

การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและการพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย
Evaluation of Antibacterial Activity and Gel Formulation Development from
Terminalia chebula Retz Extract

ปิยนุช พรหมภมร* และ นภัสสร ราชรินทร์

หลักสูตรวิทยาศาสตรเครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

Piyanuch Prompamorn* and Naphutsorn Ratcharin

Cosmetics Science, Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอลเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการอักเสบของผิวหนังด้วยวิธี Agar well diffusion และหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (MIC_{50}) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ด้วยวิธี Broth macrodilution ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดผลสมอไทยที่เตรียมได้มีร้อยละของน้ำหนักสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งเท่ากับ 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 และเมื่อนำสารสกัดสมอไทยมาพัฒนาเป็นตำรับเจลพบว่า ตำรับเจลที่ได้มีสีเหลืองใส มีค่า pH 6.5 และมีลักษณะทางกายภาพที่ดี

คำสำคัญ: สมอไทย ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: piyanuch_ppm@hotmail.com

Abstract

The objective of this study was to prepare the crude ethanol extract of *Terminalia chebula* and to evaluate an antibacterial activity of *T. chebula* extract against dermatitis inducing bacteria including *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Antibacterial activity was tested by agar well diffusion method while minimum inhibitory concentration required to inhibit the growth of 50% of organisms (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 results 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. chebula* was prepared and its physiochemical properties were evaluated. The physical properties of gel were clear light yellow color with pH 6.5 and showed good appearance.

Keywords: *Terminalia chebula*, Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

บทนำ

สมอไทย (*Terminalia chebula*) เป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในอินเดียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อยู่ในวงศ์ Combretaceae ผลสมอไทยมีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย เช่น ยาระบายอ่อนๆ ยาธาตุ ยาบำรุงและแก้ชักกระตุก เป็นต้น ทั้งนี้มีรายงานว่า ในผลสมอไทยมีสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง เช่น Gallic acid, Ellagic acid, Chebulic acid และ Corilagin เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาหลายประการ ยกตัวอย่างเช่นฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการแพ้ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และฤทธิ์ต้านเบาหวาน (Chattopadhyay & Bhattacharyya, 2007; Rangsiwong et al., 2009; Pfundstein et al., 2010; Bag et al., 2012; Bag et al., 2013)

ในการแพทย์พื้นบ้านได้มีการนำสมอไทยมาใช้ในการรักษาโรคและอาการต่างๆ ได้แก่ ไข้หวัด ท้องร่วง กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ โรคผิวหนัง บาดแผล โรคติดเชื้อแคนดิดา โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และโรคในช่องปาก (Dash, 1991; Chattopadhyay & Bhattacharyya, 2007) สมอไทยจัดอยู่ในพิกัดตรีผลา (Triphala) คือการเตรียมตำรับยาของผลไม้ 3 อย่าง ได้แก่ ผลสมอไทย ผลสมอพิเภก

และผลมะขามป้อม ซึ่งมีสรรพคุณในการรักษาโรคเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจ โรคตับ สร้างภูมิคุ้มกันและบำรุงสุขภาพให้มีอายุยืนยาว เป็นต้น (Naik et al., 2004; Pfundstein et al., 2010; Srivastava et al., 2012)

มีรายงานว่าสารสกัดจากผลสมอไทยมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์หลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น Sato et al. (1997) รายงานว่า ผลที่สุดของสมอไทยมีฤทธิ์รุนแรงในยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่มเมธิซิลิน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Aneja & Joshi (2009) ที่รายงานถึงฤทธิ์ของสารสกัดส่วนน้ำของผลสมอไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutants* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบในช่องปากและเป็นสาเหตุของอาการฟันผุ มีรายงานว่า Ethanedioic acid และ Ellagic acid ที่สกัดได้จาก Butanol fraction มีฤทธิ์รุนแรงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium perfringens* และ *Escherichia coli* เช่นเดียวกับ Malckzadeh et al. (2001) ที่รายงานถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการทำงานของเอนไซม์ Urease ในเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคกระเพาะและมะเร็งกระเพาะอาหารและลำไส้ นอกจากนี้การศึกษาของ Dutta, Rahmen & Dase (1998) และ Barazani et al. (2003) พบว่า สารสกัดน้ำของสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราในกลุ่ม 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* พบว่า สารสกัดส่วนเอทานอลให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดและให้ผลในการยับยั้งเชื้อทุกชนิดได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดส่วนน้ำและสารสกัดส่วน Acetone เช่นเดียวกับการรายงานก่อนหน้านี้ของ Ahmad, Mehmood & Mohammad (1998) ที่พบว่า สารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่รุนแรงกว่าสารสกัดส่วนน้ำและเฮกเซน ทั้งนี้เนื่องมาจากการสกัดด้วยเอทานอลจะทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณสูง

เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่สามารถพบได้ที่ผิวหนังของคนปกติ (Chomnawang et al., 2005) ซึ่งสามารถก่อให้เกิดการอักเสบของผิวหนังและมีความสามารถในการก่อให้เกิดสิวและผื่นหนอง ดังนั้นการวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาการประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* และพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรไทยตลอดจนเพิ่มทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล
2. เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสารสกัดสมอไทย
3. เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (MIC_{50})

4. เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) *S. aureus* และ *S. epidermidis*
5. เพื่อพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทย

เตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยด้วยวิธีการหมักโดยดัดแปลงจากวิธีของ Bag et al. (2012) โดยนำผลสมอไทยจากจังหวัดบุรีรัมย์ที่ได้มีการพิสูจน์เอกลักษณ์พืชที่พิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร มาล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำเนื้อที่ได้จากผลสมอไทยไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสจนแห้งสนิทแล้วนำมาบดให้เป็นผงละเอียด แล้วทำการสกัดด้วย 70% เอทานอลด้วยวิธีการหมัก ในอัตราส่วนสมอไทย 25 กรัม ต่อ เอทานอล 150 มิลลิลิตร โดยเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองแล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดันจะได้สารสกัดหยาบชั้นเอทานอล ทำการชั่งและบันทึกน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้เพื่อคำนวณหาร้อยละของน้ำหนัก (% yield) ของสารสกัดหยาบ เก็บสารสกัดหยาบในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในที่มีติดจนกว่าจะนำไปใช้

2. การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล

ประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสารสกัดสมอไทยด้วยวิธี Agar well diffusion โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ahmed & Bej (2001) กล่าวคือทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* สายพันธุ์ ATCC 25923 และ *S. epidermidis* สายพันธุ์ ATCC12228 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับค่าความขุ่นของแบคทีเรียให้มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 1.5×10^8 CFU/ml หรือเทียบเท่ากับ McFarland No. 0.5 จากนั้นทำการเจือจางแบคทีเรีย 10 เท่าให้มีจำนวน 1.5×10^7 CFU/ml จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงไปในการละลายของเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้กุดและบิด Cotton swab กับข้างหลอด แล้วกระจายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Three dimension swab ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที ให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง จากนั้นเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย Sterile cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วปิเปตสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่างๆ ปริมาณ 40 μ l 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

3. การหาค่า MIC₅₀ และ MBC ของสารสกัดสมอไทย

หาค่า MIC₅₀ และ MBC ของสารสกัดสมอไทยต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี Broth macrodilution โดยดัดแปลงจากวิธีของ Rodriguez vaquero et al. (2010) กล่าวคือ เตรียมสารสกัดหยาบสมอไทยความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบที่เตรียมให้มีจำนวนเชื้อ 1.5×10^5 CFU/ml ในปริมาณที่เท่ากันลงไปหลอด แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง โดย Positive control คือหลอดที่มีแต่เชื้อแบคทีเรียไม่มีการเติมสารสกัดสมอไทย สังเกตผล MIC โดยดูความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับ Positive control และนำหลอดที่ไม่มีความขุ่นไปทำการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA เพื่อหาค่า MIC₅₀ และ MBC

4. การพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

4.1 การเตรียมเจลเบส

การเตรียมเจลจากสารสกัดสมอไทย ส่วนผสมของตำรับที่ใช้ในการเตรียมดังแสดงในตารางที่ 1 แยกส่วนผสมเป็น 4 ส่วน คือ A, B, C และ D ในการผสมแยกแต่ละส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันจากนั้นเติมส่วน B ลงในส่วน A ผสมให้เข้ากันภายใต้เครื่องกวนสาร (Overhead stirrer) แล้วเติมส่วน C ลงไปผสมกัน จากนั้นเติมส่วน D แล้วกวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

การศึกษาในครั้งนี้ ปริมาณสารสกัดสมอไทยที่เติมลงไปตำรับจะเป็นปริมาณที่ได้จากค่า MBC โดยศึกษาปริมาณ Carbopol940 ในช่วงร้อยละ 0.3-1.0 โดยน้ำหนัก (%w/w) โดยคงปริมาณของ Cremophor RH 40 และ Tween 80 ที่ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 และปรับปริมาณของน้ำให้ครบร้อยละ 100.0 โดยน้ำหนัก เพื่อเลือกความข้นหนืดของเจลให้เหมาะสม เมื่อได้ปริมาณของ Carbopol 940 ที่เหมาะสมแล้ว จะทำการศึกษาปริมาณ Creamophor RH-40 และ Tween80 ในช่วงร้อยละ 1.0-4.0 โดยน้ำหนัก (%w/w) ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสม จากนั้นเก็บตัวอย่างในขวดแก้วใสมีฝาปิดแล้วนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของตำรับเจลเบส

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
	Tween80	Polysorbate 80	1.0
	<i>Terminalia chebula</i> extract	<i>Terminalia chebula</i> extract	qs

4.2 ประเมินคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับเจลสารสกัดสมอไทย

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

4.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อแสดงค่าร้อยละ (Percentage) ของข้อมูล ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในกรณีที่ เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ

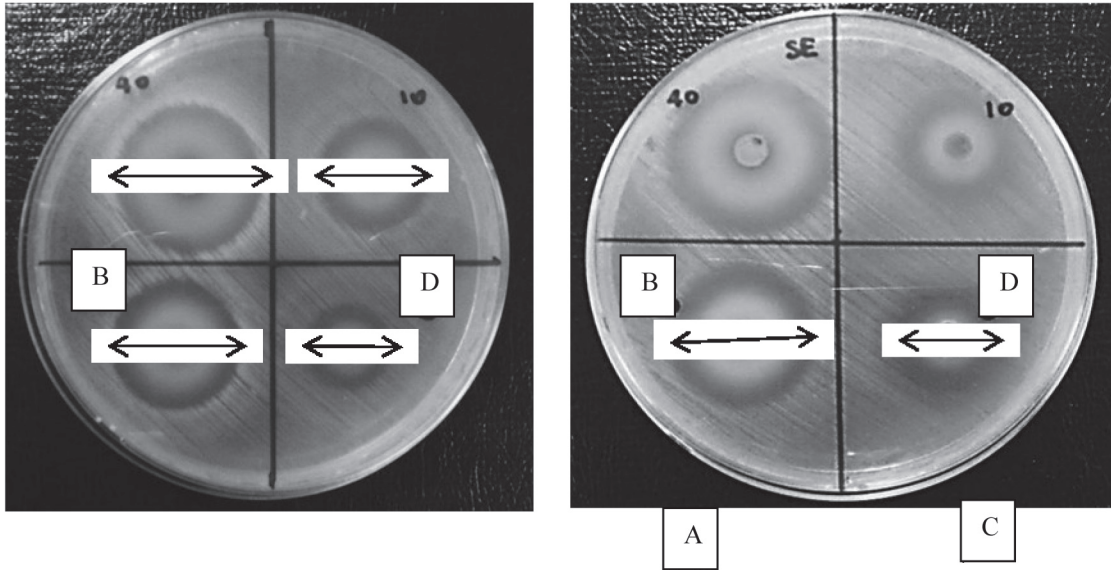
ผลการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบสมอไทย

ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดสมอไทย มีสีน้ำตาลเข้ม เหนียว ชันหนืด และเมื่อคำนวณหาร้อยละของสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งมีค่าเท่ากับ 14.124

2. การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอล

เมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า สารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของทั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* เนื่องจากเกิดบริเวณการยับยั้งการเจริญ (Inhibition zone) เช่นเดียวกับยาปฏิชีวนะ Ampicillin ในขณะที่สารละลาย 0.5% DMSO ไม่ทำให้เกิดบริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อ



ภาพที่ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (ซ้าย) และ *S. epidermidis* (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 40 mg/ml (A), 20 mg/ml (B), 10 mg/ml (C) และ 5 mg/ml (D)

ตารางที่ 2 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งการเจริญ (Inhibition zone) (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; เซนติเมตร)	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
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
สารละลาย 0.5% DMSO	-	-

3. การหาค่า MIC₅₀ และ MBC ของสารสกัดสมอไทย

จากการทดสอบด้วยวิธี Plate count พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (MIC₅₀) มีค่าเท่ากับ 0.96 และ 0.45 mg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) มีค่าเท่ากับ 2.05 และ 0.78 mg/ml ตามลำดับ

4. การพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย

จากการศึกษาเบื้องต้นการเตรียมตำรับจากสารสกัดสมอไทย โดยศึกษาปริมาณ Carbopol 940 ในช่วงร้อยละ 0.3-1.0 โดยน้ำหนัก (%w/w) และปริมาณสารสกัดสมอไทยได้จากค่า MBC คือร้อยละ 0.205 โดยน้ำหนัก จากการทดลองพบว่า ทุกตำรับได้เจลเหลืองใส ตำรับที่มีปริมาณ Carbopol 940 ร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักมีความข้นหนืดน้อย ส่วนตำรับที่มีปริมาณ Carbopol 940 ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนักมีความข้นหนืดที่พอเหมาะ และตำรับที่มีปริมาณ Carbopol 940 ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักข้นไปเจลที่ได้ลักษณะข้นหนืดมากเกินไป 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 จากการทดลองพบว่า ทุกตำรับสารสกัดสมอไทยละลายเข้ากันได้ดีในส่วนผสมของตำรับ ลักษณะของเนื้อเจลเหลืองใส มีความข้นหนืดเหมาะสมคือไม่เหลวหรือข้นมากเกินไป เมื่อเพิ่มปริมาณ Cremophor RH-40 และ Tween 80 จะทำให้กลิ่นของตัวทำละลายทั้งสองเพิ่มขึ้นตามสัดส่วน เนื่องจากตำรับเจลที่ได้มีกลิ่นของตัวละลายไม่น่าใช้ จึงปรับตัวทำละลายให้เหลือเพียง Cremophor RH-40 ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก พบว่า สารสกัดสมอไทยละลายเข้ากันได้ดีในส่วนผสมของตำรับ เนื้อเจลมีสีเหลืองใส มีความข้นหนืดพอเหมาะไม่เหนียวและกลิ่นของตัวทำละลายลดลง ดังนั้นจึงเลือกตัวทำละลาย Cremophor RH-40 ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก ในการศึกษาส่วนผสมของตำรับเจลที่มีส่วนของปริมาณร้อยละ 0.4 ของ Carbopol 940 และปริมาณร้อยละ 3.0 ของ Cremophor RH-40 เมื่อทำการประเมินคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของตำรับที่เตรียมขึ้นพบว่า เจลมีลักษณะเหลืองใสมีกลิ่น Cremophor RH-40 อ่อน ๆ มีค่า pH 6.5 ซึ่งเป็นค่า pH ที่เหมาะสมกับสภาพของผิวหนังและมีความหนืด 3000 - 4000 cps. ซึ่งมีความเหมาะสมไม่เหลวหรือข้นจนเกินไป



ภาพที่ 2 ตำรับเจลไม่เติมสารสักดสมุนไพร (ซ้าย) และ ตำรับเจลสารสักดสมุนไพร (ขวา)

ตารางที่ 3 ส่วนผสมของตำรับเจลจากสารสักดสมุนไพร

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
	<i>Terminalia chebula</i> extract	<i>Terminalia chebula</i> extract	0.205

วิจารณ์ผลการวิจัย

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

ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดสมอไทยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า สารสกัดสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดดังจะเห็นได้จากการเกิด Inhibition zone หรือ Clear zone ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่า เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมอไทยที่ความเข้มข้น 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 โดยพบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นขนาดของ Clear zone จะเพิ่มขึ้น แสดงว่าขนาดของ Clear zone ของเชื้อทั้งสองชนิดแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด สอดคล้องกับการรายงานของ Kannan, Ramadavi & Waheeta (2009) ที่พบว่าสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดดังกล่าวเมื่อทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion ที่ความเข้มข้น 1 mg/disc จะให้ Clear zone ขนาด 1 และ 1.2 เซนติเมตรตามลำดับ

ผลการหาค่า ค่า MIC₅₀ และ MBC ของสารสกัดสมอไทยต่อเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี Broth macrodilution พบว่า สารสกัดสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* มากกว่าเชื้อ *S. aureus* โดยเมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* มีค่า MIC₅₀ และ MBC เท่ากับ 0.45 และ 0.78 mg/ml และเมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ค่า MIC₅₀ 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 MIC₅₀ 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) ยังพบอีกว่า เมื่อสกัดผลสมอไทยด้วยตัวทำละลาย 70% เอทานอล สารสกัดที่ได้จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumonia* และ *P. aeruginosa* ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ได้แก่ น้ำและอะซิโตน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้ของ Ahmad, Mehmood & Mohammad (1998) ที่พบว่าสารสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่รุนแรงกว่าสารสกัดส่วนน้ำและเฮกเซน ทั้งนี้เนื่องมาจากการสกัดด้วยเอทานอล

จะทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณสูง ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่พบเป็นหลักคือ Gallic acid และ Ellagic acid โดยมีการรายงานว่สารดังกล่าวเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (Surveswaran, Cai, Corke & Sun, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sato et al. (1997) ที่พบว่า Gallic acid และ สารพวก Ethyl acetate ที่ได้จากการสกัดสมอไทยส่วนเอทานอลเป็นตัวทำให้เกิดฤทธิ์ที่การยับยั้งเชื้อ นอกจากนี้มีรายงานว่ ในสารสกัดส่วนเอทานอลยังพบสารออกฤทธิ์อีกหลายชนิด ได้แก่ สารในกลุ่ม Alkaloids, Flavonoids, Essential oil, Terpenoids, Tannins และสารอื่น ๆ (Ghosh et al., 2008)

References

- 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, 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, 105-111.
- 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, 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., Sathiyamoorthy, P., Shalev, R., Vardy, D. & Golan, G.A. (2003). Screening of South-Indian medicinal plants for anti-fungal activity. *Phytotherapy Research*, 17, 1123-1125.
- Bonjar, G.H. (2004). Inhibition 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 update. *Pharmacognosy Review*, 1, 151-156.
- 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.
- Dash, B. (1991). *MateriaMedica of Ayurveda*. New Delhi: B. Jain Publishers, New Delhi, 170-174.
- Dutta, B.K., Rahman, I. & Das, T.K. (1998). Antifungal activity of Indian plant extracts. *Mycoses*, 41, 535-536.
- Ghosh A., Das, B.K., Roy, A., Mandal, B. & Chanda, G. (2008). Antibacterial activity of some medicinal plant extracts. *Journal of Natural Medicines*, 62, 259-262.
- Kannan, P., Ramadevi, S.R. & Waheeta, H. (2009). Antibacterial activity of *Terminalia chebula* fruit extract. *African Journal of Microbiology Research*, 3, 180-184.
- Malckzadeh, F., Ehsanifar, H., Shahamat, N., Levin, M. & Colwell R.R. (2001). Antibacterial activity of black myrobalan (*Terminalia chebula* Retz.) against *Helicobacter pylori*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 18, 85-88.
- Naik, G.H., Priyadarsini, K.I., Naik, D.B., Gangabthagirathi, R. & Mohan, H. (2004). Studies on the aqueous extract of *Terminalia chebula* as a potent antioxidant and a probable radioprotector. *Phytomedicine*, 11, 530-538.
- 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.
- Rangsiwong, 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.

- Rodríguez Vaquero, M.J., Tomassini Serravalle, L.R., Manca de Nadra, M.C. & Strasser de Saad, A.M. (2010). Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. *Food Control*, 21, 779-785.
- 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 *Staphylococcus 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, 938-953.

คณะผู้เขียน

ดร.ปิยนุช พรหมภมร

หลักสูตรวิทยาศาสตรเครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
 ถ.สีรินธร 228-228/1-3 ถ.สีรินธร แขวงบางพลัด เขตบางพลัด กทม. 10300
 e-mail: piyanuch_ppm@hotmail.com

อาจารย์ณัฏสร ราชรินทร์

หลักสูตรวิทยาศาสตรเครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
 ถ.สีรินธร 228-228/1-3 ถ.สีรินธร แขวงบางพลัด เขตบางพลัด กทม. 10300
 e-mail:

