

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง

Biological Activities of *Eclipta prostrata* Linn (Kameng) fractional extract

สุพรรณา เสมศรี

วิชาญ จันทรวิทยานุชิต

ณัฐริณี หอระตะ

อิสยา จันทรวิทยานุชิต

สมหญิง งามอรุเลิศ

ณิรนุช ควรเชิดชู

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ปีการศึกษา 2566

ชื่อเรื่อง	ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง Biological Activities of <i>Eclipta prostrata</i> Linn (Kameng) fractional extract
ผู้วิจัย	สุวรรณา เสมศรี วิชาญ จันทรวินยานุชิต ณัฐริณี หอระตะ อิศยา จันทรวินยานุชิต สมหญิง งามอรุเลิศ ณิรนุช ควรรเชิดชู
สถาบัน	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ปีที่พิมพ์	2568
สถานที่พิมพ์	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
แหล่งที่เก็บรายงาน	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ฉบับสมบูรณ์	
จำนวนหน้างานวิจัย	62
คำสำคัญ	กะเม็ง สารสกัดแยกส่วน ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดีอียา การเกิดลิ้มเลือดสมบูรณ์ การสมานแผล
ลิขสิทธิ์	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

### บทคัดย่อ

การวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง เป็นศึกษาการสกัดแยกส่วนกะเม็งเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกะเม็ง โดยมีการสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ 95% เอทานอล เฮกเซน ไคคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และบิวทานอล พบว่าตัวทำละลายไคคลอโรมีเทนให้ผลผลิตสารสกัดกะเม็งที่แยกได้จากตัวทำละลายต่อปริมาณสารตั้งต้น (% Yield) สูงที่สุด คือ 37.27% จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งกับระบบการห้ามเลือดและการต้านเชื้อแบคทีเรีย ผลการทดสอบพบว่า (1) สารสกัดหยาบกะเม็งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ( $6.10 \pm 0.56$  นาที) สารสกัดแยกส่วนชั้นเฮกเซน ( $6.45 \pm 0.54$  นาที) ไคคลอโรมีเทน ( $7.00 \pm 0.62$  นาที) และเอทิลอะซิเตต ( $7.22 \pm 0.74$  นาที) สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดลิ้มเลือดสมบูรณ์ได้เร็วกว่าชุดควบคุมระบบ ( $7.78 \pm 0.95$  นาที) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ด้วยวิธี mWBCT นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบกะเม็งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ( $10.71 \pm 0.92$  วินาที) สารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้นเฮกเซน ( $10.35 \pm 0.89$  วินาที) และไคคลอโรมีเทน ( $10.18 \pm 0.89$  วินาที) สามารถกระตุ้นการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดทางด้วย extrinsic pathway ในการเกิดก้อนไฟบริน ได้เร็วกว่าชุดควบคุมระบบ ( $11.45 \pm 0.92$  วินาที) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดแยกส่วนชั้นเฮกเซนและและไคคลอโรมีเทน สามารถกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ( $p < 0.05$ ) (2) สารสกัดแยกส่วนชั้นไคคลอโรมีเทน สามารถกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเซลล์ HaCaT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (3) สารสกัดแยกส่วนกะเม็งจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 20 mg/mL มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดีอียา *Escherichia coli* 0449, *Escherichia coli* 0484 ESBL ampc, *Klebsiella pneumoniae* 0486, *Klebsiella pneumoniae* CRE และ สายพันธุ์

มาตรฐาน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 ได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียดี้อย่า *Acinetobacter baumannii* MDR, *Pseudomonas aeruginosa* MDR ได้

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง พบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด สมานแผลและยับยั้งเชื้อจุลชีพได้บางสายพันธุ์ อยู่ในกลุ่มของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชั้นไดคลอโรมีเทน ซึ่งจะสารที่อยู่ในชั้นไดคลอโรมีเทน เป็นสารในกลุ่มที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางออกมาจากกะเม็ง ดังนั้นสารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้นไดคลอโรมีเทน มีฤทธิ์กระตุ้นการแข็งตัวของเลือด สมานแผลและยับยั้งเชื้อจุลชีพ ข้อมูลเหล่านี้จะมีประโยชน์ด้านการศึกษาสารสกัดกะเม็งบริสุทธิ์เพื่อนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรห้ามเลือด ฤทธิ์สมานแผลและยับยั้งเชื้อจุลชีพต่อไป

<b>Research title</b>	Biological Activities of <i>Eclipta prostrata</i> Linn (Kameng) fractional extract
<b>Researchers</b>	Suwanna Semsri, Wicharn Janwitayanuchit, Natharinee Horata, Isaya Janwitayanuchit, Somying Ngamurulert, Neeranut Kuanchertchoo
<b>Institution</b>	Huachiew Chalermprakiet University
<b>Year of Publication</b>	2025
<b>Publisher</b>	Huachiew Chalermprakiet University
<b>Sources</b>	Huachiew Chalermprakiet University
<b>No. of Pages</b>	62
<b>Keywords</b>	<i>Eclipta prostrata</i> Linn., fractional extraction, against drug-resistant bacteria, complete blood clot, wound healing
<b>Copyright</b>	Huachiew Chalermprakiet University

### Abstract

This study investigated the biological activity of *Eclipta prostrata* (commonly known as Khameng) by extracting and fractionating it using five different solvents, 95% ethanol, n hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and butanol. Among these, dichloromethane yielded the highest extractable product from the plant material, with a yield percentage of 37.27%. The biological activities of the fractionated extracts were subsequently evaluated. The results were as follows. 1). Blood coagulation induction, the crude ethanol extract ( $6.10 \pm 0.56$  minutes), hexane fraction ( $6.45 \pm 0.54$  minutes), dichloromethane fraction ( $7.00 \pm 0.62$  minutes), and ethyl acetate fraction ( $7.22 \pm 0.74$  minutes) significantly induced complete blood clotting faster than the system control ( $7.78 \pm 0.95$  minutes), with statistical significance ( $p < 0.05$ ), as measured by the modified Whole Blood Clotting Time (mWBCT) method. Additionally, the crude ethanol extract ( $10.71 \pm 0.92$  seconds), hexane fraction ( $10.35 \pm 0.89$  seconds), dichloromethane fraction ( $10.18 \pm 0.89$  seconds) were able to stimulate the activity of coagulation factors via the extrinsic pathway, resulting in faster fibrin clot formation than the system control ( $11.45 \pm 0.92$  seconds), with statistical significance ( $p < 0.05$ ). Both the hexane and dichloromethane fractions significantly promoted platelet aggregation when compared to the control ( $p < 0.05$ ). 2). Wound healing potential, the dichloromethane fraction significantly enhanced the migration of HaCaT cells (a human keratinocyte cell line), indicating its potential in promoting wound healing ( $p < 0.05$ ). 3). Antimicrobial activity, all five solvent-based fractions, at a concentration of 20 mg/mL, exhibited antibacterial activity against drug-resistant strains of *Escherichia coli*

0449, *Escherichia coli* 0484 ESBL AmpC, *Klebsiella pneumoniae* 0486, *Klebsiella pneumoniae* CRE, and standard strains *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Escherichia coli* ATCC 25922. In contrast, they showed no inhibitory activity against drug-resistant *Acinetobacter baumannii* MDR and *Pseudomonas aeruginosa* MDR. These results suggest that the active compounds that have the ability to stimulate blood coagulation, promote wound healing, and inhibit certain microbial strains are likely found in the dichloromethane extract. These compounds are characterized as moderately to non-polar substances extracted from *Eclipta prostrata*. Therefore, the dichloromethane fraction of *Eclipta prostrata* shows potential for further development into herbal products for hemostasis, wound healing, and selective antimicrobial applications.

**กิตติกรรมประกาศ**

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย งานวิจัยครั้งนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.สุรียพร หอมวิเศษวงศา ที่ให้คำแนะนำต่าง ๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้

คณะผู้วิจัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
<b>บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	3
<b>บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย</b>	
3.1 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากกะเม็งโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดขี้ต่างๆ	10
3.2 การทดสอบฤทธิ์ต่อการแข็งตัวของเลือด (hemostasis) ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง	10
3.3 การศึกษาฤทธิ์สมานแผลต่อเซลล์ผิวหนังด้วยวิธี in vitro scratch assay	12
3.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ (Antimicrobial agent) รวมทั้งเชื้อจุลชีพดื้อยาของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง	13
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b>	15
<b>บทที่ 5 สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ</b>	30
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	34
<b>ภาคผนวก</b>	
ประวัติผู้วิจัยโดยย่อ	40
เอกสารแบบแสดงความยินยอม ของอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Consent Form)	52
<b>เอกสารแนบ</b> ผลงาน proceeding ที่นำเสนอโดยนักศึกษาที่เป็นผลจากโครงการวิจัย	
1. การศึกษาเบื้องต้นฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียดื้อยาของสารสกัดกะเม็ง	
2. ฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์และการแข็งตัวของเลือด	
เอกสารจริยธรรมการวิจัย	

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ชื่อเรียก blood coagulation factor ต่าง ๆ	6
ตารางที่ 4.1 ลักษณะสารสกัดกะเม็งจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด และร้อยละของผลผลิตสารสกัดที่แยกได้จากตัวทำละลายต่อปริมาณสารตั้งต้น (% Yield)	16
ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดก้อนลิ่มเลือดสมบูรณ์ โดยวิธี modified WBCT (mWBCT)	17
ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด ด้วยการทดสอบ platelet aggregation	19
ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์ของสารสกัดกะเม็งแยกส่วนต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในด้าน extrinsic pathway โดยการตรวจ prothrombin time (PT)	20
ตารางที่ 4.5 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือดด้าน Intrinsic pathway โดยการตรวจ Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT)	22
ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ของสารสกัดกะเม็งแยกส่วนต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือด	23
ตารางที่ 4.7 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อเซลล์ผิวหนัง (keratinocyte) ชนิด HaCaT cell line	24
ตารางที่ 4.8 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (Inhibition zone) และการแปลผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ	28
ตารางที่ 4.9 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดี้อยาและสายพันธุ์มาตรฐานของสารสกัดกะเม็งที่ความเข้มข้น 20 mg/mL จากตัวทำละลาย 5 ชนิด (Ethanol, <i>n</i> Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Butanol)	29

## สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปภาพที่ 2.1 แผนผังกระบวนการเกิด thrombin แสดงปัจจัยภายในและภายนอกหลอดเลือดที่นำไปสู่การสร้าง thrombin โดยผ่านทางปัจจัยในการแข็งตัวของเลือด	5
รูปภาพที่ 2.2 ไบโคมิ่งดอกขาว หรือ กะเม็งตัวเมีย	8
รูปภาพที่ 4.1 แสดงสารสกัดกะเม็งในชั้นต่างๆ	16
รูปภาพที่ 4.2 ฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการสมานแผล (wound healing)	25

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย

กะเม็งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Eclipta prostrata* Linn. จัดเป็นพืชในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) กะเม็งมีชื่อเรียกอื่นตามท้องถิ่นว่า กะเม็งตัวเมีย กาเม็ง คัดเม็ง (ภาคกลาง) หญ้าสับ ฮ่อมเกี้ยว ห่อมเกี้ยว (ภาคเหนือ) บังกีเช่า (จีน) ฮั่นเหลียนเฉ่า (จีนกลาง) อัวโหนยเช่า เอ็กบักเช่า (จีน-แต้จิ๋ว) เป็นต้น กะเม็งมีทั้ง กะเม็งตัวผู้และกะเม็งตัวเมีย (false daisy หรือ white eclipta) กะเม็งตัวผู้ดอกมีสีเหลืองใหญ่ ส่วนกะเม็งตัวเมียดอกมีสีขาวและมีขนาดเล็ก กะเม็งจัดเป็นไม้ล้มลุก ช่วงอายุสั้น จัดว่าเป็นวัชพืชชนิดหนึ่ง กะเม็งพบได้ทั่วไปในเขตร้อนและเขตเส้นศูนย์สูตร มีการกระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางในประเทศไทย มาเลเซีย จีนและอินเดีย จากภูมิปัญญาหมอชาวบ้านและตำรับรักษาแผนโบราณ กะเม็งสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรค เช่น โรคผิวหนัง โรคเกี่ยวกับระบบประสาท บำรุงตับ ไต ระบบเลือด ภูมิคุ้มกัน ชะลอวัย<sup>(1-5)</sup> ในการแพทย์แผนไทยกะเม็งตัวเมียทั้งต้นมีสรรพคุณขับลมให้กระจาย แก้โลหิตอันกระทำให้ร้อน<sup>(6)</sup> ส่วนกะเม็งตัวผู้มีสรรพคุณแก้ไอ แก้อาเจียนเป็นโลหิต บำรุงโลหิต บำรุงร่างกายแก้ปวดศีรษะ แก้โรคผิวหนัง แก้ผม่วรง แก้กระเพาะอักเสบตำผสมข้าวพอกแก้บวม<sup>(7)</sup> กะเม็งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็ง อากาศดับอักเสบ ดีซ่าน ตับแข็ง บรรเทาอาการปวดข้อและเช่า ลดระดับไขมันในเลือดจากภาวะไขมันในเลือดสูง<sup>(8)</sup> นอกจากนี้กะเม็งยังมีฤทธิ์ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ขยายหลอดเลือด<sup>(9,10)</sup> ต้านการอักเสบ<sup>(11,12)</sup> รักษาอาการปวด<sup>(13)</sup> อีกทั้งยังสามารถต้านพิษบางชนิดด้วย<sup>(14)</sup> กะเม็งยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albica*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhi*<sup>(15-17)</sup> นอกจากนี้ยังมีการรายงานอีกว่ากะเม็งมีความสามารถป้องกันรังสียูวีเอ (UVA) และยูวีบี (UVB) เมื่อสกัดกะเม็งด้วยตัวนำร้อน<sup>(18)</sup> ปัจจุบันในบัญชียาหลักแห่งชาติ มีการใช้กะเม็งตัวเมียในตำรับยาผสมเพชรสังฆาตสูตรที่ 2 เพื่อบรรเทาอาการริดสีดวงทวารหนัก และผสมในตำรับยาสมุนไพรครีมกะเม็งเพื่อใช้ในการรักษาแผลเรื้อรังในโรงพยาบาลคูเมือง จังหวัดบุรีรัมย์<sup>(1)</sup> งานวิจัยในปี ค.ศ. 2004 ของ Cai และคณะ ที่ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกะเม็ง พบว่ากะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและน้ำ โดยระบบการสกัดแบบหมัก (maceration) พบสารสำคัญ คือ wedelolactone จัดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนในกลุ่มคูมาลิน (coumarin) และแทนนิน (tannin)<sup>(19)</sup> เช่นเดียวกับกับงานวิจัยของ Hua และคณะ ในปี ค.ศ. 2010 ที่สกัดกะเม็งแห้งด้วยตัวทำละลาย 80 % (v/v) เอทานอล บิวทานอล และเอทิลอะซิเตต ในระบบการสกัดแบบ ซอกท์เลต พบสารประกอบเชิงซ้อน 8 ชนิด ได้แก่ (1) ethyl 2, 6- dihydroxy- 4- methoxybenzoate (2) merulinic acid C (3)  $\beta$ -amyrone (4) oleanolic acid (5) ecliptasaponin A (6) wedelolactone (7) demethylwedelolactone และ (8) actonequercetin<sup>(20)</sup> นอกจากนี้ พจมาน และคณะ (2554) ได้ศึกษาการสกัดกะเม็งแห้งสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล โดยระบบการสกัดแบบหมัก พบสารสำคัญในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) คูมา

ลิน วงแล็กโตน (lactone ring) สเตอรอยด์ (steroid) และ ไตรเทอร์ปีนอยด์ (triterpenoid) เมื่อนำสารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมาแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography) และวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบแผ่นบาง (thin layer chromatography, TLC) และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) พบสารสำคัญ คือ wedelolactone <sup>(21)</sup> ดังนั้นจึงถือได้ว่ากะเม็งเป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านทานอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการป้องกันและรักษาโรค จึงมีความน่าสนใจในการศึกษา

จากการศึกษาเบื้องต้นของคณะผู้วิจัยพบว่าสารสกัดหยาบกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิด 95% เอทานอลที่ความเข้มข้น 500 µg/mL มีฤทธิ์ในการส่งเสริมให้มีการแข็งตัวของเลือดเร็วกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยสามารถทำให้เลือดแข็งตัวเร็วกว่าชุดควบคุมประมาณ 1.7 เท่า และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยว <sup>(22)</sup> อย่างไรก็ตามงานวิจัยดังกล่าวเป็นเพียงการสกัดแบบหยาบ (crude extract) ดังนั้นงานวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาต่อยอดในการศึกษาถึงตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารจากกะเม็งให้มีความบริสุทธิ์ขึ้น เพื่อนำไปต่อยอดในการศึกษาโครงสร้างของสารที่ออกฤทธิ์ต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากกะเม็งการแข็งตัวของเลือด (hemostasis) ฤทธิ์เสริมสร้างเนื้อเยื่อ (wound healing) และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ (antimicrobial agent) รวมทั้งเชื้อจุลชีพดื้อยา

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย (Scope of the Research)

พัฒนาวิธีการสกัดสารจากกะเม็งให้ได้ปริมาณมาก รวดเร็ว ประหยัดและมีความบริสุทธิ์ และนำมาทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ ฤทธิ์ส่งเสริมการแข็งตัวของเลือด ฤทธิ์เสริมสร้างเนื้อเยื่อและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพและเชื้อดื้อยา

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการสกัดสารจากกะเม็งที่สะดวก รวดเร็ว ได้ปริมาณมาก ประหยัดและมีความบริสุทธิ์สูง
2. ได้ข้อมูลองค์ความรู้เกี่ยวกับฤทธิ์ของสารสกัดจากกะเม็ง ทางด้านการต้านการแข็งตัวของเลือด ฤทธิ์เสริมสร้างเนื้อเยื่อ (สมานแผล) และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพดื้อยา
3. สร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่กะเม็ง โดยนำมาพัฒนาต่อยอดเป็นเวชภัณฑ์

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### การห้ามเลือดและการแข็งตัวของเลือด (hemostasis and blood coagulation) <sup>(23)</sup>

การห้ามเลือด (hemostasis) คือ ระบบการป้องกันการสูญเสียเลือด เมื่อร่างกายเกิดบาดแผล การที่ร่างกายเกิดภาวะเลือดออกอาจมาจากผนังของเลือดถูกทำลายและเกิดการฉีกขาดหรือความดันภายในหลอดเลือดสูงกว่าภายนอก มีผลทำให้เซลล์และของเหลวภายในหลอดเลือดรั่วไหลออกมาภายนอกหลอดเลือดได้ การห้ามเลือดของร่างกายประกอบด้วย การบีบตัวของหลอดเลือด (vascular spasm) เป็นการตอบสนองขั้นแรกของร่างกายที่เกิดขึ้นทันทีหลังจากที่มีการฉีกขาดของหลอดเลือด ต่อมาจะเกิดการรวมตัวของเกล็ดเลือด (platelet plug) ตรงบริเวณที่ หลอดเลือดเกิดบาดแผลและตามด้วยการแข็งตัวของเลือด (blood coagulation) ที่บริเวณนั้น ซึ่งเกิดขึ้นภายในเพียงไม่กี่นาทีเพื่ออุดบาดแผลทำให้เลือดหยุด หลังจากนั้นจะมี fibrous tissue เข้าไปแทรกอยู่ระหว่างเม็ดเลือดที่รวมกันอยู่เป็นก้อน เพื่อให้หลอดเลือดส่วนที่ฉีกขาดนั้น ปิดสนิทอย่างถาวร ซึ่งกระบวนการต่าง ๆ จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและมีการทำงานที่สัมพันธ์กัน

การรวมตัวของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) เกล็ดเลือดมีความสำคัญในการห้ามเลือดโดยทำให้เกิด platelet plug และช่วยในการผลิตทรอมบิน (thrombin) ภาวะปกติเกล็ดเลือดที่อยู่ในกระแสเลือดจะไม่เกาะติดกับ endothelial cell ที่บุผนังด้านในของหลอดเลือด และไม่มีการจับกลุ่มรวมตัวกัน แต่ถ้าหลอดเลือดเกิดการฉีกขาดหรือมีบาดแผลเกิดขึ้น เลือดที่อยู่ภายในหลอดเลือดจะไปสัมผัสกับ คอลลาเจน ไฟเบอร์ (collagen fiber) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังหลอดเลือด เกล็ดเลือดจะจับกับ collagen fiber และมีการหลั่ง adenosine diphosphate (ADP) ออกมาเป็นจำนวนมาก โดย ADP จะทำให้มีการรวมตัวของเกล็ดเลือดจับกันเป็นก้อน การรวมตัวของเกล็ดเลือด มีขั้นตอนดังนี้

#### 1. การเกาะติดของเกล็ดเลือด

การฉีกขาดของเลือดจะทำให้ collagen fiber ที่อยู่ในชั้น basement membrane ของผนังหลอดเลือดได้สัมผัสกับเกล็ดเลือด บนเยื่อเซลล์ของเกล็ดเลือดมี specific glycoprotein ที่สามารถจับกับ collagen fiber ได้ การที่เกล็ดเลือดสามารถเกาะกับ collagen fiber และโครงสร้างของผนังหลอดเลือดได้ จำเป็นต้องอาศัยโปรตีนในพลาสมา (plasma protein) ตัวที่สำคัญคือ von Willebrand factor (vWF)

#### 2. การปลดปล่อยสารออกจากเกล็ดเลือด

เมื่อเกล็ดเลือดเกาะติดกับคอลลาเจนที่ผนังของหลอดเลือดแล้วเกล็ดเลือดจะปล่อย arachidonic acid ออกจากเซลล์ ซึ่ง arachidonic acid จะถูกเปลี่ยนเป็น endoperoxides ซึ่งบางส่วนจะถูกเปลี่ยนเป็น thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) และ thromboxane A<sub>2</sub> นี้จะทำให้เกิดการปลดปล่อยสารออกจาก alpha granule และ dense granule ที่อยู่ในเกล็ดเลือด สารตัวสำคัญที่ปล่อยออกมาคือ ADP สารตัวอื่นที่สามารถทำให้เกิดการปล่อย ADP ออกจากเกล็ดเลือด ได้แก่ ทรอมบิน (thrombin) ซึ่งสร้างขึ้นที่บริเวณผิวของเกล็ด

เลือด thromboxane A<sub>2</sub> นอกจากมีฤทธิ์ทำให้เกิดการรวมตัวของเกล็ดเลือดแล้วยังสามารถทำให้เกิดการบีบตัวของหลอดเลือดที่อยู่บริเวณนั้นด้วย

### 3. การรวมตัวของเกล็ดเลือด

ADP ที่ปล่อยออกมาจากเกรนูลจะทำให้รูปร่างของเกล็ดเลือดเปลี่ยนไป โดยเซลล์จะแบนลงและมีส่วนของเซลล์ที่ยื่นออกมาเป็น pseudopod ADP จะกระตุ้น receptor สำหรับไฟบริโนเจน (fibrinogen) ที่เยื่อเซลล์ การปล่อย ADP ออกมานี้จะทำให้เกล็ดเลือดอื่น ๆ ที่อยู่ใกล้เคียงที่มาเกาะรวมกับเกล็ดเลือดที่เกาะติดอยู่กับ collagen fiber ทำให้เกิดการรวมตัวของเกล็ดเลือดเป็นก้อน (platelet plug) ก้อนของเกล็ดเลือดนี้จะอุดหลอดเลือดบริเวณที่มีการฉีกขาดจึงเป็นการช่วยการห้ามเลือด

### การแข็งตัวของเลือด (blood clotting, blood coagulation)

ในภาวะปกติเลือดที่อยู่ในหลอดเลือดมีสถานะเป็นของเหลว แต่เมื่อมีเลือดออกอยู่นอกหลอดเลือด เลือดจะเกิดการแข็งตัวโดยมีลักษณะเริ่มเป็นลิ่มเลือด การแข็งตัวของเลือดมีกลไกและปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่างๆเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะเป็นการกระตุ้นให้เปลี่ยนสภาพจากภาวะที่ไม่ถูกกระตุ้น (inactive form) มาเป็นภาวะที่ถูกกระตุ้น (active form) และผลที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาจะได้เป็นเอนไซม์ ซึ่งไปกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาต่อไป ในที่สุดจะได้เอนไซม์ตัวสุดท้าย คือ thrombin ซึ่งสามารถทำให้ fibrinogen ซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายอยู่ในพลาสมาเปลี่ยนไปเป็น fibrin โดยปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นต่อเนื่องสามารถสรุปเป็นขั้นตอนได้ 3 ขั้นตอน

1. การเกิด prothrombin activator ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดบาดแผลที่หลอดเลือดหรือที่เม็ดเลือด
2. prothrombin ถูกเปลี่ยนไปเป็น thrombin โดยมี prothrombin activator เป็นตัวกระตุ้น
3. fibrinogen ถูกเปลี่ยนไปเป็น fibrin โดยมี thrombin ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้น fibrin ซึ่งเป็นผลที่เกิดขึ้นจะเป็นเส้นใยที่ช่วยยึดเม็ดเลือดให้เกาะรวมกันเป็นเม็ดเลือด

สาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือดนั้นมี 3 ประการคือ

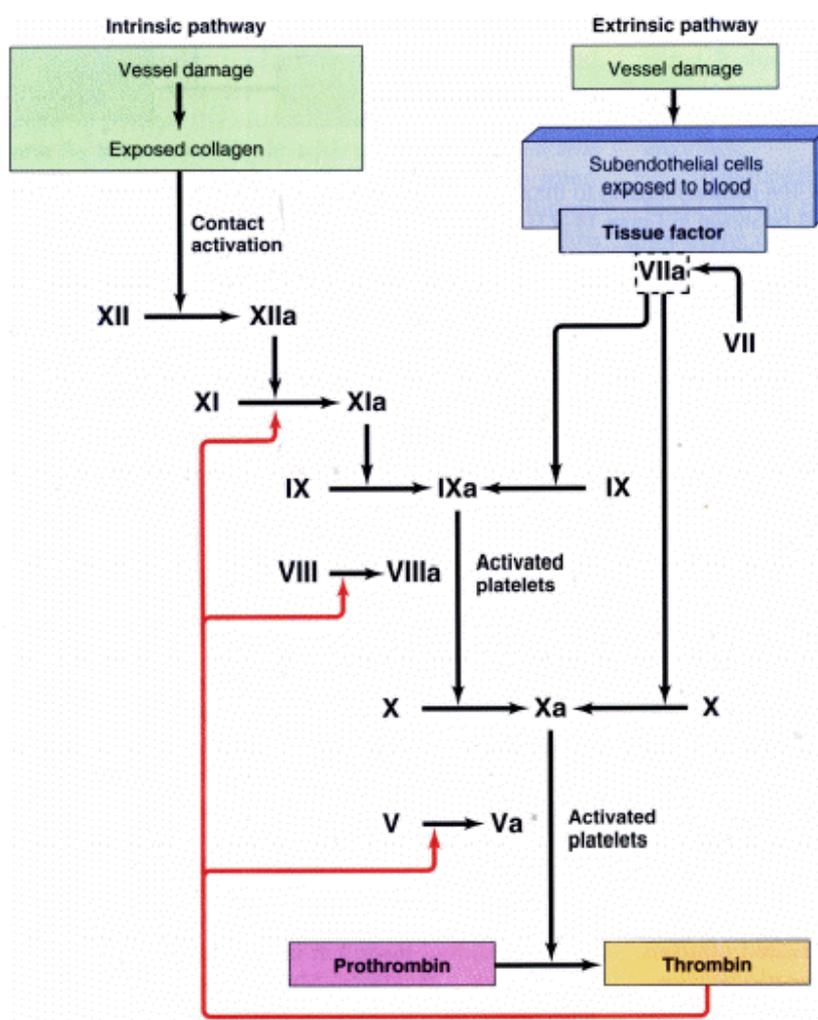
1. เนื้อเยื่อของร่างกายเกิดการบาดเจ็บ
2. Blood trauma
3. เลือดไปสัมผัสกับโครงสร้างหรือสารอื่นที่อยู่นอกหลอดเลือดหรืออยู่ใต้ชั้น endothelium

### กลไกการห้ามเลือดหรือการแข็งตัวของเลือด <sup>(23,24)</sup>

1. กลไกการห้ามเลือดแบบปฐมภูมิ (primary hemostasis) ประกอบด้วยการทำงานร่วมกันของเกล็ดเลือดและ endothelium บนหลอดเลือดเล็ก ๆ ทำงานอย่างรวดเร็วในตอนแรก โดยมีขั้นตอนการทำงานที่สำคัญคือ การเกาะติดกันของเกล็ดเลือด การปลดปล่อยสารออกจากเกล็ดเลือด และการรวมตัวของเกล็ดเลือด

2. กลไกการห้ามเลือดแบบทุติยภูมิ (secondary hemostasis) เป็นการทำงานร่วมกันของระบบการแข็งตัวของเลือด ประกอบไปด้วยปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (blood coagulation factor) ต่าง ๆ เป็นผล

ให้เกิดลิ่มเลือด (fibrin) และเกิดอย่างรวดเร็วตามหลังกลไกการห้ามเลือดแบบปฐมภูมิ จะทำให้ได้ลิ่มเลือดที่มีความแข็งแรง สามารถห้ามเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ กลไกการห้ามเลือดแบบทุติยภูมิสามารถแบ่งออกได้ 3 วิธี (pathway) คือ intrinsic pathway หรือ contact factor pathway, extrinsic pathway หรือ tissue factor pathway และ common pathway ซึ่งทั้ง 3 วิธี จะทำงานร่วมกันเพื่อให้เกิดลิ่มเลือด (fibrin formation) นอกจากนี้ยังมีสารต้านการแข็งตัวของเลือด (natural anticoagulant) ได้แก่ anti-thrombin III (AT III), protein S และ protein C ซึ่งยับยั้งไม่ให้เกิดการแข็งตัวของเลือดมากเกินไป (รูปภาพที่ 2.1)



รูปภาพที่ 2.1 แผนผังกระบวนการเกิด thrombin แสดงปัจจัยภายในและภายนอกหลอดเลือดที่นำไปสู่การสร้าง thrombin โดยผ่านทางปัจจัยในการแข็งตัวของเลือด ตัวอักษร a หมายถึงปัจจัยในการแข็งตัวของเลือดที่อยู่ในรูปที่ทำงานได้ (active form) ที่มา ; Vander และคณะ (2010) <sup>(25)</sup>

### ปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (Blood coagulation factor)

กระบวนการแข็งตัวของเลือดนั้นจะต้องอาศัย blood coagulation factor ทั้งหมด 12 ตัว คือ factor I, factor II, factor III, factor IV, factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XI, factor XII และ factor XIII (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 ชื่อเรียก blood coagulation factor ต่าง ๆ (Thomus C. Bithell 1993) <sup>(26)</sup>

Factor	ชื่อที่นิยมเรียก
Prekallikrein (PK)	Fletcher factor
High molecular weight kininogen (HMWK)	contact activation cofactor; Fitzgerald, Flaujeac Williams factor
I	Fibrinogen
II	Prothrombin
III	Tissue Factor, thromboplastin
IV	Calcium
V	Proaccelerin, labile factor, accelerator (Ac-) globulin
VII	Proconvertin, serum prothrombin conversion accelerator (SPCA), cothromboplastin
VIII	Antihemophilic factor A, antihemophilic globulin (AHG)
IX	Christmas Factor, antihemophilic factor B, plasma thromboplastin component (PTC)
X	Stuart-Prower Factor
XI	Plasma thromboplastin antecedent (PTA)
XII	Hageman Factor
XIII	Protransglutaminase, fibrin stabilizing factor (FSF), fibrinolygase

### การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ <sup>(27)</sup>

#### 1. การนับจำนวนเกล็ดเลือด (platelet count)

##### 1.1. การนับด้วยเครื่องอัตโนมัติ

##### 1.2. การนับโดยใช้ hemocytometer ที่นิยมใช้กันมี 2 วิธีคือ วิธีของ Rees & Ecker และวิธี

ของ Brecher-Cronchite

2. การทดสอบการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation test) เป็นการตรวจวัดหน้าที่ของเกล็ดเลือดโดยอาศัยหลักการ คือ ใช้น้ำยาชนิดต่าง ๆ กระตุ้นให้เกล็ดเลือดมีการจับกลุ่มกัน แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงของแสงที่ผ่านกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วยเครื่องมือพิเศษเรียกว่า aggregometer การผ่านของแสงที่เพิ่มขึ้นจะเป็นสัดส่วนกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เกิดขึ้น

3. การทดสอบการแข็งตัวของเลือด (whole blood clotting time) เป็นการทดสอบเพื่อตรวจกรองปัจจัยการแข็งตัวของเลือดใน intrinsic pathway โดยอาศัยหลักการ คือ เมื่อเลือดออกหากหลุดสัมผัสกับผิวที่ไม่เรียบ จะกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวของเลือดโดยผ่านทาง intrinsic pathway และ common pathway ประกอบด้วย fibrinogen, prothrombin, factor V, VIII, IX, X, XI, XII, prekallikrein และ HMWK จนเกิดการแข็งตัว เวลาตั้งแต่เลือดสัมผัสผิวที่ไม่เรียบ จนกระทั่งเกิดการแข็งตัว คือ whole blood clotting time

4. การทดสอบ prothrombin time (PT) คือ เวลาที่ใช้ในการเกิด fibrin เมื่อเติม tissue thromboplastin มีประโยชน์ในการตรวจกรองหาความผิดปกติของการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดใน extrinsic pathway โดยอาศัยหลักการ คือ แคลเซียมในเลือดจะจับกับโซเดียมซิเตรต ป้องกันการแข็งตัวของพลาสมา เมื่อเติม tissue thromboplastin หรือ tissue extract และแคลเซียมลงในพลาสมา tissue thromboplastin จะทำปฏิกิริยากับ factor VII ซึ่งจะได้ผลผลิตที่สามารถเปลี่ยน factor X เป็น Xa factor Xa จะทำปฏิกิริยากับ factor Va และ phospholipid ที่มีอยู่ใน tissue extract ได้เป็น prothrombinase complex ซึ่งจะเปลี่ยน prothrombin เป็น thrombin และ thrombin จะเปลี่ยน fibrinogen เป็น fibrin ในที่สุด อัตราการเกิด fibrin ขึ้นกับระดับของ factor II, V, VII, X และ fibrinogen ดังนั้น การทดสอบ prothrombin time (PT) จึงเป็นการวัดภาพโดยรวมของ factor เหล่านี้

5. การทดสอบ activated partial thromboplastin time (APTT) เป็นการทดสอบเพื่อตรวจหาความผิดปกติของการทำงานของ coagulation factor ใน intrinsic pathway หรืออีกนัยหนึ่งเป็นการทดสอบกรองการทำงานของ factor ทุกตัวยกเว้น factor VII, XIII และ platelet factor III โดยอาศัยหลักการ คือ เมื่อผสมกับน้ำยา และแคลเซียมคลอไรด์ activator ในน้ำยากระตุ้นให้ factor XII เปลี่ยนเป็น factor XIIa ซึ่ง factor XIIa จะกระตุ้นให้ factor XI เปลี่ยนเป็น XIa, factor XIa จะกระตุ้นให้ factor IX เปลี่ยนเป็น IXa, factor IXa, VIIIa และสารซึ่งมีคุณสมบัติคล้าย phospholipid ของเกล็ดเลือดที่มีในน้ำยา และ แคลเซียมจะเปลี่ยน factor X เป็น Xa, factor Xa, Va, สารที่มีคุณสมบัติคล้าย phospholipid ของเกล็ดเลือด และ แคลเซียม จะเปลี่ยน prothrombin ให้เป็น thrombin และ thrombin จะเปลี่ยน fibrinogen เป็น fibrin ในที่สุดซึ่งหากทำการทดสอบด้วยวิธี manual (ดูการเกิด fibrin ด้วยตา) จะเห็นเป็นเส้นใยขาว ๆ ของ fibrin เกิดขึ้นและพลาสมาจะเปลี่ยนจากของเหลวเป็นวุ้นเหลว ๆ และแข็งเป็นก้อนเมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุด

**กะเม็ง** <sup>(28)</sup> มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eclipta prostrata* (L.) L อยู่ในวงศ์: Asteraceae (Compositae) กะเม็งมีชื่อเรียกอื่นตามท้องถิ่นว่า กะเม็งตัวเมีย กาเม็ง คัดเม็ง (ภาคกลาง) หญ้าสับ ฮ่อมเกี้ยว ห่อมเกี้ยว (ภาคเหนือ), บังกีเช่า (จีน) ฮั่นเหลียนเฉ่า (จีนกลาง) อ้วโหน่ยเช่า เฮ็กบั๊กเช่า (จีน-แต้จิ๋ว) เป็นต้น กะเม็งมีทั้ง

กะเม็งตัวผู้และกะเม็งตัวเมีย กะเม็งตัวผู้ดอกมีสีเหลืองใหญ่ ส่วนกะเม็งตัวเมียดอกมีสีขาวและมีขนาดเล็ก กะเม็งจัดเป็นไม้ล้มลุกขนาดเล็ก ที่ทอดไปตามพื้นตั้ง มีความสูงประมาณ 10-60 เซนติเมตร ลำต้นมีสีเขียวหรือสีน้ำตาลแดงและมีขนละเอียด บางต้นค่อนข้างเกลี้ยง และจะแตกกิ่งก้านที่โคนต้น ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้ามกัน ลักษณะของใบเป็นรูปหอกเรียวยาว ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบเป็นรอยเว้าเข้าเล็กน้อยทั้งสองด้าน ขอบใบเรียบหรือเป็นจักห่าง ๆ ประมาณ 2-3 จักช่วงปลายใบ ขอบใบทั้งสองด้านมีขนสั้น ๆ สีขาว ใบกว้างประมาณ 0.8-2 เซนติเมตร และยาวประมาณ 4-10 เซนติเมตร ออกดอกเป็นช่อกระจุกแน่น ออกดอกเป็นช่อเดี่ยวที่บริเวณยอด หรือ 1-3 ช่อ บริเวณง่ามใบ มีสีขาว และเป็นดอกแบบสมบูรณ์เพศ ส่วนก้านดอกเรียวยาว มีความประมาณ 2- 4.5 เซนติเมตร ผลมีลักษณะเป็นรูปลูกข่าง ผลมีสีเหลืองปนดำ เมื่อนำมาขยี้ดูจะมีน้ำสีด้าออกมา ส่วนผลแก่แห้งมีสีดำไม่แตก ปลายผลมียางค์เป็นเกล็ดยาวประมาณ 2.5 มิลลิเมตร (รูปภาพที่ 2.2)

สรรพคุณของกะเม็งเป็นยาอายุวัฒนะ ช่วยรักษาอาการทางประสาทเป็นลมวิงเวียนมีอาการชักเกร็งใช้ในการรักษาบรรเทาอาการเรื้อรังเลือด ทำให้เลือดแข็งตัวเร็วขึ้น เกล็ดเลือดดีขึ้น เพราะกะเม็งช่วยสร้างเกล็ดเลือด ต้นมีฤทธิ์ในการห้ามเลือด ทำให้เลือดเย็น ช่วยแก้อาการเลือดออกเพราะภาวะหยินพร่องที่ทำให้เลือดร้อน เช่น อาการตกเลือดในสตรี ถ่ายหรือปัสสาวะเป็นเลือด ไอเป็นเลือด เลือดกำเดาไหล ใบกะเม็งนำมาโขลกเพื่อใช้พอกแผลสดเพื่อห้ามเลือด ช่วยป้องกันการติดเชื้อ แก้อาการอักเสบ บวมช้ำ แก้อาการไอกรน แก้อาการเจ็บคอ แก้อาการจุดเสียดแน่นท้อง ริดสีดวงทวารใช้เป็นยาบำรุงเลือด ยาบำรุงร่างกาย แก้มะเร็ง แก้อาการปวดเมื่อย แก้วโรคกระษัย ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน รักษาอาการตีชาน รากกะเม็งมีสรรพคุณใช้เป็นยาขับลม แก้อาการท้องเฟ้อ อาการจุกเสียด ใบและรากใช้เป็นยาถ่าย ช่วยแก้ช่องคลอดเป็นผื่นคัน ช่วยรักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แก้วคอติบ ขับเสลด แก้อาการแน่นหน้าอก แก้วเลือดออกในลำไส้และในปอดหรือมีแผลภายในมีเลือดออก ช่วยรักษาลำไส้อักเสบ รักษาหนองใน ช่วยรักษาตับอักเสบเรื้อรังและป้องกันไม่ให้ตับถูกทำลายจากสารพิษต่าง ๆ ฟันฟูดับ บำรุงไต ม้าม<sup>(29)</sup>



รูปภาพที่ 2.2 ใบกะเม็งดอกขาว หรือ กะเม็งตัวเมีย

ที่มา : [www.flickr.com](http://www.flickr.com) (by aspidoscelis, Kevin Thiele, corey.raimond, mingiweng, Russell Cumming, Teo Siyang, Uday Tadphale, Michael, sagalliant)

มีรายงานในการแพทย์พื้นบ้านใช้กะเม็งในการรักษาแผล ลดอาการบวม และต้านการอักเสบ<sup>(30-32)</sup> โดยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบของกะเม็งตัวเมีย เช่น orobol, wedelolactone, apigenin, luteolin, hesperetin-7-O- $\beta$ -D-glucoside, quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucoside<sup>(33)</sup>, Echinocystic acid<sup>(34)</sup> เป็นต้น และยังมีรายงานฤทธิ์ต้านเชื้อ MRSA และสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากกะเม็งตัวเมีย ได้แก่ eclalbasaponin เป็นสารกลุ่ม terpenoid glycosides ที่ออกฤทธิ์โดยการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P.aeruginosa* ได้ดี<sup>(9)</sup> นอกจากนี้กะเม็งยังมีฤทธิ์ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ขยายหลอดเลือด<sup>(35-36)</sup>

## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีวิจัย

#### 3.1 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากกะเม็งโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่าง ๆ

##### การเตรียมสารสกัดหยาบกะเม็ง

นำใบกะเม็งสด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ หลังจากนั้นนำมาหมัก (maceration) ในตัวทำละลายเอธานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 (95% ethanol) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองเพื่อแยกเอากากออก ทำการหมักแบบดังกล่าว อีก 2 รอบ นำสารละลายที่ได้มาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) จะได้ส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบชั้นเอธานอล (crude ethanol extract) เป็น fraction 1 นำเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการสกัดแยกส่วนด้วยตัวทำละลายอื่นต่อไป

##### การสกัดแยกส่วนสารสกัดหยาบชั้นเอธานอลของกะเม็งด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกัน

1. แบ่งสารสกัดจาก fraction 1 ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน (hexane) และ เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) หลังจากนั้นเก็บสารแยกส่วนระหว่างชั้น เฮกเซน (hexane) และ เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) เป็น fraction 2 และ 3 ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาทำการระเหย (evaporation) เพื่อนำตัวทำละลายออกไปด้วยเครื่อง evaporator และหลังจากนั้นเก็บสารสกัดไว้ที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3. นำ fraction 3 มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และ บิวทานอล (butanol) เป็น fraction 4 และ 5 ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาทำการระเหย (evaporation) เพื่อนำตัวทำละลายออกไปด้วยเครื่อง evaporator และหลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

จากนั้นนำส่วนสกัดที่แห้งแล้วทั้งหมดไปละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) เพื่อเตรียมเป็นสารละลายตั้งต้น (stock solution) สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

#### 3.2 การทดสอบฤทธิ์ต่อการแข็งตัวของเลือด (hemostasis)<sup>(35-37)</sup> ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง

##### จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

จำนวนกลุ่มตัวอย่างคำนวณได้จากสูตร

$$n = [(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2] \sigma^2 / \Delta^2$$

n = จำนวนกลุ่มตัวอย่าง

Z = ค่าตัวแปรสุ่มที่มีการแจกแจงปกติมาตรฐาน

$\alpha$  = 0.05 (ค่าความเชื่อมั่นที่ 95%)

$\beta$  = 0.2 (ค่าอำนาจของการทดสอบ 80%)

$\Delta$  = ผลต่างของชุดควบคุมกับชุดทดสอบ ( $\mu_1 - \mu_2$ )

$\mu_1$  = ค่าเฉลี่ยของชุดควบคุมระบบ

$\mu_2$  = ค่าเฉลี่ยของชุดทดสอบ

$\sigma$  = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง** (หนังสือรับรองจริยธรรมงานวิจัย เลขที่ HCU-EC1430/2566)

อาสาสมัครสุขภาพดี ไม่มีปัญหาเลือดออกผิดปกติ ไม่ทานยาในกลุ่มของ aspirin และ NSAID โดยการชักประวัติ จำนวน 40 ราย เป็นการสุ่มแบบ non-probability sampling โดยใช้การเลือกตัวอย่างแบบเจาะจง (purposive หรือ judgmental sampling) โดยใช้สารกันเลือดแข็งตัวชนิด 3.2% sodium citrate การเตรียม platelet rich plasma (PRP) ปั่นด้วยความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที การเตรียม platelet poor plasma (PPP) ปั่นด้วยความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที

**วิธีการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกะเม็งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อกระบวนการแข็งตัวของเลือดด้วยวิธี modified whole blood clotting time (mWBCT) <sup>(22)</sup>**

เตรียมหลอดพลาสติกจำนวน 2 หลอด โดยหลอดที่ 1 ใส่ DMSO จำนวน 10  $\mu\text{L}$  (ชุดควบคุม) หลอดที่ 2 ใส่สารสกัดสารสกัดกะเม็งที่ละลายใน DMSO ความเข้มข้นสุดท้าย 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  จำนวน 10  $\mu\text{L}$  (ชุดทดสอบ) จากนั้นเจาะเลือดอาสาสมัครสุขภาพดี ไม่มีปัญหาเลือดออกผิดปกติ และเติมเลือดใส่ลงไปในแต่ละหลอดที่เตรียมไว้จำนวน 1 mL โดยทำการจับเวลาทันทีเมื่อเติมเลือดในหลอดที่ 1 หลังจากนั้นนำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) อุณหภูมิ 37°C เมื่อครบ 5 นาที ให้ยกหลอดขึ้นมาดูทุก ๆ 30 วินาที และจับเวลาต่อจนกว่าจะเกิดก้อนลิ่มเลือดที่สมบูรณ์ และหยุดเวลาเป็นเวลา mWBCT

**วิธีการทดสอบฤทธิ์ของสารต่อการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด ด้วยวิธี platelet aggregation**

นำ platelet rich plasma (PRP) ที่ปรับจำนวนเกล็ดเลือดให้ได้  $2.5 \times 10^8$  platelets/mL ด้วย platelet poor plasma (PPP) มา 450  $\mu\text{L}$  เติมสารสกัดแยกส่วนกะเม็งเข้มข้น 50 mg/mL ปริมาตร 4.5  $\mu\text{L}$  (สารสกัดแยกส่วนกะเม็งความเข้มข้นสุดท้าย 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) อุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 3 นาที หลังจากนั้นนำ PRP จำนวน 140  $\mu\text{L}$  เติมสารกระตุ้น (agonist) ชนิด Adenosine diphosphate (ADP) ความเข้มข้น 35 mM ปริมาตร 20  $\mu\text{L}$  (ADP ความเข้มข้นสุดท้าย 5 mM) ทดสอบ platelet aggregation ด้วยเครื่อง CS2500 (Siemens Sysmex®, Germany) โดยใช้หลักการ light transmission นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 660 nm โดยใช้ PPP เป็น base line เป็น 100% aggregation ค่าที่ได้เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (vehicle control) แสดงผลในรูปของ % aggregation

### วิธีการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือด ด้วยการทดสอบ Activated partial thromboplastin time (aPTT) และ prothrombin time (PT)

เจาะเลือดอาสาสมัครสุขภาพดี ไม่มีปัญหาเลือดออกผิดปกติ ไม่ทานยา aspirin หรือ กลุ่ม NSAID จำนวน 40 คน โดยใช้สารกันเลือดแข็งตัวชนิด 3.2% sodium citrate ปั่นแยกตัวอย่างเก็บเป็น platelet poor plasma (PPP) โดยใช้ความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 10 นาที

ทำการทดสอบการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (coagulation test) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ CA50 (Siemens Sysmex®, Germany) โดยนำ 50  $\mu\text{L}$  ของ normal sodium citrate plasma อุณหภูมิห้อง สารทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 1 นาที สำหรับการทดสอบ aPTT ให้เติม 50  $\mu\text{L}$  ของน้ำยา aPTT และ อุณหภูมิห้องนาน 3 นาที ที่ 37°C หลังจากนั้นเติม 50  $\mu\text{L}$  ของ 0.025 M  $\text{CaCl}_2$  และเริ่มจับเวลาของการเกิดก้อนไฟบริน สำหรับการทดสอบ PT เติม 100  $\mu\text{L}$  ของน้ำยา PT และเริ่มจับเวลาของการเกิดก้อนไฟบริน ในหน่วยวินาที ค่าที่ได้เปรียบเทียบกับชุดควบคุมระบบ (vehicle control)

### 3.3 การศึกษาฤทธิ์สมานแผลต่อเซลล์ผิวหนังด้วยวิธี in vitro scratch assay <sup>(38,39)</sup>

#### ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อเซลล์เคราติโนไซต์ของมนุษย์ (human keratinocyte) เพาะเลี้ยงชนิด HaCaT ด้วยวิธี MTT assay <sup>(40)</sup>

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อเซลล์เคราติโนไซต์ของมนุษย์ (human keratinocyte) เพาะเลี้ยงชนิด HaCaT โดยทำการเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่มี fetal bovine serum ความเข้มข้น 10% (10% FBS), 10 mM HEPES, 100 U/mL penicillin, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  streptomycin โดยทำการเพาะเลี้ยงในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37°C และความชื้นสัมพัทธ์ 85% ทำการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณเซลล์ให้ได้ปริมาณ 80% ของ confluence จากนั้นทำการปั่นล้างเซลล์ทั้งหมดด้วย sterile PBS ด้วยความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 3 ครั้ง ปริมาตรครั้งละ 10 mL ทำการนับจำนวนเซลล์ด้วย hemocytometer โดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\text{ปริมาณเซลล์} = N \times C_v \times C_d \text{ (cells}/\mu\text{L)}$$

โดยที่

N	คือ จำนวนเซลล์ที่นับได้
C <sub>v</sub>	คือ ค่า correction factor ของปริมาณ
C <sub>d</sub>	คือ ค่า correction factor ของ dilution

โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นของเซลล์เท่ากับ  $1 \times 10^4$  cells/well เลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ทำการเลี้ยงในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub> incubator) 5% ที่อุณหภูมิ 37°C และความชื้นสัมพัทธ์ 85% นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเตรียมสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นนำมาเติมลงในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงอยู่ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุมข้างต้น และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ dimethyl sulfoxide (DMSO) ลงไปในหลุมของชุดควบคุม (vehicle control) หรือหลุมที่ไม่มีสารทดสอบผสมอยู่ ให้

เท่ากับชุดทดสอบ โดยมีความเข้มข้นของ DMSO ไม่เกิน 2% และนำไปบ่มที่ตู้ซึ่งมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาเติม MTT dye ลงไปทุกหลุม ๆ ละ 15  $\mu$ L และนำไปบ่มต่อในตู้บ่ม ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการคว่ำ microtiter plate เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ และ MTT ส่วนเกินที่อยู่ในหลุมออกให้หมดและให้เหลือแต่เพียงผลึก formazan ที่ก้นหลุมเท่านั้น จากนั้นเติม DMSO ลงไปทุกหลุม ๆ ละ 150  $\mu$ L เพื่อทำการละลายผลึก formazan หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 nm นำค่าที่ได้มาทำการคำนวณหาร้อยละของการมีชีวิตรอดของเซลล์ (%cell viability) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\%Cell\ viability = (OD\ \text{ของหลุมทดสอบ} / OD\ \text{ของหลุม vehicle control}) \times 100$$

ทำการหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ % cell viability ในสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำมาสร้างเป็นเส้นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % cell viability กับปริมาณความเข้มข้นของสาร แล้วทำการคำนวณค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายไป 50% (inhibitory concentration หรือ IC<sub>50</sub>) เซลล์ผิวหนังต้นแบบเพาะเลี้ยงชนิด HaCaT เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เป็น serum-starved บ่มในตู้บ่มเพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จนเซลล์เจริญและเกาะเต็มบนผิวภาชนะที่เพาะเลี้ยง (monolayer) เปลี่ยนถ่ายอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ใช้ sterile 20  $\mu$ L pipette tip ซีดตรงกลางของแต่ละหลุม และล้างเซลล์ที่หลุดออกด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เป็น serum-starved และหลังจาก 3 ชั่วโมง เติมสารละลายตัวอย่างที่เตรียมทำละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) จากนั้นทำการเจือจางสารสกัดตัวอย่างด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด serum-starved และเติมลงในเซลล์ รูปภาพของการเคลื่อนที่ของเซลล์จะถูกบันทึกด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับในเวลา 0, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์จะวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Image J software

$$\text{Migration Index} = (\text{ความกว้างรอยแผลที่ปิด} / \text{ความกว้างเริ่มต้น}) \times 100\%$$

### 3.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ (Antimicrobial agent) รวมทั้งเชื้อจุลชีพตัวยาของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง<sup>(41-42)</sup>

**การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแฟคคัลเททีฟแอนแอโรบัส (Facultative anaerobic bacteria) และแบคทีเรียตัวยา**

1. เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 12 สายพันธุ์ แบ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate) และแบคทีเรียแกรมลบ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, ESBLs-producing *Escherichia coli* (clinical isolate), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ESBLs-producing strain), *K. pneumoniae* (CRE) (clinical isolate),

*Acinetobacter baumannii* (clinical isolate) และ *Pseudomonas aeruginosa* (clinical isolate)

2. นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion นำเชื้อที่จะทดสอบมาปรับปริมาณเชื้อให้เท่ากับ 0.5 McFarland standard ( $10^8$  CFU/mL) ด้วย NSS แล้วมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) วาง paper disk ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm ที่มีสารความเข้มข้น 512 mg/mL ปริมาตร 10  $\mu$ L ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการกระจายเชื้อไว้แล้ว โดยใช้ paper disk ที่มีตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 10  $\mu$ L บน เป็นตัวควบคุมผลลบ (negative control) และใช้ ciprofloxacin 5  $\mu$ g/disk และ chloramphenicol 30  $\mu$ g/disk เป็นตัวควบคุมผลบวก (positive control) นำไปบ่มที่  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น หน่วยเป็น mm ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน (three-independent experiment) และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (minimal inhibitory concentration: MIC) และฆ่าเชื้อ (minimal bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี broth dilution assay (2-fold serial dilution) โดยทำการทดสอบเฉพาะกับเชื้อที่เกิด inhibition zone ในการทดสอบ disk diffusion

4. การหาค่า MIC ทำโดยเจือจางสารด้วย Mueller Hinton broth (MHB) ให้มีความเข้มข้นลดลงแบบ 2 เท่า (two-fold serial dilution) ได้สารที่มีความเข้มข้น 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 และ 0.125 mg/mL ตามลำดับ เติมสารที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.5 mL ความเข้มข้นละ 1 หลอด จากนั้นเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบความเข้มข้น  $10^6$  CFU/mL ลงในหลอดทดลองทุกหลอด หลอดละ 0.5 mL เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  นาน 18-24 ชั่วโมง โดยในการทดสอบใช้หลอดทดลองที่มีเฉพาะเชื้อกับอาหาร MHB เป็น positive control และหลอดทดลองที่มีเฉพาะอาหาร MHB เพียงอย่างเดียวเป็น negative control ทำการอ่านผลค่า MIC โดยดูความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบกับ positive และ negative control โดยค่า MIC จะเท่ากับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (หลอดที่อาหารไม่ขุ่น)

5. การหาค่า MBC ทำโดยนำอาหารจากหลอดทดลองที่อาหารไม่ขุ่นทุกหลอดมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร tryptic soy agar (TSA) โดยใช้ปริมาตร 10  $\mu$ L จากนั้นนำไปบ่มที่  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยดูการเจริญของเชื้อบนอาหาร TSA และอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) (ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย หรือยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ร้อยละ 99.9)

## บทที่ 4 ผลการทดลอง

### 4.1 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากกะเม็งโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่าง ๆ

สารสกัดกะเม็งทั้ง 5 ชนิด มีร้อยละของผลผลิตสารสกัดกะเม็งที่แยกได้จากตัวทำละลายต่อปริมาณสารตั้งต้น (% Yield) แตกต่างกันไป เรียงลำดับความมีขั้วจากน้อยไปมากคือ ส่วนสกัดชั้นเฮกเซน ส่วนสกัดชั้นไดคลอโรมีเทน ส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท ส่วนสกัดชั้นบิวทานอล และสารสกัดชั้นเอทานอล โดยมี % Yield ดังนี้ 8.89, 37.27, 1.03, 9.78 และ 0.31 ตามลำดับ และสารสกัดมีลักษณะแตกต่างกัน (ตารางที่ 4.1)

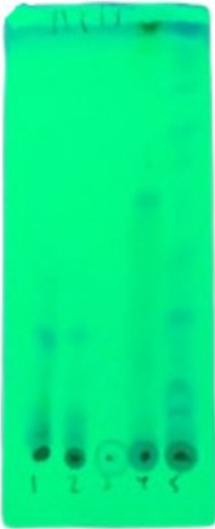
ตารางที่ 4.1 ลักษณะสารสกัดกะเม็งจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด และร้อยละของผลผลิตสารสกัดที่แยกได้จากตัวทำละลายต่อปริมาณสารตั้งต้น (% Yield)

สารสกัดชั้น	ลักษณะสารสกัดกะเม็ง	น้ำหนัก(g)		(% Yield)
		ก่อนสกัด	หลังสกัด	
เอทานอล (ethanol)	มีสีดำ เหนียว	9.0	0.0266	0.31
เฮกเซน (hexane)	มีสีน้ำตาล เป็นผง	9.0	0.8000	8.89
ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane)	มีสีดำ เหนียวหนืด	9.0	3.3540	37.27
เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate)	มีสีน้ำตาลเขียว เหนียว	9.0	0.0922	1.03
บิวทานอล (butanol)	มีสีน้ำตาลเขียว เป็นของแข็ง	9.0	0.8800	9.78

### พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย Thin layer chromatography (TLC)

สารสกัดกะเม็งจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิดได้นำมาเปรียบเทียบสารสำคัญโดยใช้โครมาโตกราฟีแบบผิวบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ ; 8:0.5 ทำการดีเวลอป (develop) 5 ครั้ง เพื่อให้เห็นการแยกของสารออกจากกันได้อย่างชัดเจน จากนั้นนำไปดูผ่าน UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm และนำไปทดสอบในน้ำยา คือ anisaldehyde- $\text{H}_2\text{SO}_4$  (รูปภาพที่ 4.1)

UV 254 nm

Anisaldehyde-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

- จุดที่ 1 กะเม็งชั้น Hexane
- จุดที่ 2 กะเม็งชั้น Dichloromethane
- จุดที่ 3 กะเม็งชั้น Ethyl acetate
- จุดที่ 4 กะเม็งชั้น Ethanol
- จุดที่ 5 กะเม็งชั้น Butanol

← จุด spot สาร

รูปภาพที่ 4.1 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์สารสกัดกะเม็งในชั้นต่าง ๆ ด้วยวิธี thin layer chromatography (TLC)

จุด spot 1 สารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้น เฮกเซน (hexane)

จุด spot 2 สารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้น ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane)

จุด spot 3 สารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้น เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate)

จุด spot 4 สารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้น เอทานอล (ethanol)

จุด spot 5 สารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้น บิวทานอล (butanol)

#### 4.2 การทดสอบฤทธิ์ต่อการแข็งตัวของเลือด (hemostasis) ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง

##### ฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อกระบวนการแข็งตัวของเลือดด้วยวิธี modified whole blood clotting time (mWBCT)

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดก้อนลิ่มเลือดสมบูรณ์ โดยวิธี mWBCT ซึ่งทำการทดสอบบุคคลหรือกลุ่มตัวอย่างที่มีสุขภาพดี ที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้าคัดออก จำนวน 40 คน ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบกะเม็งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ได้เร็วกว่าชุดควบคุมระบบ ในระยะเวลา  $6.10 \pm 0.56$  นาที รองลงมา คือ สารสกัดแยกส่วนชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ เอทิลอะซิเตต ใช้เวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ เท่ากับ  $6.45 \pm 0.54$  นาที  $7.00 \pm 0.62$  นาที และ  $7.22 \pm 0.74$  นาที ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) ซึ่งมีความแตกต่างจากชุดควบคุมระบบ ( $7.78 \pm 0.95$  นาที) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่สกัดแยกส่วนกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายบิวทานอล ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ได้เร็วกว่าชุดควบคุมระบบ (1% DMSO) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดก้อนลิ่มเลือดสมบูรณ์ โดยวิธี modified WBCT (mWBCT)

ตัวอย่างที่	เวลาที่เกิดก้อนลิ่มเลือดสมบูรณ์ (นาที) ด้วยวิธี modified WBCT					
	ชุดควบคุม (1%DMSO)	95% Ethanol (500 µg/mL)	Hexane (500 µg/mL)	Dichloromethane (500 µg/mL)	Ethyl acetate (500 µg/mL)	Butanol (500 µg/mL)
1	8.00	6.30	7.00	8.00	8.00	9.30
2	5.30	5.00	6.00	5.00	5.00	5.00
3	7.30	6.00	6.30	7.00	7.00	8.00
4	8.30	6.30	7.30	7.00	7.30	7.30
5	10.30	6.00	7.00	7.30	7.30	8.00
6	7.30	6.30	6.30	7.00	7.30	8.30
7	7.30	6.30	7.00	7.00	7.30	7.30
8	8.30	6.30	7.00	8.00	7.30	8.30
9	7.30	6.30	6.00	6.30	6.30	7.00
10	8.30	5.30	6.00	6.30	7.30	8.30
11	7.30	7.00	7.00	7.00	6.30	6.30
12	7.30	6.00	6.30	7.30	8.00	7.30
13	9.30	5.30	7.30	7.00	7.30	8.00
14	7.30	6.30	7.00	7.30	7.30	8.00
15	9.00	6.00	6.30	7.30	9.00	8.00

ตัวอย่างที่	เวลาที่เกิดก้อนลิมโฟตสมบรูณ์ (นาทื) ด้วยวิธี modified WBCT					
	ชุดควบคุม (1%DMSO)	95% Ethanol (500 µg/mL)	Hexane (500 µg/mL)	Dichlorome thane (500 µg/mL)	Ethyl acetate (500 µg/mL)	Butanol (500 µg/mL)
16	8.30	6.30	7.00	8.30	8.00	8.00
17	8.00	6.00	6.30	7.30	7.00	7.30
18	8.30	7.30	7.00	7.30	7.00	8.00
19	7.30	7.00	6.30	7.30	7.00	8.00
20	8.00	6.00	6.00	7.00	7.30	8.00
21	8.00	6.00	6.00	7.00	7.00	7.30
22	6.30	5.00	5.30	6.30	6.30	6.30
23	8.00	7.00	6.30	7.00	7.00	7.30
24	7.30	6.00	7.00	7.00	7.30	7.30
25	6.30	5.30	5.30	6.00	6.30	6.30
26	8.00	6.00	6.30	6.30	7.00	7.00
27	7.30	6.00	6.00	7.00	7.30	7.30
28	7.30	6.00	6.00	7.00	7.30	7.30
29	8.00	7.00	7.30	7.00	8.30	8.30
30	7.30	5.00	6.00	7.00	7.00	7.30
31	8.00	6.30	6.30	8.00	9.30	9.00
32	7.30	5.30	6.00	6.30	7.00	6.30
33	7.30	6.00	6.00	7.00	7.00	7.00
34	9.00	6.30	7.30	8.00	8.30	8.30
35	8.00	6.30	7.00	7.00	7.00	7.30
36	8.30	7.00	7.00	7.30	7.30	9.00
37	7.30	6.00	6.30	7.30	7.30	7.30
38	10.30	6.00	6.00	7.00	7.30	7.30
39	7.00	6.00	6.30	6.30	6.30	7.00
40	7.00	6.00	6.00	6.30	7.00	7.00
Mean	7.78	6.10*	6.45*	7.00*	7.22*	7.52
SD	0.95	0.56	0.54	0.62	0.74	0.83
SEM	0.15	0.09	0.09	0.10	0.12	0.13

\* แสดงความแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุด

ควบคุม

### การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด ด้วยการทดสอบ platelet aggregation

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดก้อนลิ่มเลือดสมบูรณ์ โดยวิธี modified WBCT พบว่าสารสกัดหยาบกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล เฮกเซน และไดคลอโรโรมีเทน สามารถเหนี่ยวนำทำให้เกิดก้อนลิ่มเลือดสมบูรณ์ได้เร็วกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาถึงกลไกของสารสกัดหยาบกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล เฮกเซน และไดคลอโรโรมีเทน ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำทำให้เกิดก้อนลิ่มเลือดสมบูรณ์ได้เร็วกว่าชุดควบคุมนั้น เกี่ยวข้องกับการกลไกการแข็งตัวของเลือดทางด้านปฐมภูมิ (primary hemostasis) โดยการทำให้ platelet aggregation test หรือด้านทุติยภูมิ (secondary hemostasis) โดยการทดสอบ coagulation test

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิด 95% เอทานอล เฮกเซน และไดคลอโรโรมีเทน ต่อการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด ซึ่งเป็นกลไกการแข็งตัวของเลือดทางด้านปฐมภูมิ ด้วยวิธี platelet aggregation พบว่าสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่สกัดด้วยเฮกเซน และไดคลอโรโรมีเทนสามารถกระตุ้นเกล็ดเลือดให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) ได้เร็วกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่สกัดด้วยเฮกเซน และไดคลอโรโรมีเทน มีค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เท่ากับ  $75.82\% \pm 2.23$  และ  $75.54\% \pm 2.22$  ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม มีค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เท่ากับ  $71.72\% \pm 1.53$  ดังตารางที่ 4.3

**ตารางที่ 4.3** ฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด ด้วยการทดสอบ platelet aggregation

ตัวอย่างทดสอบ (N=5)	% platelet aggregation			
	ชุดควบคุม (1% DMSO)	95% Ethanol (500 µg/mL)	Hexane (500 µg/mL)	Dichloromethane (500 µg/mL)
ตัวอย่างทดสอบ 01	71.2	66.5	73.1	75.1
ตัวอย่างทดสอบ 02	74.1	63.0	74.2	78.7
ตัวอย่างทดสอบ 03	72.3	55.4	78.6	72.5
ตัวอย่างทดสอบ 04	70.7	44.9	75.9	76.1
ตัวอย่างทดสอบ 05	70.3	43.8	77.3	75.3
<b>Mean</b>	<b>71.72</b>	<b>54.72</b>	<b>75.82*</b>	<b>75.54*</b>
<b>SD</b>	<b>1.53</b>	<b>10.29</b>	<b>2.23</b>	<b>2.22</b>
<b>SEM</b>	<b>0.68</b>	<b>4.60</b>	<b>0.99</b>	<b>0.99</b>

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

### การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือด ด้วยการทดสอบ Activated partial thromboplastin time (aPTT) และ prothrombin time (PT)

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อระบบการแข็งตัวของเลือดด้าน extrinsic pathway โดยวิธี Prothrombin Time (PT) ทำการทดสอบบุคคลหรือกลุ่มตัวอย่างที่มีสุขภาพดี ที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้าคัดออก จำนวน 40 คน พบว่า สารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้นไดคลอโรมีเทนสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดก้อนไฟบรินได้เร็วกว่าชุดควบคุมระบบ ในระยะเวลา  $10.18 \pm 0.89$  วินาที รองลงมา คือ สารสกัดแยกส่วน ชั้นเฮกเซน และสารสกัดหยาบกะเม็งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ใช้เวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดก้อนไฟบรินเท่ากับ  $10.35 \pm 0.89$  นาที และ  $10.71 \pm 0.89$  วินาที ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4 และ 4.6) ซึ่งมีความแตกต่างจากชุดควบคุมระบบ ( $11.45 \pm 0.92$  วินาที) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อระบบการแข็งตัวของเลือดด้าน intrinsic pathway โดยวิธี activated partial thromboplastin time (aPTT) ทำการทดสอบบุคคลหรือกลุ่มตัวอย่างที่มีสุขภาพดี ที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้าคัดออก จำนวน 40 คน พบว่า สารสกัดหยาบกะเม็งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล สารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้นเฮกเซน และชั้นไดคลอโรมีเทน ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดก้อนไฟบรินได้เร็วกว่าชุดควบคุมระบบ (ตารางที่ 4.4 และ 4.6) อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

**ตารางที่ 4.4** ฤทธิ์ของสารสกัดกะเม็งแยกส่วนต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในด้าน extrinsic pathway โดยการตรวจ prothrombin time (PT)

ตัวอย่างที่	เวลาในการเกิดก้อนไฟบริน (วินาที) ด้วยวิธี PT			
	ชุดควบคุม (1%DMSO)	95% Ethanol (500 µg/mL)	Hexane (500 µg/mL)	Dichloromethane (500 µg/mL)
1	12.5	11.3	11.6	11.1
2	10.8	11.1	10.2	10.5
3	11.8	10.9	10.1	10.8
4	12.0	11.1	10.0	10.1
5	11.3	10.6	11.6	10.2
6	10.9	10.1	9.3	9.4
7	10.6	10.2	9.7	9.8
8	10.7	10.2	9.6	9.6
9	10.8	10.1	10.1	9.4
10	11.8	8.7	10.2	10.2
11	13.1	11.8	11.0	12.0
12	12.7	12.0	12.2	11.4

ตัวอย่างที่	เวลาในการเกิดก้อนไขมัน (วินาที) ด้วยวิธี PT			
	ชุดควบคุม (1%DMSO)	95% Ethanol (500 µg/mL)	Hexane (500 µg/mL)	Dichloromethane (500 µg/mL)
13	11.0	10.9	10.4	10.3
14	11.4	10.8	11.0	10.3
15	10.5	10.4	10.6	9.3
16	12.0	10.9	10.5	10.1
17	10.5	9.8	9.7	10.7
18	11.4	10.5	10.2	9.6
19	10.4	9.5	8.9	8.9
20	11.0	10.5	10.2	10.1
21	10.9	10.0	9.6	9.7
22	12.3	12.1	11.7	8.4
23	11.6	10.8	10.2	10.5
24	10.7	9.9	9.7	9.2
25	11.3	10.0	9.9	9.7
26	12.9	12.5	12.1	12.2
27	10.3	10.0	9.8	9.7
28	12.9	12.2	11.9	11.6
29	13.4	12.5	10.5	11.8
30	11.3	10.3	10.1	9.8
31	11.9	10.4	10.5	10.4
32	12.3	12.4	11.7	10.9
33	12.8	11.4	10.7	10.4
34	12.4	11.6	11.2	11.3
35	10.7	9.8	9.5	9.1
36	9.7	10.5	10.7	10.5
37	11.3	10.4	9.8	10.4
38	11.3	10.5	10.1	9.0
39	10.1	9.6	9.0	9.3
40	10.7	10.1	8.4	9.3
<b>Mean</b>	<b>11.45</b>	<b>10.71*</b>	<b>10.35*</b>	<b>10.18*</b>
<b>SD</b>	<b>0.92</b>	<b>0.89</b>	<b>0.89</b>	<b>0.89</b>
<b>SEM</b>	<b>0.15</b>	<b>0.14</b>	<b>0.14</b>	<b>0.14</b>

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น 95 % ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ตารางที่ 4.5 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือดด้าน Intrinsic pathway โดยการตรวจ activated partial thromboplastin time (aPTT)

ตัวอย่างที่	เวลาในการเกิดก้อนไฟบริน (นาที) ด้วยวิธี aPTT			
	ชุดควบคุม (1%DMSO)	Ethanol (500 µg/mL)	Hexane (500 µg/mL)	Dichloromethane (500 µg/mL)
1	27.5	33.5	28.1	28.6
2	29.5	30.9	30.0	29.8
3	26.6	29.1	26.1	28.4
4	29.5	29.7	30.3	31.2
5	26.4	27.6	27.2	26.8
6	28.4	27.3	28.6	24.9
7	30.3	31.4	31.4	30.7
8	26.3	28.3	28.4	27.4
9	28.1	29.6	21.4	29.2
10	27.0	28.4	27.7	28.0
11	31.1	33.7	31.2	32.2
12	31.1	34.0	34.5	33.1
13	28.5	30.6	28.4	27.4
14	29.5	30.1	29.9	30.2
15	26.3	23.8	26.1	26.1
16	30.4	31.6	30.2	31.5
17	28.7	31.5	30.1	31.3
18	32.7	33.7	31.5	28.5
19	32.8	36.0	27.9	33.0
20	28.0	29.5	29.2	29.2
21	29.1	29.9	29.4	30.0
22	32.6	37.5	35.7	38.3
23	33.4	34.7	35.1	30.7
24	29.7	30.7	31.7	29.2
25	30.9	28.9	30.9	31.2
26	33.8	33.1	35.1	36.6
27	27.8	28.6	26.2	27.8
28	28.7	25.8	29.8	29.7
29	29.7	27.6	26.7	29.7
30	27.9	27.5	27.3	23.2

ตัวอย่างที่	เวลาในการเกิดก้อนไฟบริน (นาที) ด้วยวิธี aPTT			
	ชุดควบคุม (1%DMSO)	Ethanol (500 µg/mL)	Hexane (500 µg/mL)	Dichloromethane (500 µg/mL)
31	31.6	30.7	30.6	33.0
32	28.1	27.2	29.2	30.1
33	30.8	28.9	27.5	28.7
34	30.9	29.4	32.7	24.9
35	29.1	31.8	29.5	30.1
36	28.9	29.1	28.6	28.2
37	26.6	28.2	23.2	27.8
38	28.0	28.4	28.2	28.3
39	25.0	27.4	27.0	26.8
40	23.0	27.3	28.0	34.0
Mean	29.11	30.01	29.27	29.65
SD	2.34	2.83	2.94	2.96
SEM	0.37	0.45	0.46	0.47

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น 95 % ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

#### ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ของสารสกัดกะเม็งแยกส่วนต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือด

การทดสอบ	ผลการทดสอบ (วินาที) (mean ± SD)			
	Prothrombin time (PT)	<i>p</i> value	Activated partial thromboplastin time (aPTT)	<i>p</i> value
ชุดควบคุม (vehicle control; VC)	11.45 ± 0.92	-	29.11 ± 2.34	-
ชุดทดสอบ สารสกัดหยาบ Ethanol (500 µg/mL)	10.71* ± 0.89	$p < 0.05$	30.01 ± 2.83	$p > 0.05$
สารสกัดแยกส่วน Hexane (500 µg/mL)	10.35* ± 0.89	$p < 0.05$	29.27 ± 2.94	$p > 0.05$
สารสกัดแยกส่วน Dichloromethane (500 µg/mL)	10.81* ± 0.89	$p < 0.05$	29.65 ± 2.96	$p > 0.05$

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น 95 % ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

### 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์เสริมสร้างเนื้อเยื่อ (สมานแผล) ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง

#### การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง

HaCaT cell line เป็นเซลล์ผิวหนัง (keratinocyte) ต้นแบบ ที่นำมาทดสอบร่วมกับสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่ความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625  $\mu\text{g/mL}$  เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดหยาบกะเม็งชั้น 95% เอทานอล มีแนวโน้มที่จะแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $323.2 \pm 5.29 \mu\text{g/mL}$  ส่วนสารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และ บิวทานอล ไม่มีความเป็นพิษต่อ HaCaT cell line (ตารางที่ 4.7)

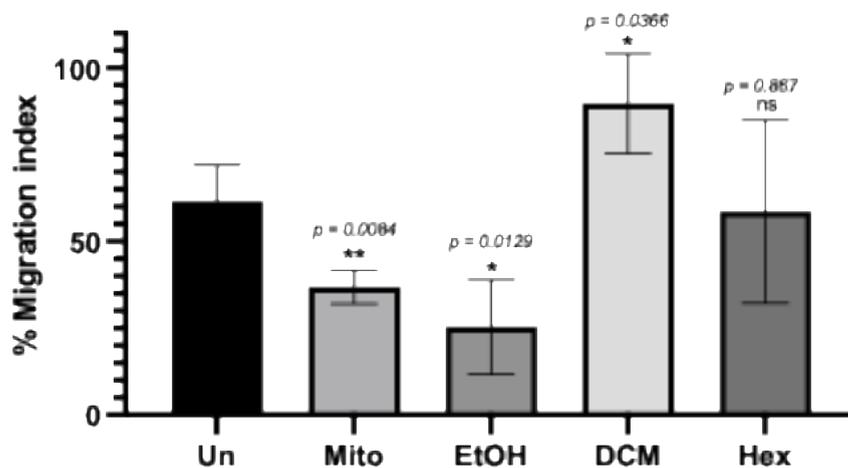
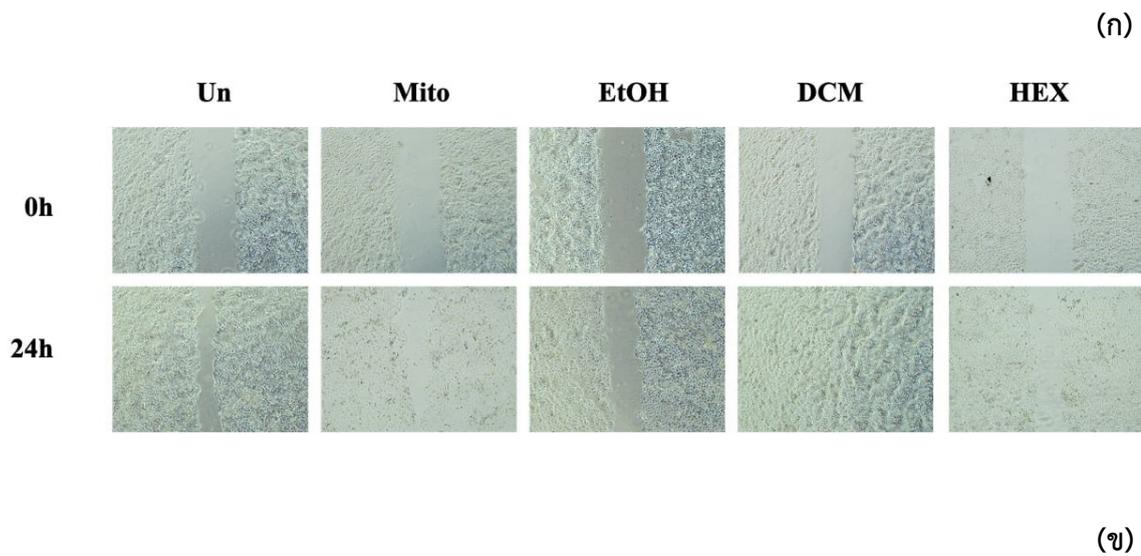
#### ตารางที่ 4.7 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อเซลล์ผิวหนัง (keratinocyte) ชนิด

HaCaT cell line

สารสกัดแยกส่วนกะเม็ง	ความเข้มข้นที่มีความเป็นพิษ ( $IC_{50}$ ) ต่อ HaCaT cell line
95% เอทานอล (95% ethanol)	$323.2 \pm 5.29 \mu\text{g/mL}$
เฮกเซน (hexane)	$>500 \mu\text{g/mL}$
ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane)	$>500 \mu\text{g/mL}$
เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate)	$>500 \mu\text{g/mL}$
บิวทานอล (butanol)	$>500 \mu\text{g/mL}$

#### ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการสมานแผล (wound healing)

ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบแยกส่วนกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ผิวหนัง (keratinocyte) ต้นแบบชนิด HaCaT cell line ภายใต้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าในสภาวะปกติ เซลล์สามารถเคลื่อนที่ได้ประมาณ 65% ขณะที่กลุ่มที่ได้รับ Mitomycin C ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ พบว่าอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.0084$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์มีความสัมพันธ์กับการแบ่งตัวของเซลล์โดยตรง เมื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ เอทานอล (polarity index  $\approx 4.3$ ), ไดคลอโรมีเทน หรือ DCM (polarity index  $\approx 3.1$ ) และเฮกเซน (polarity index  $\approx 0.1$ ) พบว่าตัวทำละลายที่ใช้มีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดอย่างชัดเจน โดยที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/mL}$  ของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าเซลล์ HaCaT มีการเคลื่อนที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และในส่วนสารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้นไดคลอโรมีเทน สามารถกระตุ้นให้ HaCaT แบ่งตัวเพิ่มขึ้นได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปภาพที่ 4.2)



รูปภาพที่ 4.2ฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการสมานแผล (wound healing) (ก) พื้นที่รอยแผลของ HaCaT cell line เมื่อทดสอบร่วมกับสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง นาน 24 ชั่วโมง (ข) กราฟของการวิเคราะห์ผลฤทธิ์ของสารสกัดแยกส่วนกะเม็งต่อการสมานแผล

\*\*\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น 95 % ( $p < 0.01$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

\*\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น 99 % ( $p < 0.01$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Un คือ ชุดควบคุมเชิงลบ (ไม่เติมสารสกัด)

Mito คือ ชุดควบคุมเชิงบวก (เติมสาร mitomycin C) ยับยั้งการเติบโตของเซลล์

EtOH คือ ชุดทดสอบที่เติมสารสกัดกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล

DCM คือ ชุดทดสอบที่เติมสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน

Hex คือ ชุดทดสอบที่เติมสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

#### 4.4 ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรื้อยต่อสารต้านจุลชีพ

เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย (Clinical isolate) จำนวน 10 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อ MRSA 1 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* MRSA) ให้ผลไวต่อยา Tetracycline, Chloramphenicol, Linezolid มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 31, 20, 30 mm ตามลำดับ และให้ผลไวต่อยา Gentamicin, Oxacillin, Ciprofloxacin, Erythromycin, Clindamycin, Penicillin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 11, 18, 8, 6, 6, 12 mm ตามลำดับ เชื้อ ESBL 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* 0449 ให้ผลไวต่อยา Tetracyclin, Ciprofloxacin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 29, 29 mm ตามลำดับ และไวต่อยา Penicillin, Ampicillin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6, 6 mm ตามลำดับ *Escherichia coli* 0529 ไวต่อยา Ampicillin, Tetracyclin, Ciprofloxacin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6, 7, 6 mm ตามลำดับ *Escherichia coli* 0484 ESBL ampc ไวต่อยา Tetracyclin, Vancomycin, Penicillin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6, 6, 6 mm ตามลำดับ *Klebsiella pneumoniae* 0486 ไวต่อยา Penicillin, Vancomycin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6, 6 mm ตามลำดับ *Klebsiella pneumoniae* 0509 ไวต่อยา Ampicillin, Ciprofloxacin, Penicillin, Tetracyclin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6, 6, 6, 6 mm ตามลำดับ *Klebsiella pneumoniae* 0567 ให้ผลไวต่อยา Chloramphenicol มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 29 mm ให้ผลไวปานกลางต่อยา Ciprofloxacin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 22 mm ไวต่อยา Penicillin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6 mm เชื้อ CRE 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Klebsiella pneumoniae* CRE ไวต่อยา Vancomycin, Ampicillin, Chloramphenicol มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6, 6, 6 mm ตามลำดับ เชื้อ MDR 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Acinetobacter baumannii* ไวต่อยา Ciprofloxacin, Vancomycin, Penicillin, Ceftazidime มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6, 6, 6, 6 mm ตามลำดับ *Pseudomonas aeruginosa* ไวต่อยา Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Amikacin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 6, 6, 6 mm ตามลำดับ เชื้อสายพันธุ์มาตรฐานจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ให้ผลไวต่อยา Ciprofloxacin, Gentamicin, Tetracyclin, Oxacillin, Chloramphenicol, Erythromycin, Clindamycin, Linezolid มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 27, 25, 36, 28, 30, 21, 30, 35 mm ตามลำดับ เชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ให้ผลไวต่อยา Ciprofloxacin, Gentamicin, Tetracyclin, Cefoxitin, Chloramphenicol, Erythromycin, Clindamycin, Linezolid มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 26, 25, 31, 27, 26, 28, 28, 31 mm ตามลำดับ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ให้ผลไวต่อยา Gentamicin, Chloramphenicol, Erythromycin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 24, 23, 25 mm ตามลำดับ และให้ผลไวในระดับปานกลางต่อยา Tetracyclin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 15 mm *Escherichia coli* ATCC 25922 ให้ผลไวต่อยา Imipenem, Amikacin, Ciprofloxacin, Tetracyclin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 29, 26, 38, 27 mm ตามลำดับ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ให้ผลไวต่อยา Imipenem มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 29 mm และให้ผลไวในระดับปานกลางต่อยา Ciprofloxacin มีขนาดเส้น

ผ่านศูนย์กลางของโซนใส 25 mm *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ให้ผลไวต่อยา Imipenem, Amikacin, Ciprofloxacin, Gentamicin มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 24, 21, 33, 31 mm ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8)

#### ฤทธิ์ของสารสกัดกะเม็งต่อการต้านเชื้อแบคทีเรีย

เมื่อนำสารสกัดกะเม็งมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าสารสกัดกะเม็งจาก Ethanol มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดี้อย่า *Escherichia coli* 0449, *Escherichia coli* 0484 ESBL ampc และสายพันธุ์มาตรฐาน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ ให้โซนใสขนาด 8.01, 10.51, 10.01, 10.03, 9.02 mm ตามลำดับ สารสกัดกะเม็งจาก Hexane มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดี้อย่า *Escherichia coli* 0449, *Klebsiella pneumoniae* 0486 และสายพันธุ์มาตรฐาน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ได้ ให้โซนใสขนาด 9.01, 8.51, 9.03, 10.53 mm ตามลำดับ สารสกัดกะเม็งจาก Dichloromethane มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดี้อย่า *Escherichia coli* 0449, *Klebsiella pneumoniae* 0486, *Klebsiella pneumoniae* CRE และสายพันธุ์มาตรฐาน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ได้ ให้โซนใสขนาด 8.01, 10.52, 8.52, 8.01 mm ตามลำดับ สารสกัดกะเม็งจาก Ethyl acetate มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดี้อย่า *Escherichia coli* 0449, *Klebsiella pneumoniae* 0567 และสายพันธุ์มาตรฐาน *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 ได้ ให้โซนใสขนาด 8.51, 8.02, 10.02, 9.02 mm ตามลำดับ สารสกัดกะเม็งจาก Butanol มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 ได้ ให้โซนใสขนาด 8.51, 11.53, 8.52 mm ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดกะเม็งจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดี้อย่า *Acinetobacter baumannii* MDR, *Pseudomonas aeruginosa* MDR และสายพันธุ์มาตรฐาน *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ได้เลย ส่วนตัวควบคุมบวกที่ใช้ในการศึกษานี้คือ Ciprofloxacin 10 µg ให้โซนใสขนาด 28.52 mm และตัวควบคุมลบคือ 1%DMSO ไม่ให้โซนใส (ตารางที่ 4.9)

ทั้งนี้ในการทดสอบนี้ไม่ได้ทำการศึกษาหาค่า MIC และ MBC ต่อเนื่องจากโซนที่เกิดจากการทดสอบด้วยสารสกัดกะเม็งเป็นโซนขนาดเล็ก ไม่แตกต่างจากยาด้านจุลชีพมาตรฐาน

ตารางที่ 4.8 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (Inhibition zone) และการแปลผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ

เชื้อ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm) / แปลผลการทดสอบความไวของเชื้อ												
	IMP	AK	CIP	GEN	TE	FOX	CHL	ERY	CLI	LZD	P	VA	AMP
<b>แบคทีเรียสายพันธุ์ดื้อยา</b>													
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	ND	ND	8/R	11/R	31/S	18/R	20/S	6/R	6/R	30/S	ND	ND	ND
<i>Escherichia coli</i> 0449	ND	ND	29/S	ND	29/S	ND	ND	ND	ND	ND	6/R	ND	6/R
<i>Escherichia coli</i> 0529	ND	ND	6/R	ND	7/R	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6/R
<i>Escherichia coli</i> 0484 ESBL ampc	ND	ND	ND	ND	6/R	ND	ND	ND	ND	ND	6/R	6/R	ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 0486	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6/R	6/R	ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 0509	ND	ND	6/R	ND	6/R	ND	ND	ND	ND	ND	6/R	ND	6/R
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 0567	ND	ND	22/I	ND	ND	ND	ND	29/S	ND	ND	6/R	ND	ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CRE	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6/R	ND	ND	6/R	6/R
<i>Acinetobacter baumannii</i> MDR	ND	ND	6/R	ND	6/R	6/R	ND						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	ND	6/R	6/R	ND	ND	ND	ND	ND	6/R	ND	ND	ND	ND
<b>แบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน</b>													
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	ND	ND	27/S	25/S	36/S	28/S	30/S	21/S	30/S	35/S	ND	ND	ND
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	ND	ND	26/S	25/S	31/S	27/S	26/S	28/S	28/S	31/S	ND	ND	ND
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	ND	ND	ND	24/S	15/I	ND	23/S	25/S	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	29/S	26/S	38/S	ND	27/S	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	29/S	27/S	13/R	24/I	6/R	28/S	9/R	ND	21/S	ND	ND	ND	ND
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	24/S	21/S	33/S	31/S	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ ND: Not done, IMP: Imipenem 10 µg, AK : Amikacin 30 µg, CIP: Ciprofloxacin 10 µg, GEN: Gentamicin 10 µg, T: Tetracyclin 30 µg, FOX: Cefoxitin 30 µg, CHL: Chloramphenicol 30 µg, ERY: Erythromycin 15 µg, CLI: Clindamycin 2 µg, LZD: Linezolid 30 µg, VA: Vancomycin 30 µg, P: Penicillin 10 units, AMP: Ampicillin 10 µg

**ตารางที่ 4.9** ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดื้อยาและสายพันธุ์มาตรฐานของสารสกัดกะเม็งที่ความเข้มข้น 20 mg/mL จากตัวทำละลาย 5 ชนิด (Ethanol, Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Butanol)

เชื้อ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดกะเม็ง (mm)				
	Ethanol	Hexane	Dichloromethane	Ethyl acetate	Butanol
<b>แบคทีเรียสายพันธุ์ดื้อยา</b>					
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	6.01	6.01	7.01	6.51	7.51
<i>Escherichia coli</i> 0449	8.01	9.01	8.01	8.51	7.52
<i>Escherichia coli</i> 0529	6.01	6.01	6.01	6.02	6.01
<i>Escherichia coli</i> 0484 ESBL ampc	10.51	6.51	6.01	7.51	7.51
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 0486	6.01	8.51	10.52	7.51	6.01
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 0509	6.01	6.01	6.01	6.51	7.52
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 0567	6.01	7.51	6.01	8.02	6.01
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CRE	6.01	6.01	8.52	6.01	6.01
<i>Acinetobacter baumannii</i> MDR	6.01	6.01	6.01	6.01	6.01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	6.01	6.01	6.01	6.01	6.01
<b>แบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน</b>					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	10.01	9.03	8.01	6.51	8.51
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10.03	10.53	7.51	11.02	11.53
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	6.01	6.01	6.01	6.01	6.01
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9.02	7.51	7.01	9.02	8.52
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	6.01	7.51	7.01	7.51	6.01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6.01	6.01	6.01	6.01	6.01

## บทที่ 5

### สรุปอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

การวิจัยนี้เป็นการสกัดสารโดยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ที่มีความมีขั้วต่างกัน คือ เอทานอล (ethanol มี polarity index  $\approx 4.6$ ), เฮกเซน (hexane มี polarity index  $\approx 0.1$ ), ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane มี polarity index  $\approx 3.1$ ), เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate มี polarity index  $\approx 4.4$ ) และ บิวทานอล (butanol มี polarity index  $\approx 4.0$ ) จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย Thin layer chromatography (TLC) พบว่าผลของการตรวจสอบสารสกัดกะเม็งโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และความสัมพันธ์กับสารสำคัญที่มีรายงาน การตรวจสอบสารสกัดจากพืชสมุนไพรกะเม็ง (*Eclipta prostrata*) ด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) โดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิด ได้แก่ เอทานอล เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และบิวทานอล พบว่า ลักษณะของแถบสี (spot) ที่ปรากฏบนแผ่น TLC แตกต่างกันตามความมีขั้วของตัวทำละลายที่ใช้สกัด ซึ่งสามารถสรุปความสัมพันธ์กับกลุ่มสารสำคัญที่เคยมีรายงานในพืชชนิดนี้ได้ดังนี้ สารสกัดชั้นเอทานอล มีความเข้มข้นและจำนวนแถบสีทั้งสารที่มีขั้วต่ำจนถึงขั้วสูง มีมากในสารที่มีขั้วสูง เช่น flavonoid glycosides (เช่น rutin, luteolin-7-O-glucoside) และ alkaloids สอดคล้องกับรายงานหลายฉบับที่ระบุว่า เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงในการดึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากกะเม็ง<sup>(43,44)</sup> ส่วนสกัดเฮกเซนพบสารสำคัญเพียงแถบจาง 1-2 แถบบนแผ่น TLC สะท้อนให้เห็นถึงปริมาณสารที่มีขั้วต่ำซึ่งสกัดออกมาได้เพียงเล็กน้อย สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่ากะเม็งมีสารกลุ่ม sterols และ triterpenoids เช่น  $\beta$ -sitosterol, oleanolic acid และ ursolic acid ซึ่งเป็นสารไม่มีขั้วที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายกลุ่ม non-polar เช่น เฮกเซน<sup>(45,46)</sup> ส่วนสกัดชั้นสกัดด้วย Dichloromethane ให้แถบสีเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเฮกเซน แสดงถึงการสกัดสารที่มีคุณสมบัติกึ่งมีขั้ว ซึ่งอาจรวมถึง coumestans (เช่น wedelolactone) และ alkaloids บางชนิดที่มีการรายงานว่าสามารถแยกออกได้ดีในตัวทำละลายประเภท halogenated solvent อย่างไดคลอโรมีเทน<sup>(43,47)</sup> ส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิเตต พบแถบสีที่ชัดเจนและสารจำนวนมากขึ้นบนแผ่น TLC บ่งชี้ถึงปริมาณสารกลุ่ม flavonoids และ coumestans ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า เช่น การแยกสาร luteolin และ wedelolactone จากชั้นเอทิลอะซิเตต ที่ให้ผลการยับยั้งอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอักเสบเด่นชัด<sup>(47,48)</sup> ชั้นสกัดด้วยบิวทานอลให้แถบสีที่หลากหลายและชัดเจนที่สุดในกลุ่มตัวทำละลายทั้งหมด โดยเฉพาะสารที่มีความมีขั้วสูง เช่น glycosides และ saponins ซึ่งมักมีน้ำหนักโมเลกุลสูงและละลายในตัวทำละลายกลุ่ม *n*-butanol ได้ดี การศึกษาของ Liu *et al.* และ Timalsina *et al.*<sup>(43,47)</sup>

นำสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันมาทดสอบการศึกษาฤทธิ์ต่อการแข็งตัวของเลือด ด้วยวิธี modified Whole Blood Clotting Time (mWBCT) และการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดทางด้าน extrinsic pathway โดยวิธี prothrombin time (PT) และการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดทางด้าน intrinsic pathway ด้วยวิธี activated partial thromboplastin time (aPTT) ในกลุ่มบุคคลหรือกลุ่มตัวอย่างที่มีสุขภาพดีที่ไม่มีประวัติรับประทานยาต้านเกล็ดเลือด (antiplatelet drug) ยาต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulants) และประวัติครอบครัวไม่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคเลือด ที่เกี่ยวกับการแข็งตัว

ของเลือด หรือเลือดไหลง่ายหยุดยาก ผลปรากฏว่าสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่สกัดด้วย 95% เอทานอลสามารถเหนี่ยวนำทำให้เกิดลิ้มเลือดสมบูรณ์ได้เร็วกว่าชุดควบคุมระบบ (1% DMSO; 7.78 นาที) ในระยะเวลา  $6.10 \pm 0.56$  นาที รองลงมา คือ ชั้นเฮกเซน ได้เท่ากับ  $6.45 \pm 0.54$  นาที ชั้นไดคลอโรมีเทน เท่ากับ  $7.00 \pm 0.62$  นาที ชั้นเอทิลอะซิเตต เท่ากับ  $7.22 \pm 0.74$  นาที ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมระบบพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดแยกส่วนกะเม็งมีฤทธิ์ในการกระตุ้นให้เกิดลิ้มเลือดสมบูรณ์ได้เร็วกว่าชุดควบคุมคิดเป็น 1.30 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานว่าสารสกัดกะเม็ง สาบเสือ ใบบัวบก และลูกเบญจกานี สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดลิ้มเลือดสมบูรณ์ได้เร็วกว่าชุดควบคุมระบบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )<sup>(22)</sup>

ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์เยื่อบุผิวหนึ่งชนิด HaCaT ภายใต้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ในสภาวะปกติ เซลล์สามารถเคลื่อนที่ได้ประมาณ 65% ขณะที่กลุ่มที่ได้รับ Mitomycin C ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ พบว่าอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.0084$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์มีความสัมพันธ์กับการแบ่งตัวของเซลล์โดยตรง เมื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความมีขั้วต่างกัน ได้แก่ เอทานอล (polarity index  $\approx 4.3$ ), ไดคลอโรมีเทน หรือ DCM (polarity index  $\approx 3.1$ ) และเฮกเซน (polarity index  $\approx 0.1$ ) พบว่าตัวทำละลายที่ใช้มีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดอย่างชัดเจน ในกลุ่มสารสกัดด้วยเอทานอล พบว่าเซลล์ HaCaT มีการเคลื่อนที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Xuan et al. รายงานว่าสารสกัดใบกะเม็งด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่และการแบ่งตัวของเซลล์ HaCaT ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสี UVB ผ่านการยับยั้งเส้นทาง MAPK และ AP-1 และลดการแสดงออกของ MMPs ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการเคลื่อนที่ของเซลล์<sup>(49)</sup> นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสำคัญที่พบในสารสกัดเอทานอล ได้แก่ ลูทีโอลินและเวเดโลแล็กโตน สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ผ่านกลไก NF- $\kappa$ B และ STAT3 ได้อีกด้วย<sup>(50)</sup> ในทางกลับกัน สารสกัดด้วย DCM กลับแสดงฤทธิ์กระตุ้นการเคลื่อนที่ของเซลล์ HaCaT ซึ่งอาจเกิดจากการที่ DCM สามารถสกัดสารจำพวก sterols และ triterpenoids ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการสมานแผลและกระตุ้นการเคลื่อนไหวของเซลล์ผิวหนึ่ง ตัวอย่างเช่น  $\beta$ -sitosterol ซึ่งสามารถสกัดได้ด้วย DCM มีรายงานว่าสามารถกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์เยื่อบุผิวในกระบวนการซ่อมแซมบาดแผล<sup>(51)</sup> ขณะเดียวกัน สารกลุ่ม triterpenoids เช่น ursolic acid ก็มีบทบาทในการเร่งกระบวนการ epithelialization และกระตุ้นการเคลื่อนไหวของ keratinocytes<sup>(52,53)</sup> สำหรับสารสกัดที่ได้จากเฮกเซน ซึ่งมีความมีขั้วต่ำมาก พบว่า ไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์อย่างชัดเจน สาเหตุอาจเนื่องมาจากเฮกเซนสามารถสกัดได้เพียงสารประกอบไม่ขั้วจัด เช่น saturated hydrocarbons, waxes และไขมัน ซึ่งไม่มีบทบาทในการกระตุ้นการส่งสัญญาณระดับโมเลกุล เช่น MAPK หรือ cytokine-mediated pathways ที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของเซลล์<sup>(54)</sup> นอกจากนี้ยังมีความเป็นไปได้ว่าสารออกฤทธิ์ที่มีผลกระทบต่อเซลล์อย่าง sterols, flavonoids และ triterpenoids ซึ่งมีคุณสมบัติกึ่งมีขั้วถึงขั้วปานกลางนั้น ไม่สามารถสกัดได้ด้วยเฮกเซน จึงอธิบายได้ว่าเหตุใด

จึงไม่พบฤทธิ์กระตุ้นหรือยับยั้งในกลุ่มนี้

จากการศึกษานี้พบว่าสารสกัดแยกส่วนกะเม็งที่ความเข้มข้น 20 mg/mL ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ กัน คือ Ethanol, Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Butanol เป็นตัวทำละลาย ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่หลากหลายทั้งแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* สายพันธุ์มาตรฐานได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกะเม็งจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบสายพันธุ์ดื้อยา *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ESBL, ESBL ampC, CRE ที่แยกได้จากผู้ป่วยได้เล็กน้อยอีกด้วย สอดคล้องกับงานวิจัยของกรกนก เอกโยธินวงศ์ ที่ศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ของสารสกัดกะเม็งจากส่วนต่าง ๆ ที่สกัดด้วยเทคนิค Soxhlet extraction โดยใช้ 30% Ethanol เป็นตัวทำละลายด้วยวิธีหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimal inhibitory concentration : MIC) พบว่าสารสกัดจากส่วนลำต้นให้ค่า MIC ของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ที่ความเข้มข้น 25.0, 12.5, 12.5 mg/mL ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากใบและดอกกะเม็งให้ค่า MIC ของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ที่ความเข้มข้น 12.5, 12.5, 12.5 mg/mL ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดกะเม็งมีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดี<sup>(55)</sup> และยังสามารถอ้างอิงกับงานวิจัยของ Wiart et al. ที่ศึกษาการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของกะเม็งในประเทศมาเลเซียพบว่า สารสกัดกะเม็งสามารถต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* แต่ไม่สามารถต้านเชื้อ *Escherichia coli* ได้<sup>(56)</sup> และจากรายงานของ Cherdtrakulkiat et al. แสดงผลของ MIC ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้เท่ากับ 64-256 µg/mL<sup>(57)</sup> และ Pandey et al. ได้ศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบของสารสกัดจากกะเม็งในส่วนเหนือดิน (ส่วนที่ไม่ใช่ราก) ในตัวทำละลายหลายชนิดเช่น Acetone, Ethanol, Methanol, H<sub>2</sub>O, Hexane ด้วยวิธี Agar well diffusion methods, MIC, MBC พบว่าสารสกัดจาก Hexane มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดีมาก<sup>(58)</sup> ในขณะที่สารสกัดจาก Acetone, Ethanol, Methanol, H<sub>2</sub>O มีฤทธิ์ปานกลางต่อเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวเทียบกับ Ciprofloxacin 25 µg/mL นอกจากนี้จากรายงานการวิจัยของนงาภัสส์ คุ้มกลาง และคณะ ที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกะเม็งต่อการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Disk diffusion พบว่าสารสกัดกะเม็งที่ใช้เอธานอลเป็นตัวทำละลายด้วยเทคนิค Soxhlet extraction มีฤทธิ์ดีกว่าการสกัดด้วยเทคนิค Maceration โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* เท่ากับ 28.31±0.1 และ 26.24±0.11 mm ตามลำดับ เทียบกับยามาตรฐาน Clindamycin 0.3 mg ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส 34.14±0.08 mm ส่วนฤทธิ์ต้านเชื้อ *Escherichia coli* พบว่ามีเล็กน้อยโดยพบว่าสารสกัดกะเม็งที่ใช้เอธานอล เป็นตัวทำละลายด้วยเทคนิค Soxhlet extraction มีฤทธิ์ดีกว่าสกัดด้วยเทคนิค Maceration โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากับ 10.92±0.52 และ 8.74±0.10 mm ตามลำดับเทียบกับยามาตรฐาน Clindamycin

0.3 mg ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางโชนใส  $17.68 \pm 0.11$  mm <sup>(59)</sup>

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง พบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด สมานแผลและยับยั้งเชื้อจุลชีพได้บางสายพันธุ์ อยู่ในกลุ่มของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชั้นไดคลอโรมีเทน ซึ่งจะสารที่อยู่ในชั้นไดคลอโรมีเทน เป็นสารในกลุ่มที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางออกมาจากกะเม็ง ดังนั้นสารสกัดแยกส่วนกะเม็งชั้นไดคลอโรมีเทน มีฤทธิ์กระตุ้นการแข็งตัวของเลือด สมานแผลและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดี้อย่า *Escherichia coli* 0449, *Escherichia coli* 0484 ESBL ampc, *Klebsiella pneumoniae* 0486, *Klebsiella pneumoniae* CRE และสายพันธุ์มาตรฐาน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 ได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียดี้อย่า *Acinetobacter baumannii* MDR, *Pseudomonas aeruginosa* MDR ได้ ข้อมูลเหล่านี้จะมีประโยชน์ด้านการศึกษาสารสกัดกะเม็งบริสุทธิ์เพื่อนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรห้ามเลือด ฤทธิ์สมานแผลและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. งานสำรวจและวิเคราะห์ข้อมูล. พืชสมุนไพร, ศูนย์สนเทศการเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเกษตรภาคกลาง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ; 2528.
2. Jahan, R., Al-Nahain, A., Majumder, S. and Rahmatullah, M. Ethnopharmacological significance of *Eclipta alba* (L.) Hassk. (Asteraceae), International Scholarly Research Notices. 2014;1-22.
3. Jaisin Y. Ka-meng– A Review. Thai Journal of Pharmacology. 2016;38(2):30-47.
4. Manohar RN, Padmaja V, Kumar PSS, Selvin CDS, and Ancy P. Comparing the pharmacological activities of *Sphagneticola calendulacea* and *Sphagneticola trilobata* an over view. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2017;6(11):457-467.
5. Shamama B, Avijit M, and Saumya D. *Wedelia chinensis* (Asteraceae)-An overview of a potent medicinal herb. World Journal of Pharmaceutical Research. 2017;6(6),488-496.
6. Sangkaram N, Sangthog B, and Rattarm R. Biological activities, total phenolic compound and TLC fingerprint of *Eclipta prostrata* (L.) L., *Sphagneticola calendulacea* (L.) Pruski and *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. J Sci Technol MSU. 2021;40(4):341-351.
7. Tewtrakul S, Subhadhirasakul S, Cheenpra-cha S, and Karalai C. HIV-1 protease and HIV-1 integrase inhibitory substances from *Eclipta prostrata*. Phytother. Res. 2007;21:1092-1095.
8. Prachayasittikul S, Wongsawatkul O, Suksrichavalit T. and Ruchirawat S. Bioactivity evaluation of *Eclipta prostrata* Linn. Eur. J. Sci. Res. 2010;44:167-176.
9. Jayathirtha MG, and Mishra SH. Preliminary immunomodulatory activities of methanol extracts of *Eclipta alba* and *Centella asiatica*, Phytomedicine. 2004;11:361-65.
10. Liu QM, Zhao HY, Zhong XK. and Jiang JG. *Eclipta prostrata* L. phyto-chemicals: Isolation, structure elucidation, and their antitumor activity, Food Chem. Toxicol. 2012;50:4016-4022.
11. Arunachalam G, Subramanian N, Pazhani GP, and Ravichandran V. Anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Eclipta prostrata* L. (Asteraceae), Afr. J. Pharm. 2009;3:97-100.
12. Sawant M, Isaac JC, and Narayanan S. Analgesic studies on total alkaloids and alcohol extracts of *Eclipta alba* (Linn.), Hassk Phytochem. 2004;18:97-189.
13. Mors WB, Nascimento MCD, Parente JP, Silva MHD, Melo PA, and Suarez-Kurtz G. Neutralization of lethal and myotoxic activities of southamerican rattlesnake venom by extracts and constituents of the plant *Eclipta prostrata* (Asteraceae). Toxicon. 1989;27:1003-1009.

14. Wiart C, Mogana S, Khalifah S, Mahan M, Ismail S, Buckle M, Narayana AK. and Sulaiman M. Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. *Fitoterapia*. 2004;75:68-73.
15. Karthikumar S, Vigneswari K, and Jegatheesan K. Screening of antibacterial and antioxidant activities of leaves of *Eclipta prostrata*. *Sci. Res. Essays*. 2007;4:101-104.
16. Nagabhushan Koteshwara AR. and Dyamav-vanahalli LS. Antidermatophytic activity of *Eclipta prostrata* L. against human infective *Trichophyton* and *Microsporum* spp., *Int. J. Anal. Chem.* 2013;4:136-138.
17. Chan CF, Huang WY, Gui HY, and Wang BR. Potent antioxidative and UVB protective effect of water extract of *eclipta prostrata* L. *Sci. World J.* 2014;1-8.
18. Neeraja PV, and Elizabeth M. *Eclipta alba* (L.) Hassk: A valuable medicinal herb. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 2012;2(4):188-197.
19. Cai Y, Luo Q Sun M, and Cork H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.* 2004;74:2157-2184.
20. Hua SZ, Feng ZC, and Mian Z. A new benzoic acid derivative from *Eclipta prostrata*, *Chin. J. Nat. Med.* 2010;8:244-246.
21. พงมาน พิศเพียงจันทร์, สรัญญา วัชโรทัย, อุไรวรรณ ติลกคุณานันท์ และอุดมลักษณ์ สุขอัติตะ. (2554). พลุกขเคมีและการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในเบื้องต้นของกะเม็ง, น. 432-441, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
22. สุวรรณ เสมศรี, ธิรัตน์ ชาวอ่อน, จิรารัตน์ สุขเกษม, วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, หนึ่งฤทัย นิลศรี, สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา. ฤทธิ์ของสารสกัดใบกะเม็ง ใบสาบเสือ ใบบัวบก และลูกเบญจกานี ต่อระบบการแข็งตัวของเลือด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*, 2560;3(2):42-53.
23. เรวดี วิเศษพานิชกิจ. การห้ามเลือด. พิมพ์ครั้งที่ 2. มานะ โรจนวุฒนันท์, บรรณาธิการ. กรุงเทพฯ: ดีทรีโอ จำกัด; 2556.
24. Fritsma AG. Hematology clinical principle and applications. 2nd ed. Rodak FB, editor. Pennsylvania: W.B. Saunders Company; 2002.
25. Arther V, Sherman J, and Luciano D. Human Physiology. 8<sup>th</sup> ed. McGraw – Hill, Inc., Singapore; 2010.
26. Bithell CT. Wintrobe's clinical Wintrobe's clinical hematology. 9<sup>th</sup> ed. Lee GR, et al. Editors. Pennsylvania: Lea & Febiger Company; 1993.
27. อำไพโร ไตรภักทร. กระบวนการห้ามเลือดและการทดสอบทางห้องปฏิบัติการด้านกระบวนการห้ามเลือด. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2553.

28. สุภาภรณ์ ปิติพร. กะเม็ง. บันทึกของแผ่นดิน ๑ หน้า ยา สมุนไพร ไกล่ตัว. พิมพ์ครั้งที่ 4. ปราจีนบุรี: ปรมัตต์ การพิมพ์; 2555.
29. รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, พร้อมจิต ศรีลัมภ์, วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล, วิจิต เปานิล, สมภพ ประธานธรรารักษ์ และนพมาศ สุนทรเจริญนนท์. กะเม็ง. สมุนไพร:ยาไทยที่ควรรู้. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: อมรินทร์ พรินต์ติ้ง; 2542.
30. Jaisin, Y. Ka-meng– A Review. Thai Journal of Pharmacology. 2016;38(2):30-47.
31. Manohar RN, Padmaja V, Kumar PSS, Selvin CDS, and Ancy P. Comparing the pharmacological activities of *Sphagneticola calendulaceae* and *Sphagneticola trilobata* an over view. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2017;6(11):457-467.
32. Balekar N, Nakpheng T, Katkam NG, and Srichana T. *Wedelia trilobata* L.: A phytochemical and pharmacological review. Chiang Mai Journal of Science. 2014;41(3):590-605.
33. Le DD, Nguyen DH, Ma ES, Lee JH, Min BS., Choi JS, and Woo MH. PTP1B inhibitory and anti-inflammatory properties of constituents from *Eclipta prostrata* L. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2021;44 (3):298-304.
34. Ray A, Bharali P, and Konwar BK. Mode of antibacterial activity of eclalbasaponin isolated from *Eclipta alba*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2013;171:2003–2019.
35. Liu H, Qiu N, Ding H, and Yao R. Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifloral honey, Food Chem. 2008;110:187-192.
36. Seely D, Kennedy AD, Myes PS, Cheras AP, Lin D, LI R. Trudy Cattley, Petta-Anne Paul Brent, Edward Mills and Blair J.N. Leonard. In Vitro Analysis of the Herbal Compound Essiac®. Anticancer Research. 2007;27:3875-82.
37. Prasad S, Kashyap SR, Deopujari YJ, Purohit JH, Taori MG, and Dagainawala FH. Development of an in vitro model to study clot lysis activity of thrombolytic drugs. Thrombosis Journal. 2006;4(14):1-4.
38. Tabtimmai L, Supakun P, Toviwek B, Jiwacharoenchai N, Kiriwan D, Aiebchun T, et al. 4-Aryl-N-phenylpyrimidin-2-amines targeting EGFR-tyrosine kinase attenuated EGFR-expressing cell lines. European Journal of Medicinal Chemistry. 2022;5:1-10.
39. พรชัย สิ้นเจริญโกโคย, ตัญญาณี สาทัด, พรราว ศุภจริยาวัตร, ศราวุธ ระดาพงษ์, เสกรชตกร บัวเบา, พิเชษฐ บัญญัติ, ศิริวรรณ ชัยสมบุญพนธ์, ณัฐภัทร หาญกิจ. การศึกษาฤทธิ์สมานแผลของสารสกัดช่อดอกกัญชา เพศเมียพันธุ์ไทยต่อเซลล์ปอดเพาะเลี้ยง. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2564;63(3):467-477.

40. Satish A, Sairam S, Ahmed F, Urooj A. *Moringa oleifera* Lam.: Protease activity against blood coagulation cascade. *Pharmacognosy Research*. 2012;4(1):44-9.
41. Bereksi MS, Hassaïne H, Bekhechi C, Abdelouahid DE. Evaluation of Antibacterial Activity of some Medicinal Plants Extracts Commonly Used in Algerian Traditional Medicine against some Pathogenic Bacteria. *Pharmacogn J*. 2018;10(3):507-12.
42. Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Oguteu H, Sengul M, Adiguzel A, et al. Evaluation of antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. *J Ethnopharmacol*. 2003;87:61-5.
43. Liu QM, Wang Y, Cao Y, et al. Anti-hepatoma activity of triterpenoid saponins from *Eclipta prostrata* on HepG2 cells. *J Ethnopharmacol*. 2012;142(3):778–84.  
doi:10.1016/j.jep.2012.05.036
44. Myo MA, et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of *Eclipta prostrata* L.: A Systematic Review. *Plants*. 2024;13(1):33. doi:10.3390/plants13010033
45. Kumar R, Singh MP. A brief lightening on medicinal activity and Pharmacological profile of plant *Eclipta prostrata*: A Review. *International Journal of ChemTech Research*. 2019;12(2): 131-140. DOI= <http://dx.doi.org/10.20902/IJCTR.2019.120217>
46. Islam MT, et al. Biological activities and chemical constituents of *Eclipta prostrata* (L.) L. (Asteraceae). *Biomed Pharmacother*. 2014;63(6):412–9.  
doi:10.1016/j.biopha.2014.03.004
47. Timalisina B, and Devkota HP. Ethnobotany, phytochemistry, and pharmacology of *Eclipta prostrata* (L.) L.: A review. *Plants*. 2021;10(11):2430. doi:10.3390/plants10112430
48. Phan VX, Nguyen TX, and Vo TG. Phytochemical profiling and biological activity of *Eclipta prostrata* L. extract. *Pharmaceuticals*. 2023;16(10):1476. doi:10.3390/ph16101476
49. Xuan SH, Park YM, Ha JH, Jeong YJ, and Park SN. The effect of dehydroglyasperin C on UVB-mediated MMPs expression in human HaCaT cells. *Pharmacological Reports*. 2017;69(6):1224-31.
50. Kim HH, Lee Y, Eun HC, and Chung JH. Eicosapentaenoic acid inhibits TNF- $\alpha$ -induced matrix metalloproteinase-9 expression in human keratinocytes, HaCaT cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008;368(2):343-9.
51. Bouic PJ. The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: a review of the past 10 years. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2001;4(6):471-5.
52. Liu J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J Ethnopharmacol*. 1995;49(2):57-68. doi: 10.1016/0378-8741(95)90032-2.

53. Agra LC, Ferro JN, Barbosa FT, and Barreto E. Triterpenes with healing activity: A systematic review. *Journal of Dermatological Treatment*. 2015;26(5):465-70.
54. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol*. 2020;94(3):651-715. doi: 10.1007/s00204-020-02689-3.
55. กรกนก เอกโยธินวงศ์. (2561). การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกะเม็ง. (Antioxidant activity and bioactivity of Kameng (*Eclipta prostrata* Linn.) extract. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ), มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์]: [https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=http://ethesisarchive.library.tu.ac.th/thesis/2018/TU\\_2018\\_5809032138\\_5001\\_10348.pdf&ved=2ahUKEwjro8GGqLKIAxUCUmCHHfkiOq4QFnoECBoQAQ&usq=AOvVaw2cnT72uT8K7nJaQtNuQuBJ](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=http://ethesisarchive.library.tu.ac.th/thesis/2018/TU_2018_5809032138_5001_10348.pdf&ved=2ahUKEwjro8GGqLKIAxUCUmCHHfkiOq4QFnoECBoQAQ&usq=AOvVaw2cnT72uT8K7nJaQtNuQuBJ)
56. Wiart C, Mogana S, Khalifah S, Mahan M, Ismail S, Buckle M, Narayana AK, and Sulaiman M. Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. *Fitoterapia*. 2004;75(1):68-73. doi: 10.1016/j.fitote.2003.07.013.
57. Cherdtrakulkiat R, Boonpangrak S, Pingaew R, Prachayasittikul S, Ruchirawat S, and Prachayasittikul V. Bioactive triterpenoids, antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of *Eclipta prostrata* Linn. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2015;5(3):046-50.
58. Pandey MK, Singh GN, Sharma RK, and Lata S. Antibacterial activity of *Eclipta alba* (L.) Hassk. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2011;1(7):104-7.
59. นฤภัสส์ คุ่มกลาง, น้ำอ้อย ปัญญา, ฉนกร หยกสหชาติ. (2563). การต้านอนุมูลอิสระ การต้านการอักเสบและการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิวของสารสกัดกะเม็ง (The Antioxidant, Anti-inflammatory and Antibacterial Activities of False daisy (*Eclipta prostrata* L.) Extract against acne inducing bacteria (*Cutibacterium acnes*). [รายงานวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ]. <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://research.rmutsb.ac.th/fullpaper/2563/research.rmutsb-2563-20211002171157688.pdf&ved=2ahUKEwjDgPuNqrKIAxWMRWwGHYx9BS8QFnoECBYQAQ&usq=AOvVaw2cbGgjqGp3d9E8gli10C0Z>

ภาคผนวก

## Curriculum Vitae

ชื่อ-สกุล นางสาวสุวรรณา เสมศรี

## คุณวุฒิ

คุณวุฒิ	สาขาวิชาเอก	สถาบัน	ปี
วิทยาศาสตร์บัณฑิต	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ	2540
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2546
วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	วิทยาศาสตร์ชีวการแพทย์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2554

ตำแหน่งวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

สถานที่ทำงาน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 18/18 ถนนเพชรรัตน  
กม. 18 ตำบลบางโคลง อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ 10540  
โทรศัพท์ 02-312-6300 ต่อ 1221

E-mail ssemsri@gmail.com

## ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ ย้อนหลัง 5 ปี (2561-2565 หรือ ค.ศ.2017-2022)

1. สุวรรณา เสมศรี, นันทิกานต์ ยงพิศาลภพ, นวพร คงด้วง, สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา, และวิชาญ จันทร์วิทยานุ  
ชิต. (2561). ฤทธิ์ของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยง ต่อการต้านมะเร็งและการกลืนกินสิ่ง  
แปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ,  
4(2), 40-49.
2. สุวรรณา เสมศรี, โนนต์ ชาติลา จาลิล, สุธิ สິงห์สนธิ, สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา, และวิชาญ จันทร์วิทยานุชิต.  
(2562). ฤทธิ์ต้านการอักเสบและการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโครฟาจ ต่อ  
สารสกัดใบกะเม็ง ใบสาบเสือ และใบบัวบก. ใน พงษ์จันทร์ อยู่แพทย์ (บรรณาธิการ), การประชุม  
วิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน (ASTC) ครั้งที่ 7 “บูรณาการวิจัยและ  
นวัตกรรมเพื่อการสร้างเสริมสุขภาพ” (หน้า 974-982). ปทุมธานี: มหาวิทยาลัยรังสิต.
3. Semsri, S., Seatew, C., Rattanabunyong, S., Ruekit, S., Horata, N., Panya, A., Yenchitsomanus, P.,  
Sawatdichaikul, O., Choowongkomon, K. (2020). In vitro studies of anti-EGFR tyrosine  
kinase activity of Thai nutraceutical plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research,  
19(1),51-59. doi: 10.22037/ijpr.2017.2022
4. Athipornchai, A., Kumpang, R., Semsri, S., (2021). Potential Biological Activities of Clausena  
Essential Oils for the Treatment of Diabetes. J. Oleo Sci, 70(11), 1669-1676. doi:  
10.5650/jos.ess19294

5. อีสสรียา เอี่ยมสุวรรณ, วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, อรัญญา จุติวิบูลย์สุข, สุวรรณา เสมศรี, ญัฐริณี หอระตะ และภุริต ธนะรังสฤษฏ์. (2564). การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาดจากพืชสมุนไพร ด้วยเอทานอลในการไล่แมลงวันหัวเขียวในกระบวนการตากปลาสดแดดเดียว. วารสารนเรศวรพะเยา , 14(2), 83-92.
6. วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, ปวีณา ว่องตระกูล, พรปวีร์ โพนสิม, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณา เสมศรี และ อีสยา จันทร์วิทยานุชิต. (2566). คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์และการทำให้ดินสอพองปราศจากเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 9(1), 109-118.
7. อีสยา จันทร์วิทยานุชิต, วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณา เสมศรี, วรรณศิริ เมฆศรีนวล, พรทิพย์ พึ่งม่วง, ปัญจพร นิยมณี, สุมลรัตน์ ชูวงษ์วัฒน์, วัชรินทร์ รัชชีภาณุรัตน์, และพัชรี กัมมาร เษฎฎากุล. (2566). ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแมงจิเฟอร์จากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการ ต่อเชื้อสแตฟไฟโลคอกไค. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการ ระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 10 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า H56-H61). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
8. สุวรรณา เสมศรี, วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, อีสยา จันทร์วิทยานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, กาญจนา วิจิตรธรรมรส, และโจนาธาน อาร์ คาร์ร็อน. (2566). ความเป็นพิษของสารสกัดฆ่าต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการ ระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 10 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า H62-H69). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
9. วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, ปวีณา ว่องตระกูล, พรปวีณ์ โพนสิม, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณา เสมศรี และอีสยา จันทร์วิทยานุชิต. (2566). คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์และการทำให้ดินสอพองปราศจากเชื้อ วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 9(1),109-18.
10. เนตรนภา ต๊ะผัด, กฤดาณูชลี โพธารวรรณ, ญัฐกุล จันทร์เสงี่ยม, พัทธนันท์ รัตนเดชพงศ์สิน, วรวิมล อันติมานนท์, สุวรรณา เสมศรี, สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา. (พฤศจิกายน 2566). การตรวจคัดกรองฤทธิ์ของสารสกัดหยาดจากผักต่อการแข็งตัวของเลือด. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 13.
11. ภูวมินทร์ ธรรมใจ, ภัทรทาทิพย์ เกษี, อภิขญา เผือกมี, หทัยชนก ธีระवास, สุภาวดี บรรณบดี, วรัญชนา คุณารูป, วสุนันต์ ทองดี, พูลศรี ธนาพุทธาสวัสดิ์, ชนินทร์ จินดารัตน์, วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณา เสมศรี, อีสยา จันทร์วิทยานุชิต. (พฤศจิกายน 2566). ปัจจัยสังคม กำหนดสุขภาพในการรับรู้สถานะสุขภาพที่มีผลต่อภาวะเสี่ยงโรคไม่ติดต่อเรื้อรังของคนในชุมชนบางโปรง บางด้วนและบางโฉลง จังหวัดสมุทรปราการ. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 13

12. Janwitayanuchit I, Semsri S, Janwitayanuchit W, Choowongkomon K. Effect of mangiferin isolated from *Mangifera indica* leaves on in vitro blood coagulation and cell migration activities. (2024) *Journal of Associated Medical Sciences*, 57(2): 67-75.

## Curriculum Vitae

ชื่อ-สกุล นายวิชาญ จันทร์วิทยานุชิต

## คุณวุฒิ

คุณวุฒิ	สาขาวิชาเอก	สถาบัน	ปี
เภสัชศาสตรบัณฑิต	-	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2532
เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต	เภสัชเคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2535
วิทยาศาสตร์ดุขฎิบัณฑิต	เภสัชเคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2546

ตำแหน่งวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

สถานที่ทำงาน คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 18/18 ถนนเพชรรัตน  
กม. 18 ตำบลบางโหลง อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ 10540  
โทรศัพท์ 02-312-6300 ต่อ 1104

E-mail wicharn.j@yahoo.com

## ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ ย้อนหลัง 5 ปี (2560-2565 หรือ ค.ศ.2017-2022)

1. Wongtrakul P. Janwitayanuchit W. Preparation of Salicylic Acid Loaded Nanostructured Lipid Carriers Using Box-Behnken Design : Optimization, Characterization and Physicochemical Stability. J. Oleo Sci. 2017; 66 (12) 1311-1319.
2. สุวรรณ เสมศรี, ธิติรัตน์ ชาวอ่อน, จิรารัตน์ สุขเกษม, วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, หนึ่งฤทัย นิลศรี, สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา.ฤทธิ์ของสารสกัดใบกะเม็ง ใบสาบเสือ ใบบัวบกและลูกเบญจกานีต่อระบบการแข็งตัวเลือด. Effect of *Eclipta prostrate*, *Chromolaena odorata*, *Centella asiatica* (Linn.) urban and *Quercus infectoria* oliver extracts on in vitro hemostatis activities. ว. วิทย์. เทคโนโลยี. หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 2560; 3 (2) : 42-53.
3. สุวรรณ เสมศรี, นันทิกานต์ ยงพิศาลภพ, นวพร คงด้วง, สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา, วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต.ฤทธิ์ของสารสกัดผักปลัง ผักแพว และผักแขยงต่อการต้านมะเร็งและการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 2561; 4(2) : 40-49.
4. อีสริยา เอี่ยมสุวรรณ, วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต, อรัญญา จุติวิบูลย์สุข, สุวรรณ เสมศรี, ญัฐริณี หอระตะ และ ภูริต ณะรังสฤษฏ์. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรด้วยเอธานอลในการไล่แมลงวันหัวเขียวในกระบวนการตากปลาสดแดดเดียว. Naresuan Phayao Journal. 2021; 14(2) : 83-92.

5. วิชาญ จันทรวิธานุชิต, ปวีณา ว่องตระกูล, พรปวีร์ โพนสิม, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณา เสมศรี และ อิศยา จันทรวิธานุชิต. (2566). คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์และการทำให้ดินสอพองปราศจากเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 9(1) : 109-118.
6. อิศยา จันทรวิธานุชิต, วิชาญ จันทรวิธานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณา เสมศรี, วรรณศิริ เมฆศรีนวล, พรทิพย์ พึ่งม่วง, ปัญจพร นิยมณี, สุมลรัตน์ ชวงษ์วัฒน์, วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์, และพัชรี กัมมารเจษฎากุล. (2566). ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแมงจีโอราจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการ ต่อเชื้อสแตฟไฟโลค็อกไค. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 10 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า H56-H61). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
7. สุวรรณา เสมศรี, วิชาญ จันทรวิธานุชิต, อิศยา จันทรวิธานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, กาญจนา วิจิตรธรรมรส, และโจนาธาน อาร์ คาร์ร็อน. (2566). ความเป็นพิษของสารสกัดฆ่าต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 10 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า H62-H69). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.

## Curriculum Vitae

ชื่อ-สกุล           นางอิสยา จันทรวิทยานุชิต

## คุณวุฒิ

คุณวุฒิ	สาขาวิชาเอก	สถาบัน	ปี
วิทยาศาสตร์บัณฑิต	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยมหิดล	2529
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	จุลชีววิทยา	มหาวิทยาลัยมหิดล	2532
แพทย์แผนไทยบัณฑิต	-	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช	2558

ตำแหน่งวิชาการ           รองศาสตราจารย์

สถานที่ทำงาน           คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 18/18  
ถนนเพชรตัดน กม. 18 ตำบลบางโฉลง อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ 10540  
โทรศัพท์ 02-312-6300 ต่อ 1221

E-mail                       isaya.jan@gmail.com

## ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ ย้อนหลัง 5 ปี (2560-2565 หรือ ค.ศ.2017-2022)

1. สมหญิง งามอรุเลิศ, อิสยา จันทรวิทยานุชิต, สุมลรัตน์ ชวงษ์วัฒน์, สุดา ลุยศิริโรจนกุล, ประเสริฐ เอื้อวรากุล. ความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในคนไทยสุขภาพดีภายหลังนโยบายแผนงานขยายการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคไวรัสตับอักเสบบีในทารกแรกเกิด.สงขลานครินทร์เวชสาร 2560; 35(1): 47-53.
2. W. Rangsipanuratn, P. Kammarnjassadakul, I. Janwithayanuchit, P. Paungmoung,S. Ngamurulert, M. Sriprapun, S. Yangen, V. Soottitantawat, A. Sandee. Detection of microbes, aflatoxin and toxic heavy metals in Chinese medicinal herbs commonly consumed in Thailand. Pharm Sci Asia 2017; 44 (3), 162-171.
3. พัชรี กัมมารเจษฎากุล, วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์, ชลภัศ จิตนุกุล, ธมนวรรณ บุรเทพ, ศราวุธ สุทธิรัตน์ และอิสยา จันทรวิทยานุชิต. การพัฒนาอาหารผสมน้ำสกัดกะเพราแดงและน้ำสกัดโหระพาสำหรับตรวจการสร้างรงควัตถุสีน้ำตาล-ดำของเชื้อ Cryptococcus neoformans. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน (ASTC) ครั้งที่ 6 วันที่ 6 มิถุนายน 2561. หน้า AS-527-31.

4. ณัฐริณี หอระตะ, ศราวุธ สุทธิรัตน์, ทวีพร พันธุ์พาณิชย์, อนุธิดา สิริเพระ, บุษราพร นวประยูรเวช, นพรรดา สุวรรณวิศลกิจ, ชารารัตน์ โปรเกียรติ์, ดวงนภา ศิริวัลย์, เกียรติทวี ชวงศ์โกมล, อีสยา จันทร์วิทธานุชิต. ฤทธิ์การต้านมาลาเรียในหลอดทดลองและความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบ สมุนไพรไทย 20 ชนิดต่อเชื้อพลาสโมเดียม ฟาลซิพารัม สายพันธุ์ TM267 (In Vitro Antimalarial Activity and Cytotoxicity of 20 Ethanolic Crude Extracts from Thai Herbs Against Plasmodium falciparum TM267). Songkla Med J 2017; 35(2) :109-120.
5. I. Janwithayanuchit, R. Piwpong, A. Amnuoypol, M. Kengkate, S. JulsomLee, S. Limsup, T. Tairattanasuwan, A. Lertsanporn, S. Pungsawat, W. Pleehachinda, R. Timmaung. Promoting Interprofessional Education through Home Visit with Service Mind Model. APHEIT INTERNATIONAL JOURNAL 2020 ; 9 (1) :17-33.
6. รัชณี ผิวผ่อง, อีสยา จันทร์วิทธานุชิต, มยุรี เก่งเกต, ธีรวิมล พงศ์เศรษฐไพศาล, กฤตวรรณ สาหรัย, รุ่งเพชร สงวนพงษ์, จิรสุดา สันตุศิริ. การพัฒนารูปแบบการเรียนรู้แบบสหสาขาวิชาชีพโดยการเยี่ยมบ้านผู้ป่วยโรคเรื้อรัง. วารสารวิทยาลัยพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรี. 2564 : 32 (1) : 150-170.
7. วิชาญ จันทร์วิทธานุชิต, ปวีณา ว่องตระกูล, พรปวีร์ โพนสิม, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณฯ เสมศรี และ อีสยา จันทร์วิทธานุชิต. (2566). คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์และการทำให้ดินสอพองปราศจากเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 9(1) : 109-118.
8. อีสยา จันทร์วิทธานุชิต, วิชาญ จันทร์วิทธานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณฯ เสมศรี, วรรณศิริ เมฆศรีนวล, พรทิพย์ พึ่งม่วง, ปัญจพร นิมมณี, สมรัตน์ ชวงษ์วัฒน์, วัชรินทร์ รัชชีภาณรัตน์, และพัชรี กัมมารเจษฎากุล. (2566). ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแมงจิเฟอร์ินจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการ ต่อเชื้อสแตฟไฟโลค็อกไค. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 10 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า H56-H61). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
9. สุวรรณฯ เสมศรี, วิชาญ จันทร์วิทธานุชิต, อีสยา จันทร์วิทธานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, กาญจนา วิจิตรธรรมรส, และโจนาธาน อาร์ คาร์ร็อน. (2566). ความเป็นพิษของสารสกัดฆ่าต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 10 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า H62-H69). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.

## Curriculum Vitae

ชื่อ-สกุล นางสาวสมหญิง งามอรุเลิศ

## คุณวุฒิ

คุณวุฒิ	สาขาวิชาเอก	สถาบัน	ปี
วิทยาศาสตร์บัณฑิต	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2540
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	จุลชีววิทยา	มหาวิทยาลัยมหิดล	2543
ปรัชญาคุษฎีบัณฑิต	จุลชีววิทยาการแพทย์	มหาวิทยาลัยมหิดล	2549

สถานที่ทำงาน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 18/18 ถนนเพชรดิน  
กม. 18 ตำบลบางโหลง อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ 10540  
โทรศัพท์ 02-312-6300 ต่อ 1221

E mail n\_somying@yahoo.com

## ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ ย้อนหลัง 5 ปี (2561-2565 หรือ ค.ศ.2017-2022)

1. สุชา จุลสำลี, ญัฐณิชา พาละเอ็น, พัชริดา เกิดทวี, ฌภัทร มหาสุข, ปัญญานันท์ กล้ารอด, พิชญ์ภัก  
อินทรสมบัติ, สมหญิง งามอรุเลิศ, นนทยา ทางเรือ, และ Jonathan Carreon. (2564). ความสัมพันธ์  
ระหว่างการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และเครื่องดื่มคาเฟอีนกับความสมบูรณ์ของน้ำอสุจิในชายวัย  
เจริญพันธุ์. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการระดับชาติและ  
นานาชาติ ครั้งที่ 8 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า 1240-1249). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัว  
เฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
2. สุชา จุลสำลี, ภัทรพงษ์ วงษ์อนันต์, พีรวัส เรือนทวีพสุ, ญัฐณา จาตุรนต์วาณิชย์, สมหญิง งามอรุเลิศ, นนทยา  
ทางเรือ, และธนสาร ศิริรัตน์. (2562). การศึกษาแนวโน้มระดับน้ำตาลและระดับคอเลสเตอรอลในเลือด  
ของประชากรในจังหวัดสมุทรปราการระหว่างปี 2550 – 2559. ใน พงษ์จันทร์ อยู่แพทย์  
(บรรณาธิการ), การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 7  
“บูรณาการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อการสร้างเสริมสุขภาพ” (หน้า 1042-1050). ปทุมธานี: มหาวิทยาลัย  
รังสิต.
3. ธนสาร ศิริรัตน์, สุรวินท์ ธีรัมย์, รัชชานนท์ มุระชีวะ, วชิรินทร์ รังษิภาณรัตน์, พัชรี กัมมารเจษฎากุล,  
สุวรรณา เสมศรี, พรทิพย์ พึ่งม่วง, สมหญิง งามอรุเลิศ, กาญจนา ศิริรัตน์, ดวงมณี แสนมัน, และสุชา  
จุลสำลี. (2562). นวัตกรรมสิ่งประดิษฐ์ เครื่องถ่ายภาพเจลดด้วยแสงแอลอีดี. ใน อิสยา จันทร์วิทยานุกิต  
(บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 7 “งานวิชาการรับใช้สังคม”  
(หน้า 967-977). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.

4. มยุรี เก่งเกต, วีรวรรณ ชาญศิลป์, สมหญิง งามอรุเลิศ, กาญจนา ศิริรัตน์, พิรญาณ์ นาคศิริ, ญาณิศา ชานนตรี, ภาวิณี คุปตวินทุ, อรรถพล ศรีสุดดี. การพัฒนาวิธีการตรวจจีโนมไทป์ของ Human platelet antigen-12w และ GHw(HPA-12w และ HPA-16w) โดยวิธี Polymerase Chain Reaction- Sequence Specific Primer (PCR-SSP). รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 5 “งานวิชาการรับใช้สังคม” วันที่ 26 พฤษภาคม 2560. หน้า HS168-81.
5. มยุรี เก่งเกต, สมหญิง งามอรุเลิศ, ธนสาร ศิริรัตน์, อรรถพล ศรีสุดดี, ศศิประภา สว่างโลก, ญัฐวดี อุ่นจิตติชัย. การศึกษาเบื้องต้น Variant ของยีน CD36 ในส่วน Exon 2 - 7 ในผู้ป่วยโรคโลหิต CD36 Deficiency จำนวน 5 ตัวอย่าง. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 6 “งานวิชาการรับใช้สังคม” วันที่ 22 มิถุนายน 2561. หน้า 735-45.
6. สมหญิง งามอรุเลิศ, อิสยา จันทร์วิทยานุชิต, สุมลรัตน์ ชูวงษ์วัฒน์, สุตดา ลุยศิริโรจนกุล, ประเสริฐ เอื้อวารากุล. ความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในคนไทยสุขภาพดีภายหลังนโยบายแผนงานขยายการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคไวรัสตับอักเสบบีในทารกแรกเกิด. สงฆานครินทร์เวชสาร 2560; 35(1): 47-53.
7. Rangspanuratn W, Kammarnjassadakul P, Janwithayanuchit I, Paungmoung P, Ngamurult S, Sriprapun M, Yangen S, Soottitantawat V, Sandee A. Detection of microbes, aflatoxin and toxic heavy metals in Chinese medicinal herbs commonly consumed in Thailand. Pharm Sci Asia 2017; 44(3) : 162-71.
8. วิชัญ จันทร์วิทยานุชิต, ปวีณา ว่องตระกูล, พรปวีร์ โพนสิม, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณา เสมศรี และ อิสยา จันทร์วิทยานุชิต. (2566). คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์และการทำให้ดินสอพองปราศจากเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 9(1) : 109-118.
9. อิสยา จันทร์วิทยานุชิต, วิชัญ จันทร์วิทยานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, สุวรรณา เสมศรี, วรรณศิริ เมฆศรีนวล, พรทิพย์ พึ่งม่วง, ปัญจพร นิมมณี, สุมลรัตน์ ชูวงษ์วัฒน์, วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์, และพัชรี กัมมารเจษฎากุล. (2566). ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแมงจี้เฟอร์ินจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการ ต่อเชื้อสแตฟไฟโลค็อกไค. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 10 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า H56-H61). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
10. สุวรรณา เสมศรี, วิชัญ จันทร์วิทยานุชิต, อิสยา จันทร์วิทยานุชิต, สมหญิง งามอรุเลิศ, กาญจนา วิจิตรธรรมรส, และโจนาธาน อาร์ คาร์ร็อน. (2566). ความเป็นพิษของสารสกัดฆ่าต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562. ใน Jonathan Rante Carreon (บรรณาธิการ), การประชุมเชิงวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 10 “งานวิชาการรับใช้สังคม” (หน้า H62-H69). สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.

## Curriculum Vitae

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐริณี หอระตะ

## คุณวุฒิ

คุณวุฒิ	สาขาวิชาเอก	สถาบัน	ปี
วิทยาศาสตร์บัณฑิต	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ	2542
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยมหิดล	2545
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต	อายุรศาสตร์เขตร้อน	มหาวิทยาลัยมหิดล	2551

ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

สถานที่ทำงาน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 18/18 ถนนเพชรตัด  
กม. 18 ตำบลบางโหลง อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ 10540  
โทรศัพท์ 02-312-6300 ต่อ 1221

E-mail h\_natharinee@hotmail.com

## ผลงานทางวิชาการที่ตีพิมพ์เผยแพร่ ย้อนหลัง 5 ปี (2561-2565 หรือ ค.ศ.2017-2022)

1. ณัฐริณี หอระตะ, ทวีพร พันธุ์พานิชย์, ศราวุธ สุทธิรัตน์, อีสสรียา เอี่ยมสุวรรณ, กรภัทร นาคาไชย, โสรยา แก้ว  
เลื่อน, และสรโรชา แก้วเลื่อน. (ธันวาคม 2565). การปรับตัวของนักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์  
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติในช่วงสถานการณ์การระบาดของโรคโควิด-19. วารสาร มฉก.  
วิชาการ, 26(2), 249-260.
2. Chaniad P, Techarang T, Phuwajaroanpong A, Horata N, Septama A.W, Punsawad C. Exploring  
Potential Antimalarial Candidate from Medicinal Plants of Kheaw Hom Remedy. Trop. Med.  
Infect. Dis. 2022, 7, 368. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7110368>
3. Chaniad P, Phuwajaroanpong A, Techarang T, Horata N, Chukaew A, Punsawad C. Evaluation  
of the antimalarial activity and toxicity of Mahanil-Tang-Thong formulation and its  
plant ingredients. BMC Complementary Medicine and Therapies (2022) 22:51.  
<https://doi.org/10.1186/s12906-022-03531-2>.
4. Phuwajaroanpong A, Chaniad P, Horata N, Muangchanburee S, Kaewdana K, Punsawad C. *In Vitro*  
and *In Vivo* Antimalarial Activities and Toxicological Assessment of Pogostemon Cablin  
(Blanco) Benth. Journal of Evidence-Based Integrative Medicine. January 2020.  
[doi:10.1177/2515690X20978387](https://doi.org/10.1177/2515690X20978387).

5. Horata N, Choowongkomon K, Ratanabunyong S, Tongshoop J, Khusmith S. Acquisition of naturally acquired antibody response to *P. falciparum* erythrocyte membrane protein 1-DBL $\alpha$  and differential regulation of IgG subclasses in severe and uncomplicated malaria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2017 December;7(12):1055–61.
6. Horata N, Suttirat S, Panpanich T, Siriphon A, Navaprayoonvach B, Suwanwisolkij N, Prothien T, Kiriwan D, Choowongkomon K, Janwithayanuchit I. *In vitro* antimalarial activity and cytotoxicity of 20 ethanolic crude extracts from Thai herbs against *Plasmodium falciparum* TM267. *Songklanagarind Medical Journal* 2017 April-January; 35(2).

## Curriculum Vitae

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฏฐ์ วรรณชิต

## คุณวุฒิ

คุณวุฒิ	สาขาวิชาเอก	สถาบัน	ปี
วิทยาศาสตร์บัณฑิต	Chemistry	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	2535
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	Ceramic Technology	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2539
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต	Polymer Science	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2551

ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

สถานที่ทำงาน ภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง หัวหมาก  
บางกะปิ กทม. 10240  
โทรศัพท์ 662-310-8408

E-mail [neeranutk@gmail.com](mailto:neeranutk@gmail.com)

## ผลงานทางวิชาการที่ตีพิมพ์เผยแพร่ ย้อนหลัง 5 ปี (2561-2565 หรือ ค.ศ.2017-2022)

1. Mongkolvisuit W., Fangtawanit, W., Kashima D. P., Tansuwan, S., and Kuanchertchoo, N. (2019). Development of Nanosized Hydroxyapatite from Biowaste for Variety Applications. *Journal of Ramkhamhaeng Research*. 22(2): 88-97.
2. Linda Bungaruanga,L., and Kuanchertchoo, N. (2023). Preliminary Results Towards the Fabrication of Cellulose Acetate Porous Fibers Using Needleless Electrospinning. *Proceeding of The 29<sup>th</sup> PPC symposium on Petroleum, Petrochemical and Polymers and The 14nd Research Symposium on Petrochemical and Materials Technology*. Mandarin Hotel Managed by Centre Point Bangkok, Thailand, pp 395-399.
3. Kuanchertchoo N., Jamklam A., and Briskshavana K. (2021). Phase and microstructure of Bangkok Clay Modified with Lampang or Ranong Kaolin in Comparison. *Proceeding of The 12<sup>nd</sup> Research Symposium on Petrochemical and Materials Technology and The 27th PPC symposium on Petroleum, Petrochemical and Polymers, The Petroleum and Petrochemical Colledge, Online*. pp. 231-236.2u
4. Kuanchertchoo N., Teerasisripaisan U., and Teerasisripaisan P. (2020). Effect of Crosslinking by Heat Treatment on Stability of Poly (vinyl) alcohol Nanofibrous Membrane. *Proceeding of The 11<sup>st</sup> Research Symposium on Petrochemical and Materials Technology and The 26<sup>th</sup> PPC symposium on Petroleum, Petrochemical and Polymers,*

The Petroleum and Petrochemical Colledge, Online. pp.609-613.

5. Kuanchertchoo N., Suksawaenga W., Sunthornwuttinana C, Chaoon W., and Fangtawanit W. (2019). Synthesis of NaA zeolite from Prachin Buri Kaolin using secondary growth and hydrothermal technique. Proceeding of The 10<sup>th</sup> Research Symposium on Petrochemical and Materials Technology and The 25<sup>th</sup> PPC symposium on Petroleum, Petrochemical and Polymers, Mahathirarachanusorn Building, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, pp. 496-502.
6. Kuanchertchoo N., Pumpraoa T., Changkao T., Wetprasit N., (2018). Synthesis of Small and Homogeneous Size of NaA Zeolite from Ball Clay Via Hydrothermal Method. Proceeding of The 9<sup>th</sup> Research Symposium on Petrochemical and Materials Technology and The 2<sup>nd</sup> PPC symposium on Petroleum, Petrochemical and Polymers, Mandarin Hotel, Bangkok, Thailand, pp. 514-519.
7. Somwong P., Kuanchertchoo N., Pongkao Kashima D., (2018). Influence of monetite on Photocatalytic Activity of Titanium Dioxide. 2018 (February, 7-9). Paper present at Proceeding of Pure and Applied Chemistry International Conference, SU International Convention Center - Songkhla, Thailand, pp. 1-4.
8. Mongkolvisut W., Kuanchertchoo N., and Tupchiangmai W., (2017). DPPH free radical scavenging activity of crude and fractionated extract and stability of *Ruellia tuberosa*' s fractionated extract in cream product. 5<sup>th</sup> International Conference on Creative Technology (CreTech 2017) Rajamangala University of Technology Krungthep, Bangkok, Thailand, pp.17-23.
9. Kuanchertchoo N., Chathathuma C., Wetprasit N., Mongkolvisut W., (2017). 22).Fabrication of Poly (vinyl alcohol) / Chitosan Nanoweb loaded Ampicillin for Antibacterial Purpose. Proceeding of The 8th Research Symposium on Petrochemical and Materials Technology and The 23rd PPC symposium on Petroleum, Petrochemical and Polymers, Patumwan Princess hotel, Bangkok, Thailand, pp. 1-7.



เรียนรู้เพื่อรับใช้สังคม

เอกสารแบบแสดงความยินยอม  
ของอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Consent Form)

โครงการ ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดแยกส่วนกะเม็ง

ชื่อหัวหน้าโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา เสมศรี

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมเป็นกลุ่มตัวอย่างหรืออาสาสมัครในโครงการนี้ ข้าพเจ้าได้รับ การอธิบายถึงวัตถุประสงค์ วิธีดำเนินการ และรายละเอียดต่างๆ ของโครงการ และข้าพเจ้าเข้าใจคำอธิบายดังกล่าว ครบถ้วนเป็นอย่างดีแล้ว

ผู้จัดทำโครงการรับรองว่าจะตอบคำถามต่าง ๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยเกี่ยวกับโครงการนี้ด้วยความเต็มใจ และไม่ ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้าเข้าร่วมโครงการนี้ด้วยความสมัครใจ และมีสิทธิที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมโครงการนี้เมื่อใดก็ได้

ผู้จัดทำโครงการรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ จะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปแบบ ที่เป็นสรุปผลโครงการ การเปิดเผยข้อมูลของข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องต้องได้รับอนุญาตจากข้าพเจ้า ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้วมีความเข้าใจดีทุกประการ และได้ลงนามในใบยินยอมนี้ ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม .....ผู้ยินยอม  
(.....)

ลงนาม .....พยาน  
(.....)

ลงนาม .....ผู้จัดทำโครงการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา เสมศรี)  
วันที่..... เดือน ..... พ.ศ .....