

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

สิว เป็นความผิดปกติของต่อมไขมัน ซึ่งทำให้มีคอมิโดน (comedone) มาอุดตันทางเดินของต่อมไขมัน และมีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยไขมันเป็นอาหาร จึงทำให้มีการอักเสบเกิดขึ้น^{10,11}

การศึกษาความเปลี่ยนแปลงของเซลล์ผิวหนังขณะเกิดสิว พบว่าเมื่อฮอร์โมนหรือสิ่งกระตุ้นใดก็ตาม เกิดการกระตุ้นต่อมไขมัน (sebaceous glands) ให้มีขนาดใหญ่ขึ้นและเร่งการสร้างไขมัน (sebums) มากขึ้น ทำให้ท่อหรือช่องทางออกของไขมัน (pilosebaceous canals) ขยายใหญ่ออกกลายเป็น sebaceous follicles เกิดเป็นสิวขึ้นได้^{10,11}

ในสภาพปกติ ไขมันที่ถูกรวบรวมขึ้นจะถูกปล่อยลงสู่ท่อรูปรวย (infundibulum) เปิดออกมายังผิวหนังชั้นบนสุดหรือหนังกำพร้า (epidermis) ท่อรูปรวยนี้แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ acroinfundibulum มีโครงสร้างคล้ายหนังกำพร้าอยู่ติดกับผิวหนังชั้น stratum corneum ที่รูเปิดของท่อรูปรวยจะหนาที่สุด และหนาลดลงตามความลึก อีกส่วนคือ infrainfundibulum ซึ่งอยู่ลึกลงมาจะบางลงจนกระทั่งหมดไปเมื่อถึงชั้นของต่อมไขมัน ปกติชั้นของ stratum corneum จะมีลักษณะเกาะกันหลวม ๆ หลุดง่าย เข้าสู่ช่องทางท่อรูปรวยปะปนมากับไขมันที่ขับออกมา และอาจมีเซลล์ที่แปรสภาพ (keratinized cell) ของต่อมไขมันหลุดปนออกมาด้วย^{10,11}

ขณะเกิดสิว sebaceous follicles ในข้างต้นจะ เริ่มเกิดขึ้นบริเวณ infrainfundibulum ส่วนลึกที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณที่ต่อมไขมันมากเปิดสู่ท่อรูปรวยพบว่า follicles เหล่านี้เกิดสภาพผิดปกติคือมีการแปรสภาพ (keratinization) ของเซลล์ของต่อมไขมันมากมาย แต่ขณะเดียวกัน stratum corneum (horny layer) เกิดการรวมตัวกันแน่นหนา แทนการหลุดมาสู่ช่องของ infundibulum จึงทำให้เกิดการอัดแน่น (incompaction) ด้านช่องของท่อรูปรวยไปงอกเกิดเป็นไมโครคอมิโดน (microcomedones) รูปร่างกลมยาว^{10,11}

สภาพการสร้างคีราตินมากผิดปกติ (hyperkeratosis) หรือการแปรสภาพมากมาย ยังเกิดขึ้นในต่อมไขมันตลอดเวลา ทำให้ไมโครคอมิโดนมีขนาดใหญ่ขึ้นและเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และชั้น horny layer ก็ยังคงเพิ่มมากขึ้น และยังอัดแน่นอยู่ทำให้เกิดสภาพเป็นสิวหัวปิด (close comedones or white head)

ต่อมาเมื่อสิวหัวปิดยังคงใหญ่ขึ้น บริเวณ acroinfundibulum ก็จะมีพื้นที่ลดลงจะพยายามดันช่องเปิดให้เปิดออกสู่หนังกำพร้าทำให้ส่วนปลายของคอมิโคนโผล่พ้นช่องเปิดออกมา กลายสภาพเป็นสิวหัวเปิด (open comedones) เกิดการสะสมของเซลล์ที่ตายแล้ว ไขมันผิวหนังซึ่งถูกออกซิไดซ์โดยสัมผัสอากาศและการสะสมของเมลานิน จนกลายเป็นจุดสีดำ เรียกว่า สิวหัวดำ (black head)^{10,11}

ขณะที่เกิดสิวหัวเปิดนี้ต่อมไขมันจะเริ่มเหี่ยวฝ่อลงแต่ยังคงทำหน้าที่สร้างไขมันผิวหนังตลอดเวลาเนื่องจากยังคงถูกกระตุ้นอยู่ ไขมันผิวหนังถูกขั้บมาที่ช่องเปิดของสิวหัวเปิดเรื่อย ๆ ทำให้เชื้อแบคทีเรียที่อาศัยไขมันเป็นอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *P. acnes* เจริญขึ้นอย่างรวดเร็ว เกิดการอักเสบของสิวดำมา เรียกการติดเชื้อครั้งแรกจาก *P. acnes* ว่า primary infection เชื้อนี้จะย่อยสลาย triglycerides ในไขมันที่ขับออกมาไปเป็นกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ซึ่งมีผลเกิดความระคายเคืองต่อผนังของ follicle กระตุ้นการสร้างเซลล์ผิวหนังมากขึ้น กระตุ้น lymphocyte ให้มาชุมนุมกันที่บริเวณเกิดสิวและเกิดสิ้ออักเสบในที่สุด นอกจากนี้บริเวณใบหน้าหรือผิวหนังยังเป็นที่อาศัยของแบคทีเรียชนิดอื่น เช่น *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Pityrosporum ovale* ซึ่งถ้าสิ้อมีการติดเชื้อเหล่านี้เพิ่มอีกจะเรียกว่า Secondary infection ทำให้เกิดสิ้ออักเสบมีหนองที่รุนแรงมากขึ้น^{10,11}

อย่างไรก็ตามขณะเกิดสิวหัวปิดนั้น อาจเกิดการขยายตัวและผนังของคอมิโคนแตก มีการปล่อยคอมิโคน เข้าสู่หนังแท้ (dermis) ทำให้เกิดการขยายตัวและแดง มีลักษณะเป็นตุ่มสิว (papule หรือ pimple) ถ้าอักเสบรุนแรงจะกลายเป็นตุ่มหนองสิว (pustule) มีขนาดใหญ่บวมแดงและหายช้า ตุ่มสิวจะเกิดเมื่อมีการแตกของสิวหัวปิดเข้าภายในหลาย ๆ อันพร้อมกัน ส่วนที่เป็น horny layer ไม่มีทางออกสู่ผิวหนังเหมือนสิวหัวเปิดจึงเกิดอักเสบรุนแรงขึ้นไปอีก ถ้าหากมีเซลล์เยื่อผิวไปห่อหุ้มบริเวณอักเสบจะเกิดเป็นกระเปาะเรียก nodular cyst หรือ cystic acne และเมื่อต่อมการอักเสบจากตุ่มสิวหรือตุ่มหนองสิหายไป จะเหลือรอยแผลเป็นของสิ่วไว้ เรียกว่า acne scars^{10,11}

จากการเกิดสิ้วจะเห็นได้ว่าสิ้ออักเสบจะเกิดรุนแรงมากขึ้นเมื่อเกิดการติดเชื้อทั้งสองชนิด (*S. aureus*, *P. acnes*) และถ้าการรักษาสิ้อมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อทั้งสองชนิดได้ดี มีความปลอดภัย เกิดผลข้างเคียงน้อย ยานี้ก็จะมมีประสิทธิภาพในการรักษาสิ้วได้ดี ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาวิจัยค้นหาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *P. acnes* เพื่อนำมาพัฒนาตั้งตำรับเป็นยาหรือเครื่องสำอางรักษาสิ้ว

การรักษาสิว^{10,11} ควรดำเนินการให้ถูกวิธี มีขั้นตอนในการรักษา 3 ข้อ คือ

1. ป้องกันไม่ให้ต่อมไขมันที่อุดตันอยู่แล้วอักเสบ หรือลดการอักเสบของสิว โดยการรับประทานยาตามแพทย์สั่ง เช่น ยาปฏิชีวนะ ภายใน 1-3 สัปดาห์ ถ้ายาถูกต้อง อาการอักเสบของสิวลดลงหรือหมดไป ขั้นตอนนี้จะทำให้เห็นว่าปริมาณของการอุดตันลดน้อยลง หรืออาการอักเสบหายไป จึงดำเนินขั้น 2 ต่อไป การอุดตันลดน้อยลงหรือการอักเสบหายดีแล้วมิได้หมายความว่าสิวจะหาย ถ้ายังไม่ได้จัดการอุดตันของต่อมไขมันให้หมดไปสิวก็น่าจะดำเนินต่อไปได้
2. จัดการอุดตันของต่อมไขมัน โดยใช้ยาทำให้สิ่งอุดตันนั้นหลวมตัว แล้วให้แรงดันของไผผิวหนังซึ่งค้างอยู่ในต่อมไขมันขับสิ่งอุดตันนี้ออกมาเอง อาจมีการใช้เครื่องมือช่วยกดออกได้
3. ป้องกันมิให้มีการอุดตันอีก โดยใช้ยารับประทานต่อเนื่องไปจนพ้นวัยของการเป็นสิว หรือป้องกันโดยหลีกเลี่ยงต้นเหตุหรือปัจจัยร่วมต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดสิว

ยาที่ใช้ในการรักษาสิว ได้แก่

1. ยาปฏิชีวนะ ออกฤทธิ์ลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* และ *P. acnes* และ free fatty acid ซึ่งทำให้จำนวนของสิวลดลง การอักเสบของสิวลดลง และยังป้องกันการเกิดสิวใหม่ด้วย ยาปฏิชีวนะที่ใช้บ่อย เช่น tetracycline, erythromycin, clindamycin เป็นต้น

ผลข้างเคียงของการใช้ยาปฏิชีวนะที่พบได้บ่อย คือ คลื่นไส้ อาเจียน ผื่นคัน fixed drug eruption ตับอักเสบ การติดเชื้อราในช่องคลอด และปวดศรีษะ

2. Retinoid อนุพันธ์ของวิตามิน เอที่ใช้ คือ isotretinoin ใช้ในการรักษาสิวชนิดรุนแรงที่ไม่ตอบสนองต่อการใช้ยาปฏิชีวนะ ยาตัวนี้ออกฤทธิ์ทำให้ต่อมไขมันมีขนาดเล็กลง การหลั่งไขมันลดลง ช่วยให้การสร้างเคราตินของท่อต่อมไขมันกลับเข้าสู่สภาพปกติ ลดการอักเสบของสิวและลดปริมาณเชื้อ *P. acnes* ด้วย

ผลข้างเคียงที่พบบ่อยคือ เชื้อราอักเสบ โรคเรื้อนกวาง การเปลี่ยนแปลงของระดับโคเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ SGOT สูงขึ้น ผลข้างเคียงที่สำคัญ คือ teratogenic effect พบได้ถึงร้อยละ 30 ในหญิงมีครรภ์ขณะรับประทานยานี้ ถ้าเป็น

ยาทาเฉพาะที่ จะทำให้เกิดการ แสบคัน เป็นผื่นแดง หน้าลอกได้

1. ฮอโมน ตัวอย่างยา ได้แก่

Cyproterone acetate ยานี้ออกฤทธิ์เป็นตัวต้าน androgen คุณสมบัติของยานี้คือ ลดขนาดและการหลั่งไขมันของต่อมไขมัน ใช้ได้เฉพาะผู้หญิง โดยเฉพาะผู้หญิงที่มีสิวสัมพันธ์กับการมีประจำเดือนหรือในผู้หญิงที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาสิวด้วยยาปฏิชีวนะ

ผลข้างเคียงคือ คลื่นไส้ อาเจียน น้ำหนักตัวเพิ่ม ประจำเดือนผิดปกติ เป็นฝ้า

2. Benzoyl peroxide เป็นยาทาเฉพาะที่ ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ *P. acnes* ลดการอักเสบ และลดปริมาณไขมันที่ผิวหนัง

ผลข้างเคียง คือ หน้าแดง แสบ แห้งเป็นขุย

3. Azelaic acid เป็นยาทาเฉพาะที่ ออกฤทธิ์ bacteriostatic ต่อเชื้อ *P. acnes* สามารถลด free fatty acid ยับยั้งเอนไซม์ 5- α reductase ยังทำให้การสร้างเคอรตินของท่อไขมันกลับสู่สภาพปกติ

ผลข้างเคียง คือ แสบ แห้งเป็นขุย อาการคันเป็นผื่นแดง

4. Salicylic acid เป็นยาทาเฉพาะที่ ออกฤทธิ์เป็น comedolytic

ผลข้างเคียง คือ แสบ แห้งเป็นขุย อาการคันเป็นผื่นแดง

กระบือเจ็ดตัว^{12,13,14}

ชื่อวิทยาศาสตร์

Excoecaria cochinchinensis Lour.

ชื่อพ้อง

Antidesma bicolor Hassk, *Excoecaria bicolor* Zoll.ex Hassk

ชื่ออื่น ๆ

ตาตุ่มไก่ ตาตุ่มนก ลิ่นกระบือขาว กระบือ กำลังกระบือ

ชื่อวงศ์

Euphorbiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มขนาดย่อม สูง 0.5-1.5 เมตร ใบเดี่ยว เรียงสลับเวียนรอบกิ่งรูปใบหอกหรือรูปใบหอกแกมรูปไข่ กว้าง 2-4.5 เซนติเมตร ยาว 4-13 เซนติเมตร หลังใบสีเขียว ท้องใบสีแดง ดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่งแยกเพศ ช่อดอกตัวผู้มีดอกย่อยจำนวนมาก ช่อดอกตัวเมียมีเพียง 2-3 ดอก ผลแห้งแตกได้ มี 3 พู

สรรพคุณ

ใบ : ขับเลือดเน่า ขับน้ำคาวปลาให้สะดวก แก้บาดทะยักในปากมดลูก แก้สันนิบาตหน้าเพลิง ดับพิษร้อน ถอนพิษไข้ แก้วบวมฟกช้ำ ดำเขียว แก้พิษบาดทะยัก

กระพี้ : ถอนพิษไข้ ถอนพิษสำแดง แก้ร้อนภายใน

เนื้อไม้ : ถอนพิษไข้ ถอนพิษผดสำแดง แก้ร้อนภายใน

ยาง : ใช้เบื่อปลา

ข้อมูลการวิจัยที่สำคัญ

สารเคมี

ใบ : มีสารสำคัญ คือ ellagic acid, gallic acid

ยาง : มีสาร daphnane triterpenes

ลำต้นและราก : มีสาร shikimic acid , 1-cyclohexene-1-

carboxylic acid-5-hydroxy-3,4-isopropylidene-dioxy,oxy-bis

(5-methylene-2-furaldehyde), beta-sitosterol, tetracosanoic acid , palmic

acid, steric acid and hentriacontane

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ลดความดันโลหิต การบีบตัวของกล้ามเนื้ออ่อนลง คลายกล้ามเนื้อเรียบ กล้ามเนื้อมดลูกบีบตัว ระคายเคือง ด้านเชื้อแบคทีเรีย



รูปที่ 1 แสดงลักษณะของใบกระป๋องเจ็ดตัว (*E. cochinchinensis* Lour.)

จากรายงานวิจัยของอารีรัตน์ ลออปักษา (2531) พบว่ากระป๋องเจ็ดตัว มีสารสำคัญ คือ ellagic acid และ gallic acid เมื่อนำส่วนใบมาสกัดด้วย 95% เอทานอลพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* , *P. aeruginosa* และ β -hemolytic streptococcus gr.A ได้ดี¹⁵

จากรายงานวิจัยของ Isao Kubo และคณะ (2003) พบว่าสาร gallic acid มีฤทธิ์ต้านเชื้อ MRSA ATCC 33591 ด้วยค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) และค่า Minimal Bactericidal Concentration (MBC) เท่ากับ 3.2 mg/ml⁹

ในรายงานของธิดาสุวรรณ อภิทธิพิทยาวิทย์ (2545)⁵ ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อสิวอักเสบ เบื้องต้นของสารสกัดสมุนไพร ได้แก่ กระป๋องเจ็ดตัว เสด และใบระบาต พบว่า สารสกัดใบระบาต

ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อสิวอักเสบ *S. aureus* และ *P. acnes* ส่วนสารสกัดกระบือเจ็ดตัวและเสก มีฤทธิ์ต้านเชื้อที่ดีโดยมีค่า MIC ต่อเชื้อ *S. aureus* คือ 1.56, 3.13 mg/ml ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 3.13, 6.25 mg/ml ตามลำดับ ส่วนค่า MIC ต่อเชื้อ *P. acnes* คือ 1.56, 6.25 mg/ml ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 6.25, 12.5 mg/ml ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระบือเจ็ดตัวมีฤทธิ์ต้านเชื้อสิวอักเสบได้ดี เมื่อศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดกระบือเจ็ดตัวกับสาร benzoyl peroxide และ clindamycin ในความเข้มข้นที่เท่ากัน พบว่า สารสกัดกระบือเจ็ดตัวมีฤทธิ์ดีกว่า benzoyl peroxide แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่า clindamycin⁵ และจากรายงานของ ธิดาสุวรรณค์ อภิวิทย์วิทยาวัฑ (2546) ยังพบว่า สารสกัดกระบือเจ็ดตัวมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ที่คือต่อยา clindamycin ได้ดีด้วย โดยมีค่า MIC ต่อเชื้อ *S. aureus* ที่คือต่อยา clindamycin เท่ากับ 0.78 mg/ml และมีค่า MBC เท่ากับ 6.25 mg/ml นอกจากนี้ยังพบว่าเวลาในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ *P. acnes* ของสารสกัดกระบือเจ็ดตัวที่ความเข้มข้นเป็น 4 เท่าของ MIC มีค่าเท่ากับ 8, 24 ชั่วโมง ตามลำดับ⁷

จากรายงานวิภาวิ อุบลศักดิ์ (2547)⁸ ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* และ *P. acnes* เบื้องต้นของสารสกัดสมุนไพร ได้แก่ กระบือเจ็ดตัว บัวบก มะยม อัญชัน และ มะขามป้อม พบว่า สารสกัดบัวบก และอัญชันไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* และ *P. acnes* ส่วนสารสกัดมะยมมีฤทธิ์น้อยมาก และสารสกัดกระบือเจ็ดตัวและมะขามป้อมมีฤทธิ์ต้านเชื้อได้ดี โดยมีค่า MIC ต่อเชื้อ *S. aureus* คือ 1.25, 0.13 mg/ml ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 5, 2.5 mg/ml ตามลำดับ ส่วนค่า MIC ต่อเชื้อ *P. acnes* คือ 1.25, 1.25 mg/ml ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 5, 2.5 mg/ml ตามลำดับเช่นกัน แสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระบือเจ็ดตัวมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ต่ำกว่าสารสกัดมะขามป้อม แต่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnes* ได้ดีใกล้เคียงกัน⁸ อย่างไรก็ตามเนื่องจาก กระบือเจ็ดตัวเป็นพืชที่ใช้เป็นไม้ประดับ ปลูกและหาง่าย เก็บเกี่ยวได้ทุกฤดูกาล จึงสนใจในการพัฒนาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิวเพิ่มเติม จากข้อมูลเดิมของธิดาสุวรรณค์ที่ทำการศึกษามาในระดับหนึ่งแล้วเห็นว่าในการพัฒนาให้ได้รูปแบบที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ จะทำให้ผู้ที่เกิดปัญหาจากสิวอักเสบจะมีทางเลือกในการรักษาอีกทางหนึ่ง

กรรมวิธีการสกัดพืชสมุนไพร¹⁶

1. การหมัก (maceration)

การหมัก คือ กระบวนการสกัดองค์ประกอบสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการแช่สมุนไพรในน้ำยาสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อสมุนไพรอ่อนนุ่ม และน้ำยาสกัดสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในพืชสมุนไพรออกมาได้

วิธีการ แช่สมุนไพรในน้ำยาสกัดที่เหมาะสมเป็นเวลานาน 2-4 วัน หรือตามกำหนดในเภสัชตำรับหรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด ในระหว่างที่แช่สมุนไพรอยู่นั้นควรเขย่าหรือคนเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด หลังจากนั้นจึงกรองแยกกากพืชสมุนไพรออกจากน้ำยาสกัด

Maceration เป็นวิธีการสกัดที่เหมาะสมสำหรับสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมากนักเช่น ใบ ดอก ซึ่งทำให้อ่อนนุ่มได้ง่าย และเนื่องจากเป็นกระบวนการที่ไม่ใช้ความร้อน จึงเหมาะสมสำหรับการสกัดองค์ประกอบที่ไม่คงทนต่อความร้อน ข้อเสียของวิธีนี้คือ การสกัดมักไม่สมบูรณ์เนื่องจากไม่ค่อยมีการเคลื่อนที่ของน้ำยาสกัด เมื่อองค์ประกอบภายในสมุนไพรละลายออกมาถึงระดับหนึ่งจะเกิดความสมดุลขององค์ประกอบภายในสมุนไพรและน้ำยาสกัดที่ใช้ ทำให้อัตราเร็วของการสกัดชะงักลง ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่เหมาะที่จะใช้เตรียมสารสกัดที่เข้มข้น นอกเสียจากว่าน้ำยาสกัดที่ใช้จะระเหยออกได้ง่าย และไม่เหมาะสำหรับใช้สกัดในกรณีที่ต้องการสกัดองค์ประกอบออกจากสมุนไพรจนสมบูรณ์

2. การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction)

การสกัดแบบต่อเนื่อง คือ กระบวนการสกัดองค์ประกอบจากสมุนไพรโดยการปล่อยให้ น้ำยาสกัดไหลผ่านพืชสมุนไพรอย่างช้า ๆ พร้อมกับละลายเอาองค์ประกอบจากสมุนไพรออกมาด้วย โดยกระบวนการนี้ต้องใช้ความร้อนเข้าช่วย และใช้เครื่องมือที่เป็นระบบปิดโดยที่เมื่อน้ำยาสกัดไหลผ่านพืชสมุนไพรที่บรรจุอยู่ใน extractor แล้วลงมารวมกันในขวดแก้วที่ได้รับความร้อนจนน้ำยาสกัดระเหยขึ้นไปและควบแน่นตกลงมาผ่านพืชสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัดออกมาหมด

วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องนี้เหมาะสำหรับการสกัดองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อนและละลายในน้ำยาสกัดได้ ดังนั้นจึงต้องให้น้ำยาสกัดไหลผ่านพืชสมุนไพรติดต่อกันนานพอที่จะสกัดเอาองค์ประกอบออกมาได้หมด ข้อดีของกระบวนการนี้คือ ประหยัดน้ำยาสกัด ส่วนข้อเสียคือ ไม่เหมาะสมกับองค์ประกอบที่ไม่ทนต่อความร้อนและน้ำยาสกัดที่ใช้ไม่ควรเป็นของผสมเพราะ

จะเกิดการแยกของตัวทำละลายแต่ละชนิดเนื่องจากมีจุดเดือดแตกต่างกัน จะมีผลให้สัดส่วนของ
น้ำยาสกัดแตกต่างไปจากเดิมและผลการสกัดไม่ดีเท่าที่คาดไว้

3. การต้ม (decoction)

เป็นการสกัดสารสำคัญซึ่งละลายน้ำและทนต่อความร้อนส่วนใหญ่ใช้เวลาต้มประมาณ 15
นาทึ สารสกัดโดยวิธีนี้ควรมีการเคี่ยวหรือแช่แข็งเพื่อป้องกันจุลินทรีย์ สารสกัดชนิด
นี้มีอายุสั้นควรเตรียมเพื่อใช้ใหม่ ๆ

การทำสารสกัดน้ำให้แห้ง¹⁶

การทำสารสกัดน้ำให้แห้งแบ่งเป็น 2 วิธีหลัก ได้แก่ การทำให้แห้งโดยใช้ความร้อน และ
การทำให้แห้งโดยไม่ใช้ความร้อน ซึ่งจะกล่าวพอสังเขปดังนี้

1. Freeze dry

เป็นวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง ซึ่งเป็นการทำให้สารสกัดน้ำแห้ง โดยระเหิดน้ำแข็งออก
จากสารสกัดในสถานะเยือกแข็ง ผงสารสกัดที่ได้จะละลายน้ำได้ง่ายและหลังการละลายน้ำแล้ว
จะให้คุณสมบัติและลักษณะเหมือนสารสกัดเริ่มต้น โดยที่องค์ประกอบทางเคมียังคงเดิม ไม่มี
การเปลี่ยนแปลงคุณภาพและปริมาณสาร วิธีนี้จึงเหมาะสมกับสารสกัดน้ำที่ไม่ทนต่อความร้อน
หรือสลายตัวได้ง่ายด้วยความร้อน

อย่างไรก็ตามวิธีนี้ก็เป็นวิธีที่ต้องสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้ามากและต้องใช้เวลามากจึงจะทำ
ให้สารสกัดแห้งเป็นผงตามที่ต้องการ

2. Spray dry

เป็นวิธีการทำให้แห้งโดยใช้ความร้อน โดยสารสกัดน้ำจะถูกพ่นออกมาเป็นละอองฝอยลง
ไปในกระแสดึงความร้อนสูง ทำให้ละอองฝอยเกิดการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็วและแห้งก่อน
กระทบกับผนังด้านในของตู้อบแห้ง จึงจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงละเอียดแห้ง วิธีนี้จะเหมาะกับ สาร
สกัดที่ทนต่อความร้อนได้ ไม่สลายตัวด้วยความร้อน และวิธีนี้จะสิ้นเปลืองพลังงานและใช้เวลาใน
การให้น้อยกว่าวิธี freeze dry

รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ผู้วิจัยสนใจที่ศึกษาและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิวครั้งนี้ คือ รูปแบบเจล ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

ผลิตภัณฑ์รูปแบบเจล¹⁷

ผลิตภัณฑ์รูปแบบเจล เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะกึ่งแข็ง มีของเหลวเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่และมีสารที่ทำหน้าที่เพิ่มความเหนียวข้นหรือกึ่งแข็งหรือสารก่อเจล ได้แก่ สารประเภทพอลิเมอร์ เช่น ทรากาคานท์ ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิล เซลลูโลส และ คาร์โบพอล เป็นต้น นอกจากนี้สารปรุงแต่งที่จำเป็น สำหรับเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์กึ่งแข็ง ได้แก่ สารช่วยกระจายตัวและสารกันน้ำระเหย กรณีตำรับที่มีตัวยาสำคัญหรือสารทำให้เกิดเจลไวต่อการเสื่อมคุณภาพ อาจป้องกันด้วยการเติมสารที่เพิ่มความคงตัวให้ตำรับ เช่น สารต้านออกซิเดชัน สารจับโลหะหนัก และควรเติมสารกันเสียลงในตำรับด้วยเนื่องจากตำรับเจลมีน้ำเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจะเป็นแหล่งเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่าย¹¹

ผลิตภัณฑ์รูปแบบเจลมีคุณสมบัติที่ดีลักษณะสวยงามน่าใช้เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์รูปแบบอื่น มีการดึงดูดใจของผู้ใช้ที่ความใส ไม่เหนอะหนะและกระจายตัวบนผิวหนังที่กว้างได้ง่าย ตัวอย่างผลิตภัณฑ์รักษาสิวรูปแบบเจลที่มีขายในท้องตลาด เช่น benzoyl peroxide gel, clindamycin gel เป็นต้น

ไฮโดรเจล¹⁸

Hydrogel เป็นผลิตภัณฑ์เจลกึ่งแข็งที่มี dispersion medium เป็นน้ำ จะเป็นเจลใส หรือขุ่นก็ได้ ซึ่งจะขึ้นกับชนิด และขีดการละลายของสารก่อเจลในน้ำ โดยทั่วไปจะประกอบด้วย สารก่อเจล สารปรุงแต่งอื่น ๆ เช่น สารกันเสีย สารต้านออกซิเดชัน และอาจมีส่วนผสมของตัวช่วยละลายอื่น ๆ เช่น เอทานอล โพรพิลีน โกลคอล และกลีเซอริน เป็นต้น ไฮโดรเจล เป็นเจลที่นิยมใช้มาก เพราะมีการปลดปล่อยตัวยาดี ไม่มันเหนียวเหนอะหนะ สามารถทาผิวหนังได้ง่ายและล้างน้ำออกได้ง่ายเช่นกัน นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังด้วย

สารก่อเจลที่ใช้มีหลายชนิด ทั้งที่ได้จากธรรมชาติ กึ่งสังเคราะห์ และสังเคราะห์ ที่ได้จากธรรมชาติเช่น ทรากาคานท์ อะคาเซีย และเพกติน เป็นต้น สารกึ่งสังเคราะห์ได้แก่ เมทิลเซลลูโลส ไฮดรอกซีเซลลูโลส และ ไฮดรอกซีโพรพิล เมทิลเซลลูโลส เป็นต้น สารสังเคราะห์ ได้แก่ poloxamer และ คาร์โบพอลเกรดต่าง ๆ

Transparent oil in water gels (TOW gel)^{19,20,21,22,23,24}

TOW gels เป็นผลิตภัณฑ์กึ่งแข็ง จัดอยู่ในประเภทไมโครอิมัลชันเจล โดยจะมีลักษณะทางกายภาพคล้ายเจลมาก มีความใสเหมือนเจลลี่ มีความคงตัวสูง เนื่องจากเป็นรูปแบบที่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ ทำให้ไม่เกิดการแยกชั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ หรือเมื่ออยู่ในที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ นอกจากนี้ตัวรับ TOW ยังมีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการปลดปล่อยตัวยาและการซึมผ่านยาได้ดีด้วย TOW gel มีชื่อเรียกต่าง ๆ กันหลายชื่อ เช่น microemulsion gel , clear gel, transparent emulsion gel และ clear resonance gel หรือ ringing gel เนื่องจากเกิดปรากฏการณ์สั่น (ringing) เมื่อเคาะที่ข้างภาชนะ

ส่วนประกอบสำคัญได้แก่ น้ำมัน สารก่ออิมัลชัน สารก่ออิมัลชันรวม (กลุ่มแอลกอฮอล์สารโซ่ยาว) น้ำ และสารปรุงแต่งอื่น ๆ วัตถุดิบน้ำมันที่นิยมใช้กัน เช่น mineral oil, triglyceride และกลุ่ม esters ของ fatty acid เช่น isopropyl myristate, isopropyl palmitate เป็นต้น

สำหรับสารอิมัลชันรวมอาจเป็น cosolubilizer และ coupling agent ก็ได้ หรืออาจเป็นพวกแอลกอฮอล์ เช่น ethanol, long chain alcohol หรืออาจเป็น polyalcohols เช่น glyceride หรือ sorbital หรือ อาจเป็นพวก glycols ก็ได้ สารก่ออิมัลชันรวมช่วยทำให้เกิดไมโครอิมัลชัน และเพิ่มความใส และนอกจากนี้ยังเพิ่มความคงตัว ความข้นหนืด และจุลหาลอมตัวของตัวรับที่ได้

TOW gel ใช้กันมากในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น hair dressing, sunscreen, perfume gels, acne gel เป็นต้น

ส่วนวิธีการเตรียม TOW gel จะเตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำมัน เนื่องจาก TOW gel ประกอบด้วย 2 วัตถุดิบที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ต้องเติมสารก่ออิมัลชันเพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวและความเป็นเนื้อเดียวกันได้

การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์รูปแบบเจล²⁵⁻³²

การประเมินคุณภาพยา เป็นสิ่งจำเป็นต้องมีเพื่อเป็นหลักประกันคุณภาพและความปลอดภัยต่อผู้ใช้ สิ่งจำเป็นที่ต้องประเมินคือ

1. ลักษณะภายนอก
2. สมบัติทางเคมีกายภาพ
3. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์
4. ความคงสภาพของตัวรับ

1. ลักษณะภายนอก

เนื้อเจลควรมีลักษณะใสสวยงาม น่าใช้และน่าสัมผัส เนื้อเจลไม่แข็งกระด้าง ไม่แยกชั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้นาน เมื่อทาลงบนผิวหนังทำให้ผู้ใช้รู้สึกสบายกาย ไม่ควรเป็นมันมากเพราะจะทำให้รู้สึกเหนอะหนะ ไม่เปราะเปื้อนเสื้อผ้า ไม่เกิดการติดสีเมื่อทา ไม่มีกลิ่นฉุน เกะติดกับผิวได้ดี ไม่เป็นพิษ และไม่ระคายเคืองผิวหนัง สามารถล้างน้ำออกได้ง่าย สามารถเตรียมได้ง่าย และรวดเร็ว โดยมีตัวยาสำคัญกระจายตัวอยู่ตัวอย่างสม่ำเสมอ และสามารถใช้อย่างง่าย เช่น ทาผิวหนังได้สะดวก ที่สำคัญควรมีประสิทธิภาพดี เช่น สามารถปลดปล่อยตัวยาได้ดี ในทุก สภาวะของผิวหนังไม่ว่าจะเป็นผิวหนังแห้ง ผิวมัน หรือผิวชื้น

2. คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

2.1 ความหนืดและคุณสมบัติการไหล คุณสมบัติการไหลเกี่ยวข้องกับคุณภาพและความคงตัวและความหนืดของตำรับ การที่ความหนืดเปลี่ยนแปลงจะส่งผลถึงคุณภาพความคงตัว และความรู้สึกของผู้ใช้ต่อผลิตภัณฑ์นั้น

2.2 การสูญเสียและสารระเหยออกจากผลิตภัณฑ์ การสูญเสียและสารระเหยเกิดจากเลือกภาชนะบรรจุที่ไม่ถูกต้องหรือปิดฝาภาชนะไม่ถูกต้องหรือปิดภาชนะไม่สนิททำให้ผลิตภัณฑ์แห้ง แข็งทาผิวได้ยากขึ้น ถ้าสารระเหยเป็นตัวยาสำคัญปริมาณจะลดลงและน้ำหนักสุทธิของผลิตภัณฑ์จะลดลงด้วย

2.3 ค่าความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์ ตำรับเจลที่ดีควรมีค่าความเป็นกรดด่างคงที่ การสลายตัวขององค์ประกอบบางชนิดในผลิตภัณฑ์โดยกระบวนการไฮโดรไลซิส อาจทำให้ค่าความเป็นกรดด่างเปลี่ยนแปลง ดังนั้นการวัดค่าความเป็นกรดด่างจึงเป็นสิ่งสำคัญ

3. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์

ตำรับที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบอาจเกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ซึ่งอาจทำให้ตัวยาเสื่อมสภาพหรือตำรับแยกชั้นได้ ดังนั้นตำรับยาเจลจึงควรมีการเติมสารกันเสียลงในตำรับ อย่างไรก็ตาม การใช้สารกันเสียจะต้องคำนึงถึงปัจจัยที่อาจไปลดประสิทธิภาพของสารกันเสียในตำรับนั้นด้วย จึงต้องมีการตรวจสอบเพื่อมั่นใจได้ว่าไม่มีเชื้อปนเปื้อนในตำรับและปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ตลอดอายุของยา

4. ความคงตัวของผลิตภัณฑ์

เป็นสิ่งสำคัญที่ต้องทดสอบก่อนนำยาออกจำหน่ายเพื่อประสิทธิภาพและความปลอดภัย โดยในการทดสอบนั้นควรทำในภาชนะบรรจุจริงที่จะออกสู่ท้องตลาด เนื่องจาก TOW gel เป็นตำรับที่มีทั้งวัตถุดิบน้ำและน้ำมัน มีสารก่ออิมัลชัน ทำให้เป็นยาพื้นที่ยึดเหนี่ยวมาก รวมทั้งต้องทดสอบความคงตัวของตัวยาต่าง ๆ ที่ประกอบกันขึ้นเป็นอิมัลชันเจล วิเคราะห์ความคงตัวทาง

เคมีของตัวยาสำคัญ คือการใช้ accelerated stability test โดยการนำมารับไปอบที่อุณหภูมิต่าง ๆ แล้วนำมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของตัวยาที่เหลืออยู่ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน เช่น 2, 4, 6, 8, 10, 12 สัปดาห์ จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหา shelf-life หรือระยะเวลาที่มีการสลายตัวของยาร้อยละ 10 โดยใช้สมการของ Arrhenius ปัญหาที่เกิดขึ้นคือ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิความร้อนจะทำให้วัตถุเปลี่ยนแปลง ทำให้ดำรงแยกชั้นได้ ซึ่งมีผลทำให้การวิเคราะห์ตัวยาทำได้ยาก การทดสอบความคงตัวของอิมัลชันจึงไม่มีมาตรฐานที่แน่นอนขึ้นอยู่กับความเหมาะสม และความสะดวกในการทดสอบ ซึ่งมีวิธีทดสอบความคงตัวได้หลายวิธีดังนี้

1. อบที่อุณหภูมิ 40 °C หรือ 50 °C นานอย่างน้อย 3 เดือน
2. อบที่อุณหภูมิ 37 °C นานอย่างน้อย 5-6 เดือน
3. เก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 12-18 เดือน
4. เก็บที่อุณหภูมิ 5 °C นานอย่างน้อย 3 เดือน
5. ผ่าน freeze-thaw cycle หรือ heating-cooling cycle จำนวน 6-8 รอบ ระหว่างอุณหภูมิในช่องแข็งหรืออุณหภูมิ 4 °C และ 45 °C แต่ละอุณหภูมิใช้เวลาไม่น้อยกว่า 48 ชั่วโมง
6. ผ่านการ centrifuge 2000-3000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง
7. ผ่านการเขย่า 60 รอบ/นาที่ ที่อุณหภูมิห้องและที่ 45 °C นาน 24-48 ชั่วโมง

การทดสอบการระคายเคืองผิวหนัง (Primary dermal irritation test) ³³⁻³⁵

การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ใหม่หรือสารใหม่ ถือว่าเป็นการทดสอบที่สำคัญและจำเป็นที่จะต้องกระทำเพื่อป้องกันการเกิดอันตรายต่อผู้ใช้ ผู้ผลิตจึงควรหลีกเลี่ยงการใช้ส่วนประกอบที่อาจจะไม่ปลอดภัยต่อร่างกาย โดยใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพดีที่สุด และถ้ามีการใช้วัตถุดิบที่ค้นพบใหม่จะต้องทำการศึกษาให้ละเอียดก่อนนำมาผสมในผลิตภัณฑ์ว่ามีหลักฐานการทดลองว่าปลอดภัยต่อการใช้ ซึ่งในการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของสารจะทำในสัตว์ทดลองก่อนที่จะทำการทดสอบการระคายเคืองจริงในคน (อาสาสมัคร) สัตว์ทดลองที่นิยมใช้คือ กระต่ายสีขาว (albino rabbit) เพราะว่ากระต่ายค่อนข้างไวต่อการกระตุ้น มีขนาดพอเหมาะ สะดวกต่อการหยิบจับมีรูปแบบของการตอบสนองคล้ายคลึงกันในแต่ละครั้งที่ทดสอบ และมีประวัติการทดสอบค่อนข้างมาก มีหลายการทดลองที่แสดงให้เห็นถึงการนำสัตว์ชนิดอื่นมาประยุกต์ในการทดสอบ เช่น หนูตะเภา หนูขาว บางการทดลองได้กล่าวอ้างถึงว่าการตอบสนองจะลดลงตามลำดับ order ในลำดับขั้นตามวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเซลล์โดยใช้ submerged keratinocyte cultures, human organotypic skin

explant cultures (HOSECs) และ reconstructed human epidermis (RE-HED) มาใช้ในการทดสอบการระคายเคืองผิวหนังเบื้องต้นแทนการใช้สัตว์ทดลอง

แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว³⁶

1. *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 μm เรียงตัวอยู่เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase สามารถสร้าง coagulase และใช้ mannitol ได้ ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ให้โคโลนีสีครีมหรือเหลืองทอง เป็นเชื้อที่เจริญได้ง่ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดธรรมดา ไม่ต้องการอาหารเลี้ยงเชื้อพิเศษ จัดเป็นแบคทีเรียที่มีความทนทานมาก สามารถทนต่ออุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที แต่จะตายที่อุณหภูมิ 100 °C ภายในเวลา 2-3 นาทีแบคทีเรียนี้ก่อให้เกิดโรคในคนได้บ่อยที่สุดเนื่องจากสามารถสร้างสารพิษและเอ็นไซม์ได้หลายชนิด ทำให้สามารถต่อสู้กับกลไกที่ร่างกายใช้ในการกำจัดจุลชีพ การติดเชื้อที่มีสาเหตุจาก *S. aureus* มักเกี่ยวกับทางผิวหนัง ได้แก่ ฝี หนอง สิว รวมถึงการติดเชื้อที่แผลหลังการผ่าตัด

2. *Propionibacterium acnes* เป็น anaerobic bacteria มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ๆ หรือรูปไข่หัวท้ายโตไม่เท่ากัน (club shape) นอกจากนี้อาจพบเป็นรูปง่าม (bifid) ไม่มีสปอร์ เชื้อนี้สามารถทนต่อออกซิเจนได้นานหลายชั่วโมง แต่การเจริญจะใช้เวลา 5-7 วัน โดยเฉพาะสำหรับการเพาะแยกเชื้อครั้งแรก แต่เมื่อเพาะเชื้อครั้งต่อไป การเจริญจะเห็นได้ภายใน 3 วัน อาหารเพาะเชื้อจำเป็นต้องใช้อาหารพิเศษเพื่อช่วยให้เชื้อเจริญรวดเร็วขึ้น และการเพาะเชื้อต้องนำไปใส่ไว้ในภาชนะที่มีบรรยากาศที่ปราศจากออกซิเจน ได้แก่ ตู้ไร้ออกซิเจน (anaerobic chamber) และ/หรือกระป๋องไร้ออกซิเจน (anaerobic jar) จากการสลายน้ำตาลส่วนใหญ่จะได้กรดไพรูวิกและกรดอะซิติก เชื้อ *P. acnes* นี้เป็นเชื้อที่มักอยู่บริเวณผิวหนัง รูขุมขน ต่อมเหงื่อ สามารถทำให้เกิดโรคได้โดยการสร้างเอ็นไซม์ hyaluronidase จึงเป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว

การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ^{36,37} (Antibacterial susceptibility test)

การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ โดยทั่วไปจะหมายถึงการทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro) สามารถทำได้ 2 วิธี คือ dilution method และ diffusion method

1. Dilution method

การทดสอบความไวของเชื้อโดยวิธีนี้นิยมใช้ในการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพซึ่งทำได้ทั้งในอาหารร่วนหรืออาหารเหลว โดยมีหลักการคือ ยาจะถูกเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงในอาหารที่มียา ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือความเข้มข้นต่ำสุดที่มองไม่เห็นการเจริญของเชื้อ วิธีนี้สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) การทำ dilution method สามารถแบ่งได้เป็น 3 แบบ คือ

1.1 Agar dilution

วิธีนี้จะทำการเจือจางยาในอาหารร่วนให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน จากนั้นจึงใส่เชื้อลงไป ความเข้มข้นของยาคต่ำสุดที่เชื้อไม่เจริญ คือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (minimum inhibitory concentration , MIC)

ข้อดี คือ สามารถใช้ได้กับเชื้อหลายชนิดในหนึ่งเพลต และสามารถสังเกตการปนเปื้อนได้

ข้อเสีย คือ ไม่สามารถหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum bactericidal concentration , MBC)

1.2 Macrobrotth dilution

วิธีนี้จะทำการเจือจางยาในอาหารให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน โดยทำในหลอดทดลอง ปริมาตรสุดท้าย เท่ากับ 1-2 มิลลิลิตร

1.3 Microbroth dilution

วิธีนี้จะทำการเจือจางยาในอาหารเหลวให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน โดยทำใน microtiter tray ปริมาตรสุดท้าย เท่ากับ 0.1-0.2 มิลลิลิตร

วิธีที่ 1.2 และ 1.3 มีข้อดีคือ สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้

2. Diffusion method

วิธีนี้อาศัยหลักการแพร่ของยาออกจากภาชนะบรรจุยา เช่น หลุมที่เจาะลงในอาหารร่วน (well) ถ้วยทรงกระบอก (cylinder cup) เม็ดยา (tablet) หรือกระดาษกรองวงกลม (filter paper disc) เข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีเชื้อที่ต้องการทดสอบอยู่ ในขณะที่ยาแพร่เข้าไปในอาหารร่วน แบคทีเรียที่อยู่ในอาหารร่วนและไม่ถูกยับยั้งจะแบ่งตัวจนทำให้เห็นเชื้อเจริญเต็มพื้นที่ ส่วนบริเวณที่ถูกยับยั้งจะไม่มีการเจริญของเชื้อ ดังนั้นจะมองเห็นเป็นวงใส (inhibition zone) รอบ

ภาชนะบรรจุยา ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบ

การศึกษาเวลาในการฆ่าเชื้อ³⁸⁻⁴⁰ (Time killing assay)

เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของยาใหม่และการเปลี่ยนแปลงความไวต่อยาของเชื้อที่มีความสำคัญในทางการแพทย์ วิธีนี้สามารถใช้ตรวจผลของฤทธิ์ต้านจุลชีพที่เกิดขึ้นว่าเป็นชนิดฆ่าทำลายหรือยับยั้ง ด้วยการนำตัวอย่างส่วนหนึ่งของอาหารเหลว ซึ่งมีความเข้มข้นของยาแต่ละชนิดผสมร่วมกับเชื้อมาตรวจนับจำนวนเชื้อในอาหารวุ้น ในระยะเวลาต่าง ๆ ว่ามีเท่าไร อาจใช้เชื้อหลายตัวต่อยาหนึ่งชนิดหรือยาหลายชนิดต่อเชื้อตัวเดียว ก็จะทราบถึงประสิทธิภาพของยานั้นได้ ในการทดสอบจำเป็นต้องเลือกความเข้มข้นของตัวยาแต่ละชนิดที่จะใช้ผสมให้เหมาะสม โดยที่ความเข้มข้นนั้นสามารถเป็นตัวแทนของระดับยาที่ใช้ทางคลินิกได้ วิธีการทำโดยทั่วไปมีดังนี้ นำเชื้อที่เพาะเลี้ยงไว้ค้างคืนมาเจือจางด้วยอาหารเหลวโดยให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland แล้วเจือจางต่อด้วยอาหารเหลวชนิดเดียวกัน ในอัตราส่วน 1: 20 นำอาหารเหลวที่มีเชื้อ 1 ส่วนผสมกับอาหารเหลวที่มียาแต่ละชนิด หรือผสมรวมที่เหมาะสม 9 ส่วน แล้วนำอาหารเหลวที่ผสมรวมแล้วนี้มาเจือจางลง 10 เท่า หลาย ๆ dilution ด้วย 0.9% NaCl เพื่อทำ colony count โดยเริ่มต้นที่ 0 ชั่วโมง แล้วทำเช่นเดียวกันในชั่วโมงต่าง ๆ ต่อมา นำเชื้อที่เจือจางใน dilution ต่าง ๆ มา 0.02 ml เพื่อหยดลงบนอาหารวุ้นที่มีพื้นผิวแห้ง จากนั้นนำไปบ่มเพาะที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น แล้วนำผลไปเขียนกราฟในกระดาษ semilog โดยให้แกน Y เป็นจำนวนโคโลนี และ แกน X เป็นเวลา

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ทาภายนอกรูปแบบเจล/อิมัลชันเจล สำหรับต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *P. acnes* ที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิวอักเสบ
2. เพื่อเตรียมผลิตภัณฑ์รักษาสิวอักเสบจากสารสกัดกระบือเจ็ดตัวที่มีความคงตัวและนำใช้
3. เพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมสารสกัดเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์ สำหรับระดับอุตสาหกรรมต่อไป