



เรียนรู้เพื่อรับใช้สังคม

การพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันจากสารสกัดเปลือกมังคุด  
DEVELOPMENT OF MICROEMULSION FORMULATIONS  
OF MANGOSTEEN (*Garcinia mangostana* L.)  
PERICARP EXTRACT

ชุตติมา บุญรัตน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ  
พ.ศ. 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

## การพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันจากสารสกัดเปลือกมังคุด

ชุตติมา บุญรัตน์ 534072

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รัตนา อินทรานุปกรณ์, Ph.D.

รัฐพล อาษาสุจริต, Ph.D.

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความคงตัวของ  $\alpha$ -mangostin ซึ่งเป็นสารสำคัญในสารสกัดเปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana* L.) โดยพัฒนาในรูปแบบตำรับไมโครอิมัลชัน โดยเริ่มจากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัด 3 วิธี (การหมัก การใช้คลื่นเสียง และการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลต) และตัวทำละลาย 2 ชนิด (methanol และ 95% ethanol) ที่เหมาะสมสำหรับสกัด  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุด บดหยาบในปริมาณสูงสุด พบว่าการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลตโดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย เป็นวิธีที่สามารถสกัด  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดในปริมาณสูงที่สุด จากนั้นทำการแยกสารรบกวนในสารสกัดเปลือกมังคุดออกด้วยวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลวและนำสารสกัดเปลือกมังคุดมาใช้สำหรับการตั้งตำรับไมโครอิมัลชันด้วยวิธีการสร้าง pseudoternary phase diagrams โดยศึกษาปริมาณ/ชนิดของ วัฏภาคน้ำมัน (Isopropyl Myristate (IPM) หรือ Oleic acid) และสัดส่วนโดยน้ำหนักของวัฏภาคสารลดแรงตึงผิว (Brij<sup>®</sup>30)/สารลดแรงตึงผิวร่วม (Propylene Glycol) ที่เหมาะสมจากตำรับไมโครอิมัลชันจำนวนมาก ทำการประเมินการเป็นไมโครอิมัลชันจากลักษณะที่เป็นของเหลวใส ขนาดหยดอนุภาคเฉลี่ย การกระจายตัวของขนาดหยดอนุภาค (PDI) ค่าซีต้าโพเทนเชียล ความหนืด และความเป็นกรด-ด่าง อีกทั้งยังศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมิ 4 °C และที่ 45 °C เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าตำรับที่ดีที่สุดที่ได้รับการคัดเลือก เป็นตำรับที่ประกอบด้วยสารต่าง ๆ โดยน้ำหนัก ดังนี้ Oleic acid ร้อยละ 10.00, Brij30/PG (สัดส่วน 1:1) ร้อยละ 56.60, สารสกัดเปลือกมังคุด ร้อยละ 0.25 และน้ำ ร้อยละ 33.40 มีขนาดหยดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ  $49.27 \pm 2.41$  nm, PDI เฉลี่ยเท่ากับ  $0.50 \pm 0.09$ , ค่าซีต้าโพเทนเชียลเท่ากับ  $-1.30 \pm 0.08$  mV ค่าความหนืดเท่ากับ  $1,684.67 \pm 1.15$  cPS ค่าความเป็นกรดต่าง  $5.14 \pm 0.04$  ตรวจสอบสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบว่า มีลักษณะทรงกลม เมื่อทำการทดสอบความคงสภาพภายใต้สภาวะร้อนสลับเย็น จำนวน 6 รอบ ที่อุณหภูมิห้อง ที่ 4 °C และที่ 45 °C เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ในตำรับ จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาโดยใช้เครื่อง HPLC คงเหลือ ร้อยละ 105.25, 90.01, 90.26 และ 90.26 ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลข้างต้นบ่งบอกถึงความคงสภาพของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด

**คำสำคัญ:** แอลฟาแมงโกสติน ไมโครอิมัลชัน โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

DEVELOPMENT OF MICROEMULSION FORMULATIONS OF MANGOSTEEN  
(*Garcinia mangostana* L.) PERICARP EXTRACT

CHUTIMA BOONRAT 534072

MASTER OF SCIENCE (COSMETIC SCIENCE)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: RATANA INDRANUPAKORN, Ph.D.

RATHAPON A-SASUTJARIT, Ph.D.

ABSTRACT

The objective of the study was to enhance the stability of  $\alpha$ -mangostin, a major bioactive in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) pericarp extract using microemulsion formulations. First, the efficiency of three different techniques (stirring, ultrasonication and soxhlet extractions) and solvents (methanol and 95% ethanol) were evaluated for extraction of  $\alpha$ -mangostin in mangosteen pericarp. The results showed that soxhlet extraction with methanol gave the highest  $\alpha$ -mangostin content. After removing the interfering substances by liquid-liquid extraction method, the obtained mangosteen pericarp extract was used in the microemulsion formulations. Optimization of the formulation was performed by using pseudoternary phase diagrams, which were constructed for the various microemulsion formulations by using isopropyl myristate (IPM) or oleic acid as oil phase and varying ratio of Brij<sup>®</sup> 30 (surfactant) to propylene glycol (cosurfactant). The microemulsion formulations were selected from the microemulsion region and evaluated for the further optimization of the system, characterized by droplet size, polydispersity (PDI) index, zeta potential, viscosity and pH. Stability studies at room temperature, 4 °C and 45 °C for 1 month were performed. The formulation containing the mass of 10 % oleic acid, 56.60 % Brij<sup>®</sup> 30 to propylene glycol ratio of 1:1 and 0.25% mangosteen pericarp extract was stable and had the required droplet size of 49.27±2.41 nm in relationship with PDI of 0.50±0.09, zeta potential of -1.30±0.08 mV, viscosity of 1,684.67±1.15 cPS and pH of 5.14±0.04. Negative-staining transmission electron microscopy (TEM) was used to images the microemulsion droplets and revealed the spherical feature of the particles. The contents of  $\alpha$ -mangostin in microemulsions after heating-cooling cycle were also analysed by developed HPLC method. The percentages of the remaining  $\alpha$ -mangostin of optimized microemulsions stored at heating-cooling 6 cycles, room temperature, 4 °C and 45 °C for 1 month were 105.25, 90.01, 90.26 and 90.26 respectively. The heating-cooling cycle test provided useful information in a short period of term that the developed microemulsions containing mangosteen pericarp extract were quite stable.

**Keywords:**  $\alpha$ -mangostin, Microemulsion, High performance liquid chromatography, Anti-inflammation

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.รัตนา อินทรานุปกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัฐพล อาษาสุจริต อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ซึ่งให้ความรู้ คำปรึกษาแนะนำ เสนอข้อคิดเห็น ชี้แนะแนวทาง ตลอดจนความช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหาและตรวจทานวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้ดี ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มานี เหลืองชนะอนันต์ ประธานกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิในการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำ ปรับปรุง เพิ่มเติมในงานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในหลักสูตรวิทยาศาสตรเครื่องสำอางที่ให้คำแนะนำและประสิทธิประสาทความรู้แก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเภสัชเวชและเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติทุกท่านที่เอื้ออำนวยประสานงานสั่งซื้อ เบิกจ่ายอุปกรณ์สารเคมี และแนะนำการใช้อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์

ขอขอบพระคุณ คุณทัศนันท์ อติเทพ หน่วยสังเคราะห์ภาพระดับนาโน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในการบริการเพื่อช่วยอำนวยความสะดวกในการส่งกล่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

ขอขอบคุณรุ่นพี่ รุ่นน้อง เพื่อนที่เรียนร่วมกันมาในระดับมหาบัณฑิตที่คอยให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา

ท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่สนับสนุนให้โอกาสทางการศึกษา ความช่วยเหลือ ตลอดจนเป็นกำลังใจในการศึกษาครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงตามที่ตั้งเป้าหมายไว้

ชุตติมา บุญรัตน์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญแผนภูมิ	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	3
1.4 คำย่อหรือสัญลักษณ์	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
<b>บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 มังคุด (mangosteen)	7
2.2 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรร	10
2.3 การอักเสบจากแสงแดด	12
2.4 การนำส่งทางผิวหนัง	18
2.5 ไมโครอิมัลชัน	21
2.6 การทดสอบความคงตัว	30
2.7 กรอบแนวคิดในการวิจัย	33
<b>บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย</b>	
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย	34
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	36

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล</b>	
4.1 การเตรียมวัตถุดิบสมุนไพร	45
4.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดและตัวทำละลายในการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดบดหยาบในปริมาณสูงสุด	46
4.3 การแยกสารรบกวนออกจากสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกมังคุดบดหยาบ	50
4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี external standard technique	53
4.5 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)	54
4.6 ผลการศึกษาเฟสไดอะแกรมของระบบที่ประกอบด้วย น้ำ น้ำมัน และสารลดแรงตึงผิว	60
4.7 การเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน	62
4.8 ผลการประเมินความคงตัวของตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน	63
4.9 ผลการเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด	66
4.10 ผลการตรวจสอบสัณฐานวิทยาและโครงสร้าง (morphology and structure) ของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด	66
4.11 ผลการประเมินความคงตัวทางกายภาพของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด	68
4.12 การประเมินความคงตัวทางเคมีของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด	70
4.13 ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบด้วยวิธี EPP-induced ear edema in rats	71
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ</b>	
5.1 สรุปผลการวิจัย	74
5.2 ข้อเสนอแนะ	76

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก ข้อมูลแสดงพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐาน $\alpha$ -mangostin ที่ความเข้มข้นต่างๆ	85
ภาคผนวก ข ข้อมูลความแม่นยำของสารมาตรฐาน $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุดซึ่งวิเคราะห์ด้วย HPLC	86
ภาคผนวก ค การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ	87
ประวัติผู้เขียน	88

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	8
2	27
3	39
4	48
5	49
6	57
7	58
8	59
9	59
10	62
11	65
12	69
13	70
14	71



## สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่		หน้า
1	กระบวนการเมตาบอลิซึมของ arachidonic acid และกระบวนการอักเสบ	17
2	กรอบแนวคิดที่ใช้ในการศึกษา	33
3	ขั้นตอนการสกัดแยกส่วนของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดด้วยวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction)	38
4	ผลการเปรียบเทียบปริมาณ $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดด้วยวิธีการหมัก การใช้คลื่นเสียงและการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยแต่ละวิธีใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ methanol และ 95% ethanol	50
5	การเตรียมสารสกัดหยาบและการแยกสารรบกวนจากเปลือกมังคุด	51
6	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน $\alpha$ -mangostin กับพื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย	57
7	ผลของตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน ยามาตรฐาน Phenylbutazone และตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการบวมของหูหนู	73
8	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการบวมของหูหนูในตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน ยามาตรฐาน Phenylbutazone และตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด	73

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมังคุด	7
2 สูตรโครงสร้างของ $\alpha$ -mangostin	8
3 รังสี UV กับการทะลุสู่ชั้นผิวหนัง	13
4 โครงสร้างผิวหนัง	19
5 เส้นทางการซึมผ่านของผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม	20
6 การเกิดไมโครอิมัลชันเปรียบเทียบกับสารละลายระบบอื่น ๆ	22
7 ลักษณะของไมโครอิมัลชัน	23
8 ไมโครอิมัลชันชนิดต่างๆ	24
9 เฟสไดอะแกรม	25
10 ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบสมุนไพร	45
11 การสกัด $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดบดหยาบด้วย (1) วิธีการหมัก (2) การใช้คลื่นเสียงและ (3) การสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลต	46
12 สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ได้จากการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลต	52
13 สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดหลังการแยกสารรบกวนออกโดยการสกัดของเหลวด้วยของเหลว และนำมาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุน	52
14 ลักษณะและสีของสารสกัดเปลือกมังคุดก่อนแยกสารรบกวน (ข้าว) และหลังแยกสารรบกวน (ขวา)	53
15 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC)	54
16 โครมาโทแกรมของ $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายต่างๆ	54
17 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน $\alpha$ -mangostin	56
18 เฟสไดอะแกรมของระบบไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วย IPM, Brij30/PG และ น้ำ $Km_{Brij30/PG} = 1:1, 1:2, 2:1$ (% w/w) โดยบริเวณที่แรงเงา คือ บริเวณที่เกิดไมโครอิมัลชัน	61
19 เฟสไดอะแกรมของระบบไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วย Oleic acid, Brij30/PG และ น้ำ $Km_{Brij30/PG} = 1:1, 1:2, 2:1$ (% w/w) โดยบริเวณที่แรงเงา คือ บริเวณที่เกิดไมโครอิมัลชัน	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
20	66
21	67
22	72



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันพืชสมุนไพรได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีคุณค่าทางด้านอาหารและใช้ในการบำบัดรักษาโรคนานัปการ มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) จัดเป็นสมุนไพรพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่ทำให้คุณประโยชน์มากมายจนได้รับสมญานามว่าเป็น “ราชินีแห่งผลไม้” (Queen of fruits)

มังคุดเป็นไม้ยืนต้น จัดอยู่ในวงศ์ Clusiaceae หรือ Guttiferae ซึ่งมักพบในเขตร้อนชื้นแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อาทิเช่น อินโดนีเซีย มาเลเซีย ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ และไทย<sup>(1)</sup> นอกจากการนำเนื้อมังคุดมารับประทานแล้ว เปลือกมังคุดยังเป็นส่วนสำคัญที่ถูกนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น อาหารแปรรูป เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ยา และเครื่องสำอาง

จากการวิจัย พบว่าส่วนของเปลือกมังคุดมีองค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่เป็นสารประกอบ xanthones<sup>(2-4)</sup> และมีปริมาณมากที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนต่าง ๆ ของพืช xanthones เป็นรงควัตถุสีเหลืองที่เกิดขึ้นในพืชและสิ่งมีชีวิตบางชนิด จัดเป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) โดยสารประกอบ xanthones ที่แยกได้จากมังคุดมีมากกว่า 70 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก คือ  $\alpha$ -mangostin หรือ mangostin รองลงมาคือ  $\gamma$ -mangostin และสารอื่น ๆ จำนวนเล็กน้อย<sup>(4-8)</sup> ซึ่งมีฤทธิ์ต่าง ๆ มากมาย

ทางการแพทย์แผนไทยใช้เปลือกมังคุดรักษาแผลในกระเพาะ แผลเรื้อรัง แผลติดเชื้อท้องเสีย ท้องบิด<sup>(5,9)</sup> มาลาเรีย<sup>(10)</sup> และระงับการอักเสบ<sup>(11-13)</sup> มีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ xanthones และอนุพันธ์ในสารสกัดเปลือกมังคุดว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพและนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และเครื่องสำอาง<sup>(4,14-15)</sup> เช่น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบและการเกิดสิว ชะลอความเสื่อมของเซลล์ผิว ปรับระดับภูมิคุ้มกันให้สมดุล ช่วยลดอาการที่เกี่ยวข้องกับการแพ้ภูมิตนเอง มีฤทธิ์ต้านเนื้องอก ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส นอกจากนี้ยังพบว่าสาร  $\alpha$ -mangostin มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งตัวรับฮิสตามีน (histamine) และเซโรโทนิน (serotonin) อีกทั้งยังยับยั้งการสร้างโพรสตาแกลนดิน ( $\text{prostaglandin E}_2$ ) ซึ่งเป็นสารที่ร่างกายจะสร้างขึ้นเมื่อมีอาการอักเสบ<sup>(16)</sup> โดยมีฤทธิ์ต้านการอักเสบเป็น 3 เท่าของแอสไพรินและไม่กดภูมิคุ้มกัน<sup>(17)</sup> และยังมีฤทธิ์อื่น ๆ อีกมากมาย ทำให้สารสกัดเปลือกมังคุดเป็นที่สนใจและมีการนำไปพัฒนาทั้งในอุตสาหกรรมยาและผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ผลิตภัณฑ์กลุ่มฟีนฟูผิวหลังจากเผชิญแสงแดดจัดเป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่น่าสนใจสำหรับประเทศที่อยู่ในเขตร้อนและมีแสงแดดเยอะ รังสียูวีในแสงแดดแบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่ คือ รังสี UV-A (320-400 nm) UV-B (290-320 nm) และ UV-C (100-290 nm) แต่รังสี UV-C ไม่สามารถส่อง

ผ่านถึงส่องมาถึงพื้นโลก การกลายพันธุ์ (mutation) ได้ รังสีทั้งสองเป็นสาเหตุทำให้ผิวเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งฉบับพันและเรื่อรัง ผลเรื่อรัง ได้แก่ การเกิดมะเร็งผิวหนังจากแสงแดด (photo carcinogenesis) และเรื่อร่อยก่อนวัย (photo aging) ส่วนผลฉบับพัน ได้แก่ ผิวคล้ำเสีย (pigmentation) การเพิ่มจำนวนเซลล์ในอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่มากกว่าปกติ (hyperplasia) ภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunosuppression) และกระตุ้นการอักเสบ (inflammation) ทำให้ผิวรู้สึกแสบร้อน คัน และอาจวมแดงได้ อาการเหล่านี้เรียกว่า ผิวไหม้แดด (sun burn) ซึ่งโดยทั่วไปจะใช้ผลิตภัณฑ์ฟื้นฟูผิวหลังจากเผชิญแสงแดด (after sun) เพื่อบรรเทาอาการดังกล่าว<sup>(17)</sup>

ปัจจุบันได้มีการนำนาโนเทคโนโลยีไปใช้ในเครื่องสำอาง ทำให้สามารถเพิ่มการซึมผ่านของตัวยาหรือสารสำคัญผ่านผิวหนัง เนื่องจากสารสำคัญจะถูกนำส่งเข้าสู่อวัยวะเป้าหมายได้ในปริมาณมากและแม่นยำมากขึ้น<sup>(18)</sup> อีกทั้งทำให้ผลิตภัณฑ์นำใช้และให้ความรู้สึกที่ตึบนผิวอีกด้วย ไมโครอิมัลชันเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์จากนาโนเทคโนโลยีรูปแบบหนึ่งซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เพื่อใช้เป็นตัวกลางในการนำส่งยาเข้าสู่ร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางผิวหนัง จากงานวิจัยหลายเรื่องแสดงให้เห็นว่าไมโครอิมัลชันเป็นระบบที่สามารถเพิ่มการดูดซึมสารสำคัญที่ละลายได้ดีในไขมันหรือละลายได้ดีในน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ มากกว่าผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปแบบดั้งเดิม เช่น ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบสารละลายใส เจล ครีม เป็นต้น<sup>(19-22)</sup>

จากการศึกษาวิจัยส่วนประกอบในการตั้งตำรับไมโครอิมัลชัน พบว่าหากเลือกใช้ Isopropyl Myristate (IPM) เพราะเป็นสารที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมและเครื่องสำอาง เป็นสารช่วยเพิ่มการขนส่งทางผิวหนังโดยช่วยให้เกิดพื้นที่ที่เกิดไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำสูงสุด<sup>(23-25)</sup> ซึ่งสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin ละลายในไขมันได้ดีกว่าในน้ำ จึงเหมาะสำหรับการตั้งตำรับไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ นอกจากนี้หากใช้สารธรรมชาติ Oleic acid จะช่วยเพิ่มการขนส่งผ่านชั้นผิวแท้ได้ (permeation enhancer) จึงทำให้การซึมผ่านดีขึ้นและมีความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม<sup>(18)</sup> ดังนั้น IPM และ Oleic acid จึงเป็นสารที่น่าสนใจและใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยนำมาเป็นส่วนประกอบของตำรับไมโครอิมัลชัน เพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาหรือสารสำคัญเข้าสู่ร่างกาย และเลือกใช้ Brij 30 เป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ<sup>(25)</sup> จึงเป็นที่นิยมใช้เนื่องจากมีความปลอดภัยสูง และเลือกใช้ Propylene Glycol (PG) เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม (cosurfactant) เพราะเป็นสารที่หาง่าย มีคุณสมบัติในการเป็นตัวทำละลาย เก็บรักษาความชุ่มชื้น (humectant) ซึมเข้าผิวเร็ว และละลายในน้ำ

ในการวิจัยครั้งนี้ จึงสนใจนำสารสกัดเปลือกมังคุดที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ลดอาการผื่นแดง ลดการระคายเคืองของผิวหนัง มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ไมโครอิมัลชัน เพื่อปรับสภาพผิวหลังจากการเผชิญแสงแดด (after sun) การนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ เพราะเป็นระบบที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมสารสำคัญเข้าสู่ผิวและเพิ่มความคงตัวของ

สารสำคัญ อีกทั้งยังไม่พบว่ามีสารเตรียมไมโครอิมัลชันจากสารสกัดเปลือกมังคุด เพื่อใช้ในการบรรเทาอาการอักเสบเนื่องจากการสัมผัสแสงแดด

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ใช้สกัด ที่ให้ปริมาณสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin มากที่สุด
2. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุดและในตำรับไมโครอิมัลชันจากสารสกัดเปลือกมังคุด
3. พัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันจากสารสกัดเปลือกมังคุด เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์หลังการเผชิญแสงแดด
4. เพื่อศึกษาความคงตัวและประสิทธิภาพต้านการอักเสบตำรับไมโครอิมัลชันจากสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี EPP-induced ear edema ในหนูขาว

## 1.3 ขอบเขตของการศึกษา

ปัจจุบันนาโนเทคโนโลยีได้เข้ามามีบทบาทมากในชีวิตประจำวันมากขึ้น หนึ่งในนั้นคือการประยุกต์ใช้ทางเครื่องสำอาง ด้วยขนาดอนุภาคที่เล็ก จึงสามารถนำพาสารสำคัญไปยังบริเวณผิวหนังชั้นที่ต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพ มังคุดเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์มากมาย โดยเฉพาะส่วนเปลือก ซึ่งฤทธิ์เด่นอย่างหนึ่ง คือ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammation) จึงมีความสนใจนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาพัฒนาให้อยู่ในตำรับไมโครอิมัลชันเพื่อฤทธิ์ต้านการอักเสบ (after-sun)

## 1.4 คำย่อหรือสัญลักษณ์

ก./กก.	กรัมต่อกิโลกรัม
ก./กก./วัน	กรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน
ก./มล.	กรัมต่อมิลลิลิตร
มก./น้ำหนักตัว 1 กก.	มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม
% w/w	ร้อยละน้ำหนักต่อน้ำหนัก
% v/v	ร้อยละปริมาตรต่อปริมาตร
$\mu$ Mol	ไมโครโมล
$\mu$ L	ไมโครลิตร

mL	มิลลิลิตร
mg	มิลลิกรัม
g	กรัม
kg	กิโลกรัม
rpm	จำนวนรอบต่อนาที
mL/min	มิลลิลิตรต่อนาที
nm	นาโนเมตร
$\mu\text{m}$	ไมโครเมตร
mm	มิลลิเมตร
cm	เซนติเมตร
m	เมตร
HLB	Hydrophilic-Lipophilic-Balance
CPP	พารามิเตอร์ของการรวมตัววิกฤติ (Critical Packing Parameter)
$\mu\text{g/g}$	ไมโครกรัมต่อกรัม
$\mu\text{g/kg}$	ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม
$\mu\text{g/mL}$	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
mg/mL	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
IC <sub>50</sub>	ความเข้มข้นของสารที่ทำให้หนูตายครึ่งหนึ่ง
MIC	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อได้
MBC	ความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
K <sub>m</sub>	อัตราส่วนสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวรวมโดยน้ำหนัก
PDI	โพลีดีสเพอร์ซิตี อินเด็กซ์ (polydispersity index)
mV	มิลลิโวลต์
°C	องศาเซลเซียส
min	นาที
%	ร้อยละ
HPLC	โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High-Performance Liquid Chromatography)
Peak area	พื้นที่ใต้พีค
t <sub>R</sub>	รีเทนชันไทม์ (retention time)

n	จำนวนครั้ง
mean	ค่าเฉลี่ย
$r^2$	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)
SD	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)
CV	สัมประสิทธิ์การผันแปร (coefficient of variation)
% RSD	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation)
TEM	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope)
$p$	ระดับนัยสำคัญ (critical p-value)
IPM	ไอโซโพรพิล ไมริทเตท (Isopropyl Myristate)
EPP	เอทิล-ฟีนิลโพรไพโอเลท (Ethyl-Phenylpropiolate)

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันที่ดูดซึมผ่านชั้นผิวหนังได้ดี มีความคงตัวดีและสามารถกักเก็บสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin ได้ในปริมาณสูง
2. ใช้เป็นแนวทางในการนำเอาสมุนไพรและนาโนเทคโนโลยีมาใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางในรูปแบบตำรับไมโครอิมัลชัน และนำมาใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ได้
3. ช่วยลดปริมาณผลผลิตมังคุดที่ล้นตลาด ลดปริมาณขยะเปลือกมังคุด เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลไม้ไทย



## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบตำรับไมโครอิมัลชันจากสารสกัดเปลือกมังคุด ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าแนวคิด ทฤษฎีต่าง ๆ และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องโดยสรุปดังนี้

#### 2.1 มังคุด (mangosteen)

##### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

##### 2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมังคุด

##### 2.1.3 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเปลือกมังคุด

##### 2.1.4 การใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางของเปลือกมังคุด

#### 2.2 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร

##### 2.2.1 วิธีการสกัดสารสำคัญโดยใช้ตัวทำละลาย

##### 2.2.2 การแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรด้วยวิธีการสกัดด้วยของเหลวสองชนิด

#### 2.3 การอักเสบจากแสงแดด

##### 2.3.1 กลไกการอักเสบเฉียบพลัน

##### 2.3.2 สารชักนำการอักเสบ (inflammatory mediators)

##### 2.3.3 อาการและการตรวจพบเมื่อเกิดการอักเสบ

##### 2.3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ

#### 2.4 การนำส่งทางผิวหนัง

##### 2.4.1 โครงสร้างของผิวหนัง

##### 2.4.2 เส้นทางการซึมผ่านผิวหนัง

##### 2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึม

##### 2.4.4 วิธีการเพิ่มการดูดซึม

#### 2.5 ไมโครอิมัลชัน

##### 2.5.1 ชนิดของไมโครอิมัลชัน

##### 2.5.2 พฤติกรรมเฟส การตั้งตำรับสูตร และการเตรียมไมโครอิมัลชัน

##### 2.5.3 ปัจจัยที่ผลต่อการเกิดไมโครอิมัลชัน

##### 2.5.4 ระบบ HLB

##### 2.5.5 สารลดแรงตึงผิว

##### 2.5.6 เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาคุณลักษณะของไมโครอิมัลชัน

##### 2.5.7 ข้อดีและข้อเสียของไมโครอิมัลชัน

## 2.6 การทดสอบความคงตัว

### 2.6.1 การประเมินความคงสภาพด้านต่าง ๆ

### 2.6.2 วิธีการทดสอบความคงตัว

## 2.7 กรอบแนวคิดในการวิจัย

ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมังคุด<sup>(26)</sup>



## 2.1 มังคุด (mangosteen)

มังคุดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* Linn. หรือ *Mangostana garcinia* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Clusiaceae หรือ Guttiferae

### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (ภาพที่ 1)

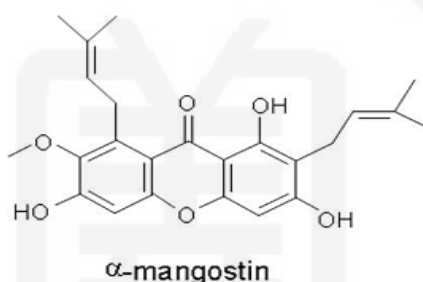
มังคุดเป็นไม้ยืนต้น ทรงพุ่มเป็นรูปเจดีย์ เมื่อโตเต็มที่จะมีขนาด 10-25 m. ลำต้นมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 25-30 cm. ใบเดี่ยวขนาดใหญ่ มีลักษณะคล้ายรูปไข่กว้าง 4.5-10 cm. ยาว 12-23 cm. ผลประกอบด้วยยอดของรังไข่ในดอกที่ห่อหุ้มด้วยกลีบเลี้ยง ผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5-7.0 cm. สีน้ำตาลเข้มอมม่วงถึงสีม่วงเข้ม ภายในเปลือกมียางน้อยถึงไม่มีเลย เปลือกมีความหนาประมาณ 0.8-1.0 cm.<sup>(27)</sup>

จากการศึกษาพบว่ามังคุดขนาดเล็กจะมีร้อยละของน้ำหนัเปลือกมากกว่ามังคุดขนาดใหญ่ และโดยทั่วไปจะมีปริมาณเปลือกเกือบ 60% ของน้ำหนักผล ซึ่งหากสามารถนำส่วนนี้มาใช้ประโยชน์ได้ ก็จะเป็นอีกหนทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มมูลค่าผลิตผลทางการเกษตร อีกทั้งเป็นการลดปริมาณขยะได้อีก ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าน้ำหนัก ผลขนาดต่าง ๆ และร้อยละของน้ำหนักเปลือก กลีบเลี้ยง เมล็ด เนื้อและจำนวนเมล็ดสมบูรณ์ต่อผล<sup>(29)</sup>

ขนาดผล	น้ำหนัก (g)	ร้อยละโดยน้ำหนักของ				จำนวนเมล็ด สมบูรณ์/ผล
		เปลือก	กลีบเลี้ยง	เมล็ด	เนื้อ	
ใหญ่	90.4	59.4	3.1	5.6	31.9	2
กลาง	54.2	61.7	4.8	2.8	30.7	1
เล็ก	43.5	61.9	5.1	2.2	30.8	0.8

ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างของ  $\alpha$ -mangostin<sup>(14)</sup>



### 2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมังคุด

เปลือกมังคุดอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด ซึ่งประกอบด้วย xanthenes, anthocyanins, proanthocyanidins และ phenolic acids<sup>(4,5,29)</sup> xanthenes ที่สำคัญ ได้แก่  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -mangostin, garcinone E, 8-deoxygartannin และ gartannin<sup>(4)</sup> โดย  $\alpha$ -mangostin หรือ mangostin เป็นสารที่พบมากที่สุด ในมังคุด<sup>(11)</sup> ดังภาพที่ 2

### 2.1.3 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเปลือกมังคุด<sup>(14,15)</sup>

ทางแพทย์แผนไทยใช้เปลือกมังคุดเป็นยาต้านอักเสบ ใช้รักษาอาการท้องร่วง แผลเป็นหนอง แผลเปื่อยและบาดแผลจากการติดเชื้อจุลชีพ มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสำคัญที่ได้จากการสกัดเปลือกมังคุด ดังนี้

**ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory)** กระบวนการอักเสบ เมมเบรนของเซลล์ต่าง ๆ เช่น endothelial cells, fibroblasts, monocytes, neutrophils ถูกกระตุ้นให้หลั่ง arachidonic acid หลังจากนั้นเอนไซม์ phospholipase A2 และ cyclooxygenase จะเปลี่ยนเป็นสาร prostanoids เช่น prostaglandin E2 (PGE<sub>2</sub>) ซึ่งเป็นสารสื่อไขมันที่ทำให้เกิดการอักเสบและเจ็บปวด จากการศึกษาสารสกัดเอทานอล 100%, 70%, 40% และสารสกัดด้วยน้ำจากเปลือกมังคุด แล้วนำมาทดสอบใน C6 rat glioma cells พบว่าสารสกัดเอทานอล 40% มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์

prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) มากที่สุด และ  $\gamma$ -mangostin ยับยั้งปฏิกิริยาแพ้ที่ผิวหนังของหนูขาวมากที่สุด โดยส่งผลยับยั้งการสังเคราะห์ prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) ทางเอนไซม์ COX-1 และ COX-2 ใน C6 rat glioma cells ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jihong Cui et al.<sup>(30)</sup> พบว่าสารสกัดหยาดเอทานอลจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์บรรเทาความเจ็บ และอาจจะพัฒนาเป็นยาลดความเจ็บและยาต้านอักเสบ อีกทั้ง histamine เป็นสารสื่อกลางที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีววิทยาต่อเนื้อเยื่อภายนอกและภายในของระบบประสาทส่วนกลาง จากการศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าตัวรับ histamine H1 มีบทบาททางชีววิทยาและการรับความเจ็บปวด  $\alpha$ -mangostin ได้รับการยืนยันว่า ทำหน้าที่ต่อต้านการทำงานของตัวรับ histamine H1 และเมื่อทดสอบด้วยวิธี carrageenan-induced paw edema in mice พบว่า  $\alpha$ -mangostin มีฤทธิ์ต้านการอักเสบมากกว่า  $\gamma$ -mangostin

**ฤทธิ์บรรเทาอาการแพ้ (antiallergic)** จากการศึกษาฤทธิ์บรรเทาอาการแพ้ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วย 100%, 70%, 40% เอทานอลและน้ำ โดยทดสอบกับหนู (rat basophilic leukemia, RPL-2H3 cells) พบว่า  $\alpha$ - และ  $\gamma$ -mangostin ในสารสกัด 40% เอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้ง histamine มากที่สุด โดย  $\alpha$ -mangostin ออกฤทธิ์ต้าน histamine และ  $\gamma$ -mangostin ออกฤทธิ์ต้าน serotonin สารทั้งสองตัวนี้จะหลั่งออกมาเมื่อร่างกายได้รับสิ่งแปลกปลอม แล้วเกิดการกระตุ้นที่ mast cells และ basophil ทำให้กล้ามเนื้อที่หลอดลมหดตัว โพรเจกวม น้ำมูกหลั่งมากขึ้น ซึ่งอาการเหล่านี้จะพบได้ในขณะเกิดอาการแพ้

**ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน** จากการศึกษาวิจัยมังคุดเป็นผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ 27 ชนิดในตลาดสิงคโปร์ แล้วนำมาทดสอบด้วยวิธี ABTS และ DPPH พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในอันดับที่ 8

**ฤทธิ์รักษาแผล** จากการศึกษาพบว่า mangostin มีฤทธิ์การรักษาแผลอักเสบในหนูขาวและครีม 1.5% ของสารสกัดเปลือกมังคุด สามารถรักษาแผลเรื้อรังในผู้ป่วยนอกแผนกศัลยกรรมของโรงพยาบาลสมเด็จพระปิ่นเกล้าจำนวน 30 คน ซึ่งพบว่าแผลบริเวณลำตัวหายเร็วที่สุดและแผลด้านลึกหายเร็วที่สุดภายใน 3 สัปดาห์ โดยไม่พบผลข้างเคียงที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ป่วย

**ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย** สารสกัดหยาดจากเปลือกผลมังคุด มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ก่อให้เกิดท้องร่วง ได้แก่ Enteropathogenic *Escherichia coli*, *Salmonella* 6 spp., *Shigella* 4 spp., *Vibrio* 2 spp. และเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ (normal flora)

สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของสิว คือ เชื้อ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) ค่า MIC ต่อเชื้อ *P. acnes* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 0.039 mg/mL และค่า MBC ต่อเชื้อ *P. acnes* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 0.039 และ 0.156 mg/mL ตามลำดับ สารสำคัญจากเปลือกมังคุดมี

ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดมากที่สุด และเมื่อเทียบกับสมุนไพรชนิดอื่น ๆ เช่น ฟ้าทะลายโจรสาบเสือ ขุมเห็ดเทศ และกระเจี๊ยบ เป็นต้น

xanthone ที่สกัดจากเปลือกมังคุด ได้แก่  $\alpha$ -mangostin,  $\beta$ -mangostin และ garcinone B มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Mycobacterim tuberculosis* มากที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 mg/mL

นอกจากนี้มีการเตรียมผลิตภัณฑ์เจลและยาน้ำใส่รักษาจากผงเปลือกมังคุดแห้งที่หมักด้วย 95% เอทานอล แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. acnes* โดยเปรียบเทียบกับสารสกัดโรสแมรี่และสารสกัดแคลรีเสจ พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดสามารถฆ่าเชื้อ *P. acnes* และ *Staphylococcus subsp. aureus* (ATCC 25923) ได้ดีกว่าสารสกัดโรสแมรี่และสารสกัดแคลรีเสจ หรือสารสกัดมังคุดผสมกับแคลรี เสจ หรือโรสแมรี่ในอัตราหลาย ๆ ส่วน หลังจากนั้นเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิวในรูปแบบเจลความเข้มข้น 0.25% w/w และยาน้ำใส 0.05% w/w เมื่อทดสอบความคงตัวในระยะ 6 เดือน พบว่ามีความคงตัวดีที่สุดที่อุณหภูมิ 4 °C ส่วนที่อุณหภูมิ 30 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65% และอุณหภูมิ 45 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนและหลังการเตรียมตำรับเสร็จพบว่าผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้นแต่ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียยังคงเดิม และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและอวัยวะ (31)

#### 2.1.4 การเพิ่มมูลค่าของเปลือกมังคุด (novelty)

สารสกัดจากเปลือกมังคุดได้รับความสนใจในวงการเครื่องสำอาง ถูกนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ เช่น ผลิตภัณฑ์เจลและยาน้ำใส่รักษาจากผงเปลือกมังคุดแห้งที่หมักด้วย 95% ethanol (31) โลชันที่ประกอบด้วยสารสกัดจากเปลือกผล 0.75% และสบู่เหลวที่ประกอบด้วยสารสกัดแอลกอฮอล์จากเปลือกผล 0.15% มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* (32) เป็นต้น

อีกทั้งปัจจุบันมีการนำนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้เครื่องสำอางเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งสารสำคัญสู่ชั้นผิวหนัง ซึ่งการกักเก็บสารสำคัญไว้ในอนุภาคนาโน ช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซึม เพิ่มการละลาย ป้องกันการเสื่อมสลายและควบคุมการปลดปล่อยของสารสำคัญหรือทำให้เกิดความรู้สึกสัมผัสที่ดีบนผิวหนังหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ ฯลฯ หากมีการนำมาประยุกต์ใช้กับสารสกัดสมุนไพร เช่น มังคุด ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีความน่าสนใจมากกว่าผลิตภัณฑ์รูปแบบเก่า อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์อีกด้วย

#### 2.2 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร (33)

สารสกัดสมุนไพรที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ ส่วนใหญ่เป็นสารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งไม่ได้ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ มีส่วนผสมของสารประกอบหลายชนิด แต่มักมีสารเฉื่อย (inert substances) หรือสารรบกวน (interfering substances) ซึ่งไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จึงกำจัดออกทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์มากขึ้น โดยทั่วไปนิยมนำสมุนไพรมาใช้ในรูปของสารสกัดหยาบ

เนื่องจากสมุนไพรส่วนใหญ่ยังไม่ทราบหรืออยู่ในระหว่างการศึกษาว่าสารตัวใดเป็นสารออกฤทธิ์ อีกทั้งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรบางชนิดมาจากการออกฤทธิ์ของสารหลายชนิดประกอบกัน หรือเสริมฤทธิ์ เช่น การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรมักใช้ตัวทำละลาย ซึ่งต้องเลือกให้เหมาะสมกับ คุณสมบัติความมีขั้วของกลุ่มสารออกฤทธิ์ในพืชตัวอย่าง ความคงตัวในสารละลายที่ค่า pH ต่าง ๆ คุณสมบัติการระเหย (volatility) ราคาถูกและไม่เป็นพิษต่อร่างกาย นอกจากนี้ควรคำนึงถึง วิธีการสกัดที่สามารถสกัด สารออกฤทธิ์ที่ต้องการออกจากองค์ประกอบนั้น ๆ ด้วย วิธีการสกัดที่นิยม ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) การกลั่น (distillation) และการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ (ultrasonic assisted extraction) เป็นต้น มีงานวิจัยหลายชิ้นเปรียบเทียบตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดโดยเปรียบเทียบปริมาณ สารสำคัญหรือฤทธิ์ที่ต้องการศึกษาจากวิธีการสกัด 1 วิธี<sup>(26,34-37)</sup> แต่ยังไม่มียงานวิจัยชิ้นไหนที่ เปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญจากวิธีการสกัด อันได้แก่ มาเซอเรชัน (maceration) การสกัดโดยใช้ คลื่นเสียง (ultrasonic assisted extraction) ซึ่งทั้งสองวิธีใช้ด้วย magnetic bar ในการช่วยการสกัดด้วย และการสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) โดยใช้ ตัวทำละลายหลายชนิด อันได้แก่ เมทานอล และ 95% เอทานอล

ในการวิจัยชิ้นนี้จึงเลือกศึกษาวิธีการสกัดที่สนใจมาศึกษาต่อบางวิธีซึ่งจะเขียนเฉพาะวิธีที่ เลือกมาศึกษามีรายละเอียดดังนี้

## 2.2.1 วิธีการสกัดสารสำคัญโดยใช้ตัวทำละลาย

### 1) มาเซอเรชัน (Maceration)

มาเซอเรชัน เป็นการสกัดวิธีหนึ่งที่เราเรียกกันว่า การหมัก เป็นวิธีการสกัดง่าย ๆ ที่ นำสมุนไพรที่ต้องการศึกษามาหมักกับตัวทำละลายที่เหมาะสมจนตัวทำละลายแทรกซึม เข้าไปใน เนื้อเยื่อของตัวอย่างที่ศึกษาและละลายสารสำคัญออกมาให้มากที่สุด โดยสังเกตจากสีเนื้อเยื่อและสี ของสารละลาย วิธีนี้เหมาะสำหรับพืชที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่อ่อนและไม่แข็งแรงมาก การหมัก ควรทำในภาชนะปิดเพื่อป้องกันการระเหยของตัวทำละลาย เนื่องจากใช้เวลาในการสกัดนาน จึงทำ การตัดแปลงด้วยการใช้เครื่องผสม (mixer) หรือโฮโมจีไนซ์ (homogenizer) มาช่วยเพื่อเพิ่มอัตราเร็ว ของการสกัด หลังจากนั้นจึงแยกกากของพืชตัวอย่างออกจากตัวทำละลายโดยการกรอง

### 2) การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction)

เป็นวิธีการสกัดแบบระบบปิดโดยใช้ความร้อนและชอกเล็ทเอ็กซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor) ด้วยการนำพืชตัวอย่างที่สกัดมาใส่ในทิมเบิล (thimble) เมื่อให้ความร้อนจนถึงจุดเดือดของ ตัวทำละลาย ตัวทำละลายจะระเหยและควบแน่นเป็นของเหลว ตัวทำละลายสกัดพืชตัวอย่างซ้ำแล้ว ซ้ำอีกจนสารสำคัญถูกสกัดออกมา เมื่อตัวทำละลายในเอ็กแทรกตริงแชมเบอร์ (extracting chamber)

สูงถึงระดับจะเกิดกาลักน้ำและไหลวนกลับภาชนะวนเวียนเช่นนี้ซ้ำไปอีกเรื่อย ๆ จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์

### 3) สกัดโดยใช้คลื่นเสียง (ultrasonic assisted extraction)

เป็นการสกัดโดยใช้เสียงมีให้พลังงานสูง มีค่าความถี่สูง 20-100 กิโลเฮิร์ตซ์ในการสกัด โดยจะเกิดกระบวนการดูดน้ำและพองตัว (hydration and swelling) เกิดเป็นโพรง (cavitation) คลื่นจะเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายทำให้เกิดฟองขนาดเล็กจำนวนมาก ในช่วงอัดฟองจะแตกออกและเกิดเป็นไมโครเจต (microjet) ซึ่งจะทำลายผนังเซลล์ของพืชได้ ทำให้อัตราเร็วในการสกัดเพิ่มขึ้น

#### 2.2.2 การแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรด้วยวิธีการสกัดด้วยของเหลวสองชนิด (fractionation of active constituents from herbal extracts by liquid-liquid extraction)

สารสกัดหยาบจากสมุนไพร (crude extract) ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ (active constituents) และองค์ประกอบที่ไม่ต้องการ ซึ่งเป็นสารรบกวนกระบวนการตั้งตำรับสูตรหรือฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อให้สารสกัดที่มีสารออกฤทธิ์ที่มีความเข้มข้นสูง การแยกสารสำคัญสามารถทำได้ 2 แบบ คือ 1. การแยกสารโดยใช้คุณสมบัติและปฏิกิริยาทางเคมี (chemical means) เช่น ความเป็นกรด (acidity) ความเป็นด่าง (basicity) การละลาย (solubility) เป็นต้น 2. การแยกสารโดยใช้คุณสมบัติทางฟิสิกส์ (physical means) เช่น การกลั่น (distillation) การเหวี่ยง (centrifugation) การสกัดด้วยของเหลวสองชนิด (liquid-liquid extraction) การตกผลึกแยกส่วน (fractional crystallization) การตกตะกอน เป็นต้น

โดยในงานวิจัยเลือกวิธีการสกัดด้วยของเหลวสองชนิด (liquid-liquid extraction) มาใช้โดยนำสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายและวิธีการสกัดที่แตกต่างกันที่กล่าวไว้ข้างต้นมาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสูญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) จนหมด หลังจากนั้นนำมาแยกสารสำคัญด้วยวิธีการสกัดด้วยของเหลวสองชนิดโดยอาศัยคุณสมบัติความมีขั้วของตัวทำละลาย

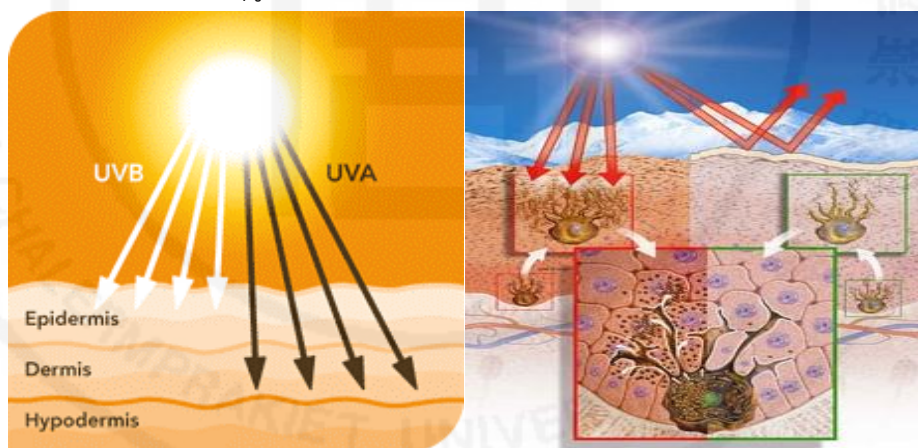
### 2.3 การอักเสบจากแสงแดด<sup>(38)</sup>

การอักเสบเป็นปฏิกิริยาการตอบสนองของเซลล์ภายในร่างกายที่มีต่อสิ่งกระตุ้นหรือสารที่มีอันตรายของระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย การอักเสบแบ่งออกเป็นการอักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute inflammatory) การอักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic inflammatory) และการซ่อมแซม (healing) โดยในที่นี้สนใจศึกษาเฉพาะการอักเสบชนิดเฉียบพลัน

การอักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute inflammatory) เป็นการอักเสบที่เกิดขึ้นทันที รวดเร็ว และใช้ระยะเวลาสั้น อาการจะแตกต่างกันตามสาเหตุชักนำ โดยทั่วไปเมื่อหลอดเลือดเล็กขยายขนาดทำให้เกิดการคั่งของเม็ดเลือดแดง บริเวณเนื้อเยื่อที่มีการอักเสบจึงบวมซึ่งมักพบเซลล์เม็ดเลือดขาว

ชนิด polymorphonuclear (neutrophil) เป็นส่วนใหญ่ และพบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณอักเสบร่วมด้วย ซึ่งขึ้นกับชนิดและระยะเวลาของสารชักนำ ในกรณีที่ผิวหนังเผชิญแสงแดดเป็นเวลานาน รังสี UV-A (320-400 nm) เป็นรังสีที่มีอำนาจทะลุทะลวงผ่านชั้นผิวหนังได้ลึกที่สุด สามารถทะลุผ่านถึงชั้นหนังแท้ (dermis) ดังภาพที่ 3 จึงสามารถกระตุ้นการสร้างเม็ดสีเมลานิน และส่งผลเสียแบบเรื้อรัง ได้แก่ การกลายพันธุ์ (mutation) การเกิดมะเร็งผิวหนังจากแสงแดด (photocarcinogenesis) และริ้วรอยก่อนวัย (photo aging) ส่วนรังสี UV-B (290-320 nm) เป็นรังสีที่สามารถทะลุผ่านผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) และอีพิเดอร์มิส (epidermis) โดยส่งผลเสียต่อผิวหนังแบบฉับพลัน ได้แก่ ผิวคล้ำเสีย (pigmentation) การเพิ่มจำนวนเซลล์ในอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่มากกว่าปกติ (hyperplasia) ภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunosuppression) ซึ่งในระยะยาวอาจก่อให้เกิดมะเร็งได้และกระตุ้นการอักเสบ (inflammation) ทำให้ผิวรู้สึกแสบร้อน คัน และอาจบวมแดงได้ อาการเหล่านี้เรียกว่า ผิวไหม้แดด หรือ sun burn ซึ่งผลิตภัณฑ์หลังการเผชิญแสงแดด (after sun) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ช่วยฟื้นฟูผิวทันทีหลังจากเผชิญแสงแดดได้<sup>(18)</sup>

ภาพที่ 3 รังสี UV กับการทะลุสู่ชั้นผิวหนัง<sup>(39-40)</sup>



### 2.3.1 กลไกการอักเสบเฉียบพลัน

#### 1. สาเหตุการเปลี่ยนแปลงในหลอดเลือด

##### 1) การเปลี่ยนแปลงขนาดและการไหลเวียนของหลอดเลือด

ระยะแรกของการอักเสบ เนื้อเยื่อบริเวณที่อักเสบจะตอบสนองและเปลี่ยนแปลงทันที โดยหลอดเลือดเล็ก (arterioles) จะหดตัวและตีบลง (vasoconstriction) ภายในระยะเวลาไม่กี่วินาทีที่จะเกิด vasodilation เลือดจึงไหลเพิ่มมากขึ้น เกิดการสะสมของเหลวและเม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อ ของเหลวในหลอดเลือดบริเวณอักเสบจะไหลผ่านผนังหลอดเลือด การซึมผ่านผนังหลอดเลือด



จึงเพิ่มขึ้น (increase vascular permeability) แล้วเกิดการสะสมของเหลวในเนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียง ทำให้เกิดเลือดคั่ง (stasis) และการบวม (edema)

## 2) การเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดขาว

เมื่อเม็ดเลือดขาวเกาะติดผนังหลอดเลือดและเคลื่อนย้ายไปบริเวณที่มีการอักเสบ (adhesion and transmigration) เกิดการชักนำด้วยสารเคมีและกระตุ้นต่อเม็ดเลือดขาว (chemotaxis and leukocyte activation) จึงทำลายสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ซึ่งเป็นต้นเหตุที่ทำให้เกิดการอักเสบโดยเม็ดเลือดขาวหรือ macrophages จับกินสิ่งแปลกปลอมภายใน phagosome โดย lysosome จะเข้าไปใน phagosome และปล่อย enzyme เพื่อย่อยสิ่งแปลกปลอม

## 2. สาเหตุชักนำให้เกิดการอักเสบเฉียบพลัน

สาเหตุชักนำให้เกิดการอักเสบเฉียบพลันแบ่งเป็น 2 สาเหตุ คือ

- 1) สิ่งมีชีวิต ได้แก่ จุลชีพก่อโรค เช่น bacteria, virus, fungus, parasite
- 2) สิ่งไม่มีชีวิต ได้แก่ การตายของเซลล์และเนื้อเยื่อ ปัจจัยทางฟิสิกส์ ได้แก่ การบาดเจ็บจากแรงกระแทก ความร้อน ความเย็น กระแสไฟฟ้า รังสี ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ สารเคมีที่สร้างจากเซลล์ เช่น เซลล์อักเสบ น้ำย่อยจากต่อมต่าง ๆ และสารเคมีที่ไม่ได้สร้างจากเซลล์ เช่น กรดต่าง สารออกซิไดส์ทั้งหลาย สิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย เช่น เศษผงที่ติดบริเวณเยื่อหุ้มตา ภูมิคุ้มกัน และการแข็งตัวของเลือด (clotting factor and complement)

### 2.3.2 สารชักนำการอักเสบ (inflammatory mediators)

แบ่งออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ

#### 1. สารชักนำการอักเสบที่ได้มาจากเซลล์ แบ่งเป็น

- 1) กลุ่มที่มีอยู่แล้วในเซลล์ ได้แก่ vasoactive amine เช่น histamine, serotonin, lysosomal compounds เป็นสารเคมีที่พบในเม็ด lysosomes ของเม็ดเลือดขาวและเซลล์ monocytes
- 2) กลุ่มที่ต้องสร้างขึ้นใหม่ ได้แก่ arachidonic acid metabolites (ดังแผนภูมิที่ 1) เป็นสารที่ผลิตจากกรดไขมัน arachidonic acid ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) อยู่ในรูปของ phospholipids เมื่อ arachidonic acid ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ต่างชนิดกัน ทำให้ได้สาร 2 กลุ่ม หากถูกย่อยด้วยเอนไซม์ cyclooxygenase ได้สาร prostaglandins หากถูกย่อยด้วยเอนไซม์ lipoxygenase จะได้ leukotrienes ซึ่งสาร prostaglandins หากถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่ต่างกัน ก็จะได้สารที่ต่างกันด้วย เช่น ถูกย่อยด้วยเอนไซม์บนเกล็ดเลือด (platelets) ได้ thromboxane (TXA<sub>2</sub>) ซึ่งเป็นสารช่วยให้เกล็ดเลือดจับติดกัน (platelet aggregation promotor) และทำให้เส้นเลือดหดตัว ส่วนเซลล์บุผนังหลอดเลือดมีเอนไซม์ที่เปลี่ยน prostaglandins เป็น prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) ทำให้หลอดเลือดขยายตัว และห้ามการจับกัน

ของเกล็ดเลือด (platelet aggregation inhibitor) นอกจากนี้มีสาร prostaglandins ชนิดอื่น ๆ อีก เช่น PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> และ PGF<sub>2</sub> ที่มีบทบาททำให้เกิดการอักเสบด้วยสาร leukotrienes มีหลายชนิด เช่น LTA<sub>4</sub> LTB<sub>4</sub> ทำให้เม็ดเลือดขาวจับติดกัน ส่วน LTC<sub>4</sub> LTD<sub>4</sub> และ LTE<sub>4</sub> ทำให้หลอดเลือดหดตัว และเพิ่มการซึมผ่านผนังหลอดเลือด รวมทั้งทำให้หลอดลมบีบรัด (bronchospasm) platelet activating factor (PAF) เป็นสารชักนำการอักเสบ มีแหล่งกำเนิดจากสาร phospholipid ในเยื่อหุ้มเซลล์ มีคุณสมบัติทำให้เกล็ดเลือดจับตัวกันเป็นก้อน (aggregation) อีกทั้งยังมีผลทำให้หลอดเลือดและหลอดลมหดตัว (vasoconstriction and bronchoconstriction)

cytokines เป็นสารพวก polypeptides สร้างได้จากเซลล์หลายชนิดโดยเฉพาะในเซลล์ lymphocyte และ macrophage สาร cytokines ที่สำคัญ ได้แก่ interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis (TNF) ซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการอักเสบ อีกทั้งยังช่วยสร้างสาร eicosanoids และ nitric oxide (NO) นอกจากนี้ยังเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาของเซลล์อื่น ๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์ fibroblasts และทำให้เกิดอาการทางคลินิกอื่น ๆ เมื่อเกิดการอักเสบ เช่น ไข้ เป็นต้น

nitric oxide (NO) เป็นก๊าซที่ผลิตจากเซลล์บุผนังหลอดเลือดจากเซลล์ phagocyte และเซลล์ประสาทในสมอง ทำให้เกิดการขยายหลอดเลือด (vasodilation) เนื่องจาก nitric oxide (NO) ไปเร่งปฏิกิริยาทำให้ cGMP (Cyclic Guanosine Monophosphate) และทำให้เกล็ดเลือด (platelets) จับกันเป็นก้อนและติดแน่นกับผนังหลอดเลือดและ nitric oxide (NO) ยังทำปฏิกิริยากับ superoxide ได้สาร oxidant ที่สำคัญคือ nitrogen dioxide (NO<sub>2</sub>)

oxygen-derived free radicals เป็นอนุมูลอิสระที่ถูกปลดปล่อยจากเซลล์เม็ดเลือดขาวเกิดจากปฏิกิริยาต่อเนื่อง oxidation ของสาร NADPH ได้สาร superoxide ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อไปเป็น H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH และสารพิษอื่น ๆ ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับ nitric oxide (NO) ในร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระที่เรียกว่า antioxidant ซึ่งเป็นกลไกปกป้องร่างกายจากอนุมูลอิสระอันตรายที่ได้รับจะมากขึ้นกับความสมดุลของสารทั้งสอง

สารสื่อกลางชนิดอื่น เช่น neuropeptides (substance P) ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดและเพิ่มการซึมผ่านของผนังหลอดเลือด, growth factor บางชนิดมีฤทธิ์เป็น chemotatic factor

## 2. สารชักนำการอักเสบที่มีอยู่ในพลาสมา แบ่งออกเป็น

1) พวกที่ได้จากกระบวนการปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันต้านทาน ในส่วน complement activation ได้แก่ C3a, C5a และ C5b-9

2) พวกที่ได้จากการกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด (hageman factor activation)

- kinin system ได้แก่ bradykinin ช่วยเพิ่มการซึมผ่านผนังของหลอดเลือด ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อที่ผนังหลอดเลือดหดตัว เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด และทำให้เกิดอาการปวด (pain)

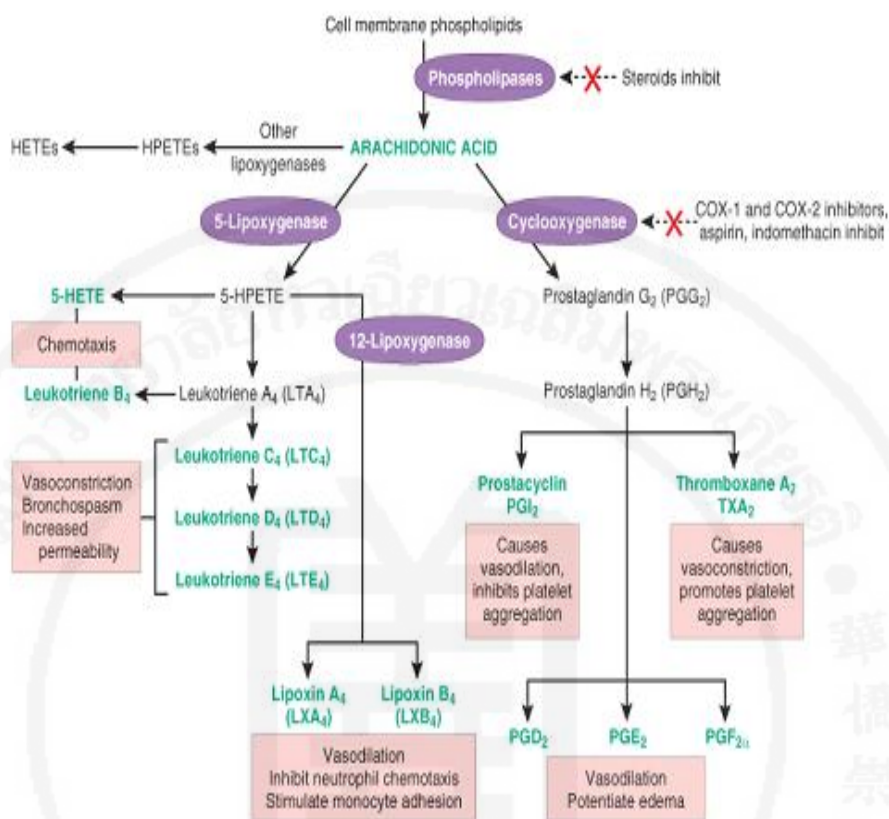
- coagulation system สารที่ได้จากระบบการแข็งตัวของเลือด มีคุณสมบัติและบทบาทสำคัญ ชักนำให้เกิดการอักเสบในขั้นตอนสุดท้าย สาร thrombin เปลี่ยนสาร fibrinogen ไปเป็น fibrin ทำให้ได้สาร fibrinopeptides หลายชนิดซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มการซึมผ่านผนังหลอดเลือด และชักนำเม็ดเลือดขาว นอกจากนี้สาร thrombin ยังมีคุณสมบัติกระตุ้นการสร้างอนุภาคเกาะติด (adhesion molecules) และเร่งการสร้างเยื่อเกี่ยวพัน (fibroblast proliferation)

- fibrinolysis system ในระบบทำลายการแข็งตัวของเลือดจะละลายก้อน fibrin ที่เกิดจากการแข็งตัวของเลือด ได้สารที่เรียกว่า fibrin degradation products (FDP) ซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มการซึมผ่านผนังหลอดเลือด plasmin เป็นสารที่ได้จาก plasminogen โดยอาศัย เอนไซม์ plasminogen activator พบได้ในผนังหลอดเลือดเม็ดเลือดขาวและเนื้อเยื่ออื่น ๆ สาร plasmin เป็นตัวการสำคัญที่ละลายก้อน fibrin เพื่อทำลายการแข็งตัวของเลือด

### 2.3.3 อาการและการตรวจพบเมื่อเกิดการอักเสบ

เมื่อเกิดการอักเสบลักษณะที่ปรากฏให้เห็นคือ ปวด บวม แดง ร้อน เสียหน้าที่การทำงานของอวัยวะนั้นและอาจพบผลต่อร่างกายทั้งระบบได้ เช่น ไข้ การเพิ่มจำนวนเซลล์กินสิ่งแปลกปลอมชนิด mononuclear phagocytic system การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในเลือด

## แผนภูมิที่ 1 กระบวนการเมตาบอลิซึมของ arachidonic acid และกระบวนการอักเสบ<sup>(41)</sup>



### 2.3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ<sup>(42)</sup>

การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ แบ่งออกเป็น 2 วิธีใหญ่ ๆ คือ การทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*) ได้แก่ การทดสอบโดยเพาะเลี้ยงเซลล์ของ human mast cell line (HMC-1 cell), human bronchial epithelial cell (HBEC), normal human bronchial epithelial cell (NHBE), small airway epithelial cells (SAEC) และ rat peritoneal leukocytes เป็นต้น ในการทดสอบกับ human mast cell line (HMC-1 cell) ที่ถูกกระตุ้นด้วย phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) และ A23187 (calcium ionophore) พบว่าหากสารมีฤทธิ์ต้านการอักเสบจะมีการยับยั้งการหลั่ง TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor), IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ), IL-4 (interleukin-4), IL6 (interleukin-6) และ IL8 (interleukin-8) ส่วนการทดสอบใน human bronchial epithelial cells (HBEC), normal human bronchial epithelial cell (NHBE), small airway epithelial cells (SAEC) ที่ถูกกระตุ้นด้วย LXA<sub>4</sub> (Lipoxin A<sub>4</sub>) หรือ LXA<sub>4</sub> ร่วมกับ tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) พบว่าหากสารมีฤทธิ์ต้านการอักเสบจะลดการหลั่ง IL8 สำหรับการทดสอบใน rat peritoneal leukocytes ที่ถูกกระตุ้นด้วย calcium ionophore พบว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบจะสามารถลดการหลั่ง myeloperoxidase ยับยั้งการสังเคราะห์ eicosanoid ยับยั้งเอนไซม์ lipoxygenase

โดยลดการเกิด leukotriene B<sub>4</sub> ยับยั้ง cyclooxygenase ยับยั้ง 5-lipoxygenase และลดการหลั่ง elastase myeloperoxidase ในการทดสอบกับ murine RAW 264.7 macrophages ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS (lipopolysaccharide) สารที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบจะยับยั้งการหลั่ง pro-inflammatory protein, inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ cyclooxygenase-2 (COX-2)

การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในสัตว์ทดลอง วิธีที่ใช้ทดสอบกันอย่างแพร่หลายมี 2 วิธี คือ วิธี hind paw edema เป็นวิธีที่ใช้กับสารตัวอย่างที่ต้องการใช้ในรูปแบบของการกินหรือฉีด และวิธี ear edema ซึ่งนิยมใช้กับสารตัวอย่างที่ใช้ในรูปแบบทา การทดสอบด้วยวิธีการทดสอบ hind paw edema ในหนูขาวสายพันธุ์ wistar rat หรือ sprague dawley เพศผู้ นำมากระตุ้นให้มีการบวมของอุ้งเท้า โดยฉีด 1% carrageenan suspension ( $\Lambda$  type IV) เข้าใต้ผิวหนังบริเวณอุ้งเท้า จากนั้นจึงให้สารที่ต้องการทดสอบโดยการกินหรือฉีด แล้ววัดปริมาตรของอุ้งเท้าที่เวลาต่าง ๆ เปรียบเทียบผลกับกลุ่มควบคุม ส่วนการทดสอบโดยวิธี ear edema จะทดสอบในหนู mice สายพันธุ์ swiss albino mice หรือ sprague dawley หรือ wistar rat เพศผู้ นำมากระตุ้นให้มีการบวมของใบหูโดยใช้ Ethyl-Phenylpropiolate (EPP) เปรียบเทียบกับใบหูที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุม แล้วจึงนำสารที่ต้องการทดสอบมาทาที่ใบหู แล้ววัดความหนาของใบหูที่เวลาต่าง ๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบของอุ้งเท้าหนูและหูหนูโดยการให้ arachidonic acid, histamine, serotonin, prostaglandin, hyaluronidase LTB<sub>4</sub> methyl ester หรือ 12-tetradecanoylphorbol-13-acetate

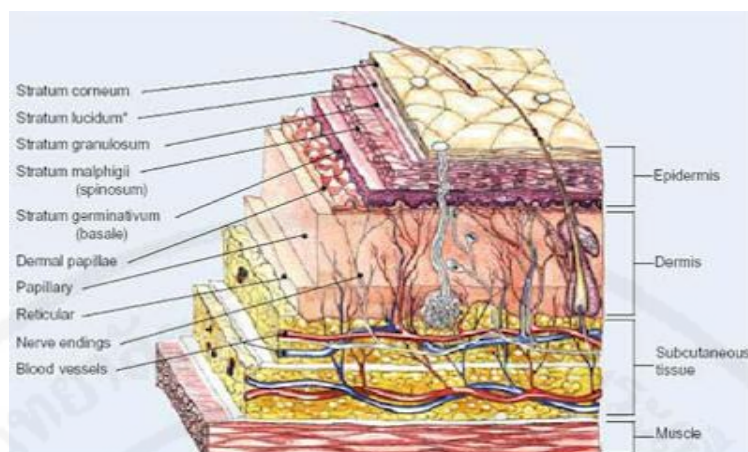
## 2.4 การนำส่งทางผิวหนัง<sup>(43,45)</sup>

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีพื้นที่ผิวมากที่สุดภายในร่างกาย ทำหน้าที่สำคัญ คือ ป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย ควบคุมอุณหภูมิ และรับรู้ความรู้สึก ผิวหนังชั้นนอกเรียกว่า สตราตัมคอร์เนียม เป็นชั้นผิวหนังที่กั้นการซึมผ่านสารต่าง ๆ ซึ่งสารสำคัญสามารถออกฤทธิ์ได้ตามที่กล่าวอ้างเมื่อสามารถซึมผ่านได้ ถึงเป้าหมายหรือส่วนที่ต้องการ ดังนั้นการซึมผ่านของสารจึงเป็นปัจจัยสำคัญต่อประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์

### 2.4.1 โครงสร้างของผิวหนัง

ผิวหนังประกอบด้วยชั้นหนังกำพร้า ชั้นหนังแท้ ชั้นไขมันใต้ผิวหนัง และช่องเปิดหรือท่อบนผิวหนัง ดังภาพที่ 4 สารส่วนมากที่ช่วยเพิ่มการซึมผ่านมักจะไม่ได้รับบุเฉพาะเจาะจงและเป็นสารที่ซึมผ่านมักมีขนาดเล็กและละลายในไขมันได้ดี

ภาพที่ 4 โครงสร้างผิวหนัง<sup>(44)</sup>



### ชั้นหนังกำพร้า

ชั้นหนังกำพร้าประกอบด้วยชั้นต่าง ๆ 5 ชั้น เรียงจากในไปนอก ดังนี้ สตราตัมคอร์เนียม สตราตัมลูซิเดียม สตราตัมแกรนูโลซุม สตราตัมสไปโนซุม และสตราตัมเจอร์มินาติวุม หรือสตราตัมเบซาล์ ชั้นสตราตัมคอร์เนียมเป็นเซลล์หนังชั้นนอกที่ไม่มีชีวิต ทำหน้าที่กั้นการซึมผ่านของสารผ่าน ผิวหนังชั้นนี้ ประกอบด้วยเซลล์คอร์นีไฟต์ ลักษณะเป็นเซลล์หกเหลี่ยมแบน ๆ เรียงตัวซ้อนกัน 15-35 เซลล์ (เปรียบเสมือนโครงสร้างแบบอิฐและปูน คือ เรียงต่อกันเหมือนก้อนอิฐ โดยมีไขมันระหว่างเซลล์ ทำหน้าที่เป็นปูนยึดให้เซลล์ติดกัน) ชั้นสตราตัมเบซาล์ประกอบด้วยเมลานोไซต์ เซลล์แลงเกอฮานส์ เซลล์เมอ และเซลล์คีราติโน 2 ชนิดซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิด และยึดติดผิวหนังชั้นนอกให้ติดกับเมมเบรนชั้นพื้น เมลานิน ซึ่งเป็นเม็ดสีจะสร้างขึ้นในเมลานอไซต์ โดยใช้ไทโรซินเป็นสารตั้งต้น เมลานินมี 2 ชนิด คือ ยูเมลานินเป็นเม็ดสีน้ำตาลหรือดำ และฟีโอเมลานินเป็นเม็ดสีแดงหรือเหลือง โดยปริมาณเมลานอไซต์บนร่างกายจะแตกต่างกัน ดังนั้นเมลานอไซต์จะเพิ่มปริมาณมากขึ้นเมื่อสัมผัสแสงแดด

### หนังแท้

หนังแท้มีความหนาประมาณ 0.1-0.5 cm เซลล์ในชั้นนี้ส่วนใหญ่เป็นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ซึ่งทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ที่ประกอบด้วยคอลลาเจน ลามินิน ไฟโบรนิน และไวโทรเนกติน หนังชั้นนี้เป็นแหล่งสารอาหาร ระบบภูมิคุ้มกัน และระบบกำจัดชั้นหนังกำพร้า รวมถึงการควบคุมอุณหภูมิ ความดัน และความเจ็บปวด

### ชั้นไขมันใต้ผิวหนัง

ชั้นไขมันใต้ผิวหนังหรือไฮโปเตอร์มิสเป็นผิวหนังชั้นที่ลึกที่สุด ประกอบด้วยเซลล์ไขมันไฟโบรบลาสต์และแมคโครฟาจ ซึ่งทำหน้าที่เป็นฉนวนร่างกายและปกป้องผิวหนังจากแรงกระแทกภายนอก

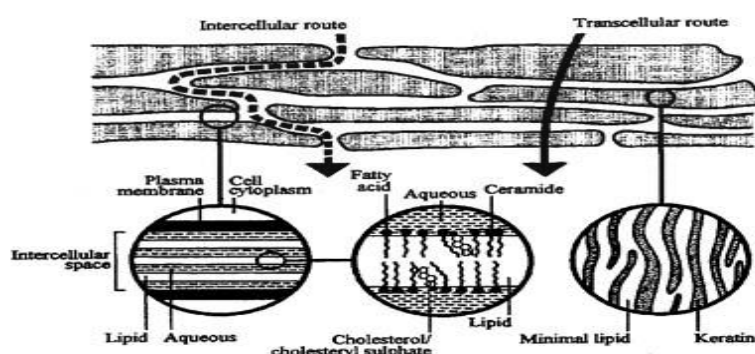
## ช่องเปิดหรือท่อบนผิวหนัง

ช่องเปิดหรือท่อบนผิวหนังประกอบด้วยรูขุมขน ติดอยู่กับต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อขับออก ต่อมเหงื่อไร้ท่อ และเล็บ เป็นช่องทางลัดที่ให้โมเลกุลของยาเข้าสู่ผิวหนังได้โดยไม่ผ่านผิวหนังชั้น สตราตัมคอร์เนียม

### 2.4.2 เส้นทางการซึมผ่านผิวหนัง

สารต่าง ๆ สามารถซึมผ่านชั้นผิวหนังได้ 3 เส้นทาง 1. transcellular route ด้วยหรือสารผ่านเข้าไปในเซลล์หนึ่งสู่เซลล์หนึ่ง 2. Intercellular route ผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ 3. transappendageal route ซึมผ่านทางผิวหนังทางช่องหรือท่อของอวัยวะผิวหนัง เช่น ท่อต่อมไขมัน (sebaceous duct) ท่อต่อมเหงื่อ (sweat duct) รูขุมขน (transfollicular) ดังภาพที่ 5 ชั้นสตราตัมคอร์เนียมเป็นตัวกั้นที่สำคัญ สารที่ผ่านส่วนใหญ่จะแทรกผ่านผิวหนังระหว่างเซลล์ (intercellular route) ดังนั้นหากจะเพิ่มการส่งผ่านสารสำคัญไปยังเป้าหมาย คือ ต้องเปลี่ยนแปลงหรือสร้างเส้นทางลัดต่อโครงสร้างอิฐและปูนของผิวหนัง ซึ่งอาจทำได้โดยใช้สารที่ไปรบกวนหรือทำลายการทำหน้าที่เป็นตัวกั้นของสตราตัมคอร์เนียมด้วยการใช้ตัวทำละลายไขมันหรือสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมต่อการใช้ที่ผิวหนัง ทางเครื่องสำอางนิยมใช้ในรูปแบบอิมัลชันหรือไมเซลล์เป็นตัวนำส่ง และหากขนาดของอนุภาคมีขนาดสม่ำเสมอและมีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรซึ่งสามารถเพิ่มการซึมผ่านและทำให้เกิดประสิทธิภาพทั่วร่างกาย แต่วิธีนี้ไม่เหมาะสมกับกับสารสำคัญที่ไม่คงตัวเมื่อถูกกักเก็บในวัฏภาคน้ำและน้ำมัน หรือการใช้อนุภาคที่มีผิวเป็นประจุและการใช้เครื่องผลึกประจุไฟฟ้า หรือการเคลื่อนสู่ขั้วไฟฟ้า เพื่อเพิ่มการแทรกผ่านของสารสำคัญซึ่งวิธีนี้ทำให้ต้นทุนสูงขึ้น หรือการผสมใช้อนุภาคร่วมกับเครื่องมือทางกลไฟฟ้า หรือการใช้อนุภาคพิเศษที่เสริม การแทรกผ่านโดยไม่ทำให้หน้าที่การเป็นตัวกั้นของผิวหนังเสียไปด้วยการใช้นาโนพาร์ทิเคิลในชั้นเดอร์มัลแพมิลลารี เป็นชั้นที่มีเส้นเลือดฝอยจำนวนมาก ทำให้สารซึมผ่านผิวหนังถูกกำจัดได้อย่างรวดเร็วและบริเวณชั้นหนังแท้ลึก ๆ โดยไม่ส่งผลต่อการดูดซึมอย่างมีนัยสำคัญ

ภาพที่ 5 เส้นทางการซึมผ่านของผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม<sup>(43)</sup>



### 2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึม

สารประกอบ hydrophilic แพร่ผ่านในเซลล์ ส่วนสารประกอบ lipophilic ข้ามผ่านชั้น สตราตัมคอร์เนียมโดยวิธี intercellular route ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึม 1. ขนาดโมเลกุลที่เข้ากับพื้นที่ผิวและเข้ากับเซลล์ไขมันที่อยู่ระหว่างเซลล์ 2. ลักษณะของผิวมีผลต่อการดูดซึม 3. ปริมาณความชื้น 4. อุณหภูมิ 5. ความหนาของชั้นสตราตัมคอร์เนียม (แตกต่างกันตามความเร็วและส่วนของร่างกาย) 6. ลักษณะทางกายภาพลักษณะของสตราตัมคอร์เนียมยังขึ้นกับอายุ การสัมผัสสารเคมี การดูแลผิวพรรณในชีวิตประจำวัน สุขภาพและสิ่งแวดล้อม

### 2.4.4 วิธีการเพิ่มการดูดซึม

แบ่งตามความสามารถในการนำโมเลกุลหรือกลไกการเพิ่มดูดซึม แบ่งเป็น 3 ประเภท คือ 1. ตัวทำละลายที่เพิ่มการดูดซึมทั้งมีขั้วและไม่มีขั้ว เช่น 2-pyrrolidone, N-methyl pyrrolidone, N-methyl-formamide, propylene glycol 2. ตัวเพิ่มการละลายในพวกมีขั้ว เช่น propylene glycol, สารประกอบ decylmethyl sulfoxide 3. ตัวเพิ่มการละลายพวกไม่มีขั้ว เช่น propylene glycol, oleic acid

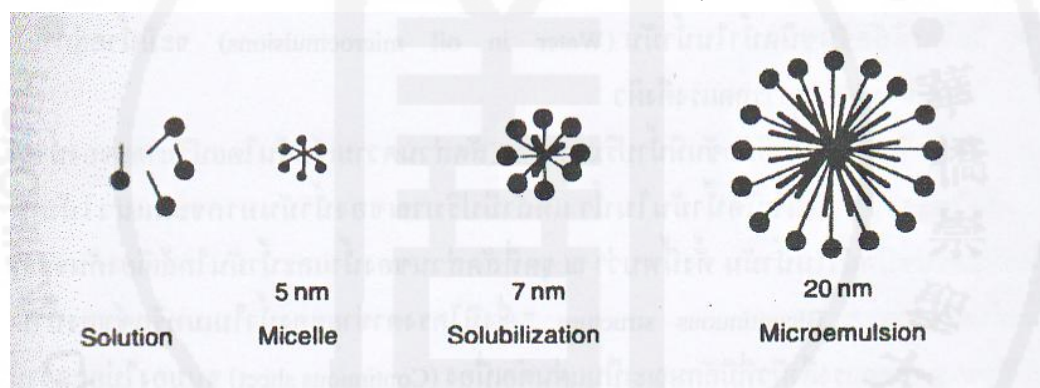
### 2.5 ไมโครอิมัลชัน<sup>(43,46)</sup>

แรกเริ่มนั้นไมโครอิมัลชันเกิดจากการเติม hexanol ในอิมัลชันที่มีลักษณะขาวขุ่นแล้วเปลี่ยนเป็นสารละลายใส ไมโครอิมัลชันจึงเป็นระบบที่มีส่วนประกอบ คือ น้ำ น้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วมในอัตราส่วนที่เหมาะสม เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะพบว่าลักษณะโปร่งใสหรือโปร่งแสง เนื่องจากมีขนาดอนุภาคเล็ก (น้อยกว่า 150 nm)<sup>(47)</sup> มีขนาดหนึ่งในสี่ของความยาวคลื่นแสงจึงไม่เกิดการกระจายแสง มีความหนืดต่ำ มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน จึงมีสมบัติเหมือนกันทุกทางและไม่พบลักษณะของการหักเหสองแนว เมื่อนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์โพลาไรซ์ มีความคงตัวทางอุณหพลศาสตร์ ไมโครอิมัลชันมีพื้นที่สูงมากจึงสามารถบรรจุสารไม่ละลายในวัฏภาคต่อเนื่องภายนอกในแกนกลางหรือบริเวณระหว่างผิวในปริมาณมาก มีอายุการเก็บได้นานโดยธรรมชาติด้วยรูปลักษณะที่สวยงามดังกล่าว ทำให้รูปแบบของไมโครอิมัลชันได้รับความสนใจและถูกนำไปใช้ในระบบส่งยาทางผิวหนัง ยาทางปาก ยาฉีดและเครื่องสำอางมากขึ้นเพราะสามารถนำส่งสารสำคัญเข้าสู่ร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพและสุบรีเวอมนเป้าหมายได้แม่นยำมากขึ้น ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการรักษาที่มากขึ้นด้วย ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในรูปแบบไมโครอิมัลชันมีจำหน่ายแพร่หลายในประเทศ ฝรั่งเศส อิตาลี เบลเยียม และสหรัฐอเมริกา โดยผลิตภัณฑ์ที่ใช้ได้ตั้งแต่ร่างกายจนถึงใบหน้า เส้นผม รวมถึงน้ำมันอาบน้ำ ผลิตภัณฑ์แต่งผม ผลิตภัณฑ์ทำให้เล็บแข็งแรง ผลิตภัณฑ์ให้ความชุ่มชื้น ผลิตภัณฑ์ต้านริ้วรอย ผลิตภัณฑ์ป้องกันการอุดตันและซีรั่มชะลอแก่



นอกจากนี้ยังมีความคิดเห็นของนักวิจัยหลายท่านเกี่ยวกับธรรมชาติที่แท้จริงของไมโครอิมัลชันและความเหมาะสมของการกำหนดชื่อของผสมว่า microemulsion ซึ่งบางกรณีไมโครอิมัลชันอาจเรียกว่า transparent emulsion หรือ micellar emulsion ซึ่งการเลือกใช้เลือกคำที่แตกต่างกันนี้มาจากแนวคิดหรือมุมมองที่ต่างกันของนักวิจัย ในทางทฤษฎีคำที่เรียกไมโครอิมัลชันจะมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย แต่ในทางปฏิบัติถือว่าหมายถึงระบบเดียวกัน โครงสร้างภายในของไมโครอิมัลชันประกอบด้วยไมเซลล์ขนาดใหญ่หรือไมเซลล์ที่พองตัวกระจายตัวอยู่ในวัฏภาคภายนอก องค์ประกอบที่จัดเป็นวัฏภาคภายในจะรวมตัวกันภายในไมเซลล์ ซึ่งจะคล้ายคลึงกับระบบสารละลายที่เกิดขึ้นจากกลไกการเพิ่มการละลายด้วยไมเซลล์ โดยไมโครอิมัลชันจะแตกต่างตรงที่มีไมเซลล์ที่เกิดขึ้นจะมีขนาดใหญ่กว่าไมเซลล์ในการละลายด้วยไมเซลล์ ดังภาพที่ 6

ภาพที่ 6 การเกิดไมโครอิมัลชันเปรียบเทียบสารละลายระบบอื่น ๆ <sup>(43)</sup>



การเตรียมไมโครอิมัลชันสามารถเตรียมได้ง่าย เนื่องจากสามารถเกิดขึ้นได้เองจากการผสมสารประกอบในอัตราส่วนที่เหมาะสมโดยการสร้างเฟสไดอะแกรม ข้อเสียของไมโครอิมัลชันต้องใช้สารลดแรงตึงผิวปริมาณสูง ซึ่งเป็นสาเหตุของการระคายเคืองของผิวหนัง จึงมีการเติมสารลดแรงตึงผิวร่วมในตำรับไมโครอิมัลชัน เพื่อช่วยลดแรงตึงผิวและเพิ่มการไหลที่ฟิล์มพื้นที่ผิวของสารลดแรงตึงผิว โดยแทรกตัวอยู่บริเวณหน้าสัมผัส ทำให้ฟิล์มที่ได้ยืดหยุ่นเป็นของไหลและเรียงตัวอัดแน่น ซึ่งช่วยเพิ่มพื้นที่การเกิดไมโครอิมัลชัน โดยใช้แอลกอฮอล์สายสั้นและสายกลางเป็นสารลดแรงตึงผิวพบว่าเพิ่มการดูดซึมของสารลดแรงตึงผิวและลดความเป็นขั้วของน้ำ ซึ่งง่ายต่อการเกิดเป็นไมโครอิมัลชัน สารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้ คือ สารลดแรงตึงผิวชนิดแบบไม่มีประจุ เนื่องจากการฟอร์มตัวเป็นไมโครอิมัลชันได้ดี ซึ่งระบบไมโครอิมัลชันไวต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง และความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์

ภาพที่ 7 ลักษณะของไมโครอิมัลชัน<sup>(48)</sup>



ความแตกต่างระหว่างไมโครอิมัลชันกับอิมัลชัน นอกจากการกระจายตัวของวัฏภาคที่แตกต่างกันแล้ว ยังมีความแตกต่างกันดังนี้

1) ไมโครอิมัลชันเป็นระบบที่สามารถเกิดขึ้นได้เอง โดยไม่จำเป็นต้องให้พลังงานใด ๆ เข้าไป เนื่องจากเป็นระบบที่มีแนวโน้มในการเกิดทางอุณหพลศาสตร์มากกว่าโครงสร้างอื่น ๆ ที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน ซึ่งต่างจากอิมัลชันที่อาจต้องให้พลังงานด้วยการกวน คน ปั่นผสม หรือใช้เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ความดันสูง

2) ไมโครอิมัลชันเป็นระบบที่มีความคงตัวทางอุณหพลศาสตร์ต่างจากอิมัลชันที่มีความคงตัวทางจลนศาสตร์ แต่ไม่คงตัวทางอุณหพลศาสตร์ ดังนั้นระบบอิมัลชันจึงมีแนวโน้มที่จะเกิดการแยกชั้นของวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมันมากกว่าไมโครอิมัลชัน

3) ไมโครอิมัลชันมีหยดวัฏภาคภายในเล็กมาก เล็กกว่า 150 nm ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าอิมัลชันที่มีขนาดการกระจายตัวของวัฏภาคในช่วง 100 nm-10 µm

4) ไมโครอิมัลชันมีลักษณะทางกายภาพ คือ ไสหรือค่อนข้างใส เมื่อมองด้วยตาเปล่า แต่อิมัลชันมีลักษณะขุ่นขาวเหมือนน้ำนม

5) วัฏภาคภายในของไมโครอิมัลชันมีพื้นที่ผิวมากกว่าอิมัลชัน ทำให้สูตรตำรับของไมโครอิมัลชันต้องใช้ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวมากกว่าอิมัลชันทั่วไป

ในปัจจุบันไมโครอิมัลชันได้รับความนิยมในการมาใช้มากขึ้น เนื่องจากมีความคงตัวทางกายภาพ มีวิธีการเตรียมที่ไม่ยุ่งยาก มีลักษณะที่น่าใช้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะใส หรือค่อนข้างใส

มีการประยุกต์ใช้ไมโครอิมัลชันเพื่อการนำส่งทางผิวหนัง ใช้เพิ่มการละลายของสารที่มีการละลายน้อยและใช้นำส่งได้หลายทาง เช่น ทางปาก ผิวหนัง ตา หลอดเลือดดำ อีกทั้งช่วยเพิ่มสภาพพร้อมใช้ทางชีวภาพและปลดปล่อยแบบควบคุม ไมโครอิมัลชันชนิดที่ใช้ทางตาและฉีดต้องเลือกระบบสารลดแรงตึงผิวที่มีความเป็นพิษต่ำและมีความปลอดภัยต่อการใช้ โดยทั่วไปไมโครอิมัลชันอาจทำให้เกิดการระคายเคืองเนื่องจากมีสารลดแรงตึงผิวค่อนข้างสูง

ในงานวิจัยหลายชิ้นชี้ว่าระบบไมโครอิมัลชันเป็นระบบที่มีประโยชน์ใช้เพื่อการนำส่งตัวยา และสารทางเครื่องสำอาง ทำให้สารออกฤทธิ์เข้าสู่ผิวหนังได้ดีกว่าสารละลายธรรมดาหรือรูปแบบดั้งเดิม แต่ยังไม่มียานวิจัยชิ้นไหนที่สามารถอธิบายเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบและโครงสร้างระดับไมโครของไมโครอิมัลชันกับประสิทธิภาพในการแทรกผ่านผิวหนัง

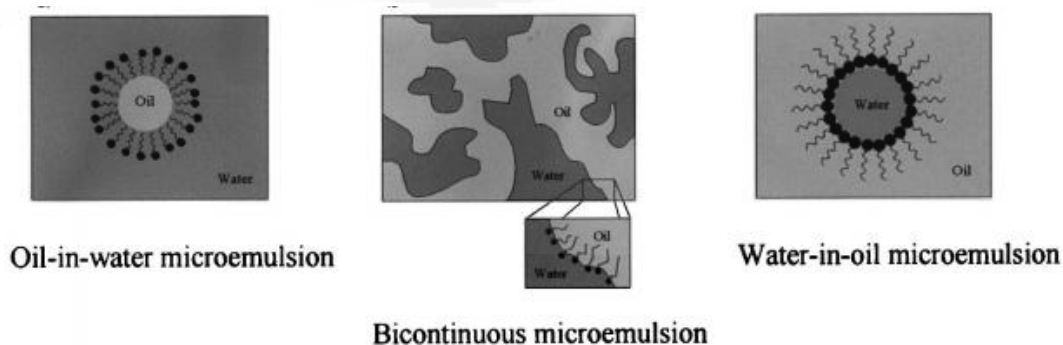
### 2.5.1 ชนิดของไมโครอิมัลชัน

ไมโครอิมัลชันเป็นระบบจตุรภาค ซึ่งประกอบด้วยน้ำ น้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วม โดยไมโครอิมัลชันสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. ไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันกระจายในน้ำ (oil in water microemulsion, o/w) จะมีน้ำมันละลายอยู่ภายในไมเซลล์ขยายของสารลดแรงตึงผิว
2. ไมโครอิมัลชันชนิดไบคอนตินิวอัส (bicontinuous) มีน้ำมันและน้ำกระจายในปริมาณที่เท่า ๆ กัน
3. ไมโครอิมัลชันชนิดน้ำกระจายในน้ำมัน (water in oil microemulsion, w/o) จะมีน้ำละลายอยู่ภายในไมเซลล์ขยายของสารลดแรงตึงผิว โดยสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุจะเกิดไมเซลล์แบบผกผันในน้ำมัน

โดยทั่วไปแล้วไมโครอิมัลชันมักประกอบด้วยน้ำ น้ำมัน และสารลดแรงตึงผิว ซึ่งอาจพบในลักษณะของเหลวใสหรือเจลใส มีลักษณะกึ่งแข็งก็ได้ ซึ่งน้ำมันและน้ำสามารถคงตัวอยู่ได้ด้วย interfacial film ของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิว โดยอาจจะใช้สารลดแรงตึงผิวเพียงชนิดเดียว หลายชนิด หรือใช้สารอื่น ๆ ร่วมด้วย ไมโครอิมัลชันที่มีวัฏภาคกระจายตัวในความเข้มข้นต่ำจะเกิดเป็น droplet ชนิดน้ำมันกระจายตัวในน้ำ (o/w) เมื่อมีสัดส่วนความเข้มข้นของน้ำสูง มีน้ำกระจายตัวในน้ำมัน (w/o) เมื่อมีสัดส่วนของน้ำมันสูง หากมีความเข้มข้นของน้ำและน้ำมันใกล้เคียงกัน จะเกิด interpenetrate ระหว่างกัน เกิดโครงสร้างที่เรียกว่า bicontinuous ดังภาพที่ 8

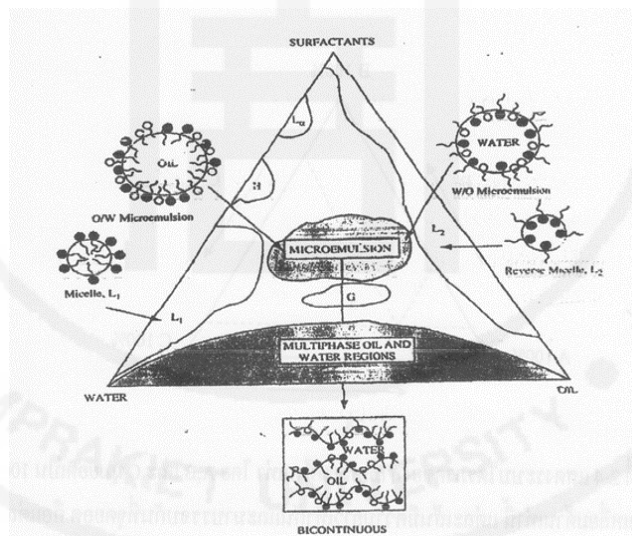
ภาพที่ 8 ไมโครอิมัลชันชนิดต่าง ๆ <sup>(49)</sup>



## 2.5.2 พฤติกรรมเฟส การตั้งตำรับสูตร และการเตรียมไมโครอิมัลชัน

การศึกษาความสัมพันธ์ของพฤติกรรมเฟสและส่วนประกอบของตำรับทำได้โดยใช้เฟสไดอะแกรม ซึ่งแต่ละมุมของเฟสไดอะแกรมมีค่าเท่ากับหนึ่งร้อยเปอร์เซ็นต์ของส่วนประกอบแต่ละชนิด ได้แก่ น้ำ น้ำมัน และสารลดแรงตึงผิว กรณีหากมีส่วนประกอบของตำรับมากกว่า 3 ชนิด อาจศึกษาพฤติกรรมเฟสได้โดยการใช้เฟสไดอะแกรมที่ประกอบด้วยของผสมระหว่างส่วนประกอบในตำรับแล้วให้ส่วนประกอบใดส่วนประกอบหนึ่งคงที่แล้วเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของส่วนประกอบของสารที่เหลือ หรือใช้อัตราส่วนของสาร 2 ชนิดคงที่ ซึ่งโดยมากมักเป็นสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม ทั้งนี้จำนวนเฟสที่เกิดขึ้นหลังจากการผสมของส่วนประกอบตำรับสามารถพิจารณาได้จากการดูด้วยตาเปล่า แต่การสร้างเฟสไดอะแกรมต้องใช้เวลาค่อนข้างสูงโดยเฉพาะหากต้องการรายละเอียดที่บริเวณรอยต่อของเฟส จึงอาจต้องให้ความร้อนหรือการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง เพื่อเร่งให้ระบบเกิดเป็นไมโครอิมัลชันได้เร็วขึ้น

ภาพที่ 9 เฟสไดอะแกรม<sup>(50)</sup>



อย่างไรก็ตามโอกาสในการเกิด w/o microemulsion จะมีมากกว่าการเกิดเป็น o/w microemulsion และยังได้วิญภาคที่มีขนาดเล็กกว่า เนื่องจากการผลึกส่วนของสารลดแรงตึงผิวออกสู่วิญภาคต่อเนื่อง เพราะมีความเป็นอิสระมากกว่าการเข้าสู่วิญภาคภายในแรงตึงผิวของไมโครอิมัลชันชนิดนี้จึงมีแนวโน้มมากกว่า อีกทั้งเตรียมได้ง่ายกว่า o/w microemulsion

ปัญหาของการพัฒนาสูตรไมโครอิมัลชัน ไม่มีทฤษฎีตายตัวสำหรับการเลือกใช้ส่วนประกอบที่เหมาะสม สำหรับการหาชนิดและปริมาณของส่วนประกอบในระบบไมโครอิมัลชัน การสร้างเฟสไดอะแกรมเป็นแนวทางที่เป็นประโยชน์เพื่อหาปริมาณของการเกิดเป็นไมโครอิมัลชัน ซึ่งสามารถ

ทำได้ 2 วิธี คือ 1. การไตเตรทส่วนผสมของสารประกอบ 2 ชนิดด้วยสารประกอบชนิดที่ 3 และ 2. การเตรียมตัวอย่างจำนวนมากในอัตราส่วนของสารประกอบที่ต่างกัน ใช้ได้ทั้ง 2 วิธี ถ้าของผสมทั้งหมดถึงจุดสมดุลอย่างรวดเร็วจะให้ผลเหมือนกัน แต่หากไม่สามารถเข้าสู่จุดสมดุลอย่างรวดเร็ว ควรเลือกใช้วิธีการที่ 2 ในการสร้างเฟสไดอะแกรม

ไมโครอิมัลชันเป็นระบบจตุรภาคที่ประกอบด้วยน้ำ น้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วม สัดส่วนความเข้มข้นโดยปริมาตรของวัฏภาคภายในมักอยู่ในช่วง 0.2-0.8 ซึ่งการเตรียมไม่จำเป็นต้องใช้พลังงานจากภายนอก โดยต้องเลือกชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวให้เหมาะสม

### 2.5.3 ปัจจัยที่ผลต่อการเกิดไมโครอิมัลชัน

1. ลักษณะธรรมชาติและความเข้มข้นของน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว สารลดแรงตึงผิวร่วม และวัฏภาคน้ำ

2. อัตราส่วนของน้ำมัน/สารลดแรงตึงผิว และอัตราส่วนสารลดแรงตึงผิว/สารลดแรงตึงผิวร่วม

3. อุณหภูมิและค่า pH โดยพบว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อไมโครอิมัลชันที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดที่มีประจุ แต่อุณหภูมิมีผลต่อไมโครอิมัลชันที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดที่ไม่มีประจุ โดยถ้าให้ความร้อนแก่ระบบของน้ำ/ไฮโดรคาร์บอน/สารลดแรงตึงผิวชนิดที่ไม่มีประจุจนถึงอุณหภูมิ cloud point ของผสมจะขุ่น และถ้าให้ความร้อนสูงขึ้นไปอีกของผสมจะแยกออกเป็นสองส่วน คือ วัฏภาคที่มีสารลดแรงตึงผิวมากและวัฏภาคมีน้ำมาก ในทางกลับกันถ้าลดอุณหภูมิลงถึง haze point ของผสมจะแยกเป็นสองส่วนคือ วัฏภาคที่มีน้ำมันมากและวัฏภาคที่มีสารลดแรงตึงผิวมาก

4. ลักษณะทางฟิสิกส์เคมี เช่น hydrophilicity/lipophilicity, pKa, polarity

นอกจากนี้ยังต้องพิจารณาถึงค่า HLB ของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งเป็นค่าบอกลถึงความชอบน้ำหรือชอบน้ำมัน และค่า CPP ซึ่งจะกล่าวรายละเอียดในข้อต่อไป

สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการเตรียมไมโครอิมัลชันอาจเป็นชนิดที่มีประจุบวก ลบ หรือไม่มีประจุ การนำสารลดแรงตึงผิวชนิดที่มีประจุและไม่มีประจุมาใช้ร่วมกันจะทำให้ได้บริเวณเฟสไดอะแกรมที่เป็นไมโครอิมัลชันมากขึ้น

การเลือกสารลดแรงตึงผิวอาจพิจารณาได้จาก

1. ค่า HLB เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความชอบน้ำ และชอบน้ำมันของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว โดยสารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB ต่ำ ๆ คืออยู่ในช่วง 3-6 มักจะก่อไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำมัน และสารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB สูง ๆ คือ 8-18 จะก่อไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ส่วนสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุ เช่น sodium sulfate มีค่า HLB ที่สูงมากคือ 20 เมื่อใช้เดี่ยว ๆ ไม่สามารถก่อให้เกิดไมโครอิมัลชันได้ จึงจำเป็นต้องใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมเพื่อลดค่า HLB ให้อยู่ในช่วงที่ก่อไมโครอิมัลชันได้

2. พารามิเตอร์ของการรวมตัววิกฤติ (Critical Packing Parameter: CPP) เป็นค่าที่บอกถึงความสามารถในการรวมตัวของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งทำให้เกิดเป็นโครงสร้างต่าง ๆ ค่า CPP สามารถคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$CPP = V/a.l$$

V = ปริมาตรส่วนที่ไม่ชอบน้ำของสารลดแรงตึงผิว

a = พื้นที่ตัดขวางส่วนหัวของสารลดแรงตึงผิว

l = ความยาวของส่วนหางของสารลดแรงตึงผิว

#### 2.5.4 ระบบ HLB

Griffin<sup>(51)</sup> ได้ตั้งระบบ HLB ขึ้น โดยตั้งสมมติฐานว่าโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วนที่ละลายน้ำและละลายในน้ำมัน ค่า HLB เป็นค่าที่แสดงอัตราส่วนระหว่างสารที่ละลายน้ำต่อส่วนที่ละลายน้ำมัน กลุ่มที่มีค่า HLB มากกว่า 10 เป็นสารที่ละลายน้ำและกลุ่มที่มีค่า HLB 1-10 เป็นสารที่ละลายน้ำมันนอกจากนี้ยังแบ่งสารลดแรงตึงผิวตามค่า HLB กับประโยชน์ที่ใช้ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า HLB กับประโยชน์ที่ใช้ของสารลดแรงตึงผิว<sup>(50)</sup>

HLB	ประโยชน์ของสารลดแรงตึงผิว
1-3	สารกันฟอง (antifoaming agent)
4-6	สารทำอิมัลชันน้ำกระจายในน้ำมัน
7-9	สารทำให้เปียก (wetting agent)
8-18	สารทำอิมัลชันชนิดน้ำมันกระจายในน้ำ
10-16	สารช่วยละลาย (solubilizing agent)
13-15	สารซักฟอก (detergent)

การเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นสารก่ออิมัลชันจะต้องคำนึงถึงประโยชน์ของผลิตภัณฑ์และชนิดของอิมัลชัน ค่า HLB ที่ต้องการของตำรับและความไม่เข้ากันของสารสำคัญและสารก่ออิมัลชัน จึงนิยมใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดที่ไม่มีประจุ เพราะสามารถเข้ากับสารสำคัญได้ดี ไม่มีพิษ และมีความคงตัวดี

นอกจากนี้อาจใช้สารก่ออิมัลชันหลายชนิดร่วมกัน เนื่องจากทำให้เกิดฟิล์มเชิงซ้อนที่แข็งแรง โดยนิยมใช้สารลดแรงตึงผิวสองชนิดร่วมกัน คือ สารที่มีค่า HLB สูงร่วมกับสารที่มีค่า HLB ต่ำ เพื่อให้สามารถปรับค่า HLB เพื่อให้เกิดชนิดของอิมัลชันที่ต้องการและมีความคงตัว (มีค่า HLB ที่ต้องการ 8-18 จะได้อิมัลชันชนิดน้ำมันกระจายในน้ำ ส่วนค่า HLB ที่ต้องการ 4-6 จะได้อิมัลชันชนิดน้ำกระจายในน้ำมัน)

ประโยชน์ของการการตั้งตำรับของ HLB คือ 1. คำนวณหา HLB ที่ต้องการ 2. ใช้เลือกสารก่ออิมัลชันผสมเพื่อให้  $R_{HLB}$  3. หาค่าของสารก่ออิมัลชันที่เหมาะสมต่างกัน 4. คำนวณหาสารก่ออิมัลชันที่ใช้ร่วมกัน เพื่อหาค่า HLB ที่ต้องการของตำรับ ( $R_{HLB}$ )

### 2.5.5 สารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิวเป็นสารที่มีโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic part) และส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic part) เมื่อกระจายสารลดแรงตึงผิวลงในน้ำ จะมีการเรียงตัวของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวใหม่เพื่อให้ส่วนที่ไม่ชอบน้ำสัมผัสกับน้ำน้อยที่สุดซึ่งทำให้โมเลกุลอิสระของระบบลดลง ส่วนระบบที่ประกอบด้วยน้ำและตัวทำละลายที่ไม่เข้ากับน้ำ สารลดแรงตึงผิวจะหันส่วนที่ชอบน้ำเข้าสู่ภูมิภาคน้ำ และหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าสู่ตัวทำละลายที่ไม่เข้ากับน้ำ

สารลดแรงตึงผิว แบ่งได้เป็น 4 กลุ่มตามประจุของส่วนหัวของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ดังนี้

#### 1. สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ (anionic surfactant)

เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบอยู่บนส่วนที่ชอบน้ำ ซึ่งเกิดจากการแตกตัวของหมู่ที่มีประจุลบ เช่น carboxylate, sulfate หรือ sulfonate ในโมเลกุลและโดยมากจะอยู่ในรูปเกลือของโซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี ส่วนที่ไม่ชอบน้ำมักเป็นสารโซไฮโดรคาร์บอนตรงที่อิมัลชันหรือไมอิมัลชัน มีจำนวนคาร์บอนอะตอมประมาณ 12-18 อะตอม สารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้ ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีราคาไม่แพง และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองเหมือนสารลดแรงตึงผิวประจุบวก เช่น aluminium monostearate, calcium stearate, magnesium stearate, sodium lauryl sulfate, sodium lauryl ether sulfate, sodium docusate

#### 2. สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก (cationic surfactant)

เป็นสารลดแรงตึงผิวที่แตกตัวให้ประจุบวก สารกลุ่มนี้จะถูกดูดซับอยู่บนสารที่มีประจุลบได้ดี เช่น ผิวหนัง เส้นผม รวมทั้งเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้จะไม่สามารถทำงานได้ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นด่างสูง (pH 10-11) สารกลุ่มนี้จึงมักนำมาใช้เป็นสารทำลายเชื้อโรคสารกันบูด น้ำยาปรับผ้านุ่ม ครีมนวดผม ผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับการแต่งผมซึ่งสารกลุ่มนี้ค่อนข้างระคายเคืองและเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่ออ่อน ๆ เช่น ลูกนัยน์ตา จึงไม่นิยมนำสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้มาใช้เป็นสารก่ออิมัลชันในทางเภสัชกรรม ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ เช่น cetrimide, cetrimonium bromide, benzalkonium chloride, cetylpyridium เป็นต้น

#### 3. สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (nonionic surfactant)

สารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้ไม่มีประจุอยู่ในโมเลกุล จึงไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองเหมือนกับสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุ และสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้สามารถเข้ากับสารลดแรงตึงผิวหลายชนิด แต่จะลดประสิทธิภาพในการทำละลายเชื้อจุลินทรีย์ของสารกันบูดบางชนิด คุณสมบัติของสารกลุ่มนี้ขึ้นกับคุณสมบัติที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำโดยส่วนที่ชอบน้ำมักเป็นกลุ่ม polyxyethylene,

polyoxypropylene, อนุพันธ์ของกลุ่ม polyol และหมู่ hydroxyl ส่วนที่ไม่ชอบน้ำมักเป็นกรดไขมันหรืออัลกอฮอล์ไขมันที่อิ่มตัวหรือไม่อิ่มตัว ทั้งนี้การปรับเปลี่ยนขนาดของส่วนที่ชอบน้ำ และความยาวของส่วนที่ไม่ชอบน้ำมีผลต่อค่า HLB ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้ในการจำแนกกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวที่นำมาเสนอโดย Griffin<sup>(51)</sup> สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุถูกนำมาใช้ในทางเภสัชกรรมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถละลายตัวยาที่ไม่ละลายน้ำได้ดี และมีความเป็นพิษต่ำ

#### 4. สารลดแรงตึงผิวที่มีหมู่ amphoteric หรือ zwitterion

สารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบในโมเลกุล จะแสดงออกประจุบวกประจุลบ หรือไม่มีประจุก็ได้ขึ้นกับค่า pH ของระบบ ถ้าสถานะแวดล้อมเป็นด่าง ( $\text{pH} > 7$ ) ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic จะให้ประจุลบ ถ้าสถานะแวดล้อมเป็นกรด ( $\text{pH} < 7$ ) ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic จะให้ประจุบวก และในสถานะที่เป็นกลางจะไม่เกิดการให้ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic ทางเครื่องสำอางสารกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวในผลิตภัณฑ์ชำระล้างผิวหน้า เส้นผม เนื่องจากไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองและยังช่วยลดปริมาณการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบในสูตรตำรับ จึงนิยมใช้เตรียมแชมพูสำหรับทารก สารนิยมได้แก่ lecithins ซึ่งนำมาใช้ในการเตรียมอิมัลชันสำหรับฉีดเข้าหลอดเลือดดำ

#### 2.5.6 เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาคุณลักษณะของไมโครอิมัลชัน

การเตรียมไมโครอิมัลชันทำได้ง่ายจากการผสมสารเข้าด้วยกัน แต่การแสดงลักษณะเฉพาะค่อนข้างซับซ้อนและอาศัยเทคนิคที่หลากหลาย เทคนิคที่ใช้ในการศึกษามีดังต่อไปนี้

1. NMR เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาโครงสร้างของไมโครอิมัลชันที่ให้รายละเอียดมากที่สุด ทำให้ทราบชนิดของไมโครอิมัลชันว่าเป็นชนิดน้ำในน้ำมันหรือน้ำมันในน้ำ รวมทั้งสามารถใช้ในการติดตามการกระจายตัวของตัวยาในภูมิภาคต่าง ๆ

2. การวัดการนำไฟฟ้า หากมีการนำไฟฟ้าสูงและใกล้เคียงกับน้ำ แสดงว่าเป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ แต่ถ้าเป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันจะมีค่าการนำไฟฟ้าที่ใกล้เคียงกับน้ำมัน

3. การศึกษาการกระเจิงของแสง ด้วยรังสีเอ็กซ์หรือนิวตรอน ซึ่งจะได้ข้อมูลไม่ว่าจะเป็นขนาดของภูมิภาคกระจายตัว ปริมาตรส่วนกลางของไมเซลล์ที่พองตัวรวมทั้งรูปร่างของไมโครอิมัลชัน

4. การศึกษาคุณสมบัติการกระจายแสง นอกจากการแยกไมโครอิมัลชันออกจากอิมัลชันธรรมดาด้วยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า แล้วยังแยกความแตกต่างจากสารผลึกเหลว ได้ด้วยเมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงโพลาไรซ์โดยในไมโครอิมัลชันจะไม่พบการหักเหแสง 2 แนว เนื่องจากมีการกระจายแสงในทิศทางเดียว แต่จะเห็นในผลึกเหลวชนิดเป็นชั้นหรือหกเหลี่ยม



5. การวัดความหนืด เพื่อใช้ควบคุมคุณภาพในการเตรียมแล้ว ยังใช้ในการพยากรณ์ลักษณะการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวได้อย่างคร่าว ๆ

นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบโครงสร้างระดับไมโครใช้เทคนิคจุลทรรศน์ศาสตร์ เช่น กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่านชนิดการแตกในภาวะเยือกแข็ง (Freeze-Fracture Transmission Electron Microscope, FF-TEM) และกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดชนิดครายโอฟิล (Cryo-Field Emission Scanning Electron Microscope, Cryo-FESEM)

### 2.5.7 ข้อดีและข้อเสียของไมโครอิมัลชัน

#### ข้อดีของไมโครอิมัลชัน

1. ไมโครอิมัลชันมีวิธีการเตรียมที่ไม่ยุ่งยาก สามารถเตรียมได้ง่ายจากการผสมน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสม โดยไม่ต้องให้พลังงานเข้าไป
2. ไมโครอิมัลชันมีลักษณะค่อนข้างใสจนถึงใส ทำให้มีความสวยงาม นำมาใช้
3. มีความคงตัวทางกายภาพ มีความคงตัวทางอุณหพลศาสตร์
4. เป็นระบบตัวทำละลายที่ดีที่ช่วยเพิ่มการละลายของสารสำคัญที่ละลายได้ดีทั้งในไขมันและน้ำ
5. ไมโครอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำสามารถนำมากรองได้
6. ไมโครอิมัลชันที่มีความหนืดไม่สูงมาก ไม่ทำให้รู้สึกเจ็บปวดเมื่อฉีดเข้าสู่ร่างกาย

#### ข้อเสียของไมโครอิมัลชัน

1. มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวในปริมาณสูงอาจเกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังได้
2. ระบบไมโครอิมัลชันมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงเปลี่ยนแปลงของระบบที่เกี่ยวข้อง เช่น สัดส่วนของสารที่ใช้ อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นต้น

### 2.6 การทดสอบความคงตัว

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีคุณภาพนั้นต้องเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานด้านคุณภาพ ความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพในการใช้ตามสรรพคุณที่อ้างถึง จึงต้องมีการศึกษาความคงตัว เพื่อความปลอดภัย ได้มาตรฐาน มีปริมาณสารสำคัญตลอดระยะเวลาตามอายุผลิตภัณฑ์ (shelf life) เนื่องจากการเก็บรักษาในสภาวะที่ไม่เหมาะสมหรือการเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ อาจก่อให้เกิดการเสื่อมสภาพทั้งทางกายภาพและเคมีส่งผลต่อประสิทธิภาพในการใช้ และอาจเกิดการเสื่อมสลายที่ เกิดพิษต่อร่างกาย

### 2.6.1 การประเมินความคงสภาพด้านต่าง ๆ <sup>(31)</sup>

1. ความคงสภาพทางกายภาพ หมายถึงความคงสภาพในลักษณะต่าง ๆ ที่สัมผัสได้ด้วยประสาทสัมผัสทั้ง 5 ได้แก่ สี กลิ่น รส ความหนืด ค่าความเป็นกรดต่าง และคุณสมบัติการไหล เป็นต้น
2. ความคงสภาพทางเคมี หมายถึง ความคงสภาพในคุณสมบัติทางด้านเคมีของตัวยาหรือสารออกฤทธิ์ ซึ่งประเมินโดยการวิเคราะห์สารสำคัญในตำรับ
3. ความคงสภาพทางจุลชีววิทยา หมายถึง ความคงสภาพของวัตถุดิบเสียในตำรับ โดยเฉพาะตำรับที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบซึ่งอาจเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้
4. ความคงสภาพทางการรักษา หมายถึง ตัวยายังคงฤทธิ์ทางการรักษาหรือตามสรรพคุณที่อ้างอิงตลอดจนอายุของผลิตภัณฑ์
5. ความคงสภาพทางด้านความเป็นพิษ หมายถึงความเป็นพิษไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตลอดอายุของผลิตภัณฑ์

### 2.6.2 วิธีการทดสอบความคงตัว <sup>(50)</sup>

การทดสอบแบบเร่ง (accelerated testing) หมายถึง การศึกษาในสภาวะที่จะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาการสลายตัวหรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือฟิสิกส์ของตัวยาหรือสารออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ ซึ่งวิธีนี้จะลดระยะเวลาในการศึกษามากกว่าการทดสอบระยะยาว ซึ่งสามารถทำได้ 3 วิธี

1. การเร่งอุณหภูมิ อาจทำโดยการใช้อุณหภูมิต่ำสลับสูง ซึ่งมีลักษณะคือ
  - 1) heating-cooling testing โดยเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 45 °C 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบทำการทดสอบจำนวน 6-8 รอบ แล้วนำผลิตภัณฑ์มาประเมินผลโดยตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น การแยกชั้น การเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น การตกตะกอน เป็นต้น และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น pH ความหนืด ขนาด การกระจายของขนาดอนุภาค ปริมาณสารสำคัญ เป็นต้น
  - 2) freeze-thaw testing โดยเก็บในช่อง freeze ที่อุณหภูมิ -20 °C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ จากนั้นทำการทดสอบจำนวน 6-8 รอบ แล้วนำมาผลิตภัณฑ์มาประเมินผลที่จุดเริ่มต้นและจุดสุดท้าย
2. การเร่งโดยแสง เนื่องจากแสงอาจมีผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน จากการที่แสงทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น เร่งให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีบางชนิด หรือเร่งการสลายตัวของสารที่เป็นส่วนประกอบในสูตรตำรับ เช่น สารก่ออิมัลชัน น้ำมันบางชนิด สารแต่งสี สารแต่งกลิ่น เป็นต้น ทำให้ตำรับเปลี่ยนไปจากเดิม ซึ่งสามารถทดสอบได้หลายวิธี เช่น นำผลิตภัณฑ์ใส่ในภาชนะที่ปิดสนิทแล้วแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด

ชุดที่ 1 เป็นชุดควบคุม เก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง และพันแสง

ชุดที่ 2 นำไปตากแดดนาน 1 สัปดาห์แล้วนำมาประเมินผลเทียบกับกลุ่ม

ชุดที่ 3 นำไปตั้งไว้ริมหน้าต่างเป็นเวลา 3 เดือน แล้วนำมาเปรียบเทียบกับชุดควบคุมหรืออาจทำการทดลองภายใต้แสง uv วิธีนี้มีข้อเสีย คือ เปรียบเทียบจำนวนชั่วโมงภายใต้แสง uv ให้เป็นเวลาภายใต้แสงปกติได้ยาก และการใช้ closed uv cabinet ซึ่งมี uv lamp จะเกิดความร้อนปริมาณมากภายในกล่อง จึงควรควบคุมอุณหภูมิด้วยเพื่อไม่ให้มีผลต่อการวิเคราะห์

3. การเร่งโดยใช้แรงโน้มถ่วง อาจทำโดยการปั่น การเขย่า หรือการปั่นด้วยความเร็วสูง ซึ่งเป็นการเร่งการแยกชั้นของอิมัลชันได้ แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ การทดสอบอิมัลชันที่ไม่ใช่ simple mixture พบว่าที่แรงมากกว่า 1 g จะสามารถสลายแรง cohesiveness ได้ หรือการปั่นที่ 2000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที อิมัลชันจะเกิดการแยกได้ ในขณะที่การเก็บอิมัลชันในสภาวะปกตินาน 2 เดือน อิมัลชันยังมีความคงตัวอยู่ การทดสอบความคงตัวในสภาพเร่งนี้ สามารถเลือกได้หลายวิธีขึ้นกับชนิดและความเหมาะสมของผลิตภัณฑ์ อีกทั้งมีข้อเสนอกเกี่ยวกับแนวทางการปฏิบัติที่เป็นที่ยอมรับสำหรับการทำนายอายุ หรือความคงสภาพของอิมัลชัน พร้อมเกณฑ์การตัดสิน ดังนี้

1) อิมัลชันต้องคงสภาพ หรือไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อดังตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 45-50 °C อย่างน้อย 2-3 เดือน หรืออุณหภูมิ 37 °C อย่างน้อย 5-6 เดือน หรืออุณหภูมิห้องอย่างน้อย 12-18 เดือน

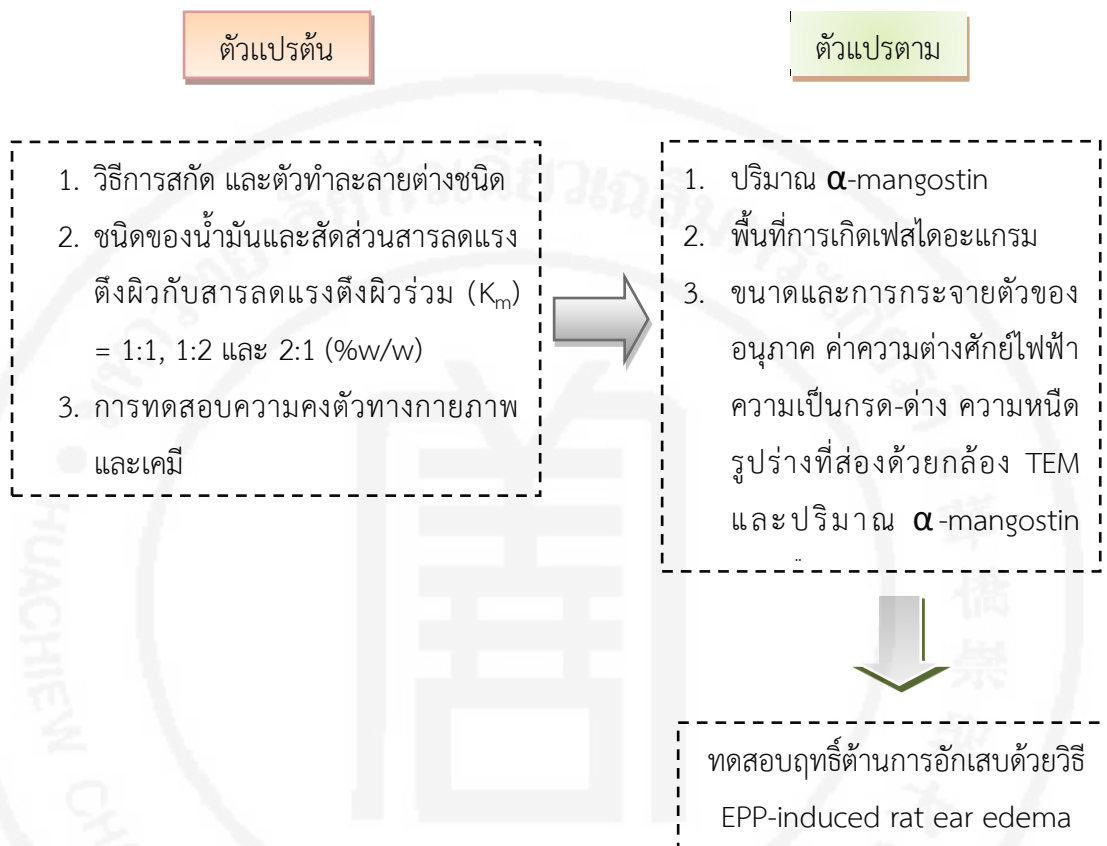
2) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือการแยกชั้นภายหลังการทดสอบที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 1 เดือน หรือ freeze-thaw testing จำนวน 2-3 รอบ หรือ heating-cooling testing จำนวน 6-8 รอบ

3) ไม่พบการแยกชั้นภายหลังการปั่นที่ 2000-3000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง หรือการเขย่าที่มีความเร็ว 60 ครั้งต่อนาที นาน 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องและ 45 °C

การทดสอบความคงสภาพระยะยาว (long term testing) หมายถึง การศึกษาความคงสภาพที่สภาวะการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ตามที่แจ้งไว้ หากฉลากไม่แจ้งสภาวะการเก็บให้เก็บตามภูมิอากาศของประเทคนั้น ๆ

## 2.7 กรอบแนวคิดในงานวิจัย

### แผนภูมิที่ 2 กรอบแนวคิดที่ใช้ในการศึกษา



### บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

##### 3.1.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (BINDER<sup>®</sup>, Germany)
2. เครื่องบด (RetschMühle<sup>®</sup>, Germany)
3. เครื่องชั่งความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO<sup>®</sup>, Switzerland)
4. เครื่องกวนสาร/เครื่องคนผสมชนิดแม่เหล็ก (magnetic stirrer with heating) (Model MR3001 K8, Heidolph<sup>®</sup>, Germany)
5. หม้อให้ความร้อน (heating mantle) (Barnstead/Electrothermal, Model EM1000/CEX1, England)
6. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) (Model 2510E MT, Brasonic<sup>®</sup> Ultrasonic Cleaner, USA)
7. ชุดสกัดแบบต่อเนื่อง (soxhlet apparatus)
8. เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) (Model Laborota 4011, Heidolph<sup>®</sup>, Germany)
9. ตู้ดูดควันไอสารเคมี (fume hood) (Model 150, Flexlab<sup>®</sup>, Thailand)
10. ตู้เย็น (Model MR-F50C-ST, Mitsubishi<sup>®</sup>, Mitsubishi Co. Ltd., Japan)
11. เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) (Vortex Genie<sup>®</sup> 2, USA)
12. เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Delsa<sup>™</sup> Nano C Zeta Potential And Submicron Size Analyzer, Beckman Coulter<sup>®</sup>, USA)
13. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (laboratory pH meter) (SCHOTT<sup>®</sup> Instruments, Model Lab 850 set, Germany)
14. เครื่องวัดค่าความหนืด (viscometer) (Brookfield<sup>®</sup> DV-II + PRO Digital Viscometer, BROOKFIELD ENGINEERING LABORATORIES, USA)
15. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) (Thermo Electron Corporation, USA)
16. ตู้อบควบคุมอุณหภูมิความร้อนและความชื้นสัมพัทธ์

17. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope, TEM)

### 3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ถาด
2. ปิเปตแบบปริมาตร (transfer pipette) ขนาด 1, 2, 5, 10 mL (Precicolor, Germany)
3. ลูกยางดูดปิเปต (rubber bulb)
4. แท่งคนแม่เหล็ก (magnetic bar) (Heidolph<sup>®</sup>, Germany)
5. ตัวให้ความร้อน
6. กรวยแยก (separating funnel)
7. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (filter papers whatman<sup>®</sup> No.1)
8. กระดาษกรอง (sartolon polyamide และ cellulose acetate filter, Germany)
9. ปั๊ม (vacuum pump) (Model DOSV505BN, Gast Manufacturing Inc. A Unit of IDEX Corporation, USA)
10. ชุดกรอง (KONTES<sup>®</sup> ULTRA-WARE<sup>®</sup>, Fisher Scientific, Canada)
  - ตัวกรอง 30 mL (Mobile Phase Filter Assembly)
  - ตัวฐานรับสาร (Fritted Glass Support Base)
  - ที่หนีบอะลูมิเนียม (47mm Stainless Steel Support)
  - ที่รับสาร ขนาด 1,000 mL (Replacement Flask)
11. ขวดก้นกลม (round bottle flask) ขนาด 1,000 mL (Heidolph<sup>®</sup>, Germany)
12. ขวดรับสาร (receiving flask) ขนาด 1,000 mL (Heidolph<sup>®</sup>, Germany)
13. เตาให้ความร้อน (hot plate)
14. กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 100 mL (Pyrex<sup>®</sup> Germany)
15. กรวยแยก (separatory funnel) ขนาด 250, 500 mL
16. ขวดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 mL (Vite, Germany)
17. บิวเรต (burette)
18. ที่จับบิวเรต/ขาตั้ง (stand & clamp)
19. ฟิลเตอร์กรอง (syringe filter)
20. ขวดไวอัลไซ (vial) ขนาด 2 mL
21. ภาชนะบรรจุแก้วภาคเคลื่อนที่ ขนาด 1,000 mL (SCHOTT DURAN<sup>®</sup>, Germany)

22. คอลัมน์ (column) ชนิดรีเวอร์สเฟส ซี-18 (reversed phase C<sub>18</sub>) (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 mm และยาว 250 mm, luna 10 $\mu$  C<sub>18</sub> phenomenex<sup>®</sup>, USA)
23. ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50, 100, 150, 250 mL (Pyrex<sup>®</sup>, Germany)
24. แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)
25. หลอดหยด (dropper)
26. หลอดทดลองพร้อมฝา (test tube) ขนาด 10 mL (Pyrex<sup>®</sup>, Germany)
27. ที่วางหลอดทดลอง (test tube rack)

### 3.1.3 วัตถุดิบและสารเคมี

1. เปลือกมังคุดสด
2. methanol, AR Grade (Merck, Germany)
3. dichloromethane, AR Grade (Fisher Chemical, UK)
4. ethanol, AR Grade (Merck, Germany)
5. methanol, HPLC Grade (Merck, Germany)
6. acetonitrile, HPLC Grade (Merck, Germany)
7. น้ำปราศไอออน (deionized water, คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ)
8. สารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน ( $\alpha$ -Mangostin) ความบริสุทธิ์  $\geq 98.0\%$  (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, Singapore)
9. Oleic acid (Q-R $\ddot{e}$ C<sup>TM</sup>, Newzealand)
10. Brij30 (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, Singapore)
11. Isopropyl Myristate (บริษัท เอกตรงเคมีภัณฑ์ (1985) จำกัด ประเทศไทย)
12. Propylene Glycol (บริษัท วันรัต (หน้าเขี้ยว) จำกัด ประเทศไทย)

## 3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

### 3.2.1 การเตรียมวัตถุดิบสมุนไพร

นำเปลือกมังคุดมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-55 °C นาน 48 ชั่วโมง ในตู้อบลมร้อน จนกระทั่งเปลือกมังคุดแห้ง ลดขนาดเปลือกมังคุดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ด้วยเครื่องบด ผสมให้เข้ากัน บันทึกน้ำหนักเปลือกมังคุดบดหยาบ เก็บในที่แห้ง หลีกเลียงความชื้นจนกว่าจะนำมาใช้

### 3.2.2 การศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารสำคัญจากเปลือกมังคุดในปริมาณสูงสุด

แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกใช้ตัวทำละลาย methanol และกลุ่มที่สองใช้ตัวทำละลาย 95% ethanol โดยทุกกลุ่มศึกษาจะทำการสกัดด้วยวิธีการหมัก (maceration) การสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียง (ultrasonication) และการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลต (soxhlet apparatus) ซึ่งทุกวิธีจะใช้เปลือกมังคุดบดหยาบประมาณ 5 g ปริมาตรตัวทำละลาย 150 mL สกัดนาน 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองแยกสารสกัดหยาบด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 และนำไประเหยภายใต้ความดันด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศแบบหมุน แต่แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง

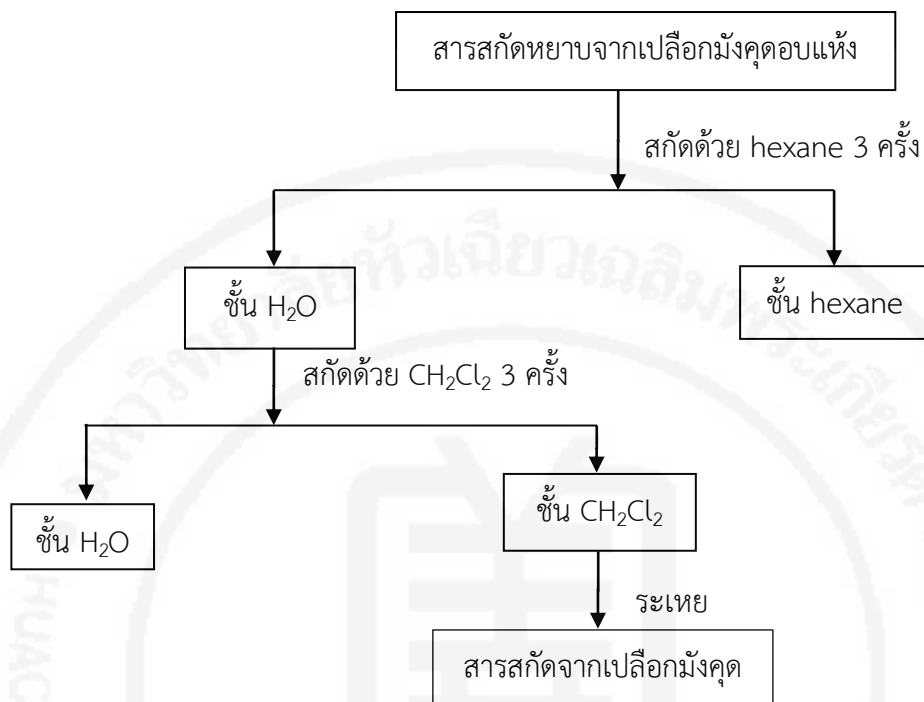
### 3.2.3 การแยกสารรบกวนออกจากสารสกัดหยาบที่ได้จากผงเปลือกมังคุดด้วยการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction)

การทำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดให้บริสุทธิ์ขึ้นด้วยวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลว มีขั้นตอนดังนี้ (แผนภูมิที่ 3)

1. นำสารสกัดหยาบที่ระเหยแล้วมาสกัดแยกสารรบกวนด้วย hexane นำขึ้น hexane ทิ้งไป (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)
2. นำขึ้นน้ำมาพาร์ทิชัน (partition) ด้วย dichloromethane (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)
3. นำสารขึ้น dichloromethane ที่สกัดแยกได้มาระเหยให้แห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศแบบหมุน อุณหภูมิไม่เกิน 45 °C จนได้สารสกัดเข้มข้น
4. ปรับปริมาตรด้วย methanol (HPLC Grade) ใน volumetric flash ขนาด 10 mL เก็บสารสกัดในภาชนะกันแสงและปิดสนิทที่อุณหภูมิที่ 2-8 °C จนกว่าจะใช้



แผนภูมิที่ 3 ขั้นตอนการสกัดแยกส่วนของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดด้วยวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction)



### 3.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี external standard technique

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (standard solutions) เตรียมสารละลายมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin ใน methanol ให้มีความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 mg/mL ฉีดสารละลายมาตรฐานเข้าในเครื่อง HPLC สภาวะที่พัฒนา ดังนี้

วัฏภาคคงที่ (stationary phase) : คอลัมน์ชนิดรีเวอร์สเฟส ซี-18 (reversed phase C<sub>18</sub>) เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 mm และยาว 250 mm

วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) : สารละลายผสม acetonitrile และ น้ำ ขับเคลื่อนด้วยอัตราส่วนที่ต่างกันแบบเกรเดียนต์ (gradient elution) ดังตารางที่ 3

อัตราการไหล (flow rate) : 1 mL/min

เครื่องตรวจวัด : ไดโอดอะเรย์ดีเทกเตอร์ (diode array detector) ที่ความยาวคลื่น 320 nm

ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด (injection volume) : 20  $\mu$ L

เวลาที่ใช้ (time) : 35 min

ตารางที่ 3 อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ ณ เวลาต่าง ๆ

เวลา (min)	ร้อยละ (โดยปริมาตร)		อัตราการไหล (mL/min)
	น้ำ (%)	Acetonitrile (%)	
0	60	40	1
5	10	90	1
10	10	90	1
11	0	100	1
20	0	100	1
21	60	40	1
35	60	40	1

### 3.2.5 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

ในการวิเคราะห์สารด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบความถูกต้อง ความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ศึกษาเพื่อให้แน่ใจว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้มีความน่าเชื่อถือ การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์มีดังนี้

#### 1. ความเฉพาะเจาะจง (selectivity)

เป็นความสามารถของวิธีที่จะตรวจวิเคราะห์เฉพาะสารที่ต้องการวิเคราะห์เท่านั้นโดยปราศจากการรบกวนจากสารอื่นที่มีในตัวอย่างทำโดยตรวจสอบผลการวิเคราะห์สารสกัดเปลือกมังคุด ต้องไม่มีพีคอื่นรบกวนพีคของ  $\alpha$ -mangostin

#### 2. ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity)

การหาความสัมพันธ์เชิงเส้น เป็นการทดสอบโดยการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin เทียบกับพื้นที่ใต้พีค ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นแสดงด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient,  $r^2$ ) โดยทั่วไปเกณฑ์การยอมรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์จะต้องมีค่าอยู่ระหว่าง 0.995-1.000<sup>(52)</sup>

การสร้างกราฟมาตรฐานของ  $\alpha$ -mangostin โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin ใน methanol ให้มีความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 mg/mL แต่ละตัวอย่างวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีคทั้ง 5 ความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน สมการเส้นตรงที่ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin

### 3. ความแม่นยำ (accuracy)

ความแม่นยำเป็นคุณสมบัติหลักที่สำคัญของการวิเคราะห์ บอกลถึงความแม่นยำของการวิเคราะห์ที่วัดได้มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด แสดงว่าการวิเคราะห์นั้นมีความถูกต้องสูง ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์รายงานค่าเป็นร้อยละการกลับคืน (% recovery)

การทดสอบความแม่นยำใช้วิธี standard addition method ทำโดยการเติมสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนลงในสารสกัดเปลือกมังคุด โดยครอบคลุมช่วงความเข้มข้นของปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุด 3 ระดับที่ร้อยละ 75, 100, และ 125 แต่ละตัวอย่างวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง นำผลวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณร้อยละการกลับคืน ได้ดังนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{A-B}{C} \times 100$$

เมื่อ A = ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดเปลือกมังคุดที่เติมสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin หน่วยเป็น mg/mL

B = ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดเปลือกมังคุด หน่วยเป็น mg/mL

C = ปริมาณสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin ที่เติมลงไปในการสกัดเปลือกมังคุด หน่วยเป็น mg/mL

เกณฑ์การยอมรับของร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วงร้อยละ 80.00-120.00 ในแต่ละระดับ<sup>(52)</sup>

### 4. ความเที่ยง (precision)

ความเที่ยงของการวิเคราะห์เป็นการทดสอบว่าวิธีที่เลือกใช้และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ให้ผลใกล้เคียงในการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันซ้ำ ๆ หลายครั้งภายใต้สภาวะที่กำหนดและผลการทดสอบที่ได้แสดงในรูปของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD, relative standard deviation) และจะต้องมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไม่เกิน 2<sup>(53)</sup> การทดสอบแบ่งเป็นการทดสอบในวันเดียวกันและการทดสอบต่างวัน

ทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกัน (intra-day : repeatability) ทำโดยนำสารสกัดเปลือกมังคุดฉีดซ้ำ 6 ครั้งในวันเดียวกัน

ทดสอบความเที่ยงต่างวัน (inter-day : reproducibility) ทำโดยนำสารสกัดเปลือกมังคุดชนิดเดียวกับการทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกันมาฉีดซ้ำ 6 ครั้ง ในวันที่ 4 นับถัดจากการทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกัน

### 3.2.6 การศึกษาเฟสไดอะแกรมของระบบที่ประกอบด้วย น้ำ น้ำมัน และสารลดแรงตึงผิว

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาอัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมัน น้ำ และสารลดแรงตึงผิวที่เกิดระบบไมโครอิมัลชันด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างจำนวนมากภายใต้สภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิและความดันคงที่ โดยแต่ละเฟสไดอะแกรมเกิดจากการเตรียมน้ำมัน ซึ่งได้แก่ Oleic acid หรือ IPM สารลดแรงตึงผิว คือ Brij30 ผสมกับสารลดแรงตึงผิวร่วม คือ Propylene Glycol ในอัตราส่วน ( $K_m$ ) 1:1, 1:2 และ 2:1 (% w/w) โดยปรับเปลี่ยนอัตราส่วนระหว่างน้ำมันต่อสารผสมลดแรงตึงผิว ดังนี้ 0.5:9.5, 1.0:9.0, 1.5:8.5, 2.0:8.0, 2.5:7.5, 3.0:7.0, 3.5:6.5, 4.0:6.0, 4.5:5.5, 5.0:5.0, 5.5:4.5, 6.0:4.0, 6.5:3.5, 7.0:3.0, 7.5:2.5, 8.0:2.0, 8.5:1.5, 9.0:1.0, 9.5:0.5 (% w/w) หลังจากนั้นเติมน้ำลงไปผสมในแต่ละอัตราส่วนลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมเขย่าสาร (vortex mixer) สังเกตผลการทดลองด้วยตาเปล่าหลังเตรียมเสร็จและภายหลังตั้งทิ้งไว้ 7 วัน ว่ามีลักษณะเป็นวัฏภาคเดียว (ของเหลวใสหรือโปร่งแสง) หรือไมโครอิมัลชัน คำนวณปริมาณสารที่ใช้คิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยมวลแล้วบันทึกผลลงในเฟสไดอะแกรมโดยใช้ซอฟต์แวร์ Chemix แสดงผลดังภาพที่ 18 และ 19

### 3.2.7 การเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน

พิจารณาจุดที่เหมาะสมในการเกิดไมโครอิมัลชันจากเฟสไดอะแกรมในข้อ 3.2.6 โดยเลือกจุดที่ใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อสารช่วยลดแรงตึงผิว  $\leq 65$  % ของแต่ละเฟสไดอะแกรมมาศึกษาต่อการเตรียมไมโครอิมัลชันพื้นฐาน โดยการชั่งสารแต่ละตัวตามน้ำหนักในตำรับผสมสารแต่ละชนิดให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปประเมินความคงตัวของตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  °C แสดงผลดังตารางที่ 10

### 3.2.8 การประเมินความคงตัวของตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน

นำตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานมาทำการตรวจวัดขนาดอนุภาคและค่าการกระจายตัวของอนุภาค (PDI) ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาค โดยใช้หลักการกระจายแสงแบบพลวัต แต่ละตัวอย่างทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง สูตรตำรับที่เหมาะสมจะต้องมีลักษณะภายนอกที่ดี ไม่เกิดการแยกชั้นตกตะกอน โปร่งใสหรือโปร่งแสง และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยไม่เกิน 150 nm หลังตั้งทิ้งไว้ 1 วันหลังเตรียมและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน แสดงผลดังตารางที่ 11

### 3.2.9 การเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด

นำตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานที่คงตัวจาก 3.2.8 มาศึกษาต่อโดยการเติมสารสกัดจากเปลือกมังคุด 0.25 % w/w มาละลายในวัฏภาคน้ำมันก่อน แล้วจึงผสมส่วนประกอบอื่น ๆ โดยการชั่งสารแต่ละตัวตามน้ำหนักในตำรับ ผสมสารแต่ละชนิดให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปประเมินความคงตัวของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  °C (ดังภาพที่ 20)

### 3.2.10 การตรวจสอบสัณฐานวิทยาและโครงสร้าง (morphology and structure) ของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด

เลือกตัวอย่างตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดมาที่คงตัวทำการตรวจสอบสัณฐานวิทยาและโครงสร้างของไมโครอิมัลชันอิมัลต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) (ดังภาพที่ 21)

### 3.2.11 การประเมินความคงตัวทางกายภาพของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด

#### การประเมินความคงตัวสถานะเร่ง

นำตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดมาทดสอบในสภาวะร้อนสลับเย็น (heating-cooling stability) ที่อุณหภูมิ 45 °C สลับที่ 4 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ ตำรับที่เหมาะสมต้องไม่เกิดการแยกชั้น

#### การประเมินความคงตัวระยะยาว

นำตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดมาทำการตรวจวัดขนาดอนุภาคและค่าการกระจายตัวของอนุภาค (PDI) ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาค โดยใช้หลักการกระจายแสงแบบพลวัต แต่ละตัวอย่างทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง สูตรตำรับที่เหมาะสมจะต้องมีลักษณะภายนอกที่ดี ไม่เกิดการแยกชั้น ตกตะกอน โปร่งใสหรือโปร่งแสง และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยไม่เกิน 150 nm วัดค่าซีต้าโพเทนเชียล วัดความหนืดและวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง หลังทิ้งไว้ 1 วันหลังเตรียมและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน แสดงผลดังตารางที่ 12

### 3.2.12 การประเมินความคงตัวทางเคมีของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด

#### การประเมินความคงตัวสถานะเร่ง

นำตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดที่ทดสอบในสภาวะร้อนสลับเย็น (heating-cooling stability) ที่อุณหภูมิ 45 °C สลับอุณหภูมิที่ 4 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ แล้วไม่เกิดการแยกชั้น มาวิเคราะห์หาปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ก่อนและหลังการทดสอบ โดยเจือจางไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด 1 mL และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 10 mL ฉีดเข้าในเครื่อง HPLC โดยใช้สภาวะเช่นเดียวกับ 3.2.4 แต่ละตัวอย่างวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำไปปริมาณของ  $\alpha$ -mangostin โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานและวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วย Paired T-Test แสดงผลดังตารางที่ 13

### การประเมินความคงตัวระยะยาว

นำตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดทดสอบที่อุณหภูมิห้อง 4 °C และ 45 °C ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ก่อนและหลังทดสอบ เมื่อครบ 1 เดือน เช่นเดียวกับ การประเมินความคงตัวสภาวะเร่ง แสดงผลดังตารางที่ 14

#### 3.2.13 การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบด้วยวิธี EPP-induced ear edema in rats

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบด้วยวิธี EPP-induced ear edema in rats ทำโดยกระตุ้นให้มีการบวมของใบหูโดยใช้ Ethyl-Phenylpropiolate (EPP) ในหนูขาว เพื่อจำลองการอักเสบแบบเฉียบพลัน โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการบวมที่มีสาเหตุมาจากการเพิ่มขึ้นของการไหลของเหลวของหลอดเลือด (vascular permeability) การทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด นำสารทั้ง 2 กลุ่มมาเจือจางด้วยอะซีโตนในอัตราส่วน 1:1 และยามาตรฐาน Phenylbutazone มาละลายในตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานที่ความเข้มข้น 10% w/v หลังจากนั้นละลายด้วยอะซีโตน ความเข้มข้น 5% w/v ทดสอบกับหนูสายพันธุ์ wistar เพศผู้ น้ำหนักตัวประมาณ 135 กรัม กลุ่มละ 6 ตัว ก่อนทดสอบวัดความหนาของใบหูหนูด้วย pocket thickness gage หลังจากนั้นทา 5% EPP v/v ในอะซีโตน 20  $\mu$ l ที่ใบหูด้านนอกและด้านใน (แต่ละที่ 10  $\mu$ l) ด้านขวาเพื่อชักนำให้เกิดการบวมขึ้น ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ทดสอบกับกลุ่มตัวอย่าง ปริมาณ 20  $\mu$ l ด้วยวิธีเดียวกับ EPP วัดความหนาของใบหูที่เวลา 30 นาที 1 และ 2 ชั่วโมง นำผลการทดลองที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการบวมของหูหนูที่เวลาต่าง ๆ จากสูตร  $ED = ET_x - ET_0$

$$\% EDI = \frac{ED_c - ED_t}{ED_c} \times 100$$

$ET_x$  = ความหนาของใบหู (ไมโครเมตร) ที่เวลา X

$ET_0$  = ความหนาของใบหู (ไมโครเมตร) ที่เวลา 0

ED = ความหนาของใบหูหนูหลังกระตุ้นให้เกิดการบวม (ไมโครเมตร)

$ED_c$  = ความหนาของใบหูหนูหลังกระตุ้นให้เกิดการบวม (ไมโครเมตร) ของกลุ่มควบคุมที่เวลา X

$ED_t$  = ความหนาของใบหูหนูหลังกระตุ้นให้เกิดการบวม (ไมโครเมตร) ของกลุ่มทดลองที่เวลา X

% EDI = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการบวมของใบหูหนูของกลุ่มทดลองที่เวลา x

### 3.2.14 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

ข้อมูลการทดลองของแต่ละตัวอย่างวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง แสดงผลการทดลองด้วยค่าเฉลี่ย (arithmetic mean) ร้อยละ (percentage) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $\bar{x}\pm SD$ ) วิเคราะห์ความแปรปรวน 2 ทาง (Two-Way ANOVA) โดยใช้การเปรียบเทียบพหุคูณ (multiple comparison test) ตามการทดลองของ Tukey's Post Hoc Test และ Paired T-Test มีค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ  $p < 0.05$  การวิเคราะห์คำนวณค่าสถิติและข้อมูลกราฟฟิกทั้งหมดใช้โปรแกรม Excel 2013



บทที่ 4  
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การเตรียมวัตถุดิบสมุนไพร

นำเปลือกมังคุดสดมาทำให้แห้งด้วยการอบที่อุณหภูมิ 50-55 °C (เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง) ได้เปลือกมังคุดอบแห้ง 2.76 กิโลกรัม

ภาพที่ 10 ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบสมุนไพร

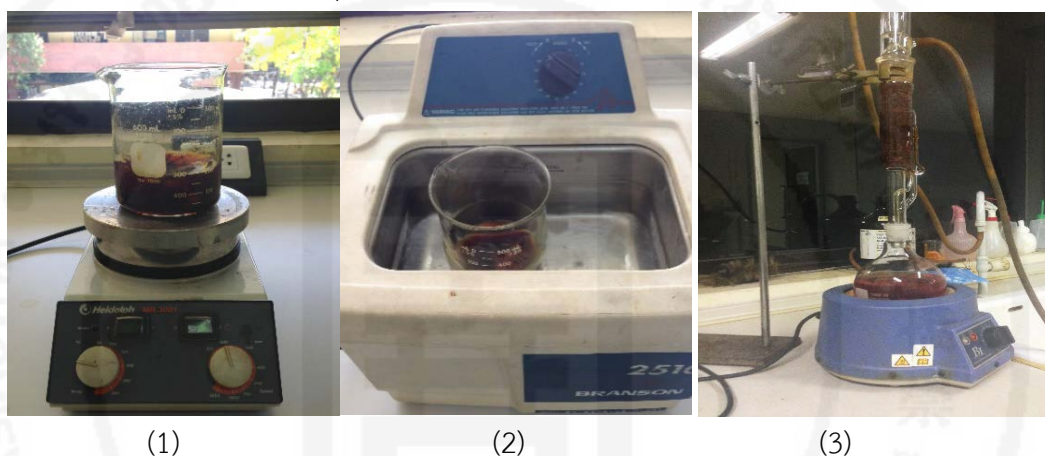




#### 4.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดและตัวทำละลายในการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดบดหยาบในปริมาณสูงสุด

จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดและตัวทำละลาย โดยศึกษาวิธีการสกัดแบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ การหมัก การใช้คลื่นเสียง และการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดซอกเลต และแต่ละวิธีสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ methanol และ 95% ethanol ดังภาพที่ 11 ได้ผลดังตารางที่ 4-5

ภาพที่ 11 การสกัด  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดบดหยาบด้วย (1) วิธีการหมัก (2) การใช้คลื่นเสียง และ (3) การสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดซอกเลต



จากผลการเปรียบเทียบวิธีการสกัดและตัวทำละลายดังตารางที่ 4 พบว่าหากใช้ methanol เป็นตัวทำละลายในการสกัด วิธีสกัดที่สามารถสกัดสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดบดหยาบได้มากที่สุด คือ การสกัดแบบต่อเนื่อง โดยสามารถสกัด  $\alpha$ -mangostin เป็นปริมาณ  $3.84 \pm 0.26$  mg/g รองลงมาเป็นวิธีการสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียง เป็นปริมาณ  $2.91 \pm 0.33$  mg/g และวิธีการสกัดด้วยการหมัก เป็นปริมาณ  $2.54 \pm 0.29$  mg/g ตามลำดับ

จากตารางที่ 5 พบว่าหากใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลายในการสกัด วิธีการสกัดที่สามารถสกัดสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดบดหยาบได้มากที่สุด คือ การสกัดแบบต่อเนื่อง เป็นปริมาณ  $1.66 \pm 0.06$  mg/g รองลงมาเป็นวิธีการสกัดด้วยการหมัก เป็นปริมาณ  $0.86 \pm 0.02$  mg/g และวิธีการสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียง เป็นปริมาณ  $0.70 \pm 0.10$  mg/g ตามลำดับ

ดังนั้นการสกัดเปลือกมังคุดแบบต่อเนื่องด้วยชุดสกัดซอกเลตโดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย เป็นวิธีที่สามารถสกัดสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin ออกจากเปลือกมังคุดบดหยาบในปริมาณมากที่สุด การสกัดสารแบบต่อเนื่องด้วยชุดสกัดซอกเลตเป็นเทคนิคที่ถูกเลือกมาสกัดเปลือกมังคุดเนื่องจากชุดสกัดซอกเลตเป็นระบบปิด ทำให้ตัวทำละลายสามารถเคลื่อนที่หมุนเวียนไปเรื่อย ๆ ทำให้

การสกัดสมบูรณ์จึงสามารถสกัดเอาสารสำคัญในเปลือกมังคุดได้มาก<sup>(33)</sup> สอดคล้องกับงานวิจัย<sup>(26)</sup> ข้อดีของการสกัดวิธีนี้ คือ ใช้ตัวทำละลายน้อย ไม่สิ้นเปลือง ใช้เวลาในการสกัดสั้น เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของตัวทำละลายทั้งสามชนิด พบว่าความเป็นขั้วของตัวทำละลายจากมากไปหาน้อย คือ ethanol > methanol พบว่า methanol เป็นสารที่ความเป็นขั้วปานกลาง ซึ่งน่าจะใกล้เคียงความมีขั้วของ  $\alpha$ -mangostin จึงสามารถละลายองค์ประกอบต่าง ๆ ในเปลือกมังคุดออกมาในปริมาณมากได้ สอดคล้องกับงานวิจัย<sup>(26,34,36)</sup> ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายหลายชนิดที่พบว่าการใช้ methanol เป็นตัวทำละลายในการสกัดที่ให้ปริมาณโททอลฟีนอลิกมากที่สุด

อีกทั้งเมื่อนำข้อมูลข้างต้นมาวิเคราะห์ค่าสถิติด้วย Two-Way ANOVA และ Tukey's Post Hoc Test พบว่าวิธีการสกัดและตัวทำละลายต่างชนิดกันมีผลต่อปริมาณ  $\alpha$ -mangostin แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 4

ดังนั้นจึงเลือกใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย ในการเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด เพื่อนำไปใช้ในการตั้งตำรับต่อไป

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบปริมาณ  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุด โดยการใช้ methanol เป็นตัวละลายในการสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีการหมัก การใช้คลื่นเสียง และการสกัดแบบต่อเนื่อง

ครั้งที่	การหมัก			การสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียง			การสกัดแบบต่อเนื่อง		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
1	2.5894	2.1650	2.9319	3.2446	3.4408	2.8044	3.9933	3.9248	3.6859
2	2.9208	2.5551	2.4402	2.6275	2.8469	3.1130	3.5311	4.2955	3.7758
3	2.3086	2.7594	2.1849	3.0699	2.3868	2.6787	3.6658	3.5471	4.1152
ค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวอย่าง	2.6063	2.4932	2.5190	2.9807	2.8915	2.8654	3.7301	3.9225	3.8590
ค่าเฉลี่ยทั้งหมด	2.5395			2.9125			3.8372		
ความเข้มข้น (mg/g $\pm$ SD)	2.54 <sup>a</sup> $\pm$ 0.29 mg/g			2.91 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33 mg/g			3.84 <sup>a</sup> $\pm$ 0.26 mg/g		

หมายเหตุ: A หมายถึง ตัวอย่างที่ 1, B หมายถึง ตัวอย่างที่ 2 และ C หมายถึง ตัวอย่างที่ 3

a หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ,  $p < 0.05$

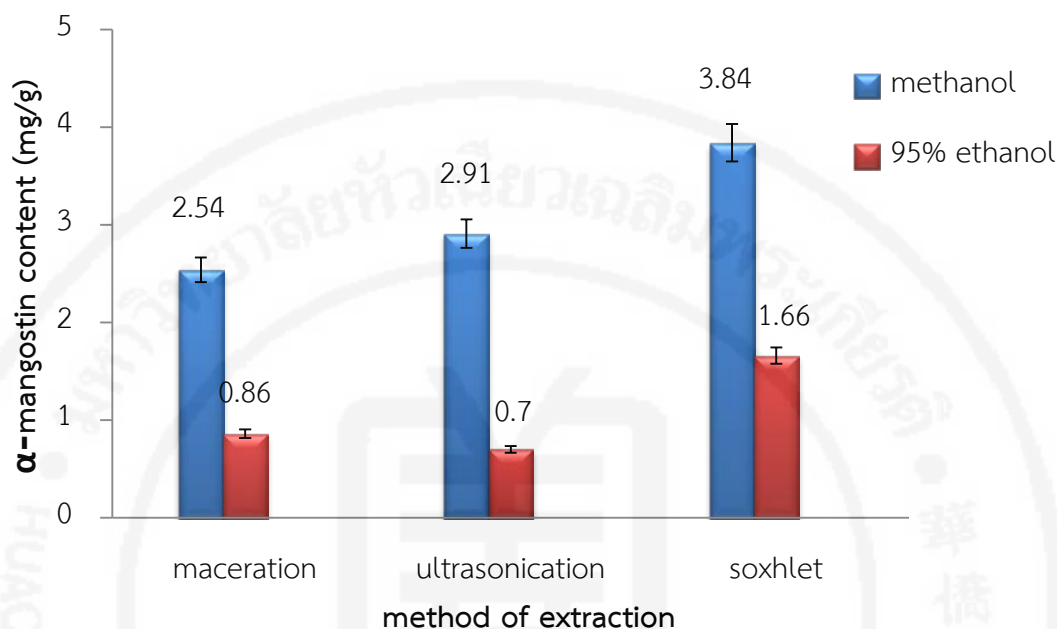
**ตารางที่ 5** ผลการเปรียบเทียบปริมาณ  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุด โดยการใช้ 95% ethanol เป็นตัวละลายในการสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีการหมัก การใช้คลื่นเสียง และการสกัดแบบต่อเนื่อง

ครั้งที่	การหมัก			การสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียง			การสกัดแบบต่อเนื่อง		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
1	0.8407	0.8991	0.8543	0.7808	0.6827	0.8327	1.6308	1.6541	1.7128
2	0.8339	0.8676	0.8673	0.5937	0.7071	0.8033	1.6141	1.7721	1.5696
3	0.8435	0.8945	0.8496	0.5870	0.5818	0.7733	1.6311	1.6406	1.7230
ค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวอย่าง	0.8394	0.8871	0.8571	0.6538	0.6572	0.8031	1.6253	1.6889	1.6685
ค่าเฉลี่ยทั้งหมด	0.8612			0.7047			1.6609		
ความเข้มข้น (mg/g $\pm$ SD)	0.86 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02 mg/g			0.70 <sup>a</sup> $\pm$ 0.10 mg/g			1.66 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06 mg/g		

หมายเหตุ: A หมายถึง ตัวอย่างที่ 1, B หมายถึง ตัวอย่างที่ 2 และ C หมายถึง ตัวอย่างที่ 3

a หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ,  $p < 0.05$

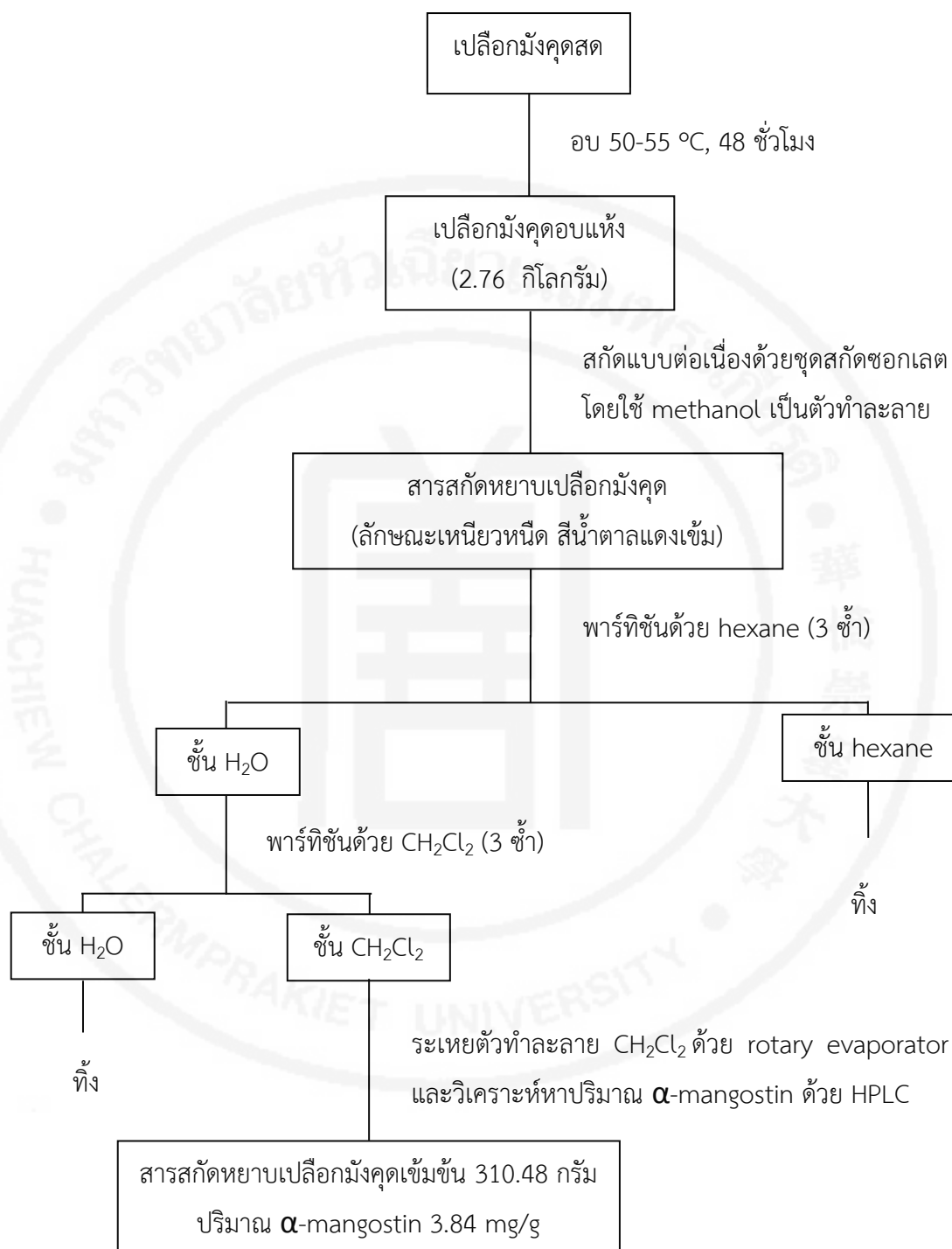
**แผนภูมิที่ 4** ผลการเปรียบเทียบปริมาณ  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดด้วยวิธีการหมัก การใช้คลื่นเสียง และการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยแต่ละวิธีใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ methanol และ 95% ethanol



#### 4.3 การแยกสารรบกวนออกจากสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกมังคุดบดหยาบ

นำเปลือกมังคุดแห้ง 2.76 กิโลกรัม นำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมาสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเล็ด โดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ได้มีสีแดงเข้ม มีกลิ่นเฉพาะตัว (ดังภาพที่ 12) เมื่อทำการระเหยแห้งสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเหนียวหนืด สีน้ำตาลแดง ซึ่งจะมีผลต่อการตั้งตำรับไมโครอิมัลชัน ดังนั้นก่อนจะนำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดไปใช้ควรกำจัดสารรบกวนหรือองค์ประกอบอื่นที่ไม่ต้องการออกไปเพื่อให้สารออกมีความเข้มข้นมากขึ้นและลดการรบกวนกระบวนการตั้งตำรับ โดยแยกสารรบกวนออกจากสารสกัดโดยการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction) โดยใช้ hexane และ dichloromethane เป็นตัวทำละลาย ดังแผนภูมิที่ 5 เมื่อทำสารสกัดหยาบให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุน สารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเหนียวหนืด สีน้ำตาลอ่อน (ดังภาพที่ 13 และ 14) ปริมาณ 310.48 กรัม ปริมาณสารสกัดที่ได้เมื่อเทียบกับน้ำหนักพืชแห้งที่นำมาสกัดคิดเป็นร้อยละผลได้ (% yield) เท่ากับร้อยละ 11.25 และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ  $\alpha$ -mangostin พบว่ามีปริมาณสารสำคัญเท่ากับ 3.84 mg/g

แผนภูมิที่ 5 การเตรียมสารสกัดหยาบและการแยกสารรบกวนจากเปลือกมังคุด



ภาพที่ 12 สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ได้จากการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลต



ภาพที่ 13 สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดหลังการแยกสารรบกวนออกโดยการสกัดของเหลวด้วยของเหลว และนำมาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแห้งชนิดหมุน





ภาพที่ 14 ลักษณะและสีของสารสกัดเปลือกมังคุดก่อนแยกสารรบกวน (ซ้าย) และหลังแยกสารรบกวน (ขวา)



#### 4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี external standard technique

วิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยเครื่อง HPLC (ดังภาพที่ 15) โดยใช้สภาวะ ดังนี้

วัฏภาคคงที่ : คอลัมน์ชนิดรีเวอร์สเฟส ซี-18 (reversed phase  $C_{18}$ ) เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 mm และยาว 250 mm

วัฏภาคเคลื่อนที่ : สารละลายผสม acetonitrile และ น้ำ ขับเคลื่อนด้วยอัตราส่วนที่ต่างกันแบบเกรเดียนต์ (gradient elution) ดังตารางที่ 3

อัตราการไหล : 1 mL/min

เครื่องตรวจวัด : ไดโอดอะเรย์ดีเทกเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 320 nm

ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด : 20  $\mu$ L

เวลาที่ใช้ : 35 min

พบว่า  $\alpha$ -mangostin เป็นสารสำคัญ (ดังภาพที่ 16) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin พบว่ามีค่ารีเทนชันไทม์ในสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ใกล้เคียงกันและไม่มีพีคซ้อนทับกัน (ดังภาพที่ 17) จึงยืนยันได้ว่า  $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุดเป็นสารตัวเดียวกันกับสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin



ภาพที่ 15 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC)



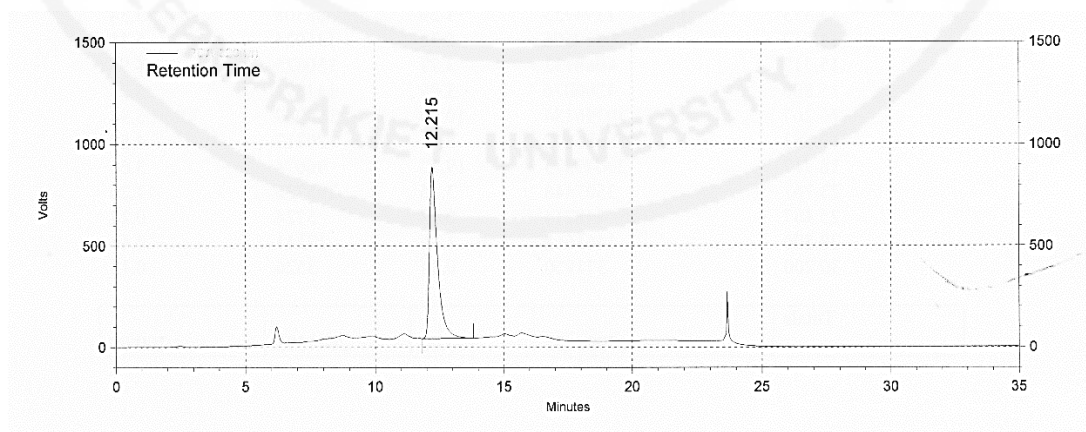
#### 4.5 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

##### 4.5.1 ความจำเพาะเจาะจง

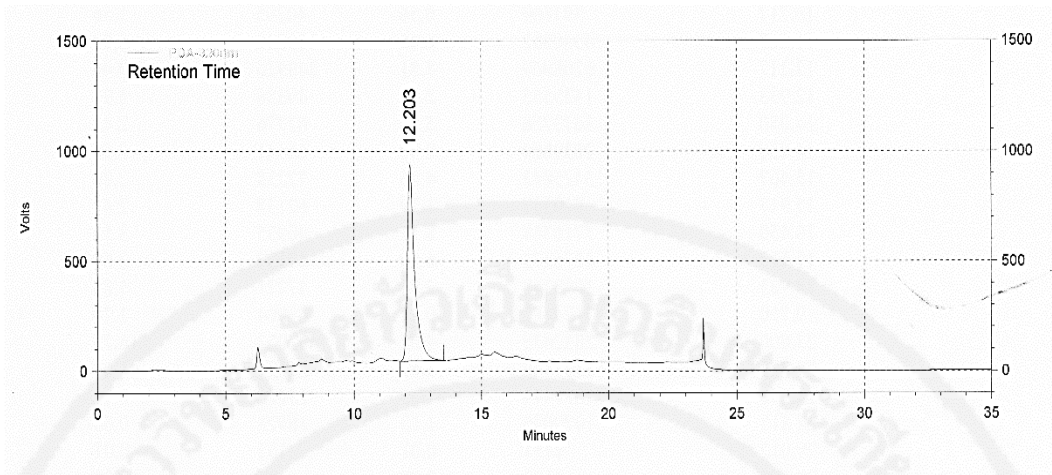
จากการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์สารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin กับการวิเคราะห์  $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุดที่มีองค์ประกอบอื่น รวมอยู่ด้วย พบว่าวิธีวิเคราะห์นี้สามารถตรวจวัด  $\alpha$ -mangostin ได้โดยไม่มีการรบกวนจากสารอื่น ๆ ในสารสกัดเปลือกมังคุด (ดังภาพที่ 16 และ 17)

ภาพที่ 16 โครมาโทแกรมของ  $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีการสกัดและ

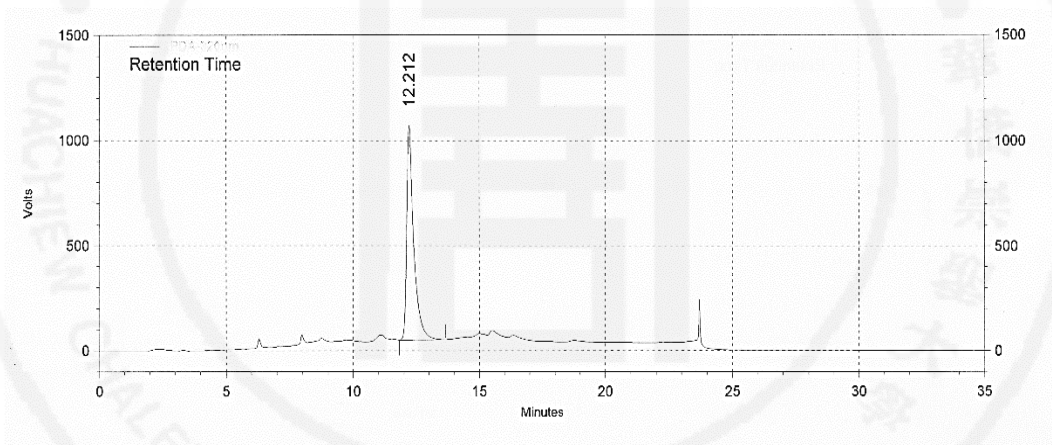
- maceration-methanol



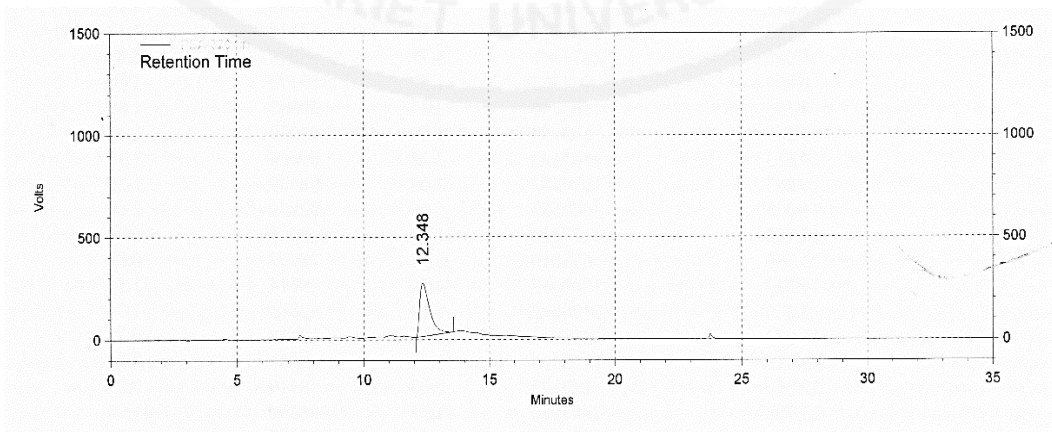
- ultrasonication-methanol



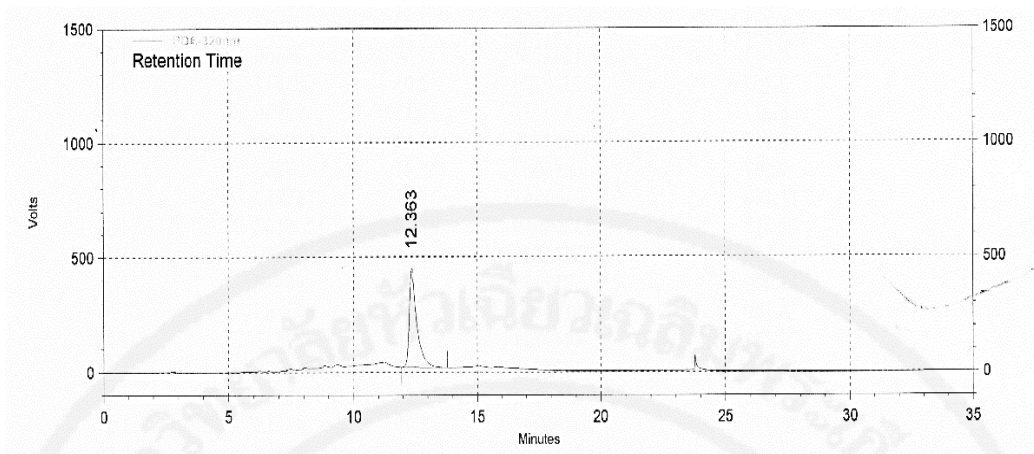
- soxhlet-methanol



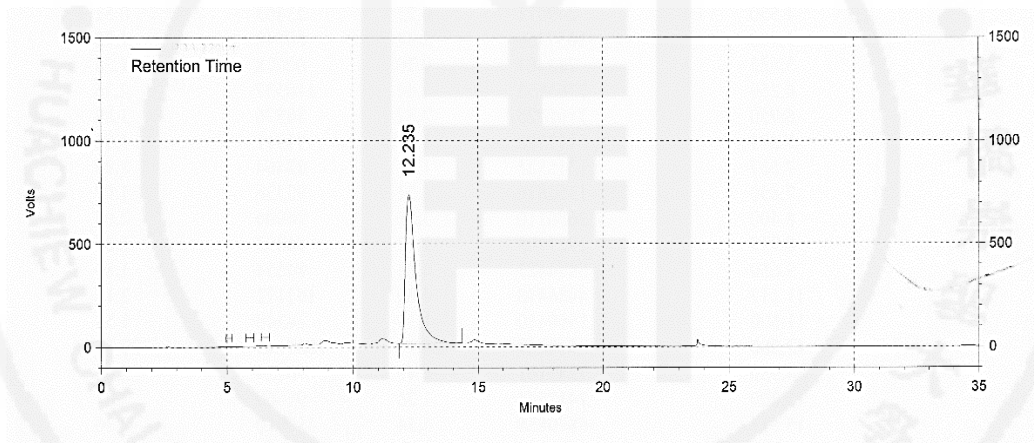
- maceration-95% ethanol



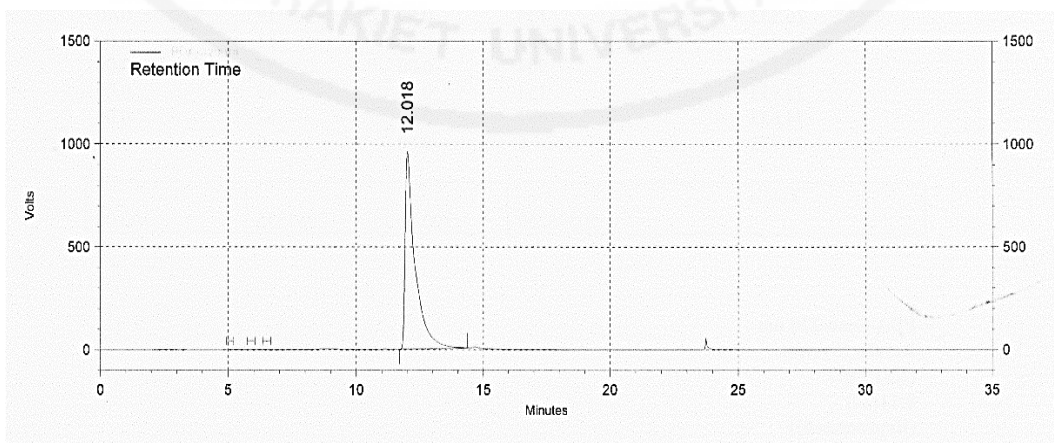
- ultrasonication-95% ethanol



- soxhlet-95% ethanol



ภาพที่ 17 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin



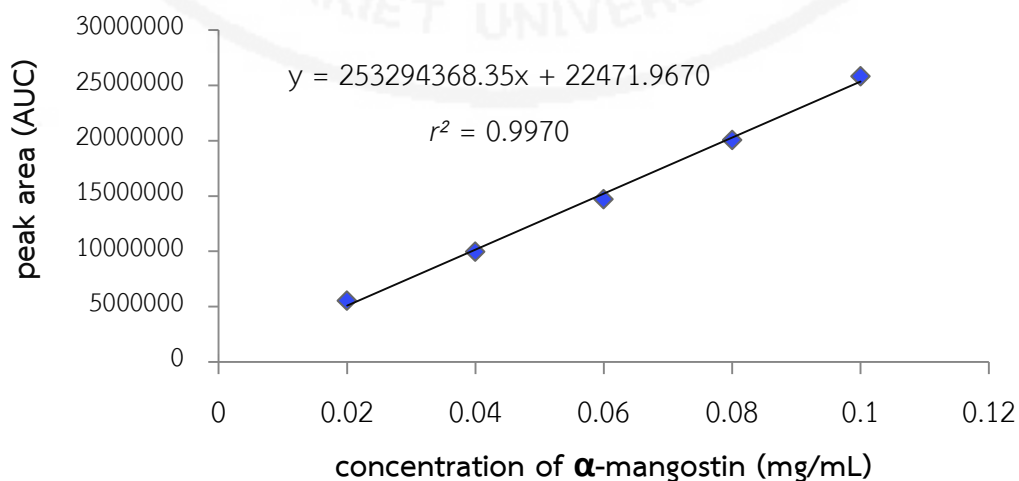
#### 4.5.2 ความสัมพันธ์เชิงเส้น

สร้างกราฟมาตรฐานของ  $\alpha$ -mangostin โดยฉีดสารละลายมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin 5 ความเข้มข้น ได้แก่ ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 mg/mL สมการเส้นตรงได้จากการสร้างกราฟเส้นตรงซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin กับพื้นที่ใต้พีค ผลการทดลองพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9970 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ<sup>(52)</sup> ดังตารางที่ 6 และแผนภูมิที่ 6

ตารางที่ 6 ข้อมูลแสดงพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ลำดับ	ความเข้มข้น (mg/mL)	รีเทนชันไทม์ (นาที)	พื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย (n=3)
1	0.02	12.08	5537901.00
2	0.04	12.06	9972956.00
3	0.06	12.04	14705089.67
4	0.08	12.01	20061815.67
5	0.10	12.01	25822908.00
ความชัน	253294368.35		
จุดตัดแกน Y	22471.9670		
$r^2$	0.9970		

แผนภูมิที่ 6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin กับพื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย



จากการสร้างกราฟมาตรฐาน ได้สมการเส้นตรง คือ  $Y = 253294368.35x + 22471.9670$  โดยมีความชันที่ 253294368.35 จุดตัดแกน Y ที่ 22471.9670 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9970 ดังแผนภูมิที่ 6

#### 4.5.3 ความแม่นยำ

การทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์โดยวิธี standard addition method ได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 7 มีผลค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) อยู่ในช่วงร้อยละ 80.00-120.00 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ<sup>(52)</sup>

ตารางที่ 7 ค่าร้อยละการกลับคืนของสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (%)	การกลับคืน (%)
75.00	97.22
100.00	95.58
125.00	100.73
ค่าเฉลี่ย	97.85
SD	2.63

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ความเข้มข้น ในแต่ละการทดลอง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

#### 4.5.4 ความเที่ยง

ผลการทดสอบความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ทั้งในวันเดียวกัน (Intra-day) และต่างวัน (Inter-day) แสดงผลดังตารางที่ 8 และ 9 ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการทดสอบในวันเดียวกันมีค่าเท่ากับ 1.48 และทดสอบต่างวันมีค่าเท่ากับ 1.37 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับของ A.O.A.C ที่กำหนดให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไม่เกิน 2<sup>(52)</sup> แสดงว่าวิธีที่เลือกใช้และเครื่องมือมีความเที่ยงในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดจากเปลือกมังคุด



ตารางที่ 8 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของความเที่ยงในวันเดียวกันของการวิเคราะห์

ครั้งที่	สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.0484 mg/mL	
	รีเทนชันไทม์ (นาที)	พื้นที่ใต้พีค
1	12.12	11291057
2	12.06	11167051
3	12.08	11015056
4	11.96	11036150
5	11.73	11344071
6	12.02	10927567
ค่าเฉลี่ย	12.00	11130159
SD		165007.5
% RSD		1.48

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 6 ครั้ง

ตารางที่ 9 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของความเที่ยงต่างวันของการวิเคราะห์

ครั้งที่	สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.0484.mg/mL	
	รีเทนชันไทม์ (นาที)	พื้นที่ใต้พีค
1	12.08	9035364
2	12.07	9201586
3	12.10	9063955
4	12.10	9240229
5	12.08	8921841
6	12.11	9207884
ค่าเฉลี่ย	12.09	9111810
SD		124902.9
% RSD		1.37

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 6 ครั้ง

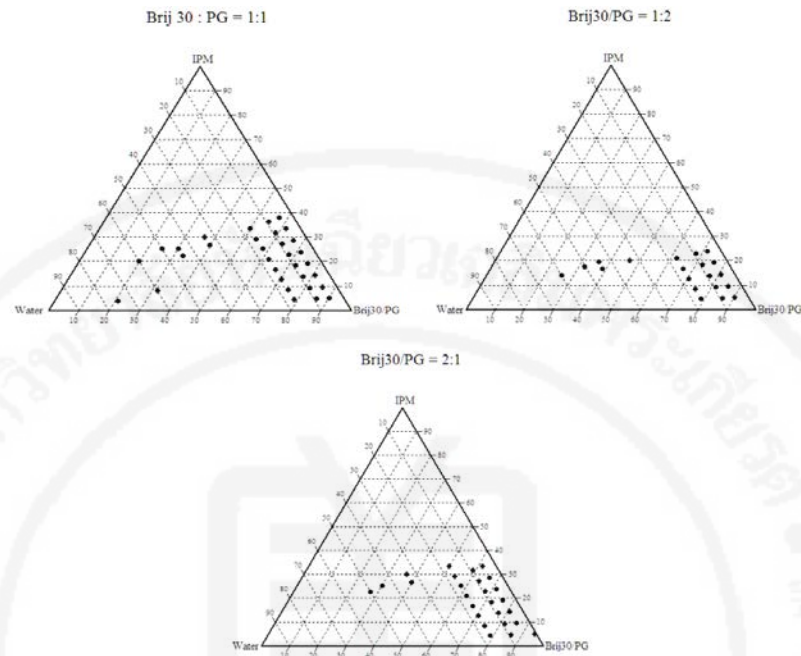
#### 4.6 ผลการศึกษาเฟสไดอะแกรมของระบบที่ประกอบด้วย น้ำ น้ำมัน และสารลดแรงตึงผิว

น้ำมันที่เลือกมาศึกษา คือ IPM เป็นสารที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมและเครื่องสำอาง เป็นสารช่วยเพิ่มการขนส่งทางผิวหนัง<sup>(21)</sup> โดยช่วยให้เกิดพื้นที่ที่เกิดไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ สูงสุด<sup>(25)</sup> ซึ่งสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin ละลายในไขมันได้ดีกว่าในน้ำ จึงเหมาะสำหรับการตั้งตำรับไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ และ Oleic acid เป็นสารธรรมชาติ มีความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม และเป็นสารที่ช่วยเพิ่มการขนส่งผ่านผิวหนังได้อย่างดี โดยเพิ่มการไหลของช่องว่างไขมันที่อยู่ชั้นสตราตัมคอร์เนียม ทำให้การซึมผ่านเพิ่มขึ้น<sup>(24-25)</sup> อีกทั้งลักษณะภายนอกของสารที่มีความใส เนื้อบางเบา ซึมผ่านได้ดี ดังนั้น IPM และ Oleic acid จึงเป็นสารตัวหนึ่งที่น่าสนใจในการศึกษาและพัฒนาไมโครอิมัลชันเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาหรือสารสำคัญเข้าสู่ร่างกาย

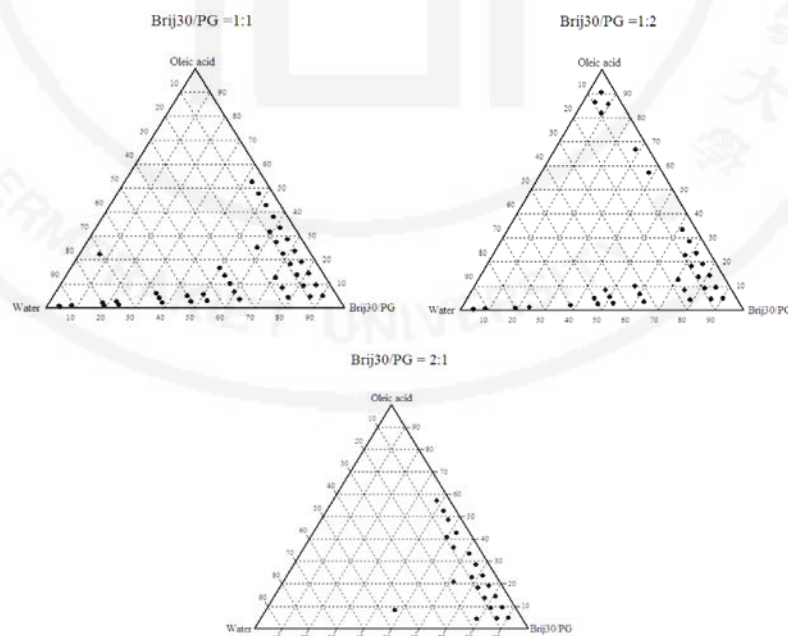
สารลดแรงตึงผิวที่เลือกมาศึกษา คือ Brij 30 เนื่องจากเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ มีความปลอดภัยสูง การเกิดไมโครอิมัลชันต้องใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณมากซึ่งอาจทำให้เกิดการระคายเคืองได้ จึงลดปริมาณสารลดแรงตึงผิวด้วยการเติมสารช่วยลดแรงตึงผิว (cosurfactants) เป็นสารพวกแอลกอฮอล์สายสั้น (short-chain alcohol) ซึ่งช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำและน้ำมัน และปรับความยืดหยุ่นของฟิล์มระหว่างพื้นที่ผิวสัมผัสของสารลดแรงตึงผิว จึงช่วยให้เกิดไมโครอิมัลชันง่ายขึ้น<sup>(43)</sup> โดยเลือกใช้ Propylene Glycol เป็นสารช่วยลดแรงตึงผิว เพราะเป็นสารที่หาง่าย มีคุณสมบัติในการเป็นตัวทำละลาย เก็บรักษาความชุ่มชื้น (humectant) ซึมเข้าผิวเร็ว และละลายในน้ำ จากนั้นจึงศึกษาพื้นที่ที่เกิดไมโครอิมัลชันศึกษาโดยการสร้างเฟสไดอะแกรมด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างจำนวนมากในอัตราส่วนของสารประกอบที่ต่างกัน

การศึกษาพื้นที่ที่เกิดไมโครอิมัลชันแบ่งเป็น 2 ระบบ คือ ระบบที่ประกอบด้วย IPM, Brij30/Propylene Glycol และน้ำ กับระบบที่ประกอบด้วย Oleic acid, Brij30/ Propylene Glycol และน้ำ อัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวรวมที่ศึกษา ( $K_m$ ) คือ 1:1, 1:2 และ 2:1 (% w/w) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องพบว่าแต่ละเฟสไดอะแกรมมีพื้นที่ที่เกิดไมโครอิมัลชันใกล้เคียงกัน แต่ระบบที่มีบริเวณเป็นของเหลวใสซึ่งจัดเป็นวัฏภาคเดี่ยว (one phase system) มากที่สุด คือ ระบบไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วย IPM, Brij30/PG, น้ำ และ Oleic acid, Brij30/PG, น้ำ ที่  $K_m$  1:1 เกิดพื้นที่ระบบไมโครอิมัลชันมากที่สุด อาจเพราะสัดส่วนปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวรวมที่เหมาะสม ช่วยให้เกิดฟิล์มซ้อนกันที่แข็งแรง จึงมีพื้นที่เกิดไมโครอิมัลชันมากกว่าสัดส่วนอื่น อีกทั้งเมื่อปรับเปลี่ยนชนิดของน้ำมัน สัดส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวรวม ( $K_m$ ) เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดพื้นที่ไมโครอิมัลชันที่แตกต่างกัน<sup>(46)</sup> ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย<sup>(23)</sup> ที่พบว่าอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวรวมที่เหมาะสม คือ 1:1 แสดงผลดังภาพที่ 18 และ 19

ภาพที่ 18 เฟสไดอะแกรมของระบบไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วย IPM, Brij30/PG และน้ำ  
 $Km_{Brij30/PG} = 1:1, 1:2, 2:1$  (% w/w) โดยบริเวณที่แรเงา คือ บริเวณที่เกิดไมโครอิมัลชัน



ภาพที่ 19 เฟสไดอะแกรมของระบบไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วย Oleic acid, Brij30/PG และ น้ำ  
 $Km_{Brij30/PG} = 1:1, 1:2, 2:1$  (% w/w) โดยบริเวณที่แรเงา คือ บริเวณที่เกิดไมโครอิมัลชัน





#### 4.7 การเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน

พิจารณาคัดเลือกจุดที่เหมาะสมภายในพื้นที่ของระบบวิภูภาคเดี่ยวในแต่ละเฟสไดอะแกรม เฟสไดอะแกรมที่ประกอบด้วย Oleic acid, Brij30/PG = 2:1 และน้ำ ไม่ได้ศึกษาต่อเนื่องจากจุดที่เกิดระบบวิภูภาคเดี่ยวชนิด w/o microemulsion ซึ่งจุดประสงค์ของการตั้งตำรับต้องการระบบวิภูภาคเดี่ยวชนิด o/w microemulsion เลือกและเตรียมระบบวิภูภาคเดี่ยวที่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิว/สารลดแรงตึงผิวรวม  $\leq 65$  % เพื่อลดการระคายเคืองจากการใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่สูง<sup>(46)</sup> มาศึกษาต่อ ตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานที่เลือกมาศึกษาต่อทั้งหมด 23 ตำรับ (ดังตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ส่วนประกอบของระบบวิภูภาคเดี่ยวที่นำมาศึกษา

ตำรับ	IPM (%)	Oleic acid (%)	Brij30/PG (%)	น้ำ (%)
Brij30:PG =1:1 (%w/w)				
A1	-	2.50	22.50	75.00
A2	-	2.00	18.00	80.00
A3	-	0.90	9.00	90.10
A4	-	10.00	56.60	33.40
A5	-	16.60	50.00	33.40
A6	-	2.30	6.80	90.90
A7	-	13.05	53.30	33.65
Brij30:PG =1:2 (% w/w)				
B1	-	3.30	63.30	33.40
B2	-	5.00	45.00	50.00
B3	-	10.00	57.00	33.00
Brij30:PG =1:1 (% w/w)				
C1	26.70	-	40.00	33.30
C2	22.20	-	33.30	44.50
C3	30.00	-	36.60	33.40
C4	25.00	-	30.60	44.40
Brij30:PG =1:2 (%w/w)				
D1	20.00	-	47.00	33.00
D2	16.70	-	38.90	44.40

ตารางที่ 10 (ต่อ)

ตำรับ	IPM (%)	Oleic acid (%)	Brij30/PG (%)	น้ำ (%)
D3	19.40	-	36.00	44.60
D4	17.50	-	32.30	50.20
D5	15.00	-	25.00	60.00
Brij30:PG =2:1 (%w/w)				
E1	-	2.50	22.50	75.0
E2	-	2.00	18.00	80.00
E3	-	0.90	9.00	90.10
E4	-	10.00	56.60	33.40

#### 4.8 ผลการประเมินความคงตัวของตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน

จากการตำรับที่เตรียมในข้อ 4.7 สังเกตลักษณะของระบบวิภูภาคเดี่ยวที่เตรียมด้วยตาเปล่า หลังทิ้งไว้ 1 วันหลังเตรียมและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน (ดังตารางที่11) โดยพิจารณาจากความใส/โปร่งแสง มีความคงตัวดี ไม่แยกชั้น และมีขนาดหยดอนุภาคเฉลี่ยไม่เกิน 150 nm คือ ตำรับ A4, A7, B1, B3, C1, C3, C4 และ D1 ซึ่งเป็นตำรับที่ใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิว/สารลดแรงตึงผิวร่วมในปริมาณสูง เนื่องจากตำรับไมโครอิมัลชันมีขนาดอนุภาคที่เล็ก จึงมีพื้นที่ผิวมากกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ ซึ่งจำเป็นต้องใช้สารลดแรงตึงผิวปริมาณมากที่เพียงพอเพื่อให้ก่อฟิล์มรอบระหว่างผิว<sup>(47)</sup> การเปลี่ยนแปลงของขนาดและการกระจายของอนุภาคหลังเตรียม 1 วัน และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน มีดังต่อไปนี้

ตำรับ A4 มีลักษณะเจลใส เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของอนุภาคเพิ่มขึ้น

ตำรับ A7 มีลักษณะใส เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าขนาดอนุภาคลดลงและการกระจายตัวของอนุภาคเพิ่มขึ้น

ตำรับ B1 มีลักษณะโปร่งแสงและหนืด เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของอนุภาคลดลง

ตำรับ B3 มีลักษณะเจล โปร่งแสง เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าขนาดอนุภาคลดลงและการกระจายตัวของอนุภาคเพิ่มขึ้น

ตำรับ C1 มีลักษณะใส เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของอนุภาคเพิ่มขึ้น

ตำรับ C3 มีลักษณะใสเหลืองฟ้า เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าขนาดอนุภาคลดลงและการกระจายตัวของอนุภาคเพิ่มขึ้น

ตำรับ C4 มีลักษณะโปร่งแสง เหลืองฟ้า เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าขนาดอนุภาคลดลงและการกระจายตัวของอนุภาคเพิ่มขึ้น

ตำรับ D1 มีลักษณะใส เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าขนาดอนุภาคลดลงและการกระจายตัวของอนุภาคเพิ่มขึ้น

หากพิจารณาดำรับ A4 กับ B3 พบว่ามีสัดส่วนของส่วนประกอบใกล้เคียงกัน แต่มีลักษณะทางกายภาพ ขนาดอนุภาคที่แตกต่างกัน แสดงว่าสัดส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวร่วมมีผลต่อลักษณะและความคงตัวของตำรับ และเมื่อพิจารณาดำรับที่ใช้สัดส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เท่ากัน แต่ใช้น้ำมันคนละชนิด พบว่าลักษณะทางกายภาพ ขนาดอนุภาค และการกระจายตัวของอนุภาคก็แตกต่างกันด้วย แสดงว่าลักษณะธรรมชาติของน้ำมันที่ใช้มีผลต่อลักษณะของตำรับ อีกทั้งปริมาณของน้ำมันและสารลดแรงตึงผิวก็มีผลต่อขนาดในตำรับที่เตรียมจากเฟสไดอะแกรมเดียวกัน พบว่ายิ่งใช้ปริมาณน้ำมันมาก ขนาดอนุภาคก็จะมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าตำรับที่ใช้ใช้น้ำมันในปริมาณน้อยกว่า และตำรับที่ใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวมากกว่าจะมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าตำรับที่ใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวน้อยกว่า แสดงว่าปริมาณของน้ำมันและสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อลักษณะของตำรับและความคงตัวของตำรับ<sup>(46)</sup>

นอกจากนี้พบว่าจำนวนของตำรับที่คงตัวลดลง อาจเนื่องบางตำรับที่เลือกมาศึกษาเป็นจุดที่อยู่ใกล้บริเวณขอบเขตของการเกิดไมโครอิมัลชัน และมีการปิดสัดส่วนของปริมาณของส่วนประกอบให้เป็นจำนวนเต็ม เพื่อความสะดวกในการเตรียม ซึ่งอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและส่งผลกระทบต่อความคงตัวของตำรับ นอกจากนี้บางตำรับแม้จะมีขนาดอยู่ในช่วงไมโครอิมัลชันแต่ไม่คงตัว อาจเกิดจากขนาดอนุภาคที่เล็กจะมีพื้นที่ผิวมากกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ ซึ่งจำเป็นต้องใช้สารลดแรงตึงผิวปริมาณมากที่เพียงพอเพื่อให้ก่อฟิล์มรอบระหว่างผิว<sup>(46)</sup>

**ตารางที่ 11** การประเมินความคงตัวของตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานหลังเตรียม 1 วัน และที่ระยะเวลา 1 เดือน

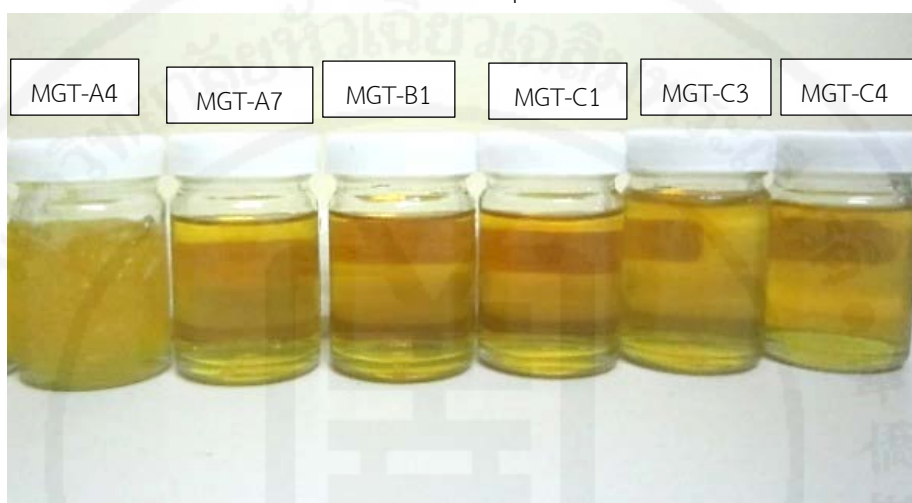
ตำรับ	ลักษณะทางกายภาพ	1 วัน		1 เดือน	
		size (nm)±SD	PDI±SD	size (nm)±SD	PDI±SD
Oleic acid, Brij30:PG = 1:1 (% w/w)					
A1	เจลขุ่น	923.43±56.63	0.37±0.01	*	*
A2	เจลขุ่น	604.83±25.00	0.27±0.01	*	*
A3	ขาวขุ่น	135.43±25.70	0.17±0.03	*	*
A4	เจลใส	44.30±3.67	0.26±0.03	67.23±4.29	0.33±0.02
A5	แยกชั้น	*	*	*	*
A6	แยกชั้น	*	*	*	*
A7	ใส	65.77±0.12	0.22±0.01	51.67±4.24	0.43±0.16
Oleic acid, Brij30:PG = 1:2 (% w/w)					
B1	โปร่งแสง หนืด	86.67±7.05	0.32±0.04	52.86±5.80	0.26±0.02
B2	เจลโปร่งแสง	287.4±5.94	0.28±0.02	-	-
B3	เจลโปร่งแสง	110.23±1.88	0.27±0.01	74.07±0.99	0.45±0.04
IPM, Brij30:PG =1:1 (% w/w)					
C1	ใส	60.43±1.11	0.140±0.02	90.90±1.50	0.24±0.05
C2	แยกชั้น	*	*	*	*
C3	ใส เหลือบฟ้า	86.77±2.93	0.29±0.01	150.87±5.03	0.37±0.01
C4	โปร่งแสง เหลือบฟ้า	88.67±2.17	0.19±0.02	63.37±2.06	0.29±0.01
IPM, Brij30:PG =1:2 (% w/w)					
D1	ใส	111.20±1.66	10±0.02	110.37±5.15	0.23±0.01
D2	ใส เหลือบฟ้า	91.33±0.97	0.12±0.01	แยกชั้น	*
D3	โปร่งแสง เหลือบฟ้า	112.70±1.66	0.32±0.01	572.77±59.7	0.27±0.01
D4	ใส เหลือบฟ้า	92.30±3.61	0.21±0.03	แยกชั้น	*
D5	ใส เหลือบฟ้า	116.37±1.66	0.29±0.01	แยกชั้น	*

หมายเหตุ : \* ไม่ได้ทำการวัด เนื่องจากมีขนาดใหญ่เกินกว่า 150 nm หรือ เกิดการแยกชั้น แต่ละตัวอย่างวัดซ้ำ 3 ครั้ง

#### 4.9 ผลการเตรียมตัวรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด

จากผลการศึกษาในข้อ 4.8 เลือกตัวรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานที่มีความคงตัวมาศึกษาต่อ ลักษณะทางกายภาพของตัวรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด มีลักษณะเป็นเจลใสหรือของเหลว สีเหลืองตามสีของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ดังภาพที่ 20

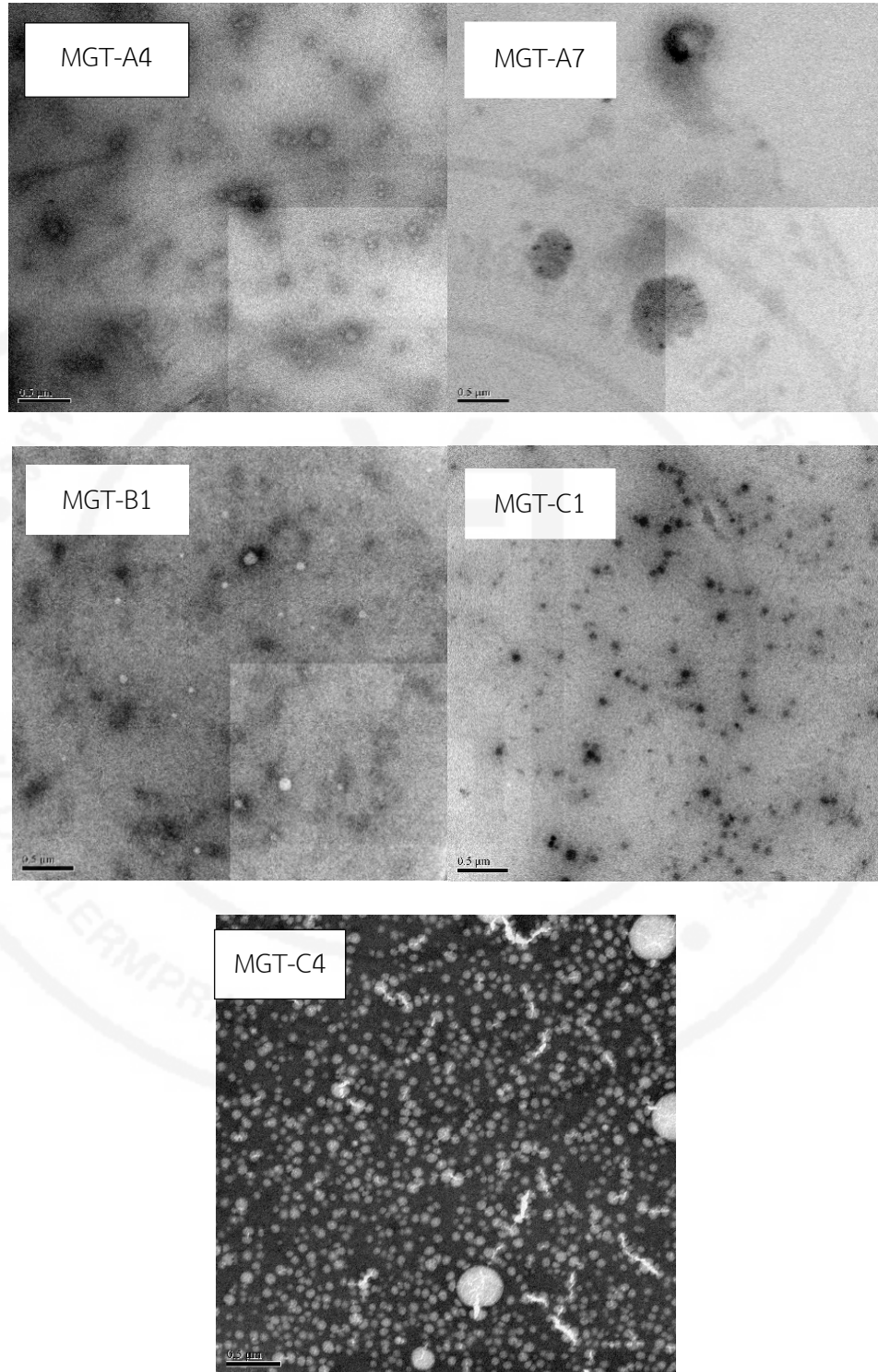
ภาพที่ 20 ตัวรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด



#### 4.10 ผลการตรวจสอบสัณฐานวิทยาและโครงสร้าง (morphology and structure) ของตัวรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด

นำตัวอย่างตัวรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด 5 ตัวรับ คือ MGT-A4, MGT-A7, MGT-B1, MGT-C1, MGT-C3 และ MGT-C4 มาส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) จากการตรวจลักษณะสัณฐานวิทยาและโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบว่า มีลักษณะคือ เป็นทรงกลม มีขนาดของอนุภาคประมาณ 50 นาโนเมตร ดังภาพที่ 21

ภาพที่ 21 ลักษณะไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดที่ส่องด้วยกล้อง TEM



#### 4.11 ผลการประเมินความคงตัวทางกายภาพของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด การประเมินความคงตัวสถานะเร่ง

การทดสอบความคงตัวในสถานะเร่งเป็นการทดสอบในสถานะอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (heating-cooling stability) จำนวน 6 รอบ พบว่าตำรับที่ไม่เกิดการแยกชั้นมี 2 ตำรับ คือ A4 และ B1 เหตุผลที่ 2 ตำรับที่เหลือมีความคงตัวดี ไม่เกิดการแยกชั้นอาจเนื่องจากปริมาณส่วนประกอบที่เหมาะสม ทำให้มีความคงตัวทางอุณหพลศาสตร์ (thermodynamically stable)<sup>(46)</sup>

##### การประเมินความคงตัวระยะยาว

นำตำรับผสมสารสกัดเปลือกมังคุดในข้อ 4.9 มาศึกษาต่อ สังเกตลักษณะของตำรับด้วยตาเปล่า หลังทิ้งไว้ 1 วันหลังเตรียมและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน (ดังตารางที่ 12) พบว่าทุกตำรับที่เตรียมมีความคงตัวดี หลังเตรียม 1 วัน มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยอยู่ในช่วง 49.27-122.47 nm และหลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยอยู่ในช่วง 47.97-101.23 nm ซึ่งขนาดอนุภาคอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดไว้ คือ ไม่เกิน 150 nm<sup>(46)</sup> ค่า PDI หลังเตรียม 1 วัน อยู่ในช่วง 0.16-0.50 และค่า PDI หลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน อยู่ในช่วง 0.18-0.47 ซึ่งค่า PDI เป็นค่าที่บอกลถึงการกระจายของขนาดอนุภาค หากมีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าอนุภาคในตำรับไมโครอิมัลชันที่เตรียมไว้มีการกระจายตัวดี<sup>(54)</sup> ค่าความหนืดเฉลี่ยหลังเตรียม 1 วัน อยู่ในช่วง 28.47-1,684 cPS และค่าความหนืดเฉลี่ยหลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน 10.70-1,578 cPS ความเป็นกรดต่าง หลังเตรียม 1 วัน อยู่ในช่วง 4.78-5.25 และความเป็นกรดต่างหลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน อยู่ในช่วง 4.78-5.30 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรดต่างที่ใกล้เคียงกับผิวหนัง<sup>(38)</sup>

ตารางที่ 12 การประเมินความคงตัวของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุดหลังเตรียม 1 วัน และที่ระยะเวลา 1 เดือน

ตำรับ	ลักษณะทางกายภาพ	1 วัน					1 เดือน				
		size (nm)±SD	PDI±SD	Zeta potential (MV)±SD	Viscosity (cPs)±SD	pH±SD	size (nm)±SD	PDI±SD	Zeta potential (MV)±SD	Viscosity (cPs)±SD	pH±SD
A4	เจล เหลืองใส	49.27±2.41	0.50±0.09	-1.30±0.08	1,684.67±1.15	5.14±0.04	47.97±3.35	0.47±0.01	-0.64±0.27	1,578±0.32	5.01±0.01
A7	เหลืองใส	84.13±0.90	0.25±0.01	58.10±0.27	79.70±0.36	4.78±0.01	88.10±1.99	0.30±0.04	-0.62±0.23	74.70±0.10	4.78±0.00
B1	เหลืองใส	82.13±2.75	0.26±0.03	0.23±0.27	38.13±0.12	5.21±0.01	74.17±2.12	0.36±0.01	1.01±0.05	23.33±2.05	5.26±0.01
C1	เหลืองใส	66.97±2.59	0.16±0.05	0.44±0.23	29.37±0.38	5.25±0.01	66.57±4.50	0.18±0.08	-0.06±0.16	10.70±0.10	5.30±0.01
C3	เหลืองใส	122.47±5.66	0.33±0.01	0.61±0.29	31.13±0.15	5.23±0.03	101.23±3.06	0.34±0.01	0.35±0.22	36.83±0.32	5.23±0.01
C4	เหลืองใส	69.97±0.15	0.26±0.04	2.74±0.28	28.47±0.15	5.03±0.01	67.03±0.47	0.28±0.01	0.02±0.20	10.83±0.74	5.04±0.01

หมายเหตุ : แต่ละตัวอย่างวัดซ้ำ 3 ครั้ง



#### 4.12 การประเมินความคงตัวของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด

##### การประเมินความคงตัวสถานะเร่ง

นำตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุดและสารสกัดเปลือกมังคุด (control) มาทดสอบความคงตัวของไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดก่อนและหลังด้วยวิธีเร่งในสภาวะร้อนสลับเย็น (heating-cooling stability) ที่อุณหภูมิ 45 °C สลับที่ 4 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ พบว่าหลังจากการทดสอบ ตำรับ MGT-A4, MGT-B1 และสารสกัดเปลือกมังคุดในเมทานอล (control) ที่ไม่แยกชั้น พบว่าปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ในตำรับ MGT-A4 และ MGT-B1 เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่ control ลดลง คิดเป็นปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือเป็นร้อยละ 105.25, 100.49 และ 38.48 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ Paired T-Test พบว่าตำรับ MGT-A4 และ MGT-B1 มีปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ไม่แตกต่างจากก่อนการทดสอบ ซึ่งต่างจาก control พบว่าปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อุณหภูมิที่มีผลต่อการสลายตัวของสารสำคัญ ทำให้ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin จึงลดลง ซึ่งต่างจากตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดเปลือกมังคุด ดังนั้นเมื่อกักเก็บ  $\alpha$ -mangostin ตำรับไมโครอิมัลชันจะช่วยลดหรือชะลอการสลายตัวของ  $\alpha$ -mangostin ได้ แสดงผลดังตารางที่ 13

**ตารางที่ 13** ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือในตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุดก่อนและหลังจากการทดสอบด้วยวิธีเร่งในสภาวะร้อนสลับเย็น (heating-cooling stability)

ตำรับ	ปริมาณ $\alpha$ -mangostin คงเหลือ ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SD		ปริมาณ $\alpha$ -mangostin คงเหลือ (ร้อยละ)
	ก่อนทดสอบ	หลังทดสอบ	
MGT-A4	137.64 $\pm$ 4.05	144.87 $\pm$ 5.71	105.25
MGT-B1	143.48 $\pm$ 6.55	144.19 $\pm$ 3.58	100.49
control	136.53 $\pm$ 10.62	52.54 $\pm$ 1.21*	38.48

หมายเหตุ : \* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ,  $p < 0.05$

##### การประเมินความคงตัวระยะยาว

นำตำรับ MGT-A4, MGT-B1 และสารสกัดเปลือกมังคุดในเมทานอล (control) มาทดสอบความคงตัวก่อนและหลังทดสอบที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 °C และ 45 °C เป็นระยะ 1 เดือน พบว่าทั้งสองตำรับมีปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือ ที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมิ 4 °C และที่อุณหภูมิ 45 °C มีปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ลดลงจากก่อนการทดสอบเพียงเล็กน้อย โดยตำรับ MGT-A4 มีปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือคิดเป็นปริมาณเป็นร้อยละ 90.01, 90.26 และ 90.26 ตามลำดับและ

ตำรับ MGT-B1 ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือคิดเป็นปริมาณเป็นร้อยละ 91.00, 85.66 และ 86.98 ตามลำดับ และสารสกัดเมทานอล (control) พบว่าที่อุณหภูมิห้อง ตัวอย่างระเหยหมด ทำให้ไม่สามารถวัดปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือได้ ในขณะที่อุณหภูมิ 4 °C และ 45 °C ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือลดลงอย่างมีนัยสำคัญ คิดเป็นร้อยละ 18.15 และ 20.65 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ผสมในตำรับไมโครอิมัลชัน พบว่ามีปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือมากกว่า แสดงว่าอุณหภูมิมีผลต่อการสลายตัวของ  $\alpha$ -mangostin ในรูปสารละลายอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าที่อุณหภูมิสูงมีปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือมากกว่าเล็กน้อย สอดคล้องกับงานวิจัย<sup>(58)</sup> ในขณะที่ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือในตำรับไมโครอิมัลชันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงผลดังตารางที่ 14 ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากตำรับไมโครอิมัลชันช่วยปกป้องการสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมสลายของ  $\alpha$ -mangostin สอดคล้องกับงานวิจัย<sup>(59)</sup> เมื่อทดสอบตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสำคัญที่อุณหภูมิ 5 °C, 25 °C และ 40 °C เป็นเวลา 1 ปีแล้วปริมาณสารสำคัญไม่เปลี่ยนแปลง

**ตารางที่ 14** ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin คงเหลือของแต่ละตำรับหลังผ่านการทดสอบความคงตัว ระยะ 1 เดือน

ตำรับ	ความเข้มข้น $\alpha$ -mangostin คงเหลือที่อุณหภูมิต่าง ๆ ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SD			ร้อยละของความเข้มข้น $\alpha$ -mangostin คงเหลือที่อุณหภูมิต่าง ๆ		
	อุณหภูมิห้อง	4 °C	45 °C	อุณหภูมิห้อง	4 °C	45 °C
MGT-A4	123.90 $\pm$ 9.67	124.24 $\pm$ 6.32	124.24 $\pm$ 5.96	90.01	90.26	90.26
MGT-B1	130.57 $\pm$ 7.74	122.90 $\pm$ 10.42	124.80 $\pm$ 8.46	91.00	85.66	86.98
control	ระเหยหมด	24.78 $\pm$ 1.10*	28.19 $\pm$ 0.10*	ระเหยหมด	18.15	20.65

หมายเหตุ : \* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ,  $p < 0.05$

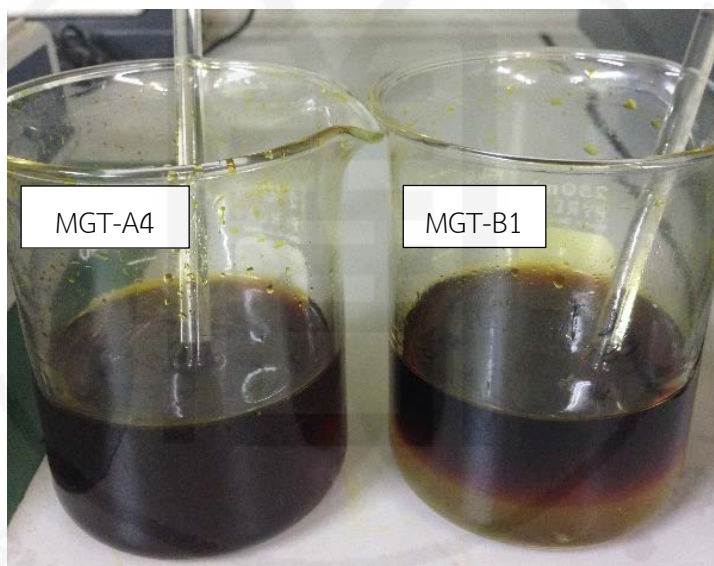
#### 4.13 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธี EPP-induced ear edema in rats

ในงานวิจัยหลายชิ้นพบว่ามังคุดมีฤทธิ์ต้านการอักเสบซึ่งสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin พบมากในส่วนของเปลือกมังคุด ทางแพทย์แผนไทยมีการนำเปลือกมังคุดมาใช้รักษาเป็นระยะเวลานานแล้ว ด้านเครื่องสำอางการศึกษาและนำสารสกัดเปลือกมังคุดมาใช้ด้านต้านการอักเสบ เช่น เจลแต้มสิว<sup>(31,56)</sup> เจลรักษาโรคเชื้อหุ้มฟันอักเสบ<sup>(57)</sup> โดยยับยั้งการปลดปล่อยฮีสตามีน และยับยั้ง

กระบวนการผลิตพอสตราแกลนดิน อีสอง ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่ทำให้เกิดหลอดเลือดขยายตัว และเพิ่มการซึมผ่านของหลอดเลือดทำให้เกิดการอักเสบตามมา<sup>(12,13)</sup>

จากการประเมินความคงสภาพทางเคมีข้างต้น พบว่าเมื่อทดสอบความคงสภาพแบบเร่งและความคงสภาพระยะยาว มี 2 ตำรับที่ยังคงสภาพ คือ ตำรับ MGT-A4 และ MGT-B1 จึงนำทั้ง 2 ตำรับมาผสมสารสกัดเปลือกมังคุดให้มีปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น เนื่องจากการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบต้องมีการเจือจางตัวอย่างด้วยอะซีโตน ผลพบว่าตำรับ MGT-A4 สามารถบรรจุสารสกัดได้มากถึง 5% w/w โดยไม่เกิดการแยกชั้น ซึ่งแตกต่างไปจากตำรับ MGT-B1 ที่พบการแยกชั้นเมื่อบรรจุสารสกัดที่ความเข้มข้นนี้ ดังภาพที่ 22

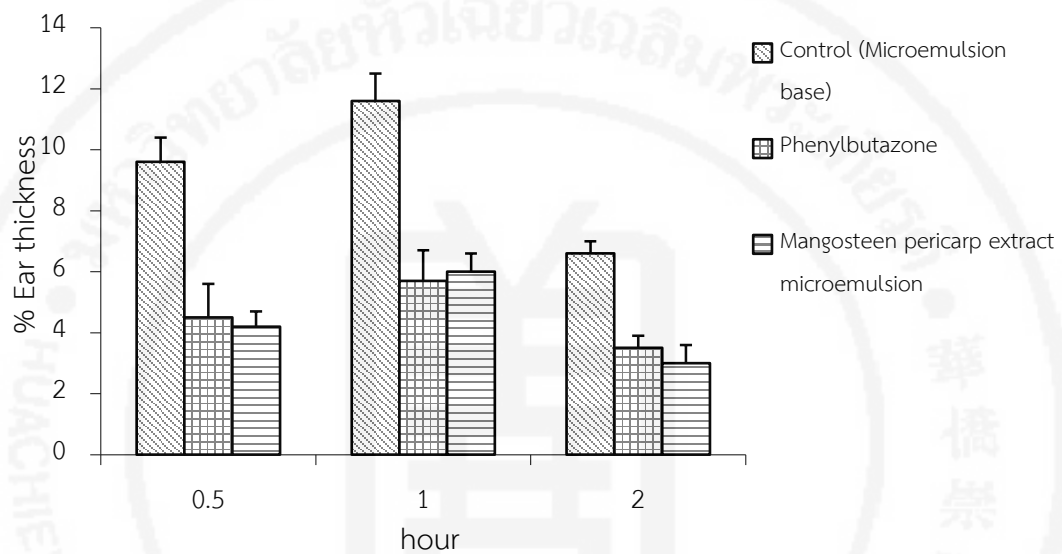
ภาพที่ 22 ตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด 5% เพื่อทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ



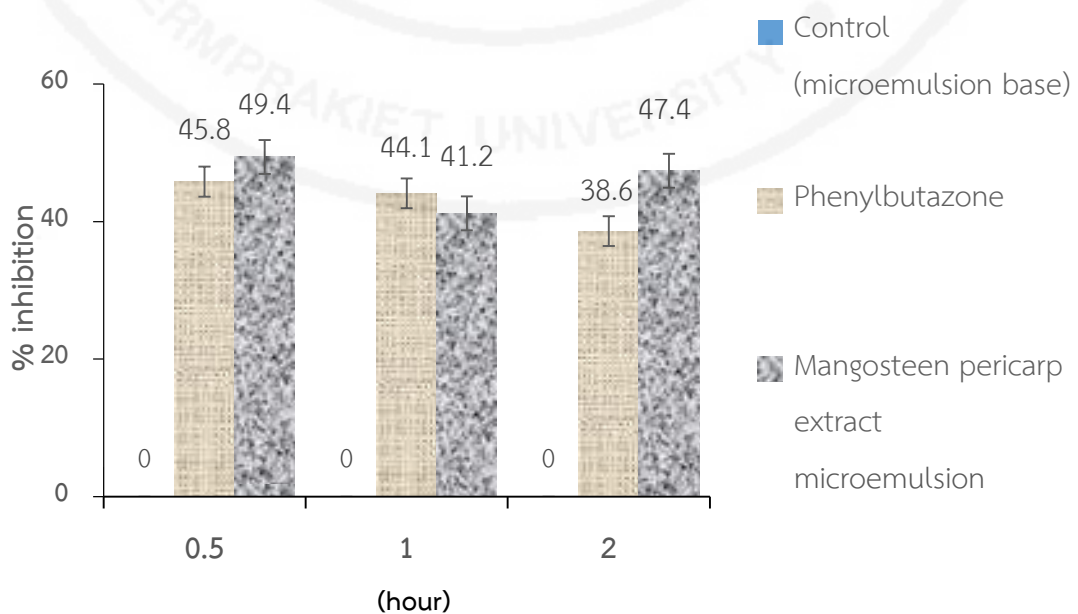
การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบด้วยวิธี EPP-induced ear edema in rats ทำโดยนำตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน ตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด และยามาตรฐาน Phenylbutazone มาทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบแบบเฉียบพลัน โดยใช้ Ethyl-Phenylpropiolate (EPP) เป็นสารกระตุ้นการอักเสบมาทาที่ใบหูหนู ทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือดและเกิดการบวม รายงานผลโดยเปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์การบวมของหูหนู (ดังแผนภูมิที่ 7) ตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด และยามาตรฐาน Phenylbutazone ลดการบวมของหูหนูได้ดีกว่าตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ของทุกช่วงเวลา (30 นาที, 1 ชั่วโมง และ 2 ชั่วโมง) โดยตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด (MGT-A4) สามารถลดการบวมของหูหนูได้ดีที่สุดในระยะเวลา 2 ชั่วโมง และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการบวมของหูหนูที่

สูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 49.4 ในระยะเวลา 30 นาที และเมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Phenylbutazone พบว่ามีตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดีกว่ายามาตรฐาน Phenylbutazone ในระยะเวลา 2 ชั่วโมงด้วย (ดังแผนภูมิที่ 8)

**แผนภูมิที่ 7** ผลของตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน ยามาตรฐาน Phenylbutazone และตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการบวมของหูหนู



**แผนภูมิที่ 8** เปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งการบวมของหูหนูในตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน ยามาตรฐาน Phenylbutazone และตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด



## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัด 3 แบบ (การใช้เครื่องเขย่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิก และการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลต) และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 2 ชนิด (methanol และ 95% ethanol) ที่สามารถสกัดสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin จากเปลือกมังคุดได้สูงสุด พบว่าการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยชอกเลตด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ที่มีขั้วแตกต่างกันให้ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin มากกว่าการสกัดด้วยวิธีอื่น การสกัดต่อเนื่องด้วยตัวทำละลาย methanol จะให้ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin สูงสุด เนื่องจากชุดสกัดชอกเลตเป็นระบบปิด ทำให้ตัวทำละลายสามารถเคลื่อนที่หมุนเวียนไปเรื่อย ๆ ทำให้การสกัดมีความสมบูรณ์ จึงสามารถสกัดเอาสารสำคัญในเปลือกมังคุดบดหยาบได้มาก ซึ่งการสกัดด้วยตัวทำละลายหลายชนิดพบว่าการใช้ methanol เป็นตัวทำละลายในการสกัดที่ให้ปริมาณโททอลฟีนอลิกมากที่สุด ในขณะที่การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกโดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลายจะให้ปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ต่ำสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้วิธีการสกัดต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลตโดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อใช้ในการตั้งตำรับไมโครอิมัลชันในขั้นตอนต่อไป

ผลการวิจัยพบว่าเมื่อนำเปลือกมังคุดอบแห้งบดหยาบ 2.76 กิโลกรัม สกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลตโดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบ มีลักษณะเหนียว หนืดและสีน้ำตาลเข้ม จึงนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปกำจัดสารรบกวน เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์  $\alpha$ -mangostin มากขึ้น และลดการรบกวนสีตั้งตำรับด้วยวิธีการสกัดสารของเหลวด้วยของเหลวโดยใช้ hexane และ dichloromethane เป็นตัวทำละลาย สารสกัดเปลือกมังคุดที่ได้ (310.48 กรัม) มีลักษณะเหนียว หนืดเล็กน้อยและมีสีน้ำตาลอ่อน คำนวณร้อยละผลได้ (% yield) ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดเท่ากับ ร้อยละ 11.25 และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ด้วยเครื่อง HPLC ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาแล้ว พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดแบบต่อเนื่องด้วยชุดชอกเลตโดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย มีปริมาณ  $\alpha$ -mangostin เท่ากับ 3.84 mg/g สารสกัดเปลือกมังคุดที่ได้นี้จะนำไปใช้ในการพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันต่อไป

ในการพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน น้ำมันที่เลือกมาศึกษา คือ IPM หรือ Oleic acid สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมที่นำมาศึกษา คือ Brij®30 และ Propylene Glycol ตามลำดับ ด้วยวิธีการสร้าง pseudoternary phase diagram เพื่อหาสัดส่วนโดยน้ำหนักที่เหมาะสมของวัฏภาคน้ำมันและสารลดแรงตึงผิว/สารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสม จากนั้นนำตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานจำนวน 23 ตำรับ มาทำการประเมินการเป็นไมโครอิมัลชันจากลักษณะที่เป็นของเหลวใส ตำรับไมโครอิมัลชันที่ไม่แยกชั้น ไม่ตกตะกอน มีขนาดอนุภาคไม่เกิน 150 nm และศึกษา

ความคงตัวของตัวยาคู่ได้สภาวะร้อนสลับเย็น ปรากฏว่าตำรับที่ดีที่สุดที่ได้รับการคัดเลือกประกอบด้วยสารต่างๆ โดยน้ำหนัก ดังนี้ Oleic acid ร้อยละ 10, Brij30/PG (สัดส่วน 1:1) ร้อยละ 56.60, สารสกัดเปลือกมังคุด ร้อยละ 0.25 และน้ำ ร้อยละ 33.40 มีขนาดหยดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ  $49.27 \pm 2.41$  nm PDI เฉลี่ยเท่ากับ  $0.50 \pm 0.09$  ค่าซีต้าโพเทนเชียลเท่ากับ  $-1.30 \pm 0.08$  mV ค่าความหนืดเท่ากับ  $1,684.67 \pm 1.15$  ค่าความเป็นกรดต่าง  $5.14 \pm 0.04$  ตรวจสอบสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบว่า มีลักษณะทรงกลม ทำการวัดปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ในตำรับไมโครอิมัลชันเมื่อทำการทดสอบความคงสภาพภายใต้สภาวะร้อนสลับเย็น จำนวน 6 รอบ ศึกษาที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$  และที่  $45^\circ\text{C}$  เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าปริมาณ  $\alpha$ -mangostin ในตำรับจากการวิเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาโดยใช้เครื่อง HPLC คงเหลือ ร้อยละ 105.25, 90.01, 90.26 และ 90.26 ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลข้างต้นบ่งบอกถึงความคงสภาพของตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบด้วยวิธี EPP-induced ear edema ในหนูด้วยตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด โดยทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการอักเสบระหว่างตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐาน ตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด และยามาตรฐาน Phenylbutazone พบว่าตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดและยามาตรฐาน Phenylbutazone ลดการบวมของหูหนูได้ดี โดยตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถลดการบวมของหูหนูหลังจากการเหนี่ยวนำการอักเสบ ภายใน 30 นาที คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการบวมของหูหนูเท่ากับ 49.4 % และเมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Phenylbutazone พบว่าตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ต้านการอักเสบในระยะยาวได้ดีกว่ายามาตรฐาน Phenylbutazone สำหรับตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานพบว่าไม่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ

เมื่อนำมาสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดมาวิเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาแล้ว พบว่ามีความแม่นยำและถูกต้อง สอดคล้องและอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับของ A.O.A.C.<sup>(52)</sup> และเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาพัฒนาโดยเตรียมอยู่ในรูปของตำรับไมโครอิมัลชัน พบว่าตำรับไมโครอิมัลชันที่พัฒนามีความคงตัว สามารถกักเก็บสารสำคัญได้ในปริมาณสูง เมื่อทดสอบในสภาวะเร่งพบว่าสารสำคัญ  $\alpha$ -mangostin มีความคงตัวตลอดระยะเวลา 1 เดือน สูตรตำรับไมโครอิมัลชันที่ศึกษาใช้ส่วนประกอบที่หาได้ง่าย คือ Oleic acid, Brij<sup>®</sup> 30 และ Propylene Glycol ซึ่งพบว่าตำรับที่คงตัวดีต้องใช้สารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวร่วมร้อยละ 56.60 อีกทั้งเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธี EPP-induced ear edema พบว่าตำรับไมโครอิมัลชันจากสารสกัดเปลือกมังคุดสามารถใช้เป็นยาต้านอักเสบได้

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำสารสกัดให้บริสุทธิ์มากขึ้นเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณ  $\alpha$ -mangostin เพิ่มขึ้น
2. ควรมีการศึกษาเปรียบเทียบการซึมผ่านผิวหนัง (franz diffusion cell) ระหว่างตำรับไมโครอิมัลชันพื้นฐานและตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดเปลือกมังคุด เพื่อดูประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารสำคัญและนำมาเป็นเหตุผลให้งานวิจัยมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น



### เอกสารอ้างอิง

1. Almeyda N, Martin W. CULTIVATION OF NEGLECTED TROPICAL FRUITS WITH PROMIS. Part I. The Mangosteen. Argicultural Research Service, USDA. 1976.
2. Zarena AS, Udaya Sankar K. Xanthonen enriched extracts from mangosteen Pericarp obtained by supercritical carbon dioxide process. Separation and Purification Technology. 2011;80:172-178.
3. Deachathai S, Mahabusarakam W, Phongpaichit S, Taylor WC. Phenolic compounds from the fruit of *Garcinia dulcis*. Phytochemistry. 2005;66:2368–2375.
4. Jung Hyun-Ah, Su Bao-Ning, Keller WJ, Mehta RG, Kinghorn A.D. Antioxidant Xanthone from the Pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). Journal of Agricultural Food Chemistry. 2006;54:2077-2082.
5. Mahabusarakam W, Wiriyaichitra P, Taylor WC. CHEMICAL CONSTITUENTS OF GARCINIA MANGOSTANA. Journal of Natural Products. 1987 May-Jun;50(3):474-478.
6. Ji X, Avula B, Khan IA. Quantitative and qualitative determination of six Xanthonen In *Garcinia mangostana* L. by LC-PDA and LC-ESI-MS. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2007;43:1270-1276.
7. Walker EB. HPLC analysis of selected xanthonen in mangosteen fruit. Journal of Separation Science. 2007;30:1229-1234.
8. Peres V, Nagem TJ, Oliverira FF. Tetraoxygenated naturally occurring xanthonen. Phytochemistry. 2000;55:683-710.
9. Garnett M, Sturton SD. *Garcinia mangostana* in the treatment of amoebic dysentery. Chinese Med Journal. 1932;46(10):969-973.
10. Ignatushchenko MV, Winter RW, Riscoe M. XANTHONES AS ANTIMALARIAL AGENTS: STAGE SPECIFICITY. Am J Trop Med Hyg. 2000;62(1):77–81.
11. Chen Lih-Geeng, Yang Ling-Ling, Wang Ching-Chiung. Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana*. Food and Chemical Toxicology. 2008;46:688-693.



## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

12. Nakatani K, Atsumi M, Arakawa T, Oosawa K, Shimura S, Nakahata N, Ohizumi Y. Inhibitions of Histamine Release and Prostaglandin E<sub>2</sub> Synthesis by Mangosteen, a Thai Medicinal Plant. *Biol Pharm Bull.* 2002;25(9):1137-1141.
13. Nakatani K, Nakahata N, Arakawa T, Yasuda H, Ohizumi Y. Inhibition of Cyclooxygenase and prostaglandin E<sub>2</sub> synthesis by  $\gamma$ -mangostin, a xanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cells. *Biochemical Pharmacology.* 2002;63:73-79.
14. Pedraza-Chaverri J, Cárdenas-Rodríguez N, Orozco-Ibarra M, Pérez-Rojas JM. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology.* 2008;46:3227-3239.
15. Obolskiy D, Pischel I, Siriwatanametanon N, Heinrich M. *Garcinia mangostana* L.: A Phytochemical and Pharmacological Review. *PHYTOTHERAPY RESEARCH.* 2009;23:1047-1065.
16. Likubo K, Ishikawa Y, Ando N, Umezawa K, Nishiyama S. The first direct synthesis of  $\alpha$ -mangostin, a potent inhibitor of the acidic sphingomyelinase. *Tetrahedron Lett.* 2002;43:291-293.
17. อ่ำไพ บัณฑิตทอง. “ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารแซนโทนส์จากมังคุด” [ออนไลน์] แหล่งที่มา: <http://www.mangosteenrd.com/research03.html> (20 มีนาคม 2558)
18. ชูติมณฑน์ อุดมเกียรติกุล. “ผลิตภัณฑ์กันแดดปกป้องผิวอย่างไร” [ออนไลน์] แหล่งที่มา: [http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/dic/knowledge\\_full.php?id=38](http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/dic/knowledge_full.php?id=38) (20 มีนาคม 2558)
19. Kreilgaard M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2002;54(1):S77-S98.
20. Lawrence MJ, Rees GD. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2012;64:175-193.
21. Lee PJ, Langer R, Shastri VP. Novel microemulsion enhancer Formulation For simultaneous transdermal delivery of hydrophilic and drugs. *Pharmaceutical Research.* 2003;20(2):264-269.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

22. Yuan Y, Li San-ming, Mo Feng-kui, Zhong Da-fang. Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;321:117-123
23. ประดิษฐบงกช อ, โตวิวัฒน์ ภ, ชุตติมารพันธ์ ส. ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวและอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิวร่วมที่มีต่อการเกิดไมโครอิมัลชัน คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของไมโครอิมัลชัน. 35th Congress on Science and Technology of Thailand.
24. Kogan A, Garti N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles *Advances in Colloid and Interface Science*. 2006;(123-126):369-385.
25. Yuan Y, Li San-ming, Mo Feng-kui, Zhong Da-fang. Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;321(1-2):117-123.
26. Misra H, Dwivedi BK, Mehta D, Mehta BK, Jain DC. Development and Validation of High Performance Thin-Layer Chromatographic Method for Determination of  $\alpha$ -Mangostin in Fruit Pericarp of Mangosteen plant (*Garcinia mangostana* L.) using Ultraviolet-Visible Detection. *Records of Natural Products*. 2009;3(4):178-186.
27. “สวนวิจัยพืชสวนจันทบุรี” [ออนไลน์] แหล่งที่มา: [http://www.doa.go.th/hrc/chantaburi/index.php?option=com\\_content&view=article&id=55&Itemid=66eal](http://www.doa.go.th/hrc/chantaburi/index.php?option=com_content&view=article&id=55&Itemid=66eal). 2009. *Garcinia mangostana* Agroforestry Database 4.0 (13 กุมภาพันธ์ 2558)
28. วานิชกุล ก. และ โกสิยะจินดา ส. ดัชนีการเก็บเกี่ยวและการเปลี่ยนแปลงหลังเก็บเกี่ยวของผลมังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.). 1 ed. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2523.
29. Zademowski R, Czaplinski S, Naczka M. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chemistry*. 2009;112(3):685-689.
30. Cui J, Hu W, Cai Z, Liu Y, Li S, Tao W, Xiang H. New medicinal properties of mangostins: Analgesic activity and pharmacological characterization of active ingredients from the fruit hull of *Garcinia mangostana* L. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2010;95:166-172.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

31. จินตนา ลือสุวรรณกิจ. (2551). การเตรียมและประเมินผลผลิตภัณฑ์เจลและยาน้ำใสรักษาสิวจากพืช. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต: เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. [PDF เอกสารออนไลน์] จากฐานข้อมูล : ฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์อิเล็กทรอนิกส์ แหล่งที่มา: [library.cmu.ac.th/digital\\_collection/etheses/fulltext.php?id=19411](http://library.cmu.ac.th/digital_collection/etheses/fulltext.php?id=19411) (30 มีนาคม 2555)
32. ญัฐพันธุ์ ตันดินฤพงษ์ และตุลาภรณ์ ม่วงแดง. (2543) “การพัฒนาสบู่มุขสมุนไพรต้านเชื้อ *Propionibacterium acne* และ *Staphylococcus aureus*” [ออนไลน์].n บทความคัดย่อจาก : [pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-research-special-abstract.php?num=17&year](http://pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-research-special-abstract.php?num=17&year) (5 มีนาคม 2557).
33. อินทรานุกกรณ์ ร. สารสกัดจากสมุนไพรรักษาสิว: การเตรียมและการแยกสารสำคัญด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี. 2ed. สมุทรปราการ: บริษัทคอมเมอเซียล เวิลด์ มีเดีย จำกัด; 2558.
34. Cheok CY, Chin NL, Yusof YA, Law CL. Extraction of Total Phenolic Content From *Garcinia mangostana* Linn. Hull. I. Effects of Solvents and UV-Vis Spectrophotometer Absorbance Method. Food Bioprocess Technol. 2012;5:2928-2933.
35. Zarena AS, Sankar KU. A STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES FROM *GARCINIA MANGOSTANA* L. PERICARP EXTRACT. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. 2009;8(1):23-34.
36. Li Q, Xu Jian-Guo. Effects of Extraction Solvents on Phytochemicals and Antibacterial Activities of *Garcinia mangostana* Pericarp. Asian Journal of Agriculture and Food Science. 2014;2(4):289-295.
37. Bhat RS, Al-Daihan S. Antimicrobial activity of *Garcinia mangostana* using different solvents extracts. International Journal of Biosciences. 2013;3(10): 267-272.
38. กมลชนก ศรีนวล และพินิต ชินสร้อย. (2544) “ฤทธิ์ต้านการอักเสบของตำรับยาสมุนไพรรักษาสิว” [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/thai/research\\_special.php?ybud=2544&lang=EN](http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/thai/research_special.php?ybud=2544&lang=EN) (5 กุมภาพันธ์ 2557).

### เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

39. “รังสียูวี ตัวร้าย ทำลายสุขภาพดวงตา และวิธีป้องกัน”. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.doa.go.th/hrc/chantaburi/index.php?option=com\\_content&view=article&i=55&Itemid=66et](http://www.doa.go.th/hrc/chantaburi/index.php?option=com_content&view=article&i=55&Itemid=66et) (20 มีนาคม 2558).
40. “แสงแดดและรังสี UV มีผลอย่างไรกับผิวหนัง?”. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.brecosmeticlab.com/newslet/51/04\\_apr/007\\_uv\\_effect.html](http://www.brecosmeticlab.com/newslet/51/04_apr/007_uv_effect.html) (20 มีนาคม 2558).
41. พีรยุทธ สิทธิไชยากุล. “ACUTE AND CHRONIC INFLAMMATION” [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.meded.nu.ac.th/backoffice/attachments/ACUTE%AND%CHRONIC%20INFLAMMATION.pdf> (22 มีนาคม 2557)
42. กันยารัตน์ ศึกษากิจ, กฤติยา ทิสยากร, วิเชียร เขยนอก, กาญจนา สีแยม, ดร. ปะหุสี และ นพรัตน์ พุทธกาล. “ฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำมันและสารสกัดจากดอกทานตะวันในหนูทดลอง”. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.annualconference.ku.ac.th/cd53/06>
43. จรรยาประเสริฐ ว. นาโนเทคโนโลยี: การนำส่งยาและเครื่องสำอางทางผิวหนัง. 1ed. กรุงเทพฯ: บริษัท ประชาชน จำกัด; 2552
44. รูปโครงสร้างผิวหนัง. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [jeeys.com/world\\_cas.htm](http://jeeys.com/world_cas.htm) (11 มกราคม 2554)
45. Dayan N. Pathways for Skin Penetratin. *Cosmetics & Toiletries magazine*. 2005 June;120(6);67-76.
46. จันทร์ศิริ ก. อิมัลชันทางเภสัชกรรม. 1 ed. นครปฐม: มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเข พระราชวังสนามจันทร์; 2549.
47. Kreilgaard M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2002;54(1):S77-S98.
48. “Microemulsion as vehicle controlled drug delivery system” [online]. Available from: <http://www.pharmainfo.net/files/pppc08/EMULSION.swf> (7 January 2011).
49. Lawrence MJ, Rees GD. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2000;45:89-121.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

50. นพรัตน์ ตั้งเวนิชเจริญสุข, ธัญญา พริกิตติวรกุล และกนกนภพร เม่งช่วย. (2552) “การศึกษา Ternary phase diagram ของระบบที่ประกอบด้วยน้ำ, น้ำมันธรรมชาติและสารลดแรงตึงผิว.” [ออนไลน์]. แหล่งที่มาจาก : <http://www.pharmhcu.com/py/Project/p51225217.pdf> (20 มีนาคม 2558)
51. Griffin WC. CLASSIFICATION OF SURFACE-ACTIVEc AGENTS BY HLB. Journal of the Society of Cosmetics Chemists 1949 October;(1):311-326.
52. A.O.A.C (2005) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemistry. 18 th ed. Arlington, Virginia, Appendix D. page9/Appendix E. page2-3.
53. ฉัตรณฤทัย โกษาแสง, เยาวธิดา เทพศิริ, เสาวณีย์ อินจันทร์. (2552) “การศึกษา ก่อนตั้งตำรับและการพัฒนาตำรับของสารสกัด mangostin จากเปลือกมังคุดเพื่อใช้รักษาสิว” [ออนไลน์]. แหล่งที่มาจาก : <http://www.pharmhcu.com/py/Project/p51225218.pdf> (17 เมษายน 2558).
54. Al-Edresi S and Baie S. Formulation and stability of whitening VCO-in-Water nano-cream. International Journal of Pharmaceutics. 2009;373;174-178.
55. Widyanati P, Jufri M, Elya B, Iskandarsyah. Formulation and Penetration Study of Liposome Gel Xanthone of Extract Mangosteen Pericarp (*Garcinia mangostana* L.). International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2014July-August;27(2);1-6.
56. Limphapayom W. “Preparation of Niosome Encapsulated Alpha-mangostin in Cosmetic’. [Online] Available : [http://www.tntjapan.org/JAPANAbstracts/2014\\_Limphapayom\\_Wilaisri\\_L9willie@hotmail.com\\_TNTJAPANLIMPHAPAYOM,Wilaisri1.pdf](http://www.tntjapan.org/JAPANAbstracts/2014_Limphapayom_Wilaisri_L9willie@hotmail.com_TNTJAPANLIMPHAPAYOM,Wilaisri1.pdf)
57. Rassameemasmaung S, Sirikulsathean A, Amornchat C, Maungmingsook P, Rojanapanthu P, Gritsanaphan W. Topical application of *Garcinia mangostana* L. pericarp gel as an adjunct to periodontal treatment. Complementary Therapies in Medicine. 2008;16(5);262–267.
58. พิลาพา ยืนนาน. (2550) ความคงตัวของแอลฟาแมงโกสตินในสารสกัดจากเปลือกมังคุด. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร) กรุงเทพมหานคร : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

59. Okura NÜ, Apaydın S, Yavaşoğlu NÜK, Yavaşoğlu Altuğ, Karasulu HY. Evaluation of skin permeation and anti-inflammatory and analgesic effects of new naproxen microemulsion formulations. International Journal of Pharmaceutics. 2011;416: 136-144.





ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

ข้อมูลแสดงพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mg/mL)	พื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย				SD	CV
	N1	N2	N3	ค่าเฉลี่ย		
0.02	5420075	5499892	5693736	5537901.00	140734.1422	0.0254
0.04	9947643	9999820	9971405	9972956.00	26123.0556	0.0026
0.06	14672330	14607324	14835615	14705089.67	117618.4169	0.0080
0.08	19939580	19981820	20264047	20061815.67	176406.3166	0.0088
0.10	25283649	26006586	26178489	25822908.00	474855.6224	0.0184

หมายเหตุ : n คือ จำนวนครั้ง

SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

CV คือ สัมประสิทธิ์ความแปรผัน



## ภาคผนวก ข

ข้อมูลความแม่นยำของสารมาตรฐาน  $\alpha$ -mangostin ในสารสกัดเปลือกมังคุดซึ่งวิเคราะห์ด้วย HPLC

ระดับความเข้มข้น	พื้นที่ใต้พีคของสารสกัด	ปริมาณสารสกัดจากการวิเคราะห์ (mg/mL)	ปริมาณสารมาตรฐานที่เติมลงไป (mg/mL)	พื้นที่ใต้พีคของ spiked	ปริมาณที่พบ (mg/mL)	ร้อยละการกลับคืน (%)
<b>75%</b>						
n1	10,452,784	0.0411		18,563,253	0.0731	106.66
n2	10,139,368	0.0399	0.03	17,169,986	0.0676	92.33
n3	10,326,033	0.0406		17,363,363	0.0684	92.67
เฉลี่ย	10,306,061.67	0.0405		17,698,867.33	0.0697	97.22
SD						8.18
<b>100%</b>						
n1	10,452,784	0.0411		20,674,668	0.0815	101.00
n2	10,139,368	0.0399	0.04	19,138,733	0.0754	88.75
n3	10,326,033	0.0406		20,144,820	0.0794	97.00
เฉลี่ย	10,306,061.67	0.0405		19,986,073.67	0.0788	95.58
SD						6.25
<b>125%</b>						
n1	10,452,784	0.0411		21,703,509	0.0856	88.80
n2	10,139,368	0.0399	0.05	24,506,660	0.0966	113.40
n3	10,326,033	0.0406		22,981,926	0.0906	100.00
เฉลี่ย	10,306,061.67	0.0405		23,064,031.67	0.0909	100.73
SD						12.32
<b>ค่าเฉลี่ย</b>						<b>97.85</b>

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ภาคผนวก ค  
การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ความหนาของใบหูหนูเมื่อทดสอบในตำรับในช่วงเวลาต่างๆ

Group	N	Ear Thickness ( $\bar{x} \pm s.e.$ )		
		30 min	1 h	2 h
Control (microemulsion base)	6	9.6 $\pm$ 0.8*	11.6 $\pm$ 0.9*	6.6 $\pm$ 0.4*
Phenylbutazone	6	4.5 $\pm$ 1.1*	5.7 $\pm$ 1.0*	3.5 $\pm$ 0.4*
Mangosteen extract in microemulsion	6	4.2 $\pm$ 0.5*	6.0 $\pm$ 0.6*	3.0 $\pm$ 0.6*

หมายเหตุ : N = จำนวนครั้ง

$\bar{x}$  = ค่าเฉลี่ย

s.e. = standard error

\* = ข้อมูลการทดลองนำมาวิเคราะห์ค่าสถิติด้วย one-way ANOVA และเปรียบเทียบ

ความต่างระหว่างกลุ่มด้วย Tukey Post-Hoc analysis พบว่า  $p < 0.05$  ซึ่งแสดงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการบวมของหูหนูในตำรับต่างๆ

Group	N	Edema inhibition (%)		
		30 min	1 h	2 h
Control (microemulsion base)	6	-	-	-
Phenylbutazone	6	45.8	44.1	38.6
Mangosteen extract in microemulsion	6	49.4	41.2	47.4

หมายเหตุ : N = จำนวนครั้ง

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล                      นางสาวชุตีมา บุญรัตน์  
วัน เดือน ปีเกิด              5 มิถุนายน 2530  
ที่อยู่ปัจจุบัน                145 หมู่ 1 ตำบลเขาพนม อำเภอเขาพนม จังหวัดกระบี่ 81140  
ประวัติการศึกษา  
พ.ศ. 2552                      คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
    วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สาธารณสุขศาสตร์)

