นิพนธ์ต้นฉบับ Original Article

การพัฒนาสูตรตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพผสมสารสกัดบัวบก

The development of physical sunscreen formulation containing Centella asiatica extract

รัชนี วัฒนเรืองรอง
สถาบันราชประชาสมาสัย
กรมควบคุมโรค

Rachanee Watanaruangrong
Raj Pracha Samasai Institute,
Department of Disease Control

DOI: 10.14456/dcj.2021.91
Received: February 3, 2020 | **Revised**: May 10, 2021 | **Accepted**: May 17, 2021

บทคัดย่อ

รังสี UV (Ultraviolet) เป็นสาเหตุของการเกิดผิวไหม้ ริ้วรอย และอาจเป็นสาเหตุของมะเร็งผิวหนัง ครีมกันแดดช่วยป้องกันอันตรายจากรังสี UV ได้ สารกันแดดแบบเคมีสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ ส่วนสารกันแดดแบบกายภาพกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาภูมิได้แพ้น้อยกว่า สารสกัดจากพืชเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการนำมาเป็นส่วนประกอบของครีมกันแดด แบบกายภาพ บัวบกเป็นพืชล้มลุกจัดอยู่ในวงศ์ Apiaceae มีสาร Madecassoside เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญที่สกัดได้จากใบบัวบก มีฤทธิ์ลดการอักเสบ และกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน วัตถุประสงค์ของการศึกษาเชิงทดลองในครั้งนี้ เพื่อพัฒนาสูตรตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพชนิด Water in Oil (w/o) emulsion ที่มี Madecassoside เข้มข้น 1% w/w เป็นส่วนประกอบสำคัญ โดยศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันรังสี UV และความคงสภาพด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ หลังจัดเก็บในสภาวะจริงที่ระยะเวลา 6 เดือน ผลการศึกษาพบว่า มีครีมกันแดดที่มีลักษณะเนื้อครีมดี 3 สูตรตำรับ มีประสิทธิภาพป้องกันแสงแดดในช่วงกว้าง (Broad Spectrum Sunscreen) โดยมีค่า Critical Wavelength เท่ากับ 372.8±0.27, 375.5±0.34 และ 377.5±0.46 ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพป้องกันรังสี UV-A ในระดับดี boots star rating=3 (good), UVA I/UV ratio=0.73 (high) และป้องกันรังสี UV-B ได้มากกว่าร้อยละ 93.3 (SPF>15) โดยมีค่า SPF (Sun Protection Factor) เท่ากับ 16.5 ±1.3, 23.4±1.1, 42.19±1.7 ตามลำดับ โดยสูตรตำรับที่ 1 มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) สูตรตำรับที่ 2 ก็มีค่า pH สูงกว่าช่วงที่จำกัดระหว่าง 4.0-6.5 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ Madecassoside ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อศึกษาความคงสภาพด้านเคมี พบว่า ปริมาณ Madecassoside ในสูตรตำรับที่ 1 เพิ่มขึ้น ส่วนสูตรตำรับที่ 2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ในขณะที่สูตรตำรับที่ 3 ไม่มีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ครีมกันแดดทั้ง 3 สูตรตำรับ มีความคงสภาพด้านชีวภาพจากการผ่านเกณฑ์ทดสอบเชื้อจุลชีพ สรุปได้ว่าครีมกันแดดแบบกายภาพที่ผสมสารสกัดจากใบบัวบกสูตรตำรับที่ 3 มีประสิทธิภาพในการป้องกันรังสี UV-A และ UV-B ได้ดี เนื้อครีมมีความคงสภาพทั้งด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ เมื่อจัดเก็บในสภาวะจริงนาน 6 เดือน สูตรตำรับนี้เหมาะสำหรับการนำไปใช้เป็นครีมกันแดดแบบกายภาพได้ต่อไป

ติดต่อผู้นิพนธ์ : รัชนี วัฒนเรืองรอง อีเมล : suanwatana@gmail.com

Abstract

Ultraviolet (UV) ray is a causative agent of sunburn, photoaging, and eventually skin cancer. Sunscreen was used for protection the harmful from a UV. Chemical sunscreen can stimulate an allergic reaction. Physical sunscreen was less stimulated an allergic reaction. Plant was interesting for apply to a component of physical sunscreen. Centella asiatica is a herbaceous, perennial plant in the flowering plant family Apiaceae. Madecassoside is an active ingredient form Centella asiatica extract, has an anti-redness and anti-scaling effect, reduced an effect on inflammation, and stimulated the production of collagen. The objective of this experimental research is to develop a water in oil emulsion physical sunscreen formula with 1% w/w Madecassoside. The UV protection efficiency and physical, chemical, biological stability were studied after storing in real conditions for 6 months. The study results showed three formulas with a good appearance., There were broad spectrum sunscreen protection, with critical wavelength 372.8±0.27, 375.5±0.34 and 377.5±0.46, respectively and have a good level UV-A protection with boots star rating 3 (good), UVA I / UV ratio 0.73 (high). An efficacy of UV-B protection was more than 93.3% (SPF>15). SPF were show 16.5±1.3, 23.4±1.1, 42.19±1.7, respectively. The first formula has a significant increased density (p<0.05), The second formula has a significant higher pH than the limited range between 4.0-6.5. The chemical stability of Madecassoside by HPLC revealed an increased stationarity in the first formula, a decreased constancy in the second formula (p<0.5), and did not significant different stability in the third formula (p>0.5). There shown a significant biological stability with microbe tested in all three formulas. In conclusion, the third formula physical sunscreen with Centella asiatica extract, is a good effective against UV-A and UV-B rays and an unchanged physical chemical and biological stability in a real-conditions for 6 months., This formula is an appropriate for applied in a physical sunscreen in the future.

Correspondence: Rachanee Watanaruangrong E-mail: suanwatana@gmail.com

คำสำคัญ
ครีมกันแดดแบบกายภาพ, บัวบก

Keywords
physical sunscreen, centella asiatica, madecassoside

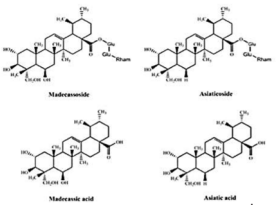
บทนำ

แสงแดดเป็นสิ่งแวดล้อมมีผลต่อสุขภาพที่สำคัญประการหนึ่งของประเทศไทย ซึ่งภูมิประเทศตั้งอยู่ในแนวเขตเส้นศูนย์สูตร เนื่องจากที่มีรังสี Ultraviolet (UV) เป็นอันตรายต่อประชากรทุกช่วงอายุ กลุ่มที่เสี่ยงเป็นพิเศษ คือ เด็กเล็ก ผู้สูงอายุ นักท่องเที่ยว และคนทำงานกลางแจ้งติดต่อกันเป็นเวลานาน รังสี UV-B แทรกผ่านผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (epidermis) ก่อเกิดการเรียงตัวใหม่ของ DNA กระตุ้นเซลล์เคอราติโนไซต์ (keratinocyte) ให้หลั่งไซโตไคน์ (cytokine) ทำให้เกิดอักเสบไหม้ร้อนแดง (sunburn) สูญเสียความชุ่มชื้น กระตุ้นเซลล์เมลาโนไซต์ (melanocyte) ให้สร้างเม็ดสีเมลานิน ผิวจึงหมองคล้ำ เกิดฝ้า กระ และในระยะเวลานานอาจทำให้เกิดมะเร็งผิวหนัง ในขณะที่รังสี UV-A แทรกผ่านลึกเข้าสู่ชั้นหนังแท้ (dermis) กระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระเข้าทำลายความยืดหยุ่นของเซลล์ ส่งผลต่อคอลลาเจนใต้ผิวหนัง เกิดริ้วรอยความชราของผิวก่อนวัย ผิวคล้ำเข้ม ขาดความสดใส แพ้แสงแดด และอาจเป็น

สาเหตุของมะเร็งผิวหนังได้เช่นกัน[1] และจากการจัดประเภทของผิวหนังไว้ 6 กลุ่ม[2] ตามระดับสีผิว ความไวในการเกิดผิวไหม้แดด (sunburn) ผิวสีแทน (tanning) และมะเร็งผิวหนัง (skin cancer) สามารถใช้เป็นแนวทางวิเคราะห์ความเสี่ยงการเกิดมะเร็งผิวหนัง และเลือกใช้สารป้องกันแสงแดดที่เหมาะสมได้

สารป้องกันแสงแดด แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 สารป้องกันแสงแดดแบบกายภาพ (physical sunscreens) ดูดซับและสะท้อนแสงโดยไม่ดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง แต่ต้องใช้ในปริมาณมากเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงในการป้องกัน UV ทำให้ผิวดูขาววอกเมื่อทา กลุ่มที่ 2 สารป้องกันแสงแดดแบบเคมี (chemical sunscreens) ดูดซับแสงให้มีความเข้มข้นน้อยลงก่อนผ่านสู่ผิวหนัง มีประสิทธิภาพสูงแม้ทาในปริมาณน้อย ไม่ขาววอกเมื่อทา แต่ดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง จึงอาจก่อปฏิกิริยาภูมิแพ้ได้โดยเฉพาะผู้ที่มีผิวที่แพ้ง่ายหรือเป็นผื่น eczema โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดมักใช้ส่วนผสมสารกันแสงแดดทั้งชนิดกายภาพและเคมี (hybrid sunscreens) เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงทาแต่ทาแล้วไม่ขาววอก ซึ่งเป็นข้อจำกัดการเลือกใช้ของผู้ที่ต้องการหลีกเลี่ยงปฏิกิริยาภูมิแพ้ในด้านคุณภาพนั้นหากสามารถเพิ่มส่วนประกอบที่มีประสิทธิภาพเยียวยาผิวที่ถูกทำลายเข้าด้วยกันในสูตรตำรับได้ ย่อมทำให้มีคุณค่าต่อการเลือกใช้ยิ่งขึ้น ซึ่งบัวบก Centella asiatica (Linn.) Urban เป็นพืชสมุนไพรที่บรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ[3] มีสารสำคัญทางเภสัชวิทยากลุ่ม centelloids ที่ช่วยสมานเยียวยาผิวอยู่หลายชนิด[4-5] โดยเฉพาะ Madecassoside ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา[6-7] ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[8-9] ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ลดการอักเสบ ช่วยเร่งการสมานแผล ลดรอยดำแดงที่เกิดจากโรคผิวหนังต่างๆ เช่น สิว สะเก็ดเงิน หรือเรื้อน[10-13] และฤทธิ์กระตุ้นการสร้างคอลลาเจน Type I และ Type III[14-18] มีการใช้บัวบกแพร่หลายในทางคลินิก[19-20] ในปี ค.ศ. 2010 มีการศึกษาประสิทธิผลทางคลินิกของสารสกัดบัวบก ในรูปแบบรับประทานเพื่อสมานแผลเบาหวาน ในอาสาสมัคร 200 ราย พบว่า สารสกัดบัวบกลดการเจริญเติบโตมากเกินของเนื้อเยื่อ ส่งผลให้เกิดคีลอยด์น้อยกว่าและ ไม่พบผลข้างเคียงที่รุนแรง[21] ในปี ค.ศ. 2017 มีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของยาขี้ผึ้งที่มีสารสกัดบัวบก 3% กับครีม silver sulfadiazine 1% ในผู้ป่วย partial-thickness urn wound 75 ราย พบว่ายาขี้ผึ้งบัวบกมีประสิทธิผลการสมานแผลดีกว่ายาครีม silver sulfadiazine โดยไม่พบผลข้างเคียงที่รุนแรง[22]

บัวบก (Centella asiatica (L.)Urb)
พืชสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ[3]



โครงสร้างทางเคมีของ Centelloids 4 ชนิด ที่พบมากที่สุดในบัวบก

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับครีมกันแดดที่มีเฉพาะสารป้องกันแสงแดดแบบกายภาพเพื่อไม่กระตุ้นปฏิกิริยาภูมิแพ้ มีประสิทธิภาพป้องกันรังสี UV ได้เพียงพอแต่ทาแล้วไม่ขาววอก รวมถึงมีสารสกัดบัวบก Madecassoside 1% w/w ช่วยเยียวยาผิวที่ถูกทำลายเป็นส่วนประกอบสำคัญ

วัสดุและวิธีการศึกษา

การศึกษาแบบ experimental research ในครั้งนี้ได้ทำการพัฒนาสูตรตำรับครีมกันแดดให้ได้ผลิตภัณฑ์ Water in Oil (w/o) emulsion และคัดเลือกสูตรตำรับที่มีเนื้อครีมลักษณะดี 3 ตำรับ นำมาผลิตตำรับละ 2 รุ่นการผลิต ปริมาณรุ่นละ 1,500 กรัม บรรจุ 50 กรัม ในภาชนะบรรจุชนิดเดียวกัน สุ่มชักตัวอย่างส่งวิเคราะห์รุ่นละ 3 ชิ้น ใช้เภสัชเคมีภัณฑ์ดังนี้ Madecassoside, Titanium Dioxide 15 nm, Zinc Oxide 35 nm, Cyclopentasiloxane, Ethylhexylglycerin, Iron Oxides, Methyl Methacrylate Cross polymer, Silica, Dimethicone, Sodium Hyaluronate, Pisum Sativum Extract, Magnesium Sulfate, Citric Acid, Pentaerythrityl Distearate, dl-alpha tocopherol, Rosa Damascena Flower Water, Sterile water

การประเมินประสิทธิภาพของตำรับครีมกันแดด

ทำการประเมินประสิทธิภาพในการป้องกันรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 290-400 nm โดยวิธีทางห้องปฏิบัติการ (SPF in vitro) ด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ SPF sunscreen analyzer (Solar Light SPF-290AS analyzer) โดยไม่ต้องใช้อาสาสมัครในส่วนที่ต้องสัมผัสกับรังสี UV โดยปราศจากการป้องกันเพื่อเป็นการเปรียบเทียบ[23] ทำการประเมินประสิทธิภาพในการป้องกันรังสี UV ดังนี้

1. การป้องกันรังสีช่วงกว้างครอบคลุม UV-A และ UV-B (broad spectrum) ด้วยค่าความยาวคลื่นที่มีพื้นที่ใต้กราฟดูดซับแสงเป็น 90% ของทั้งหมด (Critical Wavelength: CW) ซึ่ง US FDA กำหนดค่า CW≥370 nm ถือเป็น Boots Star Rating System สามารถป้องกันผลเสียต่อผิวหนังได้มากที่สุด

2. การป้องกันรังสี UV-A เนื่องจากยังไม่มีมาตรวัดที่เป็นสากล สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ใช้การประเมินที่มีใช้ในประเทศไทย คือ Boots Star Rating System และค่า UVA I/UV ratio (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ป้องกันรังสี UV-A

การประเมิน	ค่าแสดง	UV-A/UV-B ratio	ประสิทธิภาพในการป้องกันรังสี UVA
Boots Star Rating System	★	20-40	Minimum
	★★	41-60	Modurate
	★★★	61-80	Good
	★★★★	81-90	Superior
	★★★★★	91-100	Ultra
UVA I/UV Ratio	0.20-0.39		Low
	0.40-0.69		Medium
	0.70-0.95		High
	>0.95		Highest

3. การประเมินประสิทธิภาพในการป้องกันรังสี UV-B ใช้ค่า Sun Protection Factor (SPF) คำนวณจากอัตราส่วนระหว่างปริมาณรังสีที่น้อยที่สุดที่ทำให้ผิวหนังเกิดอาการร้อนแดง (Minimal Erythemal Dose: MED) ระหว่างผิวที่ทาผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด (protected skin) เทียบกับผิวที่ไม่ได้ป้องกันแสงแดด (unprotected skin) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การประเมินระดับการป้องกันรังสี UV-B ตามค่า SPF

ค่า SPF	ร้อยละการป้องกันรังสี UV-B	ค่า SPF	ร้อยละการป้องกันรังสี UV-B
2	50.0	20	50.0
4	75.0	30	75.0
8	87.5	45	87.5
15	93.3	50	93.3
20	95.0	50+	95.0

การประเมินความคงสภาพของตำรับ (Stability test)

ทำการประเมินความคงสภาพของตำรับครีมกันแดดที่มีส่วนผสมสารสกัดบัวบกที่พัฒนาขึ้น 3 ตำรับ โดยศึกษาในแบบสภาวะการเก็บรักษาจริงจนถึงวันหมดอายุการใช้งาน (shelf test) ทำการประเมินตัวอย่างครีมกันแดดจำนวน 2 รุ่นการผลิตในแต่ละตำรับ ปริมาณรุ่นละ 1,500 กรัม บรรจุภาชนะชนิดเดียวกัน ขนาด 50 กรัม โดยสุ่มชักตัวอย่าง 3 ชิ้นต่อรุ่นการผลิต

ทำการประเมินเมื่อผลิตเสร็จ และเมื่อจัดเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะการเก็บรักษาจริงที่อุณหภูมิห้องปกตินาน 6 เดือน โดยศึกษาความคงสภาพใน 3 ด้าน ดังนี้

1. ความคงสภาพด้านกายภาพ ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ คือ สี กลิ่น ลักษณะเนื้อครีม ความหนาแน่น และความเป็นกรด-ด่าง

2. ความคงสภาพด้านเคมี ศึกษาด้วยการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ Madecassoside ในตำรับที่พัฒนาขึ้น ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ใช้คอลัมน์ Phenomenex C18, 250x4.60 mm, 5 microns, serial no.228396-9, Mobile phase (HPLC grade): Gradient, Acetonitrile: H2O, ด้วยปริมาตรและอัตราการไหลคงที่ : 5 µL, 0.65 ml/min, อุณหภูมิ 35°C, Detector and wave number: D2 (UV), 205 nm โดยใช้ตัวอย่างปริมาณ 10 ไมโครลิตร ณ ห้องปฏิบัติการ Astra Solutions Co., Ltd. Thai-French Innovation Institute (8^{th} Fl.), King Mongkut's University of Technology North Bangkok และปริมาณ Madecassoside ต้องผ่านมาตรฐานที่ 85.00-118.00% Labeled amount ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 14) พ.ศ. 2536 เรื่อง กำหนดเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนของสารสำคัญในเครื่องสำอาง

3. ความคงสภาพด้านชีวภาพ ศึกษาความสามารถต้านทานการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพของตำรับ โดยส่งตรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์ตามวิธีมาตรฐาน มอก. 152-2555 หาเชื้อก่อโรค 4 ชนิด และจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) โดยห้องปฏิบัติการที่ได้มาตรฐาน ISO (International Organization for Standardization) การผ่านเกณฑ์มาตรฐานต้องไม่พบเชื้อก่อโรค 4 ชนิด และมี Total aerobic plate count ไม่เกิน 1,000 โคโลนีต่อกรัม (cfu/g)

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ใช้สถิติเชิงพรรณนาอธิบายลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ คุณภาพทางจุลินทรีย์ และใช้สถิติ paired t-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาแน่น ค่าเฉลี่ย pH ค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดบัวบก Madecassoside กำหนดให้งานวิจัยมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อค่า p-value<0.05 และคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย สถาบันราชประชาสมาสัย มีข้อพิจารณาเมื่อวันที่ 14 ธันวาคม 2563 เห็นว่า การวิจัยนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษา

การพัฒนาสูตรตำรับครีมกันแดดในครั้งนี้ เลือกใช้เฉพาะสารป้องกันแสงแดดแบบกายภาพ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารทึบแสง ป้องกันแสงแดดได้ทันที ทั้ง Visible light, UV-A และ UV-B เช่น Titanium Dioxide (TiO_2), Zinc Oxide (ZnO) เป็นต้น สารเหล่านี้มีอนุภาคขนาดใหญ่ ดูดซึมได้น้อย ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนัง แต่เมื่อทาแล้วขาววอกไม่เป็นธรรมชาติ จึงเลือกใช้ชนิดที่มีอนุภาคขนาดเล็ก ซึ่งมีความทึบแสงน้อยลง แต่ดูดซับแสงได้เช่นเดิม และยังคงไม่ดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง และจากข้อจำกัดค่า pH ที่ไม่ระคายเคืองผิวหนัง และให้ความคงตัวของส่วนประกอบจึงกำหนดค่า pH ของตำรับให้อยู่ระหว่าง 4.00-6.50 ได้สูตรตำรับครีมกันแดดชนิด Water-in-Oil (w/o) emulsion ที่ส่วนประกอบผสมเข้ากันได้เป็นเนื้อเดียวกัน จำนวน 3 ตำรับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 Master formula ตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพผสมสารสกัดบัวบกที่ได้พัฒนาขึ้น

ลำดับ	ส่วนประกอบ	ข้อจำกัด pH	ตำรับที่ 1	ตำรับที่ 2	ตำรับที่ 3
1	Madecassoside (Centella Asiatica Extract)	4.00-6.50	1	1	1
2	Titanium Dioxide 15 nm	-	10	10	25
3	Zinc Oxide 35 nm	-	10	10	15
4	Methyl Methacrylate Cross Polymer	-	-	3	4
5	Cyclopentasiloxane (Low-Odor Cyclomethicone)	-	15	15	17
6	Ethylhexylglycerin	4.00-9.00	1	1	1
7	Iron Oxides	-	1	0.5	1
8	Citric acid	-	-	-	0.1
9	Silica	-	2	2	-
10	Dimethicone	-	-	-	3
11	Magnesium sulfate	-	1	1	1
12	4D Hyaluronic Acid	3.00-9.00	-	10	15
13	Avocado Oil (Refined)		-	3	1
14	Pisum Sativum Extract	3.00-7.00	-	5	5
15	dl-alpha tocopherol	-	-	-	0.1
16	Rose Water	-	-	-	32.25
17	Sterile Water add to 100 g	-	56	45.5	-

ประสิทธิภาพของตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพผสมสารสกัดบัวบก

จากการตรวจวัดการดูดกลืนรังสีด้วยเครื่อง SPF sunscreen analyzer ที่ให้ความยาวคลื่นของรังสี UV 290-400 นาโนเมตร ในครีมกันแดดสูตรตำรับที่ 1 ตำรับที่ 2 และตำรับที่ 3 พบว่า มีค่า Critical Wavelength (CW) เป็น 372.8±0.27, 375.5±0.34 และ 377.5±0.46 ตามลำดับ ป้องกันรังสี UV-A ในระดับดี ค่า Boots Star Rating ★★★ ป้องกันรังสี UV-B ด้วยค่า SPF เท่ากับ 16.5 (±1.3), 23.4 (±1.1) และ 42.19 (±1.7) ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการวัดประสิทธิภาพในการป้องกันรังสี UV ของตำรับครีมกันแดด

ประสิทธิภาพในการป้องกัน	Requirement	ตำรับที่ 1	ตำรับที่ 2	ตำรับที่ 3
Critical Wavelength	>370 (broad spectrum)	372.8±0.27	375.5±0.34	377.5±0.46
UV-A: UV-A/UV-B ratio		69.10±0.05	69.34±0.12	69.71±0.08
= Boots Star Rating (1-5)		★★★	★★★	★★★
: UVA I/UV Ratio		0.73 High	0.73 High	0.75 High
UV-B: SPF		16.5 (±1.3)	23.4 (±1.1)	42.19 (±1.7)

ความคงสภาพของตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพผสมสารสกัดบัวบก

ความคงสภาพด้านกายภาพ ลักษณะทางกายภาพ ความหนาแน่นของครีมกันแดด 3 สูตรตำรับหลังการผลิตเสร็จและเมื่อจัดเก็บตามสภาวะจริงที่อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C) นาน 6 เดือน แสดงข้อมูลในตารางที่ 5 และตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ลักษณะทางกายภาพของตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพผสมสารสกัดบัวบก

ลักษณะทางกายภาพ	Requirement	ระยะเวลาจัดเก็บ ณ อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C)					
		ตำรับที่ 1		ตำรับที่ 1		ตำรับที่ 1	
		0 เดือน	6 เดือน	0 เดือน	6 เดือน	0 เดือน	6 เดือน
สี	Beige	Beige	Beige	Beige	Beige	Beige	Beige
กลิ่น	กลิ่นครีมเบส-หอม	กลิ่นครีมเบส	กลิ่นครีมเบส	กลิ่นครีมเบส	กลิ่นหืน	กลิ่นกุหลาบ	กลิ่นกุหลาบ
เนื้อครีม	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
	ความข้น	1	2	1	1	3	3
	1 (เหลว)-4 (ข้น)	(เหลว)	(ข้น, เกลี่ยยาก)	(เหลว)	(เหลว)	(ข้น, เกลี่ยง่าย)	(ข้น, เกลี่ยง่าย)
	ความชุ่มชื่น	1	1	2	2	3	3
	1 (แห้ง)-4 (มันวาว)	(แห้งมาก)	(แห้งมาก)	(แห้ง)	(แห้ง)	(ชุ่มชื่น)	(ชุ่มชื่น)
	ความขาววอก	0	0	0	0	0	0
	1 (ใช่) / 0 (ไม่ขาววอก)	(ไม่ขาววอก)	(ไม่ขาววอก)	(ไม่ขาววอก)	(ไม่ขาววอก)	(ไม่ขาววอก)	(ไม่ขาววอก)

ตารางที่ 6 ค่าความหนาแน่น (density) ของตำรับครีมกันแดดผสมสารสกัดบัวบก Madecassoside

ค่าความหนาแน่น Density (g/cm3)	ระยะเวลาจัดเก็บ ณ อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C)		t	*p*-value*
ตำรับที่	0 เดือน	6 เดือน		
1	0.76 (±0.00)	0.84 (±0.00)	-17.52	0.000
2	0.77 (±0.00)	0.77 (±0.00)	-1.58	0.175
3	0.78 (±0.00)	0.78 (±0.01)	2.24	0.076

*p-value<0.05

จากตารางที่ 6 จะเห็นว่าเมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C) นาน 6 เดือน ครีมกันแดดสูตรตำรับที่ 1 มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และจากการศึกษาค่า pH พบว่า ทั้ง 3 สูตรตำรับค่า pH ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) โดยสูตรตำรับที่ 2 มีค่า pH สูงกว่าช่วงที่จำกัด (ตารางที่ 7)

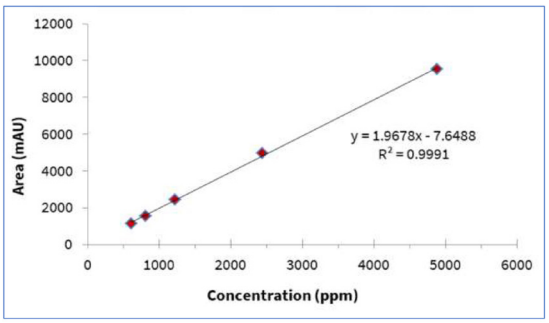
ตารางที่ 7 ค่า pH ของครีมกันแดดผสมสารสกัดบัวบก Madecassoside

ตำรับที่	pH Requirement	ระยะเวลาจัดเก็บ ณ อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C)		t	*p*-value*
		0 เดือน	6 เดือน		
1	4.00-6.50	6.29 (±0.00)	6.32 (±0.01)	-0.71	0.508
2	4.00-6.50	8.18 (±0.02)	8.22 (±0.08)	-0.14	0.895
3	4.00-6.50	5.81 (±0.02)	5.87 (±0.03)	-0.47	0.658

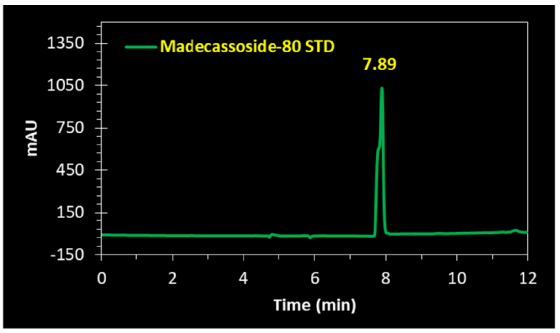
*p-value<0.05

ความคงสภาพด้านเคมี จากการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดบัวบก Madecassoside ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของตำรับครีมกันแดดในความเข้มข้น 1% w/w ในสูตรตำรับ ด้วยวิธีโครมาโตกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) พบว่า เมื่อทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยใช้สารมาตรฐาน Madecassoside-80 ที่ความเข้มข้น 600, 800, 1,200, 2,400 และ

5,000 ppm. โดยมี MeOH (HPLC grade) เป็นตัวทำละลาย เพื่อให้ได้ Calibration curve ได้คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) มีค่าเท่ากับ 0.9991 แสดงในภาพที่ 1 และ Chromatograms ของสารมาตรฐาน Madecassocide-80 แสดงในภาพที่ 2

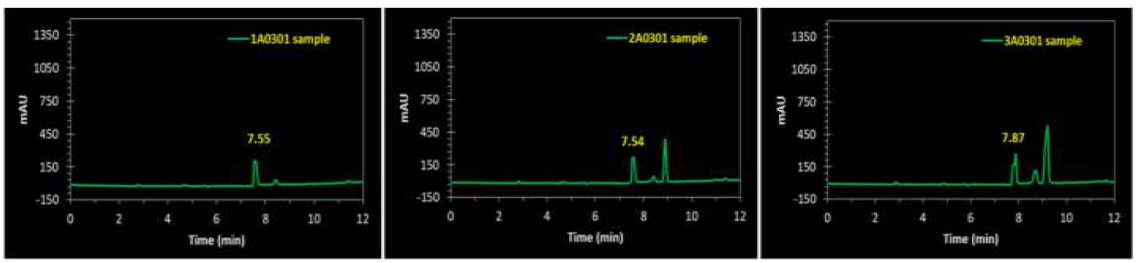


ภาพที่ 1 Calibration curve of Madecassocide-80



ภาพที่ 2 Elution chromatograms of Standard Solution 4,884 ppm Madecassocide

การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดบัวบก Madecassoside 1% w/w ในสูตรตำรับด้วยวิธี HPLC ของครีมกันแดดแบบกายภาพที่พัฒนาขึ้นทั้ง 3 ตำรับ แสดงตัวอย่าง chromatograms และแสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดบัวบก Madecassoside ค่าการคำนวณ % Labeled amount ในภาพที่ 3 และตารางที่ 8 ตามลำดับดังนี้



ภาพที่ 3 Elution chromatogram of Madecassocide-80 sample set 1, set 2, set 3

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยปริมาณ Madecassoside ในสูตรตำรับครีมกันแดดจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

ตำรับ	ปริมาณ Madecassoside	Requirement	ระยะเวลาจัดเก็บ ณ อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C)		t	*p*-value*
			0 เดือน	6 เดือน		
1	- ปริมาณ (g)	1.00	0.86 (±0.01)	1.40 (±0.00)	-33.83	0.000
	- % Labeled amount	85.00-118.00	85.50 (±8.30)	140.33 (±2.67)		
2	- ปริมาณ (g)	1.00	0.88 (±0.00)	0.82 (±0.00)	5.48	0.003
	- % Labeled amount	85.00-118.00	87.67 (±5.07)	81.67 (±10.67)		
3	- ปริมาณ (g)	1.00	0.97 (±0.01)	0.96 (±0.01)	1.941	0.110
	- % Labeled amount	85.00-118.00	97.00 (±0.80)	95.83 (±0.57)		

*p-value<0.05

เห็นได้ว่าเมื่อจัดเก็บครีมกันแดดในสภาวะจริงที่อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C) ระยะเวลา 6 เดือน สูตรตำรับที่ 3 เป็นตำรับเดียวที่มีปริมาณ Madecassoside ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

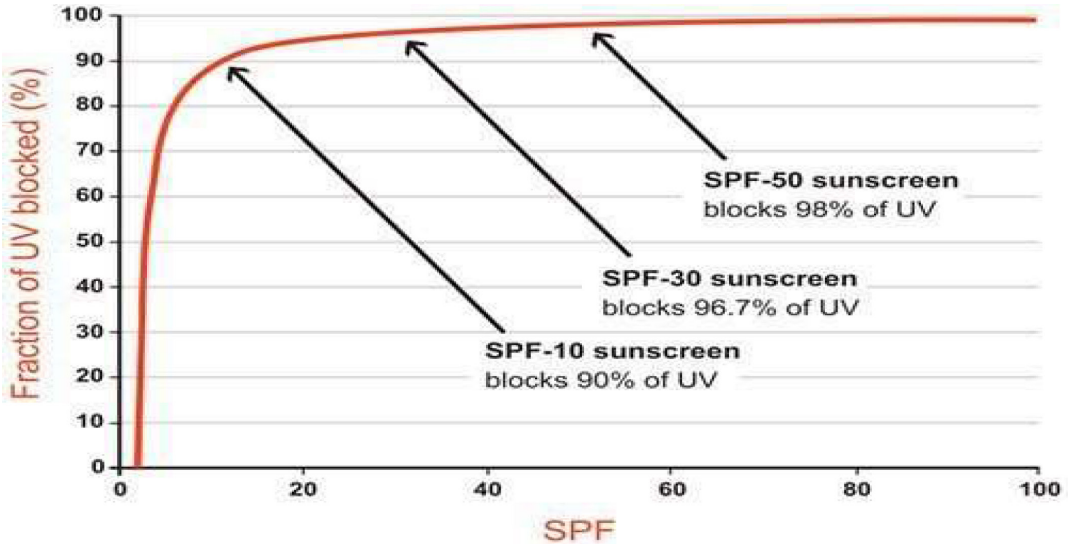
ความคงสภาพด้านชีวภาพ เมื่อตรวจเชื้อก่อโรค 4 ชนิด และจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) พบว่า ครีมกันแดดทุกรุ่นการผลิตผ่านเกณฑ์ความคงสภาพด้านชีวภาพ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลการศึกษาด้านชีวภาพ สูตรตำรับครีมกันแดดผสมสารสกัดบัวบก Madecassoside

การทดสอบด้านชีวภาพ (USP 43 Chapter 61, 62)	Requirement	รุ่นการผลิต	ระยะเวลาจัดเก็บ ณ อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C)					
			ตำรับที่ 1		ตำรับที่ 2		ตำรับที่ 3	
			0 เดือน	6 เดือน	0 เดือน	6 เดือน	0 เดือน	6 เดือน
Total Aerobic Bacteria Plate Count	≤1,000 CFU/g	A	<10	<10	<10	<10	<10	<10
		B	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Total Yeast & Mold Count		A	<10	<10	<10	<10	<10	<10
		B	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Staphylococcus aureus/1g	Absent	A	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
		B	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
Pseudomonas aeruginosa/1g	Absent	A	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
		B	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
Candida albicans/1g	Absent	A	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
		B	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
Clostridium spp./2g	Absent	A	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
		B	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent

วิจารณ์

การศึกษาในครั้งนี้เห็นได้ว่าสูตรตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพผสมสารสกัดบัวบก Madecassoside ที่พัฒนาขึ้น 3 ตำรับนั้น ให้เนื้อครีมชนิด Water-in-Oil (w/o) emulsion ที่เข้าเป็นเนื้อเดียวกันไม่แยกชั้นเมื่อ ตั้งทิ้งไว้ ประสิทธิภาพการป้องกันรังสี UV ของทั้ง 3 สูตรตำรับสามารถแสดงฉลากเป็น broad spectrum sunscreen เนื่องจากมีค่า critical wavelength>370 ตามข้อกำหนดของ US FDA มีประสิทธิภาพป้องกันรังสี UV-A ในระดับดี เมื่อประเมินด้วย UVA I/UV ratio และ Boots Star Rating System และมีประสิทธิภาพป้องกันรังสี UV-B ได้อย่างเพียงพอสำหรับแสงแดดในประเทศไทยคือป้องกันได้มากกว่าร้อยละ 93.3 (SPF>15) โดยสูตรตำรับที่ 3 มีค่า SPF สูงสุด คือ 42.19±1.7 และเมื่อพิจารณาข้อมูลระดับการปกป้องของสารกันแดดตามค่า SPF ในแผนภูมิที่ 1 จะเห็นว่าครีมกันแดดที่มีค่า SPF 30 ป้องกันรังสี UV-B ได้ 97% ในขณะที่ค่า SPF มากกว่า 50 ป้องกันได้ 98% ซึ่งต่างกันเพียงเล็กน้อย จึงไม่มีความจำเป็นต้องมุ่งเน้นในการพัฒนาสูตรตำรับให้มีค่า SPF มากขึ้นไปกว่านี้



แผนภูมิที่ 1 ระดับการปกป้องของสารกันแดดตามค่า SPF

ครีมกันแดด 3 สูตรตำรับนี้ มีระดับความชุ่มชื่นต่างกันหลังทา อาจเหมาะกับสภาพผิวที่ต่างกันของผู้ใช้ แต่เมื่อจัดเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะจริงที่อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C) นาน 6 เดือน สังเกตได้ว่าเนื้อครีมของสูตรตำรับที่ 1 มีความข้นเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับค่าความหนาแน่นที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) อาจมีสาเหตุจากการสูญเสียน้ำในตำรับ และน่าจะเป็นสาเหตุที่พบว่าปริมาณสารสกัดบัวบก Madecassoside หลังการจัดเก็บในสภาวะจริงที่อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C) นาน 6 เดือนของตำรับที่ 1 นี้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ตามไปด้วย และจากข้อจำกัดค่า pH 4.00-6.50 ซึ่งเหมาะต่อความคงตัวของส่วนประกอบในตำรับนั้น pH ที่สูงกว่า 6.50 ของสูตรตำรับที่ 2 น่าจะเป็นสาเหตุสำคัญต่อความไม่คงตัวของ Madecassoside ที่พบว่ามี % Labeled amount ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) หลังจัดเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะจริงที่อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C) นาน 6 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาความคงตัวของ Pentacyclic Triterpene Enriched (PRE) ของบัวบก[10] ที่พบว่า Madecassoside ไม่มีความคงตัวที่ pH 8.20 ครีมกันแดดสูตรตำรับที่ 3 ได้ปรับปรุงโดยเพิ่มปริมาณสารกันแดด antioxidant และ buffer ใช้ rose water เป็นน้ำกระสายยาทำให้ครีมกันแดดมีกลิ่นหอมได้โดยไม่ใช้สารแต่งกลิ่น และเลือกใช้ humectant ที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้แทนการใช้ pre-servative เพื่อให้สูตรตำรับไม่มีส่วนประกอบที่กระตุ้นปฏิกิริยาภูมิแพ้

จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้สถาบันราชประชาสมาสัย ได้พัฒนาสูตรตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพที่มีประสิทธิภาพดี ไม่กระตุ้นปฏิกิริยาภูมิแพ้ และมีส่วนประกอบจากสารสกัดสมุนไพรบัวบกช่วยเยียวยาผิวหนังที่ถูกทำลายจากแสงแดดและโรคผิวหนังต่าง ๆ สามารถนำไปพัฒนาเพื่อศึกษาการใช้จริงในอาสาสมัครเพื่อเป็นครีมกันแดดทางเลือกให้ผู้รับบริการสามารถเข้าถึงผลิตภัณฑ์กันแดดที่มีประสิทธิภาพดี ปลอดภัย ในราคาที่สมเหตุผล

สรุป

ครีมกันแดดแบบกายภาพที่มีส่วนผสมสารสกัดบัวบก Madecassoside สูตรตำรับที่ 3 มีความสมบูรณ์ที่สุด เป็น Broad Spectrum Sunscreen ที่ค่า Critical Wavelength (CW)=377.5±0.46 ป้องกัน UV-A ที่ค่า UVA I/UV Ratio=0.75 (High), Boots Star Rating=3 (good) และป้องกัน UV-B ที่ค่า SPF 42.19 (±1.7)

เมื่อจัดเก็บในสภาวะจริงที่อุณหภูมิห้องปกติ (30.5±2.1°C) นาน 6 เดือน มีความคงสภาพด้านกายภาพของเนื้อครีมที่ชุ่มชื่น ไม่ขาววอก กลิ่นหอม ค่า pH อยู่ในช่วงที่จำกัดระหว่าง 4.0-6.5 มีความคงสภาพทางเคมีของสารสกัดบัวบก Madecassoside และมีความคงสภาพด้านชีวภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทีมงานเภสัชกรรมและผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการศึกษาวิจัยครั้งนี้ที่ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนและเป็นกำลังใจมาโดยตลอด คุณค่าที่หากจะพึงมีจากการวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยขอมอบให้เป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยของสถาบันราชประชาสมาสัยทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

1. Pperly FL. The relation of solar radiation to cancer mortality in North America. Cancer Res. 1941;1:191-5.
2. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. Arch Dermatol. 1988;124:869-71.
3. Medicines Regulation Division. Thailand National List of Essential Medicines [Internet]. 2018 [cited 2020 Sep 10]. Available from: http://www.fda.moph.go.th/sites/drug/Shared%20Documents/New/nlem2561.PDF
4. Brinkhaus B, Lindner M, Schuppan D, Hahn E G. Chemical pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant Centella aslatica. Phytomedicine. 2000;7(5):427-48.
5. Bylka W, Znajdek-Awiżeń P, Studzińska-Sroka E, Dańczak-Pazdrowska A, Brzezińska M. Centella asiatica in dermatology: An overview. Phytotherapy Research. 2014;28(8):1117-24.
6. Oyedeji O A, Afolayan A J. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of Centella asiatica growing in South Africa. Pharmaceutical Biology. 2005;43(3):249-52.
7. Taemchuay D, Rukkwamsuk T, Sakpuaram T, Ruangwises N. Antibacterial activity of crude extracts of Centella asiatica against Staphylococcus aureus in bovine mastitis. Kasetsart Veterinarians. 2009;19(3):119-28.
8. Sultan RA, Mahmood SZ, Azhar I, Ahmed SW, Mahmood ZA. Biological activities assessment of Centella asiatica (Linn.). Journal of Herbs. Spices & Medicinal Plants. 2014;20(3):319-27.
9. Pittella F, Dutra RC, Junior DD, Lopes MT, Barbosa NR. Antioxidant and cytotoxic activities of Centella asiatica (L) Urb. International Journal of Molecular Sciences. 2009;10(9):3713-21.
10. Puttarak P, Brantner A, Panichayupakaranant P. Biological activities and stability of a standardized pentacyclic triterpene enriched Centella asiatica extract. Natural Product Sciences. 2016;22(1):20-4.
11. Tenni R, Zanaboni G, De Agostini M P, Rossi A, Bendotti C, Cetta G. Effect of the triterpenoid fraction of Centella asiatica on macromolecules of the connective matrix in human skin fibroblast cultures. Italian Journal of Biochemistry. 1988; 37(2):69-77.
12. Brinkhaus B, Lindner M, Schuppan D, Hahn E G. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant Centella asiatica. Phytomedicine. 2000;7(5):427-48.
13. Liu M, Dai Y, Li Y, Luo Y, Huang F, Gong Z, et al. Madecassoside isolated from Centella asiatica herbs facilitates burn wound healing in mice. Planta Medica. 2008;74(8):809-15.
14. Maquart F X, Bellon G, Gillery P, Wegrowski Y, Borel J P. Stimulation of collagen synthesis in fibroblast cultures by a triterpene extracted from

Centella asiatica. Connective Tissue Research. 1990;24(2):107-20.

15. Maquart F X, Chastang F, Simeon A, Birembaut P, Gillery P, Wegrowski Y. Triterpenes from Centella asiatica stimulate extracellular matrix accumulation in rat experimental wounds. European Journal of Dermatology. 1999;9 (4):289-96.
16. Brinkhaus B, Lindner M, Schuppan D, Hahn E G. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant Centella asiatica. Phytomedicine. 2000;7(5):427-48.
17. Bonté F, Dumas M, Chaudagne C, Meybeck A. Influence of asiatic acid, madecassic acid, and asiaticoside on human collagen I synthesis. Planta Medica. 1994;60(2):133-5.
18. Bonté F, Dumas M, Chaudagne C, Meybeck A. Comparative activity of asiaticoside and madecassoside on type I and III collagen synthesis by cultured human fibroblasts. Annales Pharmaceutiques Françaises. 1995;53(1):38-42.
19. Sunilkumar, Parameshwaraiah S, Shivakumar H G. Evaluation of topical formulations of aqueous extract of Centella asiatica on open wounds in rats. Indian Journal of Experimental Biology. 1998;36(6):569-72.
20. Ritthidej G C. Development of medical device and pharmaceutical products containing Centella asiatica (L.) extract for second degree wound, radiation-induced oral and periodontitic ulcers [Internet]. [cited 2020 Sep 10]. Available from: https://www.thailandtechshow.com/view_techno.php?id=995
21. Paocharoen V. The efficacy and side effects of oral Centella asiatica extract for wound healing promotion in diabetic wound patients. Journal of the Medical Association of Thailand. 2010;93:S166-S70.
22. Saeidinia A, Keihanian F, Lashkari A P, Lahiji H G, Mobayyen M, Heidarzade A, et al. Partial-thickness burn wounds healing by topical treatment: A randomized controlled comparison between silver sulfadiazine and centiderm. Medicine. 2017;96 (9):1-8.
23. Diffey B L. Pitfalls in the in vitro determination of sunscreen protection factors using broad band ultraviolet radiation detectors and solar simulating radiation. Int J Cos Sci. 1989;11(5):245-9.