

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ยับยั้ง

Streptococcus mutants ของสารสกัดจันทน์ทั้ง 5

Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content and Anti-*Streptococcus mutants*

Activity of Chan Tung Ha Extracts

พรรณนิภา เจ็กแดงพะเนา¹ รัชฎาวรรณ อรรคนิมาตย์² และ ปราณี ศรีราช^{2*}

Phannipha Chekdaengphanao¹ Ratchadawan Aukkanimart² and Pranee Sriraj^{2*}

¹สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

²สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

¹Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology, Surindra Rajabhat University

²Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan

Sakonnakhon Campus

*E-mail: srirajp11@gmail.com

Received: Jan 25, 2024

Revised: Feb 23, 2024

Accepted: Feb 28, 2024

บทคัดย่อ

จันทน์ทั้ง 5 เป็นตำรับยาสมุนไพรไทยที่ใช้เป็นยาแก้ไข้ แก้อ่อนใน และบำรุงตับ ปอด หัวใจ ประกอบด้วยแก่นไม้สมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ แก่นจันทน์หนา (*Tarenna hoaensis* Pit.) แก่นจันทน์แดง (*Dracaena loureiroi* Gagnep.) แก่นจันทน์ขาว (*Santalum album*) แก่นจันทน์เทศ (*Myristica fragrans* Houtt.) และแก่นจันทน์ชะมด (*Mansonia gagei*) ในปัจจุบันมีรายงานน้อยมากเกี่ยวกับฤทธิ์ของจันทน์ทั้ง 5 ในการยับยั้ง *Streptococcus mutants* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในช่องปาก และเป็นสาเหตุของโรคฟันผุ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม รวมทั้งทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Streptococcus mutants* ของสารสกัดเอทานอลของจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดเอทานอลของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดแก่นจันทน์แดงมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 93.06 ± 6.67 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ส่วนสารสกัดแก่นจันทน์หนามีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด เท่ากับ 83.00 ± 9.84 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมตัวอย่างแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดแก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว และแก่นจันทน์หนามีฤทธิ์ยับยั้ง *S. mutants* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เท่ากับ 15.62 ± 0.00 และ 31.25 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของตำรับจันทน์ทั้ง 5 จึงมีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาต่อเพื่อใช้ในการรักษาโรคในช่องปากที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. mutants*

คำสำคัญ: จันทน์ทั้ง 5 สารประกอบฟีนอลิกรวม สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม *Streptococcus mutants*

Abstract

Chan Tung Ha is a Thai herbal medicinal recipe for fever relief, treatment of mouth ulcer, and maintenance of liver, lung, and heart. It consists of 5 types of heartwoods including *Tarenna hoaensis* Pit., *Dracaena loureiroi* Gagnep., *Santalum album*., *Myristica fragrans* Houtt. and *Mansonia gagei*. At present, there are very few reports on Chan Tung Ha's inhibitory activity against *Streptococcus mutants*, a bacterial pathogen causing oral diseases and dental caries. This research aimed to determine total phenolic content and total flavonoid content and to examine anti-*Streptococcus mutants* of ethanol extract of Chan Tung Ha and ethanol extracts of individual herbal

ingredients of Chan Tung Ha. The results revealed that the *Dracaena loureiroi* Gagnep. extract had the highest total phenolic content of 93.06 ± 6.67 mg gallic acid equivalent/g of dry extract while the *Tarenna hoaensis* Pit. extract had the highest total flavonoid content of 83.00 ± 9.84 mg quercetin equivalent/g of dry extract. Furthermore, it was also found that the extracts of *Dracaena loureiroi* Gagnep., *Santalum album*. and *Tarenna hoaensis* Pit. exhibited the highest anti-*S. mutans* activity with minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of 15.62 ± 0.00 and 31.25 ± 0.00 mg/mL, respectively. Therefore, Chan Tung Ha recipe and its individual herbal ingredients have the potential to be further developed for use in treating oral diseases caused by *S. mutans* infection.

Keywords: Chan Tung Ha, Total phenolic content, Total flavonoid content, *Streptococcus mutans*

1. บทนำ

โรคฟันผุเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย โรคฟันผุเป็นโรคติดเชื้อในช่องปาก โดยมีแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรค ร่วมกับปัจจัยอื่น ๆ [1] *S. mutans* จะเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นคราบจุลินทรีย์ และขยายตัวแพร่พันธุ์อยู่ในช่องปาก คราบจุลินทรีย์เป็น Biofilm ที่เกิดจากการที่แบคทีเรียสร้าง Extracellular polysaccharide จากน้ำตาลซูโครส นอกจากนั้นคราบที่เชื้อแบคทีเรียสร้างขึ้นจะไปทำลายผิวฟัน ทำให้เกิดฟันผุ และพัฒนาไปเป็นโรคในช่องปาก เช่น โรคเหงือกอักเสบ โรคปริทันต์อักเสบ จากการที่พบว่าแบคทีเรีย *S. mutans* เป็นสาเหตุหลักของสุขภาพช่องปาก การดูแลสุขภาพช่องปากจึงมุ่งเน้นไปที่การลดและควบคุมจำนวนแบคทีเรียดังกล่าว [2] ในปัจจุบัน มีสารต้านจุลชีพที่นำเข้ามาเพื่อใช้เป็นทางเลือกเสริมในการป้องกันการเกิดโรคฟันผุ เช่น ฟลูออไรด์ (Fluoride) ในยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปาก ซึ่งช่วยดูแลสุขภาพในช่องปาก [3], [4] และสารในกลุ่มน้ำมันหอมระเหย เช่น น้ำมันจากดอกคาร์โมมาย (Chamomile) และน้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus) ซึ่งช่วยป้องกันการเกิดคราบจุลินทรีย์จากการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย [5] แต่เนื่องจากสารป้องกันฟันผุในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้มาจากสารเคมีจึงอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงแก่ผู้ใช้งาน เช่น อาจเกิดการแพ้หรือระคายเคืองเยื่อเมือกในช่องปาก และเกิดคราบสีขึ้นที่ผิวฟัน จากการศึกษาพบว่า การใช้สมุนไพรในการรักษาสุขภาพมีมานานตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน และยังพบว่ามีคนนำสมุนไพรมาใช้ในการป้องกันฟันผุ ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาดำรงจันทน์ทั้ง 5 ซึ่งประกอบไปด้วย แก่นจันทน์หนา (*Tarenna hoaensis* Pit.) แก่นจันทน์แดง (*Dracaena loureiroi* Gagnep.) แก่นจันทน์ขาว (*Santalum album*) แก่นจันทน์เทศ (*Myristica fragrans* Houtt.) และแก่นจันทน์ชะมด (*Mansonia*

gageri) ซึ่งมีสรรพคุณทางการแพทย์แผนไทย คือ แก้ไข้เพื่อดีและโลหิต แก้ร้อนในกระหายน้ำ บำรุงตับ ปอด หัวใจ แก้พยาธิ โดยสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า มีสารสำคัญ เช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) [6], [7] และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ [8] ต้านอนุมูลอิสระ [9] ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย [10] แก้ปวด ลดไข้ [11] อย่างไรก็ตามพบว่ามีรายงานน้อยมากเกี่ยวกับการศึกษาความสามารถของดำรงจันทน์ทั้ง 5 และสมุนไพรเดี่ยวในตำรับในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคฟันผุ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะตรวจสอบหาสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม รวมทั้งทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Streptococcus mutans* ของสารสกัดเอทานอลของจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดเอทานอลของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพช่องปากต่อไป

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. สมุนไพร

แก่นจันทน์หนา แก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว แก่นจันทน์เทศ และแก่นจันทน์ชะมด ซื้อจากร้านขายสมุนไพร ตำบลพังโคน อำเภอฟังโคน จังหวัดสกลนคร ตรวจสอบเอกลักษณ์ภายนอกโดยผู้เชี่ยวชาญที่มีใบประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทย ด้านเภสัชกรรมไทย

2.2. การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพรดำรงจันทน์ทั้ง 5 ประกอบไปด้วย แก่นจันทน์หนา แก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว แก่นจันทน์เทศ และแก่นจันทน์ชะมด บดให้ละเอียด การหมักสมุนไพรดำรงจันทน์ทั้ง 5 นำสมุนไพรเดี่ยวมาผสมกันในอัตราส่วน 1:1:1:1:1

โดยใช้ 95% เอทานอล เป็นตัวทำละลาย นำสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิด หมักกับ 95% เอทานอลในอัตราส่วน 1:2 จากนั้นเทลงถังปิดฝาถังให้มิดชิด และไม่ให้โดนแสง แล้วเขย่าให้เข้ากัน หมักทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน และเขย่าเป็นประจำทุกวัน เมื่อครบกำหนด 5 วัน นำสารสกัดที่ได้มากรองหยาบด้วยผ้าขาวบาง แล้วทำการกรองละเอียดผ่านกระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 (Whatman filter paper no.1) ทำการระเหยตัวทำละลาย ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary vacuum evaporator) (Buchi, Switzerland) ที่ความดัน 50-200 มิลลิบาร์ (Millibar) ความเร็วรอบ 60 rpm ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่แห้งสนิท

2.3. เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ *Streptococcus mutans* (ATCC 25175T) เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร Brain heart infusion (BHI) agar และ Brain heart infusion (BHI) broth ในสภาวะไม่มีออกซิเจน (Anaerobic jar) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO₂ 5% นาน 48 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัด

2.4. การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) ใช้วิธี Folin-Ciocalteu assay เตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงใน 96-well plate 20 ไมโครลิตร เติมน Folin-Ciocalteu reagent (Sigma, USA) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติม 20% Sodium carbonate (KemAus™, Australia) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร บ่มในอุณหภูมิห้องที่มีมืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader (Tecan, Switzerland) และนำมาคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม จากกราฟมาตรฐานของ gallic acid (Sigma, USA) แล้วรายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่างแห้ง (mg gallic acid equivalent (GAE)/g of dry extract) [12]

2.5. การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoid content) ใช้วิธี Aluminium chloride colorimetric โดยใช้ quercetin (Sigma, USA) เป็นสารมาตรฐาน เติมนสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ปริมาตร 125 ไมโครลิตร เติมนสาร 5% Sodium nitrite (NaNO₂) (Q RēC™, New Zealand) ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร บ่มทิ้งไว้ที่มีมืด 5 นาที เติมน 10% Aluminium chloride (AlCl₃) (KemAus™, Australia) ปริมาตร 37.5 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate แล้วนำไปวัดค่าที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader (Tecan, Switzerland) และนำมาคำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม จากกราฟมาตรฐานของ quercetin แล้วรายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมตัวอย่างแห้ง (mg quercetin equivalent (QE)/g of dry extract) [12]

2.6. การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans*

การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทำได้โดยวิธี Disc diffusion method โดยเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. mutans* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion broth (HIMEDIA®, India) ซึ่งเตรียมให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland จากนั้นทำการกระจายเชื้อแบคทีเรียให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion agar (HIMEDIA®, India) วางแผ่น Paper disc (Whatman™, UK) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่เติมนสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการกระจายเชื้อโดยใช้ 0.12% Chlorhexidine เป็น Positive control และน้ำกลั่น เป็น Negative control จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO₂ 5% นาน 48 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสที่เกิดขึ้น แล้วทำการบันทึกหน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ [13]

2.7. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum bactericidal concentration, MBC) ทำโดยวิธี Broth dilution method โดยเจือจางสารสกัดให้มีความเข้มข้นในช่วง 500 - 1.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี Two-fold dilution จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบที่ได้ปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO₂ 5% นาน 48 ชั่วโมง อ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยสังเกตหุลุมสุดท้ายที่ใสและไม่มีตะกอนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก้นหลอด สำหรับการ

ทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) จะทำต่อจากการหาค่า MIC โดยดูดอาหารในหลุมที่ไลมาหยดลงบน BHI agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO₂ 5% นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นจึงอ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) คือความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ โดยสังเกตจากไม่พบโคโลนีบนอาหาร BHI agar ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ เพื่อยืนยันผลการทดลอง [14]

2.8. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) (n=3) การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ร่วมกับการทดสอบแบบ Duncan *post-hoc* test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ p -value<0.05 (p <0.05) ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Science (SPSS) ฉบับสมบูรณ์ 19.0

3. ผลการวิจัย

3.1. ผลการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

จากการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 ซึ่งได้แก่ แก่นจันทน์หนา (Tarenna hoensis Pit.) แก่นจันทน์แดง (Dracaena loureirii Gagnep.) แก่นจันทน์ขาว (Santalum album) แก่นจันทน์เทศ (Myristica fragrans Houtt.) และแก่นจันทน์ขม (Mansonia gagei) พบว่าสารสกัดแก่นจันทน์แดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 93.06 ± 6.67 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ซึ่งมีค่าแตกต่างจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.05) (Table 1) ส่วนผลการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม พบว่าสารสกัดแก่นจันทน์หนามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 83.00 ± 9.84 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ซึ่งมีค่าแตกต่างจากปริมาณสารประกอบ

ฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.05) (Table 1)

3.2. ผลการทดสอบยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans*

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disc diffusion method ตรวจผลโดยการสังเกตขนาดของโซนใส (Clear zone) ที่เกิดขึ้นรอบ ๆ Paper disc ที่เติมสารสกัด ซึ่งโซนใส หมายถึง บริเวณที่เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้นขนาดของโซนใสรอบ ๆ Paper disc ที่เติมสารสกัด จึงมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย หากสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีก็จะมีโซนใสเกิดขึ้น จากการนำสารสกัดตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 ซึ่งได้แก่ แก่นจันทน์หนา แก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว แก่นจันทน์เทศ และแก่นจันทน์ขม มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* พบว่าสารสกัดแก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว แก่นจันทน์หนา สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 13.13 ± 1.02 , 12.43 ± 0.05 และ 12.10 ± 0.78 มิลลิเมตร (Figure 1 และ Table 2) ซึ่งมีค่าแตกต่างจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสที่ได้จากการทดลองกับสารสกัดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.05) (Table 2)

3.3. ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

จากการนำสารสกัดตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 ซึ่งได้แก่ แก่นจันทน์หนา แก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว แก่นจันทน์เทศ และแก่นจันทน์ขม มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *S. mutans* โดยวิธี Broth dilution method พบว่าสารสกัดแก่นจันทน์หนา แก่นจันทน์แดง และแก่นจันทน์ขาว มีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *S. mutans* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าแตกต่างจากค่า MIC และ MBC ของสารสกัดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.05) (Table 3)

Table 1 Total phenolic content and total flavonoid content of herbal extracts

Extract	Total phenolic content (mg GAE/g of dry extract)	Total flavonoid content (mg QE/g of dry extract)
Chan Tung Ha	78.78 ± 9.40 ²	69.66 ± 6.35 ^{2,3}
<i>Tarenna hoaensis</i> Pit.	82.32 ± 1.78 ²	83.00 ± 9.84 ³
<i>Dracaena loureiroi</i> Gagnep	93.06 ± 6.67 ³	67.33 ± 2.51 ^{1,2,3}
<i>Santalum album</i>	73.80 ± 1.64 ²	65.33 ± 13.50 ^{1,2}
<i>Myristica fragrans</i> Houtt	56.11 ± 0.49 ¹	70.33 ± 8.14 ^{2,3}
<i>Mansonia gagei</i>	60.47 ± 2.00 ¹	52.33 ± 6.80 ¹

Data are presented as mean ± standard deviation (SD).

Mean values followed by different numbers (1, 2, 3) within a column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 2 Anti-*S. mutans* activity of herbal extracts examined by disc diffusion method

Extract	Inhibition zone (mm)
Chan Tung Ha	11.06 ± 0.49 ³
<i>Tarenna hoaensis</i> Pit.	12.10 ± 0.78 ⁴
<i>Dracaena loureiroi</i> Gagnep	13.13 ± 1.02 ⁴
<i>Santalum album</i>	12.43 ± 0.05 ⁴
<i>Myristica fragrans</i> Houtt	7.50 ± 0.01 ²
<i>Mansonia gagei</i>	7.93 ± 0.49 ²
Control	
0.12% Chlorhexidine (Positive control)	18.63 ± 0.15 ⁵
Distilled water (Negative control)	6.00 ± 0.00 ¹

Data are presented as mean ± standard deviation (SD)

Mean values followed by different numbers (1, 2, 3, 4, 5) within a column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3 Minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) of herbal extracts against *S. mutans*

Extract	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
Chan Tung Ha	62.5 ± 0.00 ²	125 ± 0.00 ²
<i>Tarenna hoaensis</i> Pit.	15.62 ± 0.00 ¹	31.25 ± 0.00 ¹
<i>Dracaena loureiroi</i> Gagnep	15.62 ± 0.00 ¹	31.25 ± 0.00 ¹
<i>Santalum album</i>	15.62 ± 0.00 ¹	31.25 ± 0.00 ¹
<i>Myristica fragrans</i> Houtt	62.5 ± 0.00 ²	125 ± 0.00 ²
<i>Mansonia gagei</i>	125 ± 0.00 ³	250 ± 0.00 ³

Data are presented as mean ± standard deviation (SD).

Mean values followed by different numbers (1, 2, 3) within a column are significantly different ($p < 0.05$).

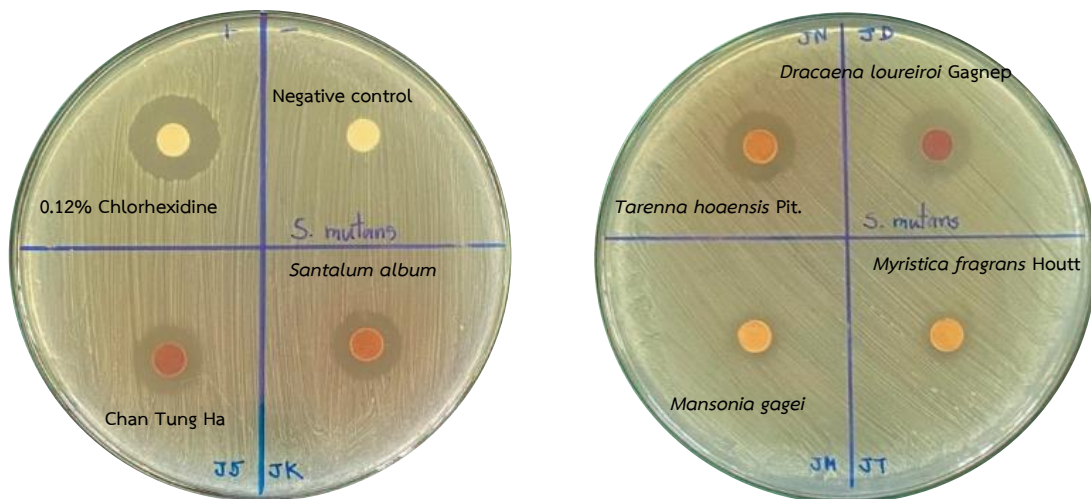


Figure 1 Inhibition zones resulting from the inhibition of *S. mutans* by herbal extracts and controls

4. อภิปรายผลการวิจัย

ตำรับจันทน์ทั้ง 5 มีสรรพคุณ แก้ไข้เพื่อดีและโลหิต แก้ร้อนในกระหายน้ำ บำรุงตับ ปอด หัวใจ แก้พยาธิ บาดแผล มีสมุนไพรรวม 5 ชนิด เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ แก่นจันทน์หนา แก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว แก่นจันทน์เทศ และแก่นจันทน์ชะมด มีสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ [7], [9] ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย [10], [15] ต้านการอักเสบ [8] มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [9] จากการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดของสมุนไพรรวมแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 พบว่าสารสกัดแต่ละชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมที่แตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 1 แต่จะเห็นได้ว่าสารสกัดแก่นจันทน์แดงมีสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด ส่วนสารสกัดแก่นจันทน์หนามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจันทน์ทั้ง 5 ที่ได้จากการศึกษานี้มีค่าต่างจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจันทน์ทั้ง 5 ที่ได้จากการศึกษาของ Ohn-on et al. [7] ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากหลายปัจจัย เช่น ตัวทำละลายที่ใช้ต่างกัน โดยในการศึกษานี้ใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ในขณะที่การศึกษาของ Ohn-on et al. [7] ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย หรือวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน โดยในการศึกษานี้ใช้วิธีการหมักในตัวทำละลาย ในขณะที่การศึกษาของ Ohn-on et al. [7] ใช้วิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ การแช่ในตัวทำละลาย การขง และการต้มเดือด

จากผลการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดของสมุนไพรรวมแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 มีสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์ จึงเป็นไปได้ว่าสารสกัดดังกล่าวน่าจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เนื่องจากมีรายงานการวิจัยที่ผ่านมาที่นำเสนอว่าสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์หลายชนิดมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. mutans* เช่น การศึกษาของ Sendamangalam et al. [16] ที่แสดงให้เห็นว่าสารในกลุ่ม polyphenols เช่น gallic acid, tannic acid, quercetin และ salicylic acid มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. mutans* และการศึกษาของ Yan et al. [17] ที่แสดงให้เห็นว่าสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น Orientin-2"-O-β-L-galactoside, orientin และ vitexin สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และต้านการสร้าง biofilm ของเชื้อ *S. mutans* ได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ดังกล่าวไปยับยั้งการแสดงออกของยีน *spaP*, *srtA*, *brpA*, *gtfB* และ *luxS* ของ *S. mutans* ที่กระบวนการ transcription

จากการศึกษาที่ทำการศึกษาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดของสมุนไพรรวมแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 พบว่าสารสกัดทุกชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ แต่สารสกัดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสใกล้เคียงกันคือ แก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว และแก่นจันทน์หนา ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่ทำการศึกษาสารสกัดแก่นจันทน์แดงในการยับยั้งเชื้อ

Staphylococcus aureus, *Streptococcus pyogenes* และ methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) จากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส เท่ากับ 12.33, 11.00, 10.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ [8] ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้งนี้ และเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเช่นเดียวกับเชื้อ *S. mutans* นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* พบว่าสารสกัดทุกชนิดสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ด้วยความเข้มข้นที่ต่างกัน ดังแสดงใน Table 3 ซึ่งมีรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ ได้ทำการศึกษารวม 33 ชนิด ในการทดสอบฤทธิ์แพร่กระจายของเชื้อ *S. mutans* และทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดแก่นจันทน์แดงมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเท่ากับ 7 - 8.5 มิลลิเมตร และมีความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เท่ากับ 4.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร [18] ดังนั้นงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับจันทน์ทั้ง 5 และและสารสกัดของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 มีสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และมีความสามารถในการยับยั้ง *S. mutans* ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการแพทย์ต่อไป

5. บทสรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสารสกัดของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของจันทน์ทั้ง 5 ซึ่งได้แก่ แก่นจันทน์หนา แก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว แก่นจันทน์เทศ และแก่นจันทน์ชะมดมีสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์ รวมทั้งมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. mutans* โดยสารสกัดแก่นจันทน์แดงมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 93.06 ± 6.67 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก ต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ส่วนสารสกัดแก่นจันทน์หนามีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด เท่ากับ 83.00 ± 9.84 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมตัวอย่างแห้ง สารสกัดแก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์ขาว และแก่นจันทน์หนามีฤทธิ์ยับยั้ง *S. mutans* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 15.62 ± 0.00 และ 31.25 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นที่จะนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อนำมาใช้ในช่องปาก ซึ่งจำเป็นต้องมี

การศึกษาเพิ่มเติมเพื่อแยกและระบุสารออกฤทธิ์ของตำรับจันทน์ทั้ง 5 และสมุนไพรเดี่ยวในระดับกลไกในการลดการสร้าง biofilm เพื่อป้องกันและควบคุมโรคฟันผุ และโรคปริทันต์

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร ที่ให้ความสะดวกในการใช้อาคารสถานที่ และเครื่องมือวิเคราะห์ในการทำวิจัยครั้งนี้

7. References

- [1] Bowen, W.H. and Koo, H.J.C.R. 2011. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: Role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Research*. 45(1): 69-86.
- [2] Loesche, W. 2007. Dental caries and periodontitis: Contrasting two infections that have medical implications. *Infectious Disease Clinics of North America*. 21(2): 471-502.
- [3] Attin, T. and et al. 2003. Review of the current status of tooth whitening with the walking bleach technique. *International Endodontic Journal*. 36(5): 313-329.
- [4] Lata, S. and et al. 2010. A deep UBVR CCD photometry of six open star clusters in the galactic anticenter region. *The Astronomical Journal*. 139(2): 378.
- [5] Palombo, E.A. 2011. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: Potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evidence-based complementary and Alternative Medicine*. 2011: 680354.
- [6] Sun, J. and et al. 2019. Phenolic constituents, pharmacological activities, quality control, and metabolism of *Dracaena* species: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 244: 112138.

- [7] Ohn-on, W. and et al. 2022. Effects of extraction methods on total phenolic content and antioxidant activity of Chan-Tang-Ha recipe. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**. 24(3): 88-96. (in Thai)
- [8] Dechayont, B. and et al. 2021. Antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant activities of Mahanintangtong and its constituent herbs, a formula used in Thai traditional medicine for treating pharyngitis. **BMC Complementary Medicine and Therapies**. 21(1): 105.
- [9] Kacharin, H. and et al. 2021. Antioxidant and anti-inflammatory activities of water extracted Jan Tung Ha. In: **Proceedings of the 52nd National Graduate Research Conference**, 28 May 2021. Chonburi, Thailand. (in Thai)
- [10] Oyedemi, T.O. and et al. 2014. Effect of *Myristica fragrans* Houtt. Seed (Nutmeg) on *Helicobacter pylori* induced gastritis in albino rats: *in vitro* and *in vivo* studies. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**. 8(4): 1355-1367.
- [11] Reanmongkol, W., Subhadhirasakul, S. and Bouking, P. 2003. Antinociceptive and antipyretic activities of extracts and fractions from *Dracaena loureiri* in experimental animals. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**. 25(4): 467-476.
- [12] Meda, A. and et al. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food chemistry**. 91(3): 571-577.
- [13] Hemeg, H.A. and et al. 2020. Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 27(12): 3221-3227.
- [14] Andrews, J.M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. 48(1): 5-16.
- [15] Chung, J.Y. and et al. 2006. Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. **Phytomedicine**. 13(4): 261-266.
- [16] Sendamangalam, V. and et al. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of polyphenols against *Streptococcus mutans*. **Free Radicals and Antioxidants**. 1(3): 48-55.
- [17] Yan, L. and et al. 2023. Anti-biofilm and bacteriostatic effects of three flavonoid compounds on *Streptococcus mutans*. **Biofouling**. 39(3): 245-256.
- [18] Pumpaluk, P. and et al. 2017. Antibacterial effect of herbal plants against three cariogenic microorganisms. **Mahidol Dental Journal**. 37(1): 71-80.