

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มใช้ภายนอกจากสารสกัดกระท่อม

พรศรี ประเสริฐวารี*[†], เสาวณีย์ ทองดี*, มณีรัตน์ สีบกลัด*, ศิริวรรณ ชัยสมบุญพันธ์*,
วีระชัย พิพัฒน์รัตนเสรี[‡]

* สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

[†] ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12 สงขลา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90100

[‡] ผู้รับผิดชอบบทความ: pornsti.p@dmsc.mail.go.th

บทคัดย่อ

บทนำและวัตถุประสงค์: กระท่อม *Mitragyna speciosa* Kroth มีสรรพคุณสำคัญในทางการแพทย์แผนไทย สำหรับรักษาโรคจิต ติงวุ่น บรรเทาปวดเมื่อยตามร่างกาย และเพิ่มกำลังในการทำงาน มีการนำมาใช้ในรูปแบบใบกระท่อมสดและใบกระท่อมแห้ง ในรูปแบบเครื่องดื่มชาและกาแฟ มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้แก่ กระตุ้นระบบประสาท ลดปวดผ่านตัวรับออปิออยด์ ยับยั้งการหลั่ง PGE II ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ COX-2 ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร ลดความอยากอาหาร และต้านอนุมูลอิสระ ใบกระท่อมมีสารสำคัญไมทราไจนีน (mitragynine) เป็นสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ใช้ควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ การศึกษานี้เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดกระท่อมสเปรย์ฟิล์มเพื่อใช้ภายนอก ให้มีรูปแบบการใช่ง่ายและสะดวก ง่ายต่อการบริหารยา

วิธีการศึกษา: พัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มใช้ภายนอกจากสารสกัดกระท่อม โดยศึกษาชนิดของพอลิเมอร์ และ พลาสติไซเซอร์ รวมถึงปริมาณเอทานอลที่เหมาะสมสำหรับตั้งตำรับ ประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับที่พัฒนาขึ้น และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญไมทราไจนีน ในตำรับด้วยวิธี HPLC นอกจากนี้ ทำการศึกษาความคงตัวของตำรับในสภาวะอุณหภูมิห้อง และ สภาวะเร่ง โดยการประเมินลักษณะทางกายภาพ และตรวจหาปริมาณสารสำคัญที่เหลือในตำรับ

ผลการศึกษา: พบว่า PVP K30 ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวดี ผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย ความใสคงเดิม ไม่พบตะกอนสีขาว การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม ด้วยวิธี HPLC พบว่ามีปริมาณ %content (%w/w) ไมทราไจนีน 0.00077 ± 0.00

อภิปรายผล: การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ทั้งทางกายภาพและทางเคมี PVP K30 เป็นพอลิเมอร์ที่มีความเข้ากันได้ดีกับสารสกัดกระท่อม ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวที่ดี จึงเป็นประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มอื่น ๆ ที่มีศักยภาพ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มที่มีความสะดวกและใช้ง่าย จากการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม เมื่อครบ 3 เดือน พบว่าที่ อุณหภูมิห้อง มีปริมาณสารสำคัญ ไมทราไจนีน % content (%w/w) 0.00073 ± 0.00 และที่สภาวะเร่ง มีปริมาณสารสำคัญ ไมทราไจนีน % content (%w/w) 0.00068 ± 0.00

ข้อสรุปและเสนอแนะ: ผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มใช้ภายนอกจากสารสกัดกระท่อม มีความสะดวกและง่ายในการใช้ผลิตภัณฑ์ ผลจากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาสมุนไพรในรูปแบบนำส่งผ่านผิวหนัง สำหรับใช้ภายนอกจากสารสกัดกระท่อม

คำสำคัญ: กระท่อม, *Mitragyna speciosa* Kroth, สเปรย์ฟิล์ม

Formulation of Topical Film-Forming Spray Product Containing *Mitragyna speciosa* Kroth.

Pornsri Prasertwaree^{*‡}, Saowanee Thongdee^{*}, Maneerat Suebklad^{*}, Siriwan Chaisomboonphan^{*}, Weerachai Pipatrattanaseree[†]

^{*} Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Tivanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand

[†] Regional Medical Science Center 12 Songkhla, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Phawong Subdistrict, Mueang District, Songkhla 90100, Thailand.

[‡] **Corresponding author:** pornsri.p@dmsc.mail.go.th

Abstract

Introduction and Objective: *Mitragyna speciosa*, commonly known as *kratom*, holds significant therapeutic properties in traditional Thai medicine for treating dysentery and diarrhea, alleviating muscle pain, and enhancing physical functions. *Kratom* leaves are used in both fresh and dried forms like tea and coffee. Pharmacologically, *kratom* acts as a nervous system stimulant, provides pain relief via opioid receptors, inhibits PGEII secretion through COX-2 enzyme inhibition, reduces gastric acid secretion, suppresses appetite, and offers antioxidant benefits. The active compound in *kratom* leaves is mitragynine, an alkaloid. This study aimed to develop a film-forming spray product that contains *kratom* extract for external use.

Methods: The development of an topical film-forming spray product involved studying various polymers and plasticizers, as well as determining the appropriate alcohol content for the formulation. The physical characteristics of the developed formulation were assessed, and the mitragynine content was analyzed using HPLC. Additionally, the stability of the formulation was evaluated under room temperature and accelerated conditions by assessing physical characteristics and determining the remaining active compound content.

Results: Polymer PVP K30 was found to provide good stability of the *kratom* extract film-forming spray product, with only slight color changes while maintaining clarity and showing no white precipitate. The analysis of mitragynine amount in the spray product using HPLC revealed a content of 0.00077 ± 0.00 %w/w.

Discussion: The stability study of the spray product, both physically and chemically, showed that PVP K30 is a polymer that is highly compatible with *kratom* extract, providing good stability to the product. This makes it useful for developing potential film-forming spray products. The stability study also showed that after three months the mitragynine content at room temperature was 0.00073 ± 0.00 %w/w, while under accelerated conditions it was 0.00068 ± 0.00 %w/w.

Conclusion and Recommendations: The topical film-forming spray product containing *kratom* extract is conveniently and easily used. The study findings can be used as a basis for developing herbal skin products, especially for external use from *kratom* extract.

Key words: *kratom*, *Mitragyna speciosa* Kroth, film-forming spray

บทนำและวัตถุประสงค์

กระท่อม (*Mitragyna speciosa* Kroth) จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่อายุปานกลาง สูง 10 - 15 m มีแก่นเป็นไม้เนื้อแข็ง ใบเป็นใบเดี่ยวสีเขียวเรียงตัวเป็นคู่ตรงข้าม รูปไข่แกมขอบขนาน แผ่นใบขนาดกว้างประมาณ 5 - 10 cm ยาว ประมาณ 8 - 14 cm มีชนิดก้านใบแดง และใบเขียว หูใบรูปใบหอกอยู่ระหว่างก้านใบ ดอกมีสีขาวอมเหลืองออกเป็นช่อตุ้มกลมขนาด 3 - 5 cm^[1] พบในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตั้งแต่ประเทศไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามแต่ละท้องถิ่น เช่น ท่อม, อีถ่าง สรรพคุณสำคัญในทางการแพทย์แผนไทย รักษาโรคบิด ท้องร่วง บรรเทาปวดเมื่อยตามร่างกาย และเพิ่มกำลังการทำงานในสภาวะอากาศร้อนชื้น^[2] เป็นต้น มีการนำมาใช้ในรูปแบบใบกระท่อมสดหรืออบใบแห้งให้เป็นผง ในรูปแบบเครื่องดื่มชา และกาแฟ^[3-4] องค์ประกอบทางเคมีของกระท่อม ประกอบด้วย flavonoids polyphenolic compound และ indole alkaloids^[5] มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ กระตุ้นระบบประสาท ลดปวดผ่านตัวรับออปิออยด์ ยับยั้งการหลั่ง PGEII ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ COX-2 ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร ลดความอยากอาหาร และต้านอนุมูลอิสระ^[2,6-10] พืชกระท่อมมีสารไมทรากินีน (mitragynine) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม indole alkaloids ที่เป็นหนึ่งในสารสำคัญ มีคุณสมบัติลดการอักเสบและแก้ปวดในระดับปานกลางถึงค่อนข้างรุนแรง แก้ไอ (antitussive) บรรเทาอาการท้องร่วง (antidiarrheal) มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (antimalarial) และมีฤทธิ์ต้านการซึมเศร้า (antidepressant effect)^[11]

บัญชียาหลักแห่งชาติด้านสมุนไพร พ.ศ. 2566 ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่องบัญชียาหลักแห่งชาติด้านสมุนไพร (ประกาศ ณ วันที่ 3 มิถุนายน 2566)^[12] กลุ่มที่ 7 ยารักษาอาการทางกล้ามเนื้อและกระดูก ยาสำหรับใช้ภายนอก มี 5 รูปแบบ คือ ยาเจล ยาขี้ผึ้ง ยาครีม ยาน้ำมัน และยาน้ำสำหรับพ่นผิวหนัง รูปแบบเภสัชภัณฑ์ทั่วไป เช่น เจล ขี้ผึ้ง ครีม น้ำมัน และแผ่นแปะ เป็นรูปแบบที่นิยมใช้นำส่งยาทางผิวหนัง แต่มีข้อเสีย คือ ไม่สะดวกต่อการใช้งานของผู้บริโภค ยาติดผิวหนังได้ไม่ดี ดังนั้นผลิตภัณฑ์รูปแบบสเปรย์ฟิล์มเป็นรูปแบบเภสัชภัณฑ์ที่มีการพัฒนาและเป็นทางเลือกใหม่ให้กับผู้บริโภคในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ดีมีความทันสมัย มีรูปแบบการใช้งานสะดวก ง่ายต่อการบริหารยา หลังการฉีดพ่น ผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจะเคลือบผิวหนังเป็นฟิล์มบาง ๆ โดยไม่ต้องฉีดยา

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ยาใช้ภายนอกในรูปแบบสเปรย์เพื่อบรรเทาอาการปวด เช่น ไดโคลฟีแนค สเปรย์ (diclofenac spray), เมนทอลสเปรย์ (menthol spray) เป็นต้น ผลิตภัณฑ์รูปแบบสเปรย์ฟิล์มใช้ภายนอกจากสารสกัดกระท่อม ในรูปแบบสารละลาย ส่วนประกอบสำคัญ สารสกัดกระท่อม พอลิเมอร์-พลาสติไซเซอร์ และตัวทำละลาย

วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้ จึงเป็นการพัฒนาและประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์รูปแบบสเปรย์ฟิล์มใช้ภายนอกจากสารสกัดกระท่อม เพื่อบรรเทาอาการปวด และเป็นแนวทางในการนำสมุนไพรกระท่อมไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

ระเบียบวิธีศึกษา

1. วัสดุ

1.1 ตัวอย่างสมุนไพร^[13]

พืชกระท่อม แหล่งที่มา สำนักงาน ป.ป.ส. ภาค 9 ในปีงบประมาณ 2564 ใช้ใบกระท่อมจากแหล่งปลูกถูกกฎหมาย จังหวัดตรัง พร้อมทั้งการขออนุญาตครอบครองและผลิตกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาในปีงบประมาณ 2564 และเปรียบเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้แห้ง หมายเลขอ้างอิง DMSC 5290 ห้องปฏิบัติการฟิสิกส์ภัณฑ์พืช สถาบันวิจัยสมุนไพร มหาวิทยาลัยการแพทย์ คัดใบกระท่อมอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 °C มาตรฐานเป็นผงหยาบ นำมาสกัดด้วยวิธีการต้มในน้ำ และระเหยเป็นผงแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator ลักษณะเป็นผงแห้ง ละเอียด สีน้ำตาล %yield = 31.5 %content ไมทราเจนีน 2.12 ± 0.00 %w/w

1.2 สารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน: Mitragynine 98.9 % (Lipomed[®], United States of America.)

1.3 สารเคมีและตัวทำละลาย

Eudragit NE 30 D (Evonik, Germany), hydroxypropyl methyl cellulose E5 (HPMC E5), hydroxypropyl methyl cellulose E15 (HPMC E15) (Rama production Co.,Ltd, Thailand), polyvinyl pyrrolidone K30 (PVP K30), polyvinyl pyrrolidone K90 (PVP K90), propylene glycol (PG), glycerin, menthol (PC Drug Center Co.,Ltd, Thailand), dibutyl phthalate (DBP) (Sigma Aldrich, Germany), triacetin, ammonium acetate, glacial acetic acid (Merck, Ger-

many), acetonitrile (lab-honeywell, Germany), methanol (Fisher, Belgium), 95% ethanol (GPO, Thailand)

1.4 วัสดุวิทยาศาสตร์และเครื่องแก้ว

กระดาษกรอง membrane Filter ชนิด Nylon ขนาดรูพรุน 0.22 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 mm (Agela, People's Republic of China), Syringe Filter membrane ชนิด Nylon ขนาดรูพรุน 0.22 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 mm (Peky Biotech, People's Republic of China)

1.5 เครื่องมือ

เครื่องโครมาโทกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง รุ่น LC-4000 Series (Jasco, Japan), เครื่องล้างความถี่สูง รุ่น RK 510 (SONOREX, Germany), เครื่องเขย่าผสมสาร รุ่น VXMNAL (OHAUS, United States of America), เครื่องจับเวลา รุ่น QT9017-A (CITIZEN, Japan), เครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง รุ่น AX205 (Mettler Toledo, Switzerland), เครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ รุ่น SYNS0HF00 (Synergy[®], Germany), ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น (CHAMBER, TEMPERATURE CONTROL) รุ่น KBF 240 (Binder, Germany)

2. วิธีการศึกษา

2.1 การหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการละลายสารสกัดกระท่อม

การหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการละลายสารสกัดกระท่อม ซึ่งสารสกัดกระท่อม 0.2 g เติมน้ำ 1 ml จากนั้นเติมตัวทำละลายแต่ละชนิด 2 ml ethanol, propylene glycol (PG), polyethylene glycol 400 (PEG 400) และ glycerin ใช้เครื่อง

vortex mixer ช่วยในการผสม และละลายสารสกัด ให้เข้ากัน บันทึกลักษณะของสารละลาย

2.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์ม

การเลือกส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม โดยการศึกษาชนิด และปริมาณของ พอลิเมอร์ พลาสติไซเซอร์ สารช่วยละลาย ได้แก่ เอทานอล และสารช่วยอื่น ๆ ในตำรับ เช่น เมนทอล โดยชนิดของส่วนประกอบในตำรับ มีผลต่อลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

1) การศึกษาชนิดของพอลิเมอร์ และ พลาสติไซเซอร์

การคัดเลือกชนิดของพอลิเมอร์ eudragit NE30D, PVP K30, PVP K90, HPMC E5 และ HPMC E15 เพื่อศึกษาความสามารถในการก่อฟิล์มเตรียมพอลิเมอร์ที่ร้อยละความเข้มข้นของน้ำหนักร้อยละ 3.0, 5.0 และ 10.0 ตามลำดับ คัดเลือกชนิดของพลาสติไซเซอร์ dibutyl phthalate (DBP) triacetin, PG, glycerin เพื่อทดสอบความเข้ากันได้กับชนิดของพอลิเมอร์ โดยอัตราส่วนที่ใช้ คำนวณจากร้อยละ 20 ของพอลิเมอร์ (Table 1) ทดสอบแผ่นฟิล์ม โดยเทลง petri dish glass และประเมินจากลักษณะทางกายภาพที่ดี เช่น ความใส ความเรียบของฟิล์มแห้งไม่เป็นจุดขาว

Table 1 Types of polymers and plasticizers used in preparing in various spray film solutions

Ingredients	Number (%w/w)									
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
Eudragit NE30D	10	10	-	-	-	-	-	-	-	-
PVP K30	-	-	5	5	-	-	-	-	-	-
PVP K90	-	-	-	-	5	5	-	-	-	-
HPMC E 5	-	-	-	-	-	-	3	3	-	-
HPMC E 15	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
PG	-	-	1	-	1	-	0.6	-	0.6	-
Glycerin	-	-	-	1	-	1	-	0.6	-	0.6
DBP	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Triacetin	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	35	35	34	34	34	34	36.4	36.4	36.4	36.4
Purified water	53	53	60	60	60	60	60	60	60	60
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

2) อัตราการระเหย (evaporation rate) เตรียมตัวอย่างสารละลายสเปรย์ฟิล์มเพื่อหาอัตราส่วนเอทานอลกับน้ำในตำรับที่เหมาะสม (Table 2) ซึ่งนำหน้ากระดาษกรองวางบน petri dish

glass ฉีดพ่นตัวอย่างบนกระดาษกรอง 2 ครั้ง (ปริมาตร 0.2285 g/ครั้ง) ระยะห่างจากกระดาษกรอง 15 cm. จับเวลา 2 min ตั้งไว้ในอุณหภูมิห้องที่ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

2.4 การประเมินคุณภาพทางกายภาพ และทางเคมีของผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม

1) การประเมินตำรับสเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม

การศึกษาสสมบัติทางกายภาพ ผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) และที่สภาวะเร่ง ($45 \pm 2^{\circ}\text{C}$) วันที่ 0, 7, 14 และ 28 โดยดูจากสี ความใส ตะกอนของสารละลาย และค่าความเป็นกรดต่าง

2) การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาความคงตัวของสภาวะเร่ง สารสกัดพืชกระท่อมชั้นน้ำมีความคงตัวด้านปริมาณสารสำคัญ ในสภาวะให้ความร้อน มีความคงตัวทั้งด้านฤทธิ์ทางชีวภาพและปริมาณสารสำคัญ^[13] จึงนำสารสกัดที่ได้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) และที่สภาวะเร่ง ($45 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เดือนที่ 0, 1, และ 3 โดยดูจากสี ความใส ตะกอนของสารละลาย ค่าความเป็นกรดต่าง

3) การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญไมทราไจนีน ในผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม

การวิเคราะห์ปริมาณสาร ไมทราไจนีน ในสารสกัดกระท่อม ด้วยระบบโครมาโทกราฟี Column: Reliant C18 column (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 mm. x ความยาว 250 mm. ขนาดอนุภาค $5 \mu\text{m}$) โดยมีวัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วย: Acetonitrile และ 20 mM Ammonium acetate buffer pH 6.0 (65:35), อัตราการไหล: 1.0 ml/min ปริมาณที่ฉีด: $20 \mu\text{l}$ ตรวจวัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 225 nm เตรียมตัวทำละลายเจือจาง (diluent) ใช้ methanol และ 0.1%v/v glacial acetic acid ผสมกันในอัตราส่วน (80:20) เตรียมสารละลาย

บัฟเฟอร์ ซึ่ง ammonium acetate 1.54 g ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 500 ml ปรับ pH ให้ได้ 6.0 ด้วย glacial acetic acid และปรับปริมาตรเป็น 1000 ml กรองด้วย membrane filter ชนิด Nylon ขนาดรูพรุน $0.45 \mu\text{m}$

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารมาตรฐานไมทราไจนีนละลายและปรับปริมาตรด้วย diluent ให้ได้ความเข้มข้น 0.2 mg/ml เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 $\mu\text{g/ml}$ กรองผ่าน Nylon syringe filter ขนาดรูพรุน $0.22 \mu\text{m}$

a) การหาปริมาณไมทราไจนีนในสารสกัดกระท่อม^[15]

การหาปริมาณไมทราไจนีน ในสารสกัดกระท่อม ด้วยระบบโครมาโทกราฟี โดยเตรียมตัวอย่างสารสกัดกระท่อมปริมาณ 50 mg เติม diluent 7 ml นำไป sonicate 30 min ทิ้งไว้ให้เย็นและปรับปริมาตรด้วย diluent เป็น 10 ml นำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 5 min ปิเปตสารละลายส่วนใสมา 5 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรและปรับปริมาตรด้วย diluent เป็น 10 ml กรองผ่าน Nylon syringe filter ขนาดรูพรุน $0.22 \mu\text{m}$

b) การหาปริมาณไมทราไจนีนในผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม (F14)

การหาปริมาณไมทราไจนีนในผลิตภัณฑ์เตรียมสารละลายตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) และที่สภาวะเร่ง ($45 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เดือนที่ 0 และ 3 เตรียมตัวอย่างปริมาณ 1.0 g ละลายและปรับปริมาตรด้วย diluent เป็น 5 ml กรองผ่าน Nylon syringe filter ขนาดรูพรุน $0.22 \mu\text{m}$

จากสมการเส้นตรงของสารมาตรฐานไมทราไจนีน $y = mx+c$

$$\% \text{Content (\% w/w)} = \frac{\left[\frac{\text{Area-intercept}}{\text{slope}} \right] \times \text{Dilution factor} \times 100\%}{\text{conversion factor} \times \text{mass of sample (mg)}}$$

ผลการศึกษา

ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการละลายสารสกัดกระท่อม

ผลการศึกษาคงความสามารถในการละลายสารสกัดกระท่อม ในสารละลายทั้ง 4 ชนิด 95% ethanol, PG, PEG 400, และ glycerin (ตามลำดับ) พบว่า glycerin สามารถช่วยละลายสารสกัดกระท่อมได้ดี สารละลายที่ได้มีความใส ไม่มีตะกอนสีขาว (Table 4)

การเตรียมผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์ม

ผลการศึกษาชนิดของพอลิเมอร์ และพลาสติกไซเซอร์

พบว่าพอลิเมอร์ PVP K30 (F3, F4) และ HPMC E5 (F7, F8) มีความเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อมต่อไป เนื่องจากฟิล์มที่ได้มีความแห้งและใสไม่ทิ้งจุดสีขาว และฉีดพ่นเป็นละอองฝอยได้ ส่วนพลาสติกไซเซอร์ PG, glycerin สามารถเข้ากันได้ดีกับพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิด (Table 5)

Table 4 Types of solvents suitable for dissolving Kratom extracts

Appearance	Solvent			
	95% ethanol	PG	PEG 400	glycerin
Clear	++	++	+	+++
White sediment	+	+++	++	-

Note: - Not detected + Low ++ Medium +++ High

Table 5 Types of polymers and plasticizers that affect the physical appearance of the film

Number	Appearance			
	Appearance	White spot	Film forming	Spray
F1	Clear and stick	-	x	/
F2	Clear and stick	-	x	/
F3	Clear and dry	-	x	/
F4	Clear and dry	-	x	/
F5	Clear and dry	-	x	x
F6	Clear and dry	-	x	x
F7	Clear and dry	-	/	/
F8	Clear and dry	-	/	/
F9	Clear and dry	-	/	x
F10	Clear and dry	-	/	x

Note: / Applicable x Not applicable - Not detected

อัตราการระเหย (evaporation rate)

พบว่า อัตราการระเหยของ ethanol E1 มีอัตราการระเหยต่ำสุด ร้อยละ 29.4 ส่วน E2, E3 และ E4 มีอัตราการระเหยใกล้เคียงกัน ร้อยละ 36.11, 38.05 และ 43.69 ตามลำดับดังนั้นจึงเลือก E2 ซึ่งมีอัตราส่วน ethanol ร้อยละ 47 ซึ่งน้อยกว่า E3 และ E4 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสม และให้อัตราการระเหยที่ไม่แตกต่างกัน

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม

ผลิตภัณฑ์ F11-F16 ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นสารละลายใส

สีเหลืองอ่อน (Figure 1A)

การประเมินคุณภาพทางกายภาพ และทางเคมีของผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม

การประเมินตำรับสเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม

พบว่า F11-F13 สารละลายมีการเปลี่ยนแปลงชัดเจน พบตะกอนสีขาว ทั้งในอุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) และสภาวะเร่ง ($45 \pm 2^{\circ}\text{C}$) F14 - F16 สารละลายมีความคงตัวที่ดีในอุณหภูมิห้อง แต่ในสภาวะเร่ง พบการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (Table 6)

Table 6 Physical stability of Kratom Spray Film Products

Number	Day; Room Temp ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$)				Day; Accelerate ($45 \pm 2^{\circ}\text{C}$)			
	0	7	14	28	0	7	14	28
F11	-/- 5.8	-/- 5.8	+/** 5.8	+/* 5.8	-/- 5.8	+/* 5.8	++/* 6.0	++/** 6.2
F12	-/- 5.8	-/- 5.8	+/** 5.8	+/* 5.8	-/- 5.8	+/* 5.8	++/* 5.9	++/** 6.0
F13	-/- 5.8	-/- 5.8	+/** 5.8	+/* 5.8	-/- 5.8	+/* 5.8	++/* 5.9	++/** 6.0
F14	-/- 5.0	-/- 5.0	-/- 5.0	+/- 5.0	-/- 5.0	-/- 5.0	-/- 5.1	+/- 5.3
F15	-/- 4.9	-/- 4.9	-/- 4.9	+/- 4.9	-/- 4.9	-/- 4.9	-/- 4.9	+/- 5.2
F16	-/- 4.9	-/- 4.9	-/- 4.9	+/- 4.9	-/- 4.9	-/- 4.9	-/- 4.9	+/- 5.1

Note: Color change of solution/ White sediment pH

Color change of solution: - Not detected +Low ++Medium +++High

White Sediment: - Not detected *Low **Medium ***High

การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์

เมื่อครบกำหนด 3 เดือน ทั้ง 2 สภาวะ พบว่า F11-F13 สารละลายมีสีเหลืองเข้มขึ้นชัดเจน และพบตะกอนสีขาว ส่วน F14- F16 สารละลายเริ่มมีสีเหลืองเข้มขึ้น มีความคงตัวที่ดีในอุณหภูมิห้อง แต่ในสภาวะ

เร่ง พบการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (Figure 1) ดังนั้นพอลิเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม คือ PVP K30 (Table 7)

Table 7 Stability of product after 3 month

Formulation	Month; Room Temp ($30 \pm 2^\circ\text{C}$)			Month; Accelerate ($45 \pm 2^\circ\text{C}$)		
	0	1	3	0	1	3
F11	-/- 5.8	+/* 5.8	++/* 5.8	-/- 5.8	++/** 6.2	+++/** 6.2
F12	-/- 5.8	+/* 5.8	++/* 5.8	-/- 5.8	++/** 6.0	+++/** 6.0
F13	-/- 5.8	+/* 5.8	++/* 5.8	-/- 5.8	++/** 6.0	+++/** 6.1
F14	-/- 5.0	+/- 5.0	+/- 5.0	-/- 5.0	+/- 5.3	+/- 5.4
F15	-/- 4.9	+/- 4.9	+/- 5.0	-/- 4.9	+/- 5.2	+/- 5.2
F16	-/- 4.9	+/- 4.9	+/- 5.0	-/- 4.9	+/- 5.1	+/- 5.2

Note: Color change of solution/ White sediment pH

Color change of solution: - Not detected +Low ++Medium +++High

White Sediment: - Not detected *Low **Medium ***High

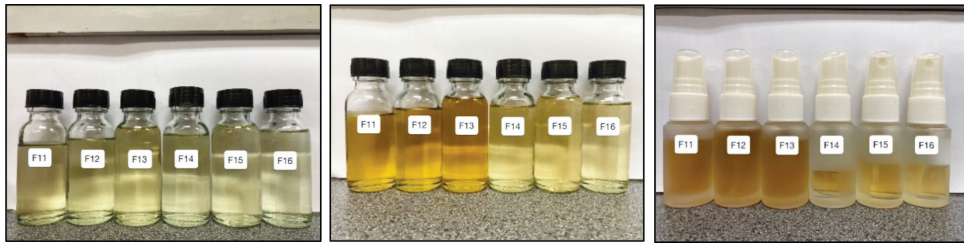


Figure 1 The characteristics of the spray film product from Kratom extract

(A) Month 0

(B) Month 3; Room Temp ($30 \pm 2^\circ\text{C}$)

(C) Month 3; Accelerate ($45 \pm 2^\circ\text{C}$ / 75%RH)

การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญไมทราไจนีนในผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม (F14)

a) การหาปริมาณไมทราไจนีนในสารสกัดกระท่อม

ค่า Correlation Coefficient (R^2) จากกราฟของสารมาตรฐาน 0.9998 (Figure 2) พบปริมาณไมทราไจนีนในสารสกัดกระท่อม 21.20 mg/g retention time 11.29 min (Figure 3)

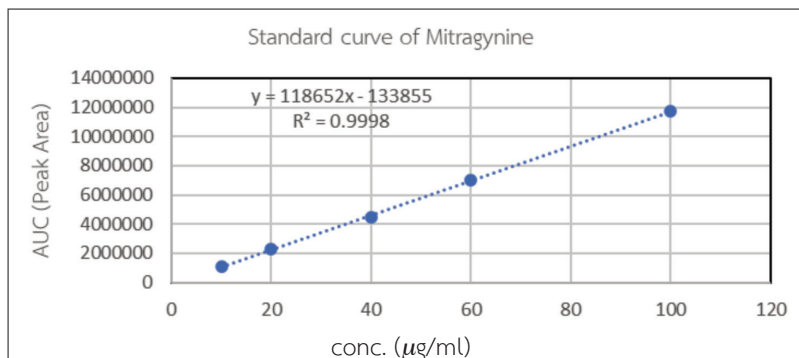


Figure 2 Linear relationship of Mitragynine standard compounds

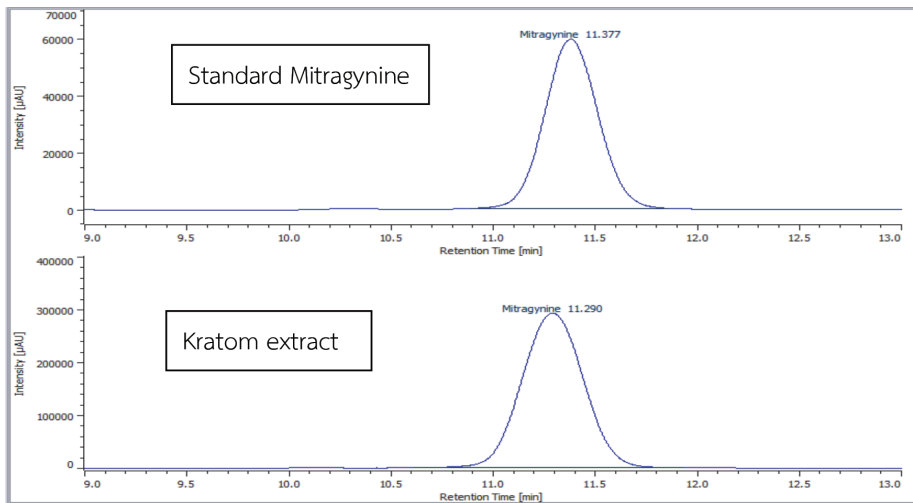


Figure 3 The chromatograms of Mitragynine in the standard and in the Kratom extract, respectively.

b) การหาปริมาณ Mitragynine ในผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม (F14)

ผลการวิเคราะห์ ปริมาณสารสำคัญ

Mitragynine ในผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม (Table 8)

Table 8 The amount of active ingredient Mitragynine in the spray film product from Kratom extract (F14)

Product F14	%content (%w/w)	Remaining relative to day 0
Month 0	0.00077 ± 0.00	100.00%
Month 3; Room Temp	0.00073 ± 0.00	94.81%
Month 3; Accelerate	0.00068 ± 0.00	93.15%

อภิปรายผล

จากการศึกษาเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์ม เพื่อความสะดวกง่ายต่อการบริหารยา หลังการฉีดพ่น ผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจะเคลือบผิวหนังเป็นฟิล์มบาง ๆ โดยไม่ต้องฉีดยา พบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ทำได้ง่าย ราคาถูก เป็นตัวทำละลายที่นิยมนำมาเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปแบบสารละลายในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์ม อัตราส่วน

เอทานอลในตำรับร้อยละ 47 เป็นอัตราการระเหยของเอทานอลที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ เนื่องจากอัตราส่วนเอทานอลที่สูงขึ้น มีผลต่อการระเหยแห้งของผลิตภัณฑ์ แต่การใช้ปริมาณเอทานอลที่สูงอาจส่งผลกระทบต่อการระคายเคืองผิวหนังได้ ดังนั้นปริมาณการใช้เอทานอลในแต่ละผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบที่แตกต่างกันของแต่ละตำรับ และความเข้ากันได้ของแต่ละผลิตภัณฑ์ การเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์สเปรย์

ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม โดยเตรียมความเข้มข้น 20 เท่า ของฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ และอยู่ในช่วงค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง อ้างอิงจากข้อมูลเภสัชวิทยาและพิษวิทยาสารสกัดกระท่อม ฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ IC_{50} PGE II = 18.51 $\mu\text{g/ml}$ ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง HaCaT IC_{50} = $371.53 \pm 9.82 \mu\text{g/ml}$ [$361.71 - 381.35 \mu\text{g/ml}$]^[13] ในส่วนของพอลิเมอร์ HPMC E5 และ PVP K30 เป็นตัวเลือกที่นำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มใช้ภายนอกจากสารสกัดกระท่อม การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ เปรียบเทียบพอลิเมอร์ HPMC E5 และ PVP K30 ทั้งอุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) และสภาวะเร่ง ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) การวิเคราะห์ไมทราไจนีน ในผลิตภัณฑ์จากสารสกัดกระท่อม F14 (อ้างอิงจาก THP 2021 Supplement 2023)^[14] ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญไมทราไจนีน ด้วย HPLC พบว่ามีขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection ; LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (Limit of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.178 $\mu\text{g/mL}$ และ 0.538 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่ 3 เดือนพบว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง มีปริมาณสารสำคัญไมทราไจนีน %content (%w/w) 0.00073 ± 0.00 และที่สภาวะเร่ง มีปริมาณสารสำคัญไมทราไจนีน %content (%w/w) 0.00068 ± 0.00

ดังนั้นจากการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ทั้งทางกายภาพและทางเคมี PVP K30 เป็นพอลิเมอร์ที่มีความเข้ากันได้ดีกับสารสกัดกระท่อม และสารช่วยอื่น ๆ ในตำรับ เช่น เมนทอล ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ ให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวที่ดี จึงเป็นประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มสมุนไพร ที่มีศักยภาพ เพื่อพัฒนาเป็น

ผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มที่มีความสะดวกและง่ายในการใช้

จากรายงานการวิจัย Worawan และคณะ^[15] ในการพัฒนาตำรับ topical film forming spray จากพริกไทย พบว่าพอลิเมอร์ที่เหมาะสมกับตำรับคือ HPMC E5 อัตราส่วนเอทานอลที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว คือร้อยละ 54 และจากรายงานการวิจัยของ ณัฐชา พงษ์วีรัตน์^[16] ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มสารสกัดไพล พบว่าพอลิเมอร์ที่เหมาะสมกับตำรับคือ Eudragit S100 อัตราส่วนไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ ที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวคือ ร้อยละ 80-85 จะเห็นได้ว่าชนิดของสารสกัดสมุนไพรน่าจะมีผลต่อความจำเพาะกับชนิดของพอลิเมอร์ แต่ละชนิดที่ควรเลือกใช้ ในการศึกษาที่พอลิเมอร์ PVP K30 มีความเข้ากันได้ดีกับสารสกัดกระท่อม และให้ความคงตัวที่ดีกว่า HPMC E5 ส่วนอัตราการระเหยของเอทานอล ขึ้นกับรูปแบบของการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในแต่ละชนิดของพอลิเมอร์ และสมุนไพร

ข้อสรุป

กระท่อม (*Mitragyna speciosa* Kroth) มีสารสำคัญไมทราไจนีน ทางเภสัชวิทยามีฤทธิ์ลดปวด กระตุ้นระบบประสาท ลดปวดผ่านตัวรับออปิออยด์ จึงนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรสำหรับใช้ภายนอกเพื่อบรรเทาอาการปวด บริเวณที่ฉีดพ่น การพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจากสารสกัดกระท่อม ค่าความเป็นกรดต่าง ใกล้เคียงกับผิวหนัง pH 4.7-5.75 มีการใช้ที่สะดวก หลังการฉีดพ่น ผลิตภัณฑ์สเปรย์ฟิล์มจะเคลือบผิวหนังเป็นฟิล์มบาง ๆ โดยไม่ต้องถูวนวด ง่ายในการบริหารผลิตภัณฑ์สมุนไพร และการยอมรับจากผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ จึงเป็นแนวทาง

การนำผลการวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ เช่น การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ได้มีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสม และมีความคงตัวดี สามารถเก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง จึงมีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะนำไปใช้ศึกษาประสิทธิภาพและความปลอดภัยของตำรับในระดับพรีคลินิก และระดับคลินิกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการให้ทุนสนับสนุนการวิจัยนี้

References

- Brown PN, Lund JA, Murch SJ. A botanical, phytochemical and ethnomedicinal review of the genus *Mitragyna* korth: implications for products sold as Kratom. *J Ethnopharmacol.* 2017;202: 302-25.
- Wantana R, Niwat K, Kitja S. Effects of the extracts from *Mitragyna speciosa* Korth. leaves on analgesic and behavioral activities in experimental animals. *Songklanakarin J Sci Technol.* 2007;29:39-48.
- Singh D, Narayanan S, Vicknasingam B. Traditional and non-traditional uses of Mitragynine (*Kratom*): a survey of the literature. *Brain Res Bull.* 2016;126(Pt 1):41-6.
- Current perspectives on the impact of *Kratom* use Charles Veltri 1 Oliver Grundmann. *Substance Abuse and Rehabilitation.* 2019;10:23-31
- Hiromitsu T. Chemistry and pharmacology of analgesic indole alkaloids from the rubiaceous plant, *Mitragyna speciosa*. *Chem Pharm Bull.* 2004;52:916-28.
- Ekkasit K, Uraporn V, Niwat K, Pranom I, Fos-like immunoreactivity in rat dorsal raphe nuclei induced by alkaloid extract of *Mitragyna speciosa*. *Neurosci Lett.* 2007;416:128-32.
- Kinzo M, Maho M, Suchitra T, Yukihiho M, Hiromitsu T, Shin-ichiro S, Norio A, Hiroshi W. Central antinociceptive effects of mitragynine in mice: contribution of descending noradrenergic and serotonergic systems. *Eur J Pharmacol.* 1996;317:75-81.
- Kinzo M, Maho M, Suchitra T, Hiromitsu T, Shin-ichiro S, Norio A, Hiroshi W. Antinociceptive action of mitragynine in mice: evidence for the involvement of supraspinal opioid receptors. *Life Sci.* 1996;59:1149-55.
- Suchitra T, Kinzo M, Maho M, Michihisa T, Hiromitsu T, Norio A, Shin-ichiro S, Hiroshi W. Identification of opioid receptor subtypes in antinociceptive actions of supraspinally-administered mitragynine in mice. *Life Sci.* 1998;62:1371-8.
- Kruegel AC, Gassaway MM, Kapoor A, Vâradi A, Majumdar S, Filizola M, Javitch JA, Sames D. Synthetic and receptor signaling explorations of the Mitragyna alkaloids: Mitragynine as an Atypical molecular framework for opioid receptor modulators. *J Am Chem Soc.* 2016;138(21):6754-64.
- Idayu NF, Hidayat T, Moklas MAM, Sharida F, Raudzah ARN, Shamina AR, Apriyani E. Antidepressant-like effect of mitragynine isolated from *Mitragyna speciosa* Korth in mice model of depressant. *Phytomedicine.* 2011;18(5):402-07.
- National List of Essential Herbal Medicines 2023 according to the announcement of the National Drug System Development Board. Regarding the National List of Essential Herbal Medicines (announced on June 3, 2023). (in Thai)
- Integrated research project on *Kratom* for medical benefits and innovation development: Regional Medical Science Center 12 Songkhla / Department of Medical Sciences. Fiscal year 2566. Nonthaburi: Thailand. 1-90. (in Thai)
- Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai Herbal Pharmacopoeia 2021 Supplement 2023. Thailand. p. 38-49
- Worawan S, Natawat C, Fameera M, Lukeman S, Suphalak H. Formulation development of topical film forming spray from *Piper nigrum* L. *TJPS.* 2018;42(Supplement Issue): 219-22.
- Pongwirat N. Development of film spray containing *Plai* extract (thesis). Pharmaceutical Product Development, Faculty of Pharmacy, Bangkok: Srinakharinwirot University; 2020. (in Thai).