นิพนธ์ต้นฉบับ

การพัฒนาโลชั่นบำรุงผิวจากสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบในระดับหลอดทดลอง

พชิราวัลย์ อ่อนละมุล[1, 2] ฉัตรชนก นุกูลกิจ[1] วรินท์ โอนอ่อน[1] ทัณฑิกา แก้วสูงเนิน[1] จรินยา ขุนทะวาด[1] และ ยลดา ศรีเศรษฐ์[1*]

[1]สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร อำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร

[2]กลุ่มงานการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก โรงพยาบาลห้วยเกิ้ง อำเภอกุมภวาปี จังหวัดอุดรธานี

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: yollada.sr@rmuti.ac.th

Received date: May 6, 2024; Revised date: June 24, 2024; Accepted date: June 26, 2024

บทคัดย่อ

ตำรับเกสรทั้งห้าประกอบด้วยสมุนไพรที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งช่วยชะลอความชราของผิวหนัง ทำให้ผิวหนังคงความชุ่มชื้นไว้ได้ แต่ยังไม่พบรายงานว่ามีเวชสำอางจากตำรับเกสรทั้งห้า งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาโลชั่นจากสารสกัดเกสรทั้งห้าที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ โดยสารสกัดส่วนเอทานอลของเกสรทั้งห้าถูกนำมาประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH และฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) ด้วยวิธี Griess จากนั้นสารสกัดจะถูกนำมาพัฒนาเป็นโลชั่น ผลการศึกษา พบว่า สารสกัดเกสรทั้งห้ามีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ ที่สูง โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.09±0.01 และ 0.05±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีความสามารถในการยับยั้งการสร้าง NO โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.07±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำสารสกัดมาพัฒนาสูตรโลชั่นที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก จะศึกษาความคงตัวของโลชั่นสมุนไพรด้วยวิธีการทดสอบในสภาวะเร่ง (heat-cool cycling method) และประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของโลชั่นสมุนไพร พบว่า โลชั่นทุกสูตรมีความคงตัวดี ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและทางเคมี ยิ่งไปกว่านั้นโลชั่นสมุนไพรทุกสูตรมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการสร้าง NO ดังนั้นโลชั่นจากสารสกัดเกสรทั้งห้าความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โลชั่น/ผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบต่อไป

คำสำคัญ: ตำรับเกสรทั้งห้า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์

Original Article

Development of Skin Care Lotion from Kaesorn-Tang-Ha Remedy Extract with In vitro Antioxidant and Anti-inflammatory activities

Pachirawan Oonlamul[1, 2] Chatchanok Nukulkit[1] Warin Ohn-on[1]
Thanthika Kaewsoongnern[1] Jarinya Khoontawad[1] and Yollada Sriset[1*]

[1]Thai Traditional Medicine Program, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus, Phang Khon District, Sakon Nakhon

[2]Thai Traditional and Alternative Medicine Department, Huaikoeng Hospital, Kumphawapi District, Udon Thani

*Corresponding Author E-mail: yollada.sr@rmuti.ac.th

Abstract

Kaesorn-Tang-Ha remedy consists of medicinal plants to possess antioxidant property, which is able to prevent skin aging, resulting in maintaining skin hydration. A cosmeceutical product from Kaesorn-Tang-Ha remedy has not been reported. This research aimed to develop lotion from Kaesorn-Tang-Ha remedy extract with antioxidant and anti-inflammatory activities. The ethanol extract of Kaesorn-Tang-Ha remedy was assessed antioxidant activities using ABTS and DPPH assays and anti-inflammatory activity via inhibition of nitric oxide (NO) production using Griess method. Then the extract was used to formulate a lotion. The results showed that the extract of Kaesorn-Tang-Ha remedy had the high $ABTS^{\bullet+}$ and $DPPH^{\bullet}$ radical scavenging activities with IC50 values of 0.09±0.01 and 0.05±0.01 mg/mL, respectively, and was able to inhibit NO production with IC50 value of 0.07±0.01 mg/mL. This extract was formulated lotions at concentrations of 0.01%, 0.10%. and 0.50% w/w. The accelerated stability of the herbal lotions was tested using heat-cool cycling method and the antioxidant and anti-inflammatory effectiveness of herbal lotions were evaluated. Resulting from this study, all formulations showed the good stability and no change in physical and chemical characteristics. Moreover, all herbal lotion formulations possessed antioxidant and anti-inflammatory potentials. In conclusion, lotions containing the extract of Kaesorn-Tang-Ha remedy at concentrations of 0.01%, 0.10%. and 0.50% w/w are worthy of further development as lotion/herbal product for antioxidation and anti-inflammation.

Keywords: Kaesorn-Tang-Ha remedy, Antioxidant activities, Nitric oxide production inhibitory activity

บทนำ

ผิวหนังเป็นด่านแรกที่ปกป้องร่างกายจากสิ่งแวดล้อม การบำรุงผิวหนังให้มีสุขภาพผิวที่ดีจะช่วยให้ผิวหนังชั้นนอกสามารถป้องกันสิ่งแปลกปลอมจากภายนอกได้[1] โดยในสภาวะผิวปกติร่างกายจะมีเกราะป้องกันผิวหนัง (skin barrier) เพื่อให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้น แต่มีปัจจัยมากมายที่ส่งผลให้การทำงานของเกราะป้องกันผิวถูกทำลายหรือมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง เช่น เพศ อายุที่มากขึ้น ความเครียด โรคผิวหนัง พันธุกรรม และปัจจัยภายนอก อาทิ แสงแดด มลภาวะ สารเคมี และยาบางชนิด เป็นต้น[2] ปัจจัยต่างๆ ดังกล่าวนี้เป็นสาเหตุสำคัญที่เหนี่ยวนำให้มีการสร้างอนุมูลอิสระ (free radicals) ขึ้นในร่างกาย การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) มีผลไปทำลายสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของเซลล์ผิวหนัง เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ นำไปสู่กระบวนการอักเสบของผิวหนัง[2] เป็นสาเหตุสำคัญทำให้ผิวขาดน้ำ (dehydrated skin) และความชราของผิว (skin aging)[2, 3] ดังนั้นการใช้สารจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) จะสามารถป้องกันหรือลดการเกิดอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของเกราะป้องกันผิวที่เกิดจากการรบกวนจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ อีกทั้งสารเหล่านี้ยังไม่มีผลรบกวนการสังเคราะห์วิตามินดีที่ผิวหนัง[4] ปัจจุบันสารจากธรรมชาติหรือสารสกัดสมุนไพรจึงถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เนื่องจากไม่มีผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ และมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการบำรุงหรือฟื้นฟูผิวใกล้เคียงกับสารสังเคราะห์เคมี[5]

จากการทบทวนวรรณกรรม พบตำรับเกสรทั้งห้า ซึ่งเป็นสมุนไพรกลุ่มดอกไม้และเกสร 5 อย่าง ได้แก่ ดอกมะลิ (*Jasminum sambac* Ait.) ดอกพิกุล (*Mimusops elengi* L.) ดอกบุนนาค (*Mesua ferrea* L.) ดอกสารภี (*Mammea siamensis* T. Anderson.) และเกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) มีสรรพคุณทางการแพทย์แผนไทย คือ แก้ร้อนในกระหายน้ำ ชูกำลัง บำรุงหัวใจ และแก้ลมวิงเวียน[6] มีสารประกอบทางเคมีส่วนใหญ่เป็นสารฟีนอลิก (phenolics) และสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ[7, 8] และมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับหลอดทดลองของพืชที่เป็นส่วนประกอบของตำรับเกสรทั้งห้า พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้ช่วยชะลอการเสื่อมของเซลล์ได้[7] คณะผู้วิจัยจึงได้เล็งเห็นถึงแนวโน้มที่จะสามารถนำตำรับเกสรทั้งห้าไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ ซึ่งโลชั่นเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ทาผิวที่นิยมใช้ ไม่เหนอะหนะ ดูดซึมได้ดี และให้ความรู้สึกสบายผิว ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงนำสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้ามาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบในระดับหลอดทดลอง และนำผลการศึกษาที่ได้ไปพัฒนาเป็นโลชั่นเพื่อเป็นแนวทางในการส่งเสริมสุขภาพผิว สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในสถานบริการสุขภาพทั่วไปและช่วยเพิ่มคุณค่าให้สมุนไพรไทย ด้วยแนวคิดส่งเสริมความเป็นไทยในรูปแบบสากล ผ่านการทดสอบทางวิทยาศาสตร์ อีกทั้งยังทดสอบลักษณะทางกายภาพ ความคงตัวที่เหมาะสม และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผลิตภัณฑ์โลชั่นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปศึกษางานวิจัยทางคลินิกต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการอักเสบในระดับหลอดทดลองของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าให้มีความตัวทางกายภาพและทางเคมี และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ

ระเบียบวิธีศึกษา

1. สารเคมี

กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เควอซิทิน (Quercetin) เอบีทีเอส (2,2'-Azinobis 3-ethylbenzothiazoline6-sulphonic acid; ABTS) ดีพีพีเอช (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH)

ดีเอ็มเอสโอ (Dimethyl sulfoxide; DMSO) โซเดียมไนโตรปรัสไซด์ (Sodium nitroprusside) ซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) และ เอ็น-(1-แนฟทิล)เอทิลีน ไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-Naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride, NED) จากบริษัท Sigma-Aldrich (Missouri, USA) Stearic acid, Carbomer 940, Glyceryl monostearate, Lanolin, Mineral oil, Glycerin, Propylene glycol (PPG), Propyl paraben และ Triethanolamine จากบริษัท Chemipan Corporation Co., Ltd. (Bangkok, Thailand) และสารเคมีอื่น ๆ ที่ใช้เป็นเกรดสำหรับการวิเคราะห์

2. การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากตำรับเกสรทั้งห้า

สมุนไพรแห้ง ได้แก่ ดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกสารภี และเกสรบัวหลวง ได้จากบริษัทเจริญสุขฟาร์มา ซัพพลาย จำกัด อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม เมื่อเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2565 นำสมุนไพรแต่ละชนิดมาบดด้วยเครื่องบดแบบอ่างลูกกลิ้ง 30 นิ้ว และนำผงสมุนไพรมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด เบอร์ 40 จากนั้นชั่งผงสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิดและผงสมุนไพรตำรับเกสรทั้งห้าในอัตราส่วนเท่ากัน นำมาทำการสกัดด้วยเอทานอล (ethanol) ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:10 (ผงสมุนไพร 1 ส่วนและเอทานอล 10 ส่วน) โดยวิธีการหมักแช่ในตัวทำละลาย (maceration) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน[9] จากนั้นทำการกรองแยกสารสกัดแล้วนำส่วนใสที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบหมุน (Rotary evaporator; Rotavapor® R-300, Buchi, Flawil, Switzerland) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

3. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าและสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบในตำรับด้วยวิธี 2,2'-Azinobis 3-ethylbenzothiazoline6-sulphonic acid (ABTS)

สารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 0.10-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับสารผสมที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา (reaction mixture) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate) ความเข้มข้น 140 มิลลิโมลาร์ (สารผสมที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาปฏิกิริยานี้ถูกเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและนำไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.70±0.02 ที่ 700 นาโนเมตร) จากนั้นเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 6 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่อง microplate reader (Infinite® 200 pro, Tecan, Männedorf, Switzerland) โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน (0.0125-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะถูกรายงานเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัด ที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ให้ลดลงได้ร้อยละ 50 (the half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%inhibition) ดังสมการที่ 1

$$\%\text{inhibition} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \qquad (1)$$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มตัวอย่างสารสกัดสมุนไพร/สารมาตรฐาน

จากนั้นนำค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟลอการิทึมเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50}[10]

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าและสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบในตำรับด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

สารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 0.10-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน (0.001-0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะถูกรายงานเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ให้ลดลงได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ซึ่งมีวิธีการคำนวณเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในข้อ 3[10]

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) ของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าและสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบในตำรับด้วยวิธี Griess

สารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 0.10-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไนโตรปรัสไซด์ (sodium nitroprusside) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 150 นาที แล้วเติม Griess reagent ที่ประกอบด้วย ซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ NED ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader โดยใช้เควอซิทินเป็นสารมาตรฐาน (6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ฤทธิ์ต้านการอักเสบจะถูกรายงานเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งการสร้าง NO ให้ลดลงได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ซึ่งมีวิธีการคำนวณเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในข้อ 3[11]

6. **การพัฒนาโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า**

สารสกัดสมุนไพรตำรับเกสรทั้งห้าที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก ตามลำดับถูกนำมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์โลชั่น ซึ่งได้ดัดแปลงสูตรโลชั่นจากการศึกษาของ Jain และคณะ (2023)[12] และการศึกษาของ Rasheed และคณะ (2012)[13] โดยส่วนประกอบของโลชั่นแต่ละสูตรดังแสดงในตารางที่ 1

จากนั้นนำโลชั่นสมุนไพรแต่ละสูตรมาทำการประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ด้วยวิธีการทดสอบในสภาวะเร่ง (heat-cool cycling method)[14] โดยการนำโลชั่นสมุนไพรที่เตรียมไว้เก็บในหลอดบรรจุภัณฑ์ทึบแสงที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 45±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบทั้งหมด 4 รอบ ประเมินผลก่อนการทดสอบและเมื่อสิ้นสุดการทดสอบในรอบที่ 2 และรอบที่ 4 โดยดูลักษณะเนื้อสัมผัส สี การแยกชั้น ความหนืด (viscosity) และความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของโลชั่น

7. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการอักเสบของโลชั่นสมุนไพร

โลชั่นสมุนไพรจะถูกนำไปประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบเพื่อศึกษาประสิทธิผลการออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ โดยวิธีการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ (ข้อ 3) และ $DPPH^{\bullet}$ (ข้อ4) และวิธีการประเมินฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการสร้าง NO (ข้อ 5) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการอักเสบจะถูกรายงานเป็นร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้งการอักเสบ (%inhibition) ซึ่งมีวิธีการคำนวณเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในข้อ 3

8. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการทดลองจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) (n=3) นำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ร่วมกับการทดสอบแบบ Tukey's *post-hoc* test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า *p-value*<0.05 ($p<0.05$) ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Science (IBM SPSS) เวอร์ชั่น 26.0

ผลการศึกษา

1. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าและสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบด้วยวิธี ABTS

สารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าแสดงฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.09±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ไม่แตกต่างกันกับกรดแอสคอร์บิก (IC_{50} = 0.05±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่ค่า IC_{50} ของสารสกัดดอกบุนนาค ดอกมะลิ เกสรบัวหลวง ดอกพิกุล และดอกสารภี สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.43±0.06, 0.50±0.05, 0.61±0.04, 0.63±0.05 และ 0.99±0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งสารสกัดสมุนไพรทั้งห้าชนิดนี้ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ได้น้อยกว่าสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าและกรดแอสคอร์บิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

2. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าและสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบด้วยวิธี DPPH

สารสกัดดอกพิกุล ดอกบุนนาค เกสรบัวหลวง ดอกสารภี และตำรับเกสรทั้งห้าสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วงเท่ากับ 0.03-0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์เทียบเท่ากับสารมาตรฐานกรดแกลลิก (IC_{50} = 0.03±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (ตารางที่ 2) ขณะที่สารสกัดดอกมะลิมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ น้อยที่สุด ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.12±0.02 (ตารางที่ 2)

3. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการสร้าง NO ของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าและสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบด้วยวิธี Griess

สารสกัดดอกมะลิ (IC_{50} = 0.03±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดเกสรบัวหลวง (IC_{50} = 0.05±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดดอกพิกุล (IC_{50} = 0.07±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า (IC_{50} = 0.07±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารสกัดดอกบุนนาค (IC_{50} = 0.09±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถยับยั้งการสร้าง NO ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีฤทธิ์เทียบเท่ากับสารมาตรฐานเควอซิทิน (IC_{50} = 0.04±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (ตารางที่ 2) ขณะที่สารสกัดดอกสารภี (IC_{50} = 0.12±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO น้อยที่สุด (ตารางที่ 2)

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบในระดับหลอดทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้ามีแนวโน้มที่จะออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ และฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO ได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.05-0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่า IC_{50} ที่น้อย จะบ่งบอกถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบที่สูง โดยจะใช้ช่วงความเข้มข้นที่ได้จากการศึกษานี้มาปรับเพิ่มขึ้นเพื่อที่จะนำไปเตรียมเป็นโลชั่นจากสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า ทั้งหมด 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.10, 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือเท่ากับความเข้มข้นของสารสกัดร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ในผลิตภัณฑ์โลชั่น

4. ผลการวิเคราะห์ความคงตัวของโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าในสภาวะเร่ง ด้วยวิธี heat-cool cycling method

การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งจำนวน 4 รอบ ของผลิตภัณฑ์โลชั่นแสดงผลในตารางที่ 3 โดยสูตรที่ 1 เป็นโลชั่นพื้น และสูตรที่ 2, 3 และ 4 เป็นโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ พบว่า ก่อนการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง โลชั่นสูตรที่ 1, 2 และ 3 มีลักษณะทางกายภาพที่ดี คือ เนื้อโลชั่นมีความละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน มีสีขาว ไม่พบการแยกชั้น และไม่เหนียวเหนอะหนะ ขณะที่โลชั่นสูตรที่ 4 มีลักษณะทางกายภาพที่ดีเช่นเดียวกันกับโลชั่นสูตรที่ 1, 2 และ 3 แต่เนื้อโลชั่นมีสีขาวอมเหลืองอ่อนเนื่องจากเป็นสูตรที่มีความเข้มข้นของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าสูงที่สุดจึงทำให้โลชั่นสูตรนี้มีสีของสารสกัดสมุนไพร โลชั่นสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.22±0.02, 6.29±0.04, 6.28±0.04 และ 5.12±0.13 ตามลำดับ และค่าความหนืดของโลชั่นสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 5,416±474, 6,626±195, 6,010±488 และ 6,003±507 เซนติพอยซ์ (centipoise, cP) ตามลำดับ หลังจากทดสอบความคงตัวในรอบที่ 2 และ รอบที่ 4 พบว่า ลักษณะทางกายภาพของโลชั่นสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 ยังคงสภาพเดิม ความเป็นกรด-ด่างในแต่ละรอบของโลชั่นสูตรที่ 1 (6.22-6.99) สูตรที่ 2 (6.29-6.99) สูตรที่ 3 (6.28-6.55) และ สูตรที่ 4 (5.12-5.40) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยค่าความเป็นกรด-ด่างของโลชั่นทั้ง 4 สูตรที่วัดได้นี้ อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดไม่เป็นอันตรายต่อผิวหนังมนุษย์ (pH 4-6)[15] และค่าความหนืดในแต่ละรอบของโลชั่นสูตรที่ 1 (5,416-6,141 cP) สูตรที่ 2 (6,141-6,626 cP) สูตรที่ 3 (6,010-6,472 cP) และสูตรที่ 4 (5,583-6,222 cP) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังนั้นผลการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งจึงแสดงให้เห็นว่า โลชั่นทุกสูตรยังคงมีสภาพไม่เปลี่ยนแปลงไปจากสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปไม่ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ ความเป็นกรด-ด่าง และค่าความหนืดของโลชั่นทุกสูตรตำรับ (ตารางที่ 3)

5. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการอักเสบของโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า

จากการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ และฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการสร้าง NO ของโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า พบว่า ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ และร้อยละการยับยั้งการสร้าง NO ของโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า ความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและการยับยั้งการสร้าง NO ของโลชั่นสมุนไพรนี้มีการเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด (dose-dependent manner) โดยโลชั่นสมุนไพรที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 โดยน้ำหนัก ยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ ได้ร้อยละ 45.35±1.82 และ 39.44±1.38 ตามลำดับ และยับยั้งการสร้าง NO ได้ร้อยละ 32.48±2.72 ขณะที่โลชั่นสมุนไพรที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.10 โดยน้ำหนัก ยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ ได้ร้อยละ 51.43±2.52 และ 50.83±3.05 ตามลำดับ และยับยั้งการสร้าง NO ได้ร้อยละ 55.24±3.57 และโลชั่นสมุนไพรที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.50 โดยน้ำหนัก ยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ ได้ร้อยละ 70.15±1.27 และ 83.32±1.94 ตามลำดับ และยับยั้งการสร้าง NO ได้ร้อยละ 92.91±2.15 (ตารางที่ 4)

อภิปรายผล

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH โดยการวิเคราะห์ในแต่ละวิธีมีข้อแตกต่างกันทางกลไกการทดสอบ คือ วิธี ABTS เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ และวิธี DPPH เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูล $DPPH^{\bullet}$[16] และการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการสร้าง NO ด้วยวิธี Griess แสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้ามีประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ และการยับยั้งการสร้าง NO เนื่องจากการมีสารสำคัญหลายชนิดที่ช่วยเสริมฤทธิ์กันในตำรับเกสรทั้งห้า โดยส่วนใหญ่จะพบสารกลุ่มฟีนอกลิก เช่น คูมาริน (coumarin) และฟลาโวนอยด์ เช่น เควอซิทิน (quercetin) รูทิน (rutin) แคมเฟอรอล (Kaempferol) และลูทีโอลิน (luteolin)[7] ซึ่งมีรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ[7, 17] สอดคล้องกับการศึกษาของกชกร ทองมาก และคณะ (2021)[7] พบสารฟีนอลิกในพืชสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของตำรับเกสรทั้งห้ามีปริมาณอยู่ในช่วงเท่ากับ 17.17-84.50 มิลลิกรัมสมมูลกับกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด อีกทั้งสารสกัดจากเกสรบัวหลวง ดอกสารภี ดอกบุนนาค ดอกมะลิ และดอกพิกุล มีฤทธิ์ต้านอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.001, 0.014, 0.015, 0.037 และ 0.056 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ[7] อีกการศึกษาก่อนหน้าพบว่าสารสกัดดอกมะลิมีค่า IC_{50} ในการยับยั้งอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ เท่ากับ 0.039 และ 0.094 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ[18] สารสกัดดอกพิกุลมีฤทธิ์ต้านอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.236 และ 0.098 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ[19] สารสกัดเกสรบัวหลวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.391 และ 0.017 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ[20] และสารสกัดดอกบุนนาคมีฤทธิ์ต้านอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.017 และ 0.013 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ[21] นอกจากนี้การศึกษาของขวัญชนก หมอกมืด และคณะ (2560) ยังพบว่าดอกมะลิ ดอกสารภี ดอกบุนนาค ดอกพิกุล และเกสรบัวหลวงมีฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งเอนไซม์ไซโคออกซี่จีเนส-ทู (cyclooxygenase-2) โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วงเท่ากับ 0.001-0.100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร[22] จากผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้นนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ดีในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการสร้าง NO จึงนำไปเตรียมเป็นโลชั่นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับการฟื้นฟูสภาพผิว

การพัฒนาสูตรโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก นำไปทดสอบความคงตัวของโลชั่นในสภาวะเร่งทั้งหมด 4 รอบ พบว่า ก่อนและหลังการทดสอบโลชั่นสมุนไพรทุกความเข้มข้นมีความคงตัวดี ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ มีความหนืดพอเหมาะ และมีค่าความเป็นกรด-ด่างของโลชั่นสมุนไพรแต่ละความเข้มข้นอยู่ในช่วง 5.12-6.72 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมเนื่องจากใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรดด่างของผิวหนังมนุษย์ที่เป็นกรดอ่อน (pH 4-6)[15] ดังนั้นภายใต้สภาวะอุณหภูมิต่ำสลับสูง และความเข้มข้นของสารสกัดของสมุนไพรตำรับเกสรทั้งห้า จึงไม่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพ ความหนืด และความเป็นกรด-ด่างของโลชั่น อีกทั้งได้ศึกษาประสิทธิผลการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า พบว่า โลชั่นสมุนไพรทุกความเข้มข้นมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ และร้อยละการยับยั้งการสร้าง NO เพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโลชั่นที่มีสารสกัดของสมุนไพรตำรับเกสรทั้งห้ามีค่ามากขึ้น การศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการสร้าง NO ของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าที่ทำหน้าที่เป็นส่วนผสมสำคัญในการออกฤทธิ์ (active ingredient) ของผลิตภัณฑ์โลชั่น

ข้อสรุป

การพัฒนาโลชั่นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบในการศึกษานี้ นำสารสกัดส่วนเอทานอลของตำรับเกสรทั้งห้ามาพัฒนาเป็นโลชั่น 3 สูตร ได้แก่ โลชั่นที่มีสารสกัดของตำรับเกสรทั้งห้า ความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก พบว่าโลชั่นทั้ง 3 สูตรนี้ มีลักษณะทางกายภาพที่ดีและมีความคงตัวที่ดีในสภาวะเร่งทั้งหมด 4 รอบ นอกจากนั้นโลชั่นแต่ละสูตรนี้สามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบผ่านกลไกยับยั้ง

การสร้างสารสื่อกลางการอักเสบชนิด NO ดังนั้นโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า ความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก จึงเป็นสูตรโลชั่นที่มีความคงตัวที่ดีทั้งทางกายภาพและทางเคมี รวมทั้งมีประสิทธิผลในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบในระดับหลอดทดลองที่สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโลชั่นที่มีสารสกัดของสมุนไพรตำรับเกสรทั้งห้าที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50 โดยน้ำหนัก มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบได้ดีที่สุด จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โลชั่นสำหรับการฟื้นฟูสภาพผิว ผลการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานและต้นแบบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์รูปแบบใช้ภายนอกจากสารสกัดสมุนไพรต่อไป อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาความปลอดภัยและประสิทธิผลทางคลินิกเพิ่มเติม เพื่อยืนยันผลของการใช้โลชั่นสำหรับการฟื้นฟูสภาพผิว

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร สำหรับความเอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า

Components	Ingredients	% w/w in the formulation (F)				Function
		F1	F2	F3	F4	
Oil Phase	Stearic acid	0.5	0.5	0.5	0.5	Emulsifying agent, Thickening agent, Emollient
	Carbomer 940	0.05	0.05	0.05	0.05	Thickening agent
	Glyceryl monostearate	5.0	5.0	5.0	5.0	Auxiliary emulsifying agent
	Lanolin	1.0	1.0	1.0	1.0	Emollient
	Mineral oil	2.5	2.5	2.5	2.5	Emollient
Aqueous phase	Kasorn-Tang-Ha Extract	-	0.01	0.10	0.50	Active ingredient
	Glycerin	1.0	1.0	1.0	1.0	Humectant
	Propylene glycol	2.0	2.0	2.0	2.0	Humectant
	Phenoxyethanol	1.0	1.0	1.0	1.0	Preservative
	Triethanolamine	q.s	q.s	q.s	q.s	pH adjusting agent
	Purified water q.s to	100	100	100	100	Vehicle

หมายเหตุ: F1 คือ โลชั่นสูตรพื้น F2, F3 และ F4 คือ โลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ค่า IC_{50} ของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าและสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบในตำรับต่อการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ และการยับยั้งการสร้าง NO

Samples	IC_{50} (mg/mL)		
	$ABTS^{\bullet+}$	$DPPH^{\bullet}$	NO
ดอกมะลิ	0.50 ± 0.05^{b}	0.12 ± 0.02^{b}	0.03 ± 0.00^{a}
ดอกพิกุล	0.63 ± 0.05^{c}	0.03 ± 0.01^{a}	0.07 ± 0.01^{a}
ดอกบุนนาค	0.43 ± 0.06^{b}	0.03 ± 0.01^{a}	0.09 ± 0.01^{a}
ดอกสารภี	0.99 ± 0.06^{d}	0.05 ± 0.01^{a}	0.12 ± 0.01^{b}
เกสรบัวหลวง	0.61 ± 0.04^{c}	0.03 ± 0.00^{a}	0.05 ± 0.01^{a}
เกสรทั้งห้า	0.09 ± 0.01^{a}	0.05 ± 0.01^{a}	0.07 ± 0.01^{a}
กรดแอสคอร์บิก	0.05 ± 0.00^{a}	0.03 ± 0.00^{a}	-
เควอซิทิน	-	-	0.04 ± 0.00^{a}

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก (a, b, c และ d) ที่แตกต่างกันในแถวแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า

Formulations (F)	Physical/Chemical parameters	Before	2nd cycle	4th cycle
F1	ลักษณะทางกายภาพ	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น
	pH	6.22±0.02[a]	6.90±0.32[a]	6.99±0.39[a]
	Viscosity (cP)	5,416±474[b]	6,141±770[b]	5,786±709[b]
F2	ลักษณะทางกายภาพ	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น
	pH	6.29±0.04[a]	6.68±0.09[a]	6.72±0.03[a]
	Viscosity (cP)	6,626±195[b]	5,854±530[b]	6,311±742[b]
F3	ลักษณะทางกายภาพ	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น	สีขาว เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น
	pH	6.28±0.04[a]	6.45±0.02[a]	6.55±0.13[a]
	Viscosity (cP)	6,010±488[b]	6,472±70[b]	6,197±757[b]
F4	ลักษณะทางกายภาพ	สีขาวอมเหลืองอ่อน เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น	สีขาวอมเหลืองอ่อน เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น	สีขาวอมเหลืองอ่อน เนื้อเนียนละเอียด ไม่แยกชั้น
	pH	5.12±0.13[a]	5.40±0.07[a]	5.39±0.08[a]
	Viscosity (cP)	6,003±507[b]	6,222±61[b]	5,583±725[b]

หมายเหตุ: F1 คือ โลชั่นสูตรพื้น F2, F3 และ F4 คือ โลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้าความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.10 และ 0.50 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ
อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก (a, b) ที่เหมือนกันในแถวแนวนอน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 4 ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ และการยับยั้งการสร้าง NO ของโลชั่นที่มีส่วนประกอบของสารสกัดตำรับเกสรทั้งห้า

Herbal extract lotions	%Inhibition		
	Antioxidant activity		Anti-inflammatory activity
	$ABTS^{\bullet+}$	$DPPH^{\bullet}$	NO
0.01% เกสรทั้งห้า	45.35±1.82[a]	39.44±1.38[a]	32.48±2.72[a]
0.10% เกสรทั้งห้า	51.43±2.52[b]	50.83±3.05[b]	55.24±3.57[b]
0.50% เกสรทั้งห้า	70.15±1.27[c]	83.32±1.94[c]	92.91±2.15[c]

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก (a, b และ c) ที่แตกต่างกันในแถวแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

เอกสารอ้างอิง

1. Farage MA, et al. (2007). Structural characteristics of the aging skin: a review. **Cutaneous and Ocular Toxicology.** 26(4), 343-357.
2. Poljšak B and Dahmane R. (2012). Free radicals and extrinsic skin aging. **Dermatology Research and Practice.** 2012, 1-4.
3. Briganti S and Picardo M. (2003). Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.** 17, 663-669.
4. Thiele JJ, et al. (2002). Antioxidant defense systems in skin. **Cutaneous and Ocular Toxicology.** 21(1-2), 119-160.
5. Oresajo C, et al. (2012). Antioxidants and the skin: understanding formulation and efficacy. **Dermatologic Therapy.** 25(3), 252-259.
6. กองการประกอบโรคศิลปะ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. (2541). **ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์แห่งประเทศไทย.
7. กชกร ทองมาก และคณะ. (2564). การศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชที่จัดอยู่ในกลุ่มพิกัดเกสรทั้งห้า. **วารสารหมอยาไทยวิจัย**. 7(2), 61-74.
8. Jung K, et al. (2016). Structure-function relationship of phenolic antioxidants in topical skin health products. **International Journal of Cosmetic Science.** 39(2), 217-223.
9. กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. (2560). การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.** 3(1), 86-94.
10. วรินท์ โอนอ่อน และคณะ. (2565). ผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับจันทน์ทั้งห้า. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**. 24(3), 88-96.
11. Sriset Y, et al. (2021). In vitro antioxidant potential of *Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg stem extract and its active constituent bergenin. **Songklanakarin Journal of Science and Technology.** 43(1), 24-30.
12. Jain K, et al. (2023). Formulation and evaluation of herbal lotion of *Psidium guajava*. **World Journal of Pharmaceutical Research.** 12(9), 1558-1569.
13. Rasheed A, et al. (2012). characterization and in vitro evaluation of herbal sunscreen lotion. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine.** 12, 241-246.
14. Hidayah H, et al. (2023). Sun protection factor activity of Jamblang leaves serum extract (*Syzygium cumini*). **Pharmacognosy Journal.** 15(1), 134-140.
15. Ali SM and Yosipovitch G. (2013). Skin pH: from basic science to basic skin care. **Acta Dermato-Venereologica.** 93(3), 261-267.
16. Prior RL, et al. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 53(10), 4290-4302.
17. Michalak M, et al. (2023). A phenolic profile and comparison of the antioxidant, anti-ageing, anti-inflammatory, and protective activities of *Borago officinalis* extracts on skin cells. **Molecules.** 28(2), 1-19.

18. Wahyu W, et al. (2018). Antioxidant and antiaging activities of *Jasminum Sambac* extract, and its compounds. **Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences.** 7(3), 270-285.
19. Natungnuy K and Poeaim S. (2018). Antioxidant and cytotoxic activities of methanolic extracts from *Mimusops elengi* flowers. **International Journal of Agricultural Technology.** 14(5), 731-740.
20. Wu YB, et al. (2011). A comparative study on antioxidant activity of ten different parts of *Nelumbo nucifera* Gaertn. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology.** 5(22), 2454-2461.
21. Nakyai W, et al. (2021). Anti-acne vulgaris potential of the ethanolic extract of *Mesua ferrea* L. flowers. **Cosmetics.** 8(4), 1-12.
22. ขวัญชนก หมอกมืด และคณะ. (2560). ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดชั้นเอทานอลในสมุนไพรเดี่ยวและตำรับยาสตรีหลังคลอด. **ธรรมศาสตร์เวชสาร.** 17(4), 557-564.