

ชื่อวิทยานิพนธ์      การสกัดและพัฒนาสูตรตำรับหนอนตายหยากเพื่อควบคุมศัตรูพืช  
ผู้เขียน                นางสาวอรภัทร ภูรีเสถียร  
สาขาวิชา              เกษศาสตร์  
ปีการศึกษา            2550

### บทคัดย่อ

หนอนตายหยาก (*Stemona curtisii*) เป็นพืชที่เกษตรกรนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมศัตรูพืชมานานเนื่องจากมีสารอัลคาลอยด์ที่มีคุณสมบัติในการฆ่าแมลง แต่ปัญหาของการหาวัตถุดิบและวิธีการเตรียมเป็นสารละลายเพื่อนำมาใช้ที่ไม่มีการควบคุมคุณภาพ อาจทำให้การใช้ประโยชน์จากหนอนตายหยากเพื่อการควบคุมศัตรูพืชในปัจจุบันมีประสิทธิภาพน้อยลง สูตรตำรับหนอนตายหยากสำหรับควบคุมศัตรูพืชจึงได้ถูกพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการทางเภสัชศาสตร์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อการเตรียมสารสกัด แยก และวิเคราะห์สารสำคัญในหนอนตายหยาก แล้วนำสารสกัดที่ได้มาพัฒนาเป็นสูตรตำรับพร้อมใช้ สารสำคัญหลักในสารสกัดหนอนตายหยาก คือ pyridostemin ถูกแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค silica gel column chromatography โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมของ dichloromethane-ethyl acetate-methanol (อัตราส่วน 70:25:5 โดยปริมาตร) สารสำคัญดังกล่าวสามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ด้วยวิธี high-performance liquid chromatography ซึ่งผ่านการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์แล้ว ระบบวิเคราะห์ประกอบด้วย เฟสคงที่ คือ  $C_{18}$  และเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมของ acetonitrile-น้ำ-triethylamine (อัตราส่วน 30:70:0.12 โดยปริมาตร) ความเร็วของเฟสเคลื่อนที่ เท่ากับ 1.25 มิลลิลิตรต่อนาที และวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 300 นาโนเมตร สารสกัดหนอนตายหยากได้มาโดยวิธีการหมักด้วย dichloromethane ซึ่งมีปริมาณของสารสำคัญสูงกว่าการหมักด้วย methanol อย่างมีนัยสำคัญ สารสกัดที่ได้ถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ขึ้นด้วยเทคนิค silica gel vacuum column chromatography พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณสารสำคัญต่อน้ำหนักสารสกัดได้ 3.8 เท่า การศึกษาความคงตัวของสาร พบว่า สารสำคัญในสารสกัดมีการสลายตัวแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ปฏิกิริยาหลักที่มีผลต่อการสลายตัวของสาร ได้แก่ ปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยน้ำโดยมีการด-ต่างเป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการสลายตัวโดยแสง

สูตรตำรับสารสกัดหนอนตายหยากพร้อมใช้ถูกพัฒนาในสองรูปแบบ คือ (1) รูปแบบแกรนูลกระจายตัวได้ในน้ำ ซึ่งประกอบด้วยสารสกัดหนอนตายหยากที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้น, polyvinylpyrrolidone K-30, sodium alginate, Tween 80 และแลคโตส เตรียมโดยวิธีการเตรียมแกรนูลแบบเปียกร่วมกับเทคนิค solid dispersion เพื่อปรับปรุงอัตราการกระจายตัวของแกรนูลในน้ำ; (2) รูปแบบอิมัลชันเข้มข้นซึ่งประกอบด้วยสารสกัดหนอนตายหยาก, Tween 80,

Span 80, butylated hydroxytoluene และน้ำมันถั่วเหลือง เตรียมโดยผสมส่วนประกอบต่างๆ ให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียว สูตรตำรับที่ได้รับการพัฒนาขึ้น ได้ทำการประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และความคงตัว พบว่าสูตรตำรับทั้งสองรูปแบบมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี โดยรูปแบบแกรนูลกระจายตัวได้ในน้ำมีลักษณะเป็นแกรนูลสีน้ำตาลอ่อน มีความกร่อนน้อย มีการไหลที่ดี และสามารถกระจายตัวในน้ำได้ของเหลวแขวนตะกอนสีน้ำตาลอ่อนได้ภายใน 3 นาที ส่วนรูปแบบอิมัลชันเข้มข้นมีลักษณะเป็นของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม สามารถกระจายตัวได้ดีในน้ำกลายเป็นอิมัลชันสีน้ำตาลอ่อนภายใน 30 วินาที สารสำคัญในรูปแบบอิมัลชันเข้มข้นมีความคงตัวทางเคมีดีกว่ารูปแบบแกรนูลทั้งในระหว่างขั้นตอนการเตรียมและหลังการเก็บรักษา โดยปริมาณสารสำคัญที่เหลืออยู่ในรูปแบบแกรนูลและอิมัลชันเข้มข้นหลังจากเก็บรักษา เมื่อเก็บตำรับที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) และป้องกันแสง เป็นเวลา 3 เดือน เท่ากับ  $51.25 \pm 0.63$  และ  $75.56 \pm 0.13$  % ตามลำดับ แต่สามารถยืดอายุของสารสำคัญในทั้งสองรูปแบบได้โดยการเก็บรักษาในตู้เย็น (4 °C) โดยหลังจากเก็บเป็นเวลา 3 เดือน ปริมาณสารสำคัญยังคงสูงกว่า 90 % จากปริมาณสารเริ่มต้น ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้ควรเก็บในที่เย็น หลีกเลี่ยงจากความชื้นและแสงเพื่อความคงตัวของสารสำคัญ สูตรตำรับหนอนตายหยากรูปแบบอิมัลชันเข้มข้นเป็นสูตรตำรับที่เหมาะสม เนื่องจากมีกระบวนการเตรียมที่ง่าย ต้นทุนต่ำ และยังสามารถรักษาความคงตัวของสารสำคัญได้ดี

**Thesis Title** Extraction and Formulation Development of *Stemona curtisii* for Crop Pest Control  
**Author** Miss Orrapat Pureesatien  
**Major Program** Pharmaceutical Sciences  
**Academic Year** 2007

## ABSTRACT

*Stemona curtisii* have long been used by agriculturist in controlling crop pest due to their pesticidal alkaloids content. However, unavailable plant material and preparation process that lacked of quality control may affect to the effectiveness of *S. curtisii* for crop pest control. Therefore, the formulations containing *S. curtisii* extract have been developed under principle of pharmaceutical sciences. The objectives were to prepare, isolate, and determine the major compound in the extract and develop the ready-to-use formulations of the extract. The active compound in *S. curtisii* extract, pyridostemin, was purified by silica gel column chromatography using was a mixture of dichloromethane-ethyl acetate-methanol (70:25:5, v/v/v) as mobile phase. This compound could be determined by validated high-performance liquid chromatographic method. The chromatographic system was as follow. The stationary phase was C<sub>18</sub> and mobile phase was a mixture of acetonitrile-water-triethylamine (30:70:0.12, v/v/v). The flow rate of mobile phase was 1.25 ml/min and the detection wavelength was fixed at 300 nm. *S. curtisii* extract prepared by maceration with dichloromethane gave significant higher pyridostemin content than that maceration with methanol. Partially purifying of the obtained extract using silica gel vacuum column chromatography gave extract containing pyridostemin 3.8 folds higher than the original. Degradation behavior of pyridostemin was fitted with the first order kinetics. Main decomposition pathways were acid-base catalyzed hydrolysis, oxidation, and photolysis were investigated.

Two pesticide formulations containing *S. curtisii* extract have been developed; (1) water dispersible granules consisted of partially purified *S. curtisii* extract, polyvinylpyrrolidone K-30, sodium alginate, Tween 80, and lactose, which was prepared by wet granulation combined with solid dispersion technique in order to improve disintegration rate of the granules and (2) emulsifiable concentrate comprising *S. curtisii*

extract, Tween 80, Span 80, butylated hydroxytoluene, and soybean oil, was prepared to give a homogeneous mixture. The obtained water dispersible granule was pale brown, less friable and had good flow property. The granules could be completely dispersed in water within 3 minutes to obtained pale brown suspension. The emulsifiable concentrate was obtained in dark brown thick viscous liquid. The emulsifiable concentrate could be completely dispersed in water within 30 seconds to obtained pale brown milky emulsion. The emulsifiable concentrate showed better stability of pyridostemin than the water dispersible granules not only during in preparation process but also after storage. Pyridostemin remaining in the granules and emulsifiable concentrate after 3-month storage at ambient temperature ( $30\pm 2$  °C) and protected from light were  $51.25\pm 0.63$  and  $75.56\pm 0.13$  %, respectively. The expired date of the developed formulations could be extended by storage in refrigerator ( $4$  °C) which showed more than 90 % of pyridostemin still remain after 3 months storage. Therefore, the developed formulations should be kept in cool place, avoided humidity and protected from light in order to preserve the active component. The emulsifiable concentrate was preferred because of simple preparation process, economic cost, and stability enhancement.