

การตั้งสูตรตำรับเจลจากสารสกัดเปลือกบอระเพ็ดสำหรับสิวอักเสบ

Gel formulation from bark of *Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. F. & Thomson extract for inflammatory acne

แสงเพ็ญ อินประเสริฐ¹, พิทักษ์ แซ่เฮ้ง¹, เพชรพงศ์ เพชรศรี², พิรุณรัตน์ เดชบำรุง², กฤษดา อนันตวุฒิกุล², นวลศรี นีวัตศิ์วงศ์³, อารีรัตน์ ชื่อดี²

Saengpen Inprasert¹, Pithak Saeheng¹, Petchpong Petcharee², Piroonrat Dechbumroong², Kridsada Anuntawuttikul², Nuansri Niwattisaiwong³, Areerat Suedee²

Received: 24 November 2021 ; Revised: 7 January 2021 ; Accepted: 1 February 2022

บทคัดย่อ

บอระเพ็ดเป็นสมุนไพรที่มีการใช้มาอย่างยาวนานและมีการศึกษาพบว่าสารสำคัญจากส่วนลำต้นที่สามารถลดอาการของการอักเสบได้ การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงปริมาณ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการทดสอบเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยการหมักกับการสกัดแบบซอกซ์เลตด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอลจากเปลือกบอระเพ็ดและการพัฒนาสูตรตำรับเจลจากเปลือกบอระเพ็ดสำหรับสิวอักเสบ การวิเคราะห์สารสกัดบอระเพ็ดด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 292 และ 319 นาโนเมตร จากนั้นนำสารสกัดไปพัฒนาต่อเป็นสูตรตำรับเจลร่วมกับการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี freeze thaw cycle จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ดด้วยวิธีการหมักและวิธีการสกัดแบบซอกซ์เลตมีร้อยละของสารสกัด (โดยน้ำหนัก) เท่ากับ 18.81 และ 11.05 ซึ่งแตกต่างกัน 7.76 ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้สารสกัดจากเปลือกของบอระเพ็ดด้วยวิธีการหมักแล้วนำสารสกัดไปตั้งสูตรตำรับเจลที่มีความเข้มข้นของสารสกัดบอระเพ็ด 5% เพื่อไปทดสอบความคงตัวด้านต่างๆ จากผลการทดสอบพบว่าสูตรตำรับเจลจากสารสกัดเปลือกบอระเพ็ดทั้งที่ 0.5% และ 1% Carbopol[®] 940 มีความคงตัวทั้งสองสูตรตำรับ

คำสำคัญ: บอระเพ็ด สูตรตำรับเจล สิวอักเสบ

Abstract

Tinospora crispa (L.) Miers ex Hook. f. & Thomson has been widely used for a long time. The study showed that active ingredients from stem of *T. crispa* contain anti-inflammatory activity. The purpose of this quantitative research was to compare maceration and soxhlet extraction methods in the extraction of bark from *T. crispa* with 95% ethanol and to develop gel formulation with *T. crispa* ethanolic extract for inflammatory acne. The extract was analyzed by UV-VIS spectrophotometer at wavelength 292 and 319 nanometer. Then, the extract was developed into gel formulations which were determined physical properties, chemical properties and stability tests by freeze thaw cycles. The results showed that the *T. crispa* extract with maceration method and soxhlet extraction method had %yield (w/w) 18.81 and 11.05, respectively. The difference of %yield was 7.76. Therefore, the researcher used the bark *T. crispa* extract by maceration method to prepare gel formulation with 5% crude extract of *T. crispa* which were conducted stability tests. The results presented the stability of both gel formulations from *T. crispa* extract with 0.5% and 1% Carbopol[®] 940.

Keywords: *Tinospora crispa*, gel formulation, inflammatory acne

¹ นักศึกษาปริญญาตรี, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย อำเภอชัยบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

² อาจารย์, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย อำเภอชัยบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

³ รองศาสตราจารย์, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย อำเภอชัยบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

¹ Bachelor degree student, School of Pharmacy, Eastern Asia University, Thanyaburi District, Pathum Thani 12110, Thailand.

² Lecturer, School of pharmacy, Eastern Asia University, Thanyaburi District, Pathum Thani 12110, Thailand.

³ Associate Professor, School of Pharmacy, Eastern Asia University, Thanyaburi District, Pathum Thani 12110, Thailand.

* Corresponding author; Areerat Suedee, School of Pharmacy, Eastern Asia University, Thanyaburi District, Pathum Thani 12110, Thailand. areerats@eau.ac.th

บทนำ

การเกิดสิวคือการอักเสบของหน่วยรูขุมขนและต่อมไขมัน โดยมักเป็นที่บริเวณหน้า คอและลำตัวส่วนบน ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีต่อมไขมันขนาดใหญ่อยู่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดสิว เช่น ยาบางชนิด เครื่องสำอาง และสิ่งแวดล้อม โดยสาเหตุของสิวเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลัก เช่น เชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งอาศัยอยู่ที่ผิวหนังและภายในต่อมรูขุมขน การเกิดปฏิกิริยาการอักเสบซึ่งเกิดจากเชื้อ *Propionibacterium acnes* การเกิดความผิดปกติในการสร้างเคราตินภายในต่อมรูขุมขน ต่อมไขมัน และต่อมไขมันสร้าง sebum เพิ่มขึ้น เป็นต้น ในช่วงวัยรุ่น การเกิดสิวมักเป็นปัญหาที่พบได้บ่อยและเป็นสิ่งรบกวนที่ก่อให้เกิดปัญหาในด้านพัฒนาบุคลิกภาพ ทำให้ขาดความมั่นใจต่อการเข้าสังคมและแสดงออกทางสังคม ซึ่งการรักษาสิวในปัจจุบันมีวิธีการรักษาที่หลากหลาย โดยผู้ป่วยอาจเลือกการเลือกซื้อยาหรือผลิตภัณฑ์เพื่อมารักษาด้วยตนเอง ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ซื้ออาจมีสารหรือส่วนประกอบของสารที่เป็นอันตราย หรือมีผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น เช่น เกิดการระคายเคืองผิว ผื่นคัน ผิวไวต่อแสง การแพ้ยาลูกวัว รวมถึงการดื้อยา (Khunawattanukul et al., 2017) โดยเฉพาะสารประกอบกลุ่มคอร์ติโคสเตียรอยด์ที่ช่วยลดการอักเสบซึ่งหากใช้เป็นระยะเวลาที่ยาวนานอาจทำให้เกิดการฝ่อบางของผิวหนัง หลอดเลือดฝอยบริเวณผิวหนังขยายตัวมากขึ้นและอาจเกิดการกลับมาเป็นซ้ำ การกำเริบใหม่รุนแรงมากยิ่งขึ้นได้ด้วย (Techasatian, 2016) จากสาเหตุต่างๆ ตามที่กล่าวมาจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจต่อการนำสมุนไพรมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับลดอาการสิวอักเสบ เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาจากสารเคมีและผลข้างเคียงของการใช้ยาปฏิชีวนะ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำสารสกัดจากธรรมชาติหรือการนำสมุนไพรที่มีสรรพคุณด้านการอักเสบเพื่อนำมาพัฒนาในรูปแบบผลิตภัณฑ์โดยการเลือกนำบอระเพ็ดที่มีสรรพคุณทางยา เนื่องจากต้นบอระเพ็ดมีสารสำคัญ *N-trans-Feruloyltyramine* ที่สามารถลดอาการของการอักเสบในร่างกายได้ (Jiang et al., 2015) และมีรายงานการวิจัยพบว่าสารสกัดส่วนของลำต้นบอระเพ็ดมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (Hipol et al., 2012) ดังนั้นจึงนำมาพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ลดสิวอักเสบในรูปแบบเจล ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเจลเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่สามารถซึมผ่านผิวหนังได้รวดเร็ว ไม่ก่อให้เกิดความมันบนใบหน้า โดยสามารถเตรียมผลิตภัณฑ์ให้มีลักษณะที่นำใช้ สามารถล้างหรือทำความสะอาดออกได้ง่ายอีกด้วย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นบอระเพ็ด

บอระเพ็ดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. f. & Thomson พบอยู่ในวงศ์ Menispermaceae มีลักษณะเป็นไม้เถา เนื้อแข็ง ไม่มีขน เลื้อย

ยาวได้ถึง 15 เมตร มีตุ่มนูนกระจายทั่วทั้งลำต้น ผิวขรุขระไม่เรียบ มีรสขม มีรากอากาศคล้ายเส้นเชือกขนาดเล็กยาวออกบริเวณโคนเถา ใบเป็นใบเดี่ยวคล้ายรูปหัวใจ โคนใบหยักว่ามีเส้นใบหลัก ออกจากโคนใบประมาณ 3-5 เส้น ดอกบอระเพ็ดออกเป็นช่อขึ้นตามซอกใบมีขนาดเล็กสีเหลืองอมเขียว ตรงกลางประกอบด้วยกลีบและเกสร ผลมีลักษณะเป็นรูปไข่กลมรี สีเหลืองถึงส้มแดง (Homhual, 2010)

ในตำรายาไทย เถา มีรสขม แก้ไข้ทุกชนิด เป็นยาขมเจริญอาหาร ต้มดื่มเพื่อให้เจริญอาหาร ช่วยย่อย บำรุงน้ำดี บำรุงไฟธาตุ แก้อาการระคายเคืองอาหาร บำรุงร่างกาย เป็นยาขับเหงื่อ ดับกระหาย แก้อ่อนใน ลดน้ำตาลในเลือด แก้ท้องเสีย ไข้จับสั่น ระบายความร้อน ทำให้ตัวและเลือดเย็น ทุกส่วนของพืชใช้แก้ไข้ เป็นยาบำรุง โดยจัดอยู่ใน “พิภดตรีฎาณรส” คือการจำกัดจำนวนตัวยาที่ทำให้รื้อรสอาหาร 3 อย่างคือ ไล่หมาก รากสะเดา เถาบอระเพ็ด มีสรรพคุณแก้ไข้ ดับพิษร้อน ขับปัสสาวะ ขับเสมหะ บำรุงไฟธาตุ บำรุงกำลัง “พิภดยาแก้ไข้ 5 ชนิด” คือการจำกัดจำนวนตัวยาแก้ไข้ 5 อย่างคือ รากย่านาง รากคนทา รากชิงช้า ไข่เหล็กทั้ง 5 และเถาบอระเพ็ด สรรพคุณแก้ไข้ ดับพิษร้อน (Kongsaktrakoon et al., 1994; Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand, 1998; Homhual, 2010; Smitinand, 2010) โดยบอระเพ็ดเป็นสมุนไพรที่มีการใช้มาอย่างยาวนาน

จากการศึกษาทางวิจัยพบว่าบอระเพ็ดมีสรรพคุณทางยาหลายประการ เช่น ฤทธิ์ทางระบบภูมิคุ้มกัน (Ibahim et al., 2011) ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (Abood et al., 2014) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Zulkefli et al., 2013) ฤทธิ์การลดระดับน้ำตาลในเลือด (Noor et al., 1989; Sriyapai, et al., 2009) ฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (Higashino et al., 1992) ในส่วนของการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธี Carrageenan-induced rat paw edema โดยการใช้สารสกัดน้ำจากส่วนของลำต้นบอระเพ็ดที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 mg/kg ซึ่งสามารถยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าหนูได้และพบว่าสารสกัดบอระเพ็ดที่ความเข้มข้น 5 และ 7.5% w/v นั้นทำให้เกิดความคงตัวของเยื่อหุ้มเซลล์และการไปยับยั้งการเสื่อมสภาพของโปรตีนจึงน่าจะเป็นกลไกที่เป็นไปได้ในการต้านการอักเสบของบอระเพ็ด (Hipol et al., 2012) โดยบอระเพ็ดมีองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย ได้แก่ Alkaloids, Flavonoids, Flavone glycosides, Triterpenes, Diterpenes, Diterpene glycosides, cis Clerodane-type furanoditerpenoids, Lactones, Sterols, Lignans และ Nucleosides (Ahmad et al., 2016) ยกตัวอย่างเช่น Picoretin, Columbin, Picoretroside, Tinosporide, Tinosporidine เป็นสารที่ทำให้บอระเพ็ดมีรสขม, *N-trans-feruloyltyramine* (1) ซึ่งเป็นสารที่สามารถลดอาการของการอักเสบ (Jiang et al.,

2015) และเป็นสารหลักที่พบที่อยู่ในกลุ่ม Alkaloid (Koay & Amir, 2013; Ahmad *et al.*, 2016), สารในกลุ่ม Flavonoids เช่น Apigenin (2) สามารถลดการหลั่ง interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) ซึ่งเป็นไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และลดระดับเอนไซม์ cyclooxygenase (COX-2) ที่มักพบได้เมื่อร่างกายเกิดการอักเสบ (Park, *et al.*, 2020), สาร Diosmetin (3) (Monika *et al.*, 2010; Ahmad *et al.*, 2016), Columbin (4) และ Rumphiol E (5) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของ Furanoditerpenoids (Agnihortri *et al.*, 2010) เป็นกลุ่ม Terpenoids เช่น Borapetoside A, Borapetoside B, Borapetol A, Tinocrisposide, Tinosporan พบว่าสาร

Diosmetin และ 3-O-b-D-Glucopyranosyl-b-sitosterol (6) สามารถยับยั้งการสร้างสาร nitric oxide ได้ (Yang & An, 2014; Kim *et al.*, 2018), โดยสาร Cycloeucaenol (7) มีฤทธิ์ป้องกันตัวอักเสบ (Ismail & Choudhary, 2016) รวมถึงกลุ่มฟีนอลิกไกลโคไซด์ เช่น Tinoluberide เป็นต้น โดยเป็นสารที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (Mokkhasmit *et al.*, 1971; Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand, 1998; Sharma *et al.*, 2019) ซึ่งบอระเพ็ดเป็นพืชที่มีราคาไม่สูงมาก อีกทั้งบอระเพ็ดยังมีราคาไม่แพง สามารถหาซื้อได้ง่ายในท้องตลาดและสามารถปลูกได้ตลอดทุกฤดูกาล

องค์ประกอบทางเคมีที่พบในบอระเพ็ด

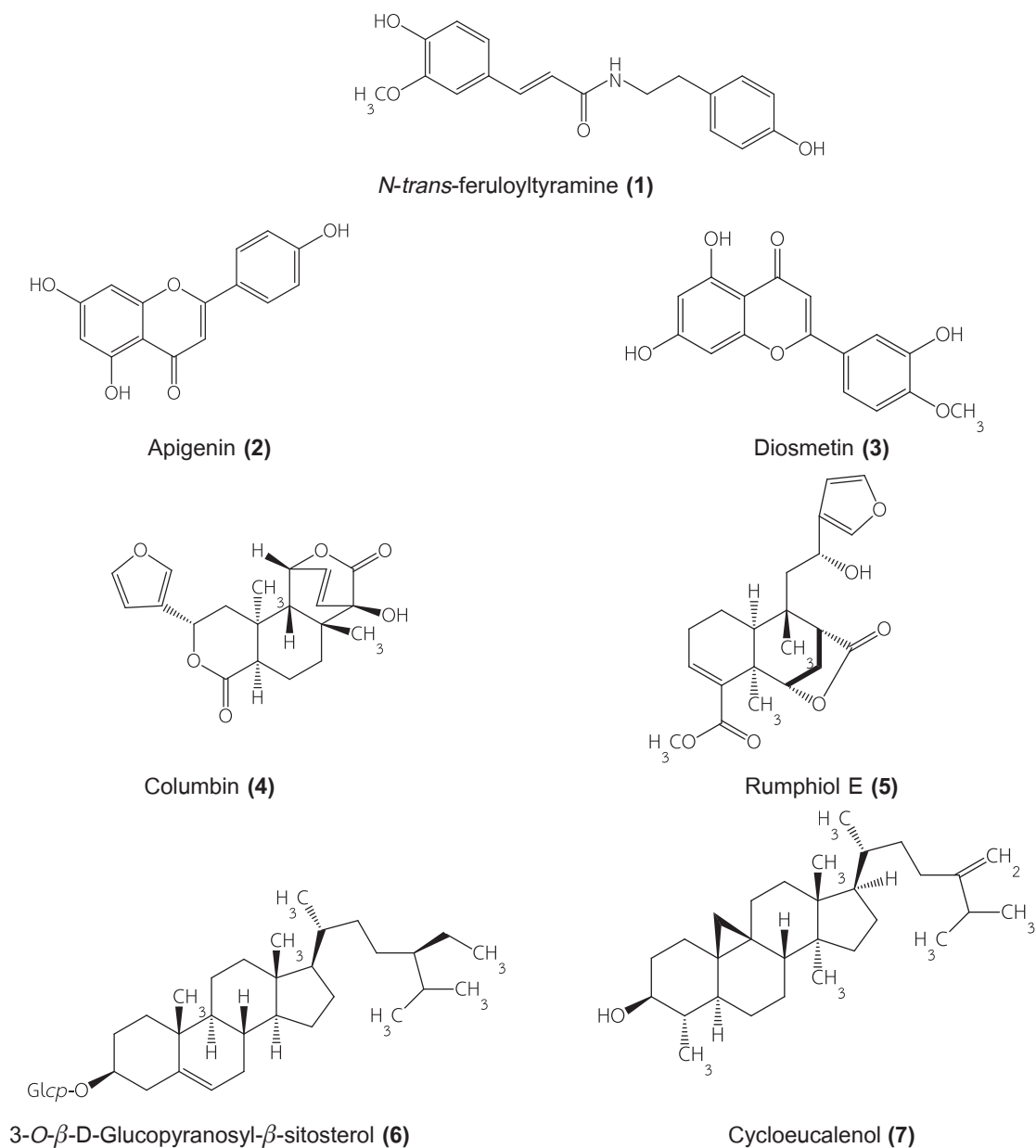


Figure 1 Chemical constituents of *Tinospora crispa*

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อการศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการสกัดเปลือกบอระเพ็ดโดยวิธี Maceration extraction และวิธี Soxhlet extraction
2. เพื่อนำสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ดที่ได้ไปพัฒนาต่อให้เป็นผลิตภัณฑ์ลดสิวอักเสบในรูปแบบเจล

แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

ในด้านของกลไกการเกิดสิวมักเกิดจากต่อมไขมัน ซึ่งมีหน้าที่ผลิตไขมันและมีท่อเปิดออกสู่อวัยวะผิวหนังเพื่อให้ไขมันที่ผลิตขึ้นจากต่อมไขมันออกมาหล่อลื่นผิวหนังภายนอก ต่อมาไขมันที่แต่ละตำแหน่งของร่างกายมีขนาดและความหนาแน่นไม่เท่ากัน บริเวณใบหน้าจะมีต่อมไขมันขนาดใหญ่ และหนาแน่นกว่าบริเวณอื่น (Do et al., 2009; Udompataikul, 2018; Ali et al., 2019) ดังนั้นเราจึงพบสิบบริเวณใบหน้าได้บ่อย ตำแหน่งอื่นๆ ที่พบสิวได้บ่อย ได้แก่ บริเวณหลัง หน้าอกและไหล่

กลไกการเกิดสิวจะประกอบด้วย 4 ขั้นตอน (Techasatian, 2016; Udompataikul, 2018) ดังนี้ คือ

1) ต่อมไขมันสร้าง sebum เพิ่มมากขึ้น

ไขมันที่สร้างโดยต่อมไขมันจะมีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเป็นสิวและผิวนั้น การสร้างไขมันโดยต่อมไขมันจะเกิดขึ้นโดยการกระตุ้นของฮอร์โมนแอนโดรเจนซึ่งจะเพิ่มขึ้นในช่วงวัยรุ่น ดังนั้นจึงเริ่มพบสิวในช่วงวัยรุ่น เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของระบบฮอร์โมนในร่างกาย

2) ความผิดปกติของ Follicular keratinization

เกิดความผิดปกติของการแบ่งตัวของเซลล์ผิวหนังและมีการสร้าง Keratin บริเวณรูขุมขนผิดปกติ ทำให้เกิดการอุดตันของเซลล์ผิวหนังขึ้น

3) แบคทีเรีย *Propionibacterium acnes*

เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในรูขุมขน ในระยะแรกจะเริ่มเกิดสิวมักจะตรวจไม่พบเชื้อ แต่ในระยะที่พบการอักเสบจะตรวจพบแบคทีเรียชนิดนี้เป็นจำนวนมาก แบคทีเรียชนิดนี้จะกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดคือ Monocyte และ Neutrophil ให้หลั่ง Inflammatory Mediator ต่างๆ มากมาย เช่น IL-12, IL-8, และ TNF เป็นต้น ซึ่งจะก่อให้เกิดการอักเสบขึ้น

4) การเกิดปฏิกิริยาอักเสบ (Inflammation)

เป็นปฏิกิริยาที่ตอบสนองของเซลล์ เนื้อเยื่อหรือเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ซึ่งมักจะมีลักษณะอาการทางคลินิกคือปวด บวม แดงและร้อน เมื่อเข้าสู่วัยรุ่นฮอร์โมนแอนโดรเจน ซึ่งสร้างจาก Adrenal Gland และ Gonad จะกระตุ้นให้ต่อมไขมันมี

ขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อเซลล์ของต่อมขนมีการสร้างมากผิดปกติ จะทำให้เกิดการอุดตันที่บริเวณทางออกของรูขุมขนส่งผลให้ไขมัน เซลล์ผิวหนังที่หลุดลอกหรือตายแล้ว และแบคทีเรียที่เกิดการอุดตันไม่สามารถระบายเกิดเป็น Comedone ซึ่งถือเป็นต้นกำเนิดของสิว เมื่อต่อมไขมันมีการผลิตไขมันมากเกินไปจะทำให้เกิดการสะสมใน Sebaceous Follicle มาก Comedone จะขยายขนาดใหญ่ขึ้นทำให้เกิดการอักเสบที่บริเวณ Sebaceous follicle แบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* เป็น Anaerobic, Gram-positive Diptheroids และ Colonize อยู่ในรูขุมขน จะมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อเกิดการอักเสบและจะเกิดกระบวนการกระตุ้น Neutrophil ให้เกิดการหลั่ง Lysosome ทำให้เกิดการอักเสบรอบ Sebaceous follicle อีกทั้งยังทำหน้าที่ สร้าง Enzyme lipase ย่อย Triglycerides ในต่อมไขมันให้เป็น Free fatty acid ซึ่งทำให้เกิดการอักเสบของต่อมไขมัน ถ้าการอักเสบอยู่ส่วนต้นของผิวหนัง ก็จะเป็นตุ่มแดง (Papule) หรือตุ่มหนอง (Pustule) แต่ถ้าอยู่ลึกลงไปจะเป็นก้อนบวม (Nodule) หรือ ถุงสิว (Cyst)

จากขั้นตอนที่กล่าวมาการอักเสบจะเกิดจากเมื่อเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นจะกระตุ้น Macrophages ให้เคลื่อนที่มายังบริเวณที่เกิดการอักเสบ เกิดกระบวนการ Phagocytosis เกิดการรวมตัวของเชื้อแบคทีเรียและ Membrane กระตุ้นให้เกิดการปลดปล่อยของ Proinflammatory enzyme เมื่อ Macrophages, Neutrophils และ Dendritic cell กลืนกินแบคทีเรียแล้ว จะมีการปล่อยโปรตีนของผนังเซลล์แบคทีเรียบางส่วนออกมา ซึ่งโปรตีนเหล่านี้สามารถเหนี่ยวนำและกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันให้ตอบสนองทำให้เกิดการอักเสบด้วยการหลั่ง Chemical mediators เพิ่มขึ้นอีกด้วย เช่น Histamine, Nitric oxide (NO), Prostaglandins E2 (PGE2) และ Leukotrienes เป็นต้น (Wetwitayaklung, 2012) ดังนั้นจากที่กล่าวมาการทำให้เกิดความคงตัวของเยื่อหุ้มเซลล์และการไปยับยั้งการเสื่อมสภาพของโปรตีนจึงน่าจะเป็นกลไกในการต้านการอักเสบของบอระเพ็ด (Hipol et al., 2012)

กรอบแนวคิดการวิจัย

การศึกษางานวิจัยนี้มีขอบเขตครอบคลุมเนื้อหาในเรื่องของการสกัดสารสำคัญจากบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลาย 95% Ethanol และการศึกษาการตั้งสูตรตำรับเจลบอระเพ็ดเพื่อให้ได้สูตรตำรับที่มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง โดยมีการทดสอบความคงตัวโดยใช้วิธีการ Freeze thaw cycle และมีพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัดผลด้านความคงตัว ได้แก่ ลักษณะทางกายภาพ และค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

สมมติฐานการวิจัย

ในการตั้งสูตรตำรับเจลที่มีสารสกัดบอระเพ็ดสามารถนำมาพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับสิวอักเสบได้

วิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการสกัดเปลือกบอระเพ็ดด้วยวิธี Maceration extraction และวิธี Soxhlet extraction โดยทำซ้ำ 3 รอบ ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินการวิจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ขั้นตอนการสกัด (Extraction)

1.1 ชั่งเปลือกของบอระเพ็ดอย่างละ 100 g ใส่ Erlenmeyer flask แล้วทำการสกัดด้วยวิธี Maceration extraction และ 100 g สำหรับการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction โดยใช้ 95% Ethanol เป็นตัวทำละลายในการสกัด

1.2 สำหรับวิธี Maceration extraction ให้หมักและหมั่นเขย่าสารสกัดบ่อยๆ จนครบ 5 วัน แล้วจึงกรอง ส่วนวิธีการ Soxhlet extraction โดยทำซ้ำ 3 รอบ เมื่อสกัดเสร็จแล้วจึงทำการกรอง

1.3 นำสารสกัดที่กรองได้มาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง Rotary evaporator

1.4 ทำสารสกัดแห้งและนำในแต่ละส่วนที่ได้มาคำนวณและเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่ได้โดยหา % yield ระหว่าง ส่วนของเปลือกของบอระเพ็ด ด้วยวิธีการสกัดแบบ Maceration extraction และ Soxhlet extraction

2. ขั้นตอนการหาค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Spectrophotometer

2.1 การวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดเปลือกบอระเพ็ดเพื่อเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญที่พบในสารสกัดโดยวิธีกราฟมาตรฐาน

2.1.1 นำสารสกัดบอระเพ็ดส่วนเปลือกมาเจือจางกับ 95% Ethanol โดยนำมาหาค่า Absorbance ที่เหมาะสม

2.1.2 นำสารสกัดมาวิเคราะห์ โดยใช้เครื่อง UV-Spectrophotometer

2.1.3 จดบันทึกค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 292 และ 319 nm

2.2 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบความคงตัวของสารสกัดในสูตรตำรับ

2.2.1 เตรียม Stock Solution โดยนำสารสกัดบอระเพ็ดมาผสมกับ 95% Ethanol ในอัตราส่วน 1:1 แล้วนำไป Sonicate จากนั้นเปิดมา 5 mL เจือจางกับ 95% Ethanol จนมีปริมาตรครบ 50 mL จะได้ Stock Solution ที่มีความเข้มข้น 1 mg/mL แล้วนำมาเจือจางเพื่อเตรียมเป็นความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ คือ 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 และ 0.40 mg/mL ตามลำดับ

2.2.2 นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาวิเคราะห์ โดยใช้เครื่อง UV Spectrophotometer

2.2.3 บันทึกผลค่า Absorbance ทำซ้ำ 3 รอบในทุกๆ ความเข้มข้น

2.2.4 นำค่าที่ได้มาทำเป็น Standard Curve เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบความคงตัวของสารสกัดในสูตรตำรับ

การทดลองที่ 2 การตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดจากบอระเพ็ดด้วยการทำ Working Formula of gel base โดยการเปรียบเทียบ % Carbopol® 940 ที่ 0.5%, 1%, 1.5% และ 2.0% ตามลำดับ เพื่อหาปริมาณสารก่อเจลที่เหมาะสม จากนั้นจึงทดสอบหาความคงตัวโดยประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและประเมินคุณสมบัติทางเคมีด้วยวิธี Freeze thaw cycle จำนวน 3 รอบ เพื่อพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ลดสิวอักเสบในรูปแบบเจลต่อไป โดยมีขั้นตอนการดำเนินการวิจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ขั้นตอนการตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดจากบอระเพ็ด

1.1 การเตรียมเจลพื้น (Rowe *et al.*, 2012)

1.1.1 ชั่งสารตาม Working Formula ในสูตรตำรับเจลพื้น

Table 1 Working Formula of gel base

Working Formula	0.5% Carbopol® 940	1.0% Carbopol® 940	1.5% Carbopol® 940	2.0% Carbopol® 940
Carbopol® 940 (g)	0.25	0.50	0.75	1.0
TEA (mL)	0.133	0.300	0.433	0.666
Water add to (g)	50	50	50	50

- 1.1.2 หาปริมาณสารก่อเจลที่มีเหมาะสม
- 1.1.3 นำไปประเมินคุณสมบัติด้านกายภาพและด้านเคมี ได้แก่ และความหนืดและความเป็นกรดต่าง
- 1.2 การเตรียมเจลพื้น
- 1.2.1 ชั่งสารตาม Working formula ในสูตรตำรับ
- 1.2.2 นำ Carbopol® โปริยลงน้ำ ผสมจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน
- 1.2.3 หยด Triethanolamine (TEA) เพื่อปรับ pH และช่วยให้สารก่อตัวเป็นเจล

- 1.2.4 นำไปประเมินคุณสมบัติด้านกายภาพ ได้แก่ ความเข้ากัน สี กลิ่น ความหนืด และคุณสมบัติด้านเคมี ได้แก่ ความเป็นกรดต่าง
- 1.2.5 เลือกสูตรเจลพื้นที่เหมาะสมตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดบอระเพ็ดต่อไป
- 1.3 วิธีการตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดบอระเพ็ด
- 1.3.1 ชั่งสารตาม Working Formula ในสูตรตำรับ โดยมีงานวิจัยที่นำสารสกัดจากพืช 1-10% มาตั้งสูตรตำรับเจลที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ (Queiroz *et al.*, 2014) ดังนั้นจึงพิจารณาใช้สารสกัดบอระเพ็ดเป็น 5 % ของสูตรตำรับ ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Gel formulation from bark of *Tinospora crispera* extract (Crude extract)

Constituent	Formular 1	Formular 2	Useful
5%Crude extract (g)	2.5	2.5	Active ingredient
Carbopol® 940 (g)	0.25	0.50	Gelling & Thickening agent
TEA (mL)	0.133	0.300	Neutralizer
95% Ethanol (mL)	2.5	2.5	Solvent
Water add to (g)	50	50	Vehicle

- 1.3.2 นำ Carbopol® 940 โปริยลงน้ำ ผสมจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน
- 1.3.3 เติมสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ดที่ละลายด้วย 95% Ethanol ผสมให้เข้ากัน
- 1.3.4 หยด TEA จนกระทั่งก่อตัวเป็นเจล
- 1.3.5 เติม Paraben conc. แล้วบรรจุลงในหลอดสำหรับใส่เจล จากนั้นนำไปทดสอบความคงตัว

2. การทดสอบหาความคงตัว

- 2.1 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ
- 2.1.1 ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) จะประเมินด้วยสายตาโดยสังเกตการแยกชั้นหรือการตกตะกอนของเนื้อเจล
- 2.1.2 สี (Color) ประเมินด้วยสายตาโดยการสังเกตว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีหรือไม่
- 2.1.3 กลิ่น (Odor) โดยการดมเพื่อประเมินลักษณะของกลิ่นว่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ อย่างไร
- 2.1.4 ความใส (Clear) ประเมินด้วยสายตาโดยการสังเกตว่ามีการเปลี่ยนแปลงของความใสหรือไม่
- 2.1.5 ความหนืด โดยวัดความหนืดโดยใช้เครื่องวัดความหนืด Brookfield RVDV-II+Pro Viscometer

โดยวัดทุกตำรับจำนวน 3 รอบ มีการกำหนดหัวเข็มเบอร์ s52 ซึ่งควบคุมปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้สำหรับการวัดจะกำหนดเป็นอุณหภูมิห้อง ช่วง 25-27°C รอบในการวัดจะกำหนดเป็น 1 RPM ปริมาณของสารที่ใช้ในการวัดกำหนด 0.1 mL ซึ่งค่าความหนืดของสูตรตำรับสมุนไพรเจลจะอยู่ในช่วง 4500-4900 cP (Misal, *et al.*, 2012)

2.2 การประเมินคุณสมบัติทางเคมี

โดยใช้การทดสอบด้วยวิธี Freeze thaw cycle ซึ่งมีการกำหนดการทดสอบคือ ในหนึ่งรอบจะประกอบด้วย อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมงและอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ทั้งหมดจำนวน 3 รอบ (U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 1998) โดยจะเก็บข้อมูลผลการทดลองดังนี้

- 2.2.1 ความเป็นกรดต่าง จะนำไปวัด pH โดยใช้เครื่อง pH meter โดยวัดทุกตำรับจำนวน 3 รอบ
- 2.2.2 การหาปริมาณสารสกัดในสูตรตำรับ โดยใช้เครื่อง UV-Spectrophotometer
- 2.2.2.1 เตรียม Stock Solution เจลพื้น โดยชั่ง เจลพื้นปริมาณ 1 g ผสมกับ 95% Ethanol และปรับปริมาตรจนครบ 50 mL จากนั้นปิเปตมา 15 mL เจือจางกับ 95% Ethanol แล้วปรับปริมาตรจนครบ 50 mL

2.2.2.2 เตรียม Stock Solution เจลบอระเพ็ด โดยชั่งเจลบอระเพ็ดปริมาณ 1 g ผสมกับ 95% Ethanol และปรับปริมาตรจนครบ 50 mL จากนั้นบีบเอา 15 mL เจือจางกับ 95% Ethanol แล้วปรับปริมาตรจนครบ 50 mL

2.2.2.3 นำไปวัดที่ความยาวคลื่น 292 และ 319 nm และบันทึกผล Absorbance ทำซ้ำ 3 รอบ

2.2.2.4 นำค่าที่ได้มาเทียบกับ Standard Curve เพื่อประเมินความคงตัวของปริมาณสารสกัดในสูตรตำรับ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยใช้สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ร้อยละ (%) ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้วิธี One-way Analysis of Variance,

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significant Difference หรือ LSD (Post Hoc Tests) กำหนดความเชื่อมั่นทางสถิติที่ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

จากการทดลองที่ 1 การศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการสกัดเปลือกบอระเพ็ดด้วยวิธี Maceration extraction และวิธี Soxhlet extraction ได้ผลดังนี้

1. การสกัดสารจากบอระเพ็ด

จากการสกัดสารสกัดจากเปลือกของบอระเพ็ดด้วยวิธีการ Maceration และ Soxhlet extraction พบว่าได้สารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ด ดังแสดงใน Table 3

Table 3 Comparison of % yield from *Tinospora crispa* extract

Method of Extraction	Weight (g)		% yield
	Dry barks	Crude extracts	
Maceration Extraction	100.13	18.83	18.81
Soxhlet Extraction	100.10	11.06	11.05

2. การวิเคราะห์สารสกัดบอระเพ็ด โดยเครื่อง UV-Spectrophotometer

จากการวิเคราะห์สารสกัดจากเปลือกของบอระเพ็ด

ด้วยวิธีการ Maceration และ Soxhlet Extraction โดยใช้เครื่อง UV-Spectrophotometer (Yokozawa *et al.*, 2001) พบว่าได้กราฟ ดังแสดงใน Figure 2

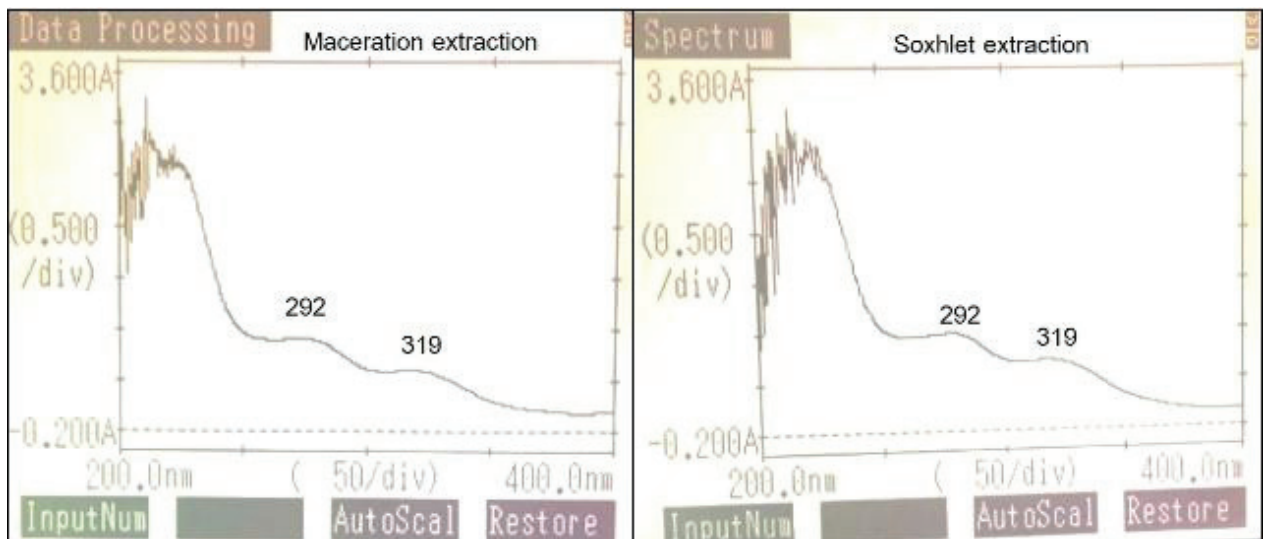


Figure 2 UV Spectrum from bark of *Tinospora crispa* extract by maceration and soxhlet extraction methods

จากการทดลองที่ 2 การตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดจากบอระเพ็ดเพื่อพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ลดสิ่วอีกเสบในรูปแบบเจล ได้ผลดังนี้

1. การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบความคงตัวของสารสกัดในสูตรตำรับ

จากข้อมูลการสกัดวิธีการ Maceration extraction ให้

% yield ที่สูงกว่าวิธีการ Soxhlet extraction ดังนั้นจึงเลือกใช้สารสกัดจากวิธีการ Maceration extraction เพื่อมาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบความคงตัวของสารสกัดในสูตรตำรับโดยเครื่อง UV-Spectrophotometer พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสง ดังแสดงใน Table 4 และกราฟมาตรฐานดัง Figure 3

Table 4 Absorbance of extract at 292 nm and 319 nm

Concentration (mg/mL)	Mean of Absorbance at 292 nm \pm S.D. $y=0.956x+0.3736$, ($R^2 = 0.9966$)	Mean of Absorbance at 319 nm \pm S.D. $y=0.76x+0.3744$, ($R^2 = 0.9951$)
0.20	0.568 \pm 0.001	0.529 \pm 0.001
0.25	0.611 \pm 0.001	0.565 \pm 0.000
0.30	0.654 \pm 0.000	0.595 \pm 0.000
0.35	0.713 \pm 0.000	0.643 \pm 0.001
0.40	0.756 \pm 0.000	0.680 \pm 0.001

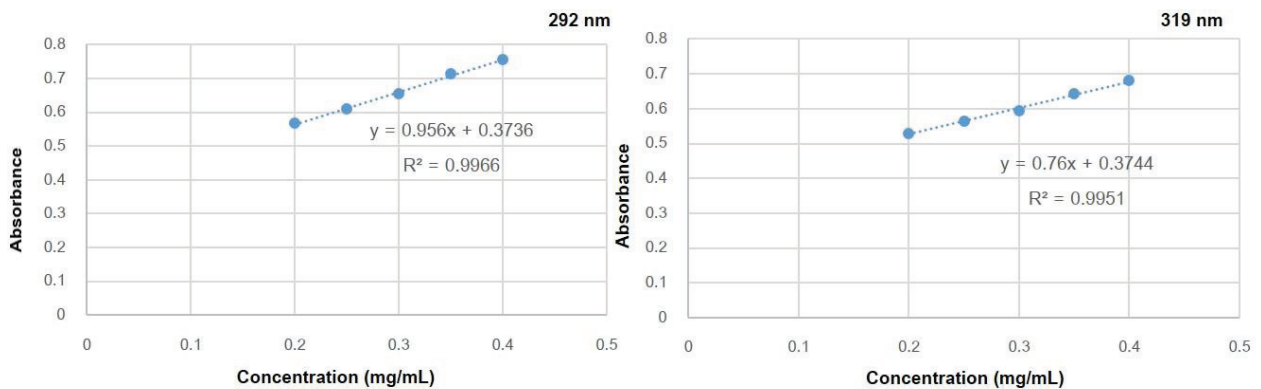


Figure 3 Standard curves of the extract at 292 nm and 319 nm

2. การตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ด

2.1 การเลือกเจลพื้สำหรับนำไปศึกษาการตั้งสูตรตำรับ

ในการพัฒนาสูตรตำรับเจลสำหรับทาผิวหนึ่งต้องคำนึงถึงความเป็นกรดต่างโดยค่า pH ของผิวหนึ่งในแต่ละส่วนของร่างกายมนุษย์มีความแตกต่างกัน บริเวณผิวหนังและผิวกายจะมีค่า pH อยู่ระหว่าง 5.4–5.9 (Sihabud *et al.*,

2018) หรือในช่วง 4.0-7.0 (Lambers, *et al.*, 2006; Schmid-Wendtner & Korting, 2006; Farage *et al.*, 2018) และความหนืดของตำรับที่เหมาะสมกับผิวหนึ่ง เนื่องจากสองปัจจัยดังกล่าวมีผลต่อความสามารถในการดูดซึมและการระคายเคืองกับผิวหนึ่งได้ ดังนั้นสูตรตำรับเจลที่พัฒนาขึ้นควรจะมีค่าความเป็นกรดต่าง ความหนืดของเจลพื้ที่เหมาะสมต่อผิวหนึ่ง และจากการทดลองทำเจลพื้ได้ค่าความเป็นกรดต่าง ดังแสดงใน Table 5

Table 5 pH and viscosity of gel base

Formular	Mean of pH ± S.D. (n=3)	Mean of Viscosity (cP) ± S.D. (n=3)
0.5% Carbopol® 940	5.50±0.01 ^a	4707.44±514.73 ^a
1.0% Carbopol® 940	5.58±0.01 ^b	36865.78±1539.51 ^b
1.5% Carbopol® 940	5.50±0.06 ^c	47260.67±2636.26 ^c
2.0% Carbopol® 940	5.59±0.04 ^d	50007.00±688.42 ^c

Different superscripts in the same column (a, b, c, d) indicate significant differences among the means of groups (Formula of 0.5%, 1%, 1.5%, 2% Carbopol® 940) based on LSD (Post Hoc) comparisons ($p < 0.05$)

เนื่องจากเจลมีลักษณะการไหลแบบ Pseudo Plastic ทำให้ค่าความหนืดที่วัดได้ไม่คงที่ จึงมีกำหนดเวลาในการเก็บข้อมูลคือ 60 วินาที และควบคุมปัจจัยในการวัดความหนืดได้แก่ อุณหภูมิกำหนดเป็นอุณหภูมิห้อง ช่วง 25-27°C รอบกำหนดเป็น 1 RPM ปริมาณของสารที่ใช้ 0.1 mL ซึ่งได้ผลการทดลองความหนืด แสดงดัง Table 6

2.2 การตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ด

จากการเลือกเจลพื้นฐานสำหรับการนำมาตั้งสูตรตำรับ ทำให้ได้ปริมาณของสารก่อกเจลที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการตั้งสูตรตำรับ โดย Carbopol® 940 ที่เหมาะสมในการ

นำมาเตรียมเจลควรวอยู่ที่ 0.5%-2.5% (Aiyalu *et al.*, 2016) ดังนั้นจึงเลือกที่ 0.5% และ 1% เนื่องจากสองปริมาณดังกล่าวมีความเป็นกรดต่างและมีความหนืดที่เหมาะสมต่อผิวหนังและการเตรียม เจลจึงนำไปใช้ในการตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ดและทดสอบหาความคงตัวต่อไป

2.2.1 การทดสอบหาความคงตัว

2.2.1.1 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

ในการทดสอบความคงตัวด้านคุณสมบัติทางกายภาพจะทำการประเมินสี ความเข้ากันได้ กลิ่นความใส ดังแสดงใน Table 6 และความหนืด ดังแสดง ใน Table 7 ตามลำดับ

Table 6 Results of physical test

Formular/ Physical tests	Before Freeze thaw cycle				After Freeze thaw cycle			
	Color	Homo-geneity	Odor	Clear	Color	Homo-geneity	Odor	Clear
0.5%Carbopol® 940	Color-less	Homo-geneous	No smell	++++	Color-less	Homo-geneous	No smell	++++
0.5% Carbopol® 940 + 5%Crude extract	Yellow-Green	Homo-geneous	<i>T. crispa</i>	+	Yellow-Green	Homo-geneous	<i>T. crispa</i>	+
1% Carbopol® 940	Color-less	Homo-geneous	No smell	++++	Color-less	Homo-geneous	No smell	++++
1% Carbopol® 940 + 5%Crude extract	Yellow-Green	Homo-geneous	<i>T. crispa</i>	+	Yellow-Green	Homo-geneous	<i>T. crispa</i>	+

(+ Very little clear, ++ Little clear)

Table 7 Results of viscosity

Formular	Mean of viscosity (cP): Before Freeze thaw cycle	Mean of viscosity (cP): After Freeze thaw cycle \pm S.D. (n=3)		
		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
0.5% Carbopol® 940	4288.44 \pm 416.41	4597.11 \pm 201.09	4674.33 \pm 149.14	5093.33 \pm 231.57 [*]
0.5% Carbopol® 940 + 5%Crude extract	4233.33 \pm 119.31	4497.89 \pm 402.53	4784.55 \pm 133.73	4619.22 \pm 451.53
1.0% Carbopol® 940	34231.00 \pm 1938.54	34484.44 \pm 707.25	34507.00 \pm 1127.45	35211.33 \pm 353.41
1.0% Carbopol® 940 + 5%Crude extract	29666.78 \pm 606.25	28972.22 \pm 429.96	28476.11 \pm 318.93 [*]	29192.78 \pm 633.00

^{*}Indicate significant differences among the means of groups compared with before freeze thaw cycle based on LSD (Post Hoc) comparisons ($p < 0.05$)

2.2.1.2 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมี เคมีใช้การทดสอบด้วยวิธี Freeze thaw cycle โดยทำการ
สำหรับการทดสอบความคงตัวด้านคุณสมบัติ ทดสอบความเป็นกรดต่าง ดังแสดงใน Table 8

Table 8 Results of pH

Formular/ pH test	Before Freeze thaw cycle \pm S.D.	After Freeze thaw cycle \pm S.D. (n=3)		
		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
0.5% Carbopol® 940	5.48 \pm 0.07	5.49 \pm 0.01	5.33 \pm 0.14	5.26 \pm 0.03 [*]
0.5% Carbopol® 940 + 5%Crude extract	5.14 \pm 0.02	5.19 \pm 0.06	5.04 \pm 0.02 [*]	5.14 \pm 0.02
1.0% Carbopol® 940	5.54 \pm 0.02	5.53 \pm 0.04	5.51 \pm 0.07	5.44 \pm 0.03 [*]
1.0% Carbopol® 940 + 5%Crude extract	5.25 \pm 0.02	5.23 \pm 0.08	5.24 \pm 0.05	5.28 \pm 0.07

^{*}Indicate significant differences among the means of groups compared with before freeze thaw cycle based on LSD (Post Hoc) comparisons ($p < 0.05$)

2.2.2 ปริมาณสารสกัดในตำรับ ตูตกเส้นแสงที่ 292 และ 319 nm จึงทำการวัดค่าการดูดแสง
เนื่องจากสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ดมีค่าการ ตังกล่าวแล้วได้ผล ดังแสดงใน Table 9 ดังนี้

Table 9 Absorbance of freeze thaw cycle at 292 and 319 nm

Formular/ Absorbance	Mean of Absorbance 292 nm			
	Before Freeze thaw cycle	After Freeze thaw cycle \pm S.D. (n=3)		
		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
0.5% Carbopol®940 + 5%Crude extract	0.741 \pm 0.032	0.772 \pm 0.004	0.746 \pm 0.009	0.733 \pm 0.017
1.0% Carbopol®940 + 5%Crude extract	0.672 \pm 0.030	0.705 \pm 0.005 [*]	0.691 \pm 0.003	0.680 \pm 0.005

Formular	Mean of Absorbance 319 nm			
	Before Freeze thaw cycle	After Freeze thaw cycle \pm S.D. (n=3)		
		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
0.5% Carbopol®940 + 5%Crude extract	0.675 \pm 0.030	0.703 \pm 0.003	0.660 \pm 0.010	0.651 \pm 0.014
1.0% Carbopol®940 + 5%Crude extract	0.614 \pm 0.016	0.634 \pm 0.013 [*]	0.629 \pm 0.002	0.614 \pm 0.004

^{*}Indicate significant differences among the means of groups compared with before freeze thaw cycle based on LSD (Post Hoc) comparisons ($p < 0.05$)

วิจารณ์และสรุปผล

จากผลการทดลองที่ 1 และ 2 สามารถสรุปผลดังนี้ คือ

1. การสกัดสารจากบอระเพ็ด

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ดด้วยวิธี Maceration Extraction มี % yield เท่ากับ 18.81 ซึ่งมากกว่า 7.76% เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Soxhlet Extraction ซึ่งมี % yield เท่ากับ 11.05

2. การวิเคราะห์สารสกัดเปลือกบอระเพ็ด โดยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer

จากการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดจากเปลือกของบอระเพ็ดที่สกัดด้วยวิธีการ Maceration extraction และสารสกัดจากเปลือกของบอระเพ็ดที่สกัดด้วย Soxhlet extraction เมื่อนำไปหาค่าการดูดกลืนแสงโดย UV-Spectrophotometer พบค่าการดูดกลืนแสงที่ 292 และ 319 nm ของ *N-trans-feruloyltyramine* (Yokozawa *et al.*, 2001) จึงคาดว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกบอระเพ็ดน่าจะมีสาร *N-trans-feruloyltyramine* เป็นสารหลักที่พบซึ่งอยู่ในกลุ่ม Alkaloid (Koay & Amir, 2013; Ahmad *et al.*, 2016)

3. ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบความคงตัวของสารสกัดในสูตรตำรับ

จากการวิเคราะห์ Standard Curve ของสมการเส้นตรง $y=0.956x+0.3736$, ($R^2 = 0.9966$) ที่ความยาวคลื่น 292 นาโนเมตร และ $y=0.76x+0.3744$, ($R^2 = 0.9951$) ที่ความยาวคลื่นที่ 319 นาโนเมตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ R^2 ที่แสดงถึงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดเปลือกบอระเพ็ดซึ่งมีความแม่นยำคิดเป็น 99.66% และ 99.51% ของความยาวคลื่นที่ 292 และ 319 nm ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกใช้สารสกัดจากเปลือกของบอระเพ็ดด้วยวิธีการ Maceration extraction จากนั้นนำสารสกัดบอระเพ็ด 5% ของสูตรตำรับไปทดสอบด้านต่างๆ ของสูตรตำรับต่อไป

4. การตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดจากบอระเพ็ด

4.1 การเลือกเจลพื้สำหรับนำไปใช้พัฒนาสูตรตำรับ

โดยทั่วไปคุณสมบัติของความหนืดจะมีความเกี่ยวข้องกับด้านคุณภาพและความคงตัวของตำรับ (Sihabud *et al.*, 2018) จากผลการทดลองค่าความเป็นกรดต่างของเจลพื้ Carbopol® 940 ที่ความเข้มข้น 0.5%-2% อยู่ที่ 5.50-5.59 ส่วนของความหนืดของเจลพื้ในช่วง 4707.44-50007.00 cP จากการเปรียบเทียบค่าความเป็นกรดต่างของเจลพื้และความหนืดของเจลพื้ด้วย One-way ANOVA พบว่ามีค่าความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติ มีค่า p -value 0.036 และ p -value < 0.01 ตามลำดับ จาก Table 5 พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value

< 0.05) ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้ปริมาณสารก่อเจล 0.5% และ 1.0% Carbopol® 940 เนื่องจากมีความหนืดที่เหมาะสมและมีค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมกับการนำมาใช้บริเวณผิวหนังได้ซึ่งจะมีค่า pH อยู่ที่ 5.4–5.9 (Sihabud *et al.*, 2018)

4.2 การตั้งสูตรตำรับเจลสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ด

จากนั้นเลือกนำเจลพื้ที่มี 0.5% และ 1.0% Carbopol® 940 อยู่ในสูตรตำรับเพื่อนำไปใช้ในการเตรียมสูตรตำรับเจลสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ดและทดสอบหาความคงตัวต่อไป

4.2.1 การทดสอบหาความคงตัว

4.2.1.1 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

โดยก่อนทำการทดสอบ Freeze Thaw Cycle ของสูตรตำรับ 0.5% และ 1 % Carbopol® 940 ที่มีสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ด จาก Table 6 พบว่าลักษณะของเนื้อเจลเป็นเนื้อเดียวกัน มีสีเขียวเหลืองขุ่น มีกลิ่นของบอระเพ็ด และหลังจากทำการทดสอบ Freeze Thaw Cycle พบว่าลักษณะเนื้อเจล สีและกลิ่นไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมในส่วนของความหนืด จาก Table 7 ในการเปรียบเทียบค่าความเป็นหนืดของสูตรตำรับเจลสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ด หลังจากทดสอบ Freeze Thaw Cycle จำนวน 3 รอบ พบว่าสูตรตำรับ 0.5% Carbopol® 940 + 5% Crude extract มีค่าความหนืดเฉลี่ยเท่ากับ 4619.22 cP ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดสอบ Freeze Thaw Cycle (p -value > 0.05) ส่วนในสูตรตำรับ 1.0 % Carbopol® 940 + 5% Crude extract มีค่าความหนืดเฉลี่ยเท่ากับ 29192.78 cP ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดสอบ Freeze Thaw Cycle (p -value > 0.05) เช่นกัน

4.2.1.2 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมี

ในด้านความเป็นกรดต่างจากการเปรียบเทียบค่าความเป็นกรดต่างของสูตรตำรับเจลที่มีสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ด จาก Table 8 หลังจากทดสอบ Freeze Thaw Cycle จำนวน 3 รอบ พบว่าสูตรตำรับ 0.5% Carbopol® 940 + 5% Crude extract มีค่าความเป็นกรดต่างเฉลี่ย เท่ากับ 5.14 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดสอบ Freeze Thaw Cycle (p -value > 0.05) ส่วนในสูตรตำรับ 1.0% Carbopol® 940 + 5% Crude extract มีค่าความเป็นกรดต่างเฉลี่ย เท่ากับ 5.28 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดสอบ Freeze Thaw Cycle (p -value > 0.05) เช่นกัน

4.2.2 ปริมาณสารสกัดในตำรับ

จากผลการทดสอบหาค่าการดูดกลืนแสงที่ 292 และ 319 nm โดยการเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ด จาก Table 9 หลังจากทดสอบ Freeze Thaw Cycle จำนวน 3 รอบ เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 292 nm พบว่าสูตรตำรับ 0.5% และ 1% Carbopol® 940 + 5% Crude extract มีค่าเท่ากับ 0.733 และ 0.680 ตามลำดับ และเมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 319 nm พบว่าสูตรตำรับ 0.5% และ 1% Carbopol® 940 + 5% Crude extract มีค่าเท่ากับ 0.651 และ 0.614 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดสอบ Freeze Thaw Cycle พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value > 0.05) เมื่อพิจารณาผลผลิตภัณฑ์หลังจากผ่านการทดสอบ Freeze Thaw Cycle จำนวน 3 รอบ พบว่าสูตรตำรับ เจลจากสารสกัดเปลือกบอระเพ็ดทั้งที่ 0.5% และ 1% Carbopol® 940 มีความคงตัวทั้งสองสูตรตำรับ

ข้อเสนอแนะ

ในด้านการทดสอบความคงตัวของตำรับเจลสารสกัดจากเปลือกบอระเพ็ดควรทำการทดสอบความคงตัวตามที่ WHO กำหนดซึ่งเป็นการศึกษาความคงตัวแบบ Long term stability test และ Accelerated test เพื่อให้ได้ความน่าเชื่อถือของการทดสอบด้านความคงตัวของตำรับมากยิ่งขึ้น รวมถึงการพัฒนาการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสารสกัด เช่น *N-trans-feruloyltyramine* ด้วยวิธี HPLC เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และควรนำตำรับที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของผิวหนังเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Abood, W.N., Fahmi, I., Abdulla, M.A. & Ismail, S. (2014). Immunomodulatory effect of an isolated fraction from *Tinospora crispa* on intracellular expression of INF-gamma, IL-6 and IL-8. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 1-12.
- Agnihotri, S., Wakodev, S. & Agnihotri, A. (2010). An Overview on anti-inflammatory Properties and Chemo-Profiles of plants used in traditional medicine. *Indian journal of Natural Products and Resources*, 151-165.
- Ahmad, W., Jantan, I. & Bukhari, S.N.A. (2016). *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson: A Review of Its Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Aspects. *Frontiers in Pharmacology*, 1-19.
- Aiyalu, R., Govindarjan, A. & Ramasamy, A. (2016). Formulation and evaluation of topical herbal gel for the treatment of arthritis in animal model. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52(3), 493-507.
- Ali, M.J., Obaid, R.F. & Obaid, R.F. (2019). Antibacterial activity for acne treatment through medicinal plants extracts: Novel alternative therapies for acne. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(2), 1245-1250.
- Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. (1998). *Thai Herbal Pharmacopoeia volume I: Boraphet*. Office of Notional Buddhism Press: Bangkok. (in Thai)
- Do, J.E., Cho, S.M., In, S.I., Lim, K.Y., Lee, S., & Lee, E.S. (2009). Psychosocial aspects of acne vulgaris: A community-based study with Korean adolescents. *Annals of Dermatology*, 21(2), 125-129.
- Farage M. A., Hood, W., Berardesca, E. & Maibach, H. (2018). Intrinsic and Extrinsic Factors Affecting Skin Surface pH. *Current Problems in Dermatology*, 54, 33-47.
- Higashino, H., Suzuki, A., Tanaka, Y. & Pootakham, K. (1992). Inhibitory effects of siamese *Tinospora crispa* extracts on the carrageenin-induced foot pad edema in rats (the 1st report). *Folia Pharmacologica Japonica*, 100(4), 339-344.
- Hipol, R.L.B, Cariaga, M.F.N.M. & Hipol, R.M. (2012). Anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the stem of *Tinospora crispa* (Family Menispermaceae). *Journal of Nature Studies*, 11(1&2), 88-95.
- Homhual, S. (2010). *Tinospora crispa*. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University. Retrived October 18, 2018 from <http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=64> (in Thai)
- Ibahim, M., I'zzah, W.N.W., Narimah, A., Asyikin, N.Z., Shafinas, S.-N.S., & Froemming, G. (2011). Anti-proliferative and antioxidant effects of *Tinospora crispa* (Batawali). *Biomedical Research-India*, 22, 57-62.
- Ismail, M. & Choudhary, M.I. (2016). Compounds Isolated from *Tinospora crispa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 52(6), 1151-1153.

- Jiang, Y., Yu, L. & Wang, M-H. (2015). N-trans-feruloyltyramine inhibits LPS-induced NO and PGE2 production in RAW 264.7 macrophages: Involvement of AP-1 and MAP kinase signalling pathways. *Chemico-biological Interactions*, 235, 56-62.
- Khunawattanukul, W., Caichompoo, W., Mekjaraskul, C., Charoenmit, A., Lekdee, C. & Srichan, N. (2017). Anti-Propionibacterium acnes from Thai herbal medicines. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University*. 36(5), 608-613. (in Thai)
- Kim, J.E., Jo, Y.J. & Lee, N.H. (2018). Anti-inflammatory and Anti-bacterial Constituents from the Extracts of *Daucus carota* var. *sativa* Aerial Parts. *Journal of Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 44(4), 427-436.
- Koay, Y.C. & Amir, F. (2013). A Review of the Secondary Metabolites and Biological. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 641-649.
- Kongsaktrakoon, B., Temsiririkkul, R., Suvitayavat, W., Nakornchai, S. & Wongkrajang, Y. (1994). The antipyretic effect of *Tinospora crispa* Mier ex Hook.f. & Thoms. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 21(1), 1-6.
- Lambers, H., Piessens, S., Bloem, A., Pronk, H., & Finkel, P. (2006). Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International Journal of Cosmetic Science*, 28(5), 359-370.
- Misal, G., Dixit, G. & Gulkari. V. (2012). Formulation and evaluation of herbal gel. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 3(4), 501-505.
- Mokkhasmit, M., Ngarmwathana, W., Sawasdimongkol, K. & Permiphphat, U. (1971). Pharmacological evaluation of Thai medicinal plants (continued). *Journal of the Medical Association of Thailand*, 54(7), 490-504.
- Monika, M., Stefanie, H. & Alois, J. (2010). *Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices*. Elsevier Ltd.
- Noor, H. Hammonds, P., Sutton, R. & Asheroft S.T.H. (1989). The Hypoglycaemic and Insulinotropic activity of *Tinospora crispa*: Studies with human and rat islets and HIT-TISB cell. *Diabetologia*, 32(6), 354-359.
- Park, C.-H., Min, S.-Y., Yu, H.-W., Kim, K., Kim, S. Lee, H.-J., Kim, J.-H., & Park, Y.-J. (2020). Effects of Apigenin on RBL-2H3, RAW264.7, and HaCaT Cells: Anti-Allergic, Anti-Inflammatory, and Skin-Protective Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4620), 1-17.
- Queiroz, M.B.R. Lucena, G.M.R.S., Caldas, E.D. & Silva, M.V. (2014). Evaluation of the anti-inflammatory activity of gel with *Matricaria recutita* L. using a permeation enhancer. *Revista Brasileira de Farmácia*, 95(2), 676-694.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Cook, W.G. & Fenton, M.E. (2012). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (7th Edition). USA: Pharmaceutical Press.
- Schmid-Wendtner, M.H., & Korting, H.C. (2006). The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. *Skin Pharmacology and Physiology*, 19(6), 296-302.
- Sharma, P., Dwivedee, B.P., Bisht, P., Dash, A.K. & Kumar, D. (2019). The chemical constituents and diverse pharmacological importance of *Tinospora cordifolia*. *Heliyon*, 5, 1-8.
- Sihabud, V., Duangjit, S., Yingngam, B. & Pitchayajittipong, C. (2018). Development of Sesame Oil Loaded Bigels for Dry Skin Relief. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(4), 122-131. (in Thai)
- Smitinand, T. (2010). Thai plant names. *Thai Journal Online*. Retrived January 20, 2018 from http://eherb.hrdi.or.th/search_result_details.php?herbariumID=722 (in Thai)
- Sriyapai, C., Dhumma-upakorn, R., Sangwatanaroj, S., Kongkathip, N. & Krittiyanunt, S. (2009). Hypoglycemic effect of *Tinospora crispa* dry powder in outpatients with metabolic syndrome at king chulalongkorn memorial hospital. *Journal of Health Research*, 23(3), 125-133.
- Techasatian, L. (2016). Acne. The heart of pediatrics, 32. *Srinagarind Medical Journal*, 31(5).
- Udompataikul, M. (2018). Dermatology: Acne Vulgaris. *The Royal College Pediatricians of Thailand*. Retrived June 15, 2020 from <http://www.thaipediatrics.org/Media/media-20180403103621.pdf> (in Thai)

- U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. (1998). *Guidance for Industry Stability Testing of Drug Substances and Drug Products*. Draft Guidance, 72.
- Wetwitayaklung, P. (2012). *Anti-inflammatory of Ginseng*. Department of Pharmacognosy, Silpakorn University.
- Yang, G. & An, H.-J. (2014). β -sitosteroyl-3-O- β -glucopyranoside isolated from the bark of *Sorbus commixta* ameliorates pro-inflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 36(1), 70-7.
- Yokozawa, T., Tanaka, T. & Kimura, T. (2001). Examination of the Nitric Oxide Production-Suppressing Component in *Tinospora tuberculata*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(10), 1153-1156.
- Zulkefli, H.N., Mohama, J. & Abidin, N.Z. (2013). Antioxidant activity of methanol extract of *Tinospora crispa* and *Tabernaemontana corymbosa*. *Sains Malays*, 697-706.