

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์รักษาสิว (*P. acne*) และผลิตภัณฑ์ทำให้น้ำกระจางใสจากน้ำมันกระเบา

Research and development of products from krabao
(*Hydnocarpus anthelminticus* Pierre ex Laness.)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2556 จำนวนเงิน 525,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี 6 เดือน เริ่มตั้งแต่ 11 พฤศจิกายน 2556 ถึง 11 พฤษภาคม 2558

บทคัดย่อ

ความสำคัญและที่มา: การศึกษานี้ได้ศึกษาการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ลดเลือนรอยหมองคล้ำจากน้ำมันเมล็ดกระเบา *Hydnocarpus anthelminticus* วงศ์ FLACOURTIACEAE ซึ่งมีสารสำคัญ คือ *Hydnocarpic acid* และ *Chaulmoogric acid* มีฤทธิ์ในการกระจายเม็ดสีเมลานิน และสามารถฆ่าเชื้อ *Propionibacterium acnes* (*P.acne*) ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว จึงนำมาพัฒนาเป็นตำรับครีม

วัตถุประสงค์: เพื่อพัฒนาสูตรตำรับการเตรียมเภสัชภัณฑ์ในรูปแบบครีมจากสารสำคัญในทางธรรมชาติ คือน้ำมันเมล็ดกระเบาที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก

วิธีการศึกษา: นำสารก่อกวนชั้นที่ความเข้มข้นต่างๆ มาประเมินความคงตัวทางกายภาพ ที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่สภาวะเร่ง โดยการตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน ส่วนสภาวะเร่งจะทดสอบที่อุณหภูมิร้อน (45 องศาเซลเซียส) สลับเย็น (2 ถึง 8 องศาเซลเซียส) จำนวน 6 รอบ จากนั้นประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ การแยกของน้ำมันออกจากครีม การเกิดชั้นครีม การติดเชื้อ ความเป็นกรดต่าง สี การกระจายตัว ความหนืดและชนิดของอิมัลชัน นำตำรับที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีและมีความคงตัวมาศึกษาหาความเข้มข้นของสารเพิ่มความแข็งที่ความเข้มข้นต่างๆ มาประเมินความคงตัวทางกายภาพ ตำรับครีมน้ำมันกระเบาที่มีความคงตัวทางกายภาพที่ดีที่สุด จะนำมาทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัคร จำนวน 30 คน โดยดูจากการทดสอบการระคายเคืองที่ผิวหนัง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการศึกษา: ตำรับครีมน้ำมันกระเบา 30% ที่มีความคงตัวที่ดีประกอบด้วย emulsifier 9% และ emulsifying wax 0.5%

สรุปผล:

Abstract

Introduction: *Hydnocarpus anthelminticus* has *Hydnocarpic acid* and *Chaulmoogric acid*. The oil extracted from its seeds has brightening effect and anti-inflammatory activities.

Objectives: The objective of this study was to develop a formulation of cream from *Chaulmoogra* oil 30%w/w to be new innovation which selected from nature for using in pharmaceutical preparation.

Methods: The cream bases were prepared in various types of emulsifier and concentration. The stability test was determined subjecting the formula to room temperature for 60 days and performed heating and cooling process for 6 cycles. They were then observed for any changes in their physical properties which were cracking, creaming, microbial contamination, pH, color, spreadability, viscosity and type of emulsion. Formulations had good physical

stability were selected to study the effect of stiffening agent and stability test was also studied. Krabao oil cream which had the best physical stability was tested in 30 healthy volunteers. The skin irritation test was evaluated for 24 hours.

Results: : The best cream was formulation of 30%w/w chaulmoogra oil with 9% emulsifier and 0.5% emulsifying wax.

Conclusion:

1. บทนำ

ในสภาวะปัจจุบัน วงการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ได้พยายามที่จะศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติที่จะนำมาใช้ในการผลิตยา ซึ่งการศึกษาครั้งนี้คือ น้ำมันกระเบา ซึ่งได้จากต้นกระเบา *Hydnocarpus anthelminthicus* Pierre ex Laness. วงศ์ : FLACOURTIACEAE ซึ่งในน้ำมันมีสารสำคัญที่เรียกว่า Chaulmoogric acid ซึ่งนอกจากจะมีฤทธิ์ในด้านการรักษาโรคต่างๆ แล้ว² ยังมีคุณสมบัติเป็นเครื่องสำอาง^{9,11} สามารถฆ่าเชื้อ *Propionibacterium acnes* (*P. acne*) ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้ผิวหนังเกิดสิว จึงควรนำน้ำมันกระเบามาพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ยับยั้ง *P. acne* ผลิตภัณฑ์ทำให้หน้ากระจ่างใสโดยสารทำให้ผิวขาวที่นิยมใช้กันมากคือ กลุ่มสารที่ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส¹³ เนื่องจากแสงแดดและเอนไซม์ดังกล่าวเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไทโรซินที่อยู่ในเซลล์ชั้นล่างของผิวหนังกำพร้าที่ชื่อ “เมลานิน” และทำให้เกิดขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงต่างๆ จนกระทั่งได้เม็ดสี “เมลานิน” ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการกำหนดสีผิว โดยปัญหาที่พบคือ การสร้างเม็ดสีเมลานินที่มากขึ้นและไม่สม่ำเสมอในแต่ละบริเวณของผิวหนังทำให้เกิดผิวสีเข้ม ผ่า กระ จุดด่างดำบนใบหน้า ดังนั้นสารที่ป้องกันแสงแดดและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงสามารถแก้ปัญหานี้ได้ ลดริ้วรอย หรือ ชะลอการเกิดริ้วรอย สารออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ¹² ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ matrix metalloproteinases (MMPs) หรือ กระตุ้นการสังเคราะห์คอลลาเจน¹⁰ ซึ่งปัจจัยดังกล่าวมีส่วนสำคัญในขบวนการเกิดริ้วรอยอันเป็นต้นเหตุของผิวหนังเหี่ยวย่น⁸ นำมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญในผลิตภัณฑ์

2. การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

บริเวณของรูขุมขนที่มีอยู่ทั่วไปตามผิวหนังของคนเราเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดสิว ต่อมไขมัน (Sebaceous gland) บริเวณรูขุมขนนี้ มีหน้าที่สร้างไขมัน (Sebum) มาหล่อเลี้ยงผิวหนัง ทำให้ผิวหนังไม่แห้ง มีความชุ่มชื้นซึ่ง Sebum นี้ประกอบด้วย triglyceride , ester , wax และสารอื่นๆ บางครั้งมีการสร้างไขมันมากเกินไปทำให้คั่งค้างอยู่ในรูขุมขนและเกิดการอักเสบจะทำให้เกิดการอุดตัน เรียกว่า ไมโครโคมีโดน (Microcomedone) ซึ่งเป็นต้นเหตุของสิว Microcomedone นี้อาจจะหายไปเองหรือพัฒนาต่อไปกลายเป็นสิวลักษณะต่างๆ กันได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยร่วมบางอย่าง หากมีการสะสมของไขมันและเซลล์ชั้นซีโคลมากขึ้นเรื่อยๆ จะทำให้เกิดเป็นสิวลุดตันแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ

1. สิวหัวเปิด, สิวเสี้ยน, สิวหัวดำ (open comedones / black head)

สิวลุดตันที่มีหัวสีดำเกิดขึ้นทั่วใบหน้าที่เกิดจากการอุดตันของต่อมไขมันในรูขุมขนสิ่วที่มีรูเปิดออกบริเวณผิวหนังนอกทำให้บริเวณที่เป็นหัวสิ่วสัมผัสกับแสงและฝุ่นละอองสังเกตเห็นเป็นจุดดำๆ อยู่บริเวณหัวสิ่ว มักไม่อักเสบและสามารถหลุดออกได้ เช่น สิวเสี้ยนพบมากบริเวณจมูก มีลักษณะเป็นจุดดำๆ หรือเห็นเป็นหนามแหลมๆ สีขาวเกิดขึ้นจากการอุดตันของไขมันจับตัวเข้ากับเยื่อรูขุมขนที่หลุดลอกและขนอ่อนที่ตกค้างในรูขุมขน เมื่อเกิดสิ่วไขมันก็จะหลุดออกมาเป็นสิ่วเสี้ยนแต่แล้วก็จะเกิดขึ้นใหม่เพราะต่อมไขมันจำเป็นต้องสร้างไขมันเพื่อให้ความชุ่มชื้นกับผิวตลอด

2. สิวหัวปิด / สิวหัวขาว (closed / white head comedones)

ลักษณะของสิวลุดตันที่มีหัวสีขาวเกิดจากการที่ร่างกายไม่สามารถขับถ่ายไขมัน บริเวณรูขุมขนออกมาได้ จึงเกิดการสะสมเป็นก้อนอุดตันอยู่ภายใน เรียกว่า คอมิโดน (Comedone) เป็นก้อนนูนเล็กๆ พบได้ทั่วไปบริเวณใบหน้า เฉพาะหน้าผาก หน้าอก หรือหลัง ซึ่งเป็นต้นเหตุของการเกิดสิ่วอักเสบต่อไป ต่อมาการอุดตันนั้นเกิดสภาพไร้ออกซิเจนในรูขุมขนทำให้แบคทีเรีย *P. acnes* เจริญเติบโตได้ดีและสามารถย่อยสลายไขมันให้กลายเป็นไขมันอิสระ (free fatty acid) โดยอาศัยเอนไซม์ lipase ทำให้เกิดการระคายเคืองในก้อนอุดตัน อาจทำให้ก้อนอุดตันนั้นแตก แล้วไขมันที่ถูกสร้างจากต่อมไขมัน รวมทั้งเชื้อแบคทีเรีย เซลล์ผิวหนัง

ที่หลุดลอก ก็อาจตกลงมาอยู่ในเนื้อเยื่อข้างๆ ก่อนหลุดตันที่มีไขมันและเชื้ออยู่นี้ ถือว่าเป็นสิ่งแปลกปลอม เมื่อมีเซลล์แปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย ร่างกายจะส่งเซลล์เม็ดเลือดขาวไปกำจัดเซลล์แปลกปลอม ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดขาวนี้มีสองชนิดคือ โมโนไซต์และนิวโทรฟิล ซึ่งจะหลั่งโปรตีนสามชนิด IL-12, IL-8, และ TNF โดยวิธีนี้การเรียกว่า chemotaxis ซึ่งเป็นต้นเหตุให้เกิดการอักเสบ เราจึงเห็นเม็ดสีมีลักษณะที่บวม แดงและเจ็บ เนื่องจากเกิดเป็นสิวกอักเสบ

การเกิดสีผิวตามธรรมชาติเกิดจากสีของเมลานินฮีโมโกลบิน และแคโรทีนอยด์ เซลล์ที่อยู่ชั้นล่างของ ชั้นผิวหนังกำพร้าที่ชื่อ เมลาโนไซท์ทำหน้าที่ผลิตเม็ดสีเมลานินกระจายออกสู่ผิวหนัง ซึ่งในกระบวนการผลิตเมลานินต้องอาศัยเอนไซม์ไทโรซิเนส แสงและทองแดงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไทโรซิน ซึ่งเป็นสารประกอบเอมีนที่มีอยู่ในผิวหนัง ทำให้เกิดขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงต่างๆ จนกระทั่งได้เป็นเมลานิน เมลานินมีอยู่ 2 รูปแบบ คือ Eu-melaninsซึ่งทำให้เกิดผิวสีน้ำตาลหรือน้ำตาลค่อนข้างดำ อีกชนิดคือ Pheo-melanin ซึ่งทำให้เกิดผิวสีเหลืองหรือสีขาว โดยเอนไซม์ไทโรซิเนสจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนกรดอะมิโน ไทโรซิน เป็น L-DOPA ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็น Eu-melanin และ Pheo-melanin ในที่สุด การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสถือเป็นการยับยั้งการสร้างเมลานินในระดับต้นๆ ดังนั้นจึงมีการใช้และการตรวจหาสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน

ในโครงการวิจัยนี้มีความสนใจในสมุนไพรกระเบา ผู้วิจัยจะศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อ *P. acne* ของน้ำมันกระเบา พัฒนาสูตรตำรับน้ำมันกระเบาและประเมินความคงตัวทางกายภาพและความพึงพอใจของตำรับ และควบคุมคุณภาพของตำรับ ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อ การทำให้หน้าขาวและลดเลือนริ้วรอยของผลิตภัณฑ์โดยศึกษาจาก melanin index และร่องลึกหรือความขุ่นขึ้นของชั้นผิวหนัง

ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเชื้อของน้ำมันกระเบาแสดงผลดังตารางข้างล่างเป็นค่า clear zone (mm.) ของการทดสอบและค่า Minimum Inhibitory concentration

ความเข้มข้น	N=1	N=2	N=3	เฉลี่ย
20%	14.00	10.00	12.00	12.00
10%	10.00	11.00	11.00	10.60
5%	11.00	10.00	10.00	10.33
2.5%	9.00	8.00	10.00	9.00
1.25%	10.00	9.00	10.00	9.67
0.63%	10.00	8.00	12.00	10.00
0.312%	9.00	8.00	12.00	9.67
0.156%	7.00	11.00	9.00	9.00
0.078%	0	0	0	0
0.039%	0	0	0	0
control	0			

หมายเหตุ: 0 = เชื้อขึ้นเต็ม plate ไม่เกิด clear zone

3. ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

การดำเนินงานในช่วงต้น เป็นการเตรียมและประเมินความคงตัวทางกายภาพของอิมัลชันที่มีส่วนผสมของน้ำมันกระเบา โดยมีระเบียบวิธีวิจัยและผลการดำเนินการดังนี้

1. ศึกษาผลความเข้มข้นของ Cremophor® A6 : Cremophor® A25 ในอัตราส่วน 3:1 ที่มีต่อลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของยาพื้นครีม โดยใช้น้ำมันกระเบา 30% พัฒนาสูตรตำรับโดยใช้ความเข้มข้นของสารก่ออิมัลชันเป็น 5% 7% 9% และ 11% เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม

ส่วนประกอบ	ตำรับ 1		ตำรับ 2		ตำรับ 3		ตำรับ 4	
น้ำมันกระเบา	30%	7.5 g	30%	7.5 g	30%	7.5 g	30%	7.5 g
Cremophor® A6	5%	0.94 g	7%	1.31 g	9%	1.69 g	11%	2.06 g
Cremophor® A25		0.31 g		0.44 g		0.56 g		0.69
Germaben	1%	0.25 g	1%	0.25 g	1%	0.25 g	1%	0.25 g
Purified water qs to	100%	25 g	100%	25 g	100%	25 g	100%	25 g

1.1 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยประเมิน สีการเกิด cracking %creaming การติดเชื้อ pH ความหนืดปรากฏ ความเหนียวเหนอะหนะ การกระจายตัว คราบขาวและชนิดของอิมัลชัน

1.2 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ (ตามข้อ 1.1) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 28 วัน

1.3 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ (ตามข้อ 1.1) เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ

2. การศึกษาความเข้มข้นของ Emulsifying wax ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับน้ำมันกระเบา โดยใช้ Emulsifying wax 0.5%, 1%, 1.5% และ 2%

2.2 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ (ตามข้อ 1.1) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ ห้องเป็นเวลา 28 วัน

2.3 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ (ตามข้อ 1.1) เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ

3. การประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัคร 30 คน นำตำรับครีมน้ำมันกระเบาและครีมพื้นที่มีความคงตัวทางกายภาพมาประเมินความพึงพอใจ โดยประเมิน สี ความหนืด ความเหนอะหนะ การกระจายตัวการเกิดคราบขาว ความมันและความพึงพอใจโดยรวม

การทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง (Irritation test) ในอาสาสมัครปกติจำนวน 30 คน

3.1 คัดเลือกอาสาสมัครหญิงและชายอายุระหว่าง 20-25 ปี จำนวน 30 คน ที่ไม่มีประวัติการแพ้ยา และไม่มีผื่นคันของผิวหนังบริเวณต้นแขนด้านใน

3.2 เช็ดผิวหนังบริเวณต้นแขนด้านในด้วยแอลกอฮอล์รอให้แห้ง

3.3 ใช้แผ่นสำลีที่ทาด้วยสารที่ต้องการทดสอบ 4 ชนิด ชนิดละ 0.1 กรัม มาทาที่บริเวณต้นแขนด้านใน แล้วปิดทับด้วย Occlusive patch โดยสารที่ใช้ทดสอบ ได้แก่

- A : ตำรับยาพื้น
- B : ตำรับครีม 30 % น้ำมันกระเบา
- C : Purified water (Negative control)

D : 10 % Sodium lauryl sulfate (Positive control)

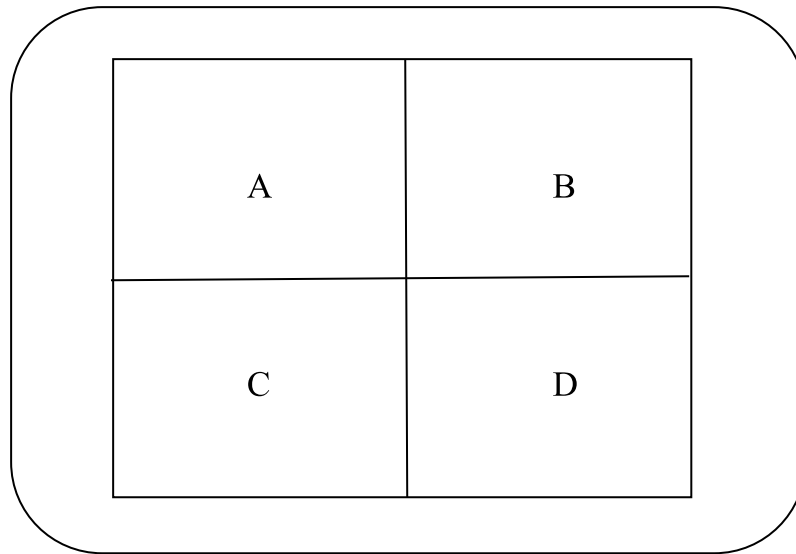
3.4 ปิดไว้นาน 24 ชั่วโมง แยกออกล้างด้วยน้ำสะอาด รอให้แห้ง

3.5 อ่านและบันทึกผล

กำหนดให้ :

- 0 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง(ผิวหนังปกติ)
- 1 ผิวหนังแดงเล็กน้อย
- 2 ผิวหนังแดงปานกลาง อาจมีรอยบวมที่ขอบ และตุ่มนูนอาจปรากฏ
- 3 ผิวหนังแดงปานกลาง มีตุ่มนูน
- 4 ผิวหนังแดงมาก มีตุ่มนูนรุนแรง อาจพบตุ่มน้ำใส
- 5 มีปฏิกิริยาการแพ้อย่างรุนแรง ลามออกไปรอบนอกบริเวณทดสอบ

3.6 สังเกตและอ่านผลซ้ำหลังจากอ่านผลครั้งแรก 24 ชั่วโมง ถ้ายังมีรอยแดงให้สังเกตต่อไปอีก 3-4 วัน



แสดงตำแหน่งของสารที่ต้องการทดสอบทั้ง 4 ชนิด ในการทดสอบการระคายเคืองของอาสาสมัคร

4. การประเมินประสิทธิภาพการปรับสภาพสีผิวและการให้ความชุ่มชื้นของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร ปกติ โดยใช้เครื่อง Cutometer® MPA 580

4.1 คัดเลือกอาสาสมัครจำนวน 30 คน

เกณฑ์คัดเลือก

- หญิงและชายอายุระหว่าง 20 – 25 ปี จำนวน 30 คน
- ไม่มีประวัติแพ้ยา
- ไม่มีความผิดปกติของผิวหนังบริเวณต้นแขนด้านใน และต้องไม่เป็นโรคผิวหนัง หรือ โรคทาง

ระบบหลอดเลือด

- อาสาสมัครแต่ละคน จะต้องหยุดใช้ผลิตภัณฑ์ลดความเข้มของสีผิวรวมทั้งเครื่องสำอาง ครีม หรือ โลชั่นอื่นๆ บนบริเวณที่จะทาครีมน้ำมันกระเบาและน้ำมันยาพื้นในระหว่าง 1 สัปดาห์ก่อนทำการทดลองและในระหว่างการทดลอง Cutometer® MPA 580

4.2 กำหนดจุดที่จะทดสอบฤทธิ์ลดความเข้มของสีผิว บริเวณต้นแขนด้านในเป็นบริเวณกว้างยาว ประมาณ 1 นิ้ว แล้ววัดค่าความเข้มของสีผิว (Melanin value) ,Erythem value และความชุ่มชื้นของผิว เริ่มต้นของอาสาสมัครแต่ละคน ด้วยเครื่อง Cutometer® MPA 580 โดยใช้ Mexameter® MX 16 เป็น Probe ที่ใช้วัด Melanin value และ Erythemvalue และความชุ่มชื้นของผิวใช้ Corneometer® CM 825 เป็น Probe ในการวัดความชุ่มชื้นของผิว

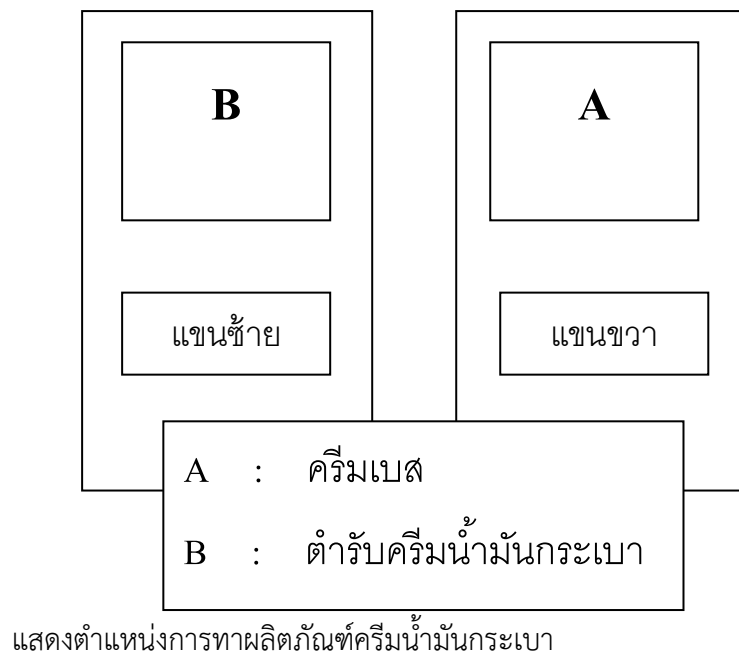
4.3 ให้อาสาสมัครทาครีมน้ำมันยาพื้น (ตำรับ A) และตำรับน้ำมันกระเบา (ตำรับ B) ตามจุดที่กำหนด (รูปที่ 11) วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น หลังอาบน้ำ เป็นเวลา 3 สัปดาห์

4.4 วัดค่าความเข้มของสีผิว (Melanin value),Erythema value และความชุ่มชื้นของผิวในสัปดาห์ที่ 3

4.5 ประเมินฤทธิ์ลดความเข้มของสีผิว ดังนี้

- เปรียบเทียบฤทธิ์ลดความเข้มของสีผิวระหว่างสัปดาห์ที่ 3 ของครีมเบส โดยใช้ Paired T- Test

- เปรียบเทียบฤทธิ์ลดความเข้มของสีผิวระหว่างสัปดาห์ที่ 3 ของครีมน้ำมันกระเบา โดยใช้ Paired T-Test



4.6 ประเมินค่า Erythem value ดังนี้

- เปรียบเทียบค่าอิริทีมา ระหว่างสัปดาห์ที่ 3 ของครีมเบส โดยใช้ Paired T- Test
- เปรียบเทียบค่าอิริทีมา ระหว่างสัปดาห์ที่ 3 ของครีมน้ำมันกระเบา โดยใช้ Paired T- Test

4.7 ประเมินค่าความชุ่มชื้นของผิว ดังนี้

- เปรียบเทียบค่าความชุ่มชื้นของผิว ระหว่างสัปดาห์ที่ 3 ของครีมเบส โดยใช้ Paired T- Test
- เปรียบเทียบค่าความชุ่มชื้นของผิว ระหว่างสัปดาห์ที่ 3 ของครีมน้ำมันกระเบา โดยใช้ Paired T-Test

อุปกรณ์และสารเคมี

สารเคมีที่ใช้

1. น้ำมันเมล็ดกระเบา
2. Stearyl alcohol (Lot.No. M1T297011H)
3. Mineral oil (Lot.No. 2008-08-06)
4. Cremophor® A6
5. Cremophor® A25
6. Olive oil (Lot.No. L-83269A-39446)
7. Tween® 80
8. Span® 80 (Lot.No. 81207E)
9. Cetyl alcohol (Lot.No. M112380020)
10. Emulsifying wax (cetostearyl alcohol 90 g + SLS 10 g + purified water 4 mL)

11. Sodium lauryl sulfate (Lot.No. 49361)

12. Germaben

วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Beaker ขนาด 50, 100, 250 mL

2. Stirring rod

3. Hot plate

4. Brookfield viscometer

5. pH paper

6. ตู้อบ Autoclave

7. ตู้เย็น

8. Microscope

9. Microscope Slides

10. หลอดทดลอง

11. Cylinder ขนาด 10 ml

12. ขวดปากกว้าง

13. Thermometer

14. Spatula

15. Hot plate

16. Dropper

17. Topload balance

18. Occlusive patch

วิธีวิจัย

1. การศึกษาความเข้มข้นของ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับน้ำมันกระเบา

1.1 กำหนดความเข้มข้น Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ในสัดส่วน 3:1 ที่ความเข้มข้น 5% 7% 9% และ 11% ตามลำดับ

1.2 ชั่งน้ำมันกระเบา น้ำกลั่น Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ดังตารางที่ 4 จากนั้นผสมสาร โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1) วัฏภาคน้ำประกอบด้วยน้ำกลั่น

2) วัฏภาคน้ำมันประกอบด้วยน้ำมันกระเบา Cremophor® A6 และ Cremophor® A25

1.3 นำสารผสมทั้ง 2 ส่วนอุ่นบน water bath โดยให้วัฏภาคน้ำมีอุณหภูมิ 75 °C และวัฏภาคน้ำมันมีอุณหภูมิ 73 °C

1.4 ค่อยๆ เทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันให้เป็นสายพร้อมทั้งคนให้แรงและสม่ำเสมอตลอดเวลา จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงประมาณ 45 °C ค่อยๆ เติม Germaben ลงผสม

1.5 เมื่อใกล้ถึงช่วง Congeal เทสารลงในขวดแก้ว

- 1.6 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยการทดสอบภายใต้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมินลักษณะต่างๆ ได้แก่ การเกิด cracking %creaming สีของตำรับ การติดเชื้อ ความหนืดปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชัน
- 1.7 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยการทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง โดยการเก็บตำรับที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ โดยประเมินตามข้อ 1.6

ตารางที่ 1 การศึกษาความเข้มข้นของ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับน้ำมันกระเบา

ส่วนประกอบ	ตำรับ 1		ตำรับ 2		ตำรับ 3		ตำรับ 4	
น้ำมันกระเบา	30%	7.5 g	30%	7.5 g	30%	7.5 g	30%	7.5 g
Cremophor® A6	5%	0.94 g	7%	1.31 g	9%	1.69 g	11%	2.06 g
Cremophor® A25		0.31 g		0.44 g		0.56 g		0.69
Germaben	1%	0.25 g	1%	0.25 g	1%	0.25 g	1%	0.25 g
Purified water qs to	100%	25 g	100%	25 g	100%	25 g	100%	25 g

2. การศึกษาความเข้มข้นของ Emulsifying wax ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับน้ำมันกระเบา
- 2.1 กำหนดความเข้มข้นของ Emulsifying wax ได้แก่ 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นของสารก่ออิมัลชันที่เหมาะสมตามผลการทดลองในขั้นตอนที่ 2
- 2.2 ชั่งน้ำมันกระเบา Emulsifying wax น้ำกลั่น Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ดังตารางที่ 5 จากนั้นผสมสารโดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ
- 1) วัฏภาคน้ำประกอบด้วย น้ำกลั่น
 - 2) วัฏภาคน้ำมันประกอบด้วยน้ำมันกระเบา Emulsifying wax Cremophor® A6 และ Cremophor® A25
- 2.3 นำสารผสมทั้ง 2 ส่วนอุ่นบน water bath โดยให้วัฏภาคน้ำมีอุณหภูมิ 75 °C และวัฏภาคน้ำมันมีอุณหภูมิ 73°C
- 2.4 ค่อยๆ เทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันให้เป็นสายพร้อมทั้งคนให้แรงและสม่ำเสมอตลอดเวลา จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงประมาณ 45 °C ค่อย ๆ เติม Germaben ลงผสม
- 2.5 เมื่อใกล้ถึงช่วง Congeal เทใส่ลงในขวดแก้ว
- 2.6 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยการทดสอบภายใต้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมินลักษณะต่างๆ ได้แก่ การเกิด cracking %creaming สีของตำรับ การติดเชื้อ ความหนืดปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชัน
- 2.7 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยการทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง โดยการเก็บตำรับที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ โดยประเมินตามข้อ 2.6

ตารางที่ 2 การศึกษาความเข้มข้นของ Emulsifying wax ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับน้ำมันกระเบา

ส่วนประกอบ	ตำรับ 5		ตำรับ 6		ตำรับ 7		ตำรับ 8	
น้ำมันกระเบา	30%	15 g	30%	15 g	30%	15 g	30%	15 g
Cremophor® A6	9%	3.38 g	9%	3.38 g	9%	3.38 g	9%	3.38 g
Cremophor® A25		1.13 g		1.13 g		1.13 g		1.13 g
Emulsifying wax	0.5 %	0.25 g	1%	0.5	1.5 %	0.75 g	2%	1 g
Germaben	1%	0.5 g	1%	0.5 g	1%	0.5 g	1%	0.5 g
Purified water qs to	100%	50 g	100%	50 g	100%	50 g	100%	50 g

3. การศึกษาความเข้มข้นของ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับยาพื้น
 - 3.1 กำหนดความเข้มข้น Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ในสัดส่วน 3:1 ที่ความเข้มข้น 5%, 7%, 9% และ 11%
 - 3.2 ชั่ง Mineral oil น้ำกลั่น Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ดังตารางที่ 6 จากนั้นผสมสาร โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ
 - 1) วัฏภาคน้ำประกอบด้ว้้น้ำกลั่น
 - 2) วัฏภาคน้ำมันประกอบด้วย Mineral oil Cremophor® A6 และ Cremophor® A25
 - 3.3 นำสารผสมทั้ง 2 ส่วนอุ่นบน water bath โดยให้วัฏภาคน้ำมีอุณหภูมิ 75 °C และวัฏภาคน้ำมันมีอุณหภูมิ 73 °C
 - 3.4 ค่อย ๆ เทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันให้เป็นสายพร้อมทั้งคนให้แรงและสม่ำเสมอตลอดเวลา จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงประมาณ 45 °C ค่อย ๆ เติม Germaben ลงผสม
 - 3.5 เมื่อใกล้ถึงช่วง Congeal เทใส่ลงใน Cylinder ให้ได้ปริมาตร 10 ml ตำรับละ 3 Cylinder
 - 3.6 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยการทดสอบภายใต้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมินลักษณะต่างๆ ได้แก่ การเกิด cracking %creaming สีของตำรับ การติดเชื้อมความหนืดปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชัน
 - 3.7 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยการทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง โดยการเก็บตำรับที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ โดยประเมินตามข้อ 3.6

ตารางที่ 3 การศึกษาความเข้มข้นของ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับ Mineral oil

ส่วนประกอบ	ตำรับ 9		ตำรับ 10		ตำรับ 11		ตำรับ 12	
Mineral oil	20%	5 g	20%	5 g	20%	5 g	20%	5 g
Olive oil	10%	2.5 g	10%	2.5 g	10%	2.5 g	10%	2.5 g
Cremophor® A6	5%	0.94 g	7%	1.31 g	9%	1.69 g	11%	2.06 g
Cremophor® A25		0.31 g		0.44 g		0.56 g		0.69
Germaben	1%	0.25 g	1%	0.25 g	1%	0.25 g	1%	0.25 g

Purified water qs to	100%	25 g	100%	25 g	100%	25 g	100%	25 g
----------------------	------	------	------	------	------	------	------	------

4. การศึกษาความเข้มข้นของ Emulsifying wax ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับยาพื้น
 - 4.1 กำหนดความเข้มข้นของ Emulsifying wax 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นของสารก่ออิมัลชันที่เหมาะสมตามผลการทดลองในขั้นตอนที่ 4
 - 4.2 ชั่ง Mineral oil, Emulsifying wax, น้ำกลั่น, Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ดังตารางที่ 7 จากนั้นผสมสารโดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ
 - 1) วัฏภาคน้ำประกอบด้วย น้ำกลั่น
 - 2) วัฏภาคน้ำมันประกอบด้วย Mineral oil, Emulsifying wax, Cremophor® A6 และ Cremophor® A25
 - 4.3 นำสารผสมทั้ง 2 ส่วนอุ่นบน water bath โดยให้วัฏภาคน้ำมีอุณหภูมิ 75 °C และวัฏภาคน้ำมันมีอุณหภูมิ 73 °C
 - 4.4 ค่อยๆ เทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันให้เป็นสายพร้อมทั้งคนให้แรงและสม่ำเสมอตลอดเวลา จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงประมาณ 45 °C ค่อยๆ เติม Germaben ลงผสม
 - 4.5 เมื่อใกล้ถึงช่วง Congeal เทใส่ลงในขวดแก้ว
 - 4.6 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยการทดสอบภายใต้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมินลักษณะต่างๆ ได้แก่ การเกิด cracking %creaming สีของตำรับ การติดเชื้อ ความหนืดปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชัน
 - 4.7 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้ โดยการทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง โดยการเก็บตำรับที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ โดยประเมินตามข้อ 4.6

ตารางที่ 4 การศึกษาความเข้มข้นของ Emulsifying wax ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับยาพื้น

ส่วนประกอบ	ตำรับ 13		ตำรับ 14		ตำรับ 15		ตำรับ 16	
Mineral oil	20%	10 g	20%	10 g	20%	10 g	20%	10 g
Olive oil	10%	5 g	10%	5 g	10%	5 g	10%	5 g
Cremophor® A6	9%	3.38 g	9%	3.38 g	9%	3.38 g	9%	3.38 g
Cremophor® A25		1.13 g		1.13 g		1.13 g		1.13 g
Emulsifying wax	0.5 %	0.25 g	1%	0.5	1.5 %	0.75 g	2%	1 g
Germaben	1%	0.5 g	1%	0.5 g	1%	0.5 g	1%	0.5 g
Purified water qs to	100%	50 g	100%	50 g	100%	50 g	100%	50 g

5. การประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัคร 30 คน นำตำรับครีมน้ำมันกระเบาและครีมพื้นที่มีความคงตัวทางกายภาพมาประเมินความพึงพอใจ โดยประเมิน สี ความหนืด ความเหนอะหนะ การกระจายตัว การเกิดคราบขาว ความมันและความพึงพอใจโดยรวม
6. การทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง (Irritation test) ในอาสาสมัครปกติจำนวน 30 คน

- 6.1 คัดเลือกอาสาสมัครหญิงและชายอายุระหว่าง 20-25 ปี จำนวน 30 คน ที่ไม่มีประวัติการแพ้ยาและ
ไม่มีความผิดปกติของผิวหนังบริเวณต้นแขนด้านใน
- 6.2 เช็ดผิวหนังบริเวณต้นแขนด้านในด้วยแอลกอฮอล์รอให้แห้ง
- 6.3 ใช้แผ่นสำลีที่ทาด้วยสารที่ต้องการทดสอบ 4 ชนิด ชนิดละ 0.1 กรัม มาทาที่บริเวณต้นแขนด้านใน
แล้วปิดทับด้วย Occlusive patch โดยสารที่ใช้ทดสอบ (รูปที่10) ได้แก่
 - A : ตำรับยาพื้น
 - B : ตำรับครีม 30 % น้ำมันกระเบา
 - C : Purified water (Negative control)
 - D : 10 % Sodium lauryl sulfate (Positive control)
- 6.4 ปิดไว้นาน 24 ชั่วโมง แกะออกล้างด้วยน้ำสะอาด รอให้แห้ง
- 6.5 อ่านและบันทึกผล
กำหนดให้ :
 - 0 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง(ผิวหนังปกติ)
 - 1 ผิวหนังแดงเล็กน้อย
 - 2 ผิวหนังแดงปานกลาง อาจมีรอยบวมที่ขอบ และตุ่มนูนอาจปรากฏ
 - 3 ผิวหนังแดงปานกลาง มีตุ่มนูน
 - 4 ผิวหนังแดงมาก มีตุ่มนูนรุนแรง อาจพบตุ่มน้ำใส
 - 5 มีปฏิกิริยาการแพ้อย่างรุนแรง ลามออกไปรอบนอกบริเวณทดสอบ
- 6.6 สังเกตและอ่านผลซ้ำหลังจากอ่านผลครั้งแรก 24 ชั่วโมง ถ้ายังมีรอยแดงให้สังเกตต่อไปอีก 3-4 วัน

ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาการหาความเข้มข้นของ Cremophore® A6 และ Cremophore® A25 ที่เหมาะสม
 - 1.1 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้เมื่อใช้สารก่ออิมัลชัน 5%, 7%, 9% และ
11% ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมิน การเกิด cracking %creaming สีของ
ตำรับการติดเชื้อมหาณูชีพปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชันแสดงในตารางที่ 5
 - 1.2 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้เมื่อใช้สารก่ออิมัลชัน 5%, 7%, 9% และ
11% เก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48
ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ โดยประเมิน การเกิด cracking %creaming สีของ
ตำรับการติดเชื้อมหาณูชีพปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชันแสดงในตารางที่ 6
2. ผลการศึกษาหาความเข้มข้นของ emulsifying wax ที่เหมาะสมของตำรับน้ำมันกระเบา
 - 2.1 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้เมื่อใช้ emulsifying wax 0.5%, 1%,
1.5% และ 2% ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมิน การเกิด cracking
%creaming สีของตำรับการติดเชื้อมหาณูชีพปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชันแสดง
ในตารางที่ 7
 - 2.2 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้เมื่อใช้ emulsifying wax 0.5%, 1%,
1.5% และ 2% เก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็น
เวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ โดยประเมิน การเกิด cracking %creaming
สีของตำรับการติดเชื้อมหาณูชีพปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชันแสดงในตารางที่ 8

3. ผลการศึกษาความเข้มข้นของ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ในสัดส่วน 3:1 ที่ความเข้มข้น 5%, 7%, 9% และ 11%
 - 3.1 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้เมื่อใช้ความเข้มข้น 5%, 7%, 9% และ 11% ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมิน การเกิด cracking %creaming สีของตำรับการติดเชื้อความหนืดปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชันแสดงในตารางที่ 9
 - 3.2 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้เมื่อใช้ความเข้มข้น 5%, 7%, 9% และ 11% เก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ โดยประเมิน การเกิด cracking %creaming สีของตำรับการติดเชื้อความหนืดปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชันแสดงในตารางที่ 10
4. ผลการศึกษาหาความเข้มข้นของ emulsifying wax ที่เหมาะสมของตำรับยาพื้น
 - 4.1 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้เมื่อใช้ emulsifying wax 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมิน การเกิด cracking %creaming สีของตำรับการติดเชื้อความหนืดปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชันแสดงในตารางที่ 11
 - 4.2 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับที่เตรียมได้เมื่อใช้ emulsifying wax 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% เก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบ โดยประเมิน การเกิด cracking %creaming สีของตำรับการติดเชื้อความหนืดปรากฏ pH การกระจายตัว และชนิดของอิมัลชันแสดงในตารางที่ 12
5. ผลประเมินความพึงพอใจของตำรับครีมน้ำมันกระเบาและครีมพื้น ในอาสาสมัคร 30 คน แสดงในตารางที่ 13
6. ผลประเมินการระคายเคืองของตำรับครีมน้ำมันกระเบาและครีมพื้น ที่มีความคงตัวทางกายภาพ และมีผลความพึงพอใจที่ดี ในอาสาสมัคร 30 คนแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 5 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับสารก่ออิมัลชัน 5%, 7%, 9% และ 11% ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน

การประเมิน	วันที่	ตำรับ 1	ตำรับ 2	ตำรับ 3	ตำรับ 4
Cracking	0	√	√	√	√
	1	√	√	√	√
	3	√	√	√	√
	7	√	√	√	√
	14	√	√	√	√
	21	√	√	√	√
	28	√	√	√	√
	60	√	√	√	√
%creaming	0	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	1	90.81%	100.00%	100.00%	87.03%
	3	75.00%	100.00%	100.00%	66.67%
	7	62.55%	100.00%	100.00%	53.50%
	14	57.42%	100.00%	100.00%	51.78%
	21	57.42%	100.00%	100.00%	52.23%
	28	53.75%	100.00%	100.00%	50.47%
	60	50.67%	100.00%	100.00%	48.42%
สี	0	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	1	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	3	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	7	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	14	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	21	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	28	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	60	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
การติดเชื้อ	0	√	√	√	√
	1	√	√	√	√
	3	√	√	√	√
	7	√	√	√	√
	14	√	√	√	√
	21	√	√	√	√

การประเมิน	วันที่	ตำรับ 1	ตำรับ 2	ตำรับ3	ตำรับ 4
	28	√	√	√	√
	60	√	√	√	√
ชนิดของอิฐมวลชั้น	0	o/w	o/w	o/w	o/w
	1	o/w	o/w	o/w	o/w
	3	o/w	o/w	o/w	o/w
	7	o/w	o/w	o/w	o/w
	14	o/w	o/w	o/w	o/w
	21	o/w	o/w	o/w	o/w
	28	o/w	o/w	o/w	o/w
	60	o/w	o/w	o/w	o/w
pH	0	5	6	6	6
	1	5	6	6	6
	3	5	6	6	6
	7	6	6	6	6
	14	6	6	6	6
	21	6	6	6	6
	28	6	6	6	6
	60	6	6	6	6
ความหนืดปรากฏ	0	+	+	+	+
	1	+++	+++	+++	+++
	3	+++	+++	+++	+++
	7	+	+++	+++	+
	14	+	+++	+++	+
	21	++	+++	+++	++
	28	++	+++	+++	++
	60	++	+++	+++	++

หมายเหตุ : -* ตำรับเกิด cracking ไม่สามารถประเมินได้

ประเมินความหนืดปรากฏ	+	หนืดน้อยที่สุด
	++	หนืดน้อย
	+++	หนืดปานกลาง
	++++	หนืดมาก
	+++++	หนืดมากที่สุด

ตารางที่ 6 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตัวรับสารก่ออิมัลชัน 5%, 7%, 9% และ 11% ในสภาวะ temperature cycling 6 รอบ

การประเมิน	ตัวรับ	cycle 1	cycle 2	cycle 3	cycle 4	cycle 5	cycle 6
Cracking	1	√	×	×	×	×	×
	2	√	√	√	√	√	×
	3	√	√	√	√	√	×
	4	√	×	×	×	×	×
%creaming	1	100.00%	—*	—*	—*	—*	—*
	2	100.00%	100.00%	69.70%	53.64%	54.48%	—*
	3	100.00%	100.00%	84.16%	76.40%	57.04%	—*
	4	100.00%	—*	—*	—*	—*	—*
แรง	1	ขาวนวล	—*	—*	—*	—*	—*
	2	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	—*
	3	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	—*
	4	ขาวนวล	—*	—*	—*	—*	—*
การติดเชื้อ	1	√	—*	—*	—*	—*	—*
	2	√	√	√	√	√	—*
	3	√	√	√	√	√	—*
	4	√	—*	—*	—*	—*	—*

หมายเหตุ : —* ตัวรับเกิด cracking ไม่สามารถประเมินได้

ตารางที่ 6(ต่อ)

การประเมิน	ตัวรับ	cycle 1	cycle 2	cycle 3	cycle 4	cycle 5	cycle 6
ความหนืด ปรากฏ	1	+++	—*	—*	—*	—*	—*
	2	+++	+++	+++	+++	+++	—*
	3	+++	++	+++	+++	+++	—*
	4	++	—*	—*	—*	—*	—*
pH	1	6	—*	—*	—*	—*	—*
	2	6	5	6	6	6	—*
	3	6	6	6	6	6	—*
	4	6	—*	—*	—*	—*	—*

การกระจาย ตัว	1	3.56±3.04	—*	—*	—*	—*	—*
	2	4.51±2.37	3.33±2.01	2.83±1.46	2.74±1.84	3.09±2.34	—*
	3	4.73±1.92	4.26±1.56	2.76±2.42	2.81±2.42	2.73±1.55	—*
	4	4.47±2.63	—*	—*	—*	—*	—*
ชนิดของ อิมัลชัน	1	o/w	—*	—*	—*	—*	—*
	2	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w	—*
	3	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w	—*
	4	o/w	—*	—*	—*	—*	—*

ตารางที่ 7 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับ emulsifying wax 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% ตั้ง
ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน

การประเมิน	วันที่	ตำรับ 5	ตำรับ 6	ตำรับ 7	ตำรับ 8
Cracking	0	√	√	√	√
	1	√	√	√	√
	3	√	√	√	√
	7	√	√	√	√
	14	√	√	√	√
	21	√	√	√	√
	28	√	√	√	√
	60	√	√	√	√
%creaming	0	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	1	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	3	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	7	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	14	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	21	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	28	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	60	93.74%	92.48%	94.68%	95.41%
สี	0	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	1	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	3	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	7	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	14	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	21	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	28	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	60	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
การติดเชื้อ	0	√	√	√	√
	1	√	√	√	√
	3	√	√	√	√
	7	√	√	√	√
	14	√	√	√	√
	21	√	√	√	√

การประเมิน	วันที่	ตำรับ 5	ตำรับ 6	ตำรับ 7	ตำรับ 8
	28	√	√	√	√
	60	√	√	√	√
ชนิดของอิฐมวลขึ้น	0	o/w	o/w	o/w	o/w
	1	o/w	o/w	o/w	o/w
	3	o/w	o/w	o/w	o/w
	7	o/w	o/w	o/w	o/w
	14	o/w	o/w	o/w	o/w
	21	o/w	o/w	o/w	o/w
	28	o/w	o/w	o/w	o/w
	60	o/w	o/w	o/w	o/w
pH	0	5	5	5	5
	1	5	5	5	5
	3	5	5	5	5
	7	5	5	5	5
	14	5	5	5	5
	21	5	5	5	5
	28	5	5	5	5
	60	5	5	5	5
ความหนืดปรากฏ	0	++	++	++	+++
	1	++	+++	++++	++++
	3	+++	+++	++++	++++
	7	+++	+++	++++	++++
	14	+++	+++	++++	++++
	21	+++	+++	++++	++++
	28	+++	+++	++++	++++
	60	+++	+++	++++	++++

หมายเหตุ : -* ตำรับเกิด cracking ไม่สามารถประเมินได้

ประเมินความหนืดปรากฏ +

หนืดน้อยที่สุด

++

หนืดน้อย

+++

หนืดปานกลาง

++++

หนืดมาก

+++++

หนืดมากที่สุด

ตารางที่ 8 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับ emulsifying wax 0.5%, 1%, 1.5% และ 2%ใน
สภาวะ temperature cycling 6 รอบ

การประเมิน	ตำรับ	cycle 1	cycle 2	cycle 3	cycle 4	cycle 5	cycle 6
Cracking	5	√	√	×	×	×	×
	6	√	√	×	×	×	×
	7	√	√	×	×	×	×
	8	√	√	×	×	×	×
%creaming	5	100.00%	52.91%	—*	—*	—*	—*
	6	100.00%	55.35%	—*	—*	—*	—*
	7	100.00%	52.61%	—*	—*	—*	—*
	8	100.00%	100.00%	—*	—*	—*	—*
สี	5	สีขาวนวล	สีขาวนวล	—*	—*	—*	—*
	6	สีขาวนวล	สีขาวนวล	—*	—*	—*	—*
	7	สีขาวนวล	สีขาวนวล	—*	—*	—*	—*
	8	สีขาวนวล	สีขาวนวล	—*	—*	—*	—*
การติดเชื้อ	5	√	√	—*	—*	—*	—*
	6	√	√	—*	—*	—*	—*
	7	√	√	—*	—*	—*	—*
	8	√	√	—*	—*	—*	—*
ความหนืดปรากฏ	5	+++	+++	—*	—*	—*	—*
	6	+++	+++	—*	—*	—*	—*
	7	++++	++++	—*	—*	—*	—*
	8	++++	++++	—*	—*	—*	—*
pH	5	5	5	—*	—*	—*	—*
	6	5	5	—*	—*	—*	—*
	7	5	5	—*	—*	—*	—*
	8	5	5	—*	—*	—*	—*
ชนิดของอิมัลชัน	5	o/w	o/w	—*	—*	—*	—*
	6	o/w	o/w	—*	—*	—*	—*
	7	o/w	o/w	—*	—*	—*	—*
	8	o/w	o/w	—*	—*	—*	—*

ตารางที่ 9 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพตำรับ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 สัดส่วน 3:1
ความเข้มข้น 5%, 7%, 9% และ 11% ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน

การประเมิน	วันที่	ตำรับ 9	ตำรับ 10	ตำรับ 11	ตำรับ 12
Cracking	0	√	√	√	√
	1	√	√	√	√
	3	√	√	√	√
	7	√	√	√	√
	14	√	√	√	√
	21	√	√	√	√
	28	√	√	√	√
	60	√	√	√	√
%creaming	0	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	1	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	3	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	7	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	14	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	21	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	28	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	60	90.72%	92.53%	93.13%	94.58%
ผง	0	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	1	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	3	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	7	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	14	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	21	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	28	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
	60	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
การติดเชื้อ	0	√	√	√	√
	1	√	√	√	√
	3	√	√	√	√
	7	√	√	√	√
	14	√	√	√	√
	21	√	√	√	√

การประเมิน	วันที่	ตำรับ 9	ตำรับ 10	ตำรับ 11	ตำรับ 12
	28	√	√	√	√
	60	√	√	√	√
ชนิดของอิฐมวลขึ้น	0	o/w	o/w	o/w	o/w
	1	o/w	o/w	o/w	o/w
	3	o/w	o/w	o/w	o/w
	7	o/w	o/w	o/w	o/w
	14	o/w	o/w	o/w	o/w
	21	o/w	o/w	o/w	o/w
	28	o/w	o/w	o/w	o/w
	60	o/w	o/w	o/w	o/w
pH	0	5	5	5	5
	1	5	5	5	5
	3	5	5	5	5
	7	5	5	5	5
	14	5	5	5	5
	21	5	5	5	5
	28	5	5	5	5
	60	5	5	5	5
ความหนืดปรากฏ	0	+	+	+	+
	1	+	++	++	++
	3	+	++	++	++
	7	+++	+++	+++	+++
	14	+++	+++	+++	+++
	21	+++	+++	+++	+++
	28	+++	+++	+++	+++
	60	+++	+++	+++	+++

หมายเหตุ : -* ตำรับเกิด cracking ไม่สามารถประเมินได้

ประเมินความหนืดปรากฏ +

หนืดน้อยที่สุด

++

หนืดน้อย

+++

หนืดปานกลาง

++++

หนืดมาก

+++++

หนืดมากที่สุด

ตารางที่ 10 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับยาพื้นความเข้มข้น 5%, 7%, 9% และ 11% ในสภาวะ temperature cycling 6 รอบ

การประเมิน	ตำรับ	cycle 1	cycle 2	cycle 3	cycle 4	cycle 5	cycle 6
Cracking	9	×	×	×	×	×	×
	10	×	×	×	×	×	×
	11	√	√	√	√	√	√
	12	√	√	√	√	√	√
%creaming	9	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	10	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	11	86.63%	69.59%	63.91%	55.41%	54.72%	50.31%
	12	80.86%	66.46%	63.76%	56.03%	55.62%	54.74%
สี	9	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	10	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	11	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	12	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
การติดเชื้อ	9	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	10	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	11	√	√	√	√	√	√
	42	√	√	√	√	√	√
ความหนืดปรากฏ	9	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	10	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	11	++	++	++	++	++	++
	12	++	++	++	++	++	++
pH	9	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	10	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	11	5	5	5	5	5	5
	12	5	5	5	5	5	5
ชนิดของอิมัลชัน	9	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	10	—*	—*	—*	—*	—*	—*
	11	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w
	12	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w

ตารางที่ 11 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับยาพื้น emulsifying wax 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน

การประเมิน	วันที่	ตำรับ 13	ตำรับ 14	ตำรับ15	ตำรับ 16
Cracking	0	√	√	√	√
	1	√	√	√	√
	3	√	√	√	√
	7	√	√	√	√
	14	√	√	√	√
	21	√	√	√	√
	28	√	√	√	√
	60	√	√	√	√
%creaming	0	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	1	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	3	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	7	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	14	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	21	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	28	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	60	94.13%	95.62%	97.43%	97.81%
สี	0	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	1	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	3	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	7	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	14	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	21	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	28	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	60	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
การติดเชื้อ	0	√	√	√	√
	1	√	√	√	√
	3	√	√	√	√
	7	√	√	√	√
	14	√	√	√	√
	21	√	√	√	√

การประเมิน	วันที่	ตำรับ 13	ตำรับ 14	ตำรับ15	ตำรับ 16
	28	√	√	√	√
	60	√	√	√	√
ชนิดของอิฐมวลขึ้น	0	o/w	o/w	o/w	o/w
	1	o/w	o/w	o/w	o/w
	3	o/w	o/w	o/w	o/w
	7	o/w	o/w	o/w	o/w
	14	o/w	o/w	o/w	o/w
	21	o/w	o/w	o/w	o/w
	28	o/w	o/w	o/w	o/w
	60	o/w	o/w	o/w	o/w
pH	0	5	5	5	5
	1	5	5	5	5
	3	5	5	5	5
	7	5	5	5	5
	14	5	5	5	5
	21	5	5	5	5
	28	5	5	5	5
	60	5	5	5	5
ความหนืดปรากฏ	0	++	++	++	+++
	1	++	++	+++	+++
	3	++	++	+++	+++
	7	++	++	+++	+++
	14	++	++	+++	+++
	21	++	++	+++	+++
	28	++	++	+++	+++
	60	++	++	+++	+++

หมายเหตุ : -* ตำรับเกิด cracking ไม่สามารถประเมินได้

ประเมินความหนืดปรากฏ +

หนืดน้อยที่สุด

++

หนืดน้อย

+++

หนืดปานกลาง

++++

หนืดมาก

+++++

หนืดมากที่สุด

ตารางที่ 12 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับยาพื้น emulsifying wax 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% ในสภาวะ temperature cycling 6 รอบ

การประเมิน	ตำรับ	cycle 1	cycle 2	cycle 3	cycle 4	cycle 5	cycle 6
Cracking	13	√	√	√	√	√	√
	14	√	√	√	√	√	√
	15	√	√	√	√	√	√
	16	√	√	√	√	√	√
%creaming	13	100.00%	95.21%	92.37%	82.38%	80.31%	75.63%
	14	100.00%	96.48%	95.53%	84.64%	82.14%	78.32%
	15	100.00%	100.00%	92.62%	86.53%	84.74%	80.92%
	16	100.00%	100.00%	93.14%	84.79%	83.62%	80.44%
ฉง	13	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	14	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	15	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
	16	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล	สีขาวนวล
การติดเชื้อ	13	√	√	√	√	√	√
	14	√	√	√	√	√	√
	15	√	√	√	√	√	√
	16	√	√	√	√	√	√
การประเมิน	ตำรับ	cycle 1	cycle 2	cycle 3	cycle 4	cycle 5	cycle 6
ความหนืดปรากฏ	13	++	+	+	+	+	+
	14	++	+	+	+	+	+
	15	+++	+++	+++	+++	++	++
	16	+++	+++	+++	+++	++	++
pH	13	5	5	5	5	5	5
	14	5	5	5	5	5	5
	15	5	5	5	5	5	5
	16	5	5	5	5	5	5
ชนิดของอิมัลชัน	13	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w
	14	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w
	15	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w
	16	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w	o/w

ตารางที่ 13 ผลประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์

ระดับความพึงพอใจ (n = 30)	ตำรับ 5	ตำรับ 6	ตำรับ 7	ตำรับ 8	ตำรับ 13	ตำรับ 14	ตำรับ 15	ตำรับ 16
สี	5	4.8	4.63	4.73	5	4.9	4.96	5
ความหนืด	4.67	3.63	3.23	4.33	4.2	4.5	3.63	4.46
ความเหนอะหนะ	4.9	4.8	4.9	3.63	3.67	4.96	4.1	3.63
การกระจายตัว	4.8	4.67	4.46	4.63	4.96	4.8	4.67	4.46
การเกิดคราบขาว	4.9	4.63	4.67	4.33	4.8	4.96	3.3	3.16
ความมัน	4.9	4.67	4.46	4.63	4.9	4.8	4.46	4.4
ความพึงพอใจ โดยรวม	4.96	4.46	4.73	4.8	4.9	4.96	4.9	4.67

หมายเหตุ : ระดับความพึงพอใจ

ระดับคะแนน 5	หมายถึง	พึงพอใจมากที่สุด
ระดับคะแนน 4	หมายถึง	พึงพอใจมาก
ระดับคะแนน 3	หมายถึง	พึงพอใจปานกลาง
ระดับคะแนน 2	หมายถึง	พึงพอใจน้อย
ระดับคะแนน 1	หมายถึง	พึงพอใจน้อยที่สุด

ตารางที่ 14 ผลการทดสอบความระคายเคืองโดยวิธี closed patch test ในอาสาสมัครจำนวน 30 คน

อาสาสมัคร	ตำรับที่ 5	ตำรับที่ 14	Purified water)Negative control(	20 % SLS)Positive control(
1	✓	✓	✓	✓
2	✓	✓	✓	×
3	✓	✓	✓	✓
4	✓	✓	✓	✓
5	✓	✓	✓	✓
6	✓	✓	✓	✓
7	✓	✓	✓	✓
8	✓	✓	✓	✓
9	✓	✓	✓	✓
10	✓	✓	✓	✓
11	✓	✓	✓	✓
12	✓	✓	✓	✓
13	✓	✓	✓	×

14	✓	✓	✓	✓
15	✓	✓	✓	✓
16	✓	✓	✓	✓
17	✓	✓	✓	✓
18	✓	✓	✓	✓
19	✓	✓	✓	✓
20	✓	✓	✓	✓
อาสาสมัคร	ตำรับที่ 5	ตำรับที่ 14	Purified water)Negative control(	20 % SLS)Positive control(
21	✓	✓	✓	✓
22	✓	✓	✓	✓
23	✓	✓	✓	✓
24	✓	✓	✓	✓
25	✓	✓	✓	✓
26	✓	✓	✓	✓
27	✓	✓	✓	✓
28	✓	✓	✓	✓
29	✓	✓	✓	✓
30	✓	✓	✓	✓

หมายเหตุ ✓ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารก่ออิมัลชัน ที่มีต่อลักษณะทางกายภาพ และความคงตัวของครีมของน้ำมันกระเบา

จากการทดลองโดยใช้ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 เป็นสารก่ออิมัลชันในน้ำมันกระเบา โดยศึกษาความเข้มข้น 5% 7% 9% และ 11% พบว่าตำรับ ซึ่งใช้สารก่ออิมัลชัน 9% มีความคงตัวดีทางกายภาพในสภาวะเร่ง และยังคงรักษาสภาพการเป็นอิมัลชันที่มีลักษณะ ทางกายภาพดี โดยที่ความเป็นกรด – ด่างของตำรับไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่และคงดีเมื่อทดสอบที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบนอกจากนั้นยังมีความหนืดและการกระจายตัวที่เหมาะสมและมีความพึงพอใจสูงสุด จึงนำไปพัฒนาตำรับโดยใช้ emulsifying wax ต่อไป

2. การศึกษาความเข้มข้นของ emulsifying wax โดยใช้สารก่ออิมัลชัน Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 สัดส่วน 3:1 ใช้ความเข้มข้น 9 % ของน้ำมันกระเบา

จากการทดลองโดยใช้สารเพิ่มความแข็ง Emulsifying wax ที่ความเข้มข้น 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% พบว่าตำรับที่ 35 ซึ่งใช้ emulsifying wax 0.5% มีความคงตัวดีทางกายภาพในสภาวะเร่ง และยังคงรักษาสภาพการเป็นอิมัลชันที่มีลักษณะ ทางกายภาพดี โดยที่ความเป็นกรด – ด่างของตำรับไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่และคงดีเมื่อทดสอบที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบนอกจากนั้นยังมีความหนืดและการกระจายตัวที่เหมาะสมและมีความพึงพอใจสูงสุดจึงนำไปศึกษาในอาสาสมัครต่อไป

3. การศึกษาความเข้มข้นของ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับยาพื้น

จากการทดลองโดยใช้ Cremophor® A6 และ Cremophor® A25 เป็นสารก่ออิมัลชันในน้ำมัน กระเบา โดยศึกษาความเข้มข้น 5% 7% 9% และ 11% พบว่าตำรับ ซึ่งใช้สารก่ออิมัลชัน 9% และ 11% ตามลำดับมีความคงตัวดีทางกายภาพในสภาวะเร่ง และยังคงรักษาสภาพการเป็นอิมัลชันที่มีลักษณะ ทางกายภาพดี โดยที่ความเป็นกรด – ด่างของตำรับไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่และคงดีเมื่อทดสอบที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบเมื่อนำมาประเมินความพึงพอใจพบว่าตำรับที่ใช้สารก่ออิมัลชัน 9% มีผลประเมินความพึงพอใจที่ดีกว่า และมีเนื้อสัมผัสที่ใกล้เคียงกับตำรับน้ำมัน กระเบา จึงนำไปพัฒนาตำรับโดยใช้ emulsifying wax ต่อไป

4. การศึกษาความเข้มข้นของ Emulsifying wax ที่เหมาะสมในการตั้งตำรับยาพื้น

จากการทดลองโดยใช้สารเพิ่มความแข็ง Emulsifying wax ที่ความเข้มข้น 0.5%, 1%, 1.5% และ 2% พบว่าตำรับ ซึ่งใช้ emulsifying wax 1% มีความคงตัวดีทางกายภาพในสภาวะเร่ง และยังคงรักษาสภาพการเป็นอิมัลชันที่มีลักษณะ ทางกายภาพดี โดยที่ความเป็นกรด – ด่างของตำรับไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่และคงดีเมื่อทดสอบที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ซึ่งทำทั้งหมด 6 รอบเมื่อนำมาประเมินความพึงพอใจพบว่าตำรับที่ความเข้มข้น 1% มีผลประเมินความพึงพอใจที่ดีกว่า และมีเนื้อสัมผัสที่ใกล้เคียงกับตำรับน้ำมัน กระเบา จึงนำไปศึกษาในอาสาสมัครต่อไป

5. การประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัคร 30 คน

นำตำรับน้ำมันกระเบาที่ 567 และ 8 และ ตำรับยาพื้นตำรับที่ 131415 และ 16 มา ประเมินความพึงพอใจ โดยประเมิน สี ความหนืด ความเหนอะหนะ การกระจายตัวการเกิดคราบขาว ความมัน และความพึงพอใจโดยรวมพบว่าตำรับน้ำมันกระเบาที่ 5 และ ตำรับยาพื้นที่ 14 มีความพึงพอใจโดยรวมสูงสุด

6. การทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง (Irritation test) ในอาสาสมัครปกติจำนวน 30 คน

มีอาสาสมัครผิวหนังปกติเข้าทำการทดสอบการระคายเคืองที่ผิวหนังจำนวน 30 คนทดสอบแบบ closed patch test โดยติดแผ่นทดสอบ 4 ชนิดคือ A จะเป็นครีมยาพื้น B จะเป็นครีมน้ำมันกระเบา C จะเป็น Purified water (Negative control) D จะเป็น 20% SLS (Positive control) หลังจากติดแผ่นทดสอบการระคายเคืองเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าอาสาสมัครทั้ง 30 คนที่ใช้ครีมยาพื้นครีมน้ำมันกระเบา

ไม่เกิดอาการระคายเคืองส่วนPurified water (Negative control) อาสาสมัครทั้ง30คนก็ไม่เกิดการระคายเคืองและ 20% SLS (Positive control) มีอาสาสมัคร 2 คนที่เกิดผื่นหนังแดงเล็กน้อย

เอกสารอ้างอิง

1. Jacobsen PL, Levy L. Mechanism. Mechanism by which Hydnocarpic acid inhibits Mycobacterial multiplication. Antimicrob agent chemother 1973 Mar;3(3):373-9.
2. Raina R, Prawez S, Verma PK, Pankaj NK. Medical plants and their role in wound healing. Vet Scan 2008;3(1).
3. Oommen ST, Rao M, Raju CV. Effect of oil of hydnocarpus on wound healing. Int J Lepr Other Mycobact Dis 1999 Jun;67(2):154-8.
4. Sharma DK, Hall IH. Hypolipidemic and anti-inflammatory and antineoplastic activity and cytotoxicity of flavonolignans isolated from Hydnocarpus Wightiana seeds. J Nat Pro 1991 Sep-Oct;54(5):1298-302.
5. Reddy SV, Tiwari AK, Kumar US, Rao RJ, Rao JM. Free radical scavenging, enzyme inhibitory constituents from antidiabetic ayurvedic medicinal plant Hydnocarpus blumei. Phytother Res 2005 Apr;19(4):277-81.
6. Shi HM, Wen J, Jia CQ, Jin W, Zhang XF, Yao ZR et al. Two new phenolic glycosides from the barks of Hydnocarpus annamensis and their anti-inflammatory and anti-oxidation activities. Planta Med 2006 Aug;72(10):948-50.
7. D.K.SHARMA. Hypolipidemic , Anti-inflammatory, and antineoplastic activity and cytotoxicity of flavonolignans isolated from hydnocarpus wightiana seeds. Journal of Natural Products .2009 : Vol.54 , NO 5.1298-1302.
8. Manosroi, A. et al. In vitro anti-aging activities of *Terminalia chebula* gall extract. Pharmaceutical Biology, 48(2010) 469-481.
9. Aslam, M.N., Lansky, E.P., Varani, J. Pomegranate as a cosmeceutical source: Pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. Journal of Ethnopharmacology, 103 (2006)311-318.
10. Fujii, T., et al. Amla (*Emblica officinalis* Gaertn.) extract promotes procollagen production and inhibits matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts. Journal of Ethnopharmacology, 119 (2008) 53-57.
11. Kim, Y.H., et al. Anti-Wrinkle activity of Ziyuglycoside I isolated from a *Sanguisorba officinalis* root extract and its application as a cosmeceutical ingredient. Biosci. Biotechnol. Biochem., 72(2), (2008) 303-311.

12. Okonogi, S., Duangrat, C., Anuchpreeda, S., Tachakittirungrod, S., Chowwanapoonpohn, S. 2007. Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chemistry*. 103: 839–846.
13. Tengamnuay, P. Pengrungruangwong, K., Pheansri, I., and Likhitwitayawuid, K. 2006. *Artocarpus lakoocha* heartwood extract as a novel cosmetic ingredient: evaluation of the *in vitro* anti-tyrosinase and *in vivo* skin brightening activities. *Int. J. Cosm. Sci.* 28: 269 – 276.