ฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรไทยบางชนิดที่ใช้รักษาโรคผิวหนัง

Biological activities of some Thai medicinal plants used in the treatment of skin disease

พรทิพย์ พึ่งม่วง
สุวรรณา เสมศรี
สุชา จุลสำลี
วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์
สมหญิง งามอุรุเลิศ
พัชรี กัมมารเจษฎากุล
ปัญจพร นิ่มมณี
สุมลรัตน์ ชูวงษ์วัฒนะ

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ปีการศึกษา 2562

ชื่อเรื่อง ฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรไทยบางชนิดที่ใช้รักษาโรคผิวหนัง
ผู้วิจัย พรทิพย์ พึ่งม่วง สุวรรณา เสมศรี สุชา จุลสำลี วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์
สมหญิง งามอุรุเลิศ พัชรี กัมมารเจษฎากุล ปัญจพร นิ่มมณี สุมลรัตน์ ชูวงษ์วัฒนะ
สถาบัน มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ปีที่พิมพ์ 2564
สถานที่พิมพ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
แหล่งที่เก็บรายงานฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
จำนวนหน้างานวิจัย 52 หน้า
คำสำคัญ ฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสกัดหยาบ พลู
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของสมุนไพร 10 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี agar disk diffusion และ broth dilution ฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธียับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์จากเซลล์เพาะเลี้ยง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric และความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยง ด้วยวิธี MTT assay พบว่าสารสกัดหยาบจากพลูมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษา ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), methicillin- susceptible *S. aureus* (MSSA), *S. epidermidis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, ESBLs-producing *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *K. pneumoniae* (CRE) และ *Acinetobacter baumannii* โดยมีค่า inhibition zone อยู่ระหว่าง 13.67±1.37 ถึง 32.00±2.37 mm และค่า MIC เท่ากับ 0.5-8 mg/ml มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ดี (IC_{50} 8.30±3.35 μg/ml) มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition เท่ากับ 99.47±0.32) และมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด (41.70±6.60 mg GAE/g) สูง และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (IC_{50} เท่ากับ 404.90±3.22 μg/ml) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากพลูมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งานต่อไป

Research title	Biological activities of some Thai medicinal plants used in the treatment of skin disease
Researchers	Porntip Paungmoung, Suwanna Semsri, Sucha Chulsomlee, Watcharin Rangsipanuratn, Somying Ngamurulert, Patcharee Kammarnjassadakul, Panjaphorn Nimmanee, Sumonrat Chuwongwattana
Institution	Huachiew Chalermprakiet University
Year of Publication	2021
Publisher	Huachiew Chalermprakiet University
Sources	Huachiew Chalermprakiet University
No. of Pages	52 pages
Keywords	Biological activities, crude extract, *Piper betle* (Linn.)
Copyright	Huachiew Chalermprakiet University

Abstract

This study aims to evaluate the biological activities of ethanol extracts from 10 Thai medicinal plants. The antibacterial activity was performed using agar disk diffusion and broth dilution assay. The anti-inflammatory activity was assessed by the inhibition of nitric oxide releasing from cell line. The antioxidant activity was done using DPPH radical scavenging assay. The total phenolic compounds of the extracts were detected with Folin-Ciocalteu colorimetric method. The cytotoxic activity was determined on mammalian cell line using MTT assay. The results demonstrated that crude extract from *Piper betle* (Linn.) had highest biological activity. The extract revealed antibacterial activity against all strains of tested bacteria including *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), methicillin- susceptible *S. aureus* (MSSA), *S. epidermidis*, *E. coli* ATCC 25922, ESBLs-producing *E. coli*, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *K. pneumoniae* (CRE) และ *A. baumannii* with inhibition zone between 13.67±1.37 to 32.00±2.37 mm and MIC 0.5-8 mg/ml. The extract showed good anti-inflammatory activity (IC_{50} 8.30±3.35 μg/ml) and exhibited the radical scavenging activity (% DPPH radical inhibition = 99.47±0.32). In addition, the extract contained high total phenolic compounds (41.70±6.60 mg GAE/g) and revealed low toxicity to cell (IC_{50} 404.90±3.22 μg/ml). This indicated that the crude extract from *Piper betle* (Linn.) have potential for development of Thai herb products that are convenient to use in the future

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย จนงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอขอบคุณ คุณมานพ สุทธิประภา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสมุทรปราการ ที่ได้อนุเคราะห์เชื้อสำหรับการศึกษาในครั้งนี้

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญ		ง
สารบัญตาราง		ฉ
สารบัญรูปภาพ		ช
บทที่ 1	บทนำ	1
	1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
	1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
	2.1 โรคผิวหนังอักเสบ	3
	2.2 สมุนไพรที่ศึกษา	3
	2.3 สถานการณ์และผลกระทบของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ	7
	2.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย	8
	2.5 กรอบแนวคิดในการวิจัย	10
บทที่ 3	ระเบียบวิธีวิจัย	12
	3.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือในการวิจัย	12
	3.2 ตัวอย่างสมุนไพร	13
	3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	13
	3.4 การวิเคราะห์และแปลผลข้อมูล	18
บทที่ 4	ผลการวิจัย	19
	4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากสมุนไพรโดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย	19
	4.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร	21
	4.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ด้วยวิธีการยับยั้งการหลั่ง nitric oxide	32

หน้า

4.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay 33
4.5 การหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมุนไพร ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric 35
4.6 การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT colorimetric assay 37
4.7 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด 38
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 40
5.1 สรุปผลการวิจัย 40
5.2 อภิปรายผลการวิจัย 41
5.3 ข้อเสนอแนะ 43
บรรณานุกรม 44
ภาคผนวก 50
ประวัติย่อผู้วิจัย 51

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

4.1 ร้อยละผลผลิต (% yield) ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด 21

4.2 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด 23

4.3 อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรเทียบกับยามาตรฐาน ciprofloxacin 5 µg/disk และ chloramphenicol 30 µg/disk 29

4.4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) 31

4.5 ฤทธิ์การต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด ด้วยวิธี Griess's reaction 33

4.6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay 35

4.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด 36

4.8 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol ต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT colorimetric assay 37

4.9 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด 39

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่

4.1 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (%DPPH radical inhibition) ของสารมาตรฐาน วิตามินซี 34

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย

ปัจจุบันประเทศไทยกำลังก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ จากข้อมูลสถิติจำนวนผู้สูงอายุใน ปี 2561 พบว่าจังหวัดสมุทรปราการ มีผู้สูงอายุ 191,404 คน จากประชากรทั้งหมด 1,326,608 คน คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 14.43[1] ซึ่งผู้สูงอายุเป็นวัยที่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งร่างกายและจิตใจ สุขภาพจนถึงผิวพรรณ เนื่องจากมีภูมิต้านทานลดลง ผิวหนังของผู้สูงอายุจึงมีโอกาสติดเชื้อได้ง่าย ผิวหนังแห้งเปราะบาง ทำให้มีโอกาสระคายเคืองได้ง่าย นอกจากนี้ความสามารถของผิวหนังในการซ่อมแซมเมื่อเกิดบาดแผลต่าง ๆ ช้าลง อีกทั้งผู้สูงอายุส่วนใหญ่มักมีโรคประจำตัว เช่น โรคเบาหวานและโรคความดันโลหิตสูง เป็นเหตุให้การเกิดบาดแผลในผู้สูงอายุจะใช้เวลานานในการรักษา โดยโรคผิวหนังที่พบบ่อยในผู้สูงอายุ ได้แก่ อาการคัน ภาวะผิวหนังแห้ง โรคจากการติดเชื้อที่ผิวหนังทั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อไวรัส การเกิดแผลเรื้อรัง ผื่นแพ้ยา โรคผิวหนังอักเสบ ตุ่มน้ำพองใส และโรคสะเก็ดเงิน เป็นต้น[2] ซึ่งแนวทางในการรักษาโรคผิวหนังนิยมใช้ 2 วิธี คือ การทายาและการรับประทานยา เพื่อลดการอักเสบ บรรเทาอาการคัน และใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาหากพบการติดเชื้อแทรกซ้อน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของโรคและความรุนแรงของอาการ ภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยมีการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคต่าง ๆ สืบทอดกันมาอย่างยาวนาน โดยนำมาใช้ทั้งในรูปแบบสมุนไพรเดี่ยวหรือตำรับยา สมุนไพรบางชนิดมีสรรพคุณในการรักษาอย่างเฉพาะเจาะจง บางชนิดรักษาได้หลายอาการ ซึ่งในปัจจุบันมีแนวโน้มการนำการแพทย์ทางเลือกและสมุนไพรมาใช้รักษามากขึ้น ดังจะเห็นได้จากคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ ได้บรรจุยาแผนไทยหรือยาแผนโบราณ และยาพัฒนาจากสมุนไพร ลงในบัญชียาจากสมุนไพร เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2561[3] พบว่ามีสมุนไพรหลายชนิดที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคทางผิวหนัง ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)[3] เสลดพังพอนตัวผู้[4] สำมะงา[5] เหงือกปลาหมอ[6] ฟ้าทะลายโจร[7] กระเบา[8] และชุมเห็ดเทศ[9] โดยใช้ส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรมาต้มอาบ คั้นทา ตำผสมแอลกอฮอล์พอก อย่างไรก็ตามองค์ความรู้ด้านประสิทธิภาพของสมุนไพร ความปลอดภัย ฤทธิ์ที่ไม่พึงประสงค์ รวมทั้งการตั้งตำรับยาเพื่อประโยชน์ในการรักษาของสมุนไพรดังกล่าวยังมีจำกัด คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ได้แก่ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) และความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity activity) ของสารสกัดจากทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ เพื่อเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ในการยืนยันฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพร และเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านความปลอดภัย เพื่อนำมาใช้ในการคัดเลือกสมุนไพรที่มีศักยภาพสามารถนำมาใช้ตั้งตำรับยารักษาโรคผิวหนัง และพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ยา

สมุนไพรในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งาน อันจะนำมาสู่การประยุกต์ใช้ภูมิปัญญาพื้นบ้านให้เกิดประโยชน์แก่สังคมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษ ของสารสกัดจากทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ
2. คัดเลือกสมุนไพรที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ตั้งตำรับยารักษาโรคผิวหนัง เพื่อต่อยอดพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งานต่อไป

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลองค์ความรู้ด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยของพืชสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ เพื่อเป็นข้อมูลในการนำสมุนไพรมาใช้อย่างสมเหตุสมผล ซึ่งจะนำมาสู่การวิจัยในรูปแบบการตั้งตำรับยาพื้นฐานภูมิปัญญาไทยต่อไป

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคผิวหนังอักเสบ (Eczema หรือ Dermatitis)

โรคผิวหนังเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุข โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เด็กเล็ก ผู้สูงอายุ รวมทั้งผู้ที่มีโรคประจำตัว เช่น ผู้ป่วยเบาหวานและผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูง ซึ่งการเกิดโรคมีทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง โรคผิวหนังที่พบบ่อย ได้แก่ โรคผิวหนังอักเสบ (eczema หรือ dermatitis) ลักษณะรอยโรคเป็นตุ่มนูน (papules) หรืออาจพบตุ่มน้ำใส (vesicles) มีขุยหรือสะเก็ดละเอียด (scales) ร่วมกับอาการบวมแดงบริเวณรอยโรคและอาการคัน สาเหตุของการเกิดโรคผิวหนังอักเสบ ได้แก่ การเกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้บริเวณผิวหนัง การสัมผัสสารที่ก่อให้เกิดการระคายเคือง การสัมผัสความร้อนหรือความชื้นต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน เป็นต้น[10] นอกจากนี้สภาวะที่มีการอับชื้น เสียดสี มีบาดแผล อาจเป็นสาเหตุของการติดเชื้อแบคทีเรียและราที่ผิวหนัง เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* รวมถึงเชื้อดื้อยา methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*, pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (PDRAB) และเชื้อราก่อโรคผิวหนังกลุ่ม *Epidermophyton* spp., *Trichophyton* spp., *Microsporum* และ *Candida albicans* เป็นต้น จากข้อมูลสรุปรายงานการป่วย พ.ศ. 2560 กองยุทธศาสตร์และแผนงาน สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข พบอัตราผู้ป่วยนอกสาเหตุการป่วยด้วยโรคผิวหนังและเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง สูงเป็นอันดับ 6 คิดเป็นอัตราผู้ป่วย 108.40 คน ต่อประชากร 1,000 คน[11] การดูแลรักษาผู้ป่วยโรคผิวหนังอักเสบโดยใช้ยาแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ยากลุ่มที่ลดภาวะการอักเสบที่ผิวหนังซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรค และกลุ่มยาบรรเทาอาการอื่น ๆ ของโรค เช่น ยาบรรเทาอาการคันและอาการแห้งของผิวหนัง เป็นต้น ทั้งนี้อาจมีการใช้ยาปฏิชีวนะสำหรับรอยโรคที่ยังมีอาการอักเสบเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราแทรกซ้อน[10]

2.2 สมุนไพรที่ศึกษา

ปัจจุบันมีผู้สนใจการศึกษาวิจัยเพื่อนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากยารักษาโรคแผนปัจจุบันส่วนใหญ่มักมีราคาแพง ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ นอกจากนี้อาจมีอันตรายจากผลข้างเคียงของยาที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ สมุนไพรจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษา สมุนไพรหลายชนิดหาได้ง่าย ราคาไม่แพง มีความปลอดภัยเกิดผลข้างเคียงต่ำ และอาจช่วยลดปัญหาของการดื้อยาได้[12] และปัจจุบันมีการส่งเสริมการใช้สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐานเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะการใช้สมุนไพรชนิดเดียวที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น เพื่อรักษาโรคหรืออาการเบื้องต้นที่พบบ่อย ตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาโรคหรือกลุ่มอาการทางผิวหนัง ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก

พญายอ เสลดพังพอน ฟ้าทะลายโจร และชุมเห็ดเทศ เป็นต้น[13] นอกจากนี้คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติได้ประกาศบัญชียาจากสมุนไพร ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2561 จัดให้ทองพันชั่ง พลู บัวบก และพญายอ เป็นยากลุ่มที่ 2 ยาพัฒนาจากสมุนไพร รักษากลุ่มอาการทางระบบผิวหนังอีกด้วย[3]

2.2.1 ทองพันชั่ง

ทองพันชั่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz อยู่ในวงศ์ Acanthaceae มีชื่ออื่นว่า ทองคันชั่ง หญ้ามันไก่ ทองพันดุลย์ ทางเภสัชแผนไทยใช้แก้ผื่นคัน กลากเกลื้อน รักษาโรคมะเร็ง รักษาโรคผิวหนัง ดับพิษไข้ แก้พยาธิวงแหวนตามผิวหนัง แก้น้ำเหลืองเสีย บำรุงร่างกาย รักษาโรคผมร่วง โรคมะเร็ง รักษาโรคความดันสูง แก้พิษงู มีรายงานพบว่าสารสกัดทองพันชั่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ[14-15] นอกจากนี้ยังมีสารสำคัญในกลุ่ม rhinacanthin ได้แก่ rhinacanthin-C, rhinacanthin-D และ rhinacanthin-N และสารอื่น ๆ เช่น oxymethylanthraquinone, quinine และ rutin (quercetin-3-rutinoside) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส herpes simplex virus type 1 (HSV-1) และ cytomegalovirus[16] และยังมีสาร rhinacanthin E และ rhinacanthin F ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส influenza A virus นอกจากนี้ยังพบว่า สาร rhinacanthin-C มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิด เช่น *Streptococcus mutans, Propionibacterium acne, Helicobacter pylori, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และเชื้อรา *Candida albicans*[17] สำหรับสาร rhinacanthin-C, rhinacanthin-D และ rhinacanthin-N ที่สกัดได้จากใบและกิ่งของทองพันชั่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อราก่อโรคที่ผิวหนัง *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* และ *Trichophyton mentagrophytes*[18]

2.2.2 พลู

พลู มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Piper betle* (Linn.) เป็นพืชไม้เลื้อยอยู่ในวงศ์ Piperaceae มีสรรพคุณในการบำบัดโรคได้หลายอย่าง เช่น รักษาโรคผิวหนัง แก้ลมพิษ แผลอักเสบ ฝีหนอง บัญชียาจากสมุนไพรตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2561 จัดให้สารสกัดใบพลูสดด้วยเอทานอลอยู่ในกลุ่มยารักษากลุ่มอาการทางระบบผิวหนัง บรรเทาอาการผิวหนังอักเสบ และการอักเสบจากแมลงกัดต่อย[3] สารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของใบพลู ได้แก่ allylpyrocatechol monoacetate, eugenol, hydroxylchavicol และ chavibetol โดยองค์ประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิด เช่น *Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus, Aeromonas hydrophila, Salmonella* Typhi, *Shigella dysenteriae*, *Proteus vulgaris, Microsporum canis, Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* และ *Candida albicans*[19-20]

2.2.3 บัวบก

บัวบก มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Centella asiatica* (Linn.) Urban เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก อยู่ในวงศ์ Umbelliferae มีสรรพคุณในการรักษาอาการช้ำใน บำรุงหัวใจ บำรุงตับ ไต และสมอง

บำรุงประสาทและความจำ ช่วยขับปัสสาวะ รักษาบาดแผล แผลเปื่อย แก้โรคเรื้อน โรคบิด ลดอาการปวดศีรษะและไข้ บัญชียาจากสมุนไพรตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2561 จัดให้สารสกัดใบบัวบกแห้งด้วยเอทานอลอยู่ในกลุ่มยารักษากลุ่มอาการทางระบบผิวหนัง บรรเทาอาการผิวหนังอักเสบ และการอักเสบจากแมลงกัดต่อย[3] สารที่พบในบัวบกจัดอยู่ในกลุ่ม triterpenoid glycoside ประกอบด้วย asiatic acid, asiaticoside, madecassic acid และ madecassoside ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (anticancer activity) ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) สมานแผล (wound healing) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิด เช่น *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Shigella sonnei, Listeria monocytogenes, Aspergillus niger* และ *C. albicans*[21-22]

2.2.4 เสลดพังพอน

เสลดพังพอน มีชื่ออื่นว่าผักมันไก่ ผักลิ้นเขียด (เชียงใหม่) พญาปล้องดา (ลำปาง) พญาปล้องทอง (ภาคกลาง) ลิ้นมังกรโพะโซ่จาง (กะเหรี่ยง) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ เสลดพังพอนตัวผู้ และเสลดพังพอนตัวเมียหรือพญายอ สรรพคุณเด่นของเสลดพังพอนคือการถอนพิษ เสลดพังพอนทั้งตัวผู้และตัวเมียมีคุณสมบัติทางยาไม่ได้แตกต่างกัน เพียงแต่เสลดพังพอนตัวเมียจะมีฤทธิ์ที่แรงกว่าและใบของเสลดพังพอนตัวผู้จะขมกว่า ในทางการแพทย์แผนไทยนิยมใช้เสลดพังพอนตัวเมียมาใช้ในการรักษามากกว่า

เสลดพังพอนตัวผู้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Barleria lupulina* Lindl. อยู่ในวงศ์ Acanthaceae สรรพคุณทางเภสัชแผนไทย รากเสลดพังพอนตัวผู้ช่วยลดอาการตัวเหลือง กินข้าวไม่ได้ ช่วยแก้อาการตาเหลือง ถอนพิษงู แก้ปวดฟันและแมลงสัตว์กัดต่อย ส่วนใบช่วยแก้ปวดบาดแผล แก้โรคฝี โรคคางทูม โรคงูสวัด เริม โรคฝีดาษ แก้ฟกช้ำ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาแผลจากของมีคมบาด[23]

เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau. สรรพคุณทางเภสัชแผนไทย รากช่วยขับปัสสาวะ ขับประจำเดือน แก้ปวดเมื่อย ส่วนใบช่วยรักษาแผล โรคผิวหนัง เช่น เริม แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แผลร้อนในปาก มีรายงานว่าสารสกัดใบพญายอมีสารประกอบ flavonoid มีฤทธิ์ลดการอักเสบ สารประกอบ phenolic มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่ม monoglycosyl diglycerides เช่น 1,2-*O*-dilinolenoyl-3-*O*-β-d-glucopyranosyl-sn-glycerol มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ herpes simplex virus type 2 (HSV-2) สารอนุพันธ์ของสาร chlorophyll a และ chlorophyll b มีฤทธิ์ต้านเชื้อ herpes simplex virus type 1 (HSV-1) พบว่าสารสกัดจากใบพญายอด้วย ethyl acetate สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Candida albicans* ได้[24-27] นอกจากนี้ยังมีรายงานฤทธิ์ของสารสกัดจากใบพญายอด้วย methanol พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ myeloperoxidase[28] และมีประสิทธิภาพในการลดการตอบสนองของเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ส่งผลให้การเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวดังกล่าวลดลง และช่วยลดอาการบวมจากอาการอักเสบในสัตว์ทดลองได้ภายในระยะเวลา 6 ชั่วโมง หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ[29]

2.2.5 สำมะงา

สำมะงา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Volkameria inermis* (Linn.) ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Clerodendrum inerme* (Linn.) Gaertn. เป็นไม้พุ่ม พบมากบริเวณป่าชายเลน จัดอยู่ในวงศ์ Lamiaceae มีชื่ออื่นว่า เขี้ยวงู ส้มเนรา สักขรีย่าน สำปันงา สำมะลีงา สำลีงา สรรพคุณในการรักษาใช้ใบสดต้มน้ำอาบ รักษาโรคผิวหนังผื่นคัน น้ำเหลืองเสีย งูสวัด หรือตำผสมเหล้าพอก ถอนพิษแมงป่องและตะขาบ แก้ฟกบวม เคล็ดขัดยอก ส่วนรากแห้งต้มกับน้ำดื่ม แก้ไข้หวัด ตับอักเสบและแผลบวม[5] มีรายงานวิจัยพบว่าสารสกัดจากใบสำมะงาด้วย methanol มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Aspergillus niger*[30] นอกจากนี้ยังพบว่าสำมะงามีองค์ประกอบของสารเคมีหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ได้แก่ luteolin, verbascoside และ apigenin[31]

2.2.6 เหงือกปลาหมอ

เหงือกปลาหมอ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Acanthus ebracteatus* Vahl จัดอยู่ในวงศ์ Acanthaceae มีชื่ออื่นว่า แก้มหมอ แก้มหมอเล อีเกร็ง เป็นสมุนไพรใกล้ตัวหรืออาจจะเรียกว่าเป็นสมุนไพรชายน้ำหรือชายเลน ใบมีสรรพคุณในการรักษาโรคริดสีดวงทวาร ตกขาวของสตรี นิ่วในไต รักษาแผลอักเสบ แก้น้ำเหลืองเสีย รักษาโรคผิวหนัง กลากเกลื้อน และโรคสุกใส ใบนำมาต้มกินเป็นยาแก้ไข้ลมพิษ ฝี และสามารถนำใบสดคั้นน้ำนำไปทาศีรษะ ช่วยบำรุงรากผม หรือนำมาตำให้ละเอียด ใช้พอกบริเวณแผลที่ถูกงูกัด พอกฝีและแผลอักเสบ[6] จากข้อมูลงานวิจัยพบว่าสารสกัดจากเหงือกปลาหมอมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Lactobacillus plantarum, Klebsiella pneumoniae* และ *Proteus vulgaris*[32] และพบว่าสารสกัดจากลำต้นเหงือกปลาหมอด้วย ethanol มีฤทธิ์ช่วยในการสมานแผล (wound healing) ในหนูทดลอง[33]

2.2.7 ฟ้าทะลายโจร

ฟ้าทะลายโจร มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees เป็นไม้ล้มลุก จัดอยู่ในวงศ์ Acanthaceae มีชื่ออื่นว่า น้ำลายพังพอน หญ้ากันงู ซีปังฮี สรรพคุณทางเภสัชแผนไทย มีการใช้ส่วนเหนือดินเก็บก่อนที่จะมีดอก เพื่อรักษาไข้ ไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ ดับพิษร้อน ระงับอักเสบในอาการไอ เจ็บคอ คออักเสบ ต่อมทอนซิล หลอดลมอักเสบ ปอดอักเสบ ขับเสมหะ ลดบวม แก้บิด แก้กระเพาะอาหารอักเสบ ลำไส้อักเสบ รักษาโรคผิวหนัง ฝี การติดเชื้อ ที่ทำให้มีอาการปวดท้อง ท้องเสีย บิด ทำให้เจริญอาหาร[7] ใบฟ้าทะลายโจรมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ สารกลุ่ม lactone เช่น andrographolide, neo-andrographolide,14-deoxyandrographolide, 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide เป็นต้น[34] จากข้อมูลงานวิจัยพบว่าสารสกัดฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ[35] มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น superoxide, hydroxyl radicals, lipid peroxidation, และ nitric oxide ในหลอดทดลอง[36] มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli, Salmonella* Typhi, *Shigella boydii, Shigella sonnei* และ *Vibrio cholerae*[37] ไวรัสสาเหตุของโรคเริม Herpes simplex virus type 1 (HSV-1)[38] นอกจากนี้ยังพบว่ามีฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็งสมอง SK-N-SH ในหลอดทดลอง[39]

2.2.8 กระเบา

กระเบา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hydnocarpus anthelminthicus* Pieere ex Laness. จัดอยู่ในวงศ์ Flacourtiaceae มีชื่ออื่นว่า กระเบาน้ำ กระเบาเบ้าแข็ง กระเบา กาหลง เบา น้ำมันที่บีบจากเมล็ด รักษาโรคเรื้อน และโรคผิวหนังอื่น ๆ ได้[8] จากข้อมูลงานวิจัยพบว่าเมล็ดของกระเบา มีสาร hydnocarpic acid, chaulmoogric acid, gorlic acid, oleic และ palmitic acid. เป็น องค์ประกอบ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Streptococcus pneumoniae, S. pyogenes, Haemophilus influenzae, Mycobacterium tuberculosis, Trichophyton rubrum, T. mentagrophytes, Candida albicans* และ *Aspergillus niger*[40-41]

2.2.9 ชุมเห็ดเทศ

ชุมเห็ดเทศ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cassia alata* (L.) Roxb. ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Senna alata* (L.) Roxb. เป็นไม้พุ่ม จัดอยู่ในวงศ์ Fabaceae มีชื่ออื่นว่า คาก ลับมืนหลวง หมากกะลิง เทศ ชุมเห็ดใหญ่ ตะสีพอ สรรพคุณทางเภสัชแผนไทย **ใบ**สดหรือแห้งต้ม ใช้เป็นยาถ่าย ทาภายนอกรักษา กลาก แก้แมลงสัตว์กัดต่อย และโรคผิวหนังอื่นๆ ใช้ถ่ายพยาธิตัวตืด **ใบสด**ขยี้ใช้รักษากลากเกลื้อน ตำ พอก เร่งหัวฝี **ใบและดอก**ทำยาต้มรับประทาน เป็นยาระบายแก้ท้องผูก ขับเสมหะในรายที่หลอดลม อักเสบ และแก้หืด **เมล็ด**มีกลิ่นเหม็นเบื่อ รสเอียนเล็กน้อยใช้ขับพยาธิ แก้ตานซาง แก้ท้องขึ้น แก้นอนไม่ หลับ **ฝัก** แก้พยาธิ เป็นยาระบาย ขับพยาธิตัวตืด พยาธิไส้เดือน **ต้นและราก** แก้กระษัยเส้น แก้ท้องผูก บำรุงหัวใจ[9] จากข้อมูลงานวิจัยพบว่าใบชุมเห็ดเทศมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ anthraquinone glycoside ได้แก่ isochrysophanol, physcionl-glycoside, chrysophanol, chrysophanic acid, emodine, rhein, aloe-emodin, 4,5-dihydroxy-2-hydroxy methylanthrone, และ 4,5-dihydroxyl-1-hydroxy methylanthrone เป็นต้น สารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Staphylococcus aureus, Salmonella* spp. *Streptococcus suis* และ *Corynebacterium diphtheriae*[42]

2.3 สถานการณ์และผลกระทบของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ[43]

การดื้อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial resistance: AMR)

ความสามารถของจุลินทรีย์ (เช่น แบคทีเรีย ไวรัส และรา) ในการเจริญเติบโตหรืออยู่รอดได้แม้สัมผัสกับยาฆ่าเชื้อ (หรือ ยาต้านจุลชีพ) ที่มีความเข้มข้นเพียงพอในการฆ่าหรือยับยั้งจุลินทรีย์ในสายพันธุ์เดียวกัน หรือความสามารถของจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโตหรืออยู่รอดได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพที่สูงกว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในมนุษย์และสัตว์

ปัจจุบันสถานการณ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ขณะที่การค้นพบหรือการผลิตยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ออกสู่ท้องตลาดลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอุตสาหกรรมยาเล็งเห็นว่าการวิจัยและพัฒนายาปฏิชีวนะเป็นการลงทุนที่ไม่คุ้มค่า เพราะไม่นานเชื้อแบคทีเรียก็จะพัฒนาตัวเองให้ดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิดใหม่นั้นได้อีก ส่งผลให้ตลาดยาปฏิชีวนะมีอายุสั้น จึงเป็นการลงทุนที่ไม่

น่าสนใจเมื่อเทียบกับการลงทุนในกลุ่มยาที่ใช้รักษาโรคเรื้อรัง เช่น ยารักษาโรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง และโรคหัวใจ ที่สามารถขายและขยายตลาดได้เรื่อย ๆ ซึ่งผลกระทบจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย จากข้อมูลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับผลกระทบจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพต่อสุขภาพและค่าใช้จ่ายของประเทศไทยในเชื้อดื้อยา 5 ชนิด คือ *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa* และ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) พบว่าการติดเชื้อดื้อยาจำนวน 87,751 ครั้ง โดยในจำนวนนี้มีผู้เสียชีวิตจากเชื้อดื้อยา 38,481 คน (หรือโดยเฉลี่ยเสียชีวิต 104 คน/วัน) ผู้ป่วยที่ติดเชื้อดื้อยาอยู่รักษาตัวในโรงพยาบาลนานขึ้น 3.24 ล้านวัน มูลค่ายาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาเชื้อดื้อยาคิดเป็น 2,539-6,084 ล้านบาท และมูลค่าการสูญเสียทางเศรษฐกิจโดยรวมไม่ต่ำกว่า 40,000 ล้านบาท หรือคิดเป็นประมาณร้อยละ 0.6 ของผลิตภัณฑ์มวลรวมในประเทศ (Gross Domestic Product: GDP)[44-45] นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะที่มากขึ้นทำให้อัตราการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน โดยพบว่ากลุ่มยาที่ใช้มากที่สุด คือ cephalosporins และ broad-spectrum penicillins และที่สำคัญคือในปัจจุบันมีอัตราการใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่ม carbapenems และ polymyxins ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะด่านสุดท้ายสำหรับรักษาการติดเชื้อดื้อยาที่รุนแรงเพิ่มสูงขึ้น รายงานวิจัยพบการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่สมเหตุผลในสถานพยาบาลทุกระดับของประเทศ มีการใช้ยาปฏิชีวนะโดยไม่จำเป็น จ่ายยาปฏิชีวนะใน 5 กลุ่มโรคและอาการที่ไม่ควรใช้ยาปฏิชีวนะ ได้แก่ influenza, acute viral sinusitis, acute viral pharyngitis, acute viral gastroenteritis และ non-infected skin abrasion หรือแผลถลอกที่ไม่มีการติดเชื้อ เป็นต้น

2.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

2.4.1 *Staphylococcus aureus*[46]

S. aureus เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นบริเวณผิวหนัง (skin flora) เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญในคน โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากเชื้อ *S. aureus* ได้แก่ การติดเชื้อบริเวณผิวหนังและบาดแผล (skin and wound infection) ทำให้ผิวหนังมีอาการอักเสบ บวมแดง เป็นหนอง และเกิดการอุดตันที่รูขุมขนหรือต่อมต่างๆ จนเกิดเป็น ฝี (impetigo) ฝีฝักบัว (carbuncle) กุ้งยิง (stye) การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด (wound infection) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) กลุ่มอาการผิวหนังกำพร้าหลุดลอก (Staphylococcal scalded skin syndrome; SSSS) กลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ (toxic shock syndrome) และการติดเชื้ออื่น ๆ เช่น โรคปอดบวม (pneumonia) และการติดเชื้อในกระแสโลหิต (septicemia)

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือ MRSA เป็นเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาหลายกลุ่ม (multi drug resistant) เช่น penicillins, tetracyclines, sulfonamides และยาในกลุ่ม aminoglycosides เชื้อ MRSA เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่

มีภูมิต้านทานต่ำ เช่น ผู้ป่วยที่มีแผลผ่าตัด แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ผู้ป่วยที่มีการใส่สายสวนปัสสาวะ การใช้เครื่องหายใจ

2.4.2 *Staphylococcus epidermidis* [46]

S. epidermidis เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) บริเวณผิวหนัง ก่อให้เกิดการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีการใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์เข้าสู่ร่างกาย เช่น สายสวนปัสสาวะ ลิ้นหัวใจเทียม การใช้เครื่องช่วยหายใจ การให้สารน้ำทางหลอดเลือด และยังเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะในผู้ป่วยที่นอนพักรักษาตัวในโรงพยาบาล

2.4.3 *Escherichia coli* [46]

E. coli เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ มีรายงานการแยกเชื้อได้บ่อยที่สุดจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย และก่อให้เกิดโรคติดเชื้อได้ทุกระบบในร่างกาย การก่อโรคมีเชื้อบางสายพันธุ์เท่านั้นที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง (diarrheagenic *E. coli*) ได้แก่ enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC) และ diffusely adherent *E. coli* (DAEC) และพบว่าเชื้อ uropathogenic *E. coli* เป็นสาเหตุอันดับหนึ่งของการติดเชื้อที่ระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) การก่อโรคอื่นๆ พบว่า *E. coli* เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้ออันดับต้น ๆ ของทุกระบบในร่างกาย รวมถึงการติดเชื้อในโรงพยาบาล ได้แก่ โลหิตเป็นพิษ เยื่อบุช่องท้องอักเสบ ปอดบวม และการติดเชื้อบริเวณบาดแผล

2.4.4 *Klebsiella pneumoniae* [46]

K. pneumoniae พบตามสิ่งแวดล้อมทั่วไป และตามเยื่อเมือกในร่างกายของคนและสัตว์ บริเวณนาโซฟาริงค์และระบบทางเดินอาหาร เชื้อสามารถก่อโรคในทุกระบบของร่างกาย เนื่องจากมีปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงของโรค ได้แก่ การมีแคปซูลป้องกันถูกจับกินของเม็ดเลือดขาว *K. pneumoniae* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคปอดบวมที่พบได้บ่อย นอกจากนี้พบว่าเป็นสาเหตุการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อที่บาดแผล การติดเชื้อในกระแสเลือด และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ

Extended spectrum β-lactamases (ESBLs)–producing Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง วงศ์ Enterobacteriaceae ที่สามารถสร้างเอนไซม์ extended spectrum β-lactamases (ESBLs) มาทำลายยา ทำให้เชื้อดื้อต่อยาในกลุ่ม β-lactam ได้แก่ penicillin, cephalosporin รวมถึง oxyimino-cephalosporin (3rd generation cephalosporin) และ monobactam ทำให้การรักษาโรคติดเชื้อไม่ได้ผล โดยเชื้อที่มักพบว่ามีการสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้แก่ *E. coli* และ *K. pneumoniae* มีรายงานความชุกของเชื้อ ESBLs- producing *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่รับการรักษาในโรงพยาบาลพัทลุง ระหว่างวันที่ 1 มกราคม 2553 ถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2557 พบอุบัติการณ์ความชุกของเชื้อร้อยละ 33.44 โดยแยกได้จากสิ่งส่งตรวจแทบทุกระบบของร่างกาย ได้แก่ เสมหะ (ร้อยละ 13.54) ปัสสาวะ (ร้อยละ 58.75) เลือด (ร้อยละ 13.17) หนอง (ร้อยละ 13.04) และอื่น ๆ (ร้อยละ 1.50) ขณะที่เชื้อ ESBLs- producing *K. pneumoniae* พบอุบัติการณ์ความชุกของเชื้อ

สูงถึงร้อยละ 38.66 แยกได้จากเสมหะ (ร้อยละ 65.22) ปัสสาวะ (ร้อยละ 21.47) เลือด (ร้อยละ 4.98) หนอง (ร้อยละ 7.31) และอื่น ๆ (ร้อยละ 1.20)[47]

2.4.5 *Acinetobacter baumannii*[46]

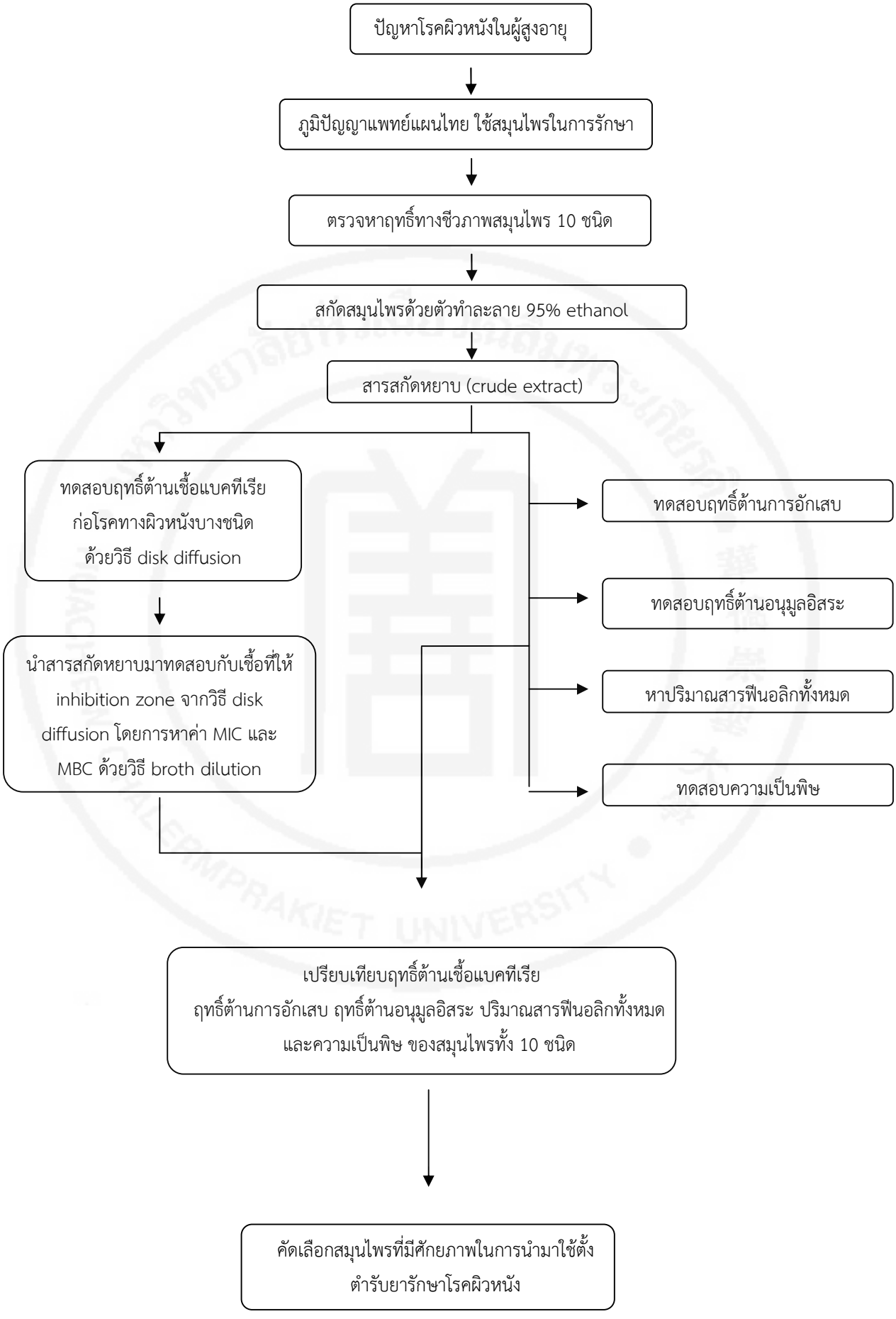
A. baumannii พบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปตามธรรมชาติและในโรงพยาบาล เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล และดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (multidrug-resistant *A. baumannii*; MDR-*AB*) ก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินปัสสาวะ บาดแผลไฟไหม้ แผลกดทับ และการติดเชื้อในกระแสโลหิต

2.4.6 *Pseudomonas aeruginosa*[46]

P. aeruginosa เป็นเชื้อก่อโรคแบบฉวยโอกาส เป็นสาเหตุสำคัญอันดับหนึ่งของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล แหล่งของเชื้อมาจากสิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาล จากผู้ป่วยคนอื่น หรือจากเชื้อที่อยู่ในตัวผู้ป่วยเอง เชื้อสามารถดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (multidrug-resistant) ด้วยกลไกที่หลากหลาย โรคติดเชื้อที่พบบ่อย เช่น การติดเชื้อบริเวณบาดแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด ปอดบวม การติดเชื้อในกระแสโลหิต การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะที่มีการใส่สายสวน การติดเชื้อบริเวณแผลกดทับ

2.5 กรอบแนวคิดในการวิจัย

นำสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ ไปสกัดโดยเทคนิคการสกัดเย็นด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และทดสอบความเป็นพิษ


ปัญหาโรคผิวหนังในผู้สูงอายุ
ภูมิปัญญาแพทย์แผนไทย ใช้สมุนไพรในการรักษา
ตรวจหาฤทธิ์ทางชีวภาพสมุนไพร 10 ชนิด
สกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol
สารสกัดหยาบ (crude extract)
ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังบางชนิดด้วยวิธี disk diffusion
นำสารสกัดหยาบมาทดสอบกับเชื้อที่ให้ inhibition zone จากวิธี disk diffusion โดยการหาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี broth dilution
ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ
ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด
ทดสอบความเป็นพิษ
เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษ ของสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด
คัดเลือกสมุนไพรที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ตั้งตำรับยารักษาโรคผิวหนัง

บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือในการวิจัย

3.1.1 สารเคมี

- 95% ethanol
- Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma-Aldrich, France)
- Normal saline solution (NSS)
- Ciprofloxacin 5 μg/ disk
- Chloramphenicol 30 μg/ disk
- 100 U/ml penicillin
- 100 μg/ml streptomycin
- Folin-Ciocalteu reagent
- Gallic acid
- HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

- Mueller Hinton agar (MHA) (OXOID, UK)
- Mueller Hinton broth (MHB) (OXOID, UK)
- Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)

3.1.3 วัสดุอุปกรณ์

- Sterile blank disk ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm
- Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml
- Automatic pipette tip
- Automatic pipette (Gilson)
- Calibrated loop ขนาด 1 μl และ 10 μl
- Petri-dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 mm
- 96-wells plates

3.1.4 เครื่องมือ

- Rotary Evaporator (BUCHI, Canada)
- Freeze dryer (SciQuip, United Kingdom)
- Incubator (Sheldon, United States of America)
- Freezer อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

- Hot air oven (Memmert, Germany)
- Autoclave (TOMY, Japan)
- CO_2 incubator
- EPOCH2 microplate reader spectrophotometer (BioTek, America)

3.2 ตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษามีทั้งหมด 10 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่มแก้อาการผื่นคัน ตามตำราแพทย์แผนไทย โดยพืชแต่ละชนิดได้ผ่านการพิสูจน์เอกลักษณ์ของพืชโดย อาจารย์เบญจวรรณ สมบูรณ์สุข (สาขาวิชาเภสัชกรรมและเภสัชเวท โรงเรียนแพทย์แผนโบราณ วัดพระเชตุพนวิมลมังคลารามราชวรมหาวิหาร (วัดโพธิ์) และโรงเรียนเพ็ญแขแพทย์แผนไทย

ชื่อสมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่มาของสมุนไพร	ส่วนที่ใช้
1. ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz	อ. บางพลี จ. สมุทรปราการ	ใบสด
2. พลู	*Piper betle* (Linn.)	อ. บางพลี จ. สมุทรปราการ	ใบสด
3. บัวบก	*Centella asiatica* (Linn.) Urban	อ. เมือง จ. ระยอง	ใบสด
4. เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)	*Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau.	อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี	ใบสด
5. เสลดพังพอนตัวผู้	*Barleria lupulina* Lindl.	อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี	ใบสด
6. สำมะงา	*Volkameria inermis* (Linn.)	อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี	ใบสด
7. เหงือกปลาหมอ	*Acanthus ebracteatus* Vahl	อ. เมือง จ. สมุทรปราการ	ใบสด
8. ฟ้าทะลายโจร	*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees	อ. เมือง จ. ระยอง	ใบสด
9. กระเบา	*Hydnocarpus anthelminthicus* Pieere ex Laness.	อ. ขลุง จ.จันทบุรี	ผลแห้ง
10.ชุมเห็ดเทศ	*Cassia alata* (L.) Roxb.	อ. บางเสาธง จ. สมุทรปราการ	ใบสด

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 สารสกัดสารจากสมุนไพรโดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย

1) นำสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษามาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ
2) ชั่งสมุนไพรที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้ว 500 g เติม 95% ethanol ปริมาตร 500 ml ปั่นให้ละเอียด นำใส่ภาชนะสีชาแล้วปิดให้สนิท ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่ปราศจากแสงเป็นเวลา 7 วัน โดยเขย่าเป็นประจำ เมื่อครบเวลานำส่วนผสมที่ได้มา

แยกส่วนตะกอนออกจากสารสกัดโดยการกรองผ่านผ้าขาวบาง และกระดาษกรอง Whatman No. 1 ตามลำดับ กากที่เหลือนำมาสกัดซ้ำด้วย 95% ethanol จนครบ 3 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหย 95% ethanol ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง freeze dryer ที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้เป็นสารสกัดหยาบ (crude extracts)

3) นำสารสกัดหยาบไปชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณค่าร้อยละผลผลิต (% yield) จากสูตร

% yield = weight of extract recovered / weight of plant x 100

4) เก็บรักษาสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบ

3.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร

1) การเตรียมสารสกัดหยาบสำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมสารสกัดที่จะทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 512 mg/ml โดยนำส่วนของสารสกัดหยาบมาละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) ด้วยวิธีปราศจากเชื้อ

2) เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

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)

ทดสอบยืนยันเชื้อทั้ง 12 สายพันธุ์ โดยนำมาทดสอบและพิสูจน์โดยชุดทดสอบชีวเคมี

3) การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disk diffusion ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Bereksi และคณะ[48]

- นำเชื้อที่จะทดสอบมาปรับปริมาณเชื้อใน NSS ให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard (1.5×10^8 CFU/ml) แล้วมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) ในลักษณะเหมือนกับการทำ antimicrobial susceptibility test

- ดูดสารสกัดหยาบจากสมุนไพรความเข้มข้น 512 mg/ml ปริมาตร 10 μl หยดลงตรงกลางแผ่นกระดาษกลม (paper disk) ปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm ซึ่งจะมีปริมาณสารสกัด 5.12 mg/disk ทิ้งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิห้อง
- นำ paper disk บรรจุสารสกัดที่เตรียมไว้มาวางลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการกระจายเชื้อไว้แล้ว โดยในการทดสอบจะใช้ตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 10 μl บน paper disk เป็นตัวควบคุมผลลบ (negative control) ciprofloxacin 5 μg/disk และ chloramphenicol 30 μg/disk เป็นตัวควบคุมผลบวก (positive control)
- นำไปบ่มที่ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น หน่วยเป็น mm ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน (three-independent experiment) และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4) การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (minimal inhibitory concentration: MIC) และฆ่าเชื้อ (minimal bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี broth dilution assay (2-fold serial dilution) ที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Sahin และคณะ[49]

โดยทำการทดสอบเฉพาะกับเชื้อที่เกิด inhibition zone ในการทดสอบ disk diffusion

การหาค่า MIC ทำโดยเจือจางสารสกัดหยาบสมุนไพรด้วยอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) ให้มีความเข้มข้นลดลงแบบ 2 เท่า (two-fold serial dilution) ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 และ 0.125 mg/ml ตามลำดับ เติมสารสกัดที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.5 ml ลงในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 mm ความเข้มข้นละ 1 หลอด จากนั้นเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบความเข้มข้น 10^6 CFU/ml ลงในหลอดทดลองทุกหลอด หลอดละ 0.5 ml เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยในการทดสอบใช้หลอดทดลองที่มีเฉพาะเชื้อกับอาหาร MHB เป็น positive control และหลอดทดลองที่มีเฉพาะอาหาร MHB เพียงอย่างเดียวเป็น negative control ทำการอ่านผลค่า MIC โดยดูความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบกับ positive และ negative control โดยค่า MIC จะเท่ากับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (หลอดที่อาหารไม่ขุ่น)

การหาค่า MBC ทำโดยนำอาหารจากหลอดทดลองที่อาหารไม่ขุ่นทุกหลอดมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร tryptic soy agar (TSA) โดยใช้ปริมาตร 100 μl จากนั้นนำไปบ่มที่ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยดูการเจริญของเชื้อบนอาหาร TSA และอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) (ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย หรือยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ร้อยละ 99.9)

3.3.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ด้วยวิธีการยับยั้งการหลั่ง nitric oxide[50]

เลี้ยงเซลล์มาโครฟาจชนิด RAW 264.7 จำนวน 1 x 10^5 cells/well ใน 96-wells plates โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์คือ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่ประกอบด้วย 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin (100 U/ml) และ streptomycin (100 μg/ml) โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ในตู้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95% เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูดสารละลายเก่าออก เติม lipopolysaccharide (LPS) 100 ng/ml ลงไปหลุมละ 100 μl (เพื่อกระตุ้นการสร้าง NO จากเอนไซม์ iNOS และ COX-2) เฉพาะหลุม control และ sample ส่วน blank จะใส่ DMEM จากนั้นเติมสารสกัดจากสมุนไพร จำนวน 100 μl ในหลุมของ sample และ blank of sample ส่วนหลุม control และ blank of control ให้เติม DMEM แล้วนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูด supernatant แต่ละหลุมมา 100 μl ใส่ใน 96-wells plates เติม Griess reagent หลุมละ 100 μl วัดค่าดูดกลืนแสง (optical density; OD) ที่ 540 nm ส่วน supernatant ที่เหลือใน plate แรกเติม MTT หลุมละ 10 μl แล้วนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง คว่ำจานเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก และเติม DMSO ปริมาตร 150 μl เขย่าแล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 และ 620 nm เพื่อดูความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์ ถ้าเซลล์รอดมากกว่า 80% ในความเข้มข้นนั้น จึงจะวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ในการทดสอบนี้ใช้สาร apigenin ความเข้มข้น 25 μM เป็น positive control และใช้ nitrate เป็นสารมาตรฐานในการทำกราฟมาตรฐาน

การคำนวณ % inhibition of NO production มีดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = \frac{A - B}{A - C} \times 100$$

โดยที่ A - C: NO_2 - concentration (μM)

A: LPS (+), sample (-)

B: LPS (+), sample (+)

C: LPS (-), sample (-)

3.3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca, Sortino, Politi, Morelli และ Mendez[51] โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือสารละลาย 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) จะเป็นสารละลายสีม่วงและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ

(antioxidant) จะทำให้สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ทำโดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.02 mg/ml) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 mg/ml) ปริมาตร 20 μl กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 0.05 mM ปริมาตร 180 μl ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง EPOCH2 microplate reader spectrophotometer (BioTek, America) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH radical inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีการทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

3.3.5 การหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมุนไพร ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric [52]

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็น tungsten และ molybdenum blue ซึ่งมีสีน้ำเงิน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid และรายงานผลเป็นปริมาณ Gallic acid equivalent หน่วย mg GAE/g Extract

3.3.6 การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT colorimetric assay [53]

เซลล์ปกติเพาะเลี้ยง vero จำนวน 5 x 10^3 cells/well เลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม จำนวน 75 μl/well ทำการเลี้ยงในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 incubator) 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 95% นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเตรียมสารสกัดสมุนไพรกลุ่มแก้ผื่นคันที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และนำมาเติมลงในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงอยู่ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ข้างต้น หลุมละ 75 μl และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ dimethyl sulfoxide (DMSO) ลงไปในหลุมของชุดควบคุม (vehicle control) หรือหลุมที่ไม่มีสารทดสอบผสมอยู่ ให้เท่ากับชุดทดสอบ โดยร้อยละของ DMSO ไม่ควรเกิน 2% และนำไปบ่มที่ตู้ซึ่งมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาเติม MTT dye ลงไปทุกหลุม ๆ ละ 15 μl และนำไปบ่มต่อในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการคว่ำ microtiter plate เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ และ MTT ส่วนเกินที่อยู่ในหลุมออกให้หมดและให้เหลือแต่เพียงผลึก formazan ที่ก้นหลุมเท่านั้น จากนั้นเติม DMSO ลงไปทุกหลุม ๆ ละ 150 μl เพื่อทำการละลายผลึก formazan หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 nm นำค่าที่ได้มาทำการคำนวณหาร้อยละของการมีชีวิตรอดของเซลล์ (%cell viability) โดยใช้สูตรดังนี้

% Cell viability = (OD ของหลุมทดสอบ/ OD ของหลุม vehicle control) x 100

ทำการหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ % cell viability ในสารที่ทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำมาสร้างเป็นเส้นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % cell viability กับปริมาณความเข้มข้นของสาร แล้วทำการวัดค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายไปร้อยละ 50 (inhibitory concentration หรือ IC_{50})

3.4 การวิเคราะห์และแปลผลข้อมูล

3.4.1 คำนวณ % yield ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร จากสูตร

% yield = weight of extract recovered / weight of plant x 100

3.4.2 รายงานฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของสารสกัดหยาบสมุนไพรแต่ละชนิด โดยรายงานเป็นค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone หน่วยเป็น mm ± SD

3.4.3 รายงานค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) หน่วยเป็น mg/ml

3.4.4 รายงานฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด รวมถึงความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรแต่ละชนิด

3.4.5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ศึกษา เพื่อคัดเลือกสมุนไพรที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ตั้งตำรับยารักษาโรคผิวหนัง เพื่อต่อยอดพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งานต่อไป

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากสมุนไพรโดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย

การวิจัยนี้ได้ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากตัวอย่างสมุนไพรทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ ใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย โดยนำส่วนของสมุนไพรปั่นผสมกับ 95% ethanol นำใส่ภาชนะสีชาแล้วปิดให้สนิท ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่ปราศจากแสงเป็นเวลา 7 วัน โดยเขย่าเป็นประจำ เมื่อครบเวลานำส่วนผสมที่ได้มาแยกส่วนตะกอนออกจากสารสกัดโดยการกรองผ่านผ้าขาวบาง และกระดาษกรอง Whatman No. 1 ตามลำดับ กากที่เหลือนำมาสกัดซ้ำด้วย 95% ethanol จนครบ 3 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหย 95% ethanol ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง freeze dryer ที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้เป็นสารสกัดหยาบ (crude extracts) นำสารสกัดหยาบไปชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณค่าร้อยละผลผลิต (% yield) จากสูตร

$$\% \text{ yield} = \text{weight of extract recovered} / \text{weight of plant} \times 100$$

พบว่าร้อยละผลผลิต (% yield) ของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่ศึกษาทั้ง 10 ชนิดอยู่ระหว่างร้อยละ 1.34 ถึงร้อยละ 8.63 โดยสมุนไพรที่ให้ % yield สูงสุดคือบัวบก (ร้อยละ 8.63) รองลงมาคือชุมเห็ดเทศ (ร้อยละ 6.84) และสมุนไพรที่ % yield ต่ำสุดคือฟ้าทะลายโจร (ร้อยละ 1.34) แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลผลิต (% yield) ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด

ชื่อสมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	ร้อยละของผลผลิต (% yield)
1. ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz	ใบสด	3.43
2. พลู	*Piper betle*(Linn.)	ใบสด	3.22
3. บัวบก	*Centella asiatica* (Linn.) Urban	ใบสด	8.63
4. เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)	*Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau.	ใบสด	2.47
5. เสลดพังพอนตัวผู้	*Barleria lupulina* Lindl.	ใบสด	4.56
6. สำมะงา	*Volkameria inermis* (Linn.)	ใบสด	3.16
7. เหงือกปลาหมอ	*Acanthus ebracteatus* Vahl	ใบสด	3.78
8. ฟ้าทะลายโจร	*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. Ex Nees	ใบสด	1.34
9. กระเบา	*Hydnocarpus anthelminthicus* Pieere ex Laness.	ผลแห้ง	4.40
10. ชุมเห็ดเทศ	*Cassia alata* (L.) Roxb.	ใบสด	6.84

4.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร

4.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disk diffusion

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ ต่อเชื้อแบคทีเรียจำนวน 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) ด้วยวิธี disk diffusion ทำการทดสอบควบคู่ไปกับยามาตรฐาน ciprofloxacin 5 µg/disk และ chloramphenicol 30 µg/disk เพื่อควบคุมคุณภาพวิธีการทดสอบ disk diffusion และตัวทำละลาย dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นตัวควบคุมผลลบ (negative control)

โดยพิจารณาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจากค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสที่เกิดขึ้น (inhibition zone) ผลการควบคุมคุณภาพวิธีการทดสอบ disk diffusion โดยทดสอบยา ciprofloxacin 5 µg/disk (CIP5) กับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923 (quality control range; 22-30 mm), *E. coli* ATCC 25922 (quality control range; 29-38 mm) และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 (quality control range; 22-33 mm) พบว่าค่า inhibition zone อยู่ในช่วงการควบคุมคุณภาพ (quality control range) เท่ากับ 25.33±0.52, 34.00±1.41 และ 29.00±0.00 mm ตามลำดับ ผลการควบคุมคุณภาพวิธีการทดสอบ disk diffusion โดยทดสอบยา chloramphenicol 30 µg/disk (C30) กับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923 (quality control range; 19-26 mm) และ *E. coli* ATCC 25922 (quality control range; 21-27 mm) พบว่าค่า inhibition zone อยู่ในช่วงการควบคุมคุณภาพ (quality control range) เท่ากับ 26.00±2.00 และ 23.00±0.00 mm ตามลำดับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าคุณภาพของการทดสอบครั้งนี้มีความน่าเชื่อถือ ผ่านมาตรฐาน และเมื่อทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่ใช้ในศึกษาครั้งนี้ พบว่ายา ciprofloxacin มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีที่สุดคือ *S. epidermidis* มี inhibition zone เท่ากับ 33.00±0.89 mm รองลงมาคือ MSSA, *S. aureus* ATCC 29213 และ *S. aureus* ATCC 25923 มี inhibition zone เท่ากับ 30.00±1.00, 27.00±0.00 และ 25.33±0.52 mm ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้ง MRSA ได้ และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุดคือ *E. coli* ATCC 25922 โดยมี inhibition zone เท่ากับ 34.00 ± 1.41 mm รองลงมาคือ *P. aeruginosa, K. pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL), *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* (CRE) และ *E. coli* (ESBL) โดยมี inhibition zone เท่ากับ 32.33±1.37, 29.67±0.52, 29.00±0.00, 12.00±1.00 และ 6.83±0.68 mm ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้ง *A. baumannii* ได้ ขณะที่ยา chloramphenicol ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด โดยมี inhibition zone เท่ากับ 31.33±1.53 mm รองลงมาคือ *S. aureus* ATCC 29213, MSSA, *S. aureus* ATCC 25923 และ MRSA โดยมี inhibition zone เท่ากับ 28.33±1.15, 28.33±1.53, 26.00±2.00 และ 22.67±1.15 mm ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุดคือ *E. coli* (ESBL) และ *K. pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL) โดยมี inhibition zone เท่ากับ 27.67±0.58 mm รองลงมาคือ *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* (CRE), *P. aeruginosa* และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 มี inhibition zone เท่ากับ 23.00±0.00, 15.33±0.58, 13.33±1.53 และ 11.67±2.52 mm ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้ง *A. baumannii* ได้ (แสดงดังตารางที่ 4.2) จากผลการทดสอบตัวทำละลาย DMSO ซึ่งเป็นตัวควบคุมผลลบ (negative control) พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบ (แสดงดังตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด

สารสกัดสมุนไพร/ สารควบคุมผล	ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร) ±SD											
	แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ						
	Staphylococcus aureus ATCC 25923	*Staphylococcus aureus* ATCC 29213	Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)	Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA)	*Staphylococcus epidermidis*	*Escherichia coli* ATCC 25922	*Escherichia coli* (ESBL)	*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL)	*Klebsiella pneumoniae* (CRE)	*Acinetobacter baumannii*	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	*Pseudomonas aeruginosa*
ทองพันชั่ง	10.67±1.03	10.67±0.52	13.00±0.89	12.33±1.52	13.00±0.89	NI	NI	NI	NI	8.33±0.52	7.00±0.89	7.00±0.00
พลู	23.33±0.52	21.33±0.52	22.00±0.89	19.67±0.58	32.00±2.37	16.00±1.00	16.67±1.03	18.00±0.89	14.00±0.00	24.67±0.52	15.33±0.52	13.67±1.37
บัวบก	7.00±0.00	6.67±0.52	7.00±0.00	NI	NI	NI	NI	NI	NI	7.33±0.52	NI	NI
เสลดพังพอน ตัวเมีย (พญายอ)	8.00±2.65	6.66±1.15	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	7.33±1.53	NI	NI
เสลดพังพอนตัวผู้	22.00±1.00	22.66±1.53	22.00±1.00	13.33±1.70	28.66±2.31	12.00±2.00	12.00±1.73	12.00±1.00	10.33±0.58	17.00±0.00	14.33±0.58	13.33±0.58
สำมะงา	16.67±1.15	12.33±0.58	13.00±1.00	8.33±0.58	18.33±2.08	NI	NI	NI	NI	10.00±1.00	NI	NI
เหงือกปลาหมอ	11.5±1.18	11.83±0.68	11.00±0.00	NI	13.67±1.37	NI	NI	6.33±0.52	NI	9.00±1.55	NI	7.00±0.00
ฟ้าทะลายโจร	13.00±1.00	13.00±1.00	13.00±1.00	10.00±1.00	15.00±2.65	NI	NI	NI	NI	7.67±1.53	NI	NI
กระเบา	NI	NI	9.33±0.58	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	7.33±0.58	NI
ชุมเห็ดเทศ	10.70±2.50	13.40±2.10	10.70±0.58	8.70±0.58	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
DMSO (negative control)	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Ciprofloxacin 5 µg (CLSI quality control range) *	25.33±0.52 (22-30)	27.00±0.00	NI	30.00±1.00	33.00±0.89	34.00±1.41 (29-38)	6.83±0.68	29.67±0.52	12.00±1.00	NI	29.00±0.00 (25-33)	32.33±1.37
Chloramphenicol 30 µg (CLSI quality control range) *	26.00±2.00 (19-26)	28.33±1.15	22.67±1.15	28.33±1.53	31.33±1.53	23.00±0.00 (21-27)	27.67±0.58	27.67±0.58	15.33±0.58	NI	11.67±2.52	13.33±1.53

หมายเหตุ : NI แทน no inhibition zone (ไม่เกิด inhibition zone กับแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ)

: ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ (triplicate)

: * CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory standards Institute; 2020 p: 156.

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบของสมุนไพรที่ศึกษาทั้ง 10 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้จำนวน 2-12 สายพันธุ์ โดยสารสกัดหยาบสมุนไพรส่วนใหญ่ยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ยกเว้นสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศที่ยับยั้งได้เฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA และ MSSA แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ สารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งเชื้อได้ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษา มีค่าเฉลี่ยของ inhibition zone อยู่ระหว่าง 13.67±1.37 ถึง 32.00±2.37 mm และระหว่าง 10.33±0.58 ถึง 28.66±2.31 mm ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากทองพันชั่ง (ยับยั้งได้ 8 สายพันธุ์) เหงือกปลาหมอ (ยับยั้งได้ 7 สายพันธุ์) สำมะงา (ยับยั้งได้ 6 สายพันธุ์) ฟ้าทะลายโจร (ยับยั้งได้ 6 สายพันธุ์) บัวบก (ยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์) ชุมเห็ดเทศ (ยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์) และเสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) (ยับยั้งได้ 3 สายพันธุ์) ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดหยาบจากกระเบายับยั้งเชื้อได้เพียง 2 สายพันธุ์ (แสดงดังตารางที่ 4.2)

สารสกัดหยาบจากพลูยับยั้งเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบ โดยยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* (32.00±2.37 mm) ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *A. baumannii* (24.67±0.52 mm) และยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้น้อยที่สุด (13.67±1.37 mm)

สารสกัดหยาบจากเสลดพังพอนตัวผู้สามารถยับยั้งเชื้อได้ทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบ เช่นเดียวกับสารสกัดหยาบจากพลู โดยยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* (28.66±2.31 mm) ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *S. aureus* ATCC 29213 (22.66±1.53 mm) และยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* (CRE) ได้น้อยที่สุด (10.33±0.58 mm)

สารสกัดหยาบทองพันชั่งยับยั้งได้ 8 สายพันธุ์ ได้แก่ แกรมบวก 5 สายพันธุ์ (*S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA, MSSA, *S. epidermidis*) แกรมลบ 3 สายพันธุ์ (*A. baumannii, P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa*) โดยยับยั้งเชื้อแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบมีค่าเฉลี่ยของ inhibition zone อยู่ระหว่าง 10.67±0.52 ถึง 13.00±0.89 mm และระหว่าง 7.00±0.00 ถึง 8.33±0.52 mm ตามลำดับ

สารสกัดหยาบเหงือกปลาหมอยับยั้งได้ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ แกรมบวก 4 สายพันธุ์ (*S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA, *S. epidermidis*) แกรมลบ 3 สายพันธุ์ (*K. pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL), *A. baumannii, P. aeruginosa*) โดยยับยั้งเชื้อแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบมีค่าเฉลี่ยของ inhibition zone อยู่ระหว่าง 11.00±0.00 ถึง 13.67±1.37 mm และระหว่าง 6.33±0.52 ถึง 9.00±1.55 mm ตามลำดับ

สารสกัดหยาบสำมะงายับยั้งได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ แกรมบวก 5 สายพันธุ์ (*S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA, MSSA, *S. epidermidis*) มีค่า inhibition zone อยู่ระหว่าง 8.33±0.58 ถึง 18.33±2.08 mm และแกรมลบ 1 สายพันธุ์ คือ *A. baumannii* มีค่า inhibition zone เท่ากับ 10.00±1.00 mm

สารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรยับยั้งได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ แกรมบวก 5 สายพันธุ์ (*S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA, MSSA, *S. epidermidis*) มีค่า inhibition zone อยู่ระหว่าง 10.00±1.00 ถึง 15.00±2.56 mm และแกรมลบ 1 สายพันธุ์ คือ *A. baumannii* มีค่า inhibition zone เท่ากับ 7.67±1.53 mm

สารสกัดหยาบบัวบกยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ แกรมบวก 3 สายพันธุ์ (*S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA) มีค่า inhibition zone อยู่ระหว่าง 6.67±0.52 ถึง 7.00±1.00 mm และแกรมลบ 1 สายพันธุ์ คือ *A. baumannii* มีค่า inhibition zone เท่ากับ 7.33±0.52 mm

สารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์ เฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA และ MSSA มีค่า inhibition zone อยู่ระหว่าง 8.70±0.58 ถึง 13.40±2.10 mm แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้

สารสกัดหยาบเสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) ยับยั้งได้ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213 และ *A. baumannii* มีค่า inhibition zone เท่ากับ 8.00±2.56, 6.66±1.15 และ 7.33±1.53 mm ตามลำดับ

สารสกัดหยาบกระเบายับยั้งได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ MRSA และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 มีค่า inhibition zone 9.33±0.58 และ 7.33±0.58 mm ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบของสมุนไพรที่ศึกษาทั้ง 10 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ได้แตกต่างกัน ดังนี้

- การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 9 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร และชุมเห็ดเทศ (ยกเว้นกระเบา) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ โดยสารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 23.33±0.52 และ 22.00±1.00 mm ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของยามาตรฐาน ciprofloxacin 5 µg/disk (25.33±0.52 mm) และ chloramphenicol 30 µg/disk (26.00±2.00 mm) พบว่ามีขนาดใกล้เคียงกัน โดยมีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ต่อยา ciprofloxacin (CIP5) และ chloramphenicol (C30) เท่ากับ 0.92 CIP5/0.90 C30 และ 0.87 CIP5/0.85 C30 ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 29213

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 9 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร และชุมเห็ดเทศ (ยกเว้นกระเบา) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 29213 ได้ โดยสารสกัดหยาบจากเสลดพังพอนตัวผู้และพลูยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 22.66±1.53 และ

21.33±0.53 mm ตามลำดับ มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบเสลดพังพอนตัวผู้และพลู ต่อยา ciprofloxacin (27.00±0.00 mm) และ chloramphenicol (28.33±1.15 mm) เท่ากับ 0.84 CIP5/0.80 C30 และ 0.79 CIP5/0.75 C30 ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) (clinical isolate)

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 9 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ (ยกเว้นเสลดพังพอนตัวเมีย) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA ได้ โดยสารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 22.00±0.89 และ 22.00±1.00 mm ตามลำดับ ซึ่งมีขนาด inhibition zone ใกล้เคียงกับยา chloramphenicol (22.67±1.15 mm) มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ต่อยา chloramphenicol เท่ากับ 0.97 C30 โดยยา ciprofloxacin ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (no inhibition zone) ขณะที่สารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 9 ชนิด ยับยั้งเชื้อได้ มีค่า inhibition zone อยู่ระหว่าง 7.00±0.00 ถึง 22.00±1.00 mm (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ methicillin- susceptible *S. aureus* (MSSA) (clinical isolate)

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 6 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา ฟ้าทะลายโจร และชุมเห็ดเทศ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA ได้ โดยสารสกัดหยาบจากพลูยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 19.67±0.58 มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูต่อยา ciprofloxacin (30.00±1.00 mm) และ chloramphenicol (28.33±1.53 mm) เท่ากับ 0.66 CIP5/0.69 C30 (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* (clinical isolate)

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 6 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ และฟ้าทะลายโจร ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้ โดยสารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 32.00±2.37 และ 28.66±2.31 mm ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของยา ciprofloxacin (33.00±0.89 mm) และ chloramphenicol (31.33±1.53 mm) พบว่ามีขนาดใกล้เคียงกัน โดยมีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ต่อยา ciprofloxacin และ chloramphenicol เท่ากับ 0.97 CIP5/1.02 C30 และ 0.87 CIP5/0.91 C30 ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพรเพียง 2 ชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ได้ ได้แก่ พลู และเสลดพังพอนตัวผู้ มีค่า inhibition zone เท่ากับ 16.00±1.00 และ 12.00±2.00 mm ตามลำดับ มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูและเสลดพังพอนตัวผู้

ต่อยา ciprofloxacin (34.00±1.41 mm) และ chloramphenicol (23.00±0.00 mm) เท่ากับ 0.47 CIP5/0.70 C30 และ 0.33 CIP5/0.52 C30 ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ ESBLs-producing *E. coli* (clinical isolate)

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพรเพียง 2 ชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ ESBLs-producing *E. coli* (clinical isolate) ได้ ได้แก่ พลูและเสลดพังพอนตัวผู้ มีค่า inhibition zone เท่ากับ 16.67±1.03 และ 12.00±1.73 mm ตามลำดับ มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ต่อยา ciprofloxacin (6.83±0.68 mm) และ chloramphenicol (27.67±0.58 mm) เท่ากับ 2.44 CIP5/0.60 C30 และ 1.73 CIP5/0.43 C30 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิด ยับยั้งการเจริญของเชื้อ ESBLs-producing *E. coli* (clinical isolate) ได้ดีกว่ายา ciprofloxacin (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ATCC 700603 (ESBLs-producing strain)

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ พลู เสลดพังพอนตัวผู้ และเหงือกปลาหมอ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ATCC 700603 (ESBLs-producing strain) ได้ โดยสารสกัดหยาบจากพลูยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 18.00±0.89 mm มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูต่อยา ciprofloxacin (29.67±0.52 mm) และ chloramphenicol (27.67±0.58 mm) เท่ากับ 0.61 CIP5/0.65 C30 ขณะที่สารสกัดหยาบจากเสลดพังพอนตัวผู้ (12.00±1.00 mm) และเหงือกปลาหมอ (6.33±0.52 mm) มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบต่อยา ciprofloxacin และ chloramphenicol เท่ากับ 0.41 CIP5/0.43 C30 และ 0.21CIP5/0.23 C30 ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* (CRE) (clinical isolate)

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพรเพียง 2 ชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* (CRE) (clinical isolate) ได้ ได้แก่ พลูและเสลดพังพอนตัวผู้ มีค่า inhibition zone เท่ากับ 14.00±0.00 และ 10.33±0.58 mm ตามลำดับ โดยฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบจากพลูมีขนาดใกล้เคียงกันยา ciprofloxacin (12.00±1.00 mm) และ chloramphenicol (15.33±0.58 mm) มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบต่อยา ciprofloxacin และ chloramphenicol เท่ากับ 1.17 CIP5/0.93 C30 ขณะที่สารสกัดหยาบจากเสลดพังพอนตัวผู้มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบต่อยา ciprofloxacin และ chloramphenicol เท่ากับ 0.86CIP5/0.67 C30 (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ *A. baumannii* (clinical isolate)

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 8 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ และฟ้าทะลายโจร (ยกเว้นกระเบาและชุมเห็ดเทศ) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. baumannii* (clinical isolate) ได้ มีค่า inhibition zone อยู่ระหว่าง 7.33±0.52 ถึง 24.67±0.52 mm ขณะที่ยา ciprofloxacin และ chloramphenicol

ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (no inhibition zone) โดยสารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 24.67±0.52 และ 17.00±0.00 mm ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู เสลดพังพอนตัวผู้ และกระเบา ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ โดยสารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 15.33±0.52 และ 14.33±0.58 mm ตามลำดับ มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ต่อยา ciprofloxacin (29.00±0.00 mm) และ chloramphenicol (11.67±2.52 mm) เท่ากับ 0.53 CIP5/1.31 C30 และ 0.49 CIP5/1.23 C30 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิด ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ดีกว่ายา chloramphenicol (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

- การยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* (clinical isolate)

มีสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ทองพันชั่ง พลู เสลดพังพอนตัวผู้ และเหงือกปลาหมอ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* (clinical isolate) ได้ โดยสารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า inhibition zone เท่ากับ 13.67±1.37 และ 13.33±0.58 mm ตามลำดับ มีอัตราส่วน inhibition zone ของสารสกัดหยาบพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ต่อยา ciprofloxacin (32.33±1.37 mm) และ chloramphenicol (13.33±1.53 mm) เท่ากับ 0.42 CIP5/1.01 C30 และ 0.41 CIP5/1.00 C30 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิด ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ใกล้เคียงกับยา chloramphenicol (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3)

ตารางที่ 4.3 อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรเทียบกับยามาตรฐาน ciprofloxacin 5 µg/disk และ chloramphenicol 30 µg/disk

สารสกัดสมุนไพร	อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบสมุนไพรเทียบกับยามาตรฐาน ciprofloxacin 5 µg/disk และ chloramphenicol 30 µg/disk																							
	แบคทีเรียแกรมบวก										แบคทีเรียแกรมบวก													
	Staphylococcus aureus ATCC 25923		*Staphylococcus aureus* ATCC 29213		Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)		Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA)		*Staphylococcus epidermidis*		*Escherichia coli* ATCC 25922		*Escherichia coli* (ESBL)		*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL)		*Klebsiella pneumoniae* (CRE)		*Acinetobacter baumannii*		*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853		*Pseudomonas aeruginosa*	
	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30	CIP5	C30
ทองพันชั่ง	0.42	0.41	0.40	0.38	2.17*	0.57	0.41	0.44	0.39	0.41	-	-	-	-	-	-	-	-	1.39*	1.39#	0.24	0.60	0.22	0.53
พลู	0.92	0.90	0.79	0.75	3.67*	0.97	0.66	0.69	0.97	1.02	0.47	0.70	2.44	0.60	0.61	0.65	1.17	0.91	4.11*	4.11#	0.53	1.31	0.42	1.03
บัวบก	0.28	0.27	0.25	0.24	1.17*	0.31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.22*	1.22#	-	-	-	-
เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)	0.32	0.31	0.25	0.24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.22*	1.22#	-	-	-	-
เสลดพังพอนตัวผู้	0.87	0.85	0.84	0.80	3.67*	0.97	0.44	0.47	0.87	0.91	0.33	0.52	1.76	0.43	0.41	0.43	0.86	0.67	2.83*	2.83#	0.49	1.23	0.41	1.00
สำมะงา	0.66	0.64	0.46	0.44	2.17*	0.57	0.28	0.29	0.56	0.59	-	-	-	-	-	-	-	-	1.67*	1.67#	-	-	-	-
เหงือกปลาหมอ	0.45	0.44	0.44	0.42	1.83*	0.49	-	-	0.41	0.44	-	-	-	-	0.21	0.23	-	-	1.50*	1.50#	-	-	0.22	0.53
ฟ้าทะลายโจร	0.51	0.50	0.48	0.46	2.17*	0.57	0.33	0.35	0.45	0.49	-	-	-	-	-	-	-	-	1.28*	1.28#	-	-	-	-
กระเบา	-	-	-	-	1.56*	0.41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.25	0.63	-	-
ชุมเห็ดเทศ	0.42	0.41	0.50	0.47	1.78*	0.47	0.29	0.31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : CIP5 แทน อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบสมุนไพรเทียบกับยา ciprofloxacin 5 µg/disk

: C30 แทน อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบสมุนไพรเทียบกับยา chloramphenicol 30 µg/disk

: - แทน สารสกัดหยาบสมุนไพรไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ (no inhibition zone) กับแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ ด้วยวิธี disk diffusion

: * แทน ciprofloxacin 5 µg/disk ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ (no inhibition zone) ขณะที่สารสกัดหยาบสมุนไพรสามารถยับยั้งเชื้อได้

: # แทน chloramphenicol 30 µg/disk ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ (no inhibition zone) ขณะที่สารสกัดหยาบสมุนไพรสามารถยับยั้งเชื้อได้

4.2.2 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (minimal inhibitory concentration: MIC) และฆ่าเชื้อ (minimal bactericidal concentration: MBC)

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) ด้วยวิธี broth dilution assay (2-fold serial dilution) โดยสารสกัดหยาบสมุนไพรแต่ละชนิดจะนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อเกิด inhibition zone จากวิธี disk diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.25 ถึงมากกว่า 256 mg/ml และค่า MBC อยู่ระหว่าง 2 ถึงมากกว่า 256 mg/ml โดยสารสกัดหยาบจากพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งเชื้อได้ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษาทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ มีค่า MIC 0.5-8 mg/ml และค่า MBC 2-8 mg/ml สารสกัดหยาบจากเสลดพังพอนตัวผู้สามารถยับยั้งเชื้อได้ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษาเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบจากพลู มีค่า MIC 4-64 mg/ml และค่า MBC 4->256 mg/ml ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากพลู สารสกัดหยาบจากทองพันชั่ง (ยับยั้งได้ 8 สายพันธุ์) มีค่า MIC 0.25-32 mg/ml และค่า MBC 32-64 mg/ml เหงือกปลาหมอ (ยับยั้งได้ 7 สายพันธุ์) มีค่า MIC 2-32 mg/ml และค่า MBC 8-64 mg/ml สำมะงา (ยับยั้งได้ 6 สายพันธุ์) มีค่า MIC 2->256 mg/ml และค่า MBC 4->256 mg/ml ฟ้าทะลายโจร (ยับยั้งได้ 6 สายพันธุ์) มีค่า MIC 2-16 mg/ml และค่า MBC 32->256 mg/ml บัวบก (ยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์) มีค่า MIC 8-64 mg/ml และค่า MBC 32-256 mg/ml ชุมเห็ดเทศ (ยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์) มีค่า MIC เท่ากับ 256 mg/ml และค่า MBC เท่ากับ 256 mg/ml เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) (ยับยั้งได้ 3 สายพันธุ์) มีค่า MIC 32-64 mg/ml และค่า MBC 64->256 mg/ml และกระเบา (ยับยั้งได้ 2 สายพันธุ์) มีค่า MIC 64-128 mg/ml และค่า MBC เท่ากับ 128 mg/ml (แสดงดังตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC)

สารสกัดสมุนไพร	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC)/ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MBC) (mg/ml)																							
	แบคทีเรียแกรมบวก										แบคทีเรียแกรมลบ													
	Staphylococcus aureus ATCC 25923		*Staphylococcus aureus* ATCC 29213		Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)		Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA)		*Staphylococcus epidermidis*		*Escherichia coli* ATCC 25922		*Escherichia coli* (ESBL)		*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL)		*Klebsiella pneumoniae* (CRE)		*Acinetobacter baumannii*		*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853		*Pseudomonas aeruginosa*	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
ทองพันชั่ง	1	32	0.5	32	1	32	1	64	0.25	32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8	32	32	64	32	32
พลู	1	2	1	2	1	4	1	2	0.5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	8	8	2	4
บัวบก	8	256	64	128	32	256	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16	32	ND	ND	ND	ND
เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)	64	64	64	>256	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	32	>256	ND	ND	ND	ND
เสลดพังพอนตัวผู้	4	4	4	8	4	8	64	256	4	8	8	8	8	64	16	16	64	256	8	16	8	>256	8	8
สำมะงา	4	4	>256	>256	16	16	4	16	2	8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16	16	ND	ND	ND	ND
เหงือกปลาหมอ	4	32	4	32	4	16	ND	ND	2	8	ND	ND	ND	ND	32	32	ND	ND	8	32	ND	ND	32	64
ฟ้าทะลายโจร	2	64	2	>256	2	256	16	64	2	32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16	128	ND	ND	ND	ND
กระเบา	ND	ND	ND	ND	64	128	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	128	128	ND	ND
ชุมเห็ดเทศ	256	256	256	256	256	256	256	256	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ : ND แทน Not determined (ไม่ได้ทำการทดสอบ) เนื่องจากไม่เกิด inhibition zone กับแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ ด้วยวิธี disk diffusion

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด ต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยและแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่ดื้อยา จำนวนทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์ ได้แก่ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) (clinical isolate), methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) (clinical isolate), *S. epidermidis* (clinical isolate), ESBLs-producing *E. coli* (clinical isolate), *K. pneumoniae* ATCC 700603 (ESBLs-producing strain), *K. pneumoniae* (CRE) (clinical isolate), *A. baumannii* (clinical isolate), *P. aeruginosa* (clinical isolate) พบว่าสารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยและแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่ดื้อยาได้ทุกสายพันธุ์ โดยสารสกัดหยาบจากพลูมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อ มีค่าเฉลี่ยของ inhibition zone อยู่ระหว่าง 13.67±1.37 ถึง 32.00±2.37 mm มีค่า MIC 0.5-4 mg/ml และค่า MBC 2-4 mg/ml สารสกัดหยาบจากเสลดพังพอนตัวผู้ มีค่าเฉลี่ยของ inhibition zone อยู่ระหว่าง 10.33±0.58 ถึง 28.66±2.31 mm มีค่า MIC 4-64 mg/ml และค่า MBC 8-256 mg/ml รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากทองพันชั่ง (ยับยั้งได้ 5 สายพันธุ์) สำมะงา (ยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์) เหงือกปลาหมอ (ยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์) และฟ้าทะลายโจร (ยับยั้งได้ 4 สายพันธุ์) มีค่า MIC/MBC เท่ากับ 0.25-32/32-64, 2-16/8-16, 2-32/8-64 และ 2-16/32-256 mg/ml ตามลำดับ ขณะที่บัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) กระเบา และชุมเห็ดเทศ ยับยั้งเชื้อก่อโรคสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยและสายพันธุ์มาตรฐานที่ดื้อยาได้เพียง 1-2 สายพันธุ์ (แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.4)

4.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ด้วยวิธีการยับยั้งการหลั่ง nitric oxide

การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบสมุนไพรในงานวิจัยนี้ ใช้เซลล์เพาะเลี้ยงต้นแบบคือ เซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจชนิด RAW264.7 โดยเพาะเลี้ยงและกระตุ้นให้มีการหลั่งไนตริกออกไซด์ (nitric oxide; NO) ด้วยสาร lipopolysaccharide (LPS) จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ที่สกัดด้วยทำละลาย 95% ethanol มีฤทธิ์ในการลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% (IC_{50}) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 2.40±1.40 ถึง 28.20 ± 3.67 μg/ml สารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ดีที่สุดคือสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจร ที่ IC_{50} ความเข้มข้นเท่ากับ 2.40±1.40 μg/ml รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากพลูและทองพันชั่ง ที่ IC_{50} ความเข้มข้นเท่ากับ 8.30±3.35 และ 9.40±2.53 μg/ml ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดบัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ กระเบา และชุมเห็ดเทศ (แสดงดังตารางที่ 4.5)

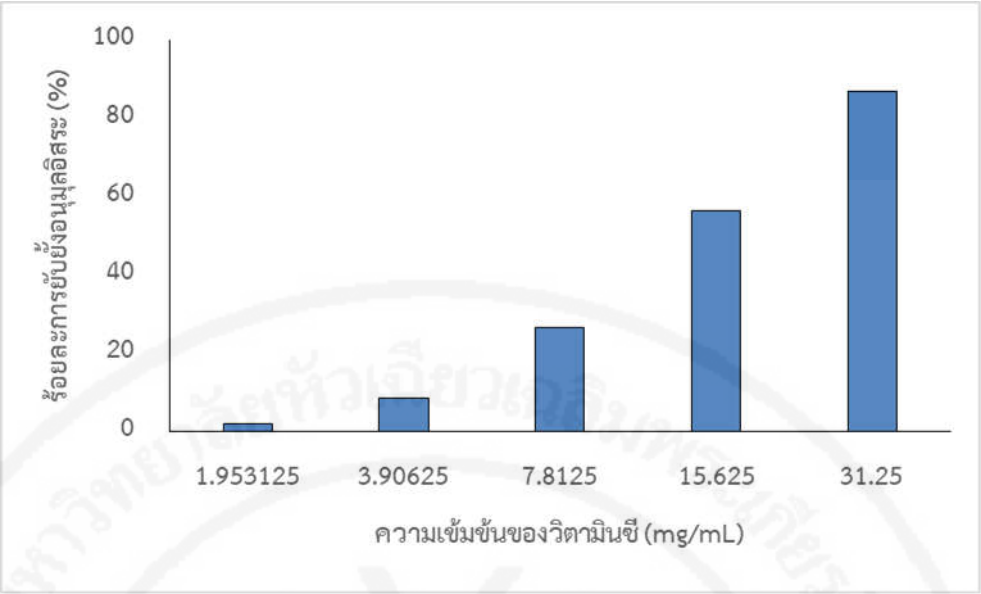
ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์การต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด ด้วยวิธี Griess's reaction

ชื่อสมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	IC_{50} (µg/ml) (mean ± SD)	% Cell viability
ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz	ใบสด	9.40*±2.53	>80%
พลู	*Piper betle* (Linn.)	ใบสด	8.30*±3.35	>80%
บัวบก	*Centella asiatica* (Linn.) Urban	ใบสด	21.90±4.20	>80%
เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)	*Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau.	ใบสด	23.60±3.67	>80%
เสลดพังพอนตัวผู้	*Barleria lupulina* Lindl.	ใบสด	23.20±5.82	>80%
สำมะงา	*Volkameria inermis* (Linn.)	ใบสด	20.00±3.36	>80%
เหงือกปลาหมอ	*Acanthus ebracteatus* Vahl	ใบสด	17.20±5.44	>80%
ฟ้าทะลายโจร	*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees	ใบสด	2.40*±1.40	>80%
กระเบา	*Hydnocarpus anthelminthicus* Pieere ex Laness.	ผลแห้ง	23.20 ± 5.07	>80%
ชุมเห็ดเทศ	*Cassia alata* (L.) Roxb.	ใบสด	28.20 ± 3.67	>80%
LPS+DMSO (nitric oxide expression) = 13.80 ± 3.09 µM 25 µM Apigenin (positive control) ลดการหลั่ง nitric oxide ได้ 79% ± 6.82				

*แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มสารสกัดหยาบสมุนไพรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

4.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ด้วยวิธี DPPH radical scavenging ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Braca, Sortino, Politi, Morelli และ Mendez โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ สารละลาย 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) จะเป็นสารละลายสีม่วงและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จะทำให้สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานวิตามินซี ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) ของสารมาตรฐานวิตามินซี

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 5 mg/ml พบว่ามีค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) อยู่ระหว่าง 69.73±0.52 ถึง 100.45±0.40 สารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ลำดับแรกที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดคือสารสกัดหยาบเสลดพังพอนตัวผู้ พลู และฟ้าทะลายโจร มีค่า % DPPH radical inhibition เท่ากับ 100.45±0.40, 99.47±0.32 และ 98.59±0.25 ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุดคือสารสกัดหยาบจากกระเบา มีค่า % DPPH radical inhibition เท่ากับ 69.73±0.52 (แสดงดังตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ชื่อสมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	DPPH free radical inhibitory activity (%) ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 5.0 mg/ml (mean ± SD)
ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz	ใบสด	75.13±0.28
พลู	*Piper betle* (Linn.)	ใบสด	99.47±0.32
บัวบก	*Centella asiatica* (Linn.) Urban	ใบสด	91.44±0.41
เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)	*Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau.	ใบสด	80.81±0.33
เสลดพังพอนตัวผู้	*Barleria lupulina* Lindl.	ใบสด	100.45±0.40
สำมะงา	*Volkameria inermis* (Linn.)	ใบสด	81.52±0.22
เหงือกปลาหมอ	*Acanthus ebracteatus* Vahl	ใบสด	91.84±0.35
ฟ้าทะลายโจร	*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees	ใบสด	98.59±0.25
กระเบา	*Hydnocarpus anthelminthicus* Pieere ex Laness.	ผลแห้ง	69.73±0.52
ชุมเห็ดเทศ	*Cassia alata* (L.) Roxb.	ใบสด	91.76±0.13

4.5 การหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมุนไพร ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

จากการทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric และรายงานผลเป็นปริมาณ Gallic acid equivalent หน่วย mg GAE/g Extract พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดคือสารสกัดหยาบจากใบพลู (41.70±6.60 mg GAE/g Extract) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ ฟ้าทะลายโจร และสำมะงา มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 5.70±0.44, 5.26±0.06 และ 5.17±0.34 mg GAE/g Extract ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากทองพันชั่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด (2.42±0.03 mg GAE/g Extract) (แสดงดังตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด

ชื่อสมุนไพร	**ชื่อวิทยาศาสตร์**	**Total phenolic content (mg GAE/g Extract)**
ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz	2.42±0.03
พลู	*Piper betle* (Linn.)	41.70±6.60
บัวบก	*Centella asiatica* (Linn.) Urban	3.10±0.61
เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)	*Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau.	3.33±0.31
เสลดพังพอนตัวผู้	*Barleria lupulina* Lindl.	4.90±0.36
สำมะงา	*Volkameria inermis* (Linn.)	5.17±0.34
เหงือกปลาหมอ	*Acanthus ebracteatus* Vahl	4.61±0.75
ฟ้าทะลายโจร	*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees	5.26±0.06
กระเบา	*Hydnocarpus anthelminthicus* Pieere ex Laness.	2.67±0.22
ชุมเห็ดเทศ	*Cassia alata* (L.) Roxb.	5.70±0.44

4.6 การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT colorimetric assay

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด ที่สกัดด้วยทำละลาย 95% ethanol ต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ซึ่งเป็นตัวแทนของเซลล์ปกติ ด้วยวิธี MTT assay โดยความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบเท่ากับ 500 μg/ml พบว่าสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบสมุนไพรชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) โดยสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 36.70±3.44 μg/ml สามารถทำให้เซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ตายไปร้อยละ 50 (inhibitory concentration หรือ IC_{50}) ขณะที่สารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดอื่น ได้แก่ กระเบา ทองพันชั่ง สำมะงา พลู และชุมเห็ดเทศ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 208.00±2.39, 254.90±5.50, 353.10±3.73, 404.90±3.22 และ 472.20±2.79 μg/ml ตามลำดับ และบัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ เหงือกปลาหมอ มีค่า IC_{50} มากกว่า 500 μg/ml (แสดงดังตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.8 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol ต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT colorimetric assay

ชื่อสมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	IC_{50} (μg/ml) (mean±SD)
ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz	ใบสด	254.90±5.50
พลู	*Piper betle* (Linn.)	ใบสด	404.90±3.22
บัวบก	*Centella asiatica* (Linn.) Urban	ใบสด	>500.00±0.00
เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ)	*Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau.	ใบสด	>500.00±0.00
เสลดพังพอนตัวผู้	*Barleria lupulina* Lindl.	ใบสด	>500.00±0.00
สำมะงา	*Volkameria inermis* (Linn.)	ใบสด	353.10±3.73
เหงือกปลาหมอ	*Acanthus ebracteatus* Vahl	ใบสด	>500.00±0.00
ฟ้าทะลายโจร	*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees	ใบสด	36.70±3.44
กระเบา	*Hydnocarpus anthelminthicus* Pieere ex Laness.	ผลแห้ง	208.00±2.39
ชุมเห็ดเทศ	*Cassia alata* (L.) Roxb.	ใบสด	472.20±2.79

4.7 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด

จากการเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษของสารสกัด พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 อันดับแรก ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี ได้แก่ สารสกัดหยาบจากพลู (ยับยั้งได้ 12 สายพันธุ์ MIC 0.5-8 mg/ml) เสลดพังพอนตัวผู้ (ยับยั้งได้ 12 สายพันธุ์ MIC 4-64 mg/ml) ทองพันชั่ง (ยับยั้งได้ 8 สายพันธุ์ MIC 0.25-32 mg/ml) เหงือกปลาหมอ (ยับยั้งได้ 7 สายพันธุ์ MIC 2-32 mg/ml) และฟ้าทะลายโจร (ยับยั้งได้ 6 สายพันธุ์ MIC 2-16 mg/ml) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบพบว่าสารสกัดหยาบสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด มีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดี มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% (IC_{50}) น้อยกว่า 100 μg/ml โดยสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดีที่สุดคือฟ้าทะลายโจร รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากพลูและทองพันชั่ง เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบสมุนไพร 5 อันดับแรกที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี (พลู เสลดพังพอนตัวผู้ ทองพันชั่ง เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร) พบว่าสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ดีที่สุดคือสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจร (IC_{50} 2.40±1.40 μg/ml) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากพลู (IC_{50} 8.30±3.35 μg/ml) ทองพันชั่ง (IC_{50} 9.40±2.53 μg/ml) เหงือกปลาหมอ (IC_{50} 17.20±5.44 μg/ml) และเสลดพังพอนตัวผู้ (IC_{50} 23.20±5.82 μg/ml) ตามลำดับ ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดพบว่าสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero สูงที่สุด (IC_{50} 36.70±3.44 μg/ml) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดอื่น โดยสารสกัดหยาบจากทองพันชั่งและพลูมีค่า IC_{50} เท่ากับ 254.90±5.50 และ 404.90±3.22 μg/ml ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากเสลดพังพอนตัวผู้และเหงือกปลาหมอมีค่า IC_{50} มากกว่า 500 μg/ml และเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านการอักเสบพบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% (IC_{50}) ของสมุนไพรแต่ละชนิดมีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมุนไพร 5 อันดับแรกที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี พบว่าสารสกัดหยาบเสลดพังพอนตัวผู้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือพลู ฟ้าทะลายโจร เหงือกปลาหมอ และทองพันชั่ง มีค่า % DPPH radical inhibition เท่ากับ 100.45±0.40, 99.47±0.32, 98.59±0.25, 91.84±0.35 และ 75.13±0.28 ตามลำดับ จากการทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากใบพลูมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดคือ 41.70±6.60 mg GAE/g Extract (แสดงดังตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด

ฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมุนไพร										
ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity)			ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity)		ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity)		ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content)		ความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity activity)	
สารสกัดสมุนไพร	จำนวนสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ถูกยับยั้ง	ค่า MIC range (mg/ml)	สารสกัดสมุนไพร	NO assay IC_{50} (µg/ml)	สารสกัดสมุนไพร	% DPPH free radical inhibitory *	สารสกัดสมุนไพร	mg GAE/g Extract	สารสกัดสมุนไพร	MTT assay IC_{50} (µg/ml)
พลู	12	0.5-8	ฟ้าทะลายโจร	2.40±1.40	เสลดพังพอนตัวผู้	100.45±0.40	พลู	41.70±6.60	เสลดพังพอนตัวผู้	>500.00±0.00
เสลดพังพอนตัวผู้	12	4-64	พลู	8.30±3.35	พลู	99.47±0.32	ชุมเห็ดเทศ	5.70±0.44	เหงือกปลาหมอ	>500.00±0.00
ทองพันชั่ง	8	0.25-32	ทองพันชั่ง	9.40±2.53	ฟ้าทะลายโจร	98.59±0.25	ฟ้าทะลายโจร	5.26±0.06	บัวบก	>500.00±0.00
เหงือกปลาหมอ	7	2-32	เหงือกปลาหมอ	17.20±5.44	เหงือกปลาหมอ	91.84±0.35	สำมะงา	5.17±0.34	เสลดพังพอนตัวเมีย	>500.00±0.00
ฟ้าทะลายโจร	6	2-16	สำมะงา	20.00±3.36	ชุมเห็ดเทศ	91.76±0.13	เสลดพังพอนตัวผู้	4.90±0.36	ชุมเห็ดเทศ	472.20±2.79
สำมะงา	6	2->256	บัวบก	21.90±4.20	บัวบก	91.44±0.41	เหงือกปลาหมอ	4.61±0.75	พลู	404.90±3.22
บัวบก	4	8-64	เสลดพังพอนตัวผู้	23.20±5.82	สำมะงา	81.52±0.22	เสลดพังพอนตัวเมีย	3.33±0.31	สำมะงา	353.10±3.73
ชุมเห็ดเทศ	4	256	กระเบา	23.20±5.07	เสลดพังพอนตัวเมีย	80.81±0.33	บัวบก	3.10±0.61	ทองพันชั่ง	254.90±5.50
เสลดพังพอนตัวเมีย	3	32-64	เสลดพังพอนตัวเมีย	23.60±3.67	ทองพันชั่ง	75.13±0.28	กระเบา	2.67±0.22	กระเบา	208.00±2.39
กระเบา	2	64-128	ชุมเห็ดเทศ	28.20±3.67	กระเบา	69.73±0.52	ทองพันชั่ง	2.42±0.03	ฟ้าทะลายโจร	36.70±3.44

หมายเหตุ : * ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 5.0 mg/ml

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันประเทศไทยกำลังก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ ซึ่งผู้สูงอายุเป็นวัยที่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งร่างกายและจิตใจ สุขภาพจนถึงผิวพรรณ เนื่องจากมีภูมิต้านทานลดลง อีกทั้งผู้สูงอายุส่วนใหญ่มักมีโรคประจำตัว เช่น โรคเบาหวานและโรคความดันโลหิตสูง เป็นเหตุให้การเกิดบาดแผลในผู้สูงอายุจะใช้เวลานานในการรักษา โดยโรคผิวหนังที่พบบ่อยในผู้สูงอายุ ได้แก่ อาการคัน ภาวะผิวหนังแห้ง โรคจากการติดเชื้อที่ผิวหนังทั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อไวรัส การเกิดแผลเรื้อรัง ผื่นแพ้ยา โรคผิวหนังอักเสบ ตุ่มน้ำพองใส และโรคสะเก็ดเงิน เป็นต้น[(2)] ภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยมีการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคต่าง ๆ สืบทอดกันมาอย่างยาวนาน โดยนำมาใช้ทั้งในรูปแบบสมุนไพรเดี่ยวหรือตำรับยา การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษ ของสารสกัดจากทองพันชั่ง พลูบัวบก เสลดพังพอนตัวเมีย (พญายอ) เสลดพังพอนตัวผู้ สำมะงา เหงือกปลาหมอ ฟ้าทะลายโจร กระเบา และชุมเห็ดเทศ เพื่อคัดเลือกสมุนไพรที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ตั้งตำรับยารักษาโรคผิวหนัง เพื่อต่อยอดพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งานต่อไป

5.1 สรุปผลการวิจัย

1) การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 10 ชนิด ต่อเชื้อแบคทีเรียจำนวน 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) พบว่าสารสกัดหยาบของสมุนไพรที่ศึกษาทั้ง 10 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อได้จำนวน 2-12 สายพันธุ์ โดยสารสกัดหยาบจากพลูและเสลดพังพอนตัวผู้ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งเชื้อได้ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษามีค่า MIC เท่ากับ 0.5-8 mg/ml และ 4-64 mg/ml ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากทองพันชั่ง (ยับยั้งได้ 8 สายพันธุ์ MIC 0.25-32 mg/ml) เหงือกปลาหมอ (ยับยั้งได้ 7 สายพันธุ์ MIC 2-32 mg/ml) และฟ้าทะลายโจร (ยับยั้งได้ 6 สายพันธุ์ MIC 2-16 mg/ml) ตามลำดับ

2) การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรด้วยวิธีการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ พบว่าสารสกัดหยาบสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด มีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดี มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% (IC_{50}) น้อยกว่า 100 μg/ml สารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ดีที่สุดคือ สารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจร (IC_{50} 2.40±1.40 μg/ml) รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากพลู (IC_{50} 8.30±3.35 μg/ml) และทองพันชั่ง (IC_{50} 9.40±2.53 μg/ml) ตามลำดับ

3) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด มีค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) อยู่ระหว่าง 69.73±0.52 ถึง 100.45±0.40 สารสกัดหยาบจากสมุนไพรมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด 3 ลำดับแรกคือ สารสกัดหยาบจากเสลดพังพอนตัวผู้ (% DPPH radical inhibition เท่ากับ 100.45±0.40) พลู (% DPPH radical inhibition เท่ากับ 99.47±0.32) และฟ้าทะลายโจร (% DPPH radical inhibition เท่ากับ 98.59±0.25) ตามลำดับ

4) การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมุนไพร ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดคือสารสกัดหยาบจากใบพลู (41.70±6.60 mg GAE/g Extract)

5) การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT colorimetric assay พบว่าสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบสมุนไพรชนิดอื่น ๆ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 36.70±3.44 μg/ml

6) การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษของสารสกัด พบว่าสารสกัดหยาบจากพลูมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษา ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งรวมทั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยและสายพันธุ์ดื้อยา มีค่า MIC เท่ากับ 0.5-8 mg/ml มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ดี (IC_{50} 8.30±3.35 μg/ml) มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition เท่ากับ 99.47±0.32) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (41.70±6.60 mg GAE/g) สูง และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (IC_{50} เท่ากับ 404.90±3.22 μg/ml)

5.2 อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษของสารสกัด พบว่าพลูเป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่ศึกษา ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA (clinical

isolate), MSSA (clinical isolate), *S. epidermidis* (clinical isolate), *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, ESBLs-producing *E. coli* (clinical isolate), *K. pneumoniae* ATCC 700603 (ESBLs-producing strain), *K. pneumoniae* (CRE) (clinical isolate), *A. baumannii* (clinical isolate) และ *P. aeruginosa* (clinical isolate) โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (inhibition zone ระหว่าง 19.67±0.58 ถึง 32.00±2.37 mm, ค่า MIC 0.5-1 mg/ml) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (inhibition zone ระหว่าง 13.67±1.37 ถึง 24.67±0.52 mm, ค่า MIC 2-8 mg/ml) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อน มีเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ที่ประกอบด้วยสาร lipopolysaccharide ขณะที่โครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกไม่มี นอกจากนี้แบคทีเรียแกรมลบยังมีระบบ efflux pump หลากหลายที่จะป้องกันการสะสมของสารภายในเซลล์ [54] การศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดหยาบจากพลูสามารถยับยั้งเชื้อสายพันธุ์ดื้อยาได้หลายสายพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Demetrio และคณะ[55] ที่พบว่าสารสกัดจากใบพลูด้วย ethanol มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853) รวมทั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ดื้อยา ได้แก่ MRSA, ESBLs-producing *E. coli*, ESBLs-producing *K. pneumoniae* และ *K. pneumoniae* (CRE) จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบพลูพบว่ามีสารสำคัญหลายชนิด เช่น eugenol, chavibetol และ hydroxychavicol ซึ่งสารต่าง ๆ เหล่านี้เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ[56] จากการศึกษาพบว่า eugenol และ hydroxychavicol มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (anti-bacterial activity)[57-58] จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรแสดงฤทธิ์ในการต้านการอักเสบได้ดีที่สุด โดยลดระดับการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% ที่ความเข้มข้น 2.4 ± 1.40 μg/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำกว่าสารสกัดหยาบจากพลู (8.3 ± 3.35 μg/ml) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) คิดเป็น 3.4 เท่า มีรายงานสารแอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide) เป็นสารในต้นฟ้าทะลายโจร สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ inducible nitric oxide synthetase (iNOS) ใน RAW264.7[59] และการแสดงออกของ cyclooxygenase2 (COX-2) ใน neutrophils และ microglial cell[60] สารสกัดใบพลูที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลสามารถเพิ่มการ proliferation ของเซลล์ NIH3T3 และส่งเสริมการรักษาบาดแผลในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) [61] จากการศึกษาของ Kumari และ Rao พบว่าสาร hydroxychavicol ซึ่งเป็นสารประกอบที่พบในใบพลู มีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase1 (COX-1)/cyclooxygenase2 (COX-2) สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยลดผลของการอักเสบและไม่มีผลต่อระบบการห้ามเลือด[62] อย่างไรก็ตามจากการประเมินว่าสารสกัดหยาบหรือสารที่ได้จากธรรมชาตินั้นไม่มีความเป็นพิษหรือปลอดภัยในการนำมาใช้ ตามข้อแนะนำของ American National Cancer Institute (NCI guidelines)[63] ที่กำหนดว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายไปร้อยละ 50 (inhibitory concentration หรือ IC_{50}) น้อยกว่า 30 μg/ml ถือว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero มากที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 36.70±3.44 μg/ml) เมื่อเปรียบเทียบ

กับสารสกัดจากสมุนไพรอื่น แม้ยังคงไม่ถึงเกณฑ์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ ขณะที่สารสกัดจากพลูไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ (IC_{50} เท่ากับ 404.90±3.22 μg/ml) สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดใบพลูด้วย ethanol มีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อหนูทดลอง และพบว่า eugenol ซึ่งเป็นสารประกอบหลักที่พบในใบพลูเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ[64-65] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากพลูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition เท่ากับ 99.47±0.32 ระดับความเข้มข้น 5mg/ml) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (41.70±6.60 mg GAE/g Extract) สูง เมื่อเปรียบเทียบกับสมุนไพรอื่นที่ศึกษา เนื่องจากอนุมูลอิสระมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการก่อให้เกิดการอักเสบ[66] ดังนั้นจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดที่น่าสนใจที่จะนำไปศึกษาหรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในการต้านการอักเสบคือสารสกัดหยาบจากพลู

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากการเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพร 10 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความเป็นพิษของสารสกัด พบว่าสารสกัดหยาบจากพลูมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด เป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ตั้งตำรับยารักษาโรคผิวหนัง เพื่อต่อยอดพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งานต่อไป อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวเป็นการทดสอบเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมหากนำไปใช้ประโยชน์ในลักษณะสูตรผสม ซึ่งอาจต้องพิจารณาการเสริมฤทธิ์หรือหักล้างฤทธิ์กันของสมุนไพรแต่ละชนิด โดยสมุนไพรที่น่าสนใจ ได้แก่ เสลดพังพอนตัวผู้ ทองพันชั่ง และเหงือกปลาหมอ

บรรณานุกรม

1. ข้อมูลสถิติจำนวนผู้สูงอายุประเทศไทย ปี 2561. กรมกิจการผู้สูงอายุ กระทรวงการพัฒนาสังคมและความมั่นคงของมนุษย์. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก http://www.dop.go.th/th/know/1/153.
2. โรคผิวหนังที่พบได้บ่อยในผู้สูงวัย. สถาบันโรคผิวหนัง กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก http://inderm.go.th/inderm2/search_news1.php?id_type=2&t=&pageid=5
3. ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. บัญชียาจากสมุนไพร. บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2561. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก http://www.fda.moph.go.th/sites/drug/Shared%20Documents/New/nlem2561.PDF
4. เสลดพังพอนตัวผู้. ฐานข้อมูลสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=120
5. สำมะงา. ฐานข้อมูลสมุนไพร. อุทยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก https://pharmacy.mahidol.ac.th/siri/index.php?page=search_detail
6. เหงือกปลาหมอ. ฐานข้อมูลสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=130
7. ฟ้าทะลายโจร. ฐานข้อมูลสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=97
8. กระเบา. ฐานข้อมูลสมุนไพร. อุทยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก https://pharmacy.mahidol.ac.th/siri/index.php?page=search_detail
9. ชุมเห็ดเทศ. ฐานข้อมูลสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 16 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=40
10. นทพร ชัยพิชิต. การบริบาลทางเภสัชกรรมในโรคผิวหนังอักเสบ. เชียงรายเวชสาร 2560;9(2):157-169.
11. กองยุทธศาสตร์และแผนงาน สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข. สรุปรายงานการป่วย พ.ศ. 2560: ข้อมูลการป่วยของผู้ป่วยนอก. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 26 เมษายน

2562, เข้าถึงได้จาก:
http://bps.moph.go.th/new_bps/sites/default/files/ill_2560_full.pdf

12. ศศิธร ชูศรี. สารลดการดื้อยา: ทางเลือกใหม่ในการประยุกต์ใช้สมุนไพร. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก 2555;10(3):160-175.
13. หน่วยบริการฐานข้อมูลสมุนไพร สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 27 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก: http://www1.si.mahidol.ac.th/km/sites/default/files/82_1.pdf
14. Teansuwan N, Sripanidkulchai B, Jaipakdee N. Effect of four herb extracts on melanin synthesis. Isan J Pharm Sci. 2016;11:33-42.
15. Punturee K, Wild CP, Vinitketkumneun U. Thai medicinal plants modulate nitric oxide and tumor necrosis factor-α in J774.2 mouse macrophages. J Ethnopharmacol. 2004;95:183-89.
16. Sendl A, Chen LJ, Jolad DS, Kernan M. Two new napthoquinones with antiviral activity from *Rhinacanthus nasutus*. J Nat Prod. 1996;59(8):808-11.
17. Puttarak P, Charoonratana T, Panichayupakaranant P. Antimicrobial activity and stability of rhinacanthins-rich *Rhinacanthus nasutus* extract. Phytomedicine. 2010;17: 323-27.
18. Panichayupakaranant P, Charoonratana T, Sirikatitham A. RP-HPLC analysis of rhinacanthins in *Rhinacanthus nasutus*: validation and application for the preparation of rhinacanthin high-yielding extract. J Chromatogr Sci. 2009;47:705-8.
19. Datta A, Ghoshdastidar S, Sing, M. Antimicrobial Property of *Piper betel* leaf against clinical isolates of bacteria. Int J Pharma Sci Res. 2011;2(3):104-9.
20. Dwivedi V, Tripath S. Review study on potential activity of *Piper betle.* J Pharmacogn Phytochem. 2014;3(4): 93-8.
21. จันทรพร ทองเอกแก้ว. บัวบก: สมุนไพรมากคุณประโยชน์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 2556;15(3):70-5.
22. Prakash V, Jaiswal N, Srivastava, M. A review on medical properties of *Centella asiatica*. Asian J Pharm Clin Res. 2017;1(10):69-74.
23. เสลดพังพอนตัวผู้. ใน: สรรพคุณ สมุนไพร. [ออนไลน์] สืบค้นวันที่ 24 เมษายน 2562, เข้าถึงได้จาก http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_20_7.htm
24. ฉัตรชัย สวัสดิไชย, สุรศักดิ์ อิ่มเอี่ยม. พญายอ. วารสารศูนย์การศึกษาแพทยศาสตร์คลินิก โรงพยาบาลพระปกเกล้า. 2561;35(1):106-10.

25. Arullappan S, Rajamanickam P, Thevar N, Kodimani CC. *In vitro* screening of cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activities of *Clinacanthus nutans* (Acanthaceae) leaf extracts. Trop J Pharm Res. 2014;13:1455-61.
26. Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V, Kohli K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. Inflamm Allergy Drug Targets. 2009;8:229-35.
27. Jayavaru C, Chavaltitumrong P, Polachandara K, Dechatiwongse N, Na Ayudhaya T, Jongtrakulsiri T. The virucidal activity of *Clinacanthus nutans* Lindau. extract against herpes simplex virus type 2 - an *in vitro* study. Bull Dep Med Sci. 1992;34:153-8.
28. Pongphasuk N, Khunkitti W, Chitcharoenthum M. Anti-inflammatory and analgesicactivities of the extract from *Garcinia mangostana* Linn**.** Acta Hortic. 2005;680: 125-30.
29. Wanikiat P, Panthong A, Sujayanon P, Yoosook C, Rossi AG, Reutrakul V. The anti-inflammatory effects and the inhibition of neutrophil responsiveness by *Barleria lupulina* and *Clinacanthus nutans* extracts. J Ethnopharmacol. 2008;116(2):234-44.
30. Chahal J, Sarin R, Malmal M. Efficacy of *Clerodendrum inerme* L. (garden quinine) against some human pathogenic strains. Int J Pharma Bio Sci. 2010;1(4):219-23.
31. ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์. ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสำมะงา. วารสารวิทยาศาสตร์ แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี. 2558;12(1):67-71.
32. Sittiwet C, Niamsa N, Puangpronpitag D. Antimicrobial activity of *Acanthus ebracteatus* Vahl aqueous extract: The potential for skin infection treatment. J Biol Chem. 2009;3(2):95-8.
33. Somchaichana J, Bunaprasert T, Patumraj S. *Acanthus ebracteatus* Vahl. ethanol extract enhancement of the efficacy of the collagen scaffold in wound closure: A study in a full-thickness-wound mouse model. J Biomed Biotechnol. 2012;Article ID 754527, 8 pages.
34. สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์. เรื่องน่ารู้เกี่ยวกับ "ฟ้าทะลายโจร" [อินเทอร์เน็ต]. 2552 [เข้าถึงเมื่อ 15 เม.ย. 2562]. เข้าถึงได้จาก: https://www.cri.or.th/en/20090729.php
35. Borgohain P, Kakoti BB. Study of acute toxicity and anti-inflammatory activity of *Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae). Int J Sci Environ Technol. 2019;8(3):580-4.

36. Sheeja K, Shihab PK, Kuttan G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the plant *Andrographis paniculata* Nees. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2008;28(1):129-40.
37. Mishra US, Mishra A, Kumari R, Murthy PN, Naik BS. Antibacterial activity of ethanol extract of *Andrographis paniculata*. Indian J Pharm Sci. 2009;71:436-8.
38. Wiart C, Kumar K, Yusof MY, Hamimah H, Fauzi ZM, Sulaiman M. Antiviral properties of *ent*-Labdenediterpenes of *Andrographis paniculata* Nees, inhibitors of herpes simplex virus type 1. Phytother Res. 2005;19:1069-70.
39. Thiantanawat A, Watcharasit P, Ruchirawat S, Satayavivad J. Modulation of cell cycle and apoptosis signaling by the three active diterpenoids from *Andrographis paniculata* Nees. Proceedings of the 5th Princess Chulabhorn International Science Congress: Evolving Genetics and Its Global Impact. 2004; August 16-20, PC-09, Vol. II:57.
40. สุรางค์ ลีละวัฒน์. การศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากต้นกระเบา (*Hydnocarpus anthelminthicus* Pierre ex Laness): รายงานการวิจัย (Research and Development of Natural Products from *Hydnocarpus anthelminthicus* Pierre ex Laness) กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ; 2555.
41. Varghese B, Sandhya S, Kavitha MP, Krishnakumar K. Genus *Hydnocarpus*: A Review. Int J Phytopharm. 2016;7(3):143-54.
42. Mueller M, Janngeon K, Rinrampai P, Unger FM, Vierstein H, Okonogi S. Anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant activity of Thai medicinal plants. Int J Pharm Pharm Sci. 2015;7(11):123-28.
43. นิธิมา สุ่มประดิษฐ์, ศิริตรี สุทธจิตต์, สิตานันท์ พูลผลทรัพย์, รุ่งทิพย์ ชวนชื่น, ภูษิต ประคองสาย. ภูมิทัศน์ของสถานการณ์และการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์; 2558 .
44. ภาณุมาศ ภูมาศ, ตวงรัตน์ โพธะ, วิษณุ ธรรมลิขิตกุล, อาธร ริ้วไพบูลย์, ภูษิต ประคองสาย, สุพล ลิมวัฒนานนท์. ผลกระทบด้านสุขภาพและเศรษฐศาสตร์จากการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทย: การศึกษาเบื้องต้น. วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข. 2555;6(3):352-60.
45. พัชราพรรณ กิจพันธ์, จันทรรัตน์ สิทธิวรนันท์. วิกฤตเชื้อดื้อยาสู่การใช้ยาอย่างสมเหตุผล. วารสารอาหารและยา. 2561;25(2):11-14.
46. อิสยา จันทร์วิทยานุชิต, วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์. แบคทีเรียทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2556.

47. สุวรีย์ ดุกสุขแก้ว. ความชุกของเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ชนิดสร้างเอนไซม์ extended spectrum β-lactamases ในโรงพยาบาลพัทลุง. วารสารวิชาการแพทย์เขต 11. 2559;30(2):97-103.
48. 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.
49. Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Oguteu H, Sengul M, Adiguzel A, et al. Evaluation of antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. J Ethopharmacol. 2003;87:61-5.
50. Tewtrakul S, Subhadhirasakul S. Effects of compounds from *Kaempferia parviflora* on nitric oxide, prostaglandin E2 and tumor necrosis factor-alpha productions in RAW 264.7 macrophage cells. J Ethnopharmacol. 2008;120:81-4.
51. Kim HJ, Seo JY, Suh HJ, Lim SS, Kim JS. Antioxidant activities of licorice-derived prenylflavonoids. Nutr Res Pract. 2012;6(6):491-8.
52. Singelton VR, Orthifer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 1999;299:152-78.
53. Nemudzivhadi V, Masoko P. *In vitro* assessment of cytotoxicity, antioxidant, and anti-Inflammatory activities of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) leaf extracts. J Evid Based Complementary Altern Med. 2014;Article ID 625961:1-8.
54. Piddock LJ. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. Clin Microbiol Rev. 2006;19(2):382-402.
55. Demetrio LVJ, Jeannie IA, Juliana JMP, Esperanza CC, Windell LR. Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. Asian Pac J Trop Biomed. 2015;5(7):532-40.
56. Rekha VPB, Manideep K, Srinivasa G, Bharath Y, Pulicherla KK. A Review on *Piper betle* L.: Nature's promising medicinal reservoir. American J Ethnomed. 2014;1(5): 276-89.
57. Deshpande SN, Kadam DG. GCMS analysis and antimicrobial activity of *Piper betle* (Linn) leaves against *Streptococcus mutans*. Asian J Pharm Clin Res. 2013;6: 99-101.
58. Sharma S, Khan IA, Ali I, Ali F, Kumar M, Kumar A, et al. Evaluation of the antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities of hydroxychavicol for

its potential use as an oral care agent. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(1):216-22.

59. Chiou WF, Chen CF, Lin JJ. Mechanisms of suppression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in RAW 264.7 cells by andrographolide. Br J Pharmacol. 2000;129:1553-60.
60. Wang T, Liu B, Zhang W, Wilson B, Hong JS. Andrographolide reduces inflammation-mediated dopaminergic neurodegeneration in mesencephalic neuron-glia cultures by inhibiting microglial activation. J Pharmacol Exp Ther. 2004;308(3):975-83.
61. Lien LT, Tho NT, Ha DM, Hang PL, Nghia PT, Thang NDD. Influence of phytochemicals in *Piper betle* Linn leaf extract on wound healing. Burns Trauma. 2015;3(23):1-8.
62. Kumari OS, Rao NB. Phyto Chemical Analysis of Piper Betel Leaf Extract. World J Pharm Pharm Sci. 2015;4:699-703.
63. Suffness M, Pezzuto JM. Assays related to cancer drug discovery. In: Hostettmann K, editor. Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity. Vol. 6. London: Academic Press; 1990:71-133.
64. Dohi T, Terada H, Anamura S, Okamoto H, Tsujimoto A. The anti-inflammatory effects of phenolic dental medicaments as determined by mouse ear edema assay. Jpn J Pharmacol. 1989;49:535-9.
65. Barboza JN, Filho CSMB, Silva RO, Medeiros JVR, Sousa DP. An Overview on the Anti-inflammatory Potential and Antioxidant Profile of Eugenol. Oxid Med Cell Longev 2018;Article ID 3957262:1-9.
66. Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, et al. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. Oxid Med Cell Longev. 2016;Article ID 5276130:1-15.

ภาคผนวก

ประวัติย่อผู้วิจัย

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ-นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรทิพย์ พึ่งม่วง

ประวัติการศึกษา วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ปร.ด. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

สถานที่ติดต่อ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300-79 ต่อ 1221

ผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา เสมศรี

ประวัติการศึกษา วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วท.ด. (วิทยาศาสตร์ชีวการแพทย์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถานที่ติดต่อ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300-79 ต่อ 1221

ผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุชา จุลสำลี

ประวัติการศึกษา B.A. (Clinical Laboratory Sciences), University of Maine, U.S.A.
MT (ASCP) ALM (Biotechnology), Harvard University, U.S.A.

สถานที่ติดต่อ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300-79 ต่อ 1221

ผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์

ประวัติการศึกษา วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยมหิดล

สถานที่ติดต่อ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300-79 ต่อ 1221

ผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล อาจารย์ ดร.สมหญิง งามอุรุเลิศ

ประวัติการศึกษา วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยมหิดล

ปร.ด. (จุลชีววิทยาการแพทย์) มหาวิทยาลัยมหิดล

สถานที่ติดต่อ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300-79 ต่อ 1221

ผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชรี กัมมารเจษฎากุล

ประวัติการศึกษา วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วท.ม. (จุลชีววิทยาการแพทย์) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปร.ด. (จุลชีววิทยาการแพทย์) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ติดต่อ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300-79 ต่อ 1221

ผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญจพร นิ่มมณี

ประวัติการศึกษา วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยมหิดล

ปร.ด. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถานที่ติดต่อ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300-79 ต่อ 1221

ผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล ดร.สุมลรัตน์ ชูวงษ์วัฒนะ

ประวัติการศึกษา วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยมหิดล

ปร.ด. (พยาธิวิทยา) มหาวิทยาลัยมหิดล

สถานที่ติดต่อ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300-79 ต่อ 1221