

การกักเก็บสารไตรเทอปีนอยด์ไกลโคไซด์ที่ได้จากใบบัวบกในไลโปโซม
Encapsulation of Triterpenoid Glycosides from *Centella asiatica* Linn.
Leaves in Liposome

ณัฐชนากานต์ วงศ์ชนะบุรณ์

อีเมล: 6451701293@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ

อีเมล: phanuphong@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

ใบบัวบก (*Centella asiatica* Linn.) มีสารสำคัญในกลุ่มไตรเทอปีนอยด์ไกลโคไซด์ เช่น อะเซียติโคไซด์ (Asiaticoside) และมาเดคาสโซไซด์ (Madecassoside) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ กระตุ้นการสร้างคอลลาเจน และสมานแผล อย่างไรก็ตาม พบว่าสารกลุ่มนี้มีความคงตัวต่ำในผลิตภัณฑ์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญ และผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของไลโปโซมที่ใช้กักเก็บสารจากใบบัวบก ผลการทดลองพบว่า 70% เอทานอล ให้ประสิทธิภาพในการสกัดอะเซียติโคไซด์ และมาเดคาสโซไซด์ได้ปริมาณสูงสุดอยู่ที่ 239.91 ± 21.38 และ 102.92 ± 2.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการเตรียมไลโปโซมมีผลต่อขนาดอนุภาค โดยเรียงลำดับขนาดจากมากไปน้อย ได้แก่ ไอโซโพรพานอล > เอทานอล > เมทานอล และมีขนาดอยู่ที่ $6,521.7 \pm 389.1$, $6,496.4 \pm 445.2$ และ $5,618. \pm 879.4$ นาโนเมตร ตามลำดับ สำหรับการศึกษาความคงตัว พบว่าอุณหภูมิส่งผลต่อประสิทธิภาพการกักเก็บสาร โดยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้ผลการกักเก็บสารอะเซียติโคไซด์ และมาเดคาสโซไซด์สูงสุดที่ 47.23% และ 43.99% ตามลำดับ รองลงมาคือ 25 องศาเซลเซียส (51.30% และ 32.49%) และต่ำที่สุดที่ 45 องศาเซลเซียส (27.77% และ 15.41%) หลังการเก็บรักษา 21 วัน การบรรจุสารสำคัญในไลโปโซมจึงเป็นเทคโนโลยีที่ช่วยเพิ่มความคงตัวของสาร และชะลอการเสื่อมสภาพภายใต้อุณหภูมิที่สูง มีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เวชสำอางในอนาคต

คำสำคัญ: ใบบัวบก, อะเซียติโคไซด์, มาเดคาสโซไซด์, ไลโปโซม

Abstract

Centella asiatica (Linn.) contains active compounds in the triterpenoid glycoside group, such as asiaticoside and madecassoside, which possess anti-inflammatory properties, stimulate collagen production, and promote wound healing. However, these compounds exhibit low stability in formulations. This study aimed to evaluate the efficiency of various solvents in extracting the active compounds and to investigate the effect of temperature on the stability of liposomes used for encapsulating *Centella asiatica* extracts. The results showed that 70% ethanol provided the highest extraction efficiency for asiaticoside and madecassoside, yielding 239.91 ± 21.38 and 102.92 ± 2.25 mg/L, respectively. The type of solvent used in liposome preparation significantly affected particle size, which decreased in the following order: isopropanol > ethanol > methanol, with particle sizes of $6,521.7 \pm 389.1$, $6,496.4 \pm 445.2$, and $5,618.0 \pm 879.4$ nm, respectively. In terms of stability, storage temperature had a considerable effect on the retention of active compounds. The highest retention of asiaticoside and madecassoside was observed at 4°C (47.23% and 43.99%, respectively), followed by 25°C (41.30% and 32.49%), and the lowest at 45°C (27.77% and 15.41%) after 21 days of storage. These findings indicate that liposomal encapsulation enhances the stability of active compounds and slows degradation under elevated temperatures. This technology shows promise for future applications in cosmeceutical products.

Keywords: *Centella asiatica* Linn. Leaf, Asiaticoside, Madecassoside, Liposome

บทนำ/หลักการและเหตุผล (Introduction)

ใบบัวบก (*Centella asiatica* Linn.) เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่แพร่หลายในหลายภูมิภาคทั่วโลก รวมถึงเอเชีย แอฟริกา อเมริกา และออสเตรเลีย โดยมีการนำมาใช้ในรูปแบบสมุนไพรเพื่อบำบัดโรคมาอย่างยาวนาน (Hussin et al., 2014) งานวิจัยสมัยใหม่สนับสนุนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการของใบบัวบก เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory), ต้านแผลเปื่อย (Anti-ulcer), ต้านจุลชีพ (Antimicrobial) และเสริมสร้างความจำ (Memory-enhancing Properties) สารสำคัญหลักที่พบในใบบัวบก คือ สารกลุ่มไตรเทอร์พีน (Triterpene) ได้แก่ อะเซียติโคไซด์ มาเดคาสโซไซด์ กรดมาเดคาสสิก และกรดอะเซียติก ซึ่งมีคุณสมบัติในการสมานแผล ต่อต้านริ้วรอย ลดเซลล์ไขมัน กระตุ้นการสร้างคอลลาเจน และไฟโบรเนคตินในเซลล์ผิวหนัง ส่งผลให้ใบบัวบกกลายเป็นพืชที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางได้อย่างน่าสนใจ โดยเฉพาะเมื่อพิจารณาร่วมกับแนวโน้มตลาดที่มีการขยายตัวในหลายภูมิภาค (Transparency Market Research, 2020)

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการนำส่งสารสำคัญจากใบบัวบก เทคโนโลยีระบบนำส่งสารในระดับนาโน (Drug Nano Carrier) เช่น ไลโปโซม (Liposome), ไฟโตโซม (Phytosome), นาโนพาร์ทิเคิล (Nanoparticle) และนาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion) ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น ไลโปโซมเป็นระบบกักเก็บสารที่โดดเด่นเนื่องจากสามารถปกป้องสารสำคัญจากการเสื่อมสภาพจากแสง อุณหภูมิ และออกซิเจน อีกทั้งสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านของสารเข้าสู่ผิวหนัง และลดการระคายเคืองเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดเดี่ยว โดยเฉพาะสารไตรเทอร์พีนอยด์ที่มีคุณสมบัติเชิงเวชสำอางแต่ซึมผ่านผิวได้ยาก ไลโปโซมสามารถกักเก็บสารที่ละลายได้ทั้งในน้ำ และไขมันในเวลาเดียวกัน ปลดปล่อยสารออกฤทธิ์อย่างช้า ๆ และควบคุมการปลดปล่อยได้ดี จึงช่วยยืดระยะเวลาการออกฤทธิ์ และเพิ่มประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ (ภาสวีย์ จันทรสัก และคณะ, 2555)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาระบบนำส่งสารสกัดจากใบบัวบกในรูปแบบไลโปโซม โดยเริ่มจากการศึกษาวิธีการสกัดสารไตรเทอร์พีนอยด์ ได้แก่ อะเซียติโคไซด์ และมาเดคาสโซไซด์ ด้วยตัวทำละลายเมทานอล เอทานอลผสมกับน้ำในสัดส่วนต่าง ๆ เพื่อหาวิธีที่ให้ประสิทธิภาพการสกัดดีที่สุด จากนั้นนำสารสกัดมาพัฒนาเป็นไลโปโซม และประเมินคุณภาพของระบบที่ได้ โดยศึกษาความคงตัวของไลโปโซมภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกัน (4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 7, 14 และ 21 วัน โดยพิจารณาจากขนาดอนุภาค (Particle Size), การกระจายตัวของอนุภาค (Polydispersity Index, PDI), ค่าศักย์ไฟฟ้าผิวอนุภาค (Zeta Potential) และเปอร์เซ็นต์การกักเก็บสาร (Entrapment Efficiency) เพื่อประเมินศักยภาพของระบบในการเพิ่มความเสถียร และพัฒนาเป็นระบบนำส่งสารจากสมุนไพรที่สามารถประยุกต์ใช้ในเวชสำอางได้อย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต

ระเบียบวิธี (Research Methodology)

1. การเตรียมตัวอย่างใบบัวบก

นำใบบัวบกสดที่ทำการเก็บจากอำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ นำใบบัวบกที่ได้ล้างด้วยน้ำจนสะอาด ตากลมให้ใบสะเด็ดน้ำ จากนั้นนำมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง นำใบบัวบกแห้งที่อบแล้วมาทำการบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดอาหารแห้ง จากนั้นนำผงใบบัวบกที่ได้มาเก็บไว้ในขวดสีชา และเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง

2. การสกัดสารอะเซียติโคไซด์ และมาเดคาสโซไซด์จากใบบัวบกด้วยวิธีแช่ตัวอย่างในสารตัวทำละลาย

นำผงใบบัวบกแห้ง 10 กรัมใส่ในขวดสีชาขนาด 250 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอลที่ความเข้มข้น 100%, 70%, 50% และ 30% ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปเขย่าในเครื่อง water bath shaker

ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 นาที พักไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง แล้วกรองเอาตะกอนออก ทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง รวมสารสกัดจากแต่ละตัวทำละลาย แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้ความดันต่ำที่ 45 องศาเซลเซียสจนได้สารสกัดหยาบ บันทึกน้ำหนักและคำนวณร้อยละการสกัด จากนั้นเก็บสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารอะเซตีลโคไซด์ และมาเดกาโซไซด์ด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลายแต่ละชนิด

3. การเตรียมไลโปโซมเพื่อกักเก็บสารสกัดสารสกัดจากใบบัวบก

การเตรียมไลโปโซมใช้วิธีฟิล์มแผ่นบาง (Thin-film Hydration Method) โดยผสมเลซิตินจากถั่วเหลือง และคอเลสเตอรอลในอัตราส่วน 8:1 ละลายในตัวทำละลายเมทานอล เอทานอล และไอโซโพรพานอล (100 มิลลิลิตร; ความเข้มข้นรวม 9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นใช้เครื่องโซนิก (Sonicator) ผสมให้เป็นเนื้อเดียว ก่อนนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่ 45 องศาเซลเซียส จนได้ฟิล์มบางของฟอสโฟลิพิด และสังเกตลักษณะฟิล์มในขั้นตอนการเติมน้ำ ผสมสารสกัดใบบัวบกที่เตรียมไว้ในความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับ phosphate buffered saline (PBS) (pH 7.4, 0.01 โมลาร์) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเทลงบนฟิล์มที่ได้ จากนั้นหมุนด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยไม่ใช้ภาวะสุญญากาศ แล้วใช้เครื่องโซนิก (20 กิโลเฮิร์ตซ์) อีกครั้งนาน 5 นาที เพื่อให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน พร้อมนำไปประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคไลโปโซม

4. การวัดคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคไลโปโซม

ก่อนทำการวัดคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคไลโปโซม ทำการเตรียมสารละลายไลโปโซม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำมาเจือจางด้วยสารละลาย PBS pH 7.4 ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร (คิดเป็นการเจือจาง 100 เท่า) ผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไป วัดค่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง, ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาค และศักย์ซีตาของไลโปโซมที่เตรียมจากตัวทำละลายเมทานอล, เอทานอล และไอโซโพรพานอลโดยปริมาตรต่อปริมาตร ด้วยเครื่อง SZ-100 nanoparticle size & zeta potential analyzer เปรียบเทียบประสิทธิภาพ และคัดเลือกจากวิธีที่ดีที่สุดเพื่อนำไปทดสอบต่อไป

5. การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการกักเก็บและความคงตัวของไลโปโซม

นำไลโปโซมที่เตรียมได้ไปประเมินประสิทธิภาพการกักเก็บสารโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 7, 14 และ 21 วัน จากนั้นใช้สารละลายไลโปโซม 1 มิลลิลิตร ผสมกับ PBS (pH 7.4, 0.01 M) 9 มิลลิลิตร แล้วเหวี่ยงด้วยความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (Marsanasco et al., 2011) เก็บสารละลายใสด้านบน 1 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์ปริมาณไตรเทอร์ปีน

ด้วย HPLC (ค่าที่ได้ = W1) ต่อมานำไลโปโซมเดิมมาทำลายโครงสร้างโดยเติม triton X-100 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเหวี่ยงซ้ำด้วยเงื่อนไขเดิม เก็บสารละลายส่วนใสอีก 1 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์ปริมาณไตรเทอร์ปินอีกครั้งด้วย HPLC (ค่าที่ได้ = W2) คำนวณค่าร้อยละการกักเก็บสาร (Encapsulation Efficiency; %EE) ดังสมการ (1)

$$\%EE = (W1-W2)/W1 \times 100 \quad (1)$$

ผลวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

1. การสกัดสารจากใบบัวบกด้วยการแช่ในตัวทำละลาย

เมื่อผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว ลักษณะของผงใบบัวบกที่ได้ คือมีสีเขียวเข้ม น้ำหนักแห้งใบบัวบกที่ได้เท่ากับ 4.57 กรัม จากน้ำหนักสดใบบัวบก 100 กรัม คิดเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้งคือ 4.57 จากนั้นตัวอย่างใบบัวบกแห้ง ที่ถูกนำไปแช่กับตัวทำละลาย 100% เมทานอล, 100, 70, 50 และ 30% เอทานอล ในอัตราส่วนน้ำหนักแห้งของบัวบก 10 กรัม ต่อปริมาตรตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร ทำการแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปละลายตัวทำละลายออก ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารในกลุ่มไตรเทอร์ปินไกลโคไซด์ที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด โดยอะเซตีโคไซด์ และมาเดคาสโซไซด์จะพบที่ค่า retention time ที่ 3.913 ± 0.013 และ 5.576 ± 0.017 นาที ตามลำดับ และพบว่า ตัวทำละลาย 70% เอทานอล มีประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดเอาสารสำคัญในกลุ่มไตรเทอร์ปินไกลโคไซด์ออกมาได้ รองลงมาคือ 50% เอทานอล, เมทานอล, เอทานอล และน้อยสุดคือ 30% เอทานอล นอกจากนี้สามารถตรวจวัดปริมาณสารอะเซตีโคไซด์ และมาเดคาสโซไซด์ที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ออกมาได้ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบหลักของสารสำคัญในกลุ่มไตรเทอร์ปินไกลโคไซด์จากใบบัวบกแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล, เอทานอล, 70% เอทานอล, 50% เอทานอล และ 30% เอทานอล

No.	ชนิดตัวทำละลาย	ร้อยละการสกัด (%)	อะเซตีโคไซด์ (ppm)	มาเดคาสโซไซด์ (ppm)
1	เมทานอล	3.25	168.03 ± 1.87	77.61 ± 1.44
2	100% เอทานอล	4.12	107.65 ± 2.61	42.82 ± 3.02
3	70% เอทานอล	5.85	302.41 ± 3.09	149.46 ± 0.83
4	50% เอทานอล	6.63	234.46 ± 3.70	117.04 ± 0.68
5	30% เอทานอล	8.74	65.51 ± 1.92	82.19 ± 0.48

หมายเหตุ* ทำการทดลองจากแต่ละตัวอย่างจำนวน 3 ตัวอย่าง (n = 3)

จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลายเมทานอล เอทานอล และอะซิโตนไตรล์ในการสกัดสารมาเดคาสโซไซด์และอะเซียติโคไซด์จากใบบัวบก พบว่าเมทานอลให้ประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมาคือเอทานอล และอะซิโตนไตรล์ ซึ่งไม่สามารถตรวจวัดปริมาณของอะเซียติโคไซด์ได้เลย (Mohapatra et al., 2021) โดยใบบัวบกจากแหล่งที่ศึกษาให้ปริมาณอะเซียติโคไซด์มากกว่ามาเดคาสโซไซด์ ทั้งนี้ เมทานอลและเอทานอลมีข้อดีที่เหมาะสมต่อการสกัดสารกลุ่มไตรเทอร์พีน และฟีนอลิกที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้ว เช่น สารอะเซียติโคไซด์ที่เป็นซาโปนินไกลโคไซด์ ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสและแรมโนสอยู่ในโครงสร้าง ทำให้ละลายได้ดีในเมทานอลและเอทานอล (Rafinska et al., 2019)

นอกจากนี้ การใช้เอทานอลผสมกับน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสม เช่น 70% เอทานอล พบว่ามีประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดสารออกฤทธิ์ทั้งสองชนิด เนื่องจากมีความใกล้เคียงกับขั้วของสารกลุ่มไตรเทอร์พีนไกลโคไซด์ และให้ผลการสกัดที่ดีกว่าการใช้เอทานอลหรือน้ำเพียงอย่างเดียว ขณะที่เมทานอลสามารถสกัดสารสำคัญได้ดีโดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับอุณหภูมิที่เหมาะสม (Pillai et al., 2024) แต่เนื่องจากความเป็นพิษของเมทานอล จึงไม่เป็นที่นิยมในการสกัดสารเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์บริโภคหรือใช้กับผิวหนัง

2. การเปรียบเทียบตัวทำละลายต่างชนิดในการเตรียมไลโปโซม

ผลศึกษาเปรียบเทียบผลของตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ ไอโซโพรพานอล เอทานอล และเมทานอล ต่อการเตรียมฟิล์มบางของคอเลสเตอรอลและเลซิธินในอัตราส่วน 8:1 โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน พบว่า การใช้ไอโซโพรพานอลทำให้สารละลายหลังการระเหยตัวทำละลายเกิดการจับตัวเป็นก้อนเป็นส่วนใหญ่ และมีฟิล์มบางไม่สม่ำเสมอเคลือบอยู่ในภาชนะเพียงบางส่วน เมื่อเติมบัฟเฟอร์เพื่อทดสอบสภาวะการเกิดไลโปโซมโดยไม่มีสารสกัดใบบัวบก พบว่าสารละลายที่ได้มีลักษณะเป็นเนื้อขาวขุ่น มีตะกอนขาว เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบอนุภาคมีรูปร่าง และขนาดหลากหลาย โดยมีขนาดเล็กเฉลี่ยประมาณ 6 ไมโครเมตร และมีจำนวน ไลโปโซมที่ได้ค่อนข้างน้อย

การใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารละลายหลังระเหยตัวทำละลายสามารถสร้างเป็นฟิล์มบางใส เคลือบทั่วภาชนะได้อย่างสม่ำเสมอ เมื่อนำไปผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ได้สารละลายสีขาวขุ่น เมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบอนุภาคมีรูปร่างและขนาดหลากหลาย ขนาดเฉลี่ยประมาณ 6 ไมโครเมตร ส่วนการใช้เมทานอลก็ให้ผลใกล้เคียงกับเอทานอล โดยได้ฟิล์มบางใสที่เคลือบสม่ำเสมอทั่วภาชนะ และเมื่อผสมกับบัฟเฟอร์ก็ได้สารละลายสีขาวขุ่น เมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พบอนุภาคที่ได้มีลักษณะคล้ายคลึงกันกับกรณีของเอทานอล โดยมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 6 ไมโครเมตร เช่นกันหลังจากการนำสารสกัดใบบัวบกที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มาเตรียมในไลโปโซมเสร็จ

แล้วจึงนำมาวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาค ค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาคไลโปโซมที่ได้จากตัวทำละลายไอโซโพรพานอล เอทานอล และเมทานอล คือ $6,521.7 \pm 389.1$, $6,496.4 \pm 445.2$ และ $5,618.6 \pm 879.4$ ตามลำดับ

การเลือกชนิดของตัวทำละลายในการผสมกับฟอสโฟลิปิด และคอเลสเตอรอลมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งต่อคุณสมบัติของไลโปโซม โดยเฉพาะในด้านขนาดของอนุภาค ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพของการกักเก็บ และนำส่งสารสำคัญ โดยตัวทำละลายกลุ่มแอลกอฮอล์ที่ใช้ ได้แก่ ไอโซโพรพานอล เอทานอล และเมทานอล มีความเป็นขั้วต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อขนาดอนุภาค โดยไอโซโพรพานอล (ขั้วต่ำสุด) ทำให้เกิดไลโปโซมที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ขณะที่เมทานอล (ขั้วสูงสุด) ทำให้เกิดไลโปโซมขนาดเล็กที่สุด อย่างไรก็ตาม เมทานอลมีข้อจำกัดเรื่องความเป็นพิษ แม้ว่าจะให้อนุภาคขนาดเล็กแต่ไม่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ต้องสัมผัสร่างกายหรือใช้บริโภค ส่วนไอโซโพรพานอล แม้มีความปลอดภัยเทียบเท่าเอทานอล แต่ให้ฟิล์มไม่สม่ำเสมอและมีแนวโน้มเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อน ทำให้ไม่สามารถสร้างโครงสร้างไลโปโซมที่มีคุณภาพได้ (Webb et al., 2019)

เอทานอลจึงเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดในงานวิจัยนี้ เนื่องจากมีความสมดุลทั้งด้านความเป็นขั้ว ความสามารถในการสร้างฟิล์มที่สม่ำเสมอ และความปลอดภัยสูง โดยเอทานอลสามารถสร้างไลโปโซมที่มีอนุภาคขนาดเล็ก (6 ไมโครเมตร) มีการกระจายตัวต่ำ และมีเสถียรภาพดีใกล้เคียงกับเมทานอล อีกทั้งสามารถละลายได้ทั้งในน้ำและไขมัน จึงช่วยส่งเสริมการจัดเรียงตัวของฟอสโฟลิปิดร่วมกับคอเลสเตอรอลในกระบวนการสร้างไลโปโซมได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Guo et al., 2020) ดังนั้น เมื่อพิจารณาทั้งด้านสมบัติทางฟิสิกส์เคมีและความปลอดภัย เอทานอลจึงเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมไลโปโซมจากสารสกัดใบบัวบก เพื่อการประยุกต์ใช้ต่อในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง โดยไม่ต้องกังวลเรื่องสารพิษตกค้างจากตัวทำละลาย (Webb et al., 2019)

3. ผลการศึกษาความคงตัวของไลโปโซมที่อุณหภูมิต่าง ๆ

การเก็บไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดใบบัวบกที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส ต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บสารอะเซียติโคไซด์ และมาเดคาสโซไซด์จากสารสกัดบัวบก โดยทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาค, ค่าการกระจายตัวของอนุภาค (Polydispersity Index, PDI) และค่าศักย์ซีตา (zeta-potential) ผลของการเก็บตัวอย่างหลังทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 7, 14 และ 21 วัน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง, ค่า PDI และค่าศักย์ zeta-potential ของอนุภาคไลโปโซม
ทำการทดสอบเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 7, 14
และ 21 วัน

ความเข้มข้นสารสกัด ใบบัวบก (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาค (นาโนเมตร, nm)	ค่า PDI	ค่าศักย์ zeta-potential (มิลลิโวลต์, mV)
วันที่ 0 ของการทดสอบ			
0	538.5±17.6	0.50±0.14	-21.2±1.2
1	125.2±2.9	0.13±0.02	-24.4±3.0
10	419.2±24.4	0.44±0.04	-26.4±0.7
วันที่ 7 ของการทดสอบ			
การเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส			
0	761.9±13.3	0.53±0.09	-25.2±3.0
1	121.7±0.5	0.02±0.02	-25.2±1.6
10	340.0±22.0	0.57±0.10	-13.4±2.2
การเก็บที่ 25 องศาเซลเซียส			
0	282.8±6.1	0.56±0.05	-21.9±2.5
1	180.8±7.7	0.11±0.01	-23.6±3.4
10	313.8±6.2	0.54±0.09	-15.2±2.0
การเก็บที่ 45 องศาเซลเซียส			
0	233.1±5.8	0.28±0.04	-17.9±2.1
1	163.5±4.7	0.15±0.07	-23.3±1.9
10	275.5±13.2	0.59±0.13	-15.7±1.3
วันที่ 14 ของการทดสอบ			
การเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส			
0	636.4±16.5	0.47±0.08	-11.0±2.1
1	126.2±1.6	0.05±0.03	-17.8±0.4
10	365.4±2.3	0.37±0.05	-8.5±0.7

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด ใบบัวบก (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาค (นาโนเมตร, nm)	ค่า PDI	ค่าศักย์ zeta-potential (มิลลิโวลต์, mV)
วันที่ 14 ของการทดสอบ			
การเก็บที่ 25 องศาเซลเซียส			
0	354.7±21.6	0.66±0.12	-9.5±0.9
1	161.9±2.8	0.19±0.01	-16.6±1.0
10	332.1±17.5	0.55±0.03	-9.4±0.6
การเก็บที่ 45 องศาเซลเซียส			
0	269.4±5.3	0.35±0.01	-9.9±1.9
1	169.7±1.1	0.21±0.02	-15.3±1.4
10	315.2±4.8	0.57±0.05	-7.4±2.1
วันที่ 21 ของการทดสอบ			
การเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส			
0	331.6±33.7	0.60±0.10	-3.9±0.2 ^a
1	119.5±0.5	0.18±0.01	-11.6±0.8
10	134.1±8.1	0.35±0.04	-11.9±0.6
การเก็บที่ 25 องศาเซลเซียส			
0	310.6±7.7	0.48±0.03	-5.9±0.3
1	145.5±3.4	0.18±0.04	-8.6±0.8
10	173.6±7.3	0.36±0.03	-5.2±1.3
การเก็บที่ 45 องศาเซลเซียส			
0	254.7±1.6	0.30±0.02	-4.6±0.5
1	172.7±1.8	0.20±0.03	-5.1±0.9
10	269.4±33.7	0.57±0.03	-2.7±0.3

หมายเหตุ* ทำการวัดจากตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (n = 3)

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวบก (1 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และอุณหภูมิการเก็บรักษา (4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส) พบว่าไลโปโซมที่บรรจุสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในช่วงเวลา 21 วัน แต่ค่าดัชนีการกระจายตัว (PDI) และค่าศักย์ซีตา แสดงแนวโน้มเปลี่ยนแปลงเด่นชัด โดยเฉพาะค่า PDI ที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในอุณหภูมิ 25 และ 45 องศาเซลเซียส สะท้อนถึงการกระจายตัวของอนุภาคที่ลดลง อย่างไรก็ตามในวันที่ 21 ค่า PDI กลับลดลงเล็กน้อย ซึ่งอาจเกิดจากการรวมตัวของอนุภาคที่ทำให้ระบบมีอนุภาคขนาดใหญ่ลดลง ขณะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ค่า PDI เพิ่มขึ้นต่อเนื่อง ส่วนค่าศักย์ซีตาในทุกกลุ่มอุณหภูมิแสดงค่าลบที่ลดลงเรื่อย ๆ เมื่อเวลาผ่านไป ผลนี้อาจสัมพันธ์กับการเสื่อมสภาพของสารออกฤทธิ์ในใบบัวบก โดยเฉพาะกลุ่มฟีนอลิก และไตรเทอร์ปีนไกลโคไซด์ ที่มีแนวโน้มเสถียรน้อยกว่าภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะสม รวมถึงผลของอุณหภูมิที่ส่งผลต่อการจัดเรียงตัวของลิพิดไบเลเยอร์ที่เป็นโครงสร้างพื้นฐานของไลโปโซม ซึ่งส่งผลต่อความคงตัวของระบบในภาพรวม (Joguparthi et al., 2008)

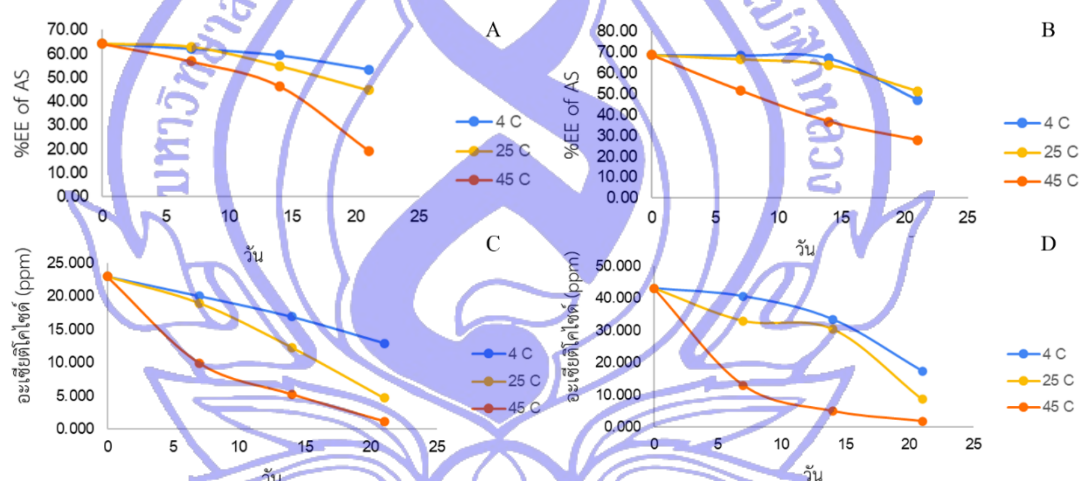
เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า มีแนวโน้มที่ขนาดอนุภาคของไลโปโซมจะลดลงอย่างชัดเจนตลอดช่วงเวลา 21 วัน โดยจากขนาดเริ่มต้นที่ 419.20 ± 24.40 นาโนเมตร ลดลงเหลือเฉลี่ย 192.37 ± 69.57 นาโนเมตร ส่วนค่า PDI ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มคงที่มากกว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงว่าอุณหภูมิต่ำมีส่วนช่วยในการรักษาความสม่ำเสมอของขนาดอนุภาค ส่วนค่าศักย์ซีตาก็ยังคงมีแนวโน้มลดลงในทุกอุณหภูมิ สะท้อนถึงการลดลงของแรงผลักระหว่างอนุภาค ทำให้ระบบมีแนวโน้มเกิดการรวมตัวได้ง่ายขึ้น ทั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีสารสกัด พบว่า การเติมสารสกัดใบบัวบกช่วยลดขนาดอนุภาคลงอย่างมีนัยสำคัญ เช่น จาก 538.5 ± 17.6 นาโนเมตร เหลือเพียง 125.2 ± 2.9 นาโนเมตร (Webb et al., 2019) อย่างไรก็ตามปัจจัยอื่น ๆ เช่น ประเภหของคอเลสเตอรอลที่ใช้เป็นโครงสร้างร่วม เช่น สเตกแมสเทอรอล (Stigmasterol) ก็มีบทบาทในการควบคุมขนาดอนุภาค และค่าพีเอชของสารสกัดเองก็มีอิทธิพลต่อกระบวนการก่อตัวของไลโปโซมเช่นกัน (Fai et al., 2018)

ในแง่ของการวิเคราะห์ความสม่ำเสมอของอนุภาค ค่า PDI ถือเป็นตัวชี้วัดสำคัญ โดยค่าที่ต่ำกว่า 0.3 สะท้อนถึงการมีขนาดอนุภาคที่ใกล้เคียงกันและระบบที่มีความเสถียรสูง (Roy et al., 2016) จากผลการทดลองพบว่า ไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดใบบัวบกในระดับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า PDI ต่ำกว่ากลุ่มอื่น โดยเฉพาะในช่วงต้นของการเก็บรักษา แสดงถึงการควบคุมขนาดของอนุภาคได้ดีกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นสารสกัดสูง อย่างไรก็ตาม เมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาสูงขึ้น เช่นที่ 45 องศาเซลเซียส ค่า PDI มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งอาจเกิดจากการแตกตัวของชั้นลิพิดและการรวมตัวของอนุภาคที่ไม่เสถียร นอกจากนี้ค่า zeta potential ที่ลดลงอย่างต่อเนื่องยังยืนยันถึงการลดลงของ

แรงผลักดันระหว่างอนุภาคและแนวโน้มของการเกิดการตกตะกอนหรือการรวมตัวในระบบ สรุปได้ว่าการควบคุมปริมาณสารสกัดให้อยู่ในระดับเหมาะสม (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (4 องศาเซลเซียส) จะช่วยรักษาเสถียรภาพของไลโปโซมได้ดีที่สุด ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เวชสำอางหรือยาในอนาคต (Roy et al., 2016)

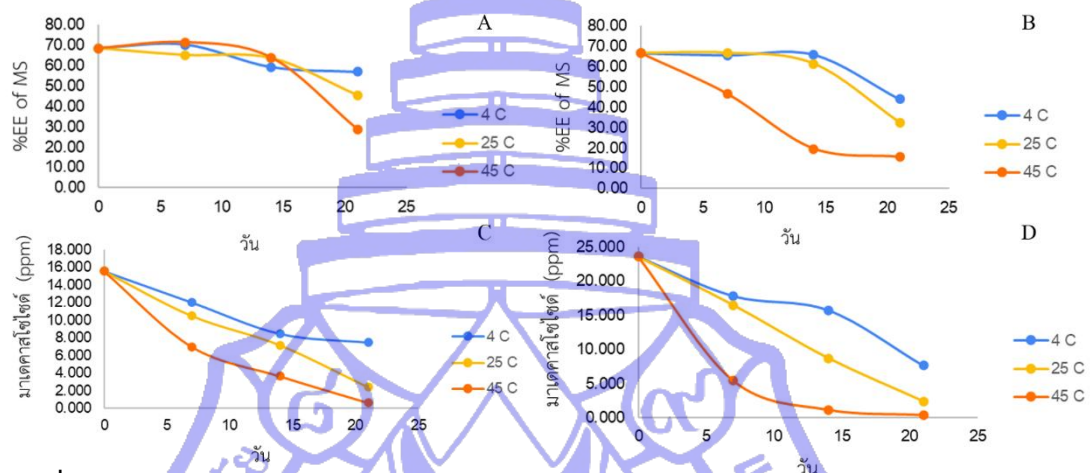
4. ผลการทดสอบอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการกักเก็บสารของไลโปโซม

สำหรับผลการวิเคราะห์สารอะเซตีลโคไค จากไลโปโซมที่เตรียมจากสารสกัดใบบัวบกความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 1 และ 2 มีค่าร้อยละการกักเก็บ (Encapsulation Efficiency; %EE) ที่แตกต่างกัน โดยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าร้อยละการกักเก็บเริ่มต้นอยู่ที่ร้อยละ 62.23 สามารถคำนวณปริมาณความเข้มข้นสารอะเซตีลโคไคอยู่ที่ 22.964 มิลลิกรัมต่อลิตร คือคิดเป็น 0.023 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วงวันที่ 7, 14 และ 21 ร้อยละของการกักเก็บลดลงอย่างต่อเนื่อง ดังภาพที่ 1 และยิ่งลดลงมากขึ้นเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิที่สูงขึ้น โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส ในวันที่ 21 พบว่า การเปลี่ยนแปลงร้อยละการกักเก็บเมื่อเปรียบเทียบกับวันแรกอยู่ที่ร้อยละ 10.79, 19.56 และ 45.04 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีอัตราการเปลี่ยนแปลงของการกักเก็บสูงสุด ซึ่งหมายถึงมีอัตราการสูญเสียของสารอะเซตีลโคไคสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 1 ค่าร้อยละการกักเก็บ (A และ B) และปริมาณสาร (C และ D) อะเซตีลโคไคของไลโปโซมบรรจุสารสกัดใบบัวที่ความเข้มข้น 1 (A และ C) และ 10 (B และ D) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 (สีน้ำเงิน), 25 (สีส้ม) และ 45 องศาเซลเซียส (สีเทา) เป็นระยะเวลา 0, 7, 14 และ 21 วัน

จากการศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บสารมาเดคาสโซไซด์ในไลโปโซมที่เตรียมจากสารสกัดใบบัวบกที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของสารออกฤทธิ์คล้ายคลึงกัน โดยร้อยละการกักเก็บและปริมาณสารอะเซียติโคไซด์ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป และสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ที่พบการเสื่อมสลายของสารอย่างรวดเร็ว กลไกที่เกี่ยวข้องได้แก่การสลายตัวของสารออกฤทธิ์ภายใต้อุณหภูมิสูง ซึ่งส่งผลให้เกิดกระบวนการโพลีเมอร์ไรเซชัน ออกซิเดชัน และไฮโดรลิซิสของสารกลุ่มไตรเทอร์ปีนไกลโคไซด์ ส่งผลให้การกักเก็บสารมีประสิทธิภาพลดลง ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ค่าร้อยละการกักเก็บ (A และ B) และปริมาณสาร (C และ D) มาเดคาสโซไซด์ของไลโปโซมบรรจุสารสกัดใบบัวที่ความเข้มข้น 1 (A และ C) และ 10 (B และ D) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 (สีน้ำเงิน), 25 (สีส้ม) และ 45 องศาเซลเซียส (สีเทา) เป็นระยะเวลา 0, 7, 14 และ 21 วัน

การใช้ไลโปโซมช่วยเพิ่มความคงตัวของสารสกัดใบบัวบกได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยงานวิจัยหลายชิ้นรายงานว่า ไลโปโซมสามารถยืดอายุของสารออกฤทธิ์ให้ยาวนานขึ้น โดยเฉพาะเมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่ำ เช่น 4 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าค่าครึ่งชีวิต (Half-life) ของสารออกฤทธิ์ยาวนานกว่าการเก็บในรูปแบบทั่วไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้การเก็บในรูปแบบผงแห้งหรือในสารละลายภายใต้สภาพปราศจากแสง และปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5.8–7.0 ช่วยยืดอายุการใช้งานได้มากขึ้น โดยสารในรูปกรด (กรดอะเซียติกและมาเดคาสสิก) มีความคงตัวสูงกว่ารูปไกลโคไซด์ (อะเซียติโคไซด์และมาเดคาสโซไซด์) อย่างชัดเจน (Puttarak, Brantner & Panichayupakaranant, 2016)

ดังนั้นในการศึกษานี้พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมไลโปโซมสำหรับกักเก็บสารสกัดจากใบบัวบก คือ การเลือกใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มากกว่าความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องจากให้อนุภาคไลโปโซมที่มีขนาดเล็กที่สุด มีความสม่ำเสมอของอนุภาคดี (ค่า PDI ต่ำ) และมีความเสถียรของระบบสูงกว่าอย่างชัดเจน โดยขนาดเฉลี่ยของอนุภาค

ไลโปโซมที่ได้จากการใช้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ที่ประมาณ 125.2 ± 2.9 นาโนเมตร ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าการใช้ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า (419.2 ± 24.4 นาโนเมตร ณ วันที่ 0) แสดงถึงการรวมตัวของสารสกัดภายในที่มากขึ้นเมื่อใช้สารสกัดเข้มข้นสูง นอกจากนี้ ค่า PDI ที่ใช้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเริ่มต้นเพียง 0.13 ± 0.02 บ่งชี้ถึงระบบที่มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคแคบ และมีแนวโน้มคงที่ตลอดช่วงเวลาการเก็บรักษา โดยเฉพาะที่อุณหภูมิต่ำ (ที่ 4 องศาเซลเซียส) ขณะที่สูตร 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า PDI ที่สูงกว่า และแปรผันมากกว่าในหลายอุณหภูมิ ซึ่งชี้ถึงความไม่สม่ำเสมอ และอาจเกิดการรวมตัวของอนุภาคมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป อีกทั้งในแง่ของประสิทธิภาพการกักเก็บสาร แม้ว่าสูตรเข้มข้น มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีปริมาณสารที่กักเก็บได้สูงในช่วงเริ่มต้น แต่พบว่าอัตราการสูญเสียของสารสำคัญกลับสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเมื่อเก็บในอุณหภูมิสูง (ที่ 45 องศาเซลเซียส) ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพลดลงชัดเจนเมื่อเทียบกับสูตรความเข้มข้นต่ำกว่า ดังนั้นการเลือกใช้สารสกัดในระดับที่เหมาะสมที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจึงให้สมดุลที่ดีที่สุดระหว่างความสม่ำเสมอของอนุภาค ความเสถียร และความสามารถในการคงรักษาสารออกฤทธิ์ไว้อยู่ในไลโปโซมในระยะยาว โดยเฉพาะเมื่อพิจารณา ร่วมกับปัจจัยด้านอุณหภูมิการเก็บรักษา และโครงสร้างอนุภาคที่ต้องการในผลิตภัณฑ์เพื่อใช้จริงในอุตสาหกรรมอาหาร ยา หรือเครื่องสำอาง

สรุปผล (Conclusion)

ผลการสกัดสารสำคัญในกลุ่มกลุ่มไตรเทอร์พีนไกลโคไซด์จากใบบัวบกแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ เมทานอล, เอทานอล, 70, 50 และ 30% เอทานอล ในอัตราส่วนน้ำหนักแห้งของบัวบก 10 กรัม ต่อปริมาตรตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร พบว่า สารละลาย 70% เอทานอลให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดเอสารมาเดคาสโซไซด์ และอะเซียติโคไซด์ได้ โดยมีร้อยละของการสกัดสารสกัดหยาบอยู่ร้อยละ 5.85 และมีปริมาณสารสารมาเดคาสโซไซด์ และอะเซียติโคไซด์ อยู่ที่ 299.243 และ 148.528 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ 50% เอทานอล, เมทานอล, เอทานอล และ 30% เอทานอล โดยทุกสารละลายที่ใช้สกัด (100% เมทานอล, 100, 70, 50 และ 30% เอทานอล) จะให้อัตราส่วนปริมาณสารอะเซียติโคไซด์ต่อมาเดคาสโซไซด์คือ 2.15, 2.60, 2.0, 1.99 และ 0.78 ตามลำดับ จึงเลือกใช้ตัวทำละลายจาก 70% เอทานอล เป็นตัวอย่างหลักในการวิจัยครั้งนี้ เนื่องจากประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญ

ผลการเตรียมไลโปโซมจากสารสกัดใบบัวบกด้วยตัวละลายไอโซโพรพานอล, เอทานอล และเมทานอล เมื่อทำการตรวจวัดลักษณะทางกายภาพไลโปโซมจากตัวอย่างที่ใช้สารละลายทั้ง 3 ชนิด พบว่าชนิดไลโปโซมที่เตรียมจากตัวทำละลายเอทานอลมีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ที่ $6,496.4 \pm 445.2$ นาโนเมตร ในขณะที่ไลโปโซมชนิดที่เตรียมจากสารละลาย

ไอโซโฟฟานอล และเมทานอลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ที่ $6,521.7 \pm 389.1$ และ $5,618.6 \pm 879.4$ นาโนเมตรตามลำดับ

ผลการทดสอบอนุหุมีต่อคุณภาพทางกายภาพ และประสิทธิภาพการกักเก็บของไลโปโซม พบว่า ที่อนุหุมี 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส ตลอดการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7, 14 และ 21 วัน ไลโปโซมที่บรรจุความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวบก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาคไลโปโซม ในขณะที่ไลโปโซมที่บรรจุความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวบก 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบการลดลงของขนาดค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาค และทั้ง 2 ความเข้มข้นมีการเปลี่ยนแปลงของค่าการกระจายตัว และค่าศักย์ซีตาของอนุภาคที่เพิ่มมากขึ้นแสดงให้เห็นถึงการลดลงของคุณสมบัติทางกายภาพที่ลดน้อยลง และมีความสัมพันธ์กับปริมาณการกักเก็บสารสำคัญอย่างอะเซติโคไซด์ และมาเดกาสโซไซด์ที่ลดลงเช่นเดียวกัน และพบว่ายิ่งอนุหุมีที่สูงขึ้นส่งผลต่อร้อยละการกักเก็บที่ลดน้อยลง

รายการอ้างอิง

- ภาสวรี จันทรสุก วิทยพร ศิริกุล และ ชุตินน หมื่นแก้ว. (2555). รูปแบบนวัตกรรมของการนำส่งยาสมุนไพร. *วารสารก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์*, 12(1), 37-47.
- Guo, D., Liu, J., Fan, Y., Cheng, J., Shi, Y., Zou, J., . . . Zhang, X. (2020). Optimization, characterization and evaluation of liposomes from *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. extracts. *Journal of liposome research*, 30(4), 366–376.
- Hussin, F., Eshkoor, S. A., Rahmat, A., Othman, F. & Akim, A. (2014). The *Centella asiatica* juice effects on DNA damage, apoptosis and gene expression in hepatocellular carcinoma (HCC). *BMC Complement. Altern. Med*, 32, 1–7.
- Joguparthi, V., Feng, S., & Anderson, B. D. (2008). Determination of intraliposomal pH and its effect on membrane partitioning and passive loading of a hydrophobic camptothecin, DB-67. *International journal of pharmaceuticals*, 352(1-2), 17–28.
- Mohapatra, P., Ray, A., Jena, S., & Nayak, S. (2021). Influence of extraction methods and solvent system on the chemical composition and antioxidant activity of *Centella asiatica* L. leaves. *March Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33(1), 101971.
- Pillai, A. R. S., Bhosale, Y. K., & Roy, S. (2024). Extraction of Bioactive Compounds From *Centella asiatica* and Enlightenment of Its Utilization into Food Packaging: A Review. *International journal of food science*, 2024(1), 1249553.

- Puttarak, P., Brantner, A. & Panichayupakaranant, P. (2016). Biological Activities and Stability of a Standardized Pentacyclic Triterpene Enriched *Centella asiatica* Extract. *Natural Product Sciences*, 22(1), 20-24.
- Rafinska, K., Pomastowski, P., Rudnicka, J., Krakowska, A., Maruska, A., Narkute, M., . . . Buszewski, B. (2019). Effect of solvent and extraction technique on composition and biological activity of *Lepidium sativum* extracts. *Food chemistry*, 289, 16–25.
- Roy, B., Guha, P., Bhattarai, R., Nahak, P., Karmakar, G., Chettri, P., . . . Panda, A. K. (2016). Influence of Lipid Composition, pH, and Temperature on Physicochemical Properties of Liposomes with Curcumin as Model Drug. *Journal of oleo science*, 65(5), 399–411.
- Tai, K., Liu, F., He, X., Ma, P., Mao, L., Gao, Y., . . . Yuan, F. (2018). The effect of sterol Derivatives on properties of soybean and egg yolk lecithin liposomes: Stability, structure and membrane characteristics. *Food Research International*, 109, 24–34.
- Transparency Market Research. (2020). *Centella asiatica Market—Global Industry Analysis, Size, Share, Trends, Growth, and Forecasts, 2020 to 2030*. <https://www.transparencymarketresearch.com/centella-asiatica-market.html>
- Webb, C., Khadke, S., Schmidt, S. T., Roces, C. B., Forbes, N., Berrie, G., . . . Perrie, Y. (2019). The Impact of Solvent Selection: Strategies to Guide the Manufacturing of Liposomes Using Microfluidics. *Pharmaceutics*, 11(12), 653.
- Wegner, T., Laskar, R., & Glorius, F. (2022, December). Lipid mimetics: A versatile toolbox for lipid biology and beyond. *Current Opinion in Chemical Biology*, 71(1), 102209.