

Thesis Title Development of Nanostructured Lipid Carriers Loading Marigold Flower Extract for Anti-winkle Cosmeceuticals

Author Miss Achariya Jiraapiwattana

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

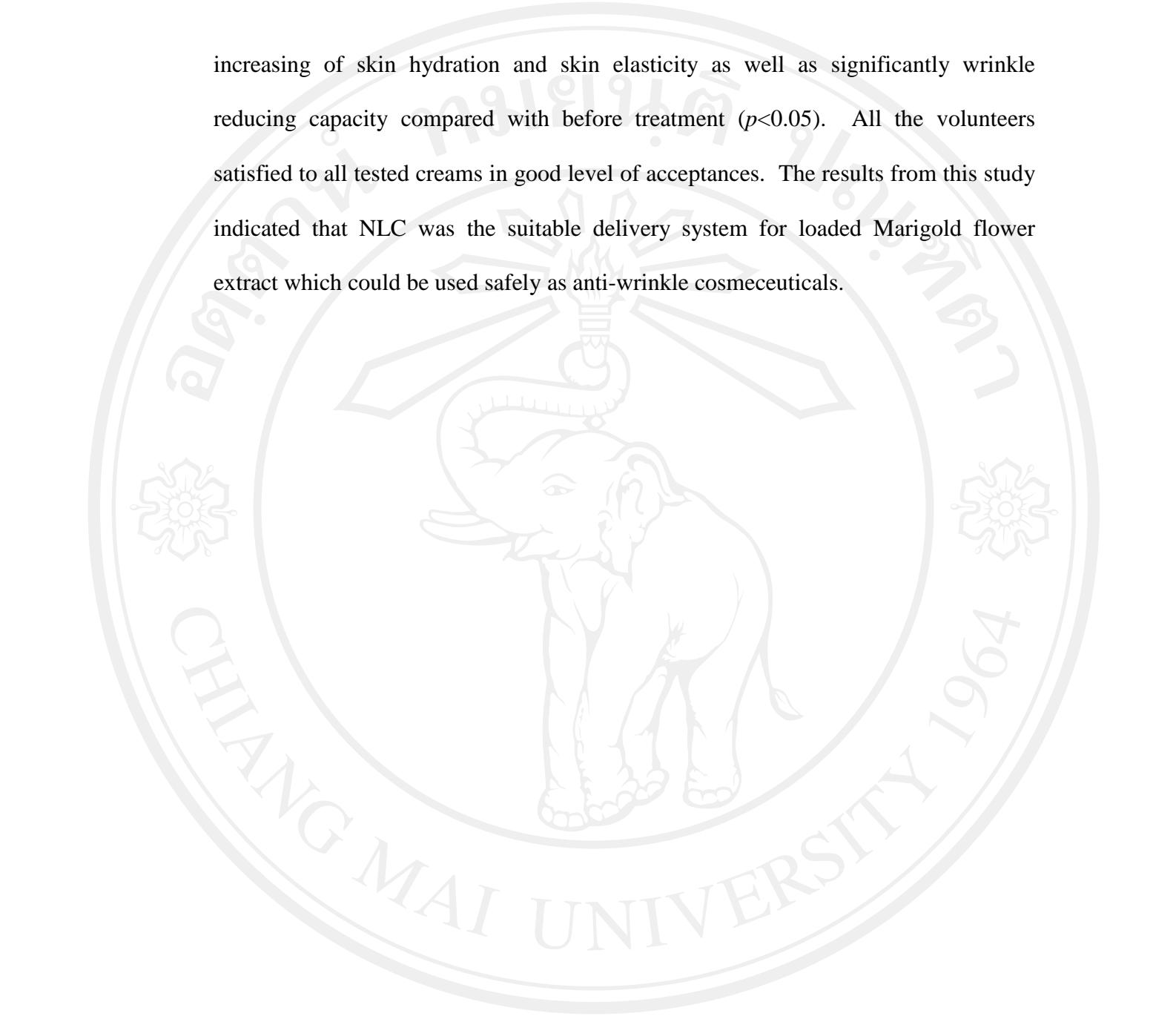
Assoc.Prof. Pimporn Leelapornpisid	Advisor
Assoc.Prof. Suwanna Vejabhikul	Co-advisor
Asst.Prof. Dr. Sunee Chansakaow	Co-advisor

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-winkle 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 ceteareth-6 (and) steary 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.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาอนุภาคไบมั่นระดับนาโนที่บรรจุสารสกัดดอกดาวเรืองเพื่อใช้ในเครื่องสำอางลดริ้วรอย		
ผู้เขียน	นางสาว อัจฉริยา จิรอภิวัฒนา		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เกสัชกรรม)		
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์			
	รศ. พิมพร ลีลาพรพิสิฐ	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	
	รศ. สุวรรณ เวชภักดิล	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	
	ผศ. ดร. สุนีย์ จันทร์สกาว	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	

บทคัดย่อ

อนุภาคไบมั่นระดับนาโนเป็นระบบการนำส่งยา ซึ่งมีการศึกษากันอย่างแพร่หลายมาก ยิ่งขึ้น โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับยาทางพยาบาลที่ทางผิวนังและเวชสำอาง ในการศึกษานี้ได้นำเอาสารสกัดจากดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) (สารสกัดเอทิลอะซีเตต (E) และสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ (F9)) ซึ่งได้ศึกษาแล้วว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี (วีธี ดีพีพีเอช) มาศึกษาฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาไกลเคชั่นพบว่า สารสกัดดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ที่ดีกว่าอะมิโนกัวนิดีนถึง 37 เท่า จึงนำสารสกัดดอกดาวเรืองมา กัดเก็บในอนุภาคไบมั่นระดับนาโน (Nanostructured lipid carriers: NLC) และนำไปผสมในตั่มรับคริมพื้น เพื่อเตรียมเป็นเวชสำอางนาโนสำหรับลดเลือนริ้วรอย โดยตั่มรับ NLC ที่เหมาะสมที่ใช้บรรจุสารสกัดดอกดาวเรืองประกอบด้วย บีชินิล แอลกอฮอล์ พีอีจี-7 กลีเซอริล โคโคลอเจน โดยมีเซทเทียเรท-6 (และ) สเตียริล แอลกอฮอล์ และโพลีออยซิล 40 ไฮโดรเจนท เต็ด คาสเตอร์ ออยล์ เป็นสารเพิ่มความคงตัว ซึ่งตั่มรับ NLC ที่ กัดเก็บสารสกัดดาวเรืองมีความคงตัวทางกายภาพที่สภาวะร้อนสลับเย็นจำนวน 6 รอบ และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน หลังจากวันแรกที่เตรียม ตั่มรับมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 133.80 ถึง 191.17 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 0.16 ถึง 0.26 และมีค่า

ความต่างศักย์ที่ผิวอยู่ในช่วง -20.80 ถึง -24.44 มิลลิโวลต์ เมื่อคุณภาพอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าอนุภาคมีลักษณะกลม ไม่มีผลึก และไม่เกาะกัน เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องโคมไฟของเหลวสมรรถนะสูงพบว่า NLC ที่บรรจุสารสกัดดอกดาวเรืองมีความคงตัวทางเคมีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิห้อง อีกทั้งยังสามารถยกกัน เก็บสารสำคัญ (%Entrapment efficiency) ได้มากกว่า 70% นอกจากนี้ NLC ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านไกโคลเช่นของสารสกัดมีความคงตัว ดังนั้นจึงนำอนุภาค NLC ที่กักเก็บสารสกัด E และ F9 ผสมในครีมพื้น พบว่าครีมที่ผสมอนุภาคนานาโนที่กักเก็บสารสกัดดอกดาวเรืองที่มีความคงตัวดีทางกายภาพที่สภาวะร้อนสลับเย็นจำนวน 6 รอบ และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน ครีมที่ผสมอนุภาคนานาโนที่กักเก็บสารสกัดดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่อเก็บที่อุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านไกโคลเช่นในครีม E-NLC ส่วนฤทธิ์ต้านไกโคลเช่นในครีม F9-NLC ไม่ลดลงในทุกสภาวะการเก็บ การทดสอบการปลดปล่อยโดยใช้ฟرانซ์เซลล์ (Franz cells) พบว่าอนุภาคนานาโนเพิ่มการปลดปล่อยสารสำคัญได้ดีขึ้น นอกจากนี้ตัวรับ NLC ที่กักเก็บสารสกัดและครีมที่ผสม NLC ที่กักเก็บสารสกัดไม่ระคายเคืองในกระต่ายและในมนุษย์ จึงได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของครีมในการเพิ่มความชุ่มชื้น ความยืดหยุ่น และการลดครีร้อยของผิวหนัง โดยใช้เครื่อง Corneometer® Cutometer MPA 580® และ Skin visiometer® SV 600 FW ตามลำดับ ในอาสาสมัครจำนวน 30 คน หลังจากใช้ผลิตภัณฑ์วันละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลาต่อเนื่อง 8 สัปดาห์ พบว่าครีมที่ผสม NLC ซึ่งกักเก็บสารสกัดนั้นช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นของผิวหนัง รวมทั้งสามารถลดครีร้อยได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนใช้ อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับที่ดีต่อตัวรับครีมที่ศึกษา จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า NLC เป็นระบบนำส่งที่เหมาะสมสำหรับสารสกัดจากดอกดาวเรือง ซึ่งสามารถนำไปใช้ได้อย่างปลอดภัยในผลิตภัณฑ์เวชสำอางเพื่อลดเลือนริ้วรอย