



ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดทองพันชั่งและประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับผม
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *RHINACANTHUS NASUTUS* EXTRACT AND
APPLICATIONS IN HAIR CARE PRODUCTS

ชนมน พรพินิจ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดทองพันชั่งและประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับผม
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *RHINACANTHUS NASUTUS* EXTRACT AND
APPLICATIONS IN HAIR CARE PRODUCTS

ชนมน พรพินิจ

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง



หน้าอนุมัติการค้นคว้าอิสระ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

การค้นคว้าอิสระเรื่องฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดทองพันชั่งและประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับผม

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

ผู้ประพันธ์ ชนมน พรพิณิจ

คณะกรรมการสอบ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ

ประธานกรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง

กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง

กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนตรา ศรีชะแย้ม

กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง)

คณบดี

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี รังสัจจิตรประภา)

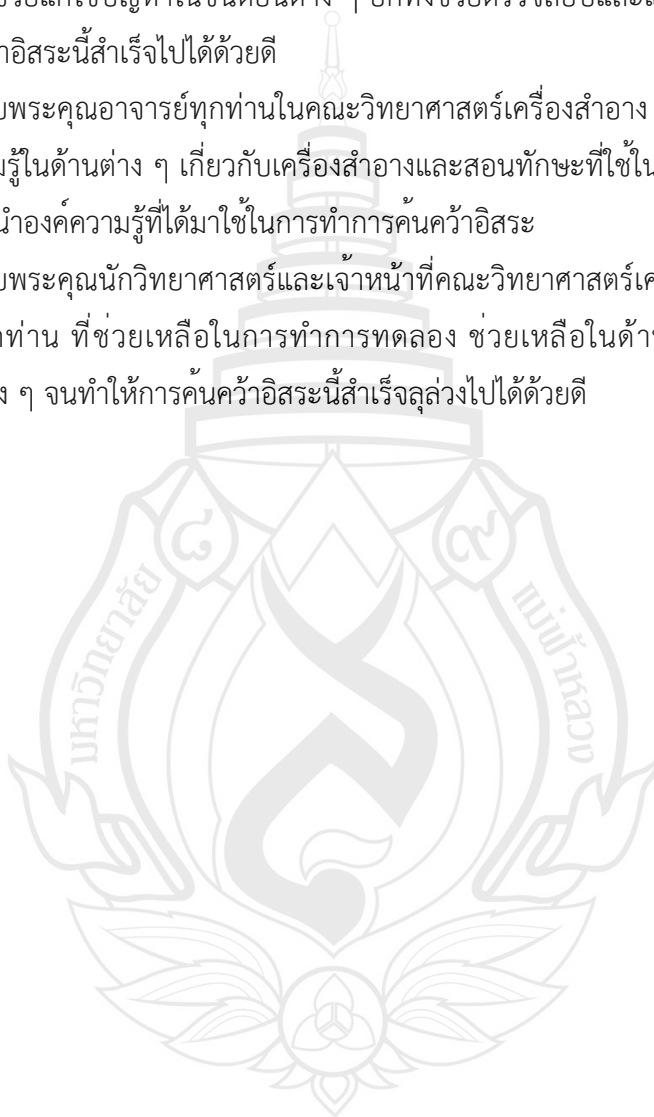
กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จได้ด้วยดีจากการสนับสนุนของหลายฝ่ายโดยเฉพาะได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา คือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สริตา สังข์ทอง ที่ช่วยให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ ช่วยแก้ไขปัญหาในขั้นตอนต่าง ๆ อีกทั้งช่วยตรวจสอบและแก้ไขข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้น ทำให้การค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในคณะวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่สอนองค์ความรู้ในด้านต่าง ๆ เกี่ยวกับเครื่องสำอางและสอนทักษะที่ใช้ในการทำการทดลอง ทำให้ผู้เขียนสามารถนำองค์ความรู้ที่ได้มาใช้ในการทำการค้นคว้าอิสระ

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงทุกท่าน ที่ช่วยเหลือในการทำการทดลอง ช่วยเหลือในด้านเอกสารและการติดต่อประสานงานต่าง ๆ จนทำให้การค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ชนมน พรพินิจ



ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดทองพันชั่งและประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับผม
ผู้ประพันธ์	ชนมน พรพินิจ
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบทองพันชั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผมที่มีความคงตัว สารสกัดจากใบทองพันชั่งถูกเตรียมโดยวิธี maceration ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และ 95% ethanol ผลการศึกษาพบว่าการสกัดด้วย 95% ethanol ให้ร้อยละผลผลิตสูงกว่า ($8.23\% \pm 0.81$) เมื่อเทียบกับ ethyl acetate ($4.24\% \pm 0.45$) การวิเคราะห์ด้วย LCMS พบสารประกอบ flavonoids, steroids, triterpenoids, anthraquinones, lignans, coumarins, benzenoids compounds และ naphthoquinone สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay สารสกัดจาก 95% ethanol แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.25 ± 0.01 mg/ml ในขณะที่สารสกัดจาก ethyl acetate มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.41 ± 0.07 mg/ml การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ด้วยวิธี broth microdilution พบว่า ทั้งสารสกัดจาก ethyl acetate และ 95% ethanol มีค่า MIC เท่ากัน คือ 62.5 mg/ml เมื่อนำสารสกัดทองพันชั่งจาก 95% ethanol ผสมกับ zinc pyrithione เทียบกับ zinc pyrithione เพียงอย่างเดียว พบว่ามีค่า MIC เท่ากัน คือ 8.3 mg/ml ซึ่งสรุปได้ว่า สารสกัดทองพันชั่งไม่รบกวนฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของ zinc pyrithione จากนั้นได้นำสารสกัดทองพันชั่งจาก 95% ethanol ที่ผสมกับ zinc pyrithione ไปพัฒนาเป็นสูตรตำรับแชมพูและโพนิก และทดสอบความคงสภาพด้วย Heating-cooling cycling test จำนวน 6 รอบ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า แชมพูและโพนิกทั้งสองตำรับมีลักษณะทางกายภาพและค่า pH คงที่ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนความแตกต่างของสีอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ อย่างไรก็ตาม แชมพูมีค่าความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับวันแรกที่ตั้งตำรับ สรุปได้ว่า สารสกัดใบทองพันชั่งมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บำรุงผม โดยมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ร่วมกับ zinc pyrithione และผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมีความคงตัวทางกายภาพที่ดี

คำสำคัญ: ทONGPANG, *Malassezia furfur*, สารต้านอนุมูลอิสระ, แชมพู, โทนิคบำรุงผม



Independent Study Title	Antifungal Activity of <i>Rhinacanthus Nasutus</i> Extract and Applications in Hair Care Products
Author	Chanamon Pornpinij
Degree	Master of Science (Cosmetic Science)
Advisor	Assistant Professor Sarita Sangthong, Ph. D.

ABSTRACT

This study aimed to identify suitable solvents for extracting *Rhinacanthus nasutus* leaves with antifungal activity, evaluate the antioxidant activity of the extracts, and develop stable hair care product formulations. *R. nasutus* leaf extracts were prepared by maceration using ethyl acetate and 95% ethanol as solvents. The results showed that the 95% ethanol extract yielded a higher percentage ($8.23\% \pm 0.81$) compared to the ethyl acetate extract ($4.24\% \pm 0.45$). LCMS analysis confirmed the presence of flavonoids, steroids, triterpenoids, anthraquinones, lignans, coumarins, benzenoids compounds, and naphthoquinone, consistent with literature reports. For antioxidant activity, the DPPH radical scavenging assay revealed that the 95% ethanol extract exhibited superior antioxidant activity with an IC₅₀ value of 0.25 ± 0.01 mg/ml, whereas the ethyl acetate extract had an IC₅₀ of 0.41 ± 0.07 mg/ml. Evaluation of antifungal activity against *Malassezia furfur* using the broth microdilution method showed that both ethyl acetate and 95% ethanol extracts had an identical Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 62.5 mg/ml, with ketoconazole serving as a standard control at 0.004 mg/ml. When a 95% ethanol extract of *Rhinacanthus nasutus* was combined with zinc pyrithione, the minimum inhibitory concentration (MIC) was found to be 8.3 mg/ml, which was identical to that of zinc pyrithione alone. This suggests that the *R. nasutus* extract does not diminish with the antimicrobial activity of zinc pyrithione. Subsequently, the 95% ethanol *R. nasutus* extract combined with zinc pyrithione was incorporated into shampoo and hair tonic formulations. Both formulations were subjected to a 6-cycle heating-cooling

stability test. The results demonstrated that both the shampoo and hair tonic maintained stable physical characteristics and pH values, without significant changes. The color difference was within an acceptable range. However, the shampoo exhibited a slight increase in viscosity compared to its initial formulation. In conclusion, *R. nasutus* leaf extract shows promising potential for development into hair care products, possessing notable antioxidant and *Malassezia furfur* inhibitory properties in combination with zinc pyrithione, along with good physical stability.

Keywords: *Rhinacanthus nasutus*, *Malassezia furfur*, Antioxidant Activity, Shampoo, Hair Tonic

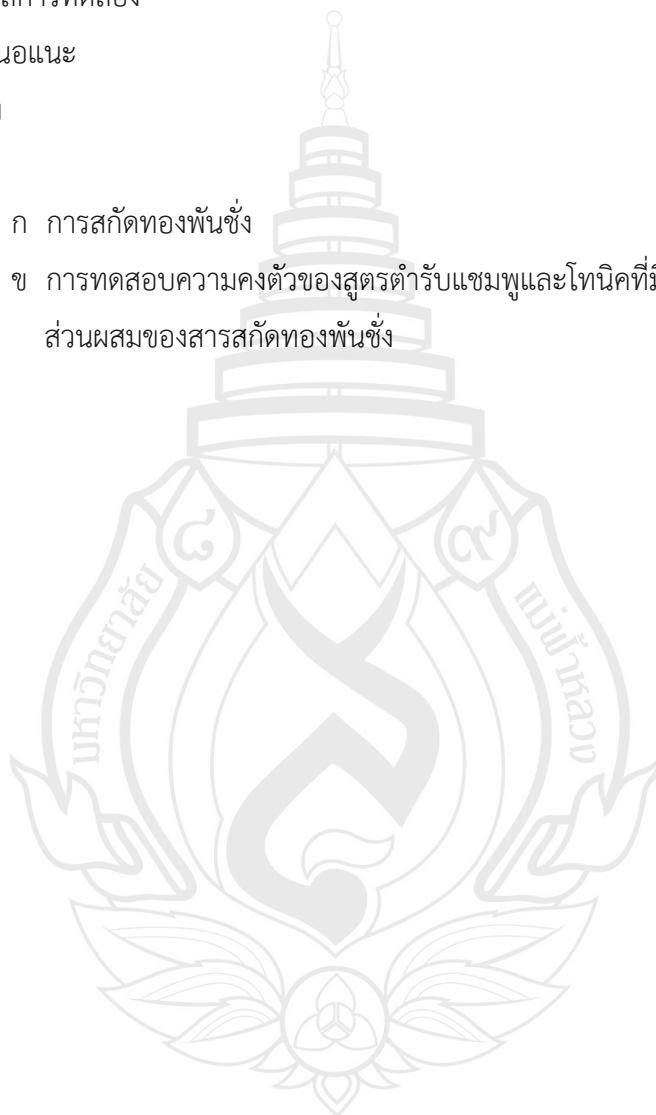


สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาปัญหาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 การทบทวนวรรณกรรม	4
3 ระเบียบวิธีวิจัย	17
3.1 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือ	17
3.2 วิธีการสกัด	19
3.3 การวิเคราะห์ LC-MS	19
3.4 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	19
3.5 วิธีการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ <i>Malassezia furfur</i> ในสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% Ethanol และ Ethyl Acetate	20
3.6 วิธีการหาการค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ <i>Malassezia furfur</i> ในสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% Ethanol ผสม Zinc Pyrithione และ Zinc Pyrithione	20
3.7 การตั้งสูตรตำรับ	21
3.8 การประเมินความคงตัวของตำรับ	23
4 ผลการทดลอง	25
4.1 ร้อยละผลผลิต	25
4.2 ผลการวิเคราะห์ด้วย LC-MS	25
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	28
4.4 ความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC)	29
4.5 การตั้งตำรับ	30
4.6 การประเมินความคงตัวของตำรับ	34

สารบัญ

บทที่	หน้า
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	36
5.1 สรุปผลการทดลอง	36
5.2 ข้อเสนอแนะ	37
รายการอ้างอิง	38
ภาคผนวก	41
ภาคผนวก ก การสกัดทองพันชั่ง	41
ภาคผนวก ข การทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับแชมพูและโพนิกที่มี ส่วนผสมของสารสกัดทองพันชั่ง	45



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 สารประกอบทางเคมีของทองพันชั่งและโครงสร้างของสาร	5
2.2 สารสำคัญในกลุ่ม naphthoquinone ที่พบในส่วนต่างๆของทองพันชั่ง	12
3.1 สูตรตำรับแชมพู	21
3.2 สูตรตำรับโชนิก	22
4.1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ	25
4.2 สารประกอบทางเคมีที่พบในทองพันชั่งจากการทบทวนวรรณกรรมและจากการวิเคราะห์สารตัวอย่าง	26
4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทองพันชั่ง	28
4.4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ <i>Malassezia furfur</i> ของสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% ethanol และ ethyl acetate	30
4.5 ส่วนประกอบของตำรับพื้นแชมพู	31
4.6 ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับพื้นแชมพู	31
4.7 ส่วนประกอบของแชมพู	32
4.8 ส่วนประกอบของตำรับพื้นโชนิก	32
4.9 ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับพื้นโชนิก	33
4.10 ส่วนประกอบของตำรับโชนิก	33
4.11 การทดสอบความคงตัวของแชมพูทองพันชั่ง	34
4.12 การทดสอบความคงตัวของโชนิกทองพันชั่ง	35

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ลักษณะของสมุนไพรทองพันชั่ง	4
2.2 โครงสร้าง Zinc pyrithione	13



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาปัญหาและความสำคัญ

ในปัจจุบันหลังจากการเกิดโรคระบาดโควิด-19 ผู้บริโภคส่วนใหญ่สนใจที่จะดูแลสุขภาพมากขึ้นและมีความสนใจในการเลือกใช้สมุนไพรเพิ่มขึ้นทั้งนำไปบริโภคสด ใช้ในทางอุตสาหกรรมผลิตเป็นอาหารเสริม รวมทั้งนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ทั้งยังมีการคาดการณ์ว่าตลาดสมุนไพรของไทยจะมีการเติบโตขึ้นทุกปีแต่ยังขาดการวิจัยและการพัฒนาเพื่อต่อยอดทางการค้า การศึกษานี้จึงสนใจในการนำทองพันชั่ง ซึ่งเป็นสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณหลากหลายและมีความปลอดภัยสูงมาศึกษาและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผมซึ่งน่าจะเป็นประโยชน์กับเกษตรกรและเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภคที่สนใจในสมุนไพรไทย

ทองพันชั่ง *Rhinacanthus nasutus* (L) Kurz หรือในภาษาถิ่นเรียกว่า ทองคันชั่ง หนุ่ยมันไก่ ทองพันชั่ง อยู่ในวงศ์ ACANTHACEAE เป็นไม้พุ่ม สูง 1-2 เมตร สามารถเจริญเติบโตได้ในเขตร้อนและกึ่งร้อน ในประเทศไทยสามารถปลูกได้ทุกภาค (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2565) โดยทองพันชั่งเป็นสมุนไพรไทยที่ใช้กันมาตั้งแต่สมัยโบราณในตำรายาไทยใช้ใบและรากทองพันชั่งเพื่อรักษาโรคผิวหนัง กลากเกลื้อน ผื่นคัน แก้มัน ในทองพันชั่งมีสารสำคัญ คือ flavonoids, steroids, terpenoids, anthraquinones, lignans โดยมี สาร rhinacanthins ซึ่งอยู่ในกลุ่ม naphthoquinone เป็นส่วนประกอบหลัก มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเซลล์มะเร็ง กระตุ้นภูมิคุ้มกันและปกป้องเซลล์ตับ (Bukke, 2021) ปัจจุบันมีงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ของทองพันชั่งในการต้านเชื้อรา พบว่าสารสกัดจากทองพันชั่งสามารถต้านเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophytes floccosum*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus niger*, *Malassezia furfur* และ *Malassezia globosa* โดยเชื้อ *Malassezia spp.* เป็นเชื้อที่พบได้ตามผิวหนังของคนทั่วไปเชื้อราชนิดนี้พบได้บ่อยในบริเวณผิวหนังที่มีต่อมไขมันมาก เช่น หน้า ต้นคอ หน้าอก และหลัง เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น เกลื้อน (*Tinea Vesicolor*) รังแค (*Dandruff*) โรคผิวหนังอักเสบ (*Seborrheic Dermatitis*) และ ผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (*Atopic dermatitis*) (Aditya, 2004)

มีการศึกษาพบว่าสารสกัดใบทองพันชั่งด้วย ethyl acetate จะให้ปริมาณสาร rhinacanthin-c ซึ่งเป็นสารสำคัญในการต้านเชื้อรา มีปริมาณมากที่สุด ในงานวิจัยต่อมาได้นำใบทองพันชั่งไปสกัดด้วย ethyl acetate แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราในกลุ่ม *Malassezia spp.* พบว่า สารสกัดไม่สามารถละลายน้ำได้อย่างสมบูรณ์แม้จะใช้ตัวทำละลาย เช่น propylene glycol, DMSO และ methanol ในการช่วยละลาย จึงส่งผลให้ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้ไม่ดีเท่าที่ควรเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานคือ ketoconazole และ zinc pyrithione ในการศึกษาจึงต้องการหาวิธีสกัดที่สามารถสกัดสารสำคัญในทองพันชั่งที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอย่างสมบูรณ์เพื่อที่จะแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อราได้อย่างเต็มประสิทธิภาพและนำสารสกัดที่ได้มาผสมกับ zinc pyrithione ตั้งตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผมและทดสอบความคงตัวของตำรับเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพและความคงตัว

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบทองพันชั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา
- 1.2.2 เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทองพันชั่งด้วยวิธี DPPH assay
- 1.2.3 เพื่อตั้งสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผมที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากใบทองพันชั่งผสมกับ zinc pyrithione ที่มีความคงตัวที่ดี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

สกัดสารที่ออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อราจากใบทองพันชั่ง โดยใช้ตัวทำละลาย คือ ethyl acetate และ 95% ethanol จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Malassezia furfur* และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay จากนั้นนำสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรามากที่สุดผสมกับ zinc pyrithione ใช้ในการตั้งตำรับบำรุงผมและทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์บำรุงผม

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบทองพันชั่งที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา
 - 1.4.2 ได้ทราบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทองพันชั่ง ที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay
 - 1.4.3 ได้ผลิตภัณฑ์บำรุงผมที่มีส่วนผสมของสารสกัดทองพันชั่งผสมกับ zinc pyrithione
- ที่มีความคงตัวดี



บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

1. ทองพันชั่ง



ที่มา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา (2024)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะของสมุนไพรทองพันชั่ง

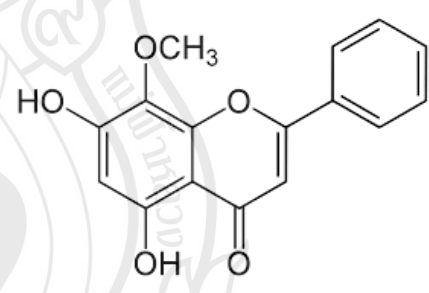
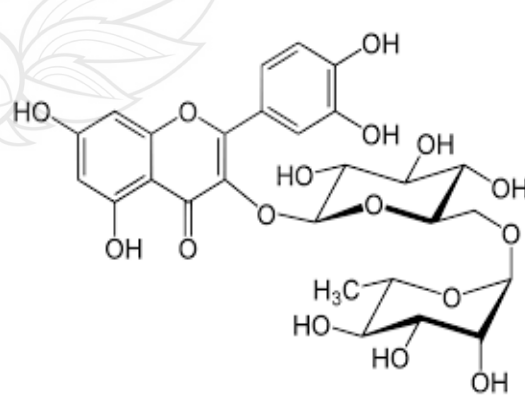
ทองพันชั่ง (ทองคันชั่ง หญ้ามันไก่ ทองพันชั่ง) ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz และชื่อสามัญคือ White crane flower เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ ACANTHACEAE มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ กระจายพันธุ์ในเขตร้อนและกึ่งร้อน ควรปลูกในพื้นที่ดอน น้ำไม่ท่วมขัง มีน้ำสำหรับรดน้ำได้ตลอดทั้งปี สามารถปลูกได้ในพื้นที่เชิงเขาหรือในป่าสวนซึ่งสามารถปลูกได้ในประเทศไทยทุกภาค การขยายพันธุ์ของทองพันชั่งจะใช้เมล็ดเพาะหรือใช้กิ่งปักชำ ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของทองพันชั่งเป็นไม้พุ่ม สูง 1-2 เมตร กิ่งอ่อนเป็นเหลี่ยม ส่วนโคนต้นเนื้อไม้เป็นแกนแข็ง ใบ เป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้ามกันรูปไข่ กว้าง 2-4 ซม. ยาว 4-8 ซม. ปลายใบแหลมเรียว โคนใบสอบ ขอบใบเรียบ แผ่นใบสีเขียวอ่อน ดอกออกเป็นช่อตามซอกใบ ดอกสีขาว กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 2 ปาก ปากล่างมีจุดประสีม่วงแดง ผลเป็นฝักเล็กพองแห้งแตกออกได้ ทองพันชั่งเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณหลากหลายที่ใช้ในตำรายาแผนโบราณ เช่น รากใช้รักษากลากเกลื้อน แก้โรคเรื้อน รักษาโรคมะเร็ง รักษาโรคผิวหนัง ดับพิษไข้ แก้พิษงู แก้พยาธิวงแหวนตาผิวหนัง ทั้งต้นใช้รักษาโรคผิวหนัง แก้น้ำเหลืองเสีย แก้กกลากเกลื้อน ผื่นคัน รักษาฝีเรื้อรัง คุชตะโรค ขับพยาธิ ตามผิวหนังตามบาดแผล แก้ไส้เลื่อน แก้ปัสสาวะผิดปกติ ส่วนต้นใช้เป็นยาบำรุงร่างกาย รักษาโรคผม

ร่วง ส่วนใบใช้ต้บพิษไข้ แก้กกลากเกลื้อน ผื่นคัน แก้โรคไขข้ออักเสบ รักษาโรคผิวหนัง รักษาโรคมะเร็ง รักษาโรคความดันโลหิตสูง แก้ผมหงอก บำรุงร่างกาย แก้ปวดฝี แก้พิษงู ถอนพิษ แก้อักเสบ รักษาโรคพยาธิวงแหวนตามผิวหนัง นอกจากนี้ยังมีตำราบางเล่มที่กล่าวถึงฤทธิ์ทางยาของทองพันชั่ง แต่ไม่ได้ระบุว่าใช้ส่วนใดของพืชในการรักษา เช่น รักษาโรคความดันโลหิตสูง รักษาโรคมะเร็ง เป็นยาอายุวัฒนะ แก้ผมหงอก รักษาโรคนี้่ว แก้เคล็ดขัดยอกชายโครง มือเคล็ด คอเคล็ด แก้มะเร็งในกระเพาะ แก้มะเร็งในคอ แก้มะเร็งในปาก แก้ไขเหนื่อ แก้จุกเสียด เป็นยาหยอดตา แก้ไอเป็นเลือด แก้ไข้ใน แก้นิ่ว แก้โรคผิวหนัง แก้มะเร็งในปอด อีกทั้งยังมีการใช้ทองพันชั่งผสมในตำรับยาร่วมกับสมุนไพรอื่น ๆ รักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง ริดสีดวงทวาร โรครูมาติซึม ขับปัสสาวะ วัณโรค

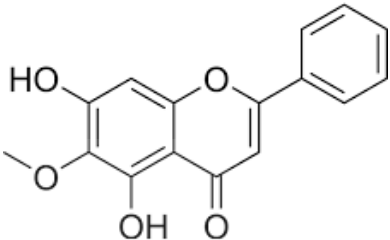
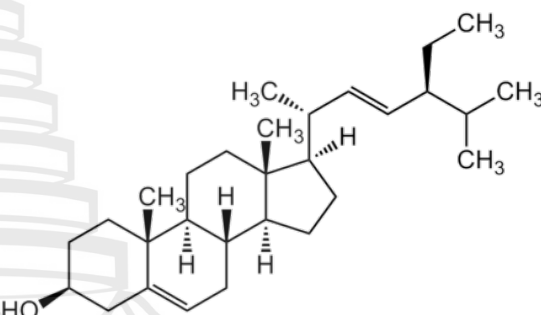
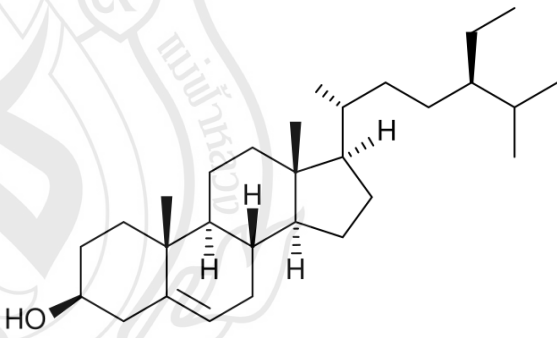
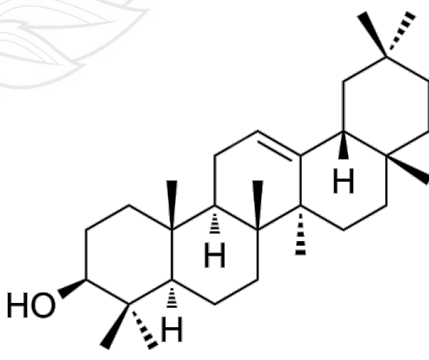
1) สารประกอบทางเคมีในพืช (Phytochemistry)

สารประกอบทางเคมีของทองพันชั่งพบว่ามีสารอยู่หลายกลุ่ม คือ flavonoids, steroids, triterpenoids, anthraquinones, lignans, coumarins และ benzenoids compounds

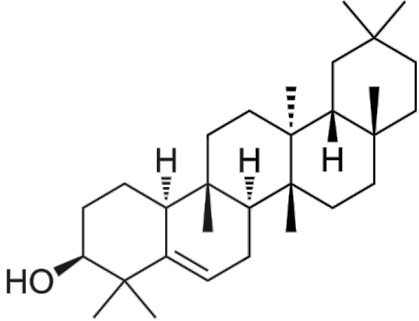
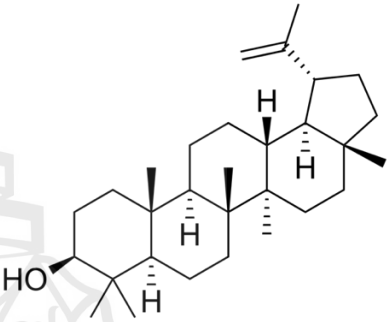
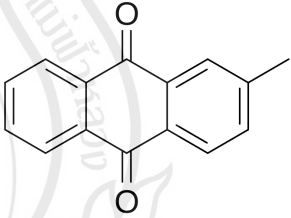
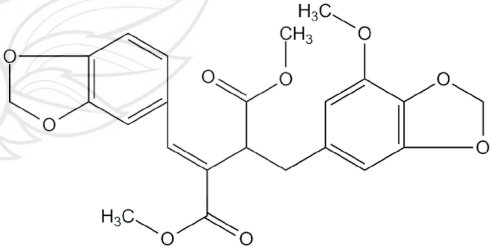
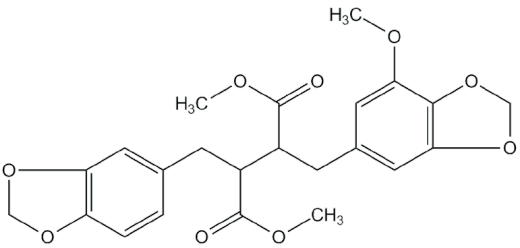
ตารางที่ 2.1 สารประกอบทางเคมีของทองพันชั่งและโครงสร้างของสาร

กลุ่มสาร	ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
flavonoids	wogonin	
	rutin	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

กลุ่มสาร	ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
flavonoids	oroxylin A	
steroids	stigmasterol	
	β -sitosterol	
triterpenoids	β - amyrin	

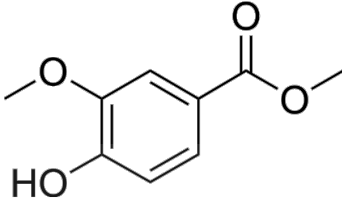
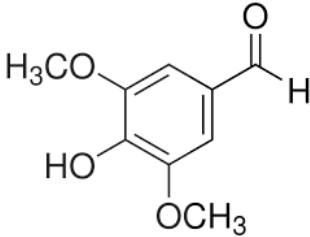
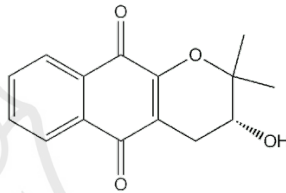
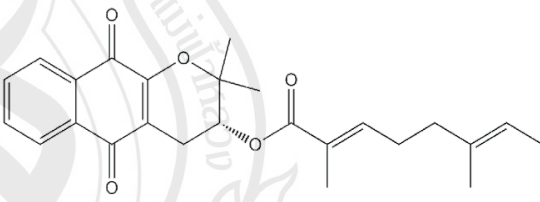
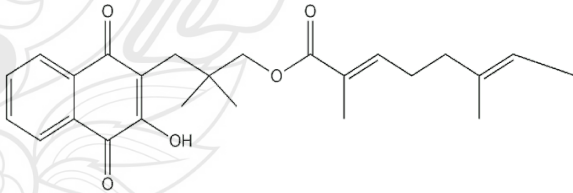
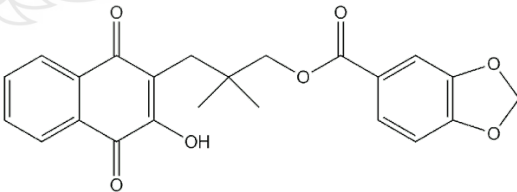
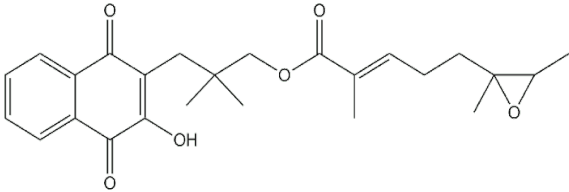
ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

กลุ่มสาร	ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
triterpenoids	glutinol	
	lupeol	
anthraquinones	12-methyl anthraquinone	
lignans	rhinacanthin E	
	rhinacanthin F	

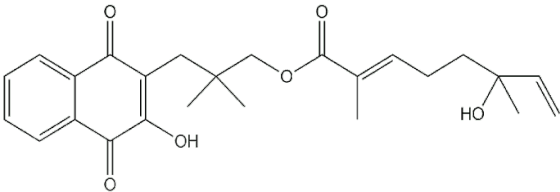
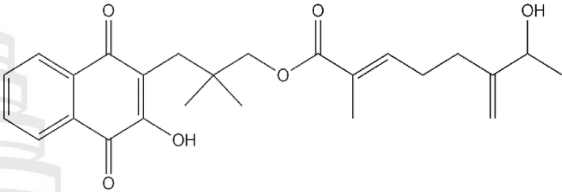
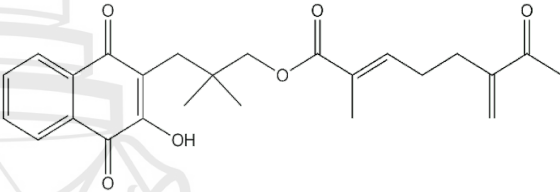
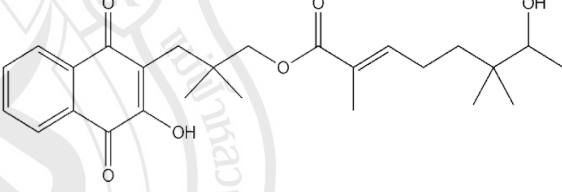
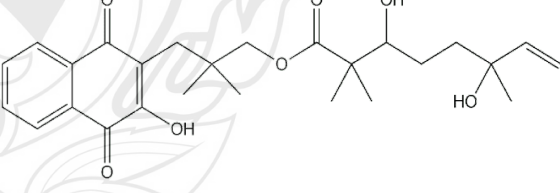
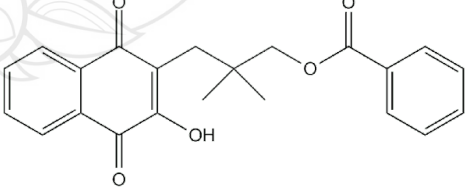
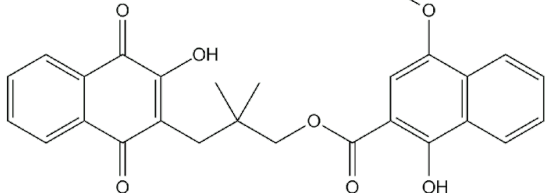
ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

กลุ่มสาร	ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
coumarins	umbelliferone	
	(+)-Praeruptorin A	
benzenoids compounds	p-hydroxy-benzaldehyde	
	vanillic acid	
	syringic acid	
	2 methoxy-propionolphenol	

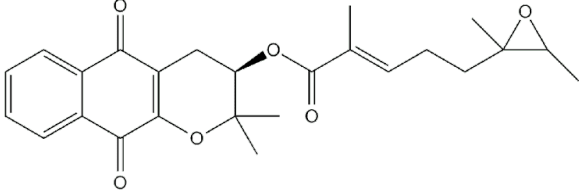
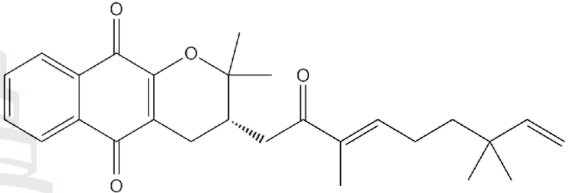
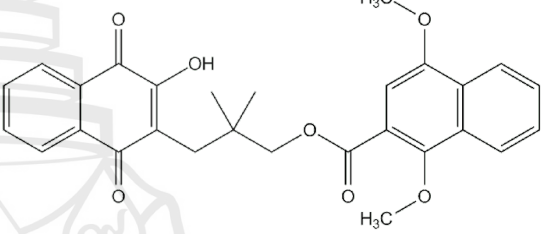
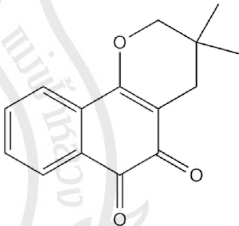
ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

กลุ่มสาร	ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
benzenoids compounds	methyl valinate	
	syringaldehyde	
naphthoquinone	rhinacanthin-A	
	rhinacanthin-B	
	rhinacanthin-C	
	rhinacanthin-D	
	rhinacanthin-G	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

กลุ่มสาร	ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
naphthoquinone	rhinacanthin-H	
	rhinacanthin-I	
	rhinacanthin-J	
	rhinacanthin-K	
	rhinacanthin-L	
	rhinacanthin-M	
	rhinacanthin-N	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

กลุ่มสาร	ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
naphthoquinone	rhinacanthin-O	
	rhinacanthin-P	
	rhinacanthin-Q	
	rhinacanthone	

ที่มา Bukke (2011)

2) สารไรนาแคนทิน (Rhinacanthin)

สารไรนาแคนทิน (rhinacanthin) เป็นสารในกลุ่ม naphthoquinone ester ซึ่งเป็นสารสำคัญหลักที่พบในทองพันชั่ง ประกอบด้วย rhinacanthin A, B, C, D, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P และ Q โดย rhinacanthin สามารถพบได้ในทุกส่วนของทองพันชั่งจะพบมากในส่วนรากและใบ แต่จะพบน้อยในส่วนลำต้น โดยจะพบสาร rhinacanthin c เป็นส่วนประกอบหลักของสารในกลุ่ม naphthoquinone ที่พบในทองพันชั่ง จากการศึกษาพบว่าเมื่อนำรากทองพันชั่งแห้ง 1.5 กิโลกรัม มาสกัดด้วย chloroform จะพบปริมาณ rhinacanthin C เท่ากับ 1.99 กรัม rhinacanthin N เท่ากับ 0.73 กรัม และ rhinacanthin Q เท่ากับ 0.58 กรัม (Siripong et al., 2006) และในการศึกษาที่นำใบทองพันชั่งแห้ง 200 กรัม นำไปสกัดด้วย ethyl acetate เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี จากนั้นนำไปทำให้บริสุทธิ์พบว่า ได้ปริมาณ rhinacanthin C เท่ากับ 450 มิลลิกรัม rhinacanthin N

เท่ากับ 14 มิลลิกรัม และrhinacanthin D เท่ากับ 25 มิลลิกรัม (Tewtrakul et al.,2009)

ตารางที่ 2.2 สารสำคัญในกลุ่ม naphthoquinone ที่พบในส่วนต่าง ๆ ของทองพันชั่ง

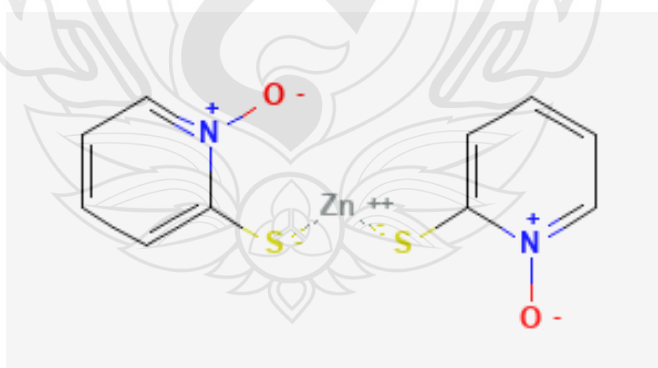
สารสำคัญ	ส่วนของพืชที่พบ
Rhinacanthin-A	ราก
Rhinacanthin-B	ราก
Rhinacanthin-C	ทั้งต้น
Rhinacanthin-D	ทั้งต้น
Rhinacanthin-G	ราก
Rhinacanthin-H	ราก
Rhinacanthin-I	ใบและราก
Rhinacanthin-J	ใบและราก
Rhinacanthin-K	ราก
Rhinacanthin-L	ราก
Rhinacanthin-M	ราก
Rhinacanthin-N	ใบและราก
Rhinacanthin-O	ราก
Rhinacanthin-P	ราก
Rhinacanthin-Q	ราก
Rhinacanthone	ใบและราก

ที่มา Karun (2015)

2. เชื้อ *Malassezia spp.*

Malassezia spp. เป็น Basidiomycete yeast ประกอบด้วย 14 สปีชีส์ คือ *M. globosa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. obtusa*, *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. japonica*, *M. yamatoensis*, *M. dermatis*, *M. nana*, *M. pachydermatis*, *M. caprae*, *M. equina* และ *M. cuniculi* โดยเชื้อ *Malassezia spp.* เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบได้ทั่วไปบนผิวหนังของคน และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคผิวหนังหลายโรคเช่น เกื้อื้อ (pityriasis versicolor) โรคผิวหนังอักเสบ (seborrheic dermatitis) รังแค (dandruff) และ โรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (atopic dermatitis) การติดเชื้อ *Malassezia spp.* มักจะเกิดขึ้นได้ในคนที่มีภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำเช่น คนที่ขาดสารอาหาร คีโมสุรา เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ พักผ่อนไม่เพียงพอ คนที่เป็นโรคเรื้อรัง โรคโลหิตจาง คนที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน หรือ ยาสเตียรอยด์ คนที่มีเหงื่อออกมาก เป็นต้น โดย *Malassezia furfur* เป็นเชื้อที่พบได้บ่อยในผิวหนังมนุษย์ และเป็นหนึ่งในสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดรังแคบนหนังศีรษะ เชื้อต้องการไขมันจากสิ่งแวดล้อมในการเจริญเติบโตหรือเป็น lipid-dependent species เชื้อจึงต้องหลั่งเอนไซม์ lipase ออกมาภายนอกเซลล์เพื่อย่อยไขมันที่อยู่บนผิวหนังให้อยู่ในรูปกรดไขมันซึ่งสามารถดูดซึมเข้าไปใช้ในเซลล์ โดยกรดไขมันจำนวนหนึ่งจะถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเชื้อ และบางส่วนซึมลงไปได้ผิวหนัง เมื่อเชื้อสร้างและหลั่งเอนไซม์ lipase มากขึ้น กรดไขมันบนหนังก็เพิ่มมากขึ้น ทำให้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อที่มีจำนวนมากกว่าปกติและกรดไขมันที่เพิ่มขึ้นนี้ บางส่วนอาจซึมลงสู่ผิวหนังชั้นล่างก่อให้เกิดอาการระคายเคืองและอักเสบได้ทำให้ skin barrier ถูกทำลายและสูญเสียหน้าที่ในเซลล์จึงเกิดรังแคขึ้น

3. Zinc pyrithione



ที่มา National Center for Biotechnology Information (2005)

ภาพที่ 2.2 โครงสร้าง Zinc pyrithione

Zinc pyrithione หรือชื่อตาม IUPAC คือ zinc; 1-oxidopyridin-1-ium-2-thiolate สูตรโมเลกุลคือ $(C_5H_4NOS)_2Zn$ มีลักษณะเป็นผงสีขาว การละลายของ zinc pyrithione ที่ 25 องศา

เซเลเนียม ใน ethanol, isopropanol, propylene glycol เท่ากับ 0.01%, 0.008%, 0.02% ตามลำดับ และมีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อยมาก คือ 0.0015% โดย zinc pyrithione เป็นสารที่ใช้กันมายาวนานกว่า 50 ปีในการรักษารังแค (dandruff) โรคต่อมไขมันอักเสบ (seborrheic dermatitis) และยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา โดยเป็นหนึ่งในสารที่ guideline แนะนำให้ใช้ในการรักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อ *Malassezia spp.* โดยกลไกที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา คือ zinc pyrithione จะไปปิดกั้น proton pump ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพและถูกทำลายไป นอกจากนี้ zinc pyrithione ยังสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดเช่น *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* เป็นต้น โดยปริมาณการใช้ zinc pyrithione ตามข้อบังคับขององค์การอาหารและยาของไทยและยุโรป คือ สามารถใช้ zinc pyrithione ความเข้มข้นไม่เกิน 2% ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้แล้วล้างออก เช่น สบู่ ยาสระผม ความเข้มข้นไม่เกิน 0.5% ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับผมแบบไม่ล้างออก เช่น โทนิค และใช้ความเข้มข้นไม่เกิน 0.25% ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับผิวหนังแบบไม่ต้องล้างออก เช่น ครีมบำรุงผิว ผลข้างเคียงในการใช้เช่น ผิวหนังไหม้ แสบ ลอก ซึ่งเกิดขึ้นได้น้อย อย่างไรก็ตามมี case report พบว่า เมื่อใช้แชมพูที่มีส่วนประกอบของ zinc pyrithione ความเข้มข้น 0.45% เกิดผื่นแพ้สัมผัสขึ้น

4. แชมพู

แชมพู หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับเส้นผม เพื่อทำความสะอาดเส้นผมและหนังศีรษะ ขจัดความมันและสิ่งสกปรกที่มาจากสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังเพิ่มกลิ่นหอมให้กับเส้นผม โดยมีส่วนประกอบหลักเป็นสารลดแรงตึงผิว มักจะอยู่ในรูปของเหลวหรือของเหลวหนืดที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น โดยจะมีความเป็นกรดอ่อน ๆ pH ประมาณ 5.5-6.5 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ,2558) ในปัจจุบันยังมีแชมพูที่ใช้ในวัตถุประสงค์ที่เฉพาะเจาะจงโดยใส่ส่วนผสมต่าง ๆ เช่น ลดอาการผมร่วง ลดรังแค ลดอาการอักเสบของหนังศีรษะ

1) หน้าที่และคุณสมบัติแชมพู

- ก. สามารถทำความสะอาดหนังศีรษะและเส้นผมได้เป็นอย่างดี
- ข. ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อหนังศีรษะ ผิวหนัง และตา
- ค. ทำให้เส้นผมนุ่มลื่น เงางาม
- ง. ทำให้เกิดฟองในปริมาณพอเหมาะและฟองมีความคงตัวดี
- จ. ล้างออกได้ง่ายโดยน้ำธรรมดา และน้ำกระด้าง
- ฉ. มีกลิ่นหอม
- ช. มีความคงตัวดี

2) แชมพู ประกอบด้วย ส่วน ประกอบ หลัก 3 ชนิด คือ

- ก. สารลดแรงตึงผิวหลัก (Primary surfactants) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ

มักจะใช้เป็นสารชำระล้างในสบู่ ยาสระผม น้ำยาล้างจาน เช่น สารในกลุ่ม alkylbenzene sulfonates, alkyl sulfates, alkyl ether sulfates และ soaps โดยมีข้อดี คือ สามารถชำระล้างได้ดี เกิดฟองเยอะ ราคาถูก แต่มีข้อเสียคือ ทำให้เกิดความแห้งบนผิวหนังหรือเส้นผม

ข. สารช่วยลดแรงตึงผิว (Auxiliary or secondary surfactants) เป็นสารที่ช่วยในการทำความสะอาด เพิ่มฟอง และไม่ทำให้เกิดความแห้ง มักจะเป็นสารในกลุ่ม amphoteric surfactants และ non-ionic surfactants

ค. สารเสริมผลิตภัณฑ์แชมพู (Shampoo additives) เป็นสารที่ช่วยเสริมให้แชมพูมีคุณสมบัติตามที่ต้องการ เช่น สารแต่งสี สารแต่งกลิ่น สารเพิ่มความหนืด สารที่ทำให้ทึบ สารช่วยทำให้เกิดฟอง สารช่วยปรับสภาพผม เป็นต้น

3) ประเภทของแชมพูแบ่งออกเป็นหลายประเภทเหมาะกับผมในลักษณะที่แตกต่างกัน

ก. Everyday shampoo เป็นแชมพูที่เหมาะสมสำหรับทุกสภาพผม มีส่วนผสมที่ไม่ซับซ้อน สามารถขจัดความมันและสิ่งสกปรกบนเส้นผมและหนังศีรษะได้ มีส่วนผสมที่ช่วยในการบำรุง และเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับเส้นผมและหนังศีรษะเล็กน้อย

ข. Clarifying shampoo เป็นแชมพูที่เหมาะสมสำหรับผมที่ใช้ผลิตภัณฑ์เคมีจำนวนมาก โดยแชมพูจะมีคุณสมบัติขจัดสิ่งสกปรกได้อย่างล้ำลึก ดังนั้นควรใช้ร่วมกับ conditioner และควรใช้ไม่เกินสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

ค. Anti-breakage shampoo ใช้สำหรับผมยาวและแห้งเสีย โดยแชมพูจะช่วยทำความสะอาดอย่างอ่อนโยนและช่วยทำให้เส้นผมเงางาม ปรับ pH ให้เหมาะสมกับเส้นผม

ง. Purifying shampoo เป็นแชมพูที่เหมาะสมกับการดูแลหนังศีรษะ ช่วยทำความสะอาดหนังศีรษะได้อย่างอ่อนโยน เหมาะกับหนังศีรษะที่เป็นรังแคได้ง่าย มักจะมีส่วนผสมของสารสกัดที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้

จ. Volumizing Shampoo เป็นแชมพูที่เหมาะสมกับผมเส้นเล็ก ผมบาง มักมีส่วนประกอบของเคราตินช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงของเส้นผมตั้งแต่โคนผมจนถึงปลายผม

ฉ. Color-treated hair shampoo เป็นแชมพูที่ช่วยรักษาสีผม ไม่ทำให้สีผมเพดง่าย

ช. 2-in-1 Shampoo เป็นแชมพูที่ผสม conditioner จะช่วยในการทำความสะอาดอย่างอ่อนโยนและมีสารบำรุงผมให้มีความชุ่มชื้น

ซ. Curly hair shampoo เป็นแชมพูสำหรับผมหยักศก จะมีส่วนผสมที่เน้นการเพิ่มความชุ่มชื้นเงางามให้กับเส้นผม ลดความชี้ฟูของผม

5. โทนิค

แฮร์โทนิค (hair tonic) เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับบำรุงหนังศีรษะและเส้นผม ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นน้ำ ซึ่งจะมีคุณสมบัติต่าง ๆ เช่น บำรุงหนังศีรษะ เพิ่มความชุ่มชื้นให้กับหนังศีรษะ กระตุ้นการไหลเวียนของเลือดบริเวณต่อมรากผม (hair follicle) เสริมความแข็งแรงของรากผม ขจัดรังแค วิธีการใช้แฮร์โทนิคจะใช้หลังจากสระผมและเป่าผมให้แห้งหมด จากนั้นหยดลงไปบนหนังศีรษะและนวดเบา ๆ เพื่อเพิ่มการดูดซึมและเป็นการกระตุ้นการไหลเวียนเลือด ในปัจจุบันคนนิยมใช้แฮร์โทนิคมากขึ้น เนื่องจากใช้งานได้ง่าย ไม่มัน เหมาะกับการใช้บนหนังศีรษะ และสามารถให้ผลลัพธ์ที่ดีกับหนังศีรษะได้มากกว่าผลิตภัณฑ์บำรุงผมชนิดอื่น ๆ เนื่องจากสัมผัสกับหนังศีรษะโดยตรงและมีระยะเวลาสัมผัสที่ยาวนานซึ่งจะแตกต่างกับเซรั่มที่เน้นการบำรุงเส้นผม ลดความชี้ฟู เพิ่มความเงางาม แฮร์โทนิคมักจะมีส่วนประกอบของแอลกอฮอล์ น้ำสารที่ช่วยกระตุ้นการไหลเวียนเลือด และสารสำคัญในกลุ่มของวิตามิน สารสกัดจากสมุนไพร และน้ำมันบำรุงผม เป็นต้น



บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือ

3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.1.1.1 เครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) (Heidolph, Japan)
- 3.1.1.2 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precisa, Switzerland)
- 3.1.1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa, Switzerland)
- 3.1.1.4 เครื่องวัดสี (Konica Minolta, Japan)
- 3.1.1.5 เครื่องวัดความหนืด (viscometer) (Brookfield, USA)
- 3.1.1.6 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (Memmet, Germany)
- 3.1.1.7 ตู้เย็น (Haier, China)
- 3.1.1.8 เครื่องปั่น (Philip, Netherland)
- 3.1.1.9 เครื่องเขย่าสาร (orbital shaker) (Labnet, SVN)
- 3.1.1.10 Sonicator (Creat, Malaysia)
- 3.1.1.11 pH meter (Suntex, Taiwan)
- 3.1.1.12 microplate reader (BMG Labtech, Germany)
- 3.1.1.13 homogenizer (IKA, China)
- 3.1.1.14 beaker (Duran, Germany)
- 3.1.1.15 กระดาษชั่งสาร
- 3.1.1.16 ข้อนเขา
- 3.1.1.17 cylinder (witeg, Germany)
- 3.1.1.18 stirring rod
- 3.1.1.19 dropper
- 3.1.1.20 water bath (Mettler, Germany)
- 3.1.1.21 thermometer
- 3.1.1.22 flask (Duran, Germany)
- 3.1.1.23 volumetric flask (Witeg, Germany)

3.1.1.24 micropipette (Gilson, France)

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.2.1 น้ำกลั่น

3.1.2.2 ascorbic acid (Sigma-Aldrich, USA)

3.1.2.3 95% Ethanol (Spread Business Co Ltd, Thailand)

3.1.2.4 ethyl acetate (Carlo Erba, France)

3.1.2.5 methanol (Carlo Erba, France)

3.1.2.6 zinc pyrithione (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.7 hydroxyethylcellulose (Ashland, USA)

3.1.2.8 glyceryl stearate (Loxley, Thailand)

3.1.2.9 behentrimonium chloride (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.10 polyquaternium-10 (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.11 cyclopentasiloxane and cyclohexasiloxane (Xiameter form Dow Corning, Thailand)

3.1.2.12 cetyl alcohol (Godrej Industries, India)

3.1.2.13 sodium laureth sulfate (BASF, Thailand)

3.1.2.14 ethylene glycol distearate (BASF, Thailand)

3.1.2.15 cocamidopropyl betaine (D-BASF, Thailand)

3.1.2.16 coconut diethanolamide (BASF, Thailand)

3.1.2.17 liquid germall (Beijing Sunpu Biochem, China)

3.1.2.18 Peg-7 glyceryl cocoate (BASF, Thailand)

3.1.2.19 BHT (SNS CHEMICALS PTE LTD, SINGAPORE)

3.1.2.20 propylene glycol (Shell Chemicals, Thailand)

3.1.2.21 tween 20 (NOF, Japan)

3.1.2.22 citric acid (Qingdao fusuo Refining&Processing, china)

3.1.2.23 DPPH (Sigma-Aldrich, USA)

3.2 วิธีการสกัด

นำใบทองพันชั่งสดมาล้างทำความสะอาดและตากไว้จนแห้งสนิทจากนั้นนำไปปั่นให้ละเอียด เมื่อได้ผงที่บดละเอียดแล้วเอาไปแช่ไว้ในตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ 95% ethanol และ ethyl acetate) ในอัตราส่วน 1:3 โดยแช่ไว้เป็นเวลา 3 วันและเขย่าด้วยเครื่อง shaker ด้วยความเร็ว 125 rpm เมื่อครบเวลาแล้วนำมาระเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary Evaporator จนน้ำหนักคงที่และคำนวณหาร้อยละผลผลิตจากสูตร

$$\text{ร้อยละผลผลิต (\%yield)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัด}}{\text{น้ำหนักพืชที่ใช้}} \times 100$$

3.3 การวิเคราะห์ด้วย LC-MS

เตรียมตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่าง 5 mg ใส่ลงในตัวทำละลาย 5 ml (สารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย ethyl acetate ใน methanol และสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% ethanol ใน 95% ethanol) ปิเปตสารละลายที่ได้ 1 ml ใส่ลงในตัวทำละลาย 9 ml และผสมให้เข้ากัน กรองสารละลายข้างต้นด้วย syringe filter 0.22 μm และนำไปวิเคราะห์ด้วย SPD 10 AVP – Shimadzu apparatus ใช้คอลัมน์ phenomenex RP 18 ที่ 256 nm. โดยมี mobile phase คือ น้ำและ methanol ในอัตราส่วน 1:1 ใช้สารสกัด 20 μl อัตราการไหล 2 ml/min

3.4 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

3.4.1 วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารมาตรฐาน ascorbic acid

เตรียม DPPH โดยชั่ง 8 mg ใส่ลงใน 95% ethanol 50 ml เก็บไว้ในที่มืด และเตรียมสารมาตรฐาน ascorbic acid ให้ได้ความเข้มข้น 0.1 mg/ml จากนั้นใส่สารมาตรฐาน ascorbic acid, 95% ethanol และ DPPH ลงใน 96 well microplate จนได้ความเข้มข้น 0.001 mg/ml ถึง 0.01 mg/ml โดยทำความเข้มข้นละ 5 ขั้ว และบ่มในที่มืด 30 นาที เมื่อครบเวลาวัดค่า absorbance ด้วย microplate reader ที่ 517 nm. และสร้างกราฟมาตรฐาน

3.4.2 วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างทองพันชั่งที่สกัดด้วย ethyl acetate และ 95% ethanol

เตรียม DPPH โดยชั่ง 8 mg ใส่ลงใน 95% ethanol 50 ml เก็บไว้ในที่มืด และเตรียมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้น 1mg/ml จากนั้นใส่สารสกัดทองพันชั่ง, 95% ethanol และ DPPH ลงใน 96 well microplate จนได้ความเข้มข้น 0.05 mg/ml ถึง 0.5 mg/ml โดยทำความเข้มข้นละ 5 ขั้ว และบ่มในที่มืด 30 นาที เมื่อครบเวลาวัดค่า absorbance ด้วย microplate reader ที่ 517 nm. สร้างกราฟมาตรฐานและหาค่า ascorbic acid equivalent

3.5 วิธีการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ในสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% Ethanol และ Ethyl Acetate

เตรียมตัวอย่างสารสกัดทองพันชั่งโดยละลายด้วย 95% ethanol ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 500 mg/ml และกรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.2 μ m จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวลงใน 96 well microplate หลุมละ 100 μ l และปิเปตตัวอย่างใส่หลุมที่ 1 ปริมาตร 100 μ l ผสมสารตัวอย่างให้เข้ากัน จากนั้นเจือจางด้วยเทคนิค 2 fold serial dilution จนถึงหลุมสุดท้าย ใช้ positive control คือ ketoconazole ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.008 mg/ml จากนั้นเติมเชื้อรา *Malassezia furfur* ที่ปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland Standard ใส่ลงในทุกหลุม หลุมละ 100 μ l บ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 1 °C เป็นเวลา 3-5 วัน เมื่อครบเวลาอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (minimum inhibition concentration; MIC) โดยสังเกตหลุมที่ใส ไม่มีตะกอนของเชื้อที่ก้นหลุม

3.6 วิธีการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ในสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% Ethanol ผสม Zinc Pyrithione และ Zinc Pyrithione

เตรียมตัวอย่างสารสกัดทองพันชั่งโดยละลายด้วย 95% ethanol ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 mg/ml และกรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.2 μ m จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวลงใน 96 well microplate หลุมละ 100 μ l และปิเปตตัวอย่างใส่หลุมที่ 1 ปริมาตร 100 μ l ผสมสารตัวอย่างให้เข้ากัน จากนั้นเจือจางด้วยเทคนิค 2 fold serial dilution จนถึงหลุมสุดท้าย ใช้ positive

control คือ ketoconazole ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1 mg/ml จากนั้นเติมเชื้อรา *Malassezia furfur* ที่ปรับความชื้นให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland Standard ใส่ลงในทุกหลุม หลุมละ 100 μ l บ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 1 °C เป็นเวลา 3-5 วัน เมื่อครบเวลาอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (minimum inhibition concentration; MIC) โดยสังเกตหลุมที่ใส ไม่มีตะกอนของเชื้อที่ก้นหลุม

3.7 การตั้งสูตรตำรับ

3.7.1 การตั้งสูตรตำรับแชมพู

ใน part A กระจาย acrylates copolymer ในน้ำ ผสมกับ sodium laureth sulfate เมื่อผสมจนเข้ากันแล้วปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 6.2-6.6 และนำไปให้ความร้อน ในส่วนของ part B ผสม cocamidopropyl betaine, coconut diethanolamide, peg-7 glyceryl cocoate และ ethylene glycol distearate ส่วน part C ละลายสารสกัดของพืชมะเขือเทศใน polysorbate 20 ส่วนของ part D กระจาย zinc pyrithione ในน้ำ ส่วน part E กระจาย polyquaternium-10 ลงในน้ำ เมื่อเตรียมส่วนผสมประกอบใน part ต่าง ๆ ครบแล้ว เติม part B ลงใน part A และผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนเย็นแล้วเติม part C, D และ E ลงไป คนผสมให้เข้ากัน ปรับ pH ด้วย sodium hydroxide จนได้ pH ประมาณ 6.3 แล้วเติม phenoxyethanol แต่งกลิ่นด้วยน้ำหอมและบรรจุใส่ภาชนะ

ตารางที่ 3.1 สูตรตำรับแชมพู

Part	Ingredients	% w/w
A	Acrylates copolymer	1.5
	Water	qs to 100
	Sodium laureth sulfate	15
B	Cocamidopropyl betaine	10
	Coconut diethanolamide	5
	Ethylene glycol distearate (zoharpon EGDS-771)	3
	Peg-7 glyceryl cocoate	3

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

Part	Ingredients	% w/w
C	Active ingredient	1
	Polysorbate 20	2
D	Zinc pyrithione	1
	Water	qs
E	Polyquaternium-10	1.5
	Water	qs
F	Phenoxyethanol	1
G	Perfume	qs

3.7.2 การตั้งสูตรตำรับโทนิค

ในส่วน part A กระจาย zinc pyrithione ในน้ำ ส่วนของ part B ละลายสารสกัดทองพันชั่ง ใน 95% ethanol ส่วนของ part C ผสม propylene glycol, polysorbate 20, citric acid และน้ำ จากนั้นผสม part A, B และ C เข้าด้วยกันและเติม cyclotetrasiloxane and cyclopentasiloxane และ Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl Butylcarbamate (and) Propylene Glycol จากนั้นแต่งกลิ่นด้วยน้ำหอมและปรับ pH ให้ได้ 5.5

ตารางที่ 3.2 สูตรตำรับโทนิค

Part	Ingredients	% w/w
A	Zinc pyrithione	0.5
	Water	qs
B	Active ingredient	0.5
	95%Ethanol	65

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

Part	Ingredients	% w/w
C	Propylene glycol	6
	Polysorbate 20	5
	Citric acid	qs
	Water	qs to 100
D	Cyclotetrasiloxane and cyclopentasiloxane	1
E	Perfume	qs
F	Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl	1
	Butylcarbamate (and) Propylene Glycol	

3.8 การประเมินความคงตัวของตำรับ

ทดสอบด้วยวิธี Heating-cooling cycling test โดยเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 วัน และเก็บไว้ในอุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 1 วัน ทำซ้ำทั้งหมด 6 รอบ และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพ pH ความหนืด และสีของผลิตภัณฑ์

3.8.1 วัด pH

Calibrate เครื่องโดยใช้ buffer 3 ชนิด คือ buffer pH 7, buffer pH 4 และ buffer pH 10 ตามลำดับ จากนั้นจุ่มโพรบวัดลงในตัวอย่างให้ท่วมอิเล็กโทรดแก้ว กดวัดค่าและรอจนหน้าจอปรากฏตัวอักษร S จึงจดบันทึกค่า pH ที่ได้ หลังใช้งานล้างโพรบด้วย DI water และซับให้แห้ง จากนั้นจุ่มโพรบไว้ในสารละลาย 3M KCl

3.8.2 วัดความหนืด

ใส่ Guard leg และ เข็ม (Spindle) จากนั้นจุ่มโพรบลงในสารตัวอย่างจนถึงรอย mark ตั้งรหัสของเข็มเป็นเบอร์ 4 และเลือกความเร็วรอบเป็น 30 rpm เป็นเวลา 1 นาที และกดวัดค่าและบันทึกค่า % Torque และค่า cP

3.8.3 วัดสี

เชื่อมต่อเครื่องวัดสีกับคอมพิวเตอร์และเข้าโปรแกรม Spectra Magic NX จากนั้น calibrate เครื่องวัดสีโดยทำ zero calibration และ white calibration ซึ่งตัวอย่าง 6 กรัม ใส่ใน cell แล้วนำ โพรบไปวางบน cell และกดวัดค่า (วัดค่าทั้งหมด 3 ครั้ง) บันทึกค่า L^* a^* b^* และ dE^*



บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 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 เมื่อเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่สกัดลำต้นและใบทองพันชั่งด้วย 95% Ethanol พบว่าได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 4.15 % (Onvimol et al., 2021) ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ได้ร้อยละผลผลิตมากกว่า เนื่องจากใช้ปริมาณตัวทำละลายมากกว่า ทำให้การสกัดเข้าสู่สมดุลได้เร็วกว่าอีกทั้งในการทดลองครั้งนี้ยังมีการใช้เครื่อง shaker เขย่าอยู่ตลอดเวลาจึงได้ร้อยละผลผลิตที่มากกว่า (Ubeed et al., 2022) และงานวิจัยที่สกัดใบทองพันชั่งด้วย Ethyl acetate มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 3.78 % (Priyadarsini et al., 2022) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้งนี้

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

solvent	% yield
95% Ethanol	8.23 ± 0.81^a
Ethyl acetate	4.24 ± 0.45^b

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

4.2 ผลการวิเคราะห์ด้วย LC-MS

จากการวิเคราะห์สารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% ethanol พบสารในกลุ่ม flavonoids, steroids, triterpenoids, lignans, coumarins, Benzenoids compounds และ naphthoquinone ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเดียวกันกับที่พบในทองพันชั่งจากงานวิจัยของ Bukke (2011) แต่เนื่องจากสารสกัดทองพันชั่งที่นำไปทดสอบเป็นสารสกัดหยาบยังไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์จึงทำให้ยังไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าพบสารตัวใดบ้าง

ตารางที่ 4.2 สารประกอบทางเคมีที่พบในทองพันชั่งจากการทบทวนวรรณกรรมและจากการวิเคราะห์สารตัวอย่าง

กลุ่มของสาร	ชื่อสารที่พบในทองพันชั่ง		ตัวทำละลาย	
	(จากการทบทวนวรรณกรรม)	ชื่อสารที่พบในสารตัวอย่าง	Ethyl acetate	Ethanol
flavonoids	Wogonin	3',4',6'-Trihydroxy-2'-oxo-3',5'-diphenyldihydrochalcone	N/A	✓
	Rutin	4'-Hydroxy-3,5,8,3'-tetramethoxy-7-prenyloxyflavone	✓	N/A
	Oroxylin 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-alpha-L-rhamnopyranoside	✓	N/A
steroids	stigmasterol	Hydrocortisone	N/A	✓
	β-sitosterol	Asterosterol	N/A	✓
		11alpha-Hydroxyandrost-1,4-diene-3,17-dione	N/A	✓
		4,4-Difluoropregn-5-ene-3,20-dione	N/A	✓
triterpenoids	β-amyrin	Betavulgaroside II	N/A	✓
	glutininol	Tokoronin	✓	N/A
	lupeol	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

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

กลุ่มของสาร	ชื่อสารที่พบในทองพันชั่ง (จากการทบทวนวรรณกรรม)	ชื่อสารที่พบในสารตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	
			Ethyl acetate	Ethanol
anthraquinones	2-methyl anthraquinone	N/A	N/A	N/A
lignans	rhinacanthin E	Magnoshinin	✓	N/A
	rhinacanthin F	Arctiin	✓	N/A
coumarins	umbelliferone	trans-Grandmarin	N/A	✓
	(+)-Praeruptorin A	3-(1,1-Dimethylallyl) herniarin	✓	N/A
benzenoids compounds	p-hydroxy-benzaldehyde	Suberosin	N/A	✓
		4-Hydroxycoumarin	✓	N/A
		5-O-Methylembelin	✓	N/A
		2,4,5-Trimethoxy-1-allylbenzene	✓	✓
naphthoquinone	vanillic acid			
	syringic acid			
	2 methoxy-propionolphenol			
	methyl valinate			
	syringaldehyde			
	Rhinacanthin-A	Atovaquone	✓	✓
	Rhinacanthin-B	2,3-Dehydrosalvipisone	✓	N/A
	Rhinacanthin-C			
	Rhinacanthin-D			
	Rhinacanthin-G			
	Rhinacanthin-H			
	Rhinacanthin-I			
	Rhinacanthin-J			
	Rhinacanthin-K			
	Rhinacanthin-L			
	Rhinacanthin-M			
	Rhinacanthin-N			
	Rhinacanthin-O			

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

กลุ่มของสาร	ชื่อสารที่พบในทองพันชั่ง (จากการทบทวน วรรณกรรม)	ชื่อสารที่พบในสารตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	
			Ethyl acetate	Ethanol
naphthoquinone	Rhinacanthin-P Rhinacanthin-Q Rhinacanthone			

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay โดย DPPH stable free radical (DPPH●) ซึ่งเป็นสารละลายสีม่วงทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระแล้วรับ hydrogen atom จากสารต้านอนุมูลอิสระได้สาร DPPH-H ทำให้สารละลายเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ทำการวัดโดยใช้เครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 nm. ผลการทดลองพบว่า สารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% Ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย Ethyl acetate ดังตารางที่ 4.3 เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองก่อนหน้านี้ที่ใช้ 95% Ethanol ในการสกัดทองพันชั่งเป็นเวลา 7 วัน พบว่าได้ค่า IC50 เท่ากับ 0.27 ± 0.001 mg/ml ซึ่งได้ค่าไม่แตกต่างจากในการทดลองครั้งนี้ (Namwong et al., 2020)

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทองพันชั่ง

Sample	DPPH radical scavenging activity		
	Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity		IC50 (mg/ml)
	(AAEAC) (mg)		
	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 $\pm$ S.D (n=3) ตัวอักษรยกที่แตกต่างกัน (a,b) ในคอลัมน์เดียวกัน แสดงถึงการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) independent t-test

4.4 ความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC)

4.4.1 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% Ethanol, Ethyl acetate, สารสกัดทองพันชั่งสกัดด้วย 95% ethanol ผสมกับ zinc pyrithione และ zinc pyrithione

จากการทดลองนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบหาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* โดยใช้วิธี broth microdilution พบว่า สารสกัดทองพันชั่งสกัดด้วย 95% ethanol และสารสกัดทองพันชั่งสกัดด้วย ethyl acetate ได้ค่า MIC เท่ากันคือ 62.5 mg/ml และ positive control คือ ketoconazole มีค่า MIC เท่ากับ 0.004 mg/ml หากเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้าของวุฒิชัย วิสุทธิพรต (2555) พบว่าสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย ethyl acetate มีค่า MIC เท่ากับ 25 mg/ml ซึ่งมีฤทธิ์ดีกว่าการทดลองในครั้งนี้ประมาณ 2.5 เท่า อาจเกิดจากในการทดลองนี้การวัดค่า end point ทำโดยการใช้ตาเปล่าสังเกตหลุมที่ใส ส่วนการทดลองของวุฒิชัย วิสุทธิพรต (2555) ใช้ microplate reader ในการอ่านค่า จึงทำให้ค่า MIC ไม่สอดคล้องกัน เมื่อทดสอบหาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ของสารสกัดทองพันชั่งสกัดด้วย 95% ethanol ความเข้มข้น 2% ผสมกับ zinc pyrithione ความเข้มข้น 1.97% และ zinc pyrithione ความเข้มข้น 1.97% เพียงตัวเดียว ได้ค่า MIC เท่ากันคือ 8.3 mg/ml จึงสรุปได้ว่าสารสกัดทองพันชั่งไม่มีผลลดทอนฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ของ zinc pyrithione

จากผลการทดลองหาร้อยละผลผลิตและหาค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) พบว่า ความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดที่สกัดด้วย 95% ethanol และ ethyl acetate มีค่าเท่ากันแต่จากการทดลองในหัวข้อ 4.1 และ 4.3 พบว่าร้อยละผลผลิตและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจาก 95% ethanol มีค่ามากกว่าจึงเหมาะในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรตำรับที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระยังช่วยปกป้องเส้นผมและรากผมจากอนุมูลอิสระและรังสียูวีที่ทำให้ผมแห้งเสีย ผมเปราะบาง ผมร่วง งานวิจัยนี้จึงเลือกนำสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% ethanol ผสมกับ zinc pyrithione ซึ่ง zinc pyrithione เป็นสารออกฤทธิ์ที่ได้รับการยอมรับและพิสูจน์แล้วว่ามีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อรา *Malassezia furfur* ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของรังแค และเติมสารสกัดทองพันชั่งลงไปในการผลิตแชมพูบำรุงผมจะช่วยเพิ่มการบำรุงหนังศีรษะโดยมีสารต้านอนุมูลอิสระในทองพันชั่งสามารถช่วยปกป้องเซลล์หนังศีรษะจากความเสียหายของอนุมูลอิสระ ทำให้หนังศีรษะมีสุขภาพดีขึ้น อีกทั้งอาการคันและรังแคมักมาพร้อมกับการอักเสบของหนังศีรษะ ฤทธิ์ด้านการอักเสบของทองพันชั่งสามารถช่วยผ่อนคลายหนังศีรษะที่ระคายเคือง และลดอาการคันได้

ตารางที่ 4.4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ของสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% ethanol และ ethyl acetate

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

4.5 การตั้งตำรับ

4.5.1 การตั้งสูตรตำรับแชมพู

จากการตั้งตำรับพื้นแชมพูตามสูตรในตารางที่ 4.5 ได้แก่สูตร F1, F2, F3 และ F4 พบว่าผลการทดสอบทางกายภาพแสดงให้เห็นว่าสูตร F4 เหมาะสมที่สุดในการนำมาพัฒนาเป็นสูตรแชมพูที่มีสารสำคัญต่อไปเนื่องจากมีปริมาณฟองที่มากและคงตัว เมื่อทดสอบกับปอยผมแล้วสามารถทำความสะอาดผมได้อย่างหมดจด ไม่หลงเหลือความมันบนเส้นผม และไม่ทำให้ผมแห้งกระด้าง เมื่อนำสูตรพื้นแชมพู F4 ไปใส่สารสำคัญพบว่าสารสกัดมีการแยกชั้นจากสูตรตำรับและสารที่ให้ความหนืดมูกกระจายตัวอยู่ในสูตรตำรับได้ไม่ดี เนื้อแชมพูเหลวจนเกินไป จึงได้แก้ไขสูตรตำรับโดยการใส่ acrylates copolymer เพื่อเพิ่มความหนืดให้แชมพูและช่วยให้ส่วนผสมในแชมพูกระจายตัวได้ดี ใส่ polysorbate 20 เพื่อช่วยละลายสารสกัดและทำให้สารสกัดสามารถกระจายตัวอยู่ในสูตรตำรับได้ดี จนได้สูตรแชมพูตามตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.5 ส่วนประกอบของตำรับพื้นแชมพู

ส่วนประกอบ	% w/w			
	F1	F2	F3	F4
Sodium laureth sulfate	15	20	25	15
Polyquaternium-10	0.5	0.5	0.5	1.5
Ethylene glycol distearate	3	3	3	3
Acrylates copolymer	-	-	-	-
Cocamidopropyl betaine	10	10	10	10
Coconut diethanolamide	5	5	5	5
Phenoxyethanol	1	1	1	1
Peg-7 glyceryl cocoate	3	3	3	3
Polysorbate 20	-	-	-	-
Active ingredient	-	-	-	-
Zinc pyrithione	-	-	-	-
Perfume	qs	qs	qs	qs
Water	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับพื้นแชมพู

สูตร	ลักษณะทางกายภาพ	pH	การเกิดฟอง	ลักษณะของผมหหลังใช้ผลิตภัณฑ์
F1	ของเหลวสีขาวขุ่น มีความหนืดเล็กน้อย	5.8	เกิดฟองปริมาณมาก และคงตัว	ทำความสะอาดผมได้ดี ไม่ทิ้งความมันบนเส้นผมแต่ทำให้ผมมีความแห้งมากขึ้น
F2	ของเหลวสีขาวขุ่น มีความหนืดเล็กน้อย	5.5	เกิดฟองปริมาณมาก และคงตัว	ทำความสะอาดผมได้ดี ไม่ทิ้งความมันบนเส้นผมแต่ทำให้ผมมีความแห้งมากขึ้น
F3	ของเหลวสีขาวขุ่น มีความหนืดเล็กน้อย	5.5	เกิดฟองปริมาณมาก และคงตัว	ทำความสะอาดผมได้ดี ไม่ทิ้งความมันบนเส้นผม แต่ทำให้ผมแห้งมากขึ้น
F4	ของเหลวสีขาวขุ่น มีความหนืดเล็กน้อย	5.3	เกิดฟองปริมาณมาก และคงตัว	ทำความสะอาดผมได้ดี ไม่ทิ้งความมันบนเส้นผม ไม่ทำให้ผมแห้ง

ตารางที่ 4.7 ส่วนประกอบของแชมพู

ส่วนประกอบ	% w/w
Sodium laureth sulfate	15
Polyquaternium-10	1.5
Ethylene glycol distearate	3
Acrylates copolymer	1.5
Cocamidopropyl betaine	10
Coconut diethanolamide	5
Phenoxyethanol	1
Peg-7 glyceryl cocoate	3
Polysorbate 20	2
Active ingredient	1
Zinc pyrithione	1
Perfume	qs
Water	qs to 100

4.5.2 การตั้งสูตรตำรับโทนิค

จากการตั้งตำรับพื้นโทนิคตามสูตร F1, F2 และ F3 ในตารางที่ 4.8 ซึ่งเป็นสูตรที่ยังไม่ใส่สารสำคัญพบว่าสูตร F3 เหมาะสมที่สุดโดยเมื่อทดสอบกับปอยผมเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้ พบว่าไม่ทำให้ปอยผมแห้งขึ้นและไม่เกิดความเหนียวตักค้างอยู่บนเส้นผม จากนั้นนำสูตร F3 ไปพัฒนาต่อโดยใส่สารสำคัญลงไปจนได้เป็นสูตรโทนิคตามตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.8 ส่วนประกอบของตำรับพื้นโทนิค

ส่วนประกอบ	% w/w		
	F1	F2	F3
95%Ethanol	65	70	75
Propylene glycol	5	5	6
Polysorbate 20	5	5	5
Cyclotetrasiloxane and cyclopentasiloxane	0.5	0.5	0.5
Active ingredient	-	-	-
Zinc pyrithione	-	-	-

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

ส่วนประกอบ	% w/w		
	F1	F2	F3
Citric acid	qs	qs	qs
Water	qs to 100	qs to 100	qs to 100
Perfume	qs	qs	qs
Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl	1	1	1
Butylcarbamate (and) Propylene Glycol			

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับพื้นโทนิค

สูตร	ลักษณะทางกายภาพ	pH	ความหนืด	ลักษณะของผมหหลังใช้ผลิตภัณฑ์
F1	ของเหลวใส เกลี้ยงง่าย	5.6	ไม่หนืด	ทั้งความเหนอะบนเส้นผมปานกลาง, เส้นผมแห้งลงเล็กน้อย
F2	ของเหลวใส เกลี้ยงง่าย	5.8	ไม่หนืด	ทั้งความเหนอะบนเส้นผมเล็กน้อย, เส้นผมแห้งลงเล็กน้อย
F3	ของเหลวใส เกลี้ยงง่าย	5.7	ไม่หนืด	ไม่ทั้งความเหนอะบนเส้นผม, เส้นผมไม่แห้งลง

ตารางที่ 4.10 ส่วนประกอบของตำรับโทนิค

ส่วนประกอบ	% w/w
95%Ethanol	75
Propylene glycol	6
Polysorbate 20	5
Cyclotetrasiloxane and cyclopentasiloxane	1
Active ingredient	0.5
Zinc pyrithione	0.5
Citric acid	qs
Water	qs to 100
Perfume	qs

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

ส่วนประกอบ	% w/w
Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl Butylcarbamate (and)	1
Propylene Glycol	

4.6 การประเมินความคงตัวของตำรับ

4.6.1 การประเมินความคงตัวของแชมพู

หลังจากการทดสอบ Heating-cooling cycling test โดยเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 วัน และเก็บไว้ในอุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 1 วัน ทำซ้ำทั้งหมด 6 รอบ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพพบว่าไม่เปลี่ยนแปลงคือ เป็นของเหลวชั้นหนืดสีเขียวขุ่น ส่วนค่า pH ของแชมพูเปลี่ยนแปลงไปไม่เกิน ± 1.0 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส หัวข้อแชมพูผสมสมุนไพร (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2562) ความหนืดและสีของผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างจากสูตรตั้งต้น โดยเมื่อผ่านไป 6 cycle ความหนืดมีค่ามากขึ้น อาจเกิดจากเมื่อความหนืดใน day 0 หลังจากตั้งตำรับทันที polymer ที่ใช้อยู่พองตัวได้ไม่เต็มที่ หรือเกิดจากสารสกัดจากทองพันชั่งที่ใช้เป็นสารสกัดหยาบอาจมีพวก fiber, gum, mucilage จากพืชปนอยู่ ซึ่งสารเหล่านี้จะค่อย ๆ ดูดน้ำและพองตัวขึ้น ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย สีมียังเปลี่ยนแปลงไปคือความสว่างลดลง มีสีเขียวเพิ่มขึ้น สีเหลืองลดลง โดยการเปลี่ยนแปลงของสีอาจเกิดจากสารสกัดโดนแสงแล้วเกิด oxidation ทำให้สีเปลี่ยนแปลงไป

ตารางที่ 4.11 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

** วัดความหนืดด้วยเข็มเบอร์ 4 ความเร็วรอบ 30 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

4.6.2 การประเมินความคงตัวของโทนิค

หลังจากการทดสอบ Heating-cooling cycling test โดยเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 วัน และเก็บไว้ในอุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 1 วัน ทำซ้ำทั้งหมด 6 รอบ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพพบว่าไม่เปลี่ยนแปลงคือ เป็นของเหลวสีเขียวเข้มใส มีตะกอนสีขาว ค่า pH ของโทนิคเปลี่ยนแปลงไปจากวันแรกที่ตั้งตำรับเพียงเล็กน้อย สีมี่ความเปลี่ยนแปลงไปคือความสว่างลดลง มีสีเขียวเพิ่มขึ้น สีเหลืองเพิ่มขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงของสีอาจเกิดจากสารสกัดโดนแสงแล้วเกิด oxidation ทำให้สีเปลี่ยนแปลงไป

ตารางที่ 4.12 การทดสอบความคงตัวของโทนิคของพั่นซัง

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

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองสกัดใบทองพันชั่งด้วย ethyl acetate และ 95% ethanol โดยใช้วิธี maceration พบว่าร้อยละผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วย 95% ethanol มากกว่าการสกัดด้วย ethyl acetate โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 8.23 ± 0.81 และ 4.24 ± 0.45 ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดไปวิเคราะห์ด้วยวิธี LCMS พบว่า มีสารในกลุ่ม flavonoids, steroids, triterpenoids, anthraquinones, lignans, coumarins, benzenoids compounds และ naphthoquinone เช่นเดียวกับที่พบในทองพันชั่งจากการทบทวนวรรณกรรม การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่า ค่า IC₅₀ การสกัดด้วย 95% ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจาก ethyl acetate โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.25 ± 0.01 mg/ml และ 0.41 ± 0.07 mg/ml ตามลำดับ ในการศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Malassezia furfur* โดยใช้วิธี broth microdilution พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ของการสกัดด้วย ethyl acetate และ 95% ethanol มีค่าเท่ากัน คือ 62.5 mg/ml ส่วนประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ของสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% ethanol ผสมกับ zinc pyrithione และ zinc pyrithione เพียงตัวเดียว ได้ค่า MIC เท่ากันคือ 8.3 mg/ml จึงสรุปได้ว่า สารสกัดทองพันชั่งไม่มีผลลดทอนฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* ของ zinc pyrithione โดยยามาตรฐาน ketoconazole มีค่า MIC เท่ากับ 0.004 mg/ml จากนั้นนำสารสกัดทองพันชั่งที่สกัดด้วย 95% ethanol ผสมกับ zinc pyrithione ไปพัฒนาสูตรตำรับแชมพูและโพนิก และนำสูตรตำรับทั้งสองไปทดสอบความคงตัวด้วย Heating-cooling cycling test ทั้งหมด 6 cycle พบว่าทั้งสองตำรับมีลักษณะทางกายภาพและ pH ที่ไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนความแตกต่างของสีอยู่ในเกณฑ์ที่มีความใกล้เคียงกัน สำหรับความหนืดของแชมพูมีความเปลี่ยนแปลงโดยหนืดขึ้นกว่าในวันแรกที่ตั้งตำรับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 แหล่งของพืชและฤดูที่เก็บเกี่ยว อาจมีผลต่อคุณภาพและปริมาณของสารสกัดที่ได้

5.2.2 การนำสารไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LCMS ควรนำสารไปทำให้บริสุทธิ์ก่อน เพื่อจะได้ผลการทดลองที่ชัดเจน

5.2.3 การทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระควรมีการทดลองเพิ่มเติม เช่น ABTS assay, FRAP Assay และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการทดลอง Total Phenolic Content (TPC) Assay

5.2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี broth microdilution ควรใช้ microplate reader ในการอ่านผล end point เพื่อให้ได้ความแม่นยำมากขึ้น และควรทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อรายงานความแปรปรวนในการทดลอง

5.2.5 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Malassezia furfur* ของสารสกัดทองพันชั่งผสมกับ zinc pyrithione ในการทดลองครั้งถัดไปอาจลดความเข้มข้นของ zinc pyrithione เพื่อทดสอบว่า การใช้สารสกัดทองพันชั่งผสมกับ zinc pyrithione ยังคงมีประสิทธิภาพที่ดีหรือไม่

5.2.6 สีของผลิตภัณฑ์ที่มาจากสารสกัดทองพันชั่งเมื่อเวลาผ่านไปมีความเปลี่ยนแปลง หากนำมาผลิตเพื่อจำหน่ายควรใส่ขวดบรรจุที่ทึบป้องกันแสงแดด หรือหาวิธีที่ทำให้สีมีความคงตัวมากขึ้น

รายการอ้างอิง

- กระทรวงอุตสาหกรรม. (2558). *ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง ยกเลิกและกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม แชมพู (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>
- วิทยาลัยโลจิสติกส์และซัพพลายเชน มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา. (2567). *ทองพันชั่ง*. <https://skm.ssru.ac.th/news/view/wut051>
- 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.
- 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.
- Darah, I., & Jain, K. (2001). Efficacy of the Rhinacanthus nasutus Nees leaf extract on dermatophytes with special reference to Trichophyton mentagrophytes var. mentagrophytes and Microsporum canis. *Natural Product Sciences*, 7(4), 114-119.
- 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.

- Hsieh, C. W., Tu, M. E., & Wu, Y. H. (2010). Allergic contact dermatitis induced by zinc pyrithione in shampoo: a case report. *Dermatologica Sinica*, 28(4), 163-166.
- Na Ranong, S., Sukphan, P., & Jamtaweekul, J. (2022). Method Development and Validation for Quantification of Rhinacanthin-C in *Rhinacanthus nasutus* Roots. *Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine*, 19(3), 583-594
- Namwong, A., Thongkrajai, P., & Konsue, A. (2020). Effect of a Thai Folk Recipe on Phytochemical Screening, Antioxidant Activities, and α -Glucosidase Inhibition by Different Solvent Extracts. *Pharmacognosy Research*, 12(3).
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2005). *Pyrrhione zinc*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/26041>
- 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.
- 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.
- Priyadarsini, S. S., Palanisami, V., Madhusoodanan, G., Velavan, B., Yusuf, A. M., & Kumar, P. R. (2022). In Vitro Cytotoxic activity of Rhinacanthin Enriched Extract from Leaves of *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz.,(Acanthaceae) against Neuroblastoma Cell Line. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 84(5).
- Puttarak, P., Charoonratana, T., & Panichayupakaranant, P. (2010). Antimicrobial activity and stability of rhinacanthins-rich *Rhinacanthus nasutus* extract. *Phytomedicine*, 17(5), 323-327.
- Rakkhittawattana, V., Panichayupakaranant, P., Prasanth, M. I., Brimson, J. M., & Tencomnao, T. (2022). Rhinacanthin-C but Not-D Extracted from *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz Offers Neuroprotection via ERK, CHOP, and LC3B Pathways. *Pharmaceuticals*, 15(5), 627.
- Rhimi, W., Theelen, B., Boekhout, T., Otranto, D., & Cafarchia, C. (2020). *Malassezia* spp. Yeasts of Emerging Concern in Fungemia. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 370.

- Sattar, M. A., Abdullah, N. A., Khan, A. H., & Noor, A. M. (2004). Evaluation of anti-fungal and anti-bacterial activity of a local plant *Rhinacanthus nasutus* (L.). *J Biol Sci*, 4(4), 498-500
- Schwartz, J. R. (2016). Zinc Pyrithione: A Topical Antimicrobial With Complex Pharmaceutics. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 15(2), 140-144.
- 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.
- 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.
- Tewtrakul, S., Tansakul, P., & Panichayupakaranant, P. (2009). Anti-allergic principles of *Rhinacanthus nasutus* leaves. *Phytomedicine*, 16(10), 929-934.
- Wisuitiprot, W. (2012). Antifungal Activity of *Rhinacanthus Nasutus* Extract against *Malassezia* sp. *Journal of Health Science*, 21(3), 521-528.
- 

ภาคผนวก ก

การสกัดทองพันชั่ง



ภาพที่ ก1 ใบทองพันชั่งสด



ภาพที่ ก2 ใบทองพันชั่งหลังทำให้แห้งสนิท



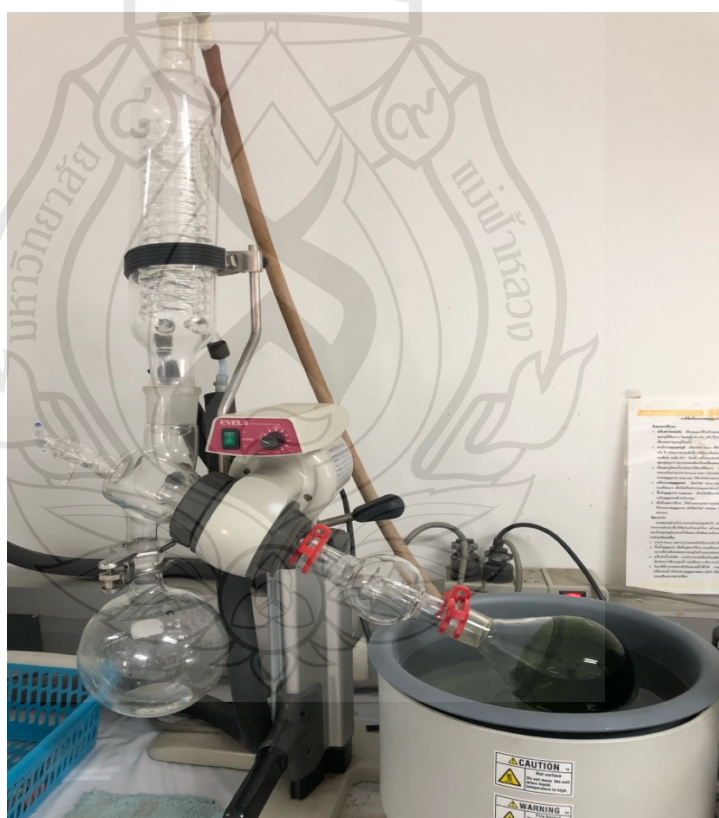
ภาพที่ ก3 ใบทองพันชั่งหลังบดละเอียด



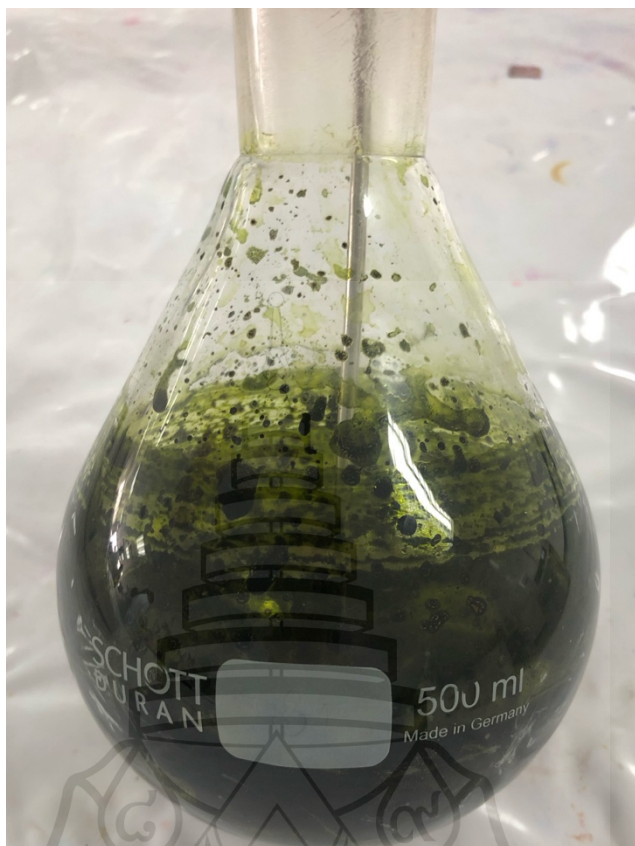
ภาพที่ ก4 สกัดทองพันชั่งด้วยการหมัก และใช้เครื่อง orbital shaker ในการเขย่า



ภาพที่ ก5 สารสกัดทองพันชั่งหลังการหมัก



ภาพที่ ก6 การระเหยสารสกัดทองพันชั่งด้วยเครื่อง rotary evaporator



ภาพที่ ก7 สารสกัดทองพันชั่งหลังระเหยแห้ง



ภาคผนวก ข

การทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับแชมพูและโตนิกที่มีส่วนผสมของสารสกัดทองพันชั่ง



ภาพที่ ข1 แชมพู (ภาพซ้าย) และโตนิก (ภาพขวา) หลังจากตั้งตำรับทิ้งไว้



ภาพที่ ข2 แชมพู (ภาพซ้าย) และโทนิค (ภาพขวา) หลังจากทดสอบความคงตัวด้วย Heating-cooling cycling test 6 รอบ