



Research Report

Development of a method for preparation of α -mangostin rich *Garcinia mangostana* peel extracts using green extraction and formulation of topical preparations

(การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมสารสกัดเปลือกผลมังคุดให้มีสารอัลฟา-แมงโกสทินปริมาณสูงด้วยวิธีการสกัดที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และการเตรียมตำรับยาทาเฉพาะที่)

Pharkphoom Panichayupakaranant

Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany,

Faculty of Pharmaceutical Science

Prince of Songkla University

2017

Copyright of Prince of Songkla University

บทคัดย่อ

มังคุด (*Garcinia mangostana*) เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย มีรายงานว่าสารสกัดเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้านการอักเสบ และ สมานแผลได้ดี โดยมีสาร แอลฟา-แมงโกสติน (α -mangostin) เป็นสารออกฤทธิ์ และตัวทำละลายที่สกัดแอลฟา-แมงโกสตินได้ดีที่สุดคือ ไตคลอโรมีเทน อย่างไรก็ตาม ไตคลอโรมีเทน เป็นตัวทำละลายที่มีพิษ อาจเป็นอันตรายต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม มีราคาแพง และต้องระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัดก่อนนำมาใช้ ทำให้ต้นทุนการเตรียมสารสกัดสูงขึ้น ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลายที่ได้จากธรรมชาติ (bio-solvents) และตัวทำละลายที่เป็นองค์ประกอบของยาพื้นครีมในการสกัดสารแอลฟา-แมงโกสติน รวมทั้งศึกษาวิธีการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (green extraction) รวมถึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด และนำสารสกัดที่ได้ไปเตรียมเป็นตำรับเจลและครีมที่มีฤทธิ์รักษาแผลได้โดยตรง

การศึกษาตัวทำละลายที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ 2-เมทิลเตตระไฮโดรฟูแรน, ลิโมนีน, ไตเมทิลคาร์บอนेट, เอทิลอะซิเตท, เอทิลแลคเตท และเอทานอล เปรียบเทียบกับไตคลอโรมีเทนในการสกัดสารแอลฟา-แมงโกสติน โดยใช้แบบจำลอง Hansen solubility parameters (HSPs) และ conductor-like screening model for realistic solvation (COSMO-RS) ในการทำนายความสามารถในการสกัดสารแอลฟา-แมงโกสตินของตัวทำละลาย และยืนยันผลการทำนายโดยเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการสกัดจริง จากการใช้แบบจำลอง HSPs พบว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองทุกชนิดสกัดสารแอลฟา-แมงโกสตินได้น้อย ในขณะที่แบบจำลอง COSMO-RS ทำนายว่า 2-เมทิลเตตระไฮโดรฟูแรน ไตเมทิลคาร์บอนेट เอทิลอะซิเตท เอทิลแลคเตท และเอทานอล สามารถสกัดสารแอลฟา-แมงโกสตินได้ดี จากผลการทดลองสกัดจริงพบว่า 2-เมทิลเตตระไฮโดรฟูแรน, ไตเมทิลคาร์บอนेट และ เอทิลอะซิเตท สามารถสกัดสารแอลฟา-แมงโกสตินได้ในปริมาณสูงและเทียบเท่ากับไตคลอโรมีเทน ดังนั้นการทำนายความสามารถในการสกัดสารแอลฟา-แมงโกสตินโดยใช้แบบจำลอง COSMO-RS จึงมีความสัมพันธ์กับการสกัดจริงมากกว่าการใช้แบบจำลอง HSPs

การสกัดสารแอลฟา-แมงโกสตินโดยใช้สารที่เป็นองค์ประกอบในตำรับยาครีมที่มีขั้วใกล้เคียงกับ 2-เมทิลเตตระไฮโดรฟูแรน ได้แก่ ไอโซโพรพิลไมริสเทต, โพรพิลีนไกลคอล, น้ำมันแร่, เซทิลแอลกอฮอล์ และ สเตียริลแอลกอฮอล์ เปรียบเทียบกับไตคลอโรมีเทน พบว่าไอโซโพรพิลไมริสเทต และเซทิลแอลกอฮอล์

สามารถสกัดสารแอลฟา-แมงโกสตินได้สูงที่สุด คือ 0.46 และ 0.47% w/w ของน้ำหนักสารสกัด และสูงกว่า สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (0.38% w/w)

การสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟสามารถสกัดสารแอลฟา-แมงโกสตินในเปลือกผลมังคุดได้ดีกว่าวิธี สกัดสารโดยใช้ความร้อนและวิธีสกัดสารโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในด้านของการลดระยะเวลาที่ใช้ในการ สกัด สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารด้วยวิธีการดังกล่าวโดยใช้ไอโซโพรพิลไมริสเทตเป็นตัวทำละลายใน การสกัด ได้แก่ ใช้กำลังไฟฟ้าของเครื่องไมโครเวฟ 800 วัตต์ เป็นระยะเวลา 1 นาที และใช้อัตราส่วนของผงแห้ง 2 กรัมในตัวทำละลาย 4 กรัม ส่วนการสกัดด้วยเซทิลแอลกอฮอล์ ใช้กำลังไฟฟ้าของเครื่องไมโครเวฟ 800 วัตต์ เป็นระยะเวลา 30 วินาที โดยใช้อัตราส่วนของผงแห้ง 2 กรัมในตัวทำละลาย 4 กรัม เมื่อศึกษาการ สกัดแบบเพิ่มขนาดของการสกัดพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอลฟา-แมงโกสตินโดยใช้ตัวทำละลาย ทั้งสองชนิดนี้ คือ กำลังไฟฟ้าของเครื่องไมโครเวฟ 800 วัตต์ เป็นระยะเวลา 10 นาที ใช้อัตราส่วนของผงแห้ง 450 กรัม ในตัวทำละลาย 900 กรัม ซึ่งจะให้ปริมาณสารแอลฟา-แมงโกสตินในสารสกัดไม่น้อยกว่า 2 % w/w และสารสกัดที่ได้มีความคงตัวเมื่อเก็บในภาชนะปิดสนิทและป้องกันแสงที่อุณหภูมิ 4 - 25 องศา เซลเซียส

การเตรียมตำรับเจลจากสารสกัดมังคุดด้วยไอโซโพรพิลไมริสเทตและครีมจากสารสกัดมังคุดด้วย เซทิลแอลกอฮอล์ ที่มีปริมาณสารแอลฟา-แมงโกสตินในตำรับเท่ากับ 0.05, 0.1 และ 0.2% w/w พบว่าตำรับ เจลที่มีสารก่อเจลเป็นโพลอกซาเมอร์ 407 (25% w/w) และ ตำรับครีมที่มีสารอิมัลซิไฟเออร์ ซีโทมาโครกอล 1000 (3% w/w) มีลักษณะทางกายภาพที่ดี และมีความคงตัวทางเคมีเมื่อเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิทและ ป้องกันแสงที่อุณหภูมิ 4 - 25 องศาเซลเซียส การศึกษาการปลดปล่อยตัวยาออกจากตำรับ พบว่าตำรับเจล และครีมที่มีสารแอลฟา-แมงโกสติน 0.05 และ 0.1% w/w มีการปลดปล่อยยาเป็นไปตามแบบจำลอง จลนศาสตร์ Higuchi ส่วนตำรับเจลและครีมที่มีสารแอลฟา-แมงโกสติน 0.2% w/w มีการปลดปล่อยยา เป็นไปตามแบบจำลองจลนศาสตร์ zero-order และตำรับครีมมีการปลดปล่อยสารแอลฟา-แมงโกสตินออก จากตำรับ, การซึมผ่าน และการสะสมของแอลฟา-แมงโกสตินที่ผิวหนัง (*in vitro*) มากกว่าตำรับเจล

การศึกษากฎการขึ้นการอักเสบของตำรับครีมจากสารสกัดเปลือกผลมังคุด พบว่าตำรับที่มีสาร แอลฟา-แมงโกสติน 0.1 และ 0.2% w/w มีฤทธิ์ลดการบวมของอุ้งเท้าหนูได้ นอกจากนี้ ตำรับที่มีสาร แอลฟา-แมงโกสติน 0.2% w/w ยังลดการบวมของอุ้งเท้าหนูได้เทียบเท่ากับไดโคลฟีแนคเจล (1% w/w) และ ไตรแอมซิโนโลนครีม (0.1% w/w) สำหรับฤทธิ์สมานแผล พบว่าตำรับที่มีสารแอลฟา-แมงโกสติน เท่ากับ

0.1 และ 0.2% w/w เพิ่มความต้านทานต่อแรงดึงของแผลได้ดีเทียบเท่ากับครีมจากสารสกัดบัวบก (7% w/w)

ABSTRACT

Garcinia mangostana (mangosteen) is an important economic plant of Thailand. It has been reported that *G. mangostana* pericarp extract (GPE) exhibited good antibacterial, anti-inflammatory and wound healing activities. Its major active constituent is α -Mangostin. Recently, dichloromethane has been reported as the most suitable solvent for extraction of α -mangostin. However, the toxicity, cost and laborious downstream processing of dichloromethane limits its industrial applications. Therefore, the aims of the present study were to prepare GPE using bio-solvents and pharmaceutical excipients as solvents for extraction of α -mangostin with application of green extraction methods, and directly used for formulate anti-inflammatory and wound healing gels and creams.

Theoretical modeling using Hansen solubility parameters (HSPs) and conductor-like screening model for realistic solvation (COSMO-RS) were used to study the solubility of α -mangostin in bio-solvents, including 2-methyltetrahydrofuran, *d*-limonene, dimethylcarbonate, ethyl acetate, ethyl lactate and ethanol compared to petroleum solvent, dichloromethane. It was then followed by real experimental extraction for verification. The HSPs indicated that all bio-solvents were the poor solvent for extracting α -mangostin. In contrast, COSMO-RS indicated that 2-methyltetrahydrofuran, dimethylcarbonate, ethyl acetate, ethyl lactate and ethanol gave a high capacity for α -mangostin extraction. The experimental study indicated that 2-methyltetrahydrofuran, dimethylcarbonate and ethyl acetate gave highest α -mangostin contents in the dried extracts and comparable to dichloromethane. COSMO-RS was therefore more fitted to the experimental extraction results for α -mangostin extraction than the HSPs model.

Cream base ingredients that have similar polarity to 2-methyltetrahydrofuran including isopropyl myristate, propylene glycol, mineral oil, cetyl alcohol and stearyl alcohol were then determined for extraction of α -mangostin. The highest α -mangostin contents were observed in the extracts from isopropyl myristate and cetyl alcohol (0.46 and 0.47% w/w, respectively), and were higher than that in the dichloromethane extract (0.38% w/w). Extraction using isopropyl myristate and cetyl alcohol were further optimized.

Microwave-assisted extraction (MAE) was more suitable than ultrasonic-assisted extraction (UAE) and water bath extraction (WBE) for extracting α -mangostin in terms of time saving. The optimal conditions of MAE were: a powder to solvent ratio of 2:4 (g/g), irradiation power of 800 W, for 1 and 0.5 min for isopropyl myristate and cetyl alcohol, respectively. Moreover, the most suitable MAE conditions for a larger scale extraction (450 g powder and 900 g solvent) using isopropyl myristate and cetyl alcohol were: irradiation power of 800 W for 10 min. These optimal extraction conditions gave the content of α -mangostin in the extracts of not less than 2% w/w. GPEs in both isopropyl myristate and cetyl alcohol were stable when kept in a well-closed container at 4 - 25°C, protected from light.

Gel formulations from GPE in isopropyl myristate and cream formulations from GPE in cetyl alcohol containing 0.05, 0.1 and 0.2% w/w α -mangostin were prepared. The use of 25% w/w poloxamer 407 as a gelling agent in gel formulations and 3% w/w cetomacrogol 1000 as an emulsifier in cream formulations gave good physical appearances and were chemically stable when kept in a well-closed container at 4 - 25 °C, protected from light. *In vitro* release study indicated that both gels and creams containing 0.05 and 0.1% w/w α -mangostin were best fitted to Higuchi kinetic model. While, both GPE gel and cream containing 0.2% w/w α -mangostin were best fitted to zero-order kinetic model. Notably, the cream formulations gave higher release rates than the gel formulations, the same trend was also found in *in vitro* skin permeation and retention.

In vivo anti-inflammatory activity of the creams containing 0.05, 0.1 and 0.2% w/w α -mangostin was determined. The creams containing 0.1 and 0.2% w/w α -mangostin decreased

rat paw edema. Reduction on rat paw edema of the creams containing 0.2% w/w α -mangostin was comparable to 1% w/w diclofenac gel and 0.1% w/w triamcinolone cream. For wound healing activity, the tensile strengths of the creams containing 0.1 and 0.2% w/w α -mangostin were comparable to that of 7% w/w *Centella asiatica* extract cream.