



# คู่มือองค์ความรู้/เทคโนโลยี

## การเตรียมยาทิงเจอร์และแชมพูจากสารสกัดทองพันชั่ง



รศ.ดร.ภก.ภาคภูมิ พาณิชยุปกรณ์นท์  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

พ.ศ. 2562

## คำนำ

คู่มือองค์ความรู้/เทคโนโลยี นี้จัดทำขึ้นเพื่อให้บุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมยาสมุนไพร ได้แก่ เภสัชกร และแพทย์แผนไทย ทั้งที่ปฏิบัติงานในโรงพยาบาล คลินิกแพทย์แผนไทย รวมถึงผู้ประกอบการผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร ได้ใช้ประโยชน์ในการนำไปใช้เตรียมสารสกัดของพืชมังคุด โดยใช้นวัตกรรมการสกัดสารที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมด้วยเครื่องไมโครเวฟ ซึ่งประหยัดพลังงาน เวลาและต้นทุนในการเตรียมสารสกัด และนำสารสกัดที่ได้ไปเตรียมยาทิงเจอร์ของพืชมังคุดและแชมพูจากสารสกัดของพืชมังคุด โดยในคู่มือองค์ความรู้/เทคโนโลยีนี้ประกอบด้วย องค์ความรู้ในการพัฒนาสารสกัดใบของพืชมังคุดเพื่อใช้รักษาโรคผิวหนัง วิธีการเตรียมสารสกัดใบของพืชมังคุดใน PEG400 สูตรตำรับยาทิงเจอร์ของพืชมังคุดและวิธีการเตรียมยา สูตรตำรับแชมพูจากสารสกัดใบของพืชมังคุดและวิธีการเตรียมแชมพู วิเคราะห์ปริมาณสาร rhinacanthins ด้วย HPLC รวมถึงเอกสารอ้างอิงสำหรับศึกษารายละเอียดที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติมต่อไป ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าคู่มือองค์ความรู้/เทคโนโลยีจะมีส่วนช่วยให้เภสัชกร และ แพทย์แผนไทย รวมถึงผู้ประกอบการผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเตรียมสารสกัดใบของพืชมังคุดที่มีคุณภาพ สำหรับใช้เตรียมยาทิงเจอร์ของพืชมังคุดและแชมพูจากสารสกัดใบของพืชมังคุด หรือนำไปประยุกต์ใช้ในการเตรียมสารสกัดและผลิตภัณฑ์จากสารสกัดของสมุนไพรชนิดอื่นต่อไป

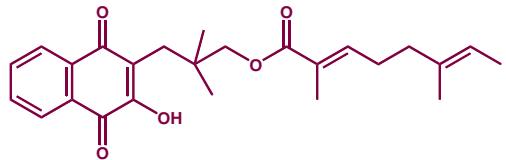
# สารบัญ

	หน้า
คำนำ	1
สารบัญ	2
การพัฒนาสารสกัดใบทองพันชั่งเพื่อใช้รักษาโรคผิวหนัง	3
วิธีการเตรียมสารสกัดใบทองพันชั่งใน PEG400	6
สูตรตำรับยาทิงเจอร์ทองพันชั่งและวิธีการเตรียมยา	7
สูตรตำรับแชมพูจากสารสกัดใบทองพันชั่งและวิธีการเตรียมแชมพู	9
วิธีวิเคราะห์ปริมาณสาร rhinacanthins ด้วย HPLC	11
เอกสารอ้างอิง	12

## การพัฒนาสารสกัดใบทองพันชั่งเพื่อใช้รักษาโรคผิวหนัง

หนึ่งยาไทยไม่เป็นสองทองพันชั่ง  
ใบมีสารสำคัญต้านเชื้อรา  
เป็นสารกลุ่ม “แนพโทควิโนน” นะ  
ชมพู-แดง ตามความเข้มที่มี

ดอกสะพรั่งสีขาวราวปักษะ  
มีนามว่า “โรนาแคนธิน-ซี”  
หากพบปะกับต่างจะให้สี  
กลากเคลื่อนหนีมลายไปเมื่อใช้ยา



โรนาแคนธิน-ซี (rhinacanthin-C)

### รูปที่ 1 ต้นทองพันชั่งและโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา

ผู้วิจัยได้เริ่มทำงานวิจัยสารสกัดใบทองพันชั่งเพื่อใช้รักษาโรคผิวหนังจากการติดเชื้อรา โดยศึกษาสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคกลาก และได้แยกสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อราจากใบทองพันชั่งได้ 3 ชนิด ได้แก่ rhinacanthin-C, rhinacanthin-D และ rhinacanthin-N<sup>1</sup> รวมถึงได้ศึกษาฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคเชื้อราที่ผิวหนัง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (*in vitro* และ *in vivo*)<sup>2,3</sup> และ ต้านการแพ้<sup>4</sup> ของ rhinacanthins ทั้งสามชนิด ทำให้ทราบว่าสาร rhinacanthins มีฤทธิ์ในการรักษาโรคเชื้อราที่ผิวหนังได้ครอบคลุมทั้งฤทธิ์ต้านเชื้อรา ต้านการอักเสบ และต้านการแพ้ โดยไม่ต้องพึ่งยา steroids เหมือนในยาแผนปัจจุบันหลายตำรับที่เป็นสูตรผสมของยาต้านเชื้อรากับยา steroid เช่น clotrimazole กับ betamethasone

จากนั้นได้สร้างวิธีการควบคุมคุณภาพสารสกัดใบทองพันชั่ง โดยการวิเคราะห์ ปริมาณสาร rhinacanthin-C, rhinacanthin-D และ rhinacanthin-N ด้วยวิธี HPLC และทำ method validation<sup>1</sup> และศึกษาวิจัยวิธีการเตรียมสารสกัดใบทองพันชั่งให้อยู่ ในรูปสารสกัดที่มี rhinacanthins ปริมาณสูง (rhinacanthins-rich extract) เพราะ การใช้สารบริสุทธิ์ rhinacanthins เป็นหนึ่งในข้อจำกัดของการพัฒนายาจากทองพันชั่ง ในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากสารบริสุทธิ์ rhinacanthins มีราคาแพง เพราะมีต้นทุน การผลิตสูงมาก เนื่องจากต้องใช้วิธีการแยกสารหลายขั้นตอนและได้สารบริสุทธิ์ปริมาณ น้อยมาก จากงานวิจัยดังกล่าวสามารถคิดค้นกรรมวิธีการเตรียมสารสกัดใบทองพันชั่งที่ มี rhinacanthins ปริมาณสูงด้วยวิธีการที่ง่ายโดยการนำสารสกัดมาแยกด้วยเรซินเพียง ขั้นตอนเดียว ทำให้ได้สารสกัดปริมาณมาก และเรซินที่ใช้สามารถนำกลับมาใช้แยกสาร ได้ใหม่หลายครั้ง ทำให้ผลิตสารสกัดได้ปริมาณมากและมีต้นทุนการผลิตต่ำ<sup>1</sup> โดยสาร สกัดที่ได้มี rhinacanthins รวมไม่น้อยกว่า 70% w/w และยังได้แสดงให้เห็นว่าสาร สกัดใบทองพันชั่งที่มี rhinacanthins ปริมาณสูงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา<sup>1</sup> ต้านอาการ ปวดและการอักเสบ (*in vivo*)<sup>3</sup> และ ต้านเชื้อแบคทีเรีย<sup>5</sup> ได้เทียบเท่าสารบริสุทธิ์ rhinacanthin-C รวมถึงได้ศึกษาความคงตัวของสารสกัดในสถานะต่างๆ<sup>5</sup> ทำให้ทราบ สถานะและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสารสกัดก่อนนำไปใช้ผลิตยาต่อไป

ในขณะเดียวกันได้ทำวิจัยเพื่อสร้างมาตรฐานวัตถุดิบทองพันชั่ง โดยสร้าง monograph ของวัตถุดิบใบทองพันชั่ง และศึกษาผลของฤดูกาลที่มีต่อการเก็บสะสม rhinacanthins ในส่วนใบ ลำต้น และรากของทองพันชั่ง ทำให้ทราบถึงส่วนของ ทองพันชั่งและฤดูกาลการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม ในการเตรียมวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ผลิต ยา รวมถึงได้ข้อมูลทีแสดงให้เห็นว่าวัตถุดิบทองพันชั่งในแต่ละครั้งมีความแปรปรวน ของปริมาณ rhinacanthins ซึ่งเป็นตัวยาสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการรักษาโรค<sup>6</sup> นอกจากนี้ ยังได้ทำวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนายาวัตถุดิบสมุนไพร โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยสร้างระบบรากเพาะเลี้ยงของทองพันชั่งที่สามารถสร้าง rhinacanthin-C ได้<sup>7</sup> เพื่อ เป็นแหล่งของวัตถุดิบสมุนไพรทองพันชั่งที่มีคุณภาพไว้ใช้ในอนาคต

ต่อมาได้พัฒนาวิธีการเตรียมสารสกัดจากใบทองพันชั่ง และ ตำรับยาทิงเจอร์ทองพันชั่ง ให้ได้ตำรับยาที่มีการควบคุมคุณภาพเชิงปริมาณสารสำคัญ และลดการระคายเคืองจากปริมาณแอลกอฮอล์ในยาทิงเจอร์ทองพันชั่ง ที่ระบุในบัญชียาหลักแห่งชาติ โดยใช้วิธีการสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (green extraction) และใช้ glycerin (ซึ่งมักใช้เป็นตัวทำละลายร่วมหรือสารให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังในตำรับยาน้ำใช้ภายนอก) เป็นตัวทำละลายร่วมในการสกัด rhinacanthins ทำให้ได้นวัตกรรมการเตรียมสารสกัดใบทองพันชั่งและสูตรตำรับยาน้ำใช้ทาเฉพาะที่ และได้ยื่นขอจดสิทธิบัตร<sup>8</sup> จากนั้นได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีของสิทธิบัตรดังกล่าวให้แก่โรงงานเภสัชกรรมทหาร และนวัตกรรมนี้ยังได้รับรางวัลเหรียญทอง<sup>9</sup> และรางวัลพิเศษ<sup>10</sup> จากการประกวดนวัตกรรมในงาน 27<sup>th</sup> International & Innovation Exhibition (ITEX 2016) ณ ประเทศมาเลเซีย ด้วย



และต่อมาได้พัฒนาวิธีการเตรียมสารสกัดใบทองพันชั่งใน PEG400 โดยการสกัดสารด้วยเครื่องไมโครเวฟ และใช้ polyethylene glycol 400 (PEG400) เป็นตัวทำละลายในการสกัดสาร รวมถึงได้พัฒนาสูตรตำรับยาทิงเจอร์ทองพันชั่ง และ แชมพูสารสกัดใบทองพันชั่ง เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีให้กับโรงพยาบาลและผู้ประกอบการโดยมีติดเรื่องสิทธิบัตรฉบับเดิม

## วิธีการเตรียมสารสกัดใบทองพันชั่งใน PEG400

1. ชั่งผงใบทองพันชั่ง 100 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 1 ลิตร เติม polyethylene glycol 400 (PEG400) 500 มิลลิลิตร จากนั้นคนให้เข้ากัน
2. นำ beaker ในข้อ 1 วางในเครื่องไมโครเวฟ (สกัดครั้งละ 3 beakers) ให้อยู่ในตำแหน่งที่สมมาตรกัน ใช้เครื่องไมโครเวฟที่มีกำลังไฟฟ้า 800-900 วัตต์ เปิดให้เครื่องทำงานนาน 4-5 นาที ควบคุมอุณหภูมิในการสกัดให้อยู่ในช่วง 70-80°C
3. นำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรองหยาบ จะได้สารสกัดใบทองพันชั่งใน PEG400 และนำไปวิเคราะห์ปริมาณ rhinacanthin-C ด้วย HPLC ต่อไป



รูปที่ 2 วิธีการเตรียมสารสกัดใบทองพันชั่งใน PEG400

## สูตรตำรับยาทิงเจอร์ทองพันชั่งและวิธีการเตรียมยา

ส่วนประกอบ (หน่วย)	หน้าที่ในตำรับ	ปริมาณ
1. สารสกัดใบทองพันชั่ง (มล.)	ตัวยาสำคัญ	ปริมาตรเทียบเท่า rhinacanthin-C 1 กรัม
2. Thymol (กรัม)	ต้านออกซิเดชั่น	0.5
3. Menthol (กรัม)	แต่งกลิ่น	1
4. Ethanol (มล.)	ตัวทำละลาย	200
5. Glycerin (มล.)	ตัวทำละลาย	200
6. Propylene glycol (มล.)	ตัวทำละลาย	100
7. Sod. EDTA (กรัม)	ต้านออกซิเดชั่น	0.5
8. Water (มล.)	ตัวทำละลาย	100
9. สารแต่งกลิ่น	แต่งกลิ่น	qs
10. Ethanol (มล.)	Vehicle	ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล.

### วิธีการเตรียมยา

1. ชั่งและตวงสารต่างๆ ตามสูตรตำรับในตาราง
2. นำสารในข้อ 2 และ 3 ละลายใน 4
3. นำสารในข้อ 5 และ 6 ละลายใน 1
4. นำสารในข้อ 7 ละลายใน 8
5. นำสารในข้อ 4 และ 8 ผสมกับ 1
6. แต่งกลิ่น และปรับปริมาตรด้วย ethanol จนครบ 1,000 มล.





รูปที่ 3 การเตรียมยาทิงเจอร์ทองพันชั่ง

## สูตรตำรับแชมพูจากสารสกัดใบทองพันชั่งและวิธีการเตรียมแชมพู

ส่วนประกอบ	% โดยน้ำหนัก	หน้าที่ในตำรับ
1. purified Water	39.0	solvent
2. polyquaternium-10	0.4	hair conditioning
3. Texapon N40 (27%)	25.0	surfactant
4. disodium laureth sulfosuccinate (39%)	5.0	surfactant
5. Dehyton K (30%)	10.0	surfactant
6. Comperlan KD	4.0	foam boosting
7. Cetiol HE	3.0	surfactant
8. dimethicone PEG-7 cocoate	3.0	hair conditioning
9. olive Oil PEG-7 Esters	1.0	hair conditioning
10. hydrolyzed protein	1.0	hair conditioning
11. panthenol	0.5	hair conditioning
12. glycerin	3.0	humectant
13. สารสกัดทองพันชั่งใน PEG400	4.0	active ingredient
14. S&M isothiazolinone	0.08	preservative
15. disodium EDTA	0.05	antioxidant
16. citric Acid (to pH 6)	0.05	pH adjuster
17. สารแต่งกลิ่น	qs.	perfuming
18. สีเขียวขี้ม้า (Winner)	qs	colorant

### วิธีการเตรียมแชมพู

1. ชั่งน้ำหนักภาชนะที่ใช้ในการเตรียม จดบันทึกน้ำหนัก
2. ชั่งสารต่างๆ ตามสูตรตำรับในตาราง

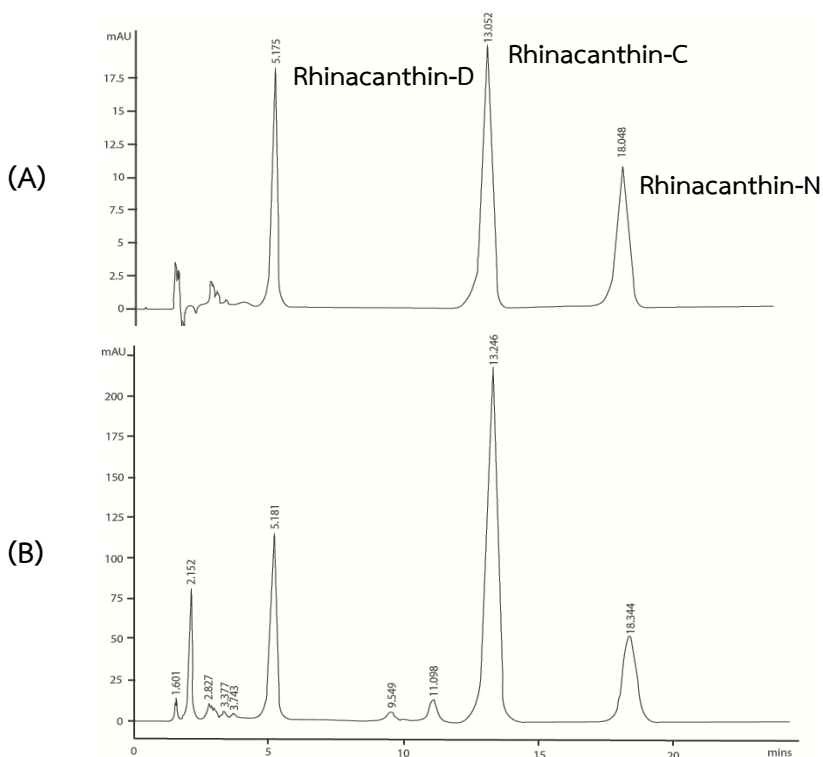
3. เติม polyquaternium-10 ในน้ำ 35 กรัม คนเบาให้เข้ากัน รอสักครู่ polyquaternium-10 จะละลายในน้ำ และได้สารละลายใสชั้นหนืด
4. เติมสารอื่นๆ ตามลำดับ (3-14) โดยคนเบา ผสมให้เข้ากันทุกครั้งก่อนเติมสารถัดไป เพื่อลดการเกิดฟองอากาศ (เติม Texapon N40, disodium laureth sulfosuccinate, Dehyton K, Comperlan KD, Cetiol HE, dimethicone PEG-7 cocoate, olive Oil PEG-7 esters, hydrolyzed protein, panthenol, glycerin, สารสกัดทองพันชั่งใน PEG400, S&M isothiazolinone
5. เติมสารละลาย disodium EDTA และ citric acid ซึ่งละลายในน้ำ 4 กรัม ผสมให้เข้ากัน
6. เติมสารแต่งกลิ่นและสารแต่งสี ผสมให้เข้ากัน
7. ชั่งและปรับน้ำหนักรวมเป็น 100 กรัม ด้วยน้ำ



รูปที่ 4 การเตรียมแชมพูสารสกัดใบทองพันชั่ง

## วิธีวิเคราะห์ปริมาณสาร rhinacanthins ด้วย HPLC

ใช้วิธี reverse phase HPLC เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ rhinacanthin-C ในสภาวะ HPLC ดังต่อไปนี้ TSK-gel ODS-80 Tscolumn (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 x 150 mm) ที่ 25°C ใช้ me-thanol และ 5% aqueous acetic acid (80:20, v/v) เป็น mobile phase. Flow rate 1.0 ml/min, Injection volume 20  $\mu\text{L}$  และ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 254 nm



รูปที่ 5 HPLC chromatograms ของสารมาตรฐาน rhinacanthins (A) และสารสกัดใบทองพันชั่ง (B)

## เอกสารอ้างอิง

1. Panichayupakaranant, P., Charoonratana, T. and Sirikatitham, A. 2009. RP-HPLC analysis of rhinacanthins in *Rhinacanthus nasutus*: validation and application to preparation of rhinacanthin high-yielding extract. *Journal of Chromatographic* 47: 705-708.
2. Tewtrakul, S., Tansakul, P. and Panichayupakaranant, P. 2009. Effects of rhinacanthins from *Rhinacanthus nasutus* on nitricoxide, prostaglandin E2 and tumor necrosis factor-alpha releases using RAW264.7 macrophage cells. *Phytomedicine* 16: 581-585.
3. Bhusal, N., Panichayupakaranant, P. and Reanmongkol, W. 2014. *In vivo* analgesic and anti-inflammatory activities of a standardized *Rhinacanthus nasutus* leaf extract in comparison with its major active constituent rhinacanthin-C. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 36: 325-331.
4. Tewtrakul, S., Tansakul, P. and Panichayupakaranant, P. 2009. Anti-allergic principles of *Rhinacanthus nasutus* leaves. *Phytomedicine* 16: 929-934.
5. Puttarak, P., Charoonratana, T. and Panichayupakarananta, P. 2010. Antimicrobial activity and stability of rhinacanthins-rich *Rhinacanthus nasutus* extract. *Phytomedicine* 17: 323-327.
6. Panichayupakaranant, P., Chatkrapunt, U. and Supavita, T. 2006. Pharmacognostic and chemical studies on the leaves of *Rhinacanthus nasutus*. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine* 10: 1-5.

7. Panichayupakaranant, P. and Meerungrueang, W. 2010. Effect of medium composition and light on root and rhinacanthin formation in *Rhinacanthus nasutus* cultures. *Pharmaceutical Biology* 48: 1192-1197.
8. ภาควิชาเภสัชวิทยาและการแพทย์ และ Karun Shaky. 2558. คำขอจดสิทธิบัตร เรื่องกรรมวิธีการเตรียมสารสกัดใบทองพันชั่งที่มีไรนาแคนธิน-ซีและสูตรตำรับยาที่ใช้เฉพาะที่ที่มีส่วนผสมของสารสกัดดังกล่าว. เลขที่คำขอ 1501000440, วันที่ยื่นคำขอ 28 มกราคม 2558, เลขที่ประกาศโฆษณา 152291.
9. Panichayupakaranant, P. and Shaky, K. 2016. A topical solution for treatment of skin fungal infection made from *Rhinacanthus nasutus* leaf extract obtained from green extraction method. Gold Medal Award, 27<sup>th</sup> International Invention & Innovation Exhibition (ITEX 2016), Malaysia.
10. Panichayupakaranant, P. and Shaky, K. 2016. A topical solution for treatment of skin fungal infection made from *Rhinacanthus nasutus* leaf extract obtained from green extraction method. Special Prize from World Invention Intellectual Property Association, Taiwan, 27<sup>th</sup> International & Innovation Exhibition (ITEX 2016), Malaysia.