

## การพัฒนาผลิตภัณฑ์โทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวจากปกวาด

นภัสวรรณ แก้วศรีนนท์<sup>1</sup>, เพชรดา ช่างนาค<sup>1</sup>, ธัญญา ภูนาเหนือ<sup>1</sup>, สกุรรัตน์ รัตนเกียรติ<sup>2</sup>, คัทลียา เมฆจรสกุล<sup>2</sup>

Received: 8 January 2017

Accepted: 23 March 2017

### บทคัดย่อ

**บทนำ:** ปกวาดคือส่วนฟองที่ได้จากการต้มแก่นมะหาด มีปริมาณสารสำคัญออกซีเรสเวอราทอล ปริมาณสูง มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับโทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวจากปกวาด **วิธีดำเนินการวิจัย:** วิเคราะห์หาปริมาณออกซีเรสเวอราทอลโดยวิธี TLC-densitometry ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ของปกวาด จากนั้นพัฒนาตำรับโทนเนอร์ปกวาด และทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีด้วยวิธี Heating - Cooling cycle แล้วนำไปทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง และความพึงพอใจในอาสาสมัครสุขภาพดี (n= 30) **ผลการวิจัย:** พบว่าปกวาดมีปริมาณสารออกซีเรสเวอราทอลเท่ากับ  $0.702 \pm 0.007$  mg/mg ของปกวาด และค่า MBC ของปกวาดต่อเชื้อ *S. aureus* คือ 1.56 mg/ml จากนั้นพัฒนาตำรับโทนเนอร์ปกวาดโดยใช้ความเข้มข้น 0.625%w/w พบว่าตำรับที่ใช้ glycerin 4%w/w, propylene glycol 4%w/w และ 70% sorbitol 2%w/w เป็นตัวทำละลายช่วย (ตำรับที่ 16) เป็นตำรับที่มีลักษณะที่ดีที่สุด กล่าวคือมีลักษณะใส มีการติดผิวหนัง และการดูดซึมผ่านผิวหนังได้ดี จึงนำสูตรตำรับดังกล่าวมาเติมปกวาดที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.078, 0.156, 0.313 และ 0.625%w/w) เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้เป็นตำรับที่ 16.1, 16.2, 16.3 และ 16.4 ตามลำดับ หลังทำการทดสอบความคงตัวพบว่าตำรับที่ 16.2 และตำรับที่ 16.3 มีความคงตัวทั้งทางกายภาพและเคมีที่ดีที่สุดคือ มีความใส ไม่ตกตะกอน ค่า pH ก่อนและหลังทดสอบความคงตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังเป็นตำรับที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ จึงถูกคัดเลือกไปทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง และความพึงพอใจ ซึ่งผลการทดสอบพบว่าไม่มีอาสาสมัครคนใดเกิดการระคายเคือง อาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อตำรับที่ 16.2 มากกว่าตำรับที่ 16.3 **สรุปผลการวิจัย:** ได้ตำรับที่ 16.2 เป็นตำรับโทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวจากปกวาดที่ดีที่สุดและมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* อีกทั้งยังมีความปลอดภัยไม่ก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อผิวหนังในผู้ใช้และผู้ที่มีความพึงพอใจ

**คำสำคัญ:** มะหาด, ปกวาด, ออกซีเรสเวอราทอล, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, โทเนอร์

**วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2560; 13 (ฉบับพิเศษ): 1-9**

<sup>1</sup> นิสิตเภสัชศาสตร์ หลักสูตรเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

<sup>2</sup> ปรัญญาคุณภูมิบัณฑิต (ปร.ด.), ผู้ช่วยศาสตราจารย์, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

\* **ติดต่อผู้พิมพ์:** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

โทร. 0-4375-4333 ต่อ 2629 โทรสาร. 0-4375-4360 e-mail: catheleeya.m@msu.ac.th

## Development of Cleansing Toner from Puag-Haad

Napatsawan Kaewsrinon<sup>1</sup>, Phetrada Changnak<sup>1</sup>, Tanyanart Phunanue<sup>1</sup>, Sakulrat Rattanakiat<sup>2</sup>, Catheleeya Mekjaruskul<sup>2\*</sup>

### Abstract

**Introduction:** Puag-Haad is a bubble from aqueous crude extract prepared from *Artocarpus lakoocha* heartwood. Oxyresveratrol is a major constituent which possesses an antibacterial (especially *Staphylococcus aureus*) and antityrosinase activities. The main objective of this study was to develop cleansing toner containing Puag-Haad. **Methods:** TLC–densitometric method was used to determine the amount of oxyresveratrol in Puag–Haad. Effect of Puag-Haad on inhibition of *S. aureus* was tested by broth macrodilution and spread plate. The cleansing toners containing Puag-Haad were formulated by varying co-solvents. Then, the developed formulations were studied including stability test using Heating-Cooling cycle, skin irritation, and satisfaction tests in healthy volunteers (n=30). **Results:** The result showed that a milligram of Puag-Haad contained 0.702±0.007 mg of oxyresveratrol. MBC value of Puag-Haad against *S. aureus* was 1.56 mg/ml. Then, the cleansing toners containing Puag-Haad (0.625% w/w) were developed. We found that the formulation No.16 which composed of glycerin 4%w/w, propylene glycol 4%w/w, and 70%sorbitol 2%w/w as a co-solvent, had a good physical stability including clear solution, adherence to skin, and good skin absorption. The formulation No. 16 with varied concentration of Puag-Haad (0.078, 0.156, 0.313, and 0.625%w/w namely formulation 16.1, 16.2, 16.3 and 16.4 respectively) were then formulated. The formulations no.16.2 and 16.3 had a good physical and chemical stability including no change of color, clear solution, no precipitant, and significantly unchanged of pH after Heating-Cooling cycles. Moreover, the developed formulations still showed antibacterial activity. After that, the skin irritation and satisfaction tests of developed cleansing toners were studied in healthy volunteers (n=30). Skin irritation was no reported. The satisfied test indicated that the cleansing toner of formulation 16.2 had higher satisfaction scores in color, odor, adherence to skin, and good skin absorption than those of formulation no.16.3. **Conclusion:** This study achieved to develop of cleansing toner containing Puag-Haad. The formulation No. 16.2 was successful showing antimicrobial effect, no skin irritation, and high satisfaction scores.

**Keywords:** *Artocarpus Lakoocha*, Puag–Haad, Oxyresveratrol, Antibacterial, Toner

**IJPS 2017; 13 (Supplement): 1-9**

<sup>1</sup> Doctor of Pharmacy Student in Pharmaceutical Care, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University

<sup>2</sup> Philosophy degree (Ph.D.), Assistant Professor, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University

\*Corresponding author: Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantarawichai District,

Maha Sarakham 44150 Thailand Tel. 0-4375-4333 ext 2629 Fax. 0-4375-4360 e-mail catheleeya.m@msu.ac.th

## บทนำ

มะหาดเป็นพืชในวงศ์ Moraceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Artocarpus lakoocha* Roxb. เมื่อนำเอาแก่นไม้มะหาดที่มีอายุ 5 ปีขึ้นไปมาสับ แล้วนำไปต้มเคี่ยวกับน้ำจนทำให้เกิดฟอง ซ้อนฟองออกมาตากแห้งจะได้ผงสีขาวนวลจับกันเป็นก้อน หลังจากนั้นนำไปย่างไฟจนเหลืองบดให้เป็นผงที่ได้เรียกว่า “ปวกหาด” (Nilvises et al., 1985) สารประกอบหลักที่พบในมะหาด ได้แก่ ออกซีเรสเวราทรอล (oxyresveratrol) ปวกหาดมีความเข้มข้นของสารสำคัญ oxyresveratrol สูงกว่าแก่นมะหาดที่มาจากธรรมชาติ (Maneechai et al., 2009) สารสำคัญดังกล่าวมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans* เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานินที่ผิวหนัง ทำให้ผิวกระจ่างใสขึ้นได้ (Xu et al., 2014)

สำหรับโรคผิวหนังที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่เป็นสาเหตุ คือ *Staphylococcus spp.* (Foster, 1996) จากคุณสมบัติของ oxyresveratrol ที่พบได้ปริมาณสูงในปวกหาดซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ อีกทั้งปวกหาดเตรียมได้ง่ายจากมะหาดที่เป็นพืชที่เจริญเติบโตดีในหลายพื้นที่ของประเทศไทย ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากปวกหาดที่จะสามารถเป็นอีกหนึ่งทางเลือกให้กับผู้บริโภค โดยผู้วิจัยมีความสนใจพัฒนาตำรับโทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวหน้าที่สามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ และมีความคงตัวทั้งทางกายภาพและทางเคมี ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้หรือระคายเคือง และเกิดความพึงพอใจสูงสุดแก่ผู้บริโภค

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. สมุนไพรและสารเคมี

ผงปวกหาดได้รับและระบุชื่อโดยผศ.ดร.สมศักดิ์ นวลแก้ว เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* DMST 8440 สารเคมีที่ใช้ได้แก่ oxyresveratrol (Sigma-Aldrich, Switzerland) สารเคมีเกรดวิเคราะห์ เช่น  $\text{KH}_2\text{PO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,

dimethyl sulfoxide (DMSO) และสารเคมีเกรดเครื่องสำอาง เช่น propylene glycol, glycerin, sorbitol, sodium hyaluronic acid เป็นต้น

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol ในปวกหาด โดยวิธี TLC-densitometry (ดัดแปลงจากวิธีของ Poonsuk et al., 2016) มีวิธีดังนี้คือ

เตรียมสารละลายมาตรฐาน oxyresveratrol โดยละลายใน methanol ให้มีความเข้มข้น 0.16 mg/ml และเตรียมสารละลายปวกหาดใน methanol ให้มีความเข้มข้น 0.1 mg/ml จากนั้นกรองด้วย nylon syringe membrane filter ขนาดรูพรุน 0.45  $\mu\text{m}$  ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณ

ใช้ชุดเครื่องมือ TLC densitometer (CAMAG, UK) โดยใช้เครื่องพ่นสารละลายให้เป็นแถบลงบนแผ่น TLC plate (silica gel 60 F 254) ขนาด 20x10 cm โดยแต่ละแถบจะพ่นสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.16 mg/ml ปริมาตร 6, 8, 10, 12, 14 และ 16  $\mu\text{l}$  ตามลำดับ และพ่นสารตัวอย่าง ปริมาตร 20  $\mu\text{l}$  ลงบนแผ่น TLC plate จำนวน 3 แถบ แล้วนำแผ่น TLC plate ดังกล่าวจุ่มลงใน TLC tank ซึ่งอ้อมตัวด้วยตัวพา (mobile phase) คือ methylene chloride และ methanol ในอัตราส่วน 85 ต่อ 15 รอจนตัวพาเคลื่อนที่เป็นระยะทาง 8 cm นำ TLC ออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วจึงนำไปอ่านด้วยเครื่องตรวจอ่านแผ่น TLC (TLC scanner) ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร สร้างกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) กับปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol ของสารละลายมาตรฐาน จะได้กราฟมาตรฐาน แล้วคำนวณหาสารสำคัญ oxyresveratrol ในปวกหาด

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ของปวกหาดเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) โดยวิธี Broth macrodilution method (ดัดแปลงจาก Chakraborty et al., 2012)

ละลายผงปวกหาดในตัวทำละลาย 20% DMSO

ในน้ำกลั่น จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.2-12.5 mg/mL ปิเปตเชื้อ *S. aureus* (ความเข้มข้นเชื้อ  $1 \times 10^8$  CFU/ml) ลงในหลอดทดลองทุกหลอดยกเว้น negative control (อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกค่า MIC จากความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ปวดหากสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (ของผสมจะใส)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ของปกวาดเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) (ดัดแปลงจาก Chakraborty et al., 2012)

นำหลอดทดลองจากการหาค่า MIC ที่ไม่มี ความขุ่นทุกหลอดทดลองไป spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) จะสังเกตไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

5. การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ เซ็ดทำความสะอาดผิวจากปกวาด

ตั้งตำรับที่แตกต่างกันจากชนิดและปริมาณของตัวทำละลายร่วมที่แตกต่างกัน ได้แก่ glycerin, 70% sorbitol, และ propylene glycol โดยทุกตำรับใส่ ปริมาณ methyl paraben (0.3%), propyl paraben (0.05%), sodium hyaluronate (0.2%), sodium citrate (0.2%), ethylenediamine tetraacetic acid (0.2%) เท่ากัน และปรับปริมาตรให้ครบ 100% ด้วย สารละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_3\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 5.5

วิธีเตรียมโทนเนอร์ เตรียมได้โดยละลายปกวาด ในตัวทำละลายช่วยและสารละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_3\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 5.5 ปริมาณ 70% คนให้ละลายจากนั้นเติมสารอื่นๆ และปรับปริมาตรให้ครบ 100% ด้วยสารละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_3\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 5.5

ประเมินความคงตัวด้วยวิธีอุณหภูมิสูงสลับ อุณหภูมิต่ำ (Heating-cooling cycle) โดยบรรจุ ตำรับลงในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4°C นาน 12

ชั่วโมง และนำเข้าตู้บ่มที่ 45°C นาน 12 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทดสอบทั้งหมด 6 รอบ แล้ว ประเมินผลก่อนและหลังผ่านกระบวนการ Heating-cooling cycle ดังนี้ สี ความใส การตกตะกอน กลิ่น และวัดค่าความเป็นกรดหรือด่าง ด้วยเครื่อง pH Meter (Mettler-Toledo GmbH, China)

ทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* ของตำรับโทนเนอร์จากปกวาดที่พัฒนาได้ โดยวิธี Broth macrodilution method ตั้งวิธีที่กล่าวในข้างต้น และหาจำนวนเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีนับ โคลีนีแบบ spread plate

6. การทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง และความพึงพอใจหลังใช้ผลิตภัณฑ์โทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวจากปกวาดในอาสาสมัครสุขภาพดี การศึกษาในมนุษย์ผ่านการพิจารณาจาก คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เลขที่การรับรอง กจกม (กบ.) 022/2558 ลงวันที่ 16 มีนาคม 2559

ประชากร เป็นอาสาสมัครเพศชายหรือหญิงที่มีสุขภาพดี อายุระหว่าง 18-60 ปี ในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ขนาดตัวอย่าง จำนวน 30 คน วิธีการรับสมัครทำโดยการสอบถามความสมัครใจโดยคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง เลือกเอาทั้งหมด (Census) ตามเกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วม

6.1 เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้า (Inclusion criteria) ได้แก่ เป็นผู้มีสุขภาพดี อายุระหว่าง 18-60 ปี ไม่อยู่ในระหว่างการศึกษาอื่น เป็นผู้ที่ไม่มีแผลและไม่เป็นโรคผิวหนังที่บริเวณแขนด้านใน และเป็นผู้ที่สมัครใจและยินยอมเข้าร่วม การศึกษา

6.2 เกณฑ์การคัดเลือกออกจากการศึกษา (Exclusion criteria) ได้แก่ ผู้ที่ต้องการออกจากการศึกษาหรือติดตามผลไม่ได้ และผู้ที่มีอาการแพ้หรือระคายเคืองอย่างรุนแรง

6.3 เกณฑ์การหยุดการศึกษา คือ เมื่ออาสาสมัครเกิดการระคายเคืองหรือแพ้ โดยมี

คะแนนการระคายเคืองตั้งแต่ 3 ขึ้นไป

6.4 วิธีการทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง

ทดสอบการระคายเคืองของตำรับผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ปวกหาด โดยดัดแปลงใช้วิธีการทดสอบระคายเคืองจากวิธี Draize-Schelenki repeat-insult patch test ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

6.4.1 กำหนดส่วนที่จะทดสอบคือบริเวณท้องแขนด้านซ้ายทาโทนเนอร์ปวกหาด และขวาสำหรับโทนเนอร์ที่มีส่วนผสมเหมือนโทนเนอร์ปวกหาดแต่ไม่เติมปวกหาด ขนาดตำแหน่งละ 3×3 cm

6.4.2 เซ็ดทำความสะอาดบริเวณที่ทดสอบด้วยสำลีชุบน้ำสะอาดและรอให้แห้ง

6.4.3 นำโทนเนอร์ปริมาตร 0.5 mL ทาบริเวณท้องแขนที่กำหนดตำแหน่งไว้ ใช้ผ้าก๊อชและพลาสติกกันน้ำปิดทับบริเวณนั้น

6.4.4 ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 30 นาที ดึงพลาสติก ผ้าก๊อชและเซ็ดโทนเนอร์ออกด้วยสำลีแห้ง เพื่อบันทึกผลการระคายเคือง หากอาสาสมัครไม่เกิดอาการระคายเคืองหรือความผิดปกติใด ทำการทดสอบต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วจึงดึง พลาสติก ผ้าก๊อชและเซ็ดโทนเนอร์ออก เพื่อบันทึกผลการระคายเคือง

6.4.5 หลังจากนั้นอีก 24 ชั่วโมง สังเกตการระคายเคืองที่ผิวหนังของอาสาสมัคร และบันทึกผลการระคายเคือง การแปลผลจะดูจากระดับความรุนแรงของผิวหนังที่เกิดจากการทดสอบ โดยแบ่งเป็นระดับคะแนนดังนี้

- 0 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง (ผิวหนังปกติ)
- 1 ผิวหนังแดงเล็กน้อย
- 2 ผิวหนังแดงปานกลาง อาจมีอาการบวมที่ขอบ
- 3 ผิวหนังแดงปานกลาง มีตุ่มบวมนูน
- 4 ผิวหนังแดงมาก มีตุ่มบวมนูนรุนแรง อาจพบตุ่มน้ำใส
- 5 มีปฏิกิริยาแพ้อย่างรุนแรงลามไปรอบนอกบริเวณทดสอบ

6.5 การทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์โทน

เนอร์ปวกหาดในอาสาสมัครสุขภาพดี

อาสาสมัครที่ทำแบบประเมิน คือ อาสาสมัครกลุ่มเดียวกับที่เข้าร่วมการศึกษาการทดสอบความระคายเคืองของตำรับโทนเนอร์จากปวกหาดต่อผิวหนัง โดยให้อาสาสมัครประเมินความพึงพอใจต่อตำรับตามแบบประเมินประกอบด้วย ความพึงพอใจต่อสี กลิ่น ความใส ลักษณะการติดผิว การดูดซึมของตำรับโทนเนอร์เข้าสู่ผิวหนัง และความรู้สึกโดยรวมต่อตำรับหลังจากทดสอบใช้โทนเนอร์ปวกหาด ประเมินความพึงพอใจโดยใช้มาตรวัดทัศนคติของลิเคิร์ต (Likert scale) ซึ่งเป็นมาตรวัดทัศนคติแบบ 5 ระดับโดยให้คะแนนดังนี้

พึงพอใจน้อยที่สุด	ให้คะแนน	1 คะแนน
พึงพอใจน้อย	ให้คะแนน	2 คะแนน
พึงพอใจปานกลาง	ให้คะแนน	3 คะแนน
พึงพอใจมาก	ให้คะแนน	4 คะแนน
พึงพอใจมากที่สุด	ให้คะแนน	5 คะแนน

จากนั้นคิดเป็นคะแนนรวม โดยนำคะแนนความพึงพอใจรวมมาเปรียบเทียบกับความพึงพอใจในแต่ละหัวข้อการประเมิน

#### 7. สถิติที่ใช้

ปริมาณ oxyresveratrol ค่า MIC ค่า MBC และจำนวนโคโลนีต่อจานเพาะเชื้อแสดงค่าเป็น mean±SD การประเมินลักษณะทางกายภาพ ความระคายเคืองต่อผิวหนัง และความพึงพอใจใช้สถิติเชิงพรรณนา ค่า pH ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวใช้สถิติ paired t-test

#### ผลการวิจัย

ปวกหาดมีปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol เท่ากับ 0.702±0.007 mg/mg ของปวกหาดหรือ 702.3±0.007 mg/g ของปวกหาดซึ่งปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Maneechai et al. (2009) ที่ทำการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol ในแก่นมะหาดและปวกหาด ด้วยวิธี TLC-densitometry พบว่าปวกหาดมีปริมาณ

สารสำคัญ oxyresvertrol สูงที่สุด คือ 780.1-837.5 mg/g รองลงมาคือ แก่นมะหาดที่มีปริมาณสารสำคัญ oxyresvertrol 49.0-182.3 mg/g จึงเป็นเหตุผลที่กลุ่มผู้วิจัยนำปวกหาดมาใช้พัฒนาเป็นตำรับโทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวมากกว่าแก่นมะหาด แต่ปริมาณสารสำคัญ oxyresvertrol ที่ได้ในงานวิจัยครั้งนี้มีค่าต่ำกว่าผลการศึกษาของ Poonsuk et al. (2016) ที่ทำการศึกษหาปริมาณสารสำคัญ oxyresvertrol ในปวกหาดที่ได้จากแหล่งเดียวกันกับงานวิจัยนี้ โดยพบว่าสารละลายปวกหาดมีปริมาณสารสำคัญ oxyresvertrol เท่ากับ  $0.97 \pm 0.05$  g/g ของปวกหาด ซึ่งใช้ปวกหาดจากแหล่งเดียวกันกับปวกหาดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ และเก็บรักษาปวกหาดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเหมือนกัน ปริมาณสารสำคัญ oxyresvertrol ที่มีความแตกต่างกันนี้อาจขึ้นกับระยะเวลาที่เก็บรักษาปวกหาด ยิ่งระยะเวลาที่เก็บรักษาปวกหาดมากขึ้นจะทำให้ปริมาณสารสำคัญ oxyresvertrol ในปวกหาดลดลง

จากการศึกษาค่าความเข้มข้นของปวกหาดที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี

macro dilution technique ทำการทดลอง 3 ซ้ำ พบว่า ไม่สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างของความขุ่นระหว่างแต่ละหลอดทดลองได้ชัดเจน เนื่องจากปวกหาดเป็นสารละลายสีน้ำตาลเหลืองเข้ม จึงทำให้ไม่สามารถหาค่า MIC ได้ จึงรายงานด้วยค่า MBC

จากการศึกษาค่าความเข้มข้นของปวกหาดที่น้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ (MBC) โดยนำหลอดทดลองทุกหลอดที่ใช้ในการหาค่า MIC ไปทำการ spread plate บนอาหาร MHA พบว่าที่ความเข้มข้น 1.56 mg/ml เป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ไม่พบเชื้อขึ้นบน plate ทั้ง 3 ซ้ำ ดังนั้นค่า MBC ของปวกหาดนี้ จึงมีค่าเท่ากับ 1.56 mg/ml ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* นี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Parkpoom และ Chantree (2014) ที่พบว่าสารสกัดมะหาดในตัวทำละลายเอทานอลและโพรพิลีนไกลคอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* โดยได้ค่า MIC ของสารสกัดมะหาดเท่ากับ 1.56 และ 3.125 mg/ml ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ผลของการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ของปวกหาดเพื่อหาค่า MBC

หลอดที่	ความเข้มข้นของปวกหาด (mg/ml)	ผลการทดลอง		
		Plate ที่ 1	Plate ที่ 2	Plate ที่ 3
1	Negative control	-	-	-
2	Positive control	+	+	+
3	10% DMSO control	+	+	+
4	50.00	-	-	-
5	12.50	-	-	-
6	6.25	-	-	-
7	3.13	-	-	-
8	1.56	-	-	-
9	0.78	+	+	+
10	0.39	+	+	+
11	0.20	+	+	+

- คือ ไม่พบเชื้อ *S. aureus*

+ คือ พบเชื้อ *S. aureus*

Negative control คือ หลอดทดลองที่มีอาหารเชื้ออย่างเดียว

Positive control คือ หลอดทดลองที่มีอาหาร MHB และเชื้อ *S. aureus*



จากการพัฒนาตำรับโทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวจากปวกหาด พบว่าได้ตำรับที่มีลักษณะของโทนเนอร์ที่ดี 1 ตำรับ (ตำรับที่ 16) คือตำรับมีการละลายที่ดี

มีการติดผิวแห้งและดูดซึมสู่ผิวแห้งได้ดีมากกว่าตำรับอื่น สูตรตำรับดังแสดงในตารางที่ 2

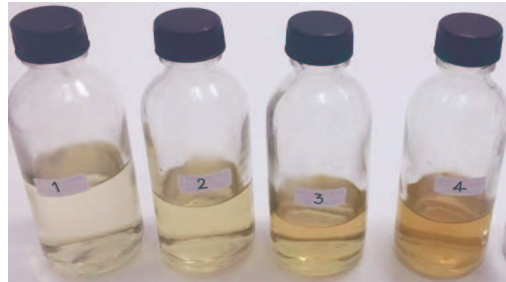
## ตารางที่ 2 สูตรตำรับของตำรับโทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวจากปวกหาดตำรับที่ 16

ส่วนประกอบ	ปริมาณสารในตำรับ	หน้าที่ในตำรับ
ปวกหาด	0.63%	สารสำคัญ
Glycerin	4.00%	Moisturizer, Co-solvent
70% Sorbitol	2.00%	Moisturizer, Co-solvent
Propylene glycol	4.00%	Moisturizer, Co-solvent
Methyl paraben	0.30%	Preservative
Propyl paraben	0.05%	Preservative
Sodium hyaluronate	0.20%	Moisturizer
Sodium citrate	0.20%	Buffer
EDTA	0.20%	Chelating agent
$\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ buffer pH 5.5 solution	qs to 100.00%	Buffer, Vehicle

เลขที่คำขออนุญาตขึ้นทะเบียนตำรับยา 1603002108, วันรับคำขอ 19 ต.ค. 2559

จากนั้นปรับเปลี่ยนความเข้มข้นในตำรับให้อยู่ในช่วง 0.078, 0.156, 0.312 และ 0.624% เป็นตำรับที่ 16.1, 16.2, 16.3 และ 16.4 ตามลำดับ โดยความเข้มข้นดังกล่าวจะเป็นครึ่งหนึ่งของค่า MBC, ค่า MBC, สองเท่าของค่า MBC และสี่เท่าของค่า MBC ต่อเชื้อ *S. aureus* ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของโทนเนอร์ปวกหาดโดยใช้วิธี broth macrodilution พบว่าโทนเนอร์ปวกหาดตำรับที่ 16.2, 16.3 และ 16.4 สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ เนื่องจากไม่พบโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียขึ้น ผลการประเมินความคงตัวหลังเตรียมตำรับโทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวจากปวกหาดเสร็จทันทีที่อุณหภูมิห้องพบว่าโทนเนอร์ทั้ง 4 ตำรับ มีความใสไม่ตกตะกอน มีกลิ่นตามธรรมชาติของปวกหาด ค่า pH อยู่ระหว่าง 5.50-5.57 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรด-

ด่างของผิวแห้ง จึงช่วยลดอาการระคายเคืองผิวแห้ง ผลการประเมินความคงตัวหลังจากผ่านกระบวนการ Heating-Cooling cycle 6 รอบ (n=4) พบว่าตำรับโทนเนอร์ตำรับที่ 16.1-16.3 มีสีเหลือง ใส ไม่ตกตะกอน มีกลิ่นตามธรรมชาติของปวกหาด ส่วนตำรับที่ 16.4 ตกตะกอน (รูปที่ 1) ค่า pH ของตำรับที่ 16.1 และ 16.4 มีความต่างกันระหว่างก่อนและหลังผ่านกระบวนการ Heating-Cooling cycle (ค่า pH อยู่ในช่วง 5.52-5.57) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.008$  และ  $p=0.015$  ตามลำดับ) ส่วนตำรับที่ 16.2 และ 16.3 มีค่า pH ที่แตกต่างกันระหว่างก่อนและหลังผ่านกระบวนการ Heating/Cooling cycle อย่างไม่มีความนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.802$  และ  $p=0.529$  ตามลำดับ) ดังนั้นจึงได้ตำรับที่มีความคงตัวที่สุด 2 ตำรับ คือ ตำรับ 16.2 และ 16.3



**รูปที่ 1** ตำรับโทนเนอร์เซ็ดทำความสะอาดผิวจาก ปวกหาด หลังผ่าน Heating-Cooling cycle ตำรับที่ 16.1, 16.2, 16.3 และ 16.4 ตามลำดับ (ซ้ายไปขวา)

การทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนังในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 30 คน มีอายุเฉลี่ย  $22.03 \pm 1.13$  ปี เป็นเพศชาย 15 คน และเพศหญิง 15 คน ผลการทดสอบหลังทาโทนเนอร์ พบว่าไม่มีอาสาสมัครรายใดเกิดอาการแพ้หรือระคายเคืองทั้งหลังทาโทนเนอร์ 30 นาที 24 ชั่วโมง และหลังหยุดทำการทดสอบไปแล้ว 24 ชั่วโมง ส่วนการศึกษาของ Poonsuk et al. (2016) ในการศึกษาการพัฒนาตำรับโลชันจากปวกหาดโดยใช้ปวกหาดเข้มข้น 0.1%w/w ก็ไม่พบอาการแพ้หรือระคายเคืองของอาสาสมัครจากทั้งสองการศึกษาจึงเป็นการยืนยันความปลอดภัยในการใช้ที่ผิวหนังของตำรับจากปวกหาด

ผลการทดสอบความพึงพอใจต่อโทนเนอร์ปวกหาดในอาสาสมัครสุขภาพดีที่ทดสอบความระคายเคือง และให้ทำแบบทดสอบความพึงพอใจต่อโทนเนอร์ปวกหาดเพื่อประเมินความพึงพอใจในลักษณะของ สี กลิ่น ความใส ลักษณะการติดผิวหนัง การดูดซึมสู่ผิวหนัง และความรู้สึกโดยรวมต่อโทนเนอร์ปวกหาด พบว่าอาสาสมัครส่วนใหญ่มีความพึงพอใจต่อสีในระดับมากที่สุด พึงพอใจต่อกลิ่นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด พึงพอใจต่อความใสในระดับมากที่สุด พึงพอใจต่อลักษณะการติดผิวหนังในระดับมากที่สุด พึงพอใจต่อการดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังในระดับมากที่สุด และความรู้สึกโดยรวมต่อโทนเนอร์ปวกหาดพึงพอใจในระดับมากที่สุด

ดังนั้นโทนเนอร์ปวกหาดที่พัฒนาจากสูตรและกรรมวิธีการผลิตครั้งนี้มีความคงตัวทั้งทางกายภาพ ทางเคมี มีความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังต่างๆ นอกจากนี้โทนเนอร์ปวกหาดที่พัฒนานี้ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ระคายเคืองและอาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับมากถึงมากที่สุด

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และคณะผู้วิจัยขอขอบคุณผศ.ดร.สมศักดิ์ นวลแก้วที่อนุเคราะห์ปวกหาดสำหรับใช้ในงานวิจัยนี้

### References

Chakraborty SP, Saha SK, Pramanik P, Roy S. *In vitro* antimicrobial activity of nanoconjugated vancomycin against drug resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Pharm*, 2012; 436: 659-676.

Foster T. *Staphylococcus*. In: Baron S. editor. *Medical microbiology*. 4<sup>th</sup> ed. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.



- Maneechai S, Likhitwitayawuid K, Sritularak B,  
Palanuvej C, Ruangrunsi N, Sirisa-Ard  
P. Quantitative analysis of oxyresveratrol  
content in *Artocarpus lakoocha* and  
'Puag-Haad'. *Med Princ Pract*, 2009;  
18(3): 223-227.
- Nilvises N, Panyathanya R, Wamnutchinda W.  
Toxicity test of Puag Haad (*Artocarpus  
lakoocha*). *Bull Dept Med Sci*, 1985; 27  
(1): 49-55.
- Parkpoom T, Chantree K. Detection of cross-  
contamination of pathogens in cosmetic  
products containing *Artocarpus  
lakoocha* extract. *SDU Res J*, 2014;  
7(3): 75-91.
- Poonsuk P, Lueanginghasut P, Mekjaruskul C.  
Development of body lotions prepared from  
'Puag-Haad'. *IJPS*, 2016; 11 (suppl): 61-69.
- Xu L, Liu C, Xiang W, Chen H, Qin X, Huang X.  
Advances in the Study of oxyresveratrol  
*Int.J Pharm*, 2014; 10: 44-54.