รายงานการวิจัย

เรื่อง

การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวและการพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

Evaluation of anti-acne inducing bacteria and gel formulation developing from *Terminalia chebula* Retz extract

ดร. ปิยนุช พรมภมร

นางสาว นภัสสร ราชรินทร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวและการพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

Evaluation of anti-acne inducing bacteria and gel formulation developing from *Terminalia chebula* Retz extract

ดร.ปิยนุช พรมภมร

(หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)

นางสาวนภัสสร ราชรินทร์

(หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัยปีงบประมาณ2557)

หัวข้อวิจัย การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวและการพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

ผู้ดำเนินการวิจัย ดร.ปิยนุช พรมภมร
นางสาวนภัสสร ราชรินทร์
ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ทัศนีย์ พาณิชย์กุล
หน่วยงาน หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

ปี พ.ศ. 2558

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของสิวด้วยวิธี agar well diffusion และหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 50 เปอร์เซนต์ (MIC_{50}) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ด้วยวิธี broth macrodilution ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสมอไทยที่เตรียมได้มีร้อยละของน้ำหนักสารสกัดหยาบเท่ากับ 14.124 และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *S. epidermidis* โดยมีค่า MIC_{50} เท่ากับ 0.96 และ 0.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 2.05 และ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดสมอไทยมาพัฒนาเป็นตำรับเจลพบว่าตำรับเจลที่ได้มีสีเหลืองใส มีค่า pH 6.5 และมีลักษณะทางกายภาพที่ดี

Research Title	Evaluation of anti-acne inducing bacteria and gel formulation development form *Terminalia chebula* extract
Researcher	Piyanuch Prompamorn, PhD Naphatsorn Ratcharin, MSc
Research Consultants	Asst.Prof. Tasanee Panichakul, PhD
Organization	Program of Cosmetic Science Faculty of Science and Technology Suan Dusit Rajabhat University
Year	2015

The objective of this study was to prepare the crude ethanol extract of *Terminalia chebula* Retz. and to evaluate an antibacterial activity of *T. chebula* extract against anti-acne inducing bacteria including *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. An antibacterial activity were tested by agar well diffusion method while minimum inhibitory concentration required inhibit the growth of 50% of organism (MIC_{50}) and minimum bactericidal concentration (MBC) were tested by broth macrodilution method. The yield of the crude extract was 14.124% of the dry weight of *T. chebula* fruit. The result indicated that *T. chebula* extract can inhibit the growth of both *S. aureus* and *S. epidermidis*. The MIC_{50} of *S. aureus* and *S. epidermidis* were 0.96 and 0.45 mg/ml, respectively. while MBC were 2.05 and 0.78 mg/ml, respectively. Gel composed of *T. chebular* were prepared and it's physiochemical properties were evaluated. The physical properties of gel were clear light yellow color with pH 6.5 and show good appearance.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ขอบคุณ รศ. ดร. ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้ห้องปฏิบัติการสำหรับการทดสอบทางจุลชีววิทยา ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหารในความอนุเคราะห์ใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้ห้องปฏิบัติการกลางในการดำเนินการวิจัย ขอบคุณหลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในการสนับสนุน

นางสาวปิยนุช พรมภมร และนางสาวนภัสสร ราชรินทร์

2558

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญ		ง
สารบัญตาราง		ฉ
สารบัญภาพ		ช
บทที่ 1	**บทนำ**	1
	ความเป็นมาและความสำคัญ	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
	ขอบเขตการวิจัย	2
	สมมติฐานการวิจัย	2
	คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	2
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2	**แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	3
	สมอไทย	3
.	ข้อมูลทั่วไปของสมอไทย	3
	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสมอไทย	3
	ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมอไทย	**6**
	ผิวหนัง	6
	สิว	8
	เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของสิว	10
	การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ	12
	Minimal inhibitory concentration (MIC)	12
	Minimal lethal concentration (MLC)	12
	Agar diffusion test	13
	Broth Macrodilution test	13
	Broth Microdilution test	13
	กรอบแนวคิดในการวิจัย	14

หน้า

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 15
เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 15
สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย 15
เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัย 15
การเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทย 15
การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล 16
การหาค่า MIC_{50} และ MBC ของสารสกัดสมอไทย 16
การพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย 17
การเตรียมเจลเบส 17
การประเมินคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับเจลสารสกัดสมอไทย 17
การวิเคราะห์ข้อมูล 18

บทที่ 4 ผลการวิจัย 19
การเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทย 19
การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล 19
การหาค่า MIC_{50} และ MBC ของสารสกัดสมอไทย 22
การพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย 22
เตรียมตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย 24
การประเมินคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับเจลสารสกัดสมอไทย 24

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 25
สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล 25
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ 27
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป 27

บรรณานุกรม 28
บรรณานุกรมภาษาไทย 28
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ 28

ภาคผนวก 34
ภาคผนวก ก การเตรียมเชื้อแบคทีเรียอาหารเลี้ยงเชื้อและการที่ใช้ในการวิจัย 35
ภาคผนวก ข การหาค่า MIC_{50} และ MBC 36

หน้า

ประวัติผู้วิจัย 39

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ส่วนผสมของตำรับเจลเบส	17
4.1	เส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis*	23
4.2	ส่วนผสมของตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย	24
4.3	คุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับจากสารสกัดสมอไทย	24

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะของต้นสมอไทย	4
2.2	ลักษณะใบของสมอไทย	5
2.3	ลักษณะดอกของสมอไทย	5
2.4	ลักษณะผลของสมอไทย	5
2.5	โครงสร้างของผิวหนัง	7
2.6	สิวหัวเปิด	9
2.7	สิวหัวปิด	9
2.8	เชื้อแบคทีเรีย *P. acnes*	11
2.9	เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus* sp.	12
4.1	ลักษณะของสารสกัดสมอไทย	19
4.2	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*	20
4.3	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis*	20
4.4	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เมื่อทดสอบด้วย positive control และ negative control	21
4.5	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบด้วย positive control และ negative control	21
4.6	ตำรับเจลที่ไม่เติมสารสกัดสมอไทยและตำรับเจลที่เติมสารสกัดสมอไทย	23
5.1	โครงสร้างของ gallic acid	26
5.2	โครงสร้างของ ellagic acid	26
ข-1	กราฟแสดงค่า % การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่าง ๆ	37
ข-2	กราฟแสดงค่า % การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่าง ๆ	38

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

สิวเป็นปัญหาที่พบมากในวัยรุ่น ซึ่งปรากฏอาการในช่วงอายุ 12-14 ปี โดยผู้หญิงจะปรากฏอาการของสิวก่อนผู้ชาย มักพบบริเวณใบหน้า หนังศรีษะ หน้าอก และหลัง เมื่อหายแล้วยังทิ้งรอยแผลเป็น สิวเกิดจากการผลิตน้ำมัน (sebum) ในต่อมไขมัน (sebaceous gland) มากผิดปกติ การอุดตันของต่อมไขมัน รวมถึงการติดเชื้อและสะสมเชื้อแบคทีเรียในต่อมไขมัน (Baumann, & Keri, 2009; Zvulunov, 2009) เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการอักเสบของสิวคือ *Propionibacterium acne, Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis* (Chomnawang et al. 2005) ปัจจุบันพบว่ามีการใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว เช่น อิริโทรมัยซิน (erythromycin) คลินดามัยซิน (clindamycin) และ เตตราไซคลีน (tetracycline) เป็นต้น (Zvulunov, 2009)

มีรายงานว่าพืชสมุนไพรไทยหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว ยกตัวอย่างเช่น มังคุด (*Garcinia mangostana*) ชุมเห็ดเทศ (*Senna alata*) สาบเสือ (*Eupatorium odoratum*) คาวตอง (*Houttuynia cordata*) เสลดพังพอน (*Barleria lupulina*) (Chomnawang et al. 2005; Azimi et al. 2012) และขิง (*Zingiber officinale*) เป็นต้น (Chrubasik, et al. 2005) พืชสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ คือ สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.) พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านออกซิแดนซ์ที่แรง (Naik et al., 2004; Dixit et al., 2013; Bag et al., 2013) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Bag et al., 2013) และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kannan et al., 2009; Bag et al., 2012; Bag et al., 2013) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงศึกษาการประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบบริเวณผิวหนังและเป็นสาเหตุของการเกิดสิว จากสารสกัดสมอไทยและพัฒนาเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรไทยตลอดจนเพิ่มทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล
2. เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสารสกัดสมอไทย
3. เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ 50 เปอร์เซนต์ (MIC_{50})
4. เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* (MBC)
5. เพื่อพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

ขอบเขตการวิจัย

1. เตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอลด้วยวิธีการหมัก
2. ประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* จากสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลด้วยวิธี agar well diffusion
3. หาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ 50 เปอร์เซนต์ (MIC_{50}) ด้วยวิธี broth macrodilution
4. หาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* (MBC) ด้วยวิธี broth macrodilution
5. พัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

สมมติฐานการวิจัย

คาดว่าสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิว

คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสมุนไพร หมายถึง การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญ และ/หรือ ความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลชีพของสมุนไพร

ค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) หมายถึงค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ

ค่า MIC_{50} (Minimum inhibitory concentration required to inhibit the growth of 50% of organisms) หมายถึงค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 50 เปอร์เซนต์

ค่า MBC (Minimum bactericidal concentration) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อ หรือมีเชื้อเจริญไม่เกินกำหนด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ 50 เปอร์เซนต์ (MIC_{50})
2. ทราบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* (MBC)
3. ได้ตำรับเจลเบื้องต้นจากสารสกัดสมอไทย

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สมอไทย

สมอ (*Terminalia chebula* Retz.) เป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในอินเดียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยรู้จักกันในนามสมอไทย (Rangsriwong et al. 2009) อยู่ในตระกูล Combretaceae ผลสมอไทยมีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย เช่น ยาระบายอ่อนๆ ยาธาตุ ยาบำรุง และแก้ชักกระตุก เป็นต้น ทั้งนี้มีรายงานว่าในผลสมอไทยมีสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compound) ในปริมาณสูง เช่น gallic acid, ellagic acid, chebulic acid และ corilagin เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาหลายประการ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการแพ้ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และฤทธิ์ต้านเบาหวาน (Chattopadhyay, & Bhattacharyya, 2007; Rangsriwong et al., 2009; Pfundstein et al. 2010; Bag et al., 2012; Bag et al., 2013)

ในการแพทย์พื้นบ้านได้มีการนำสมอไทยมาใช้ในการรักษาโรคและอาการต่าง ๆ ได้แก่ ไข้หวัด ท้องร่วง กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ โรคผิวหนัง บาดแผล โรคติดเชื้อแคนดิดา (Candidosis) โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และโรคในช่องปาก (Dash, 1991; Chattopadhyay, & Bhattacharyya, 2007) สมอไทยจัดอยู่ใน “พิกัดตรีผลา” (triphala) คือการเตรียมตำรับยาของผลไม้ 3 อย่าง ได้แก่ ผลสมอไทย ผลสมอพิเภก (*T. bellerica*) และผลมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) ซึ่งมีสรรพคุณในการรักษาโรคเรื้อรังเช่น โรคหัวใจ โรคตับ สร้างภูมิคุ้มกันและบำรุงสุขภาพให้มีอายุยืนยาว เป็นต้น (Naik et al. 2004; Pfundstein et al. 2010; Srivastava et al. 2012)

ข้อมูลทั่วไปของสมอไทย

สมอไทยมีชื่ออื่น ๆ เช่น สมอ (นครราชสีมา) ม่าแน่ (เชียงใหม่) สมอไทย สมออัพยา (ภาคกลาง) หมากแน่ะ (แม่ฮ่องสอน) มะน่ะ หมากนะ ส้มมอ มีชื่อพ้องคือ *Terminalia parviflora Thwaites, T. tomentella* Kurz

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสมอไทย

สมอไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Terminalia chebula* Retz. var *chebula* จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae จัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ (ภาพที่ 2.1) ผลัดใบ สูง 20-30 เมตร เรือนยอดกลมกว้าง เปลือกต้นขรุขระ สีเทาอมดำ เปลือกในสีเหลืองอ่อน เปลือกชั้นในมีน้ำยางสีแดง กิ่งอ่อนสีเหลืองหรือสีเหลืองแกมน้ำตาล มีขนคล้ายไหม เปลือกแตกเป็นสะเก็ดห่างๆ ยอดอ่อนมีขนสี

น้ำตาลหนาแน่น ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม หรือเกือบตรงข้าม รูปไข่ถึงรูปไข่แกมรูปใบหอก หรือรูปรีกว้าง กว้าง 5-10 ซม. ยาว 11-18 ซม. ขอบใบเรียบ มีต่อมไม่มีก้านที่ขอบใบจากฐานไปจนถึงครึ่งหนึ่งของความยาว ปลายใบมนหรือเป็นติ่งแหลม โคนกลมหรือกึ่งตัด หรือบางครั้งเบี้ยว ผิวด้านบนเป็นเงามันมีขนเล็กน้อย ผิวด้านล่างมีขนคล้ายไหมถึงขนสั้นหนานุ่ม เส้นกลางใบมีลักษณะนูน เส้นแขนงใบ 7-5 เส้น เด่นชัดที่ผิวใบทั้งสองด้าน แผ่นใบเหนียวคล้ายแผ่นหนัง ไม่มีหูใบ (ภาพที่ 2.2) กานใบรูปร่างกลม ยาว 1.7-2.5 เซนติเมตร มีขนสีขาว มีตอมไมมีก่านบริเวณใกล้ฐานใบ 1-3 คู ดอกออกเป็นช่อคล้ายช่อเชิงลดหรือช่อแยกแขนง มี 3-5 ช่อ สีขาวอมเหลือง มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ มักจะออกพร้อม ๆ กับใบอ่อน ออกที่ซอกใบหรือปลายกิ่ง ยาว 5-8.5 เซนติเมตร ไม่มีก้านช่อดอก หรือก้านช่อดอกสั้น แกนกลางสั้นและเปราะ มีขนสั้นนุ่ม ดอกสมบูรณ์เพศขนาดเล็ก 0.3-0.4 เซนติเมตร ไม่มีกลีบดอก ส่วนบนเป็นรูปถ้วยตื้นมีขนคลุมด้านนอก ใบประดับรูปแถบ ยาว 3.5-4 มม. ปลายแหลม มีขนสั้นนุ่มทั้งสองด้าน กลีบเลี้ยง 5 กลีบ สีขาวอมเหลือง โคนเชื่อมติดกันเป็นรูปถ้วย ปลายแยกเป็นแฉก เกลี้ยง รูปคล้ายสามเหลี่ยม เกสรเพศผู้มี 10 อัน ยื่นพ้นหลอดกลีบเลี้ยง ก้านชูอับเรณู ยาว 3-3.5 มิลลิเมตร เกลี้ยง จานฐานดอกมีขน เกสรเพศเมียมีรังไข่เหนือวงกลีบ ก้านเกสรเพศเมีย ยาว 2-3.5 มิลลิเมตร รังไข่เกลี้ยง หมอนรองดอกมีพูและขนหนาแน่น (ภาพที่ 2.3) พบตามป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง หรือพบตามทุ่งหญ้า ติดผลราวเดือนกันยายนถึงธันวาคม ผลเป็นแบบผลผนังชั้นในแข็ง รูปทรงกลม หรือรูปไข่ กว้าง 2-2.5 เซนติเมตร ยาว 2.5-3.5เซนติเมตร ผิวเกลี้ยงหรือมีสันตื้น ๆ ตามยาว 5 สัน เมื่อแก่มีสีเขียวอมเหลืองหรือสีเขียวปนน้ำตาล ผลแห้งมีสีดำเข้ม ผิวย่น (ภาพที่ 2.4) ผลอ่อนรสเปรี้ยว ผลแก่มีรสฝาดติดเปรี้ยว ขม ไม่มีกลิ่น (พันธิวา กระจาย, ประนอม จันทรโณทัย และ พิมพ์วดี พรพงศ์ รุ่งเรือง, 2013; มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. คณะเภสัชศาสตร์, มปป.)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะของต้นสมอไทย
ที่มา: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. คณะเภสัชศาสตร์ (มปป.)

ภาพที่ 2.2 ลักษณะใบของสมอไทย
ที่มา: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. คณะเภสัชศาสตร์ (มปป.)

ภาพที่ 2.3 ลักษณะดอกของสมอไทย
ที่มา: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. คณะเภสัชศาสตร์ (มปป.)

ภาพที่ 2.4 ลักษณะผลของสมอไทย
ที่มา: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. คณะเภสัชศาสตร์ (มปป.)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมอไทย

สารสกัดจากสมอไทยทั้งจากผลและใบมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด (Malckzadeh et al., 2001; Khan, 2009; Khan, & Jain, 2009; Bag et al., 2009) การศึกษาของ Sato et al. (1997) รายงานว่าผลที่สุกของสมอไทยมีฤทธิ์รุนแรงในยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่มเมธิซิลิน (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA) นอกจากนี้ Aneja, & Joshi (2009) รายงานว่า สารสกัดน้ำของผลสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutants* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบในช่องปากและเป็นสาตุของอาการฟันผุ

มีรายงานว่า ethanedioic acid และ ellagic acid ที่สกัดได้จาก butanol fraction มีฤทธิ์รุนแรงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium perfingens* และ*Escherichia coli* เช่นเดียวกับ Malckzadeh et al. (2001) ที่รายงานถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการทำงานของเอนไซม์ urease ในเชื้อแบคทีเรีย *Helicobactor pyroli* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคกระเพาะและมะเร็งกระเพาะอาหารและลำไส้

การศึกษาของ Dutta, Rahmen, & Dase (1998) และ Barazani et al. (2003) พบว่าสารสกัดน้ำของสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราในกลุ่ม dermatophyte และยีสต์ ได้แก่ *Epidermophyton, Floccossum, Microsporum gypseum, Trichophyton rubrum* และ *Candida albicans* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Bonjar (2004)

Bag et al. (2012) ทำการศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดที่ได้จากผลสมอไทยกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ 4 ชนิด ได้แก่ *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* และ *S. aureus* พบว่าสารสกัดส่วนเอทานอลให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดและให้ผลในการยับยั้งเชื้อทุกชนิดได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดส่วนน้ำและสารสกัดส่วน acetone

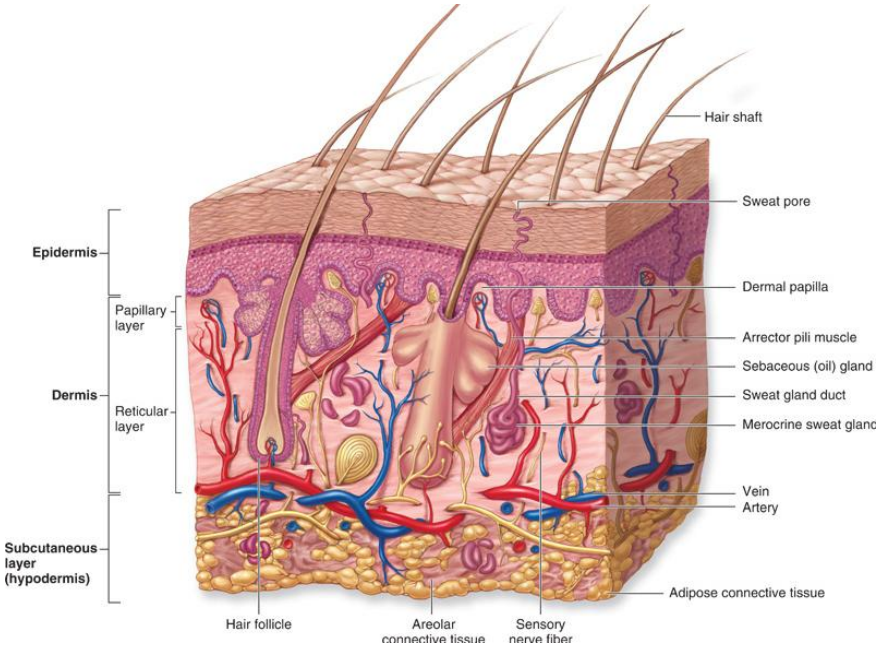
Kathirvel, & Sujatha (2012) ทำการศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดที่ได้จากใบสมอไทย โดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่างกัน ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtillis*, *Enterococcus faedalis*, *S. aureus*, *Corynebacterium* sp., *Salmonella typhi, K. pneumonia* และ *Shigella boydii* พบว่าเมื่อใช้สารสกัดส่วน acetone ให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิด โดยเฉพาะ *E. faecalis, B. sabtilis* และ *K. pneumoniaea* และยังให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดส่วนอื่นรองลงมาได้แก่สารสกัดส่วน methanol, น้ำ และ ethylacetate ตามลำดับ

ผิวหนัง

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่อยู่ภายนอกสุดของร่างกายทำหน้าที่ป้องกันร่างกายจากสภาวะแวดล้อมภายนอก สามารถแบ่งผิวหนังออกเป็น 2 ชั้นตามโครงสร้าง ได้แก่ หนังกำพร้า (epidermis) และหนังแท้ (dermis)

ชั้นหนังกำพร้า (epidermis) เป็นเนื้อเยื่อชั้นผิวหนังชั้นนอกสุดประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวและเซลล์บุผิวที่เรียงตัวเป็นชั้น ๆ ชั้นนอกสุดเป็นเซลล์ที่ตายแล้วซึ่งจะหลุดลอกออกเป็นขี้ไคล เซลล์บุผิวชั้นในสุดที่ติดกับหนังแท้เป็นเซลล์ที่มีชีวิตทำหน้าที่สร้างเซลล์บุผิวใหม่ทดแทนเซลล์ที่ตายแล้ว ในชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด โดยพบว่า 95 % ของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นนี้เป็นเซลล์ keratinocytes ส่วนที่เหลือเป็นเซลล์ชนิด melanocytes, Merkel cells และ Langerhans cells

ชั้นหนังแท้ (dermis) เป็นชั้นที่อยู่ถัดจากชั้นหนังกำพร้าเข้าไป ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน รูขุมขน หลอดเลือด เส้นประสาทและปลายประสาทรับความรู้สึก (ภาพที่ 2.5) (อรัญญา และ จีรเดช, 2550)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของผิวหนัง
ที่มา: http://cosbiology.pbworks.com

นอกจากผิวหนังจะทำหน้าที่ในการปกป้องร่างกายจากสิ่งแวดล้อมภายนอกแล้ว ยังเป็นที่อยู่อาศัยของ จุลินทรีย์หลายชนิด บนผิวหนังของคนปกติสามารถพบสิ่งมีชีวิตพวกแบคทีเรีย อาร์เคีย เชื้อรา ไวรัส และ ตัวไร เป็นจำนวนมาก (Kong, 2011) ซึ่งชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ที่พบบริเวณผิวหนังแต่ละบริเวณของแต่ละคนจะมีความแตกต่างกัน (Noble, 2004; Grice, & Segre, 2011) ขึ้นอยู่กับหลาย ๆ ปัจจัย ได้แก่ อายุ พันธุกรรม และภูมิคุ้มกัน (Firer et al., 2010; Kong, 2011)

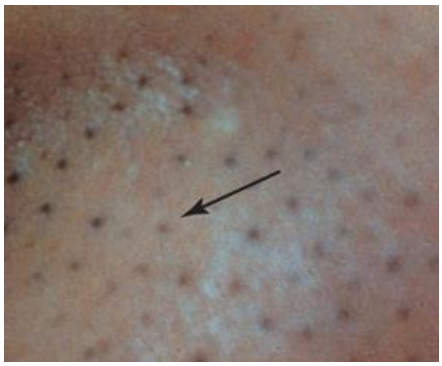
แบคทีเรียที่พบบริเวณผิวหนังสามารถจำแนกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ชั่วคราว ปนเปื้อนอยู่ที่ผิวหนังซึ่งจะไม่มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (transient flora), แบคทีเรียที่อยู่อาศัยชั่วคราว ไม่ถาวร แต่สามารถยึดเกาะ (colonize) อยู่ที่ผิวหนังได้ (temporary resident flora) และแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ที่บริเวณผิวหนัง สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ (resident flora) (Marples, 1965; Noble, & Someville, 1974) สำหรับแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ที่บริเวณผิวหนังของคน

ปกติ (normal flora) ประกอบไปด้วยแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดได้แก่ *P. acnes*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *C. diphtheria*, *C. jeikeium*และ *P. aeruginosa* (Chiller et al., 2001; Cogen et al., 2008) ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ทำหน้าที่ในการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์บนผิวหนังและป้องกันการเข้ายึดเกาะและเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

สิว

สิว (acne vulgaris หรือ cystic acne) เป็นการอักเสบแบบเรื้อรังที่เกิดจากความผิดปกติของ pilosebaceous unit (PSU) หรือรูขุมขน (hair follicle) ซึ่งประกอบด้วยต่อมไขมัน (sebaceous gland) เส้นขน (hair) และ infundibulum ซึ่งเป็นเซลล์บุล้อมรอบเส้นขนและเปิดออกสู่ผิวส่วนนอก สามารถพบรูขุมขนได้ทั่วไปตามผิวหนังทั่วร่างกาย ยกเว้นบริเวณฝ่ามือและฝ่าเท้า โดยจะพบมากบริเวณใบหน้า หน้าอกและแผ่นหลัง พบว่ารูขุมขนหนึ่ง ๆ จะเชื่อมต่ออยู่กับต่อมไขมันอย่างน้อย 1 ต่อม ต่อมไขมันทำหน้าที่ในการผลิตไขมัน และขับไขมันที่ผลิตขึ้นทางท่อต่อมไขมัน (pilosebaceous duct) ที่มีการเชื่อมต่อกับรูขุมขนเพื่อเคลือบเส้นขนและผิวหนัง เป็นการหล่อลื่นผิวและปกป้องผิวจากการสูญเสียความชุ่มชื้น ซึ่งไขมันที่หลั่งออกมาประกอบด้วย squalene, wax ester, triglycerides, free cholesterol และ fatty acid โดยปกติเซลล์ในรูขุมขนจะมีการแบ่งตัวอย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกับการผลิตและหลั่งไขมันของต่อมไขมัน เซลล์ที่ตายแล้วในรูขุมขนจะลอกหลุดออกมาและถูกขับออกจากรูขุมขนพร้อมกับไขมัน อย่างไรก็ตามหากกระบวนการแบ่งเซลล์ในรูขุมขนมากเกินปกติหรือกระบวนการสร้างไขมันของต่อมไขมันมากเกินปกติจะทำให้เกิดการสะสมของเซลล์ที่ตายและไขมันภายในรูขุมขน ทำให้รูขุมขนอุดตันไม่สามารถระบายไขมันและเซลล์ที่ตายออกไปได้และส่งผลให้เกิดสิวอุดตัน (comedone) (Zvulunov, 2009)

การอุดตันของรูขุมขน เรียกว่า สิวอุดตัน หรือ comedone ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ ได้แก่สิวหัวเปิด (open comedones หรือ blackheads) ที่หัวสิวเปิดสู่ผิวหนัง มีลักษณะเป็นจุดสีดำอยู่ตรงกลางเกิดจากไขมันและกลุ่มเซลล์ผิวหนังที่ตายแล้ว (ภาพที่ 2.6) ส่วนอีกชนิดหนึ่งคือสิวหัวปิดซึ่งเป็นสิวที่ปลายไม่เปิดหรือเปิดแต่รูมีขนาดเล็กมากจนมองไม่เห็นด้วยตาเปล่าภายในมีเคราตินและไขมันสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก ส่วนใหญ่สิวชนิดนี้จะกลายเป็นสิวอักเสบ (ภาพที่ 2.7)



ภาพที่ 2.6 สิวหัวเปิด (open comedones)
ที่มา: Zvulunov (2009)

ภาพที่ 2.7 สิวหัวปิด
ที่มา: Zvulunov (2009)

สิวอักเสบ (Inflammatory acne) เกิดจากการอักเสบของสิวอุดตันแบบสิวหัวปิดซึ่งมีการสะสมของไขมันและเซลล์ที่ตายแล้ว ซึ่งสภาพที่ไร้ออกซิเจนและการที่มีไขมันที่เป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียจำนวนมากส่งเสริมให้เกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ก่อให้เกิดหนองและการอักเสบ และ *P. acnes* ซึ่งสามารถย่อยสลายไขมันจากต่อมไขมันให้เป็นกรดไขมันอิสระ และหลั่งสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบหลายชนิด สิวอักเสบสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ลักษณะ ได้แก่ สิวชนิดตุ่มนูนแดง (papules) สิวหนอง (pustules) สิวอักเสบแดงเป็นก้อนลึก (nodules) และ สิวเป็นถุงน้ำขนาดใหญ่ใต้ผิวหนัง (cyst) ซึ่งสิวอักเสบแต่ละชนิดจะมีลักษณะที่แตกต่างกัน รวมถึงมีขนาดและความลึกของตำแหน่งที่ตั้งต่างกันออกไปดังต่อไปนี้

1. สิวชนิดตุ่มนูนแดง (papules) เป็นสิวอักเสบที่มีขนาดเล็ก มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร มีลักษณะเป็นตุ่มนูน สีแดงหรือชมพู อยู่บริเวณด้านบนของผิวหนัง

2. สิวหนอง (pustules) เป็นสิวอักเสบที่มีหนองอุดตันอยู่ภายในช่องว่างของรูขุมขน อาจมีสีขาว เหลือง ส้มหรือเขียว

4. สิวอักเสบแดงเป็นก้อนลึก (nodules) เป็นสิวที่มีขนาดใหญ่และอยู่ลึกลงไปในผิวหนัง โดยจะมีความลึกมากกว่าสิวชนิดตุ่มนูนแดง ซึ่งการแยกความแตกต่างระหว่างสิวชนิดตุ่มนูนแดง สิวหนอง และสิวอักเสบแดงเป็นก้อนลึก สามารถทำได้โดยใช้นิ้วมือสัมผัส

5. สิวเป็นถุงน้ำขนาดใหญ่ใต้ผิวหนัง (cyst) เป็นสิวที่มีหนองหรือของเหลวบรรจุอยู่เป็นจำนวนมากเป็นถุงน้ำขนาดใหญ่อยู่ใต้ผิวหนัง (Baumann and Keri, 2009; Zvulunov, 2009)

พบว่าการเกิดสิวมีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนในช่วงวัยรุ่น โดยมักเริ่มพบสิวในคนอายุ 12-14 ปี และจะพบในเด็กผู้หญิงเร็วกว่าเด็กผู้ชายเนื่องจากในเด็กผู้หญิงมีพัฒนาการทางเพศเร็วกว่าผู้ชายในช่วงแรก แต่มีรายงานว่าการเกิดสิวในผู้ชายมีแนวโน้มรุนแรงกว่าผู้หญิงเป็นผลมาจากการที่ฮอร์โมน testosterone มีผลในการกระตุ้นการทำงานของต่อมไขมันโดยจะกระตุ้นต่อมไขมันทำให้เกิดการเติบโตและสร้างไขมันออกมาทำให้เกิดความไม่สมดุลระหว่างการผลิตไขมันและการหลั่งไขมัน ฮอร์โมนจะมีผลต่อการทำงานของต่อมไขมันจนถึงในวัยผู้ใหญ่ ในเพศชายการหลั่งไขมันของต่อมไขมันถูกควบคุมโดยฮอร์โมน testosterone และในผู้หญิงการเพิ่มขึ้นอย่างทันทีของ Luteinizing hormone หลังการตกไข่มีผลต่อการทำงานของต่อมไขมัน (Baumann and Keri, 2009) นอกจากนี้ยังสามารถพบการเกิดสิวได้ในวัยผู้ใหญ่ โดยอาจยังพบการเกิดสิวในผู้มีอายุตั้งแต่ 25-34 คิดเป็น 8% และผู้ที่มีอายุ 35-44 ปี คิดเป็น 3% (White, 1991)

เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของสิว

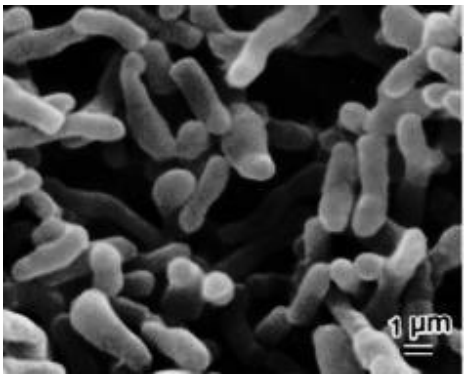
มีการรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องและเป็นสาเหตุของการเกิดสิว ได้แก่ *P. acnes*, *S. aureus*และ *S. epidermidis* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่สามารถพบได้ที่ผิวหนังของคนปกติ Nishijima et al. (2000) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากบาดแผลที่เกิดจากสิวพบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดหลัก ๆ ที่พบได้แก่ *S. epidermidis* และ *P. acnes* โดยคิดเป็น 50 % ของทั้งหมด และยังพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ส่วนใหญ่ที่พบดื้อยา erythromycin roxithromycin และ clindamycin ซึ่งยาปฏิชีวนะดังกล่าวเป็นยาที่นิยมใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว

เชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนสั้น ๆ อยู่ในวงศ์ Propionibacteriaceae (ภาพที่ 2.8) ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ สามารถทนต่อออกซิเจนได้นานหลายชั่วโมง เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้พบมากบริเวณผิวหนัง รูขุมขน และต่อมไขมัน ในต่อมไขมัน (Eady, & Ingham, 1994) จัดเป็นสาเหตุหลักของการเกิดสิว พบว่าแบคทีเรียดังกล่าวมีจำนวนเป็นครึ่งหนึ่งของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบบริเวณผิวหนังมีความหนาแน่นประมาณ 10^2-10^6 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของแบคทีเรียบนผิวหนังกับความรุนแรงของการเกิดสิวแต่อย่างใด (Leyden et al., 1998)

การที่สิวอุดตันมีการสะสมของไขมันและเซลล์ที่ตายแล้วภายในรูขุมขน ทำให้เกิดสภาพที่ไร้ออกซิเจนส่งผลให้เชื้อ *P. acnes* ที่อาศัยอยู่บริเวณรูขุมขนสามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยแบคทีเรียจะใช้ไขมันดังกล่าวเป็นแหล่งอาหาร อย่างไรก็ตามเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ไม่ได้เป็นสาเหตุโดยตรงของการเกิดสิวแต่เกิดจากสารที่แบคทีเรียชนิดนี้สร้างขึ้นมีผลทำให้เกิดกระบวนการอักเสบ กล่าวคือเชื้อ *P. acnes* มีการหลั่ง เอนไซม์ lipase, protease และ hyaluronidase ซึ่งมีบทบาทในการเหนี่ยวนำ

ให้เกิดการอักเสบ (Baumann, & Keri, 2009) นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* มีการสร้างสาร chemotactic factor ดึงดูด เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลที่บริเวณผนังเซลล์ epithelium ให้เข้ามาจับกินแบคทีเรียที่อยู่ในบริเวณดังกล่าว (Jappeet al., 2002) เมื่อแบคทีเรียถูกทำลายโดยนิวโทรฟิลจะมีการหลั่งเอนไซม์ hydrolase ซึ่งจะไปทำลาย follicular epithelium และช่วยส่งเสริมกระบวนการอักเสบ

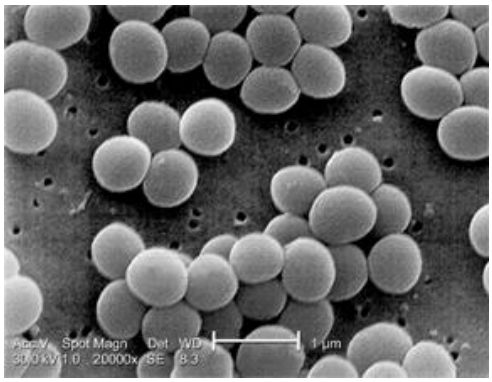
เชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* สามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบมีมาแต่กำเนิด (innate immunity) โดยสามารถจับกับตัวรับ Toll-like receptors (TLRs) ชนิด TLR-2 ที่อยู่บนผิวของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด phagocyte ซึ่งตัวรับดังกล่าวมีความจำเพาะต่อ bacterial lipoglycan ส่งผลให้เกิดการส่งสัญญาณเข้าไปในเซลล์ และก่อให้เกิด transcription factor ซึ่งสามารถไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนในนิวเคลียสและทำให้เกิดการสร้างและหลั่ง proinflammatory cytokine เช่น IL-1β, IL-8, TNF-α (Vowels et al., 1995) นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังสามารถกระตุ้นการสร้าง C5a ผ่านทางการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนท์ (complement system) ทั้งทาง classical pathway และ alternative pathway (Webster et al., 1978) นอกจากนี้เชื้อ *P. acnes* ยังสามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดที่เกิดขึ้นในภายหลัง (adaptive immunity) โดย Mouser et al.(2003) รายงานว่ามีการพบลิมโฟไซต์ชนิด T heloper 1 (Th1) ที่ถูกกระตุ้นบริเวณที่เริ่มเกิดสิวอักเสบ และยังพบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดที่อาศัยแอนติบอดี (humeral mediated immunity) ในบริเวณสิวอักเสบด้วย (Lodes et al., 2006)



ภาพที่ 2.8 เชื้อแบคทีเรีย *P. acnes*
ที่มา: https://s-media-cache-ak0.pinimg.com

เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม จัดเรียงตัวเป็นกลุ่มที่ไม่แน่นอนคล้ายองุ่น อยู่ในวงศ์ Staphylococcaceae สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนมากกว่าในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน (ภาพที่ 2.9) ทั้ง *S. aureus* และ *S. epidermidis* จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบบริเวณผิวหนัง ระบบทางเดินหายใจ และระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ การติดเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* เฉพาะที่จะทำให้เกิดสิวหรือฝี

เกิดขึ้นซึ่งมักจะทำให้เกิดการอักเสบที่มีอาการเจ็บและบริเวณตรงกลางจะมีหนองเกิดขึ้น (อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2555)



ภาพที่ 2.9 เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus* sp.
ที่มา: http://www.bio.miami.edu

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ คือ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญ (microbiostatic) และ/หรือ ความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลชีพ (microbicidal)

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสมุนไพร คือ การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพที่มีอยู่ในสมุนไพร

Minimal inhibitory concentration (MIC)

คือค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไปคือ ไมโครกรัม (µg) ต่อมิลลิลิตร (ml) หรือหน่วยสากล (IU, international unit) ต่อมิลลิลิตร โดยค่า MIC สามารถนำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่ง ๆ ต่อยาต้านจุลชีพหลาย ๆ ชนิด หรือความไวของเชื้อหลาย ๆ ชนิดต่อยาหนึ่ง ๆ รวมทั้งเพื่อประเมินค่าอื่นที่เกี่ยวข้องกับยาหรือแปรผลของยาต่อเชื้อ (ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชรและคณะ, 2551)

Minimal lethal concentration (MLC)

คือค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อ (หรือมีเชื้อไม่เกินกำหนด) หากเชื้อที่นำมาทดสอบเป็นแบคทีเรียอาจใช้คำว่า Minimal bactericidal concentration (MBC) แต่ถ้าเป็นราอาจใช้คำว่า Minimal fungicidal concentration (MFC) ยาต้านจุลชีพที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นชนิดฆ่าทำลาย (microbicidal) จะมีค่า MIC และ MLC เหมือนกันหรือใกล้เคียงกัน (ไม่เกินหนึ่งหรือสองความเข้มข้น)

Agar diffusion test

เป็นการทดสอบฤทธิ์ในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ วิธีนี้ไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญช้าและจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศในการดำรงชีพ วิธีที่เป็นที่นิยมคือ Disc diffusion method (Kirby-Bauer) ทำโดยให้สารสกัดสมุนไพรที่ต้องการทดสอบที่อยู่บนกระดาษกรอง (paper disc) แล้วนำกระดาษดังกล่าวไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อไว้จนทั่วอาหารในปริมาณที่เหมาะสม หรืออาจใช้วิธีเจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรบนอาหารที่มีการกระจายเชื้อไวจนทั่วแล้วหยดสารละลายสมุนไพรที่ต้องการทดสอบลงไปประมาณ 40 ไมโครลิตร ก่อนนำไปบ่มให้เชื้อเกิดการเจริญ สำหรับวิธีการอ่านผลทำโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสที่ไม่มีการเจริญของเชื้อที่ทดสอบรอบ ๆ แผ่น disc หรือรอบ ๆ หลุมที่เจาะ

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจะแปรตามขนาดของ inhibition zone แต่อย่างไรก็ดียังอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ขนาดโมเลกุลของสารสกัดสมุนไพร อัตราการเจริญของเชื้อ ภาวะความเป็นกรด-ด่าง ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และระยะเวลาในการเพาะเชื้อ (ประสาท พร บริสุทธิ์เพ็ชรและคณะ, 2551)

Broth Macrodilution test

เป็นการทดสอบความไวของเชื้อต่อสมุนไพรโดยมีหลักการคือเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีสารสกัดสมุนไพรในปริมาณต่าง ๆ ผสมอยู่และสังเกตการเจริญของเชื้อ สำหรับวิธีนี้จะทำในหลอดทดลองโดยเจือจางสารสกัดสมุนไพรด้วยตัวเจือจางหรือด้วยอาหารเหลวในลักษณะลดลงทุก 2 เท่า (2-fold serial dilution) ไปเรื่อย ๆ จากนั้นเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบที่มีการเตรียมให้มีปริมาณที่ต้องการคือมีความขุ่นเท่ากับ McFarland เบอร์ 0.5 หรืออาจวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer แล้วเจือจางเพื่อให้ได้ปริมาณเชื้อที่เหมาะสม (ประมาณ 10^5 CFU/ml) แล้วนำไปบ่มให้เชื้อเจริญ ทำการอ่านผลโดยสังเกตความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเทียบกับหลอดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัดสมุนไพร ความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่นเป็นค่า MIC และเมื่อนำหลอดที่ไม่ขุ่นทุกหลอดไปเพาะเชื้อบนจานอาหาร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเป็นค่า MBC

Broth Microdilution test

เป็นการทดสอบความไวของเชื้อต่อสมุนไพรโดยทำใน microtiter plate 96-well โดยเจือจาง stock solution ด้วยอาหารเหลวแบบ 2-fold serial dilution หลุมควบคุมเป็นอาหารที่ไม่มีการเติมสารสกัดสมุนไพร ในแต่ละหลุมจะมีปริมาตรเท่ากับ 50 ไมโครลิตร จากนั้นใส่เชื้อที่ปรับขนาดแล้ว (ประมาณ 10^5 CFU/ml) ปริมาตร 50 ไมโครลิตรลงไปในแต่ละหลุม ปิดฝา แล้วนำไปบ่มให้เชื้อเจริญ การอ่านผลนอกจากจะดูจากความขุ่นแล้วอาจใช้สารบางอย่างที่สามารถบ่งชี้การเจริญของเชื้อ

ได้เพื่อให้อ่านค่าได้ง่ายขึ้น ยกตัวอย่างเช่น tetrazolium dye หลายชนิด ได้แก่ tetrazolium red, thiazolyl blue และ *p*-Iodonitrotetrazolium violet ซึ่งเป็นสารบ่งชี้การเจริญของแบคทีเรีย โดยหากเชื้อมีการเจริญจะสามารถเปลี่ยนสารที่ไม่มีสีเป็นสารสีได้ วิธีนี้เป็นวิธีที่รวดเร็ว แม่นยำและเหมาะที่จะนำมาใช้ในการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรเนื่องจากสามารถลดการรบกวนการอ่านผลเนื่องจากสีและความขุ่นของสมุนไพรบางชนิดได้หากดูความขุ่นด้วยตาเปล่า (ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชรและคณะ, 2551)

กรอบแนวคิดในการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นการเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอล และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสารสกัดดังกล่าวด้วยวิธี agar well diffusion และ broth macrodilution เพื่อนำสารสกัดสมอไทยไปพัฒนาเป็นตำรับเจลแต้มสิวเบื้องต้น โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นพื้นฐานเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary Vacuum Evaporator) ยี่ห้อ EYELA รุ่น SB-651 ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น UNB-450 ประเทศเยอรมัน
3. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ยี่ห้อ Gemmy Industrial Corp รุ่น HL-340 ประเทศไต้หวัน
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Analytical Balance) ยี่ห้อ Satorius รุ่น A200S ประเทศเยอรมัน
5. เครื่องผสมสาร (Vortex Mixture) ยี่ห้อ Scientific industries ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
6. ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า (Shaking Incubator) ยี่ห้อ Shel Lab ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. ตู้เขี่ยเชื้อ (Biological Safety Cabinets) ยี่ห้อ Nuaire รุ่น NU-440-400E ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) ขนาด 2-1,000 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Gilson ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. ที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
10. ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)
11. แท่งแก้วเขี่ยเชื้อ (spreader)

สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. Ethanol absolute (AR Grade) ยี่ห้อ QRëC ประเทศนิวซีแลนด์
2. Dimethyl sulfoxide (DMSO) (AR Grade) ยี่ห้อ RCI Labscan ประเทศไทย
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone soya broth ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย
5. ยาปฏิชีวนะ ampicillin
6. วุ้น (agar)

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัย

1. เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ ATCC 25923
2. เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* สายพันธุ์ ATCC 12228

การเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทย

เตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยด้วยวิธีการหมักโดยดัดแปลงจากวิธีของ Bag et al. (2012) โดยนำผลสมอไทยมาล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำเนื้อที่ได้จากผลสมอไทยไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสจนแห้งสนิทแล้วนำมาบดให้เป็นผงละเอียด แล้วทำการสกัดด้วย 70% เอทานอลด้วยวิธีการหมัก ในอัตราส่วนสมอไทย 25 กรัม ต่อเอทานอล 150 มิลลิลิตร โดยทำการแช่เย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองแล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary Vacuum Evaporator) จะได้สารสกัดหยาบชั้นเอทานอล (ethanolic extract) จากนั้นทำการชั่งและบันทึกน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้เพื่อคำนวณหาร้อยละของน้ำหนัก (% yield) ของสารสกัดหยาบ เก็บสกัดหยาบที่ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในที่มืดจนกว่าจะนำไปใช้

การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล

ประเมินฤทธิ์ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสารสกัดสมอไทยด้วยวิธี agar well diffusion โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ahmed and Bej (2001) กล่าวคือทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* สายพันธุ์ ATCC 25923 และ *S. epidermidis* สายพันธุ์ ATCC 12228 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับค่าความขุ่นของแบคทีเรียให้มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเท่ากับ $1.5x10^8$ CFU/ml หรือเทียบเท่ากับ McFarland No. 0.5 จากทำการเจือจางแบคทีเรีย 10 เท่าให้มีจำนวน $1.5x10^7$ CFU/ml นั้นใช้ไม้พันสำลี (cotton swab) ที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงไปในสารละลายของเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ กดและบิด cotton swab กับข้างหลอด แล้วกระจายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี three dimension swab ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที ให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง จากนั้นทำการเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย steriled cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วปิเปตสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 40 µl ต่อหลุม ลงไปในหลุมที่เจาะเอาไว้ ใช้ 0.5% DMSO เป็น negative control และใช้ ampicillin ความเข้มข้น 5 mg/ml เป็น positive control จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดบริเวณการยับยั้ง (inhibition zone) แต่ละการทดลองทำ 3 ครั้งและนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การหาค่า MIC_{50} และ MBC ของสารสกัดสมอไทย

หาค่า MIC_{50} และ MBC ของสารสกัดสมอไทยต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี broth macrodilution โดยดัดแปลงจากวิธีของ Jone et al. (1985) กล่าวคือเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบที่เตรียมให้มีจำนวนเชื้อ $1.5x10^5$

CFU/ml ในปริมาณที่เท่ากันลงไปในหลอดแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง โดย positive control คือหลอดที่มีแต่เชื้อแบคทีเรียไม่มีการเติมสารสกัดสมอไทย สังเกตุผล MIC โดยดูความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับ positive control และนำหลอดที่ไม่มีความขุ่นไปทำการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA เพื่อหาค่า MIC_{50} และ MBC

การพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

การเตรียมเจลเบส

การเตรียมเจลจากสารสกัดสมอไทย ส่วนผสมของตำรับที่ใช้ในการเตรียมดังแสดงในตารางที่ 3.1 แยกส่วนผสมเป็น 4 ส่วน คือ A, B, C และ D ในการผสมแยกแต่ละส่วนผสมให้เป็นเดียวกัน จากนั้นเติมส่วน B ลงในส่วน A ผสมให้เข้ากันภายใต้เครื่องกวนสาร (overhead stirrer) แล้วเติมส่วน C ลงไปผสมกัน จากนั้นเติมส่วน D แล้วกวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมของตำรับเจลสมอไทย

Part	Trade Name	INCI Name	%(w/w)
A	DI Water	DI Water	55.0
	Carbopol 940	Carbomer 940	0.5
B	Propylene glycol	Propylene glycol	15.0
	DI Water	DI Water	22.1
	EDTA 2 Na	Disodium EDTA	0.1
C	DI Water	DI Water	5.0
	Triethanolamine	Triethanolamine	0.3
D	Cremophor RH-40	PEG-40 hydrogenated castor oil	1.0
	Tween 80	Polysorbate 80	1.0
	Terminalia chebula extract	*Terminalia chebula* extract	qs

การศึกษาในครั้งนี้ปริมาณสารสกัดสมอไทยที่เติมลงไปในตำรับจะเป็นปริมาณที่ได้จากค่า MBC โดยศึกษาปริมาณ Carbopol 940 ในช่วงร้อยละ 0.3-1.0 โดยน้ำหนัก (%w/w) โดยคงปริมาณของ Cremophor RH 40 และ Tween 80 ที่ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 และปรับปริมาณของน้ำให้ครบ ร้อยละ 100.0 โดยน้ำหนักปริมาณของน้ำให้ครบ ร้อยละ 100.0 โดยน้ำหนัก เพื่อเลือกความข้นหนืดของเจลให้เหมาะสมเมื่อได้ปริมาณของ Carbopol 940 ที่เหมาะสมแล้ว จะทำการศึกษาปริมาณ Creamophor RH-40 และ Tween 80 ในช่วงร้อยละ 1.0-4.0 โดยน้ำหนัก (% w/w) ในอัตรส่วน 1:1 เพื่อเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสม จากนั้นเก็บตัวอย่างในขวดแก้วใสมีฝาปิดแล้วนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

ประเมินคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับเจลสารสกัดสมอไทย

คุณลักษณะทางเคมีกายภาพที่ทำการประเมินได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รวมทั้งการวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter และวัดค่าความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (viscometer)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปวิเคราะห์ผลทางสถิติ เพื่อแสดงค่าร้อยละ (Percentage) ของข้อมูล ค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ในกรณีที่เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทย

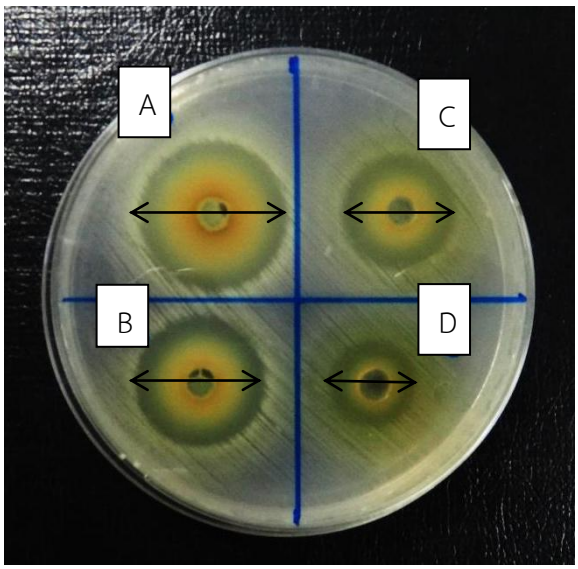
ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดสมอไทยที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 70% เอทานอล ด้วยวิธีการหมัก มีลักษณะเป็นคาราเมล มีสีน้ำตาลเข้ม เหนียวและข้น (ภาพที่ 4.1) เมื่อคำนวณหาร้อยละของน้ำหนักสารสกัดหยาบ (crude extract) (สูตรด้านล่าง) มีค่าเท่ากับ 14.124

$$\text{ร้อยละของสารสกัดหยาบ (\% yield)} = \frac{\text{weight of extract recovered}}{\text{Weigh of fresh dry plant}} \times 100$$

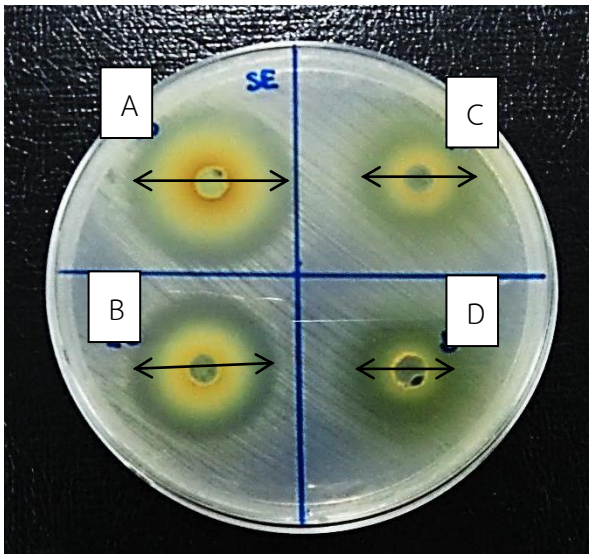
ภาพที่4.1 ลักษณะของสารสกัดสมอไทย

การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล

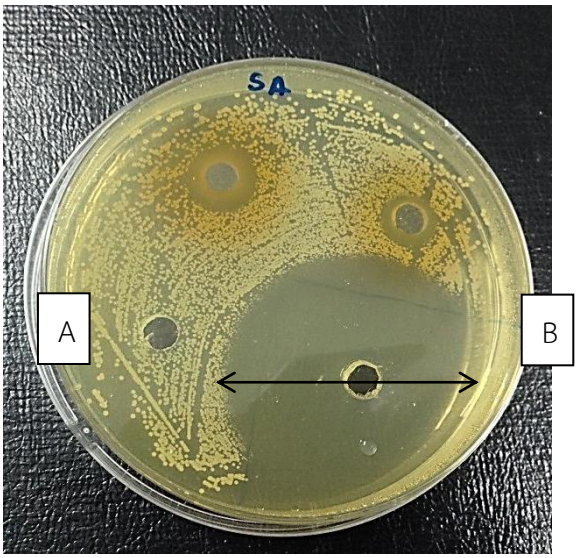
เมื่อทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของทั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* เนื่องจากเกิดบริเวณการยับยั้งการเจริญ (inhibition zone) (ภาพที่ 4.2 และ 4.3) ดังแสดงในตาราง 4.1 เช่นเดียวกับยาปฏิชีวนะ ampicillin ในขณะที่สารละลาย 0.5% DMSO ไม่ทำให้เกิดบริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (ภาพที่ 4.4และ 4.5)



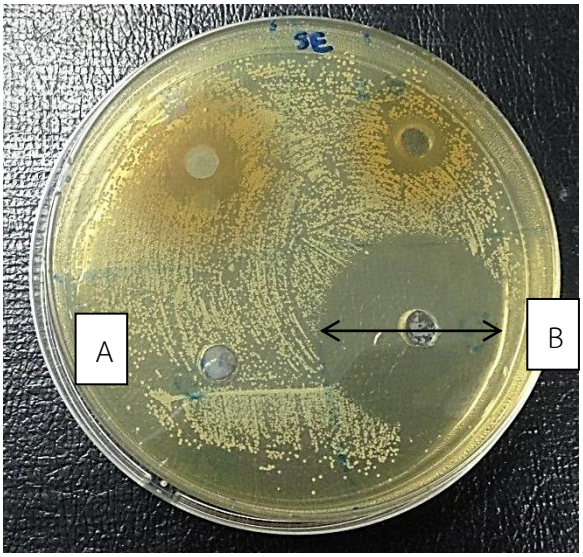
ภาพที่ 4.2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญ (inhibition zone) เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 40 mg/ml (A), 20 mg/ml (B), 10 mg/ml (C) และ 5 mg/ml (D)



ภาพที่ 4.3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญ (inhibition zone) เชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 40 mg/ml (A), 20 mg/ml (B), 10 mg/ml (C) และ 5 mg/ml (D



ภาพที่ 4.4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เมื่อทดสอบด้วย negative control (0.5% DMSO (A)) และ positive control (ยาปฏิชีวนะ ampicillin ความเข้มข้น 5 mg/ml (B))



ภาพที่ 4.5 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบด้วย negative control (0.5% DMSO (A)) และ positive control (ยาปฏิชีวนะ ampicillin ความเข้มข้น 5 mg/ml (B))

ตารางที่ 4.1 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญ (inhibition zone) (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; เซนติเมตร)	
	S. aureus	*S. epidermidis*
40	2.03±0.03	2.21±0.30
20	1.65±0.08	1.97±0.11
10	1.385±0.06	1.25±0.49
5	0.88±0.12	1.02±0.20
2.5	0.61±0.23	0.75±0.37
ampicillin 5 mg/ml	4.95±0.04	3.40±0.14
สารละลาย 0.5% DMSO	-	-

การหาค่า MIC_{50} และ MBC ของสารสกัดสมอไทย

จากการทดสอบด้วยวิธี plate count พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ 50 เปอร์เซนต์ (MIC_{50}) มีค่าเท่ากับ 0.96 และ 0.45 mg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) มีค่าเท่ากับ 2.05 และ0.78 mg/ml ตามลำดับ

การพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย
เตรียมตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

จากการศึกษาเบื้องต้น การเตรียมตำรับจากสารสกัดสมอไทย โดยศึกษาปริมาณ Carbopol 940 ในช่วงร้อยละ 0.3-1.0 โดยน้ำหนัก (%w/w) และปริมาณสารสกัดสมอไทยได้จากค่า MBC คือ ร้อยละ 0.205 โดยน้ำหนัก จากการทดลองพบว่า ทุกตำรับได้เจลเหลืองใส ตำรับที่มีปริมาณ Carbopol 940 ร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนัก มีความข้นหนืดน้อย ส่วนตำรับที่มีปริมาณ Carbopol 940 ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก มีความข้นหนืดที่พอเหมาะ และตำรับที่มีปริมาณ Carbopol 940 ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักขึ้นไป เจลที่ได้ลักษณะข้นหนืดมากเกินไป ดังนั้นจึงเลือกปริมาณ Carbopol 940 ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก ในการศึกษาต่อไป

จากนั้นทำการศึกษาปริมาณของ Cremophor RH-40 และ Tween 80 ในช่วงร้อยละ 1.0-4.0 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อเลือกอัตราส่วนของตัวทำละลายในการละลายสารสกัดสมอไทย จากการทดลองพบว่าทุกตำรับสารสกัดสมอไทยละลายเข้ากันได้ดีในส่วนผสมของตำรับ ลักษณะของเนื้อเจลเหลืองใส มีความข้นหนืดเหมาะสมคือไม่เหลวหรือข้นมากเกินไป เมื่อเพิ่มปริมาณ

Cremophor RH-40 และ Tween 80 จะทำกลิ่นของตัวทำละลายทั้งสองเพิ่มขึ้นตามสัดส่วน เนื่องจากตำรับเจลที่ได้มีกลิ่นของตัวละลายไม่น่าใช้ จึงปรับตัวทำละลายให้เหลือเพียง Cremophor RH-40 ร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก พบว่าสารสกัดสมอไทยละลายเข้ากันได้ดีในส่วนผสมของตำรับ เนื้อเจลมีสีเหลืองใส มีความข้นหนืดพอเหมาะ ไม่เหนอะและกลิ่นของตัวทำละลายลดลง ดังนั้นจึงเลือกตัวทำละลาย Cremophor RH-40 ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก ในการศึกษาส่วนผสมของตำรับเจลที่มีส่วนของปริมาณร้อยละ 0.4 ของ Carbopol 940 และปริมาณร้อยละ 3.0 ของ Cremophor RH-40 ดังตารางที่ 4.2
เจลมีลักษณะเหลืองใส ดังแสดงในภาพที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 ส่วนผสมของตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

Part	Trade Name	INCI Name	%(w/w)
A	DI Water	DI Water	55.0
	Carbopol 940	Carbomer 940	0.4
B	Propylene glycol	Propylene glycol	15.0
	DI Water	DI Water	23.7
	EDTA 2 Na	Disodium EDTA	0.1
C	DI Water	DI Water	5.0
	Triethanolamine	Triethanolamine	0.3
D	Cremophor RH-40	PEG-40 hydrogenated castor oil	3.0
	Terminalia chebula extract	*Terminalia chebula* extract	0.205

ภาพที่ 4.6 ตำรับเจลไม่เติมสารสักดสมอไทย (ซ้าย) และ ตำรับเจลสารสกัดสมอไทย (ขวา)

ประเมินคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับเจลสารสกัดสมอไทย

คุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับเจลสารสกัดสมอไทยเมื่อครบ 1 วัน ประเมินลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ค่า pH และค่าความหนืด ผลการทดลองดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 คุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับเจลสารสกัดสมอไทย

การประเมิน	ผลที่ได้
ลักษณะปรากฏ	เจลใส
สี	เหลือง
กลิ่น	Cremophor RH-40 อ่อน ๆ
pH	6.5
ความหนืด	3000-4000 cps.

จากตารางที่ 4.3 พบว่า ตำรับเจลสารสกัดสมอไทยมีลักษณะเป็นเจลสีเหลืองใสตามสีของสารสกัดสมอไทย มีกลิ่นตัวทำละลายของ Cremophor RH-40 อ่อนๆ และมีค่า pH เท่ากับ 6.5 ซึ่งเป็นค่า pH ที่เหมาะกับสภาพของผิวหนัง รวมถึงมีความข้นหนืดที่พอเหมาะไม่เหลวหรือข้นจนเกินไป

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล

สมอไทยเป็นพืชที่มีทางเภสัชวิทยาหลายประการ ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวกหลายชนิด ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส ฤทธิ์ต้านการอักเสบ เป็นต้น การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยด้วยวิธีการหมักด้วยตัวทำละลาย 70% เอทานอล เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดที่ได้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิวและเตรียมตำรับเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมอไทย

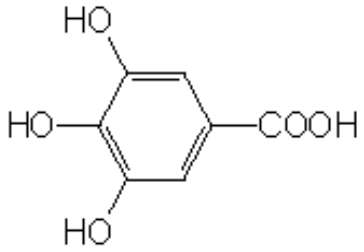
สารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอลที่สกัดได้มีลักษณะเป็นคาราเมล มีสีน้ำตาลเข้ม เหนียวและข้น มีค่าร้อยละของสารสกัดหยาบ (% yield) เท่ากับ 14.124

ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดสมอไทยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดดังจะเห็นได้จากการเกิด inhibition zone หรือ clear zone ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml กับเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* จะเกิด clear zone ขนาด 0.61±0.23 และ 0.75±0.37 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น clear zone จะมีขนาดใหญ่ขึ้น แสดงว่าขนาดของ clear zone ของเชื้อทั้งสองชนิดแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด สอดคล้องกับการรายงานของ Kannan, Ramadavi, & Waheeta (2009) ที่พบว่าสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดดังกล่าวเมื่อทดสอบด้วยวิธี disc diffusion ที่ความเข้มข้น 1 mg/disc จะให้ clear zone ขนาด 1 และ1.2 เซนติเมตร ตามลำดับ

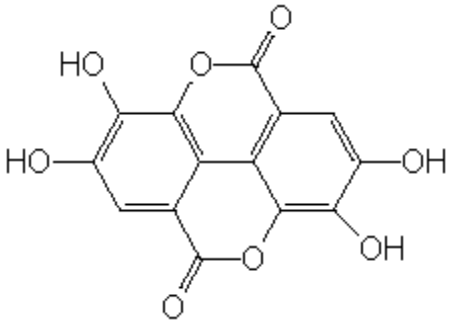
ผลการหาค่า ค่า MIC_{50} และ MBC ของสารสกัดสมอไทยต่อเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี broth macrodilution พบว่าสารสกัดสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* มากกว่าเชื้อ *S. aureus* โดยเมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* มีค่า MIC_{50} และ MBC เท่ากับ 0.45 และ 0.78 mg/ml และเมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ค่า MIC_{50} และ MBC เท่ากับ 0.96 และ 2.05 mg/ml ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Bag et al. (2012) ที่รายงานว่าสารสกัดจากผลสมอไทยที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 70 % เอทานอลเมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* จะมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.194-6.250 mg/ml และมีค่า MIC_{50} เท่ากับ 0.975 mg/ml เช่นเดียวกับการศึกษาของ Kannan, Ramadavi, & Waheeta (2009) ที่พบว่าสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 1 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ 50% ในขณะที่เมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* ที่ความเข้มข้นดังกล่าวทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อได้ 90 %

จากการศึกษาของของ Bag et al. (2012) ยังพบอีกว่าเมื่อสกัดผลสมอไทยด้วยตัวทำละลาย 70 % เอทานอล สารสกัดที่ได้จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus, E. coli, K. pneumonia และ P. aeruginosa* ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ ได้แก่ น้ำและอะซิโตน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้ของ Ahmad, Mehmood, & Mohammad (1998) ที่พบว่าสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่รุนแรงกว่าสารสกัดส่วนน้ำและเฮกเซน ทั้งนี้เนื่องมาจากการสกัดด้วยเอทานอลจะทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟินอลิกในปริมาณสูง (Mopuri, & Meriga, 2014) ซึ่งสารประกอบฟินอลิกที่พบเป็นหลักคือ gallic acid (ภาพที่ 5.1) และ ellagic acid (ภาพที่ 5.2) โดยมีการรายงานว่าสารดังกล่าวเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (Surveswaran, Cai, Corke, & Sun, 2007) นอกจากนี้ในสารสกัดส่วนเอทานอลยังพบสารออกฤทธิ์อีกหลายชนิด ได้แก่ สารในกลุ่ม alkaloids, flavonoids, essential oil, tarpenoids, tannins และสารอื่น ๆ (Ghosh et al., 2008)

Sato et al. (1997) รายงานว่าสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานนอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่มเมธิซิลิน และยังพบว่าฤทธิ์ที่เกิดขึ้นดังกล่าวเป็นผลมาจาก gallic acid และสารพวก ethyl ester



ภาพที่ 5.1 โครงสร้างของ gallic acid



ภาพที่ 5.2 โครงสร้างของ ellagic acid

สำหรับการพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทยพบว่าเมื่อใช้ปริมาณ Carbopol 940 ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก และ Cremophor RH-40 ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก จะให้ตำรับเจลเบสที่มีความเหมาะสมที่สุด และเมื่อเติมสารสกัดสมอไทย ร้อยละ 0.205 โดยน้ำหนักลงไปในเจลเบสพบว่าตำรับเจลที่ได้จะมีสีเหลืองใส มีค่า pH เท่ากับ 6.5 ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับ pH ของผิวมนุษย์ มีความหนืด 3000-4000 centipoises (cps.) เมื่อเกลี่ยลงบนผิวให้ความรู้สึกสบายผิวไม่เหนียวเหนอะหนะและยึดเกาะกับผิวได้ดี

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาเป็นตำรับเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมอไทยได้

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. ควรมีการแยกสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในสารสกัดสมอไทยและพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญนั้น ๆ รวมถึงการหาปริมาณสารสำคัญเปรียบเทียบกับ standard marker ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
2. ควรนำสารสกัดสมอไทยที่ได้ไปทดสอบเพิ่มเติมกับเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes*
3. ควรนำตำรับเจลที่ได้ไปทดสอบความคงตัวในสภาวะต่าง ๆ
4. ควรนำตำรับเจลที่ได้ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์และทดสอบในอาสาสมัคร

บรรณานุกรม

บรรณานุกรมภาษาไทย

ประสาท บริสุทธิ์เพ็ชร และคณะ. (2551). การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. *เอกสารประชุมวิชาการสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัย ขอนแก่น* ครั้งที่ 9 "สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้" 11 – 12 มิถุนายน 2551 ณ ห้องประชุมใหญ่ คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พันธิวา กระจาย, ประนอม จันทรโณทัย และ พิมพ์วดี พรพงศ์ รุ่งเรือง. (2013). การจำแนกพันธุ์สมอ (*Terminalia chebula* Retz.) วงศ์ หูกวาง (Combretaceae). *KKU Research Journal. 18* (6), 937-948.

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. คณะเภสัชศาสตร์, (มปป). "ฐานข้อมูลสมุนไพรไทย" สืบค้นเมื่อ 2558, มิถุนายน 15, เข้าถึงได้จาก http://www.phargarden.com/main.php

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. (2555). *จุลชีววิทยาทางการแพทย์: แบคทีเรียก่อโรค.* กรุงเทพมหานคร: จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์.

อรัญญา มโนสร้อย และ จีรเดช มโนสร้อย. (2550). *ไลโปโซมสำหรับยาผ่านทางผิวหนังและเครื่องสำอาง*.พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์.

บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

Ahmed, I., & Beg, AZ. (2001). Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology,* 74, 113-123.

Ahmad I, Mehmood Z ,& Mohammad F (1998). Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. *Journal of Ethnopharmacology. 62*(2), 183-193

Aneja, K.R., & Joshi, R. (2009). Evaluation of antimicrobial properties of fruit extracts of *Terminalia chebula* against dental caries pathogens. *Jundishapur Journal of Microbiology, 2*, (3) 105-111.

Azimi,H., Fallah-Tafti, M., Khakshur, A.A., &Abdollahi, M. (2012). A review of phytotherapy of acne vulgaris : Perspective of new pharmacological treatments. *Fitoterapia*, 83,1306-1317.

Baumann, L., & Keri, J. Acne (Type 1 Sensitive Skin) In: Baumann, L., Saghari, S., & Weisberg, s. (eds). *Cosmetic Dermatology Principles and Practice.* 2nd ed. New York: McGraw-Hill Companies, 2009, 121-127.

Bag, A., Bhattacharyya, S.K., Bharati, P., Pal, N.K., & Chattopadhyay R.R. (2009). Evaluation of antibacterial properties of Chebulic myrobahan (fruit of *Terminalia chebula* Retz.) extract against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*and trimethoprim-sulphamethoxzole resistant uropathogenic *Escherichia coli. African Journal of Plant Science,* 3, 025-029

Bag, A., Bhattacharyya, S.K., & Chattopadhyay, R.R. (2013). The development of *Terminalia chebula* Retz. (Combretaceae) in clinical research. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine,* 3 (3), 244-252

Bag, A., Bhattacharyya, S.K., Pal, N.K., & Chattopadhyay, R.R. (2012). In vitro antimicrobial potential of *Terminalia chebula* fruit extracts against multidrug-resistant uropathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S1883-S1887.

Barazani, V.O., Sathiyomoorthy, P., Shalev, R., Vardy, D., & Golan, G.A. (2003). Screening of South-Indian medicinal plants for anti-fungal activity. *Phytotherapy Research,17***,** (9) 1123-1125.

Bonjar, G.H. (2004). Inhibitin of Clotrimazole-resistant *Candida albicans* by plants used in Iranian folkloric medicine. *Fitoterapia,* **75**, 74-76.

Chattopadhyay, R.R., & Bhattacharyya, S.K. (2007). Plant review *Terminalia chebula*: An uptate. *Pharmacognosy Reviews,* 1, 151-156.

Chiller, K., Selkin, B.A., & Murakawa, G.J. (2001). Skinmicroflora and bacterial infections of the skin. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 6, 170-174.

Chomnawang, M.T., Surassmo, S., Nukoolkarn, V.S., & Gritsanapan, W. (2005). Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 330-333.

Chrubasik, S., Pittler, H. M. & Roufogalis, B. D. (2005). Zingiberis rhizome : A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine*, 12, 684-701.

Cogen, A.L., Nizet, V., & Gallo, R.L. (2008). Skinmicriobiota: a source of disease of defence. B*ritish Journal of Dermatology* , 158, 442-455.

Dash, B. (1991). *MateriaMedica of Ayurveda*. New Delhi: B. Jain Publishers, New Delhi, 170-174.

Dixit, D., Dixit, A.K., Lad, H., Gupta, D., & Bhatnagar, D. (2013) Radioprotective effect of *Terminalia chebula* Retzius extract against g-irradiation-induced oxidative stress. *Biomedicine & Aging Pathology*, 3, 83-88.

Dutta, B.K., Rahman, I., & Das, T.K. (1998). Antifungal activity of Indian plant extracts. *Mycoses, 41*, (11-12) 535-536.

Eady, E.A., & Ingham, E. (1994). *Propionibacterium acnes*- frienc of foe?. *Reviews in Medical Microbiology*, 5, 163-173

Fierer, N., Lauber, C.L., Zhou, N., McDonald, D., Costello, E.K., & Knight, R. (2010). Forensic identification using skin bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 107, 6477-6481.

Ghosh A., Das, BK., Roy, A., Mandal, B., & Chanda, G. (2008). Antibacterial activity of some medicinal plant extracts. *Journal of Natural Medicines*, 62, 259-262.

Grice, E.A., & Segre, J.A. (2011). The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 9, 244-253.

Jappe, U., Ingham, E., Henwood, J., & Holland, K.T. (2002). *Propionibacterium acnes* and inflammation in acne; *P. acnes* has T-cell mitogenic activity. *British Journal of Dermatology*, 146, 202-209.

Kannan, P., Ramadevi, S.R., & Waheeta, H. (2009). Antibacterial activity of *Terminalia chebula* fruit extract. *African Journal of Microbiology Research, 3* (4), 180-184

Kathrivel, A., &Sujatha, V. (2012). *In vitro* assessment of antioxidant and anti-bacterial properties of *Terminalia chebula* Retz. Leaves *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,* S788-S795.

Khan, K.H. (2009). The effect of regular intake of *Terminalia chebula* on oxidative stress in mice originated from *Salmonella typhimurium*. *EurAsian Journal of BioSciences,* 3, 113-121.

Khan, K.H., & Jain, S.K. (2009). Regular intake of *Terminalia chebula* can reduce the risk of getting typhoid fever. *Advanced Biotech,* 8, 10-15.

Kong, H.H. (2011). Skinmicrobiome: genomics-based insights into the diversity and role of skin microbes. *Trends in Molecular Medicine* , 17, 320-328.

Leyden, J.J., McGinley, K.J., & Vowels, B. (1998). *Propionibacterium acnes* colonization in acne and non acne. *Dermatology,* 196, 55-58.

Lodes, M.J., Secrist, H., Benson, D.R., Jen, S., Shanebeck, K.D., Guderian, J., Maisonneuve, J.F., Bhatia, A., Persing, D., Patrick, S., &Skeiky, Y.A.W. (2006). Variable expression of immunoreactive surface proteins *of Propionibacterium acnes*, *Microbiology*, 152, 3667-3681.

Malckzadeh, F., Ehsanifar, H., Shahamat, N., Levin, M., & Colwell R.R. (2001). Antibacterial activity of black myrobalan (*Terminalia chebula* Retz.) against *Helicobactor pyroli. International Journal of Antimicrobial Agents,* 18, 85-88.

Marples, M. (1965). *The Ecology of the Human Skin*. Charles C Thomas, Bannerstone House.

Ramgopal Mopuri, R., & Meriga B. (2014). In vitro anti oxidant activity and acute oral toxicity of *Terminalia paniculata* bark ethanolic extract on Sprague Dawley rats. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, *4*(4), 294-298.

Naik, G.H., Priyadarsini, K.I., Naik, D.B., Gangabhagirathi, R., & Mohan, H. (2004). Studies on the aqueous extract of *Terminalia chebula* as a potent antioxidant and a probable radioprotector. *Phytomedicine*, 11, 530-538.

Nishijima, S., Kurokawa, I., Katoh, N., & Watanabe, K. (2000). The bacteriology of acne vulgaris and antimicrobial susceptibiligy of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne lesions. *The Journal of Dermatology,* 27, 318-323.

Noble, W.C. (2004). *The skin microflora and microbial diseases*. Philadelphia PA, Cambridge University Press.

Noble, W.C., & Somerville, D.A. eds. (1974). *Microbiology of Human Skin*. W.B. Saunders Company Ltd.

Pfundstein, B., Desouky, S. El K., Hull, W.E., Haubner, R., Erben, G., & Owen, R.W. (2010). Polyphenolic compounds in the fruits of Egyptian medicinal plants (*Terminalia bellerica, Terminalia chebula* and *Terminalia horrida*): Characterization, quantitation and determination of antioxidant capacities. *Phytochemistry*, 71, 1132-1148.

Rangsriwong, P., Rangkadilok, N., Satayavivad, J., Goto, M., &Shotipruk, A. (2009). Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from *Terminalia chebula* Retz. Fruits. *Separation and Purification Technology,* 66, 51-56.

Sato, Y., Oketani, H., Singyouchi, K., Ohtsubo, T., Kihara, M., & Shibata, H. (1997). Extraction and purification of effective antimicrobial constituents of *Terminalia chebula* Retz. Against methicillin resistant *Staphilococcus aureus*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin,* 20, 401-404

Srivastava, P., Raut, H.N., Wagh, R.S., Puntambekar, H.M., & Kulkarni, M.J. (2012). Purification and characterization of an antioxidant protein (~16 kDa) from *Terminalia chebula* fruit. *Food Chemistry,* 131, 141-148.

Surveswaran, S., Cai, Y.Z., Corke, H., & Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry, 102*(3), 938-953.

Webster, G.F., Leyden, J.J., Norman, M.E., & Nilsson, U.R. (1978). Complement activation in acne vulgaris: in vitro studies with *Propionibacterium acnes* and *Propionibacterium granulosum*. *Infection and Immunity***, 22**, 523-529.

White, G.M. (1991). Recent findings in the epidemiology, classification and subtypes of acne vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 39, 534-537.

Zvulunov, A. *Acne* In: Shai, A., Maibach, H.I., & Baran, R. (eds). *Handbook of Cosmetic Skin Care.* 2nd ed. London: Informa UK Ltd, 2009, 58-76.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียอาหารเลี้ยงเชื้อและการที่ใช้ในการวิจัย

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis*

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone Soya Agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ loop เขี่ยโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Broth เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับค่าความขุ่นของแบคทีเรียโดยเทียบกับ McFarland No. 0.5 จะมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเท่ากับ $1.5x10^8$ CFU/ml

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Broth

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Broth ปริมาณ 21 g แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1000 ml นำไปเข้าเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 125°C เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar

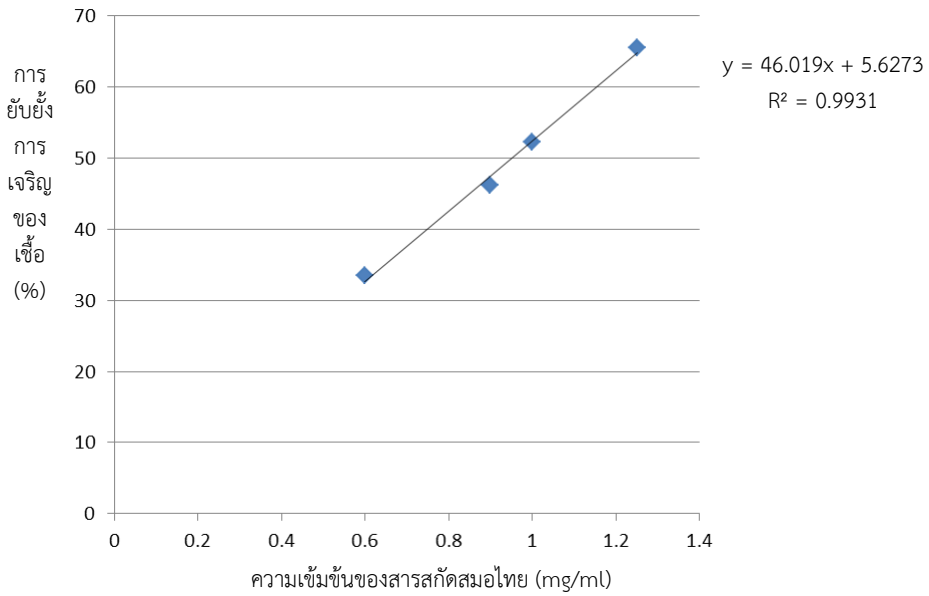
ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Broth ปริมาณ 21 g ผสมกับ agar ปริมาณ150 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1000 ml นำไปเข้าเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 125°C เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone Soya Agar

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone Soya Broth ปริมาณ 30 g ผสมกับ agar ปริมาณ150 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1000 ml นำไปเข้าเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 125°C เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การหาค่า MIC_{50} และ MBC



ภาพที่ ข-1 กราฟแสดงค่า % การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่าง ๆ

เมื่อนำค่าจากการทำ plate count มาคำนวณหาจำนวนเชื้อแบคทีเรียและคิดเป็น % การยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยเทียบกับเชื้อ *S. aureus* ที่ไม่มีการเติมสารสกัด นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟสมการเส้นตรง จะได้สมการ

$$Y = 46.019x + 5.6273$$

เมื่อ Y คือ % การยับยั้งการเจริญของเชื้อ

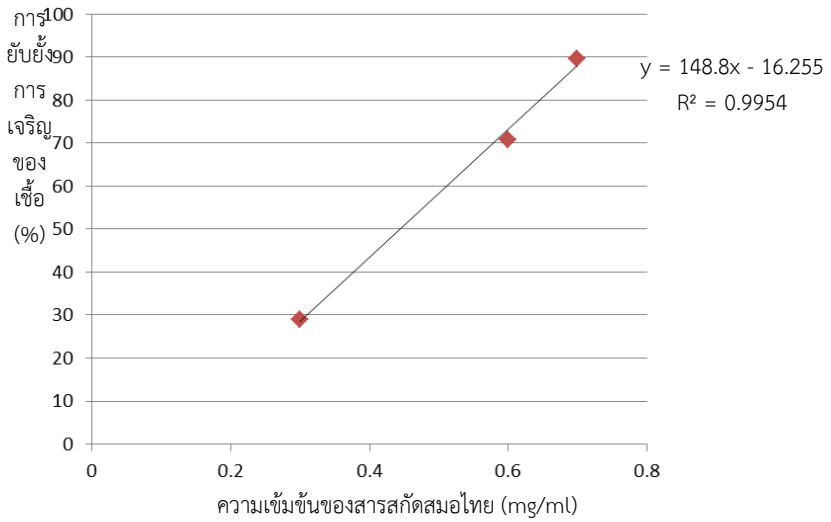
X คือ ความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทย หน่วย mg/ml

การหาค่า MIC_{50}

ทำโดยแทนค่า Y เท่ากับ 50 จะได้ค่า X เท่ากับ 0.96 ดังนั้นจะได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 50 % มีค่าเท่ากับ 0.96 mg/ml

การหาค่า MBC

ทำโดยแทนค่า Y เท่ากับ 100 จะได้ค่า X เท่ากับ 2.05 ดังนั้นจะได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยที่สามารถฆ่าเชื้อได้ มีค่าเท่ากับ 2.05 mg/ml



ภาพที่ ข-2 กราฟแสดงค่า % การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่าง ๆ

เมื่อนำค่าจากการทำ plate count มาคำนวณหาจำนวนเชื้อแบคทีเรียและคิดเป็น % การยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยเทียบกับเชื้อ *S. epidermis* ที่ไม่มีการเติมสารสกัด นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟสมการเส้นตรง จะได้สมการ

$$Y = 148.8x - 16.255$$

เมื่อ Y คือ % การยับยั้งการเจริญของเชื้อ

X คือ ความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทย หน่วย mg/ml

การหาค่า MIC_{50}

ทำโดยแทนค่า Y เท่ากับ 50 จะได้ค่า X เท่ากับ 0.45 ดังนั้นจะได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 50 % มีค่าเท่ากับ 0.45 mg/ml

การหาค่า MBC

ทำโดยแทนค่า Y เท่ากับ 100 จะได้ค่า X เท่ากับ 0.78 ดังนั้นจะได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยที่สามารถฆ่าเชื้อได้ มีค่าเท่ากับ 0.78 mg/ml

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวปิยนุช พรมภมร
วัน เดือน ปีเกิด 14 กรกฎาคม 2526
ตำแหน่งงานปัจจุบัน อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี คณะประมง ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วทบ. (ประมง) ปีพ.ศ. 2548

ปริญญาโท คณะประมง ภาควิชาชีววิทยาประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วทม. (ประมง) ปีพ.ศ. 2550

ปริญญาเอก คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปรด. (เทคโนโลยีชีวภาพ) ปีพ.ศ. 2555

ผลงานวิจัย

1. ณัฐพร บู๊ฮวด, ปิยนุช พรมภมร, ทัศนีย์ พาณิชย์กุล, จิระวดี วิริยะแสงจันทร์, ประภาสิริ ปราโมทย์, พัชรีภรณ์ พิสุราช และ มะลิวัลย์ เอมแย้ม. (2557). การเจริญของเซลล์เมลาโนมาในการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีสารสกัดจากอินทนิลน้ำ (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Per.). *วารสารวิจัย มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 7(1), 41-56.
2. ทัศนีย์ พาณิชย์กุล, ปิยนุช พรมภมร, ณัฐพร บู๊ฮวด, สมพรทิพย์ ศรีแย้ม, อารดี กาญจนประชาชัย และมะลิวัลย์ เอมแย้ม. (2556). ฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดอินทนิลน้ำต่อเมลาโนมาของคนศึกษาในหลอดทดลอง. *วารสารวิจัย มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 6(2), 97-113.
3. Prompamorn, P., Longyant, S., Pengsuk, C., Sithigorngul, P., & Chaivisuthangkura, P. (2013). Rapid identification and differentiation of *Vibrio parahaemolyticus*from *Vibrio* spp. in seafood samples using developed monoclonal antibodies. *World Journal of Microbiology and Biotechnoloby,* 29**,** 721-731.
4. Prompamorn, P., Sithigorngul, P., Rukpratanporn, S., Longyant, S., Sridulyakul, P., &Chaivisuthangkura, P. (2011). The development of loop-mediated isothermal amplification combined with lateral flow dipstick for detection of *Vibrio parahaemolyticus*. *Letters in Applied Microbiology, 52***(4)**, 344-51.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวนภัสสร ราชรินทร์

วัน เดือน ปีเกิด 14 กรกฎาคม 2526

ตำแหน่งงานปัจจุบัน อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภาควิชาเคมี
สถาบันราชภัฏสวนดุสิต
วท.บ. (เคมี) ปีพ.ศ.2546

ปริญญาโท คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
วท.ม. (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง) ปี พ.ศ.2554

ผลงานวิจัย

1. Ratcharin N, Wongtrakul P, Indranupakorn R. (2012). Preparation of *Zingibe rOfficinale* Extract Loaded Solid Lipid Nanoparticles. *Advanced Materials Research*, 506, 389-392.