การตั้งตำรับครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากบัวบก

FORMULATION OF CREAM CONTAINING EXTRACT FROM *CENTELLA ASIATICA*

ดวงกมล เลียวกิตติกุล[1], วิภาวี ชัยวิรัตน:[2], มานิตา หาญพานิชเจริญ[1], ฉันทนา อารมย์ดี[1]
[1]คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[2]โรงพยาบาลบัวใหญ่ อำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบบัวบก โดยการพัฒนายาพื้นครีม 3 สูตรตำรับ รวมทั้งการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของยาพื้นครีม ซึ่งได้แก่ ลักษณะเนื้อครีม การแยกชั้น ความติดผิว ความเหนียวเหนอะหนะ ความง่ายในการกระจายบนผิว และความรู้สึกเมื่อทา คัดเลือกตำรับที่มีคุณสมบัติทางกายภาพดีที่สุด **(ตำรับที่ 3)** มาเตรียมครีมบัวบก 1% พบว่าครีมบัวบกนี้มีความคงตัวทางกายภาพดีเมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวที่สภาวะเร่ง โดยเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ทำเช่นนี้นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบทั้งหมด 6 รอบ จากการวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative analysis) เพื่อหาปริมาณสารสำคัญของสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1% โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟิคเดนซิโตเมตรี โดยใช้สารเปรียบเทียบ คือ สารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ และสารมาตรฐานกรดอะเซียติค พบว่าอะเซียติโคไซด์ และกรดอะเซียติคในครีมบัวบกที่เตรียมได้มีความคงตัวในครีมที่เตรียมขึ้น

คำสำคัญ: ครีมบัวบก, อะเซียติโคไซด์, กรดอะเซียติค, การทดสอบความคงตัวทางกายภาพ

Abstract

The objective of this work was to formulate a cream containing dried extract from *Centella asiatica*. Three cream bases were formulated and evaluated for their physical properties which are texture, phase separation, adhereness to skin, greasiness, spreadability and feeling when applying the cream. Cream base with the best physical properties **(formulation 3)** was selected and incorporated with the 1% centella extract. The result showed that the stability of the 1% centella cream after preparation and being stored at 45˚C for 48 hours and 4˚C for 48 hours 6 cycles was stable. Asiaticoside and asiatic acid from centella extract and 1% centella cream were semi-quantified by thin layer chromatographic densitometry, using asiaticoside and asiatic acid as standards. It was found that the asiaticoside and asiatic acid are stable in this cream.

Keywords: Centella cream, Asiaticoside, Asiatic acid, Physical stability tests

บทนำ

บัวบกเป็นสมุนไพรพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง บัวบกมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Centella asiatica* (Linn.) Urban จัดอยู่ในวงศ์ Umbelliferae ในตำรายาโบราณของไทยได้กล่าวถึงสรรพคุณของบัวบกว่าสามารถนำใบสดมารับประทานเป็นอาหารได้ น้ำต้มใบสดใช้รักษาอาการร้อนใน แก้ช้ำใน กระหายน้ำ และโรคปากเปื่อย นอกจากนี้ยังสามารถนำบัวบกไปใช้เป็นยาในการรักษาแผลเปื่อย แผลไฟไหม้ และน้ำร้อนลวก [1] บัวบกประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ อะเซียติโคไซด์ เมดิเคสโซไซด์ เซนเทลโลไซด์ กรดอะเซียติค และกรดเมดิเคสซิค [2]

จากข้อมูลการศึกษาทางคลินิก และทางเภสัชวิทยาพบว่า สรรพคุณในการสมานแผลของบัวบกมาจากฤทธิ์ของสารกลุ่มไตรเทอร์พีน ได้แก่ อะเซียติโคไซด์ กรดอะเซียติค และกรดเมดิเคสซิค [3] โดยผ่านกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการเร่งให้เซลล์มีการสร้างเส้นใยคอลลาเจน (collagen) และเร่งการสร้างซ่อมแซมเส้นเลือดที่เสียหายไป (Angiogenesis) ให้กลับคืนมา [4] สารสำคัญอื่นๆ ในสารสกัดบัวบก รวมทั้งอะเซียติโคไซด์ยังมีประโยชน์ในการรักษาแผลเป็น และแผลเป็นชนิดนูน (Keloids) นอกจากนี้มีรายงานการค้นพบสรรพคุณระงับการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่ทำให้เกิดหนอง และฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา [5]

สำหรับในประเทศไทย บุญเจือ ธรณินทร์ และคณะ [6] ได้ทำการทดลองใช้ครีมที่มีส่วนผสมของไกลโคไซด์ที่สกัดได้จากบัวบกความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ทาบนผิวหนังของหนูตะเภาที่โกนขนออกแล้วเป็นวงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 1 เดือน เปรียบเทียบกับผิวหนังของหนูตะเภาที่ทาด้วยยาพื้นครีม ผลการทดลองพบว่า ผิวหนังหนูตะเภาที่ทาครีมไกลโคไซด์ที่สกัดได้จากบัวบกความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีชั้น แกรนูลาหนาขึ้น มีเคอราติไนเซชั่นเป็นบางแห่ง เซลล์ในชั้นอีปิเดอร์มิสและเดอร์มิสบวมเล็กน้อย แสดงว่าไกลโคไซด์ที่สกัดได้จากบัวบกมีฤทธิ์เร่งการเจริญของผิวหนัง

วีระสิงห์ เมืองมั่น [7] ได้ศึกษาการหายของแผลแยกจากการผ่าตัด และแผลอักเสบ โดยการใช้ครีมบัวบก 1 เปอร์เซ็นต์ ทาแผลอักเสบหลังการผ่าตัดในคนไข้ที่เป็นโรคในระบบทางเดินปัสสาวะจำนวน 14 ราย แบ่งทาวันละ 2 ครั้ง นาน 2-8 สัปดาห์ พบว่าแผลหาย 4 ราย (28.6%) ใน 2 สัปดาห์ 4 ราย (28.6%) ใน 2-4 สัปดาห์ 5 ราย (35.7%) ใน 4-8 สัปดาห์ และไม่หายหลังใช้ยา 2 เดือน 1 ราย (7.1%) ซึ่งมีสาเหตุเกิดจากแผลกดทับ และไม่พบอาการแทรกซ้อนอื่นๆ

ศิริรัตน์ โกศัลยวัฒน์ และคณะ [8] ทำการศึกษาการใช้ครีมบัวบก 1 เปอร์เซ็นต์ รักษาแผลเรื้อรังในผู้ป่วยจากภาควิชาศัลยศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ และผู้ป่วยจากตึกอุบัติเหตุของโรงพยาบาลศิริราช จำนวน 22 ราย หลังการใส่แผลด้วยครีมบัวบก 1 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดขนาดของแผลในวันที่ 7, 14 และ 21 พบว่าค่าร้อยละของการหายเพิ่มขึ้นทั้งด้านกว้าง ด้านยาว และด้านลึก

จากสรรพคุณดังกล่าวจึงนิยมนำบัวบกมาใช้เป็นยาภายนอกในการรักษาแผลเปื่อย แผลไฟไหม้ แผลน้ำร้อนลวก และใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง ซึ่งผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากสารสกัดบัวบกที่ผลิตออกมาจำหน่ายในท้องตลาด โดยส่วนมากมักจะมีปริมาณสารสำคัญที่ไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากผลิตภัณฑ์เหล่านี้ไม่ได้มีการควบคุมคุณภาพเกี่ยวกับวัตถุดิบ ปริมาณสารสำคัญ การทดสอบประสิทธิภาพ และความเป็น

พิษ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีความแตกต่างกันทั้งในเชิงคุณภาพ และปริมาณของสารสกัดบัวบก

วิธีทั่วไปในการหาปริมาณ สารสำคัญในบัวบกจะใช้ วิธี HPLC ด้วยระบบ reversed phase chromatography โดยใช้ mobile phase และ detector แตกต่างกันไป เช่น UV [2, 9] Diode array [10] mass spectrometry [9] และ evaporative light scattering detector [10] และในการกำหนดวิธีหาสารสำคัญของบัวบกใน British Pharmacopoeia ก็ใช้วิธี HPLC เช่นกัน [11] อย่างไรก็ตามการหาปริมาณด้วยเครื่อง HPLC ยังมีข้อจำกัด เนื่องจากราคาเครื่อง และอุปกรณ์ประกอบหรือน้ำยาที่ต้องใช้ TLC เป็นวิธีการวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพเป็นส่วนใหญ่ ใน British Pharmacopoeia เอง การหาปริมาณในเชิง semi-quantitative ก็มีการใช้อยู่ เช่น ในการหาปริมาณ impurity ในยา เช่น การหาปริมาณ chloroacetanilide ใน Paracetamol [12] เป็นต้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาตำรับครีมบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกที่มีความคงตัวทั้งทางด้านกายภาพ และพัฒนาการตรวจวัดแบบง่ายในการหาปริมาณอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติคในครีมที่ผลิตขึ้น โดยวิธี TLC ด้วยตาเปล่า (visual detection) โดยการทำให้เกิดสี เพื่อยืนยันว่าในครีมยังมีสารทั้งสองอยู่ นอกจากนี้ยังได้ประเมินการวัดปริมาณแบบ semi-quantitative ด้วยเครื่อง densitometer เพื่อช่วยดูความสอดคล้องของผลการตรวจวัดด้วยตาเปล่า

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. วัตถุดิบ และสารเคมี

1.1 พืชสมุนไพร

สมุนไพรบัวบก จากอำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา

1.2 สารมาตรฐาน

สารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ และสารมาตรฐานกรดอะเซียติค (Chemical Grade, Sigma)

1.3 ตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ เมทานอล อะซิโตน เฮกเซน คลอโรฟอร์ม กรดซัลฟิวริก กรดเกรเชียลอะซิติก (glacial acetic acid) เป็นชนิด Analytical grade

2. เครื่องมือ

2.1 Densitometer: CAMAG TLC Scanner 3 (CAMAG, Switzerland)

2.2 TLC Software: CATS (CAMAG, Switzerland)

2.3 Gas Chromatograph (HEWLETT® PACKARD HP 6890) with Flame Ionization Detector (FID)

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดบัวบก

นำบัวบกจากอำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา มาล้างน้ำให้สะอาดผึ่งให้แห้งสนิทในที่ร่ม นำมาบดให้เป็นผง แช่ผงบัวบกในเมทานอล โดยใช้ขวดสีชามีฝาปิดสนิท ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน เขย่าขวดทุกวัน จากนั้นจึงกรองสารละลายที่ได้โดยใช้ผ้าขาวบางเอาเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลว (filtrate) มากรองซ้ำอีกครั้งโดยใช้กรวยบุชเนอร์ (Buchner's funnel) จนได้สารละลายใส จากนั้นทำสารสกัดให้เข้มข้นขึ้นโดยนำมาระเหยเอาเมทานอลออกโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 600 มิลลิเมตรปรอท จะได้สารสกัดบัวบก (Centella extract) สีเขียวเข้ม มีลักษณะข้น และเหนียว ทำแห้งด้วย Freeze dryer เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้ตรวจวิเคราะห์หาเมทานอลที่เหลืออยู่ (solvent residue) โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (GC)

โดยสภาวะของ GC-FID ที่ใช้ในการวิเคราะห์เมทานอลที่เหลืออยู่ ได้แก่ Capillary Column: polyethylene glycol (DB-WAX), Column Temperature: 50°C, Injector Temperature: 150°C, Detector Temperature: 150°C, Equilibrium Temperature: 80°C, Equilibrium Time: 8 min, Volume Injected: 1 μl และตรวจวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative analysis) ของอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติคโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟิคเดนซิโตเมตรี

3.2 การพัฒนาสูตรตำรับ

พัฒนาตำรับยาพื้นครีม 3 สูตรตำรับ ซึ่งแสดงรายละเอียดในตารางที่ 1 โดยยาพื้นครีมที่เตรียมได้เป็นชนิด water-in-oil (w/o)

ตารางที่ 1 ตำรับยาพื้นครีมสูตรที่ 1, 2 และ 3

Ingredient	สูตรตำรับยาพื้นครีม (%w/w)		
	1	2	3
Stearic acid	4.00	4.00	4.00
Stearyl alcohol	-	2.00	-
Cetyl alcohol	3.00	3.00	3.00
Light mineral oil	8.00	10.00	5.00
Dimethicone	2.00	-	-
Cetyl octanoate	5.00	-	10.00
Anhydrous lanolin	2.00	-	-
Glyceryl monostearate	-	-	3.00
Isopropyl myrystate	-	2.00	-
Triethnolamine	1.50	1.50	1.50
Glycerin	-	3.00	3.00
2% Carbomer 941	-	10.00	10.00
Propyl paraben	0.05	0.05	0.05
Methyl paraben	0.15	0.15	0.15
Fragrance	q.s.	q.s.	q.s.
Deionized water q.s.	100	100	100

3.3 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับยาพื้นครีม

ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับยาพื้นครีมที่เตรียมได้ทันที และเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยใช้การสังเกตลักษณะภายนอก คุณสมบัติทางกายภาพที่นำมาใช้ประเมิน ได้แก่ ลักษณะเนื้อครีม การแยกชั้น ความติดผิว ความเหนียวเหนอะหนะ ความง่ายในการกระจายบนผิวเมื่อทา และความรู้สึกเมื่อทา จากนั้นคัดเลือกตำรับยาพื้นครีมที่ดีที่สุดนำมาบดผสมกับสารสกัดบัวบกที่เตรียมได้จำนวน 1 กรัม ต่อยาพื้นครีม 99 กรัม จะได้ครีมบัวบก 1% แบ่งบรรจุครีมบัวบกในภาชนะที่เตรียมไว้

3.4 การศึกษาความคงตัวของครีมบัวบก โดยใช้วิธีเร่งแบบ Heating-Cooling Cycle

นำครีมบัวบก 1% ไปเก็บในตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ทำเช่นนี้นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบทั้งหมด 6 รอบ [13] จากนั้นนำครีมบัวบก 1% ที่ผ่านการเก็บที่สภาวะเร่งดังกล่าวแล้วไปทำการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับครีมบัวบก และตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญต่อไป

3.5 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับครีมบัวบก

ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับครีมบัวบกทันทีที่เตรียมได้ และหลังจากผ่านการทดสอบ Heating-Cooling Cycle โดยใช้เกณฑ์การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ลักษณะเนื้อครีม การแยกชั้น ความติดผิว ความเหนียวเหนอะหนะ ความง่ายในการกระจายบนผิวเมื่อทา และความรู้สึกเมื่อทา

3.6 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ

(1) สารละลายมาตรฐานอะเซียติโคไซด์

เตรียมโดยชั่งสารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์อย่างแม่นยำให้ได้น้ำหนัก 1 มิลลิกรัม ใช้เมทานอลปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลายจะได้สารละลายมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้มาเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(2) สารละลายมาตรฐานกรดอะเซียติค

เตรียมโดยชั่งสารมาตรฐานกรดอะเซียติคอย่างแม่นยำให้ได้น้ำหนัก 1 มิลลิกรัม ใช้เมทานอลปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลายได้สารละลายมาตรฐานกรดอะเซียติคที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้มาเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(3) การเตรียมสารละลายของสารสกัดบัวบก

เตรียมโดยชั่งสารสกัดบัวบกให้ได้น้ำหนัก 50 มิลลิกรัม โดยใช้เมทานอลต่อเฮกเซนในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย ผสมด้วย Vortex mixture จนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายของสารสกัดบัวบกที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารละลายของสารสกัดบัวบกจะแยกชั้นกันอยู่ โดยที่ชั้นบนจะเป็นชั้นของเฮกเซน และชั้นล่างจะเป็นชั้นของเมทานอล ดูดสารละลายชั้นล่างมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ

(4) การเตรียมสารละลายของครีมบัวบก 1%

เตรียมโดยชั่งครีมบัวบก 1% ให้ได้น้ำหนัก 200 มิลลิกรัม ใช้เมทานอลต่อเฮกเซนในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย ผสมด้วย Vortex mixture จนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายของครีมบัวบก 1% ที่มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารละลายของครีมบัวบก 1% จะแยกชั้นกันอยู่โดยที่ชั้นบนจะเป็นชั้นของเฮกเซน และชั้นล่างจะเป็นชั้นของเมทานอล ดูดสารละลายชั้นล่างมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ

3.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง

นำสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1% ที่เตรียมได้ไปทำการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (TLC) โดยมีตัวเปรียบเทียบ คือ สารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ และสารมาตรฐานกรดอะเซียติค ซึ่งรายละเอียดของระบบมีดังนี้

1. วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่ใช้ในการวิเคราะห์มี 2 ระบบ

(1) ระบบที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์อะเซียติโคไซด์ ประกอบด้วย

chloroform: glacial acetic acid: methanol: water ในอัตราส่วน 60:32:12:8

(2) ระบบที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์กรดอะเซียติค ประกอบด้วย

chloroform: glacial acetic acid: methanol ในอัตราส่วน 60:2:12

2. วัฏภาคอยู่กับที่ (stationary phase) ที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ แผ่นรงคเลขผิวบางชนิด Aluminum Sheet Silica Gel 60 F_{254}

3. ระบบการตรวจวัด (detection system) ที่ใช้ คือ anisaldehyde-sulfuric acid reagent ใช้ anisaldehyde: glacial acetic acid: methanol: sulfuric acid ในอัตราส่วน 0.5:10:85:5 จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปพ่นให้ทั่วแผ่นรงคเลขผิวบาง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 10 นาที

3.8 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1%

นำแผ่นรงคเลขผิวบางที่ผ่านการแยกองค์ประกอบทางเคมีแล้วไปตรวจวัด Spot density โดยใช้วิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟิคเดนซิโตเมตรี ที่ความยาวคลื่น (l) 400 นาโนเมตร นำค่าพื้นที่พีค (peak area) ของสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1% ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณอะเซียติโคไซด์ และกรดอะเซียติค โดยเทียบกับพื้นที่พีค (peak area) ของสารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ และสารมาตรฐานกรดอะเซียติค

3.9 การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวิธีกราฟมาตรฐาน (calibration curve)

ความเข้มข้นของสารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ที่ใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐานได้แก่ 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 5 ไมโครลิตร 10 ไมโครลิตร และ 20 ไมโครลิตร ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดอะเซียติคที่ใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐานได้แก่ 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 5 ไมโครลิตร และ 20 ไมโครลิตร และ 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 5 ไมโครลิตร ตามลำดับ

จากการพล๊อตระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ และกรดอะเซียติค ที่วิเคราะห์บนแผ่นเดียวกันกับ

สารละลายของสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1% จะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสมการ y = slope(x) + intercept แล้วคำนวณหาปริมาณของสารสำคัญ คือ อะเซียติโคไซด์ และกรดอะเซียติคที่อยู่ในสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1% จากการนำพื้นที่ใต้กราฟของ spot ไปเทียบกับสมการของกราฟมาตรฐาน

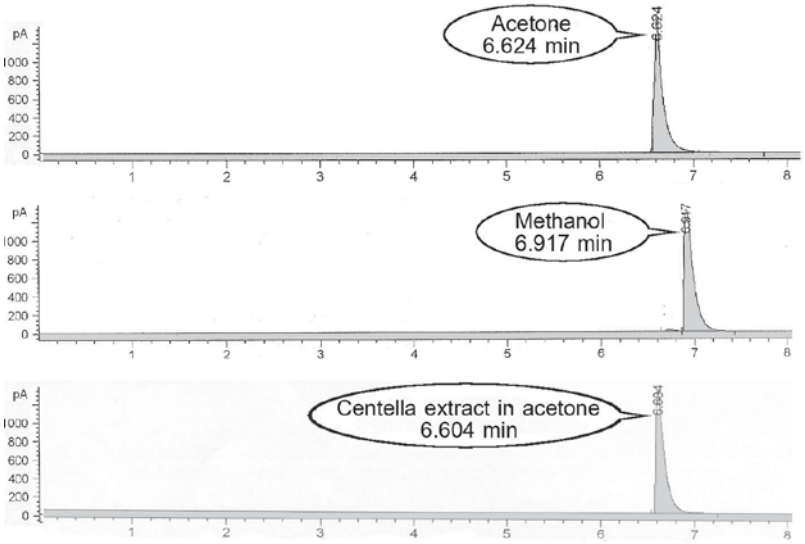
ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสมุนไพรบัวบก

จากการสกัดสมุนไพรบัวบกโดยใช้เมทานอล พบว่าสารสกัดบัวบกที่ได้จะมีสีเขียวเข้มค่อนข้างเหนียว และมีกลิ่นของบัวบกค่อนข้างแรง หลังจากนำไปผ่านกระบวนการทำให้แห้งแล้วพบว่าสารสกัดบัวบกจะจับตัวเป็นก้อนแข็ง แยกสารสกัดออกจากกันได้ยากขึ้น แต่กลิ่นของสารสกัดยังคงเดิม จากการคำนวณพบว่า ร้อยละผลผลิต (%yield) ของการสกัดบัวบกมีค่าเท่ากับ 5.95

2. ผลการตรวจวิเคราะห์เมทานอลตกค้างในสารสกัดบัวบก

จากผลการตรวจวิเคราะห์เมทานอลในสารสกัดบัวบกที่ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายโดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี ตรวจไม่พบเมทานอลตกค้างในสารสกัดบัวบก (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ผลการตรวจสอบเมทานอลตกค้างในสารสกัดบัวบกโดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (GC)

3. ผลการพัฒนาตำรับยาพื้นครีม

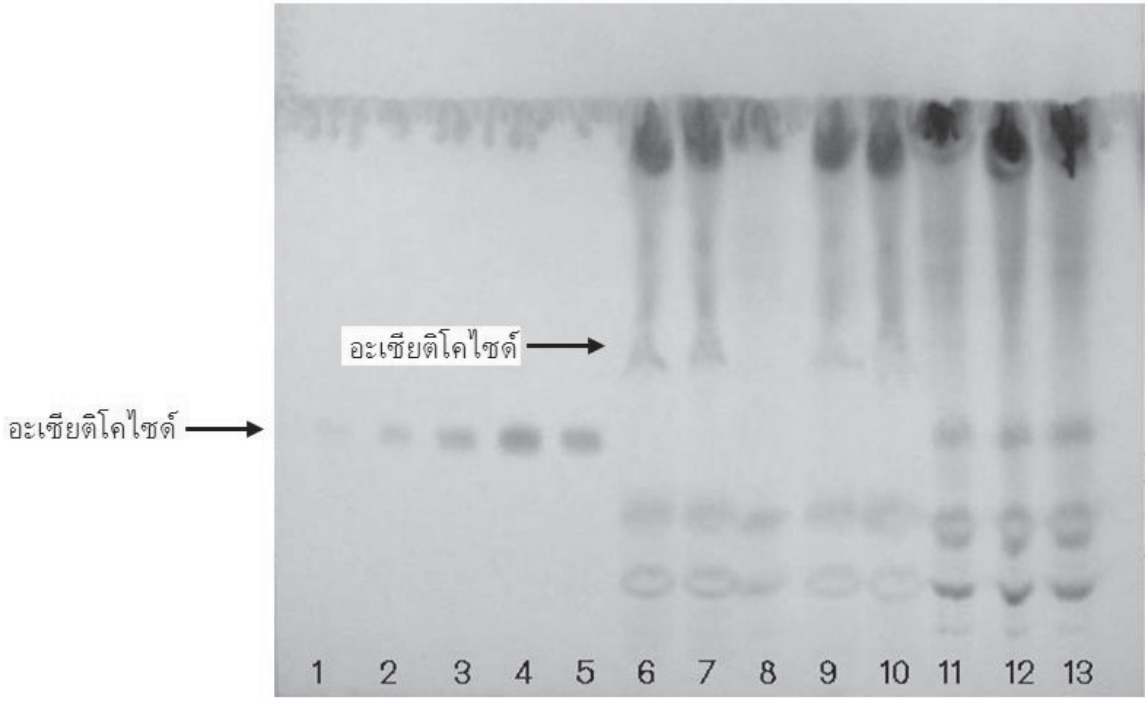
จากการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับยาพื้นครีมทั้ง 3 ตำรับ พบว่ายาพื้นครีมตำรับที่ 3 มีลักษณะที่ดีกว่าตำรับที่ 2 และตำรับที่ 1 ตามลำดับ จึงคัดเลือกยาพื้นครีมตำรับที่ 3 มาใช้ในการพัฒนาตำรับครีมบัวบก 1% ซึ่งได้ประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับครีมบัวบก 1% เปรียบเทียบระหว่างเมื่อเตรียมเสร็จทันทีกับเมื่อผ่าน Heating-Cooling cycle แล้ว ซึ่งแสดงรายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการประเมินตำรับครีมบัวบก 1%

เกณฑ์การประเมิน	สภาวะทดสอบ	
	ทันทีที่เตรียมตำรับเสร็จ	**เร่งผ่าน Heating-Cooling Cycle**
ลักษณะเนื้อครีม	เนื้อครีมเนียนละเอียด ความหนืดพอเหมาะ มีสีเขียว มีกลิ่นหอม	เนื้อครีมเนียนละเอียด ความหนืดลดลง เล็กน้อย มีสีเขียว กลิ่นหอมลดลง
การแยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
ความติดผิว	ติดผิวหนังได้ดี ไม่มีสีเขียวติดผิวหนัง	ติดผิวหนัง ได้ดี ไม่มีสีเขียวติดผิวหนัง
ความเหนียวเหนอะหนะ	ไม่เหนียวเหนอะหนะ	ไม่เหนียวเหนอะหนะ
ความง่ายในการกระจายบนผิวเมื่อทา	แผ่กระจายบนผิวได้ดี	แผ่กระจายบนผิวได้ดี
ความรู้สึกเมื่อทา	ผิวชุ่มชื้น	ผิวชุ่มชื้น

4. ผลการแยกสารโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง

การทดสอบอะเซียติโคไซด์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง ได้แสดงไว้ในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงโครมาโทแกรมของการแยกอะเซียติโคไซด์

Track ที่ 1-5 สารละลายมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ ความเข้มข้น 0.2 mg/ml 5 µl , 10 µl 20 µl , 40 µl และ 2 mg/ml 5 µl ตามลำดับ

Track ที่ 6-7 สารละลายของครีมบัวบก 1% ความเข้มข้น 200 mg/ml 30 µl ที่เติมสารละลายมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ ความเข้มข้น 0.2 mg/ml 5 µl

Track ที่ 8 สารละลายของยาพื้นครีมที่มีความเข้มข้น 200 mg/ml 30 µl

Track ที่ 9-10 สารละลายของครีมบัวบก 1% ความเข้มข้น 200 mg/ml 30 µl

Track ที่ 11-13 สารสกัดบัวบก ความเข้มข้น 50 mg/ml 5 µl

ระบบที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังนี้

Stationary Phase คือ Aluminum Sheet Silica Gel 60 F_{254}

Mobile Phase คือ chloroform: glacial acetic acid: methanol: water (60:32:12:8)

Detector คือ anisaldehyde: glacial acetic acid: methanol: sulfuric acid (0.5:10:85:5)

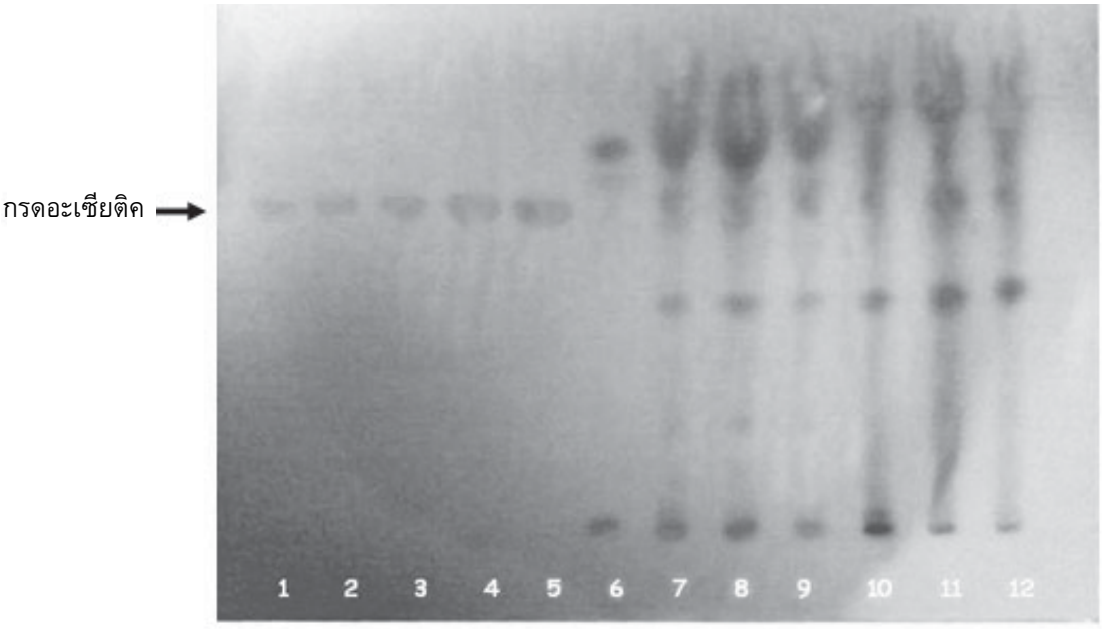
หมายเหตุ: บริเวณที่ลูกศรชี้ คือ แถบสีของอะเซียติโคไซด์

จากโครมาโทแกรมที่ได้ สารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ (track 1-5) และสารสกัดบัวบก (track ที่ 11-13) มี spot สีฟ้าและ R_f เช่นเดียวกับสารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ คือ 0.38-0.40 ส่วนครีมบัวบก 1% ความเข้มข้น 200 mg/ml 30 µl (track ที่ 9-10) และครีมบัวบกที่เติมสารละลายมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ (standard addition) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml จำนวน 5 µl (track ที่ 6-7) พบว่ามี spot สีฟ้าและ ค่า R_f ของอะเซียติโคไซด์ใน track ทั้งสี่ มี R_f = 0.50 ซึ่งสูงกว่าของสารละลายมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ (track 1-5) แสดงให้เห็นว่า ตำรับครีมมีผลต่อการเคลื่อนที่ของอะเซียติโคไซด์

จากการ plot graph มาตรฐานของอะเซียติโคไซด์ได้ค่า intercept เท่ากับ -0.56, slope เท่ากับ 1822.857 และ r^2= 0.9846 และจากการประเมินปริมาณอะเซียติโคไซด์ โดยการทำ extrapolation จาก linear equation ของกราฟมาตรฐานพบว่าได้ปริมาณอะเซียติโคไซด์ 7.68 $\pm$ 0.01 mg% (ดูตารางที่ 5) และจากการที่พบว่าด้วยวิธีการแยกด้วยระบบวิธีโครมาโทกราฟีแบบชั้นบางนี้มี spot ที่ทำปฏิกิริยากับ detection reagent และมีสีฟ้าเช่นเดียวกับอะเซียติโคไซด์ แสดงให้เห็นความจำเพาะเจาะจง (specificity) ของวิธี และตรงกับสารมาตรฐานที่ใส่ลงในครีม เป็นการพิสูจน์ว่าอะเซียติโคไซด์ยังมีอยู่ในครีมและไม่เสื่อมสลายไปหลังจากการทำ heating-cooling cycle การทดสอบนี้ถือเป็น preliminary check เพื่อใช้ในการหายาพื้นครีม (cream base) ที่เหมาะสมสำหรับสารสกัดเท่านั้น โดยยังไม่ได้มีการ validate วิธีการวิเคราะห์

ส่วนภาพที่ 3 เป็นโครมาโทแกรมของกรดอะเซียติค ในระบบวิธีโครมาโทกราฟีแบบชั้นบางนี้สามารถแยกกรดอะเซียติค ออกมาอย่างชัดเจน และทำปฏิกิริยากับ detection reagent ได้สีม่วง ซึ่งก็เป็นข้อดีของวิธีที่มี specificity ต่อกรดอะเซียติค

สำหรับการประเมินปริมาณกรดอะเซียติคจากการพลอตกราฟ มาตรฐานของกรดอะเซียติคได้ค่า intercept เท่ากับ -0.6255, slope เท่ากับ 689.76 และ r^2= 0.9887 โดยการทำ interpolation จาก linear equation ของกราฟมาตรฐานพบว่าได้ปริมาณกรดอะเซียติค 33.24 $\pm$ 0.01 mg% (ดูตารางที่ 5)



ภาพที่ 3 แสดงโครมาโทแกรมของการแยกกรดอะเซียติค

Track ที่ 1-5 สารละลายมาตรฐานกรดอะเซียติคความเข้มข้น 0.2 mg/ml 5 µl,10 µl/, 20 µl, 40 µl และ 2 mg/ml 5 ตl ตามลำดับ

Track ที่ 6 สารละลายของยาพื้นครีมที่มีความเข้มข้น 200 mg/ml 30 µl ที่เติมสารละลายมาตรฐานกรดอะเซียติคความเข้มข้น 0.2 mg/ml 5 µl

Track ที่ 7-9 สารละลายของครีมบัวบก 1% ความเข้มข้น 200 mg/ml 30 µl

Track ที่ 10-12 สารละลายสารสกัดบัวบกความเข้มข้น 10 mg/ml 5 µl

ระบบที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังนี้

Stationary Phase คือ Aluminum Sheet Silica Gel 60 F_{254}

Mobile Phase คือ chloroform: glacial acetic acid: methanol (60:2:12)

Detector คือ anisaldehyde: glacial acetic acid: methanol: sulfuric acid (0.5:10:85:5)

หมายเหตุ: บริเวณที่ลูกศรชี้ คือ แถบสีของกรดอะเซียติค

ตารางที่ 3 และตารางที่ 4 แสดงค่า R_f และพื้นที่ใต้กราฟในการวิเคราะห์อะเซียติโคไซด์ และกรดอะเซียติคตามลำดับ

ตารางที่ 3 แสดงค่า R_f และพื้นที่ใต้กราฟในการวิเคราะห์อะเซียติโคไซด์

สารละลาย	ความเข้มข้น (mg/ml)	ปริมาณ (µl)	R_f	พื้นที่ใต้กราฟ (cm^2)
สารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์	0.2	5	0.40	1.00
สารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์	0.2	10	0.39	3.48
สารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์	0.2	20	0.38	6.60
สารอะเซียติโคไซด์ในครีมบัวบก 1%	200	30	0.50	0.28
สารอะเซียติโคไซด์ในสารสกัดบัวบก	50	5	0.38	1.75

ตารางที่ 4 แสดงค่า R_f และพื้นที่ใต้กราฟในการวิเคราะห์กรดอะเซียติค

สารละลาย	ความเข้มข้น (mg/ml)	ปริมาณ (µl)	R_f	พื้นที่ใต้กราฟ (cm^2)
สารมาตรฐานกรดอะเซียติค	0.2	5	0.65	0.32
สารมาตรฐานกรดอะเซียติค	0.2	20	0.65	1.75
สารมาตรฐานกรดอะเซียติค	2	5	0.65	6.40
กรดอะเซียติคในครีมบัวบก 1%	200	30	0.64	0.75
กรดอะเซียติคในสารสกัดบัวบก	10	5	0.64	1.56

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณอะเซียติโคไซด์ และกรดอะเซียติคในสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1%

ปริมาณฉลี่ยสารสำคัญ (mg%)	สารสกัดบัวบก*	ครีมบัวบก** 1%
อะเซียติโคไซด์	506.88 $\pm$ 0.01	7.68 $\pm$ 0.01
กรดอะเซียติค	6336.90 $\pm$ 0.01	33.24 $\pm$ 0.01

* n=3 ตัวอย่างที่ใช้ คือ สารสกัดบัวบกซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C

** n=2 ตัวอย่างที่ใช้ คือ ครีมบัวบก 1% หลังจากผ่าน Heating-Cooling Cycle แล้ว

สรุปผลและอภิปรายผล

ในการสกัดสมุนไพรบัวบก ทำโดยการหมักผงสมุนไพรบัวบกโดยใช้เมทานอล และนำไประเหยเมทานอลออกโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ จะได้สารสกัดหยาบของบัวบกที่มีลักษณะเป็นของเหลวข้นหนืด สีเขียวเข้ม มีกลิ่นฉุนของบัวบกค่อนข้างแรง เมื่อนำไปผ่านกระบวนการ Freeze Drying พบว่าสารสกัดหยาบของบัวบกในส่วนที่เป็นของเหลวจะระเหยออกไป ได้สารสกัดที่มีลักษณะแห้ง และเหนียวมากยิ่งขึ้น ยังคงมีสีเขียวเหมือนเดิม แต่กลิ่นฉุนของบัวบกลดลงเล็กน้อย นำสารสกัดที่ได้ไปตรวจหาปริมาณเมทานอลที่อาจเหลืออยู่ก่อนนำไปเตรียมครีม เพื่อความปลอดภัยในการใช้ จากนั้นนำสารสกัดบัวบกที่ได้ไปเก็บไว้ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท และนำไปเก็บไว้ในโถเก็บความชื้น เพื่อป้องกันการดูดความชื้นจากบรรยากาศ ซึ่งจะมีผลทำให้สารสกัดเยิ้มเหลวได้

ในการพัฒนาตำรับยาพื้นครีม ได้ทำการตั้งตำรับสูตรยาพื้นครีมจำนวน 3 ตำรับ และประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ เพื่อทำการคัดเลือกตำรับยาพื้นครีมที่มีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี เพื่อจะนำไปผสมกับสารสกัดบัวบกเป็นลำดับต่อไป จากผลการทดลองพบว่า ตำรับยาพื้นครีมทั้ง 3 ตำรับ มีความคงตัวดี และมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี คือ มีการกระจายตัวบนผิวหนังเมื่อทา และให้ความรู้สึกชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง แต่เนื่องจากยาพื้นครีมตำรับที่ 1 มีลักษณะค่อนข้างเหลว และมีสีขาวขุ่น ส่วนยาพื้นครีมตำรับที่ 2 มีลักษณะค่อนข้างหนืด และเนื้อครีมเนียนละเอียดน้อยกว่าตำรับที่ 3 จึงคัดเลือกตำรับยาพื้นครีมตำรับที่ 3 ซึ่งเป็นตำรับที่มีลักษณะทางกายภาพดีที่สุดมาใช้ในการพัฒนาตำรับครีมบัวบก

การศึกษาเกี่ยวกับครีมบัวบกในประเทศไทยในช่วงที่ผ่านมา ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการหายของแผลแยกจากการผ่าตัด และแผลอักเสบโดยการใช้ครีมบัวบก 1% [7] และการใช้ครีมบัวบก 1% รักษาแผลเรื้อรังในผู้ป่วยจากภาควิชาศัลยศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ และผู้ป่วยจากตึกอุบัติเหตุของโรงพยาบาลศิริราช [8] ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้พัฒนาตำรับครีมบัวบกโดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดบัวบก 1% จากผลการพัฒนาตำรับครีมบัวบก 1% พบว่าครีมบัวบก 1% ที่ได้มีลักษณะเนื้อครีมที่เนียนละเอียด มีความคงตัวดี มีสีเขียวเข้มซึ่งเกิดจากสีของสารสกัดบัวบก ส่วนความหนืดของครีมบัวบกลดลงเล็กน้อย เป็นผลมาจากเวลาและแรงที่ใช้ในการบดผสมระหว่างยาพื้นครีมและสารสกัดบัวบกที่มีลักษณะค่อนข้างเหนียว เนื่องจากสารสกัดบัวบกมีกลิ่นค่อนข้างแรงจึงทำการกลบกลิ่นด้วยน้ำหอม เพื่อทำให้ตำรับครีมมีความน่าใช้มากยิ่งขึ้น เมื่อนำตำรับครีมบัวบก 1% ไปผ่านการทดสอบในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ทำเช่นนี้นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบทั้งหมด 6 รอบ พบว่าตำรับครีมบัวบก 1% มีความคงตัวดี เนื้อครีมเนียนละเอียด ส่วนความหนืด สี และกลิ่นของตำรับครีมบัวบก 1% ลดลงเล็กน้อย ในส่วนของเนื้อครีมที่มีสีเขียวเข้ม เกิดจากสีของสารสกัดบัวบก แต่เมื่อนำมาทาผิวหนัง พบว่าไม่มีสีเขียวของครีมบัวบกติดที่ผิวหนัง

ในการสกัดสารสำคัญจากบัวบกเลือกใช้เมทานอล และเฮกเซน ในอัตราส่วน 1:1 เป็นตัวทำละลาย เนื่องจากเมทานอลสามารถสกัดสารสำคัญ คือ อะเซียติโคไซด์ และกรดอะเซียติคได้ดี ส่วนเฮกเซนจะช่วยสกัดสีเขียวออกไป เนื่องจากส่วนที่เป็นสีเขียวของบัวบกไปรบกวนการแยกสารบนแผ่น

รงคเลขผิวบาง ดังนั้นการสกัดส่วนที่เป็นสีเขียวออกไปจึงมีส่วนช่วยให้การแยกสารบนแผ่นรงคเลขผิวบางมีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น

เมื่อนำสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1% ไปตรวจสอบองค์ประกอบเบื้องต้นด้วยวิธีโครมาโกราฟีแบบชั้นบาง (TLC) สารมาตรฐานที่ใช้ในการเปรียบเทียบคือ สารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ และสารมาตรฐานกรดอะเซียติค ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการแยกสารได้แก่ การเลือกใช้ตัวทำละลายและการเลือกใช้สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร

สภาวะที่เหมาะสมในการแยกอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติค ประกอบด้วย เฟสนิ่ง คือ แผ่นรงคเลขผิวบางชนิด Silica Gel 60 F_{254} precoated plate ระบบของเฟสเคลื่อนที่ที่มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์อะเซียติโคไซด์ คือ chloroform: glacial acetic acid: methanol: water ในอัตราส่วน 60:32:12:8 ระบบของเฟสเคลื่อนที่ที่มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์กรดอะเซียติค คือ chloroform: glacial acetic acid: methanol ในอัตราส่วน 60:2:12 ในขั้นตอนการตรวจสอบใช้ตัวตรวจวัด คือ anisaldehyde-sulfuric acid reagent จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที พบว่าสารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์มีค่า R_f อยู่ในช่วง 0.38 ถึง 0.40 และสารมาตรฐานกรดอะเซียติคมีค่า R_f อยู่ในช่วง 0.64 ถึง 0.65 ซึ่งระบบ TLC ที่ใช้สามารถแยกอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติคและยังให้ spot ที่มีสีแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามหากสามารถแยกสารทั้งสองโดยระบบเดียวกันได้จะเป็นการลดเวลาค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์เป็นอย่างยิ่ง

ในการหาปริมาณสารอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติคนั้นได้ใช้วิธี TLC และตรวจวัดด้วยการพ่นสารละลาย anisaldehyde-sulfuric acid เพื่อให้ทำปฏิกิริยากับอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติคซึ่งเป็นไตรเทอปีนส์ได้สีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและความเข้มแตกต่างกันไปตามปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ และเพื่อยืนยันถึงปริมาณที่มีอยู่แบบ semi-quantitative จึงได้ใช้เครื่อง densitometer ประกอบการประเมินซึ่งเป็นการช่วยยืนยันผลเพิ่มเติมจากการเปรียบเทียบความเข้มของสีด้วยตาเปล่าเพียงอย่างเดียว ดังนั้นผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีการ semi-quantitative ดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตในสถานที่ที่ไม่มีเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ เช่น ในโรงพยาบาลขนาดเล็ก

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญโดยการตรวจวัด spot density โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟิคเดนซิโตเมตรี ที่ความยาวคลื่น (λ) 400 นาโนเมตร โดยการนำค่า peak area ของสารสกัดบัวบก และครีมบัวบก 1% ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติคโดยใช้กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของปริมาณสารมาตรฐานอะเซียติโคไซด์ และปริมาณสารมาตรฐานกรดอะเซียติค กับพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้วิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟิคเดนซิโตเมตรี พบว่าในสารสกัดบัวบกตรวจพบปริมาณอะเซียติโคไซด์ 506.88 mg% และกรดอะเซียติค 6336.90 mg% ส่วนในตำรับครีมบัวบก 1% ตรวจพบปริมาณอะเซียติโคไซด์ 7.68 mg% และกรดอะเซียติค 33.24 mg% ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าอะเซียติโคไซด์ในยาพื้นครีม (cream base) ที่พัฒนาขึ้นนี้ไม่สลายตัวในสภาวะเร่งที่ใช้ทดสอบ ซึ่งโดยปกติแล้วอะเซียติโคไซด์จะสลายตัวเป็นกรดอะเซียติคได้ง่าย จากข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติค มีสรรพคุณในการสมานแผลและลดอาการอักเสบของแผลเป็นที่มีการเจริญเติบโตผิดปกติรวมทั้งแผลเป็นชนิดนูน [4]

จึงมีความเป็นไปได้ว่าตำรับครีมบัวบก 1% ที่เตรียมได้จะมีประสิทธิภาพในการรักษาแผลเป็นได้

การทดลองนี้เป็นการประเมินค่าความคงตัวของอะเซียติโคไซด์แบบง่ายโดยวิธี TLC และตรวจวัดด้วยตาเปล่า ที่สะดวกและประหยัด เหมาะสำหรับการประเมินคุณภาพครีมในเชิง qualitative

การทดสอบหาปริมาณสารสำคัญในงานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณ (Semi-quantitative analysis) ซึ่งสามารถนำข้อมูลดังกล่าวไปต่อยอดเพื่อพัฒนาการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อหาการวิเคราะห์เชิงปริมาณสารสำคัญในบัวบกที่มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น รวมทั้งการทำ % recovery และ validation ของวิธีวิเคราะห์

อะเซียติโคไซด์สามารถสลายตัวได้ง่ายไปเป็นกรดอะเซียติคในสภาวะที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ซึ่งในตำรับครีมบัวบกเองก็มีน้ำเป็นองค์ประกอบด้วย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาความคงตัวในระยะยาว (Long term stability) ของผลิตภัณฑ์ด้วย นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการสมานแผล และลดการอักเสบของแผลก็เป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่งในการทดสอบประสิทธิภาพของครีมบัวบกในทางคลินิกเพื่อให้สามารถนำมาใช้ได้จริงในมนุษย์ และควรมีการพัฒนาตำรับครีมบัวบกให้มีปริมาณสารสำคัญที่เหมาะสมเป็นมาตรฐานเดียวกัน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ เครือข่ายการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ “สมุนไพรครบวงจรร้อยแก่นสาร” ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] นันทวัน บุญยะประภัศร. (2532). *ก้าวไปกับสมุนไพร เล่ม 1*. กรุงเทพฯ: ธรรมกมลการพิมพ์.

[2] Inamdar, P.K.; Yeole, R.D.; Ghogare, A.B.; de Souza, N.J. (1996). Determination of biologically active constituents in *Centella asiatica*, *Journal of Chromatography A*, 742: 127-130.

[3] Bonte, F.; Dumas, M.; Chaudagne, C.; Meybeck, A. (1994). Influence of asiatic acid, madecassic acid, and asiaticoside on human collagen I synthesis, *Planta Med*, 60(2): 133-135.

[4] Shukla, A.; Rasik, A.M.; & Dhawan, B.N. (1999). Asiaticoside induced elevation of antioxidant levels in healing wounds, *Phytother Res,* 13(1): 50-54.

[5] สร้อยศิริ ทวีบูรณ์; บุญนิตย์ ทวีบูรณ์; และ วรานันท์ บัวจีบ. (2544). ผลของสารสกัดบัวบกต่อการยับยั้งแคนดิดา และการนำไปใช้รักษาแคนดิดาในช่องปาก. *วารสารทันตมหิดล*. 21: 53-60.

[6] บุญเจือ ธรณินทร์; และคนอื่นๆ. (2527). การศึกษาฤทธิ์ต่อผิวหนังหนูตะเภาของครีมกลัยโคไซด์ของใบบัวบก, *สารศิริราช.* 36(11): 721-724.

[7] วีระสิงห์ เมืองมั่น. (2527). การใช้สมุนไพรในโรคระบบทางเดินปัสสาวะ, *วารสารยูโร*. 8: 7-12.

[8] ศิริรัตน์ โกศัลยวัฒน์; จันทรา ชัยพานิช; และ เกษียร ภังคนนท์. (2531). การใช้ครีมใบบัวบก 1% รักษาแผลเรื้อรัง, *สารศิริราช.* 40(6): 455-461.

[9] Rafamantanana, M.H.; Rozet, E.; Raoelison, G.E.; Cheuk, K.; Ratsimamanga, S.U.; Hubert, Ph.; Quetin-Leclercq, J. (2009). An improved HPLC-UV method for the simultaneous quantification of triterpenic glycosides and aglycones in leaves of *Centella asiatica* (L.) Urb (APIACEAE), *Journal of Chromatography B*, 877: 2396-2402.

[10] Devkota, A.; Dall' Acqua, S.; Comai, S.; Innocenti, G.; Kumar Jha, P. (2010). *Centella asiatica* (L.) urban from Nepal: Quali-quantitative analysis of samples from several sites, and selection of high terpene containing populations for cultivation, *Biochemical Systematics and Ecology*, 38:12-22.

[11] Department of Public Health, the United Kingdom. (2009). *British Pharmacopoeia.* Volume III. London, the Stationery Office. pp. 3389-3390, A657.

[12] Department of Public Health, the United Kingdom. (1998). *British Pharmacopoeia.* Volume I. London, the Stationery Office. pp. 994-995.

[13] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. แนวทางการพัฒนาเภสัชภัณฑ์รูปแบบกึ่งแข็ง (Product Development Recommendations for Semisolid Dosage Forms), from: http://www.app1.fda.moph.go.th/drug/zone_gmp/files/semisolid_dosageforms_validation2.pdf 2007