

Thesis Title	Development of Nanostructured Lipid Carriers Loading Marigold Flower Extract for Anti-wrinkle Cosmeceuticals		
Author	Miss Achariya Jiraapiwattana		
Degree	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)		
Thesis Advisory Committee			
	Assoc.Prof. Pimporn	Leelapornpisid	Advisor
	Assoc.Prof. Suwanna	Vejabhikul	Co-advisor
	Asst.Prof. Dr. Sunee	Chansakaow	Co-advisor

ABSTRACT

At the present time, lipid nanoparticles have been studied more and more in topical drug and cosmeceutical application. In this research, Marigold flower (*Tagetes erecta* L.) extracts (ethyl acetate extract (E) and semi-purified extract (F9)), which presented the high antioxidant activity (DPPH method), were studied for antiglycation activity. The results showed that Marigold flower extracts presented higher antiglycation activity than aminoguanidine about 37 fold. Then the Marigold extracts were incorporated into Nanostructured lipid carriers (NLC). To obtain anti-wrinkle nano-cosmeceutical products, the Marigold flower extract loaded NLC was incorporated into cream base. The most suitable NLC formulation was prepared

from behenyl alcohol, PEG-7 glyceryl cocoate and stabilized by cetareth-6 (and) stearyl alcohol and polyoxyl 40 hydrogenated castor oil. The Marigold flower extracts loaded NLC (E-NLC and F9-NLC) showed good physical stability after 90 days of storage at 4°C, room temperature (RT), 45°C and at the end of 6 heating-cooling cyclings. After preparation, the particle size of Marigold flower extracts loaded NLC were in range of 133.80 to 191.17 nm., polydispersity index (PDI) 0.16 to 0.26 and zeta potential -20.80 to -24.44 mV. Their transmission electron microscope (TEM) image found to be spherical, no crystal and no aggregation. From HPLC analysis, NLC could protect the degradation of active ingredient for long term stability (90 days) at 4°C and RT. The entrapment efficiency was higher than 70% in all cases. Moreover, the incorporation of E or F9 into NLC could increase the antioxidant and antiglycation stability. Therefore, cream containing loaded-NLC was prepared, the obtained loaded-NLC-cream showed good physical stability after 90 days of storage at 4°C, RT, 45°C and at the end of 6 heating-cooling cyclings. According to their stability on biological activities, the antioxidant activity of extract-loaded NLC cream decreased at the high temperature. This result was corresponding to antiglycation activity of E-NLC-cream. But, the antiglycation activity of F9-NLC-cream didn't decrease between test periods in all conditions. Using Franz cells, the release studies demonstrated that NLC could enhance the active release profile. All of NLC formulations exhibited no skin irritation tested both of rabbits and healthy volunteers. The skin hydration, skin elasticity and the wrinkle reducing capacity of loaded-NLC creams were also evaluated in 30 volunteers using corneometer[®], cutometer MPA580[®] and skin visiometer[®] SV 600 FW, respectively. After 8 weeks of twice daily applications, the both of E-NLC-cream and F9-NLC-cream showed the

increasing of skin hydration and skin elasticity as well as significantly wrinkle reducing capacity compared with before treatment ($p<0.05$). All the volunteers satisfied to all tested creams in good level of acceptances. The results from this study indicated that NLC was the suitable delivery system for loaded Marigold flower extract which could be used safely as anti-wrinkle cosmeceuticals.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาอนุภาคไขมันระดับนาโนที่บรรจุสารสกัดดอกดาวเรืองเพื่อใช้ในเครื่องสำอางลดริ้วรอย	
ผู้เขียน	นางสาว อัจฉริยา จิรอภิวัฒนา	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรเกสัชกรรม)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์		
	รศ. พิมพ์	ลีลาพรพิสิฐ
	รศ. สุวรรณ	เวชอภิกุล
	ผศ. ดร. สุนีย์	จันทร์สกล
		อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
		อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
		อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

อนุภาคไขมันระดับนาโนเป็นระบบการนำส่งยา ซึ่งมีการศึกษากันอย่างแพร่หลายมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับยาทาเฉพาะที่ทางผิวหนังและเวชสำอาง ในการศึกษาได้นำเอ สารสกัดจากดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) (สารสกัดเอทิลอะซีเตต (E) และสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ (F9)) ซึ่งได้ศึกษาแล้วว่ามียฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี (วิธี ดีพีพีเอช) มาศึกษาฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาไกลเคชันพบว่า สารสกัดดอกดาวเรืองมียฤทธิ์ที่ดีกว่าอะมิโนกัวนิดีนถึง 37 เท่า จึงนำ สารสกัดดอกดาวเรืองมากักเก็บในอนุภาคไขมันระดับนาโน (Nanstructured lipid carriers: NLC) และนำไปผสมในตำรับครีมพื้น เพื่อเตรียมเป็นเวชสำอางนาโนสำหรับลดเลือนริ้วรอย โดยตำรับ NLC ที่เหมาะสมที่ใช้บรรจุสารสกัดดอกดาวเรืองประกอบด้วย บีฮีนิล แอลกอฮอล์ ฟิอีจี-7 กลีเซอรอลโคโคเอจ โดยมีเซทเทียเรท-6 (และ) สเตียริล แอลกอฮอล์ และโพลิออกซิล 40 ไฮโดรจีเนท เต็ด คาสเตอร์ ออยล์ เป็นสารเพิ่มความคงตัว ซึ่งตำรับ NLC ที่กักเก็บสารสกัดดาวเรืองมีความคงตัวทางกายภาพที่สภาวะร้อนสลับเย็นจำนวน 6 รอบ และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน หลังจากวันแรกที่เตรียม ตำรับมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 133.80 ถึง 191.17 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 0.16 ถึง 0.26 และมีค่า

ความต่างศักย์ที่ผิวอยู่ในช่วง -20.80 ถึง -24.44 มิลลิโวลต์ เมื่อคุณลักษณะอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าอนุภาคมีลักษณะกลม ไม่มีผลึก และไม่เกาะกลุ่มกัน เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพบว่า NLC ที่บรรจุสารสกัดดอกดาวเรืองมีความคงตัวทางเคมีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิห้อง อีกทั้งยังสามารถกักเก็บสารสำคัญ (%Entrapment efficiency) ได้มากกว่า 70% นอกจากนี้ NLC ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านไกลโคชั่นของสารสกัดมีความคงตัว ดังนั้นจึงนำอนุภาค NLC ที่กักเก็บสารสกัด E และ F9 ผสมในครีมพื้น พบว่าครีมที่ผสมอนุภาคนาโนที่กักเก็บสารสกัดดอกดาวเรืองที่มีความคงตัวดีทางกายภาพที่สภาวะร้อนสลับเย็นจำนวน 6 รอบ และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน ครีมที่ผสมอนุภาคนาโนที่กักเก็บสารสกัดดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่อเก็บที่อุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านไกลโคชั่นในครีม E-NLC ส่วนฤทธิ์ต้านไกลโคชั่นในครีม F9-NLC ไม่ลดลงในทุกสภาวะการเก็บ การทดสอบการปลดปล่อยโดยใช้ฟรานซ์เซลล์ (Franz cells) พบว่าอนุภาคนาโนเพิ่มการปลดปล่อยสารสำคัญได้ดีขึ้น นอกจากนี้ครีม NLC ที่กักเก็บสารสกัดและครีมที่ผสม NLC ที่กักเก็บสารสกัดไม่ระคายเคืองในกระต่ายและในมนุษย์ จึงได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของครีมในการเพิ่มความชุ่มชื้น ความยืดหยุ่น และการลดริ้วรอยของผิวหนัง โดยใช้เครื่อง Corneometer® Cutometer MPA 580® และ Skin visiometer® SV 600 FW ตามลำดับ ในอาสาสมัครจำนวน 30 คน หลังจากใช้ผลิตภัณฑ์วันละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลาต่อเนื่อง 8 สัปดาห์ พบว่าครีมที่ผสม NLC ซึ่งกักเก็บสารสกัดนั้นช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นของผิวหนัง รวมทั้งสามารถลดริ้วรอยได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนใช้ อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับที่ดีต่อครีมที่ศึกษา จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า NLC เป็นระบบนำส่งที่เหมาะสมสำหรับสารสกัดจากดอกดาวเรือง ซึ่งสามารถนำไปใช้ได้อย่างปลอดภัยในผลิตภัณฑ์เวชสำอางเพื่อลดเลือนริ้วรอย