

นิพนธ์ฉบับ

การศึกษาทางคลินิกระยะที่ ๑ เรื่องความปลอดภัยของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียร (ห้าราก) และสารสกัดสมุนไพรวัวเต็งที่เป็นส่วนประกอบของตำรับ

วรัณพา สุวรรณรัตน์*, มะลิ อาจริยะกุล**, อรุณพร อีฐรัตน์***, สมบูรณ์ เกียรตินันท์***

บทคัดย่อ

- บทนำ:** ศึกษาการก่อการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้และการก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังคนปกติของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรและสารสกัดสมุนไพรวัวเต็งที่เป็นส่วนประกอบของตำรับ
- วิธีการศึกษา:** เป็นการศึกษาทดลองทางคลินิกในการทดสอบความปลอดภัยของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรและสารสกัดสมุนไพรวัวเต็งที่เป็นส่วนประกอบของตำรับ ทดสอบหา total phenolic content ด้วย Folin-Ciocalteu's reagent และฤทธิ์ด้านการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้โดยดูผลการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ β -hexosaminidase ทำการทดสอบการก่อการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้และการก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังอาสาสมัครสุขภาพดี ด้วยวิธีการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (closed patch test under occlusion) ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปมาตรฐาน TRUE test® เป็นตัวควบคุม
- ผลการศึกษา:** สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรและสารสกัดสมุนไพรวัวเต็งที่เป็นส่วนประกอบของตำรับทุกชนิด มีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม phenolic และมีฤทธิ์ด้านการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ ทำการทดสอบความปลอดภัยต่อผิวหนังในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน ๑๐ คน เป็นเพศชาย ๔ คน เพศหญิง ๖ คน อายุระหว่าง ๒๑-๒๘ ปี อายุเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) = ๒๔.๕ $\pm$ ๒.๐๒๔ ปี ผลการทดสอบความปลอดภัยต่อผิวหนังด้วยวิธีการปิดสารทดสอบพบว่าไม่พบปฏิกิริยาการระคายเคืองในสารสกัดสมุนไพรวัวเต็งตำรับยาเบญจโลกวิเชียรและสมุนไพรวัวเต็งทุกชนิด ผลทดสอบการก่อการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรให้ผลทดสอบเป็นลบในอาสาสมัครทุกคน พบผลการทดสอบเป็นบวกในรากคนทา (ความถี่ ๓/๑๐) และรากชิงซี่ (ความถี่ ๑/๑๐) ให้ผลบวกไม่ชัดเจนในรากมะเดื่อชุมพร (ความถี่ ๒/๑๐) รากเพ้ายายม่อมและรากย่านาง (ความถี่ชนิดละ ๑/๑๐) ผลการทดสอบชุดสารทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป (TRUE test®) ไม่พบการระคายเคือง แต่พบการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้สารที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกคือ thiomersal (ความถี่ ๕/๑๐), nickel sulphate (ความถี่ ๓/๑๐) และ colophony, cobalt chloride, mercaptobenzothiazole และ thiuram mix (ความถี่ชนิดละ ๑/๑๐) ให้ผลบวกไม่ชัดเจนใน quaternium- ๑๕ (ความถี่ ๒/๑๐) neomycin sulphate, wool alcohol, carba mix, fragrance mix, thiomersal, ethylenediamine dihydrochloride (ความถี่ชนิดละ ๑/๑๐)
- สรุป:** สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียร (ห้าราก) มีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม phenolic และมีฤทธิ์ด้านการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ จากการทดสอบไม่พบปฏิกิริยาการก่อการระคายเคืองและการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ต่อผิวหนังคนจึงน่าจะมีความปลอดภัยสูง มีความเหมาะสมในการนำไปใช้เตรียมยาและ/หรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ สำหรับใช้ภายนอกกับผิวหนัง รากคนทาและรากชิงซี่มีโอกาสดังกล่าวการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้สูงจึงไม่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นสารออกฤทธิ์สำหรับใช้เฉพาะที่กับผิวหนัง สารสกัดสมุนไพรวัวเต็งชนิดอื่นๆ ในตำรับยาเบญจโลกวิเชียรควรมีการศึกษาทดลองเพิ่มเติม

คำสำคัญ: การศึกษาทดลองความปลอดภัยทางคลินิก, การทดสอบโดยการปิดบนผิวหนังคนปกติ, ตำรับยาเบญจโลกวิเชียร

วันที่รับบทความ: ๑๑ พฤษภาคม ๒๕๕๕

วันที่อนุญาตให้ตีพิมพ์: ๒๖ มิถุนายน ๒๕๕๕

* นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

** ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

*** สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

บทนำ

การแพทย์แผนไทยมีการประกาศใช้ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในบัญชียาหลักแห่งชาติ ประกอบด้วยรากไม้ ๕ ชนิด ได้แก่ รากมะเดื่อชุมพร (*Ficus racemosa* Linn.) รากชิงช้า (*Capparis micracantha* DC.) รากเพ้ายายม่อม (*Clerodendrum petasites* S. Moore) รากคนทา (*Harrisonia perforata* Merr.) รากย่านาง (*Tiliacora triandra* Diels.) อ้างจากแพทย์ศาสตร์สงเคราะห์คัมภีร์ตักศิลากล่าวไว้ว่า มีสรรพคุณ แก้ไข้ร้อนใน แก้ไข้พิษ แก้ไข้ต้นมือ และกระทุ้งพิษไข้ เพื่อมิให้ไข้หลบ^{๑,๒} นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่า มีการนำสมุนไพรรักษาในตำรับนี้มาใช้แก้แพ้ได้ในกรณีที่มีผื่นคันตามผิวหนังโดยการนำผงยามาละลายกับน้ำต้มสุกทาบริเวณที่มีอาการคัน

จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรรักษาในตำรับยาเบญจโลกวิเชียรพบว่า มีฤทธิ์ด้านการก่อการแพ้^{๓,๔,๕} ด้านเชื้อจุลชีพ^{๖,๗} และไม่พบความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง^{๓,๖,๘,๙}

ผู้วิจัยจึงเห็นว่า ควรศึกษาถึงความปลอดภัยของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรและสารสกัดสมุนไพรรักษาแต่ละชนิด ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในเรื่องความปลอดภัยในคนของสารสกัดสมุนไพรรักษาเหล่านี้ ที่จะใช้เป็นสารออกฤทธิ์ของยาหรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ใช้ภายนอกสำหรับผิวหนัง

วิธีการศึกษา

๑. รูปแบบการศึกษา

เป็นการศึกษาทดลองทางคลินิกในอาสาสมัครสุขภาพดี ในการศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรและสารสกัดสมุนไพรรักษาแต่ละชนิดต่อผิวหนัง โดยวิธีการทดสอบจากสารสกัดบนผิวหนัง ใช้สารทดสอบสำเร็จรูปมาตรฐานเป็นสารควบคุม

๒. สมุนไพรรักษาและสารสกัดสมุนไพรรักษา

๒.๑ สารสกัดสมุนไพรรักษา

สมุนไพรรักษาตำรับยาเบญจโลกวิเชียรทั้ง ๕ ชนิดที่ใช้ในการศึกษาทดลองเป็นสมุนไพรรักษาแห้งล้างจากสวนสมุนไพรรักษาในจังหวัดฉะเชิงเทรา นำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ทางสมุนไพรรักษาทำการสกัดด้วย 95% ethanol กรองและระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นทำให้แห้งด้วย vacuum drying ซึ่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้ คำนวณหาปริมาณของสารสกัดที่สกัดได้คิดเป็นร้อยละ (% yield)

๒.๒ การพิสูจน์คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารสกัดสมุนไพรรักษา

ตรวจสอบคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารสกัดสมุนไพรรักษาที่ได้โดยการทดสอบหา total phenolic content ด้วย Folin-Ciocalteu's reagent^{๑๐} และทดสอบฤทธิ์ด้านการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ โดยดูผลการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ β -hexosaminidase^{๑๑} ของสารสกัดในตำรับยาเบญจโลกวิเชียรและสารสกัดสมุนไพรรักษาเดี่ยวในตำรับ ในเซลล์ RBL-2H3 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของหนู

๓. สารทดสอบผิวหนังจากสารสกัดสมุนไพรรักษา

เตรียมสารสกัดสมุนไพรรักษาที่ตรวจสอบคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาแล้วให้เป็นสารสำหรับใช้ทดสอบการก่อการระคายเคืองและการแพ้สัมผัสแบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ต่อผิวหนังคน โดยเตรียมสารสกัดสมุนไพรรักษาตำรับยาเบญจโลกวิเชียรและสารสกัดสมุนไพรรักษาเดี่ยวแต่ละชนิดในสารพืชน้ำมันบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ ๑๐ และ ๒๐ น้ำหนักต่อน้ำหนัก (ปริมาณสารสกัดสมุนไพรรักษาหน่วยกรัม/ปริมาณของพืชน้ำมันหน่วยกรัม)

๔. สารทดสอบสำเร็จรูปมาตรฐาน

ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปมาตรฐาน TRUE test[®] (Mekos Laboratories AS, Denmark) ชนิด ๒ ชุดทดสอบ (2 panel) ซึ่งในเวชปฏิบัติใช้เป็นชุดทดสอบคัดกรองเบื้องต้นในการหาสาเหตุในผู้ป่วยโรคผื่นแพ้สัมผัส ชุดทดสอบนี้ประกอบไปด้วยสารทดสอบมาตรฐาน ๒๔ ชนิดที่เป็นสาเหตุที่พบบ่อยของโรคผื่นแพ้สัมผัส

๕. การพิจารณาทางจริยธรรม

การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติให้ทำวิจัยโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ชุดที่ ๑ คณะแพทยศาสตร์ (หนังสือรับรองเลขที่ ๐๐๓/๒๕๕๔)

๖. อาสาสมัคร

ใช้อาสาสมัครสุขภาพดีจากการติดต่อประกาศรับสมัครอาสาสมัครเพื่อการวิจัย โดยต้องมีอายุระหว่าง ๒๐-๖๐ ปี ไม่จำกัดเพศ จำนวน ๑๐ คน มีสุขภาพแข็งแรง ไม่มีปัญหาผิวหนังและโรคตามระบบอื่นๆ ถ้าเป็นหญิงต้องไม่ตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร ไม่มีประวัติโรคภูมิแพ้ ไม่มีประวัติผื่นลมพิษจากการสัมผัสสาร ไม่เคยได้รับการทดสอบ patch test และพบว่า แพ้สารชนิดใดชนิดหนึ่งในชุดทดสอบคัดกรองมาตรฐาน (standard screening sets) อาสาสมัครทุกคนต้องลงชื่อแสดงความยินยอมในแบบแสดงความยินยอมเข้าร่วมการศึกษานี้

๗. การทดสอบผิวหนัง

ใช้วิธีการทดสอบโดยการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง เพื่อดูการก่อการระคายเคือง (irritant reaction) และการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ (allergic reaction) ตามวิธีทดสอบมาตรฐานโดยการปิดสาร (closed patch test under occlusion) ที่แนะนำโดย International contact dermatitis research group (ICDRG)^{๑๒} มีวิธีการทำ อ่าน และแปลผล โดยสังเขปดังนี้

นำสารทดสอบสมุนไพรตำรับยาเบญจโลกวิเชียร และสมุนไพรเดี่ยวไลโน Finn Chamber on Scanpor® (Epitest Ltd Oy, Tuusula: Finland) หลุมละ ๑ ชนิด ปริมาณ เกินครึ่งหลุมเล็กน้อยหรือประมาณ ๒๐ มิลลิกรัม ปิดแผ่นทดสอบ TRUE test® และสารทดสอบสารสกัดสมุนไพรที่ใส่ใน Finn Chamber on Scanpor® บนผิวหนังบริเวณแผ่นหลัง ส่วนบนข้างแนวกระดูกสันหลังระหว่างสะบักของอาสาสมัคร แต่ละคน ริดให้เรียบและแนบสนิทกับผิวหนัง ดังรูปที่ ๑ (รูปซ้าย) ทำเครื่องหมายแสดงตำแหน่งติดของสารทดสอบ ปิดทับ

แผ่นทดสอบทั้งหมดให้แน่นด้วย Micropore™ (3 M Health Care, Neuss: Germany) ดังรูปที่ ๒ ปิดแผ่นทดสอบออก และอ่านผลการทดสอบครั้งที่หนึ่งเมื่อครบ ๔๘ ชั่วโมง (วันที่ ๒) อ่านผลครั้งที่สองเมื่อครบ ๙๖ ชั่วโมง (วันที่ ๔) ดังรูปที่ ๑ (รูปขวา)

ผลการทดสอบจะแบ่งตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังนี้

- ?+ ผลบวกไม่ชัดเจน (doubtful)
- + ผลบวกอย่างอ่อน (weak reaction) มีผื่นแดง แต่ไม่มีตุ่มน้ำ
- ++ ผลบวกอย่างแรง (strong reaction) มีผื่นแดง มีตุ่มน้ำใสขนาดเล็ก
- +++ ผลบวกอย่างรุนแรง (extreme reaction) มีผื่นแดง มีตุ่มน้ำใสขนาดใหญ่ หรือเป็นแผล
- IR (irritant reaction) ปฏิกิริยาจากการทำให้ระคายเคือง

ผลการทดสอบที่เป็น +, ++, +++ ถือเป็นผล

บวกทั้งหมด



รูปที่ ๑ (รูปซ้าย) แสดงภาพการปิดสารทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป TRUE test® และสารสกัดสมุนไพร

(รูปขวา) แสดงภาพการอ่านผลการทดสอบให้ผลบวกของสารสกัดรากคนทาขึ้นเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ ๒๐ ลักษณะมีผื่นแดงนูน



รูปที่ ๒ แสดงภาพการปิดบนผิวหนัง (closed patch test under occlusion) และปิดทับด้วย Micropore™

๔. การวิเคราะห์ผล

ดูความถี่ในการก่อการระคายเคืองของสารสกัดแต่ละชนิด และเปรียบเทียบความถี่ของผลบวกของผลทดสอบที่ได้จากสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดกับความถี่ของผลบวกที่เกิดจากชุดทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป เพื่อดูโอกาสในการก่อให้เกิดการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ของสารสกัดว่า มีโอกาสมากหรือน้อยเพียงใดในการก่อให้เกิดการแพ้ผื่นสัมผัสแบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ เมื่อเทียบกับสารที่มีรายงานแล้วว่าเป็นสาเหตุที่พบบ่อยของโรคผื่นแพ้สัมผัส

ผลการศึกษา

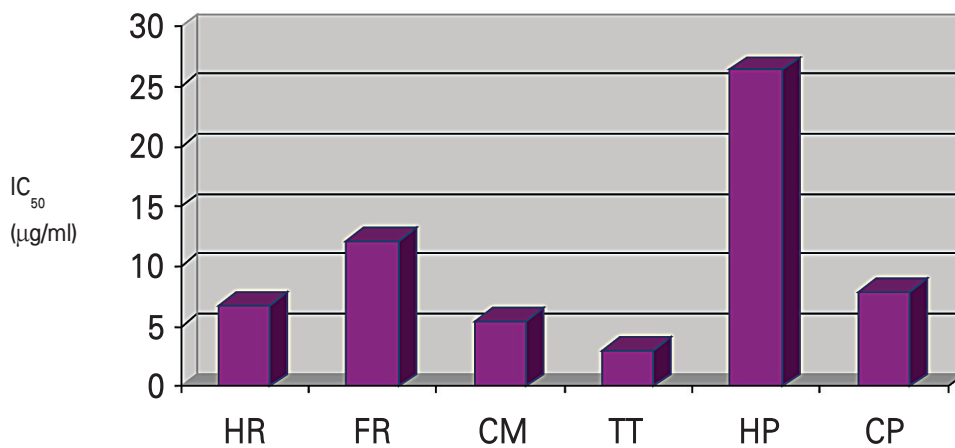
ปริมาณของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดที่สกัดได้คิดเป็นร้อยละของน้ำหนักสารที่สกัดได้ต่อน้ำหนักสมุนไพรแห้ง (% yield) แสดงในตารางที่ ๑ การพิสูจน์คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาโดยหาปริมาณสารกลุ่ม phenolic ในสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด ค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SEM, n=๓) ของสารกลุ่ม phenolic ที่พบแสดงในตารางที่ ๒ และผลการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ β -hexosaminidase แสดงในแผนภูมิที่ ๑

ตารางที่ ๑ แสดงปริมาณสารสกัดคิดเป็นร้อยละของน้ำหนักสมุนไพรแห้ง

สมุนไพร	ร้อยละของสารที่สกัดได้ (น้ำหนักกรัม/ ๑๐๐ กรัม)
ตำรับยาเบญจโลกวิเชียร	๓.๖๒
รากมะเดื่อชุมพร	๔.๔๓
รากชิงช้า	๓.๗๗
รากย่านาง	๕.๓๓
รากคนทา	๓.๒๗
รากเท้ายายม่อม	๔.๒๕

ตารางที่ ๒ แสดง total phenolic content ในสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด (mean $\pm$ SEM, n=๓)

สมุนไพร	Total phenolic content $\pm$ SEM (mg GAE/g)
ตำรับยาเบญจโลกวิเชียร	๔๔.๘๘๑ $\pm$ ๑.๒๑๗
รากมะเดื่อชุมพร	๔๗.๔๔๘ $\pm$ ๑.๑๗๔
รากชิงช้า	๗๔.๔๔๘ $\pm$ ๒.๐๕๔
รากย่านาง	๘๖.๑๘๑ $\pm$ ๐.๗๕๗
รากคนทา	๖๐.๖๔๘ $\pm$ ๑.๓๘๗
รากเท้ายายม่อม	๕๖.๑๘๑ $\pm$ ๐.๗๒๑



แผนภูมิที่ ๑ แสดงค่า IC₅₀ ของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดในการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ β -hexosaminidase (HR=หำราก, FR=รากมะเดื่อชุมพร, CM=รากชิงช้า, TT=รากย่านาง, HP=รากคนทา, CP=รากเท้ายายม่อม)

อาสาสมัครที่ทำการศึกษามีจำนวน ๑๐ คน อายุ ๒๑-๒๘ ปี อายุเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) = ๒๔.๕ $\pm$ ๒.๐๒๔ ปี ทุกคนแข็งแรงดี ไม่มีโรคอื่นๆ และไม่เคยได้รับการทดสอบผิวหนังด้วยการปิดผิวหนังมาก่อน ไม่มีอาสาสมัครขอยกจากการศึกษา

ผลการทดสอบความปลอดภัยต่อผิวหนัง ไม่พบปฏิกิริยาการระคายเคืองในสารสกัดสมุนไพรทุกชนิดและสารทดสอบมาตรฐาน TRUE test®

ในการทดสอบการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้พบว่าสาร

สกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรให้ผลทดสอบเป็นลบ สารสกัดสมุนไพรที่ให้ผลทดสอบเป็นบวกมี ๒ ชนิด ได้แก่ สารสกัดรากคนทาที่ความเข้มข้นร้อยละ ๒๐ จำนวน ๓ คน สารสกัดรากชิงช้าที่ความเข้มข้นร้อยละ ๑๐ และ ๒๐ เป็นคนเดียวกันจำนวน ๑ คน สารสกัดสมุนไพรเดี่ยวอีก ๓ ชนิด ให้ผลบวกไม่ชัดเจน ได้แก่ รากมะเดื่อชุมพรที่ความเข้มข้นร้อยละ ๑๐ และ ๒๐ เป็นคนเดียวกันจำนวน ๒ คน รากย่านางที่ความเข้มข้นร้อยละ ๑๐ จำนวน ๑ คน และรากเท้ายายม่อมที่ความเข้มข้นร้อยละ ๑๐ จำนวน ๑ คน ดังตารางที่ ๓

ตารางที่ ๓ แสดงความถี่ของการระคายเคือง (irritant reaction) และการเกิดการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ (allergic reaction) ของอาสาสมัครปกติ

สารที่ใช้ทดสอบ	ระยะเวลาที่อ่านผล					
	๔๘ ชั่วโมง			๙๖ ชั่วโมง		
	ปฏิกิริยาให้ผลบวก			ปฏิกิริยาให้ผลบวก		
	(คน)	?	IR	(คน)	?	IR
	+	++	+++	+	++	+++
สารมาตรฐาน						
Nickel sulphate	๑ ^d	๒ ^{b,h}		๒ ^{b,d}	๑ ^h	
๒๐๐ มคก/ตร.ซม						
Wool alcohol			๑ ^c			๐
๑,๐๐๐ มคก/ตร.ซม						
Neomycin sulphate			๑ ^c			๐
๒๓๐ มคก/ตร.ซม						
Potassium dichromate						
๒๓ มคก/ตร.ซม						
Caine mix						
๖๓๐ มคก/ตร.ซม						

ตารางที่ ๓ แสดงความถี่ของการระคายเคือง (irritant reaction) และการเกิดการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ (allergic reaction) ของอาสาสมัครปกติ (ต่อ)

สารที่ใช้ทดสอบ	ระยะเวลาที่อ่านผล					
	๔๘ ชั่วโมง			๕๖ ชั่วโมง		
	ปฏิกิริยาให้ผลบวก			ปฏิกิริยาให้ผลบวก		
	(คน)			(คน)		
	+	++	+++	+	++	+++
Fragrance mix ๔๓๐ มคก/ตร.ซม						๑ ^g
Colophony ๘๕๐ มคก/ตร.ซม		๑ ^g			๑	
Epoxy resin ๕๐ มคก/ตร.ซม						
Quinoline mix ๑๘๐ มคก/ตร.ซม						
Balsam of Peru ๘๐๐ มคก/ตร.ซม						
Ethylenediamine dihydrochloride ๕๐ มคก/ตร.ซม						๑ ^h
Cobalt chloride ๒๐ มคก/ตร.ซม		๑ ^b			๑	
p-tert-Butylphenol formaldehyde resin ๕๐ มคก/ตร.ซม						
Parabens mix ๑,๐๐๐ มคก/ตร.ซม						
Carba mix ๒๕๐ มคก/ตร.ซม						๑ ^c
Black rubber mix ๗๕ มคก/ตร.ซม						
Cl ⁺ MeIsothiazolinone (Kathon CG) ๔ มคก/ตร.ซม						
Quaternium-๑๕ ๑๐๐ มคก/ตร.ซม						๑ ^{b,e}
Mercaptobenzothiazole ๗๕ มคก/ตร.ซม	๑ ^a			๑		
p-Phenylenediamine ๘๐ มคก/ตร.ซม						
Formaldehyde ๑๘๐ มคก/ตร.ซม						
Mercapto mix ๗๕ มคก/ตร.ซม						
Thiomersal ๘ มคก/ตร.ซม	๒ ^{e,g}	๒ ^{d,h}	๑ ^c	๒ ^{d,h}	๑ ⁱ	๑
Thiuram mix ๒๕ มคก/ตร.ซม	๑ ^e		๑ ^g	๑		๑

ตารางที่ ๓ แสดงความถี่ของการระคายเคือง (irritant reaction) และการเกิดการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ (allergic reaction) ของอาสาสมัครปกติ (ต่อ)

สารที่ใช้ทดสอบ	ระยะเวลาที่อ่านผล					
	๔๘ ชั่วโมง			๙๖ ชั่วโมง		
	ปฏิกิริยาให้ผลบวก			ปฏิกิริยาให้ผลบวก		
	(คน)			(คน)		
	+	++	+++	+	++	+++
Pure white petrolatum (negative control)						
สารสกัดสมุนไพร						
รากมะเดื่อชุมพรชั้น						๐
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๑๐						
รากมะเดื่อชุมพรชั้น						๐
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๒๐						
รากชิงชัน	๑ ^b			๑ ^e	๐	๐
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๑๐						
รากชิงชัน		๑ ^b			๐	
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๒๐						
รากเท้ายายม่อมชั้น				๑ ^d		๐
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๑๐						
รากเท้ายายม่อมชั้น						
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๒๐						
รากคนทาชั้น				๒ ^{a,d}		๐
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๑๐						
รากคนทาชั้น	๓ ^{b,d,f}			๑ ^e	๐	๑ ^{a*}
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๒๐						
รากย่านางชั้น				๑ ^e		๐
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๑๐						
รากย่านางชั้น						
เอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๒๐						
สารสกัดตำรับ						
ยาเบญจโลกวิเชียร						
ชั้นเอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๑๐						
สารสกัดตำรับ						
ยาเบญจโลกวิเชียร						
ชั้นเอทานอลความเข้มข้น						
ร้อยละ ๒๐						

หมายเหตุ

- (a - i) แสดงถึงอาสาสมัครคนที่ ๒-๑๐ ตามลำดับตัวเลขที่ถูกยกด้วยตัวอักษรพิมพ์เล็กภาษาอังกฤษตัวเดียวกัน (a - i) แสดงถึงอาสาสมัครคนเดียวกัน

- ?+ หมายถึง ให้ผลบวกไม่ชัดเจน

- IR หมายถึง ปฏิกริยาจากการระคาย

ผลทดสอบจากสารทดสอบสำเร็จรูปมาตรฐาน TRUE test® สารทดสอบไฮโอเมอร์แซล (thiomersal) ให้ผลบวก ๕ คน สารทดสอบโลหะนิเกิล (nickel sulphate) ให้ผลบวก ๓ คน หลังการทดสอบอาสาสมัครแต่ละคนได้รับการถามประวัติที่เฉพาะต่อสารทดสอบที่ให้ผลบวกเพิ่มเติมพบว่าอาสาสมัคร ๕ คนที่ให้ผลบวกต่อไฮโอเมอร์แซลมี ๒ คนที่มีผื่นเมื่อใช้พลาสติกปิดแผลและมาสคาร่า ส่วนอาสาสมัครทั้ง ๓ คนที่ให้ผลทดสอบบวกต่อโลหะนิเกิลมีประวัติมีผื่นเมื่อใช้เครื่องประดับเงิน

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากผลวิจัยพบว่า สารสกัดที่ใช้เพื่อเตรียมเป็นสารทดสอบผิวหนัง มีค่าของสารที่เป็นสารออกฤทธิ์อยู่ในกลุ่ม phenolic และมีฤทธิ์ต้านการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ตามคุณสมบัติของสมุนไพรดำรับและสมุนไพรเดี่ยวที่มีผู้รายงานไว้^๖ สามารถใช้เตรียมเป็นสารทดสอบผิวหนังและสารออกฤทธิ์สำหรับเตรียมยาและผลิตภัณฑ์เฉพาะสำหรับผิวหนังต่อไป

สารทดสอบมาตรฐานไฮโอเมอร์แซลมีความถี่ของผลการทดสอบในการก่อการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้สูงสุดให้ผลบวก (ความถี่ ๕/๑๐) โดยอาสาสมัคร ๒ คนให้ผลการทดสอบสัมพันธ์กับประวัติมีผื่นคันจากสก็อตเทปปิดแผลและมาสคาร่า เนื่องจากสิ่งของดังกล่าวสามารถมีไฮโอเมอร์แซลเป็นส่วนประกอบ อาสาสมัคร ๓ คนที่ให้ผลการทดสอบบวกไม่มีประวัติผื่นคันเมื่อสัมผัสกับสารชนิดใด และไม่เคยมีประวัติการแพ้สารที่มีไฮโอเมอร์แซลมาก่อน เช่น วัคซีนยาหยอดตา ยาทาแผล ซึ่งผลการวิจัยที่ได้ไม่แตกต่างจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศที่มีรายงานว่าผู้ที่ให้ผลทดสอบเป็นบวกส่วนใหญ่ไม่มีปัญหาการเกิดผื่นแพ้สัมผัสจากการสัมผัสไฮโอเมอร์แซล^{๑๓,๑๔,๑๕}

สารทดสอบมาตรฐานโลหะนิเกิลมีความถี่ของผลการทดสอบในการก่อการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ให้ผลบวก (ความถี่ ๓/๑๐) รองลงมาจากไฮโอเมอร์แซล อาสาสมัครทั้ง

๓ คนให้ผลการทดสอบเป็นบวกกับโลหะนิเกิลมีประวัติสัมผัสกับการมีผื่นคัน เมื่อใช้เครื่องประดับเงิน สายนาฬิกาโลหะ ซึ่งให้ผลการวิจัยไม่แตกต่างจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ ที่มีรายงานการแพ้โลหะนิเกิลเป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของโรคผื่นแพ้สัมผัส^{๑๖,๑๗}

สารสกัดในตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ความเข้มข้นร้อยละ ๑๐ และ ๒๐ ไม่พบปฏิกิริยาการก่อการระคายเคืองและไม่พบให้ผลบวกแบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ ดังนั้นสารสกัดสมุนไพรดำรับยาเบญจโลกวิเชียรจึงมีความปลอดภัยและมีศักยภาพเพียงพอที่จะนำมาทำเป็นสารออกฤทธิ์ สำหรับการเตรียมเป็นยาและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ภายนอกสำหรับผิวหนัง และศึกษาวิจัยต่อไปในการพัฒนาผลิตภัณฑ์และประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์กับโรคหรือปัญหาผิวหนังต่างๆ

สารสกัดรากคนทาให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยมีความถี่เท่ากับโลหะนิเกิล (ความถี่ ๓/๑๐) ซึ่งเป็นสารที่เป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของโรคผิวหนังอักเสบชนิดผื่นแพ้สัมผัส^{๑๖,๑๗} ดังนั้นถึงแม้ว่าจะไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในระดับความเข้มข้นที่สูงก็ไม่เหมาะสมในการใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในการทำผลิตภัณฑ์เฉพาะสำหรับผิวหนัง เพราะจะมีโอกาสในการเป็นสาเหตุของโรคผื่นแพ้สัมผัสสูงมากขึ้นเมื่อสัมผัสบ่อยขึ้นจากการใช้ ในทำนองเดียวกัน สารสกัดรากชิงชันมีความถี่ของผลทดสอบที่เป็นบวก (ความถี่ ๑/๑๐) เมื่อนำมาทำเป็นสารออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังจะมีโอกาสในการก่อการแพ้สูงในผู้ที่ใช้ผลิตภัณฑ์ เพราะมีการสัมผัสที่บ่อยขึ้น ทำให้โอกาสในการแพ้สูงกว่าในประชากรปกติทั่วไป^{๑๘}

สารสกัดสมุนไพรอีก ๓ ชนิดที่ให้ผลบวกไม่ชัดเจน อาจจะเนื่องจากคุณภาพของสารทดสอบที่ได้ยังไม่ดีพอ หรือความเข้มข้นที่ใช้ยังไม่เหมาะสมในการก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่เป็นผลบวก หรือเนื่องจากการศึกษานี้ทำในคนปกติ ซึ่งถ้าทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคผื่นแพ้สัมผัสอาจให้ผลการทดสอบที่ชัดเจนขึ้น ดังนั้นจึงควรศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากโครงการวิจัยในโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๔ ความอนุเคราะห์ในการตรวจทานและแก้ไขบทความของรองศาสตราจารย์แพทย์หญิงมะลิ อาจริยะกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.อรุณพร อีฐรัตน์

เอกสารอ้างอิง

๑. คณะกรรมการฝ่ายประมวลเอกสารและจดหมายเหตุ. แพทยศาสตร์สังเคราะห์: ภูมิปัญญาทางการแพทย์และมรดกทางวัฒนธรรมของชาติ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว; ๒๕๕๒.
๒. ม.ป.ป. แพทยศาสตร์สังเคราะห์. กรุงเทพฯ.
๓. รมลวรรณ ทับฟิ่ง, ธนภรณ์ ตั้งจิตปิยะนันท์, ศุณิดา มากชูชิต, อรุณพร อธิรัตน์. การศึกษาฤทธิ์ต้านการก่อภูมิแพ้ของตำรับยาเบญจโลกวิเชียร (ห้าราก). วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ๒๕๕๒;๗:๑๒๓.
๔. จุฬารัตน์ สุรนาราย, ธนา จักษ์เมธา, ศุณิดา มากชูชิต, อรุณพร อธิรัตน์. การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของตำรับยาเบญจโลกวิเชียร (ห้าราก). วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ๒๕๕๒; ๗:๑๒๐.
๕. Moffitt DL, Sharp LA, Sansom JE. Audit of Finn Chamber patch test preparation. Contact Dermatitis 2002;47:334-6.
๖. Panthong A, Kanjanapothi D, Taesotikul T, Wongcome T, Reutrakul V. Anti-inflammatory and antipyretic properties of Clerodendrum petasites S. Moore. J Ethnopharmacol 2003;85:151-6.
๗. ชไมพร แสงระพี, สวัสดิ์ ชันธุธรรม, สุมาลี ปานทอง, อรุณพร อธิรัตน์. การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของตำรับยาเบญจโลกวิเชียร (ห้าราก). วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ๒๕๕๒;๗:๑๒๑.
๘. Mandal SC, Maity TK, Das J, Saba BP, Pal M. Anti-inflammatory evaluation of Ficus racemosa Linn. leaf extract. J Ethnopharmacol 2000;72:87-92.
๙. มัลลย์สดี ดาโรจน์. เวช-เภสัชกรรมแผนโบราณ. กรุงเทพฯ: เทพรัตน์การพิมพ์; ๒๕๒๖.
๑๐. Miliauskus G, Venskutonis PR, Van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem 2004;85:231-7.
๑๑. Tewtrakul S, Subhadhirasakul S. Anti-allergic activity of some selected plants in the Zingiberaceae family. J Ethnopharmacol 2007;109:535-8.
๑๒. พิชรี สุนทรพะลิน. ฟีนลัมฟัส. กรุงเทพฯ: เมติคัลมีเดีย; ๒๕๓๔.
๑๓. Ingber A. Thimerosal – The surprising allergen of the year. Clinics in Dermatology 2003;2:340-1.
๑๔. Wattanakrai P, Rajatanavin N. Thimerosal allergy and clinical relevance in Thailand. J Med Assoc Thai 2007;90:1775-9.
๑๕. Yasky AS, Eyal A, Kappel A, Slodownik D. Occupational contact dermatitis in nurse due to thiomersal. IMAJ J Med Assoc Thai 2011;13:254-5.
๑๖. Hamann CR, Hamann DJ, Hamann QJ, Hamann CP, Boonchai W, Feng Li L, et al. Assessment of nickel release from earrings randomly purchased in China and Thailand using the dimethylglyoxime test. Contact dermatitis 2010;62:232-40.
๑๗. Thyssen JP, Linneberg A, Menne T, Johansen SD. The epidemiology of contact allergy in general population – prevalence and main finding. Contact Dermatitis 2007;57:229-87.

Abstract

A clinical study phase I on safety of Thai medicinal formula "Benjalokawichien (Ha-Rak)" and each plant component extract. Warumpa Suwannarat*, Mali Achariyakul**, Arunporn Itharat***, Somboon Kiettinun***

* Candidate for M.Sc. Degree in Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University

** Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University

*** Applied Thai Traditional Medicine Centre, Faculty of Medicine, Thammasat University

Introduction: To investigate safety profiles of extracted materials of Thai medicinal formula "Benjalokawichien (Ha-Rak)" and each plant component as being contact allergens or contact irritants to human skin.

Methods: Clinical safety was studied of ethanolic extract in the medicinal formula "Benjalokawichien (Ha-Rak)" and its each plant component. Total phenolic content of the extract was determined using Folin Ciocalteu's reagent. Anti-allergic and anti-IgE effect were determined as inhibitory activity on β -hexosaminidase release. The allergic reaction and irritation reaction in normal human skin were tested using closed patch test under occlusion, where TRUE test® was used as control.

Results: The extracted material of the medicinal formula "Benjalokawichien (Ha-Rak)" and each plant component contained phenolic content with good anti-IgE effect. Ten healthy adults 4 males, 6 females aged 21-28 years; (mean $\pm$ SD of volunteer = 24.9 ± 2.024 years) were patch tested. No irritation reaction was found from the medicinal formula "Benjalokawichien" and all of each plant component extracts. The medicinal formula "Benjalokawichien (Ha-Rak)" showed no allergic reaction to all volunteers. The results showed 3 volunteers had positive allergic reaction to *Harrisonia perforata* Merr. and 1 volunteer to *Capparis micracantha* DC.. Doubtful reaction was found in 2 volunteers to *Ficus racemosa* Linn. and 1 volunteer to *Clerodendrum petasites* S. Moore and *Tiliacora triandra* Diels.. In TRUE test® sets showed no irritation. The highest positive allergic reagent was thiomersal 5 volunteers, following by nickel sulphate 3 volunteers and 1 volunteer each to colophony, cobalt chloride, mercaptobenzothiazole and thiuram mix. The results showed 2 volunteers had doubtful reaction to quaternium-15 and 1 volunteer each to neomycin sulphate, wool alcohol, carba mix, fragrance mix, thiomersal, ethylenediamine dihydrochloride.

Conclusion: Ethanolic extract of Thai medicinal formula "Benjalokawichien (Ha-Rak)" contained phenolic content with good anti-IgE effect. The tests showed no irritation nor allergic reaction to human skin, so this may be highest safety and suitable for drug preparation and other products of external skin treatment. Extract of *Harrisonia perforata* Merr. Root and *Capparis micracantha* DC. root caused allergic reaction which may not be safe to use as active ingredient for topical preparation for skin. Contact allergic effect of extract of the other each plant components need further study.

Key words: Clinical safety study, Human skin patch test, Thai medicinal formula "Benjalokawichien"