

ORIGINAL ARTICLE

Formulation of Skin Infections Microemulsions Prepared from Modified Coconut Oil

Sirikarn Pengon^{1}, Netnapha Tosakul¹, Charin Fungrungrattisai¹,
Praphasiri Maneeto¹ and Sontaya Limmatvapirat²*

¹Faculty of Pharmacy, Siam University, Bangkok, 10160, Thailand

²Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy,
Silpakorn University, Nakhonpathom, 73000, Thailand

*E-mail: bowsirikarn@gmail.com

Abstract

Presently, natural extracts are widely used in pharmaceutical fields, especially for antibacterial infections. Coconut oil is one of the natural products from Thailand contain with monolaurin. Monolaurin (ML) in coconut oil (VCO) is a substance that has antibacterial, antifungal, antiviral and antiprotozoal properties. The aims of this study were to increase amount of monolaurin from coconut oil through chemical modification and apply the modified coconut oil (MCO) as an antimicrobial microemulsions for skin infections. The modified coconut oil was prepared through glycerolysis process. Pseudo-ternary phase diagram was used as a tool for selecting the suitable proportion in microemulsions formulation. The surfactant was selected from three types of non-ionic surfactant, i.e. Cremophor[®] CO-40, Cremophor[®] RH-40 and Tween[®] 60. The suitable surfactant and solvent were Cremophor[®] RH-40 and ethanol, respectively. Microemulsions containing with Cremophor[®] RH-40 and ethanol, respectively. Microemulsions containing with Cremophor[®] RH-40 demonstrated clear solution was later characterized as microemulsions which has the droplet size in nanometer range (35.94-322.45 nm.). pH of this microemulsion (pH 4.91-5.77) was suitable for skin. In conclusion, the knowledge gained from this study may provide the guideline for application of coconut oil from Thailand in pharmaceutical fields.

Keywords: microemulsions, virgin coconut oil, monolaurin, glycerolysis, pseudo-ternary phase diagram, skin infection, virgin coconut oil, monolaurin

นิพนธ์ต้นฉบับ
การตั้งตำรับไมโครอิมัลชันจากน้ำมันมะพร้าวตัดแปรสำหรับ
ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต้านเชื้อที่ผิวหนัง

ศิริกาญจน์ เพ็งอัน^{1*}, เนตรนภา โตสกุล¹, ชรินทร์ พึ่งรุ่งนิตย์¹,
ประภาสริ มณีโต¹ และสนทยา ลีมีทวาริทธิ์²

¹คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพฯ, 10160

²ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม, 73000

*อีเมล: bowsirikarn@gmail.com

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก น้ำมันมะพร้าวถือเป็นวัตถุดิบที่พบมากในประเทศไทยที่มีสารสำคัญคือโมโนลอรินซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ และโปรโตซัว วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อเพิ่มปริมาณโมโนลอริน (ML) จากน้ำมันมะพร้าว (VCO) ผ่านกระบวนการกลีเซอโรไลซิส และทำการเตรียมไมโครอิมัลชันจากน้ำมันมะพร้าวตัดแปร (MCO) สำหรับใช้ต้านเชื้อที่ผิวหนัง โดยอาศัยบริเวณการเกิดไมโครอิมัลชันจากแผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม โดยใช้ไขมันมะพร้าวตัดแปรเป็นวัฏภาคน้ำมัน ใช้ครีโมฟอร์ซีโอ 40 ครีโมฟอร์อาร์เอช 40 และทวิน 60 เป็นสารลดแรงตึงผิว และเอทานอลเป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม โดยประเมินคุณลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ความใส ขนาดอนุภาค และความเป็นกรด-ด่าง จากการศึกษาพบว่าสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมไมโครอิมัลชัน คือ ครีโมฟอร์อาร์เอช 40 เนื่องจากสามารถเตรียมได้ไมโครอิมัลชันที่ใส มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงนาโนเมตร (35.94-322.45 นาโนเมตร) และมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 4.91-5.77 ซึ่งเหมาะสมต่อการนำไปใช้ที่ผิวหนัง โดยความรู้ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเภสัชภัณฑ์จากน้ำมันมะพร้าวที่พบได้มากในประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ: ไมโครอิมัลชัน น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ โมโนลอริน กลีเซอโรไลซิส แผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม การติดเชื้อที่ผิวหนัง

บทนำ

สมุนไพรไทยถือเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้บริโภคในปัจจุบันสนใจนำมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคติดเชื้อ เนื่องจากเป็นแนวทางการรักษาที่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงน้อย อีกทั้งการใช้สมุนไพรไทยยังเป็นภูมิปัญญาชาวบ้านที่มีการถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่นอีกด้วย นอกจากนี้ยังได้มีการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์แล้วว่าสมุนไพรไทยสามารถใช้ในการรักษาและป้องกันโรคต่างๆ ได้ อาทิเช่น การนำกะลามะพร้าวที่เป็นผงมาผสมกับน้ำมันมะพร้าวเพื่อใช้ในการรักษาแผลเรื้อรัง หรือการผสมน้ำมันมะพร้าวกับสารส้ม น้ำปูนใส และเกลือเพื่อนำไปทาบริเวณแผลน้ำกัดเท้า เป็นต้น (1) โรคผิวหนังอักเสบจากเชื้อแบคทีเรียถือเป็นโรคที่สามารถพบได้ในคนทุกวัย โดยมีสาเหตุสำคัญของโรคคือเชื้อ แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่อาศัยอยู่บนผิวหนัง โดยกลไกในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อชนิดนี้เกิดจากการที่เชื้อแทรกซึมเข้าเนื้อเยื่อชั้นในจนทำให้เกิดผิวหนังอักเสบขึ้น ส่งผลให้เกิดโรคต่างๆ ตามมา อาทิเช่น ฝี แผลพุพอง รุขุมขนอักเสบ เป็นต้น (2, 3) ปัจจุบันมีการนำยาปฏิชีวนะทั้งในรูปแบบยารับประทานและยาทาเฉพาะที่มาใช้ในการรักษาโรคผิวหนังอักเสบเพื่อกำจัดเชื้อ *S. aureus* เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกิดปัญหาการดื้อยาตามมา ปัจจุบันพบว่าน้ำมันมะพร้าวมีคุณสมบัติเด่นในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อได้ โดยอาศัยกระบวนการสร้างภูมิคุ้มกันภายในร่างกาย (4) น้ำมันมะพร้าวเป็นน้ำมันที่มีคุณสมบัติที่แตกต่างจากน้ำมันพืชชนิดอื่นๆ คือประกอบด้วยกรดลอริก (lauric acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนปานกลางปริมาณสูงถึงร้อยละ 50 โดยปกติแล้วเมื่อบริโภคน้ำมันมะพร้าวเข้าไป จะมีการเปลี่ยนรูปจากกรดลอริก และไตรกลี

เซอไรด์เป็นโมโนกลีเซอไรด์ที่เรียกว่า โมโนลอรีน (monolaurin) ภายในร่างกายซึ่งมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ และโปรโตซัว (5-8) แต่เนื่องจากน้ำมันเป็นสารที่มีความเข้ากันได้กับน้ำน้อยจึงมีความสนใจในการพัฒนาน้ำมันมะพร้าวที่ผ่านกระบวนการทางเคมีเพื่อเพิ่มปริมาณโมโนลอรีนแล้วให้อยู่ในรูปไมโครอิมัลชัน (microemulsions) ซึ่งเป็นระบบที่เกิดจากการผสมกันของน้ำ น้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วมด้วย สัดส่วนที่เหมาะสมจนได้เป็นของเหลวใสที่มีอนุภาคนาโนขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร อีกทั้งยังเป็นระบบที่มีเสถียรภาพดีทางอุณหพลศาสตร์ซึ่งต่างจากอิมัลชันทั่วไป ซึ่งเสถียรภาพในรูปแบบนี้มีข้อดีคือ เนื่องจากมีหยดวฏภาคภายในขนาดเล็กมากทำให้มีพื้นที่ผิวประจันจำนวนมาก และมีพลังงานอิสระที่พื้นผิวมาก จึงสามารถซึมผ่านชั้นผิวหนังได้ดีและสามารถกักเก็บสารสกัดจากธรรมชาติที่ละลายตัวได้ง่ายได้ด้วย (9)

การศึกษานี้จึงสนใจการผลิตโมโนลอรีนภายนอกร่างกายผ่านกระบวนการทางเคมี ที่เรียกว่า ปฏิกิริยากลิเซอโรไลซิส (10) เพื่อเพิ่มความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย และทำการพัฒนาน้ำมันมะพร้าวตัดแปรให้อยู่ในรูปไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วยโมโนลอรีน เพื่อใช้สำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง และยังมีมุ่งหวังให้เป็นแนวทางหนึ่งในการช่วยเพิ่มมูลค่าของน้ำมันมะพร้าวซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่สามารถพบได้มากในประเทศไทยอีกด้วย

วิธีการวิจัย

1.1 การเตรียมน้ำมันมะพร้าวตัดแปรโดยปฏิกิริยากลิเซอโรไลซิสและพิสูจน์เอกลักษณ์ของน้ำมันมะพร้าวตัดแปรโดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง

น้ำมันมะพร้าวตัดแปรสามารถเตรียมได้จากการแยกให้ความร้อนแก่น้ำมันมะพร้าว และกลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส โดยมีโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หลังจากนั้นปั่นผสมส่วนผสมทั้งสองด้วยเครื่อง homogenizer ความเร็วรอบ 10,800 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เห็นที่อุณหภูมิห้องและเติมกรดไฮโดรคลอริกเพื่อสะเทินต่าง ล้างกรดและต่างที่เกินออกด้วยน้ำร้อนจนค่าความเป็นกรด-ต่างเป็นกลาง นำน้ำมันมะพร้าวตัดแปรที่เตรียมได้ไปพิสูจน์เอกลักษณ์เปรียบเทียบกับน้ำมันมะพร้าว และสารมาตรฐาน ได้แก่ กรดลอริก โมโนลอรีน และไตรลอรีน ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง โดยใช้ hexane: ethyl acetate: acetic acid ในอัตราส่วน 60: 40: 0.5 v/v/v เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ และใช้แผ่น Silica gel F₂₅₄ เป็นวัฏภาคคงที่ โดยทำการตรวจวัดด้วยไอของไอโอดีน

1.2 การเตรียมไมโครอิมัลชันโดยใช้แผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม

ทำการศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมและความเข้ากันได้ขององค์ประกอบโดยใช้น้ำมันมะพร้าวตัดแปรเป็นวัฏภาคน้ำมัน ใช้สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ Cremophor[®] CO-40 (Lot.1925506EO P.C. DRUG center. Co., Ltd., Thailand) , Cremophor[®] RH-4 0 (Lot No.16402924UO P.C. DRUG center. Co., Ltd., Thailand) และ Tween[®] 60 (Lot No.G178174 P.C. DRUG center. Co., Ltd., Thailand) ซึ่งมีค่าเอชแอลบี (14-16) ใกล้เคียงกับน้ำมันมะพร้าวตัดแปร และใช้เอทานอลเป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม และ

ทำการเตรียมโดยอาศัย titration method ในการทำแผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม หลังจากนั้นประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้ ได้แก่ ขนาดอนุภาค ค่าความเป็นกรดต่าง โดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค (nano ZS, Malven, England) และ pH meter (Mettler Toledo seven easy®, Switzerland) ตามลำดับ



รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของน้ำมันมะพร้าวตัดแปร (MCO) และน้ำมันมะพร้าว (VCO) เทียบกับสารมาตรฐาน ได้แก่ โมโนลอรีน (ML) และไตรลอรีน (TL)

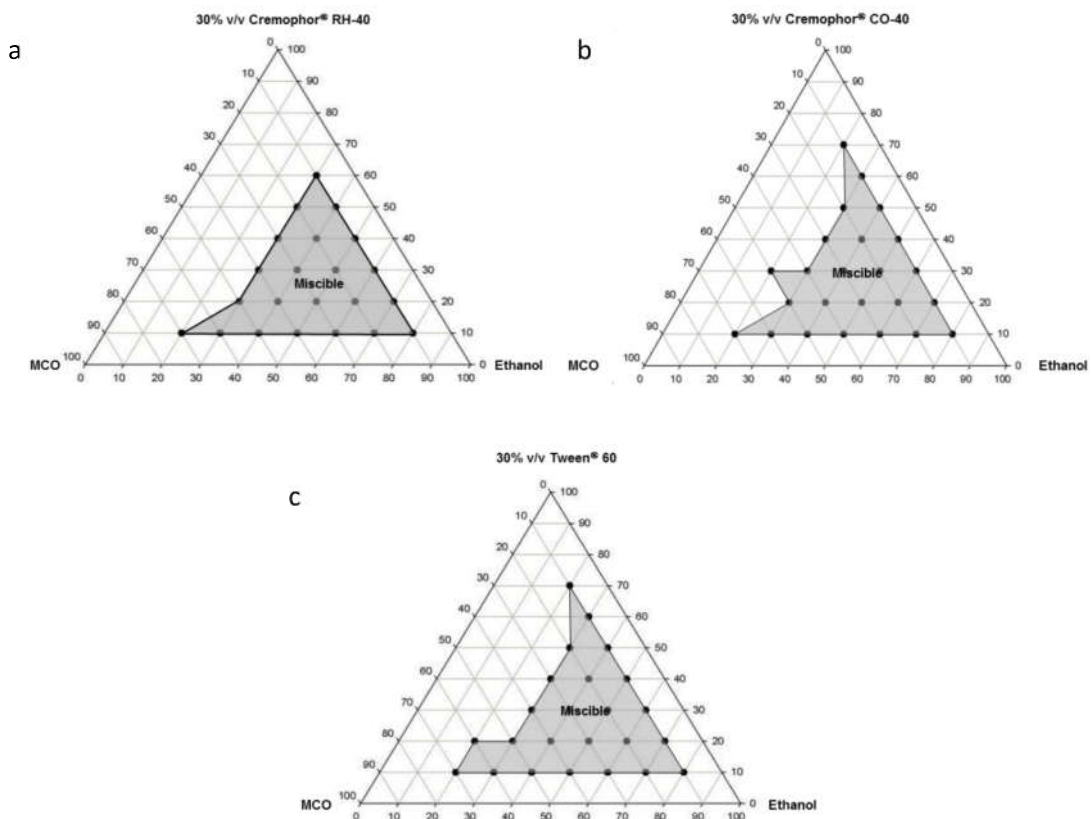
ผลการวิจัยและอภิปรายการวิจัย

จากการศึกษาการเตรียมน้ำมันมะพร้าวตัดแปรผ่านปฏิกิริยาไกลเซอโรไลซิสและทำการทดสอบด้วยโครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง พบว่าปฏิกิริยาไกลเซอโรไลซิสสามารถเตรียมโมโนลอรีนจากน้ำมันมะพร้าวได้เมื่อเทียบกับน้ำมันมะพร้าวก่อนทำปฏิกิริยา ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งปรากฏแถบของน้ำมันมะพร้าวตัดแปร (MCO) ในตำแหน่งเดียวกันกับโมโนลอรีน (ML) โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.25 และ 0.20 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันมะพร้าว (VCO) ปรากฏแถบในตำแหน่งเดียวกันกับไตรลอรีน (TL) แสดงว่าปฏิกิริยาไกลเซอโรไลซิสสามารถเปลี่ยนกรด

ไขมันและไตรกลีเซอไรด์ให้กลายเป็นโมโนกลีเซอไรด์ ได้โดยอาศัยต่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยมีการศึกษา ว่า โมโนกลีเซอไรด์ โดยเฉพาะโมโนลอรีนมี ประสิทธิภาพในการทำละลายเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรม บวก และแกรมลบ ได้ดีกว่ากรดไขมันหรือไตรกลี เซอไรด์ (11, 12)

หลังจากนั้นทำการศึกษาการเตรียมไมโคร อิมัลชันจากน้ำมันมะพร้าวตัดแปร โดยทำการศึกษา ผล ของ สารลดแรงตึงผิว 3 ชนิด ได้แก่ Cremophor® RH-40, Cremophor® CO-40 และ Tween® 60 ที่ความเข้มข้น 30 % v/v ในน้ำ โดย อาศัยแผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม พบว่าสารลด แรงตึงผิวทั้ง 3 ชนิดสามารถเตรียมได้ไมโครอิมัลชัน ที่ใสและสามารถเข้ากันได้ดังแสดงในรูปที่ 2 เมื่อทำ การประเมินค่าความเป็นกรด-ด่างของไมโครอิมัลชัน

จากน้ำมันมะพร้าวตัดแปรที่เตรียมจากสารลดแรงตึง ผิวต่างชนิดกัน พบว่า Cremophor® RH-40, Cremophor® CO-40 และ Tween® 60 มีค่า ความเป็นกรด-ด่างในช่วง 4.91-5.77, 4.45-5.51 และ 3.53-4.95 ตามลำดับ โดยค่าความเป็นกรด- ด่างของไมโครอิมัลชันที่เตรียมจาก Cremophor® RH-40 มีค่าอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับค่าความเป็น กรด-ด่างของผิวหนึ่ง (pH 5.5) มากที่สุด (13) นอกจากนี้ไมโครอิมัลชันจากน้ำมันมะพร้าวตัดแปรที่ เตรียมจาก Cremophor® RH-40 ยังมีขนาด อนุภาคเล็กในช่วงนาโนเมตร (35.94-322.45 นาโน เมตร) ซึ่งเหมาะสำหรับการนำไปพัฒนาต่อเพื่อใช้ เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับต้านเชื้อที่ผิวหนังต่อไป แต่ เนื่องจากองค์ประกอบในการเตรียมไมโครอิมัลชันมี เอทานอลเป็นส่วนประกอบจึงอาจต้องทำการ ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ในอนาคต



รูปที่ 2 แผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียมของไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันมะพร้าวตัดแปร เอทานอล และสารลดแรงตึงผิว 3 ชนิด ได้แก่ a) Cremophor® RH-40, b) Cremophor® CO-40 และ c) Tween® 60

สรุปผลการวิจัย

การเตรียมโมโนลอรีนจากน้ำมันมะพร้าว ภายนอก่างกายสามารถเตรียมได้ผ่านกระบวนการ กลีเซอโรไลซิส และสามารถเตรียมไมโครอิมัลชัน สำหรับใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนึ่งจากน้ำมัน มะพร้าวตัดแปรได้ โดยสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม ที่สุด คือ Cremophor® RH-40 ซึ่งสามารถเตรียมได้ ไมโครอิมัลชันที่ใส มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงนาโน เมตร มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการ นำไปใช้ที่ผิวหนัง โดยสัดส่วนที่เหมาะสมสำหรับการ เตรียมเป็นไมโครอิมัลชันประกอบด้วย น้ำมันมะพร้าว ตัดแปร: Cremophor® RH-40 ความเข้มข้น 30% v/v และเอทานอลซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม อยู่ใน ช่วง 10-90% v/v: 10-60% v/v และ 20-80% v/v ตามลำดับ ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาใน ครั้งนี้น่าจะสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเภสัช ภัณฑ์รูปแบบใหม่จากน้ำมันมะพร้าวที่พบได้มาก

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ตามความมุ่งหมาย ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย สยามที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยและขอขอบคุณคณะ เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรที่ได้เอื้อเพื่อ สถานทีและอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ใน ประเทศไทยต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. ณรงค์ โฉมเฉลา. มหัทศจรยน์น้ำมันมะพร้าว. พิมพ์ ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: องค์การเภสัชกรรม; 2550.
2. ศรีศุภลักษณ์ สิงคาลวณิช. Update management of acne in adolescent.

Thai Pediatric Journal. 2009;16(3):180-7.

3. Chiller K, Selkin BA, Murakawa GJ. Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. *J Invest Derm Symp P*. 2001;6(3):170-4.
4. DebMandal M, Mandal S. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Areaceae): In health promotion and disease prevention. *Asian Pac J Trop Med*. 2011;4(3):241-7.
5. Carpo BG, Verallo-Rowell VM, Kabara J. Novel antibacterial activity of monolaurin compared with conventional antibiotics against organisms from skin infections: an in vitro study. *JDD*. 2007;6(10):991-8.
6. Tangwatcharin P, Khopaibool P. Activity of virgin coconut oil, lauric acid or monolaurin in combination with lactic acid against *Staphylococcus aureus*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2012;43(4):969-85.
7. Kabara JJ, Swieczkowski DM, Conley AJ, Truant JP. Fatty Acids and Derivatives as Antimicrobial Agents. *Antimicrob Agents Chemother*. 1972;2(1):23-8.
8. Enig MG. Coconut: in support of good health in the 21st century. 1999.
9. Bera A, Mandal A. Microemulsions: a novel approach to enhanced oil recovery: a review. *J Pet Explor Prod Technol*. 2015; 5(3):255-68

10. Pengon S., Ponphai boon J., Chaidedgumjorn A, Limmatvapirat C, Srimornsak P, Limmatvapirat S. Comparison of Solvent Miscibility of Coconut Oil and its Modified Forms. *Adv Mat Res.* 2014;1060:151.
11. Altieri C, Bevilacqua A, Cardillo D, Sinigaglia M. Effectiveness of fatty acids and their monoglycerides against gram-negative pathogens. *Int J Food Sci Tech.* 2009;44(2):359-66.
12. Gudmundsdottir B. Effects of medium-chain fatty acids on bacterial growth and biofilm formation. Degree project in biology. 2008:1-20.
13. Lambers H, Piessens S, Bloem A, Pronk H, Finkel P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int J Cosmetic Sci.* 2006;28(5):359-70.