

Thesis Title	Development of Niosomes Entrapped with Extracts from Native Thai Silk (<i>Bombyx mori</i>) as Anti-wrinkle Cosmetic Products	
Author	Ms. Supanida Winitchai	
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 aim of this research was to develop an anti wrinkle serum containing niosomes entrapped with sericin and oil from native Thai silkworms (*Bombyx mori*). Sericin and oil were extracted from five native Thai silkworms, Keaw Sakon, Nang noi Srisaket, Sam Rong, Nang Luang and None Ruesee. The yields of oils from the five native Thai silkworms by Soxhlet and maceration methods were 24-29% and 5-7%, respectively. Oils extracted from None Ruesee by the Soxhlet method, and oils extracted from Nang Leung, Sam Rong, and None Ruesee by the maceration method showed free radical scavenging activity. Oil extracted from None Ruesee by the maceration method gave the highest free radical scavenging activity. Moreover, oil extracted by the Soxhlet extraction from None Ruesee gave the highest tyrosinase inhibition activity, but lower than that of the standard vitamin C and kojic acid. The silkworm pupae oil obtained from Soxhlet extraction had unsaturated fatty acid content in the range of 72-79 %, and alpha - linolenic acid content in the range of 32-44 %, whereas that obtained from the maceration extraction had the unsaturated fatty acid contents in the range of 75-80%, and alpha-linolenic acid contents in the range of

40-46 %. The yields of sericin obtained by alkaline (0.5 N Na₂CO₃) and autoclave method (at 121°C, three hours) were in the range of 22.57-28.34 and 28.93-35.20 %, respectively. Sericin extracted from Nangnoi Srisaket by alkaline and autoclave method gave the highest sericin contents. Sericin extracted from None Ruesee and Nang Luang by alkaline gave the highest tyrosinase inhibition activity (IC₅₀= 1.20 and 2.22 mg/ml). Sericin extracted from Nang Luang and Sam Rong by autoclave method exhibited the highest free radical scavenging activity (SC₅₀= 13.65 and 15.45 mg/ml). The percentages of the protein contents were determined by the Lowry method. The average percentages of protein contents by autoclave and alkaline methods were in the range of 20.10-25.74 and 16.52-20.19 %, respectively. Different silk varieties contain distinct sericin with various amino acid compositions, which were significantly influenced by the extraction method used. Then, oil and sericin of None Ruesee strain silkworm were entrapped in the blank niosomes composed of Tween 61 and cholesterol at 1:1 molar ratio which was prepared by the chloroform film with sonication method. The blank niosomes were physical stable with uniform size and no sedimentation. The maximum loading of the sericin and oil in niosome was 1 and 1 % w/v. The niosomes were stable for 8 weeks. The average particle size of niosomes by zetasizer analyzer was 92-800 nm. The morphology of the prepared niosomes was in the mixture of unilamellar and multilamellar vesicles (MLVs), and large unilamellar vesicles (LUVs). The oil and sericin entrapped in niosomes gave lower free radical scavenging and tyrosinase inhibition activity than the entrapped oil and sericin. The compositions of the developed anti-wrinkle serum were 0.15 Carbopo[®] Ultrez 21 polymer, 1.5 C₁₄₋₂₂ alkyl alcohol and C₁₂₋₂₀ alkylglucoside, 1.6 cyclopentasiloxane, dimethiconol, dimethicone crosspolymer (and) blend, 1 sodium polyacrylate (and) dimethicone (and) cyclopentasiloxane (and) trideceth-6 (and) PEG/PPG -18/18 dimethicone, 6 niosome (containing 1% w/w sericin and 1% w/w oil of None Ruesee silkworm), 0.6 Naomi and light yellow color. The characteristics of the serum had the viscosity of 14,500 cP, pH 6.97, light yellow color with L* a* b* value of 75.57, 0.54, 28.19 with no phase separation. The total plate counts of bacteria and yeast/mold were less than 10 colony/g. The *in vivo* tests in human volunteers showed that this serum gave superior skin hydration determined by transepidermal water loss, and improved the skin elasticity significant after the 8-week treatment. The estimated cost of the

developed serum was 859 baht/bottle (50g).The serum was physically stable during the 8-week storage at room temperature (30 °C), 35 and 45°C. For the consumer test, it showed that 85.4 % of the volunteers accepted the product and 86.58 % of the volunteers interested in buying this developed product. The overall satisfaction of the volunteers on the product was moderate. The developed anti-wrinkle product from this study can be further continued for commercialization.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การพัฒนาน้ำมันโอโซมที่เก็บกักสารสกัดจาก

ไหมพันธุ์พื้นบ้าน (*Bombyx mori*) เพื่อเป็น

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต้านริ้วรอย

ผู้เขียน

นางสาวสุพินดา วินิจฉัย

ปริญญา

วิทยาศาสตร์คหกรรมบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก

ศ. ดร. อรัญญา มโนสร้อย

อาจารย์ที่ปรึกษา

ศ. ดร. จีระเดช มโนสร้อย

อาจารย์ที่

ปรึกษาร่วม

ศ. ดร. มาชาธิโกะ อาเบะ

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาน้ำมันโอโซมที่กักเก็บเซริซินและน้ำมันสกัดจากไหมพันธุ์พื้นบ้าน เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต้านริ้วรอย ได้คัดเลือกไหมพันธุ์ไทยพื้นเมือง 5 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่ เขียวสกล นางน้อยศรีสะเกษ ลำโรง นางเหลือง และโนนฤาษี แล้วนำมาสกัดเซริซินและน้ำมันสกัด ผลผลิตของน้ำมันดักแค้ไหมทั้ง 5 สายพันธุ์ จากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet และ maceration อยู่ในช่วงร้อยละ 24-29 และ 4-7 ตามลำดับ น้ำมันดักแค้จากไหมพันธุ์โนนฤาษี จากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet และน้ำมันดักแค้ไหมพันธุ์นางเหลือง ลำ ix โนนฤาษี จากการสกัดด้วยวิธี maceration มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยน้ำมันจากดักแค้ไหมพันธุ์โนนฤาษีจากการสกัดด้วยวิธี maceration มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันจากดักแค้ไหมพันธุ์อื่นๆ น้ำมันดักแค้ไหมพันธุ์โนนฤาษีจากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ดีที่สุดในแง่ยังต่ำกว่าสารมาตรฐานวิตามินซีและกรดโคจิก มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่ร้อยละ 72-79 และแอลฟาไลโนเลนิกร้อยละ 32-44 จากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet ในขณะที่วิธีการสกัด maceration ให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 75-80 และแอลฟาไลโนเลนิกร้อยละ 40-46 ร้อยละผลผลิตของเซริซินไหมจากการสกัดโดยใช้โซเดียมคาร์บอเนต (0.05 N Na₂CO₃) และใช้การนึ่งด้วยไอน้ำแรงดันสูง (มิลลิเมตรปรอท) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 (ปอนด์ต่อตารางนิ้ว)

ระยะเวลา 3 ชั่วโมง อยู่ในช่วงร้อยละ 22.57-28.34 และ 28.93-35.20 ตามลำดับ เซริซินจากไหมพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษจากการสกัดโดยใช้โซเดียมคาร์บอเนตและใช้การนึ่งด้วยไอน้ำแรงดันสูงให้ผลผลิตสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับเซริซินจากไหมพันธุ์อื่นๆ เซริซินจากไหมพันธุ์โนนธานี และนางเหลืองจากการสกัดด้วยโซเดียมคาร์บอเนต มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ($IC_{50}=1.20$ และ 2.22 มก./มล) ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับไหมพันธุ์อื่น ในขณะที่เซริซินจากไหมพันธุ์นางเหลืองและลำโรงจากการสกัดโดยใช้การนึ่งด้วยไอน้ำแรงดันสูงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ($SC_{50}=13.65$ และ 15.49 มก./มล) ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไหมพันธุ์อื่น ในการวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโปรตีนด้วยวิธี Lowry จากการสกัดด้วยการนึ่งด้วยไอน้ำแรงดันสูงและโซเดียมคาร์บอเนตให้ปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 20.10-25.74 และ 16.52-20.19 ตามลำดับ ปริมาณเซริซินที่เป็นองค์ประกอบในกรดอะมิโนจากไหมพันธุ์ที่แตกต่างกันมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญจากการใช้วิธีการสกัดที่ต่างกัน ได้คัดเลือกน้ำมันดักแด้ไหมและเซริซินรังไหมจากพันธุ์โนนธานีมาสกัดด้วยวิธี maceration และด่างโซเดียมคาร์บอเนต ตามลำดับ เพื่อนำมาเก็บกักในนีโอโซม นีโอโซมเปล่าประกอบด้วยทวิน 61 ผสมคอเลสเตอรอล ในอัตราส่วนโมลาร์ 1:1 จากการเตรียมโดยวิธี chloroform film ร่วมกับการใช้คลื่นความถี่สูง พบว่าให้ความคงตัวทางกายภาพ มีขนาดอนุภาคสม่ำเสมอ และไม่ตกตะกอน นีโอโซมสามารถเก็บกักน้ำมันและเซริซินในปริมาณสูงสุดร้อยละ 1 และ 1 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ นีโอโซมที่ได้มีความคงตัวดี เมื่อเก็บเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีขนาดอนุภาคที่วัดด้วย Zetasizer analyzer อยู่ในช่วง 92-800 นาโนเมตร นีโอโซมที่ได้มีลักษณะเป็นอนุภาคผนังสองชั้นซุดเดียวจำนวนหลายซุด ผสมกับอนุภาคผนังสองชั้นซุดเดี่ยวขนาดใหญ่ พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging metal chelating และ tyrosinase inhibition) ของนีโอโซมที่เก็บกักน้ำมันดักแด้ไหมและเซริซินมีค่าน้อยกว่าสารสกัดที่ไม่ได้เก็บกักในนีโอโซม ได้พัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์เซรัมที่มีส่วนผสมของนีโอโซมที่เก็บกักเซริซิน และน้ำมันดักแด้ไหมไทยพันธุ์พื้นบ้านที่ประกอบด้วย 0.15 Carbopol® Ultrez 21 polymer, 1.5 C₁₄₋₂₂ alkylalcohol and C₁₂₋₂₀ alkylglucoside, 1.6 cyclopentasiloxane, dimethiconol, dimethicone crosspolymer (and) blend, 1 sodium Polyacrylate (and) dimethicone (and) cyclopentasiloxane (and) trideceth-6 (and) PEG/PPG -18/18 dimethicone, 6 niosome, (เซริซิน 1 น้ำมันดักแด้ไหม 1% w/v จากไหมพันธุ์โนนธานี), 0.6 กลิ่น Naomi และให้สีเหลืองนวล คุณลักษณะของเซรัมลดริ้วรอยที่พัฒนาได้มีความหนืดเท่ากับ 14,500 cP ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.97 มีสีเหลืองเข้มออกน้ำตาลในระบบ L* a* b* เท่ากับ 75.57, 0.54 และ 28.19 ตามลำดับ มีความคงตัวดีไม่แยกชั้น มีจำนวนแบคทีเรีย ยีสต์ และ ราทั้งหมดน้อยกว่า 10 โคลโลนีต่อกรัม เมื่อทดสอบในอาสาสมัครพบว่าเซรัมที่พัฒนาได้มีความสามารถในการเก็บกักน้ำไว้ที่ผิว และช่วยปรับความยืดหยุ่นของ

ผิวหนังให้ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการใช้ 8 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนใช้ ต้นทุนการพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มลดริ้วรอย ต่อ 1 หน่วย (50 กรัม / 1 หลอด) มีราคาคาดคะเนประมาณ 2963.23 บาท เซรั่มลดริ้วรอยที่ได้มีความคงตัวในระหว่างการเก็บนาน 8 สัปดาห์ ที่สภาวะอุณหภูมิห้อง (30 °C) ในสภาวะอุณหภูมิ 35 และ 45 °C สำหรับการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคพบว่าร้อยละ 85.40 ของอาสาสมัครยอมรับผลิตภัณฑ์ และร้อยละ 86.58 ของอาสาสมัครสนใจที่จะซื้อผลิตภัณฑ์ คะแนนความชอบของอาสาสมัครที่มีต่อผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับปานกลาง จะสามารถนำผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้จากการศึกษานี้ไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ต่อไป