

การพัฒนาระบบนำส่งยาโดยใช้โมโนโคลิเซอไรด์ที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด



นางสาว วรทัย ตัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชกรรม ภาควิชาเภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-53-1891-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

FORMULATION OF MONOGLYCERIDE-BASED DRUG DELIVERY SYSTEMS
CONTAINING *GARCINIA MANGOSTANA* EXTRACT



Miss Vorratai Tan

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy in Pharmacy

Department of Pharmacy
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-53-1891-4

วรัทัย ตัน : การพัฒนาระบบนำส่งยาโดยใช้โมโนกลีเซอไรด์ที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด.
(FORMULATION OF MONOGLYCERIDE-BASED DRUG DELIVERY SYSTEMS
CONTAINING *GARCINIA MANGOSTANA* EXTRACT) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร. สุชาดา
ชุตติमारพันธ์, 184 หน้า. ISBN 974-53-1891-4.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาโดยใช้โมโนกลีเซอไรด์ที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยระบบนำส่งยาขึ้นกับความสามารถของส่วนผสมของโมโนกลีเซอไรด์ (กลีเซอรอลโมโนโอเลอิต) และไตรกลีเซอไรด์ในการเกิดเป็นลิควิดคริสตัลเมื่อสัมผัสกับน้ำ ระบบนำส่งยาสามารถบริหารยาเข้าสู่ร่างกายโดยผ่านเข็มฉีดยาและเปลี่ยนเป็นลิควิดคริสตัลที่มีความหนืดสูงบริเวณที่ฉีด แผนภาพระบบไตรภาคเตรียมขึ้นโดยใช้ไตรกลีเซอไรด์หลายชนิด ได้แก่ น้ำมันงา, น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันมะกอก ลักษณะโครงสร้างของลิควิดคริสตัลที่เกิดขึ้นสามารถตรวจสอบได้โดยวิธีการใช้กล้องจุลทรรศน์โพลาไรส์ ในการศึกษาที่มีการเตรียมระบบนำส่งยาโดยใช้อัตราส่วนของไตรกลีเซอไรด์ : กลีเซอรอลโมโนโอเลอิต : น้ำ ในอัตราส่วน 8:62:30 และ 12:58:30 ระบบนำส่งยานี้มีการปลดปล่อยสารสกัดจากเปลือกมังคุดแบบออกฤทธิ์นานโดยมีระยะเวลาในการปลดปล่อยยา 48 ชั่วโมง และเป็นไปตามกราฟที่สองของเวลาในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการปลดปล่อยยาซึ่งบ่งชี้ว่าอัตราการปลดปล่อยถูกควบคุมโดยการแพร่ ระบบนำส่งยาที่มีน้ำมันงาเป็นส่วนประกอบมีการปลดปล่อยยามากที่สุด ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการปลดปล่อยยา ผลจากดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริเมตรีแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเฟสของลิควิดคริสตัล ในการทดสอบฤทธิ์ในหลอดทดลอง ระบบนำส่งยาที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุดไม่แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดมีความชอบไขมันสูงจึงไม่สามารถแพร่ออกมาสู่ตัวกลางได้ นอกจากนี้ระบบนำส่งยาดังกล่าวยังมีความคงตัวภายใต้สภาวะเย็น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เกษัตริกรรม
สาขาวิชา เกษัตริกรรม
ปีการศึกษา 2547

ลายมือชื่อนิติ..... วรัทัย ตัน

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

4576633433 : MAJOR PHARMACY

KEY WORD : *GARCINIA MANGOSTANA* / MONOGLYCERIDE / LIQUID CRYSTALS

VORRATAI TAN : FORMULATION OF MONOGLYCERIDE-BASED DRUG DELIVERY SYSTEMS CONTAINING *GARCINIA MANGOSTANA* EXTRACT.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUCHADA CHUTIMAWORAPAN, Ph.D., 184 pp. ISBN 974-53-1891-4.

The purpose of the study was to develop monoglyceride-based drug delivery systems containing *Garcinia mangostana* extract. The system is based on the ability of mixtures of monoglyceride (glyceryl monooleate) and triglycerides to form liquid crystals upon contact with water. The drug delivery systems can be administered by syringe and transformed into high-viscous liquid crystalline phases at the injection site. Ternary phase diagrams were constructed from various triglycerides: sesame oil, soybean oil and olive oil. The structure of liquid crystalline phases was investigated using polarized light microscopy. In this study, monoglyceride-based drug delivery systems were prepared in the ratio of triglycerides: glyceryl monooleate: water as 8:62:30 and 12:58:30. These systems could sustain release of *Garcinia mangostana* extract over a period of 48 hr and followed square root of time kinetics during the initial 24 hr of the release phase indicating that the rate of release was diffusion controlled. The system containing sesame oil showed the highest drug release. Increasing triglyceride content did not affect the release profiles. Differential scanning calorimetry results demonstrated that *Garcinia mangostana* extract can be incorporated into drug delivery systems without causing phase transition. In the *in vitro* test, monoglyceride-based drug delivery systems containing *Garcinia mangostana* extract did not show the antimicrobial activity probably due to the high lipophilicity of the extract therefore it did not diffuse into the medium. Additionally, the drug delivery systems containing *Garcinia mangostana* extract showed good stability under the stress condition.

Department Pharmacy

Field of study Pharmacy

Academic year 2004

Student's signature..... Vorratai Tan

Advisor's signature..... Suchada Chutimaworan

ACKNOWLEDGEMENTS

This thesis would not be successful without the great assistance of several people. I shall forever be in great debts for their helps, supports and advices.

First of all, I would like to express my profound gratitude to my advisor, Associate Professor Suchada Chutimaworapan, Ph.D. for her invaluable advice, guidance and enthusiastic encouragement throughout my research study. Her understanding, kindness and patience are honestly appreciated.

I am very grateful to Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth, Ph.D. for his helpful guidance for the *Garcinia mangostana* extraction.

I would like to express my appreciation to Dr. Kitti Torrungruang, Ph.D. and Ms. Piraporn Vichienroj, DDS., Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University for spending their valuable time and suggestion for the microbiological study and technical aspects.

Special thanks are given to the Graduate School, Chulalongkorn University for their granting partial financial support to my thesis work and to Hong Huat Co., Ltd. for their supplying of glyceryl monooleate.

Sincere thanks are also given to all staff members of the Department of Pharmacy and other people whose names have not been mentioned for their assistance and great helpful support.

Ultimately, I would like to express my sincere and deepest gratitude to my family for their endless love, understanding and encouragement throughout this study.

CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	ix
LIST OF FIGURES.....	xi
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xv
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II LITERATURE REVIEW.....	3
Botanical, Chemical and Pharmacological Aspects of <i>Garcinia mangostana</i>	3
Dental Caries and Periodontal Diseases.....	14
Drug Delivery Devices in Periodontics.....	24
Liquid Crystalline Phases as Drug Delivery Systems.....	36
Characterization of Liquid Crystalline Phases.....	41
III MATERIALS AND METHODS.....	46
Materials.....	46
Equipment.....	47
Methods.....	49
IV RESULTS AND DISCUSSION.....	66
Extraction of Active Constituents from <i>Garcinia mangostana</i>	66
Determination of Active Constituents from <i>Garcinia mangostana</i> ...	66
Preparation of Monoglyceride-Based Drug Delivery System.....	75

	Page
Formulation of <i>Garcinia mangostana</i> Extract Monoglyceride-Based Drug Delivery System.....	81
Characterization of <i>Garcinia mangostana</i> Extract Monoglyceride-Based Drug Delivery System.....	82
Determination of Partition Coefficient of <i>Garcinia mangostana</i> Extract.....	118
Stability Study of <i>Garcinia mangostana</i> Extract Monoglyceride-Based Drug Delivery System.....	119
V CONCLUSIONS.....	124
REFERENCES.....	127
APPENDICES.....	140
VITA.....	184



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table	Page
1	Essential property of cariogenic bacteria..... 16
2	Selected bacterial species found in dental plaque..... 18
3	Microbial species associated with various clinical forms of periodontitis..... 21
4	Advantages and disadvantages of controlled delivery systems for the treatment of periodontitis..... 24
5	Relation between the first reflections for different liquid crystalline phases..... 42
6	Data for calibration curve of mangostin by HPLC method..... 73
7	The inversely estimated concentrations of mangostin by HPLC method 74
8	The percentage of analytical recovery of mangostin by HPLC method 74
9	Data of within run precision by HPLC method..... 75
10	Data of between run precision by HPLC method..... 75
11	Formulation of monoglyceride-based drug delivery system..... 82
12	pH of formulation before and after incorporation of mangostin extract..... 83
13	Viscosity of formulation before and after incorporation of mangostin extract..... 84
14	Viscosity of low-viscous state formulation..... 87
15	Solubility of mangostin in pH 7.4 phosphate buffer and various concentrations of ethanol in pH 7.4 phosphate buffer..... 90
16	Kinetic parameters of mangostin release from monoglyceride-based drug delivery system..... 94
17	Data for calibration curve of mangostin by UV spectrophotometric method..... 100

Table	Page
18 The inversely estimated concentrations of mangostin by UV spectrophotometric method.....	101
19 The percentage of analytical recovery of mangostin by UV spectrophotometric method.....	102
20 Data of within run precision by UV spectrophotometric method.....	102
21 Data of between run precision by UV spectrophotometric method.....	102
22 MIC and MBC of <i>Garcinia mangostana</i> extract on <i>Streptococcus mutans</i> KPSK ₂ and <i>Porphyromonas gingivalis</i> W50.....	114
23 Inhibition zone diameters of the test compounds on <i>Streptococcus mutans</i> KPSK ₂	116
24 pH and viscosity of formulation before and after stability study.....	119
25 Amount of mangostin in low-viscous state formulation before and after stability study.....	122
26 Amount of mangostin in high-viscous liquid crystalline phase formulation before and after stability study.....	123

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	<i>Garcinia mangostana</i> Linn.....	4
2	Chemical structures of α -mangostin and γ -mangostin.....	6
3	Illustrations of normal tooth and tooth with cavity.....	15
4	Dental plaque and calculus on the tooth surface.....	17
5	The depth of periodontal pocket is measured by periodontal probe.....	20
6	The progression of periodontal disease.....	22
7	Release profile of chlorhexidine chip.....	28
8	PerioChip [®] (chlorhexidine gluconate).....	28
9	Arestin [®] (minocycline hydrochloride).....	30
10	Elyzol [®] (metronidazole) Dentalgel.....	33
11	Atridox [®] (doxycycline hyclate).....	35
12	Arrangement of molecules in solid crystal, liquid crystal and liquid....	36
13	Structural formula of glyceryl monooleate.....	38
14	Binary phase diagram of glyceryl monooleate-water system.....	39
15	Schematic illustrations of a reversed micellar phase and liquid crystalline phases of glyceryl monooleate.....	39
16	Typical ² H-NMR spectra of liquid crystalline phases.....	43
17	Polarizing microscopic textures of anisotropic liquid crystalline phases	45
18	A schematic illustration of the two compartment of Franz diffusion cell	57
19	A schematic illustration of differential scanning calorimeter (DSC822 [°] , Mettler Toledo, Switzerland).....	61
20	Aluminum crucible standard 40 μ l.....	62
21	Differential scanning calorimeter (DSC822 [°] , Mettler Toledo, Switzerland).....	62
22	Photograph of <i>Garcinia mangostana</i> extract.....	66

Figure	Page
23 DSC thermogram of <i>Garcinia mangostana</i> extract.....	67
24 TLC chromatogram of (a) standard mangostin and (b) <i>Garcinia mangostana</i> extract.....	68
25 HPLC Chromatogram of blank solution.....	70
26 HPLC Chromatogram of internal standard solution (clotrimazole).....	70
27 HPLC Chromatogram of mangostin standard solution.....	71
28 HPLC Chromatogram of <i>Garcinia mangostana</i> extract solution.....	71
29 HPLC Chromatogram of mixture of mangostin and internal standard...	72
30 HPLC Chromatogram of mixture of the extract and internal standard...	72
31 Calibration curve of mangostin by HPLC method.....	73
32 Phase diagram of glyceryl monooleate-sesame oil-water system.....	76
33 Phase diagram of glyceryl monooleate-soybean oil-water system.....	77
34 Phase diagram of glyceryl monooleate-olive oil-water system.....	77
35 Polarizing microscopic images of the lamellar phases.....	79
36 Polarizing microscopic images of the reversed hexagonal phases.....	80
37 Polarizing microscopic images of formulation 1-3 before and after incorporation of mangostin extract.....	85
38 Polarizing microscopic images of formulation 4-6 before and after incorporation of mangostin extract.....	86
39 Polarizing microscopic images of <i>in vitro</i> liquid crystalline phase formation after dilution with water.....	89
40 Release profiles of mangostin from monoglyceride-based drug delivery system containing triglyceride: monoglyceride: water in the ratio of 8:62:30.....	95
41 Release profiles of mangostin from monoglyceride-based drug delivery system containing triglyceride: monoglyceride: water in the ratio of 12:58:30.....	95

Figure	Page
42 First-order plot of mangostin from monoglyceride-based drug delivery system containing triglyceride: monoglyceride: water in the ratio of 8:62:30.....	96
43 First-order plot of mangostin from monoglyceride-based drug delivery system containing triglyceride: monoglyceride: water in the ratio of 12:58:30.....	96
44 Higuchi plot of mangostin from monoglyceride-based drug delivery system containing triglyceride: monoglyceride: water in the ratio of 8:62:30.....	97
45 Higuchi plot of mangostin from monoglyceride-based drug delivery system containing triglyceride: monoglyceride: water in the ratio of 12:58:30.....	97
46 UV spectrum of mangostin in 35% ethanol in pH 7.4 phosphate buffer	98
47 UV spectra of the receptor fluid taken from non-drug formulations....	99
48 Calibration curve of mangostin by UV spectrophotometric method....	101
49 DSC thermogram of pure compounds in the temperature range of -20 to 250 °C.....	105
50 DSC thermogram of formulation 1-3 in the temperature range of -20 to 60 °C.....	106
51 DSC thermogram of formulation 4-6 in the temperature range of -20 to 60 °C.....	107
52 DSC thermogram of formulation 1 in the temperature range of -20 to 250 °C.....	108
53 DSC thermogram of formulation 2 in the temperature range of -20 to 250 °C.....	109
54 DSC thermogram of formulation 3 in the temperature range of -20 to 250 °C.....	110

Figure		Page
55	DSC thermogram of formulation 4 in the temperature range of -20 to 250 °C.....	111
56	DSC thermogram of formulation 5 in the temperature range of -20 to 250 °C.....	112
57	DSC thermogram of formulation 6 in the temperature range of -20 to 250 °C.....	113
58	Agar diffusion test of monoglyceride-based drug delivery system.....	117
59	Agar diffusion test of various compounds.....	117
60	Polarizing microscopic images of formulation 1-3 before and after the stability study.....	120
61	Polarizing microscopic images of formulation 4-6 before and after the stability study.....	121



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF ABBREVIATIONS

ANOVA	=	analysis of variance
CFU	=	colony-forming unit
cm	=	centimeter
cps	=	centipoises
CV	=	coefficient of variation
°C	=	degree Celsius
DSC	=	differential scanning calorimetry
e.g.	=	exempli gratia, for example
et al.	=	et alii, and others
g	=	gram
GCF	=	gingival crevicular fluid
GMO	=	glyceryl monooleate
H _{II}	=	reversed hexagonal phase
HPLC	=	high performance liquid chromatography
hr	=	hour
k ₀	=	zero-order release rate constant
k ₁	=	first-order release rate constant
k _H	=	diffusion rate constant
kg	=	kilogram
L _α	=	lamellar phase
LSD	=	least significant difference
m	=	meter
MBC	=	minimum bactericidal concentration
mg	=	milligram
MIC	=	minimum inhibitory concentration
min	=	minute
ml	=	milliliter

mm	=	millimeter
MS	=	mass spectrometry
nm	=	nanometer
NMR	=	nuclear magnetic resonance
OECD	=	Organization for Economic Cooperation and Development
P	=	partition coefficient
R ²	=	coefficient of determination
rpm	=	revolution per minute
SD	=	standard deviation
SPSS	=	statistical package for the social sciences
TLC	=	thin layer chromatography
μg	=	microgram
μl	=	microliter
μm	=	micrometer
UV	=	ultraviolet
v/v	=	volume by volume
w/w	=	weight by weight



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย