



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การเตรียมและการประเมินยาอมและยาน้ำอิลิคเซอร์ที่มีส่วนประกอบ
ของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้า

Preparation and evaluation of hard candy lozenges and oral liquid
elixirs containing volatile oil from *Clausena harmandiana* (Pierre)
Pierre ex Guillaumin leaves extract

โดย

- | | | |
|------------------|------------|--------------------|
| 1. นสภ. เกวลี | ทับทิมทอง | รหัสสถิติ 59210007 |
| 2. นสภ. คุณานนท์ | พิมลลิขิต | รหัสสถิติ 59210008 |
| 3. นสภ. ลภัส | บำรุงเมือง | รหัสสถิติ 59210128 |

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การเตรียมและการประเมินยาอมและยาน้ำอิลิคเซอร์ที่มีส่วนประกอบ
ของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้า

Preparation and evaluation of hard candy lozenges and oral liquid
elixirs containing volatile oil from *Clausena harmandiana* (Pierre)
Pierre ex Guillaumin leaves extract

โดย

- | | | |
|------------------|------------|--------------------|
| 1. นสภ. เกวลี | ทัพบิมทอง | รหัสสถิติ 59210007 |
| 2. นสภ. คุณานนต์ | พิมลลิขิต | รหัสสถิติ 59210008 |
| 3. นสภ. ลภัส | บำรุงเมือง | รหัสสถิติ 59210128 |

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

จากอุบัติการณ์การเกิดโรคหวัดโดยเฉลี่ยแล้ว ผู้ใหญ่จะเป็นหวัดได้ 4-6 ครั้งต่อปี ในขณะที่เด็กเป็นหวัดได้ถึง 6-8 ครั้งต่อปี ซึ่งโรคนี้สามารถเกิดขึ้นได้ตลอดทั้งปี มักจะพบมากในช่วงฤดูฝน ฤดูหนาว หรือในช่วงที่มีอากาศเปลี่ยนแปลงบ่อย โดยหนึ่งในอาการของโรคหวัด นั่นคือ การมีเสมหะ ซึ่งจะทำให้สร้างความรำคาญ และทำให้หายใจลำบากมากขึ้น ซึ่งยาแผนปัจจุบันที่ใช้มักมีอาการข้างเคียงคือ ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ระคายเคืองกระเพาะอาหาร ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่มาจากสมุนไพรจึงกลับมามีบทบาท ได้รับความนิยมและยอมรับมากขึ้น เนื่องจากสมุนไพรมีผลข้างเคียงหรืออันตรายน้อยกว่า และราคาถูกกว่ายาแผนปัจจุบัน การศึกษาวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการนำสมุนไพรท้องถิ่นในประเทศไทยมาพัฒนาเป็นตำรับเพื่อใช้ประโยชน์สำหรับเป็นทางเลือกในการรักษา คณะผู้วิจัยทำการเลือกสมุนไพรกลุ่มที่มีน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีฤทธิ์ละลายเสมหะมาพัฒนาเป็นตำรับยาน้ำอิลิเคเซอร์และยาอมได้แก่ ใบสอ่งฟ้า (*Clausena harmandiana* (Pierre) Pierre ex Guillaumin) ซึ่งมีสารสำคัญคือ anethole ทดสอบฤทธิ์การละลายเสมหะ และฤทธิ์การต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลชีพ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ซึ่งจากการศึกษาพบว่า anethole มีฤทธิ์ในการละลายเสมหะและฤทธิ์ต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลชีพได้ดีและสามารถนำมาตั้งตำรับเป็นยาน้ำอิลิเคเซอร์ และยาอมได้ โดยคณะผู้จัดทำหวังว่างานวิจัยชิ้นนี้จะเป็นประโยชน์และสามารถนำไปต่อยอดงานด้านอื่นต่อไปในอนาคตได้

คณะผู้จัดทำ

นสภ.เกวลี ทับทิมทอง รหัสนิสิต 59210007

นสภ.คุณานนต์ พิมลลิขิต รหัสนิสิต 59210008

นสภ.ลภัส บำรุงเมือง รหัสนิสิต 59210128

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2563

เรื่อง การเตรียมและการประเมินยาอมและยาน้ำอิลิเคเซอร์ที่มีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้า

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | | |
|-------------------|------------|--------------------|
| 1. นสภ. เกวลี | ทับทิมทอง | รหัสனிสิต 59210007 |
| 2. นสภ. คุณานันต์ | พิมลลิขิต | รหัสனிสิต 59210008 |
| 3. นสภ. ลภัส | บำรุงเมือง | รหัสனிสิต 59210128 |

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | |
|--------------------|-----------|
| 1. ภก.ดร. วัชรพงษ์ | แจ่มสว่าง |
| 2. ผศ.ดร.ณิชกานต์ | ภีระคำ |
| 3. ภญ.ดร.พทุธิพร | คงแก้ว |

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การละลายเสมหะและฤทธิ์ด้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นในประเทศไทย ได้แก่ ใบสอ่งฟ้า (*Clausena harmandiana* (Pierre) Pierre ex Guillaumin) โดยมีสารสำคัญคือ anethole ซึ่งการศึกษาฤทธิ์การละลายเสมหะทำโดยวัดความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไปของเสมหะเทียมเมื่อผสมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้าทั้งหมด 4 ความเข้มข้น คือ 100, 250, 500 และ 750 μl พบว่าสามารถลดความหนืดของเสมหะเทียมได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 250 μl นอกจากนี้ฤทธิ์ละลายเสมหะยังเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับสารสกัดชะเอมเทศ และการศึกษาการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* โดยการกระจายเชื้อจุลินทรีย์ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่ผสมกับน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด 5 เข้มข้น คือ 0.4, 0.8, 1.7, 9 และ 17.5 $\mu\text{l/ml}$ พบว่าฤทธิ์การต้านการเกาะเยื่อเมือกจะเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้า จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้ามาพัฒนาเป็นตำรับยาน้ำอิลิเคเซอร์ และตำรับยาอม เมื่อทดสอบความคงสภาพแบบเร่งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75% ในวันที่ 0, 30, 60 และ 90 พบว่าตำรับยาอมมีความคงตัวมากกว่าตำรับยาน้ำอิลิเคเซอร์

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก.....

Senior Project Academic Year 2020

: Preparation and evaluation of hard candy lozenges and oral liquid elixirs containing volatile oil from *Clausena harmandiana* (Pierre) Pierre ex Guillaumin leaves extract

By 1. Miss Kelwalee Tubthimthong ID 59210007
 2. Mr. Kunanont Pimonlikhit ID 59210008
 3. Mr. Lapat bumrungmueang ID 59210128

Advisor:

1. Dr. Watcharaphong Chaemsawang
 2. Dr. Nichakan Peerakam
 3. Dr. Putthiporn Khongkaew

ABSTRACT

The objective of this study was to examine the mucolytic and antiadhesive activities of essential oils from local Thai medicinal plant; *Clausena harmandiana* (Pierre) Pierre ex Guillaumin leaves, which the active ingredient is anethole. The mucolytic activity was tested by measuring the viscosity of porcine mucin when combined with four concentrations of essential oil: 100, 250, 500 and 750 µl, respectively. Among all concentrations, the results found that the concentration of 250 µl was the best concentration that could decrease the porcine mucin's viscosity. Moreover, the mucolytic effect increased when combined with *Glycyrrhiza glabra* extract. The antiadhesive activity of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* was tested by spreading the microorganism on plates with the mixture of the essential oils (five concentrations: 0.4, 0.8, 1.7, 9, and 17.5 µl/ml, respectively) and tryptic soy broth agar. The results found that the higher concentration had higher antiadhesive activity. After that, the essential oils were developed as a formulation of an elixir and hard candy lozenges. Stability tests were collected at 4 and 40 degrees Celsius (75% relative humidity) on days 0, 30, 60 and 90, respectively. The hard candy lozenges were more stable than the elixirs.

Major advisor.....

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ภก.ดร.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง ผศ.ดร.นิชกานต์ ภิระคำ และ ภญ.ดร.พุทธิพร คงแก้ว เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยที่คอยให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะตลอดระยะเวลาการทำโครงการวิจัยครั้งนี้จึงขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง

ผู้จัดทำโครงการวิจัยขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนในการวิจัยและเอื้อเฟื้อสถานที่เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำโครงการวิจัยและขอขอบพระคุณพี่นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ได้ช่วยเหลืออำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาการทำวิจัยจนทำให้ท่านวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

นสภ.เกวลี ทับทิมทอง รหัสนิสิต 59210007

นสภ.คุณานนต์ พิมลลิขิต รหัสนิสิต 59210008

นสภ.ลภัส บำรุงเมือง รหัสนิสิต 59210128

23 มีนาคม พ.ศ.2564

สารบัญ

หัวข้อ	หน้า
คำนำ.....	๒
บทคัดย่อ.....	๓
ABSTRACT.....	๔
กิตติกรรมประกาศ.....	๕
สารบัญ.....	๖
สารบัญตาราง.....	๗
สารบัญรูปภาพ.....	๘
บทที่ 1.....	1
- ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
- วัตถุประสงค์.....	2
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
- กรอบแนวคิด.....	3
บทที่ 2.....	4
- พืชสมุนไพรที่มีการนำมาใช้สำหรับแก้ไอ ขับเสมหะ และละลายเสมหะ.....	4
- ต้นสอ่งฟ้า และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับต้นสอ่งฟ้า.....	7
- การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารโดยวิธี Gas Chromatography.....	7
- คุณสมบัติและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ Anethole.....	9
- กลไกการเกิดเสมหะและการกำจัดเสมหะ.....	12
- การติดเชื้ทางเดินหายใจ.....	13
- เชื้อจุลชีพที่ก่อโรคทางเดินหายใจ.....	15
- รูปแบบเภสัชภัณฑ์.....	19

บทที่ 3.....	23
- พืช.....	23
- น้ำมันหอมระเหย.....	23
- เชื้อจุลินทรีย์.....	23
- วัสดุอุปกรณ์.....	23
- สารเคมี.....	25
- ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	25
บทที่ 4.....	30
- การเตรียมสารสกัดจากชะเอมเทศ.....	30
- การทดสอบเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยด้วย Gas Chromatography.....	30
- การทดสอบเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี Thin Layer Chromatography.....	31
- การสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน anethole.....	32
- การหาค่า limits of detection (LODs) และ limits of quantitation (LOQs).....	33
- การวิเคราะห์ปริมาณ anethole ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า.....	35
- การทำ specificity.....	35
- การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าในการละลายเสมหะ.....	38
- การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าในการต้านการเกาะเยื่อเมือก.....	41
- การเตรียมตำรับยาน้ำอิลิซเซอร์.....	44
- การเตรียมตำรับยาอม.....	47
- การทดสอบความคงสภาพแบบเร่ง.....	50
บทที่ 5.....	52
บรรณานุกรม.....	55
ภาคผนวก.....	62

สารบัญตาราง

หัวข้อ	หน้า
ตารางที่ 1 สภาวะในการทดลองในงานวิจัยของ Navdeep Saini, G. K. Singh.....	10
ตารางที่ 2 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในการติดเชื้อทางเดินหายใจ.....	14
ตารางที่ 3 สภาวะในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography.....	26
ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของสารในการทำ Specificity.....	27
ตารางที่ 5 ผลการสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน anethole.....	32
ตารางที่ 6 วิเคราะห์ปริมาณ anethole ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า.....	35
ตารางที่ 7 ผลการทำ specificity.....	36
ตารางที่ 8 ผลการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าในการละลายเสมหะ.....	39
ตารางที่ 9 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเกาะเยื่อเมือก ของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>	41
ตารางที่ 10 ผลการบ่มเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ลงในหลอดทดลอง ของ plate ที่เชื้อไม่ขึ้น.....	41
ตารางที่ 11 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อ Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	43
ตารางที่ 12 สูตรตำรับยาน้ำอิลิคเซอร์.....	44
ตารางที่ 13 ลักษณะตำรับยาน้ำอิลิคเซอร์.....	45
ตารางที่ 14 สูตรตำรับยาอม.....	46
ตารางที่ 15 ความกร่อนของเม็ดยา.....	48
ตารางที่ 16 ความกร่อนของเม็ดยา.....	48
ตารางที่ 17 ความแปรปรวนของน้ำหนักยา.....	49
ตารางที่ 18 การทดสอบความคงสภาพแบบเร่งของสูตรตำรับยาอม.....	49
ตารางที่ 19 การทดสอบความคงสภาพแบบเร่งของสูตรตำรับยาน้ำอิลิคเซอร์.....	50

สารบัญรูปภาพ

หัวข้อ	หน้า
รูปที่ 1 กรอบแนวคิด.....	3
รูปที่ 2 ต้นส่่งฟ้า.....	7
รูปที่ 3 โครงสร้างสาร anethole.....	9
รูปที่ 4 ผลในการทดลองในงานวิจัยของ Navdeep Saini, G. K. Singh.....	10
รูปที่ 5 ผงละเอียดของรากชะเอมเทศ.....	30
รูปที่ 6 สารสกัดที่ได้จากรากชะเอมเทศ.....	30
รูปที่ 7 กราฟสารมาตรฐาน anethole ที่วัดด้วยเครื่อง GC.....	30
รูปที่ 8 กราฟน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้า ที่วัดด้วยเครื่อง GC.....	31
รูปที่ 9 การทดสอบเอกลักษณ์ด้วย TLC.....	31
รูปที่ 10 กราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน anethole.....	33
รูปที่ 11 Limits of detection (LODs).....	33
รูปที่ 12 Limits of quantitation (LOQs).....	34
รูปที่ 13 ผลการทำ specificity ของสารมาตรฐาน anethole.....	36
รูปที่ 14 ผลการทำ specificity ของส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอิลิคเซอร์ผสมสารมาตรฐาน anethole.....	37
รูปที่ 15 ผลการทำ specificity ของส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอิลิคเซอร์.....	37
รูปที่ 16 ผลการทำ specificity ส่วนประกอบสูตรตำรับยาอมผสมสารมาตรฐาน anethole.....	37
รูปที่ 17 ผลการทำ specificity ส่วนประกอบสูตรตำรับยาอม.....	38
รูปที่ 18 กราฟแท่งแสดงฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้าในการละลายเสมหะ.....	40
รูปที่ 19 ลักษณะยาน้ำอิลิคเซอร์ตำรับที่ 3.....	45
รูปที่ 20 ลักษณะยาน้ำอิลิคเซอร์ตำรับที่ 4.....	45
รูปที่ 21 ลักษณะยาน้ำอิลิคเซอร์ตำรับที่ 5.....	45

รูปที่ 22 ลักษณะยาน้ำอิลิคเซอ์ดำรับที่ 6.....	45
รูปที่ 23 ลักษณะยามดำรับที่ 19.....	47
รูปที่ 24 ลักษณะยามดำรับที่ 22.....	47
รูปที่ 25 ลักษณะยามดำรับที่ 23.....	47

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อุบัติการณ์การเกิดโรคหวัดโดยเฉลี่ยแล้ว ผู้ใหญ่จะเป็นหวัดได้ 4-6 ครั้งต่อปี ในขณะที่เด็กเป็นหวัดได้ถึง 6-8 ครั้งต่อปี ซึ่งโรคนี้สามารถเกิดขึ้นได้ตลอดทั้งปี มักจะพบมากในช่วงฤดูฝน ฤดูหนาว หรือในช่วงที่มีอากาศเปลี่ยนแปลงบ่อย ติดต่อกันโดยทางการไอหรือจาม และโรคนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะโรคได้มากกว่าโรคไข้หวัดใหญ่ อีกทั้งโรคหวัดทำให้สูญเสียเวลาไป 40 เปอร์เซ็นต์ของเวลาทั้งหมด และเป็นสาเหตุที่ทำให้เด็กหยุดเรียน 30 เปอร์เซ็นต์ของสาเหตุการหยุดเรียนทั้งหมด โดยหนึ่งในอาการของโรคหวัด นั่นคือ การมีเสมหะ ซึ่งจะสร้างความรำคาญ และทำให้หายใจลำบากมากขึ้น⁽¹⁻²⁾

ยาแผนปัจจุบันที่ใช้ละลายเสมหะ เช่น guaifenesin, ammonium chloride, ammonia, senega, sodium citrate, ipecacuanh ซึ่งอาการข้างเคียงที่อาจเกิดจากการใช้ยาได้ คือ ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ระคายเคืองกระเพาะอาหาร ส่วนยาที่ใช้ในการละลายเสมหะ เช่น acetylcysteine, carbocysteine, erdosteine, bromhexine ยากลุ่มนี้ก่อให้เกิดอาการข้างเคียงน้อย แต่เคยมีรายงานถึงอาการข้างเคียงคือมีเลือดออกในทางเดินอาหาร⁽³⁾ และมีการผสมยาปฏิชีวนะในยาอมทำให้เกิดการดื้อยาขึ้นได้ ดังนั้น ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่มาจากสมุนไพรกลับมาได้รับความนิยมและยอมรับมากขึ้น เนื่องจากสมุนไพรมีผลข้างเคียงหรืออันตรายน้อยกว่า และราคาถูกกว่ายาแผนปัจจุบัน⁽⁴⁾

ปัจจุบันมีการใช้ยาละลายเสมหะหรือขับเสมหะจากพืชสมุนไพรกันอย่างแพร่หลาย โดยจากการรวบรวมยาที่ใช้พืชสมุนไพรในการผลิตเป็นยาขับเสมหะและช่วยในการละลายเสมหะ พบว่ามีพืชหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้ เช่น ใบและฝักส้มป่อย (*Acacia concinna* (Willd.)) เปลือกมะนาว (*Citrus aurantifolia*) รากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra* L.) เป็นต้น นอกจากนี้สมุนไพรที่นำมาใช้เป็นยาละลายเสมหะ และมีสาร anethole เป็นส่วนประกอบ เช่น เมล็ดและน้ำมันสกัดจากโป๊ยกั๊ก (*Illicium verum*) ผลแก่แห้งของเทียนสัตตบุษย์ (*Pimpinella anisum*) เป็นต้น⁽⁵⁻¹¹⁾ แต่มักอยู่ในรูปแบบยาอม และส่วนมากมักเป็นแบบยาอมชนิดดอกอัด ซึ่งมีข้อเสีย คือ รสชาติ และเนื้อสัมผัส ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะพัฒนาสูตรตำรับยาอมจากน้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรสองฟ้า เพื่อเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยา

จากการศึกษางานวิจัยมีการรายงานว่าพบสาร anethole ได้จากน้ำมันหอมระเหยของ *Clausena guillauminii* Tanaka เป็นพืชในสกุล Clausena วงศ์ Rutaceae ซึ่งเป็นสกุลและวงศ์เดียวกันกับต้นสอ่งฟ้า จากงานวิจัยได้น้ำมันหอมระเหย 3.0-3.2% (w/w) สกัดจากใบด้วยวิธีกลั่นไอน้ำ โดยมี anethole ประมาณ 77-87% ของน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด⁽¹²⁾ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ใบสอ่งฟ้าจะมีสาร anethole อยู่เช่นกัน ซึ่งสารนี้มีฤทธิ์ต่าง ๆ มากมาย เช่น ฤทธิ์ขับเสมหะ⁽¹³⁾ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินหายใจได้ เช่น *Streptococcus pyrogenes*, *Staphylococcus aureus* เป็นต้น⁽¹⁴⁾ ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงเลือกน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้ามาศึกษาฤทธิ์ในการละลายเสมหะ เพื่อนำมาพัฒนาตำรับเป็นยาอม และยาน้ำอิลิกเซอร์สำหรับการละลายเสมหะ และทำการศึกษาฤทธิ์ด้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลชีพ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันหอมระเหยสอ่งฟ้า

อย่างไรก็ตามในประเทศไทยมีการนำยาสมุนไพรหลายตำรับบรรจุลงในบัญชียาหลักแห่งชาติ โดยส่วนมากจะเป็นยาแผนไทยหรือยาแผนโบราณที่ใช้ความรู้ดั้งเดิมจากอดีตและใช้ในมนุษย์อย่างแพร่หลายติดต่อกันเป็นเวลานาน แต่ยังไม่ค่อยมีการพัฒนาสูตรตำรับให้พัฒนาเป็นยาสมุนไพรแผนปัจจุบัน ที่ต้องมีประสิทธิภาพในการรักษา มีหลักฐานความปลอดภัย กระบวนการผลิตมีมาตรฐาน และมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุน ซึ่งยาสมุนไพรแผนปัจจุบันที่รักษาอาการของระบบทางเดินหายใจมีเพียงหนึ่งชนิดเท่านั้น⁽¹⁵⁾ ผู้วิจัยเล็งเห็นความสำคัญนี้จึงต้องการพัฒนาตำรับยาสมุนไพรจากน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าสำหรับช่วยรักษาอาการของระบบทางเดินหายใจที่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุน ซึ่งจะเน้นทางเลือกใหม่ของผู้สนใจใช้สมุนไพรในการรักษาตลอดจนเป็นการพัฒนาศักยภาพการใช้สมุนไพรให้เกิดประโยชน์สูงสุด

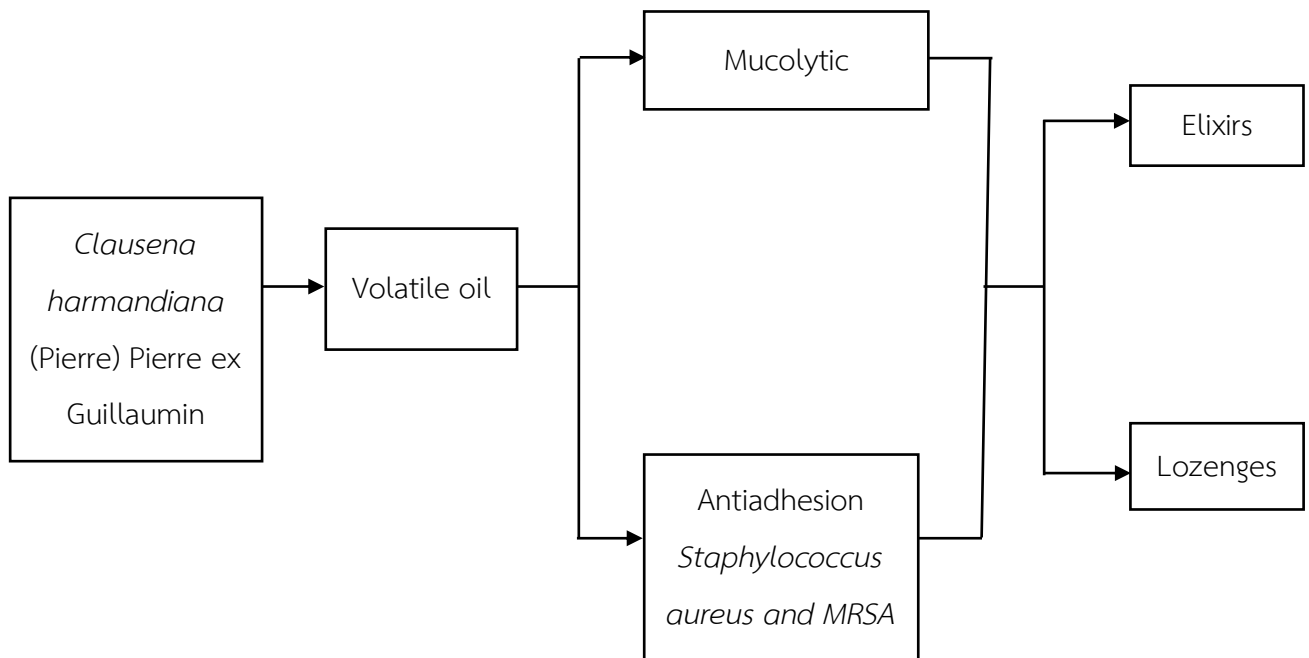
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ละลายเสมหะของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้า
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ด้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลชีพ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้า
3. เพื่อพัฒนาสูตรตำรับที่ใช้สำหรับการละลายเสมหะในรูปแบบยาอม (Lozenges) และยาน้ำอิลิกเซอร์ (Elixirs)
4. เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการใช้ยาละลายเสมหะ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบถึงฤทธิ์ในการละลายเสมหะของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้า
2. ได้ทราบวิธีในการทดสอบฤทธิ์ละลายเสมหะของน้ำมันหอมระเหย
3. ได้ทราบถึงฤทธิ์ด้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลชีพ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอ่งฟ้า
4. ได้สูตรตำรับยาอม และยาน้ำอิลิกเซอร์ที่สามารถใช้สำหรับละลายเสมหะได้
5. ได้ทักษะและความรู้เพิ่มเติมในการเตรียมยาในรูปแบบยาอม (Lozenges) และยาน้ำอิลิกเซอร์ (Elixirs)
6. สามารถใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์จากสมุนไพรไทยได้มากขึ้น

กรอบแนวคิด



รูปที่ 1 กรอบแนวคิด

บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

พืชสมุนไพรที่มีการนำมาใช้สำหรับแก้ไอ ขับเสมหะ และละลายเสมหะ

ในปัจจุบันมีการค้นพบว่าพืชหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในบรรเทาอาการไอ ละลายเสมหะ และสามารถขับเสมหะได้ โดยจะเน้นในการศึกษาสารสำคัญจากพืชสมุนไพร ซึ่งแต่ละประเทศจะมีพืชสมุนไพรที่แตกต่างกัน และยังมีการศึกษาถึงประโยชน์ต่างๆต่อมนุษย์อีกด้วย จากงานวิจัยของ Li Guo และคณะพบว่าสารกลุ่ม Triterpenoids ที่เป็นองค์ประกอบหลักของพืชสมุนไพร *Platycodon grandiflorum* พืชวงศ์ Campanulaceae มีฤทธิ์กำจัดเสมหะได้และยังมีฤทธิ์แก้ไอ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ และเสริมสร้างภูมิคุ้มกันได้⁽¹⁶⁻¹⁷⁾ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของชาวจีน Yang B. และคณะได้ทำการศึกษาพืชสมุนไพรที่ช่วยรักษาอาการไอและขับเสมหะเช่นเดียวกัน โดยในงานวิจัยกล่าวถึงพืชสมุนไพร *Aster tataricus* เป็นพืชวงศ์ Asteraceae มีสารที่สำคัญอย่าง 1-Acetoxy-2-ene (E) - 4,6- เป็นสารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ในการละลายเสมหะได้ โดยพืชทั้งสองชนิดที่กล่าวมา มีการทดลองผลการรักษาแล้วว่าสามารถใช้ละลายเสมหะได้และมีการนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิก⁽¹⁸⁾

จากการศึกษาหนังสือ Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants พบว่า ชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra* L.) เป็นพืชวงศ์ Leguminosae ซึ่งมีการใช้เป็นยาสมุนไพรตะวันตกมาอย่างยาวนาน ซึ่งสารสกัดจากรากชะเอมเทศมีสารสำคัญคือ glycyrrhizin หรือ glycyrrhizinic acid และ 24-hydroxyglycyrrhizin พบว่าจากผลการศึกษาที่ได้คือ มีฤทธิ์ช่วยขับเสมหะ⁽¹⁹⁾ โดยมีการศึกษาในสัตว์ทดลอง ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mayuri Shitole และ Pawar Vt. ที่มีการทำการทดสอบงานวิจัยที่ประเทศอินเดียได้ทำการศึกษากการใช้สมุนไพรชะเอมเทศที่มีสารสามารถช่วยในเรื่องของการแก้ไอละลายเสมหะที่ขึ้นเหนียวให้เบาบางลงได้ ซึ่งสามารถขับเสมหะได้จึงถูกนำมาทำเป็นยา *Glycyrrhiza glabra* L. granules และมีการทดลองเปรียบเทียบกับยาที่ใช้ในปัจจุบันอย่าง Codeine sulfate พบว่ายาสมุนไพรจากชะเอมเทศสามารถช่วยบรรเทาอาการไอได้ดีกว่าในการทดลองที่มีการควบคุมตัวแปรกวนและทำในสัตว์ทดลอง⁽²⁰⁾

การศึกษางานวิจัยของ Rohit Kumar Bijauliya และคณะทำการศึกษาสัมปอยที่เป็นพืชในวงศ์ Fabaceae มีสารที่สำคัญคือ saponin จากการนำส่วนของพืชมาทำการสกัด และเมื่อนำทดสอบฤทธิ์พบว่า มีฤทธิ์ที่สามารถใช้สำหรับขับเสมหะได้ และมีบทความทางวิทยาศาสตร์ที่ระบุว่าเมื่อนำ

มะขามซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกัน มาทำการสกัดพบว่ามีสารที่สำคัญ ได้แก่ β -amyrin, compesterol, β -sitosterol และ seven hydrocarbons มาใช้ในการรักษาทางการแพทย์พบว่า มีฤทธิ์ช่วยในการละลายเสมหะได้เช่นกัน

การศึกษางานวิจัยของ Federica Spadaro และคณะชาวอิตาลี ศึกษาเรื่องของส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญของมะนาวที่เป็นพืชวงศ์ Rutaceae พบสารที่สำคัญคือ limonene (58.4%) , beta-pinene (15.4%) , gamma-terpinene (8.5%) และ citral (4.4%) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ GC-FID และ GC-MS และงานวิจัยของชาวจีน Kefang Lai และคณะมีการทดสอบว่าสาร beta-pinene มีฤทธิ์ที่ใช้ในการรักษาอาการไอทางการแพทย์ของจีนได้ และการศึกษาทางการแพทย์ของจีนมีค้นคว้าหาข้อมูลว่าใบของใผ่ป่าเป็นพืชวงศ์ Solanaceae มีการนำสารสำคัญที่สกัดได้คือ 17, 20, 20- tri demethly-20 α -isopranyloleanane และ eicosan-1,20-dioic acid มาใช้ในการรักษาโรคในระบบทางเดินหายใจ โดยสามารถละลายเสมหะได้ และยังม้งานวิจัยที่สอดคล้องกันของ Avat(Arman) Taherpour และคณะ มีการนำมะแว้งต้น และมะแว้งเครือ ที่เป็นพืชวงศ์เดียวกัน โดยมีการศึกษาส่วนประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากผล และเมล็ด พบว่าประกอบไปด้วยสารสำคัญ เช่น beta-Pinene (5.93%) ด้วยวิธีการวิเคราะห์ GC ซึ่งมีการนำมาใช้รักษาอาการไอจากทางการแพทย์ของจีนเช่นกัน

การศึกษางานวิจัยของ Rajnish Kumar Yadav และคณะ ทำการศึกษาเกี่ยวกับมะเดื่อป่าเป็นพืชวงศ์ Myrtaceae มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากมะเดื่อป่าพบสารที่สำคัญ ได้แก่ Catechin, Genistein, β -Sitosterol และ Stigmasterol มีฤทธิ์ช่วยในเรื่องของการแก้ไอและขับเสมหะได้⁽²¹⁾ ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ R. Bhaskara Rao และคณะที่ทำงานวิจัยเรื่องน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเปลือกของลำต้นของมะเดื่อป่า มีฤทธิ์ช่วยในเรื่องของการเป็นยาแก้ไอได้ โดยมีวิธีการทดสอบฤทธิ์ในสัตว์ทดลอง อีกทั้งยังมีการศึกษาของ Jorge Pino และคณะสนใจศึกษาเรื่องส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยได้จากเปลือกของต้นและใบของยูคาลิปตัสมีสารที่สำคัญ คือ α -pinene (1.1) มีฤทธิ์ในการขับเสมหะ และต้นเสม็ดขาวจากการศึกษาทางการแพทย์พบสารประกอบที่สำคัญที่สกัดจากใบ คือ 1,8-cineole (19.9%) ซึ่งนำมาใช้ในเรื่องของการขับเสมหะได้เช่นกัน

งานวิจัยของ Jean-Claude Chalchat และคณะมีการหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยของต้นเฟอร์ขาวในพืชวงศ์ Pinaceae ซึ่งพบมีสารประกอบที่สำคัญอย่าง β -pinene (32.8%) และ α -pinene (17.3%) โดยมีงานวิจัยที่ระบุว่าสารเหล่านี้มีฤทธิ์ช่วยในเรื่องของการขับเสมหะได้⁽²²⁾

การศึกษางานวิจัยของ Ling-Ling Li และคณะทำการศึกษาสารสกัดจากส่วนของเหง้าขิง (rhizome) เป็นพืชวงศ์ Zingiberaceae พบว่ามีสารที่สำคัญ เช่น gingerol และ shogaol สามารถ

นำมาใช้ในการรักษาโรคและบำรุงร่างกายได้หลากหลายและมีฤทธิ์รักษาอาการไอและละลายเสมหะ⁽²³⁾ ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่ของ Yasmeen Jahan และคณะของมหาวิทยาลัยที่ประเทศอินเดียได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบตำรับยาที่ทำจากพืชสมุนไพรชนิดต่างๆโดยมีสมุนไพรจำพวก ขิง ขะเอมเทศ และสมุนไพรชนิดอื่นๆมาผสมเป็นส่วนประกอบในตำรับ ได้ตำรับยาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ช่วยในการบรรเทาอาการไอ ละลายเสมหะเพิ่มสารคัดหลั่งที่ช่วยหล่อลื่นเสมหะทำให้มีความเหนียวข้นเบาบางลง จนสามารถขับเสมหะได้ และมีการเปรียบเทียบกับยาปัจจุบันที่มีส่วนประกอบในตำรับอย่าง Diphenhydramine , Dextromethorphan และอื่นๆ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าตำรับยาที่มีส่วนประกอบหลักเป็นพืชสมุนไพรนั้นสามารถให้ผลการรักษาได้ดีเช่นเดียวกันกับยาปัจจุบันที่สังเคราะห์ขึ้นมา และตำรับยาสมุนไพรที่ใช้สมุนไพรมากกว่า 1 ชนิดนั้นจะช่วยให้ผลข้างเคียงของยาน้อยกว่าการใช้ยาที่มีสารสกัดหยาบของสมุนไพรเป็นส่วนประกอบเดียว⁽²⁴⁾

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Qing Zhou และคณะทำการศึกษาในสัตว์ทดลองและทดลองโดยการเปรียบเทียบกับยาแผนปัจจุบันในฤทธิ์ขับเสมหะของสารสกัดจากรากของข้าวฟ่างที่พบว่าฤทธิ์การขับเสมหะของสารสกัดจากรากข้าวฟ่างนั้นสามารถเพิ่มการขับเสมหะในสัตว์ทดลองได้ดีกว่า Guaifenesin (50 mg/kg) ซึ่งเป็นตัวยาหลักในปัจจุบัน⁽²⁵⁾ และมีการการศึกษาที่สนับสนุนการใช้พืชสมุนไพรของ Dongdong Wang และคณะชาวจีนค้นพบสาร Imperialine, Chuanbeinone, Verticinone และ Verticine จัดเป็นสารในกลุ่ม Alkaloids ที่เป็นสารสำคัญของต้นชวนปวยสามารถเพิ่มความสามารถในการขับเสมหะในสัตว์ทดลองได้⁽²⁶⁾ รวมถึงการศึกษาของ Glícia Maria de Barros Alves และคณะที่ทำงานวิจัยเกี่ยวกับการขับเสมหะและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร Fumarprotocetraric acid ที่เป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่ได้จากไลเคนของ *Cladonia verticillaris* สามารถขับเสมหะได้ดีขึ้นในสัตว์ทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับยา Ambroxal⁽²⁷⁾ นอกจากนี้มีการศึกษาของประเทศจีนที่มีการนำสารสกัดที่ได้จากใบของ *Elaeagnus pungens* thunb. ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Elaeagnaceae⁽²⁸⁾ และสาร saponin, triterpene, flavonoid และ xanthone ที่ได้จากการสกัดด้วย Ethanol จากต้น *Reineckia carnea* มีการนำมาทดลองศึกษาฤทธิ์พบว่าสามารถช่วยในเรื่องของการละลายเสมหะได้ในสัตว์ทดลอง⁽²⁹⁾

ต้นสอ่งฟ้า และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับต้นสอ่งฟ้า



รูปที่ 2 ต้นสอ่งฟ้า

ต้นสอ่งฟ้า (*Clausena harmandiana* (Pierre) Pierre ex Guillaumin) อยู่ในวงศ์ Rutaceae มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ คือ เป็นไม้พุ่มขนาดเล็กขนาด สูง 20 – 30 เซนติเมตร ต้นมีสีเขียว ใบเดี่ยวรูปไข่ มีปลายใบแหลมหรือมน ขอบใบจักฟันเลื่อยเล็ก ๆ เนื้อใบมีจุดน้ำมันใสกระจาย และมีกลิ่น ดอกออกเป็นช่อแยกแขนงที่ปลายกิ่งสีขาวแกมเหลือง ออกดอกเดือน มีนาคมถึงเมษายน มีผลรูปทรงค่อนข้างกลม ผลอ่อนสีเขียว ผลสุกสีแดงหรือสีส้ม หนึ่งผลมี 1 เมล็ด ออกผลเดือนเมษายน ถึงพฤษภาคม ขึ้นได้ดีในดินแทบทุกชนิด⁽³⁰⁾

จากงานวิจัยของ Wisanu Maneerat และคณะ พบสารใหม่ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ phenylpropanoid คือ harmandianone, (E)-3-(2-hydroxy-4-methoxy-phenyl) propanoate, (E)-methyl p-coumarate และ (E)-5-methoxy-2-(prop-1-enyl)phenol จากผลของต้นสอ่งฟ้า และมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* TISTR 780 , methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SK1, *Salmonella typhimurium* TISTR 292 และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งมีค่า MIC 64 และ 128 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ⁽³¹⁾ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Arinee Chatchawanchonteera และคณะที่มีการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจาก ส่วนลำต้น เปลือกกราก และใบของต้นสอ่งฟ้าต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคช่องหูชั้นนอกอักเสบในสุนัข ได้แก่ เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus* spp., *Escherichia coli* และ *Klebsiella* spp. ซึ่งพบว่าต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทั้ง 5 ชนิดก่อโรคหูชั้นนอกอักเสบในสุนัข และสารสกัดจากใบมีประสิทธิภาพได้ดีกว่าสารสกัดจากส่วนลำต้นและเปลือกกราก⁽³²⁾

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารโดยวิธี Gas Chromatography

เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ระเหยได้ง่าย (Volatile Organic Compounds, VOCs) และกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ปานกลาง (Semi-Volatile Organic Compounds) ⁽³³⁾

หลักการและส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

- Carrier gases หรือแก๊สพา มีหน้าที่นำแก๊สตัวอย่างจากจุดฉีด (injection port) ผ่านเข้าสู่คอลัมน์และไปยัง detector แก๊สที่ใช้ร่วมกับเครื่อง GC เป็นแก๊สเฉื่อยที่ไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารตัวอย่าง เช่น แก๊สฮีเลียม ไฮโดรเจน หรือ ไนโตรเจน

- Injector port เป็นส่วนที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (inlet) มักจะมีตัวให้ความร้อน (heater) ติดตั้งอยู่ เพื่อให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอการเลือกใช้งานว่าจะใช้ inlet แบบใดนั้นขึ้นขึ้นอยู่กับสารตัวอย่างหากสารตัวอย่างเป็นแก๊สมักจะฉีดตัวอย่างเข้าไปด้วย gas sampling valve หากสารตัวอย่างเป็นของเหลวโดยมากจะใช้ micro syringe ดูดสารตัวอย่างขึ้นมาตามปริมาตรที่ต้องการแล้วฉีดผ่าน silicone septum ที่ injection port ไปยังปลายของคอลัมน์

- Column เป็นส่วนที่ใช้แยกสารตัวอย่าง คอลัมน์ที่ใช้กันทั่วไปใน GC นั้นมีอยู่ 2 ประเภท คือ packed column และ capillary column การเลือกใช้คอลัมน์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารผสม ไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจน แต่สามารถพิจารณาเลือกจาก catalog ที่บริษัทผู้ผลิตคอลัมน์ออกมาจำหน่าย และค้นคว้าจากงานวิจัยในวารสารด้านโครมาโทกราฟี

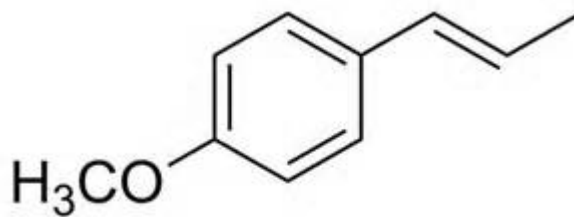
- Detector หรือส่วนตรวจวัด เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารเชิงเดี่ยวที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์แล้วส่งสัญญาณไฟฟ้าไปยังระบบประมวลผลสามารถจำแนกประเภทของส่วนตรวจวัดได้เป็นหลายประเภทตามคุณสมบัติการตรวจวัด โดยรูปแบบตรวจวัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง และสามารถทำได้ในเครื่อง GC-2014 ได้แก่ Flame Photometric Detector (FID) ใช้ในการตรวจหาสารประกอบอินทรีย์ (สารประกอบที่มี C-C, C-H bonds) และ Electron Capture Detector (ECD) เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดที่ดีในการตรวจหาสารประกอบที่มีแฮโลเจนอะตอมเป็นองค์ประกอบ เช่น ยาฆ่าแมลง และยาปราบวัชพืช เป็นต้น

- Data system หรือระบบประมวลผล เป็นส่วนที่ประมวลผลและข้อมูลต่างๆ ด้วยระบบคอมพิวเตอร์ซึ่งคำนวณและรายงานผลเป็น retention time คือเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสูงสุดของของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรม retention time

สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อระบุว่าเป็นสารชนิดใดเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานนอกจากนี้ลักษณะและขนาดของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรมใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้⁽³⁴⁾

ข้อดีของการตรวจสอบด้วยวิธี Gas Chromatography (GC) คือ สามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูง มีความแม่นยำเชิงปริมาณสูง เหมาะกับสารตัวอย่างปริมาณน้อย เป็นเทคนิคที่มีความน่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับทางสากล แต่มีข้อเสียคือ สารตัวอย่างที่ใช้ต้องเป็นสารระเหย (volatile) ไม่เหมาะกับสารตัวอย่างที่สลายตัวที่อุณหภูมิสูง สารทดสอบต้องไม่เกิดปฏิกิริยากับคอลัมน์ เป็นต้น⁽³⁵⁾

คุณสมบัติและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ Anethole



รูปที่ 3 โครงสร้างสาร anethole

สาร anethole เป็นของเหลวที่ใส ไม่มีสีหรือมีสีเหลืองอำพันที่มีกลิ่นคล้ายโป๊ยกั๊ก ละลายในน้ำได้เพียงเล็กน้อย แต่ละลายได้ดีในเอทานอล สารละลายจะขุ่นเมื่อนำมาเจือจางกับน้ำ มีความหวานมากกว่าน้ำตาล 13 เท่า มักถูกใช้ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์หลายชนิด สามารถนำไปกลบกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ได้ นอกจากนี้ anethole ยังมีสรรพคุณสามารถรักษาอาการปวดท้อง ลดน้ำมูก ขับเสมหะ ขับปัสสาวะ กระตุ้นความอยากอาหาร และสามารถใช้ในการเพิ่มการไหลของน้ำนมสำหรับสัตว์ที่ให้นมบุตร รวมทั้งยังมีสรรพคุณเพิ่มความดันโลหิต นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Eyal Shimoni และคณะ พบว่าสาร anethole สามารถถูกสลายโดยปฏิกิริยา hydrolysis ได้เองภายใต้สภาวะกรด

จากงานวิจัยของ Kwiatkowski P. และคณะพบว่าสาร trans-anethole มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยเปรียบเทียบกับยา Mupirocin (MUP) และจากการศึกษา งานวิจัยของ Veselin Marinov และ Stefka Valcheva-Kuzmanova⁽³⁶⁾ ซึ่งมีการกล่าวถึงสาร anethole ที่สกัดได้จากพืชโป๊ยกั๊ก มีการใช้เป็นยารักษาอาการปวดท้อง ลดน้ำมูก นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันอาการไอ และขับเสมหะของผู้ป่วยได้

นอกจากนี้ Shamkant B. Badgajar และคณะทำการศึกษาสมุนไพรผักชีล้อม (*Foeniculum vulgare* Mill.) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผักชีล้อมมีสาร anethole เป็นองค์ประกอบสำคัญ ซึ่งพบ

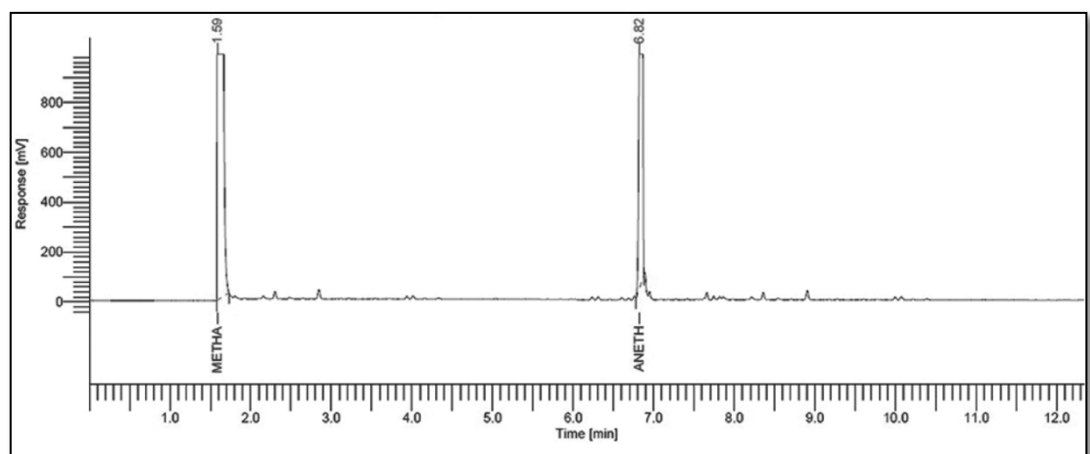
ประมาณ 68.6-75% หรืออาจมากกว่า 90.4% และมีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวกล้ามเนื้อเรียบที่หลอดลม ทำให้ร่างกายสามารถ ขับเสมหะ แก้ไอ และสิ่งแปลกปลอมได้ง่ายขึ้น⁽³⁷⁾

จากงานวิจัยของ Navdeep Saini, G. K. Singh ได้ทำการทดลองพิสูจน์เอกลักษณ์ ส่วนประกอบน้ำมันหอมระเหยของสูตรตำรับยาสมุนไพรรวมหลายชนิดที่มาจากวงศ์ Apiaceae ซึ่งมี ส่วนประกอบเป็น Anethole อยู่ด้วย โดยทำด้วยวิธีวิเคราะห์แก๊สโครมาโตกราฟี ใช้เครื่องตรวจชนิด flame-ionization (FID) การเตรียมสารละลายในการวิเคราะห์นั้นจะเตรียมให้มีความเข้มข้น 1% v/v ใน methanol สภาวะในการทดลองเป็น ดังนี้

ตารางที่ 1 สภาวะในการทดลองในงานวิจัยของ Navdeep Saini, G. K. Singh

Parameters	Optimal condition
Injection volume	10 μ l
Injector temperature (split with split ratio of 5)	210 °C
Detector temperature (FID)	280°C
Column	Zb-5, 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m (0.25 μ m film thickness)
Oven temperature programming	90 °C – 190 °C (ramp of 10°C)
Detector	FID
Carrier gas N, H and Air	1.3, 10 and 20 ml/min respectively

จากผลการทดลอง Anethole จะมี retention time เท่ากับ 6.821 นาที



รูปที่ 4 ผลในการทดลองในงานวิจัยของ Navdeep Saini, G. K. Singh

จากงานวิจัยของ M. Shamim Hasan ZAHID และคณะ พบว่าสาร Anethole สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio cholerae* สายพันธุ์ O1 E1 Tor ที่ดื้อยาหลายขนาน (Multidrug resistant) โดยมีค่า MIC อยู่ที่ 200 µg/ml ⁽³⁸⁾ และจากงานวิจัยของ Kwiatkowski P. และคณะยังพบว่าสาร trans-anethole มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยเปรียบเทียบกับฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของ Mupirocin (MUP) ⁽³⁹⁾

จากงานวิจัยของ Ka Young Kim และคณะ พบว่าสาร trans-anethole มีผลด้านการอักเสบในหนูทดลองที่เป็นโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (Chronic Obstructive Pulmonary Disease) โดยทำให้การทำงานของ Lactate dehydrogenase (LDH) และจำนวน Macrophage, Neutrophil, Lymphocyte ลดลง อีกทั้งยังสามารถลดความเข้มข้นของ interleukin-6 (IL-6) tumor necrosis factor-alpha ในเลือดและสามารถลดความดันโลหิตได้อีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sichao Zhang และคณะที่ทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบของ trans-anethole ในหนูทดลองที่เป็น Acute lung injury เปรียบเทียบกับ dexamethasone 5mg/kg ซึ่งก็พบฤทธิ์การต้านการอักเสบที่ดีเช่นเดียวกัน ⁽⁴⁰⁾

จากงานวิจัยของ Mohamad Hesam Shahrajabian และคณะ พบว่าเมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดโป๊ยกั๊ก ไปวิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS มีสารที่สำคัญคือ anethole, limone, α -pinene, safrol, β -phellandrene, α -terpineol และ farnesol มีฤทธิ์ช่วยในการบรรเทาอาการไอและลดความหนืดของเสมหะได้ค่อนข้างดีเมื่อนำมาทดลองในสัตว์ทดลอง ⁽⁴¹⁾ โดยงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Veselin Marinov และ Stefka Valcheva-Kuzmanova ซึ่งมีการกล่าวถึงสาร anethole ได้จากการสกัดของพืชโป๊ยกั๊ก มีการใช้เป็นยาในการรักษาอาการปวดท้องกระเพาะ น้ำมูกไหล และละลายเสมหะซึ่งช่วยในเรื่องของป้องกันอาการไอ และขับเสมหะของผู้ป่วยได้เพิ่มขึ้น และมีการรายงานการใช้ในมนุษย์ว่าหากรับประทานน้ำมันจากโป๊ยกั๊กในปริมาณที่มาก 1 ถึง 5 มิลลิตร เพราะอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงได้ เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ชัก และเกิดอาการปวดบวมได้ ⁽⁴²⁾

นอกจากนี้มีการศึกษาของ Shamkant B. Badgujar และคณะ ทำการศึกษาสมุนไพรผักชีล้อม (*Foeniculum vulgare* Mill.) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผักชีล้อมมีสาร anethole เป็นองค์ประกอบสำคัญ ซึ่งพบประมาณ 68.6-75% หรืออาจมากกว่า 90.4% และมีการทดสอบว่ามีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวกล้ามเนื้อเรียบที่หลอดลม ช่วยทำให้ร่างกายสามารถละลายเสมหะ แบคทีเรีย และสิ่งแปลกปลอมได้ง่ายขึ้น ⁽⁴³⁾

จากการศึกษาของ European Medicines Agency ได้มีการพิสูจน์เอกลักษณ์น้ำมันหอมระเหยของผลเทียนสัตตบุษย์ (*Pimpinella anisum* L.) วงศ์ Apiaceae สกัดด้วยวิธีการพาไอน้ำ จะ

ได้น้ำมันหอมระเหยประมาณ 1.5-6.0% (ปริมาตร/น้ำหนัก) โดยมี anethole เป็นส่วนประกอบประมาณ 76.7-93.0% ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับที่พบในใบของ *Clausena guillauminii* Tanaka ที่อยู่ในวงศ์เดียวกับต้นสอ่งฟ้า (*Clausena harmadiana*) สกัดด้วยวิธีการพ่นไอน้ำ จะได้น้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 3.0-3.2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มี Anethole ประมาณร้อยละ 77-87 ของน้ำมันหอมระเหย⁽⁴⁴⁾ จากข้อมูลในการศึกษาได้ระบุไว้ว่าหากนำไปใช้ผสมในผู้ใหญ่หรือเด็กที่อายุมากกว่า 12 ปี จะต้องใช้เมล็ดเทียนสัตตบុช 3-5 กรัม หรือใช้น้ำมันหอมระเหย 0.05-0.2 มิลลิลิตร โดยชงเป็นชาดื่มวันละ 2-3 ครั้งต่อวัน

กลไกการเกิดเสมหะและการกำจัดเสมหะ

เสมหะเป็นสารคัดหลั่งที่ผลิตจากไกลเบลล์เซลล์ (globlet cells) ในเยื่อหลอดลม ประกอบด้วยไกลโคโปรตีน เอนไซม์ อิเล็กโทรไลต์ เซลล์ต่างๆ และน้ำ ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดถึงร้อยละ 95 ลักษณะเป็นเมือกใส มีความยืดหยุ่นไม่เหนียว เพื่อหล่อเยื่อทางเดินหายใจให้ชุ่มชื้น ป้องกันและกำจัดสิ่งที่มาทำอันตรายต่อทางเดินหายใจโดยการสกัดจับฝุ่น แบคทีเรีย และสิ่งแปลกปลอมไม่ให้ผ่านลงไปยังหลอดลมฝอยและถุงลม การอักเสบของทางเดินหายใจไม่ว่าจะเกิดจากการติดเชื้อหรือเกิดจากการระคายเคืองจากกระตุ้นให้ไกลเบลล์เซลล์ในเยื่อหลอดลมผลิตเสมหะเพิ่มมากขึ้น มีมากกว่าน้ำ ซึ่งอาจอุดกั้นทางเดินหายใจส่วนบนและส่วนล่าง และในกรณีที่รุนแรงจะทำให้เกิดการหายใจลำบากได้

กลไกการกำจัดเสมหะ เริ่มจากหลอดลมส่วนปลายประกอบด้วย 3 วิธีดังนี้

1. กระแสอากาศในลมหายใจพัดพาละอองเสมหะลอยไปกับลมหายใจออก
2. ขนกวัด (cilia) ของเซลล์ขนกวัด (cilia cell) ที่เยื่อหลอดลมพัดโบกขับเสมหะขึ้นไปตามหลอดลมเข้าสู่หลอดลมส่วนต้น หลอดคอให้ผ่านกล่องเสียง คอหอย แล้วกลืนสู่หลอดอาหาร
3. การไอขับเสมหะการไอจะช่วยขับเสมหะส่วนที่เคลื่อนตัวมาสู่ท่อหลอดลมใหญ่เพื่อไอขับออกจากร่างกาย

การอักเสบและการติดเชื้อของทางเดินหายใจรวมทั้งการ ระคายเคืองของทางเดินหายใจจะกระตุ้นให้ร่างกายผลิตเสมหะเพิ่มขึ้นและเหนียวอุดกั้นทางเดินหายใจหากผู้ป่วยมีปัจจัยส่งเสริมให้เกิดการข้างคั่งของเสมหะร่วมด้วยจะยิ่งส่งผลให้ผู้ป่วยไม่สามารถขับเสมหะออกตามกลไกปกติได้อย่างมีประสิทธิภาพ^(45,46)

การติดเชื้อทางเดินหายใจ

ทางเดินหายใจประกอบไปด้วยอวัยวะของทางเดินหายใจประกอบด้วย รูจมูก (nostril) โพรงจมูก (nasal cavity) คอหอย (pharynx) หลอดลม (trachea) ขั้วปอด (bronchus) และปอด (alveolus) อวัยวะต่างๆ เหล่านี้ทำหน้าที่หลักในการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนให้กับเลือดผ่านการหายใจเข้า และขับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกสู่ร่างกายผ่านการหายใจออก โดยกระบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซจะเกิดขึ้นที่ถุงลมปอด หากมีความผิดปกติของร่างกายที่มีความเกี่ยวข้องกับทางเดินหายใจผู้ป่วยอาจมีอาการแสดงออกมาอย่างมีอาการไอ จาม หายใจไม่สะดวก หอบหืด เหนื่อยง่าย มีสารคัดหลั่งหรือเสมหะ และมีไข้หวัดเป็นต้น

โรคในระบบทางเดินหายใจ ส่วนมากพบสาเหตุจากการติดเชื้อไวรัส แบคทีเรีย รา โปรโตซัว รวมถึงสารพิษ สารเคมี และการเกิดเนื้องอกมะเร็ง ได้แก่ โรคหลอดลมอักเสบ โรคไอกรน โรคปอดบวม โรคปอดอักเสบ โรคเชื้อราในปอด วัณโรค โรคหอบหืด โรคมะเร็งปอด โรคถุงลมปอดโป่งพอง และโรคติดเชื้อเฉียบพลันของระบบทางเดินหายใจ เป็นต้น การติดต่อของโรคติดเชื้อทางเดินหายใจสามารถติดต่อได้หลายทาง คือ การไอ จาม หายใจรดกัน การสัมผัสสารคัดหลั่งของผู้ป่วย และการสัมผัสกับสิ่งของเครื่องใช้ของผู้ป่วย โดยเชื้อโรคจะปนเปื้อนกับฝอยละอองของเสมหะ น้ำมูก น้ำลาย ฝอยละอองขนาดเล็กจะลอยลอยอยู่ในอากาศ ผู้ที่อยู่ใกล้ชิดสุดลมหายใจเข้าไปก็จะติดเชื้อได้

โรคติดเชื้อทางเดินหายใจสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

1. Acute respiratory infection (ARI) หมายถึง โรคติดเชื้อเฉียบพลันของระบบหายใจ ตั้งแต่บริเวณช่องจมูกถึงถุงลมในปอด ซึ่งมีอาการไม่เกิน 4 สัปดาห์
2. Upper respiratory infection (URI) หมายถึง โรคติดเชื้อเฉียบพลันของระบบหายใจส่วนบน ตั้งแต่บริเวณตำแหน่งช่องจมูกถึงบริเวณกล่องเสียง โรคที่จัดอยู่ในกลุ่มของ acute URI ที่พบบ่อยได้แก่ โรคหวัด (common cold หรือ acute nasopharyngitis) ช่องหูส่วนกลางอักเสบเฉียบพลัน (acute otitis media) และโพรงจมูกอักเสบเฉียบพลัน (acute sinusitis) คออักเสบเฉียบพลัน (acute pharyngitis) ต่อมทอนซิลอักเสบเฉียบพลัน (acute tonsillitis)
3. Lower respiratory infection (LRI) หมายถึง โรคติดเชื้อเฉียบพลันระบบหายใจส่วนล่าง ตั้งแต่บริเวณส่วนบนของหลอดลมถึงถุงลมในปอด โรคที่จัดอยู่ในกลุ่มของ LRI ที่พบบ่อยได้แก่ หลอดลมอักเสบเฉียบพลัน (acute bronchitis) หลอดลมฝอยอักเสบ (acute bronchiolitis) และโรคปอดบวมเฉียบพลัน (acute pneumonia)

ตารางที่ 2 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในการติดเชื้อทางเดินหายใจ

โรคติดเชื้อทางเดินหายใจ	เชื้อแบคทีเรียก่อโรค
หลอดลมและถุงลมอักเสบเฉียบพลัน (Acute bronchitis and tracheitis)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Bordetella pertussis</i>
หูชั้นกลางอักเสบ (Acute otitis media)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>
ไซนัสอักเสบ (Acute rhinosinusitis)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>
ไข้หวัดธรรมดา (Common cold)	<i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
ไข้หวัดใหญ่ (Influenza)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Haemophilus influenzae</i>
ฝาปิดกล่องเสียงอักเสบ (Acute epiglottitis)	<i>Haemophilus influenzae</i> (หลัก) <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
กล่องเสียงอักเสบ (Laryngitis)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>
คอหอยอักเสบ (Pharyngitis)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i>

	<i>Candida albican</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Arcanobacterium</i> <i>haemolyticum</i> <i>Fusobacterium necrophorum</i> <i>Corynebacterium diphtheriae</i>
ทอนซิลอักเสบ (tonsillitis)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus</i> <i>influenza</i>

เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทางเดินหายใจ

Haemophilus มีลักษณะรูปแท่งสั้น (coccobacilli) มีขนาด 1×0.3 ไมโครเมตร ติดสีแกรมลบ ลักษณะของเชื้อจะขึ้นอยู่กับการอายุและชนิดของอาหารที่เลี้ยง ในอาหาร enrich medium เมื่อเลี้ยง ได้ 6-8 ชั่วโมง มีลักษณะรูปแท่งสั้น ต่อมาขนาดจะยาวขึ้นและมีลักษณะ pleomorphic เมื่อเชื้ออายุ มากขึ้น (6-28 ชั่วโมง) มีแคปซูล การทดสอบให้แคปซูลพองโต (capsule swelling) ใช้ในการแยก เชื้อออกเป็นซีโรทัยป์ (serotype) ต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อใน brain heart-infusion agar ที่เติมเลือด โคโลนีจะเจริญได้ใน 24 ชั่วโมง จะมีขนาดเล็ก กลม นูน มีประกายแวววาวมากถ้าเลี้ยงใน chocolate agar ต้องใช้เวลา 36-48 ชั่วโมงจึงจะเกิดโคโลนีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร ไม่เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ถ้าเจริญอยู่รอบโคโลนีของ Staphylococcus เรียกว่า Satellite phenomenon โคโลนีของ H. influenzae จะมีขนาดใหญ่ขึ้น ชุ่มชื้น และมีสีเทาปนขาว การเจริญในอาหารกึ่งแข็งจะเกิดใน 18-24 ชั่วโมง ส่วนใหญ่เชื้อจะได้มาจากทางเดินหายใจ และเป็นเชื้อที่ไม่มีแคปซูลเมื่อเจริญเป็นโคโลนีจะมีขนาดเล็กมาก เป็นจุด และลักษณะโคโลนีหยาบ หรือขรุขระ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.5 มิลลิเมตร H. influenzae ชนิดที่สร้างแคปซูลที่แยกได้จาก เลือด น้ำจากสมองและไขสันหลังมักเป็นซีโรทัยป์ b เมื่อเจริญเติบโตเป็นโคโลนีบนอาหาร Levinthal agar ซึ่งมีสารสกัดจากเลือด จะมีลักษณะเป็นเมือกเยิ้ม เป็นประกายและค่อนข้างขุ่น หลังจาก 24-48 ชั่วโมงแล้วแคปซูลและความเป็นประกายจะหายไป เซลล์จะสลายตัว (autolysis) และทำลายแคปซูลเนื่องจากน้ำที่อยู่ภายในเซลล์ (endogenous enzyme) ทำให้เปลี่ยนลักษณะ โคโลนีจากโคโลนีเรียบเป็นโคโลนีขรุขระได้

Haemophilus influenzae เป็นชนิดที่สำคัญที่สุดในสกุลนี้เนื่องจากก่อโรคที่รุนแรงได้หลายชนิดโดยเฉพาะในเด็ก เช่น โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) และกล่องเสียงอักเสบ (epiglottitis) ซึ่งอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตหรือทำให้เกิดความพิการภายหลังการติดเชื้อ นอกจากนี้ยังสามารถก่อโรคในอวัยวะอื่น ๆ ที่มีทางติดต่อกับทางเดินหายใจเช่น ท่อยูเทเซียน (eustachian tube) ก่อให้เกิดโรคได้แก่หูชั้นกลางอักเสบเฉียบพลัน (acute otitis media), การอักเสบของโพรงอากาศ (acute sinusitis) และเยื่อบุตาอักเสบ (conjunctivitis) เป็นต้น

นอกจากนี้ไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทำหน้าที่เป็นเอนโดทอกซิน มีอยู่ที่ผนังเซลล์รวมทั้งโปรตีนที่จำเพาะต่อสายพันธุ์และต่อสปีชีส์พบอยู่ที่เมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ที่ผิวของเชื้อ *Haemophilus influenzae* บางสายพันธุ์จะปกคลุมด้วยแคปซูลซึ่งเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ จำแนกได้ตามแอนติเจนที่เป็นแคปซูล 6 ซีโรทัยป์ (serotype) คือซีโรทัยป์ a, b, c, d, e และ f นอกจากนี้ *H. influenzae* ยังแบ่งเป็น 8 ไบโอทัยป์ (biotype) คือ biotype I ถึง VIII โดยดูจากความแตกต่างทางชีวเคมี คือการสร้างอินโดล (Indole) การสร้างเอนไซม์ยูริเอส (urease) และออไนทีนดีคาร์บอกซิเลส (ornithine decarboxylase) ไบโอทัยป์ I-III มีมากที่สุด และซีโรทัยป์ b ซึ่งเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรครุนแรงพบว่าส่วนใหญ่เป็นไบโอทัยป์ I

จากรายงานที่ผ่านมา พบว่า *H. influenzae* เป็นเชื้อสาเหตุที่ก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบมากที่สุดในเด็ก มักเกิดจากเชื้อ *H. influenzae* type b (Hib) และมักก่อโรคในเด็กอายุตั้งแต่ 2 เดือน ถึง 3 ปีนอกจากนี้โรคหลอดลมและฝักปิดกล่องเสียงอักเสบ มักพบในเด็กอายุ 2-7 ปี โรคปอดบวม, ไซนัส และยังพบว่าเชื้อ *H. influenzae* สามารถก่อโรคซ้ำเติมหลังเกิดโรคติดเชื้อ *Streptococcus* ที่ทำให้เกิดโรคโพลีไมท์ในเด็ก การติดเชื้อนี้ในผู้ใหญ่ที่ปกติส่วนใหญ่ไม่มีผลกระทบมากนัก เนื่องจากมีภูมิคุ้มกันโรคที่เพียงพอต่อการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย แต่ถ้าผู้ที่มีสภาพร่างกายอ่อนแอ เชื้อนี้จะเข้าซ้ำเติมและก่อให้เกิดโรคได้ การติดเชื้อนี้ส่วนใหญ่จะมีผลกระทบต่อเด็กที่มีอายุน้อย และพบว่าถ้าติดเชื้อ *H. influenzae* แล้วให้การรักษาที่ไม่เหมาะสม ผู้ป่วยอาจมีอาการที่รุนแรงมากขึ้นโดยพบ อัตราการตายสูงถึงร้อยละ 90-100 แต่ถ้ารอดชีวิตอาจเกิดผลกระทบอย่างอื่น เช่น หูหนวก มี 6 พฤติกรรมผิดปกติเช่น การพูด เนื่องจากเชื้อเข้าทำลายระบบประสาทส่วนกลาง การก่อโรคของเชื้อ *H. influenzae* แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ

1. โรคติดเชื้อเฉียบพลันที่มาจากภายนอก (acute primary exogenous infection) เกิดจากเชื้อที่มีแคปซูลทัยป์ b (*H. influenzae* type b, Hib) ติดเชื้อโดยการสูดดมละอองฝอยจากคนไข้ หรือ พาหะนำโรคทำให้เกิดโรคนาโซฟาริงซ์อักเสบ (nasopharyngitis) มีอาการเจ็บคอและมีไข้ หลอดลม และฝักปิดกล่องอักเสบ (laryngoepiglottitis, croup) หลอดลมอักเสบเฉียบพลัน ปอดบวม ข้ออักเสบ หูอักเสบ

เยื่อหุ้มสมองอักเสบเฉียบพลันและเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ อายุเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบโดยมักพบในเด็กอายุ 2 เดือนถึง 3 ปี หลอดลม และฝาปิดกล่องเสียงอักเสบ มักพบในเด็กอายุ 2-7 ปี โดยฝาปิดกล่องเสียงเกิดอักเสบ และฝาปิดช่องลมบวมจะทำให้ขัดขวางการหายใจ ซึ่งทั้ง 2 โรคนี้แบคทีเรียจะเข้าถึงกระแสเลือด เนื่องจากมีแคปซูลจึงสามารถต้านทานต่อการทำงานของคอมพลีเมนต์ ทำให้เชื้อรอดชีวิตและเพิ่มจำนวนในเลือด

2. โรคติดเชื้อซ้ำเติมที่รุนแรงและเรื้อรังจากเชื้อภายใน (acute and chronic secondary endogenous respiratory infection) ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *H. influenzae* ชนิดที่ไม่มีแคปซูล ซึ่งพบในเสมหะของผู้ป่วยหลอดลมอักเสบเรื้อรังที่มีอาการหนัก โดยพบเชื้อจากเสมหะที่เป็นหนอง และเมื่อใช้ยาต้านจุลชีพจะทำให้อาการดีขึ้น นอกจากนี้แอนติบอดีในเลือดก็สูงด้วย

Mycoplasma พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ส่วนใหญ่เป็นพวก Facultative anaerobe มีชีวิตแบบ free living สามารถก่อโรคได้ในคน สัตว์และ พืช มีขนาดเซลล์เล็กมากประมาณ 0.2–1.0 ไมโครเมตร ไม่มีผนังเซลล์ มีเยื่อหุ้มเซลล์หนา เป็นพวก Cholesterol มีรูปร่างไม่แน่นอน เช่น กลม รี แท่ง เกลียวเส้นยาวหรือคล้ายผลฝรั่ง ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและแรงดันออสโมติกของอาหารเลี้ยงเชื้อและระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ

Mycoplasma pneumoniae เป็นแบคทีเรียขนาดเล็ก ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนบนและล่างที่พบได้บ่อยในเด็ก ทำให้เกิดอาการไอ เป็นไข้ เจ็บคอ หลอดลมอักเสบ ปอดบวม และเป็นสาเหตุการติดเชื้อในกลุ่มอาการ Primary atypical pneumonia ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีอาการไม่ค่อยรุนแรงจึงมักเรียกว่า walking pneumonia เชื้อ *M. pneumoniae* จัดอยู่ใน Class Mollicutes, Order Mycoplasmatales, Family Mycoplasmataceae, genera Mycoplasma เชื้อในจีนัสที่พบก่อโรคในคน

M. pneumoniae ติดต่อกันได้ทางระบบทางเดินหายใจ การระบาดของโรคเกิดขึ้นได้ง่ายมักเกิดในกลุ่มเล็ก ๆ การติดเชื้อเนื่องจากการสัมผัสใกล้ชิดรับละอองการไอหรือจามของผู้ป่วย มักพบการระบาดในชุมชน เช่น คนในครอบครัวเดียวกัน โรงเรียน โรงพยาบาล ค่ายทหาร เมื่อผู้ป่วยได้รับเชื้อไปแล้วจะมีระยะฟักตัวประมาณ 1-4 สัปดาห์

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวกจัดอยู่ใน Family Micrococcaceae มีรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วย สายสั้นๆ เป็นกึ่งหรือเป็นลักษณะพวงองุ่น (spherical shape) สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศและมีอากาศ (facultative anaerobes) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ 15 - 45 องศาเซลเซียส และเจริญได้ในระดับความเข้มข้นของเกลือสูงถึง 15 เปอร์เซ็นต์

เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ เช่นการติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อ และโรคอาหารเป็นพิษ มีการสร้างเม็ดสี (pigment) เหลืองในโคโลนี ส่วนใหญ่จำแนกเชื้อ *S. aureus* จากเชื้อชนิดอื่น ๆ ของ *Staphylococcus* โดยใช้ความสามารถในการทำให้พลาสมา แข็งตัวเนื่องจากการสร้างเอนไซม์ Coagulase

S. aureus ประกอบด้วยยีนทั้งหมดประมาณ 2,600 ยีน และมีดีเอ็นเอทั้งหมดในโครโมโซม 2.8 ล้านคู่เบส *S. aureus* แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ *S. aureus aureus* และ *S. aureus anaerobius* โดย *S. aureus* สามารถสร้างสารหรือโครงสร้างที่มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน ได้แก่

- แคปซูล (Capsule) เป็นโครงสร้างที่หุ้มอยู่ชั้นนอกสุดของเซลล์ การสร้างแคปซูลจะพบใน สายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรค เชื้อ *S. aureus* สามารถสร้างแคปซูลเมื่ออยู่ใน สิ่งมีชีวิต และอาจสูญเสียการสร้างไปเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สายพันธุ์ที่สร้างแคปซูลได้นั้นไม่สามารถใช้วิธีการจัดจำแนกด้วย phage (phage typable) และไม่สามารถสร้างเอนไซม์ coagulase ชนิดติดกับเซลล์ (clumping Factor)

- กรดไทโคอิก (teichoic acid) เป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีฟอสเฟตชนิดจำเพาะกับสายพันธุ์ (species – specific carbohydrate antigens) เชื้อชนิดที่สร้างแอนติเจนนี้ได้แก่ *S. aureus* ที่มี polysaccharide A และ *Staphylococcus epidermidis* ที่มี polysaccharide B

- โปรตีนเอ (protein A) เป็นโปรตีนอยู่ที่ผนังเซลล์โดยเชื่อมติดกับผนังเซลล์ชั้น peptidoglycan

- เอนไซม์ coagulase ชนิดติดกับเซลล์ อาจเรียกว่า clumping factor สร้างโดย *S. aureus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างแคปซูล โดยจะเกาะกันเมื่ออยู่ใน plasma ที่มีสาร fibrinogen อยู่ด้วยเอนไซม์ coagulase ชนิดติดกับเซลล์นี้เป็นส่วนของผิวเซลล์ซึ่งทำปฏิกิริยากับ α และ β chain ของ fibrinogen ทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันแบบไขว้ (cross linking)

Staphylococcus aureus สามารถพบได้ทั่วไปบนผิวหนัง หรือในโพรงจมูกของคนที่สุขภาพดี คนที่มีสุขภาพดีเหล่านี้เป็นพาหะแบคทีเรียโดยไม่แสดงลักษณะ หรืออาการของการติดเชื้อ อย่างไรก็ตามบางครั้งแบคทีเรียอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น การติดเชื้อที่ผิวหนัง บาดแผล ระบบปัสสาวะ ปอด กระแสเลือด และอาหารเป็นพิษได้ การติดเชื้อ *S. aureus* ส่วนมากสามารถรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วยยาปฏิชีวนะ อย่างไรก็ตามเชื้อ *S. aureus* จากการดื้อยา Methicillin (MRSA) เป็นสายพันธุ์เชื้อ *S. aureus* ที่สามารถทนต่อยาปฏิชีวนะ รวมถึงยา

Methicillin และยาปฏิชีวนะอื่น ๆ ที่ใช้กันทั่วไป เช่น Oxacillin, Penicillin, Amoxicillin และ การใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะซึ่งเป็นที่รู้จักอย่างกว้างขวาง

รูปแบบเภสัชภัณฑ์

ยาอีลิคเซอร์ (Elixirs) เป็นสารละลายในชนิดไฮโดรแอลกอฮอล์มีกลิ่นหอมและรสหวาน และใช้เป็นยารับประทานเท่านั้น ตัวทำละลายหรือน้ำกระสายยาที่สำคัญคือ แอลกอฮอล์ผสมน้ำในอัตราส่วนต่างๆ หรือส่วนผสมของตัวทำละลายอื่นๆที่ไม่ใช่น้ำ ซึ่งปกติจะมีแอลกอฮอล์ผสม อยู่ประมาณ 2.7-44% การที่ยามีแอลกอฮอล์ผสมอยู่นั้นจะช่วยทำให้ตัวยาละลายได้ง่ายขึ้นและทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดี

ยกตัวอย่างสูตรตำรับ *Gymnema sylvestre* Elixir

Gymnema extract	2	กรัม
Sodium saccharin	0.5	กรัม
Alcohol	15	มิลลิลิตร
Glycerin	2	มิลลิลิตร
Methyl paraben	0.2	กรัม
Propyl paraben	0.02	กรัม
Orange syrup	2	มิลลิลิตร
Water	qs	100 มิลลิลิตร

ยาอมชนิดลูกกวาด (Lozenges) เป็นยาเม็ดที่ใช้ออมให้ละลายในปากช้าๆ ไม่ให้กลืน โดยมากใช้เพื่อรักษาอาการในช่องปากและลำคอ เมื่อแบ่งประเภทตามเนื้อสัมผัสและส่วนประกอบจะแบ่งได้เป็น 4 ประเภท

1. Chewy or Caramel Based Medicated Lozenges ⁽⁴⁷⁾

ยาอมแบบเคี้ยวหรือยาอมที่ใช้คาราเมลเป็นยาพื้น มีวัตถุประสงค์เพื่อให้เคี้ยวแทนการปลดปล่อยยาอย่างช้าๆในปาก สูตรตำรับส่วนใหญ่จะใกล้เคียง หรืออ้างอิงมาจากสูตรตำรับยาเหน็บ ซึ่งประกอบด้วยกลีเซอริน เจลาติน และน้ำ ยาอมชนิดนี้มักมีรสผลไม้และอาจมีรสชาติเปรี้ยวเล็กน้อยเพื่อปกปิดรสขมของกลีเซอริน ส่วนผสมที่เป็นส่วนประกอบ คือ ยาพื้น สารก่อฟอง สารเก็บความชื้น สารหล่อลื่น สารแต่งกลิ่น และตัวยาสำคัญ ยาพื้นประกอบด้วยส่วนผสมของน้ำตาลและน้ำเชื่อมข้าวโพดในอัตราส่วน 50:50 ถึง 75:25 น้ำตาล

ต่อน้ำเชื่อมข้าวโพด สารก่อฟอง (whipping agents) นั้นใช้ในการรวมอากาศเข้าในส่วนผสมของยาพื้นเพื่อให้ได้ความรู้สึกนุ่มขณะที่เคี้ยว สารเก็บความชื้น (humectants) ได้แก่ กลีเซอริน โพรพิลีนไกลคอล และซอร์บิทอล มีการเติมสารหล่อลื่น (lubricants) เพื่อหลีกเลี่ยงการเกาะติดของฟันขณะเคี้ยว ซึ่งมักจะใช้น้ำมันพืช และไขมัน ยาอมชนิดนี้สามารถมีตัวยาสำคัญได้สูงถึง 35-40%

ยกตัวอย่างสูตรตำรับ Chewy or Caramel Based Medicated Lozenges

ตัวยาสำคัญ	0.5	กรัม
Glycerin	70	มิลลิลิตร
Gelatin	18	กรัม
Water	12	มิลลิลิตร
Methyl paraben	0.4	กรัม
Flavoring oil	3 – 4	หยด
Color	q.s	

2. Compressed Tablet Lozenges ⁽⁴⁸⁾

หากสารออกฤทธิ์หรือสารสำคัญไม่สามารถความร้อนได้ อาจถูกทำให้เป็นยาอมโดยการตอกอัด การเตรียมแกรนูลจะถูกเตรียมในลักษณะที่คล้ายกับที่ใช้กับการทำยาเม็ดตอกอัด ยาอมจะเตรียมโดยใช้อุปกรณ์การบีบอัดหรือเครื่องตอกที่แรงกว่าปกติ เพื่อให้ยาอมนั้นละลายในปากอย่างช้า ๆ ยาอมมักจะมีลักษณะแบน ขนาด, น้ำหนัก, ความแข็ง และเวลาการกร่อนระหว่าง 5/8 - 3/4 นิ้ว 1.5-4 กรัม 30-50 กิโลกรัมนิ้ว² และ 5-10 นาทีตามลำดับ ส่วนผสมของยาอมแบบตอกอัด ได้แก่ ยาพื้นหรือน้ำกระสายยาที่เป็นน้ำตาล เช่น เดกซ์โทรส, ซูโครส หรือใช้น้ำกระสายยาอื่น ๆ ได้แก่ น้ำกระสายยาที่ปราศจากน้ำตาล เช่น แมนนิทอล ซอร์บิทอล โพลีเอธิลีนไกลคอล (PEG) 6,000 และ 8,000 โดยสารยึดเกาะ (binder) มักใช้เป็นอะคาเซีย น้ำเชื่อมข้าวโพด น้ำเชื่อม เจลาติน โพลีไวนิลไพโรโรดิโดน ทรากาแคนท์ และเมซิลเซลลูโลส สารหล่อลื่น (Lubricant) มักใช้แมกนีเซียมสเตียเรต แคลเซียมสเตียเรต กรดสเตียริก และ PEG

ยกตัวอย่างสูตรตำรับ Clotrimazole troche USP 10 mg

Clotrimazole	10 mg
Croscarmellose sodium	
Dextrates	

Magnesium stearate

Microcrystalline cellulose

Povidone

3. Soft Lozenges ⁽⁴⁹⁾

มีวัตถุประสงค์เพื่อเคี้ยวหรือปลดปล่อยยาในปากอย่างช้า ๆ Soft Lozenges สามารถทำจาก PEG 1000 หรือ 1,450, ซ็อกโกแลตหรือน้ำตาลอะคาเซีย ในขณะที่บางสูตรตำรับยังสามารถมีอะคาเซียและซิลิกาเจล ซึ่งอะคาเซียใช้เพื่อให้พื้นผิวมีความนุ่มนวล เรียบเนียน และใช้ซิลิกาเจลเป็นสารแขวนลอยเพื่อหลีกเลี่ยงการตกตะกอนของส่วนผสมต่าง ๆ ลงไปที่ด้านล่างของแม่พิมพ์ในระหว่างการระบายความร้อน สูตรตำรับนี้ต้องใช้กระบวนการทำความร้อนที่ประมาณ 50°C จึงเหมาะสำหรับส่วนผสมที่ทนความร้อนเท่านั้น ปริมาณความชื้นและน้ำหนักของ Soft Lozenges ควรอยู่ในระหว่าง 0.5 - 1.5% และ 1.5-4.5 กรัมตามลำดับ Soft Lozenges ควรละลายหรือกร่อนลงไปอย่างช้า ๆ และสม่ำเสมอในระยะเวลาประมาณ 5 - 10 นาที แต่ไม่ควรเกิดการแตกตัว ข้อเสียของวิธีนี้คืออุณหภูมิที่จำเป็นสำหรับการเตรียมสูตรตำรับนี้ค่อนข้างสูง จึงไม่สามารถใช้วัตถุดิบหรือส่วนผสมที่ไม่สามารถทนความร้อนได้

ยกตัวอย่างสูตรตำรับ Polyethylene glycol troches

Polyethylene glycol 1000	10	กรัม
Active drug	1	กรัม
Sweeta® sweetener	20	packets
Mint extract	1	มิลลิลิตร
Food color	2	หยด

4. Hard Candy Lozenges ⁽⁵⁰⁾

Hard Candy Lozenges เป็นส่วนผสมของน้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตอื่น ๆ ในสถานะที่ไม่เป็นผลึก หรือสถานะแก้ว ปริมาณความชื้นและน้ำหนักของยาอมลูกอมแข็งควรอยู่ระหว่าง 0.5 ถึง 1.5% และ 1.5-4.5 กรัมตามลำดับ ควรละลายหรือกร่อนลงไปอย่างช้า ๆ และสม่ำเสมอในระยะเวลาประมาณ 5 - 10 นาที แต่ไม่ควรเกิดการแตกตัว อุณหภูมิที่จำเป็นสำหรับการเตรียมสูตรตำรับนี้ค่อนข้างสูง จึงไม่สามารถใช้วัตถุดิบหรือส่วนผสมที่ไม่สามารถทนความร้อนได้ ส่วนผสมสำหรับยาพื้นของ Hard Candy Lozenges คือ น้ำเชื่อมข้าวโพด (corn syrup) ซึ่งน้ำเชื่อมข้าวโพดที่ 43 °C เป็นที่ต้องการใน Hard Candy

lozenges มีเพิ่มสารให้ความหวาน เช่น ซูโครส เดกซ์โทรส มอลโตส และแลคโตส acidulents จะถูกเพิ่มลงในยาพื้นของ Hard Candy Lozenges เพื่อเสริมสร้างลักษณะกลิ่นของผลิตภัณฑ์สุดท้าย กรดที่ใช้แต่งรสชาติดังนี้โดยทั่วไป คือ กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก กรดฟูมาริก และกรดมาลิก และมีการแต่งสีด้วยสี FD & C ในขณะทีรสชาดที่ใช้ อาจจะเป็น เมนทอล, น้ำมันยูคาลิปตัส, สเปียร์มินท์ และรสเชอร์รี่ เป็นต้น ซึ่งใน Hard Candy lozenges สามารถมีตัวยาสำคัญได้ถึง 2-4 %

ยกตัวอย่างสูตรตำรับ Sildenafil Citrate 25 mg Sublingual Troches

Sildenafil citrate	600	มิลลิกรัม
Aspartame	500	มิลลิกรัม
Silica gel	480	มิลลิกรัม
Acacia	360	มิลลิกรัม
Flavor	qs	
PEG 1450	22	กรัม

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

พืช น้ำมันหอมระเหย เชื้อจุลินทรีย์ วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

พืช

1. รากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra* L.) จากบริษัท สมุนไพรท่าพระจันทร์ จำกัด

น้ำมันหอมระเหย

1. ใบสอ่งฟ้า (*Clausena harmadiana*) ได้มาจากการกลั่นจากห้องปฏิบัติการคณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพา

เชื้อจุลินทรีย์

1. *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ TBRC4930 จาก National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (Biotec)
2. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) จาก National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (Biotec)

วัสดุอุปกรณ์

1. Hot air oven Memmert รุ่น UNE
2. Hammer mill
3. โหลแก้ว
4. Buchner funnel
5. กระจาดกรอง เบอร์ 1
6. BUCHI Rotary Evaporator
7. Round bottom flask
8. Gas Chromatography Agilent 7890A
9. Volumetric flask 10, 25 ml
10. Separating funnel
11. TLC-Silica gel 60 GF₂₅₄ Aluminium sheets
12. Tank chromatography

13. Heating mantle รุ่น C-MAG HS7 บริษัท Becthai Bangkok equipment & chemical co., Ltd.
14. Micropipette 1000 μ l
15. Vortex mixer II รุ่น G5560E บริษัท Becthai Bangkok equipment & chemical co., Ltd.
16. Malvern Kinexus Rheometer
17. Test tube
18. Agar plate
19. Silicone molds
20. Screw-capped conical flask
21. Clamp
22. Strand
23. Aluminium foil
24. Autoclave HIRAYAMA รุ่น HVA-85/110
25. Incubator
26. Biological Safety Cabinet Class 2 ESCO รุ่น AC2-651
27. Beaker 25, 50, 100, 250, 600, 1000 ml
28. Cylinder 10, 25, 50, 100, 500, 1000 ml
29. Syringe
30. Stirring rod
31. Alcohol burner
32. Inoculating loop
33. Parafilm
34. Digital balance Mettler Toledo รุ่น MS 3002S
35. Analytical Balance Mettler Toledo รุ่น MS 204
36. Fume hood Easy lab รุ่น FSH45
37. ซ้อนเขา
38. UV Cabinet
39. Thermometer
40. Friability tester
41. Hardness tester

สารเคมี

1. 95% Ethanol บริษัท Chemical express co., Ltd.
2. 70% Ethanol บริษัท Chemical express co., Ltd.
3. Acetone
4. Trans-Anethole บริษัท Tokyo chemical industry co.,Ltd.
5. Sodium chloride
6. Hexane บริษัท Honeywell Burdick & Jackson co., Ltd.
7. Purified water
8. Agar powder, Bacteriological grade บริษัท Himedia Laboratories Pvt.Ltd.
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth บริษัท OXOID Ltd.
10. Dichloromethane บริษัท Honeywell Burdick & Jackson co., Ltd.
11. Vanillin reagent
12. PBS buffer pH 7.4
13. Porcine mucin
14. Cremophor RH40 บริษัท Krungthepchemi co., Ltd.
15. Isomalt บริษัท Yok intertrade co., Ltd.
16. Sucrose
17. Corn syrup บริษัท ซีเจ เจลเจดิง จำกัด (สาธารณรัฐเกาหลี)
18. Citric acid หจก.โอ.วี.เคมีเคิล แอนด์ ซัพพลาย
19. สีส้มอาหาร บริษัท Best odour co., Ltd.
20. Syrup BP
21. Glycerine บริษัท Heng huat co., Ltd.

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. ศึกษาค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับสมุนไพรที่มีฤทธิ์ละลายเสมหะจากพืชวงศ์ต่าง ๆ ตลอดจนวิธีการทดสอบฤทธิ์ละลายเสมหะในหลอดทดลอง ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย วิเคราะห์ของน้ำมันหอมระเหย ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถออกฤทธิ์ได้ และข้อมูลการเตรียมตำรับยาสูดดมและยาอม รวมทั้งวิธีการทดสอบความคงตัวของตำรับ

2. เตรียมสารสกัดชะเอมเทศ⁽⁵¹⁾ โดยการนำรากไปอบแห้งอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส น้ำหนัก 1 กิโลกรัม และบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง hammer mill จากนั้นทำการสกัดด้วยวิธีการหมัก (maceration, MTE) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% วางทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน แล้วกรองด้วย Buchner funnel จากนั้นนำไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator
3. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ anethole ด้วยเครื่อง Gas Chromatography โดยใช้สภาวะต่าง ๆ ดังนี้

ตารางที่ 3 สภาวะในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography

พารามิเตอร์	สภาวะที่ใช้
ปริมาณที่ฉีดสาร (Injection volume)	1 ไมโครลิตร
แก๊สตัวพา (Carrier gas)	ไฮโดรเจน 30 มิลลิลิตรต่อนาที
อุณหภูมิของตัวฉีด (Injector temperature)	200 องศาเซลเซียส (Split/Splitless 100:1)
ชนิดของตัวตรวจวัด (Detector)	FID (Flame ionization detector)
อุณหภูมิของตัวตรวจวัด (Detector temperature)	250 องศาเซลเซียส
ชนิดของคอลัมน์ (Column)	Agilent 19091J-413: 325 องศา 30 เมตร x 320 ไมโครเมตร x 0.25 ไมโครเมตร
ระบบอุณหภูมิของเตาอบ (Oven temperature programming)	60-200 องศาเซลเซียส

4. การตรวจสอบสาร anethole ของน้ำมันหอมระเหยจากใบสอองฟ้าด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC)⁽⁵²⁾ เพื่อดู TLC fingerprint โดยนำน้ำมันหอมระเหยมาเจือจางด้วยตัวทำละลาย ethanol แล้วนำไป spot ลงบนแผ่น TLC จากนั้นนำแผ่น TLC ไปใส่ลงใน tank chromatography ซึ่งบรรจุ mobile phase เอาไว้ และปล่อยให้ mobile phase (Hexane : Dichloromethane (5:1)) พาสารตัวอย่าง ผ่านไปบนแผ่น TLC จนถึงระดับ solvent front แล้วนำออกจาก tank จากนั้นตรวจสอบภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm แล้วสเปรย์ด้วย vanillin reagent (1% vanillin ใน 2% sulfuric acid ใน ethanol) จากนั้นนำไปให้ความร้อนสังเกตสีของ spot บนแผ่น TLC และคำนวณหาค่า R_f (Retention factor) ของ spot สารที่แยกได้
5. การทำ Validation⁽⁵³⁾

5.1 การหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)
คำนวณได้จากสมการ ดังนี้

$$\text{LOD} = \frac{3.3\sigma}{s}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10\sigma}{s}$$

σ คือ intercept standard deviation หรือ จุดตัดแกน Y ของสารมาตรฐาน

s คือ ความชันของ calibration curve

เมื่อได้ค่าจากสมการมาแล้วให้นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography
เพื่อนำมาวัดค่า Signal-to-noise ratio

5.2 การทำ specificity โดยใส่สารละลาย 3 ชนิด ดังตารางด้านล่างลงใน
separating funnel แล้วเติมน้ำ สารละลาย sodium chloride และ hexane
ลงไป แล้วเขย่าโดยใช้เครื่อง 30 นาที รอให้สารเกิดการแยกชั้น จากนั้นถ่ายสาร
ชั้น hexanes ใส่ในภาชนะที่เหมาะสม แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas
Chromatography ⁽⁵⁴⁾

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของสารในการทำ Specificity

ชื่อสารละลาย ชนิดสาร	สารมาตรฐาน anethole	สารมาตรฐาน anethole + สารช่วยใน ตำรับยา	สารช่วยใน ตำรับยา
สารมาตรฐาน Anethole	2 มิลลิลิตร	2 มิลลิลิตร	-
Hexane	2 มิลลิลิตร	2 มิลลิลิตร	4 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	7 มิลลิลิตร	5 มิลลิลิตร	5 มิลลิลิตร
น้ำเกลือ	5.6 มิลลิลิตร	5.6 มิลลิลิตร	5.6 มิลลิลิตร
สารช่วยในตำรับยา	-	2 มิลลิลิตร	2 มิลลิลิตร
รวม	16.6 มิลลิลิตร	16.6 มิลลิลิตร	16.6 มิลลิลิตร

6. การวิเคราะห์ปริมาณ Anethole⁽⁵⁵⁾ ในน้ำมันหอมระเหยสอ่งฟ้า โดยเตรียมสารมาตรฐาน
Anethole ที่ 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml,
และ 0.1 mg/ml ตามลำดับ แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง GC จากนั้นสร้าง
calibration curve ระหว่างความเข้มข้นของ anethole (mg/ml) และพื้นที่ใต้กราฟ

- (pA*s) แล้วหา linearity (r^2) และเตรียมสารตัวอย่าง โดยชั่งน้ำมันหอมระเหย 50 mg ใส่ volumetric flask ขนาด 25 ml แล้วเจือจางด้วย acetone นำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง GC จากนั้นนำผลที่ได้เปรียบเทียบกับ calibration curve
7. การทดสอบฤทธิ์ละลายเสมหะ⁽⁵⁶⁾ ของสารมาตรฐาน anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่่องฟ้า โดยทำการเตรียม PBS buffer pH 7.4 ปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นละลาย porcine mucin ใน PBS buffer pH 7.4 ให้มีความเข้มข้น 10% ทำการผสม 10% porcine mucin กับสารมาตรฐาน anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่่องฟ้าในปริมาณต่าง ๆ ได้แก่ 100, 250, 500 และ 750 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดความหนืดด้วยเครื่อง rheometer โดยทำการวัดความหนืดซ้ำ (3 ครั้ง/ตัวอย่าง) แล้วทำการเลือกความเข้มข้นต่ำที่สุดที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการละลายเสมหะ มาศึกษาการเสริมฤทธิ์เมื่อให้ร่วมกับชะเอมเทศ
 8. การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่่องฟ้าในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลชีพ^(57,58) โดยนำน้ำมันหอมระเหยส่่องฟ้าไปเจือจางกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ได้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย 5 ความเข้มข้นในแต่ละ plate ดังนี้ 0.4 $\mu\text{L/ml}$ 0.8 $\mu\text{L/ml}$ 1.7 $\mu\text{L/ml}$ 9 $\mu\text{L/ml}$ และ 17.5 $\mu\text{L/ml}$ จากนั้นทำการกระจายเชื้อจุลชีพ 100 μL ที่มีความขุ่นเทียบเท่า 0.5 McFarland standards ลงไปใน plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ $35\pm 2^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ positive control (อาหารเลี้ยงเชื้อ + เชื้อจุลชีพ + oxytetracycline) และ negative control (อาหารเลี้ยงเชื้อ + เชื้อจุลชีพ) เป็นตัวเปรียบเทียบ อ่านค่าโดยการสังเกตจำนวนโคโลนีในแต่ละ plate ด้วยตาเปล่า
 9. การพัฒนาตำรับยาอม^(59,60)ผสมสมุนไพรน้ำมันหอมระเหยจากใบส่่องฟ้า โดยผสมสารละลาย 70% isomalt หรือ sucrose กับ corn syrup ให้เข้ากัน จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วย hot plate เมื่อให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส ยกออกจาก hot plate แล้วเติม citric acid และสารแต่งสี คนให้เข้ากัน จากนั้นเทลงในพิมพ์ แล้วรอให้ยาอมแข็งตัว จากนั้นทำการคัดเลือกสูตรตำรับที่ดีที่สุดเพื่อนำมาทำซ้ำโดยใช้สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบส่่องฟ้าและสารสกัดชะเอมเทศลงไป
 10. การพัฒนาตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์⁽⁶¹⁾ผสมสมุนไพรกับน้ำมันหอมระเหยจากใบส่่องฟ้า โดยทำแบบวิธีแยกผสม ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 วัฏภาค วัฏภาคแรกเป็นน้ำมันหอมระเหยจากใบส่่องฟ้า และสารสกัดชะเอมเทศละลายในเอทานอล ส่วนวัฏภาคที่สองจะเป็นน้ำ และ cremophor RH40 ผสมกัน จากนั้นนำวัฏภาคที่สองเทลงในวัฏภาคแรกช้า ๆ และคนให้

เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วย syrup BP โดยทำการปรับปริมาณของส่วนประกอบของตำรับยาน้ำอิลิคเซอร์จนกว่าจะได้สูตรตำรับที่คงตัวมากที่สุด แล้วนำไปศึกษาความคงตัวต่อไป

11. การทดสอบความคงสภาพแบบเร่ง โดยนำตำรับยาอม และตำรับยาน้ำอิลิคเซอร์ เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C สลับกับการเก็บในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 3 เดือน ⁽⁶²⁾ ทำการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและประเมินลักษณะทางกายภาพของยาน้ำ ได้แก่ สี กลิ่น การแยกชั้น หรือตกตะกอน และทำการประเมินลักษณะทางกายภาพของยาอม เช่น ความกรอบ ความหนา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง รวมทั้งทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของยาอม โดยใส่ยาอม 2 เม็ดลงใน separating funnel แล้วเติมน้ำ สารละลาย sodium chloride และ hexane ลงไป แล้วเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที รอให้สารเกิดการแยกชั้น จากนั้นถ่ายสารชั้น hexane ใส่ในภาชนะที่เหมาะสม แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างวันที่ 0, 30, 60 และ 90 วัน

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากรากชะเอมเทศ

จากการบดลดขนาดรากชะเอมเทศได้เป็นผงละเอียดสีเหลืองอ่อนดังแสดงในรูปที่ 5 ซึ่งเมื่อนำไปสกัดด้วยเอทานอล 95% ได้สารสกัดเป็นสารละลายสีเหลืองเข้มดังแสดงในรูปที่ 6 จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้เป็นสารสกัดสีเหลืองน้ำตาล ลักษณะเหนียว น้ำหนักของสารสกัดเท่ากับ 62.76 กรัม คิดเป็น % yield เท่ากับ 6.267%



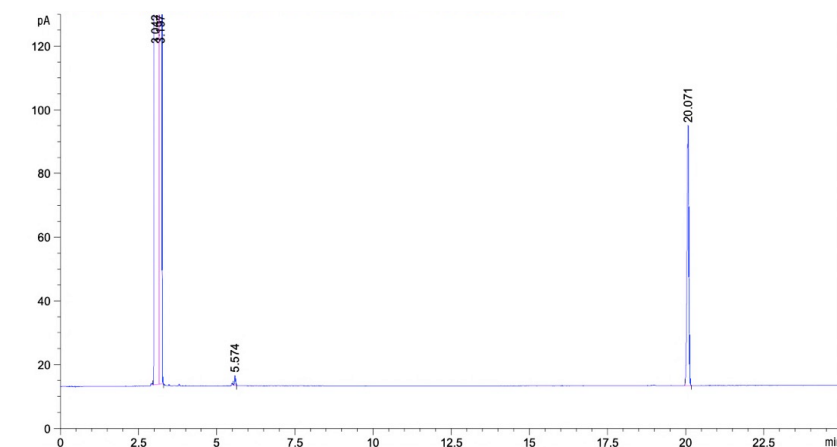
รูปที่ 5 ผงละเอียดของรากชะเอมเทศ



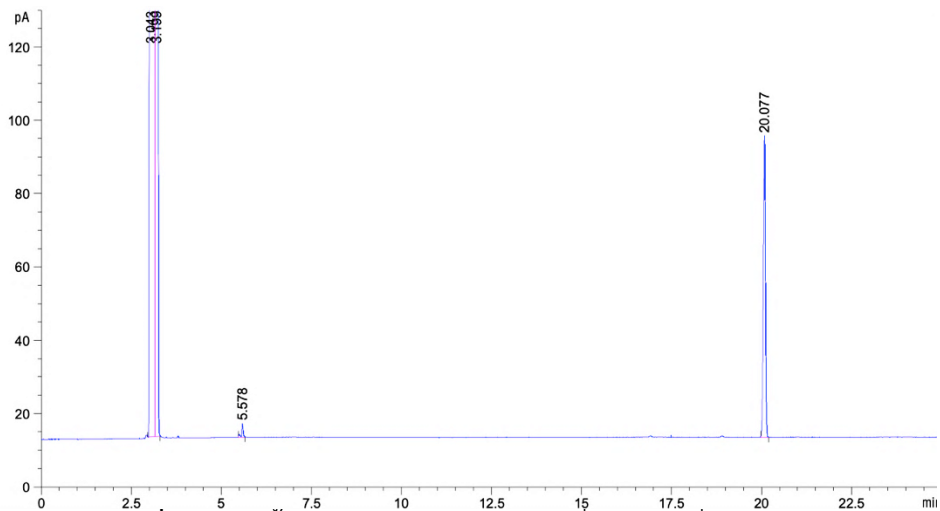
รูปที่ 6 สารสกัดที่ได้จากรากชะเอมเทศ

2. การทดสอบเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยด้วย Gas Chromatography

จากการทดสอบเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง GC โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน anethole ในสถานะเดียวกัน พบว่าสารมาตรฐาน anethole มี peak ขึ้นที่ 20.071 นาที และ น้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามี peak ขึ้นที่ 20.077 นาที ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามีสาร anethole อยู่



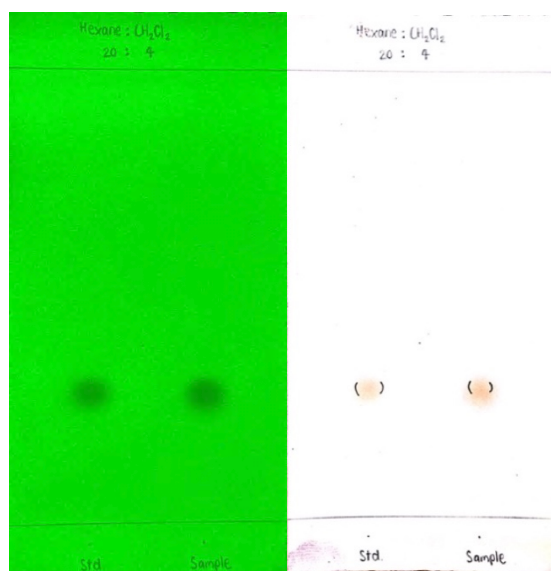
รูปที่ 7 กราฟสารมาตรฐาน anethole ที่วัดด้วยเครื่อง GC



รูปที่ 8 กราฟน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า ที่วัดด้วยเครื่อง GC

3. การทดสอบเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

จากการทดสอบเอกลักษณ์ด้วย GC พบว่ามีสาร anethole อยู่ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าจึงได้มีการทดสอบเอกลักษณ์ด้วย TLC ซ้ำ เพื่อยืนยันความถูกต้อง โดยใช้ stationary phase เป็น silica gel 60 GF254 aluminium sheets ส่วน mobile phase เป็น hexane : dichloromethane ด้วยอัตราส่วน 5:1 แล้ว ตรวจสอบด้วย UV 254 nm พบว่าทั้งสารมาตรฐาน anethole และน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามีจุดขึ้น 1 จุดที่ตรงกัน หลังจากนั้นนำไปสเปรย์ด้วย vanillin reagent แล้วให้ความร้อน พบว่าจุดที่ขึ้นมีสีชมพูอมส้ม จึงสามารถสรุปได้ว่า น้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามีสาร anethole เนื่องจากมีจุดขึ้นที่เดียวกับสารมาตรฐาน มีค่า R_f เท่ากับ 0.29 และเกิดสีชมพูอมส้ม โดยเกิดปฏิกิริยา vanillin reaction เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Muthanna J.⁽⁶³⁾ โดย vanillin จะเข้าไปแทนที่ที่ตำแหน่ง meta ของวง aromatic ในสภาวะกรดของสาร anethole ทำให้เกิดสีขึ้นมา⁽⁶⁴⁾



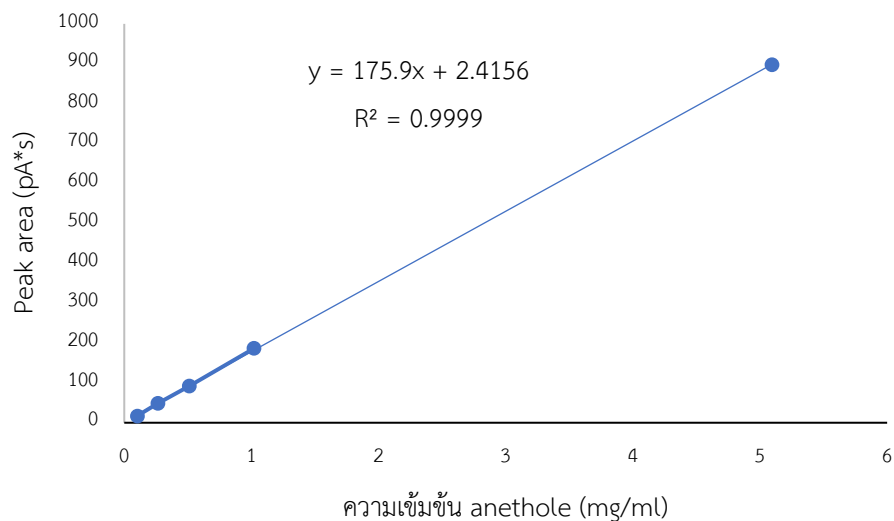
รูปที่ 9 การทดสอบเอกลักษณ์ด้วย TLC

4. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน anethole

เตรียมสารละลายมาตรฐาน anethole เป็นจำนวน 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml และ 0.1 mg/ml นำไปเข้าเครื่อง GC โดยทำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน แกน x เป็นความเข้มข้นของสารมาตรฐาน anethole และแกน y เป็น peak area ได้สมการเส้นตรง $y = 175.9x + 2.4156$ และได้ R^2 เท่ากับ 0.9999

ตารางที่ 5 ผลการสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน anethole

ความเข้มข้นของ สารมาตรฐาน anethole	ครั้งที่	Retention time (นาที)	Peak area (pA*s)	Symmetry
5 mg/ml	1	20.046	780.17	1.417
	2	20.054	937.74	1.539
	3	20.054	974.09	1.547
1 mg/ml	1	20.020	184.24	1.043
	2	20.021	181.43	1.021
	3	20.019	192.09	1.060
0.5 mg/ml	1	20.015	89.617	0.992
	2	20.015	94.125	1.052
	3	20.015	92.089	1.033
0.25 mg/ml	1	20.015	47.362	0.977
	2	20.015	48.549	1.015
	3	20.015	48.341	0.985
0.1 mg/ml	1	20.015	16.525	1.015
	2	20.014	17.384	0.926
	3	20.016	16.671	0.964



รูปที่ 10 กราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน anethole

5. การหาค่า limits of detection (LODs) และ limits of quantitation (LOQs)

Limits of detection (LODs) คือปริมาณต่ำสุดของสารที่วิเคราะห์ที่สามารถตรวจพบได้ แต่ไม่จำเป็นต้องทราบว่ามีปริมาณที่แน่นอนเท่าใด ซึ่งหาค่า LODs ได้จากวิธีดังต่อไปนี้

5.1 Based on the standard deviation of the response on the slope

โดย $LOD = 3.3 \sigma / S$

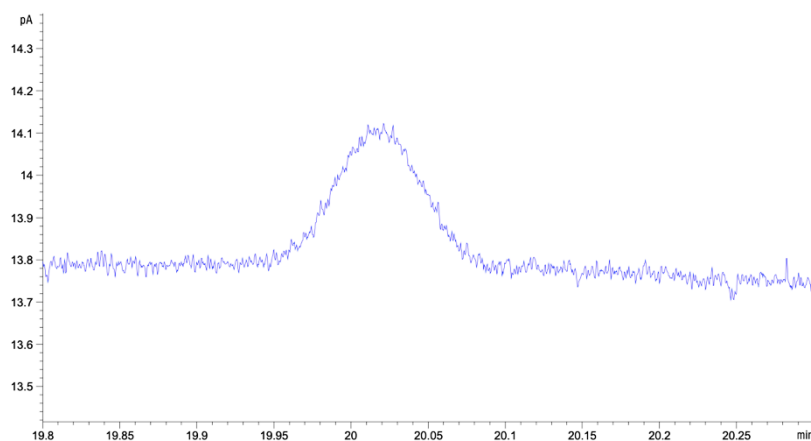
ซึ่ง σ = the standard deviation of the response

S = the slope of the calibration curve

จากกราฟมาตรฐานและการคำนวณพบว่าค่า LODs เท่ากับ 8.8 $\mu\text{g/ml}$

5.2 Based on signal-to-noise

โดยทั่วไปสำหรับ LODs ค่าที่ยอมรับได้คือ 3 หรือ 2 ต่อ 1



รูปที่ 11 Limits of detection (LODs)

จากกราฟ พบว่ามี signal-to-noise ratio อยู่ที่ประมาณ 2 : 1 ถือว่ายอมรับได้

Limits of quantitation (LOQs) คือปริมาณต่ำสุดของสารที่วิเคราะห์ที่สามารถตรวจพบได้ และสามารถตรวจหาเชิงปริมาณได้อย่างมีความเที่ยงและความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม ซึ่งหาค่า LOQs ได้จากวิธีดังต่อไปนี้

5.3 Based on the standard deviation of the response on the slope

โดย $LOQ = 10 \sigma / S$

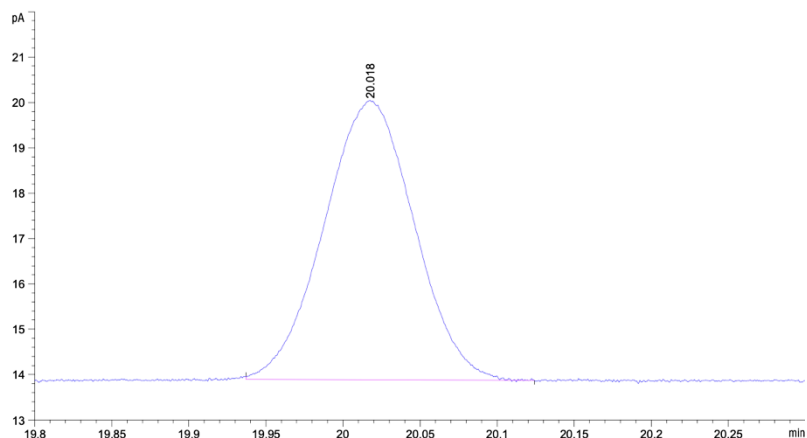
ซึ่ง σ = the standard deviation of the response

S = the slope of the calibration curve

จากกราฟมาตรฐานและการคำนวณพบว่าค่า LOQs เท่ากับ 26.8 $\mu\text{g/ml}$

5.4 Based on signal-to-noise

โดยทั่วไปสำหรับ LOQ ค่าที่ยอมรับได้คือ 10 ต่อ 1



รูปที่ 12 Limits of quantitation (LOQs)

จากกราฟ พบว่ามี signal-to-noise ratio อยู่ที่ประมาณ 10 : 1 ถือว่ายอมรับได้

6. การวิเคราะห์ปริมาณ anethole ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า

จากการวิเคราะห์ปริมาณ anethole ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าด้วยเครื่อง GC โดยเตรียมสารมาตรฐาน anethole ความเข้มข้น 5 mg/ml และเตรียมน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า ความเข้มข้น 2 mg/ml วิเคราะห์สารละ 2 ครั้ง พบว่าค่า peak area เฉลี่ยของสารมาตรฐาน anethole เท่ากับ 979.85 pA*s มี anethole อยู่ 5 mg/ml ส่วนค่า peak area เฉลี่ยของน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า เท่ากับ 366.95 pA*s แสดงว่ามี anethole 1.87 mg/ml ซึ่งคิดเป็น anethole ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าเท่ากับร้อยละ 93.5

ตารางที่ 6 วิเคราะห์ปริมาณ anethole ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า

	ครั้งที่	peak area (pA*s)	ค่า peak area เฉลี่ย (pA*s)
สารมาตรฐาน anethole	1	978.4	979.8
	2	981.3	
น้ำมันหอม ระเหยใบสอ่งฟ้า	1	364.3	366.9
	2	369.6	

7. การทำ specificity

จากการทดลองการทำ specificity เพื่อเป็นการยืนยันว่าสารที่เป็นส่วนประกอบในสูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์และสารที่เป็นส่วนประกอบในสูตรตำรับยาอมไม่มีผลต่อตำรับทำให้เกิดการสลายตัว การปนเปื้อนของสารอื่น ๆ หรือเกิดสารใหม่ขึ้นในตำรับ ซึ่งในการทดลองทำการวิเคราะห์สารโดยใช้เครื่อง GC เมื่อทำการทดลองวิเคราะห์สารมาตรฐาน anethole พบว่ามีค่า retention time ที่ 20.043 นาที และค่า peak area เท่ากับ 505.95 pA*s

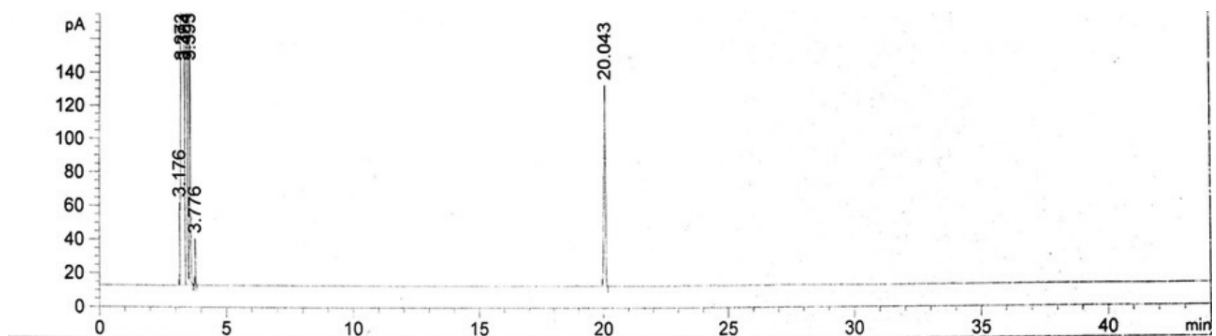
เมื่อทำการวิเคราะห์สารในส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์ร่วมกับสารมาตรฐาน anethole พบว่ามีค่า retention time ที่ 20.053 นาที และค่า peak area เท่ากับ 526.78 pA*s แต่เมื่อทำการวิเคราะห์สารในส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์ที่ผสมกับสารมาตรฐาน anethole เทียบกับสารมาตรฐาน anethole เพียงอย่างเดียว พบว่า retention time ใกล้เคียงกัน และไม่เกิด peak ของสารที่วิเคราะห์หรือสารอื่นที่ไม่ใช่ส่วนประกอบในตำรับ แสดงให้เห็นว่าสารในสูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์ไม่มีผลรบกวนในตำรับ

เมื่อทำการวิเคราะห์สารในส่วนประกอบสูตรตำรับยาอมรวมกับสารมาตรฐาน anethole พบว่ามีค่า retention time ที่ 20.053 นาที และค่า peak area เท่ากับ 547.50 pA*s แต่เมื่อทำการวิเคราะห์สารในส่วนประกอบสูตรตำรับยาอมที่ผสมกับสารมาตรฐาน

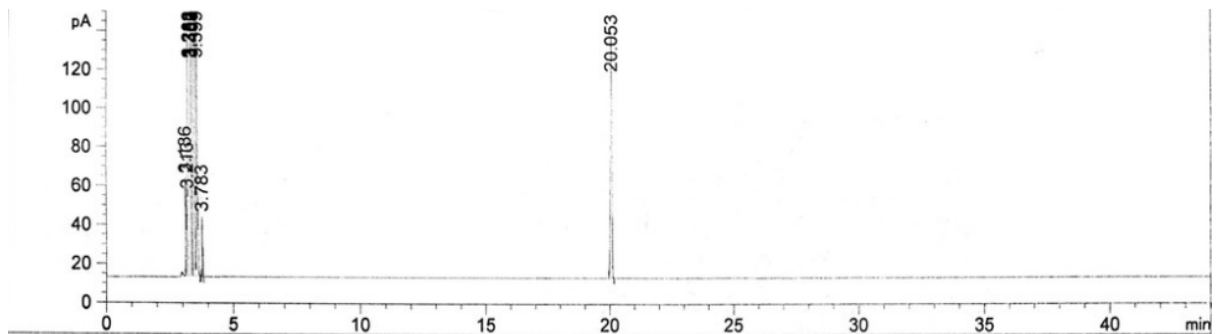
anethole เทียบกับสารมาตรฐาน anethole เพียงอย่างเดียว พบว่าไม่เกิด peak ของสารที่วิเคราะห์หรือสารอื่นที่ไม่ใช่ส่วนประกอบในตำรับ แสดงให้เห็นว่าสารในสูตรตำรับยาทั้งสองตำรับไม่มีผลรบกวนในตำรับ

ตารางที่ 7 ผลการทำ specificity

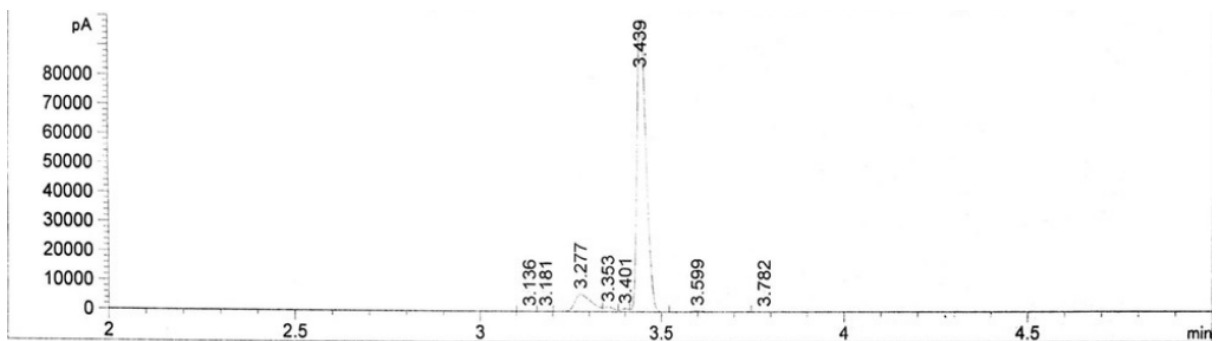
ชนิดของสาร	ครั้งที่	Retention time (นาที)	Peak area (pA*s)
สารมาตรฐาน anethole	1	20.043	505.95
	2	20.050	549.96
ส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์ + สารมาตรฐาน anethole	1	20.053	526.78
ส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์	1	-	-
ส่วนประกอบสูตรตำรับยาอม + สาร มาตรฐาน anethole	1	20.053	547.50
ส่วนประกอบสูตรตำรับยาอม	1	-	-



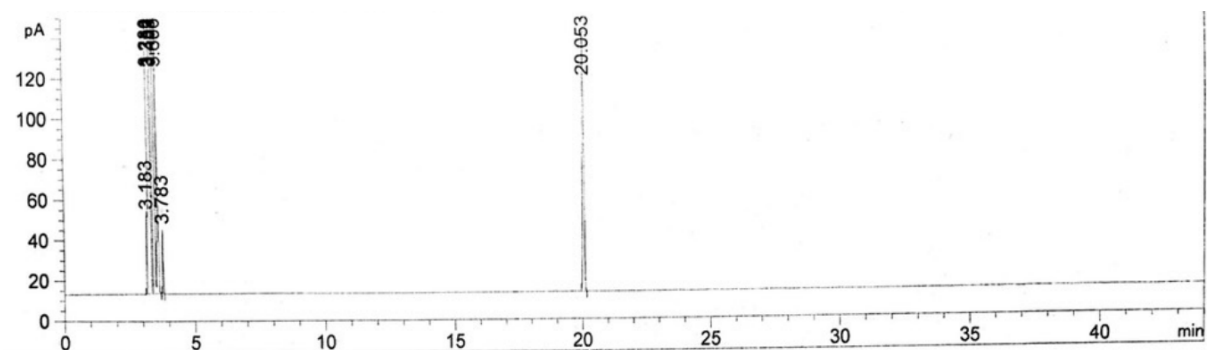
รูปที่ 13 ผลการทำ specificity ของสารมาตรฐาน anethole



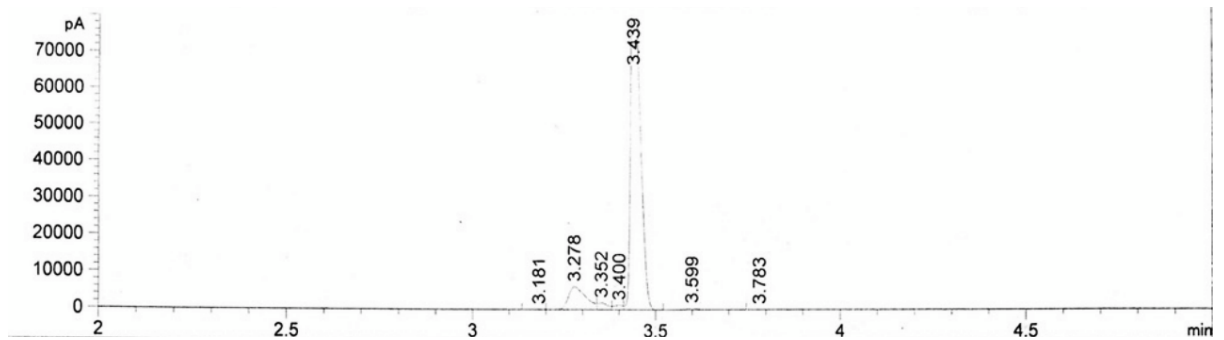
รูปที่ 14 ผลการทำ specificity ของส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอีลิคเซอร์
ผสมสารมาตรฐาน anethole



รูปที่ 15 ผลการทำ specificity ของส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอีลิคเซอร์



รูปที่ 16 ผลการทำ specificity ส่วนประกอบสูตรตำรับยาอมผสมสารมาตรฐาน anethole



รูปที่ 17 ผลการทำ specificity ส่วนประกอบสูตรตำรับยาอม

8. การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้าในการละลายเสมหะ

จากการทดลองการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้าในการละลายเสมหะ โดยตัวอย่างที่หนึ่งเป็นเสมหะเทียมเพียงอย่างเดียว ตัวอย่างที่สองเป็นการนำเสมหะเทียมมา ผสมกับสาร anethole ที่ปริมาณต่าง ๆ ตัวอย่างที่สามเป็นการนำเสมหะเทียมมาผสมกับ น้ำมันหอมระเหยส่่งฟ้าที่ปริมาณต่าง ๆ จากนั้นนำไปทดสอบหาความหนืดเพื่อดูผลค่าเฉลี่ย ค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดเฉือนเพื่อนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการวัดฤทธิ์ในการละลายเสมหะ (η (Pas)) จากผลการทดลองพบว่าตำรับที่มีเสมหะเทียมเพียงอย่างเดียว, anethole 100 μ l, anethole 250 μ l, anethole 500 μ l, anethole 750 μ l, ส่่งฟ้า 100 μ l, ส่่งฟ้า 250 μ l, ส่่งฟ้า 500 μ l, และส่่งฟ้า 750 μ l, ในแต่ละตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.2252, 0.1614, 0.1256, 0.1474, 0.1375, 0.1996, 0.1536, 0.1546 และ 0.1757 ตามลำดับ โดยที่ส่่งฟ้าปริมาณ 250 μ l มีค่าเฉลี่ยค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดเฉือนน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นที่มีการผสมส่่งฟ้า แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสามารถ ลดค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดเฉือนได้อย่างไม่มีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มตำรับอื่น ๆ

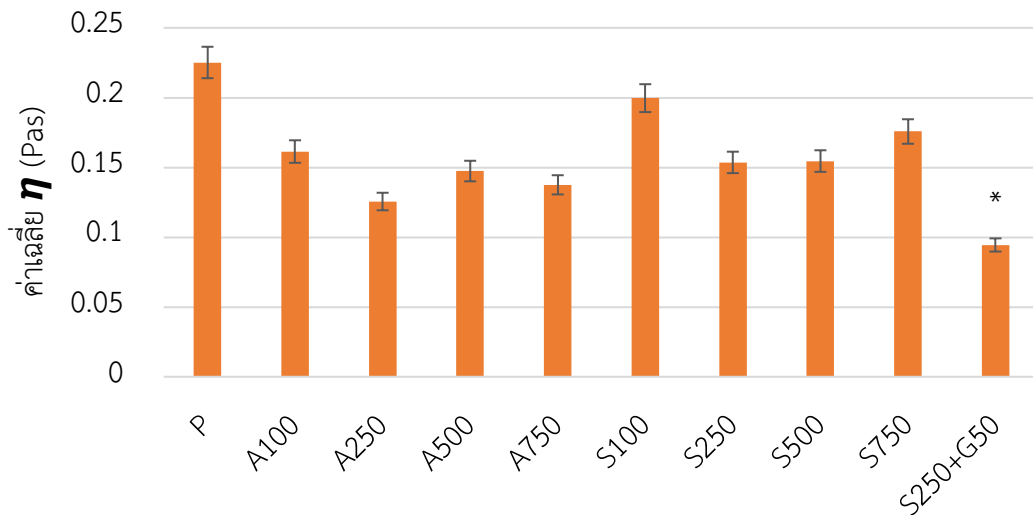
จากนั้นจึงนำส่่งฟ้าที่ปริมาณ 250 μ l ที่สามารถลดค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดเฉือน ได้มากที่สุดมาทดสอบโดยใช้ร่วมกับชะเอมเทศ 50 มิลลิกรัมพบว่าทำให้ค่าสัมประสิทธิ์ของ ความหนืดเฉือนของสารลดลงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0944 เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า สามารถลดค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดเฉือนได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเสมหะเทียม เพียงอย่างเดียว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าชะเอมเทศมีส่วนช่วยในการลดค่าสัมประสิทธิ์ของความ หนืดเฉือน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kuang Y. และคณะ⁽⁶⁶⁾ ที่ระบุไว้ว่าชะเอมเทศมีฤทธิ์ ช่วยในการขับเสมหะ และลดความถี่ในการไอได้

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าในการละลายเสมหะ

สารตัวอย่าง	ครั้งที่	η (Pas)	ค่าเฉลี่ย
เสมหะเทียม (P)	1	0.1564	0.2252
	2	0.2423	
	3	0.2769	
เสมหะเทียม + anethole 100 μ l (A100)	1	0.2174	0.1614
	2	0.0936	
	3	0.1731	
เสมหะเทียม + anethole 250 μ l (A250)	1	0.1179	0.1256
	2	0.1302	
	3	0.1286	
เสมหะเทียม + anethole 500 μ l (A500)	1	0.1313	0.1474
	2	0.1575	
	3	0.1534	
เสมหะเทียม + anethole 750 μ l (A750)	1	0.1239	0.1375
	2	0.1532	
	3	0.1355	
เสมหะเทียม + สอ่งฟ้า 100 μ l (S100)	1	0.0930	0.1996
	2	0.2489	
	3	0.2571	
เสมหะเทียม + สอ่งฟ้า 250 μ l (S250)	1	0.1731	0.1536
	2	0.1324	
	3	0.1553	
เสมหะเทียม + สอ่งฟ้า 500 μ l (S500)	1	0.1558	0.1546
	2	0.1473	
	3	0.1606	
เสมหะเทียม + สอ่งฟ้า 750 μ l (S750)	1	0.1667	0.1757
	2	0.2083	
	3	0.1522	

เสมหะเทียม + ส่องฟ้า 250 μ l + ชะเอมเทศ 50 mg (S250+G50)	1	0.0996	0.0944*
	2	0.0891	
	3	0.0946	

* $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับ เสมหะเทียม



* $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับ เสมหะเทียม

รูปที่ 18 กราฟแท่งแสดงฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่องฟ้าในการละลายเสมหะ

9. การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่องฟ้าในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่องฟ้าในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบว่า เมื่อใช้สาร anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่องฟ้า ความเข้มข้น 0.4 μ l/ml เชื้อยังสามารถขึ้นได้ แต่ความเข้มข้น 0.8 μ l/ml, 1.7 μ l/ml, 9 μ l/ml และ 17.5 μ l/ml เชื้อไม่สามารถขึ้นได้ จากนั้นเมื่อนำไปบ่มในหลอดทดลองต่ออีก 24 ชั่วโมง พบว่า เชื้อสามารถโตขึ้นได้ โดยดูจากความขุ่นของอาหารในหลอดทดลอง ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสาร anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่องฟ้ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งสาร anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่องฟ้าที่มีความเข้มข้นเดียวกันจะยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ไม่แตกต่างกัน

9.1 เชื้อ *Staphylococcus aureus*ตารางที่ 9 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ชื่อตัวอย่าง	ความเข้มข้น ($\mu\text{L/ml}$)	จำนวนโคโลนี ครั้งที่ 1	จำนวนโคโลนี ครั้งที่ 2	จำนวนโคโลนี ครั้งที่ 3
Anethole	0.4	+ (45)	มากกว่า 100 CFU	0
	0.8	0	0	0
	1.7	0	0	0
	9	0	0	0
	17.5	0	0	0
น้ำมันหอมระเหย ใบสอ่งฟ้า	0.4	+ (69)	0	0
	0.8	0	0	0
	1.7	0	0	0
	9	0	0	0
	17.5	0	0	0
Olive oil	0.4	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
	17.5	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
Oxytetracycline	0.4	0	0	0
Negative control	0	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
Control	0	0	0	0

9.2 ผลการบ่มเชื้อ *Staphylococcus aureus* ลงในหลอดทดลองของ plate ที่เชื้อไม่ขึ้นตารางที่ 10 ผลการบ่มเชื้อ *Staphylococcus aureus* ลงในหลอดทดลองของ plate ที่เชื้อไม่ขึ้น

ชื่อตัวอย่าง	ความเข้มข้น ($\mu\text{L/ml}$)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
Anethole	0.8	+	+	+
	1.7	+	-	+
	9	+	+	+
	17.5	+	+	+

น้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้า	0.8	+	+	-
	1.7	+	+	+
	9	+	+	-
	17.5	-	+	+
Oxytetracycline	0.4	-	-	-
Control	0	-	-	-

หมายเหตุ : (+) หมายถึง ชุ่ม, (-) หมายถึง ไม่ชุ่ม

9.2 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้าในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* พบว่า เมื่อใช้สาร anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้า ความเข้มข้น 0.4 $\mu\text{L/ml}$, 0.8 $\mu\text{L/ml}$, 1.7 $\mu\text{L/ml}$, 9 $\mu\text{L/ml}$ และ 17.5 $\mu\text{L/ml}$ เชื้อยังสามารถขึ้นได้ทั้งหมด แต่ความเข้มข้น 9 $\mu\text{L/ml}$ และ 17.5 $\mu\text{L/ml}$ เชื้อสามารถขึ้นได้น้อยลง ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสาร anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ได้เล็กน้อย และยับยั้งได้น้อยกว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งส่วนมากสาร anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้าที่มีความเข้มข้นเดียวกันจะยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ไม่แตกต่างกัน

การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้าในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดพบว่าทั้งสาร anethole และน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ซึ่งจากผลการทดลองฤทธิ์การยับยั้งของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ตีกว่า Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* และฤทธิ์ของสาร anethole กับน้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นเดียวกัน ส่วนมากสามารถยับยั้งเชื้อได้ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าในน้ำมันหอมระเหยใบส่่งฟ้ามีสาร anethole ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเพียงตัวเดียว โดยในงานวิจัยของ Pawel K. และคณะ⁽⁶⁵⁾ ได้ระบุว่าเมื่อนำสาร anethole ผสมกับยา mupirocin สามารถลดปริมาณ biofilm ที่ใช้ในการเกาะติดเยื่อเมือกของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจึงสอดคล้องกับผลการทดลอง นอกจากนี้สารยังมีความเข้มข้นสูง ยังสามารถยับยั้งเชื้อได้มากขึ้น จึงถือว่าเป็น dose-dependent ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

	ความเข้มข้น ($\mu\text{L/ml}$)	จำนวนโคโลนี ครั้งที่ 1	จำนวนโคโลนี ครั้งที่ 2	จำนวนโคโลนี ครั้งที่ 3
Anethole	0.4	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
	0.8	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
	1.7	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
	9**	+ (51)	+ (16)	+ (1)
	17.5**	+ (6)	+ (4)	+ (1)
น้ำมันหอมระเหย ใบสอ่งฟ้า	0.4	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
	0.8	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
	1.7	+ (83)	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
	9*	มากกว่า 100 CFU	+ (76)	มากกว่า 100 CFU
	17.5**	+ (8)	+ (36)	+ (41)
Olive oil	0.4	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
	17.5	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
Oxytetracycline	0.4	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
Negative control	0	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU	มากกว่า 100 CFU
Control	0	0	0	0

* $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับสาร anethole ความเข้มข้นเดียวกัน

** $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับสาร anethole ความเข้มข้น 0.4 $\mu\text{L/ml}$

10. การเตรียมตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์

จากการทดลองการเตรียมตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์เพื่อหาสูตรตำรับที่เหมาะสมและดีที่สุด ซึ่งในการทดลองการเตรียมตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์สูตรที่ 1 และ สูตรที่ 2 ไม่ได้มีการใส่สารช่วยละลาย (cremophor RH40 เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:5) และมีการใส่ saccharin ได้เป็นสารละลายสีเหลืองขุ่น ไม่ละลาย และเมื่อตั้งทิ้งไว้เกิดการแยกชั้น ต่อมาในตำรับที่ 3 ถึง 6 จึงมีการใส่สารช่วยละลายในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยลักษณะของตำรับไม่ได้มีความแตกต่างจาก 2 ตำรับแรก หลังจากนั้นจึงได้มีการเพิ่มปริมาณของสารช่วยละลายมากขึ้น โดยในตำรับสูตรที่ 4 มีการใส่สารช่วยละลาย 2 ml มีลักษณะของตำรับเป็นสารละลายใส มีความขุ่นเล็กน้อย และมีการแยกชั้นของสารที่ไม่ละลายชัดเจน ในส่วนของสูตรที่ 5 การใส่สารช่วยละลาย 4 ml มีลักษณะของตำรับเป็นสารละลายใสมีความขุ่นเล็กน้อย ไม่มีการแยกชั้นของสารอื่น และในส่วนของสูตรที่ 6 การใส่สารช่วยละลาย 6 ml มีลักษณะของตำรับเป็นสารละลายใสเหลือง และเมื่อตั้งทิ้งไว้ไม่เกิดการแยกชั้นขึ้น ดังนั้นจากการพัฒนาสูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์พบว่าสูตรที่ 6 เป็นสูตรตำรับที่เหมาะสมและดีที่สุด ซึ่งมีการใส่สารช่วยละลายคิดเป็นร้อยละ 20 ของตำรับ

ตารางที่ 12 สูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์

สูตรที่	น้ำมัน ส่องฟ้า (ml)	เซเอมเทศ (g)	saccharin (g)	ethanol (ml)	glycerine (ml)	syrup (ml)	น้ำ (ml)	cremophor RH40 เจือจาง ด้วยน้ำกลั่นใน อัตราส่วน 1:5 (ml)
1	0.5	0.3	0.15	12	2	3	9	-
2	0.5	0.3	0.15	14	5	5	3	-
3	0.5	0.3	-	14	2	4.5	7.5	1
4	0.5	0.3	-	14	2	4.5	7.5	2
5	0.5	0.3	-	14	2	4.5	7.5	4
6	0.5	0.3	-	14	2	4.5	7.5	6

ตารางที่ 13 ลักษณะตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์

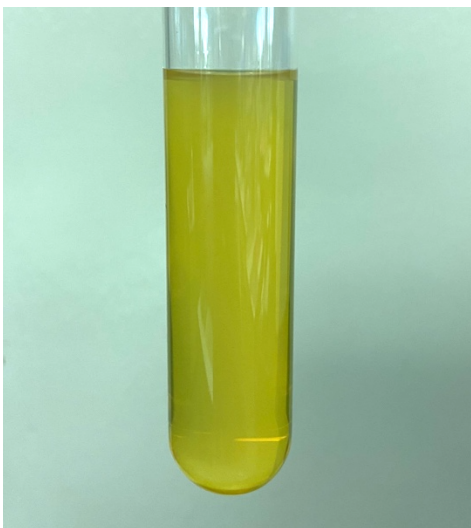
สูตรที่	ลักษณะตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์
1	สารละลายสีเหลืองขุ่น ไม่ละลาย และเมื่อตั้งทิ้งไว้เกิดการแยกชั้น
2	
3	
4	สารละลายใส มีความขุ่นเล็กน้อย และมีการแยกชั้นของสารที่ไม่ละลาย
5	สารละลายใส มีความขุ่นเล็กน้อย ไม่มีการแยกชั้นของสารอื่น
6	สารละลายใสสีเหลือง และเมื่อตั้งทิ้งไว้ไม่เกิดการแยกชั้น



รูปที่ 19 ลักษณะยาน้ำอิลิกเซอร์ตำรับที่ 3



รูปที่ 20 ลักษณะยาน้ำอิลิกเซอร์ตำรับที่ 4



รูปที่ 21 ลักษณะยาน้ำอิลิกเซอร์ตำรับที่ 5



รูปที่ 22 ลักษณะยาน้ำอิลิกเซอร์ตำรับที่ 6

11. การเตรียมตำรับยาอม

11.1 สูตรตำรับยาอม

จากการเตรียมตำรับยาอมโดยใช้ sucrose เป็นหลัก ในสูตรที่ 1 ถึง 18 พบว่าตำรับมีความเหลว เหนียว หนืด ไม่แข็ง และมีบางตำรับที่ยาอมมีสีขุ่น จากนั้นในสูตรที่ 19 ตำรับมีความแข็งมากขึ้น แต่ยังคงมีความเหนียวอยู่เล็กน้อย ซึ่งเมื่อเปลี่ยนจาก sucrose เป็น isomalt พบว่าตำรับมีความแข็งที่ดีขึ้น ใส และไม่เหนียว ซึ่งสูตรตำรับที่ดีที่สุดสำหรับตำรับยาอม คือสูตรที่ 23 โดย isomalt มีคุณสมบัติดูดความชื้นต่ำ จึงทำให้ยาอมไม่เหนียวติดกันเหมือนกับ sucrose และจากการที่ isomalt มีจุดหลอมเหลวที่ต่ำกว่า sucrose ทำให้ isomalt หลอมเหลวและเข้าสู่สถานะ hard crack ได้ง่ายกว่า sucrose ซึ่งจุดหลอมเหลวของ sucrose มีค่าสูงกว่าอุณหภูมิที่ทำให้น้ำตาลอยู่ในสถานะ hard crack จึงเกิดการไหม้ได้ง่ายกว่า

ตารางที่ 14 สูตรตำรับยาอม

สูตรที่	sucrose (g)	corn syrup (g)	น้ำ (ml)	citric acid (g)	สารสกัด ชะเอมเทศ (g)	น้ำมันหอมระเหย (ml)
1	45	12.5	20	0.2	-	-
2	30	8.5	20	0.2	-	-
3	45	12.5	20	0.2	-	-
4	50	12.5	25	0.2	-	-
5	47	15	20	0.2	-	-
6	45	12.5	15	0.5	-	-
7	50	12.5	20	0.6	-	-
8	45	12.5	20	0.5	-	-
9	45	12.5	20	0.2	-	-
10	50	12.5	15	0.3	-	-
11	45	8	15	0.3	-	-
12	50	0	15	0.3	-	-
13	45	0	15	0.3	-	-
14	45	0	5	0.3	-	-
15	45	0	7	0.3	-	-
16	90	60	67.5	0.8	-	-

17	90	40	67.5	0.9	-	-
18	135	45	50.625	1.2	-	-
19	135	30	50.625	1.2	-	-
20	90	10	33.75	1	-	-
21	90	25	33.75	1	-	-
สูตรที่	isomalt (g)	corn syrup (g)	น้ำ (ml)	citric acid (g)	สารสกัดชะเอมเทศ (g)	น้ำมันหอมระเหย (ml)
22	135	30	50.625	1.2	-	-
สูตรที่	70% isomalt (g)	corn syrup (g)	น้ำ (ml)	citric acid (g)	สารสกัดชะเอมเทศ (g)	น้ำมันหอมระเหย (ml)
23	108	44	5	1.2	-	-
24	54	22	5	1.15	0.2	5
25	108	44	5	1.2	0.2	1



รูปที่ 23 ลักษณะยาอมตำรับที่ 19



รูปที่ 24 ลักษณะยาอมตำรับที่ 22



รูปที่ 25 ลักษณะยาอมตำรับที่ 23

11.2 ความกร่อนของเม็ดยา

จากการนำยาอมจากสูตรที่ 25 จำนวน 10 เม็ดไปทำการหา % ความกร่อนพบว่าเม็ดยามีความกร่อนเท่ากับ 0.5% ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามที่ข้อกำหนดหัวข้อ friability ตาม USP ⁽⁶⁷⁾ กำหนดไว้คือ ไม่ควรเกิน 1%

ตารางที่ 15 ความกร่อนของเม็ดยา

ก่อน	หลัง	% ความกร่อน
37.88 g	37.69 g	0.5

11.3 เส้นผ่านศูนย์กลางของยาอม

ตารางที่ 16 ความกร่อนของเม็ดยา

เม็ดที่	เส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	เม็ดที่	เส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)
1	1.50	6	1.48
2	1.48	7	1.48
3	1.50	8	1.48
4	1.48	9	1.48
5	1.52	10	1.48

เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของยาอม เท่ากับ 1.49 เซนติเมตร

11.4 ความแปรปรวนของน้ำหนักยา (weight variation) ของสูตรตำรับที่ 25

เมื่อสุ่มตัวอย่างยาอมมา 20 เม็ด จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักแต่ละเม็ดอย่างละเอียด และคำนวณหาน้ำหนักเฉลี่ย ความเบี่ยงเบนของน้ำหนักยาอมแต่ละเม็ดเปรียบเทียบกับน้ำหนักเฉลี่ยที่คำนวณได้ โดยพบว่ามียาอม 1 เม็ดที่มีความเบี่ยงเบนของน้ำหนักจากค่าเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 5 ซึ่งถือว่าผ่าน เนื่องจากการมียาอมไม่เกิน 2 เม็ดที่เบี่ยงเบนจากน้ำหนักค่าเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 5 และไม่มีเม็ดใดที่มีความเบี่ยงเบนมากกว่า 2 เท่าของร้อยละของการเบี่ยงเบน

ตารางที่ 17 ความแปรปรวนของน้ำหนักยา

เม็ด ที่	น้ำหนัก (g)	ความ เบี่ยงเบน จากน้ำหนัก เฉลี่ย	ความ เบี่ยงเบน ของน้ำหนัก จากค่าเฉลี่ย (%)	เม็ด ที่	น้ำหนัก (g)	ความ เบี่ยงเบน จากน้ำหนัก เฉลี่ย	ความ เบี่ยงเบน ของน้ำหนัก จากค่าเฉลี่ย (%)
1	3.6996	0.0683	1.81	11	3.8405	0.0726	1.93
2	3.7499	0.0180	0.40	12	3.7217	0.0462	1.23
3	3.7683	0.0004	0.04	13	3.5811	0.1868	4.96
4	3.7734	0.0055	0.15	14	3.7934	0.0255	0.68
5	3.7766	0.0087	0.23	15	3.5671	0.2008	5.33
6	3.8353	0.0674	1.79	16	3.7109	0.0570	1.51
7	3.8633	0.0954	2.53	17	3.8216	0.0537	1.42
8	3.6207	0.1472	3.90	18	3.8090	0.0411	1.12
9	3.8681	0.1002	2.66	19	3.8878	0.1199	3.18
10	3.7774	0.0095	0.25	20	3.8921	0.1242	3.30

12. การทดสอบความคงสภาพแบบเร่ง

12.1 สูตรตำรับยาอม

จากการทดลองความคงสภาพแบบเร่งของตำรับยาอม โดยนำตำรับยาอมเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสาร anethole ในตำรับจากการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ GC ทำการทดสอบความคงสภาพแบบเร่งในวันที่ 0, 30, 60 และ 90 ซึ่งพบว่าปริมาณสารของสาร anethole ในตำรับเท่ากับ 0.19, 0.10, 0.17 และ 0.15 กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 18 การทดสอบความคงสภาพแบบเร่งของสูตรตำรับยาอม

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณ anethole ในตำรับ (g)			
	วันที่ 0	วันที่ 30	วันที่ 60	วันที่ 90
4	0.19	0.10	0.17	0.15

12.2 สูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์

จากการทดลองความคงสภาพแบบเร่งของตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์ โดยวิธีการนำตำรับน้ำอิลิกเซอร์จัดเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และจัดเก็บในตู้อบทดสอบเร่งสภาวะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสาร anethole ในตำรับจากการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ GC ทำการทดสอบความคงสภาพแบบเร่งในวันที่ 0, 30, 60 และ 90 ซึ่งจากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณของสาร anethole ในตำรับที่การทดสอบสภาพเร่งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่วิเคราะห์ 0, 30, 60 และ 90 พบว่ามีปริมาณสาร anethole ในตำรับเท่ากับ 1.77, 0.97, 0.74 และ 1.08 ตามลำดับ และการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณของสาร anethole ในตำรับที่การทดสอบสภาพเร่งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในวันที่วิเคราะห์ 0, 30, 60 และ 90 พบว่ามีปริมาณสาร anethole ในตำรับเท่ากับ 1.77, 0.92, 0.84 และ 1.06 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์ไม่มีความคงตัว มีการสลายตัวของสาร anethole ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา hydrolysis⁽⁶⁸⁾ และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิในการจัดเก็บสำหรับการทดลองที่การจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบการจัดเก็บที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสพบว่าปริมาณของสาร anethole ในตำรับมีความใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการจัดเก็บไม่ได้มีผลต่อการสูญเสียของสารในตำรับ

ตารางที่ 19 การทดสอบความคงสภาพแบบเร่งของสูตรตำรับยาน้ำอิลิกเซอร์

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณ anethole ในตำรับ (g)			
	วันที่ 0	วันที่ 30	วันที่ 60	วันที่ 90
4	1.77	0.97	0.74	1.08
40	1.77	0.92	0.84	1.06

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

จากการนำน้ำมันหอมระเหยของใบสอ่งฟ้า *Clausena harmandiana* (Pierre) Pierre ex Guillaumin มาทดสอบเอกลักษณ์ด้วย Gas Chromatography โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน anethole ในสภาวะเดียวกัน พบว่าสารมาตรฐาน anethole มี peak ขึ้นที่ 20.071 นาที และ น้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามี peak ขึ้นที่ 20.077 นาที ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามีสาร anethole อยู่ จากนั้นนำไปทดสอบเอกลักษณ์ซ้ำด้วยวิธี Thin Layer Chromatography ใช้ stationary phase เป็น silica gel 60 GF₂₅₄ aluminium sheets ส่วน mobile phase เป็น hexane : dichloromethane ด้วยอัตราส่วน 5:1 แล้ว ตรวจสอบด้วย UV 254 nm และนำไปสเปรย์ด้วย vanillin reagent พบว่าทั้งสารมาตรฐาน anethole และน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามีจุดขึ้น 1 จุดที่ตรงกัน มีค่า R_f เท่ากับ 0.29 และเกิดสีชมพูอมส้ม โดยเกิดปฏิกิริยา vanillin reaction เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Muthanna J. และคณะ⁽⁶³⁾ โดย vanillin จะเข้าไปแทนที่ที่ตำแหน่ง meta ของวง aromatic ในสภาวะกรดของสาร anethole ทำให้เกิดสีขึ้นมาได้⁽⁶⁴⁾

การสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน anethole โดยแกน x เป็นความเข้มข้นของสารมาตรฐาน anethole และแกน y เป็น peak area ได้สมการเส้นตรง $y = 175.9x + 2.4156$ และได้ R² เท่ากับ 0.9999 จากนั้นหาค่า limits of detection (LODs) และ limits of quantitation (LOQs) ได้เท่ากับ 0.0088 mg/ml และ 0.0268 mg/ml ตามลำดับ และหาจาก signal-to-noise พบว่า LODs ได้อัตราส่วน 3 : 1 และ LOQs ได้อัตราส่วน 10 : 1 ซึ่งถือว่าเป็นค่าที่ยอมรับได้

การวิเคราะห์ปริมาณ anethole ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าด้วยเครื่อง Gas Chromatography โดยเตรียมสารมาตรฐาน anethole ความเข้มข้น 5 mg/ml และเตรียมน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า ความเข้มข้น 2 mg/ml พบว่าค่า peak area เฉลี่ยของสารมาตรฐาน anethole เท่ากับ 979.85 pA*s ส่วนค่า peak area เฉลี่ยของน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า เท่ากับ 366.95 pA*s แสดงว่ามี anethole 1.87 mg/ml ซึ่งคิดเป็นร้อยละ anethole ในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า เท่ากับ 93.5

จากการทดลองการทำ specificity เพื่อเป็นการยืนยันว่าสารที่เป็นส่วนประกอบในสูตรตำรับยาน้ำอิลิเคเซอร์และสารที่เป็นส่วนประกอบในสูตรตำรับยาอมไม่มีผลต่อตำรับทำให้เกิดการสลายตัว การปนเปื้อนของสารอื่น ๆ หรือเกิดสารใหม่ขึ้นในตำรับ พบว่าสารในส่วนประกอบสูตรตำรับยาอม และสารในส่วนประกอบสูตรตำรับยาน้ำอิลิเคเซอร์ไม่มีผลรบกวนในตำรับ

การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าในการละลายเสมหะ พบว่าเมื่อผสมสอ่งฟ้า ปริมาณ 250 μl กับเสมหะเทียม ทำให้มีค่าเฉลี่ยค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดเฉือนเท่ากับ 0.1536 ซึ่งเป็นค่าที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอื่น และจากนั้นจึงนำสอ่งฟ้าที่ปริมาณ 250 μl มาทดสอบโดยใช้ร่วมกับชะเอมเทศ 50 มิลลิกรัม ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดเฉือนของสารลดลง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0944 ซึ่งมีความแตกต่างกับเสมหะเทียมเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ

การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้าในการต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* พบว่าทั้งสาร anethole และน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ซึ่งจากผลการทดลองฤทธิ์การยับยั้งของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ตีกว่า Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* และฤทธิ์ของ สาร anethole กับน้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นเดียวกัน ส่วนมากสามารถยับยั้งเชื้อได้ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าในน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้ามีสาร anethole ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเพียงตัวเดียว

การทดลองการเตรียมตำรับยาน้ำอิลิเคเซอร์พบว่าตำรับที่เหมาะสมและดีที่สุดคือ สูตรที่ 6 โดยมีการใส่สารช่วยละลาย 6 ml มีลักษณะของตำรับเป็นสารละลายใสเหลือง และเมื่อตั้งทิ้งไว้ไม่เกิดการแยกชั้นขึ้น ซึ่งมีการใส่สารช่วยละลายคิดเป็นร้อยละ 20 ของตำรับ

การเตรียมตำรับยาอมเมื่อเปลี่ยนจาก sucrose เป็น isomalt พบว่าตำรับมีความแข็งที่ดีขึ้น ใส และไม่เหนียว ซึ่งสูตรตำรับที่ดีที่สุดสำหรับตำรับยาอม คือสูตรที่ 23 โดย isomalt มีคุณสมบัติดูดความชื้นต่ำ จึงทำให้ยาอมไม่เหนียวติดกันเหมือนกับ sucrose และจากการที่ isomalt มีจุดหลอมเหลวที่ต่ำกว่า sucrose ทำให้ isomalt หลอมเหลวและเข้าสู่สถานะ hard crack ได้ง่ายกว่า sucrose ซึ่งจุดหลอมเหลวของ sucrose มีค่าสูงกว่าอุณหภูมิที่ทำให้น้ำตาลอยู่ในสถานะ hard crack จึงเกิดการไหม้ได้ง่ายกว่า จากนั้นนำยาอมจากสูตรที่ 25 ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยใบสอ่งฟ้า และ สารสกัดชะเอมเทศ จำนวน 10 เม็ดไปทำการหา % ความกร่อนพบว่าเมื่อยามีความกร่อน 0.5% ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามที่ข้อกำหนดหัวข้อ friability ตาม USP กำหนดไว้คือ ไม่ควรเกิน 1% โดยเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของยาอม เท่ากับ 1.49 เซนติเมตร และหาความแปรปรวนของน้ำหนักยาของสูตรตำรับที่ 25 พบว่าผ่าน เนื่องจากการมียาอมไม่เกิน 2 เม็ดที่เบี่ยงเบนจากน้ำหนักค่าเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 5 และไม่มีเม็ดใดที่มีความเบี่ยงเบนมากกว่า 2 เท่าของร้อยละของการเบี่ยงเบน

จากการทดลองความคงสภาพแบบแรงของตำรับยาอมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในวันที่ วิเคราะห์ 0, 30, 60 และ 90 พบว่ามีปริมาณสารของสาร anethole ในตำรับเท่ากับ 0.19, 0.10, 0.17 และ 0.15 กรัม ตามลำดับ และจากการทดลองความคงสภาพแบบแรงของตำรับยาน้ำอิลิเคเซอร์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่วิเคราะห์ 0, 30, 60 และ 90 พบว่ามีปริมาณสาร anethole ใน ตำรับเท่ากับ 1.77, 0.97, 0.74 และ 1.08 ตามลำดับ สำหรับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในวันที่

วิเคราะห์ 0, 30, 60 และ 90 พบว่ามีปริมาณสาร anethole ในตำรับเท่ากับ 1.77, 0.92, 0.84 และ 1.06 ตามลำดับ ซึ่งจะพบว่าตำรับยาอมมีการสลายตัวของสาร anethole ช้ากว่าตำรับยาน้ำ อิลิคเซอร์ที่ปฏิกิริยา hydrolysis ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิในการจัดเก็บ สำหรับการทดลองที่การจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบกับการจัดเก็บที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสพบว่าปริมาณของสาร anethole ในตำรับมีความใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการจัดเก็บไม่ได้มีผลต่อการสลายของสารในตำรับ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดสอบฤทธิ์ในการขับเสมหะเพิ่มเติม รวมถึงทดสอบความพึงพอใจของอาสาสมัครที่มีต่อการผลิตภัณฑ์
2. ควรทดสอบฤทธิ์การต้านการเกาะเยื่อเมือกของเชื้อจุลชีพในเชื้อจุลชีพที่พบบ่อยที่ก่อโรค เช่น *Streptococcus pyogenes* เป็นต้น

บรรณานุกรม

1. Worrall G. Common cold. Can Fam Physician. 2011;57(11): 1289-90.
2. อาจารย์ ดร. ชาญวิทย์, วิยะดา เมธัสกุล, มาเรียม เกาะประเสริฐ, อัญชลี ทองเพชร. ผลของโปรแกรมการให้สุขศึกษาที่มีต่อความรู้และทักษะของผู้ดูแลเด็กป่วยด้วยโรคติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนบน [อินเทอร์เน็ต]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 1 พ.ค. 2563]. เข้าถึงได้จาก: https://th.rajakul.go.th/_admin/file-download/review0002286.pdf
3. มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเภสัชศาสตร์ [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเภสัชศาสตร์; 2559 [ปรับปรุงเมื่อ 27 มิถุนายน 2559 ; เข้าถึงเมื่อ 2 พฤษภาคม 2563] เข้าถึงได้จาก: <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/309>
4. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. เส้นทางพัฒนาสมุนไพรไทยสู่ความยั่งยืน. พิมพ์ครั้งที่ 5. นนทบุรี: ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2558.
5. Wang G-W, Hu W-T, Huang B-K, Qin L-P. Illicium verum: A review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. Journal of ethnopharmacology. 2011; 136: 10-20.
6. Sun W, Shahrajabian MH, Cheng Q. Anise (*Pimpinella anisum* L.), a dominant spice and traditional medicinal herb for both food and medicinal purposes. Cogent Biology. 2019;5(1): 673-88.
7. Sheppard EP, Boyd EM. Lemon oil as an expectorant inhalant. Pharmacological Research Communications. 1970;2(1): 1-16.
8. Kukhetpitakwong R, Hahnvajjanawong C, Homchampa P, Leelavatcharamas V, Satra J, Khunkitti W. Immunological adjuvant activities of saponin extracts from the pods of *Acacia concinna*. International immunopharmacology. 2006; 6: 1729-35.
9. DeFilipps RA, Krupnick GA. The medicinal plants of Myanmar. PhytoKeys. 2018(102):1-341.
10. Poomanee W, Chaiyana W, Intasai N, Leelapornpisid P. Biological activities and characterization of the pod extracts from sompoi (*Acacia concinna* linn) grown in northern Thailand. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2015; 7: 237-41.

11. Kuang Y, Li B, Fan J, Qiao X, Ye M. Antitussive and expectorant activities of licorice and its major compounds. *Bioorg Med Chem*. 2018 Jan 1;26(1):278-84.
12. เบญจวรรณ คฤห์พัฒนา, ยุพาพร สรรพ์วัตร, ส้าอาน หมอกขุนทด. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบส่องฟ้าและคุณสมบัติความเป็นพิษต่อปลวก. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2549 สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้. 2549: 165-9.
13. Veselin Marinov, Stefka Valcheva-Kuzmanova. Review on the pharmacological activities of anethole. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*. 2015; 2(2): 14-9
14. K. V. Peter. *Handbook of Herb and Spices*. 2nd ed. Woodhead Publishing; 2012.
15. บัญชียาหลักแห่งชาติ 2561. ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. ราชกิจจานุเบกษาเล่มที่ 135, ตอนพิเศษ 14. (ลงวันที่ 19 มกราคม 2561).
16. Guo L, Zhang C, Li L, Xiao Y-q. [Advances in studies on *Platycodon grandiflorum*]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2007; 32(3): 181-6.
17. Ji M-Y, Bo A, Yang M, Xu J-F, Jiang L-L, Zhou B-C, et al. The Pharmacological Effects and Health Benefits of *Platycodon grandiflorus*-A Medicine Food Homology Species. *Foods*. 2020;9(2):142.
18. Yang B, Xiao Y-Q, Liang R-X, Wang R-J, Li W, Zhang C, et al. Studies on expectorant compounds in volatile oil from root and rhizome of *Aster tataricus*. *Zhongguo Zhong yao za zhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica*. 2008;33:281-3.
19. Kageetunchinee Nanirankul, Prasan Tangyuenyongwatana. DEVELOPMENT OF GLYCYRRHIZA GLABRA EXTRACT IN LIPOSOME FORM. Research & Academic service office 2019 (cited 10 March 2020):1002. Available from: <https://symposium.payap.ac.th/research/p621.pdf>
20. Shitole M, Vt P. STUDY OF POTENTIAL ANTITUSSIVE ACTIVITY OF GLYCYRRHIZA GLABRA GRANULES USING A COUGH MODEL INDUCED BY SULFUR DIOXIDE GAS IN MICE. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2019;12:262-7.
21. Pino J, Bello A, Urquiola A, Marbot R. Chemical Composition of Cajuput Oil (*Melaleuca leucadendra* L.) from Cuba. *Journal of Essential Oil Research - J ESSENT OIL RES*. 2002; 14:10-1.

22. Chalchat J-C, Sidibé L, Maksimović Z, Petrovic S, Gorunovic M. Essential Oil of *Abies alba* Mill., Pinaceae, from the Pilot Production in Montenegro. *Journal of Essential Oil Research - J ESSENT OIL RES.* 2001;13:288-9.
23. Li L-L, Cui Y, Guo X-H, Ma K, Tian P, Feng J, et al. Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Gingerols and Shogaols from Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) in Rats by UPLCQ-ExactiveHRMS. *Molecules.* 2019;24(3):512.
24. Jahan Y, Mahmood T, Bagga P, Kumar A, Singh K, Mujahid M. FUTURE PROSPECTS OF COUGH TREATMENT; HERBAL MEDICINES v/s MODERN DRUGS. 2015;6:1000-9.
25. Zhou Q, Liang D, Deng A, Zhang J, Wu C, Nie Z, et al. Antitussive, expectorant and bronchodilating effects of ethanol extract of *Sorghum bicolor* (L.) Moench roots. *Journal of Ethnopharmacology.* 2013;149(1):297-302.
26. Wang D, Zhu J, Wang S, Wang X, Ou Y, Wei D, et al. Antitussive, expectorant and anti-inflammatory alkaloids from *Bulbus Fritillariae Cirrhosae*. *Fitoterapia.* 2011;82(8):1290-4.
27. de Barros Alves GM, de Sousa Maia MB, de Souza Franco E, Galvão AM, da Silva TG, Gomes RM, et al. Expectorant and antioxidant activities of purified fumarprotocetraric acid from *Cladonia verticillaris* lichen in mice. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics.* 2014;27(2):139-43.
28. Ge Y, Liu J, Su D. In vivo evaluation of the anti-asthmatic, antitussive and expectorant activities of extract and fractions from *Elaeagnus pungens* leaf. *Journal of Ethnopharmacology.* 2009;126(3):538-42.
29. Han N, Chang C, Wang Y, Huang T, Liu Z, Yin J. The in vivo expectorant and antitussive activity of extract and fractions from *Reineckia carnea*. *Journal of Ethnopharmacology.* 2010;131(1):220-3.
30. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. ส่องฟ้า (อินเทอร์เนต). [เข้าถึงเมื่อ 1 พ.ค. 2563]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.tistr.or.th/sakaerat/plant%20in%20sakaerat/plant%20list/155ส่องฟ้า.pdf>
31. Maneerat W, Phakhodee W, Ritthiwigrom T, Cheenpracha S, Deachathai S, Laphookhieo S. Phenylpropanoid derivatives from *Clausena harmandiana* fruits. *Phytochemistry Letters.* 2013; 6(1): 18-20.

32. Arinee Chatchawanchonteera, Jinda Wangboonsakul, Chavi Yenjai, Thanapon Thongchua, Phitchaya Saenubol, Yadfon Phonthongchaisawat, Peerapol Sukon. Comparative Antibacterial Activity Of Stem, Root Bark And Leaf Extracts Of Clausena Harmandiana Against Bacteria Isolated From Canine Otitis Externa. KKU Vet J. 2013; 23(1): 110-8.
33. Faculty of Engineering Chulalongkorn University. Gas Chromatography [internet]. [cited 24 February 2020]. Available from: <http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/gas-chromatography-gc>.
34. Tonka Insawang, Supachira SriChangwang, Supalak Prasarn. RIC KKU NEWSLETTER. Gas Chromatography [internet]. 2015 [cited 24 February 2020]. Available from: <https://mdresearch.kku.ac.th/files/news/filesnews/IFgrflgJ5tKqdsU.pdf>
35. SCSCIENCECO, LTD. Gas chromatography[internet]. [cited 24 February 2020]. Available from: https://www.thaitechno.net/t1/knowledge_detail.php?id=1230&uid=41046
36. Veselin Marinov, Stefka Valcheva-Kuzmanova. Review on the pharmacological activities of anethole. Scripta Scientifica Pharmaceutica. 2015; 2(2): 14-9
37. Badgujar S, Patel V, Bandivdekar A. Foeniculum vulgare Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. BioMed Research International. 2014;2014:32
38. Kwiatkowski P, Pruss A, Wojciuk B, et al. The Influence of Essential Oil Compounds on Antibacterial Activity of Mupirocin-Susceptible and Induced Low-Level Mupirocin-Resistant MRSA Strains. Molecules. 2019;24(17):3105.
39. Zahid MSH, Awasthi SP, Hinenoya A, Yamasaki S. Anethole inhibits growth of recently emerged multidrug resistant toxigenic Vibrio cholerae O1 El Tor variant strains in vitro. J Vet Med Sci. 2015;77(5):535-40.
40. Kim K, Lee H, Seol G. Anti-inflammatory effects of trans -anethole in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2017;91:925-30.

41. Shahrajabian MH, Sun W, Cheng Q. Chinese star anise and anise, magic herbs in traditional Chinese medicine and modern pharmaceutical science. *Asian Journal of Medical and Biological Research*. 2019;5:162-79.
42. Marinov V, Valcheva-Kuzmanova S. Review on the pharmacological activities of anethole. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*. 2015;2:14.
43. Badgujar S, Patel V, Bandivdekar A. *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. *BioMed Research International*. 2014;2014:32.
44. E-lactancia.org. 2013. Assessment Report On *Pimpinella Anisum* L., Fructus And *Pimpinella anisum* L., Aetheroleum [internet]. Available from: <http://www.e-lactancia.org/media/papers/Anis-DS-EMA2012.pdf>.
45. Asanasen, P., 2010. Siriraj E-Public Library. [internet] Si.mahidol.ac.th. Available from: <https://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/articledetail.asp?id=327>.
46. Niyomwit, K. and Khammarit, S. [internet] Available from: <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/pnc/article/download/17298/0/133979/>
47. Pothu R, Yamsani M. LOZENGES FORMULATION AND EVALUATION: A REVIEW. 2014.
48. Dailymed.nlm.nih.gov. 2020. Clotrimazole Troche (Lozenges) USP. [internet] [cited 8 April 2020]. Available from: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=9f6b9cba-c90a-4aee-9a73eaeffb455f97&type=display>
49. Larry L. Augsburger. and Stephen W. Hoag., 2008. Pharmaceutical Dosage Forms Tablets [internet]. Available from: https://books.google.co.th/books?id=JP_LBOAAQBAJ&pg=RA1PA370&lpg=RA1PA370&dq=soft+lozenges+in+market&source=bl&ots=dXcezfoOIk&sig=ACfU3U3g6wE09xeVPtds9Ck8eZcjdoPGg&hl=th&sa=X&ved=2ahUKEwidnuyJmLvpAhVMzDgGHbqRCzEO6AEwBH0ECAsOAQ#v=onepage&q=soft%20lozenges%20in%20market&f=false
50. Majekodunmi, S., 2014. A Review On Lozenges. [online] Article.sapub.org. Available from: http://article.sapub.org/10.5923.j.ajmms.20150502.07.html?fbclid=IwAR0YoJG6bUrcrkr7GB5piUKihbUCxjMn_XcuE9vq0CXISj19P64xMGaXaE#Ref

51. ชนัญ ผลประไพ, ศรัณยู อุ๋นทวี. การพัฒนากระบวนการเตรียมสารสกัดสมุนไพรไทย ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. Thai Journal of Science and Technology. 2562; 8(5): 479-92.
52. Muthanna J. Mohammed. Isolation and identification of anethole from *Pimpinella anisum* L. fruit oil. An antimicrobial study. Journal of Pharmacy Research 2009, 2(5),915-9
53. สุภาณี ดวงธีรปรีชา. การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์. บทความวิชาการเพื่อการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์. 2561.
54. United States Pharmacopeial Convention, Inc. Menthol Lozenges. U.S. PHARMACOPEIA 2006; 29 :1339.
55. Hajimehdipoor H, Shekarchi M, Khanavi M, Adib N, Amri M. A validated high performance liquid chromatography method for the analysis of thymol and carvacrol in *Thymus vulgaris* L. volatile oil. Pharmacogn Mag. 2010;6(23):154-8.
56. Wisastra R, Arifin P. Ex Vivo evaluation of the mucolytic effect from a natural herbal combination of *Echinacea purpurea*, *Sambucus nigra*, *Glycyrrhiza glabra*, *Vitex trifolia*, and *Zingiber officinale*. 2020.
57. Croze OA, Ferguson GP, Cates ME, Poon WC. Migration of chemotactic bacteria in soft agar: role of gel concentration. Biophys J. 2011; 101(3): 525-34.
58. Van den Abbeele P, Roos S, Eeckhaut V, et al. Incorporating a mucosal environment in a dynamic gut model results in a more representative colonization by lactobacilli. Microb Biotechnol. 2012; 5(1): 106-115.
59. Siham Abdoun A, Reem Alenizi, Formulation and evaluation of metronidazole lozenges for oral thrush. Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences. 2019; 6 (3): 5-10.
60. Stephen O. Majekodunmi. A Review on Lozenges. American Journal of Medicine and Medical Sciences. 2015; 5(2): 99-104.
61. Khurde Sonali S, Nagoba Shivappa N, Moholkar Aparark V, Hindole Sunil S. FORMULATION AND EVALUATION OF ELIXIR OF GYMNEMA SYLVESTRE BY USING LEAF EXTRACT. PHARMACEUTICAL SCIENCES. 2018.
62. Hnin Ei Hlaing N, Pakpayat N, Boonme P. Stability and Release Kinetics of Natural Oil Microemulsions Containing Nicotinamide. Journal of cosmetic science. 2020; 71: 23-36.

63. Mohammed MJ. Isolation and identification of anethole from *Pimpinella anisum* L. fruit oil. An antimicrobial study. *Journal of Pharmacy Research*. 2009;2(5):915-9.
64. Price, van Scoyoc, and Butler. Vanillin Assay. *Agric* 2002; 26: 1214-1218.
65. Kwiatkowski P, Grygorcewicz B, Pruss A, Wojciuk B, Dołęgowska B, Giedrys-Kalemba S, Sienkiewicz M, Wojciechowska-Koszek I. The Effect of Subinhibitory Concentrations of trans-Anethole on Antibacterial and Antibiofilm Activity of Mupirocin Against Mupirocin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. *Microb Drug Resist*. 2019 Dec;25(10):1424-29.
66. Kuang Y, Li B, Fan J, Qiao X, Ye M. Antitussive and expectorant activities of licorice and its major compounds. *Bioorg Med Chem*. 2018 Jan 1;26(1):278-84.
67. United States Pharmacopeial Convention. U.S. Pharmacopeia National Formulary [internet]. 2012 [cited 2 April 2021]. Available from: <https://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/usp35/PDF/0867-%20%5B1216%5D%20TABLET%20FRIABILITY.pdf>
68. Ling Chang C, Kyu Cho I, Li QX. Insecticidal Activity of Basil Oil, trans-Anethole, Estragole, and Linalool to Adult Fruit Flies of *Ceratitis capitata*, *Bactrocera dorsalis*, and *Bactrocera cucurbitae*. *Journal of Economic Entomology*. 2009;102(1):203-9.

ภาคผนวก

แบบฟอร์มรายงานการเงิน
 รายงานสรุปการเงิน
 โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
 ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ

การเตรียมและการประเมิณยาอมและยาน้ำอิลิกเซอร์ที่มีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากใบ
 ส่องฟ้า

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ภก.อ.ดร.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 25 พฤษภาคม 2563 ถึง 25 มีนาคม 2564

ระยะเวลาดำเนินการ 10 เดือน ตั้งแต่วันที่ 25 พฤษภาคม 2563 ถึง 25 มีนาคม 2564

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 9,000 บาท เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2563

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้ง ไว้	งบประมาณที่ใช้ จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/ เกิน
1. ค่าพืชสมุนไพร	2,000 บาท	500 บาท	เหลือ 1,500 บาท
2. ค่าอุปกรณ์สำหรับ ปฏิบัติการ	1,000 บาท	275 บาท	เหลือ 725 บาท
3. ค่าสารเคมีและวัตถุดิบ	4,000 บาท	8,000 บาท	เกิน 4,000 บาท
4. ค่าโปสเตอร์	500 บาท	500 บาท	0 บาท
5. ค่าพิมพ์เอกสาร	400 บาท	350 บาท	เหลือ 50 บาท
6. ค่าวิทยานิพนธ์	1,100 บาท	600 บาท	เหลือ 500 บาท
รวม	9,000บาท	10,225 บาท	เกิน 1,225 บาท

(.....)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย