



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

### โครงการวิจัย

การพัฒนาสูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง  
สำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

Development of film forming transdermal spray containing Mahajak remedy oil  
for anti-bacterial activity

โดย  
อ.สมพร ผลกระโทก

สนับสนุนโดย  
สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต

2567

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยเรื่องการพัฒนาสูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังสำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร.ดร.ณัฐพล ถนงค์ช่างแสง ที่ให้ข้อเสนอแนะและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัยฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ดร. นันทพงศ์ จำทอง และนายณัฐวรธรณ์ จันคณา ผู้เสียสละเวลาร่วมทำศึกษาวิจัยร่วมกัน รวมถึงเป็นที่ปรึกษาหาข้อมูลเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง

ขอขอบพระคุณวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย และที่สำคัญที่สุดคือขอขอบคุณสถาบันวิจัยมหาวิทยาลัยรังสิต ที่ได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของงานวิจัยด้านสมุนไพร โดยการให้งบประมาณและกำลังของเจ้าหน้าที่ในการสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ ให้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ด้วยดี

นางสาว สมพร ผลกระโทก

นักวิจัยหลัก



**ชื่อเรื่อง:** การพัฒนาสูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังสำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

**ผู้วิจัย:** นางสาวสมพร ผลกระโทก

**สถาบัน:** วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก

**ปีที่พิมพ์:** 2567

**สถานที่พิมพ์:** มหาวิทยาลัยรังสิต

**แหล่งที่เก็บรายงานวิจัยสมบูรณ์:** มหาวิทยาลัยรังสิต

**จำนวนหน้างานวิจัย:** 81 หน้า

**คำสำคัญ:** ยาน้ำมันมหาจักร ยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

**ลิขสิทธิ์:** มหาวิทยาลัยรังสิต

### บทคัดย่อ

ยาน้ำมันมหาจักรเป็นตำรับยาน้ำมันในตำราพระโอสถพระนารายณ์ ถูกใช้รักษาแผลเรื้อรัง แก้เปื่อยคัน และทาแก้ปวดเมื่อย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์จากตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังเพื่อฆ่าเชื้อก่อโรคที่ผิวหนัง โดยทำการออกแบบการทดลองแบบ Full-factorial design ( $2^3$ ) ทำการเตรียม 24 ตำรับ ประเมินผลค่าความหนืด ค่าแรงตึงผิว และค่าสัมพัทธ์ผิวจากการศึกษาพบว่าตำรับ MJ2 มีคุณสมบัติที่ดี ประกอบด้วย 3% MJOil, 5% Eudragit S100 เป็นสารกึ่งฟิล์ม PEG400 และ 1,3-butylene glycol (3:1) เป็นพลาสติกไซเซออร์ และใช้ EtOH:Acetone (4:1) เป็นตัวทำละลายให้สารละลายกึ่งฟิล์มใสสีเหลืองอ่อน มีค่าแรงตึงผิว  $19.49 \pm 0.04$  และค่าสัมพัทธ์ผิว  $14.2 \pm 0.42$  มีลักษณะการกระจายตัวบนพื้นผิวได้ดี ให้ลักษณะแผ่นฟิล์มใส มีความยืดหยุ่นและล้างออกได้ง่าย เมื่อสเปรย์ลงบนผิวสามารถแห้งภายในระยะเวลา  $5.58 \pm 0.39$  นาที มีค่าความเป็นกรด-ด่าง  $4.78 \pm 0.159$  การศึกษาเสถียรภาพของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 และ  $45^\circ\text{C}$  จำนวน 6 ชั่วโมง พบว่า มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง  $4.78 \pm 0.159$  โดยที่  $4^\circ\text{C}$  เกิดตะกอนสีขาวขุ่น เขย่าไม่คืนตัว และที่  $45^\circ\text{C}$  เมื่อเก็บเป็นระยะเวลานานความหนืดเพิ่มขึ้น การศึกษาการซึมผ่านของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม ด้วยวิธี Franz diffusion cell เปรียบการซึมผ่านผ่านหนังหมูแรกเกิดและ cellulose acetate membrane ที่เวลา 24 hr มีค่าการซึมผ่านของสาร piperine ต่อพื้นที่หน้าตัด  $0.0612 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  และ  $0.4798 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ตามลำดับ

**Title: Development of film forming transdermal spray containing Mahajak remedy oil for anti-bacterial activity**

**Researcher: Miss Somporn Phonkrathok**

**Affiliation: College of Oriental Medicine**

**Year of Publication: 2024**

**Publisher: Rangsit University**

**Source: Rangsit University**

**No. of pages: 81 pages**

**Keywords: Mahajak remedy oil, Film forming transdermal spray, Anti-bacterial activity**

**Copyrights: Rangsit University**

### **Abstract**

Mahajak remedy oil is a remedy in Tamra-Osodpranarai. It is used for relieving pain, and skin infection as a Thai traditional medicine. This study investigated was to develop Mahajak remedy oil transdermal spray on antibacterial activities on skin. Full-factorial design ( $2^3$ ) was designed and 24 formulations were formulaed containing Eudragit S100 as a film-forming agent, plasticizer and other excipients. The formulations were evaluated for their viscosity, contact angle and surface tension. The resulted of this study, the MJ2 formulation prepared by using 5%Eudragit S100 as a film-forming agent, PEG400 and 1,3-butylene glycol (3:1) as plasticizer and EtOH:Acetone (4:1) as a solvent. The film forming solution containing Mahajak remedy oil showed the value contact angle  $19.49 \pm 0.04$  and surface tension  $14.2 \pm 0.42$ , the film elasticity and easy drying. The spray solution formed to be a film within  $5.58 \pm 0.39$  mins and a pH of  $4.78 \pm 0.159$ . The stability of the film forming solution containing Mahajak remedy oil was investigated for six cycles at  $4^\circ\text{C}$  and  $45^\circ\text{C}$ . The resulted showed that MJ2 solution still had a pH of  $4.78 \pm 0.159$ . At  $4^\circ\text{C}$ , a white sludge was observed. At  $45^\circ\text{C}$ , the viscosity of the spray film solution increased in relation to the storage time. The skin permeation efficiency was investigated by using the Franz diffusion cell method and of the film forming solution containing Mahajak remedy oil was permeated though the pig skin at  $0.0612 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  and cellulose acetate membrane at  $0.4798 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  for 24 hr.

## สารบัญ

|                                                                                                                                            | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย                                                                                                                            | ก    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ                                                                                                                         | ข    |
| กิตติกรรมประกาศ                                                                                                                            | ค    |
| สารบัญ                                                                                                                                     | ง    |
| สารบัญตาราง                                                                                                                                | ช    |
| สารบัญภาพ                                                                                                                                  | ณ    |
| บทที่ 1 บทนำ                                                                                                                               | 1    |
| ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา                                                                                                             | 1    |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย                                                                                                                    | 1    |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ                                                                                                                  | 3    |
| ขอบเขตของการวิจัย                                                                                                                          | 3    |
| กรอบแนวคิดในการวิจัย                                                                                                                       | 3    |
| นิยามศัพท์                                                                                                                                 | 4    |
| บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง                                                                                                     | 5    |
| 2.1 สมบัติทางเคมีของตัวรับ (Chemical properties)                                                                                           | 18   |
| 2.2 สมบัติเคมีกายภาพของตัวรับ (Physicochemical properties)                                                                                 | 18   |
| บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย                                                                                                                   | 8    |
| 3.1 สารเคมีและสารมาตรฐาน                                                                                                                   | 21   |
| 3.2 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ                                                                                                              | 21   |
| 3.3 วิธีการวิจัย                                                                                                                           | 22   |
| 3.4 การเตรียมตัวรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม (Film-Forming Solution)                                                  | 23   |
| 3.4.1 การทดสอบการละลายของน้ำมันมหาจักรกับ Plasticizer ในตัวทำละลายต่างๆ                                                                    | 23   |
| 3.4.2 การเตรียมตัวรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนึ่ง                                                             | 24   |
| 3.5 การออกแบบการทดลอง (Experimental design)                                                                                                | 25   |
| 3.6 การพัฒนาตัวรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนึ่ง                                                                | 26   |
| 3.7 การประเมินลักษณะทางกายภาพของตัวรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนึ่ง (Physical evaluation of spray formulation) | 27   |
| 3.7.1 ลักษณะทางกายภาพ (Appearance)                                                                                                         | 27   |

|                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.7.2 การวัดความเป็นกรดต่างของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม                                                                    | 27 |
| 3.7.3 การวัดค่าความหนืดของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม                                                                        | 27 |
| 3.7.4 ค่าแรงตึงผิว (Surface tension) และค่ามุมสัมผัสที่ผิว (contact angle, $\theta$ )                                                                | 28 |
| 3.8 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของตำรับยาน้ำมันมหาจักร                                                                                               | 28 |
| 3.9 การหาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐาน Piperine ในน้ำมันมหาจักรด้วยเทคนิค HPLC                                                                       | 29 |
| 3.9.1 วิธีการเตรียมตัวเคลื่อนที่ (Mobile phase)                                                                                                      | 29 |
| 3.9.2 วิธีการเตรียมสารมาตรฐาน (Piperine) และสารตัวอย่างน้ำมันมหาจักร                                                                                 | 29 |
| 3.10 การพัฒนาวิธีการควบคุมคุณภาพตำรับยา                                                                                                              | 30 |
| 3.10.1 การพัฒนาวิธีการควบคุมคุณภาพตำรับ                                                                                                              | 30 |
| 3.10.2. การประเมินวิธีวิเคราะห์ (method validation)                                                                                                  | 30 |
| 3.11 การวิเคราะห์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มร่วมกับสารสกัดด้วยเครื่อง FT-IR (Fourier-transform infrared spectroscopy)                                      | 31 |
| 3.12 การทดสอบการปลดปล่อยและซึมผ่านของตำรับ Film-forming solution                                                                                     | 32 |
| 3.13 การทดสอบความคงตัวของตำรับ                                                                                                                       | 33 |
| 3.14 วิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activities)                                                                               | 33 |
| 3.14.1 การทดสอบฤทธิ์ของแผ่นฟิล์มเบื้องต้นด้วยวิธี disc diffusion                                                                                     | 33 |
| 3.14.2 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC)                                                                                     | 33 |
| 3.14.3 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC)                                                                                   | 34 |
| 3.15 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (Statistical analysis)                                                                                               | 34 |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล                                                                                                                      | 35 |
| 4.1 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับยาน้ำมันมหาจักร                                                                                               | 35 |
| 4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมหาจักรด้วยวิธี GC-MS                                                                                    | 35 |
| 4.3 ผลการเตรียมตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง                                                                         | 37 |
| 4.4 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ และผลการวัดค่าความหนืด แรงตึงผิว และมุมสัมผัสที่ผิวของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง | 38 |
| 4.4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มสูตรทดลอง                                                                                                 | 38 |
| 4.4.2 ผลการวัดค่าความหนืด ค่าแรงตึงผิว และค่ามุมสัมผัสที่ผิวของสารละลายสูตรทดลอง                                                                     | 40 |
| 4.5 การวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่อค่าความแปรปรวนของตำรับ                                                                                                 | 42 |



|                                                                                                                                | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 4.6 การเลือกโมเดลจากสูตรทดลองที่เหมาะสม                                                                                        | 43   |
| 4.7 การพัฒนาวิธีควบคุมคุณภาพตำรับยาน้ำมันมหาจักร                                                                               | 47   |
| 4.7.1 การวิเคราะห์หารอยพิมพ์โครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูงของสารสกัดยาน้ำมันมหาจักร                                            | 47   |
| 4.7.2 การวิเคราะห์หารอยพิมพ์โครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูงของตำรับยาน้ำมันมหาจักรและสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบในตำรับ      | 51   |
| 4.7.3 การประเมินวิธีวิเคราะห์ (Method validation)                                                                              | 53   |
| 4.7.4 ผลการวิเคราะห์หา Piperine ในตำรับยาน้ำมันมหาจักรและตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง         | 54   |
| 4.8 ผลการศึกษาพิษระเคมิที่เกิดขึ้นของแผ่นฟิล์ม                                                                                 | 54   |
| 4.9 ผลการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาในหลอดทดลอง                                                                                      | 56   |
| 4.10 การทดสอบความคงตัวของตำรับ                                                                                                 | 60   |
| 4.11 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย                                                                                         | 61   |
| 4.11.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ของแผ่นฟิล์มเบื้องต้นด้วยวิธี disc diffusion                                                             | 61   |
| 4.11.2 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) และทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) | 62   |
| บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย                                                                                                         | 63   |
| ข้อเสนอแนะ                                                                                                                     | 63   |
| เอกสารอ้างอิง                                                                                                                  | 64   |
| ภาคผนวก                                                                                                                        | 69   |
| ประวัติผู้วิจัย                                                                                                                | 70   |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |                                                                                                                                                                                                   | หน้า |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1        | ส่วนประกอบของสมุนไพรในตำยาน้ำมันมหาจักรและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา                                                                                                                                      | 7    |
| 2        | ตารางการสุ่มตัวอย่างและการออกแบบการทดลองโดยโปรแกรม Minitab 16                                                                                                                                     | 26   |
| 3        | ค่าความหนืดและ ค่า pH ของน้ำมันมหาจักรที่เตรียมได้                                                                                                                                                | 35   |
| 4        | องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมหาจักรด้วยเทคนิค GC/MS                                                                                                                                                 | 36   |
| 5        | ตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (% w/v)                                                                                                                             | 38   |
| 6        | สมบัติทางกายภาพของน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (n=3)                                                                                                                    | 39   |
| 7        | ผลการวัดค่าความหนืด ค่าแรงตึงผิว และค่ามุมสัมผัสที่ผิวของสารละลาย                                                                                                                                 | 41   |
| 8        | ผลการวิเคราะห์ผลของค่ามุมสัมผัสที่ผิวและค่าแรงตึงผิวของสารละลายต่อค่าความแปรปรวนของตำรับ                                                                                                          | 42   |
| 9        | วิเคราะห์ผลของปัจจัยต่อค่าความแปรปรวนของตำรับต่อของสารละลาย                                                                                                                                       | 42   |
| 10       | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมการพหุนามกำลังสองของ Contact Angle versus Film Former, Total Plasticizer, The Ratio Plasticizer หลังลดรูปปัจจัย; $R^2 = 95.98\%$                                    | 44   |
| 11       | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมการพหุนามกำลังสองของ Surface tension versus Film Former, Total Plasticizer, The Ratio Plasticizer; $R^2 = 54.97\%$                                                  | 45   |
| 12       | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมการพหุนามกำลังสองของ Viscosity versus Film Former, Total Plasticizer, The Ratio Plasticizer; $R^2 = 97.34\%$                                                        | 46   |
| 13       | อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 1                                                                                                                                                       | 47   |
| 14       | อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 2                                                                                                                                                       | 47   |
| 15       | อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 3                                                                                                                                                       | 49   |
| 16       | อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 4                                                                                                                                                       | 50   |
| 17       | อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 5                                                                                                                                                       | 51   |
| 18       | ผลการทดสอบความแม่นยำในวันเดียวกันและระหว่างวันของสารมาตรฐาน Piperine                                                                                                                              | 53   |
| 19       | ผลการทดสอบความถูกต้องของสารมาตรฐาน Piperine                                                                                                                                                       | 53   |
| 20       | ผลการทดสอบเพื่อหาค่า LOD และ LOQ                                                                                                                                                                  | 54   |
| 21       | ความคงสภาพแบบระยะยาวของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (MJ2) เก็บไว้ที่ ที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 48 h แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 48 h ทำซ้ำ 6 ครั้ง | 61   |



| ตารางที่ |                                                                    | หน้า |
|----------|--------------------------------------------------------------------|------|
| 22       | ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี <b>disc diffusion</b> | 61   |
| 23       | ค่า MIC และ MBC (mg/mL)                                            | 62   |



# สารบัญภาพ

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                                                                                            | หน้า |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1      | โครงสร้างทางเคมีของ Eudragit® S100                                                                                                                                                                                                         | 16   |
| 2      | โครงสร้างทางเคมีของ PEG                                                                                                                                                                                                                    | 16   |
| 3      | โครงสร้างทางเคมีของ ethanol                                                                                                                                                                                                                | 17   |
| 4      | โครงสร้างทางเคมีของ acetone                                                                                                                                                                                                                | 17   |
| 5      | โครงสร้างทางเคมีของ isopropyl alcohol                                                                                                                                                                                                      | 18   |
| 6      | ประเภทของความสามารถในการเปียกบนพื้นผิว                                                                                                                                                                                                     | 18   |
| 7      | มุมสัมผัสของหยดสารละลาย                                                                                                                                                                                                                    | 19   |
| 8      | ขั้นตอนการเตรียมตำรับยาน้ำมันมหาจักร (a) ทอดผิวมะกรูด (b) วัตถุดิบน้ำมันมะกรูด (c) ทอดด้วยไฟอ่อนจนกระทั่งผิวมะกรูดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (d) กรองกากด้วยตะแกรง (e) ทอดสมุนไพรชนิดอื่นๆด้วยไฟอ่อน (f) กรองน้ำมันที่ได้ด้วยกระดาษกรองน้ำมัน (g) | 23   |
| 9      | การประเมินลักษณะทางกายภาพของยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (a) การประเมินระยะเวลาที่ตัวทำละลายระเหยไป (b) การประเมินความสามารถในการยึดเกาะผิวหนังของแผ่นฟิล์ม (c) ลักษณะขวด spray ที่ใช้ในการประเมิน             | 24   |
| 10     | การเตรียมตำรับยาน้ำมันโดยมีการชั่งโดยใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (a) และเครื่อง vortex (b) ตำรับยาน้ำมันรูปแบบยาพ่นละอองฝอยที่เตรียมได้ตำรับ MJ1.1-MJ8.3 (c)                                                                                  | 27   |
| 11     | เครื่อง Viscometer (a) และ pH meter (b)                                                                                                                                                                                                    | 28   |
| 12     | เครื่องวัดมุมสัมผัสที่ผิว (Contact Angle Tester) (a) Gas tight syringe ขนาด 500 µL (b) และลักษณะหยดของสารละลายที่หยดลงบนกระจกใสได้ในการทดสอบหาค่า contact angle (c)                                                                        | 28   |
| 13     | อุปกรณ์และตัวทำละลายที่ใช้เตรียมตัวเคลื่อนที่ (a) เครื่องกรองตัวทำละลาย (b) และเครื่องสั่นความถี่สูง (Sonicator) (c)                                                                                                                       | 29   |
| 14     | วิธีการชั่งสารตัวอย่าง (a) กรองสารตัวอย่าง (b) ขวด vial ใส่สารตัวอย่าง (c) และเครื่อง HPLC (d)                                                                                                                                             | 30   |
| 15     | วิธีการชั่งสารตัวอย่าง (a) วิธีทำสารตัวอย่างให้แห้ง (b) และแผ่นฟิล์มขนาด 1 × 1 cm (c)                                                                                                                                                      | 31   |
| 16     | Franz diffusion cell และเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (a) Pig skin (b) วิธีการเติมสารตัวอย่าง (c)                                                                                                                                                  | 33   |
| 17     | สารละลายกึ่งฟิล์ม (MJ2) เตรียมสำหรับวิเคราะห์ (a) เครื่อง Climatic stability test (b)                                                                                                                                                      | 33   |

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                                   | หน้า |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 18     | โครมาโทแกรมของตำรับยาน้ำมันมหาจักรที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิค GC-MS                                                                                                                  | 37   |
| 19     | มุมสัมผัสของหยดสารละลายแต่ละสูตรบนกระจกสไลด์ ( $\theta$ ) ที่อัตราการไหล 1.00 $\mu\text{L/s}$                                                                                     | 40   |
| 20     | แรงตึงผิวของสารละลายกึ่งฟิล์มแต่ละสูตร                                                                                                                                            | 40   |
| 21     | เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมของระบบวัฏภาคที่ 1 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร (A) และสารมาตรฐาน piperine (B) พบค่า $t_R$ ของสารมาตรฐาน piperine และ piperine ในสารตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 38.03    | 47   |
| 22     | เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมระบบวัฏภาคที่ 2 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร (C) และสารมาตรฐาน piperine (D) พบค่า $t_R$ ของสารมาตรฐาน piperine และ piperine ในสารตัวอย่างมีค่าตรงกันเท่ากับ 13.66 | 49   |
| 23     | เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมระบบวัฏภาคที่ 3 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร (C) พบค่า $t_R$ ของสาร piperine ในสารตัวอย่างมีค่าตรงกันเท่ากับ 13.51                                                | 50   |
| 24     | เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมระบบวัฏภาคที่ 4 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร (C) พบค่า $t_R$ ของสาร piperine ในสารตัวอย่างมีค่าตรงกันเท่ากับ 16.43                                                | 50   |
| 25     | เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมระบบวัฏภาคที่ 5 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร พบค่า $t_R$ ของสาร piperine ในสารตัวอย่างมีค่าตรงกันเท่ากับ 25.713                                                   | 51   |
| 26     | เอชพีแอลซีโครมาโทแกรม ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร และสมุนไพรในตำรับ                                                                                                                   | 52   |
| 27     | กราฟมาตรฐานของสาร Piperine                                                                                                                                                        | 52   |
| 28     | FT-IR spectram ของ MJO film (a), Base film (b), MJ Oil (c) และ EudragitS 100 (d)                                                                                                  | 56   |
| 29     | กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของ สารมาตรฐาน piperine ( $\mu\text{g/ml}$ ) และพื้นที่ใต้พีคที่วิเคราะห์ด้วย HPLC                                           | 58   |
| 30     | กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่านของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ( $\mu\text{g/cm}^2$ ) และเวลา (hr) ผ่าน cellulose acetate membrane      | 59   |
| 31     | กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่านของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ( $\mu\text{g/cm}^2$ ) และเวลา (hr) ผ่านหนังหมูเรกเกิด                   | 59   |
| 32     | กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่านของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ( $\mu\text{g/cm}^2$ ) และเวลา (hr)                                      | 60   |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แผลเปิด (open wound) คือบาดแผลที่มีการฉีกขาดของผิวหนังลึกถึงชั้น basal layer ทำให้มีเลือดไหลออกมา เมื่อเกิดบาดแผลจะมีกระบวนการหาย 4 ระยะ ได้แก่ ระยะการห้ามเลือด (haemostasis phase) ระยะการอักเสบ (inflammation phase) ระยะการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation phase) และแผลจะมีการปรับรูปร่าง (remodeling phase) (Shah et al., 2012) ในระยะที่แผลมีการอักเสบหากบาดแผลไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกวิธี แผลจะมีโอกาสติดเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Staphylococcus* sp., *Anaerococcus* sp. และ *Porphyromonas* sp. (Kazimoto et al., 2018; Misic et al., 2014) เป็นต้น ทำให้แผลเกิดการอักเสบต่อเนื่อง เช่น แผลพุพอง ฝี และไฟลามทุ่ง เป็นต้น และหากบาดแผลไม่สามารถเข้าสู่กระบวนการหายของบาดแผลได้จะเกิดเป็นแผลเรื้อรัง ในผู้ป่วยโรคเบาหวานมักจะพบลักษณะของแผลกดทับ แผลขาดเลือดและแผลที่เกิดจากความผิดปกติของหลอดเลือดดำ โดยแผลเรื้อรังที่เท้าเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยเบาหวานร้อยละ 85 ต้องตัดขา (สุพรรณิ ปิงสุวรรณ, 2552) ซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศ

ยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาแผลที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ Ceftriaxone, Amoxicillin และ Clindamycin เป็นต้น (Richards et al., 2012, Belmar-Liberato et al., 2011, Phillips, 1975) ในปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยมีมูลค่าการผลิตและนำเข้ายาปฏิชีวนะสูงถึงประมาณ 1.1 หมื่นล้านบาท (Jitraknatee et al., 2011) โดยยาปฏิชีวนะที่มีปริมาณการผลิตและนำเข้ามากที่สุด 3 อันดับแรก คือยาในกลุ่ม penicillins, penicillin and enzyme inhibitor และ tetracyclines ซึ่งยาเหล่านี้มักจะก่อให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์หลายประการ จากรายงานของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2560 พบว่ามีรายงานการแพ้ยา ceftriaxone มากเป็นอันดับหนึ่งจำนวน 3,367 ครั้ง amoxicillin 1,555 ครั้ง และ clindamycin 1,552 ครั้ง มากเป็นอันดับห้าและหก ตามลำดับ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, 2561) หากมีอาการแพ้ยาขั้นรุนแรง (anaphylaxis) โดยมากมักเกิดภายใน 5-30 นาที ผู้ป่วยมักจะมีอาการคัน ตัวแดง ผื่นลมพิษ ปากบวม หน้าบวมบริเวณผิวหนังและเยื่อเมือกต่างๆ มีอาการหอบเหนื่อย หมดสติ หรืออาจเสียชีวิตได้ (Maker et al., 2019) ซึ่งเป็นผลเสียที่หลีกเลี่ยงไม่ได้หากจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะเหล่านี้ ในปัจจุบันมีการนำสมุนไพรตามตำรับยาแผนโบราณมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ อย่างแพร่หลายรวมทั้งรักษาแผลที่เกิดจากการติดเชื้อจุลชีพ ซึ่งถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาแผล ตำรับยาน้ำมันมหาจักรเป็นตำรับยาในตำราพระโอสถพระนารายณ์ (สำนักคุ้มครองภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและแผนทางเลือก, 2555) ซึ่งถือเป็นตำราการแพทย์แผนไทยของชาติ ในตำรายาระบุนสรพคุณของตำรับน้ำมันมหาจักรไว้หลายประการ โดยเฉพาะการรักษาแผลเรื้อรัง แก่เปื่อยคัน ทาแก้ปวดเมื่อย แก่ริดสีดวงทวาร ไล่บาดแผลเจ็บปวดจากเสี้ยนหนามและหอบดาบ ซึ่งในยามศึกสงครามในสมัยโบราณได้นำน้ำมันชนิดนี้เพื่อสมานแผล นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาประสิทธิผลของน้ำมันมหาจักรใน

ผู้ป่วยที่มีแผลเรื้อรังของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล จ.นครพนม โดยใช้สาลิชน้ำมันให้ชุ่มแล้วปิดที่บาดแผล ติดตามผลการรักษาบาดแผลด้วยการถ่ายภาพแผลไว้ตั้งแต่ก่อนใช้และหลังใช้น้ำมันที่ระยะเวลา 3, 7, 30 และ 90 วัน พบว่าน้ำมันสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและแผลถูกสมานให้หายเป็นปกติ (มดิชนสุด ตัปดาห์, อินเตอร์เน็ต, 2561) แต่อย่างไรก็ตามรูปแบบการใช้ยาแบบดั้งเดิมดังกล่าวจำเป็นต้องใช้ยาในปริมาณมากเพื่อให้ยาติดอยู่ที่ผิวหนัง คำรับยาน้ำมันเมื่อตั้งทิ้งไว้อาจมีกลิ่นไม่พึงประสงค์เพราะความไม่คงตัวของตัวยา ตลอดจนทำให้ผู้ป่วยรู้สึกเหนียวเหนอะเนอะบริเวณที่สัมผัสกับตัวยา การพัฒนารูปแบบการใช้ยาแบบดั้งเดิมให้มีความทันสมัยมีประสิทธิภาพการรักษาเพิ่มมากขึ้นจึงเป็นสิ่งจำเป็น

ระบบนำส่งยาในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (Film forming transdermal spray) ตัวยาจะถูกฉีดหรือพ่นออกมาในรูปแบบสารละลายเมื่อสัมผัสกับผิวหนังหรือบริเวณบาดแผลเปิด จะเกิดแผ่นฟิล์มเคลือบปิดบาดแผลซึ่งจะสามารถป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียจากผิวหนังชนิดอื่นๆ ได้ หลังจากนั้นตัวยาในตำรับจะค่อยๆ ปลดปล่อย ซึ่งหากบาดแผลมีขนาดใหญ่สามารถฉีดสเปรย์ฟิล์มซ้ำได้อีก ทำให้ผู้ใช้งานสะดวกในการใช้งานมากขึ้น ไม่ต้องสัมผัสตัวยาโดยตรง และยังปลอดภัยต่อผู้ใช้เนื่องจากสามารถควบคุมการออกฤทธิ์เฉพาะที่ได้ (Sachan & Bajpai, 2013) มีรายงานการพัฒนาตำรับยา fluconazole, voriconazole และ mupirocin ซึ่งใช้รักษาในรูปแบบสเปรย์โดยใช้ Eudragit®RS100 กับ ethyl cellulose, Eudragit® RLP กับ ethyl cellulose และ Eudragit® E100 เป็นสารกึ่งฟิล์ม ตามลำดับ (Gohel et al., 2009; Mori et al., 2017; Sritharadol et al., 2017) พบว่าตำรับยาที่พัฒนาขึ้นทุกตำรับมีประสิทธิภาพดีเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ตามท้องตลาด นอกจากนี้ยังมีรายงานการพัฒนาศารสกัดใบบัวบกในรูปแบบสเปรย์รักษาแผลเช่นเดียวกันใช้ hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin ร่วมกับ Eudragit® E100 เป็นสารกึ่งฟิล์ม ตำรับสามารถกักเก็บสารในกลุ่ม triterpenes ได้ 100% เมื่อเทียบกับสารสกัด ไม่ระคายเคืองผิวและสามารถสมานแผลภายในระยะเวลา 14 วัน หลังจากฉีดสเปรย์ 5 puffs/time/day (~2.5 mL) ขนาดบาดแผล 200 mm<sup>2</sup> (Sawatdee et al., 2016)

จากเหตุที่กล่าวมาข้างต้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือทำการเตรียมยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ที่มีส่วนผสมของยาน้ำมันมหาจักร โดยใช้ Eudragit เป็นสารกึ่งฟิล์ม คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จะต้องมีสมบัติยึดหยุ่นได้ดีและสามารถนำไปปรับใช้กับอวัยวะของร่างกายที่มีบาดแผลเปิดเป็นผิวโคง ก่อฟิล์มในระยะเวลารวดเร็วเพื่อจะสามารถฉีดซ้ำได้หลายครั้ง มีการปลดปล่อยตัวยาสำคัญแบบออกฤทธิ์เนิ่น สามารถเช็ดหรือทำความสะอาดออกได้ง่าย และที่สำคัญสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ผิวหนังที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่บาดแผลได้ด้วย

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เตรียมสูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง
2. เพื่อศึกษาสมบัติเคมีกายภาพของตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอย
3. เพื่อศึกษาการปลดปล่อยตัวยา น้ำมันมหาจักรออกจากแผ่นฟิล์ม โดยใช้ Piperine เป็นสารบ่งชี้



4. เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง
2. ได้สูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยที่มีคุณสมบัติที่ดีและมีความคงตัว
3. ทราบรูปแบบการปลดปล่อยตัวยาน้ำมันมหาจักรออกจากแผ่นฟิล์มโดยใช้ Piperine เป็นสารบ่งชี้
4. ทราบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสูตรยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอย

### ขอบเขตของการวิจัย

ด้านเนื้อหา: เตรียมยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังที่มีส่วนผสมของตำรับยามหาจักรโดยการออกแบบการทดลองแบบ Full-factorial design ทำการศึกษาชนิดและปริมาณที่แตกต่างกันจำนวน 3 ปัจจัย คือ ปริมาณของสารกึ่งฟิล์ม ปริมาณ plasticizer และอัตราส่วนของ plasticizer ที่ใช้ในตำรับ เพื่อให้สูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังที่มีคุณภาพ คือ มีลักษณะทางกายภาพ ค่าความหนืด มุมสัมผัสที่ผิวและค่าแรงดึงผิวของสารละลายที่ดี เลือกตำรับที่ดีที่สุดไปตรวจสอบปริมาณสารสำคัญ Piperine ด้วยเครื่อง HPLC โดยเทียบจากสารมาตรฐาน และปลดปล่อยตัวยาน้ำมันมหาจักรออกจากแผ่นฟิล์ม พร้อมทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของตำรับ ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันว่ายาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังที่มีส่วนผสมของตำรับยามหาจักรที่เตรียมได้มีสามารถนำส่งยาสู่ผิวหนังได้อย่างมีประสิทธิภาพและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง: การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้เตรียมสูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังทั้งหมด 8 สูตรตำรับ โดยการใช้ปริมาณของสารกึ่งฟิล์ม ปริมาณ plasticizer และอัตราส่วนของ plasticizer ต่างชนิดกัน และเปลี่ยนแปลงปริมาณ ในแต่ละสูตรตำรับเปรียบเทียบลักษณะภายนอก ค่าความหนืด มุมสัมผัสที่ผิวและค่าแรงดึงผิวของสารละลายของแต่ละสูตรตำรับ ทำการทดสอบอย่างน้อย 3 ซ้ำและทำการเตรียมตัวอย่างทดสอบจำนวน 24 ตัวอย่าง

ระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย: การทดลองครั้งนี้เริ่มตั้งแต่วันที่ 1 พฤศจิกายน 2563 ถึง 31 มกราคม 2567 รวมเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 1 ปี

### กรอบแนวคิดในการวิจัย

การพัฒนาารูปแบบนำส่งยาของตำรับยาสมุนไพรในตำรายาแผนโบราณให้มีความทันสมัยถือเป็นการสร้างการยอมรับและคุณค่าให้กับตำรับยาแผนโบราณให้กว้างขวางมากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาารูปแบบนำส่งยาแบบยาพ่นละอองฝอยกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ที่มียาน้ำมันมหาจักรเป็นตัวยาลึก เป็นรูปแบบที่สามารถนำไปใช้ได้จริง สะดวกและปลอดภัยกับผู้บริโภค ดังนั้นการทดสอบคุณสมบัติต่างๆของ



ตำรับยาที่พัฒนาจึงเป็นสิ่งจำเป็น คุณสมบัติทางเคมีศึกษาการเกิดอัตรากิริยาของตัวยากับสารก่อฟิล์ม ทางด้านเคมีกายภาพ ศึกษาคุณสมบัติการก่อเป็นฟิล์มของสารก่อฟิล์มและแผ่นฟิล์ม ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการศึกษาได้แก่ surface tension, contact angle, pH, viscosity และเวลาที่ตัวทำละลายระเหยไป จากการทดสอบจะสามารถคัดเลือกสูตรตำรับยาพ่นที่มีประสิทธิภาพดีแล้วนำมาศึกษาการซึมผ่านของตัวยาโดยการวิเคราะห์หาปริมาณ piperine ซึ่งใช้เป็นสารบ่งชี้การซึมผ่านของตัวยาในตำรับยาน้ำมันมหาจักร วิธีการวิเคราะห์หาสารบ่งชี้ต้องได้รับมาตรฐานสากล (ICH) ดังนั้นการทำ validation method จึงเป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งมีหัวข้อที่ต้องทำการทดสอบได้แก่ linearity, precision, accuracy, limit of quantitation และ limit of detection เป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องมีการทดสอบความคงตัวของสารในตำรับ โดยดูคุณลักษณะทางกายภาพของตำรับที่เปลี่ยนไปรวมถึงปริมาณตัวยาสำคัญอีกด้วย และที่สำคัญเมื่อนำตำรับยาน้ำมันมาพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบนำส่งแบบยาพ่นละอองฝอยก่อก่อฟิล์มที่ผิวหนังยา ตำรับนี้จะยังคงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ผิวหนังได้ดีดังตำรับแบบดั้งเดิมหรือไม่จึงต้องทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์แกรมบวกและแกรมลบได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ตามลำดับ

#### นิยามศัพท์เฉพาะ:

1. ยาพ่นละอองฝอยแบบก่อก่อฟิล์มที่ผิวหนัง (Film forming transdermal spray) คือ ระบบนำส่งยาบนผิวหนังในรูปแบบแผ่นฟิล์ม ถูกเตรียมให้อยู่ในรูปแบบสารละลายเมื่อนิดหรือพ่นออกไปโมเลกุลของยากระจายตัวอยู่ในสารก่อก่อฟิล์มซึมผ่านสู่ชั้นผิวหนัง
2. ตำรับยามหาจักร (Mahajak Remedy Oil) คือ ตำรับยาน้ำมันสำหรับทาแผลภายนอก ถูกบันทึกอยู่ในตำราพระโอสถพระนารายณ์
3. Piperine-rich herbal mixture

#### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบก่อก่อฟิล์มที่ผิวหนังที่มีคุณสมบัติมีความคงตัว และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้
2. ทราบรูปแบบการปลดปล่อยตัวยาน้ำมันมหาจักรออกจากแผ่นฟิล์มโดยใช้ปริมาณ Piperine เป็นสารบ่งชี้
3. เป็นทางเลือกใหม่ให้กับผู้บริโภคในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร เพื่อรักษาแผลที่มีสาเหตุมาจากเชื้อก่อโรคที่ผิวหนัง

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แผลเปิด (open wound) เป็นการบาดเจ็บที่มีการฉีกขาดของผิวหนังลึกถึงชั้น basal layer ทำให้มีเลือดไหลออกมาจากบาดแผล แผลเปิดจะมีลักษณะมีผิวหนังถลอก ฉีกขาด หรือมีการหลุดของผิวหนังและเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังทำให้เกิดแผลที่มีลักษณะเป็นหลุม เป็นต้น สาเหตุของการเกิดบาดแผลจากหลายปัจจัย เช่น อุบัติเหตุจากการทำงาน อุบัติเหตุจากการจราจร รวมถึงแผลเบาหวานในผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวเป็นโรคเบาหวาน เมื่อร่างกายเกิดบาดแผล การตอบสนองของ wound healing process จะช่วยให้เลือดหยุดไหลและสร้างเนื้อเยื่อใหม่เข้ามาทดแทนเนื้อเยื่อเดิมที่เสียหายไป ซึ่งหากบาดแผลนั้นได้รับการดูแลอย่างถูกต้อง บาดแผลจะเกิดกระบวนการสมบูรณที่เรียกได้ว่าเป็น acute wound healing process ซึ่งประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ได้แก่ Phase of coagulation เมื่อร่างกายเกิดบาดแผลและเส้นเลือดเสียหาย เส้นเลือดจะตอบสนองด้วยการหดตัว หรือ vasoconstriction และมีการเข้ามารวมตัวกันของเกล็ดเลือด (platelets aggregation) โดยอาศัยสารเคมี (chemical substance) จากเซลล์ที่ได้รับความเสียหายเป็นตัวกระตุ้น เพื่อนำไปสู่การเกิด blood clot (coagulation cascade) ทำให้เลือดหยุดและจะปกคลุมบาดแผลด้วย fibrin meshwork ในระยะแรก โดย fibrin meshwork นี้จะเป็น frame work ให้เซลล์ต่างๆของกระบวนการ wound healing process 2. Inflammatory phase กระบวนการนี้จะเริ่มหลังจากเกิดบาดแผลประมาณ 10-30 นาที ประกอบด้วย vasodilation, increased capillary permeability, complement activation, white blood cell (PMN, monocyte) migration ซึ่งส่งผลให้เกิดอาการปวด บวม แดง ร้อน ที่บริเวณบาดแผล โดยจะมี macrophage เป็นตัวเอกที่มีบทบาทหลักในขั้นตอนนี้ ซึ่งจะทำหน้าที่หลั่ง growth factors ต่างๆ เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ proliferation ต่อไป 3. Proliferation phase คือระยะที่ inflammatory cell จะลดบทบาทลงและมีนำเซลล์อื่นเข้ามาทดแทน โดยจะมีกระบวนการของร่างกายต่างๆที่เกิดขึ้นคือ granulation tissue, angiogenesis, wound contracture และ epithelization เป็นต้น โดยการสร้าง granulation tissue คือการสร้าง new extracellular matrix ซึ่งส่วนใหญ่คือ collagen ที่มาจาก fibroblast รวมทั้งยังมีสารต่างๆที่มีความสำคัญต่อกระบวนการนี้ เช่น วิตามินซี, ธาตุเหล็ก, ออกซิเจน ซึ่งเป็น co-factor สำคัญในการเกิด hydroxylation ของ proline และ lysine ที่เป็นโปรตีนสำคัญในกระบวนการ collagen synthesis 4. Remodelling phase หรือ maturation phase เป็นระยะสุดท้ายของกระบวนการ ซึ่งจะเริ่มประมาณ 20 วันหลังจากเกิดบาดแผลซึ่งอาจจะกินเวลานานหลายเดือนไปจนถึงหลายปี ขึ้นอยู่กับบาดแผลนั้นๆ เช่น ตำแหน่ง, ระยะเวลาการหายของแผล, ความรุนแรงของบาดแผล เป็นต้น ซึ่งในระยะนี้แผลจะมีความแข็งแรงขึ้น โดยมีการเกิด collagen cross link และ มีการลดจำนวน cell ต่างๆของบาดแผลลง เมื่อกระบวนการนี้อยู่ในภาวะสมดุลของการสร้างและทำลาย collagen จะส่งผลให้แผลเป็นที่เกิดขึ้นนี้มดลง แบนลง เรียบและมีสีจาง ซึ่งกระบวนการนี้จะมี macrophage เป็นตัวควบคุม การรักษาแผลถลอกโดยทั่วไปจะมีการล้างแผลด้วยน้ำเกลือสะอาด ปิดแผลด้วย ผ้าตาข่าย tulle แล้วปิดทับด้วยก๊อส เพื่อป้องกันฝุ่น หรือแมลง และทาแผลวันละ 1-2 ครั้ง แต่ในผู้สูงอายุ ผิวหนังมี

ความบอบบางมาก การทาแผลดังกล่าวทำให้เนื้อเยื่อที่กำลังซ่อมแซมถูกรบกวน การหายของบาดแผลจึงช้าลงหรือหากบาดแผลไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกวิธีแผลเปิดยังเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคจากภายนอกได้ง่าย

เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* จัดอยู่ในตระกูล Micrococcaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวกอยู่ประจำถิ่นที่พบได้ในร่างกายของมนุษย์พบได้ตามผิวหนังและรูขุมขน เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อที่ผิวหนัง บาดแผล และอาหารเป็นพิษ แบคทีเรียบางชนิดสามารถก่อโรคได้ทั้งในมนุษย์ และสัตว์ หากผิวหนังเกิดบาดแผลเปิด รอยถลอกหรือได้รับการผ่าตัด เชื้อนี้จะบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อชั้นในทันที (Gordon and Lowy, 2008; Weese, 2010) เชื้อในกลุ่มนี้สามารถแยกได้สองกลุ่มย่อย คือ coagulase-positive staphylococci (CPS) และ coagulase-negative staphylococci (CNS) กลุ่ม CPS เป็นกลุ่มของแบคทีเรียก่อโรคที่มีความสำคัญทางการแพทย์ ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคต่างๆเช่น ฝีหนอง ตาอักเสบ เต้านมอักเสบ ไชกระดูกอักเสบ การติดเชื้อที่บาดแผล และลำไส้อักเสบ เป็นต้น (Gordon and Lowy, 2008) นอกจากนี้ ยังพบ อีกว่า เชื้อในกลุ่ม staphylococci สามารถพัฒนาเซลล์ให้ทนต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. aureus* มีการวิวัฒนาการของสายพันธุ์ทำให้มีคุณสมบัติในการดื้อยาเพนิซิลลิน (penicillin) และเมธิซิลลิน (methicillin) และมีการดื้อยาเพิ่มมากขึ้นโดยสายพันธุ์ที่สำคัญ ได้แก่ methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) ทำให้เกิดอาการติดเชื้อรุนแรงรักษาได้ยาก (Gordon and Lowy, 2008; Uhlemann et al., 2014)

*Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จัดอยู่ในตระกูล Pseudomonadaceae มีลักษณะเป็นรูปรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย ขนาด  $0.5 - 1.0 \times 1.5 - 5.0 \mu m$  ผนังเซลล์ประกอบด้วยโพลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งมีปัจจัยทางโครงสร้างที่ทำให้เชื้อก่อความรุนแรงได้แก่ เชื้อมี pili เป็นโครงสร้างลักษณะคล้ายเส้นขนยื่นออกมาจากผิวเซลล์ทำหน้าที่จับกับเยื่อผิวทางเดินหายใจ เมื่อเป็นสารโพลิแซ็กคาไรด์ทำให้โคโรนิมีลักษณะเป็นเมือกช่วยให้ยึดเกาะกับผนังเซลล์ได้ดีขึ้น นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสร้างเอนโดทอกซิน (endotoxin) เอกโซทอกซินเอ (exotoxin A) และเอกเอนไซม์เอส (exoenzyme S) เป็นต้น โดยปกติ *P. aeruginosa* ไม่ค่อยทำให้เกิดโรคติดเชื้อในคนที่มีสุขภาพดี แต่จะเป็นเชื้อฉวยโอกาสเกิดโรคในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มต่ำหรือโรคเรื้อรังต้องรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาล โดยเชื้อจะเพิ่มจำนวนอยู่ในน้ำหรือเครื่องมืออุปกรณ์ที่มีความชื้น โรคติดเชื้อจาก *P. aeruginosa* ได้แก่ ติดเชื้อในกระแสเลือดและเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ ติดเชื้อที่ปอด ติดเชื้อที่หู ติดเชื้อที่แผลไฟไหม้และติดเชื้อที่อวัยวะอื่นๆ เช่น บาดแผลที่ผิวหนัง ทางเดินอาหาร ทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น เชื้อมีการพัฒนาการดื้อยามากขึ้นมาจากการกระตุ้นของ  $\beta$ -lactamase และยาปฏิชีวนะในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ไม่สามารถทำลายเชื้อได้เนื่องจากการติดเชื้อทำให้เกิดหนองซึ่งมีสภาพเป็นกรด ประสิทธิภาพการทำงานของยาจึงลดต่ำลง จึงต้องใช้ยาในกลุ่มนี้ร่วมกับยาในกลุ่มเพนิซิลลิน ได้แก่ ticarcillin, mezlocillin และ piperacillin เป็นต้น (ภัทรชัย กิริติสิน, 2551; นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

การรักษาบาดแผลด้วยการทายาประเภทน้ำมันสมุนไพรร่วมกับการทำแผลเป็นภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยที่มีสืบทอดกันมา ตามตำราพระโอสถพระนารายณ์ (คัมภีร์ธาตุพระนารายณ์ฉบับโบราณ) มีตำรับยาน้ำมันมหาจักรเป็นตำรับยาลำหรับทาแผลภายนอก จัดเป็นตำรับยาในกลุ่มโรคติดเชื้อลำดับที่ 78 กล่าวถึงตำรายาไว้ดังนี้ “น้ำมันมหาจักร ให้น้ำมันงาพืทนาน ๑ ด้วยพืทนาน ๖๐๐ มะกรูดสด ๓๐ ลูก แล้วเอาน้ำมันตั้ง

เพลิงขึ้น รุมเพลิงให้ร้อน เอาผิวมะกรูดใส่ลงให้เหลืองเกรียมดีแล้ว ขยลกกรองกากให้หมดเอาไว้ให้เย็น จึงเอาเทียนทั้ง ๕ สิ่งละ ๒ สติง ตีปดืบาท ๑ การบูร ๒ บาท บดลงเลี้ยดปรงลงในน้ำมันนั้น ขอนหุ แก้มแก ริศดวง แก่เปื้อยคันก็ได้ ทาเมื่อขบก็ได้ ใส่บาดแผลเจ็บปวดเสี้ยนหนามหอกดาบก็ได้ หายแล แต่อย่าให้ถูก น้ำ ๓ วัน มิเป็นบูนโพละฯ” ในตำรับระบุนุสรพรุณของตำรับยาเช่น รักษาแผลเรื้อรัง แก่เปื้อยคัน แก่ปวดเมื่อย แก่ริดสีดวงทวาร ใส่บาดแผลเจ็บปวดจากเสี้ยนหนามและหอกดาบ ซึ่งในยามศึกสงครามในสมัยโบราณได้ใช้น้ำมันชนิดนี้เพื่อสมานแผล มีรายงานการศึกษาประสิทธิผลของน้ำมันมหาจักรในผู้ป่วยที่มีแผลเรื้อรังของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล จ.นครพนม โดยใช้สำลีชุบน้ำมันให้ชุ่มแล้วปิดที่บาดแผล ติดตามผลการรักษาบาดแผลด้วยการถ่ายภาพแผลไว้ตั้งแต่ก่อนใช้และหลังใช้น้ำมันที่ระยะเวลา 3, 7, 30 และ 90 วัน พบว่าน้ำมันสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและแผลถูกสมานให้หายเป็นปกติ (มดิชนสุดสัปดาห์, อินเทอร์เน็ต, 2561) นอกจากฤทธิ์ที่ได้กล่าวมาแล้วจากข้อมูลทางการวิจัยในปัจจุบันพบว่าสมุนไพรทั้ง 9 ชนิดในตำรับยาน้ำมันมหาจักรยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจดังแสดงในตารางที่ 1

ตาราง 1 ส่วนประกอบของสมุนไพรในตำยาน้ำมันมหาจักรและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

| ชื่อสมุนไพร                                                                            | ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | อ้างอิง                                                              |
|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <p>ดีปลี</p> <p><i>Piper retrofractum</i></p> <p>Vahl.</p> <p>(Piperaceae, fruits)</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ฤทธิ์คลายกังวล สารสกัดผลดีปลีที่สกัดด้วย 95% ethanol นำมาป้อนให้แก่หนูเม้าส์ ขนาด 300 mg/kg เป็นเวลา 21 วัน ด้วยวิธี cage crossing, head dips, swim test, light and dark test เพื่อให้หนูได้รับความเครียดในสภาวะต่างๆ สารสกัดทำให้หนูทดลองลดอาการวิตกกังวลลงในระดับอ่อน มีผลในการกดระบบประสาทส่วนกลาง และทำให้ง่วงนอน</li> <li>- ฤทธิ์ลดการอักเสบ สารสกัดผลดีปลีที่สกัดด้วย 95% ethanol สามารถลดขนาดหูของหนูแรทเพศผู้ที่บวมน้ำอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับหนูที่ไม่ได้รับสารสกัด และมีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม</li> <li>- ฤทธิ์ระงับปวด จากการทดสอบด้วยวิธี formalin test ในระยะ early phase พบว่า ระยะเวลาที่หนูเพศผู้ ยกเท้าขึ้นเลียภายในเวลา 5 นาทีลดลงเมื่อได้รับสารสกัดเอทานอลจากผลดีปลีที่ขนาดต่างๆ 1 ชั่วโมงก่อนที่จะถูกชักนำด้วยการฉีด 1% formalin ได้ผิวหนังบริเวณด้านหลังเท้าซ้ายของหนู แสดงให้เห็นว่าลดอาการปวดที่ดีกว่ากลุ่มอ้างอิงที่ได้รับการฉีด morphine เข้าช่องท้องหนูก่อนฉีดฟอร์มัลลิน 30 นาที การศึกษาในระยะ late phase ที่หนูจะถูกฉีดฟอร์มัลลินหลัง</li> </ul> | <p>(Sarfaraz, et al., 2014)</p> <p>(Sireeratawong, et al., 2012)</p> |



|                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                           |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
|                                     | <p>ได้รับสารสกัด 40 นาที หรือได้รับมอร์ฟีน 10 นาที แล้วบันทึกระยะเวลาที่หนูยกเท้าขึ้นเลียหลังฉีดพอร์มาลินภายในเวลา 20-30 นาที พบว่าสารสกัดดีปี้ทุกขนาดที่ใช้ในการทดลอง คือ 300, 600 และ 1,200 mg/kg สามารถยับยั้งอาการปวดได้อย่างมีนัยสำคัญ และมีฤทธิ์ดีกว่าการใช้ยามาตรฐานอย่างแอสไพรินที่ขนาด 300 mg/kg และยังพบว่าสารสกัดเอทานอลจากผลดีปี้สามารถยับยั้งอาการปวดในระยะ late phase ได้ดีกว่าระยะ early phase ด้วยการทดสอบ formalin test</p> <p>- ฤทธิ์ต้านเชื้อรา สกัดสารจากผลดีปี้แห้งเพื่อหาสารต้านเชื้อรา <i>C. cladosporioides</i> ใช้โคลโลโรมิเทนเป็นตัวทำละลาย และทำการแยกสารสกัดหยาบ ด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นบาง ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดหยาบ โดยวิธี TLC-Bioassay พบว่าสารที่สามารถต้านเชื้อรา อยู่ในช่วง <math>R_f = 0.00-0.33</math> จะประกอบด้วย piperine และ สารต้านเชื้อราจากช่วง <math>R_f = 0.40-0.47</math> จะประกอบด้วย methyl piperate</p> <p>- ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเอทานอลที่ได้จากผลดีปี้ ทำการศึกษาในหลอดทดลอง ตรวจสอบโดยใช้วิธี growth inhibition method เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ เชื้อ <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606 ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคการติดเชื้อในโรงพยาบาล ทำการทดสอบโดยใช้สารสกัดเอทานอลร่วมกับยา novobiocin (ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอลจากผลดีปี้ ยา novobiocin และสารสกัดเอทานอล (250 <math>\mu\text{g/ml}</math>) ร่วมกับยา novobiocin มีค่า MIC เท่ากับ <math>44.02 \pm 1.08</math>, 6.67 และ <math>49.80 \pm 4.19\%</math> ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการให้สารสกัดเอทานอลเพียงอย่างเดียว พบว่ายับยั้งเชื้อได้ดี แต่เมื่อให้สารสกัดเอทานอลร่วมกับยา novobiocin พบว่าไม่มีผลให้การออกฤทธิ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ</p> | <p>(เนตรนภา, 1998)</p> <p>(Phatthalung, et al., 2012)</p> |
| เทียนคำ<br><i>Nigella sativa</i> L. | <p>- ฤทธิ์ต้านจุลชีพ: สารสกัดไดเอทิลอีเทอร์จากเมล็ดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <p>(Gali-Muhtasib, et al., 2006)</p>                      |



|                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| <p>(Ranunculaceae, fruits)</p> <p>เทียนดำ</p> <p><i>Nigella sativa</i> L.</p> | <p><i>Staphylococcus aureus</i>, เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Escherichia coli</i>, เชื้อยีสต์ <i>Candida albicans</i> นอกจากนี้สารสกัดน้ำจากเมล็ดยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด</p> <p>- ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ: การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันระเหยง่ายจากเมล็ดเทียนดำในการยับยั้งเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษ หรือทางเดินอาหารอักเสบ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อนี้เป็นสาเหตุของการติดเชื้อทางบาดแผล และการติดเชื้อในกระแสโลหิตได้ การทดสอบนี้ใช้เชื้อแบคทีเรีย <i>Vibrio</i> 28 สายพันธุ์ ทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) ด้วยวิธี agar dilution พบว่าน้ำมันระเหยง่ายจากเมล็ดเทียนดำ สามารถยับยั้งเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ได้ทุกสายพันธุ์ และออกฤทธิ์ดีที่สุดในการยับยั้งสายพันธุ์ Dahv2 โดยมีขนาดของโซนใสในการยับยั้งเท่ากับ 23.9 mL ที่ความเข้มข้น 101.2 µg/mL มีค่า MIC เท่ากับ 100 µg/mL ผลการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มซึ่งเป็นโครงสร้างยึดเกาะกับพื้นผิวสร้างโดยกลุ่มของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกัน ประกอบด้วยสารต่างๆ หลายชนิด ทำหน้าที่เป็นชั้นปกป้องแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ภายใน รวมทั้งสร้างสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่อยู่ภายในไบโอฟิล์ม ผลการทดสอบพบว่าน้ำมันระเหยง่ายจากเมล็ดเทียนดำสามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 101.2 µg/mL การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง ด้วยวิธี beta-carotene bleaching พบว่าที่ความเข้มข้น 70 µg/mL สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมัน linoleic acid ได้เท่ากับ 64.47±2.00%</p> <p>- ฤทธิ์ต้านการอักเสบ: สาร thymoquinone และน้ำมันจากเมล็ด ยับยั้งการหลั่งสารที่ทำให้เกิดการอักเสบหลายชนิด เช่น thromboxane B<sub>2</sub>, leucotrien B<sub>4</sub>, cyclooxygenase, lipoxygenase เป็นต้น, สาร nigellone ยับยั้งการปลดปล่อย</p> | <p>(Manju, et al., 2016)</p> <p>(Gali-Muhtasib, et al., 2006)</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|

|                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| <p>(Ranunculaceae, fruits)</p> <p>เทียนคำ<br/>(<i>Nigella sativa</i> L.)</p> | <p>อิสตามิน จากช่องท้องหนู</p> <p>-ฤทธิ์ยับยั้งอาการปวด: สารสกัดน้ำจากเมล็ด ลดปวดในหนูที่ทดสอบด้วยวิธี hot plate แต่ไม่มีฤทธิ์ลดไข้</p> <p>-ฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด: การทดสอบสารสกัดส่วนที่ละลายในเมทานอลของเมล็ดเทียนคำ ซึ่งเตรียมด้วยวิธีบีบเมล็ดเทียนคำ และแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเมทานอล 3 ชนิด ได้แก่ 2-(2-methoxypropyl)-5-methyl-1,4-benzenediol, thymol และ carvacrol นำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ในหลอดทดลอง โดยใช้เลือดกระต่าย การเหนี่ยวนำการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย arachidonic acid ผลการทดสอบของสารบริสุทธิ์ทั้ง 3 ชนิด และอนุพันธ์ชนิด acetate ของสารทั้งสาม แสดงฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยมีค่า <math>IC_{50}</math> เท่ากับ 6.7, 7.0, 11.7, 62.1, 2.6 และ 6.8 M ตามลำดับ ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งได้มากกว่า ยามาตรฐานแอสไพริน (<math>IC_{50}</math> เท่ากับ 343.6 M)</p> <p>-การศึกษาทางคลินิก: ฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำมันระเหยยากของเทียนคำ เมื่อให้ร่วมกับอาหารที่จำกัดแคลลอรี ทำการทดลองแบบ randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial ในอาสาสมัครหญิงที่มีภาวะอ้วน จำนวน 90 คน (body mass index = 30–34.9 kg/m<sup>2</sup>) มีอายุระหว่าง 25–50 ปี แบ่งอาสาสมัครออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้รับน้ำมันเทียนคำในรูปแบบ soft gel capsules 3 g/day (ครั้งละ 1 แคปซูล วันละ 3 ครั้ง) ก่อนอาหาร 30 นาที ร่วมกับอาหารที่จำกัดแคลลอรี และกลุ่มที่ 2 ได้รับเฉพาะอาหารที่จำกัดแคลลอรี ทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันเทียนคำ ร่วมกับอาหารที่จำกัดแคลลอรี ไม่มีการรายงานการเกิดผลข้างเคียง ผลการวัดระดับ TNF-<math>\alpha</math>, high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) และ interleukin-6 (ซึ่งเป็นสารเริ่มต้นในขบวนการอักเสบ และเกี่ยวข้องกับภาวะระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดสูง ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง โรคเกี่ยวกับระบบหัวใจและหลอดเลือด) เมื่อสิ้นสุดการทดสอบพบว่า</p> | <p>(Enomoto, et al, 2001)</p> <p>(Mahdavi, et al., 2016)</p> |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|



|                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
|                                                                                  | <p>- ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย <i>Vibrio</i> sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษหรือทางเดินอาหารอักเสบ ทดสอบ น้ำมันระเหยง่ายจากเมล็ดเทียนขาว และทำการศึกษาปริมาณ สารสำคัญโดยใช้เทคนิค GC-MS พบองค์ประกอบหลักคือ cuminaldehyde (39.48%), gamma-terpinene (15.21%), O-cymene (11.82%), beta-pinene (11.13%), 2-carene-10-al (7.93%), trans-carveol (4.49%) และ myrtenal (3.5%) และทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ เทคนิค micro-well พบว่าน้ำมันระเหยง่ายจากเมล็ดเทียนขาวมีฤทธิ์ ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม <i>Vibrio</i> spp. โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด ในการยับยั้งเชื้อ (MIC) เท่ากับ 0.078–0.31 mg/mL และค่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) เท่ากับ 0.31–1.25 mg/mL</p> <p>- ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ: การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ น้ำมันระเหยง่ายจากเมล็ดเทียนขาว ในการจับอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH เปรียบเทียบกับสาร มาตรฐาน BHT ผลการทดลองพบว่าน้ำมันระเหยง่ายจาก เทียนขาว และ BHT สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยมีค่า <math>IC_{50}</math> เท่ากับ 31 และ 11.5 mg/mL ตามลำดับ ความสามารถในการ จับอนุมูล superoxide ของเทียนขาว และ BHT มีค่า <math>IC_{50}</math> เท่ากับ 16 และ 1.5 mg/mL ตามลำดับ ความสามารถในการ รีดิวส์ (Reducing power) และ BHT มีค่า <math>EC_{50}</math> เท่ากับ 11 และ 75 mg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้ยังทำการทดสอบฤทธิ์ ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยใช้เทคนิค beta-carotene bleaching พบว่าน้ำมันระเหยง่ายจากเมล็ดเทียนขาว และสารมาตรฐาน BHT สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน ของกรดไขมัน โดยมีค่า <math>IC_{50}</math> เท่ากับ 20 และ 75 mg/mL</p> | <p>(Hajlaoui, et al., 2010)</p> <p>(Hajlaoui, et al., 2010)</p> |
| เทียนข้าวเปลือก<br><i>Foeniculum vulgare</i><br>Miller<br>(Umbelliferae, fruits) | - การศึกษาทางพิษวิทยา: สารสกัดด้วยเอทานอล 50% โดย ให้นกกินในขนาด 16 g/Kg และให้โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง หนู ในขนาด 10 g/Kg ไม่ตรวจพบอาการเป็นพิษ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                 |
| เทียนตาตุ่ม                                                                      | - การศึกษาทางพิษวิทยา: สารสกัดน้ำ และสารสกัดเอ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                 |

|                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                               |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <p><i>Anethum graveolens</i> L.<br/>(Umbelliferae, fruits)</p>              | <p>ลกฮอล์-น้ำ มีผลก่อกลายพันธุ์ สารที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์คือ Iso-rhamnetin 3-sulfate (persicarin) และ quercetin 3-sulfate แต่การให้เทียบตาตักแตนปริมาณ 33% ในอาหารเป็นเวลา 410 วัน ไม่พบการก่อเกิดมะเร็งในหนู การทดสอบพิษเฉียบพลันของสารสกัดผลด้วยเอทานอล 50% โดยให้หนูกินในขนาด 10 g/Kg และให้โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังหนู ในขนาด 10 g/Kg ไม่ตรวจพบอาการเป็นพิษ</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                               |
| <p>การบูร<br/><i>Cinnamomum camphora</i> L.<br/>(Lauraceae, stem barks)</p> | <p>- ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย: เชื้อแบคทีเรีย <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> ทำการทดสอบโดยใช้สาร camphor ที่สกัดได้จากต้นการบูร และเป็นองค์ประกอบหลักของ essential oil จากต้นการบูร ทดสอบด้วยวิธี agar disk diffusion วัดผลด้วยการวัดค่า inhibition zone พบว่า camphor ในขนาดความเข้มข้น 2% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> ได้ แต่ไม่มีผลยับยั้งเชื้อ <i>E.coli</i></p> <p>- การศึกษาทางพิษวิทยา: การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของการบูร (edible camphor) ทำการศึกษาในหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์วิสตาร์ พบว่าค่าความเข้มข้นที่ทำให้หนูตายร้อยละ 50 (LD<sub>50</sub>) เมื่อให้โดยการกินเท่ากับ 9487 mg/kg เมื่อป้อนการบูรให้หนูในขนาด 1, 2, 4 และ 6 g/kg เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงแยกอวัยวะออกมาวิเคราะห์ และเก็บตัวอย่างเลือดเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าหนูที่ได้รับการบูรในขนาด 4 และ 6 g/kg ทำให้ระดับ lactate dehydrogenase (LDH) ในซีรัมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในไต และตับ (p &lt;0.05) ระดับสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นในปอด (การบูรขนาด 2 g/kg), ไต (การบูร 4 g/kg) และ ตับและไต (การบูร 6 g/kg)(p &lt;0.05) สารทดสอบทุกขนาดทำให้ระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ catalase (CAT) ลดลงทั้งในตับ ไต และอวัยวะ ระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase (SOD) เพิ่มขึ้นในตับและปอด แต่ลดลงในไต (การบูรขนาด 2, 4 และ 6 g/kg) แต่ในอวัยวะไม่เปลี่ยนแปลง (p &lt;0.05) ระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ reduced glutathione (GSH) ลดลงในปอด (การบูรขนาด 1, 2, 3, 4, 5 g/kg) เพิ่มขึ้นใน</p> | <p>(Gupta and Saxena, 2010)</p> <p>(Somade, et al., 2017)</p> |



|                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                | <p>อัมตะ (การบูรขนาด 2 g/kg) แต่ไม่เปลี่ยนแปลงในตับและไต (<math>p &lt; 0.05</math>) ผลการตรวจสอบเนื้อเยื่อพบว่าเนื้อเยื่อตับ ไต และปอด มีการเปลี่ยนแปลงในระดับปานกลางถึงรุนแรง แต่เนื้อเยื่ออัมตะไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ โดยสรุปการได้รับการบูรในขนาดสูงกว่าปกติ จะนำไปสู่ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ทำให้ระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระลดลง และเกิดการทำลายเนื้อเยื่อตับและไตได้</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                      |
| <p>มะกรูด<br/><i>Citrus hystrix</i> DC.<br/>(Rutaceae, essential oil from immature fruits)</p> | <p>-ฤทธิ์ด้านการอักเสบ: สาร coumarins 2 ชนิดที่ได้จากผลมะกรูด ได้แก่ bergamottin และ <i>N</i>-(iminoethyl)-<i>L</i>-ornithine (<i>L</i>-NIO) มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ (NO) ในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการอักเสบ ซึ่งหลังจาก macrophage ของหนูที่ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) และ interferon-<math>\gamma</math> (IFN-<math>\gamma</math>) โดยมีค่า <math>IC_{50}</math> เท่ากับ 14.0 <math>\mu</math>M และ 7.9 <math>\mu</math>M ตามลำดับ</p> <p>- สารคูมาริน 3 ชนิด ได้แก่ bergamottin, oxypeucedanin และ psoralen สามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ เมื่อทดสอบในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ของหนู ที่ถูกกระตุ้นด้วยลิโปลิแซ็กเคารีด (LPS) และอินเตอร์เฟอรอน (interferon)</p> <p>- พิษเฉียบพลัน: สารสกัดผิวมะกรูดด้วยเอทานอลเมื่อป้อนให้หนูกินเพื่อศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน พบว่าขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายเป็นจำนวนครั้งหนึ่ง (<math>LD_{50}</math>) มีค่ามากกว่า 100 g/Kg</p> <p>- ฤทธิ์ด้านเชื้อกลุ่มสแตปฟีโลคอคไคที่แยกได้จากสุนัข: การศึกษาฤทธิ์ของน้ำมะกรูด และน้ำมะนาวต่อเชื้อกลุ่ม <i>Staphylococci</i> sp. ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบ โคแอกกูเลสที่เป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคผิวหนังอักเสบในสุนัข จำนวน 15 isolates โดยมี <i>S. aureus</i> ATCC 25923 สายพันธุ์มาตรฐานเป็นเชื้อควบคุม ทำการทดสอบควบคู่ไปด้วยโดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว ใน 96 well U-shape plate ผลการทดสอบพบว่า น้ำมะนาว และน้ำมะกรูด มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อในกลุ่มนี้ อยู่ที่ 1.60 % (v/v) และ 1.34-1.74 % (v/v)</p> | <p>(Murakami, et al, 1999)</p> <p>(Tangyuenyong watana and Gritsanapan, 2014)</p> <p>(Piyachaturawat , et al, 1985)</p> <p>(พิทยา และคณะ , 2551)</p> |

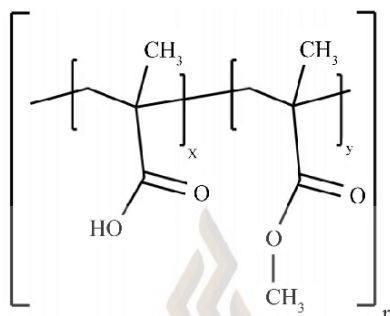
|                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |
|-------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
|                                                                   | ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อนี้ อยู่ที่ 1.87-3.33 % (v/v) และ 3.10 % (v/v) ตามลำดับ จากการศึกษาสรุปได้ว่าน้ำมันาว และน้ำมันะครุดมีฤทธิ์ในการยับยั้ง และฆ่าเชื้อสแตปฟีโลคอคโคไค ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโคแอกกูเลสจากการทดสอบในหลอดทดลอง ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปพิจารณาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ทางการค้า ที่ใช้สำหรับสัตว์ต่อไป เพื่อลดการติดเชื้อทางผิวหนัง อย่างไรก็ตาม ควรมีการทดลองในการใช้กับสัตว์โดยตรงก่อน เพื่อศึกษาผลข้างเคียงอื่นๆ ที่มีผลกระทบต่อการใช้เชื้อ และผลต่อตัวสัตว์ |  |
| งา<br><i>Sesamum indicum</i> L.<br>(Pedaliaceae, oil from fruits) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |

ระบบนำส่งยาทางผิวหนังเป็นระบบนำส่งยาเฉพาะที่ที่ถูกพัฒนาเพื่อให้ตัวยาสามารถดูดซึมผ่านผิวหนังและเข้าสู่ระบบไหลเวียนในร่างกาย รูปแบบยาที่ถูกพัฒนาขึ้นได้แก่ patches, ointments และ creams เป็นต้น แผ่นแปะมีข้อจำกัดที่ทำให้ผิวหนังเกิดการระคายเคือง (Prausnitz & Langer, 2008) เนื่องจากแผ่นแปะไปอุดตันต่อมเหงื่อมีผลทำให้โมเลกุลของน้ำไม่สามารถระเหยออกมาจากผิวหนังได้ และไม่สามารถนำไปใช้บนอวัยวะของร่างกายที่มีส่วนโค้งได้ และรู้สึกเจ็บเมื่อดึงแผ่นแปะออก รูปแบบนำส่งแบบครีมและ ointment ข้อปัญหาข้อเสียนี้ได้ แต่มีข้อจำกัดในเรื่องเนื้อครีมถูกลอกออกได้ง่ายเมื่อเสียดสีผ่านออกนอกนี้ยังทำให้รู้สึกเหนียวเหนอะหนะ ดังนั้นจึงมีการพัฒนารูปแบบนำส่งแบบใหม่ที่สามารถปลดปล่อยตัวยานบนผิวได้นานสะดวกและปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน ระบบก๊อฟิล์ม (Film forming solution) เป็นระบบนำส่งยาบนผิวหนังในรูปแบบแผ่นฟิล์ม ถูกเตรียมให้อยู่ในรูปแบบสารละลายเมื่อฉีดหรือพ่นสารละลายออกไป โมเลกุลของยากระจายตัวอยู่ในสารก๊อฟิล์ม (film-forming agent) ในตัวทำละลายที่ระเหยได้ (Kathe and Kathpalia, 2017) เมื่อสัมผัสพื้นผิวตัวทำละลายจะระเหยออกไปเกิดแผ่นฟิล์มเคลือบอยู่ที่พื้นผิว มีการรายงานการเตรียมสารละลายก๊อเจลเพื่อนำส่ง testosterone สู้ผิวหนังโดยใช้สารก๊อฟิล์ม poly(vinyl alcohol) และ poly(vinyl pyrrolidone) ใช้ liquid paraffin และ Tween 80 เป็น พลาสติกไซเซอร์และสารลดแรงตึงผิว พบว่าฟิล์มสามารถยึดติดกับผิวหนังได้ดี ตัวยาสามารถซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ปริมาณมาก จากข้อดีดังกล่าวระบบสารละลายก๊อฟิล์มถูกพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบสเปรย์

ระบบของสารละลายก๊อฟิล์มแบบพ่นละอองฝอยมีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ที่ต้องพิจารณาดังนี้ พอลิเมอร์ (polymer) ทำหน้าที่เป็นสารก๊อฟิล์มที่มีคุณสมบัติเหนียว ยึดหยุ่น เกาะติดผิว และละลายได้ดีใน

ตัวทำละลายที่ระเหยได้ง่าย ปริมาณการใช้ 5-20% ของพอลิเมอร์สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ พลาสติไซเซอร์ (plasticizer) เติมเพื่อสร้างความยืดหยุ่นให้กับแผ่นฟิล์ม ป้องกันไม่ให้ฟิล์มเปราะแตกหักง่าย และตัวทำละลาย (solvent) ต้องสามารถระเหยที่อุณหภูมิห้องได้ง่าย ทำให้ตัวยากระจายตัวได้อย่างสม่ำเสมอในตำรับ

### 1) Eudragit® S100

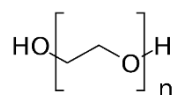


ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ Eudragit® S100 (Sakhno et al., 2015)

เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ในกลุ่ม polymethacrylates เกิดจาก monomers ชนิด methacrylic acid and methyl methacrylate ทำปฏิกิริยา polymerization ในอัตราส่วน 1:2 ต่อโมล เป็น anionic copolymers ละลายได้ดีในตัวทำละลาย methanol, acetone, ethanol สามารถละลายได้ที่ pH 7 เมื่อนำมาพัฒนาในตำรับจะทำหน้าที่สารก่อฟิล์ม สารยึดเกาะ สารเพิ่มปริมาณ สารควบคุมการปลดปล่อยยา (Higashi et al., 2015; Guo et al., 2017) พบว่ามีรายงานการพัฒนายาสเปรย์ ropivacain โดยใช้ 5% Eudragit S100 เป็นสารก่อฟิล์มละลายในตัวทำละลาย ethanol และ isopropyl alcohol ในอัตราส่วน (1:1) (Ranade et al., 2017)

### 2) พลาสติไซเซอร์ (Plasticizer)

พลาสติไซเซอร์เป็นสารสร้างความยืดหยุ่นให้กับฟิล์ม โดยจะลดแรงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์เป็นผลทำให้ความแข็งแรงของพอลิเมอร์ลดลง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพลาสติไซเซอร์และพอลิเมอร์ด้วย



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ PEG

PEGs เป็นสารประกอบไม่มีประจุ (nonionic) ละลายได้ดีในน้ำ acetone, alcohols, glycerin และ glycols ในอุตสาหกรรมยา PEGs อาจถูกเรียกว่า polyethylene oxide หรือ polyoxyethylene มีชื่อพ้องด้วยกันหลายชื่อ ได้แก่ Carbowax, Carbowax Sentry, Lipoxol, Lutrol E, PEG, Pluriol E, polyoxyethylene glycol

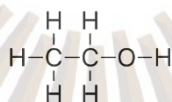
ขนาดโมเลกุลของ PEGs 200-600 จะอยู่ในสถานะของเหลว มีลักษณะข้นหนืด สีเหลืองอ่อนหรือใส มีกลิ่นเฉพาะตัวและขมปนรสเผ็ดร้อนเล็กน้อย ทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ตัวทำละลาย สารพื้นฐานในยาเหน็บ และสารหล่อลื่นในยาเม็ดหรือแคปซูล

PEGs ถูกนำมาใช้เตรียมเภสัชภัณฑ์รูปแบบต่างๆ ได้แก่ ยาฉีด ยาใช้ภายนอก ยาหยอดตา ยารับประทาน และยาเหน็บทวาร โดยผสมในนาทริกซ์ของพอลิเมอร์เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมการปลดปล่อยยา PEG มีความคงตัว ไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนัง ไม่ซึมผ่านผิวหนังแม้จะละลายในน้ำแต่สามารถล้างออกได้ง่าย PEG ในรูปแบบของเหลวจะถูกใช้เป็นส่วนช่วยแขวนตะกอนและสารปรับความหนืด อีกทั้งยังสามารถเพิ่มความคงตัวของ emulsifying agent ได้ด้วย PEG 400 มีสถานะเป็นของเหลวเหมือนกับ propylene glycol

### 3) ตัวทำละลาย (Solvent)

ในการเตรียมตำรับสเปรย์ตัวทำละลายมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งที่ทำให้สเปรย์ก่อฟิล์ม เนื่องจากตัวทำละลายจะต้องละลายสารก่อฟิล์มและสารเติมแต่งชนิดอื่นๆ ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกันก่อน ในขณะเดียวกันอัตราเร็วในการระเหยของระบบตัวทำละลายมีผลต่อการซึมผ่านของตัวยาเข้าสู่ผิวหนัง (Tran and Tran, 2019) หากตัวทำละลายระเหยช้าสารก่อฟิล์มจะเปียกและจับตัวเป็นก้อน ตัวยาไม่สามารถปลดปล่อยออกมาได้ การเลือกใช้ตัวทำละลายสารอินทรีย์ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของมนุษย์เป็นสำคัญ ตามข้อแนะนำของ ICH guideline Q3C (R6) on impurities: guideline for residual solvents (Guidance for Industry Q3C, 2012) และนอกจากนี้ตัวทำละลายจะต้องช่วยในการซึมผ่านของตัวยาเข้าสู่ผิวหนัง

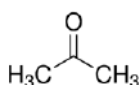
#### 3.1) Ethanol



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ ethanol

Ethanol หรือ Ethyl alcohol มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นหมู่ฟังก์ชัน ทำให้โครงสร้างประกอบไปด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ จึงสามารถละลายสารได้อย่างหลากหลาย สามารถหลอมรวมกับน้ำและ อะซิโตนได้เพราะเกิดพันธะไฮโดรเจน มีสูตรเคมีเป็น  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  มวลโมเลกุล (Mw): 46.06 g/mol ระเหยได้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นตัวทำละลาย Class 3 ซึ่งได้รับอนุญาตให้ใช้เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยและสามารถลดความเสี่ยงต่อผลที่จะเกิดขึ้นกับสุขภาพของมนุษย์ได้ (Guidance for Industry Q3C, 2012)

#### 3.2) Acetone



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของ acetone

Acetone หรือ 2-Propanone มีหมู่คีโตนเป็นหมู่ฟังก์ชัน โมเลกุลมีอะตอมของออกซิเจนสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่น เช่น โมเลกุลของน้ำ methanol ethanol เป็นต้น ระเหยได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้อง มีสูตรเคมีคือ  $C_3H_6O$  มวลโมเลกุล (Mw): 58.08 g/mol เป็นตัวทำละลาย Class 3 เช่นเดียวกับ ethanol

### 3.3) Isopropyl alcohol



ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของ isopropyl alcohol

Isopropyl alcohol หรือ Propan-2-ol เป็นสารกลุ่มแอลกอฮอล์ มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นหมู่ฟังก์ชันสามารถเกิดไฮโดรเจนกับโมเลกุลของสารมีขั้วได้จึงมีสมบัติในการหลอมรวมกับน้ำ ethanol methanol และละลายได้ใน acetone เป็นตัวทำละลาย Class 3 เช่นเดียวกับ ethanol และ อะซิโตน

#### 2.1 สมบัติทางเคมีของตัวรับ (Chemical properties)

##### 1) FI-IR (Fourier transform infrared)

ศึกษาความเข้ากันได้และอัตรากิริยาที่เกิดขึ้นของตัวยา พอลิเมอร์ พลาสติกไฮเซอร์ แผ่นฟิล์ม และตัวยากับแผ่นฟิล์ม โดยศึกษาจากการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  ของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ในโมเลกุล

#### 2.2 สมบัติเคมีกายภาพของตัวรับ (Physicochemical properties)

##### 1) ความตึงผิว (Surface tension)

คือแรงต่อความยาวของผิวสัมผัสหนึ่งหน่วยหรือพลังงานต่อพื้นที่หนึ่งหน่วย บอกถึงความพยายามในการยืดพื้นผิวของของเหลว มีสัญลักษณ์ คือ  $\gamma$

$$\gamma = F/L$$

เมื่อ F เป็นแรงตึงผิว

L เป็นความยาวของผิวสัมผัส

ค่าแรงตึงผิว (Surface tension force) จะเกิดขึ้นบริเวณผิวสัมผัสของของเหลวเมื่อสัมผัสกับของเหลวอื่น หรือสัมผัสกับผิวของของแข็ง เป็นการยึดระหว่างโมเลกุล โดยแรงตึงผิวเกิดขึ้นจากการสัมผัสผิวของของเหลว 2 ทิศทาง ทางขนาน และตั้งฉากกับเส้นขอบของวัตถุที่สัมผัส เมื่อสารละลายก่อฟิล์มถูกทำให้เป็นละอองฝอยต้องมีแรงดึงที่เกิดขึ้นระหว่างของเหลวกับอากาศ ของเหลวกับของแข็งและของแข็งกับอากาศ ซึ่งของเหลวสามารถเกิดแรงยึดติด (Adhesion force) กับของแข็งหรือพื้นผิวลักษณะดังภาพที่ 17



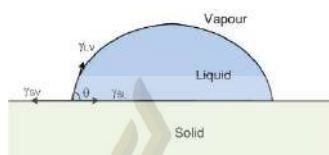
ภาพที่ 6 ประเภทของความสามารถในการเปียกบนพื้นผิว (Felton et al., 2019)



## 2) ค่ามุมสัมผัส (Contact angle; $\theta$ )

คือการวัดความสามารถในการเปียกบนพื้นผิวของวัตถุเมื่อของเหลวถูกพ่นออกไป วัดจากมุมสัมผัสของของเหลวกับพื้นผิววัตถุ เมื่อค่า  $\theta$  มีค่าเท่ากับ  $0^\circ$  ของเหลวจะกระจายอยู่บนผิววัตถุอย่างสม่ำเสมอหรือเปียกด้วยของเหลวนั้นสมบูรณ์ กรณี  $\theta$  มีค่าเท่ากับ  $0-30^\circ$  ของเหลวจะแผ่กระจายบนผิววัตถุ เมื่อของเหลวมีมุมสัมผัสระหว่าง  $30-89^\circ$  เรียกว่า เปียกเป็นบางส่วน (partially wetting) เมื่อมีมุมสัมผัสมากกว่าหรือเท่ากับ  $90^\circ$  เรียกว่า ไม่เปียก (non-wetting) หรือ ระบบใด ๆ ที่มี  $0^\circ < \theta < 90^\circ$  จะเป็นการเปียกบางส่วน (partially wetting) และ  $\theta=180^\circ$  เป็นการไม่เปียกเลย (non-wetting) (Mayer, 1946)

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cos \theta$$



ภาพที่ 7 มุมสัมผัสของหยดสารละลาย (Makkonen, 2016)

## 3) ค่าความหนืด (Viscosity)

เป็นค่าที่บอกความสามารถในการต้านทานการไหลของของไหลเมื่อมีแรงมากระทำ (F) ในแนวนานกับพื้นผิว เรียก แรงต้านที่เกิดขึ้นนี้ว่า แรงเฉือน (Shear force) เมื่อคิดค่าแรงต่อหน่วยพื้นที่ ( $F/A$ ) ที่ทำให้เกิดการไหล เรียกว่า แรงเฉือนต่อหน่วยพื้นที่ ถ้าของไหลมีความหนืดสูงขึ้น ก็ต้องใช้แรงเฉือนที่สูงขึ้นตามไปด้วย หน่วยของความหนืด คือ  $\text{dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-2}$  หรือ  $\text{gram} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$  เรียกเป็น poise เมื่อ 1 poise คือ แรงที่ใช้ทำให้ของเหลวที่มีพื้นที่หน้าตัด  $1 \text{ cm}^2$  หนา  $1 \text{ cm}$  เคลื่อนที่ด้วยความเร็ว  $1 \text{ cm/sec}$  (1 poise มีค่าเท่ากับ 100 centipoise)

## 4) การตรวจสอบลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์ม (surface morphology)

เป็นการดูลักษณะพื้นผิวของฟิล์ม โดยการตัดแผ่นฟิล์มเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด  $1 \times 1 \text{ cm}$  ดิจขึ้นงานแผ่นฟิล์มบนแท่นรองรับ (Stub) แล้วนำไปเคลือบด้วยคาร์บอนแล้วเคลือบซ้ำด้วยทองคำจากนั้นนำชิ้นงานแผ่นฟิล์มที่ผ่านการเคลือบแล้วไปตรวจสอบพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope)

## 5) เวลาที่ตัวทำละลายระเหย (Evaporation time) (Pawer and Chaudhary, 2015)

เป็นระยะเวลาที่ตัวทำละลายระเหยออกจากแผ่นฟิล์มจนแห้ง ทดสอบโดยทำการสเปรย์สารละลายฟิล์มลงบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน เริ่มจับเวลาและหยุดเวลาเมื่อน้ำหนักน้ำหนักกระดาษกรองคงที่ บันทึกเวลาที่ใช้

มีรายงานการวิจัย Sritharadol et al. (2017) ทำการเตรียม mupirocin-loaded Eudragit E100 spray films ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. suis* and *P. aeruginosa* ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่บาดแผล ด้วยวิธี disc diffusion ที่  $20 \mu\text{g/mL}$  จากการทดสอบพบว่า *S. aureus*

(diameter  $41.6 \pm 0.2$  mm), *S. epidermidis* ( $45.0 \pm 0.2$  mm) and *S. suis* ( $18.8 \pm 1.5$  mm) ซึ่งให้ค่า inhibition zone มากกว่าตำรับที่เตรียมเป็น ointment *S. aureus* (diameter  $36.9 \pm 0.4$  mm), *S. epidermidis* and *S. suis* ( $45.0 \pm 0.2$  mm และ 0.0 mm) ตามลำดับ Abdel-Rahman et al. (2020) ทำการเตรียม vancomycin-loaded Eudragit E100, S100, RL100 ในอัตราส่วน (25:40:35) สามารถยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus ATCC 6538 ให้ค่า inhibition zone  $91 \pm 15.4$



### บทที่ 3

#### ระเบียบวิธีวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและสารมาตรฐาน

1. Acetonitrile 99.9% AR Grade (RCI Labscan Ltd., Thailand)
2. Acetonitrile, HPLC Grade (RCI Labscan Ltd., Thailand)
3. Ethanol AR Grade (RCI Labscan Ltd., Thailand)
4. Ethyl Acetate, AR Grade (RCI Labscan Ltd., Thailand)
5. Hexane 99%, AR Grade (RCI Labscan Ltd., Thailand)
6. Isopropanol 99.9% HPLC Grade (RCI Labscan Ltd., Thailand)
7. Methanol 99.9% HPLC Grade (RCI Labscan Ltd., Thailand)
8. Monosodium dihydrogenortho-phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), (Univar, Australia)
9. Monosodium hydrogenortho-phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), (Univar, Australia)
10. Phosphoric acid 85% ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) AR grade, Merck
11. Piperine (Merck KGaA, Germany)
12. Potato dextrose agar (PDA, Difco<sup>TM</sup>, USA)
13. Sodium chloride (Ajax Finechem, Australia)
14. Tryptic soy broth (TSB, Bacto<sup>TM</sup>, USA)
15. Ultra-pure water

#### 3.2 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ACE 3 C18-AR, 250 x 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$  octadecylsilane ACE<sup>®</sup>, Scotland
2. ACE Generix C18 Guard cartridge for 3.0-4.6 mm ID HPLC columns
3. Balance (Sartorius, USA)
4. Biosafety cabinet class 2
5. Contact Angle Tester (DATAPHYSICS:OCA 20, USA)
6. Desiccator
7. Duran bottle 100, 250, 500, 1,000, 2,000 ml
8. Franz cell apparatus HRD 0904-20201 (Variomag Telesystem Stirrer 40 C controller, USA)
9. FTIR spectrometer Perkin Elmer Spectrum 100, USA
10. Gas chromatography–mass spectrometer (GC-MS, Agilen technologies 7890)
11. Hotplate and Magnetic Stirrer C-MAG HS7, IKA, Thailand

12. HPLC Agilent Technologies 1260 Infinity, USA
13. HPLC Nylon Syringe filter (Polyamide, 13 mm, 0.45  $\mu$ m VertiClean™)
14. HPLC vial 2 ml and septum
15. Incubator (Model IN 110, Memmert, Germany)
16. Microcentrifuge tube 2.0 ml
17. Micropipette size 200, 1000  $\mu$ l (Socorex, Switzerland)
18. Micropipette tip 200, 1,000  $\mu$ l
19. Nylon filter membrane 0.45  $\mu$ m, VertiClean™
20. pH meter (SevenCompact™ S220, Mettler-Toledo, Switzerland)
21. Refrigerator (Model SCM-320SAD, Sanden intercool, Thailand)
22. Sieve size 60 mesh (Endecotts LTD London, England)
23. Sonicator Ultrasonic H-D P selecta®
24. Stability Chamber (BINDER, USA )
25. Sterile petri disk
26. Visco star plus viscometer (model DV-III, USA)
27. Volumetric flask 5, 10, 25, 1,000 ml
28. Vortex mixer (Genie 2, USA)
29. Whatman No.1 (GC Healthcare company, UK)

### 3.3 วิธีการวิจัย

#### 3.3.1 ขั้นตอนการเตรียมสมุนไพร

สมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของตำรับยาน้ำมันมหาจักรมีวิธีการเตรียมดังนี้ เทียนดำ เทียนแดง เทียนขาว เทียนขาวเปลือก เทียนตาตักแตน ดิปลี ซื้อจากร้านเจริญสุขโฮสเทล กรุงเทพมหานคร คัดเลือกสิ่งแปลกปลอมออก บดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ด้วยเครื่องบดฟ้า จากนั้นร่อนผงยาที่ได้ด้วยร่อนขนาด 25 (sieve number 25) จะได้ผงสมุนไพรความละเอียดระดับหยาบปานกลาง (medium coarse) น้ำมันงาสกัดเย็น ปริมาณ 3 kg ซื้อจากอำเภอเมือง ลพบุรี ผิวมะกรูดสดได้มาจากมะกรูดสดจำนวน 90 ลูก จากอำเภอเมือง ปทุมธานี ปทุมธานี คัดเลือกผลมะกรูดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 5.80 - 4.30 cm จำนวน 60 ลูก ล้างผลมะกรูดให้สะอาดด้วยน้ำและกลั้วด้วยน้ำกลั่น นำผลมะกรูดที่ได้ไปล้างให้แห้ง ใช้มีดค่อยๆ ปอกลอกผิวมะกรูดออกจนเห็นเส้นใยสีขาวด้านในผลมะกรูด ตัดผิวมะกรูดออกเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 0.40 - 0.60 cm เก็บในภาชนะที่บดแสงแช่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C

### 3.3.2 วิธีการเตรียมตำรับยาน้ำมันมหาจักร ตำรับยาน้ำมันมหาจักรมีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

1. ตวงน้ำมันด้วยกระบอกตวงปริมาตร 2.0 L เทน้ำมันที่ได้ลงในหม้ออะลูมิเนียมที่แห้งสนิท เปิดไฟในระดับอ่อนๆ ให้น้ำมันร้อน ใส่ผิวมะกรูดที่หั่นออกเป็นชิ้นเล็กๆ ลงไปในหม้อแล้วใช้ทัพพิกวนตลอดเวลาเพื่อป้องกันผิวมะกรูดไหม้ ทอดจนกระทั่งสีของผิวมะกรูดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม กรอบ ใช้เวลาประมาณ 2 h วัดอุณหภูมิ 105 °C กรองแยกกากผิวมะกรูดออกจากน้ำมันโดยใช้ตะแกรง จะได้น้ำมันใสสีน้ำตาลอ่อน

2. ชั่งเทียนดำ 15.13 g เทียนแดง 15.14 g เทียนขาว 15.12 g เทียนข้าวเปลือก 15.12 g เทียนตาคีแตน 15.14 g และดีปลี 30.32 g ที่บดหยาบปานกลาง เทลงในหม้ออะลูมิเนียมที่มีน้ำมันที่ให้ความร้อนอย่างอ่อนๆ ใช้ทัพพิกวนตลอดเวลาเพื่อเคี้ยวน้ำมันออกจากสมุนไพร จนกระทั่งกากสมุนไพรเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเทน้ำมันและกากสมุนไพรใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 2 L ปิดปากขวดด้วยแผ่นฟอยล์และพาราฟิน ทำการหมักสมุนไพรเป็นเวลา 5 วัน คนวันละ 1 ครั้ง เก็บไว้ในที่มืดแสง

3. เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการกรองแยกกากและน้ำมันออกจากกันโดยใช้กระดาษกรองน้ำมัน จะได้น้ำมันใสสีน้ำตาลเข้ม

4. ชั่งการบูร 30.05 g เติมลงในน้ำมันที่ได้ คนสารละลายตลอดเวลาเป็นเวลา overnight

5. จะได้ตำรับยาน้ำมันมหาจักรปริมาตร 1850 mL เก็บสารละลายที่ได้ในขวดพลาสติกชนิด Polypropylene (PP) เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ -20 °C



ภาพที่ 8 ขั้นตอนการเตรียมตำรับยาน้ำมันมหาจักร (a) ทอดผิวมะกรูด (b) วัดอุณหภูมิน้ำมันขณะทอด (c) ทอดด้วยไฟอ่อนจนกระทั่งผิวมะกรูดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (d) กรองกากด้วยตะแกรง (e) ทอดสมุนไพรชนิดอื่นๆด้วยไฟอ่อน (f) กรองน้ำมันที่ได้ด้วยกระดาษกรองน้ำมัน (g)

### 3.4 การเตรียมตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม (Film-Forming Solution)

#### 3.4.1 การทดสอบการละลายของน้ำมันมหาจักรกับ Plasticizer ในตัวทำละลายต่างๆ

การทดสอบการละลายของน้ำมันมหาจักรทำเพื่อหาตัวทำละลายและ plasticizer ที่มีความสามารถละลายน้ำมันได้ดีที่สุด ทำได้โดยการชั่งน้ำมันละลายในตัวทำละลายและ plasticizer ชนิดต่างๆ จากการสอบพบว่า น้ำมันมหาจักรละลายได้ดี isopropyl alcohol, acetone, polyethylene glycol 400, tween 80, IPA:EtOH (4:1), EtOH:Acetone (4:1), IPA:Acetone (4:1) ไม่ละลายในน้ำ ethanol, glycerin, propylene glycol และ

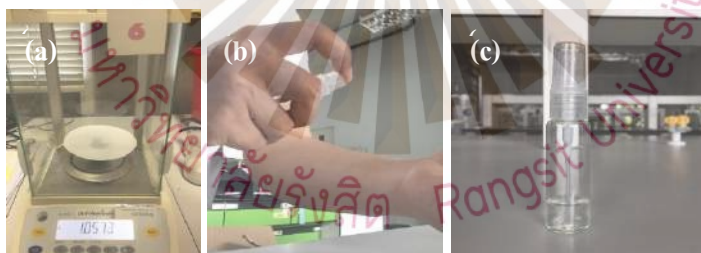


1,3-butylene glycol ดังนั้นในการเตรียมตำรับยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม isopropyl alcohol, acetone, polyethylene glycol, IPA:EtOH (4:1), EtOH:Acetone (4:1), IPA:Acetone (4:1) เป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายน้ำมันได้มากถึง 10%w/w จึงเลือกไปพัฒนาตำรับต่อไป

### 3.4.2 การเตรียมตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง

การเลือกชนิดและความเข้มข้นของสารกึ่งฟิล์มเป็นปัจจัยสำคัญในการการกึ่งฟิล์ม ชนิดของสารกึ่งฟิล์ม Eudragit S100 ที่ความเข้มข้น 5%, 10% และ 15% w/w และสารกึ่งฟิล์ม ethyl cellulose, PVP K30 และ Hydroxyethyl cellulose ถูกนำมาเตรียมเป็น copolymer เพื่อเพิ่มการยึดเกาะของแผ่นฟิล์มให้ดีขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 3 PEG400 และ glycerin เป็น Plasticizer ที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับแผ่นฟิล์มดูจากเมื่อนวดสารลงละลายลงบนผิวหนังแผ่นฟิล์มไม่ขาดออกจากกันได้ง่ายเมื่อมีการขยับ นอกจากนี้ในตำรับที่มี PEG400 และ glycerin ผสมเมื่อแห้งจะเกิดแผ่นฟิล์มใส แสงผ่านได้และแวววาว เมื่อเปรียบเทียบกับ PEG400 กับ propylene glycol และ PEG400 กับ 1,3-Butylene glycol การเตรียมน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังมีวิธีการเตรียมดังนี้

1. ชั่ง Film-forming agent ลงในขวด เติมตัวทำละลายปริมาตร  $\frac{3}{4}$  ของตัวทำละลายในตำรับ คนด้วย magnetic bar ตลอดเวลา จนกระทั่งได้สารละลายใสไม่มีสี
2. ชั่ง plasticizers เติมลงในภาชนะเดียวกันอย่างรวดเร็ว คนตลอดเวลาจะได้สารละลายใสไม่มีสี
3. ชั่ง MJ Oil และ menthol ลงในขวด คนตลอดเวลา จะได้สารละลายใสสีเหลืองอ่อน ไม่มีตะกอน นำสารละลายที่ได้ไปประเมินคุณลักษณะทางกายภาพดังนี้



**ภาพที่ 9** การประเมินลักษณะทางกายภาพของยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (a) การประเมินระยะเวลาที่ตัวทำละลายระเหยไป (b) การประเมินความสามารถในการยึดเกาะผิวหนังของแผ่นฟิล์ม (c) ลักษณะขวด spray ที่ใช้ในการประเมิน

- ประเมินการยึดเกาะของฟิล์มบนผิวหนัง สามารถทำได้โดยการสเปรย์สารละลายที่เตรียมได้ลงบนท้องแขนด้วยระยะห่าง 10 cm สังเกตลักษณะระดับความหนาของแผ่นฟิล์ม การเกิดจุดสีขาวหลังจากตัวทำละลายระเหยหมดไป ความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มเปราะแตกหักง่ายหรือไม่

- การประเมินความชุ่มชื้นของแผ่นฟิล์ม ทำได้โดยชั่งสารละลายที่เตรียมได้ลงบน petri dish ปริมาณ 1 g ทิ้งให้แห้งในตู้ดูดควัน overnight จากนั้นทำการลอกแผ่นฟิล์มออก เปรียบเทียบความใสของ

แผ่นฟิล์มสังเกตลักษณะระดับความหนาของแผ่นฟิล์ม การเกิดจุดสีขาวหลังจากตัวทำละลายระเหยหมดไป ความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มเปราะแตกหักง่ายหรือไม่

- ประเมินระยะเวลาที่ตัวทำละลายระเหยไป (Evaporation time) สามารถทำได้โดยการ เปรียบเทียบสารละลายลงบนกระดาษกรองระยะห่าง 10 cm นำแผ่นกระดาษกรองไปวางบนตาชั่งพร้อมกับจับเวลาจนกระทั่งตัวเลขบนตาชั่งนิ่ง แล้วกดหยุดเวลา

### 3.5 การออกแบบการทดลอง (Experimental design)

การทดลองเพื่อหาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการก่อฟิล์มที่ผิวหน้าและการปลดปล่อยตัวยาออกจากแผ่นฟิล์มโดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Full-factorial design ( $2^3$ ) ที่มี 3 ปัจจัย คือ ปริมาณของสารก่อฟิล์ม ( $X_1$ ) ปริมาณ plasticizer ( $X_2$ ) และอัตราส่วนของ plasticizer ที่ใช้ในตำรับ ( $X_3$ ) ซึ่งระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลองมี 2 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) และระดับสูง (1) วิเคราะห์ผลทางสถิติวิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง (Response Surface Methodology) โดยใช้โปรแกรม Minitab v. 16 มีสถานะที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 8 (MJ1- MJ8) สถานะทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งรวม 24 ตัวอย่าง โดยระดับของแต่ละปัจจัยที่ใช้ในการออกแบบการทดลองแสดง และสถานะที่ใช้ในการทดลองแสดงในตารางที่ 2

#### (1) ปัจจัยที่ใช้การทดลอง (factor)

- ปริมาณของสารก่อฟิล์ม (Film Former,  $X_1$ ): 5.0% และ 7.5%
- ปริมาณรวม plasticizer (Total Plasticizer,  $X_2$ ): 1% และ 3%
- อัตราส่วน plasticizer ระหว่าง PEG400 และ BG (The Ratio Plasticizer,  $X_3$ ): 1:1 และ 1:3

#### (2) ระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง

- High (1)
- Low (-1)

#### (3) ค่าตอบสนองของปัจจัย (Response)

- ค่าความหนืด (Viscosity)
- ค่าแรงตึงผิว (Surface tension)
- ค่ามุมสัมผัสที่ผิว (contact angle,  $\theta$ )

วิธีการออกแบบการทดลองเชิงแฟกเตอร์เรียล 2 ระดับ 3 ปัจจัย ผลการทดลองและตรวจสอบสถานะของการปฏิบัติงานให้ตรงตามลำดับของการทดลอง (run order) ซึ่งประกอบด้วยทำการทดลองทั้งหมด 8 การทดลองและทำการทดลองซ้ำ 3 รอบ รวมเป็น 24 กำหนดค่านัยสำคัญไว้ที่ 0.05 แสดงในตารางที่ 2

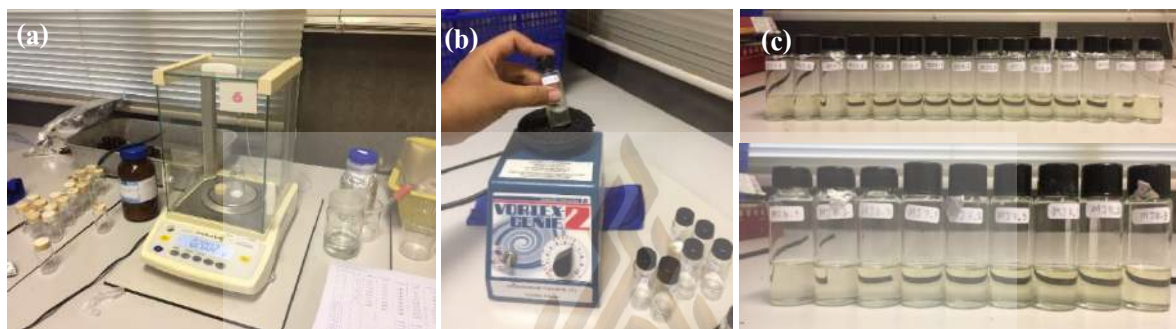
ตารางที่ 2 ตารางการสุ่มตัวอย่างและการออกแบบการทดลองโดยโปรแกรม Minitab 16

| Std Order | Run Order | CenterPt | Blocks | Film Former<br>( $X_1$ ) | Total Plasticizer<br>( $X_2$ ) | The Ratio Plasticizer<br>( $X_3$ ) |
|-----------|-----------|----------|--------|--------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| 1         | 1         | 1        | 1      | 5.0                      | 1                              | 1:1                                |
| 2         | 2         | 1        | 1      | 7.5                      | 1                              | 1:1                                |
| 3         | 3         | 1        | 1      | 5.0                      | 3                              | 1:1                                |
| 4         | 4         | 1        | 1      | 7.5                      | 3                              | 1:1                                |
| 5         | 5         | 1        | 1      | 5.0                      | 1                              | 3:1                                |
| 6         | 6         | 1        | 1      | 7.5                      | 1                              | 3:1                                |
| 7         | 7         | 1        | 1      | 5.0                      | 3                              | 3:1                                |
| 8         | 8         | 1        | 1      | 7.5                      | 3                              | 3:1                                |
| 9         | 9         | 1        | 1      | 5.0                      | 1                              | 1:1                                |
| 10        | 10        | 1        | 1      | 7.5                      | 1                              | 1:1                                |
| 11        | 11        | 1        | 1      | 5.0                      | 3                              | 1:1                                |
| 12        | 12        | 1        | 1      | 7.5                      | 3                              | 1:1                                |
| 13        | 13        | 1        | 1      | 5.0                      | 1                              | 3:1                                |
| 14        | 14        | 1        | 1      | 7.5                      | 1                              | 3:1                                |
| 15        | 15        | 1        | 1      | 5.0                      | 3                              | 3:1                                |
| 16        | 16        | 1        | 1      | 7.5                      | 3                              | 3:1                                |
| 17        | 17        | 1        | 1      | 5.0                      | 1                              | 1:1                                |
| 18        | 18        | 1        | 1      | 7.5                      | 1                              | 1:1                                |
| 19        | 19        | 1        | 1      | 5.0                      | 3                              | 1:1                                |
| 20        | 20        | 1        | 1      | 7.5                      | 3                              | 1:1                                |
| 21        | 21        | 1        | 1      | 5.0                      | 1                              | 3:1                                |
| 22        | 22        | 1        | 1      | 7.5                      | 1                              | 3:1                                |
| 23        | 23        | 1        | 1      | 5.0                      | 3                              | 3:1                                |
| 24        | 24        | 1        | 1      | 7.5                      | 3                              | 3:1                                |

### 3.6 การพัฒนาตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง

การเตรียมตำรับสารกึ่งฟิล์มจะมีการศึกษาผลของ Eudragit<sup>®</sup> S100 (film-former), PEG400 (plasticizer) และ BG (humectant and plasticizer) ทำการเตรียม 8 ตำรับ 3 ซ้ำ รวม 24 ตำรับ โดยมีวิธีการ

เตรียมดังนี้ ชั่ง HP- $\beta$ -CD และ Eudragit® S100 ตามปริมาณที่กำหนดใส่ลงในขวด เติมน้ำตาลละลาย (Ethanol: Acetone; 4:1) ให้ได้ปริมาณ 2/3 ของปริมาณสารทั้งหมดในตำรับ ปิดฝาขวดให้แน่น vortex จนกระทั่งสารทั้ง 2 ชนิดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ใส่ไม่มีสี จากนั้นค่อยๆเติม PEG400 และ BG (1,3-Butanediol) ตามอัตราส่วนที่กำหนดแล้วทำให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง เติมน้ำมันมะพร้าวลงไปจนครบปริมาณ จากนั้นเติม dicaprylyl ether และเมนทอลลงไป ปรับปริมาตรของตำรับให้ครบตามปริมาณที่กำหนดด้วยตัวทำละลาย



ภาพที่ 10 การเตรียมตำรับยาน้ำมันโดยมีการชั่งโดยใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (a) และเครื่อง vortex (b) ตำรับยาน้ำมันรูปแบบยาพ่นละอองฝอยที่เตรียมได้ตำรับ MJ1.1-MJ8.3 (c)

### 3.7 การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับยาน้ำมันมะพร้าวห้กรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (Physical evaluation of spray formulation)

#### 3.7.1 ลักษณะทางกายภาพ (Appearance)

ตำรับยาน้ำมันในรูปแบบสเปรย์ที่เตรียมได้จะถูกประเมิน ความขุ่นใส การยึดเกาะที่ผิวหนัง กลิ่น สี และความชุ่มชื้นที่ผิวหนัง การยึดเกาะของฟิล์มบนผิวหนังและระยะเวลาที่ตัวทำละลายระเหยไป

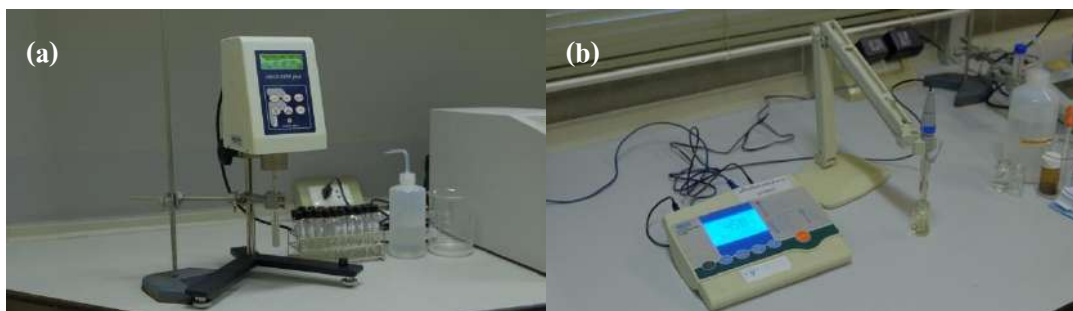
#### 3.7.2 การวัดความเป็นกรดด่างของตำรับยาน้ำมันมะพร้าวห้กรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม

ความเป็นกรดเป็นด่างของตำรับยาน้ำมันรูปแบบสารละลาย ทำการวัดค่าซ้ำ 3 ครั้งโดยใช้เครื่องวัด pH meter (CG842, SCHOTT, Germany) ด้วย non-aqueous probe เครื่อง pH meter ทำการ calibration ก่อนใช้โดยใช้สารละลายมาตรฐาน pH 4, 7 และ 10 ค่าที่วัดได้รายงานเป็น ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SD

#### 3.7.3 การวัดค่าความหนืดของตำรับยาน้ำมันมะพร้าวห้กรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม

ความหนืดของแต่ละสูตรที่เตรียมได้ ทำการวัดค่าซ้ำ 3 ครั้งโดยใช้เครื่องวัด Visco star plus viscometer (model DV-III, USA) ใช้ L1 spindle Sample Viscosity (cP) ที่  $25 \pm 1$  °C ที่ความเร็วรอบ 30.0, 50.0 และ 60.0 RPM รายงานค่าที่วัดได้ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SD

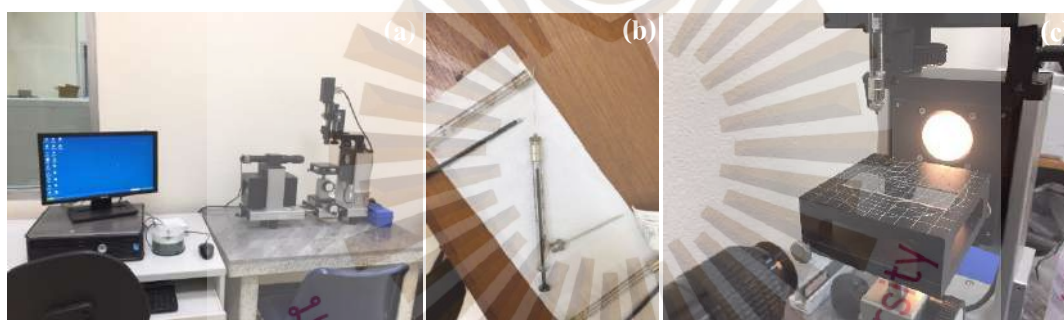




ภาพที่ 11 เครื่อง Viscometer (a) และ pH meter (b)

### 3.7.4 ค่าแรงตึงผิว (Surface tension) และค่ามุมสัมผัสที่ผิว (contact angle, $\theta$ )

ในการศึกษาค่ามุมสัมผัสที่ผิว (contact angle) ของยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มนั้นจะได้รับการทดสอบด้วยเครื่องวัดมุมสัมผัส Contact Angle Tester (DATAPHYSICS:OCA 20, USA) ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ดังแสดงในภาพที่ 11 ทำการทดสอบที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  °C ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ 1 หยดจะใช้ปริมาณ 4.100  $\mu\text{L}$  และระยะเวลาในการวัดผลจะวัดทุกๆ 3 วินาที จำนวน 4 ครั้ง เมื่อสารละลายหยดลงมาจาก Gas tight syringe กระทบกับแผ่นสไลด์ที่รองรับด้านล่าง ค่าที่วัดได้รายงานเป็น ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SD



ภาพที่ 12 เครื่องวัดมุมสัมผัสที่ผิว (Contact Angle Tester) (a) Gas tight syringe ขนาด 500  $\mu\text{L}$  (b) และลักษณะหยดของสารละลายที่หยดลงบนกระจกสไลด์ในการทดสอบหาค่า contact angle (c)

### 3.8 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมหาจักร

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมหาจักร ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS (Agilen technologies 7890) มีสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ดังนี้

Sample : diluted with heptane 1:10

Detector: 59-75 °C inert XL EI/CI MSD With Triple-Axis Detector

Column : DB-5MS (30 m x 0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$  Film Thickness)

Flow : 1.0 mL/min with constant flow

Carrier gas: Helium

Inject volume : 1  $\mu\text{L}$

Aux Heater: 250 °C



Inlet: 250 °C, Splitless

| Oven: | Rate (°C/min) | Valuev(°C) | Hold time (min) |
|-------|---------------|------------|-----------------|
|       | -             | 60         | 1               |
|       | 3             | 240        | 10              |

### 3.9 การหาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐาน Piperine ในน้ำมันพริกด้วยเทคนิค HPLC

#### 3.9.1 วิธีการเตรียมตัวเคลื่อนที่ (Mobile phase)

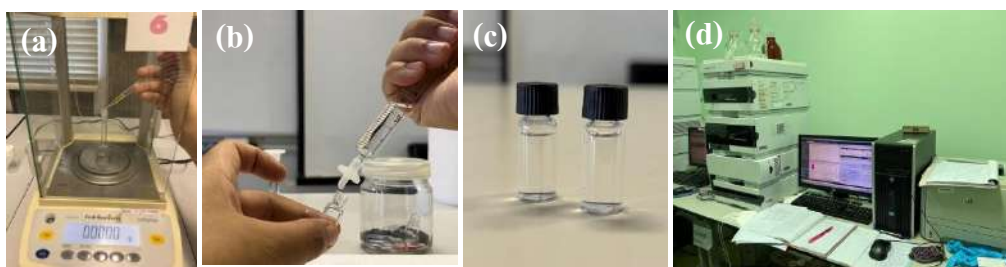
ทำการตวง Phosphoric acid 85% ปริมาตร 1.0 mL ใส่ในกระบอกตวง 5 mL เติมน้ำในน้ำ milliQ water ปริมาตร 999 mL ใช้แท่งคนคนให้สารละลายเข้ากัน นำสารละลายที่ได้กรองผ่านหัวกรอง (Disc Nylon 0.45  $\mu$ m) จำนวน 2 รอบ เพื่อกำจัดอนุภาคขนาดเล็กออกไป จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 30 min เพื่อกำจัดฟองอากาศออกไป



ภาพที่ 13 อุปกรณ์และตัวทำละลายที่ใช้เตรียมตัวเคลื่อนที่ (a) เครื่องกรองตัวทำละลาย (b) และเครื่องสั่นความถี่สูง (Sonicator) (c)

#### 3.9.2 วิธีการเตรียมสารมาตรฐาน (Piperine) และสารตัวอย่างน้ำมันพริก

การเตรียมสารมาตรฐานโดยการเลือกสารมาตรฐานของสมุนไพรแต่ละชนิดจะพิจารณาเลือกจากสารที่เป็นสารประกอบหลักในสมุนไพรชนิดนั้นๆ ซึ่งสารมาตรฐานของพืชสมุนไพร คือ Piperine ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ stock solution ให้ได้ความเข้มข้น 1 mg/mL โดยทำการชั่ง piperine 5 mg ในขวด volume metric flask 5 mL ละลายด้วย ACN แล้วปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตรตามที่กำหนด นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ 5 ความเข้มข้น นำสารละลายที่ได้กรองผ่าน Nylon Syringe filter 0.45  $\mu$ m การเตรียมสารตัวอย่างสามารถทำได้โดยชั่งสารตัวอย่างปริมาณ 13.7 mg ในขวด volume metric flask 10 mL ละลายด้วย 60% IPA/ACN ปรับปริมาตรให้ได้ตามที่กำหนด นำสารละลายที่ได้กรองผ่าน Nylon Syringe filter 0.45  $\mu$ m จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (HPLC Agilent 1200 Series, ACE 5 C18-AR column; 250 x 4.6 mm, filled with 5  $\mu$ m octadecylsilane (Advanced Chromatography Technologies, Aberdeen, Scotland) Quaternary pump, Autosampler, Ultra-Violet Detector at 340 nm)



ภาพที่ 14 วิธีการชั่งสารตัวอย่าง (a) กรองสารตัวอย่าง (b) ขวด vial ใส่สารตัวอย่าง (c) และเครื่อง HPLC (d)

### 3.10 การพัฒนาวิธีการควบคุมคุณภาพตำรับยา

การพัฒนาวิธีการควบคุมคุณภาพตำรับยาปราบชมพูทวีปด้วยวิธีเอชพีแอล ซี โดยการวิเคราะห์ เปรียบเทียบเวลาริเทนชัน (Retention time,  $R_t$ ) และสเปกตรัมของรอยพิมพ์ของ สารในตำรับยาปราบชมพู ทวีปกับสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบในตำรับ และสาร มาตรฐานแต่ละชนิด ซึ่งมีวิธีการ วิเคราะห์ดังนี้

### 3.10.1 การพัฒนาวิธีการควบคุมคุณภาพตำรับ

ด้วยวิธีการวิเคราะห์หารอยพิมพ์และสารออกฤทธิ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยนำคำรับยาน้ำมันมหาจักรและน้ำมันสมุนไพรร่วมที่เป็นองค์ประกอบในคำรับมาวิเคราะห์หารอยพิมพ์และสารออกฤทธิ์ที่พบ ใช้สภาวะที่ 5 ใช้คอลัมน์ ACE 5 C18-AR column ขนาด 250 x 4.6 mm, filled with 5  $\mu$ m octadecylsilane วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) คือ 0.1% phosphoric acid ในน้ำและ Acetonitrile โดยเปลี่ยนแปลงสัดส่วนตามเวลา (Gradient) อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เท่ากับ 1.0 mL/min ปริมาณสารที่ใช้ฉีด 10  $\mu$ L และตรวจวัดที่ความยาวคลื่นที่ 254 และ 340 nm จากนั้นนำเวลาริเทนชัน (retention time) และสเปกตรัมของรอยพิมพ์มาเปรียบเทียบกับระหว่างรอยพิมพ์ของคำรับยาน้ำมันมหาจักรกับสมุนไพรร่วมแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบในคำรับ และรอยพิมพ์ของคำรับยากับสารมาตรฐาน

### 3.10.2. การประเมินวิธีวิเคราะห์ (method validation)

1) ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) เป็นความสามารถของวิธีการทดสอบที่จะให้ผลการทดสอบเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นที่กำหนดไว้ ซึ่งทดสอบได้ด้วยการเตรียมสารมาตรฐาน 5 ความเข้มข้น เพื่อคุณลักษณะของความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่ได้ โดยชั่งสารมาตรฐาน Piperine ด้วยเครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง จากนั้นละลายสารมาตรฐานด้วยอะซิโตรไนโตรเตรียมเป็นให้ได้ความเข้มข้น 0.196, 0.392, 0.784, 1.568, 3.136, 6.272 และ 18.816  $\mu\text{g/mL}$  จากนั้นกรองสารละลายผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45  $\mu\text{m}$  แล้วนำไปวัดด้วยเครื่องเอชพีแอลซีโดยฉีดความเข้มข้นละ 3 ครั้ง เพื่อนำผลมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยแกน X คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานมีหน่วยเป็น  $\mu\text{g/mL}$  และแกน Y คือ พื้นที่ใต้กราฟ (peak area) (กรกนก สุวรรณราช, 2561) จากนั้นคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ ( $r^2$ ) ต้องไม่ต่ำกว่า 0.9950 (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), 2005)

2) การวิเคราะห์ความแม่นยำ (Precision) เป็นคุณลักษณะที่แสดงความสามารถในการทดสอบ สารมาตรฐานความเข้มข้นเดิมซ้ำกันหลายครั้งแล้วให้ผลที่ได้ออกมามีค่าใกล้เคียงกัน โดยชั่งสารมาตรฐาน Piperine ด้วยเครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง จากนั้นละลายสารมาตรฐานด้วยด้วยอะซิโตรไนโตรเตรียมเป็น ให้ได้ ความเข้มข้น 5, 10, 20  $\mu\text{g/mL}$  จากนั้นกรองสารละลายผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วนำไปวัด ด้วยเครื่องเอชพีแอลซีโดยความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (intraday precision) จะฉีดสารละลายเข้าเครื่อง เอชพีแอลซีความเข้มข้นละ 3 ครั้ง เพื่อนำผลมาวิเคราะห์หาค่า %RSD ส่วนความแม่นยำต่างวัน (interday precision) จะเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกันกับ intraday precision ทำการวิเคราะห์วันละ 1 ตัวอย่างติดต่อกัน 3 วัน แล้วจึงนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณหาค่า %RSD (กรกนก สุวรรณราช, 2561) ซึ่งค่า %RSD ไม่ควร เกิน 2% (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), 2005)

3) การวิเคราะห์ความถูกต้อง (Accuracy) เป็นคุณลักษณะที่แสดงว่าผลการทดสอบมีค่าเข้าใกล้ ค่าจริงหรือค่าอ้างอิงหรือค่าที่ยอมรับ โดยชั่งสารมาตรฐาน Piperine ให้ได้ความเข้มข้น 5, 10, 20  $\mu\text{g/mL}$ จาก นั้น spiked สารละลายมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 500 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย ตัวอย่าง 500  $\mu\text{L}$  ผสมให้เข้ากันและทำการฉีดความเข้มข้นละ 10  $\mu\text{L}$  จำนวน 3 ซ้ำ แล้วคำนวณ %recovery (เสาวภาคย์ วชิรวงศ์กวิน, 2556) ซึ่งค่า %recovery ที่ผ่านเกณฑ์ควรอยู่ในช่วง 90 – 115% (The United State Pharmacopoeia Convention, 2013)

4) ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of detection; LOD) เป็นปริมาณ ความเข้มข้นสารมาตรฐานต่ำสุดที่สามารถตรวจหรือวัดได้ แต่ไม่สามารถแสดงปริมาณได้อย่างมีความถูกต้องหรือค่าความแม่นยำได้ โดยทั่วไป LOD มีค่าประมาณ 3 เท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของ สารละลาย blank (กรกนก สุวรรณราช, 2561)

5) ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ทดสอบซึ่งเป็นที่ยอมรับได้ (Limit of quantitation; LOQ) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารมาตรฐานซึ่งสามารถหาปริมาณได้โดยที่มีความถูกต้องและความ แม่นยำเป็นที่ยอมรับ สามารถแสดงค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบได้ ดังนั้นจึงจำกัดในการวัดเชิง ปริมาณจึงเป็นคุณสมบัติของวิธีที่แสดงความสามารถในการรายงานผลที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่มีความเชื่อมั่น ระดับหนึ่ง โดย LOQ จะมีค่าเป็น 3 เท่าของ LOD หรือประมาณ 10 เท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ สารละลาย blank (กรกนก สุวรรณราช, 2561)

### 3.11 การวิเคราะห์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มร่วมกับสารสกัดด้วยเครื่อง FT-IR (Fourier-transform infrared spectroscopy)

นำสารละลายกึ่งฟิล์มที่เตรียมได้ เทใส่ petri dish (diameter 42 mm) ปริมาณ 2.015 กรัม นำไปวาง ไว้ใน Fume hood เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำมาตัดให้มีขนาด  $1 \times 1 \text{ cm}$  นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR

spectrometer Perkin Elmer รุ่น Spectrum 100 วิเคราะห์สารตัวอย่างโดยใช้เทคนิค The Universal Attenuated Total Reflectance Accessory (UATR), Resolution 4, Scan wave number 4000-650  $\text{cm}^{-1}$



ภาพที่ 15 วิธีการชั่งสารตัวอย่าง (a) วิธีทำสารตัวอย่างให้แห้ง (b) และแผ่นฟิล์มขนาด  $1 \times 1 \text{ cm}$  (c)

### 3.12 การทดสอบการปลดปล่อยและซึมผ่านของตำรับ Film-forming solution

การศึกษาการปลดปล่อยด้วยวิธี Modified Franz diffusion cell จำนวน Vessel 6 หลุมโดยทำการเปรียบเทียบ cellulose acetate membrane และหนังหมูที่ตายแล้ว (pig skin) โดยเลือกใช้หนังหมูบริเวณหน้าท้อง และควบคุมความหนาให้อยู่ประมาณ 1–1.5 mm โดยนำมาลอกเอาเซลล์ไขมันและขนออก หลังจากนั้นนำหนังหมูที่เตรียมได้แช่ด้วยสารละลาย Normal saline แล้วนำมาซับน้ำออก ท่อไว้ในกระดวยฟลอยด์และเก็บไว้ในช่องแข็งอุณหภูมิ  $0^{\circ}\text{C}$  โดย Modified Franz diffusion cell มีระบบควบคุมอุณหภูมิรอบเซลล์ที่  $37^{\circ}\text{C} \pm 1.0$  ซึ่งเท่ากับอุณหภูมิที่เลือดของมนุษย์แสดงในรูปที่ 3.2 ตามวิธีการของ (Asasutiarit et al., 2013) การศึกษาการปลดปล่อยด้วยวิธีทำได้โดยการเปิดสาร Film-forming solution ปริมาณ 1 mL ลง chamber ของเครื่อง Franz diffusion cell ที่มีแผ่น membrane รองอยู่ ส่วน receptor chamber บรรจุสารละลาย 10% EtOH in pH 7.4 Phosphate buffer (PBS) solution ใช้เป็นตัวกลางแทนเลือดในร่างกาย กำหนดอุณหภูมิ  $37 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$  และความถี่ในการหมุนของ magnetic bar 6.000 Freq/p เริ่มจับเวลาตั้งแต่แผ่นฟิล์มสัมผัสกับ medium ทำการเก็บสารละลายตัวอย่างปริมาณ 1 mL ณ จุดเวลาต่างๆ คือ นาทีที่ 15, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 720 และ 1440 นาทีโดยจะเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ลงไป 1 mL ทุกครั้งที่ทำการเก็บสารละลายตัวอย่างออกมา เมื่อได้สารละลายตัวอย่าง ณ เวลาต่างๆแล้วจะทำการกรองด้วย Syringe filter  $0.45 \mu\text{m}$  ปริมาณ 1 mL ใส่ HPLC vial จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณ piperine จากสารละลายที่ซึมผ่านจากแผ่นฟิล์มด้วยเครื่อง HPLC โดยฉีดสารละลายตัวอย่างตัวอย่างละ  $10 \mu\text{L}$  เป็นเวลาตัวอย่างละ 45 นาที พิกที่สนใจคือพิกที่เวลาประมาณ 17 นาที

Flux = ค่าการซึมผ่าน membrane ของตัวยาภายในระยะเวลาที่กำหนด แสดงเป็น มวล/หน่วยพื้นที่

$$\text{Flux} = \frac{\text{Slope of lag time}}{\text{Cross - sectional area of receptor compartment}}$$



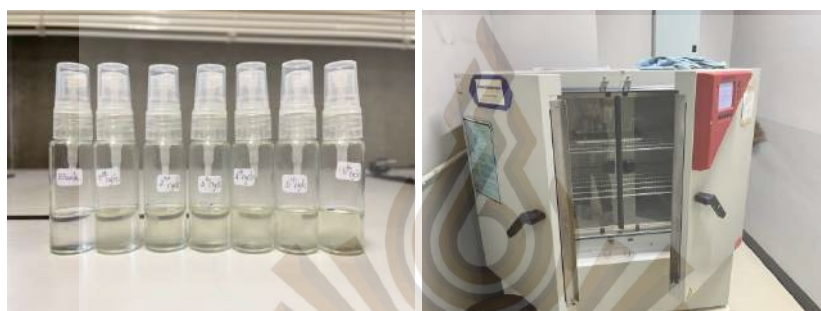


ภาพที่ 16 Franz diffusion cell และเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (a) Pig skin (b) วิธีการเติมสารตัวอย่าง (c)

### 3.13 การทดสอบความคงตัวของตำรับ

Heating Cooling cycle (Shukla and Patel, 2010)

เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 48 h แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 48 h ทำซ้ำ 6 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ หาปริมาณ piperine เปรียบเทียบ 1<sup>st</sup> และ 6<sup>th</sup>



ภาพที่ 17 สารละลายกึ่งฟิล์ม (MJ2) เตรียมสำหรับวิเคราะห์ (a) เครื่อง Climatic stability test (b)

### 3.14 วิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activities)

#### 3.14.1 การทดสอบฤทธิ์ของแผ่นฟิล์มเบื้องต้นด้วยวิธี disc diffusion

ตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเบื้องต้นด้วยวิธี disc diffusion (ดัดแปลงจาก CLSI, 2009) เชื้อเชื้อ *S. aureus* และ *P. aeruginosa* จากจานอาหารเลี้ยงเชื้อมา 1 โคโลนี ใส่ลงในอาหาร Mueller-Hinton broth (MHB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3-5 h จากนั้นปรับความขุ่นด้วย sterile sodium chloride ให้ได้ความขุ่นเท่ากับสารละลาย McFarland No. 0.5 จะได้ความเข้มข้นของจำนวนเซลล์เท่ากับ  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml การเตรียมแผ่น paper disc โดยเจาะกระดาษกรอง Whatman No.1 ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 20 min และเตรียมตัวอย่างยาน้ำมันละลายในตัวทำละลาย จากนั้นดูดสารสกัดที่เตรียมได้หยดลง paper disc จะได้ ทั้งไว้ให้แห้ง ใช้ไม้พันสำลีที่ปลอดเชื้อจุ่มเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ข้างต้น นำไปเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร MHA จากนั้นใช้ปากคีบปลอดเชื้อ (Sterile forceps) คีบ paper disc ข้างต้น วางบนอาหาร MHA ที่ swab เชื้อ แล้ว โดยให้แผ่น paper disc ห่างกัน 15-20 mm และห่างจากขอบจานอาหาร 15 mm (ในหนึ่งจานอาหารเลี้ยงเชื้อจะวางแผ่น paper disc ทั้งหมด 6 แผ่น) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 h สังเกตและบันทึกผลการทดลองโดยใช้ Vernier calipers วัด Inhibition zone รอบ แผ่น paper disc ทั้งหมด 3 ครั้ง และคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุม negative control ใช้เป็น DMSO และ positive control ใช้เป็นยาปฏิชีวนะ Vancomycin (30 µg/disc)



### 3.14.2 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC)

หาค่า MIC โดยวิธี microdilution method (ดัดแปลงจาก CLSI, 2009) เตรียมเชื้อแบคทีเรียตามวิธีการข้างต้น และเตรียมสารสกัดมาเจือจางด้วยอาหาร MHB ใน 96 well plate จากนั้นเติมเชื้อที่ปรับความเข้มข้นให้ ลงในแต่ละหลุมปริมาตร 100  $\mu$ l บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 h การอ่านผลการทดลองค่า MIC ให้สังเกตความขุ่นหรือใสของอาหารที่ไม่มีเชื้อเจริญเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่มีแต่อาหารกับสารสกัด ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อให้บันทึกผลการทดลองเป็นค่า MIC ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ใช้ยาปฏิชีวนะ Vancomycin เป็น positive control การเตรียมยา Vancomycin

### 3.14.3 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC)

หาค่า MBC โดยใช้วิธี drop plate (ดัดแปลง จาก CLSI, 2009) หยดอาหารที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจากการหาค่า MIC ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) โดยใช้ปริมาตร 10  $\mu$ l แล้วปล่อยให้แห้ง จากนั้นนำไปเข้าตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 hr สังเกตและบันทึกผลการทดลองค่า MBC โดยบันทึกค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ คือ ไม่มีโคโลนีของเชื้อของอาหาร NA ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

### 3.15 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (Statistical analysis)

ใช้ค่าเฉลี่ย (mean)  $\pm$  ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) จากการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (coefficient of correlation;  $r^2$ ) แสดงความสัมพันธ์ของข้อมูล X และ Y จากกราฟมาตรฐานที่ใช้ในการทดลอง เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสูตรตำรับ โดยกำหนดให้ค่า  $p \leq 0.05$  มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS v. 25

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง และอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการประเมินลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับยาน้ำมันมหาจักร

ตำรับยาน้ำมันมหาจักรที่เตรียมด้วยวิธีการทอดและหมักด้วยน้ำมันงา มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล เข้มมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีปริมาตร 1,850 mL การวัดค่าความหนืดของน้ำมัน ทำการวัดด้วยจำนวน 3 ความเร็วรอบ เป็นเวลา 10 นาทีต่อตัวอย่าง ด้วยอุณหภูมิคงที่ ( $25^{\circ}\text{C}$ ) เพื่อหาค่าแรงบิด (%Torque) มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 85% - 100% วัดซ้ำ 3 ครั้ง พบว่า ที่ความเร็วรอบ 60 RPM ความหนืดมีค่า  $93.9 \pm 0.7$  cP ให้ค่า %Torque มีค่า 88.7% และตำรับยาน้ำมันมีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ  $5.42 \pm 0.04$  เป็นค่าความเป็นกรดเล็กน้อย สามารถใช้ได้กับผิวหนัง

ตารางที่ 3 ค่าความหนืดและ ค่า pH ของน้ำมันมหาจักรที่เตรียมได้

| Sample        | Viscosity (cP) ที่ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ |                |                | pH ที่ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ |
|---------------|-----------------------------------------------|----------------|----------------|-----------------------------------|
|               | 30.0 RPM                                      | 50.0 RPM       | 60.0 RPM       |                                   |
| MJ Oil-1      | 101.6                                         | 90.4           | 93.2           | 5.45                              |
| MJ Oil-2      | 102.4                                         | 87.6           | 94.1           | 5.37                              |
| MJ Oil-3      | 114.4                                         | 80.6           | 94.6           | 5.44                              |
| Mean $\pm$ SD | 106.1 $\pm$ 7.2                               | 86.2 $\pm$ 5.0 | 93.9 $\pm$ 0.7 | 5.42 $\pm$ 0.04                   |

#### 4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมหาจักรด้วยวิธี GC-MS

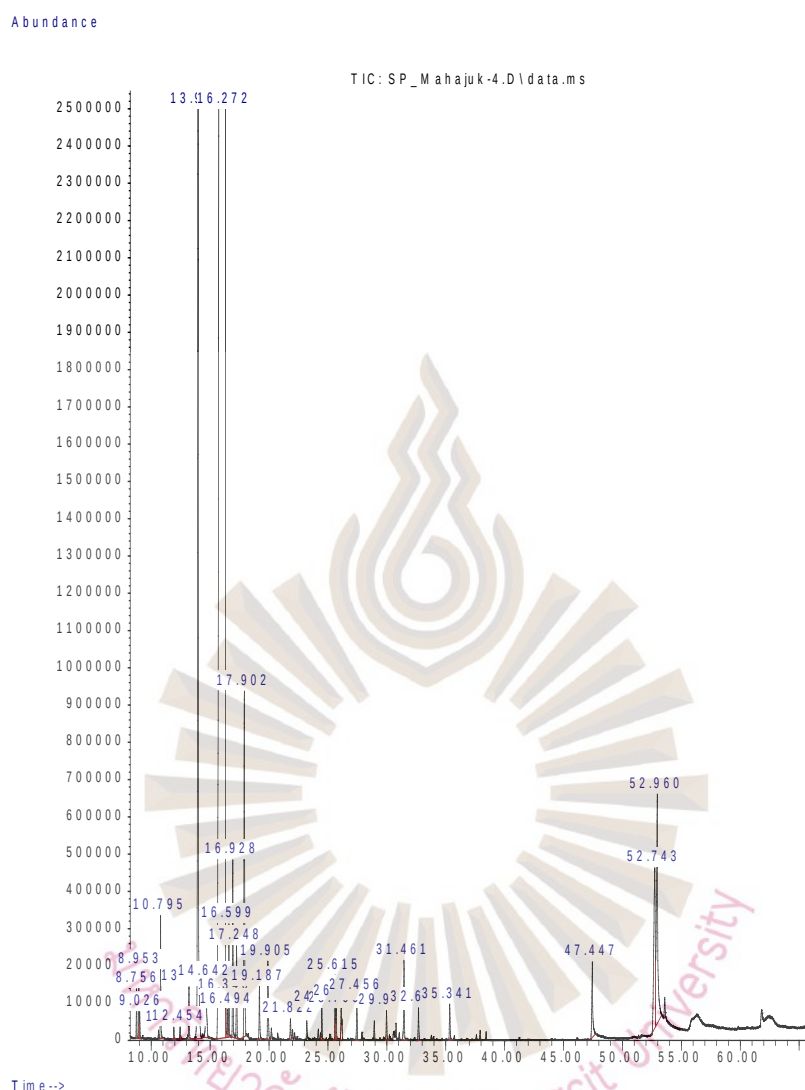
การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ทำการทดสอบยืนยันสารที่ใช้เป็นตัว marker เป็นองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในตำรับยาน้ำมันมหาจักร จากผลการทดลองในตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมหาจักรจำนวน 28 สาร โดยเรียงตามลำดับเวลาที่สารแต่ละตัวถูกชะออกมาจากคอลัมน์ ( $t_R$ ) ผลการวิเคราะห์พบสารในกลุ่ม Monoterpenoid hydrocarbons ได้แก่  $\beta$ -Pinene,  $\alpha$ -Phellandrene, Limonene และ  $\gamma$ -Terpinene สารกลุ่ม Monoterpenoid ketones ได้แก่ Fenchone สารกลุ่ม Monoterpenoid aldehyde ได้แก่ Cumic aldehyde เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันเทียนขาว สารกลุ่ม Monoterpenoid alcohol derivatives ได้แก่ Anethole เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเทียนดำ นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่ม Fatty acid ได้แก่ Palmitic acid, Linoleic acid และ Oleic acid ในการวิเคราะห์ด้วยสภาวะดังกล่าวไม่พบสาร piperine ซึ่งเป็นสารที่จะใช้เป็น marker อาจเนื่องจากอุณหภูมิสูงสุดที่ใช้ทำให้สารระเหยและแตกตัวเป็นไอออนมีค่าต่ำเกินไป

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมะพร้าวด้วยเทคนิค GC/MS

| Peak No. | Components by NIST11                                                                                                         | Quality | t <sub>R</sub> <sup>a</sup> | Area% | SD    |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-----------------------------|-------|-------|
| 1        | $\beta$ -Phellandrene                                                                                                        | 87      | 8.756                       | 0.06  | 0     |
| 2        | $\beta$ -Pinene                                                                                                              | 96      | 8.956                       | 0.09  | 0.007 |
| 3        | Isocamphane                                                                                                                  | 96      | 9.025                       | 0.03  | 0     |
| 4        | D-Limonene                                                                                                                   | 98      | 10.797                      | 0.17  | 0.007 |
| 5        | $\gamma$ -Terpinene                                                                                                          | 95      | 11.921                      | 0.02  | 0     |
| 6        | Fenchone                                                                                                                     | 95      | 13.203                      | 0.08  | 0     |
| 7        | Acetaldehyde, (3,3-dimethylcyclohexylidene)                                                                                  | 60      | 13.976                      | 1.84  | 0.049 |
| 8        | (+)-2-Bornanone                                                                                                              | 97      | 16.272                      | 93.50 | 0.368 |
| 9        | (+)-3-Bornanone                                                                                                              | 91      | 16.492                      | 0.04  | 0     |
| 10       | Isoborneol                                                                                                                   | 93      | 16.603                      | 0.17  | 0.007 |
| 11       | Endo-borneol                                                                                                                 | 97      | 16.927                      | 0.29  | 0.007 |
| 12       | Terpinen-4-ol                                                                                                                | 76      | 17.251                      | 0.16  | 0.007 |
| 13       | Citronellol                                                                                                                  | 96      | 19.188                      | 0.09  | 0     |
| 14       | $\rho$ -cumin aldehyde                                                                                                       | 98      | 19.906                      | 0.17  | 0.007 |
| 15       | Anethole                                                                                                                     | 96      | 21.822                      | 0.04  | 0.007 |
| 16       | 2,6-octadiene 2,6-dimethyl-                                                                                                  | 96      | 24.484                      | 0.05  | 0     |
| 17       | $\alpha$ -Copaene                                                                                                            | 99      | 25.615                      | 0.11  | 0.007 |
| 18       | Geranyl acetate                                                                                                              | 91      | 25.704                      | 0.05  | 0     |
| 19       | $\beta$ -Cubebene                                                                                                            | 94      | 26.125                      | 0.04  | 0.007 |
| 20       | Caryophyllene                                                                                                                | 99      | 27.456                      | 0.08  | 0.007 |
| 21       | $\beta$ -Copaene                                                                                                             | 94      | 29.973                      | 0.06  | 0.007 |
| 22       | (-)- $\beta$ /(+)- $\delta$ -Cadinene                                                                                        | 95      | 31.462                      | 0.16  | 0.021 |
| 23       | Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl- $\alpha,\alpha,4$ -trimethyl-3-(1-methylethenyl)-,[1R-(1 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,4 $\beta$ )]- | 68      | 32.689                      | 0.06  | 0.014 |
| 24       | Apiol                                                                                                                        | 95      | 35.344                      | 0.08  | 0.021 |
| 25       | Palmitic acid                                                                                                                | 99      | 47.445                      | 0.19  | 0.007 |
| 26       | Linoleic acid                                                                                                                | 99      | 52.741                      | 0.64  | 0.078 |
| 27       | Oleic acid                                                                                                                   | 99      | 52.962                      | 0.69  | 0.141 |

|    |                 |  |  |      |  |
|----|-----------------|--|--|------|--|
| 28 | Other compounds |  |  | 1.12 |  |
|----|-----------------|--|--|------|--|

<sup>a</sup>Retention time.



ภาพที่ 18 โครมาโทแกรมของตำรับยาน้ำมันมหาจักรที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิค GC-MS

#### 4.3 ผลการเตรียมตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง

จากการเตรียมแผ่นฟิล์มจำนวน 8 สูตร จำนวน 24 ตำรับ เตรียมผลิตภัณฑ์ ด้วยน้ำมันมหาจักร 3%w/v จากตำรับฟิล์มที่พัฒนาขึ้นจะประกอบด้วย Eudragit®S100 (5% และ 7.5%) เป็นสารกึ่งฟิล์ม PEG400 และ 1,3-butylene glycol (1% และ 3%) ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ในตำรับ เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นและลดความเปราะของแผ่นฟิล์ม และ Ethanol: Acetone (4:1) เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากความสามารถละลายน้ำมันได้ดี มีคุณสมบัติช่วยในการละลายพอลิเมอร์ที่เลือกใช้ในผลิตภัณฑ์ และเป็นตัวทำละลายที่มีความปลอดภัยในการใช้กับมนุษย์ ในตำรับมีการเติม Dicaprylyl Ether เป็นสารกลุ่ม Emollient หรือเป็นสารเคลือบผิวชั้นนอก

ตารางที่ 5 ตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (% w/v)

| สูตร                     | MJ1 | MJ2 | MJ3  | MJ4  | MJ5 | MJ6 | MJ7  | MJ8  |
|--------------------------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|
| Eudragit®S100            | 5   | 5   | 5    | 5    | 7.5 | 7.5 | 7.5  | 7.5  |
| HP- $\beta$ -CD          | 4   | 4   | 4    | 4    | 4   | 4   | 4    | 4    |
| PEG400                   | 0.5 | 1.5 | 0.75 | 2.25 | 0.5 | 1.5 | 0.75 | 2.25 |
| 1,3-butylene glycol      | 0.5 | 1.5 | 0.15 | 0.75 | 0.5 | 1.5 | 0.15 | 0.75 |
| dicaprylyl ether         | 1   | 1   | 1    | 1    | 1   | 1   | 1    | 1    |
| Menthol                  | 0.5 | 0.5 | 0.5  | 0.5  | 0.5 | 0.5 | 0.5  | 0.5  |
| MJ Oil                   | 3   | 3   | 3    | 3    | 3   | 3   | 3    | 3    |
| EtOH:Acetone (4:1) qs to | 100 | 100 | 100  | 100  | 100 | 100 | 100  | 100  |

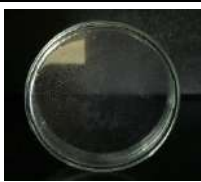
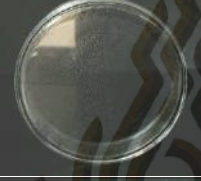
#### 4.4 การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และผลการวัดค่าความหนืด แรงตึงผิว และมุมสัมผัสที่ผิวของ ตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง

##### 4.4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มสูตรทดลอง

เมื่อทำการเตรียมสารละลายกึ่งฟิล์มโดยใช้ Eudragit®S100 ที่ปริมาณ 5% (MJ1 – MJ4) เป็นสารก่อฟิล์ม ได้สารละลายใส สีเหลืองอ่อน เมื่อทำให้สารละลายเป็นแผ่นฟิล์มจะได้แผ่นฟิล์มสีเหลืองอ่อน ใส สามารถลอกเป็นแผ่นเดียวได้ง่าย มีความสม่ำเสมอของแผ่นฟิล์ม เมื่อแผ่ออกเป็นแผ่นเรียบเนียน เมื่อฉีดสารละลายกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังรู้สึกนุ่มชุ่มชื้น แผ่นฟิล์ม มีความยืดหยุ่นสูง ไม่เปราะแตกหักง่าย สามารถล้างแผ่นฟิล์มด้วยน้ำออกจากผิวหนังได้ง่าย ใช้ระยะเวลาในการทำให้ฟิล์มแห้งอยู่ในช่วง 5.10 – 5.58 min มีค่าความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วง 4.09 – 4.83 ดังแสดงในตารางที่ 7 เมื่อ ใช้ Eudragit®S100 ที่ปริมาณ 7.5% (MJ5 – MJ7) เป็นสารก่อฟิล์ม เตรียมได้สารละลายใส สีเหลืองอ่อน เมื่อทำให้สารละลายเป็นแผ่นฟิล์มจะได้แผ่นฟิล์มสีเหลืองอ่อน ขุ่นเล็กน้อย สามารถลอกเป็นแผ่นเดียวได้ มีความสม่ำเสมอของแผ่นฟิล์ม เมื่อแผ่ออกเป็นแผ่นเรียบเนียน เมื่อฉีดสารละลายกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังรู้สึกนุ่มชุ่มชื้น แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่นสูงและหนากว่าเมื่อใช้สารก่อฟิล์มปริมาณ 5% ไม่เปราะแตกหักง่าย สามารถล้างแผ่นฟิล์มด้วยน้ำออกจากผิวหนังได้ง่าย ใช้ระยะเวลาในการทำให้ฟิล์มแห้งอยู่ในช่วง 5.10 – 6.89 min มีค่าความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วง 3.71 – 4.57 สูตร MJ8 ใช้สารก่อฟิล์มปริมาณ 7.5% ปริมาณรวม plasticizer 3%และอัตราส่วนระหว่าง PEG400 และ BG (3:1) ทำการเตรียมได้สารละลายขุ่นเล็กน้อย สีเหลืองอ่อน เมื่อทำให้สารละลายเป็นแผ่นฟิล์มจะได้แผ่นฟิล์มสีเหลืองอ่อน ขุ่นเล็กน้อย

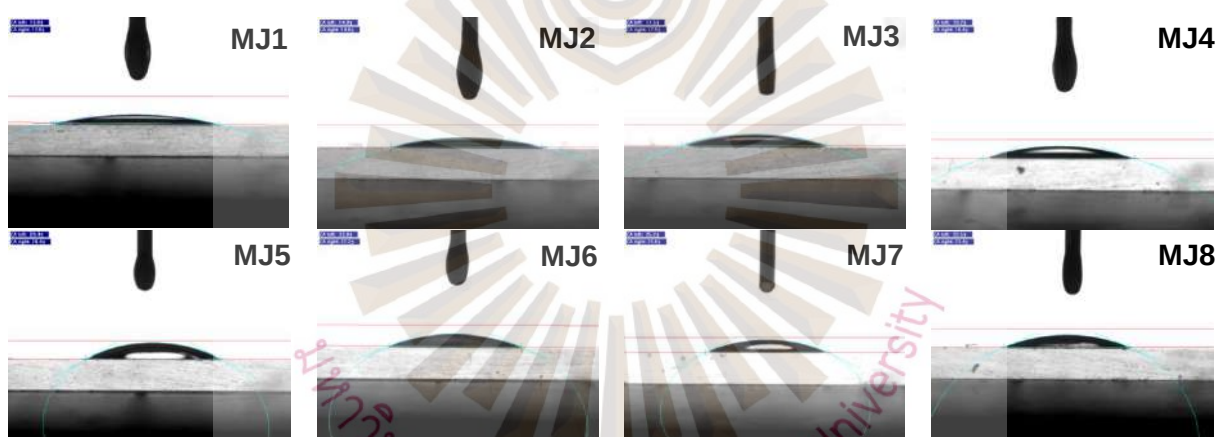


ตารางที่ 6 สมบัติทางกายภาพของน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (n=3)

| สูตร | ลักษณะสารละลายกึ่งฟิล์ม                                                             | ลักษณะแผ่นฟิล์ม                                                                     | Drying time (min) | pH ที่ 25±1 °C |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------------|
| MJ1  |    |    | 5.12±0.45         | 4.09±0.015     |
| MJ2  |    |    | 5.58±0.39         | 4.78±0.159     |
| MJ3  |    |    | 5.26±0.29         | 4.42±0.010     |
| MJ4  |   |   | 5.10±1.89         | 4.83±0.000     |
| MJ5  |  |  | 6.57±1.02         | 3.71±0.023     |
| MJ6  |  |  | 6.89±0.81         | 4.57±0.020     |
| MJ7  |  |  | 7.69±0.96         | 3.77±0.010     |
| MJ8  |  |  | 8.35±0.63         | 4.33±0.038     |

#### 4.4.2 ผลการวัดค่าความหนืด ค่าแรงตึงผิว และค่ามุมสัมผัสที่ผิวของสารละลายสูตรทดลอง

จากผลการทดลองพบว่า ตำรับยาน้ำมันรูปแบบยาพ่นละอองฝอยที่เตรียมได้ทุกตำรับมีลักษณะใสสีเหลืองอ่อน มีค่าแรงตึงผิวต่ำอยู่ในช่วง  $19.06 - 19.98 \text{ mNm}^{-1}$  ทำให้ตำรับสารละลายกึ่งฟิล์มสามารถกระจายตัวได้ดีบนผิวหนัง ค่ามุมสัมผัสที่ผิวเป็นค่าใช้ทำนายความสามารถในการแผ่กระจายเมื่อใช้ผลิตภัณฑ์บนผิวหนัง ถ้าค่ามุม  $\theta$  มีค่าน้อยต่ำกว่า  $20^\circ$  ของเหลวมีแนวโน้มที่จะแผ่ออกไปบนพื้นผิวได้มากทำให้เกิดเป็นฟิล์มแผ่นบางๆ ได้มากขึ้นด้วย ในการทดลองครั้งนี้ค่ามุมสัมผัสที่ผิวมีค่าอยู่ในช่วง  $14.7 - 28.6^\circ$  จากตารางจะเห็นว่าเมื่อปริมาณสารก่อฟิล์ม (Film Former) มีความเข้มข้นที่ 5% เมื่อใช้ปริมาณของ plasticizer ปริมาณน้อย (MJ1 และ MJ3) พบว่าค่ามุมสัมผัสที่ผิวมีค่า  $14.7^\circ$  และ  $15.8^\circ$  เมื่อปริมาณของ plasticizer เพิ่มมากขึ้น ค่ามุมสัมผัสที่ผิวมีค่าเพิ่มมากขึ้น และเมื่ออัตราส่วนของ PEG400 และ BG เพิ่มมากขึ้นค่ามุมสัมผัสที่ผิวก็เพิ่มมากขึ้นด้วย แต่เมื่อความเข้มข้นของสารก่อฟิล์มและ plasticizer มีค่าเพิ่มมากขึ้นค่ามุมสัมผัสที่ผิวมีแนวโน้มลดลงทั้งนี้เนื่อง PEG400 มีคุณสมบัติเป็น hydrophilic property ลักษณะของมุมสัมผัสที่ผิว สูตรลำดับที่ 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 19 และ 20 ที่จะเลือกพิจารณาต่อไป



ภาพที่ 19 มุมสัมผัสของหยดสารละลายแต่ละสูตรบนกระจกสไลด์ ( $\theta$ ) ที่อัตราการไหล  $1.00 \mu\text{L/s}$



ภาพที่ 20 แรงตึงผิวของสารละลายกึ่งฟิล์มแต่ละสูตร

ตารางที่ 7 ผลการวัดค่าความหนืด ค่าแรงตึงผิว และค่ามุมสัมผัสที่ผิวของสารละลาย

| Formulation<br>number | Sample<br>name | Factor         |                      |                          | Viscosity<br>(cP)** | contact<br>angle*, $\theta$ | Surface<br>tension*<br>$\text{mNm}^{-1}$ |
|-----------------------|----------------|----------------|----------------------|--------------------------|---------------------|-----------------------------|------------------------------------------|
|                       |                | Film<br>Former | Total<br>Plasticizer | The Ratio<br>Plasticizer |                     |                             |                                          |
| 1                     | MJ1.1          | 5.0            | 1                    | 1:1                      | 106.0±0.00          | 13.5±3.06                   | 19.78±0.31                               |
| 2                     | MJ2.1          | 7.5            | 1                    | 1:1                      | 100.2±0.01          | 14.2±0.42                   | 19.49±0.04                               |
| 3                     | MJ3.1          | 5.0            | 3                    | 1:1                      | 88.0±1.40           | 15.6±0.22                   | 19.62±0.46                               |
| 4                     | MJ4.1          | 7.5            | 3                    | 1:1                      | 98.7±0.75           | 19.1±1.70                   | 19.35±0.17                               |
| 5                     | MJ5.1          | 5.0            | 1                    | 3:1                      | 129.0±0.05          | 26.0±0.76                   | 19.68±0.18                               |
| 6                     | MJ6.1          | 7.5            | 1                    | 3:1                      | 112.9±0.08          | 22.5±0.64                   | 19.86±0.20                               |
| 7                     | MJ7.1          | 5.0            | 3                    | 3:1                      | 107.5±0.04          | 24.5±0.55                   | 19.24±0.35                               |
| 8                     | MJ8.1          | 7.5            | 3                    | 3:1                      | 196.4±0.30          | 22.9±2.83                   | 18.11±0.19                               |
| 9                     | MJ1.2          | 5.0            | 1                    | 1:1                      | 101.7±5.65          | 16.9±0.84                   | 19.94±0.01                               |
| 10                    | MJ2.2          | 7.5            | 1                    | 1:1                      | 97.9±3.16           | 14.5±0.38                   | 19.76±0.14                               |
| 11                    | MJ3.2          | 5.0            | 3                    | 1:1                      | 90.0±6.38           | 15.5±1.49                   | 19.87±0.09                               |
| 12                    | MJ4.2          | 7.5            | 3                    | 1:1                      | 99.5±1.36           | 18.5±0.90                   | 19.30±0.13                               |
| 13                    | MJ5.2          | 5.0            | 1                    | 3:1                      | 109.4±1.70          | 30.8±2.28                   | 19.31±0.16                               |
| 14                    | MJ6.2          | 7.5            | 1                    | 3:1                      | 106.8±8.97          | 24.7±1.72                   | 19.98±0.12                               |
| 15                    | MJ7.2          | 5.0            | 3                    | 3:1                      | 111.4±0.29          | 25.7±5.44                   | 18.93±0.26                               |
| 16                    | MJ8.2          | 7.5            | 3                    | 3:1                      | 195.3±6.3           | 22.7±0.78                   | 19.58±0.12                               |
| 17                    | MJ1.3          | 5.0            | 1                    | 1:1                      | 95.3±0.10           | 13.9±1.53                   | 19.74±0.33                               |
| 18                    | MJ2.3          | 7.5            | 1                    | 1:1                      | 94.3±1.39           | 15.7±1.28                   | 19.99±0.07                               |
| 19                    | MJ3.3          | 5.0            | 3                    | 1:1                      | 97.1±0.06           | 16.3±0.51                   | 20.01±0.04                               |
| 20                    | MJ4.3          | 7.5            | 3                    | 1:1                      | 98.8±0.10           | 18.3±0.42                   | 19.73±0.25                               |
| 21                    | MJ5.3          | 5.0            | 1                    | 3:1                      | 110.6±0.16          | 29.1±1.57                   | 20.03±0.03                               |
| 22                    | MJ6.3          | 7.5            | 1                    | 3:1                      | 96.5±1.24           | 24.5±1.51                   | 19.97±0.08                               |
| 23                    | MJ7.3          | 5.0            | 3                    | 3:1                      | 112.7±0.20          | 25.6±0.61                   | 19.01±0.07                               |
| 24                    | MJ8.3          | 7.5            | 3                    | 3:1                      | 191.8±0.24          | 23.2±1.03                   | 19.58±0.06                               |

\*n = 4, \*\*n = 3

#### 4.5 การวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่อค่าความแปรปรวนของตำรับ

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ผลของค่ามุมสัมผัสที่ผิวและค่าแรงดึงผิวของสารละลายต่อค่าความแปรปรวนของตำรับ

| Formulation number | Sample name | Factor      |                   |                       | Viscosity (cP)           | contact angle, $\theta$  | Surface tension mNm <sup>-1</sup> |
|--------------------|-------------|-------------|-------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
|                    |             | Film Former | Total Plasticizer | The Ratio Plasticizer |                          |                          |                                   |
| 9                  | MJ1.2       | 5.0         | 1                 | 1:1                   | 101.7±5.65               | 16.9±0.84                | 19.94±0.01                        |
| 10                 | MJ2.2       | 7.5         | 1                 | 1:1                   | 97.9±3.16                | 14.5±0.38 <sup>(b)</sup> | 19.76±0.14 <sup>(c)</sup>         |
| 11                 | MJ3.2       | 5.0         | 3                 | 1:1                   | 90.0±6.38 <sup>(a)</sup> | 15.5±1.49                | 19.87±0.09                        |
| 12                 | MJ4.2       | 7.5         | 3                 | 1:1                   | 99.5±1.36                | 18.5±0.90                | 19.30±0.13 <sup>(d)</sup>         |

<sup>(a)</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value < 0.05, เปรียบเทียบกับ MJ1.2

<sup>(b)</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value < 0.05, เปรียบเทียบกับ MJ1.2

<sup>(c)</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value < 0.05, เปรียบเทียบกับ MJ1.2

<sup>(d)</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value < 0.05, เปรียบเทียบกับ MJ1.2

Film Former 5.0 > 7.5 ค่า Viscosity, contact angle, Surface tension มีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารก่อฟิล์มเพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 9 วิเคราะห์ผลของปัจจัยต่อค่าความแปรปรวนของตำรับต่อของสารละลาย

| Formulation number | Sample name | Factor      |                   |                       | Viscosity (cP) | contact angle, $\theta$  | Surface tension mNm <sup>-1</sup> |
|--------------------|-------------|-------------|-------------------|-----------------------|----------------|--------------------------|-----------------------------------|
|                    |             | Film Former | Total Plasticizer | The Ratio Plasticizer |                |                          |                                   |
| 9                  | MJ1.2       | 5.0         | 1                 | 1:1                   | 101.7±5.65     | 16.9±0.84                | 19.94±0.01                        |
| 11                 | MJ3.2       | 5.0         | 3                 | 1:1                   | 90.0±6.38      | 15.5±1.49                | 19.87±0.09                        |
| 13                 | MJ5.2       | 5.0         | 1                 | 3:1                   | 109.4±1.70     | 30.8±2.28 <sup>(a)</sup> | 19.31±0.16 <sup>(c)</sup>         |
| 15                 | MJ7.2       | 5.0         | 3                 | 3:1                   | 111.4±0.29     | 25.7±5.44 <sup>(b)</sup> | 18.93±0.26 <sup>(d)</sup>         |

<sup>(a)</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value < 0.05, เปรียบเทียบกับ MJ1.2

<sup>(b)</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value < 0.05, เปรียบเทียบกับ MJ1.2

<sup>(c)</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value < 0.05, เปรียบเทียบกับ MJ1.2

<sup>(d)</sup> แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value < 0.05, เปรียบเทียบกับ MJ1.2

#### 4.6 การเลือกโมเดลจากสูตรทดลองที่เหมาะสม

การพัฒนาหาตำรับยาน้ำนํรูปแบบยาพ่นละอองฝอยที่เหมาะสมจะทำการเลือกจากโมเดลที่มีปัจจัยที่ต้องการศึกษา ปริมาณของสารก่อฟิล์ม (Film Former) ปริมาณรวม plasticizer (Total Plasticizer) และอัตราส่วนระหว่าง PEG400 และ BG (The Ratio Plasticizer) มีผลกระทบต่อค่าการวัดค่าความหนืด ค่ามุมสัมผัสที่ผิวและค่าแรงดึงผิวของสารละลายอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Minitab จากตารางที่ 6 แสดงค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) ของการทดลอง มีปัจจัยที่มีผลต่อ Contact Angle พบว่ามีปัจจัยหลัก The Ratio Plasticizer มีผลกระทบต่อค่า Contact Angle เมื่อพิจารณาค่า P-Value เทียบกับค่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05 ค่า P-Value น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าปัจจัยนี้มีอิทธิพลต่อตัวแปรตอบสนอง (Contact Angle) อย่างมีนัยสำคัญ จากนั้นทำการลดรูปปัจจัยที่ไม่มีผลกระทบน้อยต่อค่าต่อค่า Contact Angle ปัจจัยร่วม 2 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณของสารก่อฟิล์ม กับปริมาณรวม plasticizer และปัจจัยร่วม 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณของสารก่อฟิล์ม ปริมาณรวม plasticizer และอัตราส่วนระหว่าง PEG400 และ BG แสดงดังตารางที่ 7 จากนั้นทำการพิจารณาค่า R-sq เท่ากับ 95.98% ซึ่งค่าเข้าใกล้ 100 แสดงให้เห็นว่า ตัวแบบจำลองการถดถอยที่ได้มาสามารถอธิบายความผันแปรของค่าตัวแปรตอบสนองที่กระจายรอบค่าเฉลี่ยได้เป็นอย่างดี และ R-sq (Adj) เท่ากับ 94.56% มีค่าใกล้เคียงกับค่า R-sq แสดงว่าตัวแปรอิสระหรือแหล่งของความผันแปรถูกใส่เข้าไปในตัวแบบจำลองการถดถอยเหมาะสมแล้ว หรือไม่มีลักษณะของการใส่ตัวแปรมากเกินไป (Overfit) และได้พิจารณาค่า Lack of Fit พบว่ามีค่า P-Value เท่ากับ 0.846 ซึ่งมากกว่าค่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าสมการถดถอย มีความเหมาะสม (อิริวัฒน์, เปรมพร, 2562)

ค่าตัวแปรตอบสนองค่ามุมสัมผัสที่ผิวมีปัจจัยหลักที่มีผลกระทบ ได้แก่ Film Former ปัจจัยร่วม 2 ปัจจัย ได้แก่ Film Former\*Total Plasticizer กับ Film Former\*The Ratio Plasticizer และปัจจัยร่วม 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณของสารก่อฟิล์ม ปริมาณรวม plasticizer และอัตราส่วนระหว่าง PEG400 และ BG แสดงดังตารางที่ 9 เมื่อพิจารณาทำการลดรูปปัจจัยของการทดลอง พบว่าให้ค่า R-sq ลดลง นอกจากนี้ทุกปัจจัยมีผลกระทบต่อค่าความหนืดจึงไม่ต้องลดรูปปัจจัย ดังแสดงในรูป 8 และ 9 ตามลำดับ มีค่า R-sq เท่ากับ 54.97% และ 97.34%



ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมการพหุนามกำลังสองของ Contact Angle versus Film Former, Total Plasticizer, The Ratio Plasticizer หลังลดรูปปัจจัย;  $R^2 = 95.98\%$

| Source                                                                                       | DF | Adj SS  | Adj MS  | F-Value | P-Value |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|---------|---------|---------|---------|
| Model                                                                                        | 6  | 591.605 | 98.601  | 67.66   | 0.000   |
| Linear                                                                                       | 3  | 512.723 | 170.908 | 117.28  | 0.000   |
| Film Former                                                                                  | 1  | 6.615   | 6.615   | 4.54    | 0.048   |
| Total Plasticizer                                                                            | 1  | 0.107   | 0.107   | 0.07    | 0.790   |
| The Ratio Plasticizer                                                                        | 1  | 506.002 | 506.002 | 347.23  | 0.000   |
| 2-Way Interactions                                                                           | 3  | 78.882  | 26.294  | 18.04   | 0.000   |
| Film Former*Total Plasticizer                                                                | 1  | 10.140  | 10.140  | 6.96    | 0.017   |
| Film Former*The Ratio Plasticizer                                                            | 1  | 37.002  | 37.002  | 25.39   | 0.000   |
| Total Plasticizer*The Ratio Plasticizer                                                      | 1  | 31.740  | 31.740  | 21.78   | 0.000   |
| Error                                                                                        | 17 | 24.773  | 1.457   |         |         |
| Lack-of-Fit                                                                                  | 1  | 0.060   | 0.060   | 0.04    | 0.846   |
| Pure Error                                                                                   | 16 | 24.713  | 1.545   |         |         |
| Total                                                                                        | 23 | 616.378 |         |         |         |
| <b>Model Summary</b>                                                                         |    |         |         |         |         |
| S = 1.20717 $R^2 = 95.98\%$ $R^2(\text{adj}) = 94.56\%$ $R\text{-sq}(\text{pred}) = 91.99\%$ |    |         |         |         |         |

#### Regression Equation in Uncoded Units

Contact Angle = 29.58 - 1.460 Film Former - 3.18 Total Plasticizer + 13.10 The Ratio Plasticizer + 0.520  
 Film Former\*Total Plasticizer - 0.993 Film Former\*The Ratio Plasticizer - 1.150 Total  
 Plasticizer\*The Ratio Plasticizer

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมการพหุนามกำลังสองของ Surface tension versus Film Former, Total Plasticizer, The Ratio Plasticizer;  $R^2 = 54.97\%$

| Source                                                                                      | DF | Adj SS  | Adj MS  | F-Value | P-Value |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|---------|---------|---------|---------|
| Model                                                                                       | 7  | 2.49053 | 0.35579 | 2.79    | 0.042   |
| Linear                                                                                      | 3  | 1.63448 | 0.54483 | 4.27    | 0.021   |
| Film Former                                                                                 | 1  | 0.01127 | 0.01127 | 0.09    | 0.770   |
| Total Plasticizer                                                                           | 1  | 1.15282 | 1.15282 | 9.04    | 0.008   |
| The Ratio Plasticizer                                                                       | 1  | 0.47040 | 0.47040 | 3.69    | 0.073   |
| 2-Way Interactions                                                                          | 3  | 0.85523 | 0.28508 | 2.24    | 0.124   |
| Film Former*Total Plasticizer                                                               | 1  | 0.11482 | 0.11482 | 0.90    | 0.357   |
| Film Former*The Ratio Plasticizer                                                           | 1  | 0.19440 | 0.19440 | 1.52    | 0.235   |
| Total Plasticizer*The Ratio Plasticizer                                                     | 1  | 0.54602 | 0.54602 | 4.28    | 0.055   |
| 3-Way Interactions                                                                          | 1  | 0.00082 | 0.00082 | 0.01    | 0.937   |
| Film Former*Total Plasticizer*The Ratio Plasticizer                                         | 1  | 0.00082 | 0.00082 | 0.01    | 0.937   |
| Error                                                                                       | 16 | 2.04047 | 0.12753 |         |         |
| Total                                                                                       | 23 | 4.53100 |         |         |         |
| <b>Model Summary</b>                                                                        |    |         |         |         |         |
| S = .357112 $R^2 = 54.97\%$ $R^2(\text{adj}) = 35.26\%$ $R\text{-sq}(\text{pred}) = 0.00\%$ |    |         |         |         |         |

#### Regression Equation in Uncoded Units

Surface tension = 19.430 + 0.093 Film Former + 0.127 Total Plasticizer - 0.230 The Ratio Plasticizer - 0.0553 Film Former\*Total Plasticizer+ 0.063 Film Former\*The Ratio Plasticizer - 0.180 Total Plasticizer\*The Ratio Plasticizer + 0.0047 Film Former\*Total Plasticizer\*The Ratio Plasticizer

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมการพหุนามกำลังสองของ Viscosity versus Film Former, Total Plasticizer, The Ratio Plasticizer;  $R^2 = 97.34\%$

| Source                                                                                         | DF | Adj SS  | Adj MS  | F-Value | P-Value |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|---------|---------|---------|---------|
| Model                                                                                          | 7  | 22482.8 | 3211.84 | 83.55   | 0.000   |
| Linear                                                                                         | 3  | 11677.2 | 3892.39 | 101.25  | 0.000   |
| Film Former                                                                                    | 1  | 2131.9  | 2131.93 | 55.46   | 0.000   |
| Total Plasticizer                                                                              | 1  | 2075.8  | 2075.76 | 53.99   | 0.000   |
| The Ratio Plasticizer                                                                          | 1  | 7469.5  | 7469.48 | 194.29  | 0.000   |
| 2-Way Interactions                                                                             | 3  | 8737.3  | 2912.45 | 75.76   | 0.000   |
| Film Former*Total Plasticizer                                                                  | 1  | 3845.6  | 3845.60 | 100.03  | 0.000   |
| Film Former*The Ratio Plasticizer                                                              | 1  | 1516.9  | 1516.86 | 39.46   | 0.000   |
| Total Plasticizer*The Ratio Plasticizer                                                        | 1  | 3374.9  | 3374.88 | 87.79   | 0.000   |
| 3-Way Interactions                                                                             | 1  | 2068.3  | 2068.33 | 53.80   | 0.000   |
| Film Former*Total Plasticizer*The Ratio Plasticizer                                            | 1  | 2068.3  | 2068.33 | 53.80   | 0.000   |
| Error                                                                                          | 16 | 615.1   | 38.44   |         |         |
| Total                                                                                          | 23 | 23098.0 |         |         |         |
| <b>Model Summary</b>                                                                           |    |         |         |         |         |
| S = . 6.20034 $R^2 = 97.34\%$ $R^2(\text{adj}) = 96.17\%$ $R\text{-sq}(\text{pred}) = 94.01\%$ |    |         |         |         |         |

#### Regression Equation in Uncoded Units

Viscosity = 175.7 - 12.71 Film Former - 53.99 Total Plasticizer + 47.0 The Ratio Plasticizer + 10.13 Film Former\*Total Plasticizer - 8.49 Film Former\*The Ratio Plasticizer - 34.56 Total Plasticizer\*The Ratio Plasticizer + 7.43 Film Former\*Total Plasticizer\*The Ratio Plasticizer

#### 4.7 การพัฒนาวิธีควบคุมคุณภาพตำรับยาน้ำมันมหาจักร

การควบคุมคุณภาพตำรับยาน้ำมันมหาจักรใช้วิธีการวิเคราะห์หรรอยพิมพ์ลายนิ้วมือโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC fingerprint) โดยใช้ทำการทดสอบสถานะในการวิเคราะห์ 5 สถานะ โดยใช้ระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ได้แก่ 0.1% Phosphoric acid in water (A), Acetonitrile (B) แต่ละสถานะมีอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่แตกต่างกัน ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบ HPLC chromatogram ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร และสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบในตำรับ รวมทั้งสารมาตรฐาน Piperine เพื่อวิเคราะห์ว่าพิกแต่ละพิกเป็นตัวแทนของสมุนไพรชนิดใดหรือเป็นสารชนิดใด ได้ผลการศึกษาดังต่อไปนี้

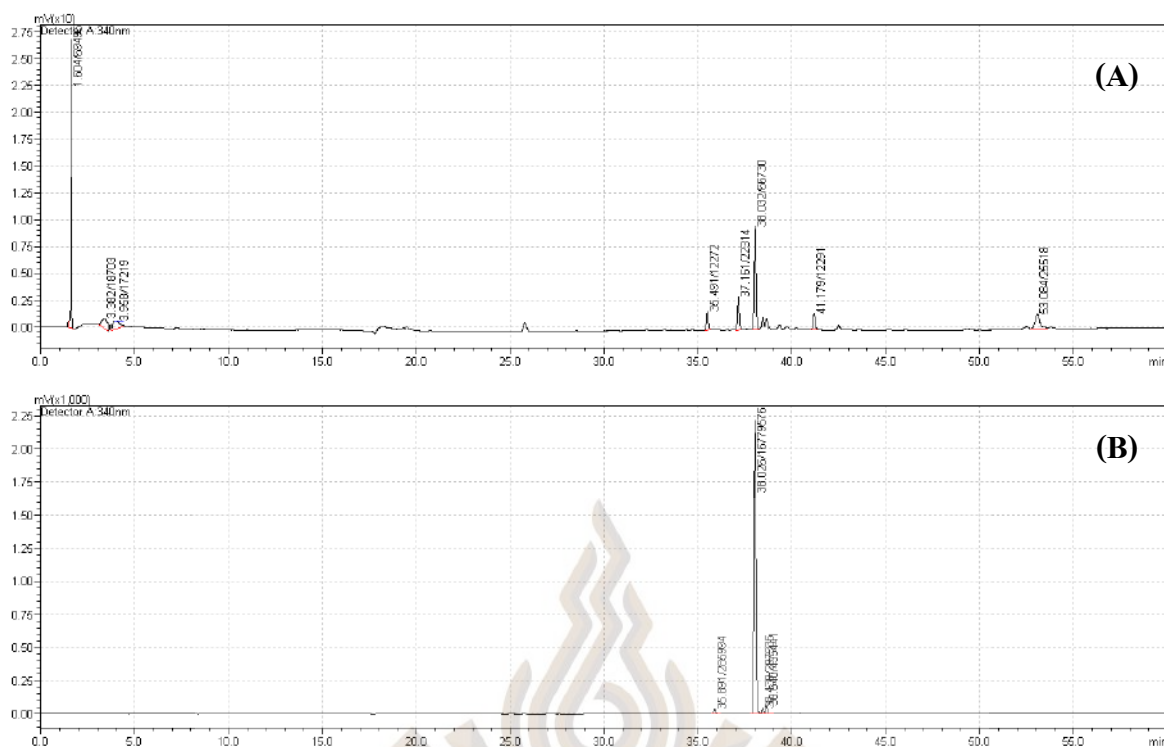
##### 4.7.1 การวิเคราะห์หรรอยพิมพ์โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงของสารสกัดยาน้ำมันมหาจักร

ตำรับยาน้ำมันมหาจักรนำมาวิเคราะห์ด้วยเอชพีแอลซี โดยใช้สภาวะที่ 1-5 ใช้คอลัมน์ C18 AEC 2.6 ไมโครเมตร ขนาด  $100 \times 4.6$  mm วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) คือ 0.1% Phosphoric acid ในน้ำและ Acetonitrile โดยเปลี่ยนแปลงสัดส่วนตามเวลา (Gradient) อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณสารที่ใช้ฉีด 10  $\mu$ L และตรวจวัดด้วย Diode array detector ที่ความยาวคลื่นที่ 340 นาโนเมตร และอัตราการไหล (Flow rate) 1.0 mL/min อัตราส่วนของวัฏภาค และเมื่อนำโครมาโตแกรมของยาน้ำมันมหาจักรมาเปรียบเทียบโครมาโตแกรมและคุณลักษณะการแยกของสารมาตรฐานแยกออกจากพิกอื่นๆ ได้ดี จึงเลือกระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ 5 มาใช้เป็นสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

และเมื่อนำโครมาโตแกรมของยาน้ำมันมหาจักรและสมุนไพรที่มีอยู่ในตำรับมาซ้อนทับ (Overlay) เมื่อเปรียบเทียบ retention time และ spectrum ของพิกแต่ละพิกในโครมาโตแกรมของตำรับยาน้ำมันมหาจักรกับโครมาโตแกรมของสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิดของพิกสามารถจำแนกพิกที่เป็นตัวแทนของสมุนไพรแต่ละชนิดได้ดังรูปที่ 4.7 โดยเอชพีแอลซีโครมาโตแกรมสามารถจำแนกสมุนไพรได้ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ เทียนดำ เทียนขาว เทียนแดง เทียนตาตุ๊กแตน เทียนข้าวเปลือก ดิปลี และเมื่อเปรียบเทียบ retention time และ spectrum ของพิกแต่ละพิกในโครมาโตแกรมของตำรับยาน้ำมันมหาจักรกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน สามารถระบุชนิดของสารเคมีที่พบในตำรับได้ทั้งหมด 1 ชนิด

ตารางที่ 13 อัตราส่วนของระบบวัฏภาคที่ 1

| เวลา (นาที) | Acetonitrile (%) | 0.1% Phosphoric acid ในน้ำ (%) |
|-------------|------------------|--------------------------------|
| 0           | 0                | 0                              |
| 10          | 90               | 10                             |
| 20          | 50               | 50                             |
| 30          | 10               | 90                             |
| 40          | 100              | 0                              |

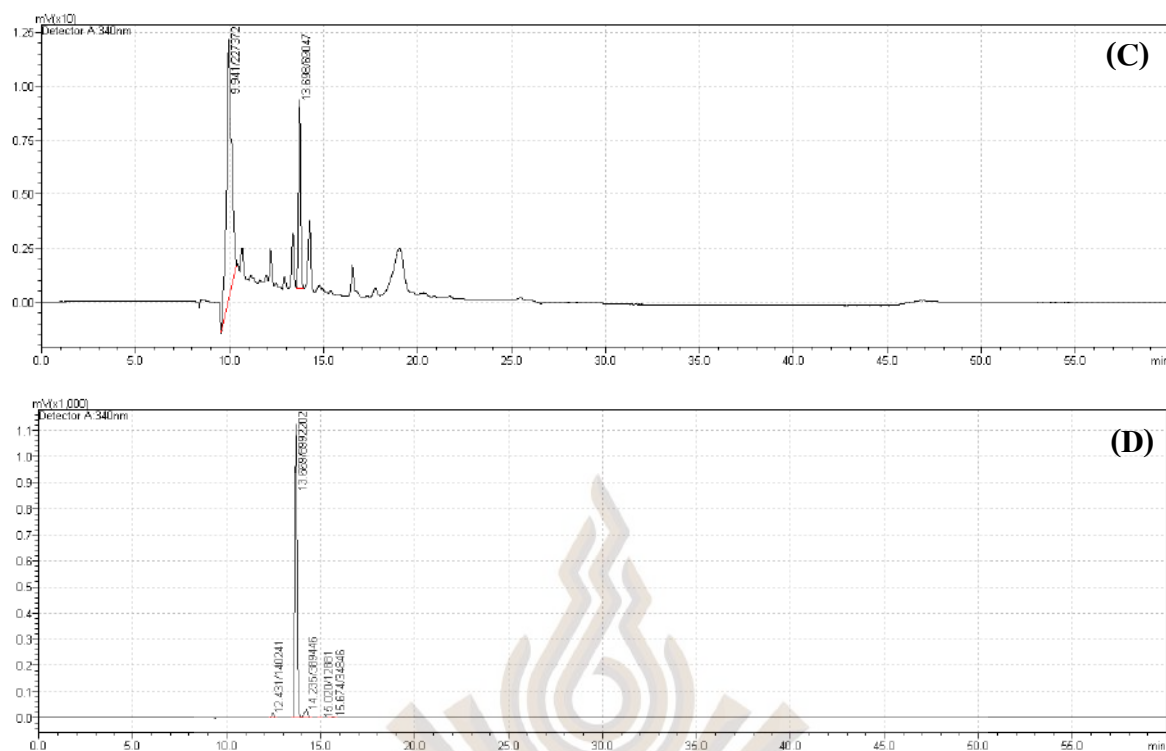


ภาพที่ 21 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมของระบบวัฏภาคที่ 1 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร (A) และสารมาตรฐาน piperine (B) พบค่า  $t_R$  ของสารมาตรฐาน piperine และ piperine ในสารตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 38.03

ตารางที่ 14 อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 2

| เวลา (นาที) | Acetonitrile (%) | 0.1% Phosphoric acid ในน้ำ (%) |
|-------------|------------------|--------------------------------|
| 0           | 0                | 0                              |
| 20          | 90               | 10                             |
| 40          | 50               | 50                             |
| 60          | 10               | 90                             |

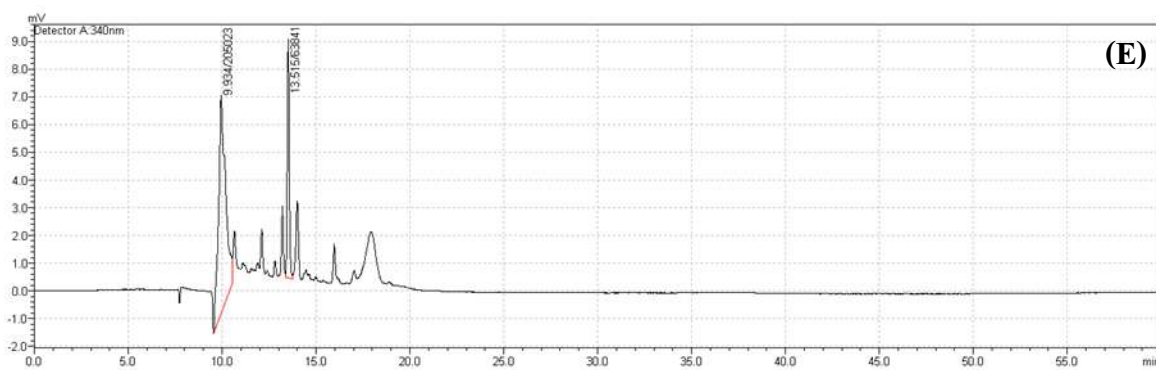




ภาพที่ 22 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมระบบวัฏภาคที่ 2 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร (C) และสารมาตรฐาน piperine (D) พบค่า  $t_R$  ของสารมาตรฐาน piperine และ piperine ในสารตัวอย่างมีค่าตรงกันเท่ากับ 13.66

ตารางที่ 15 อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 3

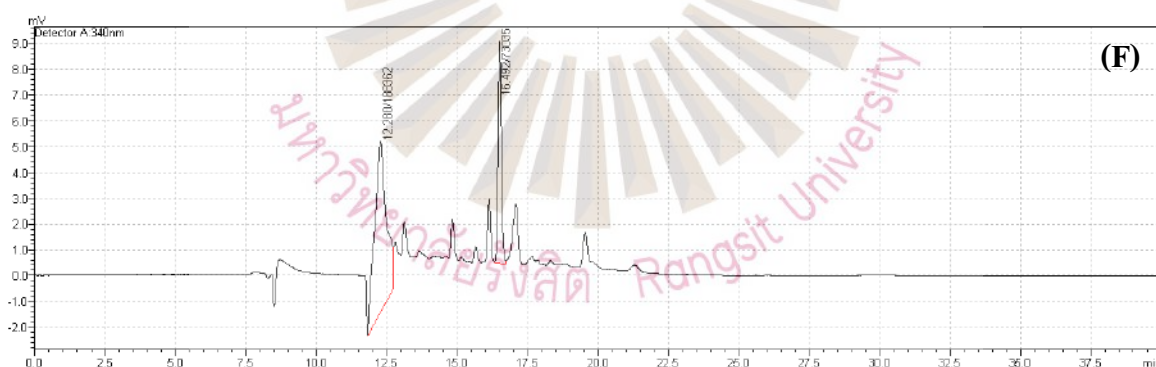
| เวลา (นาที) | Acetonitrile (%) | 0.1% Phosphoric acid ในน้ำ (%) |
|-------------|------------------|--------------------------------|
| 0           | 0                | 0                              |
| 10          | 90               | 10                             |
| 15          | 70               | 30                             |
| 30          | 70               | 30                             |
| 60          | 10               | 90                             |



ภาพที่ 23 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมระบบวัฏภาคที่ 3 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร (C) พบค่า  $t_R$  ของสาร piperine ในสารตัวอย่างมีค่าตรงกันเท่ากับ 13.51

ตารางที่ 16 อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 4

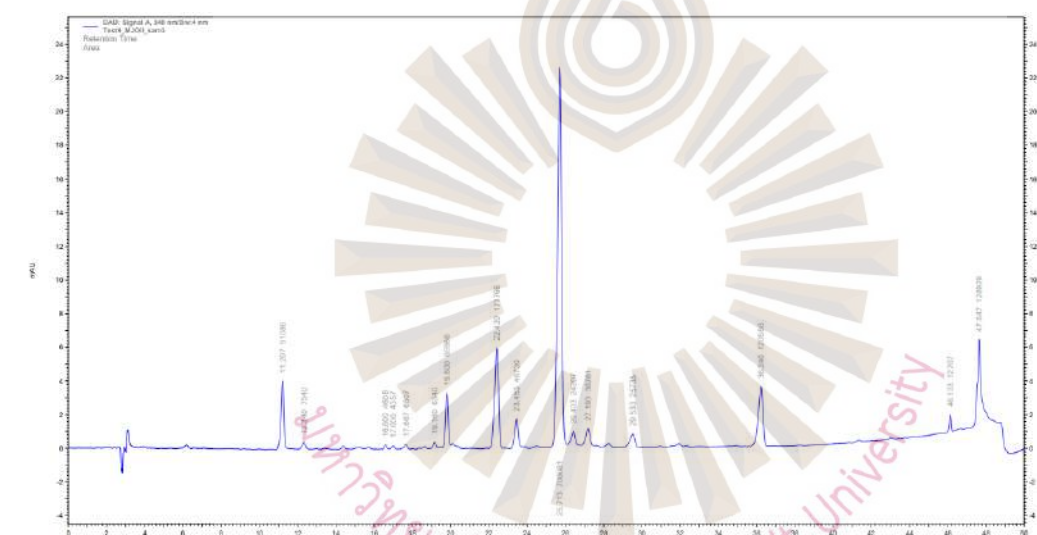
| เวลา (นาที) | Acetonitrile (%) | 0.1% Phosphoric acid ในน้ำ (%) |
|-------------|------------------|--------------------------------|
| 0           | 0                | 0                              |
| 10          | 90               | 10                             |
| 15          | 70               | 30                             |
| 30          | 70               | 30                             |
| 60          | 10               | 90                             |



ภาพที่ 24 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมระบบวัฏภาคที่ 4 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร (C) พบค่า  $t_R$  ของสาร piperine ในสารตัวอย่างมีค่าตรงกันเท่ากับ 16.43

ตารางที่ 17 อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบวัฏภาคที่ 5

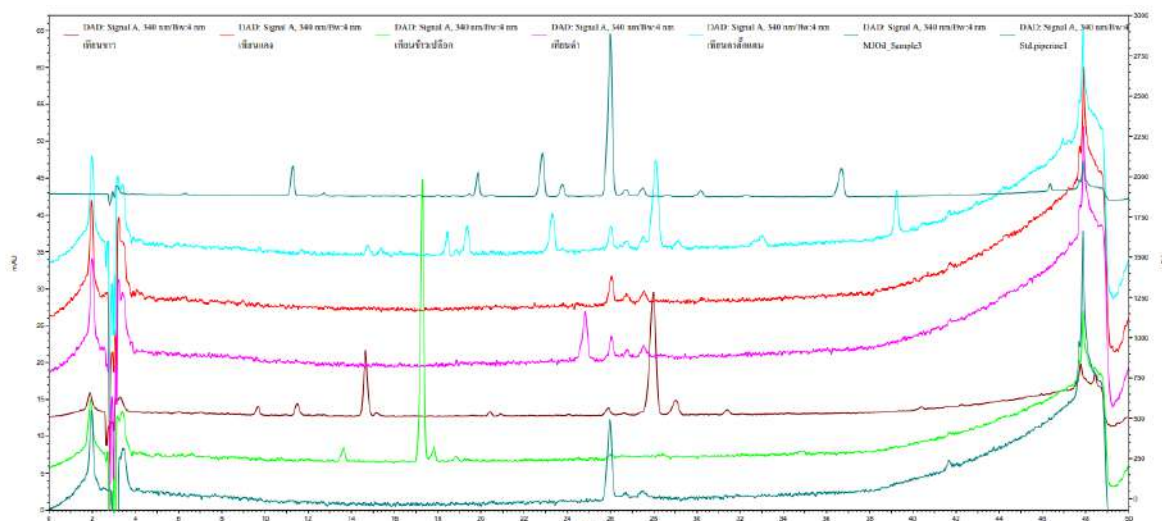
| เวลา (นาที) | Acetonitrile (%) | 0.1% Phosphoric acid ในน้ำ (%) |
|-------------|------------------|--------------------------------|
| 0           | 25               | 75                             |
| 5           | 30               | 70                             |
| 15          | 45               | 55                             |
| 25          | 50               | 50                             |
| 30          | 55               | 45                             |
| 35          | 60               | 40                             |
| 45          | 100              | 0                              |
| 50          | 25               | 75                             |



ภาพที่ 25 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมระบบวัฏภาคที่ 5 ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร พบค่า  $t_R$  ของสาร piperine ในสารตัวอย่างมีค่าตรงกันเท่ากับ 25.713

#### 4.7.2 การวิเคราะห์หารอยพิมพ์โครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูงของตำรับยาน้ำมันมหาจักรและสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบในตำรับ

นำสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของตำรับยาน้ำมันมหาจักรซึ่งมีสมุนไพรจำนวน 6 ชนิด มาวิเคราะห์ด้วยเอชพีแอลซี โดยใช้สภาวะที่ 5 จากนั้นตรวจวัดที่ความยาวคลื่นที่ 340 นาโนเมตร ได้เอชพีแอลซีโครมาโทแกรม ดังแสดงในภาพที่ 26

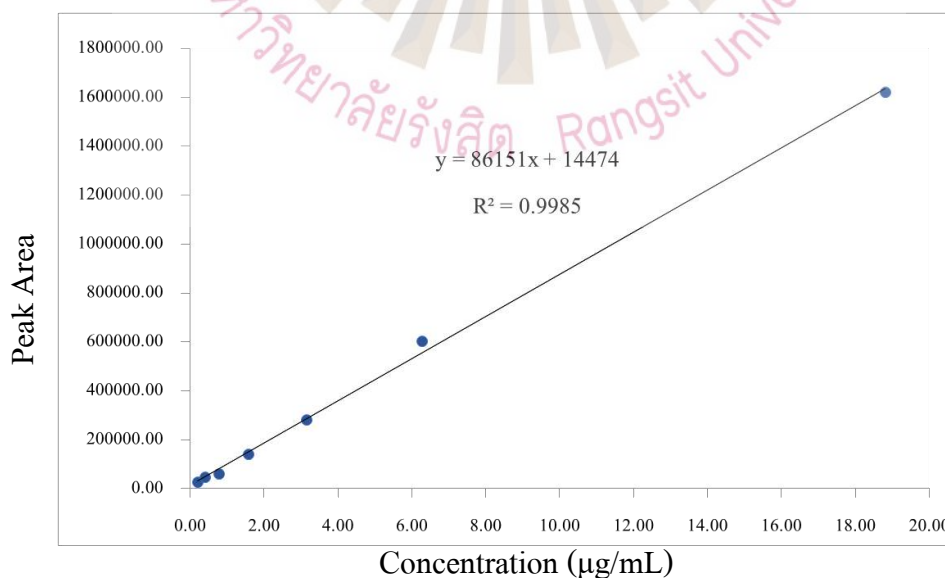


ภาพที่ 26 เอชพีแอลซีโครมาโทแกรม ของตำรับยาน้ำมันมหาจักร และสมุนไพรในตำรับ

#### 4.7.3 การประเมินวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

การพัฒนาวิธีควบคุมคุณภาพตำรับยาน้ำมันมหาจักร ผู้วิจัยได้ทำการประเมินวิธีวิเคราะห์โดยทำการทดสอบความเชื่อถือได้ (Validation) เพื่อเป็นการยืนยันว่าวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ว่าสอดคล้องกับความต้องการหรือไม่ และทดสอบความเหมาะสมของระบบ โดยมีผลการประเมิน ดังนี้

1) ความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity) นำสารมาตรฐาน Piperine 7 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.196, 0.392, 0.784, 1.568, 3.136, 6.272 และ 18.816  $\mu\text{g/mL}$  ไปวิเคราะห์ด้วยวิธีเอชพีแอลซี แล้วสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Piperine ได้กราฟมาตรฐานดังแสดงในภาพที่ 27 ได้สมการ  $y = 86151x + 14474$  ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9985



ภาพที่ 27 กราฟมาตรฐานของสาร Piperine

2) ความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ (Precision) ผลการทดสอบความแม่นยำ เพื่อหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ โดยพิจารณาจากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; RSD) จากผลการทดสอบพบว่า %RSD ของสารมาตรฐาน Piperine ที่ความเข้มข้น 0.50, 1.0 และ 2.0 µg/mL ในการทดสอบวันเดียวกัน (intraday) เท่ากับ 1.40, 0.60 และ 1.31% ตามลำดับ และระหว่างวัน (interday) เท่ากับ 1.36, 0.06 และ 0.76% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 19 เมื่อพิจารณาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์แล้วพบว่ามีค่าน้อยกว่าร้อยละ 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์การทดสอบของ ICH guideline 2005

ตารางที่ 18 ผลการทดสอบความแม่นยำในวันเดียวกันและระหว่างวันของสารมาตรฐาน Piperine

| สารมาตรฐาน | ความเข้มข้น (µg/ml) | ทดสอบวันเดียวกัน (n = 3)     |       | ทดสอบระหว่างวัน (n = 3)      |       |
|------------|---------------------|------------------------------|-------|------------------------------|-------|
|            |                     | ความเข้มข้นที่วัดได้ (µg/ml) | % RSD | ความเข้มข้นที่วัดได้ (µg/ml) | % RSD |
| Piperine   | 0.50                | 0.51 ± 0.01                  | 1.40  | 0.49 ± 0.01                  | 1.36  |
|            | 1.00                | 1.03 ± 0.01                  | 0.60  | 0.97 ± 0.00                  | 0.06  |
|            | 2.00                | 1.99 ± 0.03                  | 1.31  | 1.94 ± 0.01                  | 0.76  |

3) ความถูกต้องของผลการวิเคราะห์ (Accuracy) จากผลการทดสอบ ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ของสารมาตรฐาน Piperine ความเข้มข้น 0.5, 1.00 และ 2.00 µg/mL มีค่า %recovery เท่ากับร้อยละ 98.65, 97.49 และ 99.56 ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 98.56 ดังแสดงในตารางที่ 20 เมื่อพิจารณาค่า % recovery ของสารมาตรฐานแล้วพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 90.00–115.00% ซึ่งผ่านเกณฑ์การทดสอบของ ICH guideline 2005

ตารางที่ 19 ผลการทดสอบความถูกต้องของสารมาตรฐาน Piperine

| สารมาตรฐาน | Spiked level (µg/ml) | % Recovery   | Mean (% recovery) |
|------------|----------------------|--------------|-------------------|
| Piperine   | 0.50                 | 98.65 ± 1.34 | 98.56 ± 1.04      |
|            | 1.00                 | 97.49 ± 0.06 |                   |
|            | 2.00                 | 99.56 ± 1.30 |                   |

4) ปริมาณ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of detection; LOD) และปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ทดสอบซึ่งเป็นที่ยอมรับได้ (Limit of quantitation; LOQ) จากการทดสอบโดยนำตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำมาวิเคราะห์หาค่า SD โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 17 µg/mL ของสารมาตรฐาน Piperine ตัวอย่างละ 7 ซ้ำ ด้วยเครื่องเอชพีแอลซีผลการทดสอบพบว่า LOD มีค่า 0.15 µg/mL และ LOQ มีค่า 0.50 µg/mL ดังตารางที่ 21 ซึ่งการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีการทดสอบ



สามารถวัดได้ (LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณหรือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดสารตัวอย่าง โดยที่มีความถูกต้องและความแม่นยำเป็นที่ยอมรับ (LOQ) เป็นค่าที่ได้จากการคำนวณจากสมการ  $LOD = 3 SD$  และ  $LOQ = 10 SD$

ตารางที่ 20 ผลการทดสอบเพื่อหาค่า LOD และ LOQ

| ฉีดครั้งที่               | ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน |
|---------------------------|--------------------------|
|                           | Piperine (17 µg/ml)      |
| 1                         | 17.17                    |
| 2                         | 17.04                    |
| 3                         | 17.04                    |
| 4                         | 17.03                    |
| 5                         | 17.07                    |
| 6                         | 17.05                    |
| 7                         | 17.05                    |
| ค่าเฉลี่ย (Mean)          | 17.06                    |
| ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) | 0.05                     |
| LOD                       | 0.15 µg/ml               |
| LOQ                       | 0.50 µg/ml               |

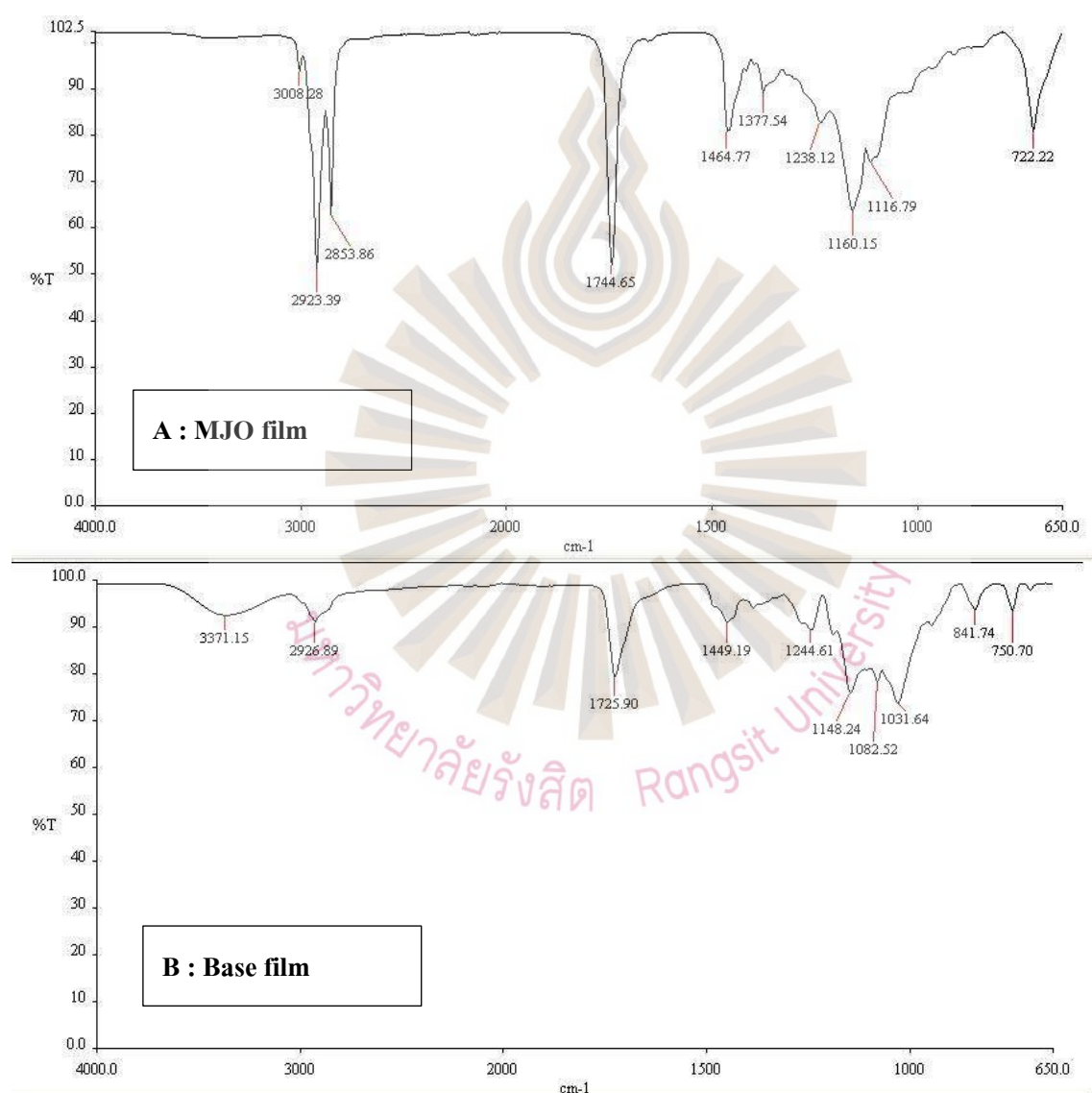
#### 4.7.4 ผลการวิเคราะห์หา Piperine ในตำรับยาน้ำมันมหาจักรและตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาฟั่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนึ่ง

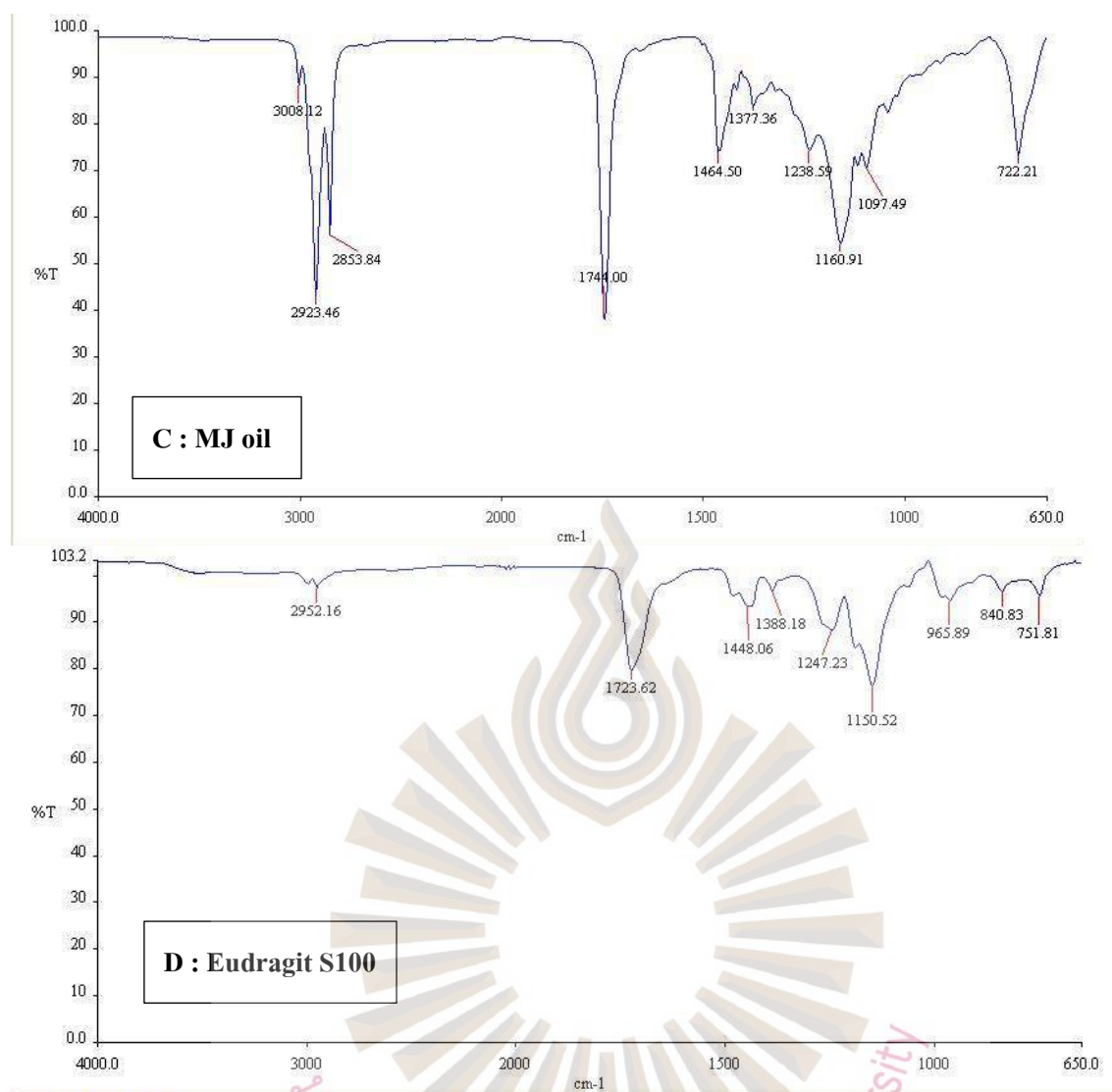
Piperine ถูกใช้เป็นสารบ่งชี้เพื่อวิเคราะห์หาความสม่ำเสมอของตัวยาในตำรับยาน้ำมันมหาจักรและตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาฟั่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนึ่ง จากกราฟมาตรฐานของสาร Piperine ได้สมการ  $y = 86151x + 14474$  เมื่อ  $x$  คือความเข้มข้น (µg/mL) และ  $Y$  คือ พื้นที่ใต้พีค แล้วคำนวณปริมาณสาร Piperine ในสารตัวอย่างพบว่า ในน้ำมันมหาจักรพบปริมาณ piperine เท่ากับ 0.516 µg/mL และตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาฟั่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนึ่ง จากตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาฟั่น 1 g มีปริมาณ piperine  $0.087 \pm 0.01$  mg

#### 4.8 ผลการศึกษาพันธะเคมีที่เกิดขึ้นของแผ่นฟิล์ม

จากภาพที่ 28 แสดง FT-IR spectra ของ Eudragit S-100 พบพีคที่ตำแหน่งเลขคลื่น  $2952.16 \text{ cm}^{-1}$  เป็นการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิลของหมู่คาร์บอกซิลิก O-H (carboxylic acid) ตำแหน่งเลขคลื่น  $1448.06$

$\text{cm}^{-1}$  เป็นการงอของ  $-\text{CH}_3$  bend และตำแหน่งเลขคลื่นที่  $1731.2 \text{ cm}^{-1}$  เป็นการสั่นของ  $\text{C} = \text{O}$  (ester) (Sharma, 2011) FTIR spectrum ของ MJO film และ MJ Oil ภาพที่ 28 ตามลำดับ พบตำแหน่งเลขคลื่นมีลักษณะคล้ายกัน ได้แก่ พบพีกที่ตำแหน่งเลขคลื่นประมาณ  $3008.28 - 2853.86 \text{ cm}^{-1}$  แสดงการสั่นของ  $-\text{CH}_2$ ,  $-\text{CH}_3$  ที่ตำแหน่ง  $1744.65$  เป็นพีกแหลมแสดงการสั่นของ  $\text{C} = \text{O}$  (ester) FTIR spectrum ของ Base film ที่สเปคตรัมที่ 3.1B พบการสั่นที่เลขคลื่นช่วง  $3,200 - 3,600$  เป็นการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิลที่เกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่นในตำรับ ดังนั้นจะพบว่า จากการศึกษา FT-IR ไม่พบการเกิด interaction ระหว่าง ยา และ polymer





ภาพที่ 28 FT-IR spectrum ของ MJ film (a), Base film (b), MJ Oil (c) และ EudragitS 100 (d)

#### 4.9 ผลการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาในหลอดทดลอง

การวิเคราะห์ความสามารถในการซึมผ่านของผลิตภัณฑ์ตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (MJ2) ผ่านหนังหมูแรกเกิดและcellulose acetate membrane ในตัวกลาง 10%EtOH in phosphate buffer pH 7.4 นำตำรับสเปรย์ฟิล์มมาวิเคราะห์หาปริมาณสาร piperine โดยเก็บตัวอย่างที่จุดเวลาทั้งหมด 10 จุด คือ 15, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 720 และ 1440 นาที จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย HPLC เพื่อหาปริมาณ piperine ที่ซึมผ่านหนังหมู และcellulose acetate membrane โดยใช้สมการมาตรฐาน ดังแสดงภาพ 23

$$\text{จากสมการมาตรฐาน } y = 153125x + 319.94$$

เมื่อ y คือ Peak area

x คือ ความเข้มข้นของ piperine ( $\mu\text{g/ml}$ )

นำมาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ piperine ได้ดังนี้ ที่เวลา 15 นาที ทำการเก็บสารตัวอย่าง (MJ2) ที่ละลายใน 10%EtOH in phosphate buffer pH 7.4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ได้ค่าพื้นที่ใต้พีคเท่ากับ 1189 จากนั้นนำไปแทนค่าในสมการมาตรฐานข้างต้น ได้ความเข้มข้นของ piperine 0.0065  $\mu\text{g}/\text{ml}$  คำนวณการปลดปล่อยของ piperine ในสารตัวกลาง 10%EtOH in phosphate buffer pH 7.4 ปริมาตร 12.3 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ใน Franz diffusion cell คิดเป็น  $0.0065 \times 12.3 = 0.0792 \mu\text{g}$  คำนวณร้อยละการซึมผ่านของ piperine ต่อพื้นที่หน้าตัด  $1.76 \text{ cm}^2 (\mu\text{g}/\text{cm}^2)$

ร้อยละการซึมผ่านของของ piperine ต่อพื้นที่หน้าตัด = ค่าการปลดปล่อยของ piperine สะสม

$$\frac{1.76}{1.76} = \frac{0.0792}{1.76} = 0.0450 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

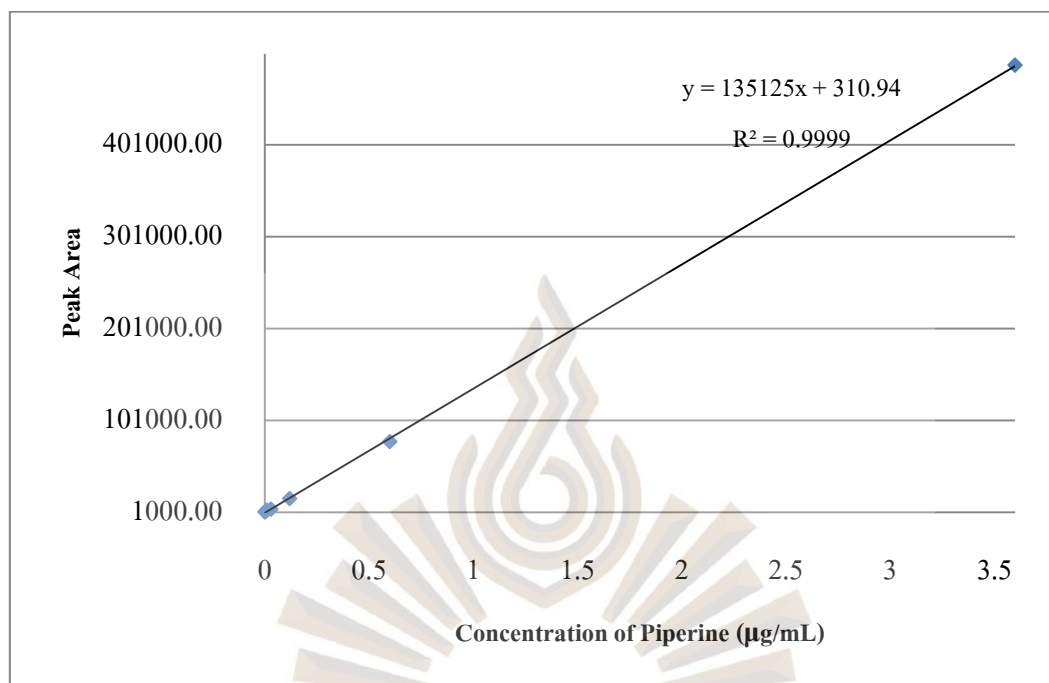
ดังนั้นที่เวลา 15 นาที มีร้อยละการซึมผ่านของ piperine เท่ากับ  $0.0450 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

ที่เวลา 30 นาที นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ได้ค่าพื้นที่ใต้พีคเท่ากับ 1602 นำไปแทนค่าใน สมการมาตรฐานคิดเป็นความเข้มข้นของ piperine  $0.0107 \mu\text{g}/\text{ml}$  ในตัวกลาง 10%EtOH in phosphate buffer pH 7.4 ปริมาตร 12.3 mL มีปริมาณของ piperine  $0.0107 \times 12.3 = 0.1315 \mu\text{g}/\text{ml}$  เนื่องจากเก็บตัวอย่างมา มา 1 mL จึงมีปริมาณของ piperine  $1 \times 0.0065 = 0.0065 \mu\text{g}$  นำมาคำนวณการปลดปล่อย piperine สะสมที่เวลา 30 นาที เป็นต้นไป ดังนั้นปริมาณ piperine ที่ซึมผ่านที่เวลา 30 นาที คือ  $0.1315 + 0.0065 = 0.1380 \mu\text{g}$  คำนวณร้อยละการซึมผ่านของของ piperine ต่อพื้นที่หน้าตัด  $1.76 \text{ cm}^2 (\mu\text{g}/\text{cm}^2)$  ดังนั้นที่เวลา 30 นาที มีร้อยละการซึมผ่านของ piperine เท่ากับ  $0.0784 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

จากการศึกษาการซึมผ่านของผลิตภัณฑ์ตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังโดยเปรียบเทียบชนิดของหนังหมูแรกเกิดและ cellulose acetate membrane ในตัวกลาง 10%EtOH in phosphate buffer pH 7.4 โดยใช้สูตร MJ2 พบว่า piperine สามารถซึมผ่าน cellulose acetate membrane ได้ปริมาณสูงกว่า หนังหมูแรกเกิด ที่เวลา 15-120 นาที โดยมีค่าการซึมผ่านของ piperine ต่อพื้นที่หน้าตัด  $0.0450 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  และ  $0.0218 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ตามลำดับ เมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมงสาร piperine ซึมผ่าน cellulose acetate membrane มีค่าการซึมผ่านต่อพื้นที่หน้าตัด  $0.4798 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  และซึมผ่านหนังหมูแรกเกิด มีค่าการซึมผ่านของสารต่อพื้นที่หน้าตัด  $0.0612 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  เนื่องจากสาร piperine มีคุณสมบัติเป็น hydrophobic จึงสามารถละลาย ได้ดีในชั้นไขมัน ซึ่งผิวหนังชั้น Stratum corneum มีไขมันเป็นองค์ประกอบ 40% มีผลทำให้สาร piperine สะสมได้ชั้นผิวหนังได้ดี (กัทธลิยา เมฆจรสกุล, 2560) ดัง แสดงในภาพที่ 30 และ 31

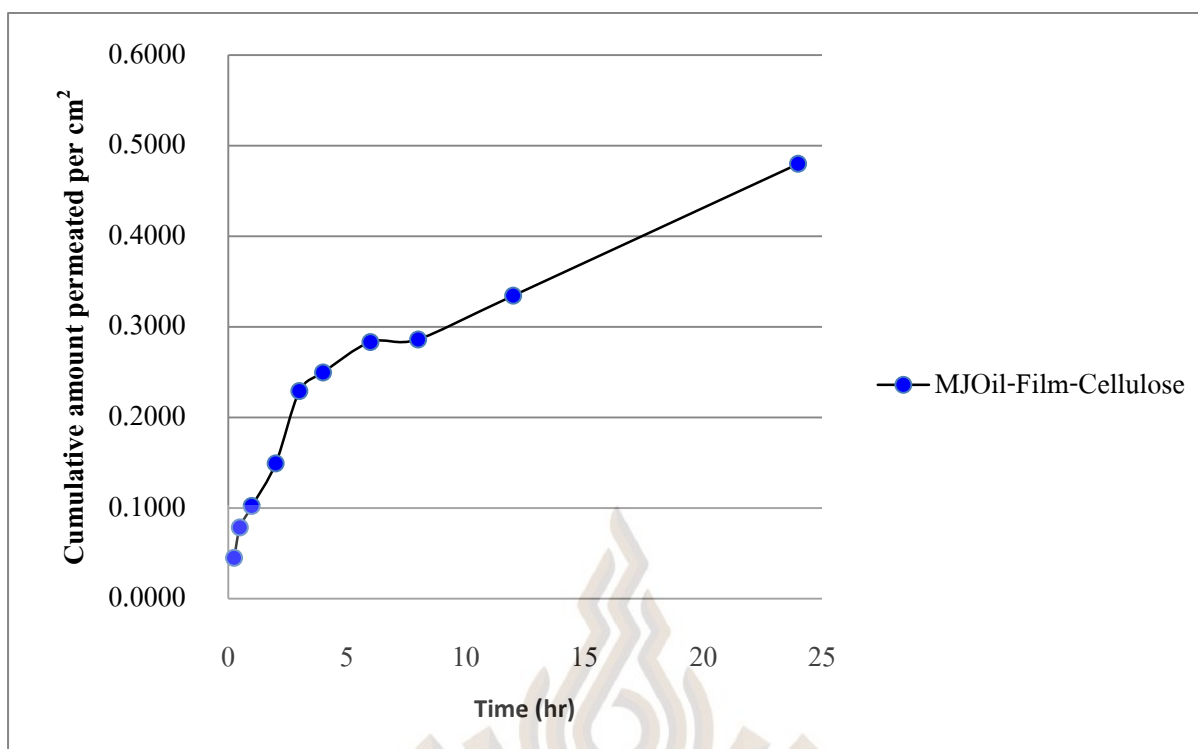
เมื่อเปรียบเทียบค่าการซึมผ่านสูตร MJ2 ผ่านหนังหมูแรกเกิดและ cellulose acetate membrane โดยสร้างสมการเชิงเส้นระหว่างค่าการซึมผ่านของสูตร MJ2 ผ่านหนังหมูแรกเกิดและเวลา มีสมการเส้นตรง  $y = 0.0001x + 0.0059$  โดยมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.3245 และสูตร MJ2 ผ่าน cellulose acetate membrane มีสมการเส้นตรง  $y = 0.0023x + 0.0164$  โดยมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.8563 จากสมการเส้นตรง  $y = ax + b$  โดยค่า a คือค่าความชันของเส้นตรง จึงนำค่า a ของทั้ง 2 สมการมาเปรียบเทียบกัน เพื่อวิเคราะห์อัตราเร็วในการซึม

ผ่านของ พบว่าสูตร MJ2 ผ่าน cellulose acetate membrane มีค่า  $a$  เท่ากับ 0.0023 และสูตร MJ2 ผ่านหนังหมูแรกเกิดมีค่า  $a$  เท่ากับ 0.0001 แสดงว่าสูตร MJ2 ผ่าน cellulose acetate membrane มีค่าความชันมากกว่า จึงมีอัตราเร็วในการซึมผ่านของสาร piperine มากกว่า ดังแสดงในภาพที่ 26

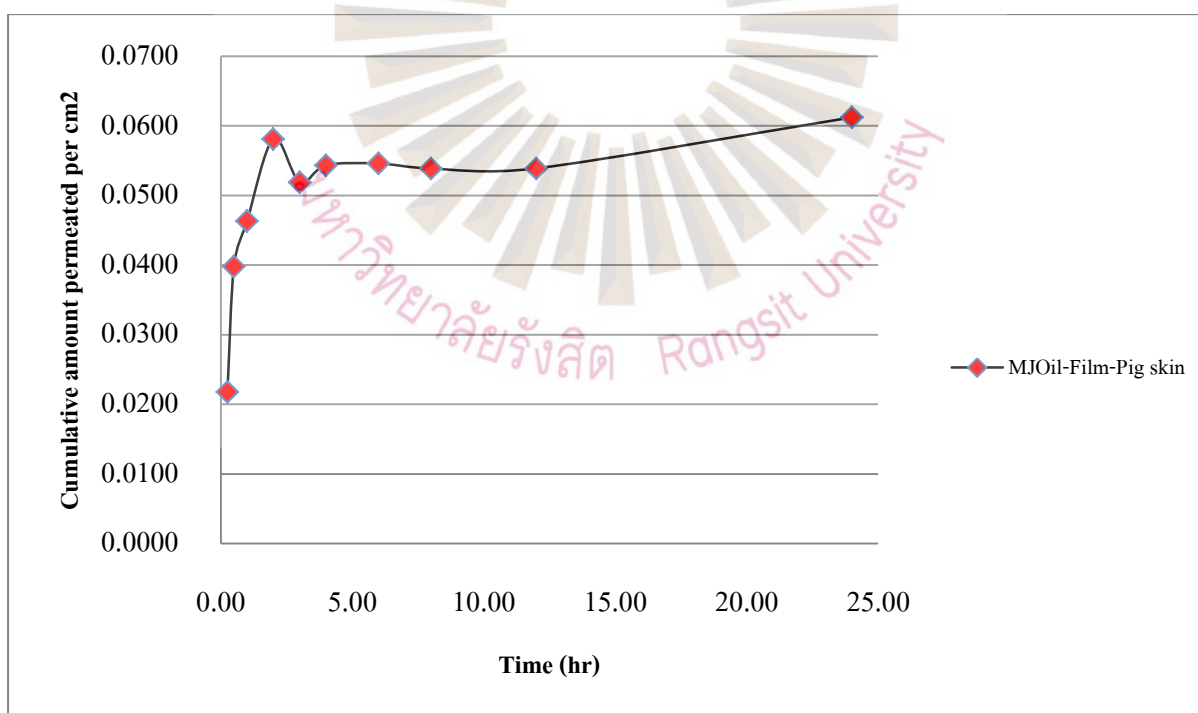


ภาพที่ 29 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของ สารมาตรฐาน piperine (µg/ml) และพื้นที่ใต้พีคที่วิเคราะห์ด้วย HPLC

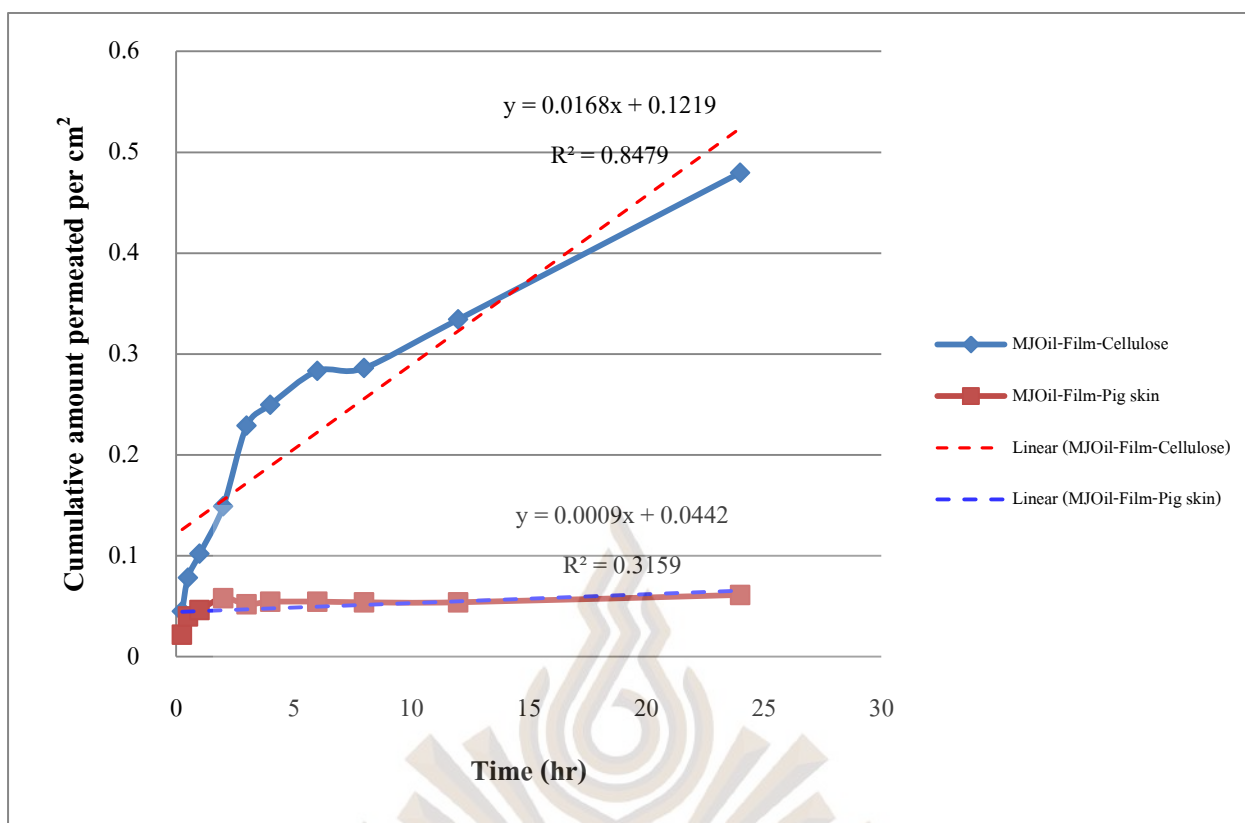




ภาพที่ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่านของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) และเวลา (hr) ผ่าน cellulose acetate membrane



ภาพที่ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่านของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) และเวลา (hr) ผ่านหนังหมูแรกเกิด



ภาพที่ 32 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่านของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) และเวลา (hr)

#### 4.10 การทดสอบความคงตัวของตำรับ

การศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (MJ2) โดยเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ  $45^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 48 h แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 48 h ทำซ้ำ 6 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ หาปริมาณ piperine เปรียบเทียบ  $1^{\text{st}}$  และ  $6^{\text{th}}$  ลักษณะทางกายภาพของตำรับ MJ2 ได้สารละลายสีเหลืองอ่อน ใส แต่พบว่ามีตะกอนเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$  ลักษณะตะกอนมีขาวตกอยู่ก้นหลอดทดลองเล็กน้อย เขย่าไม่คือนตัว แต่เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนกลับมาที่  $45^\circ\text{C}$  ไม่พบตะกอนสีขาวขุ่น ค่าความเป็นกรด-ด่างของตำรับ MJ2 โดยมีค่าอยู่ในช่วง 4.64-4.84 ค่าความหนืด 99.58-102.70 cP และปริมาณความเข้มข้นของ piperine มีค่าเท่ากับ 0.082 – 0.088  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ดังแสดงตาราง 22 ในทุกสภาวะพบการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ )

ตาราง 21 ความคงสภาพแบบระยะยาวของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนัง (MJ2) เก็บไว้ที่ ที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 48 h แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 48 h ทำซ้ำ 6 ครั้ง

| เวลาที่ทดสอบ          | ลักษณะสารละลาย สี<br>ความใส | pH<br>ที่ 25±1 °C | Viscosity (cP)<br>ที่ 25±1 °C | Concentration of<br>piperine (µg/mL) |
|-----------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| Control               | ใส ไม่มีสี                  | 4.78 ± 0.054      | 98.83 ± 1.365                 | -                                    |
| 1 <sup>st</sup> cycle | เหลืองอ่อน ใส               | 4.71 ± 0.057      | 99.58 ± 1.754                 | 0.088 ± 0.003                        |
| 2 <sup>nd</sup> cycle | เหลืองอ่อน ใส               | 4.76 ± 0.082      | 99.63 ± 1.504                 | 0.085 ± 0.000                        |
| 3 <sup>th</sup> cycle | เหลืองอ่อน ใส               | 4.66 ± 0.119      | 98.73 ± 1.443                 | 0.085 ± 0.001                        |
| 4 <sup>th</sup> cycle | เหลืองอ่อน ใส               | 4.84 ± 0.102      | 100.17 ± 1.909                | 0.084 ± 0.000                        |
| 5 <sup>th</sup> cycle | เหลืองอ่อน ใส               | 4.66 ± 0.026      | 100.57 ± 1.848                | 0.082 ± 0.005                        |
| 6 <sup>th</sup> cycle | เหลืองอ่อน ขุ่นเล็กน้อย     | 4.64 ± 0.057      | 102.70 ± 2.254                | 0.082 ± 0.004                        |

#### 4.11 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion ของน้ำมันมหาจักร (MJ Oil) แผ่นฟิล์มตำรับยาน้ำมันมหาจักร (MJ Oil-Film) และสารละลายกึ่งฟิล์มตำรับยาน้ำมันมหาจักร (MJ Oil-SolFilm) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. Coli*, *S. aureus* และ *P. aeruginosa* ได้ เมื่อใช้ Vancomycin เป็น Positive control ซึ่งมี inhibition zone 24.60±0.87 และ 17.60±1.00 mm ดังแสดงดังตารางที่ 22 และจากตารางที่ 23 พบว่า น้ำมันมหาจักร (MJ Oil) แผ่นฟิล์มตำรับยาน้ำมันมหาจักร (MJ Oil-Film) และสารละลายกึ่งฟิล์มตำรับยาน้ำมันมหาจักร (MJ Oil-SolFilm) มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ >5 mg/mL

##### 4.11.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ของแผ่นฟิล์มเบื้องต้นด้วยวิธี disc diffusion

ตาราง 22 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion

| Sample         | Zone of inhibition in mm |                  |                      |
|----------------|--------------------------|------------------|----------------------|
|                | <i>E. Coli</i>           | <i>S. aureus</i> | <i>P. aeruginosa</i> |
| MJ Oil         | NI                       | NI               | NI                   |
| MJ Oil-Film    | NI                       | NI               | NI                   |
| MJ Oil-SolFilm | NI                       | NI               | NI                   |
| Vancomycin     | 24.60±0.87               | 17.60±1.00       | NI                   |

4.11.2 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) และทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC)

ตาราง 23 ค่า MIC และ MBC (mg/mL)

| Sample         | The value of Minimum inhibitory concentration and Minimum Bactericidal Concentration (mg/mL) |       |                  |      |                      |      |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------|------|----------------------|------|
|                | <i>E.Coli</i>                                                                                |       | <i>S. aureus</i> |      | <i>P. aeruginosa</i> |      |
|                | MIC                                                                                          | MBC   | MIC              | MBC  | MIC                  | MBC  |
| MJ Oil         | >5                                                                                           | >5    | >5               | >5   | >5                   | >5   |
| MJ Oil-Film    | >5                                                                                           | >5    | >5               | >5   | >5                   | >5   |
| MJ Oil-SolFilm | >5                                                                                           | >5    | >5               | >5   | >5                   | >5   |
| Vancomycin     | 0.312                                                                                        | 0.312 | 2.50             | 2.50 | 5.00                 | 5.00 |



## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย

พัฒนาผลิตภัณฑ์จากตำรับยาน้ำมันมหาจักรในรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์มที่ผิวหนังเพื่อฆ่าเชื้อก่อโรคที่ผิวหนัง โดยทำการออกแบบทดลองแบบ Full-factorial design (23) ในทดลองทำการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการก่อฟิล์ม ได้แก่ ปริมาณของสารก่อฟิล์ม (Film Former) ปริมาณรวม plasticizer (Total Plasticizer) และอัตราส่วนระหว่าง PEG400 และ BG (The Ratio Plasticizer) ทำการเตรียม 24 ตำรับ ประเมินผลค่าความหนืด ค่าแรงตึงผิว และค่าสัมพัทธ์ผิว จากการศึกษาพบว่าตำรับ MJ2 มีคุณสมบัติที่ดี ประกอบด้วย 3% MJOil, 5% Eudragit S100 เป็นสารก่อฟิล์ม, PEG400 และ 1,3-butylene glycol (3:1) เป็นพลาสติกไซเซอร์ และใช้ EtOH:Acetone (4:1) เป็นตัวทำละลาย ให้สารละลายก่อฟิล์มใสสีเหลืองอ่อน มีค่าแรงตึงผิว  $19.49 \pm 0.04$  และค่าสัมพัทธ์ผิว  $14.2 \pm 0.42$  มีลักษณะการกระจายตัวบนพื้นผิวได้ดี ให้ลักษณะแผ่นฟิล์มใส มีความยืดหยุ่นและล้างออกได้ง่าย เมื่อสเปรย์ลงบนผิวสามารถแห้งภายในระยะเวลา  $5.58 \pm 0.39$  นาที มีค่าความเป็นกรด-ด่าง  $4.78 \pm 0.159$  การศึกษาเสถียรภาพของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 และ 45 °C จำนวน 6 ชั่วโมง พบว่า มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง  $4.78 \pm 0.159$  โดยที่ 4 °C เกิดตะกอนสีขาวขุ่น เขย่าไม่คืนตัว และที่ 45 °C เมื่อเก็บเป็นระยะเวลานานความหนืดเพิ่มขึ้น การศึกษาการซึมผ่านของตำรับยาน้ำมันมหาจักรรูปแบบยาพ่นละอองฝอยแบบกึ่งฟิล์ม ด้วยวิธี Franz diffusion cell เปรียบการซึมผ่านผ่านหนังหมูแรกเกิดและ cellulose acetate membrane ที่เวลา 24 hr มีค่าการซึมผ่านของสาร piperine ต่อพื้นที่หน้าตัด  $0.0612 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  และ  $0.4798 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ตามลำดับ



## เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมการประสานและบูรณาการงาน ด้านการคื้อยาด้านจุลชีพ. (2558). ภูมิทัศน์ของสถานการณ์และ  
การจัดการ การคื้อยาด้านจุลชีพในประเทศไทย. กรุงเทพฯ ฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนดี้ไซน์.  
นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: NOBLE PRINT.  
ภัทรชัย กิริติสิน. (2551). ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด วิ.  
เจ.พรินต์.

ชามาศ วงศ์ษา. อาการแพ้รุนแรง (Anaphylaxis) [อินเทอร์เน็ต]. (2562). [เข้าถึงเมื่อ 12 กรกฎาคม 2563].  
เข้าถึงได้จาก: [https://www.si.mahidol.ac.th/siriraj\\_online/thai\\_version/Health\\_detail.asp?id=1402](https://www.si.mahidol.ac.th/siriraj_online/thai_version/Health_detail.asp?id=1402).  
พิทยา ภาภิรมย์, อรุณี บุตรตาสี, วชิราภรณ์ กัมปนาทวารวรรณ. (2551).ฤทธิ์ของน้ำมันมะนาวและน้ำมันมะกูดต่อ  
เชื้อสแตปไฟโล คอคโคไคที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโคแอกกูเลส ที่แยกได้จากสุนัข. *วารสารวิจัย  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น*. 13(7): 866-872.

สุพรรณิ ปิงสุวรรณ, นวพร ชัชวาลพาณิชย์, กุลภา ศรีสวัสดิ์, อุระณี รัตนพิทักษ์, กัลยารัตน์ กำจรเจ็ด, จุฑาทิพย์  
วิภาวัฒนะ และอัจฉรา สุวรรณคินทร์. (2552). การศึกษาความชุกตามระดับความเสี่ยงของ การ  
เกิดแผลเหวามันเท้า. *เวชศาสตร์ฟื้นฟูสาร*. 19(1): 19-24.

สำนักคุ้มครองภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. (2555).  
คัมภีร์ชาดุนารายณ์ ฉบับโบราณ (ตำราพระโอสถพระนารายณ์) ชุดตำราภูมิปัญญาการแพทย์  
แผนไทย ฉบับอนุรักษ์[อินเทอร์เน็ต]. หน้า 119. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่าน  
ศึก ในพระบรมราชูปถัมภ์; [เข้าถึงเมื่อ 13 กรกฎาคม 2563]. เข้าถึงจาก:  
<https://pubhtml5.com/mtwt/xlpk/basic>.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. (2561). *สรุปรายงานอาการไม่พึงประสงค์จาก  
การใช้ยา ประจำปี 2560*. กรุงเทพฯ ฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนดี้ไซน์.

Belmar-Liberato, R., Gonzalez-Canga, A., Tamame-Martin, P., Escribano-Salazar, M. (2011).  
Amoxicillin and amoxicillin-clavulanic acid resistance in veterinary medicine - The situation in  
Europe: A review. *Veterinarni Medicina*. 56(10):473-485.

Botelho, J.R.S., Medeiros, G.M., Rodrigues, A.M.C., Araujo, M.E., Machado, N.T., Santos, A.G., Santos,  
I.R., Gomes-Leal, W. and Junior, R.N.C. (2014). Black sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds

- extracts by CO<sub>2</sub> supercritical fluid extraction: Isotherms of global yield, kinetics data, total fatty acids, phytosterols and neuroprotective effects. *The Journal of Supercritical Fluids*. 93;49-55.
- Chen, W., Vermaak, I., Viljoen, A. (2013). Camphor-A fumigant during the black death and a coveted fragrant wood in ancient egypt and babylon-A Review. *Molecules*. 18;5434-5454.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2009). Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard-eighth edition. CLSI documents M07-A8. *Clinical and Laboratory Standard Institute*.
- Duke, J.A., Bogenschutz-Godwin, M.J., Cellier, J., Duke, P-A. (2002) *Handbook of Medicinal Herbs*. 2<sup>nd</sup>. CRC Press: Washinton D.C.
- Eddouks, M., Maghrani, M., Zeggwagh, N-A., Michel, J.B. (2005). Study of the hypoglycaemic activity of *Lepidium sativum* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacology*. 97;391-395.
- Enomoto, S., Asano, R., Iwahori, Y., Narui, T., Okada, Y., Singab, A.N.B. (2001). Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L. *Biol Pharm Bull*. 24(3):307-310.
- Hajlaoui, H., Mighri, H., Noumi, E., Snoussi, M., Trabelsi, N., Ksouri, R. (2010). Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. strains. *Food and Chemical Toxicology*. 48:2186-2192.
- Jitraknatee, A., Kiatying-Angsulee, N., Kessomboon, N., Maleewong, U. (2011). *Situation report on drug system 2010: antimicrobial resistance and antibiotic use*. Bangkok: Drug System Monitoring and Development Centre; pp. 21– 5.
- Farber, J.E., Ross, J. and Stephens, G. (1954). Antibiotic Anaphylaxis. *Calif Med*. 81(1): 9–12.
- Jumpa-ngern, P., Kiettinun, S., Sakpakdeejaroen, I., Cheomung, A. and Na-Bangchang, K. (2013) An alternative high performance liquid chromatographic method for determination of piperine in serum: Application to pharmacokinetic studies. *Thammasat Medical Journal*. 13:159-168.

- Kathe, K., Kathpalia, H. (2017). Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Science*. 12:487-497.
- Kim, K.W., Kim, K-S., Kim, H., Lee, S.H., Park, L-H., Han, J-H., Seok, S-H., Park, J., Choi, Y.C., Kim, Y.I., Han, J.K., and Son, J.H. (2012) Terahertz dynamic imaging of skin drug absorption. *Optics Express*. 20(9); 9476-9484.
- Gali-Muhtasib, H., El-Najjar, N., Schneider-Stock, R. (2006) The medicinal potential of black seed (*Nigella sativa*) and its components. *Lead Molecules from Natural Products*. Elsevier B.V.
- Gupta, N., Saxena, G. (2010) Antimicrobial activity of constituents identified in essential oils from *Mentha* and *Cinnamomum* through GC-MS. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 1(4):715-720.
- Pawer, N. and Chaudhary, H. (2015). Non-pressurized topical spray of diclofenac diethylamine. *International Journal of Advances in Pharmaceutics* 4. 40–48; DOI: 10.7439/ijap.
- Piyachaturawat, P., Glinsukon, T., Chanjarunee, A. (1985). Antifertility effect of *Citrus hystrix* DC. *J Ethnopharmacology*. 13: 105-110.
- Phatthalung, P.N., Chusri, S., Voravuthikunchai, S.P. (2012). Thai ethnomedicinal plants as resistant modifying agents for combating *Acinetobacter baumannii* infections. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12:1-8.
- Mahdavi, R., Namazi, N., Alizadeh, M., Farajnia, S. (2016). *Nigella sativa* oil with a calorie-restricted diet can improve biomarkers of systemic inflammation in obese women: A randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Lipidology*. 10:1203-1211.
- Makkonen, L. (2016). Young's equation revisited. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 28. Doi:10.1088/0953-8984/28/13/135001.
- Manju, S., Malaikozhundan, B., Withyachumnarnkul, B., Vaseeharan, B. (2016). Essential oils of *Nigella sativa* protects *Artemia* from the pathogenic effect of *Vibrio parahaemolyticus* Dahv 2. *Journal of invertebrate pathology*. 136: 43-49.

- Murakami, A., Gao, G., Kim, O.K., Omura, M., Yano, M., Ito, C. (1999). Identification of coumarins from the fruit of *Citrus hystrix* DC as inhibitors of nitric oxide generation in mouse macrophage RAW 264.7 cells. *J Agric food chem.* 47:333-339.
- Myers, D. (1946). "Sureface, Interfaces, and Colloids Principles and Applications", *John Wiley & Sons*. Second edition. Nostro, A., Cellini, L., Bartolomeo, S.D., Campi, E.D., Grande, R., Cannatelli, M.A. (2005). Antibacterial effect of plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Phytother Res.* 19(3):198-202.
- Phillips, I. (1971). Clinical uses and control of rifampicin and Clindamycin. *Journal of Clinical Pathology.* 24(5):410-418.
- Richards, D.M., Heel, R.C., Brogden, R.N., Speight, T.M. & Avery, G.S. (2012). Ceftriaxone: A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacological Properties and Therapeutic Use. *Drug Evaluation.* 27:468-527.
- Sawatdee, S., Choochuay, K., Chanthorn, W., & Srichana, T. (2016). Evaluation of the topical spray containing *Centella asiatica* extract and its efficacy on excision wounds in rats. *Acta pharmaceutica.* 66(2):233-244.
- Sarfaraz, S., Najam, R., Sarfaraz, A. (2014). CNS depressant, sedative and anxiolytic activity of ethanolic extract of fruit of *Piper chaba* revealed after neuropharmacological screening. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 6(11):186-189.
- Sireeratawong, S., Itharat, A., Lerdvuthisopon, N., Piyabhan, P., Khonsung, P., Boonraeng, S. (2012). Anti-Inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the ethanol extract of *Piper interruptum* Opiz. and *Piper chaba* L. *ISRN pharmacology.* 1-6.
- Somade, O.T., Adeniji, K.D., Adesina, A-R.A., Olurinde, O.J. (2017). Oral acute toxicity study as well as tissues oxidative stress and histopathological disorders in edible camphor administered rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 69:99-108.
- Sulekha, B., & Avin, G. (2016). Topical spray of silver sulfadiazine for wound healing. *Journal of chemical and pharmaceutical research.* 8(7):492-498.

Tangyuenyongwatana, P., Gritsanapan, W. (2014). Prasapalai: An essential Thai traditional formulation for primary dysmenorrhea treatment. *TANG*, 4(2):10-11.

Tran, T.T.D. and Tran, P.H.L. (2019). Controlled Release Film Forming Systems in Drug Delivery: *The Potential for Efficient Drug Derlivery*. *Pharmaceutics*. 11:290.







ภาคผนวก

## ประวัติผู้วิจัย

1. นางสาว สมพร ผลกระโทก
2. เลขประจำตัวประชาชน 1309900123188
3. คุณวุฒิ/สาขาวิชาเอก/สถาบัน
  - วทบ. (วิทยาศาสตร์บัณฑิต) สาขาเคมีอินทรีย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 2550
  - ภม. (เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต) สาขาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 2555
  - ใบประกอบวิชาชีพแผนไทยด้านเภสัชกรรมไทย (พท.ภ.33988) 2556

### 4. ผลงานทางวิชาการ

#### 4.1 ผลงานวิจัย

Phonkrathok, S. and Ovatlarnporn, C. 2010. Application of palladium-zeolite nanocomposite as the catalyst in intramolecular cyclization of 2-allyl phenol and anilines. Abstract of The 1st Current Drug Development International Conference 2010 (1st CDD), 6th-8th May, 2010 at Woraburi Resort & Spa Hotel, Phuket, Thailand (poster presentation).

Phonkrathok, S. and Ovatlarnporn, C. 2010. Application of palladium-zeolite nanocomposite as the catalyst in intramolecular cyclization of 2-allyl phenol and anilines. Proceeding of The 21st National Graduate Research Conference, 26th May, 2011 at Rangsit University, Pathum thani, Thailand (oral presentation).

Khamthong N., Pootakham K., Songsak T., Vipunnqeun N., Madaka F., Pathompak P. and Phonkrathok S. 2019. Pharmacognostic Specifications of *Momordica Cochinchinensis* aril used in cosmeceuticals of the Royal project. The 6th International Conference on Advanced Pharmaceutical Research on March 28-29, 2019 at Auditorium room (6-200), Student Center Bld., Rangsit University, Pathumthani, Thailand.

Phonkrathok S., Pootakham K., Songsak T., Khamthong N., Vipunnqeun N., Madaka F. and Pathompak P., 2019. Pharmacognotic Evaluation and Phytochemical Profiles of *Camellia sinensis* var. *assamica* leaves in Northern Thailand. The 6th International Conference on Advanced Pharmaceutical Research on March 28-29, 2019 at Auditorium room (6-200), Student Center Bld., Rangsit University, Pathumthani, Thailand.