

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการวิจัยครั้งนี้เพื่อวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมสำหรับบำรุงผิวหน้าจากชาเมี่ยง และผักข่า โดยการนำเอาพืชท้องถิ่นบนพื้นที่สูง ได้แก่ ใบชาเมี่ยงและผลผักข่ามาเตรียมผลิตภัณฑ์เวชสำอาง นำใบเมี่ยงหมักมาสกัดโดยการหมักด้วยเมทานอล กรองเอาสารสกัดที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกและนำไปแยก fraction ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระเหยตัวทำละลายออกอีกครั้ง ได้สารสกัดคาเทชิน เป็นผงหยาบสีน้ำตาลแดง 8.21% ของใบเมี่ยงหมัก ส่วนผักข่า สกัดโดยนำเชื้อหุ้มเมล็ดผักข่ามาอบแห้ง และสกัดโดยการหมักด้วยเฮกเซน กรองเอาสารสกัดที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก ได้สารสกัดผักข่า เป็นของเหลวหนืดสีแสดส้มเข้ม 17.58% ของเชื้อผักข่าอบแห้ง นำสารสกัดที่ได้ทั้งสองไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลไนตริกออกไซด์และซูเปอร์ออกไซด์ ทดสอบประสิทธิภาพการลดเลือนริ้วรอย (anti-wrinkle) ด้วยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) หรือ collagenase-1 และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่า สารสกัดคาเทชินมีสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม 525.31 ± 0.34 และ $417.37 \pm 0.82 \mu\text{g}/\text{mg}$ ตามลำดับ สารสกัดผักข่ามีสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม 154.12 ± 3.35 และ $56.68 \pm 1.33 \mu\text{g}/\text{mg}$ ตามลำดับ จากการทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลไนตริกออกไซด์และซูเปอร์ออกไซด์ในหลอดทดลองพบว่า ความเข้มข้นสารสกัดคาเทชินที่สามารถขจัดอนุมูลไนตริกออกไซด์และซูเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 50 เท่ากับ 36.52 ± 0.56 และ $24.29 \pm 0.42 \mu\text{g}/\text{mL}$ ตามลำดับ ความเข้มข้นสารสกัดผักข่าที่สามารถขจัดอนุมูลไนตริกออกไซด์และซูเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 50 เท่ากับ 69.25 ± 1.32 และ $78.10 \pm 1.27 \mu\text{g}/\text{mL}$ ตามลำดับ สารสกัดคาเทชินมีค่า IC_{50} ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์ MMP-1 เท่ากับ 39.25 ± 0.97 และ $35.36 \pm 0.63 \mu\text{g}/\text{mL}$ ตามลำดับ สารสกัดผักข่ามีค่า IC_{50} ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์ MMP-1 เท่ากับ 75.64 ± 1.52 และ $43.27 \pm 1.16 \mu\text{g}/\text{mL}$ ตามลำดับ สารสกัดคาเทชินให้ผลการทดสอบที่ดีกว่าสารสกัดผักข่าทั้งสี่การทดสอบ

นำสารสกัดทั้งสองมาเตรียมเสริมในรูปแบบเจล ได้เสริมสีสัมผัสอ่อนของสารสกัดคาเทชิน ที่มีเนื้อเนียน กลิ่นหอม มีความเป็นกรดค่า 5.52 และเสริมสีเหลืองอ่อนของสารสกัดผักข่า ที่มีเนื้อเนียน กลิ่นหอม มีความเป็นกรดค่า 5.45 นำเสริมทั้งสองไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์ MMP-1 พบว่าเสริมสารสกัดคาเทชินสูตร CS-3 และ เสริมสารสกัดผักข่าสูตร FS-2 มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์ MMP-1 ดีกว่าตัวรับอื่นๆ เสริมสารสกัดคาเทชินสูตร CS-3 มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์ MMP-1 โดยมีค่า % Inhibition เท่ากับ 64.48 ± 3.47 และ 69.37 ± 2.84 ตามลำดับ เสริมสารสกัดผักข่าสูตร FS-2 มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์ MMP-1 โดยมีค่า % Inhibition เท่ากับ 47.52 ± 3.75 และ 60.48 ± 3.24 ตามลำดับ

เลือกผลิตภัณฑ์ CS-3 และ FS-2 ไปทดสอบความคงสภาพเบื้องต้นโดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง และ 45 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการศึกษา 4 รอบ และเก็บที่

อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส 1 เดือน พบว่าสีของเชร้มน้ำคาเทชินเข้มข้นเล็กน้อย โดยที่ความหนืด และความเป็นกรดต่างของเชร้มน้ำไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนเชร้มน้ำสารสกัดผักขำ สีของเชร้มน้ำจางลงเล็กน้อย โดยที่ความหนืด และ ความเป็นกรดต่างของเชร้มน้ำไม่เปลี่ยนแปลง

ทดสอบการระคายเคืองและความพึงพอใจในอาสาสมัครอายุ 28-72 ปีจำนวน 20 คนต่อผลิตภัณฑ์ โดยให้อาสาสมัครใช้เชร้มน้ำประมาณ 0.1 กรัมทาบนแผ่นทดสอบขนาด 2 ตารางเซนติเมตร แปะที่แขนด้านในระหว่างไหล่ถึงข้อศอกทิ้งไว้ 4 ชั่วโมง ดึงแผ่นแปะออก และประเมินการระคายเคืองทันที 24 และ 48 ชั่วโมงหลังดึงแผ่นทดสอบออก พบว่าเชร้มน้ำสารสกัดคาเทชินและสารสกัดผักขำไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองในอาสาสมัครทั้งหมดที่ทดสอบ เมื่ออาสาสมัครทดลองใช้เชร้มน้ำทาหน้าเข้า-เย็นอย่างน้อยสองวันก่อนตอบแบบสอบถามโดยใช้เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์คล้ายคลึงกันที่มีจำหน่าย อาสาสมัครมีความพึงพอใจในเชร้มน้ำสารสกัดคาเทชินและสารสกัดผักขำอยู่ในเกณฑ์ดีถึงดีมาก โดยมีความพึงพอใจความไม่เหนอะผิวหลังใช้เชร้มน้ำมากที่สุด และพึงพอใจเชร้มน้ำทั้งสองมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่นำมาเปรียบเทียบ

ประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร โดยให้อาสาสมัครที่ผ่านการทดสอบการระคายเคือง ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์เชร้มน้ำทาหน้าเข้า-เย็นอย่างน้อย 3 สัปดาห์ และตอบแบบสอบถาม พบว่าอาสาสมัครพึงพอใจประสิทธิภาพของเชร้มน้ำต่อความรู้สึกผิวขาวเนียนที่เพิ่มขึ้น และความรู้สึกริ้วรอยผิวลดลงหลังใช้เชร้มน้ำสามอาทิตย์อยู่ในเกณฑ์พอใช้ เนื่องจากระยะเวลาที่ให้ทดลองใช้สั้นเกินไป ทำให้อาสาสมัครไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน ทั้งนี้อาสาสมัครมีความพึงพอใจประสิทธิภาพของเชร้มน้ำโดยรวมอยู่ในเกณฑ์ดี โดยพึงพอใจประสิทธิภาพโดยรวมของเชร้มน้ำสารสกัดคาเทชินมากกว่าเชร้มน้ำสารสกัดผักขำ

คำสำคัญ พืชท้องถิ่นบนพื้นที่สูง, เวชสำอาง, ใบเมี่ยง, ผักขำ, เชร้มน้ำ

Abstract

The aim of this project was to research and development of moisturizing face serum from *Camellia sinensis* var. *assamica* and *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng (gac) which are highland plants. Fermented tea leaves was extracted with methanol by maceration and further fractionated by column chromatography. The eluted solvent was evaporated off, the semi-purified reddish brown catechin solid yield 8.21% was obtained. As for *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng, the sarcotesta part was dried and extracted with hexane by maceration and followed by evaporation off the solvent. The gac extract obtained is dark reddish orange thick liquid with % yield of 17.58%. This two extracts were assayed for total phenolic and flavonoid content, evaluated for superoxide and nitric oxide scavenging activity, anti-matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) or collagenase-1 enzyme activity and anti-tyrosinase activity. It was found that catechin extract has total phenolic and flavonoid content of 525.31 ± 0.34 and 417.37 ± 0.82 $\mu\text{g}/\text{mg}$ respectively. The gac extract has total phenolic and flavonoid content of 154.12 ± 3.35 and 56.68 ± 1.33 $\mu\text{g}/\text{mg}$ respectively. An IC_{50} of superoxide and nitric oxide scavenging activity of catechin extract are 36.52 ± 0.56 and 24.29 ± 0.42 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively. An IC_{50} of superoxide and nitric oxide scavenging activity of gac extract are 69.52 ± 1.32 and 78.10 ± 1.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively. An IC_{50} of anti-tyrosinase enzyme activity and anti MMP-1 enzyme activity of catechin extract are 39.25 ± 0.97 and 35.36 ± 0.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively. An IC_{50} of anti-tyrosinase enzyme activity and anti MMP-1 enzyme activity of gac extract are 75.64 ± 1.52 and 43.27 ± 1.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively. The catechin extract shows better result than gac extract in all four assay mentioned above.

Both catechin extract and gac extract were used in the preparation of serum. Catechin extract serum obtained is light orange smooth texture gel, with light pleasant smell and pH of 5.52. Gac extract serum is light yellow smooth texture gel, with light pleasant smell and pH of 5.45. Both serums were again evaluated for anti-tyrosinase enzyme activity and anti MMP-1 enzyme activity, in order to select the serum for further studies. Catechin serum formulation CS-3 shows high % anti-tyrosinase activity and anti- MMP-1 activity of 64.48 ± 3.47 and 69.37 ± 2.84 respectively. Gac extract serum formulation FS-2 also shows high % anti-tyrosinase activity and anti- MMP-1 activity of 47.52 ± 3.75 and 60.48 ± 3.24 respectively. Therefore catechin extract serum formulation CS-3 and gac extract serum formulation FS-2 were selected for further studies due to good anti-tyrosinase activity and anti MMP-1 activity.

Both formulations CS-3 and FS-2 were subjected to stability testing by storage at alternate temperature of 4°C and 45°C for 4 cycles as well as at 4°C , room temperature and 45°C for 1 month. The result shows that the color of catechin serum slightly darker as the storage temperature increased, but the

viscosity and pH of the serum remain the same as the initial. The color of gac extract serum slightly lighter as the storage temperature increased, but the viscosity and pH of the serum did not change.

The two formulations were also tested for skin irritation in 20 female volunteers age 28-72 years and compared with the similar marketed products. The serum sample of 0.1 gm was applied on the 2 cm² area of an adhesive tested patch and pressed on the upper inner arm of the subject for 4 hours. The evaluation was performed at the time the patch removed as well as 24 and 48 hours after the patch removed. Both serum did not cause any skin irritation in all tested subjects. As for satisfaction evaluation, 20 female volunteers age 28-72 years were instructed to apply prepared serum and marketed serum on cleaned face twice a day for at least 2 days before answering the questionnaire. Both catechin serum and gac extract serum are well satisfied by the volunteers more than marketed serum.

Serum effectiveness evaluation was performed, who have passed skin irritation test, for each serum. Subjects were requested to apply serum twice a day for at least 3 weeks before answering the questionnaire. Most volunteers are fairly satisfied with skin whitening and anti wrinkle effect of the serums which due to short application time and the result is not clearly shown the improvement of the skin. In over all, catechin serum is well satisfied by volunteers more than gac serum.

Keywords: *Camellia sinensis*, *Momordica cochinchinensis*, gag, highland plants, cosmeceuticals, serum

