บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 สมุนไพรเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย (12, 19, 27)

เอ็คไคนาเซีย (Echinacea) เป็นพืชสมุนไพรที่จัดอยู่ในวงศ์ Asteraceae ซึ่งมีการใช้แพร่หลายในหลายประเทศ มีประวัติการใช้มาเป็นเวลายาวนานในการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น ถูกงูกัด แผลติดเชื้อ เป็นต้น ปัจจุบันผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรเอ็คไคนาเซียจัดอยู่หนึ่งในห้าอันดับแรกของผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรทั้งหมดที่มีการจำหน่ายมากที่สุด โดยนำไปใช้เพื่อลดอาการ และระยะเวลาการเป็นหวัด เนื่องจากความเชื่อที่ว่าสมุนไพรเอ็คไคนาเซียสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งที่มาของคำว่า “เอ็คไคนาเซีย” ตั้งขึ้นจากลักษณะบริเวณส่วนหัวของเมล็ดที่แหลมคมคล้ายขนของเม่น ตรงกับภาษากรีก คือ echinos ที่หมายถึง สัตว์ที่มีคมแหลมคล้ายเม่น พืชในสกุลนี้ที่นิยมใช้แพร่หลายมี 3 ชนิดได้แก่ เอ็คไคนาเซีย แองกุสติโฟเลีย (*Echinacea angustifolia* (D.C.)), เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย (*E. purpurea* (L.) Moench) และ เอ็คไคนาเซีย พอลลิด้า (*E. pallida* (Nutt.) Nutt.) สำหรับเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย มีชื่อสามัญที่เรียกกันมากมาย เช่น ต้นดอกกรวย, ต้นทานตะวันแดง, Black Sampson, Cock Up Hat, Comb Flower, Indian comb, Kansas Coneflower, Purple Coneflower, Red Sunflower และ Rudbeckia เป็นต้น

2.1.1 <u>ลักษณะทางพฤกษศาสตร์</u>

ลักษณะของพืชชนิดนี้เป็นพืชล้มลุกที่มีความสูงประมาณ 10-60 เซนติเมตร ลำต้นตั้งตรง ใบเป็นใบเดี่ยว รูปไข่ (ดูรูป 2-1) รากมีทั้งชนิดตรง และแบบแตกแขนง ลักษณะของดอกจะเกิดจากการรวมตัวของดอกขนาดเล็ก ๆ มากมายขึ้นเป็นรูปกรวย มีหนามแหลมรอบบริเวณส่วนหัว ดอกมีสีชมพูอมม่วง กลีบเลี้ยงมีสีชมพูไปจนถึงสีม่วง (ดูรูป 2-2) เป็นพืชที่เจริญเติบโตช้า แต่มีความทนทาน และสามารถปลูกได้โดยทั่วไปในทุ่งหญ้ากว้างในเขตชนพื้นเมืองของอเมริกา เยอรมัน และแคนาดา แต่ปัจจุบันเริ่มมีการปลูกแพร่หลายในหลายประเทศ รวมถึงประเทศไทย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 2-1 ต้นเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย (*E. purpurea* (L.) Moench)

รูปที่ 2-2 ดอกเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.2 <u>องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย</u> (13, 16, 18, 55)

จากการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง พบว่า เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียมีองค์ประกอบทางเคมีที่มากมายหลากหลาย สามารถสรุปเป็นสารสำคัญหลักดังแสดงในตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 องค์ประกอบทางเคมีของเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย

กลุ่มสาร	สารองค์ประกอบ	ส่วนที่พบ
Alkamides	isobutylamides	ราก และส่วนเหนือดิน
Caffeic acid derivatives	cichoric acid; caftaric acid	ราก และส่วนเหนือดิน
Polysaccharides	4 -O-methylglucurono-arabino-xylan (polysaccharides I); acidic arabinorhamno-galactan; uronic acid	ส่วนเหนือดิน
	xyloglucan	ใบ และลำต้น
Volatile oils	borneol; bornyl acetate; ger-macrene-D; caryophyllene	ส่วนเหนือดิน
สารสำคัญอื่น ๆ	quercetin; kaempferol; iso-rhamnetin; anthocyanins	ส่วนเหนือดิน

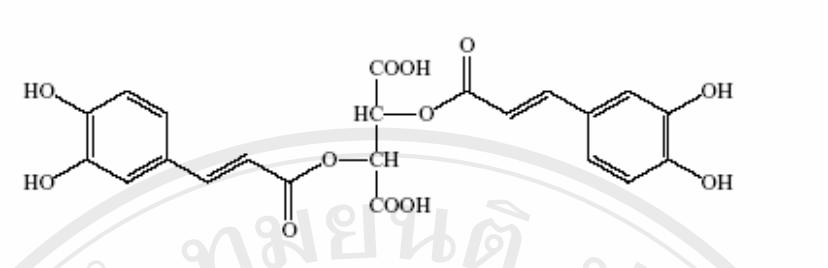
2.1.3 <u>การวิเคราะห์สารสำคัญจากสมุนไพรเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย</u>

จากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับการวิเคราะห์สารสำคัญในพืชสมุนไพรเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียในปัจจุบัน พบว่า มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรนี้ทั้งในส่วนที่ละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว (hydrophilic component) และส่วนที่ละลายในตัวทำละลายไม่มีขั้ว (lipophilic component) โดยในการศึกษาองค์ประกอบเคมีจากส่วนที่ละลายในตัวทำละลายมีขั้วมักศึกษาสารในกลุ่มอนุพันธ์ของ caffeic acid เช่น cichoric acid (ดังรูปที่ 2-3) หรือ caftaric acid (ดังรูปที่ 2-4) เป็นต้น แต่หากเป็นส่วนที่ละลายในตัวทำละลายไม่มีขั้วมักศึกษาสารในกลุ่ม alkamides (ดังรูปที่ 2-5) เช่น isobutylalkylamides หรือ alkylmethylamide แต่ในบางการศึกษาอาจศึกษาสารที่ผสมปนกันอยู่ทั้งสองส่วน โดยการใช้เทคนิค capillary electrophoresis เพื่อแยกสารประกอบทางเคมีที่มีความเป็นขั้วที่แตกต่างกันออกจากกัน

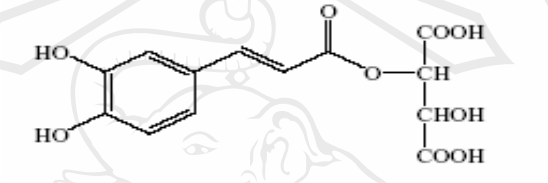
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบฟีโนลิกจากสมุนไพรเอ็คไคนาเซีย ได้แก่ วิธีโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง (thin layer chromatography) โดยอาจใช้วัฏภาคคงที่ (stationary phase) เป็นซิลิกาเจลที่เคลือบด้วยสารเรืองแสง จากนั้นจะตรวจสอบชนิดของสารประกอบฟีโนลิกที่แยกได้โดยการเปรียบเทียบสมบัติต่าง ๆ กับสารประกอบฟีโนลิกมาตรฐาน ไม่ว่าจะเป็นการเรืองแสงภายใต้รังสีอุลตร้าไวโอเลต (ultraviolet) ค่า R_f และการให้สีเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายบางชนิด (54) นอกจากนี้ยังมีการใช้โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ (gas chromatography) ในการตรวจสอบชนิด และหาปริมาณสารประกอบฟีโนลิก โดยใช้อุณหภูมิในการแยกเริ่มจากอุณหภูมิตั้งแต่ 120 - 300°C มีก๊าซไนโตรเจนเป็นตัวพา โดยใช้ตัวจับวัดชนิด flame ionization แล้วเปรียบเทียบเวลาการคงอยู่ (retention time) ของสารประกอบฟีโนลิกที่แยกออกมากับสารประกอบฟีโนลิกมาตรฐาน แต่ส่วนใหญ่วิธีการที่มีการศึกษาผ่านมาแล้วนั้น (13, 35, 45, 53, 64) นิยมการตรวจสอบ และหาสารประกอบปริมาณฟีโนลิกโดยการใช้โครมาโทกราฟีเหลวสมรรถนะสูง (High Pressure Liquid Chromatography : HPLC) ในการศึกษาหาสารสำคัญ คือ cichoric acid หรือในบางการศึกษามีการเปรียบเทียบตำแหน่งที่พบองค์ประกอบหลักของสารตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น การศึกษาหาสารประกอบฟีโนลิกในสมุนไพรเอ็คไคนาเซีย 3 ชนิดคือ เอ็คไคนาเซีย แองกุสติโฟเลีย, เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย และเอ็คไคนาเซีย พอลลิด้า โดยใช้วิธี HPLC และมีสภาวะที่ใช้ คือ คอลัมน์ Lichrospher RP-18 (125 mm × 4 mm i.d., 5 μm) วัฏภาคเคลื่อนที่เป็นแบบเกรเดียน (gradient) โดยการเพิ่มปริมาณ acetonitrile ในสารละลาย phosphoric acid (0.1% v/v) แล้วตรวจวัดสารด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 330 นาโนเมตร พบลักษณะโครมาโทแกรมที่ได้ดังแสดงในรูปที่ 2-7 ซึ่งพบว่า สารสำคัญหลักที่ได้จากเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย คือ cichoric acid ในขณะที่โครมาโทแกรมที่ได้จากพืชอีก 2 ชนิดจะพบสารสำคัญหลัก คือ echinacoside (ดังรูปที่ 2-6) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีโนลิกในเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียจะไม่พบ echinacoside แต่จะพบ cichoric acid เป็นสารสำคัญหลักเท่านั้น(45) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาวิเคราะห์สารสำคัญจากส่วนต่าง ๆ ของพืชเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียพบว่า สารแต่ละชนิดจะพบในปริมาณที่แตกต่างกันไปตามส่วน และสภาวะที่ปลูก หากเป็นสารประเภท alkamides จะพบในส่วนรากมากกว่าในส่วนเหนือดิน ในขณะที่สาร cichoric acid จะพบจากส่วนบนของลำต้นสูงกว่าในส่วนราก ซึ่งการศึกษาต่อมาก็พบผลในลักษณะเช่นเดียวกัน (35)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

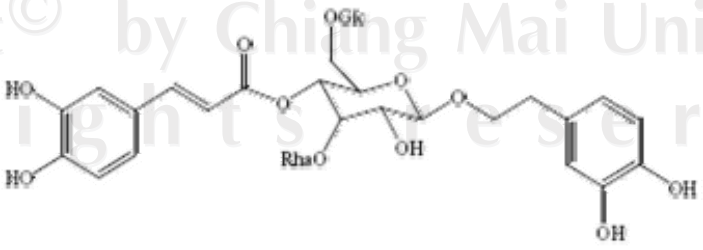


รูปที่ 2-3 สูตรโครงสร้าง cichoric acid



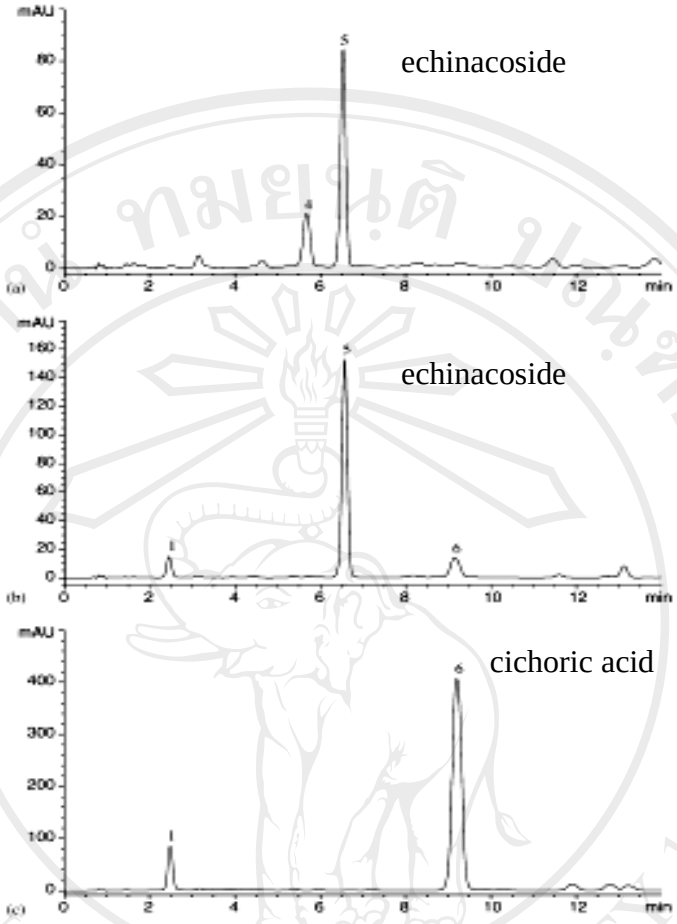
รูปที่ 2-4 สูตรโครงสร้าง caftaric acid

รูปที่ 2-5 สูตรโครงสร้างของสารประเภท alkamides



รูปที่ 2-6 สูตรโครงสร้าง echinacoside

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 2-7 โครมาโทแกรมที่ได้จากสารสกัดจากรากของเอ็คไคนาเซีย แองกุสติโฟเลีย (บน), เอ็คไคนาเซีย พอลลิด้า (กลาง) และ เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย (ล่าง) (45)

2.1.4 <u>การใช้ประโยชน์ในอดีต</u> (19, 27)

ในอดีตมีการนำสมุนไพรเอ็คไคนาเซียมารับประทานสำหรับรักษาไข้ และการติดเชื้อในทางเดินหายใจ นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นยาภายนอก โดยนำส่วนรากมาเคี้ยว หรือคั้นเป็นน้ำสำหรับรักษาแผลงูกัด, แมลงสัตว์กัดต่อย, อาการบวมจากโรคคางทูม, อาการเหงือกบวม ปวดฟัน และแผลไฟไหม้ เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 1800 ประเทศสหรัฐอเมริกา เริ่มมีการนำเอ็คไคนาเซียมาใช้เป็นสารต้านการติดเชื้อสำหรับรักษาโรคคอตีบ, ไข้อีสุกอีใส และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ส่วนในทวีปยุโรปเอ็คไคนาเซียเริ่มได้รับความนิยมในปี ค.ศ. 1920 โดยในประเทศเยอรมันมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ Echinacin® เพื่อนำมาใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต่อมามีการนำสมุนไพรนี้ไปใช้ในอีกหลายประเทศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.5 <u>การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา</u>

สมุนไพรเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียมีองค์ประกอบทางเคมีมากมายหลายชนิด แต่ละชนิดออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่แตกต่างกันโดยสามารถสรุปได้ดังนี้

1. ฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Immunostimulating activity)

จากผลการศึกษาทั้งในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในคน (*in vivo*) พบว่าเอ็คไคนาเซียสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ โดยการเพิ่มประสิทธิภาพของ macrophage ในการทำลายเชื้อโรค แต่ปัจจุบันยังไม่ทราบถึงสารสำคัญที่ให้ฤทธิ์นี้อย่างแน่ชัด แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดที่สกัดได้จากน้ำ, เอทานอล และคลอโรฟอร์ม แสดงฤทธิ์การกระตุ้นการทำงานของ phagocyte ได้ (14, 19) ส่วนของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายไม่มีขั้วให้ผลเพิ่ม carbon clearance ได้ 70% ในขณะที่ส่วนของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายมีขั้วสามารถเพิ่ม carbon clearance ได้มากถึง 90% (14) hydrophilic polysaccharide ที่พบในพืชสมุนไพรชนิดนี้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งของ TNF, interferon-β_2 และ oxygen radicals ได้ (63) ซึ่งคาดว่าฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน อาจจะเกิดจากสาร cichoric acid, alkamides และ polysaccharides นอกจากนี้ยังพบอีกว่าสารสกัดจากส่วนรากให้ฤทธิ์ที่มากกว่าสารสกัดจากส่วนเหนือดิน ทำให้การศึกษาในระยะหลังได้นำส่วนของรากมาศึกษาเป็นส่วนใหญ่ เช่น การศึกษาผงสมุนไพรจากส่วนราก (19) ที่มีปริมาณสารประกอบฟีโนลิกรวม 1.5% (โดยการคำนวณจาก chlorogenic acid) เมื่อนำมาให้แก่หนูทดลองในขนาด 30-100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัมต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า สามารถเพิ่มการต้านทานต่อการแบ่งตัวอย่างผิดปกติของ lymphocyte ในม้ามของหนูทดลองได้ การศึกษาใน *in vivo* ยังพบว่าเมื่อให้สารสกัดจากรากแก่ผู้ทดลองโดยการรับประทานสามารถเพิ่มจำนวนของ natural-killer cells ในคนปกติ และในหนูได้

2. ฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัส (Antiviral activity)

ฤทธิ์ในสารสกัดที่ได้จากน้ำคั้นส่วนบน และรากสามารถต้านเชื้อไวรัส *Herpes simplex* และ influenza ได้ โดยสังเกตจากการกระตุ้น α และ β-interferon และหากนำสารสกัดเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียที่ได้จากราก และส่วนบนของสมุนไพรมาผสมกัน และนำมาทดสอบ โดยแบ่งเป็น 4 ตำรับ ได้แก่ ตำรับแรกมีส่วนผสมของส่วนบนของพืชต่อรากเท่ากับ 95:5 ให้ขนาด 6.78 มิลลิกรัม ตำรับที่ 2 มีส่วนผสมของส่วนบนของพืชต่อรากเท่ากับ 5:95 ให้ขนาด 48.27 มิลลิกรัม ตำรับที่ 3 มีส่วนผสมเฉพาะส่วนรากให้ขนาด 29.60 มิลลิกรัม และตำรับสุดท้ายเป็นยาหลอกซึ่งให้รับประทานยาครั้งละ 2 เม็ดวันละ 3 ครั้ง ในผู้ป่วยที่เป็นไข้หวัดจำนวน 246 คน ผลที่ได้จากการศึกษานี้พบว่า ทั้งตำรับส่วนผสม และตำรับที่มีเฉพาะรากทำให้ระยะเวลาของการเกิดโรคลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ตำรับที่เป็นส่วนผสมจะให้ผลดีกว่าที่เป็นตำรับเดี่ยว ๆ (19) ต่อมาจึงมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาในหนูทดลอง และตั้งตำรับในรูปแบบทิงเจอร์ที่มีความเข้มข้นของ alkamides, cichoric acid และ polysaccharide ที่ความเข้มข้น 0.25/2.5/25.5 mg/ml ตามลำดับ โดยให้ผู้เข้าร่วมทำการศึกษารับประทานตำรับดังกล่าวทันทีที่เริ่มมีอาการเป็นหวัด โดยรับประทานครั้งละ 4 มิลลิลิตรเป็นจำนวน 10 ครั้งภายในวันแรก และภายในวันต่อมาให้รับประทาน 4 ครั้งต่อวันเป็นเวลา 6 วัน โดยจะให้ผสมกับน้ำจำนวนครึ่งแก้ว พบว่า ในกลุ่มที่ได้รับเอ็คไคนาเซียลดระยะเวลาของการเกิดโรคได้มากกว่ากลุ่มที่ได้รับยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญ (28)

3. ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และการสมานแผล (Anti-inflammatory and wound healing activity)

สมุนไพรเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียมีรายงานการศึกษาถึงฤทธิ์ต้านการอักเสบและการสมานแผลได้เป็นอย่างดีโดยพบว่า สารในกลุ่ม alkamides ที่พบในสมุนไพรนี้สามารถยับยั้งการทำงานของ cyclooxygenase และ 5-lipoxygenase รวมถึงแผ่นแปะผิวหนังที่มีสารสกัดจากส่วนเหนือดินเมื่อนำมาใช้ในแผลที่เกิดการอักเสบ สามารถลดอาการบวม และการเกิดเลือดคั่งได้โดยคาดว่าผลที่ได้อาจจะมาจากสารสำคัญ คือ cichoric acid นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ในการสมานแผลจากสมุนไพรนี้ว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์ hyaluronidase ที่เป็นเอนไซม์ที่จะไปทำลาย hyaluronan ทำให้เกิดเป็นรอยแผลเป็นขึ้นหลังจากเกิดบาดแผลได้ (19, 62)

4. ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ (Antimicrobial activity)

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพพบว่า สารสกัดที่ได้จากสมุนไพรชนิดนี้สามารถยับยั้งเชื้อรา โดยสารสกัดจากรากที่ใช้เฮกเซน (hexane) เป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida albicans* และยังพบว่า polysaccharides ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *Listeria monocytogenes* นอกจากนี้สารสกัดจากส่วนรากยังแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* อีกด้วย ซึ่งจากผลดังกล่าวทำให้มีการนำเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียไปใช้ในการรักษาการติดเชื้อราในช่องคลอดของอาสาสมัครหญิงที่ได้รับการตรวจสอบทางห้องปฏิบัติการแล้วว่าติดเชื้อ *C. albicans* จากผลการศึกษาพบว่าสามารถรักษาอาการของโรคให้หายได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสมุนไพร (19)

5. ฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชัน (Antioxidant activity)

ข้อมูลในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันมีอยู่น้อยในระยะแรก แต่หลังจากปี ค.ศ. 1999 เริ่มมีรายงานถึงฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชันจากสมุนไพรชนิดนี้มากขึ้น จากข้อมูลการศึกษาสารประกอบฟีโนลิก ที่จัดเป็นสารชนิดหนึ่งที่มีความสามารถใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การต้านการเกิดออกซิเดชัน จากพืชเอ็คไคนาเซีย 3 ชนิด ได้แก่ เอ็คไคนาเซีย แองกุสติโฟเลีย, เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย และเอ็คไคนาเซีย พอลลิด้า พบว่า ความเข้มข้นของเมทานอลที่เหมาะสมในการสกัดอนุพันธ์ของ caffeic acid จะอยู่ในช่วง 70-90% หากใช้เมทานอลในความเข้มข้นสูง หรือต่ำกว่านี้ ประสิทธิภาพในการสกัดจะลดลง โดยความเข้มข้นของเมทานอลที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสำหรับเอ็คไคนาเซีย แองกุสติโฟเลีย คือ 80% สำหรับเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย และเอ็คไคนาเซีย พอลลิด้า คือ 70% จากการทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity) ของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในหลอดทดลอง ด้วยเทคนิค spectrophotometry โดยอาศัยหลักการจางลงของสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) พบว่า ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดจากมากไปหาน้อย เรียงตามลำดับได้ดังนี้ คือ เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย, เอ็คไคนาเซีย พอลลิด้า และเอ็คไคนาเซีย แองกุสติโฟเลีย (45) นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันจากสารสกัดเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียจากส่วนต่าง ๆ ของพืช คือ ราก, ลำต้น และใบ โดยใช้วิธี DPPH พบว่า สารสกัดจากใบให้ผลในการต้านการเกิดออกซิเดชันสูงสุด ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสาร cichoric acid ที่พบมากที่สุดในส่วนนี้เช่นกัน (57) ส่วนการศึกษาฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดเมทานอลจากรากของพืชสมุนไพรเอ็คไคนาเซียทั้ง 3 ชนิด โดยวิธีอื่นได้แก่ deoxyribose model, copper chelating capacity และ free radical scavenging activity พบว่า พืชทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชันเช่นกัน (31)

2.1.6 <u>รูปแบบ และขนาดของการใช้</u> (16, 19, 20, 38)

เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียสามารถนำมาใช้ได้ทั้งรูปแบบรับประทาน และใช้ภายนอก โดยในเภสัชตำรับของประเทศเยอรมัน (The German Commission E Monographs) ได้ระบุว่า การรับประทานสมุนไพรเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียสามารถรักษาอาการหวัด และการติดเชื้อในทางเดินหายใจได้ และเมื่อนำมาใช้ภายนอก พบว่า เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียสามารถสมานแผลได้ ในปี ค.ศ. 1999 องค์การอนามัยโลกได้ออกข้อกำหนดเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียว่า สามารถรักษาการอักเสบบริเวณผิวหนังได้ด้วย ปริมาณที่ใช้ในการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์เอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียสำหรับการรักษาในสภาวะต่าง ๆ นั้นยังไม่มีการกำหนดอย่างแน่นอน มีเพียงขนาดการใช้อย่างกว้าง ๆ โดยหากใช้ในรูปแบบรับประทานควรใช้น้ำคั้นจากพืชสด 6-9 มิลลิลิตรต่อวัน และสำหรับการใช้เป็นยาเตรียมในรูปแบบกึ่งแข็ง ในตำรับควรจะประกอบไปด้วยน้ำคั้นจากพืชสดอย่างน้อย 15% w/w สำหรับระยะเวลาที่ปลอดภัยในการใช้สมุนไพรทั้ง 2 รูปแบบนี้ มีการระบุว่าไม่ควรใช้ติดต่อกันนานเกิน 8 สัปดาห์ และควรหลีกเลี่ยงการใช้ในผู้ป่วยที่มีภาวะโรคตับ (hepatic disease) หรือโรคที่เกิดความผิดปกติทางระบบภูมิคุ้มกัน (immune disorder)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.7 ความปลอดภัยในการใช้

เอ็คไคนาเซียเป็นสมุนไพรที่ได้รับการจัดอันดับจาก American Herbal Products Association ให้อยู่ใน class 1 ซึ่งแสดงถึงว่าสมุนไพรชนิดนี้มีความปลอดภัยสูงเมื่อนำมาใช้อย่างเหมาะสม จากการทบทวนรายงานการใช้เอ็คไคนาเซียในทั้งในรูปของยารับประทานและยาใช้ภายนอก แม้ว่าอาจจะมีการรายงานถึงการเกิดการแพ้จากการใช้บ้าง แต่ยังไม่มีรายงานการเสียชีวิตจากการใช้สมุนไพรชนิดนี้ (19, 22, 27) และจากรายงานการใช้ในประเทศเยอรมันในช่วงปี ค.ศ. 1989-1995 พบว่า เกิดอาการไม่พึงประสงค์ 13 รายที่สัมพันธ์กับการรับประทาน Echinacin® ที่เตรียมจากส่วนของน้ำคั้นของพืชสมุนไพรชนิดนี้ ต่อมาในปี ค.ศ. 1998 มีรายงานว่า ผู้หญิงคนหนึ่งมีอาการแสบร้อนบริเวณปาก และลิ้นจากการรับประทานยาเตรียมในรูปแบบของเหลว (14, 48) และจากผลการศึกษาในเด็ก และผู้ใหญ่จำนวน 1,231 คนที่มีช่วงอายุตั้งแต่ 2-20 ปีที่ได้รับการรักษาโดยการใช้ Echinacin® lozenges พบการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ 5% จากผู้ทดสอบทั้งหมด (48) นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ในประเทศออสเตรเลียจำนวน 5 ราย โดยแบ่งออกเป็น anaphylaxis 2 ราย, acute asthma attack 1 ราย, recurrent mild asthma 1 ราย และ macropapular rash 1 ราย (41) สำหรับการใช้เป็นยาภายนอกพบการเกิดอาการไม่พึงประสงค์เพียงเล็กน้อย เช่น การเกิดผื่นคันแดงบริเวณที่ใช้สมุนไพร และจากการทดสอบความระคายเคืองในการใช้สมุนไพรในรูปแผ่นแปะที่ผสมสารสกัดเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียในอาสาสมัครจำนวน 1,032 คน พบเพียง 2 คนเท่านั้นที่เกิดการอักเสบ

2.2 การเกิดออกซิเดชันกับความแก่ของผิวหนัง (1, 5, 7, 26)

2.2.1 ความแก่ของผิวหนัง

การเกิดริ้วรอย รอยเหี่ยวย่น หรือการขาดความชุ่มชื้น ความเนียนนุ่มบริเวณผิวหนัง ผิวบางลง สิ่งเหล่านี้เป็นลักษณะภายนอกที่บ่งบอกความแก่ของผิวหนัง ซึ่งมีสาเหตุจากปัจจัยหลัก 2 ประการ คือ

1. ความแก่ซึ่งเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ หรือแก่ตามวัย ความแก่ที่เกิดจากปัจจัยตามธรรมชาตินี้เกิดจากการทำงาน หรือประสิทธิภาพของเซลล์ร่างกายลดลง เช่น ต่อมเหงื่อต่อมไขมันใต้ผิวหนัง มีการทำงานที่ลดลงโดยการขับเหงื่อ หรือขับน้ำมันออกมาน้อยลง การไหลเวียนของเลือดลดลง ตลอดจนเส้นใยคอลลาเจน (collagen fibers) เส้นใยอิลาสติน (elastin fibers) และกรดไฮยาลูโรนิค (hyaluronic acid) มีปริมาณลดลง ทำให้ผิวหนังบางลง หยาบแห้ง และเกิดรอยย่น ขาดความหยืดยุ่น หรือขาดความเต่งตึง โดยจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเมื่ออายุมากขึ้นผิวหนังในคนสูงอายุ หรือคนแก่ (แก่ตามวัย) มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นภายในโครงสร้างของผิวดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.1 ต่อมต่าง ๆ ใต้ผิวหนังทำงานลดลง เช่น ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน ทำให้สาร NMF ในผิวหนัง และไขมันผิวมีปริมาณลดลง เกิดผิวแห้งตามมา และการไหลเวียนของเลือดลดลง

1.2 Langerhan cell มีปริมาณลดลงเหลือ 50% มีผลทำให้ภูมิต้านทานของผิวลดลง ผิวจึงเกิดการแพ้ได้ง่าย

1.3 เส้นใยคอลลาเจน (soluble collagen) และอิลาสติน ซึ่งอุ้มน้ำ และให้ความยืดหยุ่นแก่ผิว มีปริมาณลดลงปีละ 1% (หลังจากอายุ 20 ปีขึ้นไป) พบว่า บางส่วนยังเกิดการแปรสภาพไปเป็น insoluble collagen มากขึ้นซึ่งไม่สามารถอุ้มน้ำ และเสียความยืดหยุ่นไป

1.4 เซลล์สร้างสีผิว (melanocytes) มีปริมาณลดลงประมาณ 10-20% ทุก 10 ปี ทำให้มีเม็ดสีผิว หรือเมลานินในการป้องกันแสงแดดน้อยลง ผิวจึงเกิดการแพ้แดด หรือถูกแดดเผาได้ง่ายขึ้น และทำให้เกิดรอยด่างขาวบนผิว หรือผิวตกกระได้ง่าย

1.5 ขบวนการในการผลัดเปลี่ยนเซลล์ผิว (cell turnover) ลดลง

1.6 ปริมาณเซลล์ในชั้นล่างสุดของหนังกำพร้า (basal cell) ลดลงอย่างมากมีผลทำให้ผิวหนังบางลง ชั้นหนังแท้ก็บางลงด้วย เพราะคอลลาเจน อิลาสติน และกรดไฮยาลูโรนิกลดลง หรือเสื่อมสลาย

2. ความแก่ที่เกิดจากแสงแดด หรืออนุมูลอิสระ ลักษณะทางกายภาพ และสรีระวิทยาของเซลล์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเพิ่มเติมจากความแก่ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติจากปัจจัยภายนอก เช่น แสงแดด การเปลี่ยนแปลงส่วนใหญ่เกิดจากการสัมผัสกับแสงแดดเป็นเวลานาน และ/หรือบ่อย ความแก่ประเภทนี้ไม่สามารถประเมินอายุจริงได้ ซึ่งปัจจุบันนี้พบว่าอนุมูลอิสระเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการทำให้เกิดความแก่ในลักษณะนี้ โดยอาจเกิดขึ้นภายในร่างกายเองจากขบวนการเมตาบอลิสม (metabolism) หรือได้รับอิทธิพลจากภายนอก เช่น แสงแดด, มลภาวะ หรืออาหารที่รับประทานเข้าไป อนุมูลอิสระจะมีผลทำให้เกิดการทำลายเซลล์โดยจะทำให้โครงสร้างทางเคมี และหน้าที่ทางชีวภาพของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน กรดนิวคลิอิค เกิดการเสื่อมสภาพ เกิดพยาธิสภาพต่อร่างกาย ถ้าหากเป็นเซลล์ผิวหนังจะทำให้เซลล์ผิวหนังโดยเฉพาะในบริเวณที่มีไขมันเกิดออกซิเดชัน ทำให้เสียหน้าที่ ผิวหนังสูญเสียความชุ่มชื้น ขาดความยืดหยุ่น เนื่องจากคอลลาเจน และอิลาสตินเกิดการแปรสภาพ และถูกทำลาย ผิวจะแห้ง และเกิดรอยย่นตามมา ดังนั้นหากไม่ต้องการให้เกิดความแก่ในลักษณะนี้จึงควรหลีกเลี่ยงจากปัจจัยเสี่ยงเพื่อป้องกันเซลล์ร่างกายจากการถูกทำลายดังกล่าว ในแง่ของผลต่อผิวหนังนี้สามารถป้องกันได้โดยหลีกเลี่ยงจากแสงแดด และการใช้สารต้านการเกิดออกซิเดชัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.2 <u>การชะลอความแก่</u>

ความแก่ที่เป็นตามธรรมชาติ หรือแก่ตามวัยสามารถชะลอให้เกิดช้าลงได้ หรือฟื้นฟูสภาพผิวให้ดูดีขึ้นได้ โดยการให้สารที่ให้ความชุ่มชื้นเป็นพิเศษต่อผิวหนัง ได้แก่ สารอาหารหรือวิตามินทดแทนส่วนที่ขาดหายไป เป็นต้น ส่วนความแก่เนื่องจากแสงแดด หรืออนุมูลอิสระสามารถป้องกันโดยการหลีกเลี่ยงจากแสงแดด หรือการใช้สารต้านการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นอีกมากมาย เช่น การลอกเซลล์ผิวที่เหี่ยวย่นออกไปด้วยการลอกผิวหน้าด้วยกรดผลไม้ หรือกรดวิตามินเอ เป็นต้น แต่การทำวิธีนี้มีอันตรายดังนั้นจึงต้องอยู่ในความดูแลของแพทย์ เนื่องจากอาจมีผลข้างเคียง เช่น ทำให้ผิวแพ้ง่าย ระคายเคือง เป็นต้น ในที่นี้จึงขอกล่าวถึงเฉพาะสารต้านการเกิดออกซิเดชันซึ่งนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ชะลอความแก่ หรือลดรอยเหี่ยวย่นของผิว

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นคำศัพท์ที่แปลมาจากคำว่า antiradical ปัจจุบันได้ถูกบัญญัติขึ้นใหม่ว่าเป็นสารขจัด หรือกำจัดอนุมูล (radical scavenger) แต่อย่างไรก็ตามก็ยังคงนิยมใช้คำว่าสารต้านอนุมูลอิสระอยู่เช่นเดิม สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ ทำให้สามารถยับยั้ง และควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ สำหรับในสิ่งมีชีวิตระบบการป้องกันการทำลายเซลล์ และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระจะมีอยู่แล้วมากมายหลายชนิด ซึ่งจะทำหน้าที่แตกต่างกันออกไปโดยอนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นตัวป้องกัน และกำจัดการก่อตัวของอนุมูลอิสระ และทำหน้าที่ซ่อมแซมส่วนที่ถูกทำลาย

กลไกในการต้านการเกิดออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารต้านอนุมูลอิสระจะทำลายอนุมูลอิสระโดยการให้ หรือรับอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่สิ้นสุดลง สารต้านอนุมูลอิสระโดยตัวเองจะไม่กลายเป็นอนุมูลอิสระหลังทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ เนื่องจากตัวมันเองมีความคงตัวทั้งในรูปอิเล็กตรอนครบ และอิเล็กตรอนขาด หรือเกินกลไกการต้านการเกิดออกซิเดชันแบ่งได้เป็น 2 กลไก ตามลักษณะการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระ (preventive antioxidant activity) และฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ (free-radical scavenging antioxidant activity)

ฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ออกฤทธิ์ป้องกันไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระตั้งแต่เริ่มต้น ได้แก่ การยับยั้งไม่ให้เกิดอนุมูลที่เหนี่ยวนำทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ การคีเลต (chelate) โลหะทรานซิชัน และการระงับไม่ให้เกิด reactive oxygen species (ROS) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ และโปรตีนในร่างกายที่มีฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระลรวมทั้งวิตามินอี และสารกลุ่มคาโรทีน (carotene)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ โดยการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ขั้นเริ่มต้น (initiation reaction) และทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ขั้นเพิ่มจำนวนอนุมูลอิสระ (chain propagation) สารในกลุ่มนี้ได้แก่ วิตามินอี วิตามินซี แอลบูมิน แคโรทีนอยด์ และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น

ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระในอุดมคติ ควรมีสมบัติที่สำคัญดังนี้คือ มีความเฉพาะเจาะจงสูงในการเข้าจับอนุมูลอิสระโดยตรง และกำจัดอนุมูลให้หมดสิ้นไป รวมถึงไม่มีผลกระทบต่อการแสดงออกของยีนส์ นอกจากนี้ยังมีเกณฑ์ที่สำคัญอื่น ๆ ที่ใช้บ่งชี้ถึงความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี ได้แก่ ความสามารถในการถูกดูดซึม หรือส่งผ่านเข้าสู่ทั้งภายใน ภายนอกเซลล์ และที่เนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยมีความเข้มข้นเพียงพอที่จะสามารถออกฤทธิ์ได้ สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติมีมากมายทั้งในผัก ผลไม้ หรือในสมุนไพรที่มีสารโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบสำคัญจะพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดคาเฟอิค (caffeic acid) ในกาแฟ และแคปไซซิน (capsaicin) ในพริกขี้หนู เป็นต้น

2.3 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังจากสมุนไพร (1-11, 15, 17, 21, 23-24, 33, 39-40, 43, 46-47, 50, 52, 56)

2.3.1 ขั้นตอนการพัฒนาตำรับจากสมุนไพร

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสมุนไพรกำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากจัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่ำ ทั้งยังมีประสิทธิภาพเท่าเทียม หรืออาจสูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีการจำหน่ายทั่ว ๆ ไปที่ทำมาจากสารเคมี โดยการนำสารจากสมุนไพรมาใช้ทางเครื่องสำอางนั้นมีขั้นตอนหลักใหญ่ ๆ ดังต่อไปนี้

1. การกำหนดจุดประสงค์หลัก

ในการนำสารจากธรรมชาติมาใช้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์นั้นจะมีการกำหนดจุดประสงค์หลักในการนำมาใช้อยู่ 2 ประการคือ

1.1 การนำมาใช้เป็นสารช่วยทำหน้าที่ต่าง ๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์รูปแบบตามต้องการ เช่น ใช้เป็นสารลดแรงตึงผิว สารปรับสภาพผิว และผม สารแต่งสี สารแต่งกลิ่น หรือเป็นสารช่วยเพิ่มความหนืด เช่น กัม และพอลิแซกคาไรด์ (polysaccharide) เป็นต้น

1.2 การนำมาใช้เป็นองค์ประกอบในตำรับเพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์มีสมบัติ หรือฤทธิ์ตามต้องการ เช่น สารมอยส์เจอไรเซอร์ (moisturizer) จากพืชที่มีเมือก ไขมันจากพืช หรือสัตว์ ตลอดจนสารที่องค์ประกอบในพืชซึ่งเป็นกึ่งยากึ่งเครื่องสำอาง เช่น แอลคาลอยด์ หรือแทนนิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นต้น องค์ประกอบเหล่านี้มีโครงสร้างทางเคมีซึ่งมีฤทธิ์ต่อร่างกายในแง่ต่าง ๆ เช่น ฝาดสมาน แผล ฆ่าเชื้อโรค ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น

2. กระบวนการในการสกัดสาร

เมื่อสามารถกำหนดจุดประสงค์ในการนำสารจากสมุนไพรมาใช้ได้แล้ว จึงเข้าสู่กระบวนการในการสกัดสารสำคัญจากพืช เพราะในแต่ละส่วนของพืชจะมีองค์ประกอบของสารสำคัญหลายชนิด และอาจมีความแตกต่างในการออกฤทธิ์ ดังนั้นกระบวนการสกัดสารออกจากพืชควรมีขั้นตอนในการเตรียมต่าง ๆ ดังนี้

2.1 การตรวจสอบเอกลักษณ์ และการเตรียมตัวอย่างพืช ขั้นตอนแรกสุด คือ ต้องมีการตรวจเอกลักษณ์พืชเพื่อให้ถูกต้องตามชนิดที่ต้องการ ในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของพืชสามารถตรวจสอบได้หลายด้าน เช่น การตรวจจากลักษณะทางมหภาค (macroscopic examination) คือ การตรวจสอบทางประสาทสัมผัส (organoleptics) ได้แก่ ลักษณะรูปร่าง สี กลิ่น รส โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอ้างอิง หรือการตรวจสอบทางกล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) เพื่อยืนยันว่าเป็นพืชที่ต้องการ หรือไม่ โดยเฉพาะพืชที่มีเม็ดแป้ง หรือเส้นใย จะสามารถแยกความแตกต่างได้ เช่น เส้นผ่าศูนย์กลางของเม็ดแป้งที่ได้จาก ipecacuanha แตกต่างจาก cassia และ cinnamon เป็นต้น นอกจากนี้ควรมีข้อมูลการเพาะปลูก กระบวนการเก็บเกี่ยว การทำให้แห้ง การเก็บรักษาพืชก่อนนำมาใช้ ตลอดจนกระบวนการในการบดผงพืชต้องมีการควบคุมอย่างดี เพื่อมิให้เกิดความแปรผันในการผลิตสารสกัดในแต่ละครั้ง

2.2 การสกัด กระบวนการที่ใช้ในการสกัดสารจากพืชมีหลายวิธี ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ให้เหมาะสม เช่น การเลือกใช้ตัวทำละลายควรเลือกตัวทำละลายที่สามารถสกัดเอาสารสำคัญออกมาให้ได้ฤทธิ์ตรงตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ และต้องศึกษาถึงเทคนิคที่เหมาะกับสมบัติ และสารสำคัญของพืชที่ต้องการ วิธีที่นิยมใช้ในการสกัดพืชในระดับอุตสาหกรรมที่เป็นวิธีที่ง่าย และนิยมใช้กันมาก คือ การหมัก (maceration) วิธีนี้เป็นการสกัดพืชสด หรือแห้งที่ผ่านการบดแล้ว ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมในภาชนะที่ปิดโดยมีการเขย่าเป็นครั้งคราวที่อุณหภูมิที่เหมาะสม อาจใช้เวลาตั้งแต่ 2-3 ชั่วโมง จนถึง 3 สัปดาห์แล้วแต่ชนิดของพืช แต่โดยส่วนใหญ่นิยมหมักเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงนำไปกรองพร้อมกับมีการบีบตัวทำละลายออกจากกากจนหมด อาจต้องทำซ้ำหลายครั้งเพื่อให้ได้สารสำคัญออกมามากที่สุด วิธีนี้อาจดัดแปลงโดยการกวนผสมเพื่อช่วยให้สารสกัดเร็วขึ้น เพราะทำให้เซลล์พืชแตกออก สารสกัดจากวิธีนี้มักอยู่ในรูปของเหลวซึ่งเจือจาง และมีปริมาณมาก จึงอาจต้องนำไปเตรียมให้ได้เป็นสารสกัดเข้มข้นก่อน เพื่อลดปริมาตร และสะดวกต่อการนำไปแยกส่วน หรือผสมในผลิตภัณฑ์ต่อไป ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี เช่น การระเหยแห้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ หรือการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศด้วยเครื่องมือ rotary evaporator เป็นต้น

3. การควบคุมคุณภาพสารสกัดจากพืช

สารสกัดจากพืชสามารถควบคุมคุณภาพโดยการตรวจสอบด้วยวิธีโครมาโทกราฟีซึ่งมีหลายชนิด เช่น โครมาโทกราฟีชนิดผิวบาง (Thin Layer Chromatography : TLC) หรือโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) เป็นต้น ในการเลือกวิธีวิเคราะห์ในการตรวจสอบสารสำคัญจากสารสกัดพืชด้วยวิธีใดนั้น แต่ละวิธีจะมีข้อดี และข้อเสียแตกต่างกันออกไป ควรเลือกให้เหมาะสม และคำนึงถึงปริมาณสารซึ่งสามารถตรวจหาได้จากเทคนิคต่าง ๆ ด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 ขีดจำกัดของเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารสำคัญในพืช

เทคนิค	**ปริมาณที่สามารถตรวจพบได้**
spectrophotometry	0.1-1 ไมโครกรัม
spectrofluorimetry	0.001-0.01 ไมโครกรัม
standard TLC	0.01-0.1 ไมโครกรัม
HPTLC	0.01 ไมโครกรัม
HPLC	1-10 นาโนกรัม
GC	0.01-0.1 นาโนกรัม
GC/MS	0.01 นาโนกรัม

4. การทดสอบฤทธิ์ หรือสมบัติของสาร

เพื่อยืนยันว่าสารสกัดที่ได้มีสมบัติ หรือฤทธิ์ตามที่ต้องการ หรือไม่ จึงต้องมีการทดสอบฤทธิ์ โดยอาจเริ่มจากการทดลองเบื้องต้นในหลอดทดลอง เช่น การทดสอบฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชันโดยใช้วิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity เป็นต้น หากได้ผลดีจึงจะนำมาทดสอบทางคลินิกโดยใช้สัตว์ทดลอง หรือมนุษย์เป็นขั้นตอนต่อไป

การทดสอบฤทธิ์ หรือสมบัติของสารสำหรับการศึกษาความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันสามารถทำได้หลายวิธีดังตัวอย่างต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

วิธีการทดสอบวัดความสามารถของสารสกัดในการขจัด $ABTS^{\bullet+}$ เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลมาตรฐาน trolox โดยใช้หลักการ electron transfer (ET) คือ การหาความสามารถในการส่งผ่านอิเลคตรอนไปรีดิวซ์ (reduce) สารอื่น ซึ่งสารบ่งชี้ที่ใช้ในวิธีนี้สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ทั้ง 2 แบบ โดยการเกิดรีดักชันโดยตรงด้วยกลไก ET และการขจัดอนุมูลอิสระด้วยกลไก hydrogen atom transfer (HAT) วิธีนี้เป็นการวัดความสามารถในการขจัด $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีความคงตัวโดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี หากสารที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระนั้น ๆ ลดลง ซึ่งการวิเคราะห์นี้จะสังเกตได้ชัดเจนจากสีที่จางหายไป

อนุมูลอิสระต้นแบบที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) หรือ $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งเกิดจากการออกซิเดชันของ ABTS โดยใช้ oxidizing agent คือ potassium persulfate และอนุมูลอิสระจะลดลงเมื่อสารที่ทดสอบเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจน (hydrogen-donating agent) ที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ จากนั้นจึงทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

$$ABTS + K_2S_2O_8 \longrightarrow ABTS^{\bullet+} \longleftarrow \text{สารทดสอบ}$$

$ABTS^{\bullet+}$ → สีน้ำเงินเขียว วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร

หลังจากวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วจึงนำไปคำนวณหาค่า % inhibition ตามสมการดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = \left(\frac{Abs.control - Abs.sample}{Abs.control} \right) \times 100$$

โดย *Abs.control* คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอลที่ผสมกับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ และ *Abs.sample* คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ผสมกับสารสะลาย $ABTS^{\bullet+}$

ผลจากการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลมาตรฐาน trolox ที่เรียกว่าค่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่าย ปกติจะใช้เวลาประมาณ 5 นาที การวิเคราะห์ทำได้ในช่วง pH ที่กว้าง และสามารถใช้ในการวิเคราะห์สารทดสอบที่มีคุณสมบัติทั้ง lipophilic และ hydrophilic รวมไปถึงฟลาโวนอยด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(flavonoids), hydrocinnamates, carotenoids และ plasma antioxidants อย่างไรก็ตามวิธีนี้ก็มีข้อเสีย คือ การทดสอบนี้จะเป็นการวิเคราะห์สีที่จางลงซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบมากกว่าเกิดจากอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นใหม่ ทำให้ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ และระยะเวลาที่ทำปฏิกิริยากับ $ABTS^{\bullet+}$ มีผลต่อการทดสอบโดยวิธีนี้

วิธี DPPH

วิธีการนี้มีหลักการคล้ายกับวิธี TEAC คือ อาศัยการออกซิไดซ์ของสารที่ทำให้เกิดสี คือ 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งสารนี้เป็นสารอนุมูลอิสระที่เสถียร และมีสี โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร สารใดก็ตามที่มีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH นี้ได้จะส่งผลให้สีของ DPPH ที่แสดงออกมาลดลง และค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ก็จะลดลงด้วย ดังนั้นหากสารสกัดสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ก็จะลดลงจากปกติ และแปลผลโดยการนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาค่าร้อยละของการจับกับอนุมูลอิสระ (% scavenging) ดังสมการ

$$\% \text{ scavenging} = \left[\frac{Abs._{DPPH} - Abs._{sample}}{Abs._{DPPH}} \right] \times 100$$

โดย $Abs._{DPPH}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH ที่ไม่ได้ผสมสารที่ต้องการทดสอบ

$Abs._{sample}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH ที่ผสมสารที่ต้องการทดสอบ

วิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

การทดสอบนี้เป็นการทดสอบโดยตรงเพื่อวัดความสามารถในการเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันรวมทั้งหมด (total antioxidant power) โดยวัดความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว เสียค่าใช้จ่ายน้อย และแม่นยำ โดยใช้พื้นฐานความรู้ว่า สารต้านการเกิดออกซิเดชันในร่างกายมีทั้งที่เป็นโลหะ และเอนไซม์ หลักการทดสอบของวิธีนี้ คือ ภายใต้สภาวะความเป็นกรด สารประกอบเชิงซ้อน ferric-tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) มีสีเริ่มต้น คือ สีม่วงอ่อนจะถูกสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรีดิวซ์ไปกลายเป็น ferrous-tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ซึ่งจะมีสีม่วงเข้มโดยสามารถวัดการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร ดังปฏิกิริยาที่แสดงข้างล่าง จากค่าการดูดกลืนแสงของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Fe^{2+}-TPTZ ที่เพิ่มขึ้นสามารถนำมาคำนวณหาค่า reducing power โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Fe^{2+}-TPTZ ซึ่งบอกถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารที่นำมาทดสอบได้

$$Fe^{3+}\text{-TPTZ} \longrightarrow Fe^{2+}\text{-TPTZ}$$

<u>การทดสอบความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Lipid peroxidation)</u>

อนุมูลอิสระสามารถทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุล เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ ในปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระกับไขมันที่มีลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และทำให้ไขมันเสื่อมสลายเป็นสารกลุ่มอัลดีไฮด์ คีโตน และเพอร์ออกไซด์ของไขมัน (lipid peroxide, LOOH) ตามปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของไขมันที่เกิดจากอนุมูลอิสระดังนี้

$$LH + R^{\cdot} \longrightarrow L^{\cdot} + RH$$
$$L^{\cdot} + O_2 \longrightarrow LOO^{\cdot}$$
$$LOO^{\cdot} + LH \longrightarrow LOOH + L^{\cdot}$$
$$LOOH \longrightarrow LO^{\cdot} + LOO^{\cdot}$$

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของไขมัน จะอาศัยการวัดปริมาณของเพอร์ออกไซด์ของไขมันที่เกิดขึ้นหลังจากการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชัน หากสารทดสอบมีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันจะทำให้เพอร์ออกไซด์ของไขมันที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าวลดลง

<u>การหาปริมาณสารประกอบฟีโนลิกรวม (total phenolics content) โดยวิธี Folin-Ciocalteu</u>

สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง (7) การศึกษาถึงปริมาณรสารประกอบฟีโนลิกรวมจึงมีความสัมพันธ์กับความจุของสารต้านการเกิดออกซิเดชัน (antioxidant capacity) และมักทำควบคู่กับการทดสอบหาฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชัน ปริมาณรวมสารประกอบฟีโนลิกรวมนี้สามารถหาได้โดยวิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งอาศัยการเกิดสีจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารประกอบฟีโนลิกจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารละลายคาร์บอเนต และสาร Folin-Ciocalteu จะถูกรีดิวซ์กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีเขียวอมเหลือง จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปโดยวิธีสเปกโตรโฟโตรเมตรีที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.2 รูปแบบผลิตภัณฑ์ยา และเครื่องสำอางที่ใช้ภายนอกที่ได้รับความนิยม

ครีม

ครีมเป็นยาเตรียมกึ่งแข็งกึ่งเหลว ที่ใช้สำหรับภายนอกร่างกาย จัดเป็นระบบอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำกับน้ำมัน โดยมีตัวผสานให้วัฏภาคทั้งสองเข้ากันเรียกว่า สารทำอิมัลชัน (emulsifier) ครีมสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดตามลักษณะการกระจายตัวของวัฏภาค คือ

1. ครีมชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water, o/w) เป็นครีมที่มีน้ำมันเป็นวัฏภาคภายใน ครีมชนิดนี้มีข้อดี คือ ล้างออกง่ายด้วยน้ำ เพราะมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก เมื่อทาครีม เนื้อครีมจะแทรกซึมเข้าสู่ผิวได้ดีจนแทบไม่ทิ้งร่องรอยไว้ และเมื่อน้ำระเหยออกไปทำให้รู้สึกเย็นภายหลังการทา นิยมใช้ในการเตรียมครีมสำหรับเครื่องสำอาง และยาเตรียมต่าง ๆ

2. ครีมชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil, w/o) หรือบางครั้งเรียกว่า ครีมน้ำมัน ครีมชนิดนี้จะช่วยทำให้ผิวหนังอ่อนนุ่ม เพราะน้ำมันที่เป็นวัฏภาคภายนอกจะครอบคลุมผิวหนังป้องกันการสูญเสียความชุ่มชื้นได้

การที่จะเลือกเตรียมเป็นครีมชนิดใดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สมบัติของตัวยา, จุดมุ่งหมายการใช้ครีม และสภาวะผิวหนัง เป็นต้น ดังนั้นหากต้องการเตรียมครีมเป็นชนิดใดต้องคำนึงถึงประโยชน์ที่ต้องการใช้ ตัวอย่างเช่น หากต้องการเตรียมในลักษณะของเครื่องสำอางมักนิยมใช้เป็นครีมชนิดน้ำมันในน้ำ เพราะตัวยาที่ผสมอยู่จะซึมผ่านผิวหนังได้ดี ทาแล้วเย็นสบาย ไม่เป็นมัน และล้างออกได้ง่าย

ส่วนประกอบของตำรับครีม

วัฏภาคน้ำมัน ประกอบด้วยไขมัน และน้ำมันชนิดต่าง ๆ ทั้งจากธรรมชาติ และการสังเคราะห์ ความเข้มข้นที่ใช้จะแตกต่างกันขึ้นกับความหนืดที่ต้องการ สารที่ใช้เป็นน้ำมันในครีมนอกจากจะทำหน้าที่เป็นวัฏภาคภายนอก และวัฏภาคภายในแล้ว ยังทำให้ครีมมีลักษณะอ่อนนุ่มและเนื้อเนียน

วัฏภาคน้ำ จะประกอบด้วยน้ำ, สารคงความชื้น (humectant), สารกันเสีย (preservative) และสารแต่งสี (coloring agent) จะเห็นว่านอกจากน้ำแล้วสารอื่นซึ่งประกอบในวัฏภาคนี้ก็ยังมีความสำคัญในการเป็นตัวทำละลาย และยังสามารถกักเก็บความชื้น หรือน้ำไว้ให้ครีมไม่ให้ระเหยออกไป เมื่อทาผิวหนังก็มีส่วนทำให้ผิวหนังชุ่มชื้น และอ่อนนุ่มด้วย

สารทำอิมัลชัน สารนี้จะทำหน้าที่เป็นตัวผสานให้วัฏภาคน้ำ และน้ำมันอยู่รวมกันได้ สารทำอิมัลชันนี้เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทหนึ่งซึ่งโมเลกุลจะมีทั้งส่วนที่ชอบ และไม่ชอบน้ำ ดังนั้นสารนี้จึงอยู่ระหว่างรอยต่อของน้ำกับน้ำมัน ทำให้แรงตึงผิวลดลงเกิดเป็นอิมัลชันขึ้นได้ ซึ่งโดยทั่วไปในการเลือกสารทำอิมัลชันมาใช้จะออกฤทธิ์ได้ 2 อย่างคือ ลดแรงตึงผิว และควบคุมการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เกิดอิมัลชันว่าจะเป็นชนิดใด ซึ่งการทำให้เกิดเป็นชนิดใดขึ้นอยู่กับค่า HLB (Hydrophilic Lipophilic Balance) ของสารทำอิมัลชัน ความสมดุลของทั้งสองส่วนนี้จะบ่งชี้ชนิดครีมได้ โดยทั่วไป ครีมชนิด o/w จะได้จากตัวผสานที่มีค่า HLB ประมาณมากกว่า 10 ขึ้นไป และครีมชนิด w/o จะได้จากตัวผสานที่มีค่า HLB ประมาณ 3-6 และค่าการละลายในวัฏภาคของตัวผสานก็เป็นปัจจัยสำคัญ วัฏภาคที่ตัวผสานละลายได้ดีจะเป็นวัฏภาคภายนอก ตัวผสานที่มีค่า HLB สูงจะสามารถละลายน้ำได้ดี จึงให้ครีมชนิด o/w ในขณะที่ตัวผสานที่มีค่า HLB ต่ำจะสามารถละลายน้ำมันได้ดี จึงให้ครีมชนิด w/o

เจล

เจลเป็นรูปแบบของผลิตภัณฑ์ทาผิวหนังที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางชนิดหนึ่ง โดยเจลจะมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว โดยอาจเป็นระบบการกระจายที่เกิดจากการแขวนตะกอนของอนุภาคอินทรีย์ขนาดเล็ก หรือเป็นโมเลกุลของสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ที่กระจายอยู่ในตัวกลางของเหลวซึ่งมักเป็นน้ำ

ในการพัฒนาตำรับเจลเป็นกระบวนการที่ไม่มีความยุ่งยาก แต่สิ่งที่จำเป็นต้องทราบ คือ สมบัติต่าง ๆ ของสารก่อเจลที่จะนำมาเป็นยาพื้นเจล และสมบัติของยาที่ต้องการนำมาพัฒนาว่าสามารถเข้ากันได้ หรือไม่ โดยสารก่อเจลที่ใช้ในทางเภสัชกรรมได้มาจากทั้งธรรมชาติ, กึ่งสังเคราะห์ และสังเคราะห์ ผู้พัฒนาตำรับควรจะทราบสมบัติบางประการที่สำคัญ ๆ ของสารก่อเจล ได้แก่ การละลาย ความเป็นกรดด่าง ความคงตัว และลักษณะการไหล เมื่อทราบถึงสมบัติต่าง ๆ ของสารที่จะนำมาทำยาพื้นเจล และตัวยาแล้ว ควรทราบวัตถุประสงค์ของการเตรียมเจลนั้น ๆ เพื่อจะได้พัฒนาให้ได้ตามต้องการ เช่น หากต้องการเตรียมเป็นเจลสำหรับทาผิวหนัง ยาพื้นเจลส่วนใหญ่ที่ใช้ควรมีลักษณะการไหลแบบ pseudoplastic และควรมีสมบัติ thixotropic ร่วมด้วย เพื่อทำให้มีคุณสมบัติในการทาผิวหนังที่ดี (spread ability) ปราศจากความมัน ล้างน้ำออกได้ง่าย และควรเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใส และในตำรับควรเติมสารที่ช่วยดูดซึมผ่านผิวหนัง คือ enhancer เพื่อช่วยเพิ่มการดูดซึมผ่านผิวหนังโดยการทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบของชั้นสตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) ในผิวหนังทำให้เพิ่มการแทรกซึมเข้าสู่ผิวหนังได้มากขึ้น

ตัวอย่างสารก่อเจล

Methylcellulose (MC) เป็นเซลลูโลสสายยาวที่ถูกแทนที่ในตำแหน่ง hydroxyl group ให้อยู่ในรูป methyl ether ประมาณ 27-32% มีหลายเกรดขึ้นอยู่กับระดับในการเกิด polymerization ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10,000-220,000 Da ซึ่งระดับการถูกแทนที่จะมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของ MC ด้วย สารนี้จะมีลักษณะเป็นผงขาวนวล เมื่ออยู่ในน้ำจะให้สารละลายข้นหนืดที่เป็นเจล ปริมาณที่มักใช้เตรียมเจล คือ 2-4% การเตรียมเป็นเจลอาจทำโดยทำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ให้ผง MC ชื้น หรือเปียกด้วยน้ำจำนวนหนึ่งในสามของน้ำทั้งหมด ให้ความร้อนจนเดือด ถ้าผงยังเปียกไม่ทั่ว หรือจับกันเป็นก้อนให้ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำที่เหลือซึ่งทำให้เย็นจัด คนจนเป็นเนื้อเดียวกัน หรืออาจเตรียมโดยการโปรยผงลงทีละน้อยอย่างช้า ๆ ลงในน้ำเดือดปริมาตร 10 เท่าของผงพร้อมทั้งคนไปด้วยอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 2 ชั่วโมงเติมน้ำที่เหลือแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 16 ชั่วโมง

Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) เป็นสารก่อเจลกึ่งสังเคราะห์ที่ได้จากการปรับปรุง methylcellulose ด้วย propylene glycol มีความหนืดอยู่หลายระดับ สามารถละลายในน้ำเย็นให้ของเหลวหนืดคล้าย methylcellulose ถ้าให้ความร้อนของเหลวจะหนืดขึ้นและมีลักษณะแข็งขึ้นเป็นวุ้น แต่เมื่อทิ้งให้เย็นความหนืดจะลดลง ลักษณะของเจลที่ได้จะเป็นของเหลวหนืดที่ใส และแทบไม่มีเส้นใยปะปน

Carboxyvinyl polymer carboxypolymethylene (Carbopol) เป็นสารโพลิเมอร์ (polymer) ที่ได้มาจาก acrylic resin กับ polyalkenyl ether โดยถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจาก carboxylic acid 66-68% มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ลักษณะเป็นผงฟูสีขาว และดูดความชื้นได้ง่ายเมื่อกระจายตัวในน้ำ และจะมีฤทธิ์เป็นกรด ทั้งนี้เพราะในโมเลกุลมีหมู่ carboxyl group อยู่มาก ถ้าหากทำการสะเทินด้วยด่าง เช่น sodium hydroxide (NaOH), triethanolamine หรือ diisopropanolamine จะทำให้มีความหนืดเพิ่มขึ้น สารนี้จะมีความหนืดน้อยมากที่ pH ต่ำกว่า 3 หรือมากกว่า 12 carbopol 934, 940 และ 941 มีความหนืดคงตัวดีในช่วง pH 5.5-11.0, 4.5-11.0 และ 3.5-11.0 ตามลำดับ ปริมาณ carbopol ยาพื้นเจลที่ใช้เตรียมเพื่อใช้เป็นยาหล่อลื่นมักใช้ประมาณ 0.3-1% ในขณะที่ยาพื้นเจลที่เตรียมเพื่อเป็นยารักษาโรคผิวหนังมักใช้ประมาณ 0.5-5% การเตรียมเป็นเจลทำได้โดยการเติม carbopol ละลายลงในน้ำทีละน้อย และคนอย่างรวดเร็ว ลักษณะเจลที่ได้จากสารชนิดนี้มีข้อดี คือ ใส, ไม่เป็นอันตราย, ไม่ก่อให้เกิดการแพ้ เมื่อทาบนผิวหนังจะให้แผ่นฟิล์มที่แข็งแรง สังเกตไม่เห็น และไม่แตกเป็นเกล็ด

Polyvinyl alcohols มีหลายชนิดแตกต่างกันตามความหนืด และค่า saponification นิยมใช้ในการเตรียมเจลที่ต้องการให้แห้งเร็ว แผ่นฟิล์มที่ค้างอยู่บนผิวจะแข็งแรง และยืดหยุ่นได้ดี ตัวยาจะสามารถติดได้ดีกับผิวหนัง อีกทั้งยังทำหน้าที่ป้องกันผิวได้โดยไม่ต้องใช้วัสดุพันแผลปิดทับ ปริมาณที่ใช้ในการเตรียมเจลจากการใช้สารก่อเจลชนิดนี้มักใช้ประมาณ 10-20%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.3 <u>การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับทาภายนอกสำหรับผิวหนัง</u>

การทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาภายนอกสำหรับผิวหนังจะแตกต่างกันไปตามรูปแบบของผลิตภัณฑ์นั้น แต่สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ขั้นตอนที่เหมือนกันดังต่อไปนี้

1. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (Laboratory test)

เป็นการประเมินผลขั้นต้นโดยการตรวจสอบจากสมบัติต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ว่าเข้าตามเกณฑ์มาตรฐานที่ตั้งไว้ หรือไม่ เช่น การทดสอบด้านประสาทสัมผัสโดยดูจากสี, กลิ่น, ความนุ่มนวล, ความเนียนของเนื้อครีม, การกระจายตัว และการดูดซึม, การทดสอบสมบัติทางกายภาพเคมีจากสมบัติการไหล, pH, หรือการทดสอบสมบัติทางกายภาพ เช่น การแยกชั้น และการเกิดการตกตะกอน เป็นต้น

ตัวอย่างการทดสอบในห้องปฏิบัติการ เช่น การวัดความหนืด หรือการศึกษาพฤติกรรมการไหล มักใช้เครื่องมือชนิด rotational viscometer เช่น rotating spindle viscometer หรือ cone-plate viscometer ได้แก่ Brookfield viscometer เป็นต้น การศึกษาการไหลนี้เป็นการศึกษาโดยให้แรงขนาดต่าง ๆ และติดต่อกัน จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ซึ่งอิมัลชันทางเครื่องสำอางส่วนใหญ่มีการไหลแบบ non-newtonian ซึ่งอาจเป็นแบบ plastic, pseudoplastic หรือ thixotropic ก็ได้ โดยทั่วไปหากเป็นอิมัลชันชนิด w/o ที่เตรียมใหม่ ๆ จะเกิด flocculation ขึ้นความหนืดที่ได้จะลดลงจนคงที่ใช้เวลาประมาณ 5-15 วัน แต่หากเป็นชนิด o/w เมื่อเตรียมเสร็จใหม่ ๆ จะเกิด flocculation ขึ้นเช่นเดียวกัน แต่ความหนืดจะเพิ่มขึ้นทันทีต่อมาเมื่อทิ้งไว้นานขึ้น ขนาดอนุภาคจะใหญ่ขึ้น ความหนืดจะลดลง กล่าวคือ อิมัลชันที่ตั้งทิ้งไว้นาน ความหนืดจะลดลงตามเวลา อิมัลชันมีขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น แสดงว่าอิมัลชันนั้นมีอายุสั้น นอกจากนี้หากอิมัลชันเกิดการกลับวัฏภาคจากชนิด o/w เป็น w/o และไม่คงสภาพ ค่าความหนืดก็จะลดลงด้วย ดังนั้นการวัดความหนืดจึงเป็นประโยชน์ในงานต่าง ๆ ได้มาก เช่น ทำนายลักษณะยาเตรียมในขณะที่ผ่านไปในเครื่องมือต่าง ๆ ในโรงงานอุตสาหกรรม, ใช้สำหรับคัดเลือกสูตรยาขั้นต้นในการตั้งตำรับยาเตรียม หรือใช้ควบคุมเปรียบเทียบสมบัติการไหลของยาเตรียมที่ผลิตขึ้นในแต่ละครั้ง

2. การทดสอบด้านความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ (Stability test)

การทดสอบความคงสภาพในตำรับครีม และอิมัลชันเป็นสิ่งจำเป็น เพราะผลิตภัณฑ์ที่ดีเมื่อผลิตเสร็จใหม่ ๆ อาจเปลี่ยนแปลงไปภายหลังการเก็บไว้ระยะเวลานานก่อนถึงผู้ใช้ เนื่องจากอาจถูกกระทบกระเทือนโดยปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ การขนส่ง แสง เป็นต้น สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นไม่เป็นที่ยอมรับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือหมดความเชื่อถือต่อผู้บริโภค ซึ่งวิธีการทดสอบแบ่งเป็น 2 สภาวะ คือ การทดสอบในสภาวะแบบระยะยาว และสภาวะเร่ง

การทดสอบแบบระยะยาว (Long-term test) ในการตรวจสอบจะเก็บครีม หรืออิมัลชันไว้ในสภาวะปกติที่ใกล้เคียงกับสถานที่ขายผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด จากนั้นทำการตรวจดูการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นทุก ๆ เดือน โดยการสังเกตที่สี, กลิ่น, ลักษณะภายนอก, pH, การเกิดการแยกชั้น หรือการตกตะกอนของครีม เป็นต้น ถ้าไม่มีปัญหา หรือการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นจะเก็บตัวอย่างนั้นไว้ 2 ปี สำหรับมาตรฐานของ มอก. 152-2518 นั้นให้เก็บตัวอย่างไว้ในสภาวะที่ระบุไว้เป็นเวลา 6 เดือน แล้วเก็บตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นมาใหม่ โดยคุณสมบัติที่ต้องเปรียบเทียบ คือ สี กลิ่น ลักษณะอื่นที่ปรากฏทั่ว ๆ ไปโดยคิดคะแนนจากผู้ทดสอบอย่างน้อย 10 คน ความหนืดในกรณีของเหลวข้น การแยกชั้นของของเหลวในกรณีที่เป็นยาเตรียมที่มีส่วนผสมของน้ำกับน้ำมัน และ pH

การทดสอบในสภาวะเร่ง (Accelerated storage test) เนื่องจากการทดสอบแบบระยะยาวจะต้องใช้เวลานาน จึงต้องใช้การทดสอบในสภาวะเร่งนี้มาใช้ เพื่อย่นระยะเวลาในการทดสอบให้ลดน้อยลง และเพื่อเป็นแนวทางให้ทราบผลการทดสอบ แต่ผลที่ได้ไม่สามารถที่จะนำมาแปลผลเหมือนกับการเก็บไว้ในสภาวะปกติได้ร้อยเปอร์เซนต์ การทดสอบนี้สามารถแบ่งได้เป็น 3 วิธีใหญ่ ๆ ได้แก่

1. การทดสอบในสภาวะอุณหภูมิที่ผิดปกติ (testing at non-ambient temperature) อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการเร่งสลายตัวของสารเคมี ซึ่งพบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้น 10°C จะเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาเป็น 2 เท่า เช่น การทดสอบ 3 เดือนที่ 40°C เท่ากับ 12 เดือนที่ 20°C แต่การเร่งโดยอุณหภูมิจะใช้ในการแปลผลมาที่สภาวะปกตินั้นยังไม่เป็นที่ยอมรับ เพราะเมื่ออุณหภูมิสูงจะทำให้การละลายของอิมัลชันเปลี่ยนแปลงไป อาจทำให้เกิดการแยกชั้น หรือกลับวัฏภาค แต่อย่างไรก็ตามในการคัดเลือกสูตรอิมัลชันที่ดียังคงนิยมใช้การเร่งด้วยอุณหภูมิ เพราะหากอิมัลชันสามารถคงทนต่อความร้อนได้ดีมักคงทนต่อสภาวะอุณหภูมิปกติได้ดีด้วย การทดสอบในสภาวะเร่งแบบนี้จะใช้อุณหภูมิไม่เกิน 50°C ที่นิยมใช้ คือ ระหว่าง 45-50°C ในช่วงระยะเวลา 1-3 เดือน สำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทครีม และโลชันทาหน้า และทาผิว ตามมาตรฐานเครื่องสำอาง มอก.152-2518 กำหนดความคงสภาพต่อความร้อนเมื่อเก็บตัวอย่างไว้ไม่เกิน 60 วันที่อุณหภูมิ 37±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 70±5 นาน 8 ชั่วโมงโดยตัวอย่างจะต้องไม่มีการแยกชั้น

สำหรับการทดสอบโดยใช้อุณหภูมิต่ำ อิมัลชันที่เก็บไว้ในที่เย็นอาจแยกชั้นเนื่องจากสารทำอิมัลชันอาจจะตกตะกอนที่อุณหภูมิต่ำ ถ้าเย็นมากน้ำจะจับตัวกันกลายเป็นน้ำแข็ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เกิดเป็นเกล็ดโตขึ้นแยกออกมาจากน้ำมันได้ จึงเป็นการเร่งการสลายของอิมัลชันได้ การทดสอบจะทำโดยการเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C เป็นระยะเวลานาน 1-3 เดือน แล้วนำมาประเมินผล และในบางครั้งอาจใช้การทดสอบแบบการสลับอุณหภูมิต่ำสลับกับอุณหภูมิสูง ซึ่งสามารถทำได้ 2 ลักษณะ คือ Heating & Cooling cycle ทำโดยการเก็บอิมัลชันในตู้เย็น (4°C) นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำเข้าตู้อบที่ 45°C อีก 48 ชั่วโมงนับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบรวมทั้งสิ้น 6-8 รอบ การทดสอบอีกลักษณะหนึ่ง คือ Freeze-Thaw cycle สามารถทำได้โดยการเก็บอิมัลชันในช่องแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C นาน 48 ชั่วโมงแล้วนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 25°C นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบทั้งสิ้น 6-8 รอบเช่นกัน

2. การทดสอบที่แรงเหวี่ยงสูง (testing at high gravitational force) การทดสอบแบบนี้อาจทำได้โดยการปั่นเหวี่ยง หรือการเขย่า การปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วสูงนี้จะเร่งการตกตะกอนของอิมัลชันได้ตาม Stoke's equation เช่น การใช้ความเร็วที่มากกว่า 25,000 รอบต่อนาทีจะทำให้อิมัลชันแยกออกเป็น 3 ชั้นได้ ตามมาตรฐาน มอก. 152-2539 ได้กำหนดให้ใช้วิธีทดสอบสำหรับครีม โฟม และโลชัน โดยจะต้องใส่ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบในปริมาณพอเหมาะลงในหลอดทดลองสำหรับหมุนเหวี่ยงด้วยอัตราการหมุน 6,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที จะต้องไม่พบการแยกชั้นจึงจะถือว่าผ่านการทดสอบ

3. การทดสอบภายใต้แสง UV (testing under UV light) การเร่งโดยการใช้แสงอาจเร่งให้เกิดการซีดจาง การเปลี่ยนสี หรือปฏิกิริยาเคมีบางชนิด สารแต่งสี กลิ่น น้ำมันบางชนิดในสูตรตำรับอาจสลายตัว โดยแสงทำให้อิมัลชันมีลักษณะเปลี่ยนไปจากเดิม ตามมาตรฐานอุตสาหกรรม มอก. 152-2539 กำหนดการทดสอบโดยใช้เครื่องเร่งสภาวะที่มีแหล่งกำเนิดแสงเป็นหลอดซีนอนโดยทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 40±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65±5 โดยให้วางตัวอย่างทั้งภาชนะบรรจุในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นนาน 72 ชั่วโมง แล้วตรวจดูลักษณะที่เปลี่ยนไป เช่น กลิ่น, สี, ความข้นเหลว, การแยกชั้น และการจับตัวเป็นก้อน เป็นต้น

แม้ว่าวิธีการทดสอบแบบเร่งจะคิดเทียบไปหาผลของการเก็บรักษาตามปกติไม่ได้ก็ตาม แต่การทดสอบเหล่านี้ก็มีประโยชน์มาก ถ้าผลการทดสอบปรากฏว่า ผลิตภัณฑ์ยังคงสภาพเดิม ก็สามารถเชื่อได้ว่าผลิตภัณฑ์นั้นจะไม่เสียเมื่อเก็บไว้อุณหภูมิปกติในช่วงเวลาหนึ่ง

3. การทดสอบด้านการใช้ผลิตภัณฑ์ (Performance test)

การทดสอบด้านนี้เป็นการทดสอบว่าผลิตภัณฑ์ให้ผลตรงตามวัตถุประสงค์ของการใช้ หรือไม่ โดยการให้อาสาสมัครทดลองใช้ผลิตภัณฑ์ เช่น ครีมทาผิว ทาแล้วเกิดความพึงพอใจ หรือไม่ โดยอาจใช้การประเมินด้วยแบบสอบถามเพื่อดูผลตามเกณฑ์ที่ได้ตั้งไว้ การทดสอบด้านการใช้ผลิตภัณฑ์แบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอนแล้วแต่ความจำเป็น ได้แก่ การทดสอบในห้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปฏิบัติการ, การทดสอบในสถานที่เสริมสวย และการทดสอบโดยให้ตัวอย่างแก่ผู้ทดลองใช้ แล้วจึงนำข้อมูลที่ได้มาประเมินผลเพื่อใช้เป็นแนวทางในการค้นคว้า และปรับปรุงตำรับต่อไป

4. การทดสอบผลต่อร่างกาย (Physiological test)

แม้ว่าผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายรุนแรงต่อผู้ใช้เหมือนยาเตรียมในรูปแบบรับประทาน แต่การทดสอบปฏิกิริยาของผลิตภัณฑ์ต่อร่างกายก็ถือว่าเป็นการทดสอบที่สำคัญ และจำเป็นที่จะต้องทำเพื่อป้องกันการเกิดอันตรายต่อผู้ใช้ ผู้ผลิตจะต้องทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ของตนก่อนนำออกขายในท้องตลาดว่าทำให้เกิดการแพ้ หรือไม่ ซึ่งในการทดสอบการระคายเคืองสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การทดสอบในคน มักจะใช้วิธีที่เรียกว่า patch test ในการทดสอบถ้าผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นทำให้เกิดอาการแพ้ ผู้ผลิตจะต้องทำการทดสอบ patch test ต่อสารที่สงสัยว่าจะทำให้เกิดการแพ้ ซึ่งวิธีนี้เรียกว่า diagnostic test ต่อสารที่สงสัยในความแรงที่เท่ากันกับที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ ถ้าพบการแพ้เกิดขึ้นก็อาจพิจารณาเอาสารตัวที่ทำให้เกิดการแพ้ออกได้ สำหรับวิธีที่สองจะใช้การทดสอบในสัตว์ทดลอง การทดสอบอาจทำได้ 3 วิธีคือ primary irritation tests, sensitization หรือ allergy tests และ eye-irritation tests

ปัจจุบันมีเครื่องมือที่ทันสมัยเข้ามาช่วยในการประเมินประสิทธิภาพเครื่องสำอางที่ใช้สำหรับการชะลอความแก่ ที่ให้ผลที่รวดเร็ว และยังลดความเสี่ยงจากอันตราย และการเกิดรอยแผลเป็นอีกด้วย ตัวอย่างวิธีที่นิยมใช้มีดังนี้

การวัดความสามารถในการลดรอยเหี่ยวย่น โดยการวัดแบบนี้นิยมใช้เทคนิคในการถ่ายแบบจากผิวหนังร่วมกับการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบอิเลคตรอนสแกน (Scanning electron microscope) และถ่ายรูป วิธีนี้สามารถวัดความกว้าง ความยาวของริ้วรอยก่อน และหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์แล้วระยะหนึ่ง ส่วนของผิวหนังที่นิยมใช้ทดลอง คือ บริเวณปลายแขนซึ่งเป็นบริเวณที่ได้รับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อม และมีเหงื่อออกน้อยเหมาะกับการถ่ายเพื่อเป็นแบบผิวหนัง เครื่องมือที่นำมาใช้ทดสอบ เช่น เครื่อง skin visiometer® เครื่องมือนี้จะใช้หลักการพื้นฐานของการส่องผ่านของแสงเข้าสู่บริเวณตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ และถ่ายภาพด้วยกล้องที่มีความละเอียด 640 x 480 พิกเซลออกมาเป็นภาพ 3 มิติ จากนั้นจึงนำภาพที่ได้ไปคำนวณตามสมการของ Lambert & Beer's law และแปลผลออกมาเป็นความลึกของรอยเหี่ยวย่นบนผิวหนัง

$$\phi_{ex} = \phi_{in} \times e^{-kd}$$

โดยที่ d = ระยะห่างจากแสงถึงตัวอย่าง

k = ค่าคงที่ของการดูดกลืน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวัดความสามารถในการให้ความชุ่มชื้น ปริมาณน้ำที่เหมาะสมในชั้นสตราตัมคอร์เนียม เป็นปัจจัยหลักในการรักษาความอ่อนนุ่ม และความยืดหยุ่นของผิวหนัง เทคนิคที่ใช้ในการวัดมีหลายวิธี เช่น การวัดความสามารถในการดูดความชื้น (hygroscopicity) และความสามารถในการรักษาน้ำ (water-holding capacity) ซึ่งโดยทั่วไปเราจะประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ให้ความชุ่มชื้นใน 3 หัวข้อ คือ ปริมาณน้ำในผิวหนังก่อน และหลังทาผลิตภัณฑ์, ความสามารถในการดูดความชื้นได้สูงสุดก่อน และหลังจากทาผลิตภัณฑ์ และการประเมินความสามารถในการรักษาน้ำของผิวหนังที่ระยะเวลาต่าง ๆ เครื่องมือที่นำมาใช้ทดสอบ เช่น เครื่อง Corneometer เป็นต้น

การวัดความสามารถในการผลัดเปลี่ยนเซลล์ผิวหนัง และทำให้เซลล์เก่าหลุดลอกไป เราสามารถวัดอัตราการเปลี่ยนเซลล์ผิวหนังใหม่ได้โดยวิธี dansyl chloride ซึ่งเป็นการย้อมสีโปรตีนในชั้นแกรนูลาร์ด้วย dansyl chloride แล้วนำมาทาบนผิวหนัง ปิดทับด้วยแผ่นปิดกั้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากลอกแผ่นปิดกั้นออกจะเห็นการติดสีฟลูออเรสเซนต์ของ dansyl chloride โดยดูด้วยตะเกียงแร่ควอทซ์ (quartz mineral lamp) นำผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทดสอบมาทาผิวหนังบริเวณนั้นวันละ 2 ครั้ง แล้ววัดการหลุดลอกของสีทุกวัน จำนวนวันที่หลุดลอกจนหมดจะแสดงถึงอัตราเร็วของการผลัดเปลี่ยนเซลล์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved