Thesis Title Entrapment of Thai Flower Extracts in Niosomes for Cosmetic Uses

Author Mrs. Bangon Kietthanakorn

Degree Doctor of Philosophy (Pharmacy)

Thesis Advisory Committee Prof. Dr. Aranya Manosroi Advisor
Prof. Dr. Jiradej Manosroi Co-advisor
Prof. Dr. Masahiko Abe Co-advisor

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the potential of the Thai flower extracts loaded in niosomes for cosmetic uses. The extracts from the three medicinal flowers including The flower Bullet Wood *(Mimusops elengi*; ME, Sapotaceae), Cork Tree (*Millingtonia hortensis*; MH, Bignoniaceae) and Cape Gardenia (*Gardenia jasminoides*; GJ, Rubiaceae) by the two non-heated processes were prepared and identified by Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and High Pressure Chromatography (HPLC) The results of their chromatograms and volatile compositions of the hexane extracts were phenyl ethyl alcohol 15.09 %, cinnamyl alcohol 6.76 %, and cinnamic aldehyde 3 % for ME, pentadecane 14.56 %, linalool 13.73 %, n-dodecane 8.46 % for MH and alpha farnesene 15.14 %, tetratriacontane 8.46% and benzyl salicylate 8.56 % for GJ. The chemical constituents of the extracts were γ-linoleic 1.06% w/w and oleic acid 0.54 % w/w in MH, while γ-linoleic 0.07 % w/w in ME and γ-linoleic 0.02 % w/w, oleic acid 0.14 % w/w in GJ. The phytochemical test revealed that ME, MH and GJ contained xanthone and flavone, while GJ and MH also contained carotenoid. The biological activities of the extracts by the supercritical carbon dioxide fluid ($scCO_2$) with the co-solvent (ethanol) at 4, 20, 33 and 50% (w/v) were compared with the extracts prepared by hexane

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

maceration. All extracts by $scCO_2$ gave higher free radical scavenging and skin fibroblast proliferation activities than those by the hexane maceration. The $scCO_2$ extracts of ME, MH, and GJ prepared with 20, 33 and 33% (w/v) ethanol as a co-solvent which showed the high percentage yields and free radical scavenging activity, were selected to investigate for MMP-2 inhibition. The extract of GJ by $scCO_2$ with 33% (w/v) ethanol as a co-solvent demonstrated the highest MMP-2 inhibition activity (43.85 ± 9.61%), high percentage yield (8.78 ± 1.27%w/w), high free radical scavenging activity (SC_{50} at 5.14 ± 0.32 mg/ml) and low toxicity on human skin fibroblast (% cell growth of 68.48 ± 5.95 %). The high MMP-2 inhibition activity of this extract indicated its beneficial to be developed as anti-aging cosmetics. The ME, MH and GJ extracts prepared by supercritical carbon dioxide fluid extraction ($scCO_2$) were loaded in niosomes [composed of Tween 61/cholesterol at 1:1 molar ratio] by the chloroform film method with sonication. The maximum loading concentration of all flower extracts in niosomes was 1% w/v. The niosomes both non-loaded and loaded with the flower extracts showed high physical stability with no change of color and precipitation when kept at various temperatures (4 ± 2, 27 ± 2 and $45\pm2^{O}C$) for 3 months. The ME extract loaded and non-loaded in niosomes exhibited the free radical scavenging (SC_{50}), metal chelating (MC_{50}) and lipid peroxidation inhibition (IPC_{50}) at 9.80 ± 0.85, 32.15 ± 0.34 and 16.69 ± 7.35 mg/ml; 6.82 ± 0.73, 0.46 ± 0.09 and 0.45 ± 0.02 mg/ml, respectively, while the metal chelating activity was not observed in the MH and GJ extracts. When loaded in niosomes, the cytotoxicity of all flower extracts on human skin fibroblast determined by the sulforhodamine B assay was decreased of 1.40-1.70 times. The ME extract loaded in niosomes exhibited higher active MMP-2 inhibition than the non-loaded extracts of 3.4 times. All extracts loaded and non-loaded in niosomes gave no skin irritation in rabbits' skin. For the cost estimation, it indicated that ME niosomes was 292.73 Bath/100 ml, MH niosomes was 250.24 Bath/100ml and GJ niosomes was 295.23 Bath/100ml. The niosomes loaded with all flower extracts especially the ME extract can be applied for the further development of cosmetic products.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การเก็บกักสารสกัดจากดอกไม้ไทยในนีโอโซมเพื่อใช้ทางเครื่องสำอาง
ผู้เขียน	นางบังอร เกียรติธนากร
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศ. ดร. อรัญญา มโนสร้อย อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ศ. ดร. จีรเดช มโนสร้อย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ศ. ดร. มาซาฮิโกะ อาเบะ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากดอกไม้ไทยเก็บกักในนีโอโซมใช้ในเครื่องสำอางได้ เตรียมสารสกัดจากดอกไม้ 3 ชนิด ซึ่งได้แก่ ดอกพิกุล ดอกปีบและดอกพุด ด้วยวิธีไม่ใช้ความร้อน และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย GEMS และ HPLC สารสกัดดอกพิกุลที่สกัดด้วย hexane ประกอบด้วย phenyl ethyl alcohol 15.09%, cinnamyl alcohol 6.76% และ cinnamic aldehyde 3% ดอกปีบที่สกัดด้วย hexane ประกอบด้วย pentadecane 14.56%, linalool 13.73% และ n-dodecane 8.46% ส่วนดอกพุดที่สกัดด้วย hexane ประกอบด้วย alpha farnesene 15.14%, tetratriacontane 14.56% และ benzyl salicylate 8.56% ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยวิธีซุปเปอร์คริติคัลคาร์บอนไดออกไซด์ฟลูอิดพบว่าปีบประกอบด้วย γ-linoleic 1.06% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) oleic acid 0.54% พุดประกอบด้วย γ-linoleic 0.02% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) oleic acid 0.14% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) พิกุลประกอบด้วย γ-linoleic 0.07% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เมื่อทดสอบพฤกษเคมีพบว่าทั้งสามชนิดประกอบด้วย xantone และflavone ส่วนดอกพุดและปีบพบ carotenoid ร่วมด้วย เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่เตรียมด้วยวิธีซุปเปอร์คริติคัลคาร์บอนไดออกไซด์ฟลูอิดที่มีตัวละลายร่วม (เอธานอล) 4, 20, 33 และ 50 % น้ำหนัก/ปริมาตรกับสารสกัดที่เตรียมด้วยการหมักด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เฮกเซน สารสกัดทุกตัวที่เตรียมด้วยวิธีซุปเปอร์คริติคัลคาร์บอนไดออกไซด์ฟลูอิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากผิวหนังมนุษย์ได้ดีกว่าสารสกัดที่เตรียมด้วยวิธีการหมักด้วยเฮกเซน ได้เลือกสารสกัดจากดอกพิกุล ดอกปีบและดอกพุดที่เตรียมด้วยวิธีซุปเปอร์คริติคัลคาร์บอนไดออกไซด์ฟลูอิดที่มี 20, 33 และ 50 % น้ำหนัก/ปริมาตรเอธานอลเป็นตัวละลายร่วมมาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ MMP-2 เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง สารสกัดจากดอกพุดที่เตรียมด้วยวิธีซุปเปอร์คริติคัลคาร์บอนไดออกไซด์ฟลูอิดที่มี 33% น้ำหนัก/ปริมาตรเอธานอลเป็นตัวละลายร่วมมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ MMP-2 สูงสุด (43.85 ± 9.61%) มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูง (8.78 ± 1.27%) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง (SC_{50} เท่ากับ 5.14 ± 0.32 มก./มล.) และมีพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากผิวหนังมนุษย์ต่ำ (เปอร์เซ็นต์การเจริญเท่ากับ 68.48 ± 5.95%) ดังนั้น สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ MMP-2 สูงจะมีประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาเครื่องสำอางชะลอความแก่ ได้นำสารสกัดจากดอกพิกุล ดอกปีบและดอกพุดที่เตรียมด้วยวิธีซุปเปอร์คริติคัลคาร์บอนไดออกไซด์ฟลูอิดเก็บกักในนีโอโซม [ประกอบด้วยทวีน 61/คอเลสเตอรอลที่อัตราส่วนโมลาร์ 1:1] ด้วยวิธีการระเหยแห้งคลอโรฟอร์มจนเป็นฟิล์มร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถถูกเก็บกักในนีโอโซมของสารสกัดจากดอกไม้ทุกชนิดมีค่าเท่ากับ 1 % น้ำหนัก/ปริมาตร นีโอโซมเปล่าและนีโอโซมที่เก็บกักสารสกัดจากดอกไม้มีความคงตัวทางกายภาพโดยไม่เปลี่ยนสีและไม่ตกตะกอนเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ (4 ± 2, 27 ± 2 และ 45 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 3 เดือน สารสกัดจากดอกพิกุลที่เก็บกักและไม่เก็บกักในนีโอโซมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (SC_{50}) จับโลหะหนัก (MC_{50}) และยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (IPC_{50}) เท่ากับ 9.80 ± 0.85, 32.15 ± 0.34 และ 16.69 ± 7.35 มก./มล.; 6.82 ± 0.73, 0.46 ± 0.09 และ 0.45 ± 0.02 มก./มล. ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากดอกปีบและดอกพุดไม่มีฤทธิ์จับโลหะหนัก ความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากผิวหนังของสารสกัดจากดอกไม้ลดลง 1.40-1.70 เท่าหลังจากเก็บกักในนีโอโซมเมื่อทดสอบด้วยการย้อมสีซัลโฟโรดามีนบี สารสกัดจากดอกพิกุลที่เก็บกักในนีโอโซมมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ MMP-2 สูงกว่าสารสกัดจากดอกพิกุลที่ไม่ได้เก็บกัก 3.4 เท่า สารสกัดดอกไม้ทุกตัวทั้งที่เก็บกักและไม่เก็บกักในนีโอโซมไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองบนผิวหนังกระต่าย จากการประเมินต้นทุนการผลิตพบว่านีโอโซมดอกพิกุล ราคา 292.73 บาท/ 100 มล. นีโอโซมปีบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ราคา 250.24 บาท/100มล. และนีโอโซมดอกพุด ราคา 295.23 บาท/100 มล. ดังนั้น จะสามารถนำนีโอโซมที่เก็บกักสารสกัดจากดอกไม้ทุกชนิดโดยเฉพาะดอกพิกุลไปประยุกต์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved