

การพัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวจากวัสดุธรรมชาติ

ไบโอเซลลูโลสผสมสารสกัดหยาดจันทน์แดง

Development of Natural Anti-acne Patch from Biocellulose Formulated with *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S.C. Chen Crude Extract

ธนวุฒิ โชติณกุล, ฉันทพร สร้อยงาม,

อรวรรณ ชุนหาชาติ และมลธิรา ศรีถาวร*

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน ตำบลกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

Tanawut Chotinu-kul, Tanyapohn Soingam,

Orawan Chunhachart and Moltira Srithaworn*

Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Sciences, Kasetsart University,
Kamphaeng Saen Campus, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาดจันทน์แดง และพัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวจากวัสดุธรรมชาติไบโอเซลลูโลสผสมสารสกัดหยาดจันทน์แดงและทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคสิว พบว่าเจลผสมสารสกัดหยาดจันทน์แดง (15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระร้อยละ 97.01 ± 0.10 และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 4796.44 ± 217.06 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรของเจลผสมสารสกัดหยาดจันทน์แดง และ 667.39 ± 40.11 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมสารสกัดหยาดจันทน์แดง ตามลำดับ โดยได้พัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวที่ผสมสารสกัดหยาดจันทน์แดง 3 สูตร ได้แก่ สูตรความเข้มข้น 5 (F_1) 10 (F_2) และ 15 (F_3) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518 และ *Cutibacterium acnes* DMST14916 ผลการทดสอบพบว่าสูตร F_3 มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. acnes* DMST14916 ดีที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้ง 25.17 ± 1.26 มิลลิเมตร หลังการเก็บรักษาไว้ 1 เดือน พบว่าแผ่นแปะรักษาสิวที่ผสมสารสกัดหยาดจันทน์แดง ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ สรุปได้ว่าการพัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวที่ผสมสารสกัดหยาดจันทน์แดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระสูง

คำสำคัญ : แผ่นแปะรักษาสิว; ไบโอะเซลลูโลส; จันทน์แดง;ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

This study aimed to analyze antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S.C. Chen extracts (Chandaeng) and develops a natural anti-acne patch from bio-cellulose formulated with Chandaeng and then tests anti-acne inducing bacterial activity. The antioxidant activity of Chandaeng (15 mg/mL) was 97.01 ± 0.10 %. Total phenolic and flavonoid contents were 4796.44 ± 217.06 mg GAE/mL of gel formulated with crude extract and 667.39 ± 40.11 mg catechin/g crude extract. The natural anti-acne patch from bio-cellulose was formulated with Chandaeng concentrations at 5 (F_1), 10 (F_2), and 15 (F_3) mg/mL. Antibacterial activity was tested with three bacterial strains, i.e., *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518, and *Cutibacterium acnes* DMST14916. The results showed that the anti-acne patch (F_3) had the highest activities against *C. acnes* DMST14916 with an inhibition zone at 25.17 ± 1.26 mm. The antibacterial activity of anti-acne patch (F_3) was stable after one month of storage. In conclusion, a natural anti-acne patch from bio-cellulose formulated with Chandaeng has high potential in anti-acne inducing antibacterial activity and high antioxidant activity.

Keywords: anti-acne patch; biocellulose; *Dracaena cochinchinensis*; antibacterial activity; antioxidant activity

1. บทนำ

สิวเป็นโรคผิวหนังชนิดหนึ่งซึ่งพบได้บ่อย โดยเฉพาะวัยรุ่น อาจเกิดจากความผิดปกติของต่อมไขมันภายใต้ผิวหนังที่มีการหลั่งไขมันออกมามากกว่าภาวะปกติ ทำให้มีอาหารอุดตันที่รูขุมขนภายใต้ผิวหนังและเกิดตุ่มเล็ก ๆ โดยสาเหตุของการเกิดสิวมียาหลายปัจจัย ได้แก่ ฮอร์โมนภายในร่างกาย การใช้เครื่องสำอาง และเกิดจากจุลินทรีย์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดสิว ฝิหนอง ได้แก่ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. acnes* เป็นต้น ซึ่งอาศัยอยู่บริเวณผิวหนังบนใบหน้าและอาจก่อให้เกิดอาการอักเสบรุนแรงเพิ่มมากขึ้น [1] การรักษาสิวในปัจจุบันนิยมรักษาด้วยการนำยาปฏิชีวนะมาผสมกับครีมหรือโลชั่น แต่การรักษาด้วยวิธีนี้อาจมีผลข้างเคียงหากใช้เป็นเวลานาน โดยอาจทำให้

เกิดการดื้อยาและอาการแพ้ได้ นอกจากนี้ยังมีวิธีการรักษาสิวโดยใช้แผ่นแปะรักษาสิวซึ่งเป็นที่ยอมรับมากขึ้น เพราะสะดวกในการซื้อและนำมาใช้เองที่บ้านได้ ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นแผ่นกกลมใส สามารถแปะทับบริเวณที่เป็นสิวโดยตรง ทำให้สามารถปลดปล่อยตัวยานานขึ้นและเพิ่มความสะดวกในการใช้งานมากกว่า โดยแผ่นแปะรักษาสิวในปัจจุบันส่วนใหญ่ใช้สารสังเคราะห์ในกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์เพื่อลดการอักเสบ มีการศึกษาค้นคว้าวิจัยและมีการพัฒนาเกี่ยวกับสมุนไพรรักษาสิวก่อนหน้าในประเทศไทย เช่น สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีสารสกัด α -mangostin ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. acnes* [2] นอกจากนี้มีการค้นพบว่าสารสกัดรากก้ามปูซึ่งประกอบด้วยสาร Wogonin และ Baicalein และได้ทำเป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิว เพราะสามารถลดการ

อักเสบเช่นกัน [3]

แก่นจันทร์แดงนับว่าเป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรที่มีคุณประโยชน์มากมายหลายด้าน เป็นองค์ประกอบหนึ่งในตำรายาไทยหลายตำรับ มีฤทธิ์ในการช่วยสมานแผล ด้านการเกิดลิ้มเลือด มีสารต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์บางจำพวก โดยพบว่าสารสกัดหยาบจากพืชจันทร์แดงที่สกัดด้วยเอทานอลมีสารกลุ่ม homoisoflavanone, retradihydrochalcone และ stilbene โดยพบว่าสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ [4] ทั้งนี้ได้วิจัยเบื้องต้นพบว่าสารสกัดหยาบจันทร์แดงที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคผิวหนัง *C. acnes* และ *S. epidermidis* ดังนั้นจึงสนใจนำวัสดุธรรมชาติไปโอเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Gluconacetobacter xylinus* ซึ่งปัจจุบันมีการนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง รวมทั้งอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ใช้ผสมเครื่องสำอางชนิดสเปรย์ เพื่อให้เครื่องสำอางติดผิวดีขึ้น โดยโครงสร้างทางเคมีของโอเซลลูโลสประกอบด้วย $(C_6H_{10}O_5)_n$ มีลักษณะเป็นเส้นใยใส มีสมบัติในการอุ้มน้ำได้สูง ทนต่อแรงดึงได้ดี และมีความคงตัวเมื่อผ่านความร้อน [5] นอกจากนี้ยังเป็นวัสดุธรรมชาติที่ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ในคน จึงสนใจนำมาพัฒนาเป็นแผ่นแปะรักษาผิวหนังแบบ โดยนำมาผสมกับสารสกัดหยาบจันทร์แดง รวมทั้งนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง ทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และทดสอบสมบัติทางกายภาพ ซึ่งมีการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยผลที่ได้สามารถนำไปต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รักษาผิวที่มีประสิทธิภาพในอนาคต

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ตัวอย่างพืช

ได้ดำเนินการจัดทำตัวอย่างพืชอ้างอิง

งานวิจัย (voucher specimen) ที่พิพิธภัณฑ์สมุนไพรกรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก โดยตรวจสอบชนิดสมุนไพร พบว่าเป็นพืชสมุนไพรที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S.C. Chen มีชื่อไทยว่าจันทร์แดง จันทร์ผา และลักกะจันทร์ จัดอยู่ในวงศ์ Asparagaceae และได้จัดทำตัวอย่างเครื่องยาอ้างอิง (authentic crude drug) รหัสอ้างอิงประจำพิพิธภัณฑ์สมุนไพร คือ T. Sroingam 04101501 (TTM-c NO. 1000460)

2.2 การเตรียมสารสกัดหยาบจันทร์แดง

นำผงแก่นจันทร์แดง 10 กรัม หมักในตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าที่อัตรา 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองเอาแต่น้ำโดยกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 4 นำส่วนใสที่ได้เข้าเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ จะได้เป็นผงของสารสกัดหยาบ จากนั้นเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป [6]

2.3 การเตรียมเจลผสมสารสกัดหยาบจันทร์แดง

การเตรียมเจลผสมสารสกัดหยาบจันทร์แดงสูตร 1 สารสกัดหยาบจันทร์แดง ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สูตร 2 สารสกัดหยาบจันทร์แดง ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสูตร 3 สารสกัดหยาบจันทร์แดง ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน propylene glycol 200 (PG) ร้อยละ 30.0 มีสมบัติช่วยให้ความชุ่มชื้น PEG ร้อยละ 5.0 มีสมบัติช่วยให้ความชุ่มชื้นและหนืดขึ้นชั้นคล้ายเจล และเติมน้ำบริสุทธิ์ให้ครบร้อยละ 100 โดยทั้งนี้ได้เตรียมสูตรควบคุมที่ไม่มีสารสกัดหยาบจันทร์แดง (F_0) [7]

2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

DPPH

นำสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลลาร์ ปริมาตร 550 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง และเติมเจลผสมสารสกัดยาบจันทน์แดงทั้ง 3 สูตร รวมทั้งสูตรที่ไม่มีสารสกัดยาบจันทน์แดง (F_0) และผลิตภัณฑ์รักษาสิวตามท้องตลาด clindamycin hydrochloride ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร (commercial) ปริมาตร 550 ไมโครลิตร สำหรับชุดควบคุมใช้ DPPH ปริมาตร 550 ไมโครลิตร กับตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 550 ไมโครลิตร โดยใช้กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ความเข้มข้น 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร เพื่อเป็นสารละลายควบคุมผลบวก จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายเปล่า (blank) เป็นเมทานอล คำนวณโดยใช้สูตร ร้อยละการยับยั้ง = $[(\text{ค่าดูดกลืนแสงชุดควบคุม} - \text{ค่าดูดกลืนแสงตัวอย่าง}) \div \text{ค่าดูดกลืนแสงชุดควบคุม}] \times 100$ และนำค่าไปสร้างกราฟระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของตัวอย่างเจลผสมสารสกัดยาบจันทน์แดง โดยทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ [8]

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม (total phenolic compound) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent

นำเจลผสมสารสกัดยาบจันทน์แดง ก่อนและหลังเก็บรักษา เป็นเวลา 30 วัน ทั้ง 3 สูตร รวมทั้งสูตรควบคุมที่ไม่มีสารสกัดยาบจันทน์แดง (F_0) และผลิตภัณฑ์รักษาสิวตามท้องตลาด clindamycin hydrochloride ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร (commercial) ปริมาตร 2 มิลลิเมตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิเมตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)

เข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 2 มิลลิเมตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) รายงานผลเป็น มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิเมตรของเจลผสมสารสกัดยาบ (mg GAE/mL of gel formulated with crude extract) โดยทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ [9]

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid compound) ด้วยวิธี aluminum chloride colorimetric

นำสารสกัดยาบจันทน์แดงความเข้มข้น 0.3907 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด จากนั้นเติมน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 400 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรต์ (NaNO_2) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ 6 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 240 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ รวมทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานคาทีชิน (catechin) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมคาทีชินต่อกรัมสารสกัดยาบจันทน์แดง (mg catechin/g dry weight of crude extract) โดยทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ [9]

2.7 การเตรียมแผ่นไบโอเซลล์ูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรีย

เพาะเลี้ยง *Gluconacetobacter xylinus* โดยการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วยน้ำมะพร้าว 1,000 มิลลิเมตร ปรับพีเอชเริ่มต้นให้เป็น 4.5 ด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร ต้มน้ำ

มะพร้าวให้เดือด 10-15 นาที น้ำตาลทรายร้อยละ 5 โดยปริมาตร แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 1 โดยปริมาตร ผสมให้เข้ากัน เทใส่ขวดสะอาดและปิดปากภาชนะจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วใส่หัวเชื้อลงไป ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน ส่วนการเตรียมแผ่นไบโอเซลลูโลสทำโดยนำน้ำมะพร้าวที่ต้มกรองสะอาดแล้ว ร้อยละ 1 โดยปริมาตร น้ำตาลทรายร้อยละ 5 โดยปริมาตร และแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 1 โดยปริมาตร ไปต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10-15 นาที นำน้ำมะพร้าวที่ต้มแล้วปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่หัวเชื้อปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 วัน นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาล้างน้ำสะอาดแล้วนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรียและส่วนประกอบของอาหารที่ติดมา แล้วล้างด้วยน้ำจืดมีค่า pH เป็นกลาง สไลด์แผ่นไบโอเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรีย *G. xylinus* ให้มีความหนา 1 มิลลิเมตร นำมาล้างฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำแผ่นไบโอเซลลูโลสที่ได้มาเจาะให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 มิลลิเมตร ด้วย cork borer No. 6 เพื่อนำไปใช้ในการทดลอง

2.8 การเตรียมไบโอเซลลูโลสผสมสารสกัดหยาบจันท์แดง

ตัดแผ่นไบโอเซลลูโลสให้เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 มิลลิเมตร นำมาแช่ไว้ในเจลผสมสารสกัดหยาบจันท์แดงสูตรต่าง ๆ ได้แก่ สูตร 1 สารสกัดหยาบจันท์แดง ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สูตร 2 สารสกัดหยาบจันท์แดง ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสูตร 3 สารสกัดหยาบจันท์แดง ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสูตรควบคุมที่ไม่มีสารสกัดหยาบจันท์แดง (F_0) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้สารถูกดูดซึมเข้าไปในตัว

แผ่นไบโอเซลลูโลสก่อนนำไปทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคสิว (ก่อนเก็บรักษา) โดยมีการเก็บรักษาแผ่นไบโอเซลลูโลสแช่ไว้ในเจลผสมสารสกัดหยาบจันท์แดงสูตรต่าง ๆ ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน และนำไปทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียอีกครั้ง (หลังการเก็บรักษา)

2.9 การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคสิวของแผ่นไบโอเซลลูโลสผสมเจลสารสกัดหยาบจันท์แดงโดยวิธี disc agar diffusion

เพาะเลี้ยง *S. aureus* และ *S. epidermidis* ในอาหาร nutrient broth (NB) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ปรับความขุ่นให้มีค่าเท่ากับ McFarland No. 0.5 นำเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วไป swab ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) จากนั้นวางแผ่นไบโอเซลลูโลสที่แช่ในเจลผสมสารสกัดหยาบจันท์แดงทั้ง 3 สูตร และสูตรควบคุมที่ไม่มีสารสกัดหยาบจันท์แดง (F_0) รวมทั้งแผ่นแปะรักษาสิวที่นิยมตามท้องตลาดแบบไฮโดรคอลลอยด์ (commercial) วางลงตรงกลางของอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อ *C. acnes* ก็ทำเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนเป็นอาหาร brain heart infusion broth (BHIB) และอาหาร brain heart infusion agar (BHIA) แล้วบ่มในสภาพไร้อากาศเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ตรวจสอบการต้านเชื้อโดยการนำวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งและบันทึกผลการทดลอง โดยทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ [10] โดยทดลองทั้งก่อนและหลังการเก็บรักษาไว้ 30 วัน

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของเจลผสมสารสกัดหยาบจันท์แดง

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าเจล

ผสมสารสกัดหยาบจันทน์แดงสูตร F_1 , F_2 และ F_3 ก่อนเก็บรักษามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 94.51 ± 0.97 ถึง 97.01 ± 0.10 ส่วนหลังเก็บรักษาพบว่าสูตร F_2 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 88.39 ± 2.51 ถึง 96.62 ± 0.50 ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าผลิตภัณฑ์รักษาผิวตามท้องตลาด (commercial) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีฤทธิ์การสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 11.82 ± 0.82 ส่วนสารควบคุมผลบวก กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 93.14 ± 2.33 ถึง 94.51 ± 0.67 (รูปที่ 1) ผลการทดลองพบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ศึกษาสารสกัดหยาบจันทน์แดงสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 28.8 ± 2.6 [11] และงานวิจัยของ ธัญพร และคณะ (2561) พบว่าสารสกัด

หยาบจันทน์แดงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขึ้นไป มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ถึงร้อยละ 100 [12] ก่อนหน้านี้ยังมีการวิจัยของ Sakunpak และคณะ ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับพืชในตระกูลเดียวกันกับจันทน์แดง (*Dracaena loureiri*) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงเช่นเดียวกัน โดยสารสกัดที่ความเข้มข้น 98.67 ± 1.52 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 [8] นอกจากนี้สารสกัดหยาบจันทน์แดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังได้ ยังพบว่าสารสกัดหยาบจันทน์แดงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีผลในการช่วยลดริ้วรอยและลดรอยเหี่ยวย่นได้ดีเช่นเดียวกัน อีกทั้งยังมีฤทธิ์ด้านการอักเสบได้ดี [13]

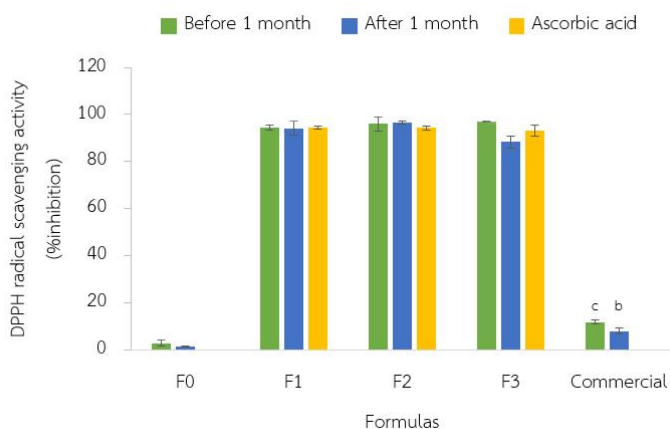


Figure 1 Antioxidant activity of anti-acne gel formulated with Chandaeng crude extract (F_1 - F_3) tested by DPPH assay and compared with F_0 , commercial product and ascorbic acid (5, 10 and 15 mg/mL).

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าเจลผสมสารสกัดหยาบจันทน์แดงก่อน

เก็บรักษา สูตร F_3 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมา คือ F_2 และ F_1 โดยมีค่า 4796.44 ± 217.06 , 4063.61 ± 128.44 และ 2609.41 ± 173.08 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกมิลลิลิตรของเจลผสมสารสกัดหยาบ

จันทน์แดง ตามลำดับ ส่วนหลังเก็บรักษาพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่ได้ต่างจากเดิมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นเจลผสมสารสกัดหยาบจันทน์แดงสูตร F₂ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดน้อยลง ผลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์รักษาผิวตามท้องตลาด (commercial) พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจันทน์แดง พบว่ามีค่า 667.39±40.11 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมสารสกัดหยาบจันทน์แดง ผลการทดลองพบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sakunpak และคณะ ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับพืชในตระกูลเดียวกับจันทน์แดง (*Dracaena loureiri*) ที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูง 3896.16±13.41 และ 6081.24±67.71 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัด ตามลำดับ [8] และยังสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจันทน์แดงที่มีค่าสูงเช่นกัน

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของแผ่นแปะไบโอเซลลูโลสผสมเจลสารสกัดหยาบจันทน์แดง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นแปะไบโอเซลลูโลสผสมสารสกัดหยาบจันทน์แดง (ตารางที่ 2) ก่อนเก็บรักษาไว้ 30 วัน พบว่าสูตร F₃ สามารถยับยั้ง *C. acnes* DMST14916 ได้ดีที่สุด (รูปที่ 2C) รองลงมา คือ *S. epidermidis* TISTR518 (รูปที่ 2B) และ *S. aureus* ATCC25923 (รูปที่ 2A) โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง 22.17±3.33, 20.00±0.87 และ 19.00±0.87 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนหลังเก็บรักษาพบว่าสูตร F₃ สามารถยับยั้ง *C. acnes* DMST14916 (รูปที่ 3C) ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ *S. epidermidis* TISTR518 (รูปที่ 3B) และ *S. aureus* ATCC25923 (รูปที่ 3A) โดยมีบริเวณยับยั้ง 25.17±1.26, 19.50±0.50 และ 19.00±1.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นแปะรักษาผิวที่นิยมตามท้องตลาดแบบไฮโดรคอลลอยด์ (commercial) พบว่าไม่สามารถ

Table 1 Total phenolic contents of anti-acne gel with Chandaeng crude extract

Formula	Storage	Total phenolic contents (mg GAE/mL of gel formulated with crude extract)
F ₀	Before 1 month	216.29±11.66 ^a
	After 1 month	477.10±10.10 ^a
F ₁	Before 1 month	2609.41±173.08 ^b
	After 1 month	2590.33±149.41 ^b
F ₂	Before 1 month	4063.61±128.44 ^d
	After 1 month	3687.02±145.89 ^c
F ₃	Before 1 month	4796.44±217.06 ^e
	After 1 month	4979.64±279.70 ^e
Commercial	Before 1 month	328.24±84.40 ^a
	After 1 month	480.92±67.85 ^a

Mean values of total phenolic contents in the same column followed by different letters are significantly different according to SPSS 16.0 by one-way ANOVA (Tukey's test) at $p < 0.05$.

Table 2 Inhibition zone of natural anti-acne patch from biocellulose formulated with Chandaeng crude extract against acne-inducing bacterial strains.

Formula	Storage	Inhibition zone (mm) $\pm$ SD		
		<i>S. aureus</i> ATCC25923	<i>S. epidermidis</i> TISTR518	<i>C. acnes</i> DMST14916
F ₀	Before 1 month	NI	NI	NI
	After 1 month	NI	NI	NI
F ₁	Before 1 month	17.00 $\pm$ 1.32 ^a	16.33 $\pm$ 1.15 ^a	20.33 $\pm$ 1.53 ^a
	After 1 month	15.67 $\pm$ 1.89 ^a	16.17 $\pm$ 0.58 ^a	17.67 $\pm$ 1.15 ^a
F ₂	Before 1 month	16.67 $\pm$ 0.29 ^a	18.67 $\pm$ 0.76 ^b	21.50 $\pm$ 0.87 ^b
	After 1 month	18.67 $\pm$ 0.58 ^b	18.33 $\pm$ 0.76 ^b	24.67 $\pm$ 1.76 ^c
F ₃	Before 1 month	19.00 $\pm$ 0.87 ^b	20.00 $\pm$ 0.87 ^c	22.17 $\pm$ 3.33 ^b
	After 1 month	19.00 $\pm$ 1.00 ^b	19.50 $\pm$ 0.50 ^c	25.17 $\pm$ 1.26 ^c
Commercial patch		NI	NI	NI
Clindamycin		27.33 $\pm$ 1.53 ^c	25.67 $\pm$ 0.53 ^d	61.00 $\pm$ 1.73 ^d
Tetracycline		27.00 $\pm$ 1.32 ^c	25.50 $\pm$ 1.32 ^d	75.67 $\pm$ 3.79 ^e

NI is expressed as not inhibition. Inhibition zone of F₀-F₃ included disc (11 mm) and clear zone. Inhibition zones of clindamycin, tetracycline and commercial patch included disc (6 mm) and clear zone. Mean values in the same column followed by different letters are significantly different according to SPSS 16.0 by one-way ANOVA (Tukey's test) at $p < 0.05$.

ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ดังนั้นแผ่นแปะไบโอเซลลูโลสผสมสารสกัดหยาดงันถนแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียที่สูงกว่า ส่วนการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียด้วยยาปฏิชีวนะ clindamycin ซึ่งเป็นตัวควบคุมผลบวก พบว่าสามารถยับยั้ง *C. acnes* DMST14916 ดีที่สุด รองลงมา คือ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. epidermidis* TISTR518 โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง 61.00 $\pm$ 1.73, 27.33 $\pm$ 1.53 และ 25.67 $\pm$ 0.53 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วน tetracycline เป็นยาปฏิชีวนะชนิด broad spectrum สามารถยับยั้ง *C. acnes* DMST14916 ดีที่สุด รองลงมา คือ *S. aureus* ATCC25923 และ *S. epidermidis* TISTR518 โดยมี

ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง 75.67 $\pm$ 3.79, 27.00 $\pm$ 1.32 และ 25.50 $\pm$ 1.32 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งก่อนหน้านี้ผู้วิจัยได้ทดลองหาค่าความเข้มข้นสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC, minimum inhibitory concentration) และ ความเข้มข้นสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ (MBC, minimum bactericidal concentration) ของสารสกัดหยาดงันถนแดงสกัดด้วยเอทานอล พบว่ามีค่า MIC และ MBC ต่อ *C. acnes*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* เป็น 3.125 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นความเข้มข้นของสารสกัดหยาดงันถนแดงที่ใช้ในงานวิจัยนี้จึงเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่า

ค่า MBC และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองกับแผ่นแปะสิวจากสารสกัดชนิดอื่น พบว่างานวิจัยของ นิสารัตน์ และอังสนา [14] ที่ศึกษาการพัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวจากสารสกัดมังคุด มีผลการทดลองสอดคล้องกับแผ่นแปะรักษาสิวที่ผสมสารสกัดหยาดจันทน์แดง โดยแผ่นแปะรักษาสิวจากสารสกัดมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *C. acnes*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) 0.156, 0.156 และ 0.313 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และงานวิจัยของ วาลูกา และคณะ [15] ที่ศึกษาแผ่นแปะผสมสารสกัดจากตำรับยาทาแก้พิษฝี สามารถยับยั้ง *S. epidermidis* โดยมีค่าเฉลี่ยการ

ยับยั้ง 15.33 ± 0.58 มิลลิเมตร ซึ่งรายงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าจันทน์แดง (*Dracaena cochinchinensis*) มีองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ 7,4-dihydroxyflavan และ 7-hydroxy-4-methoxyflavan ซึ่งมีฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus*, *Diphtheria bacilli* และ *Bacillus anthracis* ได้ [16] นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่ม pterostilbene ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของราและยีสต์ *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentogrophtes*, *Candida albican*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans* และ *Aspergillus fumigates* [17]

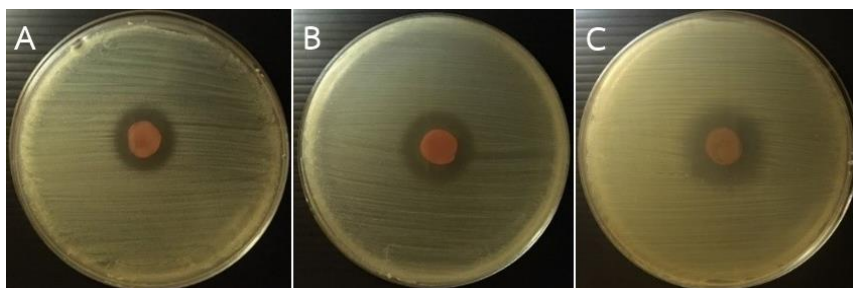


Figure 2 Antibacterial activities against *S. aureus* ATCC25923 (A), *S. epidermidis* TISTR518 (B) and *C. acnes* DMST14916 (C) of bio-cellulose formulated with Chandaeng concentration at 15 mg/mL (F_3) before storage 1 month.

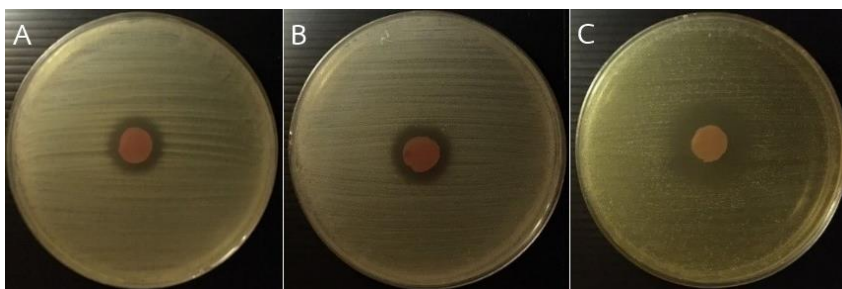


Figure 3 Antibacterial activities against *S. aureus* ATCC25923 (A), *S. epidermidis* TISTR518 (B) and *C. acnes* DMST14916 (C) of bio-cellulose formulated with Chandaeng concentration at 15 mg/mL (F_3) after storage 1 month.

4. สรุป

การพัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวจากวัสดุธรรมชาติไบโอเซลลูโลสผสมสารสกัดหยาบจันทน์แดงพบว่ามียูทเธียบบัคทีเรียก่อโรคผิวหนังทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus* ATCC25923, *S. epidermidis* TISTR518 และ *C. acnes* DMST14916 โดยสูตร F₃ มียูทเธียบบัคทีเรีย *C. acnes* DMST14916 ได้ดีที่สุด อีกทั้งสารสกัดหยาบจันทน์แดงมียูทเธียต้านสารอนุมูลอิสระสูง (ร้อยละ 97.01±0.10) และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูง ซึ่งผลการทดลองเบื้องต้นนี้สามารถนำไปศึกษาเพื่อพัฒนาต่อยอดเป็นแผ่นแปะสิ่วที่มีประสิทธิภาพในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากโครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2562 และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. References

- [1] Widerström, M., Wiström, J., Sjöstedt, A. and Monsen, T., 2012, Coagulase-negative staphylococci: Update on the molecular epidemiology and clinical presentation, with a focus on *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus*, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 31: 7-20.
- [2] Kunakornwong, J., Chalermchai, T., Aramwit, P., Ophaswongse, S. and Udompataikul, M., 2016, The efficacy of low protein acne patch containing with the extracts of *Garcinia mangostana* Linn. and dry, JMHS. 23(3): 40-49.
- [3] Chao, C.M., Lai, W.Y., Wu, B.Y., Chang, H.C., Huang, W.H. and Chen, Y.F., 2006, A pilot study on efficacy treatment of acne vulgaris using a new method: Results of a randomized double-blind trial with Acne Dressing, J. Cosmet. Sci. 57: 95-105.
- [4] Fan, J., Tao, Y., Chuimei, S., Lin, Z., Wanling, P., Yazhou, Z., Zhongzhen, Z. and Hubiao, C., 2014, A systematic review of the botanical, phytochemical and pharmacological profile of *Dracaena cochinchinensis*, a plant source of the ethnomedicine "Dragon's Blood", Molecules 19: 10650-10669.
- [5] Chawla, P.R., Bajaj, I.B., Survase, S.A. and Singhal, R.S., 2009, Fermentative production of microbial cellulose, Food Technol. Biotechnol. 47: 107-124.
- [6] Gupta, D. and Gupta, R.K., 2011, Bioprotective properties of Dragon's blood resin: *In vitro* evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity, BMC Complement Altern. Med. 11(13): 1-9.
- [7] Sawarkar, S.K., Mankar, D., Farooqui, I. and Jagtap, N., 2010, Development and biological evaluation of herbal anti-acne gel, J. Pharm. Tech. Res. 13: 2028-2031.
- [8] Sakunpak, A., Suksaeree, J., Pathompak, P., Settharaksa, S. and Sermkaew, N., 2014, Phytochemical screening and free radicals scavenging activity of selected Thai medicinal plants, BHST. 12(2): 13-19.

- [9] Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M., 2005, Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables, JUCTM. 40: 255-260.
- [10] Perez, C., Paul, M. and Bazerque, P., 1990, An antibiotic assay by the agar well diffusion method, Acta. Bio. Med. Exp. 15: 113-115.
- [11] Wang, X.H., Zhang, C., Yang L.L. and Gomes-Laranjo, J., 2011, Production of dragon's blood in *Dracaena cochinchinensis* plants by inoculation of *Fusarium proliferatum*, Plant Sci. 180: 292-299.
- [12] Soingam, T., Pakdeenual, P. and Srithaworn, M., Antifungal and antioxidant potential of *Dracaena loureiri* Gagnep. crude extracts, 15th KU-KPS National Conference, Research Report, Kasetsart University, Nakhon Pathom. (in Thai)
- [13] Manosroi, A. and Manosroi, J., 2013, Cosmeceuticals, Faculty of Pharmacy, Chiangmai University, Chiangmai, 399 p.
- [14] Boonpakdee, N. and Neatpatiparn, A., 2012, Development of Anti-acne Patch from the Mangosteen Extract, Research Report, Mahidol University, Bangkok, 44 p. (in Thai)
- [15] Plaingam, W., Sompoch, C. and Nateepitak, N., 2018, Effects of ethanolic extract from Thai traditional abscess formula and Chitosan patch against *Staphylococcus epidermidis*, RSU National Research Conference 2018, Rangsit University, Bangkok. (in Thai)
- [16] Wang, J.L., Li, X.C., Jiang, D.F., Ma, P. and Yang, C.R., 1995, Chemical constituents of dragon's blood resin from *Dracaena cochinchinensis* in Yunann and their antifungal activity, Yunnan Zhi Wu Yan Jiu 17: 336-340.
- [17] Zhang, Q.Y., Zhu, H., Chen, H.Y. and Hu, Y.Q., 2004, Latest study on the Dragon's blood, Acta Acad. Med. CPAPF. 13: 69-71.