



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การเพิ่มการละลายของเตตระไฮโดรเคอร์คูมินเพื่อการตั้งตำรับสำหรับใช้ภายนอก
และการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

Enhanced solubility of tetrahydrocurcumin for topical formulation
and the biological activities evaluation

โดย

นสภ.พิชชากร วัฒนพลาชัยกุล	รหัสบัณฑิต 59210181
นสภ.สร้อยพร สกลวรรณรักษ์	รหัสบัณฑิต 60210228
นสภ.สุนิสา สุทธิตั้งกวีเชียร	รหัสบัณฑิต 60210229

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2564

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การเพิ่มการละลายของเตตระไฮโดรเคอร์คูมินเพื่อการตั้งตำรับสำหรับใช้ภายนอก
และการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

Enhanced solubility of tetrahydrocurcumin for topical formulation
and the biological activities evaluation

โดย

นสภ.พิชชากร วัฒนพลาชัยกุล รหัสบัณฑิต 59210181

นสภ.สรลพร สฤลวรรณรักษ์ รหัสบัณฑิต 60210228

นสภ.สุนิสา สุทธิตังกวิเชียร รหัสบัณฑิต 60210229

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2564

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

รายงานฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตั้งตำรับโชนเนอร์สำหรับเครื่องสำอางที่ใช้ภายนอกของสารเตตระไฮโดรเคอร์คูมิน (tetrahydrocurcumin; THC) โดยใช้เทคนิค solid dispersion และศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร THC ซึ่งเหตุผลที่ทางคณะผู้จัดทำได้เลือกหัวข้อนี้เนื่องจากเห็นว่า ในปัจจุบันนิยมนำสาร THC มาใช้เป็นองค์ประกอบในตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์บำรุงผิวพรรณ ซึ่งมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสาร THC ที่เกี่ยวข้องกับการบำรุงผิวพรรณ และความงาม ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อลดการสร้างเม็ดสีเมลานิน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และสาร THC มีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ยากทางคณะผู้จัดทำเลยนำเทคนิค solid dispersion มาใช้เพื่อเพิ่มการละลาย โดยการลดขนาดของสารสำคัญให้มีขนาดเล็กที่สุด ร่วมกับการใช้พอลิเมอร์ที่เหมาะสมเป็น carrier ในการตั้งตำรับ และที่ผู้จัดทำสนใจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระสามารถกำจัดและลดความรุนแรงของ Reactive oxygen species (ROS) ที่เกิดขึ้นภายในร่างกายได้ เมื่อมีสารอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ Reactive oxygen species (ROS) เกิดภายในร่างกายจึงเกิดการทำลายโมเลกุลอื่น ๆ ต่อกันเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้า รอบดวงตา และผิวพรรณ รวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ

ผู้จัดทำหวังว่าโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้จะให้ความรู้ และ สามารถนำไปพัฒนาให้เกิดประโยชน์ได้ต่อไป

คณะผู้วิจัย

นสภ.พิชชากร วัฒนพลาชัยกุล	รหัสสถิติ 59210181
นสภ.สรลพร สุกุลวรรณรักษ์	รหัสสถิติ 60210228
นสภ.สุนิสา สุทธิตั้งกวีเชียร	รหัสสถิติ 60210229

9 เมษายน 2565

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2564

เรื่อง การเพิ่มการละลายของเตตระไฮโดรเคอร์คูมินเพื่อการตั้งตำรับสำหรับใช้ภายนอก และการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | |
|--------------------------------|--------------------|
| 1. นสภ.พิชชากร วัฒนพลาชัยกุล | รหัสนิสิต 59210181 |
| 2. นสภ.สรลพร สุกุลวรรณรักษ์ | รหัสนิสิต 60210228 |
| 3. นสภ.สุนิสา สุทธิตังกวิเชียร | รหัสนิสิต 60210229 |

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | |
|------------------------------------|---------------|
| 1. ญญ. ดร.เนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ | ที่ปรึกษาหลัก |
| 2. ญญ. ผศ. ดร.อาภา เพชรสัมฤทธิ์ | ที่ปรึกษาร่วม |
-

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตั้งตำรับเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอกของสารเตตระไฮโดรเคอร์คูมิน (tetrahydrocurcumin; THC) โดยใช้เทคนิค solid dispersion ในการเพิ่มการละลาย และศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร THC จากการศึกษาพบว่า การทำ solid dispersion ที่มีอัตราส่วน THC : PVP K-30 เท่ากับ 1:9 มีค่าการละลายที่ดีที่สุดเท่ากับ 307.202 µg/mL และเมื่อนำ solid dispersion ของ THC : PVP K-30 อัตราส่วน 1:9 ที่มี THC 1000 µg/mL และ THC บริสุทธิ์ 1000 µg/mL ไปละลายกับ PEG 400 มีค่าการละลาย เท่ากับ 639.516 และ 726.349 µg/mL ตามลำดับ จากนั้นนำสารทั้งสองชนิดนี้ไปละลายในตัวทำละลายร่วมของ PEG 400 และน้ำ และตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ พบว่าสารละลาย solid dispersion ของ THC มีลักษณะเป็นสารละลายใส ไม่มีตะกอน และสารละลาย THC บริสุทธิ์ แม้มีลักษณะเป็นสารละลายใส แต่มีตะกอนเกิดขึ้น ในการตั้งตำรับโชนเนอร์สำหรับใช้ภายนอก โดยใช้ solid dispersion อัตราส่วนนี้ แล้วปรับ pH ให้อยู่ในช่วง pH 5.0-6.0 พร้อมทั้งทดสอบความคงตัวด้วยการเก็บตำรับที่อุณหภูมิ 4°C, 40°C และอุณหภูมิห้องในที่มืดและสว่าง เป็นระยะเวลา 24 วัน และทดสอบในสภาวะเร่งโดยวิธี Heating-cooling cycle จำนวน 6 cycles พบว่าทุกตำรับ มีความคงตัวดี ไม่เกิดการตกตะกอน หรือเปลี่ยนแปลงสี ค่า pH อยู่ในช่วง 3.86-4.70 นอกจากนี้เมื่อประเมินฤทธิ์ การต้านอนุมูลอิสระของสารละลาย THC บริสุทธิ์ และตำรับโชนเนอร์ก่อน และหลังการทดสอบความคงตัว โดยวิธี DPPH และ ABTS assays พบว่าทุกตำรับมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) และ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) แปรผันตรงกับความเข้มข้น

ของ THCสรุปได้ว่าการทำ solid dispersion ของ THC : PVP K-30 อัตราส่วน 1:9 ที่มี THC 1000 µg/mL นี้จะเป็นทางหนึ่งที่สามารถนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่ต้องการ THC เป็นองค์ประกอบสำคัญต่อไปในอนาคต

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ภญ. ดร.เนตรชนก เจียงสืบชาติวิระ

Senior Project Academic Year 2021

: Enhanced solubility of tetrahydrocurcumin for topical formulation and the biological activities evaluation

By

- | | |
|--------------------------------------|-------------|
| 1. Ms. Picharkorn Wattanapalachaikul | ID 59210181 |
| 2. Ms. Sarunporn Sakulwanarak | ID 60210228 |
| 3. Ms. Sunisa Sutthitangkawichian | ID 60210229 |

Advisor

- | | |
|---|--------------------|
| 1. Dr. Nadechanok Jiangseubchatveera | Ph.D. (Advisor) |
| 2. Assistant Professor Arpa Petchsomrit | Ph.D. (Co-advisor) |
-

ABSTRACT

This research aims to develop the externally used cosmetic formulation of tetrahydrocurcumin (THC) using a solid dispersion technique for increasing the solubility and to investigate the antioxidant activities of THC. The results found that the solid dispersion of THC: PVP K-30 (1:9) showed the best solubility at 307.202 $\mu\text{g/mL}$. Then, the solid dispersion of THC: PVP K-30 (1:9) that contained THC 1000 $\mu\text{g/mL}$ and the pure THC 1000 $\mu\text{g/mL}$ was dissolved in PEG 400 showed the solubility at 639.516 and 726.349 $\mu\text{g/mL}$, respectively. After that these two compounds were dissolved in co-solvent (PEG 400 and water) and set at room temperature for 1 week, the results revealed a clear solution without sediments in the solid dispersion solution while the THC solution found a clear solution with sediments. The externally used cosmetic formulations were developed using this ratio of solid dispersion, adjusted pH 5.0-6.0, and also test the stability at 4°C, 40°C, and room temperature for 24 days and a Heating-cooling cycle (6 cycles). All formulations showed good stability without sediments or color change with pH in the range of 3.86-4.70. Moreover, the antioxidant evaluation of pure THC solution and toner formulations were investigated before and after the stability tests using DPPH and ABTS assays. The results showed that all formulations had antioxidant activities with Trolox equivalent antioxidant (TEAC) and Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) values which were directly proportional to

the concentration of THC. In conclusion, the solid dispersion of THC: PVP K-30 (1:9) that contained THC 1000 µg/mL is the alternative choice for other product developments which are needed THC as a major component in the future.

Major advisor Dr. Nadechanok Jiangseubchatveera

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยการเพิ่มการละลายของเตตระไฮโดรคอร์คูมินเพื่อการตั้งตำรับสำหรับใช้ภายนอก และการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำแนะนำ คำปรึกษา ความช่วยเหลือจาก เกษักรหญิง ดร. เนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ และเกษักรหญิง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อาภา เพชรสมฤทธิ์ ซึ่งให้ความรู้และถ่ายทอดวิธีการในการทำวิจัยให้กับลูกศิษย์ตลอดระยะเวลาการทำโครงการวิจัยครั้งนี้ จึงกราบขอบพระคุณ ท่านอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง

ผู้จัดทำโครงการวิจัยขอขอบคุณ นายกุญมพี ยี่รงค์ ที่คอยสนับสนุนให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะตลอดการทำโครงการวิจัยครั้งนี้ให้สามารถดำเนินงานวิจัยได้อย่างสมบูรณ์ลุล่วง

คณะผู้วิจัย

นสภ.พิชชากร วัฒนพลาชัยกุล	รหัสสถิติ 59210181
นสภ.สรลพร สกลวรรณรักษ์	รหัสสถิติ 60210228
นสภ.สุนิสา สุทธิตังกวีเชียร	รหัสสถิติ 60210229

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	๗
บทคัดย่อ	ค
ABSTRACT	จ
กิตติกรรมประกาศ	ซ
สารบัญ	ซ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
สมมติฐาน	1
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
กรอบแนวคิด	2
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
Solid dispersion	3
วิธีการทำ Solid dispersion	3
สารที่อาจพิจารณาใช้เป็นพอลิเมอร์ในการทำ solid dispersion	7
Tetrahydrocurcumin	21
การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	23
การเตรียมตำรับเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอก	31

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	32
วัสดุอุปกรณ์	32
การเตรียม Solid dispersions	34
ประเมินการเพิ่มค่าการละลายด้วยวิธี Solid dispersion โดยเทียบกับ Standard curve	34
การทดสอบการละลายของ THC ใน PEG400	36
ขั้นตอนการพัฒนาเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอกจากสาร THC ในรูปแบบโตนเนอร์	37
การศึกษาลักษณะทางกายภาพเบื้องต้นของตำรับโตนเนอร์	38
บทที่ 4 ผลการวิจัย	41
การประเมินการเพิ่มค่าการละลายของ THC ด้วยวิธี Solid dispersion	41
การประเมินการละลายของ solid dispersion เพื่อใช้ PEG 400 เป็นตัวทำละลายร่วม	44
การพัฒนาตำรับโตนเนอร์จาก solid dispersion ของ THC	47
การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง	55
อภิปรายผลการทดลอง	55
สรุปผลการทดลอง	58
ข้อเสนอแนะ	59
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	65

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 น้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณสำหรับเกรด PVP ต่าง ๆ	7
ตาราง 2 การใช้ประโยชน์จาก PVP และความเข้มข้นที่ใช้	8
ตาราง 3 คุณสมบัติทั่วไปของ PVP	9
ตาราง 4 ตัวอย่างการใช้ PVP ในงานวิจัยต่าง ๆ	10
ตาราง 5 น้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณสำหรับเกรด PEG ต่าง ๆ	12
ตาราง 6 คุณสมบัติทั่วไปของ PEG ที่มีสถานะเป็นของเหลว	13
ตาราง 7 Typical properties ของ PEG ที่มีสถานะเป็นของแข็ง	14
ตาราง 8 ความหนืดของ PEGs ที่อุณหภูมิ 25°C และ 99°C	14
ตาราง 9 ตัวอย่างการใช้ PEG ในงานวิจัย	16
ตาราง 10 คุณสมบัติทั่วไปของ HPMC	18
ตาราง 11 ตัวอย่างการใช้ HPMC ในงานวิจัย	19
ตาราง 12 ตัวอย่างเกี่ยวข้องกับวิธีการทำ solid dispersion	20
ตาราง 13 คุณสมบัติของวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	27
ตาราง 14 ตัวอย่างงานวิจัยที่ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ THC	30
ตาราง 15 อัตราส่วนการเตรียม Solid dispersions ของ Tetrahydrocurcumin	34
ตาราง 16 น้ำหนักของ THC และ Solid dispersion อัตราส่วนต่าง ๆ ที่มี THC 50 mg ในการหาค่าการละลาย	35
ตาราง 17 สูตรตำรับโชนเนอร์ของ THC	37
ตาราง 18 ความเข้มข้นของ Tetrahydrocurcumin และค่า absorbance ที่วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 282 nm	41
ตาราง 19 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย THC และ solid dispersion ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ที่ความยาวคลื่น 282 nm	42
ตาราง 20 ค่าการละลายของ THC และ solid dispersion ในน้ำ	43
ตาราง 21 ค่าดูดกลืนแสงของ solid dispersion ใน PEG 400 ที่ความยาวคลื่น 282 nm	44
ตาราง 22 ค่าการละลายของ Solid dispersion ใน PEG 400	45
ตาราง 23 ลักษณะทางกายภาพของตำรับโชนเนอร์	47
ตาราง 24 pH ของตำรับโชนเนอร์ที่สภาวะต่าง ๆ (n=3)	49

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 25 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ THC และตำรับโชนเนอร์ และตำรับโชนเนอร์หลังการทดสอบ ความคงตัว	50
---	----

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปภาพ 1 แสดงลักษณะการกระจายของตัวยาหรือสารสำคัญในตัวยา	3
รูปภาพ 2 สูตรโครงสร้าง polyvinylpyrrolidone (PVP)	7
รูปภาพ 3 สูตรโครงสร้าง polyethylene glycol (PEG)	11
รูปภาพ 4 สูตรโครงสร้าง hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)	17
รูปภาพ 5 The sources of tetrahydrocurcumin	21
รูปภาพ 6 The potential mechanism of actions and molecular targets for tetrahydrocurcumin	23
รูปภาพ 7 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง DPPH [•] กับสารต้านอนุมูลอิสระ	24
รูปภาพ 8 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง ABTS ^{•+} กับสารต้านอนุมูลอิสระ	25
รูปภาพ 9 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารอนุมูล AAPH กับสารต้านอนุมูลอิสระ	26
รูปภาพ 10 Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay	26
รูปภาพ 11 โครงสร้างทางเคมีของสารอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน	29
รูปภาพ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Tetrahydrocurcumin และค่า absorbance ที่วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 282 nm	42
รูปภาพ 13 กราฟการเปรียบเทียบค่าการละลายในตัวอย่าง	44
รูปภาพ 14 กราฟการเปรียบเทียบค่าการละลายของตัวอย่างใน PEG400	46
รูปภาพ 15 การเปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายน้ำ THC และ Solid dispersion	46
รูปภาพ 16 (A) การเปรียบเทียบค่า AEAC ของ THC และผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ (B) การเปรียบเทียบค่า TEAC ของ THC และผลิตภัณฑ์โทนเนอร์	53
รูปภาพ 17 (A) การเปรียบเทียบค่า AEAC และ TEAC ระหว่างก่อนและหลังทดสอบความคงตัวใน DPPH assay (B) การเปรียบเทียบค่า AEAC และ TEAC ระหว่างก่อนและหลังทดสอบความคงตัวใน ABTS assay	54

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

สัญลักษณ์	ความหมาย
mM	มิลลิโมลาร์
M	โมลาร์
nm	นาโนเมตร
mL	มิลลิลิตร
g	กรัม
μ L	ไมโครลิตร
μ g	ไมโครกรัม
μ m	ไมครอน
Mg	มิลลิกรัม
v/v	Volume by volume
w/w	Weight by weight
w/v	Weight by volume
%	เปอร์เซ็นต์
SS	สารละลายมาตรฐาน
UV-Vis spectrophotometer	เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
$^{\circ}$ C	หน่วยองศาเซลเซียส
R^2	Coefficient of determination
SD	Solid dispersion
THC	Tetrahydrocurcumin
PVP	polyvinylpyrrolidone
PEG	polyoxyethylene glycol
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ABTS	2,2'-azinobis-(3-ethyl benzothiazoline-6- sulfonic acid)
DI	Deionized water

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สาร tetrahydrocurcumin (THC) เป็นสารเมตาโบไลต์หลักของ curcumin ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ได้จากขมิ้นชัน *Curcuma longa* L. มีการค้นพบว่า THC มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ที่ดีกว่า curcumin กลไกการต้านอนุมูลอิสระของ THC นั้นมีความแตกต่างจาก curcumin โดย THC จะทำลายอนุมูลอิสระด้วยหมู่ phenyl hydroxyl ซึ่งเกี่ยวข้องกับการตัดพันธะ C-C ของ methylene carbon ระหว่าง carbonyl สองตำแหน่งในหมู่ β -diketone ในระหว่างการเกิด oxidation ทำให้เกิดสาร o-methoxy phenol ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระอีกตัวหนึ่ง ในขณะที่ curcumin มีกลไกหลักในการต้านอนุมูลอิสระโดยไม่ทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ Reactive oxygen species (ROS) ภายในร่างกาย เมื่อมีสารอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจึงเกิดการทำลายโมเลกุลอื่น ๆ ต่อกันเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้า รอบดวงตา และผิวหนัง รวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ นอกจากนี้ในการศึกษาใน *in vivo* พบว่า THC มีความปลอดภัยมากกว่า และเป็นพิษน้อยกว่า curcumin^[1]

อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ THC จะได้รับการยอมรับในคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา แต่ด้วยคุณสมบัติของสารที่มีขั้วต่ำ ละลายน้ำได้ยาก และมี oral bioavailability ต่ำ จึงเป็นข้อจำกัดอย่างมากในการตั้งตำรับผลิตภัณฑ์ ทางผู้วิจัยจึงได้พิจารณาถึงการตั้งตำรับ solid dispersion ซึ่งเป็นวิธีที่ประสบความสำเร็จอย่างมากในการปรับปรุง oral bioavailability ของตำรับที่ละลายได้น้อย โดยการลดขนาดของสารสำคัญให้มีขนาดเล็กที่สุด ซึ่งจะช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการเปียกน้ำและการละลายของสารนั้น ๆ ร่วมกับการเลือกใช้พอลิเมอร์ที่เหมาะสมเป็น carrier ในตำรับ โดย solid dispersion สามารถทำได้หลากหลายวิธีและสามารถเลือกใช้พอลิเมอร์หลายชนิดตามความเหมาะสมและคุณสมบัติของสารสำคัญ

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อเพิ่มการละลายของสาร THC โดยใช้เทคนิค solid dispersion
2. เพื่อตั้งตำรับเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอกโดยใช้สารสกัด THC
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร THC และตำรับเครื่องสำอางที่พัฒนาได้

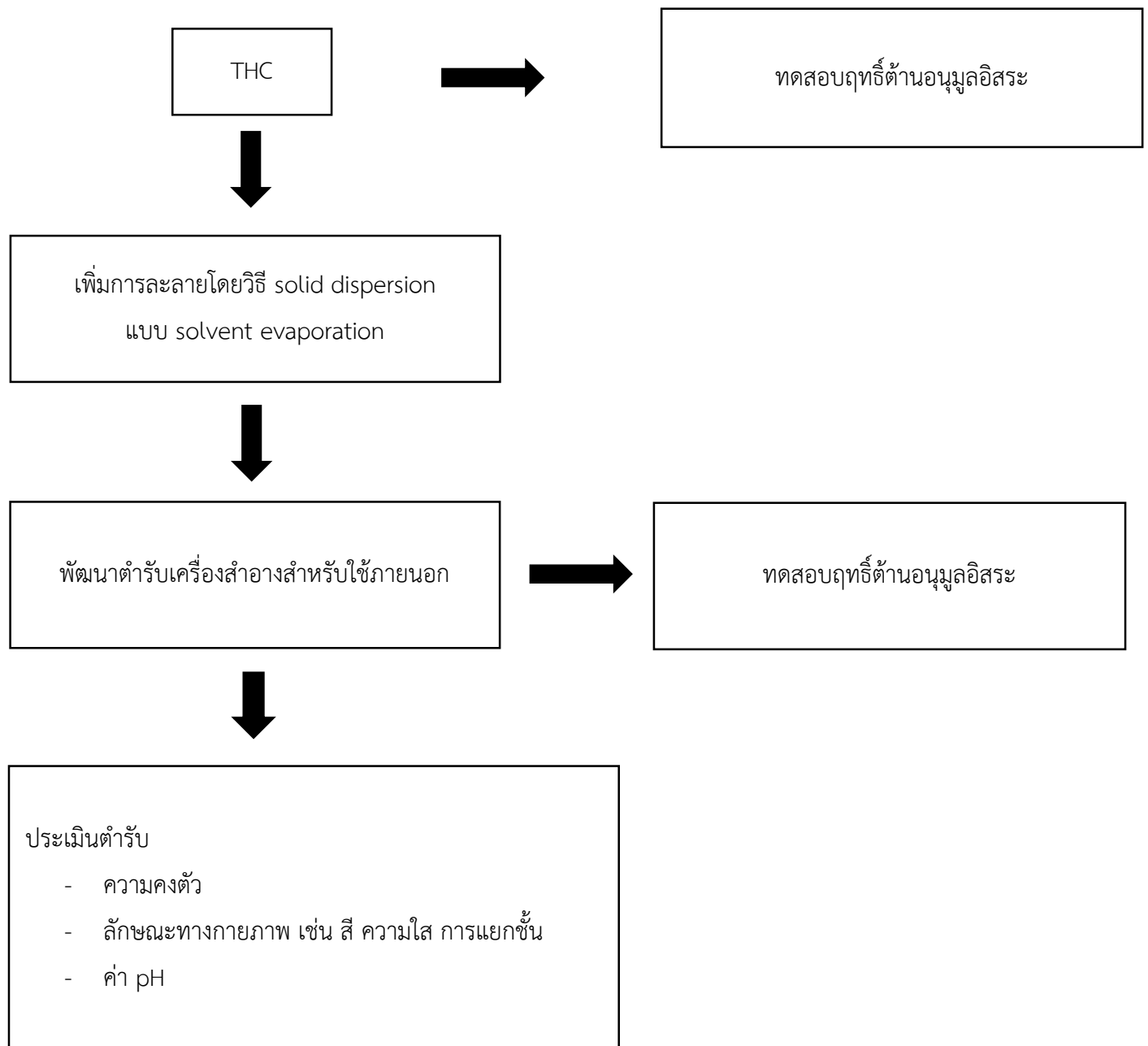
3. สมมติฐาน

สาร THC สามารถเพิ่มการละลายได้ด้วยเทคนิค solid dispersion โดยยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ และสามารถนำไปตั้งตำรับเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอกได้

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สาร THC ที่มีการละลายเพิ่มขึ้น
2. ได้ตำรับเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอกจากสาร THC
3. ทราบวิธีการเตรียม และผลของปัจจัยด้านสูตรตำรับ และกระบวนการเตรียมที่ส่งผลต่อสมบัติทางเคมี และกายภาพของตำรับเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอกจากสาร THC
4. ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร THC และตำรับเครื่องสำอางที่พัฒนาได้

5. กรอบแนวคิด

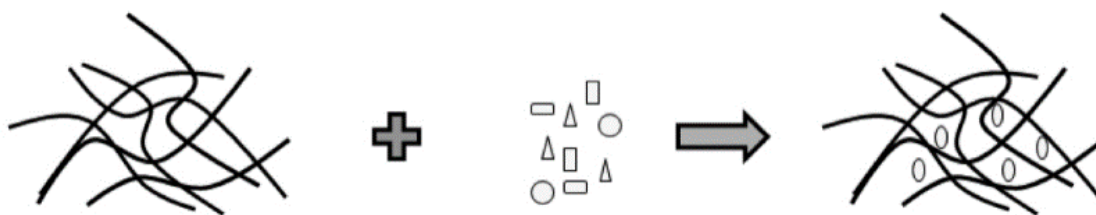


บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Solid dispersion

Solid dispersion คือ การกระจายของตัวยาหรือสารสำคัญไปอยู่ในตัวพา (carrier) หรือ เมทริกซ์ชนิดชอบน้ำ (hydrophilic matrix) ดังแสดงในรูปภาพที่ 1 โดยยาหรือสารสำคัญที่กระจายตัวในตัวพาสามารถอยู่ในรูปผลึกหรือสัณฐานและตัวพาสามารถอยู่ในสภาพของผลึกหรือสัณฐาน^[2]



รูปภาพ 1 แสดงลักษณะการกระจายของตัวยาหรือสารสำคัญในตัวพา^[3]

วิธีการทำ Solid dispersion

การทำ solid dispersion สามารถทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารสำคัญและพอลิเมอร์ที่นำมาใช้ ซึ่งจะกล่าวถึงวิธีการทำ 5 วิธี ดังนี้

1. Fusion method^[4]

ในวิธีนี้ carrier จะถูกให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่สูงกว่าจุดหลอมเหลว และยาจะถูกรวมเข้าจนกลายเป็น matrix หากยาีความสามารถในการละลายสูงใน carrier ยาอาจยังคง "ละลาย" ในสถานะของแข็ง ทำให้เกิดสารละลายที่เป็นของแข็ง ของเหลวที่หลอมละลายจะแข็งตัวในอ่างน้ำแข็งภายใต้การคนอย่างรวดเร็ว จากนั้นจึงบดเป็นผง แล้วกรองผ่านร่ง สารละลายควรรวมตัวอย่างรวดเร็ว เพราะจะส่งผลให้เกิดการอิ่มตัวเกินของยา (supersaturation) ซึ่งเป็นผลมาจากการซึ่งโมเลกุลที่ละลายน้ำได้ใน matrix ตัวทำละลายโดยการแข็งตัวในทันที

ข้อดี

- ในทางเทคนิคจะเป็นวิธีที่ง่าย หากยาและพาหะสามารถรวมตัวกันได้สถานะหลอมเหลว
- เป็นการหลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่อาจก่อให้เกิดสารตกค้างในการทำ dispersion
- การละลายสำหรับการทำ dispersion ที่ได้จากเทคนิคการหลอมเหลวจะเร็วกว่าที่เตรียมโดยใช้เทคนิคตัวทำละลาย

ข้อเสีย

- ไม่สามารถใช้ carrier ที่มีจุดหลอมเหลวสูงได้
- การเสื่อมสภาพทางความร้อนหรือความไม่เสถียรอาจส่งผลต่อจุดหลอมเหลว
- การสลายตัวอาจเกิดขึ้น มักขึ้นอยู่กับองค์ประกอบ เวลาในการหลอมเหลว และอัตราการให้ความเย็น
- การระเหยหรือการระเหิดและการแปลงสภาพพอลิเมอร์ของส่วนประกอบในการ dispersion อาจเกิดขึ้นได้
- ของเหลวที่แข็งตัวอาจเหนียวและหยาบจับไม่ได้
- ความเข้ากันไม่ได้ระหว่างยาและ carrier ส่งผลให้เกิดการตกผลึกอย่างผิดปกติ

ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ในวิธีนี้^[5]: poloxamer, PVP

2. Solvent evaporation technique^[2]

วิธีการใช้ตัวทำละลาย เป็นวิธีเตรียม solid dispersion ที่เหมาะกับตัวยา หรือสารที่สำคัญที่ละลายน้ำได้น้อยและเสื่อมง่ายเมื่อถูกความร้อน สามารถเตรียมได้โดยละลายสารผสมของตัวยาและ carrier ด้วยตัวทำละลายร่วม ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้มีสมบัติละลายตัวยา สามารถระเหยได้และต้องไม่เป็นพิษ เช่น ethanol, acetone และ ethyl acetate จากนั้นนำไประเหยแห้งด้วยวิธีการต่าง ๆ ซึ่งข้อจำกัดของวิธีนี้คือ หลังจากผ่านการระเหย หากมีตัวทำละลายหลงเหลืออาจเป็นพิษต่อร่างกายได้ ดังนั้น ขั้นตอนการระเหยตัวทำละลายและทำให้แห้งจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญยิ่ง สามารถระเหยตัวทำละลายได้เร็ว ตัวยาที่เตรียมได้จะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากรูปแบบผลึกกลายเป็นรูปแบบอสัณฐาน โมเลกุลของน้ำสามารถแทรกเข้าไปในอนุภาคได้ จึงเพิ่มความสามารถในการเปียกทำให้ตัวยาละลายน้ำได้ดีมากขึ้น ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีเพื่อใช้ระเหยแห้งในการเตรียม solid dispersion ด้วยวิธีการใช้ตัวทำละลายมากมาย รวมถึงมีการใช้ในทางอุตสาหกรรมมากขึ้น เช่น การทำให้แห้งโดยใช้อบแห้ง (drying oven) ใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporation) ใช้ตู้อบแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drying oven) ใช้เครื่องทำแห้ง แบบพ่นฝอย (spray drying) และการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying)

ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ในวิธีนี้^[2]: polyvinylpyrrolidone (PVP), polyoxyethylene glycol (PEG), PLA, PLG, ethyl cellulose, polycarbonate และ polyanhydride

2.1 การทำให้แห้งโดยใช้ตู้อบแห้ง ใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน และใช้ตู้อบแห้ง แบบ

สุญญากาศ

เป็นวิธีระเหยสารให้แห้งด้วยการใช้ความร้อนไม่สูงมาก เพื่อหลีกเลี่ยงการเสื่อมสลายของตัวยาหรือสารที่สำคัญ หลังจากระเหยแห้งแล้ว ผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจต้องเก็บไว้ในโถดูดความชื้นเพื่อระเหยตัวสารละลายที่อาจเหลือให้หมด วิธีนี้ง่าย แต่มีข้อจำกัดในเรื่องกระบวนการเตรียมที่ใช้ระยะเวลานาน

ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ในวิธีนี้^[2]: polyvinylpyrrolidone (PVP), hydroxypropyl methylcellulose (HPMC, hypromellose)

2.2 การทำให้แห้งด้วยเครื่องทำให้แห้งแบบพ่นฝอย

วิธีนี้เป็นเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพ สำหรับอุตสาหกรรมการผลิต เนื่องจากสามารถระเหยตัวทำละลายออกจากตัวยาและตัวพาให้แห้งเพื่อให้ผลิตภัณฑ์อนุภาคของแข็งในระยะเวลารวดเร็ว เทคนิคนี้จะใช้ปั๊มดูดและพ่นสารผสมตัวยาและตัวพาให้เป็นละอองสัมผัสกับกระแสลมร้อนภายในห้องอบแห้งทำให้ตัวทำละลายระเหยออกไปอย่างรวดเร็วได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงขนาดอนุภาคเล็ก ๆ ยาที่เตรียมเป็น solid dispersion โดยใช้เครื่องทำให้แห้งแบบพ่นฝอย ส่วนมากจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างรูปแบบผลึก กลายเป็นรูปแบบอสัณฐาน ดังนั้นจึงเพิ่มการละลายและอัตราการปลดปล่อยยาของตัวยาได้ดี ปัจจุบันการทำให้แห้งด้วยวิธีนี้จึงเป็นที่นิยมใช้เตรียม solid dispersion ในอุตสาหกรรม เพราะสามารถเพิ่มการผลิตได้ง่าย ผลิตภัณฑ์ที่ได้คุ้มค่ากับการลงทุน

ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ในวิธีนี้^[2]: hydroxypropyl methylcellulose (HPMC, hypromellose)

2.3 การทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Lyophilization technique) วิธีนี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการระเหยแห้งในกระบวนการเตรียม solid dispersion เพราะวิธีนี้ระเหยแห้งตัวทำละลายโดยไม่ใช้ความร้อนจึงหลีกเลี่ยงการเสื่อมของตัวยาที่ไม่ทนความร้อน นั่นคือใช้ วิธีเปลี่ยนสถานะของเหลวให้เป็นผลึกแข็งแล้วจึงลดความดันเพื่อให้ผลึกน้ำแข็งระเหิดเป็นไอ ข้อดีของวิธีนี้คือลดความเสี่ยงจากการเกิดการแยกชั้นของสารผสม แต่มีข้อจำกัดเรื่องตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ หากมีจุดเยือกแข็งต่ำมากจะไม่สามารถแช่แข็งเพื่อระเหิดสารได้

ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ในวิธีนี้: soluplus[®]^[2]

3. Melt solvent evaporation technique^[4]

เพื่อแก้ไข fusion technique จึงเกิดวิธี melt solvent evaporation ขึ้น โดยเทคนิคนี้จะละลายใน organic solvent และผสมกับ melted carrier (ตัวพาต้องระเหยได้และไม่เป็นพิษ) เช่น ethanol, acetone, ethyl acetate สารผสมละลายจะระเหยจนกลายเป็นผลึกของแข็งจากนั้นบดเป็นผงได้ตามขนาดที่ต้องการ (pulverized to the desired size)

ข้อดี

- ข้อดีมีทั้งของวิธี fusion และ evaporation

- เป็นประโยชน์กับยาที่มี melting point สูง

ข้อเสีย

- เทคนิคนี้จำกัดสำหรับยาที่มี therapeutic dose ต่ำ (ต่ำกว่า 50 mg)

ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ในวิธีนี้: polyoxyethylene glycol (PEG)

4. Hot melt extrusion method^[4]

Hot melt extrusion เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มการละลายของยาที่ละลายน้ำได้น้อยและปรับปรุงการปลดปล่อยยา ใช้หลักการเตรียม solid dispersion แบบวิธีหลอม วิธีนี้ตัวยาและ carrier จะผสมและหลอมด้วยความร้อนให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นภายในเครื่องมือที่เรียกว่า hot melt extruder แบบสกรูเดี่ยว (single screw extruder) และใช้ระยะเวลาในการเตรียมสั้นกว่าวิธีดั้งเดิมจึงลดการเสื่อมสลายของยาได้

สารสำคัญควรเป็นสารที่มีคุณสมบัติทนความร้อนในระดับที่สูงพอจะทำให้พอลิเมอร์ละลาย เนื่องจากในกรรมวิธีต้องมีการให้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมเข้ากันในระดับโมเลกุลและกลายเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenous)

ข้อดี

- ไม่ต้องใช้ organic solvent หรือ น้ำ
- ใช้เวลาสั้นและให้ผลที่มีประสิทธิภาพ
- สามารถเพิ่มการละลายและ bioavailability ได้

ข้อเสีย

- ไม่เหมาะกับสารที่ไม่ทนความร้อน เช่น โปรตีน, เปปไทด์ ฯลฯ
- ไม่ควรมีความชื้น
- เครื่องมือค่อนข้างใหม่และต้องมีการฝึกฝนก่อนใช้

ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ในวิธีนี้^[2]: hydroxypropyl methylcellulose (HPMC, hypromellose), soluplus[®], poloxamer

5. Kneading method^[6]

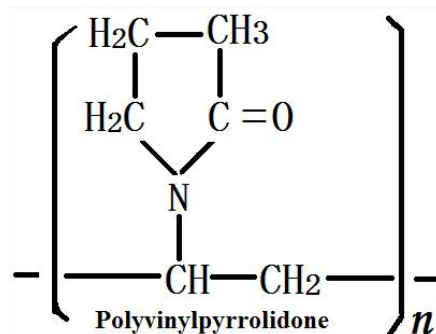
ในวิธีนี้ carrier จะถูกนำไปผสมกับน้ำจนเกิดเป็น paste จากนั้นจึงผสมตัวยาสำคัญลงไปและทำการนวดคลึงให้เข้ากันเป็นระยะเวลาหนึ่ง ก่อนจะนำไปทำให้แห้ง และแรงผ่านตะแกรงเพื่อให้มีขนาดอนุภาคสม่ำเสมอ

การทำ kneading method อาจเป็นวิธีที่ง่ายและไม่ซับซ้อนเท่าวิธีอื่น แต่ต้องระมัดระวังในเรื่องของปริมาณน้ำที่เติมในขั้นตอนแรกซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อ การละลายของตำรับได้ นอกจากนี้ยังควรใช้กับสารที่สามารถทนความร้อนในการทำให้แห้งเป็นระยะเวลานานได้

ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ในวิธีนี้: polyethylene glycol-6000, hydroxypropyl methylcellulose และ lactose monohydrate, polyvinyl pyrrolidone (Povidone-K30), beta-cyclodextrin (BCD)

สารที่อาจพิจารณาใช้เป็นพอลิเมอร์ในการทำ solid dispersion^[7]

1. Polyvinylpyrrolidone (PVP)^[7]



รูปภาพ 2 สูตรโครงสร้าง polyvinylpyrrolidone (PVP)^[8]

ชื่อพ้อง: E1201; Kollidon®; Plasdone™; poly[1-(2-oxo-1-pyrrolidiny)ethylene]; polyvidone; povidone; povidonum; Poviphar®; PVP; 1- vinyl-2-pyrrolidinone polymer

Empirical formula and molecular weight: $(C_6H_9NO)_n$

USP 32 อธิบายว่า PVP เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วย 1-vinyl-2-pyrrolidone group เรียงกันเป็นเส้นตรง (รูปภาพ 2) ซึ่ง degree ของ polymerization จะส่งผลให้พอลิเมอร์มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกันดังแสดงในตารางที่ 1 และ PVP มีลักษณะเฉพาะตามความหนืดในสารละลาย aqueous ซึ่งแสดงเป็นค่า K ในช่วง 10-120

ตาราง 1 น้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณสำหรับเกรด PVP ต่าง ๆ

K-value	Approximate molecular weight
12	2500
15	8000
17	10000
25	30000
30	50000

K-value	Approximate molecular weight
60	400000
90	1000000
120	3000000

หน้าที่: disintegrant; dissolution enhancer; suspending agent; tablet binder

การประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรมและเทคโนโลยีนำส่งยา: แม้ว่า PVP จะถูกใช้ในสูตรยาที่หลากหลาย แต่ส่วนใหญ่จะใช้ในรูปแบบยาของแข็ง ในการทำ tablet สารละลาย PVP ถูกใช้เป็นสารยึดเกาะในกระบวนการแกรนูลเปียก และ PVP ยังถูกเติมลงในผงผสมในรูปแบบแข็งและแกรนูลใน *in situ* โดยการเติมน้ำ แอลกอฮอล์ หรือสารละลายไฮโดรแอลกอฮอล์

PVP ถูกใช้เป็น solubilizer ในสูตรยารับประทานและยาให้ทางหลอดเลือด และยังสามารถเพิ่มการละลายของยาที่ละลายไม่ดีในรูปแบบของแข็ง สารละลาย PVP อาจใช้เป็นสารเคลือบหรือเป็นสารยึดเกาะเมื่อเคลือบ active ingredient บน sugar bead นอกจากนี้ PVP ยังถูกใช้เป็นสารแขวนลอย stabilizer หรือ สารเพิ่มความหนืดในยาน้ำ หรือ suspension สำหรับทาเฉพาะที่และรับประทาน ความสามารถในการละลายของยาที่ละลายได้ไม่ดีบางตัวอาจเพิ่มขึ้นโดยการผสมกับ PVP และ PVP เกรดพิเศษปลอดสารก่อภูมิแพ้มีจำหน่ายแล้ว ซึ่งถูกใช้ในสูตรยาทางหลอดเลือด

การใช้ประโยชน์จาก PVP สามารถใช้ได้ตามความเข้มข้นที่ต่างกันแสดงดังตารางที่ 2 และคุณสมบัติทั่วไปของ PVP แสดงในตารางที่ 3

ตาราง 2 การใช้ประโยชน์จาก PVP และความเข้มข้นที่ใช้

การใช้ประโยชน์	ความเข้มข้นที่ใช้ (%)
Carrier for drugs	10-25
Dispersing agent	Up to 5
Eye drops	2-10
Suspending agent	Up to 10
Tablet binder, tablet diluent, or coating agent	0.5-5

ตาราง 3 คุณสมบัติทั่วไปของ PVP

หัวข้อ	คุณสมบัติสาร
Acidity/alkalinity	pH = 3.0-7.0 (5% w/v aqueous solution); pH = 4.0–7.0 (5% w/v aqueous solution) สำหรับ Povipharm K90
Density (bulk)	0.29-0.39 g/cm สำหรับ Plasdone™
Density (tapped)	0.39-0.54 g/cm สำหรับ Plasdone™
Density (true)	1.180 g/cm
Flowability	20 g/s สำหรับ PVP K-15; 16 g/s สำหรับ PVP K-29/32
Melting point	นิ่มลงที่อุณหภูมิ 150°C
Moisture content	PVP ดูดความชื้นได้มาก มีความชื้นจำนวนมากที่สามารถถูกดูดซับที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ
Particle size distribution	Kollidon® 25/30: 90% >50 µm, 50% >100 µm, 5% >200 µm; Kollidon® 90: 90% >200 µm, 95% >250 µm
Solubility	ละลายได้ดีใน acids, chloroform, ethanol (95%), ketones, methanol และน้ำ ไม่ละลายใน ether, hydrocarbons และ mineral oil ในน้ำ ความเข้มข้นของสารละลายจะถูกกำหนดโดยความหนืดของสารละลายที่ได้จากค่า K
Viscosity (Dynamic)	ความหนืดของสารละลาย PVP ในน้ำขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นและน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่ใช้

ความคงตัวและการเก็บ: PVP จะมีสีเข้มขึ้นในระดับหนึ่งเมื่อได้รับความร้อนที่ 150°C โดยจะมีความสามารถในการละลายในน้ำลดลงไปด้วย

มีความเสถียรต่อการได้รับความร้อนในช่วงสั้น ๆ ประมาณ 110-130°C การฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำของสารละลายในน้ำจะไม่เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของสารละลาย สารละลาย aqueous มีความไวต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราจึงจำเป็นต้องเติม preservative ที่เหมาะสม

PVP อาจถูกเก็บไว้ภายใต้สภาวะปกติโดยไม่เกิดการสลายตัวหรือการย่อยสลาย อย่างไรก็ตาม เนื่องจากผง PVP มีคุณสมบัติดูดความชื้น จึงควรเก็บไว้ในภาชนะที่มีอากาศถ่ายเทในที่เย็นและแห้ง

Incompatibilities: PVP เข้ากันได้กับสารละลายเกลือ inorganic, เรซินธรรมชาติและเรซินสังเคราะห์ และสารเคมีอื่น ๆ PVP จะรวมตัวเป็น molecule adducts ในสารละลายที่มี sulfathiazole, sodium salicylate, salicylic acid, phenobarbital, tannin และสารประกอบอื่น ๆ ประสิทธิภาพของ preservative บางชนิด เช่น thimerosal อาจได้รับผลกระทบจากการเกิดสารเชิงซ้อนกับ PVP

ความปลอดภัย: PVP ถูกใช้ในสูตรยาเป็นเวลาหลายปีแล้ว โดยถูกใช้ครั้งแรกใน 1940s โดยทำหน้าที่เป็น plasma expander ถึงแม้ว่าตอนนี้จะมีการใช้ dextran แทนในจุดประสงค์นี้ก็ตาม

PVP ใช้กันอย่างแพร่หลายเป็น excipient โดยเฉพาะอย่างยิ่งในยาเม็ดและยาน้ำรับประทาน PVP อาจถือว่าไม่มีพิษ เนื่องจากไม่มีการดูดซึมในทางเดินอาหารหรือ mucous membrane นอกจากนี้ PVP ยังไม่ระคายเคืองต่อผิวหนังและไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้

รายงานอาการไม่พึงประสงค์ของ PVP ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการก่อตัวของ granuloma ได้ผิวหนังบริเวณที่ฉีดโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ซึ่งการที่ PVP อาจมีการสะสมในอวัยวะเมื่อทำการฉีดทาง IM อาจใช้ยืนยันทฤษฎีดังกล่าวได้ องค์การอนามัยโลกกำหนดปริมาณโพวิโดนที่รับได้ต่อวันชั่วคราวที่สูงถึง 25 mg/kg ของน้ำหนักตัว LD₅₀ (mouse, IP): 12 g/kg^[9]

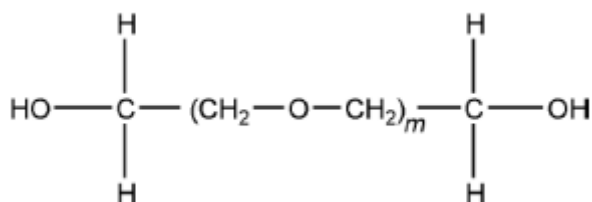
ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ PVP ในการทำ solid dispersion ดังแสดงในตารางที่ 4

ตาราง 4 ตัวอย่างการใช้ PVP ในงานวิจัยต่าง ๆ

ชื่องานวิจัย	พอลิเมอร์	สัดส่วน (active drug:carrier) (w/w)	วิธี Solid dispersion	ค่าการละลายของ สัดส่วนที่ดีที่สุด/ ค่าการละลายของ สาร pure
Solid dispersion of efavirenz in PVP K-30 by conventional solvent and kneading methods ^[10]	PVP K-30	1:1, 2:1, 4:1	solvent evaporation method, kneading method	kneading method 2 เท่า (4:1)

ชื่องานวิจัย	พอลิเมอร์	สัดส่วน (active drug:carrier) (w/w)	วิธี Solid dispersion	ค่าการละลายของ สัดส่วนที่ดีที่สุด/ ค่าการละลายของ สาร pure
Preparation and characterization of solid dispersions of carvedilol with PVP K-30 ^[11]	PVP K-30	1:1, 1:3, 1:5	solvent evaporation method	21.69 เท่า (1:5)
Dissolution enhancement of flavonoids by solid dispersion in PVP and PEG matrixes: a comparative study ^[12]	PVP, PEG	80:20, 70:30, 6:4, 1:1	solvent evaporation method	2 เท่า (PVP 80:20)

2. Polyethylene glycol (PEG)^[7]



รูปภาพ 3 สูตรโครงสร้าง polyethylene glycol (PEG)^[7]

PEG คือสารประกอบพอลิอีเทอร์ที่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมยา PEG อาจถูกเรียกว่า polyethylene oxide (PEO) หรือ polyoxyethylene (POE) ขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุล โดยน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ยังเป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่บอกสถานะ หน้าที่ และการนำไปใช้

ชื่อพ้อง : Carbowax; Carbowax Sentry; Lipoxol; Lutrol E; PEG; Pluriol E; polyoxyethylene glycol

ลักษณะภายนอก : ตาม USP28-NF 23 ได้ระบุไว้ว่า PEG เกรด 200-600 จะอยู่ในสถานะของเหลว มีลักษณะข้น หนืด สีเหลืองอ่อนหรือใส มีกลิ่นเฉพาะตัวและขมปนรสเผ็ดร้อนเล็กน้อย ในขณะที่เกรด 1000 ขึ้นไป จะอยู่ในสถานะของแข็งที่อุณหภูมิห้อง มีลักษณะเป็นเพสต์ (pastes) หรือแผ่นสีขาวหรือสีขาวนวล ดังในตารางที่ 5 แสดงน้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณสำหรับเกรด PEG ต่าง ๆ

ตาราง 5 น้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณสำหรับเกรด PEG ต่าง ๆ

เกรด	m	น้ำหนักโมเลกุลโดยเฉลี่ย
PEG 200	4.2	190-210
PEG 300	6.4	285-315
PEG 400	8.7	380-420
PEG 540 (blend)	-	500-600
PEG 600	13.2	570-613
PEG 900	15.3	855-900
PEG 1000	22.3	950-1050
PEG 1450	32.5	1300-1600
PEG 1540	28.0-36.0	1300-1600
PEG 2000	40.0-50.0	1800-2200
PEG 3000	60.0-75.0	2700-3300
PEG 3350	75.7	3000-3700
PEG 4000	69.0-84.0	3000-4800
PEG 4600	104.1	4400-4800
PEG 8000	181.4	7000-9000

หมายเหตุ: สูตรของ PEG $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_m\text{CH}_2\text{OH}$ โดย m แทนค่าเฉลี่ยจำนวนหมู่ oxyethylene

หน้าที่: ointment base (สารพื้นฐานในตำรับ ointment); plasticizer (สารเพิ่มความยืดหยุ่น); solvent (ตัวทำละลาย); suppository base (สารพื้นฐานในยาเหน็บ); tablet and capsule lubricant (สารหล่อลื่นในยาเม็ดหรือแคปซูล)

การประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรมและเทคโนโลยีนำส่งยา: PEG ถูกใช้อย่างแพร่หลายในเภสัชภัณฑ์รูปแบบต่าง ๆ ประกอบด้วย ยาฉีด ยาใช้ภายนอก ยาตา ยารับประทาน และยาเหน็บทวาร PEG ยังถูกใช้ผสมในเมทริกซ์ของพอลิเมอร์ที่ละลายตัวได้เพื่อใช้เป็นระบบควบคุมการปลดปล่อยยา PEG มีความคงตัว ไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนัง ไม่ซึมผ่านผิวหนังแม้จะละลายในน้ำและล้างออกได้ง่าย ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ PEG จึงถูกนำมาใช้เป็น ointment base ในการเตรียมตำรับ ointment สำหรับใช้ภายนอก นอกจากนี้ PEG ยังใช้เป็นยาพื้นในการเตรียมยาเหน็บทวารโดยจะใช้ PEG ชนิดแข็งผสมกับ PEG ชนิดเหลวเพื่อให้มีความแข็งที่เหมาะสม โดยตำรับต้องปรับให้อยู่ในสถานะของแข็งที่อุณหภูมิปกติ แต่สามารถหลอมเหลวได้ที่อุณหภูมิร่างกาย เพื่อให้สามารถเหน็บยาได้

และตัวยาลูกปลดปล่อยในร่างกาย ส่วน PEG ในรูปแบบของเหลวจะถูกใช้เป็นสารช่วยแขวนตะกอนและสารปรับความหนืด อีกทั้งยังสามารถเพิ่มความคงตัวของ emulsifying agent (สารก่ออิมัลชัน) สำหรับ PEG ในรูปของแข็งนั้นก็มีคุณสมบัติเป็น binder ที่มีประสิทธิภาพ แต่ถ้าใช้ในปริมาณมากเกินไปจะไปชะลอการปลดปล่อยยา PEG ที่มีสถานะเป็นของเหลวมีคุณสมบัติทางกายภาพในด้านต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 6

ตาราง 6 คุณสมบัติทั่วไปของ PEG ที่มีสถานะเป็นของเหลว

หัวข้อ	คุณสมบัติสาร
Density	1.11-1.14 g/cm ³ ที่ 25°C สำหรับ PEG ที่มีสถานะเป็นของเหลว
Flash point	182°C สำหรับ PEG 200 213°C สำหรับ PEG 300 238°C สำหรับ PEG 400 250°C สำหรับ PEG 600
Freezing point	< -65°C PEG 200 กลายเป็นแก้ว -15 to -8°C สำหรับ PEG 300 4-8°C สำหรับ PEG 400 15-25°C สำหรับ PEG 600
Moisture content	PEG เกรดที่มีสถานะเป็นของเหลวดูดความชื้นได้มาก แม้ว่าการดูดความชื้นจะลดลงตามน้ำหนักโมเลกุลที่เพิ่มขึ้น
Solubility	PEG ทุกเกรดสามารถละลายได้ในน้ำและผสมได้ในทุกสัดส่วนกับ PEG ชนิดอื่น ๆ PEG ทุกเกรดสามารถละลายได้เล็กน้อยใน aliphatic hydrocarbons และ ether แต่ไม่ละลายใน fats, fixed oils และ mineral oil PEG เกรดที่มีสถานะเป็นของเหลวสามารถละลายได้ใน acetone, alcohols, benzene, glycerin และ glycol

PEG ที่มีสถานะเป็นของแข็งมีคุณสมบัติทางกายภาพในด้านต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 7

ตาราง 7 Typical properties ของ PEG ที่มีสถานะเป็นของแข็ง

หัวข้อ	คุณสมบัติสาร
Density	1.15-1.21 g/cm ³ ที่ 25°C สำหรับ PEG ที่มีสถานะเป็นของแข็ง
Melting point	37-40°C สำหรับ PEG 1000 44-48°C สำหรับ PEG 1500 40-48°C สำหรับ PEG 1540 45-50°C สำหรับ PEG 2000 48-54°C สำหรับ PEG 3000 50-58°C สำหรับ PEG 4000 55-63°C สำหรับ PEG 6000 60-63°C สำหรับ PEG 8000 60-63°C สำหรับ PEG 20000
Moisture content	PEGเกรดที่มีสถานะเป็นของแข็ง เช่น PEG 4000 ขึ้นไป จะไม่ดูดความชื้น
Solubility	PEG เกรดที่มีสถานะเป็นของแข็งสามารถละลายได้ใน acetone, dichloromethane, ethanol (95%) และ methanol

PEG มีคุณสมบัติทางกายภาพในด้านความหนืด แสดงดังตารางที่ 8

ตาราง 8 ความหนืดของ PEGs ที่อุณหภูมิ 25°C และ 99°C

ชนิดของ PEG	ความหนืด [mm ² /s(sSt)]	
	25°C	99°C
PEG 200	39.9	4.4
PEG 300	68.8	5.9
PEG 400	90.0	7.4
PEG 600	131	11.0
PEG 1000 solid	19.5	-
PEG 2000 solid	47	-
PEG 4000 solid	180	-
PEG 6000 solid	540	-
PEG 20000 solid	6900	-

ความคงตัวและการเก็บ: PEG มีความคงตัวทางเคมีในอากาศและในสารละลาย แม้ว่า PEG เกรดที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 2000 จะดูดความชื้นได้ แต่จุลินทรีย์ไม่สามารถโตได้ใน PEG และไม่เหม็นหืน PEG สามารถฆ่าเชื้อได้โดยวิธีการ autoclaving, filtration และ gamma irradiation

การทำ sterilization กับ PEG เกรดที่เป็นของแข็งโดยความร้อนแห้งที่ 150°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง อาจทำให้เกิดการออกซิเดชัน และการก่อตัวของผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายที่เป็นกรด ตามหลักการแล้วควรทำ sterilization ในบรรยากาศเฉื่อย การเกิดออกซิเดชันอาจเกิดขึ้นได้หาก PEG อยู่ที่อุณหภูมิที่สูงกว่า 50°C อย่างไรก็ตาม การจัดการเก็บภายใต้ไนโตรเจนช่วยลดการเกิดออกซิเดชัน PEG ควรเก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิทในที่แห้งและเย็น เช่น ภาชนะสเตนเลส อะลูมิเนียม แก้ว

PEG มีจุดหลอมเหลวค่อนข้างต่ำ (น้อยกว่า 65°C) ในวิธีการเตรียมมีอัตราเกิดการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นของแข็ง (solidification) รวดเร็วมีความเป็นพิษต่ำและราคาถูก สามารถเตรียมได้ทั้งในวิธีการหลอมหรือวิธีการใช้ตัวทำละลายเพราะมีสมบัติละลายน้ำดีและไม่พบปัญหาความชื้นของสารซึ่งส่งผลกระทบต่อการใช้งาน

Incompatibilities: PEG ทุกเกรดสามารถเกิดการออกซิไดซ์ได้ เนื่องจากมีสารเปอร์ออกไซด์เจือปน และไม่สามารถเข้าได้กับสารแต่งสีบางชนิด PEG จะทำให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะบางชนิดลดลง โดยเฉพาะใน penicillin, bacitracin และทำให้ประสิทธิภาพของสารกันเสีย (preservative) ลดลง เช่น paraben

ผลทางกายภาพที่เกิดเมื่อ PEG ผสมกับ phenol, tannic acid, salicylic acid จะทำให้เกิดการอ่อนตัว PEG อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของ sulfonamides และ dithranol ได้ PEG สามารถทำให้ sorbitol เกิดการตกตะกอน และสามารถทำให้ polyethylene, phenolformaldehyde, polyvinyl chloride, cellulose-ester membrane นิ่มหรือละลายได้

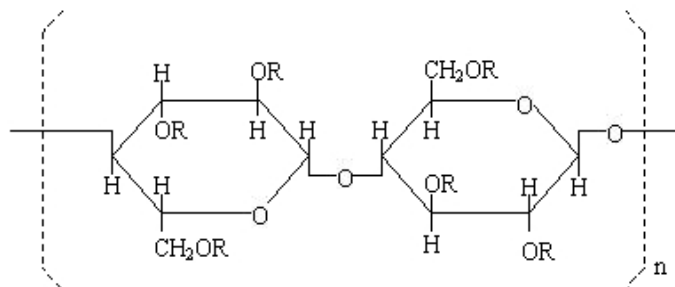
ความปลอดภัย: PEG มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในสูตรยาต่าง ๆ โดยทั่วไปถือว่าเป็นวัสดุที่ไม่เป็นพิษและไม่ระคายเคือง มีการรายงานอาการไม่พึงประสงค์ของ PEG ที่เกิดจากความเป็นพิษมากที่สุดคือ PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ แต่อย่างไรก็ตามความเป็นพิษของ PEG ค่อนข้างต่ำ PEG ที่ใช้เฉพาะที่อาจทำให้เกิดอาการแพ้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้กับเยื่อเมือก และมีรายงานการเกิดปฏิกิริยาภูมิไวเกินต่อ PEG ที่ใช้ทาเฉพาะที่ รวมทั้งลมพิษและผลข้างเคียงที่ร้ายแรงที่สุดที่เกี่ยวข้องกับ PEG คือภาวะ hyperosmolarity, metabolic acidosis และภาวะไตวายภายหลังการใช้ PEG โดยเฉพาะในผู้ป่วยไตเสื่อม การเตรียมยาเฉพาะที่ที่มี PEG จึงควรใช้อย่างระมัดระวังในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวาย, แผลไหม้เป็นวงกว้าง หรือแผลเปิด

ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ PEG ในการทำ solid dispersion ดังแสดงในตารางที่ 9

ตาราง 9 ตัวอย่างการใช้ PEG ในงานวิจัย

ชื่องานวิจัย	พอลิเมอร์	สัดส่วน (active:carrier) (w/w)	วิธี solid dispersion	ค่าการละลาย ของสัดส่วนที่ดี ที่สุด/ค่าการ ละลายของสาร pure
Characterization, <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> evaluation of solid dispersion of curcumin containing <i>d</i> - α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) and mannitol ^[13]	<i>d</i> - α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS)	(curcumin:TPGS) 1:0, 1:0.2, 1:0.5, 1:2, 1:5, 1:10	solvent evaporation, freeze-drying method	solvent evaporation method การละลายเพิ่มขึ้นในลักษณะที่ขึ้นกับ TPGS 50 เท่า (1:10)
Development and evaluation of solid dispersion of spironolactone (SPL) using fusion method ^[14]	PEG 4000	1:1, 1:3, 1:5	conventional fusion method	2.26 เท่า (1:5)
Atorvastatin solid dispersion for bioavailability enhancement ^[15]	PEG 4000	1:1, 1:2, 1:3	conventional fusion method	2.93 เท่า (1:3)

3. Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)^[7]



รูปภาพ 4 สูตรโครงสร้าง hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)^[7]

ชื่อพ้อง: Benecel MHPC; E464; hydroxypropyl methylcellulose; HPMC; Methocel; methylcellulose propylene glycol ether; methyl hydroxypropylcellulose; Metolose; Tylopur

ลักษณะภายนอก: มีลักษณะเป็นผงแกรนูล หรือเส้นใยสีครีมหรือสีขาว ไม่มีรส ไม่มีกลิ่น

หน้าที่: coating agent (สารเคลือบ); film-former (สารก่อฟิล์ม); rate-controlling polymer for sustained release (พอลิเมอร์ควบคุมการปลดปล่อยยา); stabilizing agent (สารเพิ่มความคงตัว); suspending agent (สารแขวนตะกอน); tablet binder (สารยึดเกาะ); viscosity-increasing agent (สารเพิ่มความหนืด)

การประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรมและเทคโนโลยีนำส่งยา: HPMC ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในตำรับยา รับประทาน ยาตา และยาใช้ภายนอก ยารับประทานจะนิยมใช้ HPMC เป็นสารยึดเกาะ สารเคลือบ และสารก่อเมทริกซ์ ส่วนรูปแบบยาออกฤทธิ์เนิ่นนั้น ถ้าใช้เป็นสารยึดเกาะจะใช้ความเข้มข้น 2-5% ในกรณีของ HPMC ที่มีความหนืดสูงจะ นิยมนำไปใช้เป็นสารชะลอการปลดปล่อยยา โดยใช้ความเข้มข้น 10-80% ของตำรับยาเม็ดหรือแคปซูล HPMC ยังใช้เป็น สารเพิ่มความข้น (thickening agent) ในตำรับยาใช้ภายนอก เมื่อเปรียบเทียบกับ methylcellulose จะพบว่า HPMC มีความใสกว่าและมีเส้นใยที่ไม่ละลายน้อยกว่า ดังนั้นจึงนิยมใช้ HPMC ในตำรับตา โดยใช้ที่ความเข้มข้น 0.45-1.0% w/w นอกจากนี้ HPMC ยังใช้เป็นสารก่ออิมัลชัน, สารช่วยแขวนตะกอน และสารเพิ่มความคงตัวในตำรับเจลและ ointment

HPMC มีคุณสมบัติในด้านต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 10

ตาราง 10 คุณสมบัติทั่วไปของ HPMC

หัวข้อ	คุณสมบัติสาร
Acidity/alkalinity	pH 5.0-8.0 สำหรับ 2%w/w aqueous solution
Melting point	Browns ที่ 190-200°C Chars ที่ 225-230°C Glass transition ที่ 170-180 °C
Solubility	ละลายในน้ำเย็น ไม่ละลายบางส่วน ในน้ำร้อน, chloroform, ethanol (95%) และ ether แต่ละลายใน ethanol ผสม dichloromethane, methanol ผสม dichloromethane และ น้ำ ผสม alcohol

ความคงตัวและการเก็บ: สารละลายคงตัวที่ pH 3-11 โดย HPMC สามารถผันกลับระหว่าง sol-gel ได้ด้วยการได้รับความร้อนหรือความเย็น โดยอุณหภูมิในการเกิดเจล (Gelation) อยู่ที่ 50-90°C ขึ้นกับเกรดและวัสดุ ส่วนอุณหภูมิที่ต่ำกว่าการเกิดเจล ความความหนืดของสารละลายจะลดลงถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้น สำหรับอุณหภูมิที่สูงกว่าการเกิดเจล ความหนืดจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ผง HPMC ควรเก็บในภาชนะปิดสนิท เย็น และแห้ง

Incompatibilities: HPMC ไม่เข้ากันกับ oxidizing agent โดย ตัว HPMC ไม่มีขั้ว และจะไม่ complex กับ metallic salt หรือ ionic organics โดย จะรวมตัวเป็นตะกอนที่ไม่ละลาย

ความปลอดภัย: HPMC ถูกใช้เป็นสารช่วยอย่างแพร่หลายในตำรับยารับประทาน, ยาตา, nasal, topical pharmaceutical formulations และยังใช้อย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหาร โดย HPMC ถือว่าเป็นวัสดุที่ไม่มีพิษ และไม่ก่อการระคายเคือง แต่หากรับประทานมากเกินไป จะเกิด laxative effect

Handling Precautions: ผง HPMC อาจทำให้เคืองตา จึงแนะนำให้ปกป้องดวงตา
ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ HPMC ในการทำ solid dispersion ดังแสดงในตารางที่ 11

ตาราง 11 ตัวอย่างการใช้ HPMC ในงานวิจัย

ชื่องานวิจัย	พอลิเมอร์	สัดส่วน (active:carrier) (w/w)	วิธี Solid dispersion	ค่าการละลายของ สัดส่วนที่ดีที่สุด/ค่าการ ละลายของสาร pure
Enhancement of solubility and dissolution rate of quercetin with solid dispersion system formation using hydroxypropyl methyl cellulose matrix ^[16]	hydroxypropyl methyl cellulose matrix (HPMC)	(quercetin : HPMC) 1:1, 1:2, 1:3	solvent evaporation method	solvent evaporation method (1:3) 3.5 เท่า
Preparation and characterization of curcumin solid dispersion using HPMC ^[17]	hydroxypropyl methyl cellulose matrix (HPMC)	(curcumin : HPMC) 10:90, 20:80, 30:70	solvent evaporation method	solvent evaporation method (20:80) 21689 เท่า
Improving solubility and dissolution of meloxicam by solid dispersion using hydroxypropyl methyl cellulose 2910 3 cps and nicotinamide ^[18]	hydroxypropyl methyl cellulose matrix (HPMC), nicotinamide (NC)	(MLX:HPMC:NC) 1:1:1 (SD1), 1:1:2 (SD2), 1:2:1 (SD3), 1:2:2 (SD4) โดยละลาย meloxicam (MLX) ใน methanol, ละลาย hydroxypropyl methyl cellulose 2910 3 cps (HPMC) และ nicotinamide (NC) ใน น้ำ	solvent evaporation method	solvent evaporation method SD3 (1:2:1) 3.6 เท่า

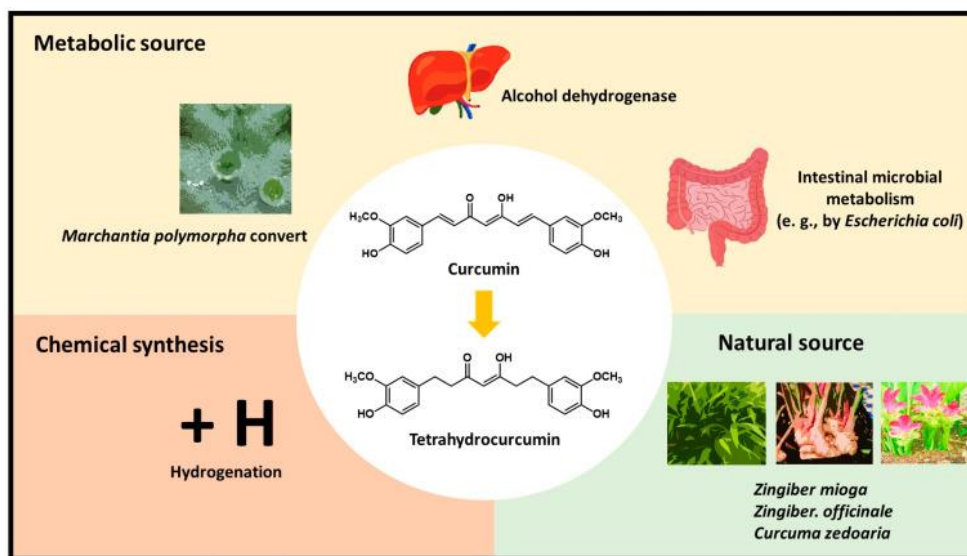
ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวิธีการทำ solid dispersion สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 12

ตาราง 12 ตัวอย่างเกี่ยวข้องกับวิธีการทำ solid dispersion

ชื่องานวิจัย	พอลิเมอร์	สัดส่วน (active:carrier) (w/w)	วิธี Solid dispersion	ค่าการละลาย ของสัดส่วนที่ ดีที่สุด/ค่าการ ละลายของ สาร pure
Enhancement of solubility and dissolution rate of curcumin by solid dispersion technique ^[19]	PEG 4000, PEG 6000	1:3, 1:5, 1:10	fusion method	PEG 4000 228 เท่า (1:10)
Molecular interactions for the curcumin-polymer complex with enhanced anti- inflammatory effects ^[20]	PVP K-30	1:1, 1:3, 1:6, 1:9	solvent evaporation method	PVP K-30 (1:9)
Increased solubility, dissolution and physicochemical studies of curcumin-PVP K-30 solid dispersions ^[21]	PVP K-30	1:2, 1:4, 1:5, 1:6, 1:8	solvent evaporation method	PVP K-30 1200 เท่า (1:8)
Studies on solubility of curcumin ^[22]	PEG 6000, PEG 4000	1:1, 1:4, 1:8	hot melt method	PEG 6000 (1:8)

Tetrahydrocurcumin^[1]

Tetrahydrocurcumin (THC) เป็นสารเมตาโบไลต์ของ curcumin ถูกค้นพบโดย Holder และคณะ^[23] จากการศึกษาการเผาผลาญในร่างกายของหนูโดยใช้ curcumin ที่ติดฉลากไอโซโทป พบว่าโครงสร้างทางเคมีของ THC คล้ายกับ curcumin มาก อย่างไรก็ตาม THC ขาดพันธะคู่ในสายโซ่คาร์บอน 7 ตัวที่อยู่ตรงกลางภายในโมเลกุล ซึ่งพันธะคู่แบบ conjugated ทั้งสองชนิดใน curcumin มีหน้าที่กำหนดสีที่เป็นลักษณะเฉพาะของขมิ้น ในขณะที่ THC เป็นสีขาวนวลเนื่องจากไม่มี α, β -unsaturated carbonyl การศึกษาพบว่า THC ส่วนใหญ่ถูกแยกได้ในรูป conjugated ใน serum และเนื้อเยื่อต่าง ๆ เช่น ลำไส้ ตับ ไต ปอด กล้ามเนื้อ ตับอ่อน ม้าม และสมอง อย่างไรก็ตาม THC ในรูปแบบ unconjugated และ conjugated ถูกพบในตับและพลาสมาของหนูที่เลี้ยงด้วย curcumin นอกจากนี้ยังตรวจพบ THC แบบ unconjugated ในพลาสมาและสมองของหนูที่ได้รับการรักษาด้วย curcumin ด้วยวิธีการบริหารต่าง ๆ



รูปภาพ 5 The sources of tetrahydrocurcumin^[1]

tetrahydrocurcumin เป็นสารเมตาโบไลต์ของ curcumin ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในรากของ *Zingiber mioga*, *Z. officinale*, และ *Curcuma zedoaria* นอกจากนี้ THC ยังสามารถสังเคราะห์ทางเคมีผ่านการเติมไฮโดรเจนของ curcumin เพื่อลดพันธะคู่ โดยจากเซลล์ที่เพาะเลี้ยงของ *Marchantia polymorpha* (ตับอ่อน) ยังพบว่าสามารถเปลี่ยน curcumin เป็น THC โดยให้ผลผลิตประมาณ 90% ต่อวัน (รูปภาพ 5) จากการศึกษาพบว่า THC มีความสามารถในการละลายและความคงตัวทางเคมีได้ดีกว่า curcumin ซึ่ง THC มีความคงตัวในสารละลาย

บัฟเฟอร์ 0.1 M นอกจากนี้ THC ยังคงตัวกว่า curcumin ใน pH 8.0 โดยไม่พบการสลายตัวภายใน 2 ชั่วโมง และย่อยสลายได้ช้ากว่า curcumin

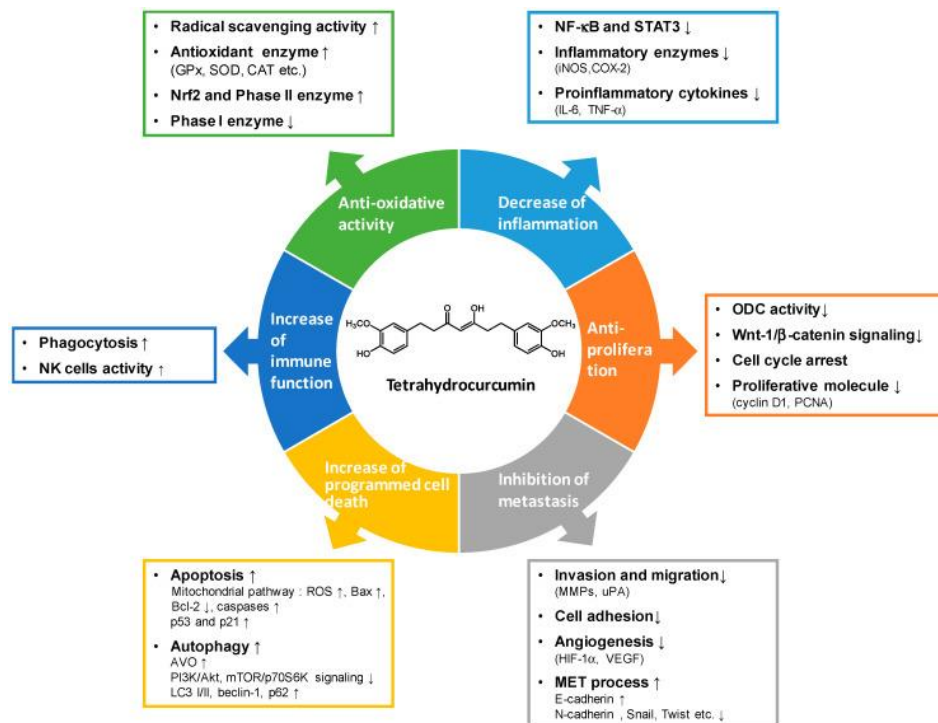
ประโยชน์ของ THC

Tetrahydrocurcumin (THC) มีคุณสมบัติทางชีวภาพและทางเภสัชวิทยาที่เป็นที่ต้องการมากกว่า curcumin ได้รับการยอมรับว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ โดย curcumin ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นฤทธิ์โปรออกซิแดนท์ในปริมาณที่สูงขึ้นเนื่องจากกลุ่ม phenyl hydroxyl, phenyl methoxy และ α , β -unsaturated carbonyl ตลอดจนความสามารถในการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดการสร้างสารอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ Reactive oxygen species (ROS) ขณะที่ THC ไม่สร้างสารอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ Reactive oxygen species (ROS) เนื่องจากไม่มีพันธะ conjugated ในสายโซ่คาร์บอน 7 ตัวกลาง กลไกการต้านออกซิเดชันของ THC จะกำจัดอนุมูลอิสระโดยกลุ่มฟีนิลไฮดรอกซิล และพันธะ C-C ที่คาร์บอนเมทิลีนที่อยู่ระหว่าง 2 carbonyl บน β -diketon ในระหว่างการเกิดออกซิเดชัน และกลไกการต้านออกซิเดชันของ THC อีกชนิดหนึ่งคือ ความสามารถในการเพิ่มของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน เช่น superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, และ glutathione-S-transferase

THC มีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่า curcumin และคุณสมบัติในการป้องกันเซลล์ต่อความเสียหายและการตายของเซลล์ที่เกิดจาก ROS ได้ดีกว่า curcumin

ฤทธิ์ทางชีวภาพของ THC

1. Anti-oxidative activity
2. Anti-inflammatory activity
3. Anti-proliferative activity
4. Anti-metastatic activity
5. Induction of programmed cell death
6. Immuno-modulating activity



รูปภาพ 6 The potential mechanism of actions and molecular targets for tetrahydrocurcumin^[1]

การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ^[24]

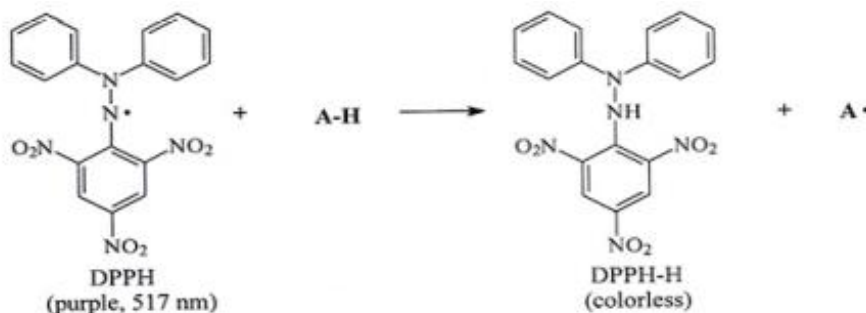
การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นขั้นตอนสำคัญในการวิเคราะห์ และประเมินคุณภาพของสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดจากสมุนไพร ใช้วัดปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ (crude extract) เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน และการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดที่นำไปผ่านการแยกให้บริสุทธิ์ (purification) ในแต่ละขั้นตอน โดยใช้การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยหลักการวัดการดูดกลืนคลื่นแสง ด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer) ซึ่งเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางเคมีทั่วไป โดยมีรายละเอียดของแต่ละวิธีการดังนี้

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination)^[24]

1. ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

DPPH คือ อนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (stable free radical) (รูปภาพ 11) เป็นสารที่นิยมใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สนใจ ใช้หลักการของ DPPH ที่มีสีม่วงที่อยู่ในรูปอนุมูลไนโตรเจนที่มีความคงตัวมาก ซึ่งไม่ต้องผ่านการทำปฏิกิริยาให้เกิดสารอนุมูลเหมือนกับกรณี ABTS⁺ โดยสารต้านออกซิเดชัน

จะให้อิเล็กตรอนกับอนุมูล DPPH ช่วยให้สารนี้เสถียร (รูปภาพ 7) จึงส่งผลให้สารละลายเปลี่ยนสี จากสีม่วงเป็นสีเหลือง และมีค่าการดูดกลืนแสงลดลง เมื่อวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 หรือ 517 นาโนเมตร



รูปภาพ 7 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง DPPH[•] กับสารต้านอนุมูลอิสระ^[24]

ข้อดี

- ง่าย สะดวกและรวดเร็ว

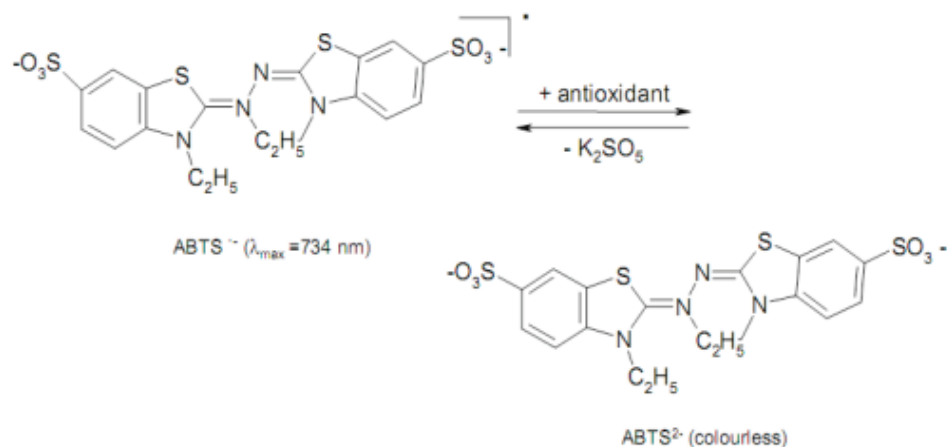
ข้อเสีย

- DPPH[•] ค่อนข้างเสถียรไม่ว่าต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างเป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (interfere) ปฏิกิริยาซึ่งสามารถเป็นตัวรบกวนแล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH[•] จางลงได้

2. ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6- sulfonic acid)]

ใช้หลักการเหมือนกับการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH แต่ในกรณี ABTS^{•+} (รูปภาพ 11) เป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุเป็นบวก ในสารละลายจะมีสีเขียวเข้ม และมีค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) หลายค่า ได้แก่ 415, 645, 734 และ 815 นาโนเมตร แต่ทั่วไปแล้วจะนิยมใช้ความยาวคลื่นที่ 415 และ 743 นาโนเมตร ในการติดตามปฏิกิริยา โดยในการลดลงของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าว จะใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (สีเขียวของสารละลายจางลง) ในการเตรียมอนุมูลอิสระของ ABTS เพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะมีขั้นตอนที่ยุ่งยากกว่าในกรณีของ DPPH นั่นคือ ต้องนำเอา ABTS ไปบ่มกับ potassium

persulfate ด้วยอัตราส่วน 1:0.5 (stoichiometry ratio) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เพื่อให้ได้อนุมูลอิสระที่เป็นประจุบวกของ $ABTS^{+•}$ ก่อนนำไปใช้ในการทดสอบปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระต่อไป



รูปภาพ 8 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง $ABTS^{+•}$ กับสารต้านอนุมูลอิสระ^[25]

ข้อดี

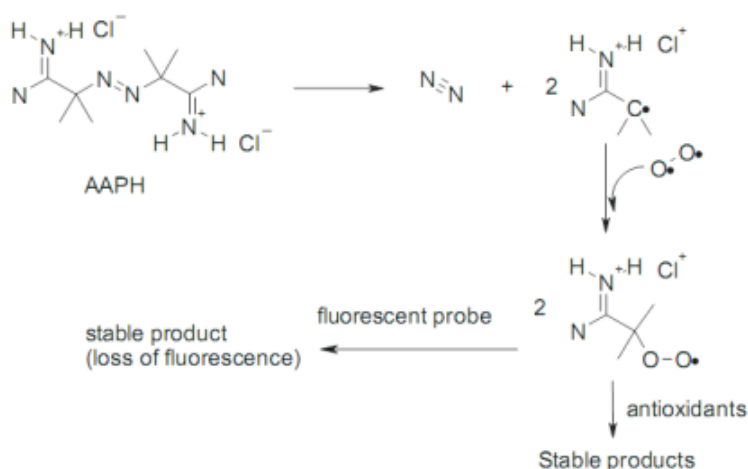
- $ABTS^{+•}$ ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง

ข้อเสีย

- $ABTS^{+•}$ ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

3. ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ Oxygen radical antioxidant capacity (ORAC)

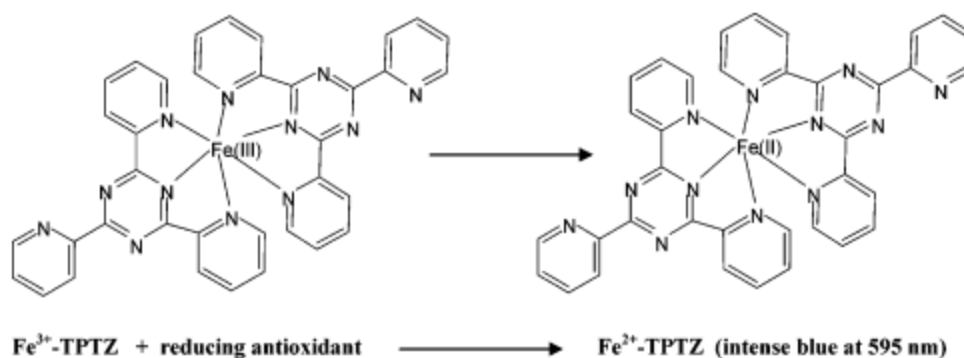
เป็นวิธีการวัดหาดัชนีความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม ที่พัฒนาขึ้นโดย Cao และคณะ^[26] โดยวัดความสามารถของสารที่ทดสอบในการยับยั้งอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxyradicals) ไม่ให้เข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งจะหยุดปฏิกิริยาถูกใช้ด้วยกลไกการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน โดยจะไปยับยั้งอนุมูลอิสระที่จะทำปฏิกิริยาเปลี่ยนจากสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เป็นสารไม่เรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งปริมาณและความสามารถของสารทดสอบจะแปรผันตรงกับสารฟลูออเรสเซนต์ วิธีนี้จะใช้ สาร β -phycoerythrin (fluorescein) ซึ่งมีคุณสมบัติให้แสงฟลูออเรสเซนต์ที่มีความยาวคลื่น 565 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง หรือรังสีที่มีความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร สาร β -phycoerythrin จะถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ ทำให้คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงเสียไป (รูปภาพ 9)



รูปภาพ 9 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารอนุมูล AAPH กับสารต้านอนุมูลอิสระ^[25]

4. การวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

หลักการของวิธีนี้จะวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ (คุณสมบัติเป็น reductant) จะใช้หลักการที่แตกต่างจากวิธีการที่กล่าวไปแล้วข้างต้น โดยในสารละลาย FRAP ประกอบด้วย Fe^{3+} และ 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ในสภาวะที่เป็นกรด โดย Fe^{3+} ใน FRAP reagent จะรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน หรือในสารสกัดจากสมุนไพรแล้วเปลี่ยนเป็น Fe^{2+} จากนั้นเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ TPTZ เปลี่ยนเป็นสารสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ จะวัดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Fe^{2+} และ TPTZ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น ดังกล่าวนี้อาจใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (รูปภาพ 10)



รูปภาพ 10 Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay^[27]

ข้อดี

- วิธีการนี้เป็นวิธีการที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพงและสามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม

ข้อเสีย

- ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกายและสารละลายที่ใช้อ้างอิง ต้องใช้น้ำปราศจากไอออน (deionized water)

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่กล่าวมาข้างต้น สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 13

ตาราง 13 คุณสมบัติของวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิธีวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	สมการ	สีของปฏิกิริยาเมื่อพบสารต้านอนุมูลอิสระ	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสง (nm)	เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์
DPPH	$\text{DPPH}^\bullet + \text{AH} \longrightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}^\bullet$	เหลือง	515, 517	-
ABTS	$\text{ABTS}^{\bullet+} \longrightarrow \text{ABTS} + \text{A}^\bullet$	ไม่มีสี	415, 743	-
ORAC	$\text{-AAPH} \xrightarrow{\text{O}_2} 2\text{ROO}^\bullet + \text{N}_2 \quad [1]$ $\text{FLH} + \text{ROO}^\bullet \longrightarrow \text{FL}^\bullet + \text{ROOH} \quad [2]$ $\text{XH} + \text{ROO}^\bullet \longrightarrow \text{X}^\bullet + \text{ROOH} \quad [3]$	วัดการเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์	540	fluorometer
Ferric reducing antioxidant power (FRAP)	$\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) + reducing antioxidant} \longrightarrow \text{Fe}^{2+}\text{-TPTZ (ferrous tripyridyl triazine)}$	น้ำเงิน	595	-

สารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ^[24]

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ของสารสกัดสมุนไพรที่สนใจนั้น จะใช้การคำนวณเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่รู้ปริมาณของเนื้อสารหรือความเข้มข้นที่แน่นอน โดยการใช้วิธีการ ติดตามสารดังกล่าวด้วยปฏิกิริยาเคมีที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น ใช้การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบ ทั้งนี้สารมาตรฐานที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

1. Butylate hydroxytoluene (BHT) และ Butylate hydroxyanisole (BHA) (รูปภาพ 11)

สารทั้งสองตัวนี้ถูกสังเคราะห์โดยวิธีทางเคมี และมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (synthetic antioxidant) ถูกใช้เป็นสารมาตรฐานสำหรับการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมอาหาร พวกเคมี โพลีเมอร์ น้ำมัน และปิโตรเคมี

2. วิตามินซี (Vitamin C หรือ ascorbic acid) (รูปภาพ 11)

สารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายน้ำได้ดี (water-soluble) พบมากในผลไม้ เช่น ส้ม ฝรั่ง และผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มวิตามินที่ละลายน้ำได้ดีเหมือนกับวิตามินบี จัดเป็นสารอาหารที่ร่างกายต้องได้รับในปริมาณที่เพียงพอต่อวัน วิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติที่มีกลไกการต่อต้านอนุมูลอิสระโดยให้อิเล็กตรอนอิสระบนโครงสร้างไปยังโมเลกุลของอนุมูลอิสระเพื่อทำลาย และลดความเป็นพิษของอนุมูลอิสระที่จะไปทำลายองค์ประกอบของเซลล์ วิตามินซีเป็นสารอีกตัวหนึ่งที่นิยมใช้เป็นสารมาตรฐานในการวัดปริมาณสารอนุมูลอิสระ ในสารสกัดสมุนไพร

3. วิตามินอี (α -tocopherol) และ Trolox (vitamin E derivative) (รูปภาพ 11)

สารต้านอนุมูลอิสระอีกตัวที่พบในธรรมชาติ จัดอยู่ในกลุ่มวิตามินที่ละลายในไขมัน (water-insoluble หรือ fat-soluble) ในอุตสาหกรรมอาหารจะเติมวิตามินอีลงไปเพื่อป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง หรือก็คือช่วยป้องกันการเหม็นหืนของน้ำมัน ด้วยโครงสร้างทางเคมี คุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ จึงได้มีการสังเคราะห์เป็นอนุพันธ์คือ 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, ชื่อทั่วไปคือ Trolox ทำให้ละลายน้ำได้ดีขึ้น และใช้เป็นสารมาตรฐานในการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ โดยในรายงานวิจัยที่ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ นิยมใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณจะรายงานเป็นค่าน้ำหนักสมมูลกับ Trolox (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)

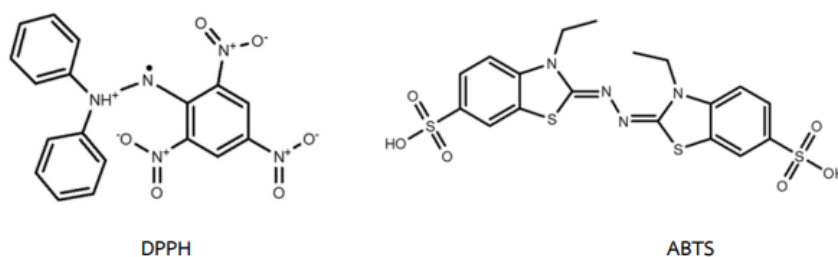
4. กรดแกลลิก (Gallic acid)

เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอล ด้วยโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (รูปภาพ 11) ภายในโมเลกุลสามารถให้อิเล็กตรอนกับโมเลกุลอื่นได้ดี ด้วยกลไกที่เหมือนกับวิตามินซี สารตัวนี้ พบมากในผลกระเทียม (garlic bulbils) ซึ่งมีกลิ่นเฉพาะตัว สารตัวนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี ด้วยโครงสร้างทางเคมีทำให้ละลายน้ำได้ง่าย นิยมใช้เตรียมเป็น สารมาตรฐานในการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกับ

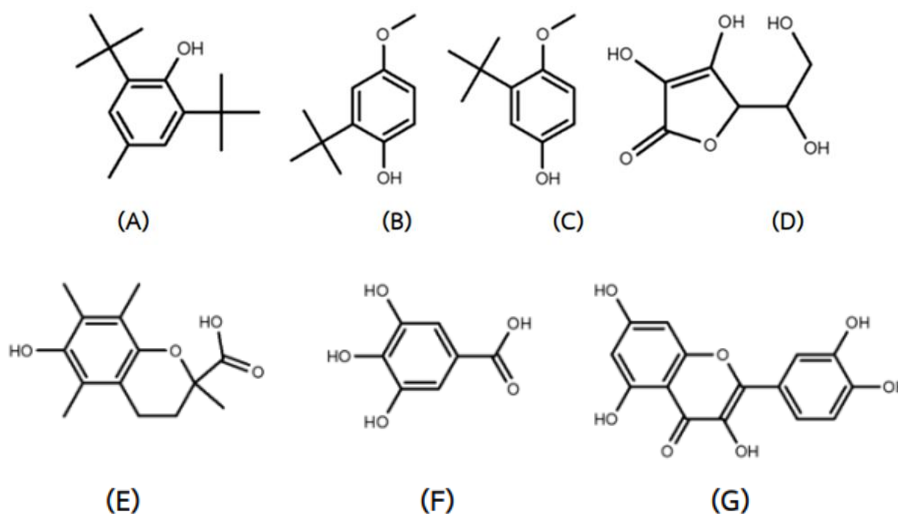
Trolox และยังใช้เป็นสารมาตรฐานสำหรับการคำนวณหาปริมาณรวมของสารโพลีฟีนอลด้วย ในการวิเคราะห์จะรายงานค่าเป็น น้ำหนักสมมูล มิลลิกรัมของ garlic acid ต่อน้ำหนักแห้งของสารทดสอบ (mg garlic equivalent per g dry matter, มีหน่วยเป็น mg GAE/g DM)

5. Quercetin

เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ พบมากในผัก ผลไม้ และเมล็ดธัญพืช สารสกัดนี้ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเสริมสุขภาพ โครงสร้างทางเคมีมีลักษณะเป็นอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ (รูปภาพ 11) ที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี จึงเหมาะสำหรับการเตรียม และนำไปใช้ในการเตรียมเป็นสารมาตรฐานสำหรับการหาปริมาณรวมของฟลาโวนอยด์ ในตัวอย่างทดสอบหรือสารสกัดจากสมุนไพร



สารอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2'-azinobis(3-ethyl benzothiazoline-6- sulfonic acid) (ABTS)



สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ (A): Butylate hydroxytoluene (BHT), (B): 2-tert-butyl-4-methoxyphenol, (C): 3-tert-butyl-4-methoxyphenol โดย (B) และ (C) คือสารในกลุ่ม Butylate hydroxyanisole (BHA), (D): วิตามินซี (Ascorbic acid), (E): trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), (F): gallic acid และ (G): quercetin (2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-one)

รูปภาพ 11 โครงสร้างทางเคมีของสารอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน^[28]

ในปัจจุบันได้มีการตีพิมพ์งานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางด้านการต้านอนุมูลอิสระของ THC อย่างแพร่หลาย ซึ่งสามารถยกตัวอย่างได้ดังตารางที่ 14

ตาราง 14 ตัวอย่างงานวิจัยที่ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ THC

ชื่องานวิจัย	สาร	วิธีการทดสอบ ฤทธิ์ antioxidant	ผลการทดสอบ
Neuroprotective effects of tetrahydrocurcumin against glutamate-Induced oxidative stress in hippocampal HT22 cells ^[29]	THC	DPPH-assay	ความเข้มข้นของสาร THC มาก จะทำให้มีค่า DPPH scavenging (%) มากขึ้นตามไปด้วย
Synthesis and evaluation of the anti-oxidant capacity of curcumin glucuronides, the major curcumin metabolites ^[30]	curcumin, curcumin monoglucuronide, curcumin diglucuronide	DPPH assay, ORAC assay	DPPH assay (curcumin ค่า DPPH scavenging (%) จะมากขึ้นตามความเข้มข้น)

การศึกษาฤทธิ์ antioxidant ของ THC จากงานวิจัยของ Sangartit และคณะ^[31]ได้ทำการตรวจสอบสาร THC สามารถปรับปรุงพลศาสตร์การไหลเวียนเลือด การทำงานของหลอดเลือด และลดภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูแรทที่ได้รับแคดเมียมและตะกั่วในระดับต่ำ ผลการวิจัยพบว่าหนูที่ได้สาร THC สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของหลอดเลือดโดยการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน ลดการสร้างซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot -}$) กดการทำงานของ p47^{phox} ร่วมกับการเพิ่มของ eNOS ทำให้ THC มีประสิทธิภาพสามารถดำรงการทำงานของหลอดเลือดและลดภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูแรทที่ได้รับสารแคดเมียมและตะกั่วได้อย่างมีนัยสำคัญ

Hanwaree และคณะ^[32]ได้ทำการศึกษาผลของสาร THC ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงต่อระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลิน ความต้านทานต่ออินซูลิน และความเครียดออกซิเดชันในหนูที่เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin-nicotinamide (STZ-NA) พบว่าการให้ THC ทำให้มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระกลูตาไธโอนภายในเซลล์ของหนูที่เป็นเบาหวาน และการรักษาด้วย THC พบว่าสามารถลดระดับระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร ช่วยเพิ่มความไวต่อการตอบสนองของอินซูลินและบรรเทาความเครียดออกซิเดชันในหนูที่เป็นเบาหวานได้

การเตรียมตำรับเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอก

ตำรับเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอกสามารถเตรียมได้ในหลากหลายรูปแบบ เช่น ครีม เจล โทนนเนอร์ และอื่น ๆ งานวิจัยของ Li Yuanxi และคณะ^[33] ได้เปรียบเทียบความชุ่มชื้นของผิวหนังหลังจากการใช้ครีม โทนนเนอร์ และสเปรย์น้ำแร่ทั้งในการใช้ผลิตภัณฑ์เดี่ยวและควบคู่ ผลการวิจัยรายงานว่า การใช้ครีมควบคู่กับโทนนเนอร์ จะสามารถรักษาความชุ่มชื้นของผิวหนังได้มากที่สุดโดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในด้านของลำดับการใช้ และการใช้โทนนเนอร์ซ้ำ ๆ จะรักษาความชุ่มชื้นของผิวหนังได้ดีกว่าการใช้สเปรย์น้ำแร่ โดยสำหรับตำรับเครื่องสำอางแล้ว การรักษาความชุ่มชื้นของผิวเป็นสิ่งที่สำคัญอย่างมาก เนื่องจากผิวหนังที่ชุ่มชื้นจะมีความสามารถในการดูดซึมสารสำคัญได้มากกว่าผิวหนังที่แห้งถึง 10 เท่า^[34]

Pongsakornpaisan และคณะ^[35] ได้ศึกษาการตั้งตำรับโทนนเนอร์ที่มีสารสกัดจากฝรั่งในตำรับที่มีปริมาณของ glycerin ต่างกัน โดยตำรับประกอบด้วยสารสกัดจากฝรั่ง, glycerin, *d*-ethanol, propylene glycol, polysorbate 20, spectrastat PHL, disodium EDTA, สารแต่งกลิ่น, น้ำ, และ triethanolamine ผลการวิจัยพบว่าตำรับโทนนเนอร์ที่มีส่วนประกอบของ glycerin 2% (w/w) มีคุณสมบัติในการกระจาย การดูดซึม และสามารถเกลี่ยได้ง่ายที่สุด

Ida Duarte และคณะ^[36] ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดการแพ้ของผิว โดยพบว่า เครื่องสำอางก็เป็นหนึ่งในปัจจัยกระตุ้นหลักของผิวแพ้ง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้หญิง อันเนื่องมาจากการใช้เครื่องสำอางที่มากเกินไป, บางครั้งใช้ไม่เหมาะสมกับสภาพผิวตนเอง และในตำรับเครื่องสำอางอาจมีส่วนประกอบของสารที่อาจส่งผลให้เกิดการระคายเคืองของผิวหนัง เช่น กรดอัลฟาไฮดรอกซี, โพรพิลีนไกลคอล, แอลกอฮอล์, น้ำหอม, ฯลฯ ก็สามารถเกิดอาการแพ้ของผิวได้ ดังนั้น การทำให้ค่า pH ของตำรับเครื่องสำอางมีค่า เท่ากับค่า pH 5.5 โดย pH 5.5 ของผิวหนัง จะช่วยรักษาเป็นเกราะป้องกันการถูกทำลายของผิวหนังและให้ความชุ่มชื้นที่เพียงพอกับผิวหนัง โดย pH 5.5 ทำให้มีการปลดปล่อยสารลดการอักเสบ เช่น ไซโตไคน์ มาป้องกันการแพ้ของผิวหนังได้

ในปัจจุบันยังไม่พบงานวิจัยที่ศึกษาสาร THC ในตำรับโทนนเนอร์ อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยจำนวนหนึ่งที่รายงานการศึกษาศาสตร์ THC ในตำรับครีม Wanitphakdeedecha และคณะ^[37] ได้ศึกษาประสิทธิภาพของตำรับครีม THC ที่มีส่วนผสมของ liposome โดยพบว่าสามารถเพิ่มความยืดหยุ่นและปรับปรุงสีผิวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ งานวิจัยของ Majeed และคณะ^[38] ศึกษาเกี่ยวกับการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างตำรับครีม THC และ hydroquinone ในการปรับสีผิว ผลพบว่าตำรับครีม THC มีประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการปรับสีผิว แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับครีม hydroquinone จึงอาจพิจารณาใช้เป็นอีกหนึ่งทางเลือก

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 สารเคมี

- 1.1.1 Tetrahydrocurcumin
- 1.1.2 95% ethanol
- 1.1.3 Absolute ethanol
- 1.1.4 Deionize water
- 1.1.5 PEG 400
- 1.1.6 Glycerin
- 1.1.7 Phenoxyethanol
- 1.1.8 Triethanolamine
- 1.1.9 PVP K-30
- 1.1.10 Vitamin C
- 1.1.11 Trolox
- 1.1.12 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
- 1.1.13 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
- 1.1.14 Potassium persulfate

1.2 เครื่องมือ

- 1.2.1 Aluminum foil
- 1.2.2 Purified water
- 1.2.3 Beaker 25, 50, 100,150, 250, 500, 1000 mL
- 1.2.4 Cylinder 10, 25, 100, 500, 1000 mL
- 1.2.5 Eppendorf®
- 1.2.6 Hot air oven Memmert รุ่น UNE
- 1.2.7 Parafilm
- 1.2.8 BUCHI Rotary Evaporator

- 1.2.9 Round bottom flask
- 1.2.10 Vortex mixer
- 1.2.11 Volumetric flask 5, 10, 25, 100 mL
- 1.2.12 ซ้อนเขา
- 1.2.13 Sonicator bath
- 1.2.14 Stirring rod
- 1.2.15 Syringe
- 1.2.16 Centrifuge
- 1.2.17 Micropipette 2-20, 20-200, 100-1000 μL
- 1.2.18 Test tube
- 1.2.19 Rack
- 1.2.20 Water bath
- 1.2.21 pH meter
- 1.2.22 UV-vis spectrophotometers
- 1.2.23 Desiccator
- 1.2.24 แร้ง เบอร์ 60
- 1.2.25 โกร่ง
- 1.2.26 ขวดสีชา
- 1.2.27 ขวดแก้วใส
- 1.2.28 Membrane filter 0.45 μm
- 1.2.29 Rotary Evaporator Anti Bump Trap
- 1.2.30 Microplate reader (96-well plate)
- 1.2.31 Pipette tips 20 μL , 180 μL
- 1.2.32 Microplate reader รุ่น fluostar omega
- 1.2.33 Quartz Cuvette
- 1.2.34 Dropper

2. การเตรียม Solid dispersions

2.1 ชั่ง THC 0.2 g ผสมกับ PVP K-30 (ratios 1:1, 1:3, 1:6, 1:9 และ 1:12) (ดังตารางที่ 15) ละลายใน ethanol 10 mL

ตาราง 15 อัตราส่วนการเตรียม Solid dispersions ของ Tetrahydrocurcumin

Sample	Tetrahydrocurcumin (g)	PVP K-30 (g)
SD-1 (1:1)	0.5	0.5
SD-2 (1:3)	0.5	1.5
SD-3 (1:6)	0.5	3.0
SD-4 (1:9)	0.5	4.5
SD-5 (1:12)	0.5	6.0

2.2 ปิดฝาแล้ว Sonicate เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 40 °C

2.3 ระเหยแห้งด้วย Rotary evaporator จนแห้ง

2.4 เก็บในเครื่อง desiccator

2.5 บดแล้วผ่านร่อนเบอร์ 60 เพื่อลดขนาดให้เล็กลงอย่างสม่ำเสมอและเก็บสารในขวดสีชาเพราะป้องกันสาร THC สลายตัวจากแสง

3. ประเมินการเพิ่มค่าการละลายด้วยวิธี Solid dispersion โดยเทียบกับ Standard curve

3.1 การสร้าง Standard curve

3.1.1 เตรียม Stock solution โดยใช้ EtOH/H₂O (99.75:0.25, v/v) ความเข้มข้น 200 µg/mL (SS-1)

- 1) ชั่งสารปริมาณ 20 mg ละลายด้วยเอทานอลปริมาตร 75 mL เทลงใน Volumetric flask ขนาด 100 mL เติมน้ำ 0.25 mL (100 µL) แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล
- 2) Sonicate เป็นเวลา 10 นาที ที่ 40°C
- 3) กรองสารด้วย filter ขนาด 0.45 µm
- 4) ตรวจวัดค่า abs ที่ 282 nm โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer

3.1.2 เตรียมความเข้มข้นอื่น ๆ สำหรับสร้าง Standard curve

- 1) นำ SS-1 ปริมาตร 0.75 mL (750 µL) ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 10 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล (SS-2; 15 µg/mL)

- 2) นำ SS-1 ปริมาตร 0.5 mL (500 μ L) ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 10 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล (SS-3; 10 μ g/mL)
- 3) นำ SS-1 ปริมาตร 0.375 mL (375 μ L) ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 10 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล (SS-4; 7.5 μ g/mL)
- 4) นำ SS-1 ปริมาตร 0.25 mL (250 μ L) ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 10 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล (SS-5; 5 μ g/mL)
- 5) นำ SS-1 ปริมาตร 0.1 mL (100 μ L) ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 10 mL แล้วปรับปริมาตร ด้วยเอทานอล (SS-6; 2.5 μ g/mL)
- 6) นำ SS-2 ถึง SS-6 ตรวจวัดค่า abs ที่ 282 nm โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer
- 7) นำค่า abs ที่ได้ มาสร้างกราฟ Standard curve

3.2 การหาค่าการละลาย Solid dispersion

3.2.1 ชั่ง THC, Solid dispersions ที่มี THC (ดังตารางที่ 16) ละลายในน้ำปริมาตร 100 mL

ตาราง 16 น้ำหนักของ THC และ Solid dispersion อัตราส่วนต่าง ๆ ที่มี THC 50 mg ในการหาค่าการละลาย

Sample	Weight (mg)
THC	2000
SD-1 (1:1)	100
SD-2 (1:3)	200
SD-3 (1:6)	350
SD-4 (1:9)	500
SD-5 (1:12)	650

3.2.2 กรองสารด้วย filter ขนาด 0.45 μ m

3.2.3 นำ Solutions ที่ได้จากข้อ 2 ปริมาตร 0.25 mL ใส่ Volumetric flask ขนาด 5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล

3.2.4 ตรวจวัดค่า abs ที่ 282 nm โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer เพื่อสร้าง solubility diagram

4. การทดสอบการละลายของ THC ใน PEG400

4.1 การทำละลาย THC ใน PEG400

- 4.1.1 ชั่ง Solid dispersion ของ THC สัดส่วน 1:9 โดยให้มีปริมาณ THC 1000 µg แล้วนำไปละลายกับ PEG 400 1 mL ในหลอดทดลอง
- 4.1.2 นำไป Vortex 5 รอบ รอบละ 2 นาที
- 4.1.3 นำไป Sonicate 30 นาที จนได้สารละลายใส
- 4.1.4 ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 4.1.1-4.1.3 โดยชั่ง Solid dispersion ของ THC สัดส่วน 1:9 โดยให้มีปริมาณ THC 2000 µg, 4000 µg และ 8000 µg และ THC ที่ไม่ผ่านการ Solid dispersion 1000 µg

4.2 การหาค่าการละลายโดยใช้การวิเคราะห์ UV-Vis spectrophotometry

- 4.2.1 ปิเปตสารละลาย Solid dispersion 1:9 ที่มี THC 1000 µg มา 100 µL
- 4.2.2 เจือจางด้วย 95% ethanol จนได้ปริมาตร 5 mL
- 4.2.3 กรองด้วย 0.45 micron membrane filter
- 4.2.4 ทำซ้ำใน THC ที่ไม่ผ่านการ Solid dispersion
- 4.2.5 ทำซ้ำใน Solid dispersion ของ THC สัดส่วน 1:9 ที่มีปริมาณ THC 2000 µg, 4000 µg และ 8000 µg โดยนำไปเจือจางต่อโดยการปิเปตสารละลายมา 1 mL และปรับปริมาตรด้วย 95% ethanol จนได้ปริมาตร 5 mL
- 4.2.6 นำทุกตัวอย่างไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 282 nm
- 4.2.7 คำนวณค่าการละลายโดยเทียบกับ standard curve

4.3 การเปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายน้ำ THC และ Solid dispersion ของ THC โดยมี PEG 400 เป็นตัวทำละลายร่วม

- 4.3.1 ชั่ง Solid dispersion ของ THC สัดส่วน 1:9 โดยให้มีปริมาณ THC 1000 µg แล้วนำไปละลายกับ PEG 400 1 mL
- 4.3.2 นำไป Vortex 5 รอบ รอบละ 2 นาที
- 4.3.3 นำไป Sonicate 30 นาที จนได้สารละลายใส
- 4.3.4 ปิเปตสารละลายมา 0.1 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 10 mL
- 4.3.5 ทำซ้ำใน THC ที่ไม่ผ่านการ Solid dispersion
- 4.3.6 ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลด้านความคงตัวของสารละลาย

5. ขั้นตอนการพัฒนาเครื่องสำอางสำหรับใช้ภายนอกจากสาร THC ในรูปแบบโชนเนอร์

5.1 สารที่ใช้

5.1.1 สาร THC solid dispersion

5.1.2 PEG 400

5.1.3 Glycerin

5.1.4 Phenoxyethanol

5.1.5 Triethanolamine

5.1.6 Deionized water

5.2 วิธีการทำ

5.2.1 ชั่ง solid dispersion, PEG 400, Glycerin, Phenoxyethanol (ดังตารางที่ 17)

ตาราง 17 สูตรตำรับโชนเนอร์ของ THC

สาร	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Blank 1	Blank 2	Blank 3
THC SD 1:9 1000 µg	0.01 g	0.02 g	0.03 g	-	-	-
PEG 400	1 mL	2 mL	3 mL	1 mL	2 mL	3 mL
Glycerine	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Phenoxyethanol	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Water qs.	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL

5.2.2 นำ solid dispersion ที่มี THC 1, 2 และ 3 mg มาละลายใน PEG 400

5.2.3 เติม glycerin และสาร phenoxyethanol ลงไป

5.2.4 ปรับปริมาตรด้วย deionized water ให้ได้ปริมาตร 50 mL แล้วเติม triethanolamine พร้อมกัวัด pH ให้อยู่ในช่วง pH 5.0-6.0

5.2.5 คนจนได้สารละลายใส บรรจุในภาชนะ ปิดให้สนิท

5.2.6 ทำอีก 5 ตำรับ โดยเริ่มทำตั้งแต่ข้อ 5.2.2-5.2.5

6. การศึกษาลักษณะทางกายภาพเบื้องต้นของตำรับโทเนอร์ [42]

6.1 การทดสอบความคงตัวของตำรับโทเนอร์ โดยวิธีการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง (Accelerated Storage Test)

6.1.1 การเร่งด้วยอุณหภูมิ (Heating – Cooling Cycle) โดยการนำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมสำเร็จ เก็บในตู้เย็น 4°C นาน 4 วัน นับเป็น 1 รอบ, เก็บในตู้อบที่ 40°C นาน 4 วัน นับเป็น 1 รอบ และเก็บในตู้เย็น 4°C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นเข้าตู้อบที่ 40°C อีก 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ โดยทดสอบทั้งหมด 6 รอบ

6.1.2 อุณหภูมิห้อง โดยการนำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมสำเร็จ นำไปวางในสภาวะต่าง ๆ ได้แก่ ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 วัน โดยเก็บในตู้มืด และเก็บในที่สว่าง โดยมีการวัดผลทุกการทดสอบด้วยการสังเกตลักษณะทางกายภาพ เช่น ความใส, การแยกชั้น, การเปลี่ยนแปลงของสี และค่า pH

7. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ THC, ผลิตภัณฑ์โทเนอร์ และผลิตภัณฑ์โทเนอร์หลังการทดสอบความคงตัว [39]

7.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH scavenging assay

7.1.1 ชั่ง DPPH 6.6 mg ละลายใน ethanol 100 mL

7.1.2 เตรียมสาร standard โดยใช้ Vitamin C และ trolox อย่างละ 8 ความเข้มข้น เพื่อทำ standard curve

1) Vitamin C เตรียมทั้งหมด 8 ความเข้มข้น ให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.30 และ 0.50 mg/mL

2) Trolox เตรียม stock solution ความเข้มข้น 0.20 mg/mL (2mg/10mL เอทานอล) เตรียมทั้งหมด 8 ความเข้มข้น โดยใช้วิธีการ dilute ให้ได้ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14, 0.18 และ 0.20 mg/mL

7.1.3 ชั่ง THC ละลายในเอทานอล (sample) เตรียมให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.02 และ 0.03 mg/mL

7.1.4 เตรียมสารละลาย sample แต่ละความเข้มข้นจำนวน 20 μ L ลงใน 96 – well plate แล้วเติม DPPH จำนวน 180 μ L และทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ โดยมีกลุ่มควบคุมเชิงบวก (positive control) ในการทดลอง คือ เอทานอล 20 μ L และ DPPH 180 μ L และมีกลุ่มควบคุมเชิงลบ (negative control) ในการทดลอง คือ เอทานอล 200 μ L

7.1.5 ทำซ้ำโดยเปลี่ยน sample เป็นผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ และผลิตภัณฑ์โทนเนอร์หลังการทดสอบความคงตัว

7.1.6 รอให้สารทำปฏิกิริยากับ DPPH ในที่มืด 30 นาที

7.1.7 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร (Multi-mode microplate reader, FLUOStar Omega 2020, Germany)

7.1.8 คำนวณหาค่า

$$\text{Antiradical activity (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH และ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

7.1.9 รายงานผลเป็นค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) และ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) โดยเทียบค่า antiradical activity ของ sample กับ standard curve ของ Trolox และ Vitamin C

7.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ABTS radical cation scavenging assay

7.2.1 ชั่ง ABTS 0.0180 g มาละลายด้วย deionized water 5 mL (7 mM)

7.2.2 ชั่ง potassium persulfate 0.0041 g มาละลายด้วย deionized water 6.25 mL (2.4 mM)

7.2.3 ผสมสารละลาย ABTS stock solution 5 mL กับ potassium persulfate stock solution 2.5 mL

7.2.4 เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

7.2.5 นำสารละลาย ABTS ที่ได้มาเจือจางด้วย deionized water ให้มีค่าการดูดกลืนแสง 0.7000 ± 0.020 ที่ 734 นาโนเมตร (Multi-mode microplate reader, FLUOStar Omega 2020, Germany)

7.2.6 ชั่ง THC ละลายในเอทานอล (sample) เตรียมให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.02 และ 0.03 mg/mL

7.2.7 เติมน้ำ sample ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 20 μ L ลงใน 96 – well plate แล้วเติมน้ำสารละลาย ABTS 180 μ L ในแต่ละหลุม ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ โดยมีกลุ่มควบคุมเชิงบวก (positive control) ในการทดลอง คือ เอทานอล 20 μ L และ ABTS 180 μ L และมีกลุ่มควบคุมเชิงลบ (negative control) ในการทดลอง คือ เอทานอล 20 μ L และ deionized water 180 μ L

7.2.8 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

7.2.9 ทำซ้ำโดยเปลี่ยน sample เป็นผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ และผลิตภัณฑ์โทนเนอร์หลังการทดสอบความคงตัว

7.2.10 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสง ที่ 734 นาโนเมตร

7.2.11 คำนวณหาค่า

$$\text{Antiradical activity (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS และ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

7.2.12 รายงานผลเป็น Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) และ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) โดยเทียบค่า antiradical activity ของ sample กับ standard curve ของ Trolox และ Vitamin C

บทที่ 4

ผลการวิจัย

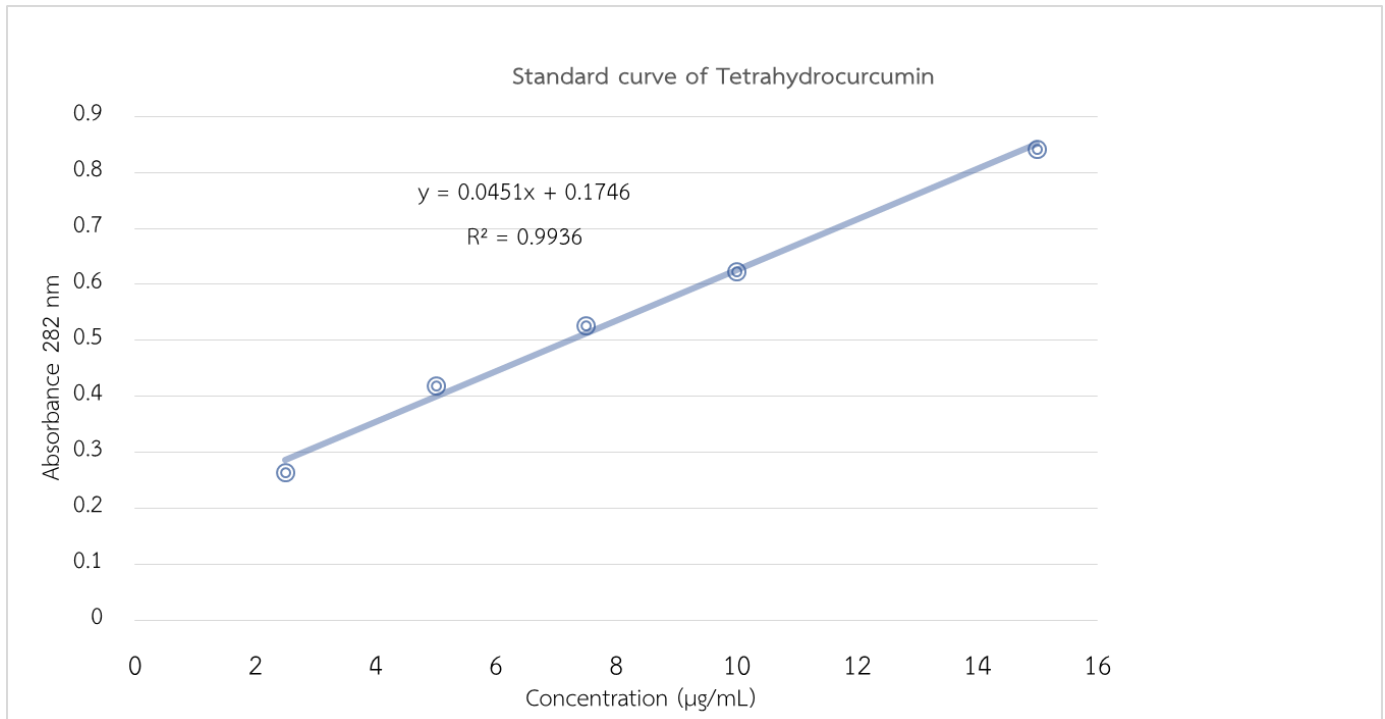
1. การประเมินการเพิ่มค่าการละลายของ THC ด้วยวิธี Solid dispersion

1.1 การสร้าง Standard curve ของสารมาตรฐาน tetrahydrocurcumin (THC)

เตรียม Stock solution โดยใช้ EtOH/H₂O (99.75:0.25, v/v) ความเข้มข้น 200 µg/mL นำมาเจือจางให้ได้เป็น 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 2.5 µg/mL, 5 µg/mL, 7.5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL (แสดงดังตารางที่ 1) นำไปตรวจวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 282 nm โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer โดยทำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน แกน x เป็นความเข้มข้นของสารมาตรฐาน THC และแกน y เป็นค่า absorbance ที่วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 282 nm ได้สมการเส้นตรง $y = 0.0451x + 0.1746$ และได้ R^2 เท่ากับ 0.9936 (แสดงดังรูปภาพ 12)

ตาราง 18 ความเข้มข้นของ Tetrahydrocurcumin และค่า absorbance ที่วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 282 nm

Concentration (µg/mL)	Absorbance 282 nm
2.5	0.264
5	0.42
7.5	0.527
10	0.623
15	0.843



รูปภาพ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Tetrahydrocurcumin และค่า absorbance ที่วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 282 nm

1.2 การหาค่าการละลายของ Solid dispersion ใน PVP K-30

Solid dispersion ของ THC ใน PVP K-30 อัตราส่วน 1:1, 1: 3, 1:6, 1:9, 1:12 และ THC บริสุทธิ์ซึ่งไม่ผ่านการ Solid dispersion ถูกนำไปหาค่าการละลายโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 282 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer แสดงค่าดังตารางที่ 19

ตาราง 19 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย THC และ solid dispersion ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ที่ความยาวคลื่น 282 nm

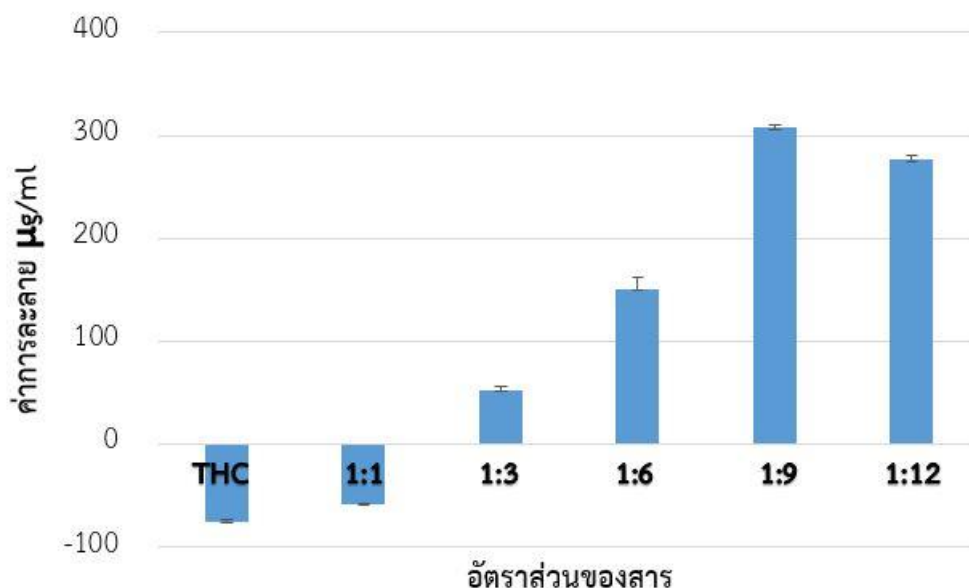
	Abs _{282nm}		
	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3
THC	0.00319	0.00697	0.00738
SD 1:1	0.04092	0.04425	0.04558
SD 1:3	0.28009	0.30007	0.29581

	Abs _{282nm}		
	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3
SD 1:6	0.54338	0.49688	0.50467
SD 1:9	0.8613	0.86801	0.87271
SD 1:12	0.787	0.80982	0.79351

เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วจึงทำไปเทียบค่าจากสมการ Standard curve ($y = 0.0451x + 0.1746$) และคำนวณการเจือจาง จะได้ค่าการละลายของ THC ในน้ำแสดงดังตารางที่ 20 โดยการเปรียบเทียบค่าการละลายแสดงดังรูปภาพที่ 13

ตาราง 20 ค่าการละลายของ THC และ solid dispersion ในน้ำ

	ค่าการละลาย (µg/mL)				
	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
THC	-76.0133	-74.337	-74.155	-74.835	1.024
SD 1:1	-59.282	-57.805	-57.215	-58.101	1.065
SD 1:3	46.780	55.641	53.752	52.0576	4.667
SD 1:6	163.539	142.918	146.373	150.943	11.044
SD 1:9	304.523	307.499	309.583	307.202	2.543
SD 1:12	271.574	281.694	274.461	275.91	5.213



รูปภาพ 13 ค่าการละลายของ THC และ Solid dispersion ในน้ำ

2. การประเมินการละลายของ solid dispersion เพื่อใช้ PEG 400 เป็นตัวทำละลายร่วม

2.1 การหาค่าการละลายของ Solid dispersion ใน PEG400

Solid dispersion ของ THC อัตราส่วน 1:9 ถูกนำไปละลายกับ PEG 400 โดยมีความเข้มข้นของ THC 1000, 2000, 4000, และ 8000 µg/mL เปรียบเทียบกับ THC บริสุทธิ์ที่ไม่ผ่านการ solid dispersion เข้มข้น 1000 µg/mL และนำไปหาค่าการละลายโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 282 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer โดยมีค่าการดูดกลืนแสงแสดงดังตารางที่ 21

ตาราง 21 ค่าดูดกลืนแสงของ solid dispersion ใน PEG 400 ที่ความยาวคลื่น 282 nm

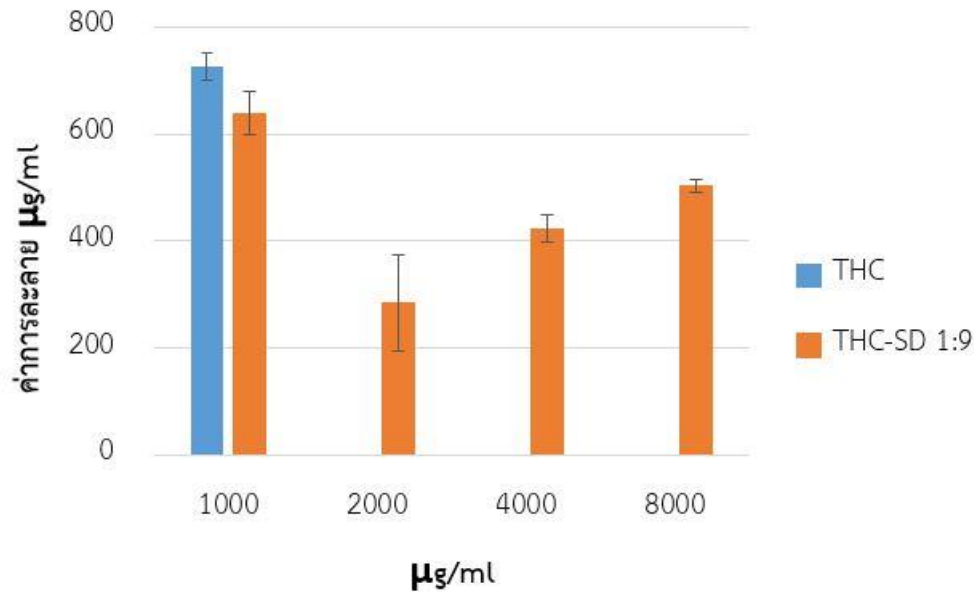
	Abs ₂₈₂		
	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3
THC (1000 µg/mL)	0.80564	0.83461	0.84905
SD 1:9 มี THC (µg/mL)			
1000	0.75761	0.71287	0.78385
2000	0.22367	0.24343	0.21109
4000	0.5465	0.54041	0.5833

	Abs ₂₈₂		
	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3
8000	0.6273	0.64036	0.61954

โดยเมื่อนำไปคำนวณกับสมการ Standard curve ($y = 0.0451x + 0.1746$) และคำนวณการเจือจาง สามารถหาค่าการละลายใน PEG 400 ได้ดังตารางที่ 22 การเปรียบเทียบการละลายในความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 14

ตาราง 22 ค่าการละลายของ Solid dispersion ใน PEG 400

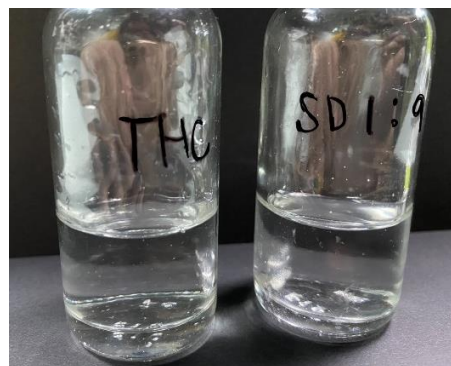
	ค่าการละลาย (µg/mL)				
	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
THC	699.601	731.718	747.727	726.349	24.508
SD 1:9 มี THC (µg/mL)					
1000	646.353	596.752	675.443	639.516	39.789
2000	272.007	381.541	202.273	285.273	90.368
4000	412.306	405.554	453.104	423.655	25.726
8000	501.885	516.364	493.282	503.843	11.665



รูปภาพ 14 ค่าการละลายของตัวอย่างใน PEG400

2.2 การเปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายน้ำ THC และ Solid dispersion ของ THC โดยมี PEG 400 เป็นตัวทำละลายร่วม

จากการเตรียม Solid dispersion ของ THC สัดส่วน 1:9 และ THC บริสุทธิ์ ไปละลายใน PEG 400 นำไป vortex และ sonicate จนได้สารละลายใส นำไปใส่ขวดแก้วปิดฝาให้สนิทและตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ ผลพบว่า สารละลายตัวอย่าง solid dispersion ของ THC สัดส่วน 1:9 มีลักษณะเป็นสารละลายใส ไม่มีตะกอน และ สารละลายตัวอย่างของ THC บริสุทธิ์ มีลักษณะเป็นสารละลายใส แต่มีตะกอน (แสดงดังรูปภาพที่ 15)



รูปภาพ 15 การเปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายน้ำ THC และ Solid dispersion

3. การพัฒนาตำรับโชนเนอร์จาก solid dispersion ของ THC

3.1 ลักษณะของตำรับโชนเนอร์

จากการตั้งตำรับโชนเนอร์โดยการใส่ solid dispersion ของ THC สัดส่วน 1:9, PEG 400, glycerin, phenoxyethanol ผสมให้เข้ากัน และใส่ triethanolamine ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง pH 5.0-6.0 โดยทำทั้งหมด 6 ตำรับ แสดงผลดังตาราง 23

ตาราง 23 ลักษณะทางกายภาพของตำรับโชนเนอร์

ตำรับ	ลักษณะทางกายภาพ	รูปภาพ
ตำรับ 1	สารละลายใส ไม่มีตะกอน	
ตำรับ 2	สารละลายใส ไม่มีตะกอน	
ตำรับ 3	สารละลายใส ไม่มีตะกอน	
Blank 1	สารละลายใส ไม่มีตะกอน	

ตำรับ	ลักษณะทางกายภาพ	รูปภาพ
Blank 2	สารละลายใส ไม่มีตะกอน	
Blank 3	สารละลายใส ไม่มีตะกอน	

3.2 การศึกษาลักษณะทางกายภาพเบื้องต้นของตำรับโตนเนอร์

3.2.1 การทดสอบความคงตัวของตำรับโตนเนอร์ โดยวิธีการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง (Accelerated Storage Test)

- 1) การเร่งด้วยอุณหภูมิ (Heating – Cooling Cycle) โดยการนำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมสำเร็จมาเก็บในตู้เย็น 4°C เป็นระยะเวลานาน 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บเข้าตู้อบที่ 40°C อีก 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ โดยทดสอบทั้งหมด 6 รอบ
- 2) ตั้งทิ้งไว้ในเตาอบที่อุณหภูมิ 40°C, ในตู้เย็น 4°C เป็นระยะเวลา 24 วัน
- 3) อุณหภูมิห้อง โดยการนำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมสำเร็จ นำไปวางในสภาวะต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง นาน 24 วัน โดยเก็บในตู้มืด และเก็บในที่สว่าง

พบว่าหลังการเก็บในสภาวะต่าง ๆ ทุกตัวอย่างไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ความใส, การแยกชั้น และ การเปลี่ยนแปลงของสี สำหรับค่า pH ของตำรับอยู่ในช่วง 3.86 – 4.70 ดังแสดงในตารางที่ 24

ตาราง 24 pH ของตำรับโตนเนอร์ที่สภาวะต่าง ๆ (n=3)

ตำรับ โตน เนอร์	วันที่	สภาวะ				
		4 °C	25 °C		40 °C	สลับร้อน-เย็น (6 รอบ)
			ในที่สว่าง	ในที่มืด		
Blank 1	ก่อนการทดสอบ	5.05	5.05	5.05	5.05	5.05
	หลังการทดสอบ (24 วัน)	4.56	4.28	4.32	3.98	4.04
Blank 2	ก่อนการทดสอบ	5.05	5.05	5.05	5.05	5.05
	หลังการทดสอบ (24 วัน)	4.66	4.42	4.36	3.86	4.19
Blank 3	ก่อนการทดสอบ	5.22	5.22	5.22	5.22	5.22
	หลังการทดสอบ (24 วัน)	4.63	4.36	4.31	3.88	4.16
ตำรับ 1	ก่อนการทดสอบ	5.22	5.22	5.22	5.22	5.22
	หลังการทดสอบ (24 วัน)	4.70	4.38	4.37	3.95	4.18
ตำรับ 2	ก่อนการทดสอบ	5.13	5.13	5.13	5.13	5.13
	หลังการทดสอบ (24 วัน)	4.65	4.46	4.39	4.12	4.20
ตำรับ 3	ก่อนการทดสอบ	5.04	5.04	5.04	5.04	5.04
	หลังการทดสอบ (24 วัน)	4.67	4.51	4.50	4.05	4.22

4. การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.1 การหาค่า Trolox equivalent antioxidant (TEAC) และ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) ของ THC ผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ และผลิตภัณฑ์โทนเนอร์หลังการทดสอบความคงตัว

จากการประเมินการต้านอนุมูลอิสระของ THC ตำรับโทนเนอร์ และตำรับโทนเนอร์หลังการทดสอบความคงตัวโดยวิธี DPPH assay และ ABTS assay ใน 96-well plate ได้สมการ Standard curve ของ Trolox คือ $y = 6183.2x + 5.7054$ และสมการ Standard curve ของ Vitamin C คือ $y = 8532.2x + 2.9971$ เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของแต่ละตัวอย่าง ไปคำนวณเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน สามารถแสดงค่า TEAC และ AEAC ได้ดังตารางที่ 25 โดยในตำรับ Blank ไม่พบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ตาราง 25 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ THC และตำรับโทนเนอร์ และตำรับโทนเนอร์หลังการทดสอบความคงตัว

สาร/ตำรับโทนเนอร์	ความเข้มข้นของ THC (mg/mL)	DPPH assay *		ABTS assay *	
		(mg TEAC/ g THC)	(mg AEAC/ g THC)	(mg TEAC/ g THC)	(mg AEAC/ g THC)
THC	0.01	1503.32 ± 12.75	1406.87 ± 9.24	525.91 ± 163.40	1679.30 ± 280.07
	0.02	1999.03 ± 35.48	1607.39 ± 25.72	1316.21 ± 59.60	2645.01 ± 102.16
	0.03	3192.09 ± 7.36	2419.08 ± 5.33	1998.07 ± 23.20	3684.10 ± 39.75
ตำรับที่ 1	0.01	1422.09 ± 95.83	1347.99 ± 69.45	432.24 ± 63.10	1518.76 ± 108.16
ตำรับที่ 2	0.02	1892.17 ± 128.59	1529.95 ± 93.19	1172.68 ± 119.85	2398.98 ± 205.42
ตำรับที่ 3	0.03	3099.05 ± 10.51	2351.66 ± 7.62	1851.48 ± 51.17	3432.83 ± 87.71
หลังการทดสอบความคงตัว					

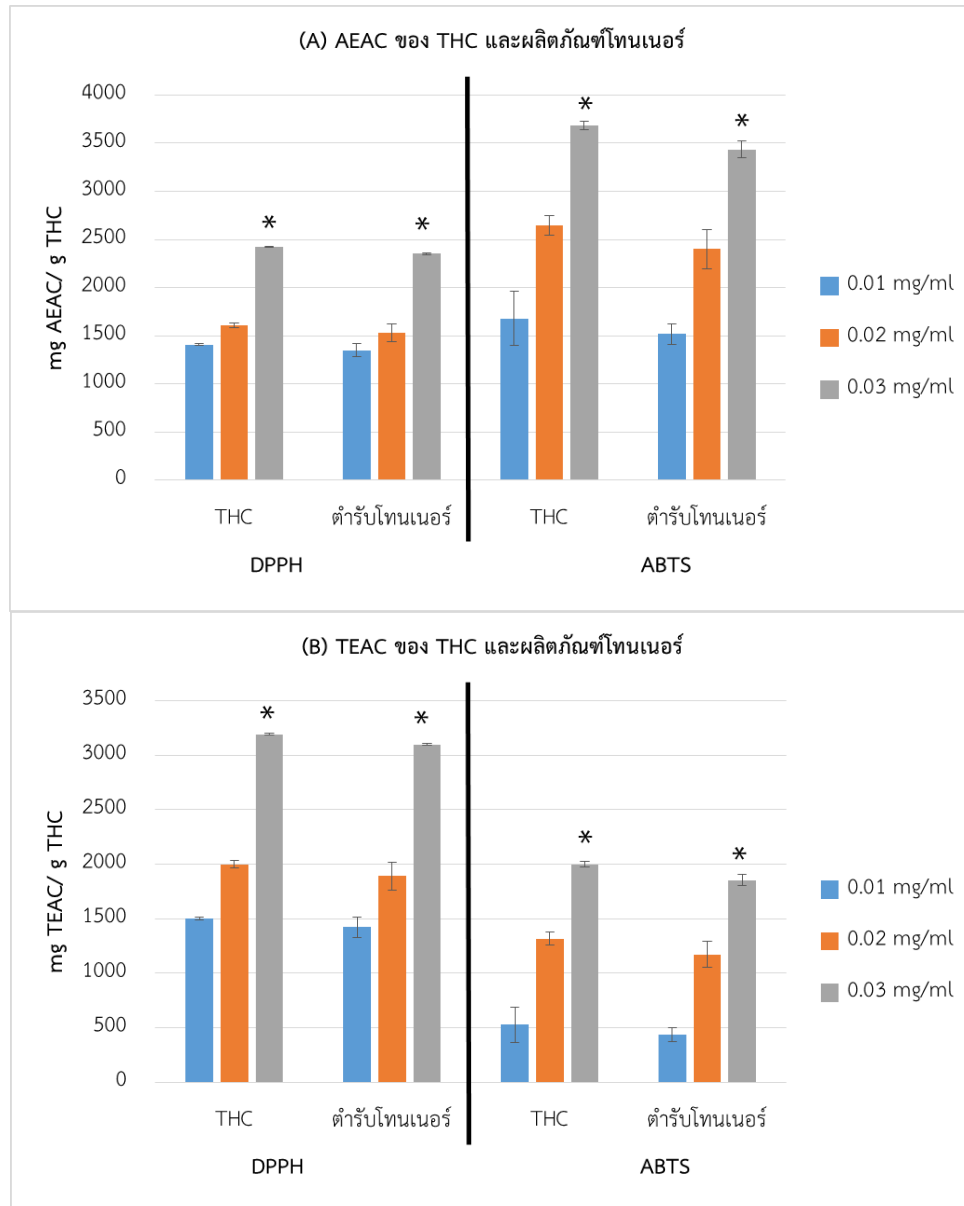
สาร/ตำรับโชนเนอร์		ความเข้มข้น ของ THC (mg/mL)	DPPH assay *		ABTS assay *	
			(mg TEAC/ g THC)	(mg AEAC/ g THC)	(mg TEAC/ g THC)	(mg AEAC/ g THC)
4 °C	1	0.01	1784.66 ± 32.74	1231.16 ± 366.15	394.64 ± 10.54	1454.30 ± 18.07
	2	0.02	1878.56 ± 22.54	1520.10 ± 16.33	1147.54 ± 43.84	2355.88 ± 75.15
	3	0.03	2884.05 ± 25.66	2195.85 ± 18.60	1638.67 ± 60.02	3068.08 ± 102.87
25°C ในที่ สว่าง	1	0.01	1277.47 ± 37.12	1243.19 ± 26.90	412.90 ± 10.54	1485.60 ± 18.10
	2	0.02	1886.07 ± 6.51	1525.52 ± 4.71	1157.10 ± 28.70	2372.28 ± 49.19
	3	0.03	2815.25 ± 10.87	2145.99 ± 7.88	1617.23 ± 25.49	3031.33 ± 43.69
25°C ในที่ มืด	1	0.01	1491.77 ± 204.43	1398.50 ± 148.15	382.47 ± 18.26	1433.44 ± 31.30
	2	0.02	1882.31 ± 13.01	1522.80 ± 9.43	1122.03 ± 57.67	2312.16 ± 98.84
	3	0.03	2791.53 ± 18.83	2128.80 ± 13.65	1636.73 ± 30.01	3064.74 ± 51.44
40 °C	1	0.01	956.01 ± 175.46	1010.23 ± 127.12	285.10 ± 21.08	1266.55 ± 36.13
	2	0.02	1724.19 ± 146.60	1408.21 ± 106.24	911.56 ± 14.61	1951.40 ± 25.05
	3	0.03	2661.04 ± 10.87	2034.23 ± 7.88	1274.16 ± 38.94	2443.27 ± 66.74

สาร/ตำรับโทนเนอร์		ความเข้มข้น ของ THC (mg/mL)	DPPH assay *		ABTS assay *	
			(mg TEAC/ g THC)	(mg AEAC/ g THC)	(mg TEAC/ g THC)	(mg AEAC/ g THC)
สลับร้อน-เย็น (6 รอบ)	1	0.01	1448.91 ± 98.21	1367.43 ± 71.17	406.81 ± 21.08	1475.16 ± 36.13
	2	0.02	1874.80 ± 13.01	1517.36 ± 9.43	1106.08 ± 24.08	2284.83 ± 41.27
	3	0.03	2924.39 ± 61.37	2225.08 ± 44.47	1603.59 ± 44.28	3007.94 ± 75.90

หมายเหตุ: * ทำซ้ำ 3 ครั้ง ; TEAC = Trolox equivalent antioxidant capacity ; AEAC = Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity

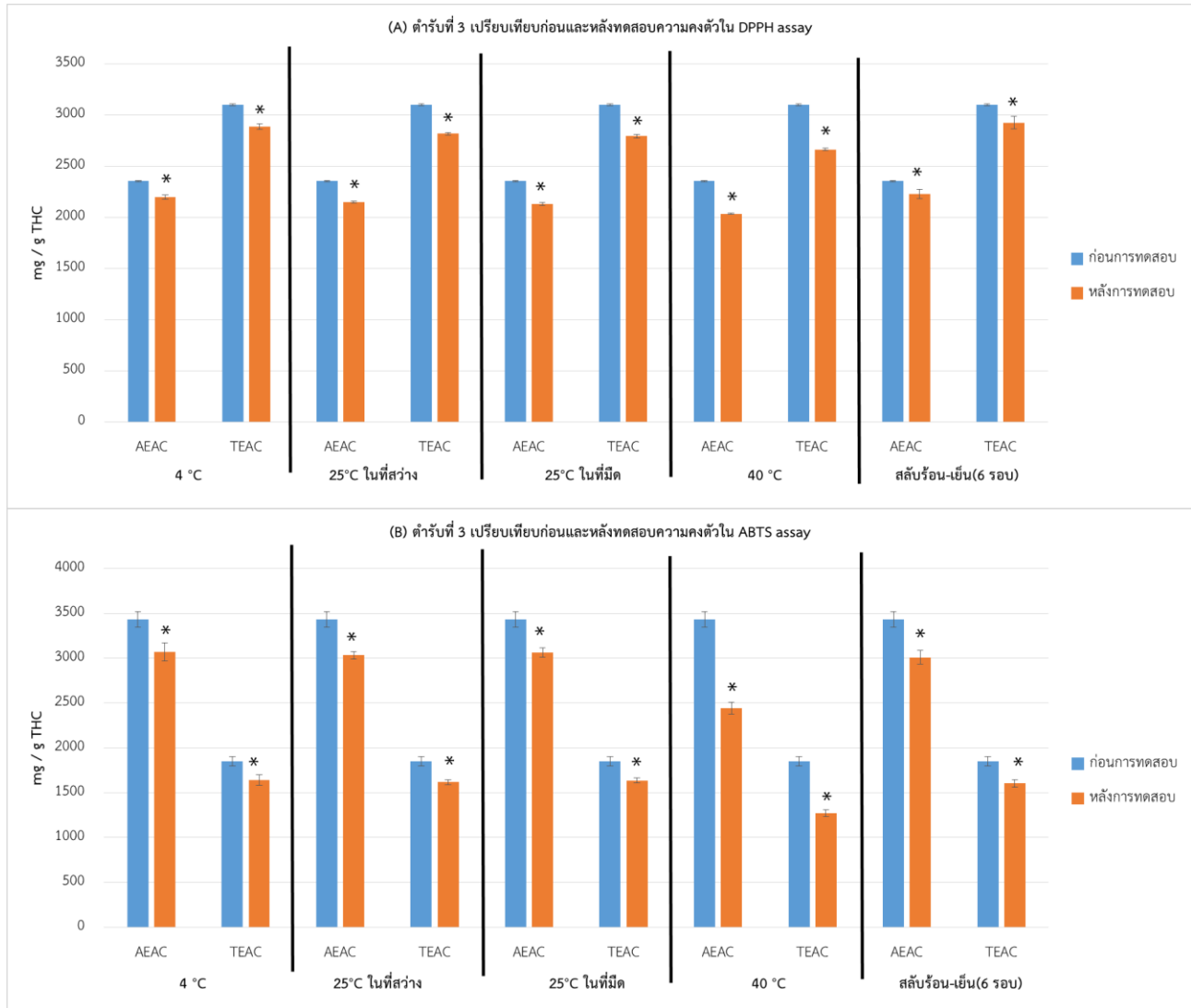
4.2 การคำนวณทางสถิติ

หลังจากได้ผลการต้านอนุมูลอิสระจากวิธี DPPH assay และ ABTS assay ใน THC บริสุทธิ์ ตำรับโทนเนอร์ และตำรับโทนเนอร์หลังการทดสอบความคงตัว แปรผลเป็นค่า Trolox equivalent antioxidant (TEAC) และ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) จึงนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี One-way ANOVA พบว่าในแต่ละความเข้มข้นของ THC มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.01$) เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ และจากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่าง TEAC และ AEAC ของ THC บริสุทธิ์กับผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ที่มีความเข้มข้นเท่ากัน ทั้งใน DPPH assay และ ABTS assay ด้วยวิธีวิเคราะห์ t-Test: Paired Two Sample for Means พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในตำรับที่ 1 และ 2 ($p\text{-value} > 0.05$) แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในตำรับที่ 3 ($p\text{-value} < 0.01$) สามารถแสดงได้ดังรูปภาพที่ 16



รูปภาพ 16 (A) ค่า AEAC ของ THC และผลิตภัณฑ์โทเนอร์ (B) ค่า TEAC ของ THC และผลิตภัณฑ์โทเนอร์

การวิเคราะห์ทางสถิติระหว่างผลิตภัณฑ์โทเนอร์และผลิตภัณฑ์โทเนอร์หลังการทดสอบความคงตัวในสภาวะต่างๆ ได้แก่ สภาวะอุณหภูมิ 4°C อุณหภูมิ 40°C อุณหภูมิ 25°C ในที่มืดและที่สว่าง และสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิ (Heating-Cooling) 6 รอบ แปลผลเป็นค่า TEAC และ AEAC พบว่าในทั้ง DPPH assay และ ABTS assay ตัวรับที่ 1 และ 2 ทุกสภาวะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p\text{-value} > 0.05$) ในขณะที่ตัวรับที่ 3 ทุกสภาวะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.01$) โดยความแตกต่างทางสถิติของตัวรับที่ 3 สามารถแสดงได้ดังรูปภาพที่ 17



รูปภาพ 17 (A) ค่า AEAC และ TEAC ระหว่างก่อนและหลังทดสอบความคงตัวใน DPPH assay

(B) การค่า AEAC และ TEAC ระหว่างก่อนและหลังทดสอบความคงตัวใน ABTS assay

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

1.อภิปรายผลการทดลอง

1.1 การประเมินการเพิ่มค่าการละลายของ THC ด้วยวิธี solid dispersion

1.1.1 การหาค่าการละลายของ solid dispersion

จากการนำสาร THC ไปผ่านการทำ solid dispersion กับ PVP K-30 โดยมีอัตราส่วน 1:1, 1:3, 1:6, 1:9 และ 1:12 (THC : PVP K-30) และนำไปวัดค่าการละลายในน้ำด้วยวิธี UV-Vis spectrophotometer เทียบกับสาร THC บริสุทธิ์ ดังตารางที่ 20 จะพบว่า สาร THC บริสุทธิ์ และ solid dispersion 1:1 มีค่าการละลายที่ติดลบ (-74.835 และ -5.101 $\mu\text{g/mL}$) ซึ่งหมายถึงสารทั้งสองมีการละลายน้ำที่ต่ำมาก และ solid dispersion ในอัตราส่วนอื่น ๆ มีแนวโน้มที่จะมีการละลายสูงขึ้นเมื่อปริมาณของ PVP K-30 มากขึ้น จนถึงอัตราส่วน 1:9 เป็นอัตราส่วนที่มีค่าเฉลี่ยการละลายมากที่สุด (307.202 $\mu\text{g/mL}$) และอัตราส่วน 1:12 มีค่าเฉลี่ยการละลายลดลงเล็กน้อย (275.91 $\mu\text{g/mL}$)

การเพิ่มการละลายของ THC โดยใช้ PVP K-30 เป็นพอลิเมอร์ในการทำ solid dispersion ทำให้การละลายของสารเพิ่มมากขึ้นตามอัตราส่วนของ PVP K-30 ซึ่งเป็นผลมาจากคุณสมบัติความชอบน้ำ (hydrophilic property) ของ PVP K-30 ที่ช่วยเพิ่มคุณสมบัติความเปียกน้ำ (wettability) ให้กับ THC นอกจากนี้ PVP K-30 ยังสามารถเกิดพันธะ hydrogen กับ hydroxyl group ในโครงสร้างของ THC ได้อีกด้วย^[39]

อัตราส่วน 1:12 ที่มีค่าการละลายต่ำกว่าอัตราส่วน 1:9 ซึ่งมีปริมาณ PVP K-30 ต่ำกว่า อาจเป็นผลจากความเข้มข้นของ PVP K-30 เพิ่มขึ้น พันธะระหว่าง PVP K-30 กับ THC จะมีความเสถียรมากขึ้น และมีความหนาแน่นมากขึ้น^[40] จึงอาจเป็นข้อจำกัดในการละลายน้ำ

1.1.2 การประเมินการละลายของ solid dispersion เพื่อใช้ PEG 400 เป็นตัวทำละลาย

ร่วม

จากการประเมิน solid dispersion ของ THC อัตราส่วน (1:9) และ THC บริสุทธิ์ นำไปละลายกับ PEG 400 ที่เป็นตัวทำละลายร่วม จากตารางที่ 22 พบว่า THC บริสุทธิ์ มีค่าการละลายใน PEG 400 ได้เท่ากับ 726.346 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งละลายได้ดีกว่า solid dispersion ของ THC อัตราส่วน (1:9) มีค่าการละลายใน PEG 400 ได้เท่ากับ 639.519 $\mu\text{g/mL}$ ดังนั้นการศึกษานี้สอดคล้องกับการรายงานการวิจัยของ Ketjinda และคณะ^[48] ที่มีการรายงานว่า THC ละลายได้ดีที่สุดใน PEG 400 ที่เป็นตัวทำละลายร่วม เมื่อเทียบกับสารตัวอื่น ๆ แต่สาร solid dispersion ของ THC อัตราส่วน (1:9) มีค่าการละลายได้น้อยกว่า THC บริสุทธิ์ อาจเกิดมาจากสาร THC ที่

ผ่านขั้นตอนการทำ solid dispersion มีการใส่ PVP K-30 เป็นพอลิเมอร์เข้าไป คาดว่าอาจมีผลทำให้การละลายลดลงเมื่อเทียบกับ THC บริสุทธิ์

1.1.3 การเปรียบเทียบความคงตัวของสารละลายน้ำ THC และ Solid dispersion ของ THC โดยมี PEG 400 เป็นตัวทำละลายร่วม

จากการเปรียบเทียบความคงตัวของ THC กับ solid dispersion ของ THC ในน้ำโดยมี PEG 400 ร่วม โดยได้ทำการนำสารทั้งสองไปทำละลายด้วย PEG 400 แล้วเติมน้ำเพื่อจำลองส่วนประกอบในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ จากนั้นตั้งทิ้งไว้เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลง ผลการศึกษาแสดงดังรูปภาพ 15 พบว่าในสารละลาย THC มีการเกิดตะกอนสีขาวขึ้น ซึ่งแสดงถึงความไม่คงตัวในตำรับ อาจเนื่องมาจากความไม่เข้ากันของ THC และน้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นดังรูปภาพที่ 13 บ่งชี้ว่า THC มีการละลายในน้ำที่ต่ำมาก จึงทำให้เกิดการตกตะกอนขึ้น แม้จะมี PEG 400 เป็นตัวทำละลายร่วมก็ตาม ส่วนในสารละลาย solid dispersion ของ THC ไม่พบการเปลี่ยนแปลงหลังจากผ่านไป 1 สัปดาห์ ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสามารถในการเป็นตัวทำละลายร่วมที่ดีในตำรับของ PEG 400 และความเข้ากันของ solid dispersion และตัวทำละลายร่วม

1.2 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์โทนเนอร์จาก solid dispersion ของ THC

จากการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ที่พัฒนาขึ้นจาก solid dispersion ของ THC ใน 5 สภาวะคือ อุณหภูมิ 4°C อุณหภูมิ 40°C อุณหภูมิ 25°C ในที่มืดและที่สว่าง และสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิ (Heating-Cooling) 6 รอบ ก่อนการทดสอบ (ตาราง 23) พบว่าทุกตำรับมีลักษณะใส และไม่พบการแยกชั้น ค่า pH ของตำรับอยู่ในช่วง 5.04-5.22 ซึ่งอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับ pH บริเวณผิวหนัง แสดงให้เห็นถึงความคงตัวของตำรับหลังจากการเตรียม เมื่อทดสอบความคงตัวในสภาวะต่าง ๆ นาน 24 วัน (ตาราง 24) พบว่าทุกตำรับ ยังคงเป็นสารละลายใส เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี และไม่มีการตกตะกอน บ่งบอกว่าส่วนประกอบในตำรับมีความเข้ากันได้ดี และสภาวะต่าง ๆ ไม่ส่งผลต่อความไม่เข้ากันของสารในตำรับ สำหรับ pH ของตำรับ พบว่าทุกตำรับมีค่า pH ลดลงอยู่ในช่วง 3.86-4.70 โดยพบว่า pH ที่ต่ำสุดอยู่ในสภาวะอุณหภูมิ 40°C ซึ่งอาจเป็นผลจากการสลายตัวของสารบางตัวในตำรับจึงทำให้มีความเป็นกรดมากขึ้น จากการศึกษาของ Esatbeyoglu และคณะ^[49] พบว่าสาร curcumin มีการสลายตัวจากความร้อน โดยตัวอย่างสารที่ได้จากการสลายตัวของ curcumin คือ ferulic acid ซึ่งมีความเป็นกรด ทั้งนี้ tetrahydrocurcumin ที่เป็นสาร metabolite หลักของ curcumin อาจมีการสลายตัวให้สารที่มีความเป็นกรดเช่นเดียวกับที่เกิดจากการสลายตัวของสาร curcumin ได้เช่นกัน

การลดลงของ pH นี้จะทำให้ตำรับมีสภาวะเป็นกรดอ่อน โดยจากการศึกษาของ Blaak และ Staib^[50] กล่าวว่าในชีวิตประจำวันการใช้สบู่ทำความสะอาดจะทำให้ผิวมีความเป็นเบสเพิ่มขึ้น การใช้ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มี pH อยู่ในช่วง 4.0-5.0 จึงสามารถช่วยรักษา pH ของผิวให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมได้ และงานวิจัยของ Lambers และคณะ^[51] พบว่าพื้นผิวที่มี pH อยู่ในช่วง 4.0-4.5 จะทำให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นเกาะติดอยู่ที่ผิวหนังและช่วย

ป้องกันผิวหนังจากเชื้ออื่น ๆ ได้ ดังนั้นผลิตภัณฑ์โทเนอร์ที่มี pH ลดต่ำลงจากการผ่านการทดสอบความคงตัวอาจไม่เป็นอันตรายต่อผิวหนัง แต่ทั้งนี้ยังต้องทดสอบการระคายเคืองเพิ่มเติมเพื่อความมั่นใจในการใช้จริงในอนาคต

1.3 การประเมินการต้านอนุมูลอิสระ

1.3.1 การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์โทเนอร์เทียบกับ THC

ในการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระผลิตภัณฑ์โทเนอร์ โดยนำผลิตภัณฑ์โทเนอร์ทุกตำรับไปวัดการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสาร THC บริสุทธิ์ที่มีปริมาณ THC เท่ากับในตำรับ โดยมี Trolox และ vitamin C เป็น positive control และแปลผลออกมาเป็นค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) และ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) จากผลการศึกษาดังกล่าว พบว่า เมื่อปริมาณ THC เพิ่มขึ้น ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระก็จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับปริมาณ solid dispersion ในตำรับที่เพิ่มสูงขึ้น ก็ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน ดังนั้นตำรับ 3 ที่มีปริมาณของ solid dispersion สูงสุดจึงมี TEAC และ AEAC สูงที่สุด เมื่อทดสอบด้วย DPPH assay มีค่าเท่ากับ 3099.05 ± 10.51 และ 2351.66 ± 7.62 mg/g THC ตามลำดับ และการทดสอบด้วย ABTS assay มีค่าเท่ากับ 1851.48 ± 51.17 และ 3432.83 ± 87.71 mg/g THC ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ THC ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในทิศทางแปรผันตรง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Prabhu และคณะ^[52] โดยได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใน THC 10 μ m, 100 μ m และ 500 μ m และพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ THC มีการเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นในวิธี Superoxide radical scavenging assay

นอกจากนี้ จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี t-test ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระระหว่าง THC บริสุทธิ์และผลิตภัณฑ์โทเนอร์ในตำรับที่มีความเข้มข้นของ THC เท่ากันในวิธี DPPH assay และ ABTS assay ในตำรับที่ 3 พบว่าค่า TEAC และ AEAC มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับ THC เข้มข้น 0.003 mg/ml ในขณะที่ตำรับที่ 1 และ 2 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ TEAC และ AEAC เมื่อเทียบกับ THC เข้มข้น 0.01 และ 0.02 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งบ่งบอกว่าการตั้งตำรับผลิตภัณฑ์โทเนอร์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเชิงสถิติ ส่วนตำรับที่ 3 ซึ่งมีความแตกต่างในเชิงสถิติอาจเนื่องมาจากการสูญเสียสารสำคัญไปในขณะการตั้งตำรับที่มากกว่าตำรับอื่น ๆ โดยอาจต้องอาศัยการวิเคราะห์ด้านปริมาณสารต่อไปในอนาคต

ในตำรับที่ 1 (THC 0.001% w/v), 2 (THC 0.002% w/v) และ 3 (THC 0.003% w/v) มีค่า %Inhibition เฉลี่ยอยู่ที่ 14.50%, 29.10% และ 63.19% ตามลำดับในวิธี DPPH assay และมีค่า %Inhibition เฉลี่ยอยู่ที่ 14.65%, 35.25% และ 69.79% ตามลำดับในวิธี ABTS assay ซึ่งถือว่าตำรับมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จากงานวิจัยของ Majeed และคณะ^[38] มีการใช้ THC ปริมาณถึง 0.25% (w/w) ในการพัฒนาตำรับโทเนอร์จึงอาจทดลองเพิ่มปริมาณของ THC ขึ้นเพื่อเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

1.3.2 การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์โทเนอร์ และผลิตภัณฑ์โทเนอร์หลังการทดสอบ

ความคงตัว

ในการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระผลิตภัณฑ์โทเนอร์ โดยนำผลิตภัณฑ์โทเนอร์ทุกตัวมารับที่ผ่านการทดสอบทั้ง 5 สภาวะคือ อุณหภูมิ 4°C อุณหภูมิ 40°C อุณหภูมิ 25°C ในที่มืดและที่สว่าง และสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิ (Heating-Cooling) 6 รอบ ไปวัดการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสาร THC บริสุทธิ์ที่มีปริมาณ THC เท่ากับในตำรับ โดยมี Trolox และ vitamin C เป็น positive control และแปลผลออกมาเป็นค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) และ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) จากผลการศึกษารายที่ 25 พบว่า ทุกตำรับยังคงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แม้ว่าจะมีค่า TEAC และ AEAC ลดลงกว่าตำรับที่เตรียมเสร็จใหม่ โดยตำรับที่ 3 ที่มีปริมาณ solid dispersion สูงสุดยังคงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเมื่อเทียบกับตำรับที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในการทดสอบด้วย DPPH assay และ ABTS assay และเมื่อเปรียบเทียบผลก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว พบว่าตำรับที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ บ่งบอกว่าสภาวะต่าง ๆ ไม่มีต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเชิงสถิติ ในขณะที่ตำรับที่ 3 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างก่อนและหลังการทดสอบ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปริมาณ THC ในตำรับที่สูงกว่าตำรับอื่น เมื่อเกิดการสลายตัวจึงได้สารอื่นในปริมาณที่มาก ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ยังพบว่าที่อุณหภูมิ 40°C มีการลดลงของค่า TEAC และ AEAC มากที่สุดในทุกตำรับ อาจเนื่องมาจากความร้อนที่สูงขึ้นมีผลทำให้ THC สลายตัวเป็นสารอื่นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่า THC ในปริมาณที่มากกว่าสภาวะอื่น ๆ ซึ่งอาจต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมในด้านการทดสอบเอกลักษณ์ของสารต่อไปในอนาคตเพื่อพิสูจน์ว่าเป็นสารใด

2. สรุปผลการทดลอง

การทำ solid dispersion ของ THC โดยใช้ PVP K-30 เป็นพอลิเมอร์นั้น ได้อัตราส่วนของ THC : PVP K-30 ที่ดีที่สุดที่สามารถเพิ่มการละลายของ THC คือ 1:9 และเมื่อนำ solid dispersion ของ THC อัตราส่วน 1:9 ที่มี THC 1000 µg/mL สามารถละลายใน PEG 400 ได้ดีที่สุด จากนั้นนำสารละลาย THC อัตราส่วน 1:9 มี THC 1000 µg/mL และ สารละลาย THC บริสุทธิ์ 1000 µg/mL ที่มี PEG 400 เป็นตัวทำละลายร่วมกับน้ำ ไปตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ พบว่าลักษณะทางกายภาพของทั้งสองตำรับเป็นสารละลายใส สารละลาย THC อัตราส่วน 1:9 ไม่เกิดการตกตะกอน แต่สารละลาย THC บริสุทธิ์เกิดการตกตะกอน จากนั้นนำ solid dispersion ของ THC อัตราส่วน 1:9 มาตั้งตำรับโทเนอร์สำหรับใช้ภายนอก เมื่อทดสอบความคงตัวด้วยการเก็บตำรับที่อุณหภูมิ 4°C, 40°C และ อุณหภูมิห้องในที่มืดและสว่างเป็นระยะเวลา 24 วัน และทดสอบในสภาวะเร่งโดยวิธี Heating-cooling cycle พบว่า ทุกตำรับมีความคงตัว ไม่เกิดการตกตะกอน หรือเปลี่ยนแปลงสี และเมื่อประเมิน

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ THC และตำรับโชนเนอร์โดยวิธี DPPH assay และ ABTS assay จากค่า Trolox equivalent antioxidant (TEAC) และ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) พบว่าทุกตำรับมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จากผลการทดลองทั้งหมดในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการทำ solid dispersion ของ THC โดยใช้ PVP K-30 อัตราส่วน 1:9 ที่มี THC 1000 µg/mL ให้ประสิทธิภาพที่ดีในการเพิ่มการละลายของ THC ให้ตำรับที่มีความคงตัวดี และยังคงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งข้อมูลที่ได้ครั้งนี้จะสามารถนำไปต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอื่น ๆ ที่ต้องการ THC เป็นองค์ประกอบต่อไปในอนาคต

3. ข้อเสนอแนะ

ในอนาคตถ้าจะนำงานวิจัยนี้ไปพัฒนาควรที่จะวัดปริมาณของสาร THC ก่อนและหลังการทดสอบ เพื่อดูว่าปริมาณสาร THC ในผลิตภัณฑ์โชนเนอร์มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณ และยังสามารถที่จะออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่และอาจจะมีการพัฒนาตำรับโดยใช้ส่วนผสมประกอบอื่น ๆ เพิ่มเติมเข้าไปเพื่อให้ผลิตภัณฑ์โชนเนอร์มีประสิทธิภาพดี นำไปใช้ยิ่งขึ้น ทั้งนี้ควรมีการประเมินคุณภาพของตำรับในอาสาสมัคร เพื่อนำตำรับไปต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ออกสู่ท้องตลาดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Ching-Shu L, Chi-Tang H, Min-Hsiung P. The cancer chemopreventive and therapeutic potential of tetrahydrocurcumin. *Biomolecules*. 2020;10(6):831.
2. Chiou W, Riegelman S. Pharmaceutical applications of solid dispersion system. *J Pharm Sci*. 1971;60(9):1281-302.
3. จิศิริรักษ์ วรพัฒน์ผดุง, ประณีต โอปณะโสภิต. โซลิดดิสเพอร์ชัน: เทคนิคเพิ่มการละลายของตัวยาละลายน้ำน้อย. *IJPS*. 2015;11(2).
4. Kannao S, Bakde B. Solid dispersion a technique for solubility enhancement of weakly water soluble drug a review. *IAJPS*. 2014;4(6):2839-48.
5. Dugar R, Gajera B, Dave R. Fusion method for solubility and dissolution rate enhancement of Ibuprofen using block copolymer poloxamer 407. *AAPS PharmSciTech*. 2016;17(6):1428-40.
6. Nikghalb L, Singh G, Singh G, Kahkeshan K. Solid dispersion: methods and polymers to increase the solubility of poorly soluble drugs. *JAPS*. 2012;2(10):170-5.
7. Rowe R, Sheskey P, Quinn M. Handbook of pharmaceutical excipients. 6th ed. London: Pharmaceutical Press; 2009.
8. Polyvinylpyrrolidone [Internet]. ChemicalBook. 2017 [cited 21 August 2021]. Available from: https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB4209342_EN.htm
9. Lewis, R., 2004. Sax's dangerous properties of industrial materials. New York: John Wiley & Sons.
10. Alves L, Soares M, Albuquerque C, Silva É, Vieira A, Fontes D, et al. Solid dispersion of efavirenz in PVP K-30 by conventional solvent and kneading methods. *Carbohydr Polym*. 2014;104:166-74.
11. Sharma A, Jain C. Preparation and characterization of solid dispersions of carvedilol with PVP K30. *Res Pharm Sci*. 2010;5(1):49-56.
12. Kanaze F, Kokkalou E, Niopas I, Georgarakis M. Dissolution enhancement of flavonoids by solid dispersion in PVP and PEG matrixes: A comparative study. *J Appl Polym Sci*. 2006;102(1):460-71.
13. Song I, Cha J, Choi M. Characterization, *in vivo* and *in vitro* evaluation of solid dispersion of curcumin containing d- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate and mannitol. *Molecules*. 2016;21(10):1386.

14. Shamsuddin S, Fazil M, Ansari S, Ali J. Development and evaluation of solid dispersion of spironolactone using fusion method. *Int J Pharm Investig*. 2016;6(1):63-8.
15. Shamsuddin S, Fazil M, Ansari S, Ali J. Atorvastatin solid dispersion for bioavailability enhancement. *J Adv Pharm Technol Res*. 2016;7(1):22-6.
16. Setyawan D, Masyhur A, Juwita D, Yusuf H. Enhancement of solubility and dissolution rate of quercetin with solid dispersion system formation using hydroxypropyl methyl cellulose matrix. *TJPS*. 2017;41(3):112-6.
17. Yu J, Kim J, Joung H, Ko J, Park H. Preparation and characterization of curcumin solid dispersion using HPMC. *JFS*. 2020;85(11):3866-73.
18. Fathanah A, Setyawan D, Sari R. Improving solubility and dissolution of meloxicam by solid dispersion using hydroxypropyl methylcellulose 2910 3 cps and nicotinamide. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2019;30(6).
19. Kumavat S, Chaudhari Y, Borole P, Shenghani K. Enhancement of solubility and dissolution rate of curcumin by solid dispersion technique. *IRJP*. 2013;4(5):226-32.
20. He Y, Liu H, Bian W, Liu Y, Liu X, Ma S, et al. Molecular interactions for the curcumin-polymer complex with enhanced anti-inflammatory effects. *Pharmaceutics*. 2019;11(9):442.
21. Nattha K, Sanae K, Amaravadee J, Daungkhao M, Thitima C, Pharkphoom P. Increased solubility, dissolution and physicochemical studies of curcumin-polyvinylpyrrolidone K-30 solid dispersions. *World Acad Sci Eng Technol*. 2009;31:225-30.
22. Modasiya M, Patel V. Studies on solubility of curcumin. *IJPLS*. 2012;3(3):1490-7.
23. Holder GM, Plummer JN, Ryan AJ. The metabolism and excretion of curcumin (1,7-Bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene- 3,s-dione) in the rat. 1978;8(12):761-8.
24. ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย. การประเมินความสามารถด้านออกซิเดชันรวมในหลอดทดลอง. *J Sci Technol MSUL*. 2011;31(2):164-70.
25. Zulueta A, Esteve M, Frígola A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chem*. 2009;114:310-6.
26. Cao G, Alessio H, Cutler R. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med*. 1993;14:303-11.
27. Prior R, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*. 2005;53:4290-302.

28. กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ, ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร Extraction and determination of antioxidant activity in herbal plant. วิทยาลัยเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 2017;3:86-94.
29. Park C, Song J, Kim S, Lee J, Lee H, Kang K, et al. Neuroprotective effects of tetrahydrocurcumin against glutamate-Induced oxidative stress in hippocampal HT22 cells. *Molecules*. 2019;25(1):144.
30. Choudhury A, Raya S, Mahapatra S, Nagabhushanam K, Majeed M. Synthesis and evaluation of the anti-oxidant capacity of curcumin glucuronides, the major curcumin metabolites. *Antioxidants (Basel)*. 2015;4(4):750-67.
31. วีระพล แสงอาทิตย์, युพา คู่คงวิริยพันธุ์, พงรัตน์ ภักดีโชติ, วีระพล คู่คงวิริยพันธุ์, วณิดา ดรปัญญา, ประภัสสร สุรพัฒน์วารณ. เททระไฮโดรเคอร์คูมินลดภาวะผิวดำของผลของการไหลเวียนเลือดและ ภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูแรทที่ได้รับแคดเมียมและตะกั่วขนาดต่ำ. *Srinagarind Med J*. 2015;30(3):242-9.
32. ณภัทรชนก หาญวารี, อัครชัย ทับสกุล, พงรัตน์ ภักดีโชติ, ยูพา คู่คงวิริยพันธุ์, กุลดาวรรณ จันอ่อน, วีระพล แสงอาทิตย์. เททระไฮโดรเคอร์คูมินลดระดับน้ำตาลในเลือดสูงในหนูที่เป็นเบาหวานผ่านการลดความต้านทานต่ออินซูลินและความเครียดออกซิเดชัน. *Srinagarind Med J*. 2021;36(4):431-7.
33. Li Y, Hua W, Xiiong L, Li L. Comparison of skin hydration in combination and single use of common moisturizers (cream, toner, and spray water). *J Cosmet Sci*. 2016;67(3):175-83.
34. Idson B. *In vivo* measurement of transepidermal water loss. *J Soc Cosmet Chem*. 1978;29:573-80.
35. Pongsakornpaisan P, Nattaya L, Mayuree K. Anti-sebum efficacy of guava toner: A split-face, randomized, single-blind placebo-controlled study. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18(6):1737-41.
36. Duarte I, Silveira J, Hafner M, Toyota R. Sensitive skin: review of an ascending concept. *ABD*. 2017;92(4):521-25.
37. Wanitphakdeedecha R, Eimpunth S, Manuskiatti W. The effects of tetrahydrocurcumin in curmin cream on the hydration, elasticity, and color of human skin. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60:AB83.
38. Majeed M, Pineda R, Chan G, Gabriel T, Dayrit J, Pelayo C, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, comparative study the safety and efficacy of 0.25% tetrahydrocurcumin (tumeric) cream as depigment agent against 4% hydroquinone cream. *Househ pers care today*. 2010;n3:44-6.

39. Nadechanok J, Charinrat S, Nattawut L, Arpa P. The evaluation of antioxidant and antityrosinase efficacy of *Carissa carandas* fruit extracts and the development of a preliminary skincare product. J. appl. Pharm. 2020;11(07):153-7
40. Ahmad B, Abbas S, Iqbal Z, Bashir S, Ali J. Synthesis of cross linked PVP hydrogels and its use for the control release of anti-asthmatic drugs, Middle East. J. Sci. Res. 2013;14:273.
41. Thongyai S, Kaewnopparat N, Songkro S. Influence of polyvinylpyrrolidone K30 on the complexation of tetrahydrocurcumin with hydroxypropyl β -cyclodextrin. NUJST. 2016;24(2):36.
42. ปิทยา รุจิแสง, ศุภาพิชญ์ สิงห์ประเสริฐ, เพชรพงศ์ เพชรี, นวลศรี นิวัติชัยวงศ์, อาริรัตน์ ชื่อดี. การศึกษาการตั้งสูตรตำรับโชนเนอร์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกต้นแก้วมังกร. EAU Heritage Journal Science and Technology. 2020;14(2):220-36.
43. บุหรีน พันธสุวรรณ. อนุมูลอิสระ, สารต้านอนุมูลอิสระ, การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2013;21:275-86.
44. บุหรีน พันธสุวรรณ. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำราหอมเทพจิตร. Adv Sci. 2015;15:106-17.
45. เพ็ญศรี เพ็ญประไพ, ธนากรณ คำสุด, ชุตินา จันทรัตน์. การประยุกต์ใช้น้ำมันมะพร้าวที่มีสารสกัดจากขมิ้นชันบรรจุแคปซูลเจลาคินเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร. [Internet]. Institutional Repository at RUTS; 2018 [cited 2021 Sep 9]. Available from:
<https://www.repository.rmutsv.ac.th/handle/123456789/2430>
46. บังอร วงศ์รักษ์, ศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. [Internet]. โครงการพิเศษปริญญาตรี มหาวิทยาลัยมหิดล; 2006 [cited 2021 Sep 14]. Available from:
<https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-research-special-abstract.php?num=21&year=2549>
47. Yan H, Hongfei L, Wangqing B, Yue L, Xinyang L, Shijing M, et al. Molecular interactions for the curcumin-polymer complex with enhanced anti-inflammatory effects. Pharmaceutics. 2019;11(9):442.
48. Setthacheewakul S, Ketjinda W, Maneenuan D, Wiwattanapatapee R. Controlled release of oral tetrahydrocurcumin from a novel self-emulsifying floating drug delivery system (SEFDDS). AAPS PharmSciTech. 2011;12(1):151-64.
49. Esatbeyoglu T, Ulbrich K, Rehberg C, Rohn S, Rimbach G. Thermal stability, antioxidant, and anti-inflammatory activity of curcumin and its degradation product 4-vinyl guaiacol. Food Funct. 2015;6(3):887-93.

50. Blaak J, Staib P. The relation of pH and skin cleansing. *Curr Probl Dermatol*. 2018;54:132-42.
51. Lambers H, Piessens S, Bloem A, Pronk H, Finkel P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int J Cosmet Sci*. 2006;28(5):359-70.
52. Prabhu RP, Hegde K, Shabaraya AR, Rao MNA. Scavenging potential of reactive oxygen species by Tetra-hydrocurcumin. *J. appl. pharm*. 2011;1(5):114-8.

ภาคผนวก

ภาคผนวก (ก)
แบบฟอร์มรายงานการเงิน

รายงานสรุปการเงิน
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2564 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การเพิ่มการละลายของเตตระไฮโดรคอร์คูมินเพื่อการตั้งตำรับสำหรับใช้ภายนอก
และการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน (อ./ดร./ผศ./รศ./ศ.) ภญ. ดร.เนตรชนก เจียงสืบชาติวิระ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ (วัน/เดือน/ปี) 1/มิถุนายน/2564 ถึงวันที่ (วัน/เดือน/ปี) 15/มีนาคม/2565

ระยะเวลาดำเนินการ – ปี 10 เดือน ตั้งแต่วันที่ (วัน/เดือน/ปี) 1/มิถุนายน/2564

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 15,000 บาท เมื่อ 18 มกราคม 2565

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/ เกิน
1. ค่าตอบแทน	-	-	-
2. ค่าจ้าง	-	-	-
3. ค่าวัสดุ	-	-	-
4. ค่าใช้สอย	15,000	15,000	-
5. ค่าครุภัณฑ์	-	-	-
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ	-	-	-
รวม	15,000	15,000	-

(.....)

ภญ. ดร.เนตรชนก เจียงสืบชาติวิระ
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย