

นิพนธ์ต้นฉบับ

**การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*P. acnes*)
ของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลา**

จตุพร ประทุมเทศ^{1*} ปราณี ศรีราช¹ รัชฎาวรรณ อรรถนิตมาตย์¹ รณชัย ภูวนานา¹
ทัศนิกา แก้วสูงเนิน¹ กมลวรรณ จงจิตต์¹ และจากรวรรณ ดรเถื่อน¹

¹คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: summer_rose_007@hotmail.com

Received date: May 5, 2020; Revised date: August 24, 2020; Accepted date: February 28, 2021

บทคัดย่อ

สิวเป็นปัญหาทางผิวหนังที่มีสาเหตุมาจากรูขุมขนอักเสบจากการติดเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงอนุมูลอิสระที่ถูกกระตุ้นโดยมลพิษทางอากาศ ซึ่งสมอไทย สมอพิเภก และมะขามป้อม เป็นสมุนไพรในพิกัดตรีผลาที่มีสารสำคัญในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก มีแนวโน้มที่จะสามารถต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ การใช้สมุนไพรเหล่านี้จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะแก้ปัญหาดังกล่าวได้ โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลาต่อการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว ได้แก่ *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) ผลการศึกษาพบว่า สกัดมะขามป้อมออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดและมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน L-Ascorbic acid ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.08 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดสมอพิเภก พิกัดตรีผลา และสมอไทย ตามลำดับ และเมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *P. acnes* พบว่า สารสกัดสมอพิเภกออกฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnes* ดีที่สุด มีขนาดขอบเขตการยับยั้งการเจริญเชื้อ เท่ากับ 25.44 ± 1.31 มิลลิเมตร (ที่ปริมาณ 2 มิลลิกรัม) รวมถึงมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC) เท่ากับ 0.20 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดพิกัดตรีผลา มะขามป้อม และสมอไทย ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพน้อยกว่ายามาตรฐาน clindamycin (MIC และ MBC เท่ากับ 0.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมากกว่า 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ทั้งนี้สารสกัดสมอพิเภกมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* ดีกว่าสารสกัดมะขามป้อมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง อาจเป็นผลมาจากสารสกัดสมอพิเภกมีสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม hydrolysable tannin และ condense tannin ในปริมาณมาก จากข้างต้นสรุปได้ว่า สมอพิเภกเป็นสารสกัดที่มีความเหมาะสมที่สุดต่อการนำไปต่อยอดและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิวต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : ตรีผลา, ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*P. acnes*)

Comparison of antioxidant and anti-acne causing bacteria (*P. acnes*) activities of methanolic extracts from Triphala herbals

Jatuporn Prathumtet^{1*}, Pranee Sriraj¹, Ratchadawan Aukkanimart¹,
Ronnachai Poowanna¹, Thanthika Kaewsoongnern¹, Kamolwan Jongjitt¹,
and Jaruwan Donthuan¹

¹Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus

*Corresponding Author E-mail: summer_rose_007@hotmail.com

Abstract

Acne is a skin problem that is caused by bacterial folliculitis and free radical in air pollution. *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb., *Terminalia chebula* Retz. and *Phyllanthus emblica* L. are medicinal plant know as “Triphala” which could probably be a rich source of phenolic compound. It possesses antioxidant and antimicrobial activities. So, remedies of these herbals are an alternative choice for improvement skin conditions. This work aims to compare the efficiency of methanolic extracts from Triphala herbals on antioxidant activity via DPPH radical scavenging assay. And anti - acne causing bacteria as *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) activity was also investigated. The results revealed that *Phyllanthus emblica* L. extract exhibited the greatest percent of DPPH radical scavenging activity as well as L- Ascorbic acid with IC₅₀ of 0.08 ± 0.00 mg/ml followed by the extract from *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb., Triphala and *Terminalia chebula* Retz., respectively. Moreover, the results of anti - *P. acnes* activity demonstrated that *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. extract showed the highest anti - *P. acnes* activity with inhibition zone of 25.44 ± 1.31 mm at amount of 2 mg. It also showed minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of 0.20 and 0.20 mg/ml, respectively. The following is provided by the extract from Triphala, *Phyllanthus emblica* L. and *Terminalia chebula* Retz., respectively. They are less effective than clindamycin (MIC and MBC of clindamycin are 0.13 and > 0.5 µg/ml, respectively.) In addition, *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. extract is more against *P. acnes* than *Phyllanthus emblica* L. extract which has good antioxidant activity due to it contain highly phenolic content like hydrolysable tannin and condense tannin. Conclusively, *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. is suitable to extend and develop as skin care products for acne-prone skin in the future.

Keywords: Triphala, antioxidant, anti-acne causing bacteria (*P. acnes*)

บทนำ

สิวเป็นโรคผิวหนังที่พบบ่อยมากในคนทุกเพศทุกวัยโดยเฉพาะวัยรุ่น มักมีสาเหตุมาจากการอักเสบของต่อมไขมันบริเวณรูขุมขนบนผิวหนังจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) การผลิตไขมันที่มากเกินไป รวมถึงฮอร์โมน อาหาร และกรรมพันธุ์⁽¹⁾ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยสำคัญอื่น ๆ ที่สามารถก่อให้เกิดสิวได้ คือ มลพิษทางอากาศ ซึ่งมลพิษทางอากาศส่วนใหญ่มักพบในรูปแบบของเขม่าควันจากรถยนต์ หรือฝุ่นละอองอนุภาคขนาดเล็ก (PM) ที่เกิดจากการเผาไหม้ตามบริเวณต่าง ๆ มลพิษเหล่านี้จะกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระไปทำลายเซลล์ผิวหนังและกระตุ้นสารก่อการอักเสบ ส่งผลให้เกิดสิวกักเสบและมีรูขุมขนอุดตันตามมาได้⁽²⁾ โดยลักษณะอาการแสดงของสิวมียูหลายรูปแบบ เช่น สิวหัวเปิด สิวหัวปิด และสิวกักเสบ ฯลฯ ส่วนใหญ่จะพบในบริเวณที่มีต่อมไขมันมาก ได้แก่ บริเวณหน้า ออก และหลัง การเป็นสิวจึงส่งผลต่อคุณภาพชีวิตด้านอารมณ์ จิตใจและสังคม ทำให้สูญเสียความมั่นใจในตนเอง เกิดความเครียด วิตกกังวล และไม่สามารถเข้าสังคมได้^(3, 4)

ปัจจุบันได้มีการคิดค้นและพัฒนาหาแนวทางในการรักษาสิวจำนวนมาก ได้แก่ การใช้ยาทา เช่น ยาปฏิชีวนะชนิดทา (erythromycin, clindamycin และ tetracycline) ยา retinoids และยา benzoyl peroxide เป็นต้น การใช้ยารับประทาน เช่น ยาปฏิชีวนะชนิดรับประทาน (erythromycin, doxycycline, minocycline และ tetracycline) และยา isotretinoin เป็นต้น รวมถึงการรักษาด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น การรับประทานยาคุมกำเนิดเพื่อปรับฮอร์โมน อย่างไรก็ตามวิธีเหล่านี้ก่อให้เกิดผลข้างเคียง เช่น ผิวหน้าแดงหรือระคายเคืองจากการใช้ยาทา ทั้งนี้เนื่องจากยาทาบางชนิดทำให้ผิวหนังชั้น stratum corneum บางลงและไวต่อแสงแดด หรือแม้แต่การรับประทานยาปฏิชีวนะบางชนิด อาจส่งผลให้มีการติดเชื้อ *Candida* ในช่องคลอด อาจทำให้ผิวหนัง เยื่อเมือก และฟันเปลี่ยนสี รวมถึงมีอาการผิวหนังแห้ง ปากแห้ง ตาแห้ง ปวดกล้ามเนื้อ ปวดศีรษะ แผลหายช้า และอาจมี granulation เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการซ่อมแซมแผล⁽⁵⁾ จากข้างต้นแสดงให้เห็นว่า ผลข้างเคียงเหล่านี้ อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อชีวิตได้ ด้วยเหตุนี้จึงเป็นปัจจัยทำให้ผู้ที่ประสบปัญหาสิวนั้นมาเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรมากขึ้น โดยพบว่าสมุนไพรไทยหลายชนิดมีความสามารถในการรักษาสิว เช่น สมุนไพรในลูกประคบที่มีส่วนประกอบฟ้าทะลายโจร บัวบก กระเจา และสมุนไพรห้าราก (แก้วยาม่อม มะเดื่อชุมพร ชิงชี ย่านาง และคนทา) เป็นต้น⁽⁶⁾ และสมุนไพรอื่น ๆ ได้แก่ กระเทียม ข่า สาบเสือ ว่านมหากาฬ ฝรั่ง ทับทิม ขี้เหล็ก และหว่า⁽⁷⁾ แต่ยังคงพบว่ามีสมุนไพรไทยอีกหลายชนิด มีหลักฐานเชิงประจักษ์ปรากฏอยู่บนฐานข้อมูลจำนวนน้อย

ตรีผลาเป็นพืชสมุนไพรตำรับหนึ่งที่ดีต่อสุขภาพและมีการใช้สืบเนื่องกันมาในการแพทย์อายุรเวทอินเดียและการแพทย์แผนไทย ประกอบด้วยผลไม้ 3 อย่าง ได้แก่ สมอพิเภก สมอไทย และมะขามป้อม โดยตรีผลามีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลธาตุทั้ง 4 ของร่างกาย บรรเทาอาการไอ ขับเสมหะ⁽⁸⁾ ป้องกันมะเร็ง⁽⁹⁾ เสริมภูมิคุ้มกันต้านทานและชะลอความชราได้⁽¹⁰⁾ และในรายงานวิจัยของ Sheta et al. (2016) ระบุว่า ตรีผลาสามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อราจำพวก *Candida* ได้ นอกจากนี้ยังออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *S. aureus* และ *Pseudomonas*⁽¹¹⁾ ส่วนสรรพคุณตามตำรายาไทยของสมอพิเภก คือ ช่วยบำรุงธาตุ แก้ธาตุกำเริบ แก้เสมหะจุกคอก ทำให้ชุ่มคอ สมอไทยช่วยคุมธาตุ แก้พิษร้อนภายใน แก้ไอเจ็บคอ ขับน้ำเหลืองเสีย รักษาแผลเรื้อรัง และมะขามป้อมมีสรรพคุณบำรุงเนื้อหนังให้บริบูรณ์ แก้ไอ แก้เสมหะ ทำให้ชุ่มคอ แก้พยาธิ ฟอกโลหิต อีกทั้งยังสามารถลดปริมาณเม็ดสีบนใบหน้าของอาสาสมัครที่ได้รับการใช้เจลที่มีส่วนผสมของมะขามป้อม เป็นระยะเวลา 1 เดือนได้⁽¹²⁾ จากการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม พบว่า สมุนไพรเหล่านี้อุดมไปด้วยสารสำคัญในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารแทนนิน⁽¹³⁾ สารแทนนินจัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่

สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ hydrolyzable tannins และ condense tannins ซึ่ง hydrolyzable tannins เป็นสารที่ถูกย่อย (hydrolyse) ได้โดยกรดหรือเอนไซม์ สารในกลุ่มนี้มีสีเหลือง น้ำตาล ละลายในน้ำร้อนได้ ตัวอย่างสารสำคัญ ได้แก่ gallic acids ในหลายงานวิจัยนำไปใช้ประโยชน์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ และต้านทานการเกิดออกซิเดชันไม่ให้เซลล์ถูกทำลาย⁽¹⁴⁾ ส่วน condense tannins เป็นสารที่ไม่ถูกย่อยได้โดยกรดหรือเอนไซม์ จะสลายให้สารสีแดง ไม่ละลายน้ำ สารสำคัญที่พบ ได้แก่ catechin มีคุณสมบัติในการป้องกันผิวจากรังสียูวี ช่วยชะลอวัย ยับยั้งเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย ลดการอักเสบ รักษาโรคมะเร็งและต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งได้⁽¹⁵⁾ สมุนไพรในพิกัดตรีผลาจึงมีแนวโน้มที่จะสามารถต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*P. acnes*) ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้

ดังนั้น การวิจัยครั้งนี้จึงสนใจศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*P. acnes*) ในสมุนไพรเดี่ยว ได้แก่ ส่วนผลของสมอพิเภก สมอไทยและมะขามป้อม และสมุนไพรตำรับตรีผลา (สมอพิเภก สมอไทยและมะขามป้อม อัตราส่วน 1: 1: 1) ที่ทำการสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ทั้งนี้เพื่อเป็นการสร้างองค์ความรู้ให้กับศาสตร์ทางแพทย์แผนไทย และมีแนวทางในการนำองค์ความรู้ที่ได้ไปต่อยอดหรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิวจากสารธรรมชาติที่มีความปลอดภัยสูงและผลข้างเคียงน้อย

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลาต่อการต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว ได้แก่ *P. acnes*

ระเบียบวิธีการศึกษา

1. สกัดสมุนไพร

นำสมุนไพรเดี่ยว (ส่วนผลของสมอพิเภก สมอไทยและมะขามป้อม) และสมุนไพรตำรับตรีผลา (สมอพิเภก สมอไทยและมะขามป้อม อัตราส่วน 1: 1: 1) ที่ผ่านการบดหยาบแล้ว มาสกัดด้วยวิธีการหมัก (maceration) กับ 95% เมทานอล ในอัตราส่วน 1 : 4 เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำไปประเหยแห้งเพื่อเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) (R-210, Buchi U.S.A.) ที่ความดัน 100 มิลลิบาร์ ความเร็ว 84 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 60 °C ทำการชั่งน้ำหนักสารสกัดและคำนวณหาร้อยละผลผลิตของปริมาณสารสกัดที่ได้ (% yield)

2. วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (phenolic content)

นำสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลามาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method⁽¹⁶⁾ โดยปิเปตสารสกัดดังกล่าว (ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงใน 96 well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 40 ไมโครลิตร สารละลาย 7.5 % sodium bicarbonate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น ปริมาตร 140 ไมโครลิตร ตามลำดับ เขย่า 1 นาที ทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง microplate reader (Infinite 200 PRO, TECAN, U.S.A.) เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Sigma Aldrich, USA) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

3. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity)

นำสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลามาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay⁽¹⁷⁾ โดยปิเปตสารสกัดดังกล่าวลงใน 96 well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 0.1 มิลลิโมลาร์ DPPH ปริมาตร 280 ไมโครลิตร เขย่า 1 นาที ทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง microplate reader (Infinite 200 PRO, TECAN, U.S.A.) แล้วคำนวณหาค่า %DPPH radical scavenging activity เพื่อทดสอบหา IC_{50} เป็นลำดับถัดไป รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) และใช้วิตามินซี (Sigma Aldrich, USA) เป็นสารมาตรฐาน

4. ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes*

4.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acne* ด้วยวิธี disc diffusion

นำสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลามาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acne* (คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, ประเทศไทย) ด้วยวิธี disc diffusion⁽¹⁸⁾ โดยใช้ Brain Heart Infusion (BHI) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ นำเชื้อมาปรับให้ได้ปริมาณ เท่ากับ 0.5 McFarland และกระจายสารละลายเชื้อให้ทั่วบนผิวอาหาร ทิ้งไว้ให้ส่วนผิวหน้าของอาหารแห้ง จากนั้นหยดสารสกัด ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นกระดาษกรอง (filter paper disc) ขนาด 6 มิลลิเมตร แล้ววางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้น บ่มในตู้บ่มเชื้อในภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 ± 1 °C เป็นเวลา 24 - 72 ชั่วโมง ทดสอบเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน clindamycin (Oxoid Ltd., UK) ประเมินผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในหน่วยมิลลิเมตร (mm)

4.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC) *P. acne* โดยวิธี broth microdilution

เตรียมสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลาให้ได้ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาทดสอบหาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี วิธี broth microdilution^(19, 20) โดยปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวลงใน 96 well plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร ปิเปตสารสกัดที่เตรียมใส่หลุมที่ 1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วปิเปตสารละลายในหลุมที่ 1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ไปใส่ในหลุมที่ 2 และทำเช่นเดียวกันจนถึงหลุมที่ 12 โดยในหลุมที่ 12 ให้ปิเปตสารผสมที่ 100 ไมโครลิตร (เจือจางแบบ 2 fold serial dilution) จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียซึ่งได้ทำการปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland Standard ใส่ลงในหลุม 1-12 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มในตู้บ่มเชื้อในภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 ± 1 °C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง ทดสอบเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน clindamycin (RPC International Co., Ltd., Thailand) แล้วอ่านผลค่า MIC และทำการหาค่า MBC โดยดูอาหารในหลุมที่ใส ปริมาตร 5 ไมโครลิตร มาหยดลงบนอาหาร BHI Agar ทิ้งไว้ให้แห้ง บ่มในตู้บ่มเชื้อในภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 ± 1 °C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วอ่านผลค่า MBC

5. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ One-Way ANOVA เปรียบเทียบคู่ต่างด้วย LSD

ผลการศึกษา

1. การสกัดสมุนไพร

ผลการสกัดสมุนไพรเดี่ยว ได้แก่ ส่วนผลของสมอพิเภก สมอไทยและมะขามป้อม และสมุนไพรตำรับตรีผลา (สมอพิเภก สมอไทยและมะขามป้อม อัตราส่วน 1: 1: 1) ด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่า สารสกัดมะขามป้อม มีร้อยละผลผลิตของปริมาณสารสกัดที่ได้สูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 20.72 รองลงมา คือ สารสกัดพิกัดตรีผลา สมอไทย และสมอพิเภก เท่ากับ ร้อยละ 20.04, 18.41 และ 14.08 ตามลำดับ

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (phenolic content)

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัด ด้วยวิธี Folin – Ciocalteu Colorimetric พบว่า สารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด (ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดมะขามป้อม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด เท่ากับ 248.67 ± 3.37 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด รองลงมา ได้แก่ สารสกัดสมอไทย พิกัดตรีผลา และสมอพิเภก ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 1

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่า สารสกัดมะขามป้อม มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.08 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดสมอพิเภก พิกัดตรีผลา และสมอไทย ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2 อีกทั้งสารสกัดมะขามป้อมยังมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน L- Ascorbic acid อีกด้วย และเมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes*

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ของสารสกัด ด้วยวิธี disc diffusion พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิด ที่ปริมาณ 0.2 และ 2 มิลลิกรัม สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ได้ โดยเมื่อนำสารสกัดแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบกับที่ปริมาณ 2 มิลลิกรัม สารสกัดสมอพิเภกจะออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด มีขอบเขตการยับยั้งการเจริญเชื้อ เท่ากับ 25.44 ± 1.31 มิลลิเมตร รองลงมา ได้แก่ สารสกัดพิกัดตรีผลา มะขามป้อม และสมอไทย ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดเหล่านี้ยังคงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ในระดับที่น้อยกว่ามาตรฐาน clindamycin (38.65 ± 0.95 มิลลิเมตร) ส่วนผลการศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อ *P. acnes* ของสารสกัด พบว่า สารสกัดสมอพิเภก มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อ *P. acnes* สูงที่สุด โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.20 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามด้วยสารสกัดพิกัดตรีผลา มะขามป้อม และสมอไทย ตามลำดับ ขณะที่มาตรฐาน clindamycin มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมากกว่า 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

อภิปรายผล

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลา พบว่า สารสกัดมะขามป้อม มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดสมอพิเภก พิกัดตรีผลา และสมอไทย ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากสารสกัดมะขามป้อมมีปริมาณของ gallic acid มากกว่าสารสกัดชนิดอื่น ซึ่งมีรายงานวิจัย

พบว่า สารสำคัญในกลุ่มนี้เป็นสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยหากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้นก็จะยิ่งทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงตาม⁽²¹⁾ และจากการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมยังพบว่า มะขามป้อมนั้นอุดมไปด้วยวิตามินซี ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าในสมอไทยและสมอพิเภกตามลำดับ⁽²²⁾ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้สารสกัดมะขามป้อมออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shukla et al. (2012) ที่ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา ยับยั้งเชื้อ aflatoxin และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร 25 ชนิด ในประเทศอินเดีย พบว่า มะขามป้อมและสมอไทยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสมุนไพรชนิดอื่น โดยมะขามป้อมมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระดีกว่าสมอไทย มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 4.1 และ 6.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร⁽²³⁾

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลา แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยวและสมุนไพรตำรับตรีผลานั้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ได้ ทั้งนี้สารสกัดที่ออกฤทธิ์ดีที่สุด คือ สารสกัดสมอพิเภก อาจเป็นผลมาจากสมุนไพรจำพวก Terminalia spp. มักมีสารสำคัญในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ hydrolyzable tannin และ condensed tannin เป็นส่วนประกอบ โดย hydrolyzable tannin ที่พบ ได้แก่ gallic acid, tannic acid, chebulinic acid, chlorogenic acid และ ellagic acid ขณะที่ condensed tannin ที่พบ ได้แก่ catechin และ epicatechin⁽²⁴⁾ และงานวิจัยของ Kushwaha et al. (2019) ได้รายงานผลของสมอพิเภกที่มีปริมาณของ catechin สูงกว่ามะขามป้อม เท่ากับ 1.19 ± 0.42 และ 1.09 ± 0.35 มิลลิกรัมสมมูลของคาทีชินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ⁽²⁵⁾ จากการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม พบว่า catechin มีประโยชน์ในการลดการหลั่งไขมันจากต่อมไขมัน และสามารถยับยั้งเชื้อ *P. acnes*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ อีกทั้งยังมีงานวิจัยที่พบว่า สมอพิเภกมีปริมาณของ tannic acid สูงกว่ามะขามป้อมด้วย⁽²⁶⁾ ซึ่ง tannic acid มีคุณสมบัติในการสมานแผล ต้านเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *P. aeruginosa* และลดการอักเสบได้ จากข้างต้นอาจเป็นไปได้ว่าสมอพิเภกจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม hydrolysable tannin และ condense tannin สูงทั้ง 2 ประเภท จึงมีแนวโน้มที่สมอพิเภกจะมีประสิทธิภาพดีกว่าสมุนไพรชนิดอื่น นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของเกสรี กลิ่นสุคนธ์ และคณะ (2558) สนับสนุนว่า สารสกัดสมอพิเภกมีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง *S. epidermidis* ได้ดีกว่าสารสกัดสมอไทย โดยมีค่าขอบเขตการยับยั้งการเจริญเชื้อ เท่ากับ 17.50 ± 0.54 และ 12.33 ± 0.51 มิลลิเมตร ตามลำดับ⁽²⁷⁾ อย่างไรก็ตาม สารสกัดมะขามป้อมก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* เช่นกัน โดยออกฤทธิ์ได้ดีกว่าในสมอไทย ทั้งนี้เนื่องด้วย gallic acid ที่พบปริมาณสูงสุดในผลของมะขามป้อมมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ⁽²⁸⁾ โดยออกฤทธิ์ผ่านกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ทำงานผิดปกติ⁽²⁹⁾

บทสรุป

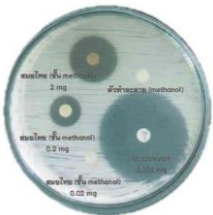

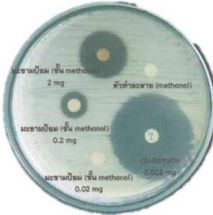

จากการศึกษาสรุปได้ว่า สารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยวสมอพิเภก เป็นสารสกัดที่มีความเหมาะสมที่สุดในการนำไปต่อยอดและพัฒนาผลิตภัณฑ์รักษาผิว ทั้งนี้เนื่องจากสามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ได้ดีที่สุด และยังมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระอันนำไปสู่การลดความเสื่อมของร่างกาย ช่วยเป็นเกราะป้องกันมลพิษต่าง ๆ จากสิ่งแวดล้อมได้ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2562 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน และขอขอบคุณสาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ที่ให้ความสะดวกในการใช้อาคารสถานที่ รวมถึงอุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

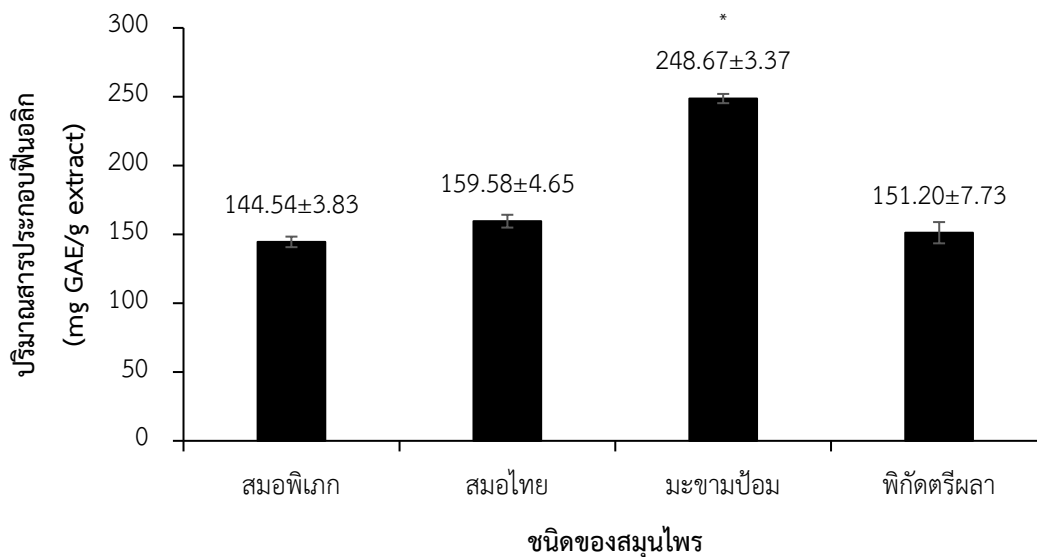
ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *P. acnes* ของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลา เปรียบเทียบ ยามาตรฐาน clindamycin ด้วยวิธี disc diffusion (n=3)

ตัวอย่าง	น้ำหนักที่ทดสอบ (mg)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ ขอบเขตการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ <i>P. acnes</i> (mm)	ผลการทดสอบ
สมอไทย	0.02	ND	
	0.2	12.46 ± 1.21	
	2	20.92 ± 1.42	
สมอพิเภก	0.02	ND	
	0.2	14.48 ± 0.91	
	2	25.44 ± 1.31	
มะขามป้อม	0.02	ND	
	0.2	12.31 ± 1.53	
	2	21.36 ± 0.42	
พิกัดตรีผลา	0.02	ND	
	0.2	12.49 ± 0.16	
	2	23.49 ± 1.61	
ยามาตรฐาน clindamycin	0.002	38.65 ± 0.95	-

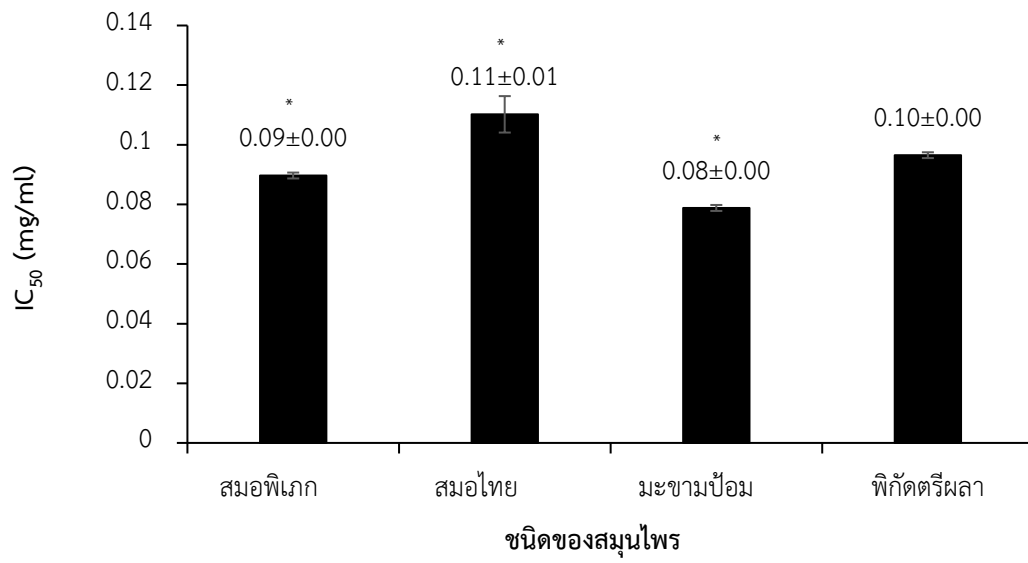
หมายเหตุ : ND คือ not detected

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลา เปรียบเทียบยามาตรฐาน clindamycin (ความเข้มข้น 0.5 µg/ml) ด้วยวิธี broth microdilution (n=3)

ตัวอย่าง	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>P. acnes</i> (MIC)	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย <i>P. acnes</i> (MBC)
สมอไทย	0.40 mg/ml	12.5 mg/ml
สมอพิเภก	0.20 mg/ml	0.20 mg/ml
มะขามป้อม	0.80 mg/ml	6.25 mg/ml
พิกัดตรีผลา	0.40 mg/ml	6.25 mg/ml
ยามาตรฐาน clindamycin	0.13 µg/ml	> 0.5 µg/ml



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลา (n=3) (* คือ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับสารสกัดพิกัดตรีผลา)



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลา (n=3) (* คือ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับสารสกัดพิกัดตรีผลา)

เอกสารอ้างอิง

1. เจนจิรา อังศุสิงห์. (2559). สิว. วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม, 23(3), 17-20.
2. โรงพยาบาลสมิติเวชไชน่าทาวน์. (ม.ป.ป.). PM 2.5 กระตุ้นสิ่ว ผิวแพ้ง่าย. ค้นเมื่อ 26 เมษายน 2563, จาก <https://www.samitivejchinatown.com/th/health-article/PM-2-5-caused-of-Acne>
3. ศรีศุภลักษณ์ สิงคาลวณิช. (2552). Update management of acne in adolescent. *กุมารเวชสาร*, 16(3): 180-187.
4. Thomas DR. (2004). Psychosocial effects of acne. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 8(Suppl4), 3-5.
5. ญัฐวุฒิ สีลาภกน. (2561). บทความวิชาการสำหรับการศึกษาต่อเนื่อง: การบริหารทางเภสัชกรรมในผู้ป่วยสิ่ว. ชลบุรี: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
6. Jantarat, C., Sirathanarun, P., Chuchue, T., Konpian, A., Sukkua, G., & Wongprasert, P. (2018). In Vitro Antimicrobial Activity of Gel Containing the Herbal Ball Extract against *Propionibacterium acnes*. *Scientia Pharmaceutica*, 86(1), 8.
7. Niyomkam, P., Kaewbumrung, S., Kaewnpparat, S., & Panichayupakaranant, P. (2010). Antibacterial activity of Thai herbal extracts on acne involved microorganism. *Pharmaceutical Biology*, 48(4), 375–380.
8. กองการประกอบโรคศิลป์ กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ. (2541). ตำราการแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัท ไทภูมิ พับลิชชิ่ง จำกัด.
9. Vadde, R., Radhakrishnan, S., Reddivari, L., & Vanamala, J. K. P. (2015). Triphala Extract Suppresses Proliferation and Induces Apoptosis in Human Colon Cancer Stem Cells via Suppressing c-Myc/Cyclin D1 and Elevation of Bax/Bcl-2 Ratio. *BioMed Research International*, 1–12.
10. Pinmai, K., Hiriyote, W., Soonthornchareonnon, N., Jongsakul, K., Sireeratawong, S., & Tor-Udom, S. (2010). In vitro and in vivo antiplasmodial activity and cytotoxicity of water extracts of *Phyllanthus emblica*, *Terminalia chebula*, and *Terminalia bellerica*. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 93(Suppl 7), 120-126.
11. Sheta, M., Kikani, K., Kavathia, P., Thakkar, J., & Ranganani, T. (2016). Study of antimicrobial activity of Triphala and its individual components. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(5), 41-43.
12. วุฒิ วุฒิชรรณเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
13. Chang, Z., Zhang, Q., Liang, W., Zhou, K., Jian, P., She, G., & Zhang, L. (2019). A Comprehensive Review of the Structure Elucidation of Tannins from *Terminalia Linn*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–26.

14. Butkhip L. 2012. Dietary Polyphenols and Their Biological Effects. **Journal of Science and Technology Mahasarakham University**, 31(4), 443-455.
15. Bae, J., Kim, N., Shin, Y., Kim, S.-Y., & Kim, Y.-J. (2020). Activity of catechins and their applications. **Biomedical Dermatology**, 4(1), 1-10.
16. Loypimai, P., Moongngam, A., & Chottanom, P. (2009). Effects of Ohmic Heating on Lipase Activity, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Rice Bran. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 3(4), 3,642-3,652.
17. Zhang, W. W., Duan, X. J., Huang, H. L., Zhang, Y. & Wang, B. G. (2007). Evaluation of 28 marine algae from the Qingdao coast for antioxidative capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions and subfractions derived from *Symphycloadia latiuscula* (Rhodomelaceae). **Journal of Applied Phycology**, 19(2), 97-108.
18. Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, 45(4), 493-496.
19. จารวี สุขประเสริฐ, สุนงกช ทรัพย์แดง. (2555). การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย. **วารสารผลงานวิชาการ กรมวิทยาศาสตร์บริการ**, 1(1), 99-109.
20. Rodríguez-Tudela, J. L., Barchiesi, F., Bille, J., Chryssanthou, E., Cuenca-Estrella, M., Denning, D., Donnelly, J. P., Dupont, B., Fegeler, W., Moore, C., Richardson, M., & Verweij, P. E. (2003). Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. **Clinical Microbiology and Infection**, 9(8), 1-8.
21. Yan, S. W. & Asmah, R. (2010). Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of turmeric leaf, pandan leaf and torch ginger flower. **International Food Research Journal**, 17(2), 417-423.
22. Hazra, B., Sarkar, R., Biswas, S., & Mandal, N. (2010). Comparative study of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging properties in the extracts of the fruits of *Terminalia chebula*, *Terminalia bellerica* and *Embllica officinalis*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 10(1), 1-15.
23. Shukla, R., Singh, P., Prakash, B., Anuradha, & Dubey, N. K. (2012). Antifungal, aflatoxin inhibitory and free radical-scavenging activities of some medicinal plants extracts. **Journal of Food Quality**, 35(3), 182-189.
24. Singh, A., Bajpai, V., Kumar, S., Kumar, B., Srivastava, M., & Rameshkumar, K. B. (2016). Comparative profiling of phenolic compounds from different plant parts of six *Terminalia* species by liquid chromatography–tandem mass spectrometry with chemometric analysis. **Industrial Crops and Products**, 87, 236-246.

25. Kushwaha, N., Mondal, D., Gupta, V., Mullakilparambil, V., M. V., J., Deba, B., Mondal, V., & Gupta, V. (2017). Phytochemical analysis and assessment of in vitro antioxidant properties of different plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3), 123–130.
26. Jain, V., & Saraf, S. (2007). Standardization of Triphala Churna: Spectrophotometric approach. *Asian Journal of Chemistry*, 19(2), 1,406–1,410.
27. เกสรี่ กลิ่นสุคนธ์, อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, ประภัสสร รักษาวาร, และลลิตา คชารัตน์. (2558). การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
28. สุวรรณี่ แสนทวิสุข, ดวงใจ จงตามกลาง, ทศน์วรรณ สมจันทร์, และปิติพงษ์ โตบันลือภพ. (2555). ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. *วารสารแก่นเกษตร*, 40(ฉบับพิเศษ 2), 480-483.
29. วรยุทธ ยอดบุญ, ประเวทย์ ต้อยเต็มวงศ์, และชญณี ต้อยเต็มวงศ์. (2555). ผลของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.