and encouragement, all of which made the completion of this study possible.

I would like to express my appreciation and grateful thanks to my co-advisor, Assistant Professor Chamnan Patarpanich, Ph.D. for his valuable suggestion and kindness during the analysis method.

I thank most sincerely the reviewers of this thesis, Associate Professor Uthai Suvanakoot, Ph.D., the chairman of my thesis examination committee, as well as other committee members. I am grateful to Associate Professor Thitima Pengsuparp, Ph.D. and Assistant Professor Pol. Lt. Walaisiri Muangsiri, Ph.D. for their constructive criticism and for giving me valuable suggestions for its improvement.

I am very grateful to Dr. Mukdawan Prakobvaitayakit and Dr. Angkana Tantituwanont for spending her valuable time and suggestion for the statistical program. I am very grateful to Associate Professor Waraporn Suwakul, Ph.D. for spending her valuable time and suggestion for the *in vitro* release and skin permeation studies. I am very grateful to Dusadee Charnvanich for spending her valuable time and suggestion for the spray dried technique.

I appreciate to UNIDO for allowance of using reflective index detector. I would like to express my thank to Megazyme International Ireland Ltd. for providing xyloglucan standard, ADINOP Co., Ltd., Thailand for providing Sepicide® HB, and Associate Professor Sunanta Pongsamart, Ph.D. for allowance of using tensimeter.

My sincere thanks are to all staff members of Department of Pharmacy and Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for helping and other persons whose names have not been mentioned here for their assistance and encouragement.

Finally, greatest thank to my parents for their everlasting love, understanding, encouragement, and continued support during the course of my education.

CONTENTS

Page

THAI ABSTRACT..... iv

ENGLISH ABSTRACT..... v

ACKNOWLEDGEMENTS..... vi

CONTENTS..... vii

LIST OF TABLES.....ix

LIST OF FIGURES..... xi

LIST OF ABBREVIATIONS.....xiii

CHAPTER

I INTRODUCTION..... 1

II LITERATURE REVIEW 3

Botanical, Chemical and Pharmacological Aspects of *Tamarindus indica* (Linn.)..... 3

Chemistry, physicochemical properties and application of xyloglucan from tamarind seed.....4

Spray drying technique.....10

Structure of skin.....13

Transdermal drug delivery system.....15

Wound healing.....18

Botanical, Chemical and Pharmacological Aspects of *Centella asiatica* (Linn.).....19

III MATERIALS AND METHODS..... 24

Materials..... 24

Apparatus..... 25

Methods..... 27

IV RESULTS AND DISCUSSION..... 51

Characterization of xyloglucan spray dried powder from tamarind seeds 51

Optimization of spray drying condition.....59

Evaluation of physiochemical properties of xyloglucan powder from Tamarind seed..... 74

Page

Evaluation of films prepared from tamarind seed and films Formulation prepared from tamarind seed containing *Centella asiatica* extract.....79

V CONCLUSIONS.....96

REFERENCES.....99

APPENDICES.....106

VITA.....161

LIST OF TABLES

Table		Page
1	A face central design of two parameters	38
2	Mixing ratio of absolute ethanol and tamarind seed xyloglucan solution	40
3	Small central composite design of film formulations	42
4	Composition of tamarind seed xyloglucan film formulations	45
5	Comparison of the percentage yield, percentage moisture content and physical appearances xyloglucan spray dried powder from four different methods	51
6	Data of calibration curve of xyloglucan by HPLC method	55
7	The percentages of analytical recovery of xyloglucan by HPLC method	55
8	Data of within run precision by HPLC method	56
9	Data of between run precision by HPLC method	56
10	Comparison of the percent of xyloglucan, total protein and fat of xyloglucan spray dried powder from four different methods and tamarind seed powder (mean ± SD)	56
11	A face centered design matrix of two parameters and the observed responses	60
12	ANOVA for response surface quadratic model of % yield	61
13	ANOVA for linear model of %moisture content	61
14	Model Summary Statistics of %yield and % moisture content	62
15	Coefficients of the regression equation linking the responses to the experimental factors and major interactions (coded units)	62
16	The optimum region by overlay plot of two parameters and the observed responses	67
17	Observed responses and 95% CI (confidence interval) of optimization spray dried condition	68
18	The particle size distributions of the xyloglucan spray dried particles (mean ± SD; n=3)	74
19	The viscosity value and rheology property of 1, 1.5 and 2%w/v of xyloglucan powder from tamarind seed (mean ± SD)	75

Table **Page**

20 The percentage of remained and reduced xyloglucan after added ethanol (Mean ± SD).....76

21 The thickness and film weight data of films (mean ± SD).....80

22 The force of adhesive data of films. (mean ± SD).....82

23 The value of tensile strength and %elongation of classification of film.....82

24 Mechanical properties data of film and film formulation containing *Centella asiatica* extract (mean ± SD).....84

25 The release data of asiaticoside from film formulation (mean ± SD).....88

26 The percentage of asiaticoside from film formulations in donor of Franz diffusion cell and porcine skin.....90

27 The percentages labeled amount of asiaticoside in film formulation containing *Centella asiatica* extract in stability test (mean ± SD).....91

28 Table Adhesive properties data of asiaticoside in film formulation in stability test (mean ± SD).....91

29 Mechanical properties data of asiaticoside in film formulation in stability test (mean ± SD).....92

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	*Tamarindus indica*	3
2	Tamarinds seed and kernel of tamarind seeds	4
3	The unit structures of oligosaccharides from tamarind xyloglucan	5
4	Structure of human skin in crosssection	14
5	A reservoir-type transdermal delivery device	16
6	a) A typical matrix-type transdermal delivery device b) An adhesive matrix device	17
7	A microreservoir transdermal delivery device	17
8	*Centella asiatica* (Linn.) Urban	20
9	Structures of the triterpenoids from *Centella asiatica* (Linn.)	21
10	Diagram of xyloglucan extraction	29
11	Spray dryer (Model SD-06, Labplant, Ltd., UK)	30
12	Soxhlet extraction	35
13	Spray dryer B-290 (Buchi Mini, Switzerland)	37
14	Viscometer (RotoVisco RV1, Germany)	39
15	The xyloglucan spray dried powder from four different methods	52
16	HPLC chromatograms of ultra pure water; (a) xyloglucan standard solution (b) sample solution and (c)absolute ethanol	54
17	Calibration curve of a by HPLC method	55
18	Scanning electron photomicrographs of xyloglucan spray dried powder from four different methods; a) Method I, (b) Method II, (c) Method III and Method IV	58
19	Response surface plot of % yield and linear regression plot of %moisture content; (a) response surface plot of % yield, (b) linear regression plot of %moisture content	65
20	The normal probability plots of the %yield and %moisture content	66
21	The optimum region by overlay plot of two responses (%yield and %moisture content) evaluated as a function of inlet temperature and %aspirator	67

Figure **Page**

22 Xyloglucan spray dried powder of optimal spray dried condition 68

23 Scanning electron photomicrographs of xyloglucan spray dried powder from experimental design 70

24 Rheogram of 1%w/v xyloglucan spray dried powder.....76

25 The DSC thermograms of standard xyloglucan and xyloglucan powder from tamarind seed.....77

26 X-ray diffractograms of standard xyloglucan and xyloglucan powder from tamarind seed 78

27 Scanning electron photomicrographs of xyloglucan powder.....79

28 The appearance of films 79

29 The DSC thermograms of *Centella asiatica* extract, film prepared from xyloglucan powder and film prepared from xyloglucan powder containing *Centella asiatica* extract.....85

30 X-ray diffractograms of *Centella asiatica* extract, film prepared from xyloglucan powder and film prepared from xyloglucan powder containing *Centella asiatica* extract.....86

31 The release profiles of asiaticoside from film formulation.....87

32 Cumulative release per unit area, Q, for asiaticoside as a function of square root time from film formulation.....89

33 DSC thermograms of film formulation after stress condition (40° C, 75% RH).....94

34 X-ray diffractograms of film formulation after stress condition (40° C, 75% RH).....95

LISTS OF ABBREVIATIONS

A°	=	Angstom
ANOVA	=	analysis of variance
°C	=	degree Celsius
CCD	=	Central Composite Design
CI	=	confidence interval
cm	=	centimeter
CV	=	coefficient of variation
df	=	degree of freedom
DSC	=	differential scanning calorimetry
et al.	=	*et alii*, 'and others'
g	=	gram
hr	=	hour
HPLC	=	high performance liquid chromatography
kv	=	kilovolt
mg	=	milligram
min	=	minute
mJ	=	millijoule
ml	=	milliliter
mm	=	millimeter
mm^2	=	square millimeter
mPas	=	millipascal
MPa	=	millipascal.second
MW	=	molecular weight
N	=	Newton
n	=	sample size
pH	=	the negative logarithm of the hydrogen ion concentration
R^2	=	coefficient of determination
RH	=	relative humidity
RI	=	reflective index
rpm	=	round per minute

s	=	second
SD	=	standard deviation
TECA	=	titrated extract of *Centella asiatica*
TTF	=	total triterpenic fraction
TTFCA	=	total triterpenoid fraction of *Centella asiatica*
µg	=	microgram
µm	=	micrometer
USP/NF	=	The United States Pharmacopoeia/National Formulary
UV	=	ultraviolet
w/v	=	weight by volume
w/w	=	weight by weight