



การพัฒนาครีมสมุนไพรหาชนิดจากป่าชายเลนเพื่อรักษาโรคผิวหนัง

นรินทร์ กากะทุม¹

วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา¹

Email: narin.ka@ssru.ac.th¹

บทคัดย่อ

ภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยมีการใช้สมุนไพรจากป่าชายเลนมาบำบัดบรรเทาโรคหรืออาการทางผิวหนังจากการที่ต้องสัมผัสกับน้ำ ความชื้น โดยใช้ส่วนต่างๆของพืชมาต้มล้าง อบแห้ง เพื่อลดอาการคัน แผลอักเสบต่างๆ เป็นเวลานาน ผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญในการพัฒนาสมุนไพรจากป่าชายเลน เพื่อช่วยลดปัญหาการเกิดโรคทางผิวหนัง ที่มีผลจากการประกอบอาชีพที่ต้องสัมผัสกับน้ำที่ไม่สะอาดมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และพัฒนายาสมุนไพรให้มีรูปแบบที่ทันสมัย สะดวกต่อการใช้งาน และคงสภาพการออกฤทธิ์ โดยคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Assay, ปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิก ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric Method, ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ minimum inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี agar diffusion และ broth microdilution method Broth dilution method ต่อเชื้อ *C. albicans* TBRC 209, *S. epidermidis* TBRC 2992, *B. subtilis* TBRC 2881, *P. aeruginosa* TBRC 2984 ที่ดีที่สุดจากสารสกัดสมุนไพรหาชนิด ด้วย Ethanol 95% ได้แก่ เหงือกปลาหมอ ตะบูน ลำมะงา ชะคราม ผักเบี้ย มาพัฒนาเป็นครีมสมุนไพร เพื่อสะดวกในการนำไปใช้ พบว่าสารสกัดตะบูนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิก และต้านเชื้อจุลินทรีย์ดีที่สุด ผลประเมินความคงตัวทางกายภาพ เนื้อครีมไม่มีการแยกชั้น การตกตะกอนและกลิ่นไม่เปลี่ยนแปลง ความเป็นกรด - ด่าง ของครีมตะบูน เท่ากับ 7.7 ± 0.25 ผลประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่ง โดยทำ Freeze and thaw cycle จำนวน 5 รอบ พบว่าครีมตะบูนที่ผ่านการทดสอบความคงสภาพฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ EC_{50} เท่ากับ 1.75 ± 0.05 ไมโครกรัม /มล. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสถิติ ($P = 0.023$) และค่า Inhibition zone ในเชื้อ *B. Subtilis* TBRC 2881 เท่ากับ 9.3 ± 0.33 มม.มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.024$) เมื่อเทียบกับครีมตะบูนที่ไม่ได้ผ่านการทดสอบความคงสภาพ

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สมุนไพรหาชนิด, ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์



Development of Five Mangrove Herbal Creams to Treatment Skin Diseases

Narin Kakatum¹

College of Allied Health Sciences, Suan Sunandha Rajabhat University¹

Email: narin.ka@ssru.ac.th¹

ABSTRACT

Thai Traditional Medicine used herbs from mangroves to relieve skin diseases. The various parts of the plant were boiled, soaked to relieve diseases for a long time. The aim of this work was investigating the antioxidant activity by DPPH radical scavenging activity, Total phenolic and antimicrobial activity by Agar diffusion and Broth microdilution method and of the ethanoic extract of *Xylocarpus granatum*, *Clerodendrum inerme*, *Acanthus ebracteatus*, *Sesuvium portulacastrum* and *Sueda maritima* for development of mangrove herbs to help reduce skin disease and develop herbal medicine in modern style.

The ethanoic extract of *Xylocarpus granatum Koenig* show high both method. *Xylocarpus granatum Koenig* Cream was freezed and thawed five cycles.

Found that radical scavenging activity EC_{50} 1.75 ± 0.05 ($\mu\text{g/ml.}$) significant ($P = 0.023$). Physical stability of *Xylocarpus granatum Koenig* Cream non separate layer and not change pH 7.7 ± 0.25 .

Keywords: Antioxidant, Mangrove herbs, Antimicrobial activity



บทนำ

พื้นที่ป่าชายเลนที่ยังคงมีความสมบูรณ์อยู่ และมีบางส่วนที่ชุมชนเข้าไปอยู่อาศัย และใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ในบริเวณพื้นที่ป่าชายเลนชายฝั่งทะเลอันดามัน ในจังหวัดระนอง พังงา กระบี่ ตรัง สตูล และภูเก็ต มีการบุกรุกครอบครองและเข้าใช้ประโยชน์เพื่อการเลี้ยงกุ้ง ในพื้นที่ป่าชายเลนบริเวณภาคตะวันออกในจังหวัดระยอง และจันทบุรี บริเวณภาคใต้ฝั่งอ่าวไทย ท้องที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช ปัญหาการออกเอกสารสิทธิครอบครองตามกฎหมายและมีอาชีพการปลูกป่าชายเลน แต่ประสบปัญหาไม่คุ้มทุน จึงเปลี่ยนแปลงไปทำเป็นพื้นที่นาเกลือ และขายที่ดินให้กับเอกชน¹ การที่ประชาชนเข้ามาใช้พื้นที่เพื่อประกอบอาชีพจึงส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศวิทยาและต่อสุขภาพของตนเอง โดยเฉพาะโรคหรืออาการทางผิวหนังซึ่งเป็นอวัยวะที่ช่วยป้องกันอันตรายที่จะเข้าสู่ร่างกายโดยเฉพาะเชื้อโรค เชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งโดยปกติบนผิวหนังจะมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ อาศัยอยู่ ถ้าวางกายอ่อนแอหรือเกิดบาดแผล เชื้อที่อาศัยอยู่บนผิวหนังจะเข้าสู่เนื้อไปยังเยื่อชั้นในไปยังกระแสเลือด และเกิดการแพร่กระจายของเชื้อไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกายแล้วก่อให้เกิดโรค² โดยจะพบเชื้อก่อโรคทางผิวหนังที่พบในแหล่งน้ำต่าง ๆ เช่น เชื้อ *S. epidermidis* เป็นสาเหตุก่อให้เกิดแผลอักเสบเป็นหนอง พบได้ตามผิวหนังทั่วไปและเยื่อบุบางแห่ง เช่น จมูก หู ปาก และทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย³ เชื้อ *C. albicans* สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อ บริเวณผิวหนัง ขาหนีบ รักแร้ ไตเต้านม ตามรอยพับย่นของผิวหนัง

ซึ่งจะปรากฏรอยผื่นแดง โดยเฉพาะผู้ที่อยู่ในสภาวะเปียกชื้นตลอดเวลา เช่น แม่ค้า แม่บ้าน อาชีพประมง เป็นต้น เชื้อ *P. aeruginosa* ปกติจะพบกระจายตามพื้นดิน แหล่งน้ำ ขยะ หรือในพืช สามารถก่อโรคต่อผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน ในคนปกติสามารถพบติดเชื้อได้โดยการสัมผัส อาบน้ำหรือเล่นน้ำในสระว่ายน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ ซึ่งจะมีการคล้ายกับโรคอีสุกอีใส และจะเกิดอาการรุนแรงได้กับผู้ที่เชื้อในกระแสเลือดร่วมด้วย และเป็นสาเหตุในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในบาดแผลไฟไหม้ในผู้ป่วยที่ พักรักษาตัวที่โรงพยาบาล เชื้อ *B. subtilis* เป็นเชื้อแบบฉวยโอกาส การติดเชื้อแบบนี้พบได้โดยการติดเชื้อภายในโรงพยาบาล เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนเครื่องมือแพทย์ เช่น เครื่องสวนหลอดเลือด การติดเชื้อในทางเชื่อมของระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system shunt infections) เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (endocarditis) รวมทั้งปอดอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อในกระแสเลือดในคนไข้ที่ภูมิคุ้มกันถูกกดอย่างรุนแรง โดยการติดเชื้อเชื้อ *B. subtilis* ที่ปนเปื้อนจากผิวหนังคนไข้⁴ จากข้อมูลสรุปรายงานการป่วย รายงานผู้ป่วยนอกตามกลุ่มสาเหตุ (รง.504) สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข พบว่าอัตราผู้ป่วยนอกตามกลุ่มสาเหตุการป่วยของโรคทางผิวหนัง ในปี พ.ศ. 2555 เป็นลำดับที่ 7 คิดเป็นอัตรา 104.93 ต่อประชากร 1,000 คน⁵ มูลค่าการนำเข้ายาประจำปี 2553 สูงถึง 1,831.17 ล้านบาท⁶



ภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยมีการใช้สมุนไพรจากป่าชายเลนมาบำบัดบรรเทาโรคหรืออาการทางผิวหนังจากการที่ต้องสัมผัสกับน้ำ ความชื้น เช่น เปลือกเสม็ด เหงือกปลาหมอ ลำพู ตะบูน ส้มมะงา โดยใช้ส่วนต่าง ๆ ของพืชมาต้มล้าง อบแห้ง เพื่อลดอาการคัน แผลอักเสบ ต่าง ๆ เป็นเวลานาน ผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญในการพัฒนาสมุนไพรจากป่าชายเลนเพื่อช่วยลดปัญหาการเกิดโรคทางผิวหนัง ที่มีผลจากการประกอบอาชีพที่ต้องสัมผัสกับน้ำที่ไม่สะอาด มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และพัฒนายาสมุนไพรให้มีรูปแบบที่ทันสมัย สะดวกต่อการใช้งาน และคงสภาพการออกฤทธิ์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรห้าชนิด
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. albicans* (TBRC 209), *S. epidermidis* (TBRC 2992), *B. subtilis* (TBRC 2881) และ *P. aeruginosa* (TBRC 2984) ของสารสกัดสมุนไพรห้าชนิด
3. เพื่อคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านเชื้อที่ดีที่สุดจากสารสกัดสมุนไพรห้าชนิด
4. เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของครีมสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ดีที่สุดจากห้าชนิดกับครีมที่ผ่านการทดสอบความคงสภาพ

ระเบียบวิธีวิจัย

เก็บสมุนไพรห้าชนิด ได้แก่ เหงือกปลาหมอ ตะบูน ส้มมะงา ชะคราม ผักเบี้ย จากพื้นที่ป่าชายเลน

จ.สมุทรสงคราม นำมาล้างทำความสะอาด อบแห้งด้วยตู้อบที่ 50 °C สับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งน้ำหนักสมุนไพรแต่ละชนิดตามที่กำหนด แล้วนำไปบดหยาบด้วยเครื่องบดชนิดจานยี่ห้อมักด้วย 95 % ethanol 3 วัน กรองด้วยกระดาษกรอง นำกากที่เหลือหมักต่อและกรองอีก 2 ครั้ง นำสารสกัดทั้ง 3 ครั้งผสมกัน แล้วนำไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องโรตารีอีแวปโปเรเตอร์ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของสารสกัด (%Yield)⁷

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

1.1 การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay⁸

หลักการ

DPPH หรือ 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) สามารถรับ electron หรือ hydrogen radical ได้ ซึ่งเมื่อ DPPH อยู่ในรูปสารละลายใน absolute ethanol จะมีสีม่วง และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ antioxidant จะทำให้มีสีจางลง โดยใช้ BHT (Butylated hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐานที่ให้ผลบวกในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ค่าที่ได้จากการทดสอบจะแสดงเป็นค่า EC₅₀ โดยต้องมีค่าต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร จึงจะถือว่ามียูฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการ

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 µM ในสารละลาย absolute ethanol ทดสอบโดยเตรียมสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1, 10, 50 และ 100 มิลลิกรัม



ต่อมิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างและสารละลาย DPPH อย่างละ 100 มิลลิลิตรลงใน 96-well microplate ตามลำดับ ปิดกันแสงด้วย foil ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที นำมา 1.วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วย 96 - well microplate readers 2.วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Jenway 6305, UK) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate) นำไปคำนวณ % inhibition ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [(a_{\text{control}} - a_{\text{sample}}) / a_{\text{control}}] \times 100$$

หมายเหตุ A sample คือค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดที่เติมสารละลาย DPPH, A control คือค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ไม่ได้เติมสารสกัด หาค่า EC_{50} จากค่า % Inhibition ด้วยโปรแกรม Prism

1.2 การหาปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric Method

หลักการ

การวัดปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) หลักการ คือ สารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย Phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย Phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมด เกิดเป็น tungsten และ molybdenum blue ซึ่งให้สีน้ำเงินและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร⁹

วิธีการ

การเตรียมสารละลาย 2N Folin-ciocalteu reagent และ 20% Sodium carbonate (Na_2CO_3) และเตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตรและ Na_2CO_3 80 ไมโครลิตร ตามลำดับ ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วย 96-well microplate reader ทำการทดลอง 3 ครั้ง คำนวณหาปริมาณ total phenolic compound ($\mu\text{g/ml}$) จากกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน Gallic acid และคำนวณให้อยู่ในหน่วยของ mg GAE/g Extract

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยในการทดลองใช้ 2 วิธี คือ

2.1 Disk diffusion method

เป็นการวางแผนกระดาษกรองที่จุ่มสารทดสอบ 500 mg/ml ปริมาณ 10 μl ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบไว้ หลังจากการบ่มเชื้อจะปรากฏวงใสรอบๆแผ่นกระดาษกรอง เรียกว่า zone of inhibition ซึ่งเป็นบริเวณที่สารสมุนไพรแพร่ออกไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ โดยกำหนดค่าที่ ≥ 8 มิลลิเมตร แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์มีความไวต่อสารสกัด

2.2 Broth dilution method

เป็นการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว โดยการเจือจางสารสมุนไพรที่มีความเข้มข้น 500 mg/ml แล้วเจือจางด้วย Mueller Hinton Broth (MHB) ให้ได้



ความเข้มข้น 10 mg/ml แล้วเจือจางแบบ Two fold dilution ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่เพาะเชื้อที่ต้องการทดสอบไว้ แล้วอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Minimum Inhibitory concentrations (MIC)

3. ทดสอบความคงสภาพและลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์^{5,10}

3.1 ประเมินความคงตัวทางกายภาพ โดยสังเกตลักษณะเนื้อครีม การแยกชั้นการตกตะกอน และกลิ่น ทดสอบความเป็นกรด - ด่าง โดยใช้ pH meter

3.2 ประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่ง โดยทำ Freeze and thaw cycle จำนวน 5 รอบ โดยนำผลิตภัณฑ์เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ซึ่งตั้งรอบ ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบ 48 ชั่วโมง ให้ตั้งอุณหภูมิเป็น 45°C นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ กำหนด 5 รอบ

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของครีม

ส่วนประกอบ	ร้อยละ
น้ำกลั่น	72.60
Methyl paraben	1.00
น้ำมันมะกอก	2.00
วาสลีน	1.40
Stearic Acid	6.00
Cetyl Alcohol	3.00
Isopropanol militate	3.00
Twin 20	5.00
Propylene Glycol	5.00
สารสกัดสมุนไพร	1.00

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แสดงผลฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยค่าร้อยละ($\pm$ SEM) ทำการวิเคราะห์ทดสอบข้อมูลทางสถิติด้วย t-test มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ค่า P value ≤ 0.05

ผลการวิจัย

1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

1.1 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตะบูนขาว (เปลือก) (Xylocarpus granatum Koenig, Xg) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ตามด้วยลำมะงา (Clerodendrum inerme, Ci) เหงือกปลาหมอ (Acanthus ebracteatus, Ae) ผักเบี้ยทะเล (Sesuvium portulacastrum, Sp) และชะคราม (Sueda maritime, Sm) ตามลำดับ EC50 เท่ากับ 1.33 ± 0.097 , 19.44 ± 0.33 , 24.33 ± 0.86 , 69.03 ± 0.34 , 88.49 ± 0.68 ไมโครกรัม/มล. สารมาตรฐาน BHT EC50 เท่ากับ 12.167 ± 0.41 ไมโครกรัม/มล.

1.2 ปริมาณ total phenolic สารสกัดตะบูน (เปลือก) มีมากที่สุด เท่ากับ 354.47 ± 5.52 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด ตามด้วยลำมะงา (Clerodendrum inerme, Ci) เหงือกปลาหมอ (Acanthus ebracteatus, Ae) ผักเบี้ยทะเล (Sesuvium portulacastrum, Sp) และชะคราม (Sueda maritima, Sm) มีปริมาณ total phenolic 88.24 ± 5.53 , 50.37 ± 6.80 , 32.71 ± 4.7 , 30.49 ± 6.74 ตามลำดับ ได้สมการดังนี้ $y = 0.0058x - 0.0069$ ($R^2 = 0.9991$)



2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยในการ

ทดลองใช้ 2 วิธี คือ

2.1 Disk diffusion method

พบว่าสารสกัดที่มีความเข้มข้น 500 mg/ml ปริมาตร 10 µg/disc ของ 1. ตะบูน (เปลือก) (Xg) มีฤทธิ์ยับยั้งที่ 14.66 ± 0.33 มม. ต่อเชื้อ *S. aureus* (ATCC 25933), 14.66 ± 0.33 มม. ต่อเชื้อ *S. epidermidis* (TBRC 2992), 10.3 ± 0.66 มม. ต่อเชื้อ *B. subtilis* (TBRC 2881), ไม่มีฤทธิ์ต่อเชื้อ *P. aeruginosa* (TBRC 2984) 2. ส้มมะงา (Ci) มีฤทธิ์ยับยั้งที่ 7.66 ± 0.33 มม. ต่อเชื้อ *S. aureus* (ATCC 25933), 3. เหงือกปลาหมอ (Ae) มีฤทธิ์ยับยั้งที่ 7.33 ± 0.33 มม. ต่อเชื้อ *S. aureus*

(ATCC 25933), 4. ผักเบี้ยทะเล (Sp) มีฤทธิ์ยับยั้งที่ 7.33 ± 0.33 มม. ต่อเชื้อ *P. aeruginosa* (TBRC 2984), และ 5. ชะคราม (Sm) ไม่พบมีฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อทั้งหมดที่ทดสอบ 6. ยามาตรฐาน Ciprofloxacin (5 ไมโครกรัม/มล.) มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* (ATCC 25933), *S. epidermidis* (TBRC 2992), *B. subtilis* (TBRC 2881), *P. aeruginosa* (TBRC 2984) ค่า Inhibit zone เท่ากับ 21.6 ± 0.33 , 27.6 ± 0.33 , $16. \pm 0.33$, 18.6 ± 0.33 มม. ตามลำดับ 7. ยามาตรฐาน ketoconazole (15 ไมโครกรัม/มล.) มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. albicans* (TBRC 209) ค่า Inhibit zone เท่ากับ 28 ± 0.00 มม.

ตารางที่ 2 สรุปผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณ Total phenolic

	Antioxidant activity $EC_{50}(\mu\text{g/ml}) \pm \text{SEM}^*$	Total phenolic content (mg GAE/g) $\pm \text{SEM}^*$
Xg	1.33 ± 0.09	354.47 ± 5.52
Ci	19.44 ± 0.33	88.24 ± 5.53
Ae	24.33 ± 0.86	50.37 ± 6.80
Sp	69.03 ± 0.34	32.71 ± 4.7
Sm	88.49 ± 0.68	30.49 ± 6.74
BHT	12.16 ± 0.04	

Xg คือ สารสกัดตะบูนขาว (เปลือก) (*Xylocarpus granatum* Koenig),

Ci คือ ส้มมะงา (*Clerodendrum inerme*),

Ae คือ เหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus*),

Sp คือ ผักเบี้ยทะเล (*Sesuvium portulacastrum*),

Sm คือ ชะคราม (*Sueda maritima*)



2.2 Broth dilution method

ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

ด้วยวิธี Broth dilution method พบว่าสารสกัดตะบูน (เปลือก) มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* (ATCC 25933), *S. epidermidis* TBRC 2992, *B. subtilis* TBRC 2881 และ *P. aeruginosa* TBRC 2984 ค่า MIC คือ 0.312-0.625, 0.312-0.625, 1.25, 0.312-0.625 (มก./มล.) ยามาตรฐาน Ciprofloxacin (5 มก./มล.) มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25933, *S. epidermidis* TBRC 2992, *B. subtilis* TBRC 2881, *P. aeruginosa* TBRC 2984 ค่า MIC เท่ากับ 0.12, 0.25, 0.12, 0.25 (มก./มล.) Ketoconazole มีฤทธิ์ต้าน *C. albicans* TBRC 209 ค่า MIC คือ 0.25 (มก./มล.)

3. ผลทดสอบความปลอดภัยและลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์

3.1 ผลประเมินความคงตัวของทางกายภาพ เนื้อครีมไม่มีการแยกชั้น การตกตะกอนและกลิ่นไม่เปลี่ยนแปลง ความเป็นกรด - ด่าง ของครีมตะบูน โดยใช้ pH meter เท่ากับ 7.7 ± 0.25

3.2 ผลประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่ง โดยทำ Freeze and thaw cycle จำนวน 5 รอบ พบว่าครีมตะบูนที่ผ่านการทดสอบความคงสภาพฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ EC_{50} เท่ากับ 1.75 ± 0.05 ไมโครกรัม /มล. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.023$) และค่า Inhibition zone ในเชื้อ *B. subtilis* TBRC 2881 เท่ากับ 9.3 ± 0.33 มม. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.024$) เมื่อเทียบกับครีมตะบูนที่ไม่ได้ผ่านการทดสอบความคงสภาพ

ตารางที่ 2 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion method และ Broth dilution method

	<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	In zone	MIC	In zone	MIC	In zone	MIC	In zone	MIC	In zone	MIC
Ci	7.66 ± 0.33	>10	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Ae	7.33 ± 0.33	>10	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Sp	NA	>10	NA	NT	NA	NT	NA	NT	7.33 ± 0.33	>10
Sm	NA	>10	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Xg	14.66 ± 0.33	0.312-0.625	NA	NT	14.66 ± 0.33	0.312-0.625	10.33 ± 0.66	1.25	NA	NT
Xg cream	15.00 ± 1.00	0.625	NA	NT	12.00 ± 1.00	0.625	10.33 ± 0.33	1.25	NA	NT
Xg cream FT	14.33 ± 0.33	0.625	NA	NT	11.33 ± 0.33	0.625	9.33 ± 0.33	0.625-1.25	NA	NT
Cream base	NA	>10	NA	NT	NA	>10	NA	>10	NA	NT
Ciprofloxacin มก/มล	21.6 ± 0.33	0.12	NT	NT	27.6 ± 0.33	0.25	16 ± 0.33	0.12	18.66 ± 0.33	0.25
Ketoconazole มก/มล	NT	NT	28 ± 0.00	0.25	NT	NT	NT	NT	NT	NT



Xg คือ สารสกัดตะบูนขาว (เปลือก) (*Xylocarpus granatum Koenig*),
 Ci คือ สำมะงา (*Clerodendrum inerme*),
 Ae คือ เหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus*),
 Sp คือ ผักเบี้ยทะเล (*Sesuvium portulacastrum*),
 Sm คือ ชะคราม (*Sueda maritima*),
 Xg คือ ตะบูนขาว,
 Xg cream คือ ครีมตะบูนขาว,
 Xg cream FT คือ ครีมตะบูนขาวที่ผ่านการ Freeze and thaw cycle,
 Cream base คือ ครีมเบส,
 In.zone คือ Inhibition zone (มม.) $\pm$ SEM,
 MIC คือ ค่า Minimum Inhibitory mg/ml $\pm$ SEM Freeze and thaw cycle,
 NA = Not Activity (มากกว่า 500 mg/ml),
 NT = Not test.

สรุปและอภิปรายผล

สารสกัดของตะบูน มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ โดยพิจารณาเปรียบเทียบกับระหว่าง ค่า inhibition zone และ MIC ที่เกิดขึ้น สอดคล้องกับสรรพคุณ ตามตำราไม้เทศเมืองไทย กล่าวว่า ตะบูนขาว¹¹ ลูกและเปลือก มีรสฝาด แก้ท้องร่วง ภายนอกใช้เป็น ยาชำระล้างบาดแผล¹² โดยที่ยารสฝาดมีสารแทนนิน ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ เมื่อสารกลุ่มโพลีฟีนอลิกหรือฟลาโวนอยด์ให้โปรตอน แก่อนุมูลอิสระแล้วนั้น^{9,13} จะเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ขึ้น ซึ่งสามารถเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วตลอดทั้งโครงสร้าง ทำให้เกิดความเสถียรของอนุมูลอิสระไม่ไปทำปฏิกิริยาต่อไป¹⁴ และยังมีรายงานว่า ตะบูนมีสาร Limonoids 4 ชนิด xylococcinsin O,

xylococcinsin P, xylococcinsin Q และ Gedunin และพบ Flavonoids 2 ชนิด ได้แก่ catechin และ epicatechin ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยที่ สาร Gedunin ที่สกัดจากเปลือกตะบูน มีฤทธิ์ไซโตทอกซิกต่อเซลล์มะเร็งชนิด CaCo-2 cell line ค่า IC₅₀ เท่ากับ 16.83 μ M¹⁵ แต่ถึงกระนั้นก็ตาม เมื่อนำสารสกัดไปเปรียบเทียบกับ สารมาตรฐาน Ciprofloxacin (5 μ g/ml) และ Ketoconazole (10 μ g/ml) พบว่าสารสกัดนั้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่า เมื่อนำสารสกัดตะบูน 10 เท่า มาผสมในครีมแล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อพบว่า มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อค่า inhibition zone และ MIC น้อยกว่าเมื่อเทียบกับสารสกัด ทั้งก่อนและหลังทดสอบความคงสภาพ ($P = 0.024$) แต่ยังมีฤทธิ์ยับยั้ง อาจเนื่องมาจากการละลายตัวของสารสกัดในเนื้อครีม¹⁶



ข้อเสนอแนะ

ตรวจวัดปริมาณสาร Limonoids ทั้ง 4 ชนิด คือ xylocensin O, xylocensin P, xylocensin Q, gerdunin และ Flavonoids ทั้ง 2 ชนิด คือ catechin และ epicatechin ในสารสกัดตะบูน เพื่อเป็นแนวทางศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ และใช้เป็นสารมาตรฐานในการควบคุมผลิตภัณฑ์ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการทดลองใช้กับอาการคันหรือผลติดเชื้อบริเวณผิวหนัง ในผู้ป่วยควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการแพ้ ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์และสัตว์ทดลอง เพื่อเป็นแนวทางศึกษาวิจัยทางคลินิกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานจังหวัดสมุทรสงคราม, ข้อมูลจังหวัดสมุทรสงคราม, สืบค้น : <http://www.samutsongkhram.go.th/> [20 มิถุนายน, 2558].)
2. Watson, W., & Kapur, S(2011). Atopic dermatitis. Allergy, Asthma, and Clinical Immunology : Official Journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology, 7(Suppl 1), S4. doi:10.1186/1710-1492-7-S1-S4
3. นริกุล สุระพัฒน์และคณะ. จุลชีววิทยาทางการแพทย์. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์กรุงเทพเวชสาร; 2526.
4. จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์และคณะ. เภสัชจุลชีววิทยา. กรุงเทพฯ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2531. หน้า 164-70.
5. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เครื่องสำอางประเภทครีมและโลชั่นทาผิว (มอก 478-2526) [สืบค้น], <http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2555/E/185/10.PDF> [27 มิถุนายน, 2558].
6. สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์. สรุปรายงานการป่วยจากรายงานผู้ป่วยนอกตามกลุ่มสาเหตุ (รง.504) สืบค้น: <http://bps.ops.moph.go.th/Healthinformation/ill55/ill-full2555.pdf> [20 มิถุนายน, 2558].
7. รัตนา อินทรานุปกรณ์. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2547. หน้า 19-58, 83-102.
8. Yamazaki, K. Hashimoto, A. Kokusenya, Y. Miyamoto, T. and Sato, T. (1994). emical method for estimating the antioxidative effect of methanol extracts of crude drugs”, Chem. Pharm. Bull, 42, pp. 1663-65.
9. Singleton, V., R., Orthifer, R. and Lamuela-Raventos, R., M. (1999). “Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent.” Methods in Enzymology. 299, pp. 152-78.



10. ณัฐนันท์ สิ้นชัยพานิช , เบญจา อิทิมงคล.
แนวทางในการศึกษาความคงสภาพของยา.
กรุงเทพฯ : เกสซ์กรรมสมาคมแห่งประเทศไทย
ในพระบรมราชูปถัมภ์; 2542.
11. ชลลภัส ม่วงศรี. ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจาก
เปลือกกรากตะบูนขาว. มหาวิทยาลัยราชภัฏ
รำไพพรรณี; 2552.
12. เสี่ยม บุนรอด. ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณของ
ยาเทศและยาไทย. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์กรุงธน;
2522. หน้า 30
13. Satoshi, S. and Y. Hara. (1990). "Antioxidative
activity of the catechin." *Fragrance J.* 24 – 30.
14. Taha M. Rababah, (2004). Total Phenolics
and Antioxidant Activities of Fenugreek,
Green Tea, Black Tea, Grape Seed, Ginger,
Rosemary, Gotu Kola, and Ginkgo Extracts,
Vitamin E, and tert-Butylhydroquinone. *J.*
Agric. Food Chem., 52 (16), pp 5183–86
15. Simlai, A., & Roy, A. (2013). Biological
activities and chemical constituents of
some mangrove species from Sundarban
estuary: An overview. *Pharmacognosy*
Reviews, 7(14), 170–78. [http://doi.org/10.4103/](http://doi.org/10.4103/0973-7847.120518)
0973-7847.120518
16. ชนิตา ธีระนนท์กุล และดนัย ศิริบรรจง. 2549.
การพัฒนาตำรับไฟโบรอินอิมัลเจลเพื่อการ
รักษาแผลที่มีการติดเชื้อ. ปรินญาบัณฑิต.
สาขาวิชาเภสัชศาสตร์. คณะเภสัชศาสตร์.
มหาวิทยาลัยมหิดล.