

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ประสิทธิภาพของเจลทาเฉพาะที่สารสกัดผลยอดด้วยน้ำ
ต่อการเกิดแผลในช่องปาก

Efficacy of topical aqueous *Morinda citrifolia* (noni) fruit extract gel
on oral mucosal ulcers

ผู้วิจัย

นางศิริมา มัทธนาคุณุญ	คณะเภสัชศาสตร์
นางสุวิภา อึ้งไพบูลย์	คณะเภสัชศาสตร์
นางสุปรียา ยืนยงสวัสดิ์	คณะเภสัชศาสตร์
นายนฤบดี ผดุงสมบัติ	คณะเภสัชศาสตร์
นางสาวศรสวรรค์ คงภักดี	นักศึกษาปริญญาโท คณะเภสัชศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ประเภทโครงการวิจัยเดี่ยว ประจำปีงบประมาณ 2558-2559

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณภาควิชาเภสัชกรรมคลินิก ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ และภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ ที่ให้ความเอื้อเฟื้อในการใช้สถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณสุปรีย์ สังข์รักษ์ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกต่าง ๆ ในการทำวิจัย จนทำให้การดำเนินการวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ศิริมา มัทธนาดุลย์
กรกฎาคม 2560

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับเจลทาเฉพาะที่ในช่องปากของสารสกัดผลยอด้วยน้ำที่ควบคุมมาตรฐาน phenolic compounds และสาร scopoletin โดยใช้ phytosome technology และประเมินประสิทธิภาพของตำรับเจลยอในการกระตุ้นการหายของแผลในเซลล์ human gingival fibroblast cell line นอกกาย (*in vitro* study) และในการรักษาภาวะเหงือกอักเสบที่ถูกชักนำด้วยการแปะแผ่นกระดาษกรองชุ่มด้วย acetic acid ไว้ที่บริเวณเหงือกของกระต่ายเป็นเวลา 60 วินาที ซึ่งเป็นหนึ่งในโมเดลมาตรฐานในการศึกษาการหายของแผลในเนื้อเยื่อช่องปาก (*in vivo* study) เพื่อเป็นข้อมูลการทดลองทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์และเภสัชในการนำเจลยอทาเฉพาะที่ไปใช้ในทางคลินิกสำหรับรักษาโรคเหงือกอักเสบ

ขั้นตอนในการวิจัยทำโดยใช้ผลยอห่ามโตเต็มที่ได้ถูกเตรียมโดยการสกัดด้วยน้ำและทำให้เป็นผงแห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็ง (lyophilization) สารสกัดผลยอแห้งที่ได้มีปริมาณสาร phenolic compounds 29.79 ± 0.33 มิลลิกรัมเมื่อคำนวณในรูปของ gallic acid equivalence (GAE)/ผงแห้งของสารสกัดผลยอด้วยน้ำ 1 กรัม มีปริมาณสาร scopoletin 0.645 มิลลิกรัมต่อผงแห้งของสารสกัดผลยอด้วยน้ำ 1 กรัม เจลทาเฉพาะที่ของสารสกัดผลยอด้วยน้ำ ความเข้มข้น 10% w/w เตรียมโดยใช้สารก่อเจล poloxamer 407 ความเข้มข้น 25% ตำรับเจลยอ phytosome ที่มีสารสกัดผลยอด้วยน้ำ 10% (10NP) ที่ได้มีลักษณะทางกายภาพเป็นเนื้อเจลนิ่ม เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น สีเหลืองน้ำตาลและมีความคงตัวทั้งทางกายภาพและทางเคมีดีหลังจากทดสอบในสภาวะเร่ง เฟอร์เซ็นต์การคงอยู่ของสาร scopoletin เท่ากับ 90.85 ± 0.81 การปลดปล่อยสาร scopoletin จากเจล phytosome 10 NP ต่ำกว่าเมื่อใช้สารสกัดผลยอรูปผงแห้ง ผลการทำ scratch wound healing assay พบว่า สูตรตำรับเจลยอ phytosome ที่มีสารสกัดผลยอด้วยน้ำในปริมาณ 10% (10NP) ในความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์กระตุ้นอัตราการแบ่งตัวและเคลื่อนที่ของเซลล์ gingival fibroblast ที่ส่งผลให้เกิดการเร่งการหายของแผลได้สูงกว่าสารสกัดผลยอด้วยน้ำหรือสาร scopoletin เมื่อเปรียบเทียบในความเข้มข้นเท่าเทียมกันได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และตำรับเจลยอ phytosome 10NP สามารถเร่งการแบ่งตัวและเคลื่อนที่ของเซลล์ gingival fibroblast ในระยะแรกได้สูงกว่าตำรับเจลยอที่มีสารสกัดผลยอด้วยน้ำ (10N) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การศึกษาผลรักษาเหงือกอักเสบในกระต่ายแสดงให้เห็นว่า ตำรับเจลยอ phytosome 10NP ให้ประสิทธิภาพในการเร่งการหายของแผลและลดระดับความรุนแรงในการเกิดภาวะเหงือกอักเสบได้เร็วกว่า เจล chlorhexidine ซึ่งเป็นยามาตรฐานในการรักษาโรคเหงือกอักเสบที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ ต้านจุลชีพ และป้องกันคราบจุลินทรีย์ และน้ำยาบ้วนปาก benzydamine (Difflam[®]) ซึ่งเป็นยามาตรฐานในการรักษาโรคแผลในช่องปากที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดปวด และต้านจุลชีพ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จึงมีศักยภาพในการนำไปใช้รักษาโรคเหงือกอักเสบได้เช่นเดียวกับน้ำยาบ้วนปากหรือเจล chlorhexidine และโรคแผลในช่องปากได้เช่นเดียวกับน้ำยาบ้วนปาก benzydamide นอกจากนี้สูตรตำรับเจลยอ phytosome 10NP ยังมีประสิทธิภาพในการเร่งการหายของแผลเท่าเทียมกับยาเพสต์ป้ายแผลในปาก triamcinolone acetonide ซึ่งเป็นยาต้านการอักเสบกลุ่มสเตียรอยด์ โดยสามารถรักษาแผลเหงือกอักเสบให้หายได้ในกระต่าย 3 ตัวต่อกลุ่ม โดยมีกระต่ายเพียง 1 ตัวในแต่ละกลุ่มที่ยังมีแผลในขนาดที่เล็กมากน้อยกว่า 1 ตารางมิลลิเมตร จึงมีศักยภาพสูงในการนำไปใช้รักษาแผลในช่องปากที่เกิดจากความผิดปกติในระบบภูมิคุ้มกัน ตำรับเจลทาเฉพาะที่สารสกัดผลยอด้วยน้ำ สำหรับรักษาโรคเหงือกอักเสบ ควรมีปริมาณ phenolic compound อย่างน้อย 300 มิลลิกรัม เมื่อคำนวณในรูปของ gallic acid และมีปริมาณสาร scopoletin อย่างน้อย 9.50 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักเจล 100 กรัม

ABSTRACT

The aim of this study was to develop a topical gel containing an aqueous *Morinda citrifolia* fruit extract (AFE) with the standardized total phenolic compounds and scopoletin (SCO) contents and to evaluate its efficacy in accelerating wound healing in human gingival fibroblast cell line (*in vitro* study) and in healing gingivitis induced by topical application of the acetic acid-soaked paper pressing onto the labial gingival tissue of the rabbits for 60 s method (*in vivo* animal model of tissue wound healing study) to provide a pharmacological basis for its clinical use as a topical gel in healing gingivitis.

The study procedure involved the extraction of the mature unripe *M. citrifolia* fruit prepared by aqueous extraction and freeze-drying process. The AFE was dark brown powder with total phenolic content of 29.79 ± 0.33 mg gallic acid equivalents (GAE)/g of the dried AFE powder and SCO content of 0.645 mg/g of the dried AFE powder. The gel containing AFE was prepared using 25% poloxamer 407 as gelling agents and concentrations of 10% AFE. The physical properties of gel phytosome containing AFE 10% (10NP) was a smooth, homogeneous, no phase separation and deep yellow semisolid gel with the good physical and chemical stability after storage under heating-cooling accelerated stability test. The percentage remaining of SCO content was 90.85 ± 0.81 . The SCO contents released from the phytosome 10NP gel was lower than that from AFE. The result obtained from the scratch wound healing assay was shown that the topical phytosome 10NP gel, at the concentration of 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, significantly promoted the higher proliferation and migration rate of gingival fibroblast cells leading to an enhancement of the wound healing than AFE or SCO when compared at the same concentration ($p < 0.05$). The phytosome 10NP gel also significantly promoted the higher proliferation and migration rate of gingival fibroblast cells at the early wound healing phase than that of topical gel containing AFE 10% (10N) ($p < 0.05$).

The *in vivo* anti-gingivitis study in rabbits demonstrated that the topical phytosome 10NP gel significantly exerted a more rapid ulcer healing and a greater decrease gingivitis severity than those of chlorhexidine gel (a standard agent for gingivitis with anti-inflammatory, antimicrobial and anti-plaque activities) and benzydamine mouthwash (a standard agent for oral mucosal ulceration with anti-inflammatory, analgesic and antimicrobial agent). Consequently, the phytosome 10NP gel had a potential to be a candidate of chlorhexidine gel/mouthwash or benzydamine mouthwash for the topical treatment of gingivitis or ulcerative oral mucosal damage. Furthermore, the phytosome 10NP gel possessed a comparable ulcer healing capacity to that of a triamcinolone acetonide oral paste (a standard corticosteroidal anti-inflammatory agent) with the complete wound healing found in 3 rabbits and a very small ulcer less than 1 mm^2 found in one rabbit in each treated group. Thus, the phytosome 10NP gel seemed to have a high potential in management of immune mediated oral ulcer. The AFE topical gel preparation for gingivitis treatment should contain at least 300 mg gallic acid equivalents (GAE)/g dried AFE of phenolic compound and 9.50 mg of SCO per 100 g of the gel.