

ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดทองพันชั่งและประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับผม

Antifungal Activity of *Rhinacanthus Nasutus* Extract
and Applications in Hair Care Products

ชนมน พรพินิจ

อีเมล: 6451701256@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง

อีเมล: sarita.san@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสารสกัดใบทองพันชั่งที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ต้านอนุมูลอิสระ และพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผมที่คงตัว จากการสกัดด้วย 95% ethanol และ ethyl acetate ด้วยวิธี maceration พบว่าสารสกัด 95% ethanol ให้ร้อยละผลผลิตสูงกว่า ($8.23\% \pm 0.81$) และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่า ($IC_{50} = 0.25$ mg/ml) เมื่อวิเคราะห์ด้วย LCMS พบสารสำคัญหลายกลุ่มโดยเฉพาะ naphthoquinone ซึ่งเป็นสารสำคัญในทองพันชั่ง โดยสารสกัดทั้งสองมีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* เท่ากับ 62.5 mg/ml เมื่อนำสารสกัดทองพันชั่ง (95% ethanol) ผสมกับ zinc pyrithione พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 8.3 mg/ml ซึ่งเท่ากับ zinc pyrithione เพียงอย่างเดียว แสดงว่าสารสกัดทองพันชั่งไม่ลดทอนฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของ zinc pyrithione นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์แชมพูและโทนิกที่พัฒนาขึ้นโดยใช้สารสกัดทองพันชั่งผสมกับ zinc pyrithione มีความคงตัวทางกายภาพที่ทดสอบการทดสอบด้วย Heating-cooling cycling test ทั้งหมด 6 cycle สรุปได้ว่าสารสกัดใบทองพันชั่งมีคุณสมบัติในการเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บำรุงผมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเชื้อราเมื่อใช้ร่วมกับ zinc pyrithione และผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมีความคงตัวดี

คำสำคัญ: ทองพันชั่ง, *Malassezia furfur*, สารต้านอนุมูลอิสระ, แชมพู, โทนิكبํารุงผม

Abstract

This study was conducted to determine suitable *Rhinacanthus nasutus* leaf extracts for inhibiting fungal growth, exhibiting antioxidant activity, and developing stable hair care products. Extraction was performed using 95% ethanol and ethyl acetate via the maceration method. The 95% ethanol extract produced a higher yield ($8.23\% \pm 0.81$) and exhibited stronger antioxidant activity ($IC_{50} = 0.25$ mg/ml). LC-MS analysis revealed several classes of bioactive compounds, particularly naphthoquinones, which are known as key constituents of *R. nasutus*. Both extracts showed a minimum inhibitory concentration (MIC) of 62.5 mg/ml against *Malassezia furfur*. When the 95% ethanol extract was combined with zinc pyrithione, the MIC remained at 8.3 mg/ml, identical to that of zinc pyrithione alone, indicating that the extract did not interfere with its antifungal efficacy. Furthermore, shampoo and tonic formulations containing the *R. nasutus* extract in combination with zinc pyrithione exhibited good physical stability throughout six cycles of the heating-cooling test. These findings suggest that *R. nasutus* leaf extract possesses potential as an active ingredient in hair care formulations, providing antioxidant and antifungal benefits while maintaining product stability.

Keywords: *Rhinacanthus nasutus*, *Malassezia furfur*, Antioxidant activity, Shampoo, Hair tonic

หลักการและเหตุผล (Introduction)

หลังการระบาดของโรคโควิด-19 ผู้บริโภคให้ความสำคัญกับสุขภาพและสมุนไพรมากขึ้น ส่งผลให้ตลาดสมุนไพรไทยมีเติบโตต่อเนื่องในหลายอุตสาหกรรม โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผมและหนังศีรษะ เนื่องจากผู้บริโภคจำนวนมากประสบปัญหารังแค หนังศีรษะแห้งลอก และการระคายเคือง ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อ *Malassezia furfur* สาเหตุสำคัญของรังแค ส่งผลให้ความต้องการผลิตภัณฑ์จากสารสกัดธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและอ่อนโยนต่อหนังศีรษะเพิ่มสูงขึ้น แม้ตลาดสมุนไพรไทยจะเติบโตต่อเนื่องแต่ยังขาดการวิจัยเพื่อพัฒนาสู่ผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ การศึกษานี้จึงมุ่งศึกษาฤทธิ์ของทองพันชั่ง สมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณหลากหลายและปลอดภัย เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผมและหนังศีรษะจากธรรมชาติ

ทองพันชั่ง หรือในชื่อพื้นถิ่นว่า ทองคันชั่ง เป็นพืชในวงศ์ ACANTHACEAE มีการใช้มาตั้งแต่โบราณในการรักษาโรคผิวหนัง โดยมีสารสำคัญอย่าง Rhinacanthins พบมากในส่วนรากและใบ (Siripong et al., 2006) ซึ่งมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระซึ่งจะช่วยลดการถูกทำลายของโปรตีนในเส้นผม ทำให้ผมเปราะขาดง่าย ปกป้องการสูญเสียในเส้นผม และป้องกันการเกิดผมขาวก่อนวัย (Fernández et al., 2012) และฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยเฉพาะเชื้อ *Malassezia spp.* ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของรังแคและปัญหาหนังศีรษะอื่น ๆ

ในการทดลองก่อนหน้าสกัดด้วย ethyl acetate จะให้ปริมาณ rhinacanthin-c สูง แต่ละลายน้ำยาก จึงมีฤทธิ์ด้อยกว่าสารมาตรฐาน ketoconazole และ zinc pyrithione (Wisuitiprot, 2012) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งหาวิธีสกัดที่ให้สารสำคัญที่ละลายได้ดี เพื่อให้แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ดี และนำไปพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์บำรุงผมร่วมกับ zinc pyrithione พร้อมทดสอบความคงตัว เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคยุคใหม่

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. การสกัดใบทองพันชั่ง

ผู้วิจัยได้ดัดแปลงวิธีการเตรียมใบทองพันชั่งมาจากการงานวิจัยก่อนหน้าของ Wisuitiprot (2012) โดยนำใบทองพันชั่งสดไปล้าง ตากแห้ง และบดละเอียด แล้วแช่ใน 95% ethanol และ ethyl acetate อัตราส่วน 1:3 นาน 3 วัน พร้อมเขย่าที่ความเร็ว 125 รอบต่อนาที จากนั้นกรองและระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเร็ว 100 rpm จนน้ำหนัคงที่ แล้วจึงคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้

2. การวิเคราะห์ด้วย LC-MS

ผู้วิจัยได้ดัดแปลงการวิเคราะห์ด้วย LC-MS มาจากการงานวิจัยก่อนหน้าของ Sheikh and Reshi (2020) โดยชั่งสารสกัดทองพันชั่ง 5 mg ละลายในตัวทำละลาย 5 ml (ใช้ methanol สำหรับสารสกัดด้วย ethyl acetate และ 95% ethanol สำหรับสารสกัดด้วย 95% ethanol) จากนั้นเจือจาง 10 เท่า แล้วกรองด้วย syringe filter ขนาด 0.22 µm วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Agilent UHPLC 1290 Infinity II เชื่อมต่อกับเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ Agilent 6545B Q-TOF ที่ติดตั้งระบบไอออไนซ์แบบ Dual AJS ESI ในโหมดประจุลบ (negative mode) ใช้คอลัมน์ Agilent Poroshell EC-C18 (2.1 × 150 มม. ขนาดอนุภาค 2.7 ไมโครเมตร) ตัวพาเคลื่อนที่ประกอบด้วย (A) กรดฟอร์มิก 0.1% ในน้ำ และ (B) กรดฟอร์มิก

0.1% ในอะซีโตไนไตรล์ การเก็บข้อมูลทำในช่วงมวล m/z 1100 ที่อัตราการสแกน 3 สเปกตรатоต่อวินาที โดยใช้ค่าพลังงานชนคงที่ที่ 10, 20 และ 40 eV

3. วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ผู้วิจัยได้ดัดแปลงการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มาจากงานวิจัยก่อนหน้าของ Yaowachai, Luecha, and Taratima (2023) โดยเตรียมสารละลาย DPPH 8 mg ใน 95% ethanol 50 ml เก็บในที่มืด สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ ascorbic acid ความเข้มข้น 0.001–0.01 mg/ml จากสารละลายเริ่มต้น 0.1 mg/ml ทำซ้ำ 5 ครั้ง สำหรับสารสกัดทองพันชั่งทั้งจาก ethyl acetate และ 95% ethanol เตรียมที่ 1 mg/ml แล้วเจือจางเป็น 0.05–0.5 mg/ml ทำซ้ำ 5 ครั้ง จากนั้นเติม DPPH และบ่มในที่มืด 30 นาที วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 nm. นำข้อมูลจาก ascorbic acid สร้างกราฟมาตรฐาน และข้อมูลจากสารสกัดใช้คำนวณค่า ascorbic acid equivalent โดยรายงานผลเป็นค่า IC_{50}

4. การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur*

ผู้วิจัยได้ดัดแปลงการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* มาจากงานวิจัยก่อนหน้าของ Rodríguez-Tudela et al. (2003) โดยเตรียมสารสกัดทองพันชั่ง (ที่สกัดจาก 95% ethanol และ ethyl acetate) ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 500 mg/ml สำหรับสารสกัด 95% ethanol ผสม zinc pyrithione ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 mg/ml ละลายใน 95% ethanol และกรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.2 μ m แล้วเจือจางแบบ 2-fold serial dilution ใช้ ketoconazole เป็น positive control หลังจากนั้นเติมเชื้อ *M. furfur* เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 °C นาน 3-5 วัน และอ่านค่า MIC โดยสังเกตหลุมที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ (ใส ไม่มีตะกอนที่ก้นหลุม)

5. การตั้งสูตรตำรับ

5.1 การตั้งสูตรตำรับแชมพู

เริ่มจากการตั้งสูตรตำรับพื้นแชมพูและใส่สารสกัดทองพันชั่งลงไปในสูตรตำรับพื้นแชมพูที่เหมาะสม โดย part A กระจาย acrylates copolymer ในน้ำ ผสมกับ sodium laureth sulfate แล้วปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 6.2-6.6 และนำไปให้ความร้อน part B ผสมส่วนผสมต่าง ๆ ให้เข้ากัน part C ละลายสารสกัดทองพันชั่งใน polysorbate 20 part D กระจาย zinc pyrithione ในน้ำ part E กระจาย polyquaternium-10 ในน้ำ เมื่อเตรียมครบ เติม part B ลงใน part A และผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนเย็นแล้วเติม part C, D และ E ลงไป คนผสมให้เข้ากันแล้วเติม phenoxyethanol แต่งกลิ่นด้วย

น้ำหอมและบรรจุใส่ภาชนะ โดยปริมาณของส่วนผสมต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 1 (ใส่ zinc pyrithione ความเข้มข้นไม่เกิน 2% ตามข้อกำหนดของ FDA) จากนั้นประเมินสูตรตำรับแชมพูด้วยการวัดคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สังเกตลักษณะภายนอก วัด pH วัดสี และทดสอบเมื่อใช้กับปอยผม

ตารางที่ 1 สูตรตำรับแชมพู

Part	Ingredients	% w/w
A	Acrylates copolymer	1.5
	Water	qs to 100.0
	Sodium laureth sulfate	15.0
B	Cocamidopropyl betaine	10.0
	Coconut diethanolamide	5.0
	Ethylene glycol distearate (zoharpon EGDS-771)	3.0
	PEG-7 glyceryl cocoate	3.0
C	<i>Rhinacanthus nasutus</i> extract	1.0
	Polysorbate 20	2.0
D	Zinc pyrithione	1.0
	Water	qs
E	Polyquaternium-10	1.5
	Water	qs
F	Phenoxyethanol	1.0
G	Perfume	qs

5.2 การตั้งสูตรตำรับโชนิก

เริ่มจากการตั้งสูตรตำรับพ่นโชนิกและใส่สารสกัดทองพันชั่งลงไปในสูตรตำรับพ่นที่เหมาะสมผสมสารต่าง ๆ ใน part A, B และ C ให้เข้ากัน จากนั้นผสม part A, B และ C เข้าด้วยกันและเติม part D, E และ F จากนั้นปรับ pH ให้ได้ 5.5 โดยปริมาณของส่วนผสมต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2 (ใส่ zinc pyrithione ความเข้มข้นไม่เกิน 0.5% ตามข้อกำหนดของ FDA) จากนั้นประเมินตำรับโชนิกด้วยการวัดคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สังเกตลักษณะภายนอก วัด pH วัดสี และทดสอบเมื่อใช้กับปอยผม

ตารางที่ 2 สูตรตำรับโชนิก

Part	Ingredients	% w/w
A	Zinc pyrithione	0.5
	Water	qs
B	<i>Rhinacanthus nasutus</i> extract	0.5
	95%Ethanol	65.0
C	Propylene glycol	6.0
	Polysorbate 20	5.0
	Citric acid	qs
	Water	qs to 100.0
D	Cyclotetrasiloxane and cyclopentasiloxane	1.0
E	Perfume	qs
F	Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl Butylcarbamate (and) Propylene Glycol	1.0

6. การประเมินความคงตัวของตำรับ

ทดสอบด้วยวิธี Heating-cooling cycling test โดยเก็บในอุณหภูมิ 4°C และ 45°C สลับกันเป็นเวลา 1 วัน ทำทั้งหมด 6 รอบ (Potduang et al., 2013) สังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ (การแยกชั้น เนื้อสัมผัส กลิ่น) ค่า pH ความหนืด (ใช้เข็มเบอร์ 4 ความเร็ว 30 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที) และวัดสีของผลิตภัณฑ์ด้วย colorimeter

ผลวิจัย (Results)

1. ร้อยละผลผลิต (percent yield)

การสกัดใบทองพันชั่งด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ 95% Ethanol และ Ethyl acetate ด้วยวิธี maceration ได้สารสกัดเหนียวข้นสีเขียวเข้ม มีกลิ่นเฉพาะตัว โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 8.23 ± 0.81 และ 4.24 ± 0.45 ตามลำดับ

2. ผลการวิเคราะห์ด้วย LC-MS

จากการวิเคราะห์สารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% ethanol และ ethyl acetate พบสารในกลุ่ม flavonoids, steroids, triterpenoids, benzenoids compounds และ naphthoquinone ดังตารางที่ 3 ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเดียวกับที่พบในงานวิจัยของ Bukke (2011) โดยสารในกลุ่มข้างต้นล้วนแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญครอบคลุมทั้ง antioxidant, anti-inflammatory และ antifungal (Panche et al., 2016) โดยพบว่า flavonoids โดดเด่นด้านการต้านอนุมูลอิสระและการอักเสบ triterpenoids เป็นกลุ่มสำคัญในการต้านการอักเสบที่ดีเยี่ยม (Li et al., 2022) และ naphthoquinones มีฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ดีที่สุด (Da Silva et al., 2018; Peng et al., 2020) โดยสารสกัดจาก ethyl acetate จะพบสารในกลุ่ม coumarins และ lignan เพิ่มเติม (Author A. & Author B., 2022; Author C. et al., 2020) แต่เนื่องจากสารสกัดทองพันชั่งที่นำไปทดสอบเป็นสารสกัดหยาบยังไม่ได้ทำให้บริสุทธิ์จึงทำให้ยังไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าพบสารตัวใดบ้าง

ตารางที่ 3 สารประกอบทางเคมีที่พบในทองพันชั่งจากการทบทวนวรรณกรรมและจากการวิเคราะห์สารตัวอย่าง

กลุ่มของสาร	ชื่อสารที่พบในสารตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	
		Ethyl acetate	Ethanol
Flavonoids	3',4',6'-Trihydroxy-2'-oxo-3',5'-diphenyldihydrochalcone	N/A	✓
	4'-Hydroxy-3,5,8,3'-tetramethoxy-7-prenyloxyflavone	✓	N/A
	3,5,8-Trimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7-prenyloxyflavone	✓	N/A
	Luteolin 7,3'-dimethyl ether 5-glucoside	N/A	✓
	Chapelieric acid methyl ester	✓	N/A
	Leucodelphinidin 3-O- α -L-rhamnopyranoside	✓	N/A
	Hydrocortisone	N/A	✓
Steroids	Asterosterol	N/A	✓
	11 α -Hydroxyandrost-1,4-diene-3,17-dione	N/A	✓
	4,4-Difluoropregn-5-ene-3,20-dione	N/A	✓
	Betavulgaroside II	N/A	✓
Triterpenoids	Tokoronin	✓	N/A
	Bruceantinol	N/A	✓
	Bruceine B	✓	N/A
	C25:2 6,7-Epoxy highly branched isoprenoid	✓	N/A
	Trichodermin	✓	N/A
	Glutinosone	✓	N/A
	(+)-cucurbitic acid	✓	N/A
Anthraquinones	N/A	N/A	N/A
Lignans	Magnoshinin	✓	N/A
	Arctiin	✓	N/A
Coumarins	trans-Grandmarin	N/A	✓
	3-(1,1-Dimethylallyl) herniarin	✓	N/A

Suberosin

N/A

✓

ตารางที่ 3 (ต่อ)

กลุ่มของสาร	ชื่อสารที่พบในสารตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	
		Ethyl acetate	Ethanol
Coumarins	4-Hydroxycoumarin	✓	N/A
	5-O-Methylumbelliferone	✓	N/A
Benzenoids compounds	2,4,5-Trimethoxy-1-allylbenzene	✓	✓
Naphthoquinone	Atovaquone	✓	✓
	2,3-Dehydrosalvixipone	✓	N/A

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ทำการวัดโดยใช้เครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 nm. ผลการทดลองพบว่าสารสกัดของพืชมังคุดที่สกัดด้วย 95% Ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดของพืชมังคุดที่สกัดด้วย Ethyl acetate ดังที่แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดของพืชมังคุด

Sample	DPPH radical scavenging activity		
	Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AAEAC) (mg)		IC ₅₀ (mg/ml)
	mg/g extract	mg/g dry sample	
95% Ethanol	25.99±2.31 ^a	2.13±0.20 ^a	0.25±0.01 ^a
Ethyl acetate	14.27±1.14 ^b	0.61±0.05 ^b	0.41±0.07 ^b

หมายเหตุ Mean±S.D. (n=3) ตัวอักษรยกที่แตกต่างกัน (a,b) ในคอลัมน์เดียวกัน แสดงถึงการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) independent t-test

4. ความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC)

จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* โดยวิธี broth microdilution พบว่า สารสกัดทองพันชั่งสกัดด้วย 95% ethanol และ ethyl acetate มีค่า MIC เท่ากันคือ 62.5 mg/ml ส่วนสารสกัดทองพันชั่ง 95% ethanol ผสมกับ zinc pyrithione และ zinc pyrithione เพียงอย่างเดียว ให้ค่า MIC เท่ากันคือ 8.3 mg/ml ดังตารางที่ 5 ซึ่งให้เห็นว่าสารสกัดทองพันชั่งไม่ลดฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *M. furfur* ของ zinc pyrithione

จากผลการทดลองหาค่า MIC ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและร้อยละผลผลิต พบว่าสารสกัดทองพันชั่งจาก 95% ethanol มีร้อยละผลผลิตและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดด้วย ethyl acetate จึงเหมาะต่อการพัฒนาในเชิงพาณิชย์ การนำสารสกัดทองพันชั่งมาผสมกับ zinc pyrithione ซึ่งเป็นสารที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อ *M. furfur* จะช่วยเพิ่มการบำรุงหนังศีรษะ ด้วยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบของทองพันชั่ง (Bukke et al., 2011) ซึ่งช่วยลดอาการคันและรังแค เสริมสร้างสุขภาพหนังศีรษะโดยรวม

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ของสารสกัดทองพันชั่ง

ตัวอย่าง	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ <i>Malassezia furfur</i> (mg/ml)
สกัดด้วย 95% ethanol	62.5
สกัดด้วย ethyl acetate	62.5
สกัดด้วย 95% Ethanol (conc. 2%) ผสมกับ	8.3
Zinc pyrithione (conc. 1.97%)	
Zinc pyrithione (conc. 1.97%)	8.3
Ketoconazole	0.004

5. การตั้งตำรับ

5.1 การตั้งสูตรตำรับแชมพู

ในการพัฒนาตำรับพื้นแชมพูในตารางที่ 6 พบว่าสูตร F4 เหมาะสมที่สุดจากการประเมินทางกายภาพ โดยมีฟองมากและคงตัว สามารถทำความสะอาดเส้นผมได้ดี ไม่ทิ้งความมัน และไม่ทำให้ผมแห้งกระด้าง อย่างไรก็ตามเมื่อนำสูตร F4 มาเติมสารสำคัญ พบการแยกชั้นของสารสกัด สารที่ให้ความเลือบมุกกระจายตัวไม่ดี และเนื้อแชมพูเหลวเกินไป จึงปรับปรุงสูตรโดยการเติม acrylates

copolymer เพื่อเพิ่มความหนืดและช่วยให้ส่วนผสมกระจายตัวได้ดีขึ้นและเติม polysorbate 20 เพื่อช่วยละลายสารสกัดในตำรับจนได้สูตรแชมพูที่ปรับปรุงตามสูตร F5

ตารางที่ 6 ส่วนประกอบของตำรับพื้นแชมพู

ส่วนประกอบ	% w/w				
	F1	F2	F3	F4	F5
Sodium laureth sulfate	15	20	25	15	15
Polyquaternium-10	0.5	0.5	0.5	1.5	1.5
Ethylene glycol distearate	3	3	3	3	3
Acrylates copolymer	-	-	-	-	1.5
Cocamidopropyl betaine	10	10	10	10	10
Coconut diethanolamide	5	5	5	5	5
Phenoxyethanol	1	1	1	1	1
PEG-7 glyceryl cocoate	3	3	3	3	3
Polysorbate 20	-	-	-	-	2
<i>Rhinacanthus nasutus</i> extract	-	-	-	-	1
Zinc pyrithione	-	-	-	-	1
Perfume	qs	qs	qs	qs	qs
Water	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100

5.2 การตั้งสูตรตำรับโทนิค

จากการตั้งตำรับพื้นโทนิคตามสูตร F1, F2 และ F3 ในตารางที่ 7 พบว่าสูตร F3 เหมาะสมที่สุดโดยเมื่อทดสอบกับปอยผมพบว่าไม่ทำให้ปอยผมแห้งขึ้นและไม่เกิดความเหนียวตักค้างอยู่บนเส้นผม จากนั้นนำสูตร F3 ไปพัฒนาต่อโดยใส่สารสำคัญและเพิ่มปริมาณของ cyclotetrasiloxane and cyclopentasiloxane ซึ่งทำให้ผมนุ่มลื่น ไม่เหนอะหนะจนได้เป็นสูตรโทนิค F4 ตามตารางที่ 8

ตารางที่ 7 สูตรตำรับโทนิค

ส่วนประกอบ	% w/w			
	F1	F2	F3	F4
95%Ethanol	65	70	75	75

Propylene glycol	5	5	6	6
Polysorbate 20	5	5	5	5
Cyclotetrasiloxane and cyclopentasiloxane	0.5	0.5	0.5	1

ตารางที่ 7 (ต่อ)

<i>Rhinacanthus nasutus</i> extract	-	-	-	0.5
Zinc pyrithione	-	-	-	0.5
Citric acid	qs	qs	qs	qs
Water	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100
Perfume	qs	qs	qs	qs
Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl	1	1	1	1
Butylcarbamate (and) Propylene Glycol				

6. การประเมินความคงตัวของตำรับ

จากการประเมินความคงตัวของตำรับแชมพูและโพนิกด้วยวิธี Heating-cooling cycling test (6 รอบ) พบว่าแชมพูมีลักษณะเป็นของเหลวชั้นสีเขียวขุ่น ค่า pH เปลี่ยนแปลงไม่เกิน ± 1.0 ตามมาตรฐานมอก. 2562 แต่ความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งอาจเกิดจากการพองตัวของโพลีเมอร์หรือสารในสารสกัดและสีเปลี่ยนโดยความสว่างลดลง สีเขียวเพิ่มขึ้น จากการออกซิเดชันของสารสกัดเมื่อสัมผัสแสง ส่วนโพนิกยังคงเป็นของเหลวสีเขียวยืดใส มีตะกอนสีขาว ค่า pH เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และมีแนวโน้มสีเขียวยืดและสีเหลืองเพิ่มขึ้นจากการออกซิเดชันเช่นเดียวกับแชมพู ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 8 การทดสอบความคงตัวของแชมพูทองพันชั่ง

cycle	pH	% Torque	cP	L*	a*	b*	dE*
0	6.34 $\pm$ 0.02	81.4 $\pm$ 0.2	5427 $\pm$ 8.0	53.85 $\pm$ 1.12	-0.70 $\pm$ 0.06	16.08 $\pm$ 0.93	-
1	6.23 $\pm$ 0.01*	97.3 $\pm$ 0.1*	6499 $\pm$ 6.12*	51.74 $\pm$ 0.23	-2.63 $\pm$ 0.01*	13.08 $\pm$ 0.02*	4.22
2	6.12 $\pm$ 0.06*	97.7 $\pm$ 0.2*	6512 $\pm$ 8.33*	50.82 $\pm$ 0.02*	-4.01 $\pm$ 0.01*	12.75 $\pm$ 0.02*	5.64
3	6.29 $\pm$ 0.03	86.5 $\pm$ 0.1*	5764 $\pm$ 6.01*	51.30 $\pm$ 0.05	-4.26 $\pm$ 0.02*	13.31 $\pm$ 0.03*	5.25
4	6.1 $\pm$ 0.04*	90.4 $\pm$ 0.1*	6030 $\pm$ 13.96*	50.69 $\pm$ 1.03	-4.50 $\pm$ 0.31*	12.78 $\pm$ 0.87	6.16
5	6.31 $\pm$ 0.03	94.3 $\pm$ 0.2*	6288 $\pm$ 7.69*	50.84 $\pm$ 0.29*	-4.78 $\pm$ 0.17*	12.78 $\pm$ 0.05*	6.12
6	6.31 $\pm$ 0.08	98.7 $\pm$ 0.2*	6574 $\pm$ 14.97*	52.18 $\pm$ 1.05	-4.55 $\pm$ 0.54*	7.34 $\pm$ 1.51*	11.86

หมายเหตุ Mean $\pm$ S.D. (n=3) สัญลักษณ์ * ในคอลัมน์เดียวกัน แสดงถึงการแตกต่างกันอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับ day 0 ($p < 0.05$) pair t-test

ตารางที่ 9 การทดสอบความคงตัวของโตนิกของพันทั้ง

cycle	pH	L*	a*	b*	dE*
0	5.71±0.04	38.64±0.24	0.20±0.11	0.44±0.08	-
1	5.85±0.03*	19.98±0.25*	-1.94±0.448*	3.00±0.77*	18.97
2	5.72±0.04	39.33±0.26*	-0.99±0.15*	0.75±0.18	1.42
3	5.88±0.01*	39.43±0.14*	-1.08±0.02*	0.80±0.09*	1.54
4	5.57±0.02*	39.39±0.13*	-1.06±0.04*	0.22±0.17	1.49
5	5.8±0.02*	38.08±1.01	-1.06±0.29*	0.51±0.25	1.50
6	5.81±0.02	22.68±0.86*	-1.54±0.60	2.23±0.73*	16.16

หมายเหตุ Mean±S.D. (n=3) สัญลักษณ์ * ในคอลัมน์เดียวกัน แสดงถึงการแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับ day 0 ($p < 0.05$) pair t-test

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ (Discussion and Suggestion)

จากการสกัดใบทองพันทั้งด้วย ethyl acetate และ 95% ethanol โดยวิธี maceration พบว่าการสกัดด้วย 95% ethanol ให้ผลผลิตสูงกว่าผลการทดลองของงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Onvimol, Onvimalab and Boohuad, 2021) เนื่องจากใช้ปริมาณตัวทำละลายมากกว่าและมีการเขย่าตลอดเวลา ทำให้การสกัดเข้าสู่สมดุลได้ช้ากว่า ผลการวิเคราะห์ด้วย LC-MS พบสารในกลุ่มเดียวกับที่รายงานไว้ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ ในการทดลองครั้งถัดไปควรทำให้สารสกัดบริสุทธิ์เพื่อระบุชนิดสารที่แน่ชัด การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay พบว่าสารสกัดจาก 95% ethanol มีฤทธิ์ดีกว่า ethyl acetate และควรทดลอง ABTS, FRAP และ TPC assays เพิ่มเติมยืนยันผล ในการทดสอบยับยั้งเชื้อ *M. furfur* ด้วยวิธี broth microdilution พบว่า ค่า MIC ของทั้งสองตัวทำละลายเท่ากัน และเมื่อผสมสารสกัดจาก 95% ethanol กับ zinc pyrithione พบว่าค่า MIC เท่ากับ zinc pyrithione เดียว แสดงว่าสารสกัดไม่ลดทอนประสิทธิภาพของ zinc pyrithione ควรทดลองเพิ่มโดยลดความเข้มข้นของ zinc pyrithione และใช้ microplate reader ในการอ่าน end point พร้อมทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อความน่าเชื่อถือและลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดจากการตัดสินใจด้วยสายตาในการอ่านผลจุดสุดท้ายของการยับยั้งเชื้อ เมื่อพัฒนาสูตรแชมพูและโตนิกที่มีส่วนผสมของสารสกัดทองพันทั้งและ zinc pyrithione แล้ว

ทดสอบความคงตัวด้วย Heating-cooling cycling test (6 cycles) พบว่าทั้งสองสูตรมีลักษณะทางกายภาพและ pH คงที่ สีใกล้เคียงกัน ความหนืดของแอมพูลเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับวันแรก

รายการอ้างอิง

- กระทรวงอุตสาหกรรม. (2558). *ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง ยกเลิกและกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม แอมพูล* (มอก. 162-2558) ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 (ตอนพิเศษ 76 ง). <http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2558/E/076/2.PDF>
- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (ม.ป.ป.). *คลังข้อมูลทางเภสัชกรรมสมุนไพร*. <https://medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/rhinacan.html>
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2562). *ระบบการจัดการคุณภาพสำหรับวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (SMEs)* (มอก. เอส 12-2562). <https://www.tisi.go.th/assets/website/pdf/tiss/12-2562.pdf>
- Al Ubeed, H. M. S., Bhuyan, D. J., Alsherbiny, M. A., Basu, A., & Vuong, Q. V. (2022). A comprehensive review on the techniques for extraction of bioactive compounds from medicinal cannabis. *Molecules*, 27(3), 604.
- An overview of coumarin as a versatile and readily accessible scaffold with broad-ranging biological activities. (2020). *Molecules*, 25(14), 3291.
- Biological functions of lignans in plants. (2022). *Molecules*, 27(6), 1845.
- Brimson, J. M., Prasanth, M. I., Malar, D. S., Brimson, S., & Tencomnao, T. (2020). *Rhinacanthus nasutus* “tea” infusions and the medicinal benefits of the constituent phytochemicals. *Nutrients*, 12(12), 3776.
- Bukke, S., Raghu, P. S., Sailaja, G., & Kedam, T. R. (2011). The study on morphological, phytochemical and pharmacological aspects of *Rhinacanthus nasutus* (L) kurz (A review). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(8), 26-32.
- Da Silva, D. A., Dos Santos, R. C., da Silva, L. V. L., & Sales, C. B. S. (2018). The antifungal activity of naphthoquinones: An integrative review. *Archives of Microbiology*, 202(2), 297-313.

- Fernández, E., Martínez-Teipel, B., Armengol, R., Barba, C., & Coderch, L. (2012). Efficacy of antioxidants in human hair. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 117, 146–156.
- Gupta, A. K., Batra, R., Bluhm, R., Boekhout, T., & Dawson Jr, T. L. (2004). Skin diseases associated with *Malassezia* species. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 51(5), 785-798.
- Li, F., Lu, J., Ma, W., & Zhang, J. (2022). Therapeutic capabilities of triterpenes and triterpenoids in immune and inflammatory processes: A review. *Journal of Functional Biomaterials*, 13(2), 58.
- Onvimol, N., Onvimala, N., & Boohuad, N. (2021). Evaluation of antimicrobial activity of *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz and *Acanthus ilicifolius* L. extracts. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science*, 14(3), 52-59.
- Panche, A. N., Diwan, D. A., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids a bioactive compound from medicinal plants and its therapeutic applications. *Journal of the Indian Society of Periodontology*, 20(4), 268–272.
- Panichayupakaranant, P., Charoonratana, T., & Sirikatitham, A. (2009). RP-HPLC analysis of rhinacanthins in *Rhinacanthus nasutus*: validation and application for the preparation of rhinacanthin high-yielding extract. *Journal of chromatographic science*, 47(8), 705-708.
- Potduang, B., Keeta, I., Wannaphatchaiyong, S., Saisin, W., & Fungsin, B. (2013). Development of shampoo comprising a mixed extract from fruits of *Phyllanthus emblica* and *Zanthoxylum limonella* for itchy scalp. *Thai Pharmaceutical Science*, 38(Suppl.), 218–220.
- Rodríguez-Tudela, J. L., Barchiesi, F., Bille, J., Chrissanthou, E., Cuenca-Estrella, M., Denning, D., Donnelly, J. P., Dupont, B., Fegeler, W., Moore, C., Richardson, M., Verweij, P. E., & Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2003). *Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC)*

by broth dilution of fermentative yeasts. EUCAST Discussion Document E. DIS 7.1, 9(8), PI–VIII.

- Shakya, K. (2015). *Preparation of standardized Rhinacanthus nasutus leaf extract by green extraction methods and evaluation of antifungal activity of its topical solution against trichophyton rubrum* (Doctoral dissertation). Prince of Songkla University.
- Sheikh, H. M., & Reshi, N. A. (2020). Characterisation of secondary metabolites from *Rhinacanthus nasutus* L. (Kurz) for the identification of novel antibacterial leads. *Tropical Biomedicine*, 37(3), 812–821.
- Siripong, P., Yahuaifai, J., Shimizu, K., Ichikawa, K., Yonezawa, S., Asai, T., ... & Oku, N. (2006). Antitumor Activity of Liposomal Naphthoquinone Esters Isolated from Thai Medicinal Plant: *Rhinacanthus nasutus* KURZ. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(11), 2279–2283.
- Teoh, E. S. (2015). Secondary metabolites of plants. In *Medicinal orchids of Asia* (pp. 59–73). Springer.
- Wisutitprot, W. (2012). Antifungal Activity of *Rhinacanthus nasutus* Extract against *Malassezia* sp. *Journal of Health Science*, 21(3), 521–528.
- Yaowachai, W., Luecha, P., & Taratima, W. (2023). *In vitro* callus induction and evaluation of antioxidant activity of *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz. *Biological Methods and Protocols*, 8(1), bpad019. <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpad019>