



กรณีศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพร

รหัส : 3002-1-000-005-10-2564 จำนวนหน่วยกิต : 2 หน่วยกิต

ผู้แต่ง : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภก.นฤบดี ผดุงสมบัติ, ภก.สันตชัย ณ นคร

ผู้รับผิดชอบบทความ : ภก.สันตชัย ณ นคร อีเมล : suntachai.n@dmsc.mail.go.th

สถานที่ทำงาน : สำนักงานและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

วันที่รับรอง : 17 ธันวาคม 2564 วันที่หมดอายุ : 16 ธันวาคม 2565 จำนวนหน้า : 12 หน้า

คำสำคัญ : ความคงสภาพ, ผลิตภัณฑ์สมุนไพร, stability study, herbal products

วัตถุประสงค์

1. เพื่อแสดงกรณีศึกษาของการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพร
2. เพื่อให้ผู้ปฏิบัติเกิดกระบวนการเรียนรู้ต่อการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรซึ่งมีบริบทแตกต่างกันได้ต่อไป

นิยามศัพท์

ความคงสภาพ หรือความคงตัว ^[1]

หมายถึงความสามารถของยา หรือผลิตภัณฑ์ที่จะรักษาสภาพได้ทั้งคุณสมบัติทางเคมี กายภาพ ชีวภาพ ประสิทธิภาพในการรักษา รวมถึงความเป็นพิษที่พบให้อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และการใช้งานเมื่อเก็บในสภาวะ และภาชนะตามที่ระบุไว้ในข้อกำหนด

ผลิตภัณฑ์สมุนไพร ^[2]

พระราชบัญญัติผลิตภัณฑ์สมุนไพร พ.ศ. 2562 ได้ให้นิยามของ “ผลิตภัณฑ์สมุนไพร” หมายถึง (1) ยาจากสมุนไพร และหมายความรวมถึงยาแผนไทย ยาพัฒนาจากสมุนไพร ยาแผนโบราณที่ใช้กับมนุษย์ตามกฎหมายว่าด้วยยา หรือยาตามองค์ความรู้การแพทย์ทางเลือกตามที่รัฐมนตรีโดยคำแนะนำของคณะกรรมการประกาศกำหนดเพื่อการบำบัด รักษา และบรรเทาความเจ็บป่วยของมนุษย์ หรือการป้องกันโรค (2) ถึงผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบสำคัญที่เป็น หรือแปรสภาพจากสมุนไพร ซึ่งพร้อมที่จะนำไปใช้แก่มนุษย์เพื่อให้เกิดผลต่อสุขภาพ หรือการทำงานของร่างกายให้ดีขึ้น เสริมสร้างโครงสร้าง หรือการทำงานของร่างกาย หรือลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรค (3) รวมถึงวัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพร (4) วัตถุอื่นตามที่รัฐมนตรีโดยคำแนะนำของคณะกรรมการประกาศกำหนดให้เป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร

บทนำ

การศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรเป็น “การติดตามการเปลี่ยนแปลง” ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่เก็บไว้ในสภาวะและเวลาที่กำหนด ทั้งนี้มีจุดประสงค์หลักเพื่อประเมิน “อายุใช้งาน” ที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ โดยต้องกำหนดสภาวะการทดสอบและพารามิเตอร์ในการประเมินที่สอดคล้องกับคุณลักษณะที่พึงประสงค์ เป็นไปตามหลักการประสิทธิผล ความปลอดภัย และคุณภาพตามหลักสากลของการคุ้มครองผู้บริโภค ซึ่งอาจนำแนวทางของการพัฒนาตำรับยาแผนปัจจุบันมาปรับใช้ตามบริบท โดยเฉพาะแนวปฏิบัติด้านคุณภาพ (quality guideline) ของ ICH หัวข้อ Q1 stability study รวมทั้งแนวปฏิบัติของ WHO คือ Annex 5 Guidelines for stability testing of pharmaceutical products containing well established drug substances in conventional dosage forms ทั้งนี้เพราะผลิตภัณฑ์สมุนไพรจะมีลักษณะมุ่งใช้ในการบรรเทาอาการ บำบัด รักษาโรคเหมือนยาแผนปัจจุบันนั่นเอง^[3]

นอกจากการกำหนดอายุใช้งานแล้ว ข้อมูลสภาวะในการทดสอบต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ระดับความเป็นกรดต่าง (pH) ความร้อน-ความเย็น ภาชนะบรรจุที่ใช้ ควรถูกนำมาใช้พิจารณาประเมินปัจจัยเสี่ยงเพื่อนำไปใช้ปรับปรุงและพัฒนาให้เกิดความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งนำไปพิจารณากำหนดหรือคัดเลือกพารามิเตอร์ที่จะใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงที่มีความไว ความถูกต้อง ความสม่ำเสมอ เพื่อให้ได้มาซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและคงที่^[4,5]

อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์สมุนไพรจะมีความแตกต่างจากเภสัชภัณฑ์ในประเด็นที่มาของวัตถุดิบซึ่งมีความหลากหลาย มีองค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพที่ซับซ้อน รวมทั้งการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในลักษณะองค์รวม ทำให้ต้องอาศัยข้อมูลและประสบการณ์จากหลายแหล่งมาประมวลเพื่อพิจารณากำหนดสภาวะและพารามิเตอร์ในการศึกษาความคงสภาพ หรืออาจต้องมีการศึกษานำร่อง บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงกรณีศึกษาของการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรในรูปแบบต่าง ๆ กัน

1. กรณีศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพร

1.1. ความคงสภาพของสารสกัดน้ำจากรากแห้งโสมอินเดีย

นำผงรากแห้งของโสมอินเดีย (*Withania somnifera*) มาต้มกับน้ำและทำให้แห้งด้วยวิธี spray dry ได้สารสกัดที่มีลักษณะผงสีน้ำตาลเข้มที่เคลื่อนที่หรือไหลได้อิสระ และถูกจัดเป็น herbal drug preparation (HDP) ตาม European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) guidance^[6] ซึ่งจะต้องปราศจากเชื้อก่อโรค อะพลาทอกซิน สารกำจัดแมลงตกค้าง และโลหะหนัก ตามเกณฑ์ของ WHO โดย HDP ที่ได้จะเก็บไว้ในที่ทำได้ด้วยวัสดุชนิด double polyethene เป็นเวลา 6 เดือน ที่สภาวะเร่ง ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $75 \pm 5\% \text{RH}$) และสภาวะปกติ ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $65 \pm 5\% \text{RH}$) ในทุกเดือนจะสุ่มตัวอย่างเพื่อประเมินความคงสภาพเชิงกายภาพ เภสัชกรรม เคมี และชีวภาพ^[6]

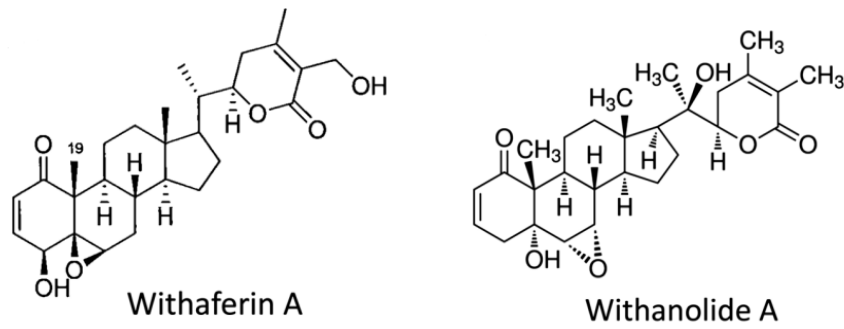
ผลการศึกษาความคงสภาพทางเคมีกายภาพและทางเภสัชกรรมของ HDP รากโสมอินเดีย ก่อนที่จะนำไปพัฒนาสูตรตำรับ (preformulation stage) ดังแสดงในตารางที่ 1 สิ่งให้เห็นชัดเจน คือ ผงยาดูดความชื้นได้ดีจนทำให้จับกันเป็นก้อน โดยปริมาณความชื้น ณ เวลา 6 เดือน เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าของความชื้นเทียบกับที่เวลาเริ่มต้น ส่วนพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการไหลจะประเมินไม่ได้เมื่อผงยาจับกันเป็นก้อน ซึ่ง

หมายถึง HDP เสียสภาพที่เหมาะสมต่อการนำไปผลิตตำรับ ดังนั้นในกรณีนี้อาจใช้การวิเคราะห์ปริมาณน้ำ อนุมาณไปยังการเปลี่ยนแปลงของการไหลอิสระของผงยาได้ หรือต้องจัดหาภาชนะที่ป้องกันความชื้นได้ในการ จัดเก็บ^[6]

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาความคงสภาพทางเคมีกายภาพและทางเภสัชกรรมของสารสกัดรากโสมอินเดีย^[6]

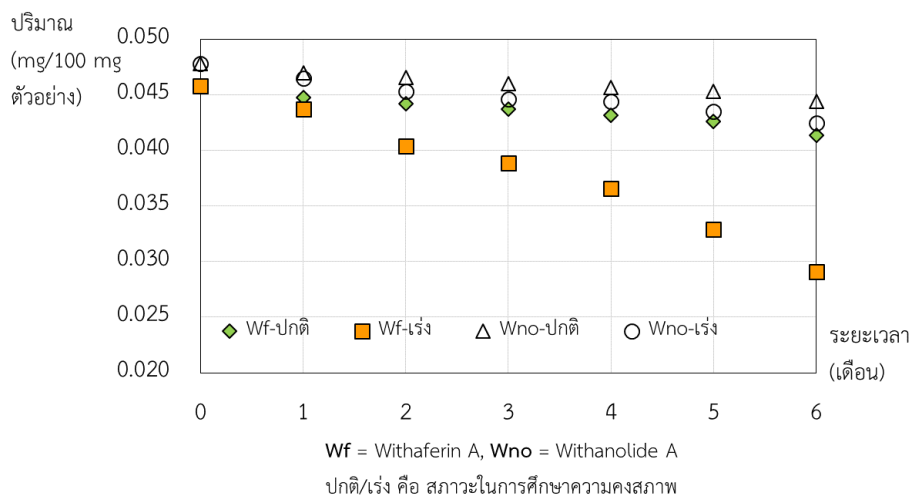
พารามิเตอร์	วิธีการประเมิน	เกณฑ์/สิ่งที่ติดตาม	การเปลี่ยนแปลงในการศึกษาความคงสภาพ
ความชื้น (moisture)	Karl Fischer titration	% water	ปริมาณน้ำเพิ่มขึ้นจาก 4.6% เมื่อเริ่มต้น เป็น 9.5% ในเดือนที่ 6 ของสภาวะปกติ และเพิ่มขึ้นเป็น 12.1% ในเดือนที่ 6 ของสภาวะเร่ง
การกระจายขนาดอนุภาค	optical microscopy	morphology และขนาดอนุภาค	จากผงยาที่ flow อิสระ ในสภาวะปกติ เดือนที่ 5 ผงยาเปลี่ยนเป็น clumps ส่วนสภาวะเร่ง เดือนที่ 3 ผงยาเปลี่ยนเป็น clumps และเดือนที่ 5 เปลี่ยนเป็น cakes โดย particle size distribution ที่เปลี่ยนแปลงไปอาจมีสาเหตุมาจากปริมาณความชื้นที่เพิ่มมากขึ้น
angle of repose	fixed funnel method	น้อยกว่า 30° มีการ flow ที่ดี มากกว่า 40° มีการ flow ที่ไม่ดี	จากค่าประมาณ 30 จะลดลงเล็กน้อยทั้งสองสภาวะมาอยู่ที่ประมาณ 28-29 จนกระทั่งเกิด clumps
bulk และ tapped density	Density Tester USP	น้ำหนัก/ปริมาตร	มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนกระทั่งผงยาเกิด clumps
Carr's Compressibility index (%)	คำนวณจาก bulk และ tapped density	น้อยกว่า 10% มีการไหลที่ดีและ มากกว่า 38% มีการไหลไม่ดี	เริ่มต้นมีค่าประมาณ 30% และลดลงเหลือประมาณ 27% จนผงยาเกิด clumps

สำหรับความคงสภาพทางเคมี ใช้วิธี High Performance Liquid Chromatography – Diode Array Detector (HPLC-DAD) ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร Withaferin A และ Withanolide A ในสารสกัดน้ำโสมอินเดียซึ่งเก็บในสภาวะปกติและสภาวะเร่ง โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารดังกล่าวในทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน ประกอบกับติดตามการเปลี่ยนแปลงลายพิมพ์นิ้วมือเชิงโครมาโตกราฟี (HPLC fingerprint)



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ Withaferin A และ Withanolide A ^[7]

ในการศึกษาความคงสภาพทั้งในสภาวะเร่งและสภาวะปกติ พบว่า ปริมาณสารทั้ง 2 ชนิด “ลดลงตามเวลา” โดย Withaferin A มีอัตราการสลายตัวมากกว่า Withanolide A และการสลายตัวขึ้นกับอุณหภูมิและความชื้นที่ใช้ศึกษาด้วย ดังแสดงในรูปที่ 3 ทั้งนี้จากโครงสร้างทางเคมีของสารทั้ง 2 ชนิด ซึ่งมีวงแหวนแลคโตน (lactone ring) เป็นองค์ประกอบ สันนิษฐานว่ามีโอกาสเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ที่วงแหวนแลคโตนในการติดตามลายพิมพ์นิ้วมือเชิงโครมาโตกราฟี (HPLC fingerprint) จำนวน 8 พีค โดยใช้พีคของ Withanolide A เป็นพีคอ้างอิง จะพบการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนขนาดพีคที่มากกว่า 20% อยู่จำนวนหนึ่ง ณ เวลาต่าง ๆ ตลอดช่วงการศึกษาความคงสภาพ(สภาวะปกติ และสภาวะเร่ง) แต่ไม่ได้ให้ข้อมูลเพิ่มเติมหรือข้อสรุปที่ชัดเจน เมื่อนำตัวอย่างที่เวลา 3 และ 6 เดือน ไปศึกษาฤทธิ์ Immuno-modulatory โดยใช้ levamisole เป็น positive control พบว่าฤทธิ์ทางชีวภาพนี้จะลดลงเมื่อเทียบกับเวลาเริ่มต้น โดยในสภาวะเร่งจะมีการลดลงอย่างชัดเจน กว่าสภาวะปกติซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของปริมาณสารสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร Withaferin A ^[6]



รูปที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของ Withaferin A และ Withanolide A ในสารสกัดรากโสมอินเดีย ในช่วงเวลาการทดสอบศึกษาความคงสภาพ ^[6]

ข้อมูลเบื้องต้นที่ได้จากการศึกษาความคงสภาพนี้ คือ ผงของสารสกัดรากโสมอินเดียดูดความชื้นได้ดี ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่อาจส่งผลต่อกระบวนการผลิตเชิงเภสัชกรรมในประมาณเดือนที่ 5 ของสภาวะปกติและอาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่อเนื่องไปยังความไม่คงสภาพของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพโดยมีปริมาณลดลงจากเริ่มต้นเหลือเพียง 95% ประมาณไม่เกินเดือนที่ 2 และ 3 ของทั้งสองสภาวะซึ่งอาจมีส่วนทำให้ประสิทธิภาพของผงสารสกัดนี้ลดลงเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานเกิน 3 เดือน ทั้งนี้ถ้าพิจารณาแล้วว่าอายุการเก็บรักษาของ HDP นี้สั้นเกินไป อาจจะต้องวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงและหาวิธีการลดความเสี่ยงต่อการเสื่อมสลายดังกล่าว เช่น เลือกบรรจุภัณฑ์หรือสภาวะในการจัดเก็บที่เหมาะสม นอกจากนี้ข้อมูลความไม่คงสภาพนี้ยังนำไปใช้ในการพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรให้มีความคงสภาพ มีประสิทธิภาพ และปลอดภัยต่อไปได้ด้วย อย่างไรก็ตาม ในรายงานการศึกษาไม่ได้ระบุจำนวนรุ่นผลิตของ HDP ซึ่งในแนวปฏิบัติสากลของยาแผนปัจจุบันนั้นจะกำหนดพื้นฐานไว้ที่ 3 รุ่นผลิต เพื่อประเมินความสม่ำเสมอของการเปลี่ยนแปลง^[6]

ตัวอย่างข้างต้น เป็นการวางแผนและศึกษาความคงสภาพ HDP ในฐานะเทียบเท่าวัตถุติดด้วยยาสำคัญของยาแผนปัจจุบัน ซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำไปสู่การกำหนดคุณลักษณะอันพึงประสงค์ หรือ specification พร้อมพารามิเตอร์ในการประเมินคุณภาพและติดตามการเปลี่ยนแปลงสำคัญที่จะส่งผลต่อคุณภาพของกระบวนการผลิตและตัวผลิตภัณฑ์ รวมถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ในรูปแบบตำรับยา หรือ herbal medicines^[6]

1.2. การศึกษาความคงสภาพและการควบคุมคุณภาพแคปซูลบรรจุผงบับวก

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความคงสภาพของแคปซูลบรรจุผงบับวก ซึ่งผลิตโดยการนำใบบับวกสดมาล้างทำความสะอาดและอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นบดลดขนาด วิเคราะห์ปริมาณความชื้น และประเมินความสามารถในการไหลของผงบับวกด้วย angle of repose, %compressibility และ Hausner ratio โดยคำนวณจาก tapped และ bulk density ซึ่งกรณีมีการไหลที่ดี จะนำผงบับวกไปบรรจุลงแคปซูล แล้วจึงทำการประเมินความผันแปรของน้ำหนักยาแคปซูล (weight variation) และเวลาในการแตกตัว (disintegration time) ตามวิธีของ USP36 พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด จากนั้นได้นำแคปซูลบับวกไปศึกษาความคงสภาพโดยเก็บที่ 3 สภาวะ คือ อุณหภูมิ 25 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 (สภาวะเร่ง) และที่สภาวะอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 6 เดือน ติดตามการเปลี่ยนแปลงที่เวลา 1, 3 และ 6 เดือน จากความผันแปรของน้ำหนักแคปซูลบับวกและเวลาในการแตกตัวซึ่งเป็นคุณลักษณะเชิงเภสัชกรรม ส่วนคุณลักษณะทางเคมีได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ 2 ชนิด คือ asiaticoside และ madecassoside ด้วยเทคนิค HPLC^[8]

ผลการศึกษาพบว่าที่เวลา 6 เดือน แคปซูลบับวกที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้องยังคงสภาพดีโดยความผันแปรของน้ำหนักยาแคปซูลและเวลาในการแตกตัวผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนแคปซูลบับวกที่เก็บไว้ในสภาวะเร่ง ไม่สามารถนำมาประเมินความผันแปรของน้ำหนักยาแคปซูลได้ ส่วนเวลาการแตกตัวนั้นไม่ผ่านมาตรฐาน แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มความไม่คงสภาพเชิงเภสัชกรรมอันเนื่องจาก

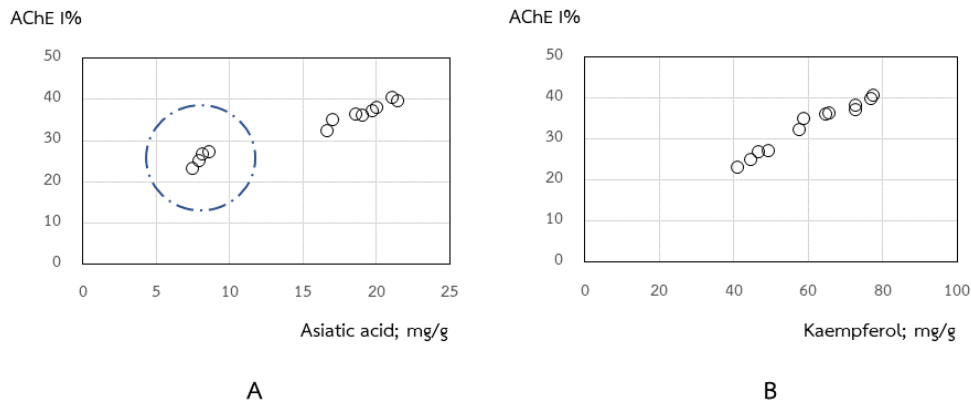
อุณหภูมิและความชื้น ส่วนสารสำคัญนั้นมีข้อน่าสังเกตอยู่หลายประการ กล่าวคือ ปริมาณ asiaticoside ในแคปซูลบับกในทั้ง 3 สภาวะในระยะเวลา 6 เดือนที่ศึกษามีแนวโน้มลดลง แต่ยังคงอยู่ในช่วงร้อยละ 90-110 สำหรับ madecassoside กลับมีปริมาณเพิ่มขึ้นและอยู่นอกช่วงร้อยละ 90-110 เมื่อเก็บแคปซูลบับกในสภาวะเร่ง ซึ่งทำให้ไม่สามารถสรุปถึงความคงสภาพเชิงเคมีได้อย่างชัดเจนจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม^[8]

จากผลการศึกษาข้างต้นพบประเด็นว่า เมื่อประเมินคุณลักษณะสำคัญทางเภสัชกรรม คือ การแตกตัวของแคปซูลซึ่งตกเกณฑ์ในสภาวะเร่งก็มีแนวโน้มว่าจะเกิดขึ้นได้ในระยะยาว และแม้ว่าสารสำคัญที่วิเคราะห์จะเปลี่ยนแปลงปริมาณน้อย แต่ก็ยังไม่มี การพิสูจน์ว่าสัมพันธ์กับฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยหรือไม่ นอกจากนี้ การศึกษานี้ใช้ผงยาและผลิตภัณฑ์จากเพียง 1 รุ่นผลจึงไม่เห็นว่าการศึกษานี้จะเกิดซ้ำได้เหมือนเดิมหรือไม่ ดังนั้นข้อมูลข้างต้นจึงยังไม่เพียงพอต่อการกำหนดอายุใช้งานของผลิตภัณฑ์สมุนไพร^[8]

1.3. การศึกษาความคงสภาพผลิตภัณฑ์สมุนไพรบับกในแบบสมุนไพรแห้ง

กรณีศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรบับก (*Centella asiatica*) รูปแบบสมุนไพรแห้งที่ขายกันทั่วไปและแบบสกัดด้วยเอทานอล ที่สภาวะเร่ง คือ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เป็นเวลา 6 เดือน เทียบกับตัวอย่างควบคุมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งในการศึกษานี้ได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ คือ สี ความเป็นกรดต่าง และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำหรือความชื้น ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีใช้การติดตาม total phenolic content ซึ่งคำนวณเป็น gallic acid และวิเคราะห์หาปริมาณสาร asiatic acid และ kaempferol ด้วย HPLC รวมทั้งใช้ลายพิมพ์นิ้วมือของ HPTLC สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพใช้การวัด Free Radical Scavenging Activity ด้วย DHHP method และการวัด Acetylcholinesterase Inhibitory Activity Assay^[9]

ซึ่งผลการศึกษาพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี (total phenolic content) เล็กน้อย แต่ปริมาณ asiatic acid และ kaempferol ลดลงอย่างชัดเจนตลอดเวลา 6 เดือนที่ศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพทั้ง 2 ฤทธิ์ที่ลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์เบื้องต้นระหว่างปริมาณสารทั้ง 2 ชนิด กับฤทธิ์การยับยั้งฤทธิ์เอนไซม์ Acetylcholinesterase (AChE 1%) ดังแสดงในรูปที่ 4 พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณ asiatic acid และ kaempferol สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ยับยั้งฤทธิ์เอนไซม์ Acetylcholinesterase และมีข้อสังเกตสำหรับ asiatic acid ว่าข้อมูลจะแยกเป็น 2 กลุ่มที่อาจมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ไม่เท่ากัน ซึ่งอาจต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อตรวจสอบปรากฏการณ์นี้ อย่างไรก็ตามสำหรับ Kaempferol น่าจะเป็นสารเทียบที่มีศักยภาพในการใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสมุนไพรและสารสกัดใบบับกได้^[9]



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์เบื้องต้นระหว่างปริมาณสาร A) Asiatic acid และ B) Kaempferol (หน่วย mg/g) กับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Acetylcholinesterase (AChE I%) ดัดแปลงจากข้อมูลในเอกสารอ้างอิง^[9]

กรณีศึกษาที่แสดงถึงการประเมินที่รอบด้านด้วยพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับคุณภาพและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามด้วยปริมาณสารสำคัญที่ลดลงอย่างชัดเจนและสัมพันธ์กับฤทธิ์ทางชีวภาพ หากมีการกำหนดข้อบ่งใช้ที่สัมพันธ์กับฤทธิ์ดังกล่าว ก็อาจใช้ปริมาณสารสำคัญชนิดนั้นในการประเมินและกำหนดเกณฑ์ตัดสินอายุการเก็บรักษาได้ เช่น อายุการเก็บรักษาจะหมดลงเมื่อปริมาณสารสำคัญ/สารออกฤทธิ์ที่ติดตามลดลง 10% เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้นหรือปริมาณที่ระบุไว้ ก็จะทำให้มีความชัดเจนต่อการแสดงคุณค่าของผลิตภัณฑ์นี้เพิ่มขึ้น^[9]

1.4. ความคงสภาพทางกายภาพและเคมีของตำรับยาเกลือโซเดียมจากสารสกัดชะเอมไทย และสารสกัดพิกัดยาชะเอมทั้ง 2

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีของตำรับยาเกลือโซเดียมจากสารสกัดชะเอมไทย และสารสกัดพิกัดยาชะเอมทั้ง 2 โดยพิกัดยาตำรับดังกล่าวประกอบด้วย ชะเอมไทย และชะเอมเทศที่ใช้รักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และรักษาแผลในช่องปาก วิธีการดำเนินการวิจัย คือ เตรียมสูตรตำรับเกลือโซเดียม 2 รูปแบบ คือ ตำรับเกลือโซเดียมชะเอมไทย และตำรับเกลือโซเดียมชะเอมทั้ง 2 และประเมินความคงสภาพทางกายภาพ โดยพิจารณาจากลักษณะภายนอก การแยกชั้น ปริมาณตะกอน สี ความเป็นกรด-ด่าง และความหนืด และประเมินความคงสภาพทางเคมี โดยพิจารณาจาก TLC chromatogram และ total phenolic content ของสูตรตำรับที่เตรียมขึ้น ซึ่งสภาวะสำหรับการศึกษาความคงสภาพมี 2 ส่วน คือ 1) สภาวะเร่งแบบวัฏจักรร้อนเย็น (Heating-Cooling Cycle) โดยนำตำรับไปไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเปลี่ยนไปไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำซ้ำ 6 รอบ และ 2) สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน โดยเปรียบเทียบกับสูตรตำรับที่เพิ่งเตรียมใหม่ (Day 0) ผลการศึกษาวิจัยแสดงให้เห็นถึงตำรับเกลือโซเดียมชะเอมไทย และตำรับเกลือโซเดียมชะเอมทั้ง 2 ที่เพิ่งเตรียมใหม่มีสีน้ำตาลเหลืองถึงแดง เนื้อเนียนละเอียด ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีตะกอนนอนก้น และ

ตะกอนติดขอบภาชนะ รวมทั้งค่าความหนืด pH และ total phenolic content อยู่ในช่วงที่เหมาะสม และพบสาร β -sitosterol ใน TLC chromatogram ^[10]

เมื่อผ่านสภาวะเร่ง ๆ พบว่าตำรับทั้งหมดมีตะกอนแขวนลอยในเนื้อยา มีตะกอนนอนก้นและตะกอนติดขอบภาชนะ ส่วนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา 30 วัน พบว่าตำรับทั้งหมดมีตะกอนแขวนลอยในเนื้อตำรับ ทั้งนี้ตำรับกลีเซอรินชะเอมไทย และตำรับกลีเซอรินชะเอมทั้ง 2 ยังมีแนวโน้มความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีที่ดี โดยมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเฉพาะสี และปริมาณตะกอน สิ่งที่ผู้วิจัยสรุป คือ การเปลี่ยนแปลงของตำรับทั้งหมดมีความคล้ายกันในสภาวะการทดสอบทั้ง 2 สภาวะ ซึ่งหมายถึงสามารถใช้ข้อมูลจากสภาวะเร่งในการประเมินความคงสภาพของตำรับได้ อย่างไรก็ตามการเกิดตะกอนในลักษณะนี้อาจส่งผลต่อลักษณะปรากฏของตำรับกลีเซอรินที่ผู้ป่วยอาจไม่ยอมรับ ดังนั้นควรกำหนดขอบเขตของการเกิดตะกอนให้ชัดเจน หรือหาวิธีปรับปรุงให้ตำรับไม่เกิดตะกอน ^[10]

1.5. การประเมินคุณภาพของขี้ผึ้งไทยเสริมสมุนไพร

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงการเสริมสมุนไพรสกัดในขี้ผึ้งไทย โดยวิธีการดำเนินการวิจัย คือนำสมุนไพร 3 ชนิด (ขมิ้นชัน ไพล และพญาฮอ) มาทำการสกัดด้วยน้ำมันยูคาลิปตัส โดยใช้สัดส่วนผงสมุนไพร ต่อน้ำมันยูคาลิปตัส 1 ต่อ 2 เขย่าเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วกรองผ่านผ้าขาวจะได้ น้ำมันยูคาลิปตอลที่มีสมุนไพรผสมอยู่ ส่วนการเตรียมขี้ผึ้งจะใช้วาสลีน 53% โดยน้ำหนักเติมลงในหม้อแอสตันเลส ให้ความร้อนจนละลายพร้อมทั้งเติมไซพาราฟินลงไป 18 % โดยน้ำหนัก ผสมให้เข้ากัน จากนั้นใส่ส่วนผสมอื่น คือ เมนทอล การบูร และพิมเสน อย่างละ 5% โดยน้ำหนัก น้ำมันระกำ และน้ำมันยูคาลิปตอลที่มีสมุนไพรสกัด อย่างละ 7% โดยน้ำหนัก กวนส่วนผสมให้เข้ากัน ใช้ไฟอ่อน เป็นเวลา 25 นาที จึงเทใส่ขวด จากนั้นประเมินคุณภาพและศึกษาความคงสภาพของขี้ผึ้งไทยที่เตรียมได้ โดยเลือกสูตรสมุนไพรผสมระหว่างไพลกับพญาฮอ และขมิ้นชันกับไพล โดยแปรสัดส่วนเป็น 30:70, 20:80 และ 10:90 ตามลำดับ และใช้สภาวะเย็นสลับร้อนในการศึกษา (เหมือนกับยาแผนปัจจุบันรูปแบบ ointment) โดยเก็บตัวอย่างขี้ผึ้งสมุนไพรที่ในภาชนะปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วสลับไปเก็บที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้จนครบ 4 ครั้ง นำออกมาตรวจสอบสี กลิ่น ความชื้นเหลว การแยกชั้น และการจับตัวเป็นก้อน ตามลำดับ (เป็นการประเมินตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช. 770/2548 ซึ่งอาศัยการรับรู้ประสาทสัมผัส (organoleptic method) จากผู้ผ่านการฝึกฝน) โดยศึกษาความคงสภาพติดต่อกันเป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน ^[11]

ผลการประเมินคุณภาพพบว่า ขี้ผึ้งที่ผสมขมิ้นชันกับไพลในสัดส่วน 30:70 ถึง 10:90 มีคุณภาพตามเกณฑ์ในพารามิเตอร์ที่กำหนดข้างต้นและมีเปลี่ยนแปลงที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน โดยมีข้อสังเกตว่าสีเหลืองจากสารสกัด Curcumin มีความคงสภาพสูง ส่วนขี้ผึ้งไพลกับพญาฮอในสัดส่วน 30:70 ถึง 10:90 มีคุณภาพตามเกณฑ์ในพารามิเตอร์ที่กำหนดข้างต้นและมีเปลี่ยนแปลงที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน เช่นเดียวกัน ยกเว้นสีและกลิ่น ที่มีคะแนนประเมินลดลง สำหรับสัดส่วน 20:80 และ 10:90 หลังจากเก็บไว้นาน 3 และ 2 เดือน ตามลำดับ ทั้งนี้

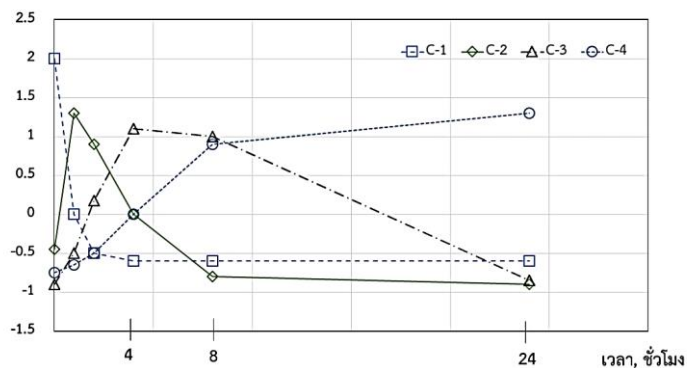
แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาที่นานขึ้น ส่งผลกระทบต่อรงควัตถุที่ให้สีเขียวในพญาอ (Chlorophyll) ในบางสูตรตำรับ อย่างไรก็ตามอาจต้องพิสูจน์หรือยืนยันว่ารงควัตถุสีเขียวที่สัมพันธ์กับ ปริมาณสารสำคัญในสมุนไพรที่เติมลงในขี้ผึ้งหรือไม่ อย่างไร และจะส่งผลต่อการรับรู้และเชื่อมั่นของผู้บริโภค หรือไม่ ซึ่งจากตัวอย่างกรณีศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงการใช้ลักษณะทางกายภาพ โดยเฉพาะ สี ในการติดตาม การเปลี่ยนแปลงของการศึกษาความคงสภาพของยาขี้ผึ้งสมุนไพร อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาความคงสภาพ แบบระยะยาวในสภาวะปกติควบคุมไปด้วย เพื่อความสอดคล้องกับผลการประเมินแบบเร่งแบบวัฏจักรเย็น ร้อน ที่ใช้เวลาเพียง 8 วัน^[11]

1.6. ความคงสภาพของสมุนไพรที่มี hydrolysable tannins เป็นองค์ประกอบ

1.6.1. ความคงสภาพและการเปลี่ยนแปลง ellagitannins ของสารสกัดจากผลราสเบอร์รี่

สมุนไพรที่มี hydrolysable tannins เป็นองค์ประกอบนั้นจะมีพลวัต หรือ dynamic ของ องค์ประกอบอย่างชัดเจนโดยเฉพาะในสภาวะของเหลว หรือ aqueous ซึ่งอาจทำให้ต้องพิจารณา การเปลี่ยนแปลงสารสำคัญหลายชนิดประกอบกัน เช่น Sojka และคณะ^[14] ได้เตรียม raspberry ellagitannin preparation (REP) ในรูปแบบสารสกัดที่ทำให้แห้งด้วยความเย็น (freeze-dried) ซึ่ง จะมี lambertianin C กับ sanguiin H-6 เป็นองค์ประกอบหลัก จากนั้นนำไปละลายในสารละลาย บัฟเฟอร์ที่มี pH และอุณหภูมิต่าง ๆ เพื่อศึกษาความคงสภาพเชิงเคมีโดยติดตามจากพีคในโครมาโต แกรมของ HPLC-MS สิ่งสำคัญที่พบจากการศึกษานี้ คือ การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบจะเกิดจาก ปฏิกิริยา hydrolysis ของ ellagitannin เป็นหลัก^[12,13] และมีปฏิกิริยาออกซิเดชันเล็กน้อยในบาง สภาวะ โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้อง คือ pH ของสารละลายและอุณหภูมิ^[14]

lambertianin C และ sanguiin H-6 จะคงตัวที่ pH ต่ำ เมื่อ pH เพิ่มขึ้นจนเป็นกลางและ ต่าง และสารจะสลายตัวเร็วขึ้นจนสลายตัวเกือบหมดภายในเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิสูง โดยมีสิ่งที่ น่าสนใจในการศึกษานี้ คือ การ transform ของลักษณะพอลิเมอร์ของ ellagitannin เป็น dimer และ monomer จนเปลี่ยนเป็น Ellagic acid และ Gallic acid ในที่สุด^[14] ซึ่งผู้ศึกษาได้จัดกลุ่มหรือ cluster ของสารด้วยตำแหน่งพีคและพื้นที่ของแต่ละพีคที่เปลี่ยนไปตามเวลาด้วยหลักสถิติ โดย C-1 คือ native REP ellagitannins ส่วน C-2 และ C-3 คือ สารที่ได้จากปฏิกิริยา hydrolysis ในช่วงแรก และช่วงหลัง ซึ่งจะปรากฏพีคใกล้เคียงกับกลุ่ม C-1 และพีคก่อน C-1 ตามลำดับ ส่วน C-4 เรียกว่าเป็น final products ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาหลักและรอง ซึ่งมี Ellagic acid และ Gallic acid อยู่ด้วย ดัง แสดงในรูปที่ 4^[14]



รูปที่ 4 ผลการวิเคราะห์ cluster และการเปลี่ยนแปลงตามเวลาดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงที่ [14]

1.6.2. การศึกษาความคงสภาพของ Hydrolysable Tannins จากเปลือกผล *Trapa taiwanensis*

Wang และคณะได้ศึกษาความคงสภาพของสารสกัดจากเปลือกผล *Trapa taiwanensis* โดยติดตามปริมาณของ tellimagrandin II และ 1,2,3,4,6-pentagalloylglucopyranose ซึ่งเป็น hydrolysable tannins ในสารละลายบัฟเฟอร์ รวมทั้งสภาวะอุณหภูมิ และแสง พบว่าสารทั้งสองไม่คงสภาพใน pH สูง ส่วนที่อุณหภูมิสูงและแสงนั้นจะมีความคงสภาพเมื่อใช้เมทานอลและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังพบว่าสารทั้งสองเกิด hydrolysis ได้ดีในสารละลายจำลองสภาพของลำไส้ ซึ่ง hydrolysable tannins ในกลุ่มนี้เมื่อสลายแล้วจะได้ ellagic acid ซึ่งถูกแปรสภาพด้วยแบคทีเรียในลำไส้เกิดเป็น urolithin [15]

สำหรับกรณีศึกษาทั้งสองของ hydrolysable tannins ข้างต้น จะเห็นว่าสารเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างการศึกษาคงสภาพนั้นเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันรวมทั้งอาจแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพร่วมกัน หรืออาจเกิดในลักษณะ prodrugs. หรือเป็นแหล่งสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds reservoir) ดังนั้นการติดตามความคงสภาพเชิงเคมีของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มี hydrolysable tannins เป็นองค์ประกอบนั้นจะต้องคำนึงถึงพลวัตข้างต้น และอาจใช้วิธี mass balancing ในการประเมินเหมือนกับการศึกษาเชิงจลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของยาแผนปัจจุบัน และที่สำคัญควรเลือกพารามิเตอร์การออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมาะสมสอดคล้องกับข้อบ่งใช้ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรนั้นมาประกอบด้วย จะทำให้การกำหนดอายุการเก็บรักษามีความเป็นไปได้มากขึ้น [15]

2. ความท้าทายในการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพร

จากกรณีศึกษาข้างต้นอาจมองเป็นความท้าทายที่พบได้ในการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพร ซึ่งเกิดจากความหลากหลายของสารเคมีและสารชีวเคมีที่เป็นองค์ประกอบของวัตถุดิบสมุนไพร ที่โดยปกติแล้ววัตถุดิบสำคัญและออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรจะไม่มี การแยกองค์ประกอบของสมุนไพรให้บริสุทธิ์ จึงต้องมีเทคนิควิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของ

องค์ประกอบที่หลากหลายทั้งชนิดและปริมาณมาประกอบ เช่น ลายพิมพ์นิ้วมือเชิงโครมาโตกราฟี นอกจากนี้ควรมีการตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างสารเคมีที่ใช้ติดตาม หรือสารเทียบกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่สอดคล้องกับข้อบ่งใช้ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรนั้น เพื่อใช้ประเมินอายุการเก็บรักษาที่เหมาะสมสอดคล้องกับหลักการคงประสิทธิภาพ ความปลอดภัย ของการบริโภค^[4]

ส่วนความซับซ้อนอื่นที่อยู่เบื้องหลังความท้าทายของการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพร คือ ความแปรปรวนขององค์ประกอบวัตถุดิบสมุนไพร ซึ่งขึ้นกับสภาวะแวดล้อมในการปลูก เช่น น้ำ อากาศ ฤดูกาล ภูมิประเทศ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ รวมทั้งวิธีการแปรรูปหลังการเก็บเกี่ยวด้วย โดยที่ผ่านมามีงานวิจัยของ Garg และคณะ^[4] แสดงให้เห็นว่าสมุนไพรที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ มีความแตกต่างของปริมาณสารสำคัญ รวมถึงแหล่งผลิตที่แตกต่างกันมักจะส่งผลให้มีองค์ประกอบทางชีวเคมีที่แตกต่างกัน ตามลำดับ ส่วนการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรเป็นคุณลักษณะสำคัญอีกประการหนึ่ง ที่ไม่เพียงแต่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพแล้ว แต่ยังนำไปสู่การทำลายองค์ประกอบของสารเคมีในสมุนไพรบางชนิดโดยเอนไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นการตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรเป็นส่วนสำคัญของการทดสอบความคงสภาพ รวมทั้งสารกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนักที่ตกค้างที่อาจทำให้เกิดพิษ และสามารถทำปฏิกิริยาจนส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรเปลี่ยนแปลงไปในช่วงอายุการเก็บรักษา และส่งผลกระทบทำให้เกิดความไม่เข้ากันขององค์ประกอบที่ใช้ในตำรับยาเตรียมสมุนไพร หรือยาแผนโบราณได้อีกด้วย

บทสรุป

จากตัวอย่างการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรข้างต้น แสดงให้เห็นถึงการนำพารามิเตอร์ เช่น ความชื้น การกระจายขนาดอนุภาค ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ เป็นต้น การติดตามปริมาณของสารเทียบ (marker) เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน รวมถึงการติดตามฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลต่อประสิทธิผลของยา หรือผลิตภัณฑ์สมุนไพรเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บไว้ตามระยะเวลาที่กำหนด มาปรับใช้เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรแต่ละชนิด โดยระยะเวลาและสภาวะในการศึกษานั้นไม่ได้มีการกำหนดไว้ตามแนวทางความคงสภาพของยาสมุนไพร แต่เป็นความท้าทายสำหรับนักวิจัยที่จะต้องทำการทบทวนวรรณกรรม หรือศึกษาเพิ่มเติมถึงพารามิเตอร์ สารเทียบ แม้กระทั่งเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรก็จัดเป็นส่วนสำคัญของการทดสอบความคงสภาพที่จะนำมาปรับใช้ในการประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรเชิงกายภาพ เคมี เภสัชกรรม และชีวภาพ ซึ่งอาจนำไปสู่การกำหนดเกณฑ์ และวิธีการในการศึกษาความคงสภาพของสมุนไพรแต่ละชนิดต่อไปในอนาคตอย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

- [1]. The Pharmacopeia of the United States of America. The United States Pharmacopeia. 37th ed. Rockville, Md.: United States Pharmacopoeial Convention; 2014.
- [2]. พระราชบัญญัติผลิตภัณฑ์สมุนไพร พ.ศ. 2562. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 136 ตอนที่ 56 ก.
- [3]. The World Health Organization, Quality assurance of Pharmaceuticals: a Compendium of Guidelines and Related Materials, Vol. 1, The World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1997.

- [4]. Bansal G, Suthar N, Kaur J, Jain A. Stability Testing of Herbal Drugs: Challenges, Regulatory Compliance and Perspectives. *Phytotherapy Research*. 2016;30 (7):1046-1058.
- [5]. Thakur L, Ghodasra U, Patel N, Dabhi M. Novel approaches for stability improvement in natural medicines. *Pharmacognosy Reviews*. 2011;5(9):48-55.
- [6]. Patil D, Gautam M, Jadhav U, et al. Physicochemical stability and biological activity of *Withania somnifera* extract under real-time and accelerated storage conditions. *Planta Medica*. 2010;76(5):481-488.
- [7]. Sun G, Li R, Cui J, Hannink M, Gu Z, Fritsche K et al. *Withania somnifera* and Its Withanolides Attenuate Oxidative and Inflammatory Responses and Up-Regulate Antioxidant Responses in BV-2 Microglial Cells. *NeuroMolecular Medicine*. 2016;18(3):241-52.
- [8]. Keawkhamsorn P, Ratchawattana T, Pitchayajittipong C, Puapermpoonsiri U, Sila-on W. Study on stability and quality control of Centella capsule. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;11 (Supplement): 66-70.
- [9]. Kaur I, Suthar N, Kaur J, Bansal Y, Bansal G. Accelerated Stability Studies on Dried Extracts of *Centella asiatica* Through Chemical, HPLC, HPTLC, and Biological Activity Analyses. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 2016;21(4), 127-37.
- [10]. Ritdet P, Masthong R, Limsuwan S, Sakulkeo O, Joycharat N. Physical and Chemical Stability of Glycerin Formulations Containing Extracts from *Albizia myriophylla* and Cha-Em-Thang Song. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;16(2):45-56.
- [11]. Sittijityothin P. Quality Assessment of Thai Waxes with Herbs. *University of the Thai Chamber of Commerce Journal*. 2008;28(3):115-25.
- [12]. Seeram NP, Henning SM, Zhang Y, Suchard M, Li Z, Heber D. Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *Journal of Nutrition*. 2006;136(10):2481-2485.
- [13]. Sharma M, Li L, Cveler J, Killian C, Kooroor A, Seeram NP. Effects of fruit ellagitannin extracts, ellagic acid, and their colonic metabolite, urolithin A, on Wnt signaling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58(7):3965-69.
- [14]. Sójka, Michał & Janowski, Michał & Grzelak-Błaszczuk, Katarzyna. Stability and transformations of raspberry (*Rubus idaeus* L.) ellagitannins in aqueous solutions. *European Food Research and Technology*. 2019; 245:1-10.
- [15]. Wang CC, Chen HF, Wu JY, Chen LG. Stability of Principal Hydrolysable Tannins from *Trapa taiwanensis* Hulls. *Molecules*. 2019;24(2):365.