



การศึกษาฤทธิ์ของเจลต้านลิวจากสารสกัดใบตำมะงาต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*



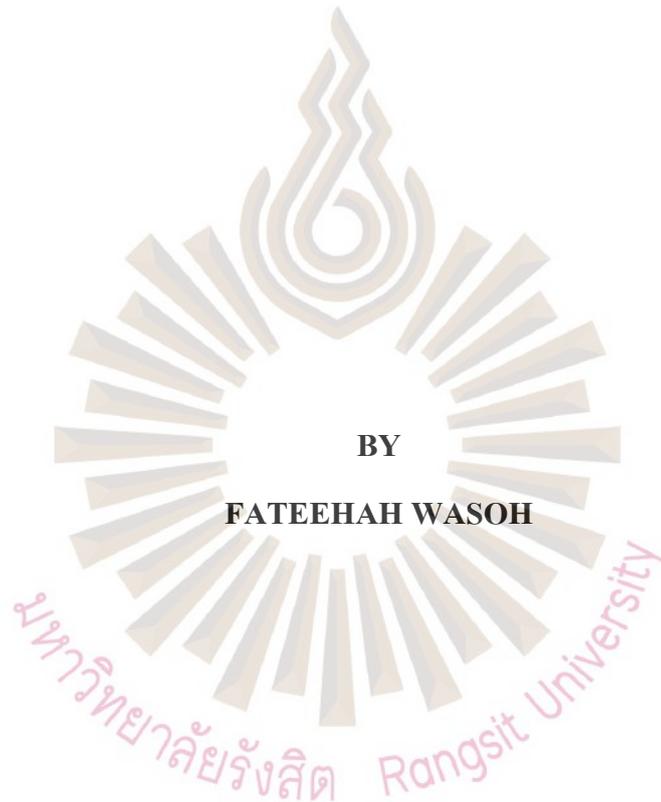
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม  
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก  
วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2567



**THE STUDY OF ANTI-ACNE GEL FROM *CLERODENDRUM INERME* (L.)  
EXTRACT ON INHIBITING *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND  
*STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS***



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN ORIENTAL MEDICINE  
COLLEGE OF ORIENTAL MEDICINE**

**GRADUATE SCHOOL, RANGSIT UNIVERSITY**

**ACADEMIC YEAR 2024**

วิทยานิพนธ์เรื่อง

การศึกษาฤทธิ์ของเจลต้านลิวจากสารสกัดใบตำมะงาต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

และ *Staphylococcus epidermidis*

โดย

ฟาติมะ วาโซ๊ะ

ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก

มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2567

---

ดร.ณัฐกาญจน์ แดงมณี  
ประธานกรรมการสอบ

ดร.ยุพาภรณ์ สำเภาพันธ์  
กรรมการ

---

ดร.นันทพงษ์ ขำทอง  
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร.วาสุกา พลาขาม  
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ศ.ดร. สৌจิตต์ เพ็ชรประสาน)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

30 กันยายน 2567

Thesis entitled

**THE STUDY OF ANTI-ACNE GEL FROM *CLERODENDRUM INERME* (L.)  
EXTRACT ON INHIBITING *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND  
*STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS***

by

FATEEHAH WASOH

was submitted in partial fulfillment of the requirements  
for the degree of Master of Science in Oriental Medicine

Rangsit University  
Academic Year 2024

---

Nattakan Dangmanee, Ph.D.  
Examination Committee Chairperson

Yupaporn Sampaopan, Ph.D.  
Member

---

Nanthaphong Khamthong, Ph.D.  
Member and Co-Advisor

Waluga Plaingam, Ph.D.  
Member and Advisor

Approved by Graduate School

(Prof. Suejit Pechprasarn, Ph.D.)  
Dean of Graduate School  
September 30, 2024

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ได้มอบทุนการศึกษาต่อในระดับมหาบัณฑิต วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์ของผู้มีพระคุณคือ ดร. วาตุกา พรายงาม และดร. นันทพงศ์ ขำทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งเป็นผู้ให้ความรู้ คำแนะนำ สอนเทคนิคการปฏิบัติการในห้องทดลอง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการค้าดำเนินงาน และการทำวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริง และความทุ่มเทของอาจารย์ จึงใคร่ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่อำนวยความสะดวกเอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้ นอกจากนี้ขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องที่คอยให้ความช่วยเหลือ แนะนำ แลกเปลี่ยนความคิดเห็น และให้กำลังใจตลอดมา ขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัวผู้ที่อยู่เบื้องหลังของความสำเร็จทุก ๆ ก้าว ที่คอยสนับสนุน และคอยเป็นกำลังใจเสมอมา

ฟาติสะ วาโษ๊ะ

ผู้วิจัย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

6105692 : ฟาติสะ วาโเชื้อ  
 ชื่อวิทยานิพนธ์ : การศึกษาฤทธิ์ของเจลด้านผิวหนังจากสารสกัดใบส้มเงาะต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*  
 หลักสูตร : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก  
 อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. วาลูกา พลายงาม  
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร. นันทพงศ์ ขำทอง

**บทคัดย่อ**

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบส้มเงาะต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* และ *S. epidermidis* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไคคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ ด้วยวิธี Agar Well Diffusion พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล ที่ความเข้มข้น 60 µg/mL สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 21.33±2.08 mm ในขณะที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนเท่ากับ 23.00±0.00 mm ไคคลอโรมีเทนเท่ากับ 21.00±2.64 mm เอทิลอะซิเตทเท่ากับ 28.33±2.88 mm และ Amoxicillin ที่ใช้เป็นสารควบคุมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 22.00±0.00 mm ส่วนสารสกัดน้ำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ สำหรับการหาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี Broth Microdilution พบว่าค่า MIC และ MBC ของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลเท่ากับ 7.5 และ 15 µg/mL ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดเฮกเซน ไคคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และ Amoxicillin มีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 15.625 และ 31.25 µg/mL ตามลำดับ เมื่อนำเจลด้านผิวหนังจากสารสกัดใบส้มเงาะมาทดสอบด้วยวิธี Agar Well Diffusion พบว่า เจลด้านผิวหนังมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 8 mm ในขณะที่ยาเจลด้านผิวหนัง Clindamycin จากท้องตลาด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 15 mm จากผลการทดลองพบว่า เจลด้านผิวหนังจากสารสกัดใบส้มเงาะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ลดลงเมื่ออยู่ในรูปแบบเจล และยาเจลด้านผิวหนัง Clindamycin สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่าเจลด้านผิวหนังจากสารสกัดใบส้มเงาะ

(วิทยานิพนธ์มีจำนวนทั้งสิ้น 39 หน้า)

คำสำคัญ: ฤทธิ์ทางชีวภาพ, เชื้อแบคทีเรีย, เจลด้านผิวหนัง

6105692 : Fateehah Wasoh  
 Thesis Title : The Study of Anti-Acne Gel from *Clerodendrum inerme* (L.) Extract on Inhibiting *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*  
 Program : Master of Science in Oriental Medicine  
 Thesis Advisor : Waluga Plaingam, Ph.D.  
 Thesis Co-Advisor : Nanthaphong Khamthong, Ph.D.

**Abstract**

The study involved the biological activity of *Clerodendrum inerme* extracts on the inhibition of *S. aureus* and *S. epidermidis* bacteria extracted with five solvents: hexane, dichloromethane, ethyl acetate, ethanol, and water, using the agar well diffusion method. It was found that the ethanol extract with a concentration of 60 µg/mL provided a better antibacterial effect on *S. epidermidis* than the other extracts. The inhibition diameter of the ethanol extract was 21.33±2.08 mm, while those of the hexane, dichloromethane, and ethyl acetate extracts were 23.00±0.00, 21.00±2.64, and 28.33±2.88 mm, respectively. Amoxicillin, used as a control, had the diameter of inhibition of 22.00±0.00 mm. The water extract was unable to inhibit *S. epidermidis*. MIC and MBC values were determined using a broth microdilution method. The results showed that the MIC and MBC values of the ethanol extract were 7.5 and 15 µg/mL, respectively, while those of the hexane, dichloromethane, and ethyl acetate extracts as well as amoxicillin were the same at 15.625 and 31.25 µg/mL, respectively. The test of anti-acne gel from *C. inerme* extract by using the agar well diffusion method showed that the anti-acne gel had a lesser inhibition diameter of 8 mm than clindamycin, a commercially available anti-acne gel which had the inhibition diameter of 15 mm. The results of the experiment revealed that the anti-acne gel derived from *C. inerme* extract had a lower inhibitory effect on *S. epidermidis* while in a gel form. The clindamycin could inhibit *S. epidermidis* better than the anti-acne gel from *C. inerme* extract.

(Total 39 pages)

Keywords: Bioactivity, Bacteria, Anti-Acne Gel

Student's Signature ..... Thesis Advisor's Signature .....  
 Thesis Co-Advisor's Signature .....

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
<b>บทที่ 1</b>	
<b>บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 คำถามการวิจัย / สมมติฐานการวิจัย	2
1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย	2
1.5 นิยามศัพท์	3
<b>บทที่ 2</b>	
<b>ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง / ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
2.1 สัมมะงา	4
2.2 สแตฟฟีโลคอคคัส ออเรียส ( <i>S. aureus</i> )	7
2.3 สแตฟฟีโลคอคคัส อีพิดิเมอมีดิส ( <i>S. epidermidis</i> )	8
2.4 วิธีการสกัด	10
2.5 เจล	11
2.6 การประเมินคุณภาพเจล	13
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับต้นสัมมะงา	16
<b>บทที่ 3</b>	
<b>ระเบียบวิธีการวิจัย</b>	<b>18</b>
3.1 เครื่องมือที่ใช้การวิจัย	18

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย	18
3.3 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	19
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ	19
3.5 ขั้นตอนการวิจัย	19
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b>	<b>23</b>
4.1 ปริมาณสารสกัดที่ได้จากพืช	23
4.2 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากใบส้มมะงา	23
4.3 การประเมินคุณภาพของเจลต้านชีวจากสารสกัดใบส้มมะงา	26
<b>บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ</b>	<b>29</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย	29
5.2 ข้อเสนอแนะ	29
<b>บรรณานุกรม</b>	<b>31</b>
<b>ภาคผนวก</b> วิธีการดำเนินงาน	<b>35</b>
<b>ประวัติผู้วิจัย</b>	<b>39</b>

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	สูตรส่วนผสม และส่วนประกอบของเจล	22
4.1	ร้อยละของสารสกัดของใบส้มมะงา	23
4.2	ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>S. epidermidis</i> ด้วยวิธี Agar Well Diffusion	25
4.3	ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดของใบส้มมะงา	25
4.4	ผลการประเมินลักษณะภายนอกของเจลต้านชีวจากสารสกัดใบส้มมะงา	27
4.5	ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของเจลต้านชีวจากสารสกัดใบส้มมะงา	27



## สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ต้นสำมะงา	4
2.2	แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของ <i>S. aureus</i> จากการย้อมสีแกรม	8
2.3	แสดงโคโลนีของ <i>S. aureus</i>	8
2.4	ลักษณะเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	9
2.5	ลักษณะโคโลนีของเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ	9
2.6	การจัดตั้งอุปกรณ์สำหรับการสกัดโดยใช้ Soxhlet Extractor	10
2.7	การจัดตั้งอุปกรณ์สำหรับการสกัดโดยใช้กรวยสกัด	11
4.1	ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ด้วยวิธี Agar Well Diffusion ของเชื้อ <i>S. epidermidis</i>	24
4.2	ลักษณะภายนอกของเจลต้านลิวจากสารสกัดใบสำมะงา	26

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สิว (Acne) จัดเป็นโรคผิวหนังที่พบได้บ่อย โดยเฉพาะในเด็กวัยรุ่นทั้งชาย และหญิง การเป็นสิวมักมีผลต่อคุณภาพชีวิตทั้งด้านอารมณ์ จิตใจ และสังคม ทำให้สูญเสียความมั่นใจในตนเอง ทำให้เกิดความเครียด และวิตกกังวล ไม่สามารถเข้าสังคมได้ อีกทั้งความเข้าใจของคนส่วนใหญ่เกี่ยวกับสิวมักจะเป็นเรื่องของความสวยงาม ทำให้หลายคนพยายามซื้อยามารักษาด้วยตนเอง ซึ่งแท้จริงแล้วการรักษาสิวจำเป็นต้องได้รับการดูแลจากแพทย์ผิวหนังอย่างเหมาะสม การเข้าใจโดยไม่จำเป็นหรือไม่เหมาะสมกับอาการ เป็นการเพิ่มความเสี่ยงในการได้รับอันตรายจากยาได้ (คณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2553)

สิวก่อเกิดจากปัจจัยต่าง ๆ ได้หลายปัจจัย เช่น ผนังท่อต่อมไขมันแบ่งตัวมากกว่าปกติ และไม่หลุดลอกออก ต่อมไขมันหลังไขมันมากกว่าปกติ ปฏิกริยาการอักเสบ และมีเชื้อแบคทีเรียอาศัยอยู่บริเวณต่อมไขมัน แบคทีเรียที่มักเป็นสาเหตุของสิวเช่น *Propionibacterium acnes* (*P.acnes*), *Staphylococcus epidermidis* (*S.epidermidis*) และ *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) ซึ่งเชื้อเหล่านี้มีกลไกที่ทำให้เกิดสิว โดยการหลั่งเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น Lipase, Phosphatase, Hyaluronidase และ Protease และสารที่ไม่ใช่เอนไซม์ ซึ่งสารเหล่านี้ก่อให้เกิดการระคายเคือง กระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวมารวมกันมากขึ้น และเกิดการอักเสบตามมา การรักษาสิวนั้นไม่รุนแรงจะเลือกใช้ยาปฏิชีวนะสำหรับทาภายนอก เช่น Clindamycin Solution 1% และ Erythromycin Solution 2-4% แต่ในปัจจุบันพบว่าเชื้อที่เป็นสาเหตุของสิว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *P.acne* มักคือต่อยา (Ross et al., 2003)

จากการศึกษาวิจัยพบว่าสารสกัดจากสามงาที่สกัด Isoamyl Alcohol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* (Prasad, Sushant, & Chikkaswamy, 2012) และพบว่าสารสกัดจากใบ และรากสามงาซึ่งประกอบด้วยสารในกลุ่ม Steroids ได้แก่  $4\alpha$ -Methylsterol,  $24\beta$ -Ethyl-25-Dehydrolophenol, Stigmasta-5,22,25-Trien-3- $\beta$ -ol (คิสไทย, ม.ป.ป.) Terpenoids ได้แก่ Friedelin,  $\beta$ -amyrin, Lupine-Type Triterpene Glucoside (Parveen, Khanam, Ali, & Rahman, 2010) และ Flavonoids ได้แก่ Acacetin, Hispidulin, Diosmetin

(Srisook et al., 2015) นั้นมีสารในกลุ่ม steroids ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดี (สิริกร ก่ออานันต์, 2557)

การใช้สมุนไพรรักษาโรคต่าง ๆ เป็นภูมิปัญญาของชาวไทยแต่โบราณ สมุนไพรไทยหลายชนิดมีสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนัง แต่ยังคงขาดข้อมูล หรือข้อมูลไม่เพียงพอที่จะยืนยันตามหลักการทางวิทยาศาสตร์ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำสมุนไพรบางชนิดที่มีข้อมูลในคัมภีร์วิถีกฤษโรค ซึ่งอยู่ในคัมภีร์แพทย์ไทยแผนโบราณ เล่ม 3 (อำพัน กิตติขจร, ม.ป.ป.) ที่มีสรรพคุณรักษาโรคผิวหนังมาทำการศึกษาดังฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลรักษาผิวจากสารสกัดใบส้มมะงา โดยคำนึงถึงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ อีกทั้งยังเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรตลอดจนเพิ่มทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อสกัด และแยกส่วนสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน และศึกษาสูตรฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

1.2.2 เพื่อพัฒนาเจลที่ผสมสารสกัดจากส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

## 1.3 คำถามการวิจัย / สมมติฐานการวิจัย

สารสกัด และผลิตภัณฑ์เจลจากใบส้มมะงามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ได้

## 1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย

1.4.1 สกัดสารจากใบส้มมะงา โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล

1.4.2 นำสารสกัดเอทานอลมาสกัดแยกส่วน โดยวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid-Liquid Extraction) ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไคคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และน้ำ

1.4.3 ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัด และส่วนสกัดที่แยกได้ และศึกษาปริมาณของสารสกัดที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

1.4.4 เตรียมเจล โดยผลิตคาร์บเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัด โดยใช้สารก่อเจล คือ Carbopol 940

1.4.5 ทดสอบคุณภาพ และทดสอบฤทธิ์ของเจลที่ผลิตขึ้น กับเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

## 1.5 นิยามศัพท์

### เจลด้านลิว

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาผิว เพื่อปกป้องดูแลผิวให้อยู่ในสภาพที่ดี มีเนื้อสัมผัสลักษณะเป็นเจล โดยเจลด้านลิวจะมีส่วนผสมของสารสกัดใบสำมะงาที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ ลดการอักเสบของผิว

### ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

โดยตัวอย่างที่นำมาทดสอบประกอบด้วย เจลด้านลิวจากสารสกัดใบสำมะงา สกัดด้วย Ethanol 95% มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเบื้องต้นด้วยวิธี Agar Well Diffusion โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง (Inhibition Zone) และหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration หรือ MIC) ด้วยวิธี Broth Microdilution รวมถึงทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration หรือ MBC) ด้วยวิธี Drop Plat

### ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

โดยตัวอย่างที่นำมาทดสอบประกอบด้วย เจลด้านลิวจากสารสกัดใบสำมะงา สกัดด้วย Ethanol 95% มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเบื้องต้นด้วยวิธี Agar Well Diffusion โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง (Inhibition Zone) และหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration หรือ MIC) ด้วยวิธี Broth Microdilution รวมถึงทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration หรือ MBC) ด้วยวิธี Drop Plat

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ตำมะงา

2.1.1 ชื่อวิทยาศาสตร์ *Volkameria inermis* L.

2.1.2 ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Clerodendrum inerme* (L.) Gaertn.

2.1.3 ชื่อวงศ์ LAMIACEAE หรือ LABIATAE

2.1.4 ชื่อท้องถิ่น ตำมะลิงา (ชัยภูมิ), เขี้ยวงู (ประจวบคีรีขันธ์), ส้มเนรา (ระนอง), สักขรีย่าน (ชุมพร), ลำปังกา (สตูล), สาบแรังสาบกา (ภูเก็ต), ลำลิงา ลำมะลิงา ตำมะงา (ภาคกลาง, ภาคตะวันออก), คากี (ภาคใต้), จุยหุ้มัว โสวหลังเช่า (จีน), บู่เจียซู่ ส่วยหุหม่าน (จีนกลาง), สามพันหว่า เป็นต้น



รูปที่ 2.1 ต้นตำมะงา

ที่มา: เมคไทย, 2554

ต้นตำมะงา จัดเป็นไม้พุ่มกึ่งไม้เถาที่เลื้อยทอดลำต้นเกาะเกี่ยวขึ้นไป มีความสูงได้ประมาณ 1-2 เมตร แตกกิ่งก้านสาขามาก กิ่งก้านเป็นสี่เหลี่ยมหรือสี่เหลี่ยมมน ๆ ออกสีน้ำตาลเล็กน้อย เปลือกลำต้นเรียบ เป็นสี่เหลี่ยมสีน้ำตาล ตามกิ่งอ่อนเป็นสีเขียวอมม่วง และมีขนปกคลุม ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด และวิธีการตอนกิ่งปักชำ จัดเป็นพรรณไม้กลางแจ้ง เจริญเติบโตได้ดีในดินชื้นแฉะหรือ

ตามริมแม่น้ำลำคลอง ชอบแสงแดดแบบเต็มวัน มีเขตการกระจายพันธุ์อยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ถึงอินโดนีเซีย ในประเทศไทยพบขึ้นตามชายป่าใกล้ ๆ ลำห้วย และตามป่าชายหาด

### 2.1.5 สรรพคุณ

ใบ : แก้โรคผิวหนังคัน แก้พิษหัดสุกใส แก้ประดงผด ผื่นคัน แก้บวมแผลฟกช้ำ จากหกล้มหรือกระแทก แก้ไข้มาลาเรีย แก้ไข้

ราก : รักษาโรคเก๊าท์ ขับน้ำเหลืองเสีย แก้ไข้รักษาไขข้ออักเสบ แก้ไข้ที่มีอาการบวมตามร่างกาย แก้ไข้หวัด แก้ตับอักเสบ แก้ตับ ม้ามโต (นันทวัน บุญยะประภัสร์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร, 2543) ข้อควรระวังในการใช้สมุนไพรสามะงา ยาชนิดนี้พบพิษที่ใบ และก้าน ซึ่งใบจะมีพิษมากกว่าราก (รากมีพิษและมีกลิ่นเหม็น) ฉะนั้นห้ามนำมารับประทาน และควรใช้อย่างระมัดระวัง

### 2.1.6 ข้อมูลทางเภสัชวิทยาของสามะงา

2.1.6.1 ใบสามะงาจะมีสารที่ทำให้มีรสขมและละลายน้ำไม่ได้ ซึ่งเป็นสารจำพวกอัลคาลอยด์ (Alkaloids) อยู่หลายชนิด คือ Pectolinarigenin, 4-Methylscutellarein, Unsaponified Matters, Cholesterol, Higher Fatty Alcohols, Steroids ฯลฯ นอกจากนี้ยังมีพวก Resin, Gum สารสีน้ำตาล เกลือจากใบมีเกลือแดง (Sodium Chloride) 24.01% ของแห้งทั้งหมด

2.1.6.2 น้ำที่ได้จากการสกัดใบสามะงา จะมีฤทธิ์กระตุ้นมดลูกของหนูใหญ่ที่แยกออกจากตัว และมีฤทธิ์เพิ่มความดันโลหิตของสุนัขที่ทำให้สลบชั่วคราวหรือถ้าให้ในปริมาณน้อย จะมีฤทธิ์กระตุ้นการบีบตัวของลำไส้

2.1.6.3 สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์จากใบสามะงาที่มีรสขม จะมีฤทธิ์กระตุ้นมดลูกของหนูใหญ่ที่กำลังมีท้อง และจากการสกัดแยกสารจำพวก Sterols จากพืชชนิดนี้ ไม่พบฮอร์โมนเพศหญิงหรือฮอร์โมนเพศชายหรือของต่อมเพศอื่น

### 2.1.7 องค์ประกอบทางเคมีของสามะงา

จากการแยกสารสำคัญในใบและรากพบว่ามีกลุ่มสาร Flavonoids, Steroids, Terpenoids และ Long Chain Hydrocarbons (สิริกร ก่ออานันต์, 2557) นอกจากนี้ยังมีรายงานสารในกลุ่ม Rearranged Abietane Diterpenes (Ba Vinh et al., 2018) Ethylcholestane Derivatives, Aliphatic Ketones (11-Pentacosanone และ 6-Nonacosanone) Diterpenes (Clerodermic acid), Neo-clerodane Diterpenes (Epicaryoptin Derivatives และ Diterpene Dimers (inermes A,B) Betulinic Acid (Pandey et al., 2003; Pandey et al., 2005; Pandey et al., 2007) Megastigmanes และ Iridoid Glycosides (Kanchanapoom et al., 2001) Triterpene Glucosides (Parveen et al., 2010) สารกลุ่ม Flavonoids ได้แก่ Acacetin, Hispidulin และ Diosmetin (Srisook et al., 2015)

## 2.1.8 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดลำมะงา

### 2.1.8.1 ฤทธิ์ต้านอักเสบ

สารสกัดชั้น Ethyl Acetate จากใบมีฤทธิ์ต้านอักเสบ เมื่อทดสอบโดยการยับยั้งการผลิต Nitric Oxide ซึ่งสารสำคัญที่แยกได้ ได้แก่ Acacetin, Hispidulin และ Diosmetin ซึ่ง Hispidulin ยับยั้งการสร้าง PGE<sub>2</sub> และ iNOS และ Cyclooxygenase-2 Expression โดยผ่านการยับยั้ง NF-κB DNA Binding และ JNK Signaling Pathway (Srisook et al., 2015)

### 2.1.8.2 ฤทธิ์ลดอาการปวด

สารสกัดชั้น Ethanol และชั้นน้ำจากใบในขนาด 25 และ 100 mg/kg มีฤทธิ์ต้านอาการปวดในสัตว์ทดลอง ซึ่งสารสำคัญที่แยกได้จากชั้น Ethanol ได้แก่ N-octacosane, Friedelin, β-amyrin และ Lupine-type Triterpene Glucoside (Parveen et al., 2010)

### 2.1.8.3 ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ Hepatoprotective

สารสกัดของลำมะงาจากส่วนใบ และลำต้นด้วย Hydromethanolic พบว่ามีความเป็นพิษต่อ Brine Shrimp โดยมี LD<sub>50</sub> 30 ppm ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งประเภท Burkitt's Lymphoma ได้ถึง 50% ในขนาด 213.2 g/mL และการให้สารสกัดในขนาด 200 และ 400 mg/kg ของหนูสามารถยืดชีวิตหนูทดลองที่ถูกกระตุ้นให้เป็นมะเร็ง Burkitt's Lymphoma (Kumar et al., 2018) Rearranged Abietane Diterpene แยกจากใบลำมะงา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วย DPPH Radical Scavenging Assay มีค่า IC<sub>50</sub> อยู่ในช่วง 10.1-17.6 μM และพบว่า Harwickii Acid (สารกลุ่ม Diterpene) มีฤทธิ์ต้านเซลล์ HCT 116 ด้วย IC<sub>50</sub> = 3.46 μM (Ba Vinh et al., 2018) ส่วนฤทธิ์ Hepatoprotective พบว่าสารสกัดในชั้น Ethanol ยังช่วยลดการหลั่งเอนไซม์ของเซลล์ตับหนูที่ถูก Treat ด้วย CCl<sub>4</sub> โดยลด Enzyme ALT AST ALP Triglyceride และ Cholesterol และในขนาด 2000g/kg ไม่ทำให้สัตว์ตาย (Gopal and Sengottuvelu, 2008)

### 2.1.8.4 ฤทธิ์ต้านเชื้อราและแบคทีเรียและฤทธิ์อื่นๆ

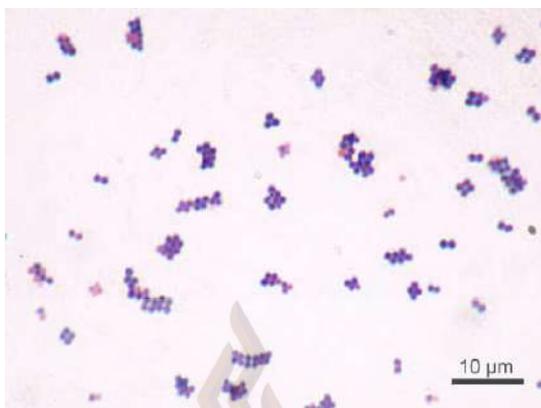
งานวิจัยของสิริกร ก่ออานันต์ (2557) พบว่า สารสกัดจากใบ และรากซึ่งประกอบด้วยสารในกลุ่ม Steroids Terpenoids และ Flavonoids หลายชนิด งานวิจัยพบว่าสารในกลุ่ม Steroids ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดี และสารในกลุ่ม Flavonoids ยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* ยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติล โคลีนเอสเทอเรส และบิวเทอรินเอสเทอเรส และยับยั้งการเกิด Amyloid Aggregation ซึ่งอาจมีประโยชน์กับการป้องกันหรือรักษาโรคอัลไซเมอร์ นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ก่อโรคในคน พบว่าสารสกัดด้วย Hexane และ Ethyl Acetate ในขนาด 1 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อรา *Epidermophyton*

*floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans* สารสกัดด้วย Hexane และ Ethyl Acetate ใบตำมะงาในขนาด 1 mg/mL มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืช *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Botrytis cinerea*, *Curvularia lunata* และ *Fusarium oxysporum* (Anitha and Kannan, 2006)

## 2.2 สแตฟฟีโลคอคคัส ออเรียส (*S. aureus*)

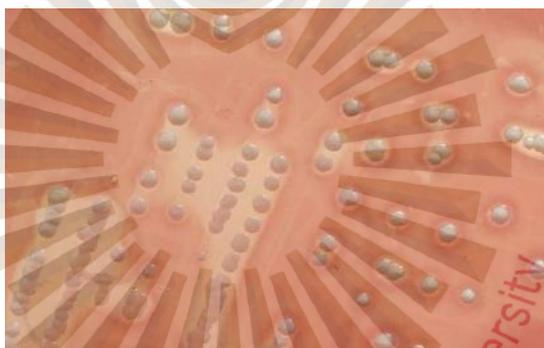
เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาดสม่ำเสมอเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร เรียงตัวอยู่เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ให้ผลบวกในการทดสอบ Catalase สามารถสร้าง Coagulase ได้ซึ่งเป็นการทดสอบที่สำคัญที่ใช้ในการแยก *S. aureus* ออกจาก *S. สายพันธุ์อื่น ๆ* โดย Coagulase ทำให้พลาสมาเกิดการแข็งตัว โดยอาศัย Coagulase Reacting Factor (RCF) ซึ่งมีอยู่ใน พลาสมาของคน และสัตว์บางชนิดเป็นตัวกระตุ้นการสร้างไฟบริน และการแข็งตัวของพลาสมา โดยมีบทบาทในการก่อโรค คือไฟบรินจะไปห่อหุ้มรอบแบคทีเรีย ทำให้เม็ดเลือดขาวไม่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ นอกจากนี้ยังพบการสร้างเอนไซม์ Penicillinase หรือ  $\beta$ -lactamase ออกฤทธิ์ทำลายยาในกลุ่ม Penicillins เช่น Ampicillin, Carbenicillin, Methicillin และ Amoxicillin เป็นต้น โดยเอนไซม์นี้สามารถทำลาย  $\beta$ -lactam Ring ของยาดังกล่าวได้ *S. aureus* ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ให้โคโลนีสีครีมหรือเหลืองทอง เป็นเชื้อที่เจริญได้ง่ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดธรรมดา ไม่ต้องการอาหารเลี้ยงเชื้อพิเศษจัดเป็นแบคทีเรียที่มีความทนทานมาก สามารถทนต่ออุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แต่จะตายที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 2-3 นาที เชื้อ *S. aureus* พบเป็นเชื้อประจำถิ่นได้ในมากกว่า 60% ของประชากร โดยพบที่โพรงจมูก ส่วนหน้าถึง 20% และอาจพบได้ที่รักแร้ ขาหนีบ คอหอย และมือ เป็นต้น ซึ่งจะพบได้มากขึ้นในผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยง ได้แก่ ผู้ป่วยเบาหวาน, โรคตับ, ภูมิคุ้มกันบกพร่อง, ผู้ป่วยที่ต้องฟอกไต และผู้ป่วยภูมิแพ้ผิวหนัง (Atopic Dermatitis) แบคทีเรียนี้ก่อโรคในคนได้บ่อยที่สุด นอกจากสามารถสร้างพิษและเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น อัลฟาทอกซิน ( $\alpha$ -toxin), เอกซ์โฟลิเอติน (Exfoliatin), ซุปเปอร์แอนติเจนทอกซิน (Superantigen Toxins), เอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) เป็นต้น ทำให้สามารถต่อสู้กับกลไกที่ร่างกายใช้ในการกำจัดจุลชีพ และก่อโรคติดเชื้อผิวหนังที่รุนแรง เช่น Staphylococcal Scalded-Skin Syndrome และ Toxic Shock Syndrome ได้อีกด้วย *S. aureus* พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง (Pyoderma) ได้บ่อยที่สุด ทั้งแบบปฐมภูมิ และทุติยภูมิ (Primary and Secondary Pyodermas) ซึ่งอาจก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (Bacteremia) และการติดเชื้อในระบบอื่นเช่น กระดูก (Osteomyelitis) และหัวใจ (Infective Endocarditis) ได้อีกด้วย

การติดเชื้อที่มีสาเหตุจาก *S. aureus* มักเกี่ยวข้องกับทางผิวหนัง เช่น ฝี, รูขุมขนอักเสบ, สิว รวมถึงการติดเชื้อที่แผลหลังการผ่าตัด (วาริรัตน์ หนูหิต, 2557)



รูปที่ 2.2 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของ *S. aureus* จากการย้อมสีแกรม

ที่มา: Y Tambe, 2005

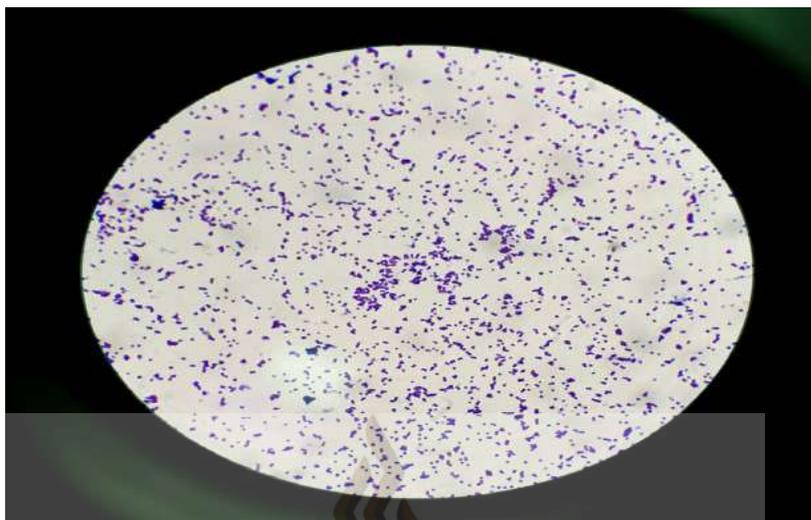


รูปที่ 2.3 แสดง โคลินีของ *S. aureus*

ที่มา: Microrao, 2009

### 2.3 สเตฟฟีโลคอคคัส อีพิดีเดมิดิส (*S. epidermidis*)

*S. epidermidis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาด 0.5-1.5  $\mu\text{m}$  อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (รูปที่ 2.4) ลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก สีขาว (รูปที่ 2.5) สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37°C เป็นแบคทีเรียที่พบได้บ่อยที่สุดในกลุ่ม *Staphylococcus* ที่ไม่สร้าง Coagulase นอกจากนั้นยังไม่สามารถสร้างแอลฟาที่อกซิน ( $\alpha$ -toxin), เอกซ์โฟลิเอติน (Exfoliatin) และซูเปอร์แอนติเจนที่อกซิน (Superantigen Toxins) ได้



รูปที่ 2.4 ลักษณะเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา: Istock by Getty images, n.d.



รูปที่ 2.5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ที่มา: Medical Microbiology, 2009

*S. epidermidis* พบเป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal Microbiota) ที่ผิวหนัง โพรงจุก รูหู และทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย ในอดีตไม่ค่อยเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ แต่เนื่องจากมีการใช้ Catheters และ Prosthesis กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น จึงพบว่ามีความสำคัญในการก่อการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากขึ้น นอกจากนี้ โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชืวดังกล่าวจะยากต่อการรักษา เนื่องจาก *S. epidermidis* สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ และมีแบบแผนการดื้อยาไม่แน่นอน และแตกต่างกับ *S. aureus* พบการดื้อยาต่อกลุ่ม Penicillinase-resistant Penicillin และ Cephalosporin

มากกว่า *S. aureus* ซึ่งยาทั้งสองกลุ่มนี้ ได้ผลดีกับ *S. aureus* การรักษาจึงจำเป็นต้องใช้ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะเป็นแนวทาง (นิธิ ตั้งศิริทรัพย์, 2555)

## 2.4 วิธีการสกัด

**2.4.1 การชง (Infusion)** คือการเอาสมุนไพรหรือพืชที่ต้องการสกัดมาแช่ด้วยน้ำร้อนหรือน้ำเย็นในเวลาเพียงสั้นๆ สารสกัดที่ได้จะเป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ดีที่อุณหภูมิไม่สูงมาก

**2.4.2 การต้ม (Decoction)** คือการสกัดสารที่ละลายได้ดีในน้ำ และสามารถทนความร้อนได้ดีโดยการต้มสมุนไพรหรือพืชในน้ำจนเดือด

**2.4.3 การหมัก (Maceration)** คือ เป็นวิธีการสกัดโดยนำสมุนไพรหรือพืชหมักกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด ทิ้งไว้ 3-7 วัน เขย่าหรือคนบ่อยๆ แล้วกรองเอาสารสกัดไปใช้ ถ้าต้องการให้สารออกจนหมดอาจต้องสกัดหลายครั้ง ข้อดีคือสารจะไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลาย

**2.4.4 การสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet Extractor)** เป็นอุปกรณ์ที่ออกแบบมาสำหรับสกัดสารให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งนิยมใช้ในกรณีที่จะสกัดละลายได้ไม่คืนในตัวทำละลายอินทรีย์ที่จะสกัด การสกัดทำโดยอาศัยหลักการการให้ตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอ จากนั้น กลั่นตัวเป็นของเหลวผ่านลงไปนในสาร (ของแข็งหรือของเหลว) จากนั้นตัวทำละลายที่ได้สัมผัส กับสาร จะไหลลงสู่ขวดรองรับ ตัวทำละลายที่พาสารลงมาในขวดนี้จะถูกระเหยกลับขึ้นไป (ที่สารที่สกัดออกมาไว้ในขวดรองรับ) แล้วกลั่นตัวลงบนสารซ้ำแล้วซ้ำอีกดังนี้ไปเรื่อย ๆ การกระทำเช่นนี้จะทำให้ได้สารที่ต้องการสกัดในขวดรองรับ



รูปที่ 2.6 การจัดตั้งอุปกรณ์สำหรับการสกัด โดยใช้ Soxhlet Extractor

ที่มา: อรชร ไอสันเทียะ, 2560

**2.4.5 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction)** เป็นวิธีหนึ่งที่มีประโยชน์มากในการแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์ เช่น การสกัดแยกสารประกอบบางชนิดออกจากแหล่งที่เกิดในธรรมชาติ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ และพืชสมุนไพร การสกัดแยกสารผลิตภัณฑ์ออกจากของผสม หลังทำปฏิกิริยา หลักการของการสกัดคือ การใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการ ออกมาจากสารผสม เช่น

2.4.5.1 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid/Liquid Extraction) เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกจากสารซึ่งเป็นของแข็ง เช่น เปลือกไม้ ใบไม้ ดอกไม้ เป็นต้น โดยการแช่ในตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้องหรือต้มให้ความร้อน

2.4.5.2 การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid/Liquid Extraction) ซึ่งมีหลักการคือ ทำให้ตัวถูกละลายที่ละลายในตัวทำละลายที่ 1 (ปกติคือตัวทำละลายของน้ำ) กระจายไปสู่ตัวทำละลายที่ 2 (ปกติคือตัวทำละลายอินทรีย์) โดยที่ตัวทำละลายทั้งสองชนิดนี้ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วิธีการสกัดสามารถทำได้ง่ายๆ คือ นำสารละลายของน้ำที่มีตัวถูกละลายที่ต้องการแยกใส่ในกรวยแยก (Separatory Funnel) แล้วเติมตัวทำละลายอินทรีย์ตามลงไป ในกรวยแยก จากนั้นเขย่ากรวยแยก 2-3 นาที ให้คิดว่ากรวยแยกแล้วเปิดจุกเพื่อระบายความดัน แล้วทำการเขย่าต่อ จนกระทั่งการกระจายของตัวถูกละลายระหว่างตัวทำละลายทั้งสองถึงสมดุล ตั้งกรวยแยกทิ้งไว้จนกระทั่งตัวทำละลายทั้งสองแยกชั้น (Handley, 1999)



รูปที่ 2.7 การจัดตั้งอุปกรณ์สำหรับการสกัดโดยใช้กรวยสกัด

ที่มา: อรชร ไอสันเทียะ, 2560

## 2.5 เจล

เจล เป็น Polymer อย่างหนึ่ง โดยทั่วไปมักใช้เป็นสารกึ่งเจล มีความเข้มข้นสูง และมีความหนืดสูง เนื่องจากมี Interaction ของ Polymer Chain ใน Bulk Solvent ในทุกทิศทาง

สารก่อเจล (Gelling Agents) ที่นิยมกันใช้ คือ Carbomer (Carboxyvinyl Polymer Carboxypolymethylene) Carbomer เป็นสาร Polymer ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงโดยมี Acrylic Acid เป็นหน่วยเล็กที่เชื่อมกันแบบไขว้ (Cross-linked) Carbomer มีลักษณะเป็นผงฟูสีขาวและดูดความชื้นง่าย เมื่อกระจายตัวในน้ำจะแสดงฤทธิ์เป็นกรดเพราะโมเลกุลมีหมู่ Carboxy (-COOH) อยู่มาก และมีความหนืดเล็กน้อย

1) Carbomer มีความหนืดหลายระดับ โดยทั่วไปความหนืดจะลดลงมากที่ pH ต่ำกว่า 3 หรือมากกว่า 12 Carbomer 934, 940 และ 941 มีความหนืดคงตัวดีในช่วง pH 5.5-11.0, 4.5-11.0 และ 3.5-11.0 ตามลำดับ สารอิเล็กโทรไลต์อย่างแก๊สก็มีผลต่อ Carbomer และความหนืดด้วยเช่นกัน ส่วนสาร Ionic อย่างอ่อนมีผลต่อ Carbomer ไม่แน่นอนดังเช่น Benzoic Acid, Sodium Benzoate ทำให้ Carbomer เกิดการตกตะกอนและความหนืดลดลง แต่ Paramethoxyamphetamine และ BC ทำให้เกิดผลดังกล่าวได้เช่นกัน ถ้าใช้ในปริมาณซึ่งมากกว่าที่ใช้เป็นสารกันจุลินทรีย์ ปริมาณ Carbomer ที่ใช้เตรียมเจลหล่อลื่นประมาณ 0.3-1% และเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับทาผิวหนังประมาณ 0.5-5% เจลที่เตรียมได้จาก Carbomer มีข้อดีคือ ใส ไม่เป็นอันตราย ไม่ก่ออาการแพ้ เข้ากันได้กับตัวยามาก ชนิด เมื่อทาบนผิวหนังจะให้เห็นแผ่นฟิล์มที่แข็งแรงสังเกตเห็น และไม่แตกเป็นเกล็ด

2) Methylcellulose Cellulose เป็น Polymer ที่มีสูตรทั่วไปคือ  $[C_6H_7(OH)_3]_n$  ซึ่งค่า n อาจมีค่าได้ถึง 1000 ในแต่ละหน่วยเล็กมีหมู่ OH 3 หมู่ ซึ่งสามารถนำหมู่อื่นมาเติมได้เช่นหมู่  $CH_3$  (Methylation) ก็จะได้เป็น  $OCH_3$  (Methoxy) การเติมหมู่  $CH_3$  อาจเติมเข้าทั้ง 3 ตำแหน่ง แต่ที่ใช้ในทางเภสัชกรรมมักใช้ Cellulose ชนิดที่มีการเติม 1-2 ตำแหน่ง การเติมหมู่ต่างๆ และความยาวโมเลกุลจะมีความหนืดเพิ่มขึ้นด้วย อนุพันธ์ Cellulose มีคุณสมบัติหลายประการจึงนิยมใช้เตรียมเจล ได้แก่ ให้เจลที่มีฤทธิ์เป็นกลาง ความหนืดคงตัว ลักษณะใส ไม่ค่อยเป็นอาหารของจุลินทรีย์และเมื่อแห้งให้ฟิล์มที่ติดบนผิวหนัง Methylcellulose มีลักษณะเป็นผงขาวนวล เมื่ออยู่ในน้ำจะให้สารละลายขุ่นหนืดที่เป็นเจล ปริมาณที่ใช้เตรียมเจล 2-4%

3) Xanthan Gum เป็น Heteropolysaccharide ที่ผลิตได้จากกระบวนการ Biopolymerisation จากเชื้อแบคทีเรียชื่อ *Xanthomonas campestris* ซึ่ง Xanthan Gum ที่มีจำหน่ายในทางการค้าจะเป็นผง (Powder Form) ซึ่งเมื่อนำไปละลายในน้ำเย็น จะได้ของเหลวที่มีความหนืดสูง และมีความคงตัว สามารถนำไปใช้ในตำรับเครื่องสำอางต่าง ๆ ได้หลากหลาย

การนำ Xanthan Gum ไปใช้ควรเตรียมโดยเติม Gum นี้ลงในน้ำพร้อมกับคนแรงๆ และเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ดีนั้น ควรเติมสารนี้เป็นตัวแรกก่อนเติมสารอื่น จะพบว่า Xanthan Gum เป็นสารที่สามารถทนต่อ Enzymatic Degradation และมีความคงตัวต่อความเป็นกรดต่างในช่วงกว้าง

ลักษณะพิเศษของ Xanthan Gum Solution ก็คือสามารถแสดงลักษณะเป็น Pseudoplastic หรือ Shear-Thinning Behavior

การนำ Xanthan Gum ไปใช้นั้น สามารถใช้เป็น Viscosity Builder และ Pearl Stabilizer ในแชมพู เมื่อนำไปใช้เป็น Thickener และ Colloid Stabilizer ในอิมัลชัน เมื่อใช้ในความเข้มข้นสูงถึง 0.5% เพื่อควบคุม Rheology และ Consistency ของผลิตภัณฑ์ (พรรณวิภา กฤษญาพงษ์, ปลื้มจิตต์ โรจนพันธุ์, ดวงดาว ฉันทศาสตร์, และเอี่ยมพร ศรีกฤษณพล, 2540)

## 2.6 การประเมินคุณภาพเจล

### 2.6.1 การวัดความหนืด

การวัดความหนืดเป็นขั้นตอนที่ต้องวัดอย่างระมัดระวัง โดยพิจารณาถึงรายละเอียดต่างๆ ในการวัดเพื่อให้ได้ ข้อมูลที่ไม่ผิดพลาด ในการนี้ควรพิจารณาชนิดของเครื่องมือที่นำมาใช้และผลิตภัณฑ์ที่จะนำมาวัดด้วย นอกจากนี้ก่อนที่จะวัดความหนืดนั้นต้องมีข้อระวังคือตัวอย่างที่นำมาวัดควรเป็นสารที่มีลักษณะ Homogenous และไม่มีสิ่งเจือปนอื่นหรือฟองอากาศแทรกอยู่ การวัดความหนืดทุกครั้งควรวัดในสภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่เท่ากันทุกครั้ง การให้แรงแก่ระบบ จะต้องให้ในทิศทางเดียวกัน และทั่วถึงทั้งระบบทำให้เกิด Laminar Flow ในระบบเท่านั้น การทำให้เกิด Turbulent Flow จะก่อให้เกิดความผิดพลาดในการวัดความหนืดได้มาก การอ่านค่าความหนืดทุกครั้งต้องอยู่ใน สภาวะคงที่ (Steady State Conditions) ในการวัดที่ใช้เครื่องวัดความหนืด (Viscometer) ชนิดที่อาศัยการวัด Shear Stress จากการเคลื่อนที่ของ Plate หรือ Disc ควรระวังเมื่อใช้วัดตัวอย่างที่มีลักษณะลื่นเป็นมัน (Fatty or Greasy) มิฉะนั้นจะทำการอ่านค่าความหนืดได้น้อยกว่าความเป็นจริง ตัวอย่างที่นำมาวัดไม่ควรมี Elastic Behavior ในกรณีที่ต้องการวัดตัวอย่างที่มี Elastic Behavior ต้องทำภายใต้ Shear น้อยๆ ซึ่งชนิดของ Viscometer มีดังนี้

2.6.1.1 Brookfield Viscometer เป็นเครื่องมือที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง หลักการทำงานของ Brookfield Viscometer คือการอาศัยการหมุน (Rotating) ของ Spindle ในสารตัวอย่าง โดยใช้ความเร็ว (Speed) ในการหมุนคงที่ ตัวหมุนคือ Spindle ที่จุ่มในของเหลวตัวอย่างในภาชนะ การเคลื่อนของแกนจะถูกต้านจากของเหลวตัวอย่าง ทำให้ลวดสปริงบิดทำมุม และเข็มชี้บน Scale เคลื่อนที่ ค่าที่อ่านได้คือ Brookfield Reading ที่ความเร็วของแกน (r.p.m) ต่างๆ กัน ส่วนค่าความหนืดจะสามารถคำนวณได้จากการคูณค่า Brookfield Reading กับค่าคงที่หนึ่ง ค่านี้ขึ้นกับ Spindle ที่เลือกและใช้ Speed ของการหมุน การที่ Brookfield Viscometer เป็นที่นิยมใช้เนื่องจากสามารถนำไปใช้ได้สะดวกและราคาไม่

แพง แต่ก็มีข้อเสียคือ เครื่องมือนี้ ไม่เป็นระบบอัตโนมัติ และไม่มีระบบควบคุมอุณหภูมิของสารตัวอย่าง (Thermostatic Control) ซึ่งปัญหาการควบคุมอุณหภูมิของสารตัวอย่างนี้สามารถแก้ไขได้ โดยการปรับอุณหภูมิจากภายนอกโดยใช้ Water Bath ปรับอุณหภูมิให้ได้ 20 °C หรือ 25 °C ก่อนการวัดทุกครั้ง

2.6.1.2 Coaxial Viscometer แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ Searle Viscometer และ Couette Viscometer ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้นั้นต้องมีหลักการทำงานเช่นเดียวกัน Couette Viscometer เป็น Viscometer ที่ประกอบด้วย Cup และ Bob ซึ่งหลักการทำงานอาศัยการหมุนของ Cup อุปกรณ์ Spindle ต่ออยู่กับ Bob ซึ่งจุ่มในของเหลวตัวอย่าง ของเหลวจะถูกทำให้เคลื่อนที่ในระหว่างผนังด้านในของ Cup และผนังด้านนอกของ Bob อีกข้างหนึ่งของ Spindle ต่อกับ Torque Sensor ซึ่งจะต่อไปยังสเกลสำหรับอ่านค่าแรง Shear การวัดทำโดยนำของเหลวตัวอย่างจุ่มใน Cup แล้วทำให้ Cup หมุนแรงดึงเนื่องจากความหนืดของของเหลวจะทำให้ Bob หมุนตาม ส่งผลให้ Torque Sensor บิดทำมุม แล้วจึงอ่านค่ามุมที่เปลี่ยนไป Couette Viscometer นี้เหมาะสำหรับสารตัวอย่างที่มีจำนวนน้อยความหนืดต่ำและใช้สำหรับการวัดความหนืดสูง หรือต้องใช้ Shear Rate สูงในการวัด สำหรับ Searle Viscometer จะใช้หลักการเดียวกันต่างกันที่หมุนคือ Bob (Cup อยู่กับที่) เครื่องมือนี้เหมาะสำหรับทั้ง Newtonian และ Non-newtonian Liquid ที่มีความหนืด ไม่เกิน 2-3 mPas แต่ข้อเสียคือ ทำให้มีความร้อนเกิดขึ้นในระบบเมื่อวัดของเหลวที่มีความหนืดสูง เครื่องมือที่อาศัยหลักการนี้ทั้ง 2 ชนิดจะมีราคาแพงและการใช้งานก็ค่อนข้างจะยุ่งยากทำให้ไม่ค่อยเป็นที่นิยมในการใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

2.6.1.3 Cone and Plate Viscometer อาศัยหลักการ Coaxial Viscometer เช่นเดียวกันอุปกรณ์ประกอบด้วย Plate แบนราบและ Cone สามเหลี่ยมมุมป้าน โดยที่ปลายยอดของโคนสัมผัสพอดีกับผิวหน้าของ Plate ช่องว่างแคบๆ ระหว่าง Plate กับปลายยอดของ Cone เป็นที่สำหรับบรรจุตัวอย่างที่ต้องการศึกษา ของเหลวจะถูกกระทำให้เคลื่อนที่โดยการหมุนของ Cone อุปกรณ์นี้มีราคาแพงแต่ให้ความแม่นยำสูง ข้อดีของ Cone and Plate Viscometer คือสามารถวัดตัวอย่างปริมาณน้อย (<1 g) ได้ และสามารถจะนำอุปกรณ์นี้ไปทำความสะอาดได้ง่าย Cone and Plate Viscometer เหมาะสำหรับการใช้วัดสารที่ต้องใช้แรง Shear สูง เช่น การทำ Rheological Examination ของสารที่มีความหนืดสูง นอกจากนี้ Cone and Plate Viscometer ยังมีสามารถใช้ในการวัดสารตัวอย่างที่มี Elasticity ได้ดีกว่าอุปกรณ์อื่นๆ ที่กล่าวนี้ทั้งหมด

2.6.1.4 Capillary and Orifice Viscometer เป็นเครื่องมือสำหรับวัดการไหลแบบ Newtonian ได้ดี หลักการคือใช้หาระยะเวลาที่สารตัวอย่างไหลผ่าน Capillary Orifice ที่ทราบมิติ

(Dimension) ที่แน่นอนภายใต้แรงโน้มถ่วงของโลก เครื่องวัดความหนืดชนิดนี้ที่นิยมใช้ได้แก่ Ostwald Viscometer

2.6.1.5 Falling Ball Viscometers เป็นเครื่องวัดการไหลของ Newtonian Fluid อีกแบบหนึ่งซึ่งอาศัยหลักการของการตกของวัตถุผ่านของเหลวที่มีความหนืด ภายใต้สภาวะแรงโน้มถ่วงของโลก จากความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดของของเหลวกับเวลาที่ใช้เดินทางระหว่างจุด 2 จุด ที่กำหนดในของเหลวนั้น สามารถนำมาคำนวณหาความหนืดของของเหลวได้ ข้อจำกัดของวิธีการนี้ คือ ต้องใช้ของเหลวปริมาณค่อนข้างมากและเหมาะสมกับของเหลวตัวอย่างที่ใส ไม่ควรทึบแสงหรือมีสี เพราะจะทำให้มีการสังเกตการเคลื่อนที่ของลูกบอลไม่ได้ (พรรณวิภา กฤษญาพงษ์ และคณะ, 2540)

## 2.6.2 การวัด pH

การวัดค่า pH นั้นสามารถวัดได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีจะให้ค่าได้ถูกต้อง (Accuracy) ต่างกัน ดังนี้

2.6.2.1 กระดาษลิตมัส เป็นวิธีที่สามารถบอกได้เพียงว่าตัวอย่างที่เรานำมาทดสอบเป็นกรดหรือเป็นเบสเท่านั้น โดยกระดาษลิตมัสมีอยู่ 2 ชนิด คือ สีแดง และสีน้ำเงิน วิธีการทดสอบคือนำเอากระดาษลิตมัสไปจุ่มตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ถ้าตัวอย่างเป็นกรด กระดาษลิตมัสจะเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นสีแดง ในขณะที่ถ้าตัวอย่างเป็นเบส กระดาษลิตมัสจะเปลี่ยนสีจากแดงเป็นน้ำเงิน

2.6.2.2 กระดาษ pH เป็นวิธีที่สามารถบอกค่าความเป็นกรด-เบส ได้ละเอียดมากกว่ากระดาษลิตมัส เนื่องจากจะมีแถบสีให้เทียบว่าตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับเท่าไร

2.6.2.3 pH meter เป็นเครื่องมือที่มีความถูกต้องมากกว่า 2 ข้อที่กล่าวไว้ข้างต้นแล้ว เครื่อง pH meter มีหลายแบบ เช่น แบบปากกา หรือแบบมือถือ (Hand Held pH Meter) pH Meter แบบนี้ยังคงมีความถูกต้องมากกว่ากระดาษ แต่ยังไม่ดีกว่าเครื่อง pH Meter ซึ่งจะเหมาะกับงานในภาคสนามที่ไม่ต้องการความถูกต้องมากนัก แบบตั้งโต๊ะ ซึ่งแบบนี้ จะมีความถูกต้องมากกว่าแบบปากกา หรือแบบมือถือ สามารถวัดค่าได้ถึงทศนิยมตำแหน่งที่ 2 หรือ 3 (นงลักษณ์ ตั้งไพศาลกุล, บรรณรุย์ ละอองศรี, ปทุมพร มานาม, และชัยณรงค์ เชิดชู, ม.ป.ป.)

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับต้นตำมะงา

ประสิทธิภาพการต้านสารอนุมูลอิสระของ *Clerodendrum sp.* ต่อ Haloalkane Xenobiotic ทำให้เกิดผลเสียต่อดับในหนูทดลอง *Clerodendrum sp.* เป็นพืชที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และแพทย์แผนดั้งเดิมใช้ *Clerodendrum sp.* ในการป้องกันโรคหลอดเลือดอักเสบ โรคหอบหืด โรคตับ และโรคกระเพาะอาหาร พืชสกุล *Clerodendrum* มี 3 สายพันธุ์คือ *Clerodendrum indicum*, *C. colebrookianum* และ *C. inerme* (Syn. *Volkameria Inermis*) ได้มีการวิเคราะห์ความสามารถทำงานของ Oxidative Stress (ภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน) โดยให้มีการบาดเจ็บของตับที่เกิดจากสารออกซิเดชันจากการเกิดปฏิกิริยา Reactive Oxygen Species (ROS) ใน WRL-68(เซลล์ในดับมนุษย์) การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองและภายในเซลล์หรือสัตว์ทดลอง โดยทำการประเมินคุณสมบัติของการเพิ่มจำนวนเซลล์ภูมิคุ้มกัน (MTT) วิเคราะห์โดย GC-MS และ FTIR มีการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสารประกอบทางชีวภาพมีมาก ขึ้นอยู่กับการเชื่อมต่อโมเลกุล สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของ 3 สายพันธุ์ของพืชสกุล *Clerodendrum* มีผลในการต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีด้วยวิธี DPPH, Nitric Oxide, Hydroxyl Radical และ Hydrogen Peroxide สูงอย่างมีนัยสำคัญ สารออกฤทธิ์ทางชีวเคมีของสารสกัด *Clerodendrum* มีโครงสร้างที่เหมือนกันเช่น Catalase, Superoxide Dismutase (SOD) และ Reduced Glutathione (GSH) ลดลง เนื่องจาก  $CCl_4$  ถูกสร้างมากเกินไป Phytochemical 24,25-Dihydroxyvitamin D แสดงความสัมพันธ์ที่ดีใน Autodock Vina การศึกษาในครั้งนี้พบว่า *C.indicum* และ *C. inerme* ให้ผลลัพธ์ที่ดีแต่ *C. colebrookianum* ทำได้ดีกว่าเกือบทุกวิธี (Kar et al., 2019)

การออกฤทธิ์ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำและสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบ *Clerodendrum inerme* ต่อกลุ่ม Streptozotocin ที่เกิดจากโรคเบาหวานในหนูทดลอง ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบ *C. inerme* มีองค์ประกอบหลักของ Flavonoids, Alkaloids, Tannins, Triterpenes และ Saponins สารสกัดจากใบ *C. inerme* น้ำหนักแห้งมีปริมาณโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 120.458 มก.เทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัม และ 4.494 มก.เทียบเท่าฮีสปีดูลินต่อกรัม ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบ *C. inerme* แสดง  $IC_{50} = 25.28$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบ *C. inerme* ที่ขนาด 343 มก/กก. และ 686 มก/กก. หลัง 7 วันทำให้น้ำตาลในเลือดลดลงป้องกันตับและไตจากสารออกซิเดชันโดยการเพิ่มปริมาณกลูต้าไทโอนในตับและลดปริมาณ Malondial ในตับและไต การวิเคราะห์เนื้อเยื่อตับอ่อนในหนูทดลองที่เป็นเบาหวานที่รักษาด้วยสารสกัดจากใบ *C. inerme* แสดงให้เห็นว่ามีการงอกใหม่ด้วยการเพิ่มขนาดและจำนวนของเซลล์ในตับอ่อน ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดจากใบ *C. inerme* มีฤทธิ์ต้านโรคเบาหวานและต้าน

อนุมูลอิสระ ผลลัพธ์ที่ได้เป็นที่น่าเชื่อถือได้ สนับสนุนให้มีการวิจัยและพัฒนาของสารสกัดจากใบ *C. inermis* เพิ่มเติมต่อไป (Ly et al., 2019)



## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีการวิจัย

การศึกษาวิจัย เรื่อง การศึกษาฤทธิ์ของเจลต้านชีวจากสารสกัดใบสามเงานาต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* มีวิธีการทดลองตามขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

#### 3.1 เครื่องมือที่ใช้การวิจัย

- 3.1.1 เจลต้านชีวจากสารสกัดใบสามเงานา
- 3.1.2 Petri Dish (Hycon, Thailand)
- 3.1.3 Water Bath (DR-instrument, Thailand)
- 3.1.4 Rotary Evaporator (IKA, Germany)
- 3.1.5 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman, USA)
- 3.1.6 เครื่องชั่ง (Sartorius, Germany)
- 3.1.7 Digital Rotary Viscometer (Fungilab, China)

#### 3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.2.1 Micropipette 500, 1,000  $\mu\text{L}$  (Accumax, India)
- 3.2.2 Pipette Tips 200, 1,000  $\mu\text{L}$  (Accumax, India)
- 3.2.3 Beaker ขนาด 50, 100, 500, 1,000 mL (Pyrex-Corning, Japan)
- 3.2.4 ถ้วยขนาดเล็กสำหรับใส่สารตัวอย่าง
- 3.2.5 Test Tube (Pyrex-Corning, Japan)
- 3.2.6 Cylinder 100 mL (Pyrex-Corning, Japan)
- 3.2.7 Flask 250, 1,000, 3,000 mL (Pyrex-Corning, Japan)

### 3.3 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.3.1 ไบโอสัมผัส (เมล็ดพันธุ์ดีเกษตรวิทย์ไทย, ระยอง)
- 3.3.2 Ethanol (Namsiang, Thailand)
- 3.3.3 Hexane (Namsiang, Thailand)
- 3.3.4 Dichloromethane (Namsiang, Thailand)
- 3.3.5 Ethyl Acetate (Namsiang, Thailand)
- 3.3.6 Carbopol 940 (Chemipan, Thailand)
- 3.3.7 Propylene Glycol (Chemipan, Thailand)
- 3.3.8 Triethanolamine (Chemipan, Thailand)
- 3.3.9 Normal Saline Solution (ANB, Thailand)
- 3.3.10 Sterile Water (ANB, Thailand)
- 3.3.11 Resazurin (Jiangsu, China)
- 3.3.12 Amoxicillin 500 mg (Amoxil, USA)

### 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.4.1 Mueller Hinton Agar (Himedia, USA)
- 3.4.2 Mueller Hinton Broth (Himedia, USA)

### 3.5 ขั้นตอนการวิจัย

#### 3.5.1 การเตรียมเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ

3.5.1.1 การเตรียมเชื้อ *S. epidermidis* โดยเขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบจากอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 1 โคโลนี ใส่ลงในอาหารเหลว Mueller Hinton Agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเทียบความขุ่นทุกครั้งก่อนนำมาใช้ทดสอบ ให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland Standard จะได้ปริมาณเชื้อประมาณ  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL

3.5.1.2 การเตรียมเชื้อ *S. aureus* โดยเขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบจากอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 1 โคโลนี ใส่ลงในอาหารเหลว Mueller Hinton Agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24

ชั่วโมงโดยเทียบความขุ่นทุกครั้งก่อนนำมาใช้ทดสอบ ให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland Standard จะได้ปริมาณเชื้อประมาณ  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL

### 3.5.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5.2.1 การทดสอบเป็นเป็นเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* โดยใช้ Mueller Hinton Agar เป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงเชื้อ บ่มในอุณหภูมิ 37 °C และเก็บในอุณหภูมิ 8 °C

3.5.2.2 การทดสอบเป็นเป็นเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* โดยใช้ Mueller Hinton Agar เป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงเชื้อ บ่มในอุณหภูมิ 37 °C และเก็บในอุณหภูมิ 8 °C

### 3.5.3 การเตรียมสารสกัดจากพืช

ใบสามงาสดถูกซื้อมาจากสวนเมล็ดพันธุ์ดีเกษตรวิถีไทย ต.ทับมา อ.เมือง จ.ระยอง จำนวน 1 kg นำมาล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C ประมาณ 3-4 วัน จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด และนำไป แช่ 95% เอทานอล ปริมาตร 2 L นาน 3 วัน ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำมาระเหยตัวทำละลาย ออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 45-48 °C จากนั้นจึงนำระเหยแห้งบน Water Bath ที่อุณหภูมิ 90 °C จนกว่า น้ำหนักสารสกัดจะคงที่จึงชั่งน้ำหนักและบันทึกข้อมูล เก็บใส่ไว้ในขวดที่มีฝาปิดมิดชิด

### 3.5.4 การสกัดแยกสาร

นำสารสกัดเอทานอลมาสกัดแยกส่วนโดยวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid-liquid Extraction) ตัวทำละลายที่ใช้คือ เฮกเซน (Hexane) ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) เอทิลอะซิเตท (Ethyl Acetate, EtOAc) และ น้ำ ( $\text{H}_2\text{O}$ ) จะได้ส่วนสกัดเฮกเซน (Hexane Fraction) ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  Fraction) ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท (EtOAc Fraction) และส่วนสกัดน้ำ ( $\text{H}_2\text{O}$  Fraction) จากนั้นนำส่วนสกัดมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียต่อไป

### 3.5.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเบื้องต้นด้วยวิธี Agar Well Diffusion

สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ถูกนำมาตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Well Diffusion ใช้ไม้พันสำลีที่หมาเชื้อแล้วจุ่มลงไปนในสารละลายของเชื้อแบคทีเรียที่จะทดลอง แล้วเกลี่ยให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยวิธี Three Dimension Swab ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที ให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง จากนั้นเจาะหลุมลงบนผิวหน้าอาหาร MHA 1 หลุม โดยกะระยะห่างให้อยู่ตรงกลางของจานอาหาร แล้วเปิดสารสกัดใบสามงาสกัดด้วยสารสกัดเอทานอล ความเข้มข้น 60  $\mu\text{g/mL}$ , ส่วนสกัดเฮกเซนความเข้มข้น 500  $\mu\text{g/mL}$ , ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 500  $\mu\text{g/mL}$ , ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 250  $\mu\text{g/mL}$ , และส่วนสกัดน้ำความเข้มข้น 500  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ ปริมาณ 50  $\mu\text{L}$  ต่อหลุม ลงไปในหลุมที่เจาะเอาไว้ใช้ 10% DMSO เป็น

Negative Control และใช้ Amoxicillin ความเข้มข้น 500 µg/mL เป็น Positive Control จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดบริเวณการยับยั้ง (Inhibition Zone) แต่ละการทดลองทำ 3 ครั้ง และนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

### 3.5.6 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธี Broth Microdilution

การหาค่า MIC ของสารสกัดใบสามเงาต่อเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Broth Microdilution นำสารสกัดเจือจางด้วยน้ำกลั่นด้วยวิธี Serial 2-Fold Dilution ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 7.8-500 µg/mL จากนั้นทดสอบใน 96 Well Plate โดยหลุมที่เป็นชุดทดสอบจะประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB 100 µL / well สารสกัดหรือยาที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 20 µL / well และเชื้อ *S. epidermidis* ปริมาตร 80 µL / well นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง แล้วนำมาเติมสี Resazurin ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1% ปริมาตร 20 µL /well จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วอ่านค่า MIC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุด ของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (สีม่วง) โดยหากมีการเจริญของเชื้อในหลุมใด สีของ resazurin ในหลุมนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ (โดยเลือกค่า MIC ที่เหมือนกันอย่างน้อย 2 ซ้ำ) การทดลองดังกล่าวใช้ 10 % DMSO เป็น Negative Control และ Amoxicillin เป็น Positive Control

### 3.5.7 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ฆ่าเชื้อเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธี Drop Plate

เลือกหลุมอาหารที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจากการหาค่า MIC มาทดลองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA โดยใช้ลูปเขี่ยเชื้อปลายกลม และปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (ไม่มีเชื้อเจริญบนอาหาร) เป็นค่า MBC

### 3.5.8 การเตรียมเจล

การเตรียมเจลมีวิธีการเตรียมดังนี้คือ ชั่งน้ำ น้ำหนัก 98 g โปรรายสารก่อเจลเพื่อกระจาย Carbopol 940 น้ำหนัก 1 g ใช้แท่งแก้วคนจนสารก่อเจลกระจายตัวในน้ำ และพองตัวจนหมด หลังจากนั้นนำสารสกัดจากใบสามเงาน้ำหนัก 2 g ละลายใน Propylene Glycol น้ำหนัก 2 g ใส่สารละลายเจลที่เตรียมก่อนหน้านี้คนให้เข้ากัน และเติม Triethanolamine น้ำหนัก 1 g แล้ว คนให้เข้ากัน รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 3.1 แบ่งเจลที่ได้ใส่ขวดแก้วปิดฝาสนิทจากนั้นนำไปตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 3.1 สูตรส่วนผสม และส่วนประกอบของเจล

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (กรัม)	หน้าที่ในตำรับ
สารสกัดจากใบส้มมะงา	2	Anti-Acne
Carbopol 940	1	Gelling Agent
Triethanolamine	1	pH
Propylene glycol	2	Humectant, Solvent
Water q.s. to 100	94	Vehicle

### 3.5.9 การประเมินคุณภาพของเจลต้านสิวจากสารสกัดใบส้มมะงา

#### 3.5.9.1 ลักษณะภายนอก

- 1) เนื้อเจลควรมีลักษณะเนียนสวยงาม ใส ไม่แข็งกระด้าง
- 2) ไม่มีการแยกชั้น เมื่อตั้งทิ้งไว้นาน
- 3) เมื่อทาลงบนผิวหนังควรซึมเข้าเนื้อผิว เกาะติดผิวได้ดี
- 4) ไม่เปราะเปื้อนเสื้อผ้า ไม่เกิดการติดสีเมื่อทา
- 5) ไม่มีกลิ่นฉุน

#### 3.5.9.2 คุณสมบัติทางชีวภาพ

- 1) ทดสอบฤทธิ์เจลต้านสิวจากสารสกัดใบส้มมะงาด้านเชื้อแบคทีเรีย *S.epidermidis*

โดยวิธี Agar Well Diffusion

#### 3.5.9.3 คุณสมบัติทางกายภาพ

- 1) ทดสอบความหนืดด้วยเครื่อง Digital Rotary Viscometer
- 2) ค่าความเป็นกรด-ด่าง
- 3) วิเคราะห์ความคงตัวของสารสำคัญ โดยการใช้เครื่อง Stability Chamber โดยการนำเจลที่บรรจุใส่ในขวดโหลที่ปิดมิดชิดไปอบที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 24 ชม. สลับกับอุณหภูมิ 5 °C นาน 24 ชม. (นับเป็น 1 ครั้ง) ทำซ้ำอย่างนี้ 5 รอบ และนำมาวิเคราะห์คุณภาพของเจล ค่าความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในครั้งแรกก่อนนำเข้าสู่เครื่อง Stability Chamber ครั้งที่ 1 (วันที่ 1) และครั้งที่ 2 (วันที่ 20) เพื่อดูความแตกต่าง

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 ปริมาณสารสกัดที่ได้จากพืช

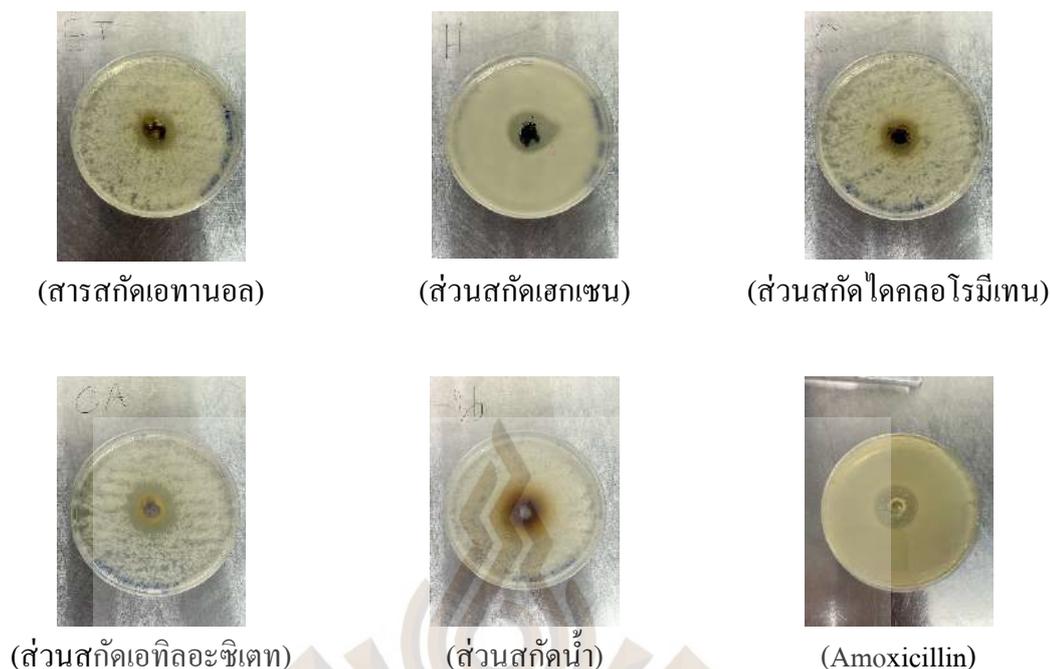
ปริมาณสารสกัดของใบสามเงานาที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 8.53 จากสารสกัดด้วยเฮกเซนได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 20.11 จากสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 21.42 จากสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 4.21 และจากสารสกัดด้วยน้ำได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 38.25 ดังแสดงใน ตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ร้อยละของสารสกัดของใบสามเงานา

ชนิดของสารสกัด	ร้อยละของสารสกัด
สารสกัดเอทานอล	8.53
ส่วนสกัดเฮกเซน	20.11
ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	21.42
ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท	4.21
ส่วนสกัดน้ำ	38.25

#### 4.2 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากใบสามเงานา

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* จากสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ด้วยวิธี Agar Well Diffusion (ดังแสดงในรูป 4.1)



รูปที่ 4.1 ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ด้วยวิธี

Agar Well Diffusion ของเชื้อ *S. epidermidis*

จากการทดสอบพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 60 µg/mL สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่า สารสกัดที่ สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ  $21.33 \pm 2.08$  mm ในขณะที่ตัวทำละลายเฮกเซนที่ความเข้มข้น 500 µg/mL ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ  $23.00 \pm 0.00$  mm ตัวทำละลายไคลคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 500 µg/mL ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ  $21.00 \pm 2.64$  mm ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ที่ความเข้มข้น 250 µg/mL ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ  $28.33 \pm 2.88$  mm และ Amoxicillin ที่ใช้เป็นสารควบคุม ที่ความเข้มข้น 500 µg/mL มีขนาดการยับยั้งแบคทีเรียเท่ากับ  $22.00 \pm 0.00$  mm นอกจากนี้สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำที่ความเข้มข้น 500 µg/mL ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (ตารางที่ 4.2) จากผลการทดสอบนี้สอดคล้องกับหลักการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) ที่ระบุว่าตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจะละลายสารที่ไม่มีขั้ว และตัวทำละลายที่มีขั้วจะละลายสารที่มีขั้วออกจากสมุนไพร (ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม, 2564) โดยงานวิจัยนี้ใช้ตัวทำละลายเฮกเซน ไคลคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ ซึ่งเรียงลำดับจากความไม่มีขั้วจนถึงมีขั้ว ดังนั้นผลการทดสอบฤทธิ์จากสารสกัดใบสำมะงา พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วย ตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเป็นสารที่มีขั้ว

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ด้วยวิธี Agar Well Diffusion

ตัวอย่างทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้ง (mm)
สารสกัดเอทานอล	21.33±2.08
ส่วนสกัดเฮกเซน	23.00±0.00
ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	21.00±2.64
ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท	28.33±2.88
ส่วนสกัดน้ำ	0.00±0.00
Amoxicillin	22.00±0.00

ในส่วนผลการทดสอบการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ซึ่งจะแตกต่างจากงานวิจัยของ (สิริกร ก่ออานันต์, 2557) ที่พบว่าสารสกัดจากใบ และราก สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ อย่างไรก็ตามผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับภูมิปัญญาท้องถิ่น และข้อมูลในคัมภีร์วิถีภูมิโรค ซึ่งอยู่ในคัมภีร์แพทย์แผนไทย ที่ใช้ใบสามมะงา ในการรักษาโรคผิวหนัง ผลการตรวจสอบฤทธิ์เบื้องต้นด้วยวิธี Agar Well Diffusion แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากใบสามมะงาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด โดยการหาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี Broth Microdilution ผลการทดลองพบว่า ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเท่ากับ 7.5 และ 15 µg/mL ในขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และ Amoxicillin มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 15.625 และ 31.25 µg/mL

ตารางที่ 4.3 ค่า MIC และค่า MBC ของสารสกัดของใบสามมะงา

ตัวอย่างทดสอบ	MIC/MBC (µg/mL)
สารสกัดเอทานอล	7.5/15
ส่วนสกัดเฮกเซน	15.625/31.25
ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	15.625/31.25
ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท	15.625/31.25
Amoxicillin	15.625/31.25

### 4.3 การประเมินคุณภาพของเจลด้านสิวจากสารสกัดใบตำมะงา

4.3.1 การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์รูปแบบเจลจากสารสกัด หลังจากการวิเคราะห์ความคงตัวของสารสำคัญ โดยการใช้เครื่อง Stability Chamber ในครั้งแรกก่อนนำเข้าเครื่อง ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เพื่อดูความแตกต่าง การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้มีการเตรียมเจลด้านสิวจากสารสกัดใบตำมะงาโดยสกัดจากตัวทำละลายเอทานอล (ดังแสดงในรูป 4.2)



รูปที่ 4.2 ลักษณะภายนอกของเจลด้านสิวจากสารสกัดใบตำมะงา

ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์รูปแบบเจลจากสารสกัดใบตำมะงา พบว่า ค่าความหนืดในครั้งที่ 1 เข็มเบอร์ L4 รอบการหมุนที่ 60 มีค่าความหนืด เท่ากับ 9148.8 cP ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.5 ครั้งที่ 2 เข็มเบอร์ L4 รอบการหมุนที่ 60 มีค่าความหนืด เท่ากับ 4272.1 cP ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.7 ทั้งนี้จึงทำให้เห็นว่าความหนืดของเจลด้านสิวที่ทำการทดสอบนั้นไม่คงที่ และค่าความเป็นกรด-ด่างในครั้งที่ 1 ตรงตามมาตรฐานของเจลที่ดีซึ่งผิวหนังมีสภาพเป็นกรดอ่อน ๆ มีค่า pH อยู่ประมาณ 4.5-6.5 (วันดี ขยันพู, 2563) แต่เมื่อวัดครั้งที่ 2 ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเนื่องจากระยะเวลาที่แตกต่างกัน จากการศึกษาพบว่าปัจจัยที่ทำให้ความหนืดลดลง เนื่องจากเจลมีความคงตัวที่ไม่ดีทำให้เวลาผ่านอุณหภูมิสูงสลับต่ำเกิดการคืนตัวของเจล

ดังนั้น จากผลการประเมินลักษณะภายนอก และการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลด้านผิวหนังจากสารสกัดใบส้มมะงา พบว่า คุณภาพของลักษณะภายนอกของเจลด้านผิวหนังจากสารสกัดใบส้มมะงายังไม่ได้คุณภาพมากพอต่อการนำไปใช้งาน เนื่องจาก สีของเจลที่ติดผิวหนัง และเสื้อผ้าที่ไม่สามารถล้างออกได้หากไม่ใช้สบู่ กลิ่น ที่ไม่น่าใช้ รวมถึงความหนืดที่ไม่คงที่ในแต่ละครั้งในส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ตารางที่ 4.4 ผลการประเมินลักษณะภายนอกของเจลด้านผิวหนังจากสารสกัดใบส้มมะงา

ลักษณะภายนอก	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
เนื้อเจลควรมีลักษณะเนียนสวย น่าใช้ ไม่แข็งกระด้าง	เนื้อเจลเนียนดีไม่แข็งกระด้าง แต่สารสกัดไม่ละลายน้ำ ทำให้สีของเจลไม่น่าใช้	เนื้อเจลเนียนดีไม่แข็งกระด้าง แต่สารสกัดไม่ละลายน้ำ ทำให้สีของเจลไม่น่าใช้
ไม่มีการแยกชั้น	ไม่มีการแยกชั้น	ไม่มีการแยกชั้น
ซึมเข้าเนื้อผิว เกาะติดผิวได้ดี	ซึมเข้าเนื้อผิว เกาะติดผิวดี	ซึมเข้าเนื้อผิว เกาะติดผิวดี
ไม่เประเปื้อนเสื้อผ้า ไม่เกิดการติดสีเมื่อทา	เประเปื้อนเสื้อผ้าและติดสีเมื่อทา	เประเปื้อนเสื้อผ้าและติดสีเมื่อทา
ไม่มีกลิ่นฉุน	มีกลิ่นฉุนจากสมุนไพร	มีกลิ่นฉุนจากสมุนไพร
สามารถล้างน้ำออกได้ง่าย	ต้องใช้สบู่ในการล้างเพื่อนำสีออก	ต้องใช้สบู่ในการล้างเพื่อนำสีออก

ตารางที่ 4.5 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของเจลด้านผิวหนังจากสารสกัดใบส้มมะงา

คุณสมบัติทางกายภาพ	ครั้งที่ 1 (วันที่ 1)	ครั้งที่ 2 (วันที่ 20)
ความหนืด	SP: L4 RPM: 60 V: 9148.8 cP	SP: L4 RPM: 60 V: 4272.1 cP
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	6.5	6.7

#### 4.3.2 ผลการประเมินทางชีวภาพของเจลต้านชีวจากสารสกัดใบส้มมะงา

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ของเจลต้านชีวจากสารสกัดใบส้มมะงาโดยวิธี Agar Well Diffusion พบว่าเจลต้านชีวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 8 mm ในขณะที่ยาเจลต้านชีวจากท้องตลาด Clindamycin 1% มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 15 mm จากผลการทดลองพบว่าเจลต้านชีวจากสารสกัดใบส้มมะงามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้น้อยกว่าเมื่ออยู่ในรูปแบบเจล และยาเจลต้านชีวจากท้องตลาด Clindamycin สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่าเจลต้านชีวจากสารสกัดใบส้มมะงา ซึ่งก็ถือว่าเป็นข้อมูลฤทธิ์ทางชีวภาพที่เพิ่มเติมซึ่งได้จากผลการทดลองนี้ จากผลการศึกษาพบว่า การผสมกันระหว่าง Propylene glycol กับสารสกัดของใบส้มมะงา ละลายได้ไม่ดี จับตัวกันเป็นก้อน ทำให้การแพร่ของเจลจากสารสกัดใบส้มมะงาสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้แต่มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารสกัด



## บทที่ 5

### สรุปผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบส้มมะงาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* และ *S. aureus* สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไคคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ ด้วยวิธี Agar Well Diffusion พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ในส่วนผลการทดสอบการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ ผลการตรวจสอบฤทธิ์เบื้องต้นด้วยวิธี Agar Well Diffusion แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากใบส้มมะงาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด โดยการหาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี Broth Microdilution พบว่า ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลน้อยที่สุด จึงนำสารสกัดในส่วนของเอทานอลมาพัฒนาเป็น เจลด้านสีว จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ของเจลด้านสีวจากสารสกัดใบส้มมะงาโดยวิธี Agar Well Diffusion พบว่าเจลด้านสีวจากสารสกัดใบส้มมะงามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ลดลงเมื่ออยู่ในรูปแบบเจล และยาเจลด้านสีวจากห้องตลาด Clindamycin สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่าเจลด้านสีวจากสารสกัดใบส้มมะงา จากผลการประเมินลักษณะภายนอก และการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลด้านสีวจากสารสกัดใบส้มมะงา พบว่า คุณภาพของลักษณะภายนอกของเจลด้านสีวจากสารสกัดใบส้มมะงายังไม่ได้คุณภาพมากพอต่อการนำไปใช้งาน รวมถึงความหนืดไม่คงที่ในแต่ละครั้งในส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรพัฒนาสูตรตำรับยาดีกว่าการใช้สารสกัดสมุนไพรเพียงหนึ่งชนิด

5.2.2 ควรนำสารสกัดสมุนไพรไปใช้เป็นส่วนประกอบในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่น ๆ



## บรรณานุกรม

- คณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (2553) ยารักษาสิว isotretinoin อันตรายที่ไม่ควรมองข้าม. สืบค้นจาก [https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/13/ยารักษาสิว isotretinoin อันตรายที่ไม่ควรมองข้าม/](https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/13/ยารักษาสิว%20isotretinoin%20อันตรายที่ไม่ควรมองข้าม/)
- ดิศไทย. (ม.ป.ป.). *สำมะงา ประโยชน์ดี ๆ สรรพคุณเด่น ๆ และข้อมูลงานวิจัย*. สืบค้นจาก <https://www.disthai.com/17425332/สำมะงา>
- นงลักษณ์ ตั้งไพศาลกุล, บรรพชURY ละออศรี, ปทุมพร มานาม, ชัยณรงค์ เชิดชู. (ม.ป.ป). *มาตรฐานวิทยาของการวัดค่าความเป็นกรด-เบส*. สืบค้นจาก [http://www.nimt.or.th/nimt/upload/contentfile/sys-lab\\_magazine-387-395.pdf](http://www.nimt.or.th/nimt/upload/contentfile/sys-lab_magazine-387-395.pdf)
- นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชกชัยเจริญพร. (2543). *สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน (4)*. กรุงเทพฯ: สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- นิธิ ตั้งศิริทรัพย์. (2555). *การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อสิว และการติดเชื้อผิวหนังที่พบได้บ่อย* (Master's thesis). สืบค้นจาก <http://ir.swu.ac.th/jspui/handle/123456789/2364>
- พรรณวิภา กฤษฎาพงษ์, ปลื้มจิตต์ โรจนพันธุ์, ดวงดาว ฉันทศาสตร์, และเอี่ยมพร ศรีกฤษณพล. (2540). *เทคโนโลยีการพัฒนาตัวรับเครื่องสำอางและการผลิตขั้นอุตสาหกรรม* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ประชาชนการพิมพ์.
- เมดไทย. (2554). *สำมะงา*. สืบค้นจาก <https://medthai.com/สำมะงา/>
- วันดี ชัยนพ. (2563). *การพัฒนาครีมของสารสกัดใบของต้นสะเก็ดเงินในรูปแบบผลิตภัณฑ์* (Master's thesis). สืบค้นจาก <https://rsuir-library.rsu.ac.th/handle/123456789/583?mode=full>
- วาริรัตน์ หนูहित. (2557). *การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง* (Master's thesis). สืบค้นจาก สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.).
- ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. (2564). *สารสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร : เทคนิคสกัดสารด้วยซอกซ์เลต*. สืบค้นจาก [http:// knowledge \(ku.ac.th\)](http://knowledge(ku.ac.th))
- สิริกร ก่ออานันต์. (2557). *สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากและใบของต้นสำมะงา* (Unpublished Master's thesis). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- อรชร ไอสันเทียะ. (2557). ฟลาโวนอยด์จากดอกควเรืองต่อการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักกาดหอมที่ปลูกด้วยวิธีไฮโดรโปนิกส์ (Master's thesis). สืบค้นจาก <http://etheses.psu.ac.th/lib-irpsru/?q=node/429>
- อำพัน กิตติขจร. (ม.ป.ป.). คัมภีร์แพทย์ไทยแผนโบราณ เล่ม 3. สืบค้นจาก <https://be7herb.wordpress.com/คัมภีร์แพทย์ตำรายา/คัมภีร์แพทย์/คัมภีร์แพทย์ไทยแผนโบราณ-2/>
- อิศริญา เพชรพองใส. (2564). ต้องใช้ Skin care บำรุงผิวที่มี pH 5.5 เท่านั้นจริงหรือ. สืบค้นจาก <https://www.jeban.com/topic/313646>
- Anitha, R., & Kannan, P. (2006). Antifungal activity of *Clerodendrum inerme* (L.) and *Clerodendrum phlomidis* (L.). *Turkish Journal of Biology*, 30, 139-142.
- Ba Vinh, L., Thi Minh Nguyet, N., Young Yang, S., Hoon Kim, J., Thi Vien, L., Thi Thanh Huong, P., ... Ho Kim, Y. (2018). A new rearranged abietane diterpene from *Clerodendrum inerme* with antioxidant and cytotoxic activities. *Natural Product Research*, 32(17), 2001–2007. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1360885>
- Gopal, N., & Sengottuvelu, S. (2008) Hepatoprotective activity of *Clerodendrum inerme* against CCL<sub>4</sub> induced hepatic injury in rats. *Fitoterapia*, 79(1), 24-26. doi: 10.1016/j.fitote.2007.07.006
- Ibrahim, S.R.M., Alshali, K.Z., Fouad, M.A., Elkhayat, E.S., Al Haidari, R.A., & Mohamed, G.A. (2014). Chemical constituents and biological investigations of the aerial parts of Egyptian *Clerodendrum inerme*. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 52(2), 165-170. doi: 10.1016/j.bfopcu.2014.05.002
- Istock by Getty images. (n.d.). *staphylococcus-epidermidis*. Retrieved from <https://www.istockphoto.com/th/ภาพถ่าย/staphylococcus-epidermidis>
- Kanchanapoom, T., Kasai, R., Chumsri, P., Hiraga, Y., & Yamasaki, K. (2001). Megastigmane and iridoid glucosides from *Clerodendrum inerme*. *Phytochemistry*, 58(2), 333-336. doi: 10.1016/s0031-9422(01)00208-4

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- Kar, P., Dutta, S., Chakraborty, A.K., Roy, A., Sen, S., Kumar, A., ... Sen, A. (2019). The antioxidant rich active principles of *Clerodendrum* sp. controls haloalkane xenobiotic induced hepatic damage in murine model. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1539-1547. doi: 10.1016/j.sjbs.2018.12.006
- Kumar, C.M., Jayadevappa, H.P., & Vasudev, H.H. (2018). Evaluation of *Clerodendrum inerme* (L.) Gaertn. on Burkitt's Lymphoma Cancer. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 52(2), 241-247.
- Ly, HT., Nguyen, TTH., Tran, TTL., Lam, BT., Phung, TTH., & Le, VM. (2009). Hypoglycemic and antioxidant activities of *Clerodendrum inerme* leaf extract on streptozotocin-induced diabetic models in mice. *Chinese Herbal Medicines*, 11(4), 387-393. doi: 10.1016/j.chmed.2019.08.001
- Medical Microbiology. (2009). *Staphylococcus epidermidis*. Retrieved from <https://www.flickr.com/photos/medmicro/3571879586/in/photostream/>
- Microrao. (2009). *Staphylococcus aureus* colonies on blood agar. Note the golden yellow pigment and beta hemolysis around it. Retrieved from [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:S\\_aureus\\_blood\\_agar.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:S_aureus_blood_agar.jpg)
- Pandey, R., Verma, R.K., Singh, S.C., & Gupta, M.M. (2003) 4 $\alpha$ -Methyl-24 $\beta$ -ethyl-5 $\alpha$ -cholesta-14,25-dien-3 $\beta$ -ol and 24 $\beta$ -ethylcholesta-5, 9(11), 22E-trien-3 $\beta$ -ol, sterols from *Clerodendrum inerme*. *Phytochemistry*, 63(4), 415-420. doi: 10.1016/s0031-9422(03)00146-8
- Pandey, R., Verma, R.K., & Gupta, M.M. (2005). Neo-clerodane diterpenoids from *Clerodendrum inerme*. *Phytochemistry*, 66(6), 643-8. doi: 10.1016/j.phytochem.2004.11.007
- Pandey, R., Verma, R.K., & Gupta, M.M. (2007). High-performance thin-layer chromatographic method for quantitative determination of 4 $\alpha$ -methyl-24 $\beta$ -ethyl-5 $\alpha$ -cholesta-14,25-dien-3 $\beta$ -ol, 24 $\beta$ -ethylcholesta-5,9(11),22E-trien-3 $\beta$ -ol, and betulinic acid in *Clerodendrum inerme*. *Journal of Separation Science*, 30(13), 2086-2091. doi: 10.1002/jssc.200700073

### บรรณานุกรม (ต่อ)

- Parveen, M., Khanam, Z., Ali, M., & Rahman, S.Z. (2010). A novel lupine-type triterpenic glucoside from the leaves of *Clerodendrum inerme*. *Natural Product Research*, 24(2), 167-176. doi: 10.1080/14786410902975566
- Prasad M.P., Sushant S., & Chikkaswamy, B.K. (2012). Phytochemical analysis, antioxidant potential, antibacterial activity and molecular characterization of *Clerodendrum species*. *International Journal of Molecular Biology*, 3(3), 71-76. doi: 10.9735/0976-0482.3.3.71-76
- Ross, J.I., Snelling, A.M., Carnegie, E., Coates, P., Cunliffe, W.J., Bettoli, V., ... Cove, J.H. (2003). Antibiotic-resistant acne: lessons from Europe. *British Journal of Dermatology*, 148, 467-478. doi: 10.1046/j.1365-2133.2003.05067.x
- Srisook, K., Srisook, E., Nachaiyo, W., Chan-In, M., Thongbai, J., Wongyoo, K., ... Watcharanawee, K. (2015). Bioassay-guided isolation and mechanistic action of anti-inflammatory agents from *Clerodendrum inerme* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 165, 94-102. doi: 10.1016/j.jep.2015.02.043
- Y Tambe. (2005). *microscopic image of Staphylococcus aureus (ATCC 25923). Gram staining, magnification: 1,000*. Retrieved from [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus\\_aureus\\_Gram.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_Gram.jpg)

ภาคผนวก  
วิธีการดำเนินงาน

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

### 1. การเตรียมสกัดสารสกัดจากพืช



### 2. การสกัดแยกสาร



### 3. การเตรียมเชื้อใส่ลงในอาหารเหลว



4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar เป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงเชื้อ



5. การเตรียมสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด



6. การทดสอบการยับยั้งเชื้อเบื้องต้นด้วย วิธี Agar Well Diffusion



7. การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธี Broth Microdilution



8. เจลจากสารสกัดใบสำมะงา



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	ฟาติสะ วาโชีะ
วัน เดือน ปีเกิด	19 มิถุนายน 2537
สถานที่เกิด	จังหวัดยะลา ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาแพทยแผนไทยบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย , 2559 มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก , 2567
ทุนการศึกษา ที่อยู่ปัจจุบัน	ปริญญาโททุน สานฝัน 3 พี่น้องจังหวัดชายแดนใต้ 82/27 หมู่ 5 ตำบลคูขวาง อำเภอตลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี 12140
สถานที่ทำงาน ตำแหน่งปัจจุบัน	โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลคูขวางหลวง หมู่ 1 แพทย์แผนไทยปฏิบัติการ