

การประเมินฤทธิ์ในการทำให้ผิวขาวของสารสกัดจากมะหาด ในอะซิनाไมด์ กรดแลคติก

กรดทรานซามิก และส่วนผสม ในหนูตะเภาและอาสาสมัคร



นางสาวอิสริย์ เพ็ญศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม หลักสูตรเทคโนโลยีเภสัชกรรม (นานาชาติ)

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-17-0734-7

ลิขสิทธิ์ของ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

441814

**EVALUATION OF SKIN WHITENING EFFECT OF *ARTOCARPUS*
LAKOOCHA EXTRACT, NIACINAMIDE, LACTIC ACID,
TRANEXAMIC ACID, AND THEIR COMBINATIONS IN
GUINEA PIGS AND HUMAN VOLUNTEERS**

Miss Isaree Pheansri

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmaceutical Technology**

Pharmaceutical Technology (International) Program

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2001

ISBN 974-17-0734-7

Copyright of Chulalongkorn University


Thesis Title Evaluation of skin whitening effect of *Artocarpus Lakoocha* extract, niacinamide, lactic acid, tranexamic acid, and their combinations in guinea pigs and human volunteers

By Miss Isaree Pheansri

Field of Study Pharmaceutical Technology (International)

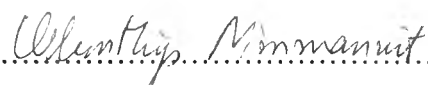
Thesis Advisor Associate Professor Parkpoom Tengamnuay, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in partial fulfillment of the Requirements of the Master's Degree

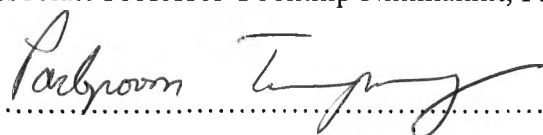

..... Dean of Faculty of
Pharmaceutical Sciences

(Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.)


Thesis Committee


..... Chairman

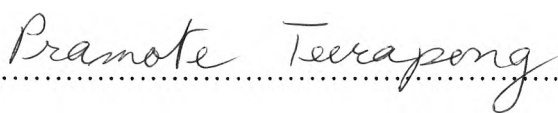
(Associate Professor Ubonthip Nimmannit, Ph.D.)


..... Thesis Advisor

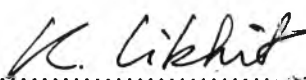
(Associate Professor Parkpoom Tengamnuay, Ph.D.)


..... Member

(Associate Professor Uthai Suvanakoot, Ph.D.)


..... Member

(Associate Professor Pramote Theerapong, M.D., Ph.D.)


..... Member

(Associate Professor Kittisak Likitwitayawuid, Ph.D.)

อิสริย์ เพ็ญศรี : การประเมินฤทธิ์ในการทำให้ผิวขาวของสารสกัดจากมะหาด ในอะซิชาไมด์ กรดแลคติก
กรดทรานซามิก และส่วนผสม ในหนูตะเภาและอาสาสมัคร

(EVALUATION OF SKIN WHITENING EFFECT OF *ARTOCARPUS LAKOOCHA*
EXTRACT, NIACINAMIDE, LACTIC ACID, TRANEXAMIC ACID, AND THEIR
COMBINATIONS IN GUINEA PIGS AND HUMAN VOLUNTEERS) อ.ที่ปรึกษา :

รศ.ดร.ภาคภูมิ เต็งอำนาจ, 205 หน้า. ISBN 974-17-0734-7

ผลจากการประเมินประสิทธิผลในการทำให้ผิวขาวของสารสกัดจากมะหาด (ปวกหาด) และสาร
ผสม เช่น ในอะซิชาไมด์ กรดแลคติก กรดทรานซามิก ทั้งในหนูตะเภาและอาสาสมัครพบว่า หลังจากที่ทำสาร
สกัดจากมะหาด (ปวกหาด) และสารผสมทุกวันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในหนูตะเภาที่ฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตบี สาร
ผสมระหว่างมะหาด (ปวกหาด) ความเข้มข้น 0.25% และในอะซิชาไมด์ ความเข้มข้น 1% ในโพพีลีนไกลคอล
ทำให้หนูตะเภาที่มีผิวขาวขึ้นเร็วที่สุด โดยปริมาณเมลานินลดลงในสัปดาห์แรก และทำให้ปริมาณเมลานินลดลง
มากที่สุด (34.33) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างด้านที่ทาและไม่ทาสารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามไม่
พบว่าปริมาณเมลานินที่ลดลงในทุกกลุ่มแตกต่างกัน จากนั้นจึงได้ทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการ
ทำให้ผิวขาวขึ้นของมะหาด (ปวกหาด) และสารผสมต่อไปในอาสาสมัครจำนวน 84 คน โดยทาสารทุกวันเป็น
เวลา 12 สัปดาห์

ผลการทดลอง พบว่าโลชั่นมะหาด (A) โลชั่นในอะซิชาไมด์ (B) โลชั่นกรดทรานซามิก (C) โลชั่น
ผสมระหว่างมะหาดกับในอะซิชาไมด์ (D) ทำให้ผิวขาวขึ้นเล็กน้อย แต่พบนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทานาน 12
สัปดาห์เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด ในขณะที่โลชั่นผสมของมะหาด (ปวกหาด) 0.25%
กับกรดทรานซามิก 2.5% ไม่สามารถทำให้ผิวขาวขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จึงได้ทำการทดลองต่อไปกับอาสาสมัคร
จำนวน 42 คน โดยมีพยาบาลที่ได้รับการฝึกฝนเป็นผู้ทาสารให้แก่อาสาสมัครทุกวันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลการ
ทดลองสอดคล้องกับการทดลองในหนูตะเภาโดยพบว่าสารผสมระหว่างปวกหาดความเข้มข้น 0.25% และในอะซิ
ชาไมด์ความเข้มข้น 1% ทำให้หนูตะเภาที่มีผิวขาวขึ้นเร็วที่สุด พบในสัปดาห์ที่ 6 และทำให้ปริมาณเมลานินลดลง
มากที่สุด (17.29) เมื่อวัดที่ 8 สัปดาห์ เปรียบเทียบระหว่างด้านที่ทาและไม่ทาสารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่
พบอาการระคายเคืองทางผิวหนังที่รุนแรง แต่อย่างไรก็ตาม พบว่ามีอาสาสมัคร 2 คนเกิดการระคายเคืองจากสาร
ผสมระหว่างมะหาด (ปวกหาด) กับในอะซิชาไมด์ และสารในโลชั่นพื้นที่ใช้เป็นคอนโทรล จากการศึกษาในครั้งนี้
นี้บ่งชี้ว่ามะหาด (ปวกหาด) หรือสารผสมดังกล่าวสามารถนำมาเตรียมให้อยู่ในรูปของโลชั่นแล้ว ให้ผลที่ดีในการ
ทำให้ผิวขาวขึ้น มีความปลอดภัย สามารถพัฒนาไปสู่ผลิตภัณฑ์ทางยาและเครื่องสำอางค์ได้ต่อไปในอนาคต

ภาควิชา

สาขาวิชา เทคโนโลยีสารสนเทศ (นานาชาติ)

ปีการศึกษา 2544

ลายมือชื่อนิติ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

Joan Phummi

Parikorn Teja

4376860333 MAJOR: PHARMACY

KEYWORD: *ARTOCARPUS LAKOOCHA* / PUAG-HAAD /

TYROSINASE INHIBITORS / WHITENING AGENT/ COMBINATIONS

ISAREE PHEANSRI: EVALUATION OF SKIN WHITENING EFFECT OF

ARTOCARPUS LAKOOCHA EXTRACT, NIACINAMIDE, LACTIC ACID,

TRANEXAMIC ACID, AND THEIR COMBINATIONS IN GUINEA PIGS

AND HUMAN VOLUNTEERS. THESIS ADVISOR: PARKPOOM

TENGAMNUAY, Ph.D. 205 pp. ISBN 974-17-0734-7

The skin whitening efficacy of *Artocarpus Lakoocha* extract (Puag-Haad) and its combinations with other whitening agents such as niacinamide, lactic acid, and tranexamic acid were studied in guinea pigs and humans. After 4-week daily application to the back of guinea pigs, solution containing 0.25% Puag-Haad and 1% niacinamide in propylene glycol was found to give the fastest onset of whitening action (one week). Its extent of melanin reduction was also the highest (34.33) although the value did not differ significantly from other whitening agents. Puag-Haad and its combinations were further studied in 84 human volunteers. The results showed that lotions containing 0.25% Puag-Haad alone (A), 1% niacinamide alone (B), 2.5% tranexamic acid alone (C), and Puag-Haad plus niacinamide (D), gave small but significant whitening effect after 12-week application, which was equivalent to a reference commercial product (F). On the other hand, Puag-Haad plus tranexamic acid failed to show significant whitening effect at all weeks. The small extent and slow onset of whitening efficacy was mainly due to poor subject compliance. To obtain more reliable results, an extra 8-week study with tighter control of experiments was conducted in 42 female volunteers. The data agreed with the animal study in that combination between 0.25% Puag-Haad and 1% niacinamide produced the highest rate and extent of skin whitening, with the onset observed after 6 weeks and the highest extent of melanin reduction (17.29) after 8 weeks. All subjects did not experience any serious skin reactions. Only two subjects dropped out from hypersensitivity to niacinamide and lotion base. Therefore, the results indicated a promising potential of the natural plant extract Puag-Haad as a novel and effective whitening agent, which can be formulated into lotion, either alone or with other substances, to obtain safe and effective whitening products for cosmetic and medical applications.

Program Pharmaceutical Technology (International)

Student's signature.....

Field of study Pharmaceutical Technology

Advisor's signature.....

Academic year 2001

Isaree Pheansri

Parkpoom Tengamnuay

Acknowledgements

First, I would like to express my great appreciation to my advisor, Associate Professor Parkpoom Tengamnuay Ph.D., for his kindness, precious suggestions and his encouragement throughout my study.

My sincere gratitude to Associate Professor Ubonthip Nimmannit, Ph.D. for her helpfulness and precious suggestions.

I would like to thanks to Associate Professor Kittisak Likhithayawuid, Ph.D. for his valuable comments.

I would like to express my special thanks to Quiheng Import Co., Ltd. and crew for supporting fund and helping throughout my research.

My desirable thanks to my fellow graduate students and other people who have not been mentioned here for their kind assistance, encouragement and friendship during my entire study.

Finally, I wish to express my infinite gratitude to Pheansri family for their love and continuous support throughout my life.

TABLE OF CONTENTS

	Page
ENGLISH ABSTRACT.....	iv
THAI ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xiii
CHAPTER	
I. INTRODUCTION.....	1
II. LITERATURE REVIEW.....	3
III. MATERIALS AND METHODS.....	44
IV. RESULTS AND DISCUSSION.....	60
V. CONCLUSION.....	115
REFERENCES.....	118
APPENDICES	
APPENDIX I	122
APPENDIX II.....	143
APPENDIX III.....	181
VITA.....	205

LIST OF TABLES

Table	Page
1	Four Stages of Melanosome Formation.....13
2	Relationship among skin color, size and distribution pattern of melanosomes and skin type classification*20
3	Classification of Sun-reactive Skin Types.....23
4	The overview of the ingredients and compositions of guide formulation.....53
5	The overview of the ingredients and compositions.....54
6	The overview of the ingredients and compositions (continue)..... 55
7	The absolute melanin values (mean \pm SD) in guinea pigs treated with different whitening agents.....61
8	The absolute erythema values (mean \pm SD) in guinea pigs treated with different whitening agents.....63
9	The melanin reduction after application of the test substances.....68
10	The erythema change after application of the test substances.....69
11	The physical appearance of lotion base formulation.....76
12	The overview of the ingredients of whitening lotion.....77
13	The absolute melanin values (mean \pm SD) in the upper arms of human volunteers treated with different substance for 12 weeks (n= 13-14/treatment group).....81
14	The absolute melanin values (mean \pm SD) in the upper arms of human volunteers treated with different substance for 12 weeks (n= 13-14/treatment group).....83
15	The melanin reduction after application of the test substances.....89
16	The erythema change after application of the test substances.....90
17	The absolute melanin values (mean \pm SD) in the upper arms of human volunteers treated with different substance for 8 weeks at Nakornratchasima (n= 6-7/treatment group).....99
18	The absolute erythema values (mean \pm SD) in the upper arms of human volunteers treated with different substance for 8 weeks at Nakornratchasima (n=6-7/treatment group).....101

LIST OF TABLES

Table		Page
19	The melanin reduction after application of the test substances.....	109
20	The erythema change after application of the test substances.....	110

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1	Epidermal melanin unit.....5
2	Schematic drawing of melanocyte.....8
3	Schematic drawing showing the formation of the neural crest cells.....10
4A	Schematic outline of the eumelanin synthesis.....15
4B	Schematic outline of the later stages of the melanogenesis.....16
5	Schematic outline of the synthesis of the pheomelanin.....17
6	Model for MSH activation of melanocyte tyrosinase and melanin synthesis..25
7	The chemical structure of arbutin.....31
8	The chemical structure of kojic acid.....32
9	The picture of <i>Artocarpus Lakoocha</i>34
10	The structures of compounds 1 and 2 in Puag-Haad (<i>A. lakoocha</i>) extract.....35
11	The chemical structure of vitamin C.....37
12	The chemical structure of hydroquinone.....38
13	The chemical structure of Tranexamic acid.....41
14	Picture of some brownish black guinea pigs (weighing 150-200 g) were used in the experiments.....47
15	Picture showing the room and shelf for keeping the guinea pigs (2-3 guinea pigs per cage).....48
16	The UVB fluorescent lamp, 290-320nm (model TL 20w/12, Phillips).....50
17	Application areas on the back of each guinea pig. Left = control propylene glycol (PG) and right = test sample.....51
18	Comparison of melanin reduction (Xc-Xtr) of each test substance at each week. Data = mean \pm SD (n = 5-6 guinea pigs/group).....73
19	Comparison of erythema change (Ec-Etr) of each test substance at each week. Data = mean \pm SD (n = 5-6 guinea pigs/group).....74
20	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 0.25% Puag-Haad as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 14).....85

LIST OF FIGURES

Figure	Page
21	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 1%Niacinamide as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 14)85
22	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 2.5%Tranexamic acid as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 13).....86
23	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 0.25% Puag-Haad +1%Niacinamide as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 14).....86
24	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 0.25% Puag-Haad +2.5% Tranexamic acid. Each point represents mean \pm SD (n =13).....87
25	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and commercial product as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 13).....87
26	Comparison of melanin reduction (Xc-Xtr) of each test substance at week 12. Data = mean \pm SD (n = 13-14/group).....95
27	Comparison of erythema change (Ec-Etr) of each test substance at week 12. Data = mean \pm SD (n = 13-14/group).....96
28	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 0.25% Puag-Haad as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 7).....103
29	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 1%Niacinamide as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 6).....103

LIST OF FIGURES

Figure	Page
30	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 2.5% Tranexamic acid as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 7)104
31	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 0.25% Puag-Haad +1%Niacinamide as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 6)104
32	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and 0.25% Puag-Haad +2.5%Tranexamic acid as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 7)105
33	Mean of absolute melanin value after applying lotion base as a control and Commercial product as a treated substance. Each point represents mean \pm SD (n = 7)105
34	Comparison of melanin reduction (Xc-Xtr) of each test substance at each week. Data = mean \pm SD (n = 6-7 /group)113
35	Comparison of erythema change (Ec-Etr) of each test substance at each week. Data = mean \pm SD (n = 6-7 /group)114

LIST OF ABBREVIATIONS

α	=	Alpha
ANOVA	=	Analysis of variance
Å	=	Angstrom
approx.	=	Approximately
$^{\circ}\text{C}$	=	Degree Celsius
DT	=	Delayed tanning
DOPA	=	Dihydroxyphenylalanine
cm	=	Centimeter
cm^2	=	Square centimeter
e.g.	=	Exempli gratia
et.al	=	Et alii, and others
g	=	Gram
hr	=	hour
IPD	=	Intermediate pigment darkening
IT	=	Intermediate tanning
Kg	=	Kilogram
λ	=	Lambda
IC_{50}	=	Median inhibitory concentration
μg	=	Microgram
mJ	=	MilliJoule
ml	=	Millimeter
min	=	Minute
nm	=	Nanometer
non-sig.	=	Nonsignificant
No.	=	Number
%	=	Percentage
%w/w	=	Percent weight by weight
sig.	=	Significant
pH	=	The negative logarithm of the hydrogen ion concentration
SD	=	Standard deviation

LIST OF ABBREVIATIONS

Sq.	=	Square
UV	=	Ultraviolet
UVA	=	Ultraviolet A
UVB	=	Ultraviolet B
UVL	=	Ultraviolet light
Wk	=	week