การพัฒนาตำรับเจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

อรวรีว์ สลิตจำรูญศักดิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรการแพทย์แผนไทยมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย

ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

DEVELOPMENT OF ANTIBACTERIAL GEL FROM *CRYPTOLEPIS BUCHANANI* ROEM. & SCHULT

ORNWAREE ZLITJAMLOONSAK

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements

for Master of Thai Traditional Medicine in Thai Traditional Pharmacy

Academic Year 2020

Copyright of Bansomdejchaopraya Rajabhat University

ชื่อเรื่อง การพัฒนาตำรับเจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

ชื่อผู้วิจัย อรวรีว์ สลิตจำรูญศักดิ์

สาขาวิชา เภสัชกรรมไทย

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เธียร ธีระวรวงศ์

มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาอนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรการแพทย์แผนไทยมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ดร.คณกร สว่างเจริญ)

คณะกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เธียร ธีระวรวงศ์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะ วงศ์ญาณิน)

..... กรรมการและเลขานุการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประไพ ศรีดามา)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

ชื่อเรื่อง **การพัฒนาตำรับเจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน**
ชื่อผู้วิจัย **อรวรีว์ สลิตจำรูญศักดิ์**
สาขาวิชา **เภสัชกรรมไทย**
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร**
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เธียร ธีระวรวงศ์**
ปีการศึกษา **2563**

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน และ 2) พัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้นำเถาเอ็นอ่อนที่เก็บจากอำเภอศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู ไปตรวจสอบกับตัวอย่างพรรณไม้ของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พบว่าตรงกับตัวอย่างพรรณไม้หมายเลข MSU.PH-ASC-CB01 มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. วงศ์ Asclepiadaceae ทำการสกัดส่วนลำต้นของเถาเอ็นอ่อนโดยการหมักในเอทานอลร้อยละ 50 นำสารสกัดหยาบที่ได้มาตรวจหากลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้นโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการเกิดตะกอน และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้แก่ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* DMST 20646 (MRSA) และ *Streptococcus pyogenes* DMST 15505 ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี disk diffusion และวิธี broth microdilution ตั้งตำรับเจลต้านเชื้อแบคทีเรีย 4 ตำรับโดยใช้สารสกัดเถาเอ็นอ่อนในความเข้มข้นที่เหมาะสมก่อนศึกษาความคงตัวทางกายภาพของตำรับเจล

ผลการวิจัยพบว่า

1. สารสกัดเถาเอ็นอ่อนมีกลุ่มสารพฤกษเคมี 5 กลุ่มได้แก่ Terpenoid, Flavonols, Saponin, Tannin และ Alkaloid ความเข้มข้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่ทำให้เกิด inhibition zone และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด มีค่ามากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. เมื่อนำเจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อนทั้ง 4 ตำรับซึ่งใช้ carbopol 940 เป็นสารก่อเจล ใช้ glycerin หรือ propylene glycol เป็นสารให้ความชุ่มชื้น มาศึกษาความคงตัวโดยเก็บในที่ร้อนสลับเย็น 5 รอบ พบว่าเจลทั้ง 4 ตำรับมีค่า pH ใกล้เคียงกับผิวหนังโดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี

คำสำคัญ : สารสกัดเถาเอ็นอ่อน แบคทีเรีย เจล

Title **Development of antibacterial gel from *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult**

Author **Ornwaree Zlitjamloonsak**

Program **Thai Traditional Pharmacy**

Major Advisor **Assistant Professor Dr. Pilanthana Lertsatitthanakorn**

Co- advisor **Assistant Professor Dr. Thien Thiraworawong**

Academic Year **2563**

ABSTRACT

This research aimed to study 1) anti - skin pathogenic bacteria activity of *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. extract and 2) development antibacterial gel containing this extract. *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. stem was collected from Sribunruang District, Nong Bua Lam Phu Province and detected the botanical name by comparing with herbarium namely MSU.PH-ASC-CB0 1 of Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University. *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. stem was extracted by maceration with 50 % ethanol. The phytochemical compound groups in crude extract was determined by precipitation and color forming reaction. The antibacterial activity of crude extract was performed against *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, MRSA DMST 20646 and *Streptococus pyogenase* by disk diffusion and broth microdilution methods. Four formulations of the gel containing crude extract was prepared and studied physical stability.

The finding revealed as follows:

1. The results revealed that *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. Extract possessed 5 phytochemical compound groups namely Terpenoid, Flavonols, Saponin and Alkaloid. The extract concentration which showed inhibition zones and MIC values against the tested bacterial were more than 250 mg/ml.

2. Four formulations of the gel containing *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. extract possessed carbopol 940 as gelling agent and either glycerin or propylene glycol as humectant. All of the gel possessed a similar pH as skin and did not change in color after 5 freeze-thaw cycling.

Keywords: *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult., skin pathogen, bacteria, gel

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาที่เป็นสถานที่ศึกษาและสาขาวิชาเภสัชกรรมไทย มีห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ที่มีเครื่องมือ ให้นักศึกษาใช้ในภาคปฏิบัติ

ขอกราบขอบพระคุณมหาวิทยาลัยมหาสารคาม คณะเภสัชศาสตร์ อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์นำเถาเอ็นอ่อนไปตรวจสอบกับตัวอย่างพรรณไม้

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของ คณะอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เธียร ธีระวรวงศ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้ความกรุณาในการให้คำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของงานวิจัยและให้กำลังใจเสมอมา

คุณค่าและความสำเร็จของงานวิจัยฉบับนี้ขอมอบให้ครูบาอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาการ ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจนำไปศึกษาและพัฒนาต่อยอดต่อไป

อรวีร์ สลิตจำรูญศักดิ์

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญ		ง
สารบัญตาราง		ฉ
สารบัญภาพ		ซ
บทที่ 1	**บทนำ**	1
	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
	สมมุติฐานการวิจัย	3
	ขอบเขตการวิจัย	3
	ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	3
	นิยามศัพท์เฉพาะ	3
	กรอบแนวคิดในการวิจัย	5
บทที่ 2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	6
	ระบบผิวหนัง	6
	โรคผิวหนัง	8
	เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง	9
	ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อน	24
	สารก่อเจล	28
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	29
บทที่ 3	**วิธีดำเนินการวิจัย**	35
	เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	35
	วิธีดำเนินการวิจัย	38
	สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล	43

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 4	**ผลการวิจัย**	44
	ผลตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อนตามหลักพฤกษศาสตร์	44
	ผลการสกัดของเถาเอ็นอ่อน	45
	ผลวิเคราะห์กลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดเถาเอ็นอ่อน	46
	ผลทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี Disk diffusion และวิธี broth microdilution	47
	ผลการตั้งตำรับและความคงตัวทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน	49
บทที่ 5	**สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ**	51
	สรุปผลการวิจัย	51
	อภิปรายผล	53
	ข้อเสนอแนะ	55
	ข้อเสนอแนะครั้งต่อไป	55
บรรณานุกรม		56
ภาคผนวก		59
	ภาคผนวก ก ตัวอย่างภาพการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disc diffusion และ Broth microdilution	60
	ภาคผนวก ข ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อน	62
	ภาคผนวก ค เอกสารการตอบรับบทความวิจัย	64
ประวัติผู้วิจัย		66

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิดของสารประกอบทางเคมีในเถาเอ็นอ่อน	26
2	สูตรตำรับเจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อน	42
3	ผลการสกัดสารสกัดเถาเอ็นอ่อน	45
4	ผลวิเคราะห์กลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดเถาเอ็นอ่อน	46
5	ผลความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลผิวหนัง 4 ชนิดต่อสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี Disk diffusion	48
6	ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนต่อเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดซึ่งเป็นสาเหตุของแผลผิวหนัง โดยวิธี Broth dilution method	49
7	สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน	50
8	ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน	50

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กรอบแนวคิดในการทำวิจัย	5
2	โครงสร้างผิวหนัง	7
3	แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อน	24
4	ชนิดของสารประกอบทางเคมีในเถาเอ็นอ่อน	27
5	ขั้นตอนการเตรียมสมุนไพรแห้ง	45
6	ขั้นตอนการสกัดสาร	45
7	Inhibition zone ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*	61
8	การหาค่า MIC ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ด้วยวิธี Broth microdilution	61
9	เจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อนทั้ง 4 ตำรับ	63

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เนื่องด้วยสภาพแวดล้อมในปัจจุบันนี้ การดำเนินชีวิตคนเมืองเต็มไปด้วยการทำงานแข่งกับเวลา จนละเลยการดูแลสุขภาพของตัวเอง ข้อจำกัดที่ได้กล่าวมาแล้วนั้น เป็นตัวกำหนดในการดำเนินชีวิตและด้วย ในสภาพแวดล้อมที่เต็มไปด้วยเชื้อโรคหลากหลายทีมาสัมผัสผิวหนังของเราทำให้เกิด โรคผิวหนังมากมาย

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดปกคลุมชั้นนอกสุดของร่างกาย และแบ่งเป็น 3 ชั้นตามโครงสร้างด้วยกัน ชั้นที่1.ผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นบนสุด คลุมอยู่บนหนังแท้ มีความหนาตั้งแต่ 0.05 ถึง 5 มิลลิเมตร บริเวณที่บางสุดคือรอบดวงตา บริเวณที่หนาสุดคือฝ่ามือฝ่าเท้า ชั้นที่ 2 ผิวหนังชั้นหนังแท้ (Dermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นล่างถัดจากชั้นหนังกำพร้า มี 2 ชั้นย่อย ผิวหนังชั้นนี้ประกอบด้วยเนื้อเยื่อคอลลาเจน (Collagen) อีลาสติน (Elastin) และตัวประสานเนื้อเยื่อไฮยารูรอน (Hyaluronic acid ชั้นที่ 3. ผิวหนังชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutis) อยู่ในสุดของชั้นผิวหนัง ประกอบด้วยไขมัน คอลลาเจน หลอดเลือดที่มาหล่อเลี้ยง ความหนาของชั้นใต้ผิวหนังจะแตกต่างกันไปตามอวัยวะและเพศ (วิศิษฏ์ ตั้งนภากร และคณะ, 2559)

เชื้อแบคทีเรียก็เป็นหนึ่งในเชื้อโรคที่ทำให้เกิดโรคผิวหนังการก่อโรคทางผิวหนังส่วนใหญ่คือเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* เชื้อแบคทีเรียมีหลายสายพันธุ์และเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* เป็นกลุ่มสำคัญที่ทำการก่อโรคเกิดจากการบุกรุกและทำลายชั้นเนื้อเยื่อโดยตรง และจากการสร้างสารคัดหลั่งหลายชนิดเช่นเอนไซม์และสารพิษต่าง ๆ ที่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ มีปัจจัย 3 กลุ่ม คือ โครงสร้างเซลล์, เอนไซม์ และสารพิษ (อิสยา จัทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552) และกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มของ MRSA เป็นเชื้อที่ดื้อต่อยากลุ่ม Penicillin และยากลุ่ม B-lactams (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้นำเถาเอ็นอ่อนในอำเภอศรีบุญเรืองจังหวัดหนองบัวลำภู มาทำการวิจัย สมุนไพรเถาเอ็นอ่อนหรือ *Cryptolepis dubia* (Murm.f.) M.R. Almeida เป็นพืชจำพวกไม้เถาเลื้อย มีสารออกฤทธิ์หลักทางชีวภาพ ทางเคมีที่สำคัญ 2 กลุ่ม ได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloids) และสารกลุ่มคาร์ดีโนไลด์ (cardenolides)

ซึ่งมีสรรพคุณทางการแพทย์แผนไทยมาเป็นเวลานานตั้งแต่ครั้งโบราณ ราก เถา และใบ มีรสขมเบื่อเอียน เป็นยาเย็น มีพิษ ออกฤทธิ์ต่อหัวใจและตับใช้เป็นยาฟอกเลือด เถามาต้มน้ำกินจะช่วยทำให้จิตใจชุ่มชื่น เมล็ดมีรสขม เป็นยาขับลมในลำไส้และในกระเพาะอาหารทำให้ผายและเรอ ช่วยแก้อาการจุกเสียดแน่นท้อง เถาใช้แก้อาการฟกช้ำดำเขียว โดยใช้เถาที่บดเป็นผง 0.35 กรัม ผสมกับเหล้ารับประทาน หรือใช้ยาแห้งประมาณ 5-6 กรัมนำมาดองกับเหล้าครั้งละ 5 ซีซี วันหละ 3 ครั้ง ในตำรับนี้ยังใช้เป็นยาแก้อาการปวดเมื่อยตามร่างกายได้ด้วย ใบและเถาเป็นยาบำรุงเส้นเอ็น แก้อาการปวดเมื่อย โดยใบมีรสเบื่อเอียน ใช้ทำเป็นลูกประคบแก้เมื่อยขบ แก้ปวดเสียวเส้นเอ็น ช่วยคลายเส้นเอ็น ทำให้เส้นเอ็นที่ตึงหย่อน ส่วนเถามีรสขมเบื่อมัน ใช้ต้มกับน้ำดื่มเป็นยาบำรุงเส้นเอ็นให้แข็งแรง แก้เส้นเอ็นพิการ เส้นแข็ง แก้อาการปวดเมื่อยเส้นเอ็น แก้อาการปวดบวม ปวดเมื่อยตามร่างกาย ปวดหลัง แก้ขัดยอก (วิทยา บุญวรพัฒน์ 2557) (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ 2557)

ผู้วิจัยได้นำเถาเอ็นอ่อนมาศึกษาทดสอบหา สารสำคัญ 7 กลุ่ม คือ กลุ่ม Anthraquinones, Terpenoid, Flavonols, Saponin, Tannins, Alkaloids และในกลุ่ม Cardiac glycosides และนำมาศึกษาฤทธิ์ที่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disk diffusion เพื่อนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบ ของเจลทาภายนอก ในการศึกษาข้อมูลผู้บริโภค ในการพัฒนาตำรับใช้ทาภายนอกในรูปของครีมทาผิว โลชั่นทาผิว เจลทาผิวและอิมัลเจลทาผิว มีการประเมินคุณภาพของตำรับที่พัฒนาในส่วนของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณภาพการใช้ ทดสอบความคงตัวสภาพของตำรับในระยะสั้นและระยะยาวรวมทั้งทำการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายและอาสาสมัคร ผลการศึกษาพบว่าตำรับครีมทาผิวที่ความเข้มข้น 20% โดยน้ำหนัก และตำรับเจลทาผิวที่ความเข้มข้นที่ 5% โดยน้ำหนัก มีระดับการประเมิลคุณภาพของตำรับที่ดีที่สุด (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2547) จากผลิตภัณฑ์ในตลาด โดยผลิตภัณฑ์ทาสิว ประเภทเจล-ครีม ค่าสี L*a* และ b* เป็น 39.9,31.2,และ5.7 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.7 ความหนืด 8,483.3 เซนติพอยท์ เมื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีอายุ 15-25 ปี จำนวน 109 คนด้วยวิธี Central location test ปรากฏว่าผู้บริโภคยอมรับผลิตภัณฑ์ ที่ 58.9% (ณิชากร เจริญกุล และคณะ, 2547)

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้นำเถาเอ็นอ่อนมาหาสาระสำคัญ ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และนำไปพัฒนาเป็นตำรับเจลต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณภาพและเป็นที่ต้องการของตลาดผู้วิจัยจึงมีความสนใจใน ผลิตภัณฑ์เจลทาภายนอกที่สามารต้านเชื้อแบคทีเรียได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

สมมุติฐานงานวิจัย

1. สารสกัดเถาเอ็นอ่อนสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้
2. สารสกัดเถาเอ็นอ่อนสามารถพัฒนาตำรับเจลทาภายนอกได้

ขอบเขตของการวิจัย

เถาเอ็นอ่อนหรือ *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. เป็นพืชสมุนไพรในวงค์ Apocynaceae ย่อยเถาเอ็นอ่อนเป็นชิ้นเล็ก ๆผึ่งลมจนแห้งแล้วนำเข้าเครื่องอบในอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส นำมาหมักด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 นำสารสกัดที่ได้ไปศึกษาหาสารสำคัญและพัฒนาเป็นตำรับเจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อน ศึกษาในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่พบบริเวณของผิวหนังพัฒนาเป็นตำรับเจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อนทดสอบความคงตัวทางกายภาพทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์

ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัยนี้

1. สารสกัดของเถาเอ็นอ่อนที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้
2. พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลทาผิวภายนอกสารสกัดเถาเอ็นอ่อนต้านเชื้อแบคทีเรียได้

นิยามศัพท์เฉพาะ

MIC หมายถึง minimum inhibitory concentration คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียที่มองเห็นได้

MBC หมายถึง minimum bactericidal concentration คือ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ทำให้แบคทีเรียรอดชีวิตน้อยกว่าร้อยละ 0.1 ของจำนวดแบคทีเรียเริ่มต้น

Disk diffusion method หมายถึง การที่ให้สารจุลชีพปริมาณแน่นอนแพร่ออกจากแผ่นกระดาษกรอง (Filter paper Disc) รูปกลมออกไปทุกทิศทางเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพที่เพาะเลี้ยงบนผิวอาหารแข็งหลังจากการบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมจะนำจานเพาะเชื้อ

ออกมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยวัดจากขอบวงที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพผ่านแผ่นกระดาษกรองไปยังวงของอีกด้านหนึ่ง ใช้หน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร

Broth microdilution method หมายถึง การทดสอบยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองโดยใช้สารที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นต่างกันผสมกับเชื้อแบคทีเรีย เพื่อหาค่า MIC

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* DMST (MRSA) คือ หรือเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สามารถทนหรือดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม methicillin ได้

ผลิตภัณฑ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน หมายถึง เถาเอ็นอ่อนที่นำมาสกัดให้ได้ สารออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

สารสกัดเถาเอ็นอ่อน หมายถึง เถาเอ็นอ่อนใช้เฉพาะส่วนเถาอบแห้งสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ฤทธิ์ทางพฤกษเคมี หมายถึง สาระสำคัญที่มีอยู่ในเถาเอ็นอ่อน

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดเถาเอ็นอ่อน หมายถึง การนำสารสกัดเถาเอ็นอ่อนมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เป็นผลิตภัณฑ์ทาภายนอก

เจล หมายถึง ของผสม ที่มีลักษณะกึ่งแข็งคล้ายวุ้น เป็นระบบ คอลลอยด์ (colloid) ชนิดหนึ่งซึ่งมีน้ำเป็นตัวกลาง

เชื้อแบคทีเรีย หมายถึง สิ่งมีชีวิตประเภทหนึ่งที่มีขนาดเล็ก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ส่วนใหญ่มีเซลล์เดียว และมีโครงสร้างเซลล์ที่ไม่ซับซ้อนมากนักแบ่งได้หลายรูปแบบ

สมุนไพรเถาเอ็นอ่อน หมายถึง *Cryptolepis buchanani* Roem.& Schult อยู่ในวงศ์ Asclepiadaceae

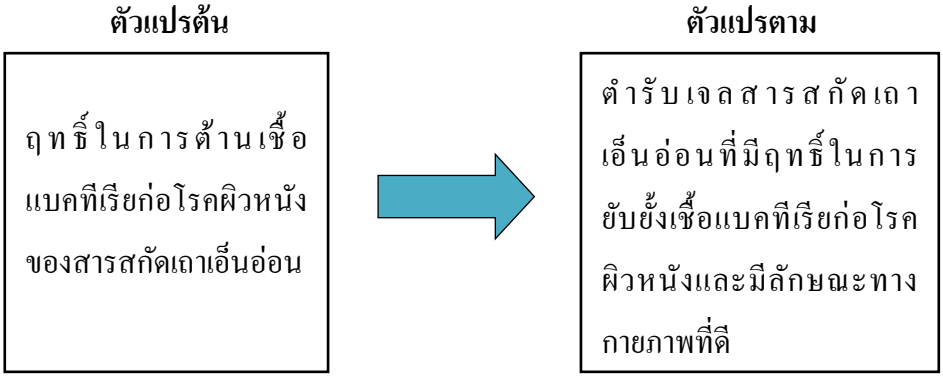
สรรพคุณทางแพทย์แผนไทย หมายถึง สรรพคุณของเถาเอ็นเอ็นที่สามารถ แก้ปวด แก้บวม แก้อักเสบ ฯลฯ

สภาพแวดล้อม หมายถึง การดำเนินชีวิตสภาพความเป็นอยู่การทำงาน มลภาวะเป็นพิษทางด้านต่างๆ

ผิวหนัง หมายถึง อวัยวะที่ใหญ่ที่สุดปกคลุมชั้นนอกสุดของร่างกาย แบ่งออกเป็น 3 ชั้น มีหน้าที่ปกปร่างกาย

โรคผิวหนัง หมายถึง โรคที่พบมักมีอาการ ผื่นแดง เป็นตุ่มนูน เป็นจุด ๆ วง ๆ มีอาการคัน เจ็บแสบ บริเวณที่เป็นจะมีรอยแดง หากอักเสบมากจะมีเลือดไหลร่วมด้วย

กรอบแนวคิดในการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การทำวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสมุนไพรเถาเอ็นอ่อน ประโยชน์ของสมุนไพรเถาเอ็นอ่อน นำมาหาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย เพื่อพัฒนาตำรับเจลและศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยได้นำเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

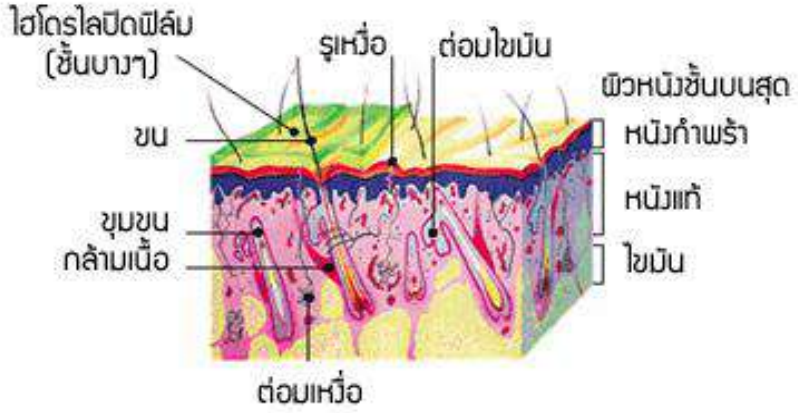
1. ผิวหนัง
2. แบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง
3. เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง
4. สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง
5. เจล
6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ระบบผิวหนัง

ผิวหนังคืออวัยวะที่ใหญ่ที่สุดของร่างกายปกคลุมชั้นนอกสุดที่มีลักษณะอ่อนนิ่มและยืดหยุ่น ซึ่งภายในมีปลายประสาทรับความรู้สึกมากมายรับรู้ถึงการสัมผัส

โครงสร้างของผิวหนัง

ผิวหนังแบ่งตามโครงสร้างออกได้เป็น 3 ชั้นคือ ชั้นหนังกำพร้า ชั้นหนังแท้ และชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง



ภาพที่ 2 โครงสร้างผิวหนัง

ที่มา : (sebamedthai.com, ออนไลน์)

ผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นบนสุด คลุมอยู่บนหนังแท้ มีความหนาตั้งแต่ 0.05 ถึง 5 มิลลิเมตร บริเวณที่บางสุดคือรอบดวงตา บริเวณที่หนาสุดคือฝ่าเท้า หนังกำพร้าประกอบด้วยเซลล์เรียงซ้อนกันเป็นชั้นบาง ๆ อีก 5 ชั้นย่อย โดยเซลล์ชั้นในจะเลื่อนตัวดันเซลล์ชั้นบนหรือชั้นนอกสุด ให้หลุดเป็นขี้ไคลออกไป ผิวหนังชั้นนี้ไม่มีหลอดเลือด เส้นประสาทรวมถึงต่อมต่าง ๆ หากผิวหนังชั้นนี้ได้รับอันตราย เราจะไม่รู้สึกแต่อย่างใด ทั้งนี้หนังกำพร้าจะเป็นทางผ่านของรูเหงื่อ เส้นขนและไขมัน ชั้นนี้จะมีเซลล์เม็ดสี (Melanin) โดยมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันในแต่ละคน

ผิวหนังชั้นหนังแท้ (Dermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นล่างถัดจากชั้นหนังกำพร้า มี 2 ชั้นย่อย ผิวหนังชั้นนี้ประกอบด้วยเนื้อเยื่อคอลลาเจน (Collagen) อีลาสติน (Elastin) และตัวประสานเนื้อเยื่อไฮยารูรอน (Hyaluronic acid) ทำให้ผิวหนังมีความแข็งแรง และมีความยืดหยุ่นโดยมีหลอดเลือดฝอย ปลายประสาทรับความรู้สึก ระบบประสาทอัตโนมัติควบคุมการทำงานของต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และรากขน/ผม กระจายอยู่ทั่วไปในชั้นหนังแท้

ผิวหนังชั้นของไขมัน (Subcutis) อยู่ในสุดของชั้นผิวหนัง ประกอบด้วยไขมัน คอลลาเจน หลอดเลือดที่มาหล่อเลี้ยง ความหนาของชั้นใต้ผิวหนังจะแตกต่างกันไปตามอวัยวะ และเพศ ผิวหนังชั้นนี้ช่วยในการรับแรงกระแทก เป็นฉนวนกันอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง และยึดเหนี่ยวระบบผิวหนังไว้กับร่างกาย

หน้าที่ของผิวหนัง

ผิวหนังทำหน้าที่ปกป้องอวัยวะส่วนอื่นของร่างกาย ช่วยรักษาอุณหภูมิของร่างกายให้อยู่ในภาวะปกติ ส่งเสริมการทำงานของระบบไหลเวียนเลือด ช่วยนำเลือดไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และส่งเสริมการทำงานของระบบน้ำเหลืองในการขับของเสียออกจากร่างกายผ่านรูขุมขนหน้าที่ของผิวหนังแบ่งออกได้ดังนี้

1. Sensation	รับความรู้สึก
2. Heat Regulatio	ควบคุมอุณหภูมิ
3. Absorption	ซึมซับสารอาหาร วิตามิน
4. Protection	ปกคลุมร่างกาย แสงแดด และสิ่งแปลกปลอม
5. Elimination	ขับถ่ายของเสีย
6. Secretion	สร้างต่อมน้ำมัน
7. Vitamin	สร้างวิตามิน D

(วิศิษฎ์ ตั้งนภากร และคณะ, 2559)

โรคผิวหนัง (Skin Disease)

โรคผิวหนัง หมายถึงโรคที่ทำให้ลักษณะของผิวหนังมีผื่นคัน เป็นตุ่ม วงด่างขาว เป็นก้อนเล็ก ๆ ขึ้นตามผิวหนังบนร่างกาย มีอาการคัน ปวด แสบร่วมด้วย มีสาเหตุการเกิดโรคหลายประการอาทิ เช่น การติดเชื้อ แพ้การใช้ยา ปรสิต แม้แต่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย หรือ ไวรัส หรือเชื้อรา รวมทั้งสภาวะแวดล้อมในปัจจุบัน ลักษณะโรคผิวหนังนี้มักเป็นกลุ่มอาการโรคที่รุนแรง จะเกิดขึ้นในบริเวณหนังกำพร้า ส่วนใหญ่ เกิดจากเชื้อแบคที่เรีย สายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* และชั้นผิวหนังแท้จากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Staphylococcus epidemies*

อาการของโรคผิวหนัง

อาการของโรคผิวหนังจะมีอาการรุนแรงมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับสาเหตุและปัจจัยทำให้เกิดโรค ทั่วไป มักพบจะมีอาการเป็นผื่นแดง เป็นตุ่มนูน หรือเป็นจุด ๆ เป็นวง ๆ เป็นตุ่มนูน พองแผล กรณีโรคผิวหนังที่เกิดในชั้นผิวหนังแท้ จะเป็นแผลตุ่มนูน มีอาการ คัน เจ็บแสบ บริเวณที่เป็นนั้นจะมีรอยแดง หากอักเสบมากจะมีเลือดไหลออกร่วมด้วย

เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง

เชื้อแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตประเภทหนึ่งที่มีขนาดเล็ก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ส่วนใหญ่มีเซลล์เดียว และมีโครงสร้างเซลล์ที่ไม่ซับซ้อนมากนักแบ่งได้หลายกลุ่ม ดังนี้

1. **แบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus***

เชื้อสกุล *Staphylococcus* เป็นเชื้อที่พบอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปและพบอาศัยอยู่ตามผิวหนัง ต่อมใต้ผิวหนัง และเยื่อเมือกบุผิวในคน การก่อโรคของเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* มักพบได้หากมีบาดแผลบริเวณผิวหนังหรือเยื่อเมือกบุผิว ทำให้เชื้อสามารถเข้าสู่ร่างกายและก่อให้เกิดโรคได้ สปีชีส์ที่พบก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในคนได้บ่อยชนิดหนึ่ง คือ *Staphylococcus aureus* (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

เชื้อสกุล *Staphylococcus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (Gram-positive cocci) จัดอยู่ในวงศ์ Staphylococcaceae ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมครอน มีการเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (grape-like cluster) ชื่อเชื้อมาจากภาษากรีกคือ “staphylé” แปลว่าพวงองุ่น (a bunch of grapes) จำนวนเซลล์ในแต่ละกลุ่มไม่แน่นอน จัดอยู่ในพวก facultative anaerobe หรือแบคทีเรียที่เจริญได้โดยมีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจนก็ได้ เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดยเจริญได้ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-เบส (Potential of Hydrogen Ion, pH) อยู่ระหว่าง 4.8-9.4 สามารถเจริญในที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 10% และเจริญได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันตั้งแต่ 18-40 องศาเซลเซียสเชื้อสามารถทนความแห้งและทนความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสได้นาน 30 นาที เชื้อสร้างเอนไซม์ catalase ได้ซึ่งใช้เป็นคุณสมบัติในการจำแนกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ออกจาก *Staphylococcus* สปีชีส์อื่น เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมง เชื้อ *Staphylococcus aureus* จะให้โคโลนีสีขาว-เหลือง ขอบเรียบ มันวาว มีลักษณะคล้ายเนย (butyrous) (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

การก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus*

การก่อโรคของเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ที่สำคัญเกิดจากการบุกรุกและทำลายชั้นเนื้อเยื่อโดยตรง และจากการสร้างสารคัดหลั่งหลายชนิดเช่นเอนไซม์และสารพิษต่าง ๆที่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ มีปัจจัย 3 กลุ่ม คือ โครงสร้างเซลล์, เอนไซม์ และสารพิษ

1. โครงสร้างเซลล์ ส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรียโดยเฉพาะโปรตีนที่ผนังเซลล์ (cell wall protein) ได้แก่ โปรตีน A จะไปเกาะติดกับส่วน crystallizable fragment (Fc) ของอิมมูโนโกลบูลินชนิด IgG (Immunoglobulin; IgG) ซึ่งเป็นส่วนที่ปกติแอนติบอดีใช้ในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดการยับยั้งการกลืนเข้ากินแบคทีเรียของเม็ดเลือด

ขาว นอกจากนี้สารโปรตีนหลายชนิดในบริเวณผิวเซลล์มีส่วนในการช่วยให้เชื้อสามารถเกาะติดกับส่วนประกอบต่าง ๆของเนื้อเยื่อ เช่น เส้นใย Collagen, Fibronectin และ Elastin

2. เอนไซม์ เชื้อ *Staphylococcus aureus* จัดเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงกว่าสปีชีส์อื่น ๆ ในกลุ่ม ส่วนหนึ่งเกิดจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์หลายชนิดที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการก่อโรค ได้แก่

2.1 Coagulase แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือส่วนที่อยู่บนผนังเซลล์หรือ Bound Coagulase (Clumping Factor) และส่วนที่ถูกปล่อยออกมาสู่ภายนอกหรือ Free Coagulase เอนไซม์ coagulase กระตุ้นให้เปลี่ยนเส้นใย Fibrinogen เป็น fibrin ซึ่งสามารถเกาะกับผิวเซลล์แบคทีเรียและทำให้เชื้อเกิดการรวมตัวเป็นกลุ่ม มีปลอกช่วยปกป้องเชื้อจากขบวนการ phagocytosis และการถูกทำลายโดนแอนติบอดี การสะสมของเส้นใย fibrin ยังมีส่วนทำให้เกิดผนังล้อมรอบบริเวณที่ติดเชื้อเกิดเป็นฝีหนอง (Abscess) Bound Coagulase สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง Fibrin โดยตรง ในขณะที่ free coagulase ออกฤทธิ์โดยทำปฏิกิริยากับ Globulin Plasma Factor (Coagulase-reacting Factor) เกิดเป็นสาร Staphylothrombin ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นการเปลี่ยนแปลง fibrinogen เป็น fibrin ต่อไป

2.2 Catalase หลังจากเซลล์เม็ดเลือดขาวจับกินเชื้อแบคทีเรียโดยขบวนการ Phagocytosis จะเกิดการสร้างสาร Hydrogen Peroxide และอนุมูลอิสระที่เป็นพิษเพื่อทำลายเชื้อแปลกปลอม เอนไซม์ Catalase มีฤทธิ์ในการสลาย Hydrogen Peroxideให้กลายเป็นน้ำและออกซิเจนเพื่อปกป้องเซลล์แบคทีเรียจากการถูกทำลายในเซลล์เม็ดเลือดขาว

2.3 Hyaluronidase (Spreading Factor) ออกฤทธิ์สลายกรด Hyaluronic ที่พบเป็นส่วนประกอบของ Connective tissue ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจาย ก่อให้เกิดการติดเชื้อลุกลามในชั้นเนื้อเยื่อได้

2.4 Staphylokinase (Fibrionolysin) ออกฤทธิ์เปลี่ยน Plasminogen เป็น Plasmin ทำให้เกิดการของสลายก้อนลิ่มของเส้นใย fibrin ในบริเวณที่ติดเชื้อ จึงมีส่วนช่วยในการกระจายลุกลามของเชื้อในชั้นเนื้อเยื่อ

2.5 Lipase มีฤทธิ์สลายสารไขมัน จึงมีบทบาทสำคัญในการติดเชื้อในชั้นผิวหนังและใต้ผิวหนัง ซึ่งประกอบด้วยต่อมไขมันและเนื้อเยื่อไขมัน

2.6 β-lactamase เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* มีการพัฒนาการดื้อยา penicillin ขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังจากเริ่มมีการใช้ยาทางคลินิก ซึ่งเป็นผลจากการสร้างเอนไซม์ β-lactamase โดยยีนส์บนพลาสมิดและทำให้เชื้อดื้อต่อยาต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม β-lactams อื่นอีกหลายชนิด ปัจจุบันสายพันธุ์ของเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ β-lactamase ได้

3. สารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์หรือเอกโซทอกซิน (exotoxin)

3.1 Staphylococcal Enterotoxin เป็นสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ชนิดทนความร้อน (Heat-stable Exotoxin) แบ่งเป็น 5 ชนิด คือ A, B, C (C_1, C_2, C_3), D และ E ชนิดที่พบว่าก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Food Poisoning) บ่อยที่สุดคือชนิด A และ E สารพิษนี้สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และยังทนต่อสภาวะความเป็นกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารอีกด้วย ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษนี้จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง ภายหลังจากการได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายเป็นเวลา 1 – 6 ชั่วโมง

3.2 Toxic Shock Syndrome Toxin 1 (TSST-1) เดิมชื่อ Staphylococcal enterotoxin F หรือ pyrogenic exotoxin C พบการสร้างสารพิษชนิดนี้ในเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่อาศัยอยู่บริเวณช่องคลอด สารพิษนี้จัดเป็น superantigen มีความสามารถกระตุ้นระบบต่าง ๆของร่างกาย ทำให้ผู้ป่วยมีอาการไข้สูง มีผื่น เจ็บคอ อุจจาระร่วงชนิดเป็นน้ำ (watery diarrhea) มีภาวะขาดน้ำ (dehydration) คลื่นไส้ อาเจียน ในบางรายมีอาการรุนแรง อาจเกิดอาการช็อก ตับไตวายและเสียชีวิตในที่สุด

3.3 Exfoliative Toxin หรือ Exfoliatin หรือ Epidermolysin เป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ในการทำลายผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (Epidermal layer) ทำให้ชั้นหนังกำพร้าหลุดลอกออกไป ก่อให้เกิดกลุ่มอาการผิวหนังหลุดลอก (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome; SSSS) หรือโรคริตเทอร์ (Ritter's disease)

3.4 Cytolytic toxin เป็นกลุ่มของสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อทำลายเซลล์ของร่างกาย ได้แก่ Hemolysin หรือ Staphylolysin ชนิดแอลฟา, บีตา, และเดลตา ฮีโมไลซิน มีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดแดง ส่วน staphylococcal หรือ Penton-Valentine Leukocidinมีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวและป้องกันการกลืนกินของเม็ดเลือดขาว (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ลักษณะสำคัญของโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* คือเกิดการอักเสบเป็นหนองในตำแหน่งที่ติดเชื้อที่เรียกว่า suppurative (หรือ pyogenic) infection หรือมักทำให้เกิดฝีหนอง (abscess) โดยเฉพาะในบริเวณผิวหนังและชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง เอนไซม์ coagulase กระตุ้นการจับกลุ่มของเส้นใย fibrin ทำให้เกิดการสร้างผนังขึ้น ล้อมรอบรอยโรคเกิดเป็นก้อนฝี ซึ่งภายในประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่เน่าตายรวมตัวกันเป็นหนอง อย่างไรก็ตาม เชื้อจากรอยโรคอาจแพร่กระจายเข้าสู่เลือดไปยังส่วนต่าง ๆของร่างกาย ทำให้สามารถก่อโรคติดเชื้อตามระบบได้ โรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สำคัญได้แก่

1. โรคติดเชื้อของชั้นผิวหนัง ได้แก่

1.1 Impetigo พบได้บ่อยในเด็กเล็ก ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* อาการเริ่มจากมีผื่นเป็นจุดแดง (macule) ซึ่งต่อมาจะกลายเป็นตุ่มหนอง (pustule) และแตกออกเป็นสะเก็ดแห้งกรัง เชื้อสามารถกระจายสู่บริเวณข้างเคียงได้รวดเร็ว ทำให้เห็นผื่นแดงและตุ่มหนองปนกันอยู่ทั่วไป

1.2 Folliculitis เป็นการอักเสบเป็นหนองภายในรูขุมขน ทำให้เป็นตุ่มหนองบวมแดงขนาดเล็ก

1.3 Furuncle (boil) เป็นการอักเสบรุนแรงของรูขุมขน เกิดเป็นฝีหนองขนาดใหญ่และมีเนื้อเยื่อเน่าตาย มีอาการเจ็บปวด

1.4 Carbuncle เป็นฝีหนองขนาดใหญ่ที่เกิดจากการรวมตัวกันของฝี Furuncle ในตำแหน่งข้างเคียงและมีการขยายขนาดลุกลามเนื้อเยื่อชั้นลึก เชื้อสามารถกระจายเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้ผู้ป่วยมีไข้สูง หนาวสั่น และเกิดการติดเชื้อตามระบบร่วมด้วยได้

1.5 Wound Infection ผู้ป่วยที่มีบาดแผลจากอุบัติเหตุหรือแผลผ่าตัด ทำให้เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่อาศัยบนผิวหนังหรือบนวัตถุแปลกปลอมที่ทะลุผ่านชั้นผิวหนัง สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อของบาดแผล ทำให้แผลบวม แดง เจ็บ และมีหนองปน

1.6 Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS) อาจเรียกว่า Ritter's Disease ตามชื่อแพทย์ผู้อธิบายโรคนี้เป็นครั้งแรกคือ Gottfried Ritter von Rittershain ในปีค.ศ.1878 ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นทารกและเด็กเล็ก เกิดจากการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่สร้าง exfoliative toxin อาการเริ่มจากการบวมแดงของผิวหนังอย่างเฉียบพลันและกระจายไปทั่วตัวอย่างรวดเร็วใน 1-2 วัน ต่อมาจะกลายเป็นตุ่มน้ำขนาดใหญ่ ภายในมีสารน้ำใสที่มักตรวจไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวหรือ เชื้อก่อโรคเนื่องจากการเกิดโรคเป็นผลจากสารพิษ จากนั้นจึงเกิดการหลุดลอกออกของผิวหนังชั้น epithelium อาการหายไปได้เองและมีการสร้างผิวหนังใหม่ขึ้นแทนใน 1 - 2 สัปดาห์ หลังจากที่ร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีต่อสารพิษ อัตราการเสียชีวิตต่ำ ยกเว้นแต่มีภาวะแทรกซ้อนจากการติดเชื้อซ้ำในระหว่างที่ร่างกายไม่มีผิวหนังชั้น epithelium ปกคลุม การลอกของผิวหนังดังกล่าวไม่ทำให้เกิดแผลเป็น

1.7 Bullous Impetigo มักพบในทารกและเด็กเล็ก ผู้ป่วยมีตุ่มน้ำขนาดใหญ่คล้ายโรค SSSS แต่เกิดขึ้นเฉพาะที่ไม่กระจายไปทั่วร่างกาย ทั้งนี้เป็นผลจากการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่มีการสร้างสารพิษจำเพาะซึ่งทำให้เกิดอาการเฉพาะที่เท่านั้นเช่นสายพันธุ์ phage type 71 สารน้ำภายในตุ่มน้ำมีเชื้อแบคทีเรียอยู่ ทำให้เป็นแหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญ

2. โรคติดเชื้อในระบบไหลเวียน ภาวะติดเชื้อในเลือด (Bacteremia) จากเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบได้บ่อย ส่วนใหญ่เกิดจากการลุกลามของเชื้อในบริเวณผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือด นอกจากนี้ยังพบเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาลได้จากการติดเชื้อของบาดแผลผ่าตัด หรือการใส่สายให้สารน้ำทางเส้นเลือด เชื้อที่อยู่ในเลือดอาจทำให้เกิดการติดเชื้อของอวัยวะอื่น โดยเฉพาะโรคลิ้นหัวใจอักเสบเฉียบพลัน (acute infective endocarditis) ซึ่งถือเป็นภาวะที่อันตรายและมีอัตราการเสียชีวิตสูง เชื้อ *Staphylococcus aureus* ถือเป็นสาเหตุก่อโรคดังกล่าวที่พบได้บ่อยที่สุด โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีประวัติฉีดยาเสพติดเข้าทางเส้นเลือดถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ ในบางราย เชื้อที่เจริญเป็นกลุ่มก้อนบนลิ้นหัวใจที่เรียกว่า vegetation อาจหลุดเข้าสู่กระแสเลือดไปอุดตันเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงอวัยวะอื่น ๆ ทำให้เนื้อเยื่อตายจากการขาดเลือดและการทำงานของอวัยวะนั้นล้มเหลวอย่างรวดเร็วได้ เรียกภาวะดังกล่าวว่า Embolism

3. โรคติดเชื้อของระบบหายใจ โรคติดเชื้อในทางเดินหายใจที่สำคัญได้แก่ โรคปอดบวม (pneumonia) โดยได้รับเชื้อได้จาก 2 ทางคือทางเลือด (hematogenous pneumonia) และทางการสำลักสารคัดหลั่งในช่องปาก (aspisaton pneumonia) เชื้อที่ผ่านมาทางกระแสเลือด เกิดจากมีการติดเชื้อในตำแหน่งอื่น ๆเช่นบาดแผลหรือลิ้นหัวใจ การสำลักเชื้อลงสู่ปอด มักพบได้ในเด็กเล็ก ผู้สูงอายุ ผู้ที่มีการติดเชื้อไวรัสในทางเดินหายใจ เช่น chronic obstructive pulmonary disease (COPD) ในบางรายอาจทำให้เกิดฝีหนองขึ้นในปอด (lung abscess) ผู้ป่วยบางส่วนอาจเกิดการติดเชื้อชนิดเป็นหนองภายในช่องเยื่อหุ้มปอด (empyema) ร่วมด้วย

4. โรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหาร ที่พบได้บ่อยได้แก่โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลจากการได้รับสารพิษ enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้นในอาหารมากกว่าการได้รับเชื้อเข้าสู่ทางเดินอาหารโดยตรง (intoxication) เชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารมักมาจากผู้ปรุงอาหารที่มีการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* บริเวณผิวหนัง หรือเป็นพาหะนำเชื้อที่ไม่แสดงอาการ การปรุงอาหารด้วยความร้อนสามารถฆ่าเชื้อได้ แต่ไม่สามารถทำลายฤทธิ์ของสารพิษ เนื่องจากเป็นการได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย ผู้ป่วยจึงเกิดอาการได้อย่างรวดเร็ว อาการมักเริ่มภายใน 2-8 ชั่วโมงภายหลังกินอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษ ส่วนใหญ่มีอาการอาเจียนรุนแรง ถ่ายเหลวและปวดท้องโดยไม่มีไข้ อาการหายได้เองภายใน 24 ชั่วโมงการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหารนั้นไม่มีความจำเป็นเนื่องจากส่วนใหญ่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อภูมิคุ้มกันต่อสารพิษเกิดขึ้นเพียงระยะสั้น ทำให้ผู้ป่วยสามารถเกิดโรคซ้ำได้การให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลานานในผู้ป่วยบางรายอาจทำให้เกิดการติดเชื้อในลำไส้ (enterocolitis) เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ลดลงอย่างมาก จนทำให้เกิดการติดเชื้ออื่น ๆได้ง่าย เชื้อ *Staphylococcus aureus* พบเป็นสาเหตุได้

ไม่บ่อยเมื่อเทียบกับเชื้อ *Clodtridium difficle* ที่พบเป็นสาเหตุสำคัญสำหรับการติดเชื้อของลำไส้ในภาวะดังกล่าว

5. โรคติดเชื้อของกระดูกและข้อ การติดเชื้อของกระดูกและกล้ามเนื้อ (osteomyelitis) ส่วนใหญ่ได้รับเชื้อผ่านทางกระแสเลือด ในบางรายอาจได้รับเชื้อโดยตรงจากบาดแผลที่ลุกลามจากชั้นผิวหนัง ในเด็กมักเกิดการติดเชื้อในตำแหน่ง metaphysis ของกระดูกท่อนยาว (long bone) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เลือดมาเลี้ยงจำนวนมาก ในผู้ใหญ่ส่วนใหญ่พบการติดเชื้อของกระดูกสันหลัง การติดเชื้อในบริเวณ metaphysis ของกระดูกท่อนยาวในผู้ใหญ่มักทำให้เกิดเป็นฝีหนองที่เรียกว่า Brodie's abscess ทำให้เกิดไข้สูงร่วมกับอาการเจ็บปวดเฉียบพลันในตำแหน่งที่ติดเชื้อ การรักษาอาจอาศัยการผ่าตัดร่วมกับการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นสาเหตุที่พบบ่อยสำหรับโรคข้ออักเสบติดเชื้อ (septic arthritis) ในเด็กและในผู้ใหญ่ส่วนใหญ่พบเป็นภาวะแทรกซ้อน จากการฉีดสารเข้าข้อ หรือในผู้ที่มีความพิการของข้ออยู่เดิม อาการสำคัญคือข้อบวมแดงและปวด ภายในข้อจะเกิดการอักเสบเป็นหนอง เชื้ออาจพลัดเข้าสู่กระแสเลือดและกระจายไปสู่ข้ออื่น ๆได้

6. ระบบสืบพันธุ์กลุ่มอาการ Toxic shock syndrome (TSS) เกิดจากการติดเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารพิษ toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษนี้แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือน (menstruating TSS) และกลุ่มไม่สัมพันธ์กับ การมีประจำเดือน (non-menstruating TSS) ในกลุ่มที่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือนพบได้ในผู้หญิงที่ใช้ผ้าอนามัยชนิดสอด (tampon) ซึ่งเชื้อสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและสร้างสารพิษในเลือดที่ถูก ดูดซับอยู่ในผ้าอนามัยภายในช่องคลอด ในกลุ่มที่ไม่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือนมักเกิดจากการติดเชื้อของบาดแผล ซึ่งพบทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ การติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* เฉพาะที่นี้ก่อให้เกิดการสร้าง TSST-1 ปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดโดยไม่พบเชื้อในเลือด สารพิษนี้มีคุณสมบัติเป็น superantigen ที่สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่ง cytokine หลายชนิดในปริมาณสูงผิดปกติ ทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการไข้สูงเฉียบพลัน มีผื่นแดงและเกิดการหลุดลอกของผิวหนังกระจายไปทั่วตัว รวมถึงบริเวณฝ่ามือและฝ่าเท้า การทำงานของระบบไหลเวียนเลือดผิดปกติ ทำให้มีการเสียสารน้ำออกนอกเส้นเลือด ความดันเลือดลดต่ำลง การทำงานของระบบต่าง ๆล้มเหลวและเกิดอาการช็อกได้ หากผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้องทันท่วงที อัตราการเสียชีวิตจากโรคนี้จะลดลงอย่างมาก แอนติบอดีต่อสารพิษที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังเกิดโรคสามารถป้องกันการเกิดโรคซ้ำได้ แต่พบว่าผู้ป่วยส่วนน้อยที่เป็นโรค TSS มีการสร้างแอนติบอดีดังกล่าวการกระจายของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ผ่านทางกระแสเลือดอาจทำให้เกิดโรคติดเชื้อในอวัยวะอื่น ๆที่อาจพบได้แต่ไม่บ่อย เช่นโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) และโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ

นอกจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* จะพบเป็นสาเหตุก่อโรคในคนได้บ่อยแล้ว ปัญหาสำคัญในปัจจุบันที่พบเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องคือการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ดื้อยาโดยเฉพาะยากลุ่ม penicillinase-resistant penicillins เช่น methicillin ซึ่งเป็นยาหลักในการรักษา เรียกเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ว่า methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือ MRSA (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

ปัญหาและกลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

ยา penicillin กรัม เป็นยาปฏิชีวนะตัวแรกของโลกที่นำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อโดยโครงสร้างยาในส่วน β-lactam จะเข้าไปจับกับส่วน PBPs (penicillin binding proteins) ที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะของโมเลกุล peptidoglycan ในผนังเซลล์แบคทีเรียเมื่อ PBPs ถูกยับยั้ง การสร้างผนังเซลล์จึงไม่สมบูรณ์เกิดการยับยั้งเชื้อขึ้น หลังจากนั้นการนำ penicillin กรัม ออกไปใช้อย่างไม่ถูกวิธีทำให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการกลายพันธุ์และดื้อยาขึ้นโดยเชื้อแบคทีเรียได้พัฒนาการสร้างเอนไซม์ penicillinase ขึ้นซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม β-lactamase ไปสลาย β-lactam ในโครงสร้างของยากลุ่ม penicillins เกิดการดื้อต่อยา penicillin หรือยาที่มีโครงสร้างใกล้เคียงในการรักษา ยีนส์ควบคุมการสร้างเอนไซม์ penicillinase พบอยู่บนพลาสมิดที่สามารถถูกถ่ายทอดได้ ทำให้การดื้อยาเกิดการกระจายได้รวดเร็ว ปัจจุบันสายพันธุ์มากกว่า 90% ของเชื้อในกลุ่ม *staphylococcus* สามารถสร้างเอนไซม์นี้ เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยานี้ จึงมีการพัฒนายากึ่งสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่ม penicillinase-resistant penicillins (PRP) ขึ้น เช่น nafcillin, oxacillin และ methicillin โดยยากลุ่มนี้สามารถทนต่อเอนไซม์ penicillinase แต่ไม่นานก็มีการดื้อยาเกิดขึ้นอีก โดยเชื้อแบคทีเรียได้สร้าง PBP ชนิดพิเศษที่เรียกว่า PBP2a ขึ้น ซึ่ง PBP2a มีคุณสมบัติจับกับยาในกลุ่ม β-lactams ได้ต่ำมาก ยากลุ่ม PRP จึงใช้ไม่ได้ผล เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม PRP นี้เรียกว่า methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) จากการศึกษาพบว่าเชื้อในกลุ่ม MRSA มีลักษณะการดื้อยาแบบผสม (heteroresistance) คือมีการผสมของแบคทีเรียกลุ่มที่ดื้อยาปนอยู่กับกลุ่มที่ไวต่อยา ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อที่มียีนส์ดื้อต่อยานั้น มีเพียงส่วนน้อยที่สามารถแสดงออกถึงคุณสมบัติการดื้อยา (ประมาณ 10^{-3} ถึง 10^{-7}) อุณหภูมิและชนิดของอาหารเพาะเชื้อมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะ การดื้อยา โดยทั่วไปเชื้อที่ดื้อยามีอัตราการเจริญที่ช้ากว่าเชื้อที่ไวต่อยา จึงอาจไม่เห็นลักษณะการดื้อยาหากอบเชื้อในระยะเวลาที่ไม่เหมาะสมคือน้อยกว่า 24 ชั่วโมง ดังนั้นการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธีที่ไม่เหมาะสมอาจตรวจไม่พบเชื้อดื้อยา การตรวจที่มีความไวสูงกว่าการทดสอบความไวต่อยาคือการใช้เทคนิคระดับโมเลกุล เช่นการตรวจหายีนส์ *mec A* ซึ่งทำหน้าที่สร้าง PBP2a ด้วยวิธี PCR (Polymerasw Chain Reaction เทคนิคการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ) การตรวจดังกล่าวมีความสำคัญในการเลือกใช้ยาที่เหมาะสมในการรักษา โดยเฉพาะในผู้ที่มีการ

ติดเชื้อรุนแรง ยาที่ถือเป็น drug of choice ในการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA คือกลุ่ม glycopeptides เช่น vancomycin อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีรายงานการพบเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ลดความไวต่อยาในกลุ่ม glycopeptides ที่เรียกว่า glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* (GISA) รวมถึงพบการดื้อยาได้ในเชื้อกลุ่ม coagulase-negative staphylococci กลไกการดื้อยากลุ่ม glycopeptides ในเชื้อกลุ่ม *Staphyloccus* นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และ วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

การเพิ่มขึ้นอย่างเป็นของอุบัติการณ์ของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะมีปัจจัยมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลายทางด้านการเกษตรและปศุสัตว์ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตามคลินิก การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อได้พัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ทำให้มียีนส์ส่วนที่กำหนดการดื้อยาเกิดขึ้น อาจปรากฏอยู่บนโครโมโซมหรือพลาสมิด ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงหรือเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์หรือโปรตีนบางชนิด กลไกการดื้อยาที่พบได้บ่อยจำแนกเป็น 4 ประเภท

1. การทำลายฤทธิ์ของยาด้วยเอนไซม์

แบคทีเรียดื้อยาหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์มายับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยา มีผลทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เนื่องจากยาไม่สามารถเข้าจับกับบริเวณยับยั้งของเชื้อได้ ซึ่งพบเป็นกลไกหลักที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดในกลไกการดื้อยา ยาที่นิยมนำมาใช้ในทางคลินิกเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactams จากการใช้ยาปฏิชีวนะในกลุ่มดังกล่าวพบแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดที่ดื้อต่อยากลุ่มนี้ เช่น *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin หรือ Cephalosporins เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ β-lactamase ที่สามารถย่อยสลายส่วนวงแหวน β-lactam ของยาบางชนิดทั้ง 2 กลุ่ม ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ คือ Penicilloic acid และ Crphalosporoic acid ที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ

2. การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยา

กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะประเภทนี้เกิดจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ มีการเปลี่ยนแปลงลำดับที่สำคัญของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งที่ใช้ในการสร้างเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา ทำให้ยาไปจับกับเป้าหมายได้ลดลง แบคทีเรียจึงไม่ถูกยับยั้งด้วยยาปฏิชีวนะนั้น ๆ เช่น การดื้อยากลุ่ม β-lactams ของเชื้อ MRSA โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ PBP ที่ยาจะไปจับไปเป็น PBP2a ซึ่งจับกับยาได้ต่ำ ลักษณะการดื้อยานี้เป็นผลมาจากการได้รับยีนส์ *mecA* และการสร้างผนังเซลล์โดยไม่ใช้ D-Ala-D-Ala-containing pentapeptide ที่เป็นเป้าหมายของ Glycoside ของเชื้อ Enterococci ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Glycopeptides รวมทั้งเกี่ยวข้องการ

เปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนบนยีนส์ที่สร้าง DNA Gylases และ Topoisomerases เชื้อจึงดื้อต่อยากลุ่ม Quinolones

3.การลดการผ่านของสารเข้าเซลล์

ยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยจำเป็นต้องมีระดับความเข้มข้นของยาในบริเวณเป้าหมายสูงพอที่จะออกฤทธิ์และมีผลต่อการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้น การขัดขวางไม่ให้ยาจากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ย่อมทำให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ จากกลไกการดื้อยาดังกล่าว พบเชื้อดื้อยาหลายชนิดแสดงการลดการผ่านของยาเข้าเซลล์โดยอาศัยกลไกต่าง ๆ เช่น เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยา Cycloserine พบมีการสูญเสียของ Alanine Transport System ที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านยาเข้าเซลล์ เชื้อบางชนิดที่ดื้อต่อยา Tetracycline พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ Porins ซึ่งเป็นโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ที่นำสารเข้าเซลล์ เชื้อแบคทีเรียจะลดจำนวน Porins ลงเพื่อลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ เป็นต้น

4.การเพิ่มปริมาณการผลิตสารและเอนไซม์เพื่อแข่งกับปริมาณยา

ยาปฏิชีวนะบางชนิดมีสูตรโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึม ทำให้เกิดการแย่งจับเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ หากเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสารดังกล่าวเพื่อแข่งกับปริมาณยา สามารถแย่งจับเอนไซม์กลับคืนมาเพื่อดำเนินการเมทาบอลิซึมต่อไปได้ เช่น การเพิ่มระดับของ *p*-Aminobenzoic Acid ส่งผลให้เชื้อสามารถดื้อยากลุ่ม Sulfonamides ขณะเดียวกันหากมีการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ชนิดที่ถูกขัดขวางการทำงานด้วยยาปฏิชีวนะ เชื้อจึงดื้อต่อยาที่มีคุณสมบัติดังกล่าว ถึงแม้ว่าเอนไซม์บางส่วนจะถูกขัดขวางแต่ยังมีเอนไซม์ส่วนที่เหลือยังคงทำหน้าที่ต่อไปได้ เช่น การเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์ Xanthosine Monophosphate Aminase ทำให้เชื้อดื้อต่อ Psicofuranine ได้หรือถ้ามีการเพิ่มเอนไซม์ Dihydropteroate Synthetase ย่อมมีผลทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Sulfonamides และเพิ่ม Dihydrofolate Reductase มีผลทำให้เชื้อดื้อต่อยา Trimethoprim ได้

จากกลไกการดื้อยาที่กล่าวมาข้างต้นเห็นได้ว่า เชื้อแต่ละชนิดมีวิธีการดื้อยาชนิดเดียวกันในกลไกที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและยีนส์ที่บงการการดื้อยาว่าเป็นยีนส์บนโครโมโซมหรือพลาสมิด (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

เชื้อ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อที่แสดงออกถึงการปรับตัวในการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนไม่มียาต้านจุลชีพพบมีอัตราการตายจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* สูงถึงร้อยละ 90 นักวิทยาศาสตร์จึงคิดค้นยาต้านจุลชีพเพื่อลดอัตราการตาย พบว่าปี ค.ศ.1940 ยา

Penicillin กรัม ถูกนำมาใช้ใน การรักษาและสามารถลดอัตราการตายจากโรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้มาก แต่ในปี ค.ศ.1942 เริ่มพบ การดื้อยา Penicillin กรัม จนกระทั่งปี ค.ศ.1948 พบว่ายา Penicillin กรัม ไม่สามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในปี ค.ศ.1959 ยา Methicillin เป็นยาที่นำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin กรัม แต่ต่อมาในปี ค.ศ.1961 เริ่มมีรายงานการพบเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา Methicillin (MRSA) นอกจากนี้ยังพบเชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม เช่น Tetracyclines, Sulfonamides, Macrolides, Cephalosporines, Chloramphenicol และ Quinolones เป็นต้น เชื้อที่ไวต่อยาในกลุ่ม Penicillins จะจัดอยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า MSSA ความรุนแรงของเชื้อ MRSAและ MSSA ไม่ต่างกันแต่การติดเชื้อ MRSA มีความสำคัญมากกว่า เพราะเชื้อ MRSA ไม่สามารถรักษาให้หายได้ด้วยยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาการติดเชื้อ *Staphylococcus* ทั่วไป และหากเชื้อ MRSA แพร่กระจายทำให้เกิดการระบาดขึ้นในโรงพยาบาล จะส่งผลกระทบรุนแรงต่อผู้ป่วยและโรงพยาบาล

เชื้อ MRSA ดื้อต่อยากลุ่ม Penicillin และยากลุ่ม β-lactams อื่น ๆซึ่งการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม β-lactams ต่อเชื้อจะทำโดยยาจะเข้าจับกับเอนไซม์ที่เรียกว่า PBP ในเชื้อ *Staphylococcus* ซึ่ง PBP ทำหน้าที่เกี่ยวกับปฏิกิริยา Transpeptidation และCarboxypeptidation ซึ่งสำคัญสำหรับ Cross Linking ของ Peptidoglycan Back Bone ในผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดย β-lactam ออกฤทธิ์ทำให้ PBP ทำงานไม่ได้จึงเกิดการแตกสลายของชั้น Peptidoglycan ส่งผลให้เชื้อตาย เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ไวต่อ Methicillin (MSSA) สร้าง PBP 4 ชนิด คือ PBP1, PBP2, PBP3 และ PBP4 ซึ่ง PBP1, PBP2 และ PBP3 เป็นเป้าหมายสำคัญสำหรับ β-lactam แต่ MRSA สร้าง PBP ที่ผิดปกติ เรียกว่า PBP2a ซึ่งจับกับ β-lactam ได้ไม่ดี เนื่องจากมี Affinity ต่ำจึงมีผลทำให้ PBP2a ในเชื้อดื้อยาทำหน้าที่แทน PBP ปกติ จึงทำให้ β-lactam ออกฤทธิ์ไม่ได้ซึ่งยีนส์ที่ควบคุมการสร้าง PBP2a คือ *mecA* ส่วนการดื้อยาในกลุ่ม Macrolides ไม่แตกต่างจากการดื้อยากลุ่มอื่น คือมีการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการลดการนำยาเข้าสู่เป้าหมายซึ่งอาจเป็นการลดการซึมผ่านหรือการขับยาออกจากเซลล์และทำให้ยาหมดฤทธิ์ (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

การแบ่งประเภทตามกลไกการดื้อยาของเชื้อ MRSA

1. True Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (“True” MRSA)

ใน “True” MRSA พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายขนาน โดยเฉพาะยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin เช่น Methicillin, Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin และ Nafcillin รวมทั้งดื้อต่อยากลุ่ม Macrolide และ Chloramphencal ด้วย สำหรับในประเทศไทยตรวจพบเชื้อ “True” MRSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง จำนวน

105 สิ่งส่งตรวจ ระหว่างปี ค.ศ.1994-1996 โดยวิธี Oxacillin Disc Diffusion พบเชื้อ “True” MRSA จำนวน 72 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ69 เชื้อ “True” MRSA ดื้อยาโดยการสร้างPBP2a จากยีนส์ *mecA*

2. BorderlineOxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA)

การดื้อยาของเชื้อ BORSA มีลักษณะที่แสดงออกแบบ Non-heterogeneous มีระดับค่า MIC ของยา Oxacillin น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 μg ต่อml แต่ต่อมาภายหลังพบว่าเชื้อดังกล่าวดื้อต่อยา Oxicillin เพิ่มขึ้นโดยมีระดับค่าMIC อยู่ระหว่าง 2-8 μg ต่อml สายพันธุ์ Borderline Resistant แตกต่างจาก MRSA สายพันธุ์ “True” MRSA เนื่องจากสายพันธุ์ Borderline Resistant ไม่ดื้อต่อยาข้ามกลุ่ม ในประเทศไทยตรวจพบเชื้อ BORSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง ระหว่างปี ค.ศ.1994-1996 โดยวิธี Oxacillin Disc Diffusion พบเชื้อ BORSA จำนวน 11 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 10 อีกทั้งได้ทดสอบความไวของยา Amoxillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam, Chloramphenicol และ Erythomycin ต่อการยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ β-lactamase โดยวิธี Agar Dilution พบว่า BORSA ไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam และ Erythomycin ทุกสายพันธุ์ ส่วน Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 82 เชื้อ BORSA มีกลไกการดื้อยาโดยเชื้อสังเคราะห์เอนไซม์ β-lactamase มากเกินไป (Hyperproducing β-lactamase) ดังนั้น เอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายบางส่วนของยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin และ Cephalosporins ได้ แต่เชื้อสายพันธุ์ BORSA กลับมาไวต่อยากลุ่ม β-lactam ได้อีกเมื่อนำมาทดสอบร่วมกับสารยับยั้งเอนไซม์ β-lactamase เช่น Clavulanic Acid และ Sulbactam เป็นต้น

3. Modified-Resistant *Staphylococcus aureus* (MODSA)

MODSA จัดอยู่ในกลุ่ม Borderline Resistant เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่มียีนส์ *mecA* เกิดความบกพร่องและมีการเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มจำนวนของ PBP อื่นที่ไม่ใช่ PBP2a ทำให้กลไกการดื้อยาต่างจากสายพันธุ์ BORSA จากความบกพร่องของยีนส์ *mecA* ส่งผลให้มีการสร้าง PBP4 เพิ่มขึ้นร่วมกับการมี PBP1 และ PBP2 ลดลง บางสายพันธุ์มีการกลายพันธุ์ของ PBP2a กลไกเหล่านี้ทำให้การจับของ β-lactam ต่อ PBP ลดลง จากการแยกเชื้อจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง จำนวน 105สิ่งส่งตรวจ ระหว่างปี ค.ศ. 1994-1996 พบผู้ติดเชื้อสายพันธุ์ MODSA จำนวน 22 สิ่งส่งตรวจ คิดเป็นร้อยละ 21 เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam และ Erythomycin พบว่า MODSA ทุกสายพันธุ์ไวต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าว และไวต่อยา Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 72 และมีระดับค่า MIC ของยา Oxacillim เท่ากับ 64 μg ต่อ มิลลิลิตร

4. Methicillin-Aminoglycoside-Resistant *Staphylococcus aureus* (MARSA)

MARSA จัดเป็นเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถดื้อต่อยา Methicillin และ Aminoglycoside เชื้อดังกล่าวมีพัฒนาการการดื้อยาสูงกว่า MRSA เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ MARSA สามารถผลิตเอนไซม์ Aminoglycoside-modifying ชนิด Bifunctional Enzyme ประกอบด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ Aminoglycoside 6'-N-Acetyltransferase (AAC(6')) และ Aminoglycoside 2''-Phosphotransferase (APH(2'')) เอนไซม์ดังกล่าวมีผลไปเร่งปฏิกิริยา N-acetylation และ O-phosphorylation ตามลำดับ จากการผลิตเอนไซม์ดังกล่าวมีผลต่อการดื้อยาในกลุ่ม Aminoglycoside โดยเฉพาะ Gentamycin และ Amikacin เป็นต้น (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

การรักษาและการป้องกัน

การรักษาผู้ป่วยในรายที่เกิดฝีหนองขึ้น ยาต้านเชื้อแบคทีเรียอาจไม่สามารถผ่านผนังของฝีเข้าสู่รอยโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการรักษาโรคติดเชื้อกลุ่ม *staphylococcus* ที่เป็นฝีหนองควรต้องเจาะระบายหนองและเนื้อเยื่อเน่าตายในตำแหน่งที่ติดเชื้อออก หรือทำการล้างทำความสะอาดแผลที่ติดเชื้อ ร่วมกับการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสม ในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนสำหรับป้องกันการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ส่วนหนึ่งเป็นผลจากเชื้อปัจจัยก่อโรคที่หลากหลาย การทดสอบในสัตว์ทดลองพบว่าสาร polysaccharide จากแคปซูลของเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนที่สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้ดี แต่ยังจำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไปสำหรับการใช้ในคน (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553. ; ภัทรชัย
กีรติสิน, 2552)

โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบบริเวณผิวหนังของคน พบอุบัติการณ์การติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีการใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์เข้าสู่ร่างกาย เช่น สายสวนปัสสาวะ ลิ้นหัวใจเทียม การใช้เครื่องช่วยหายใจ การให้สารน้ำทางเลือด เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาล (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553)

การวินิจฉัยแยกเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* จะให้ผลไวต่อยาโนโวไบโอซิน มีวงใส ๆขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 16 – 27 มิลลิเมตร และการทดสอบฟอสฟาเทส จะให้ผลบวก (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553)

2. กลุ่มไพโอจินิกสเตรปโตค็อกไค (*pyogenic streptococci*)

เชื้อกลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อที่ทำให้เกิดอาการอักเสบ มีไข้ และเป็นหนอง มีการสลายเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่เป็นแบบบีตา-ฮีโมไลซิส และสามารถจำแนกตาม Lancefield grouping ได้ เนื่องจากที่ผนังเซลล์จะมีคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วยเชื้อหลายชนิด ได้แก่ *Streptococcus pyogenes* (group A B - hemolytic streptococci)

เชื้อ *Streptococcus pyogenes*

เชื้อ Streptococci ส่วนใหญ่ที่ประกอบด้วยแอนติเจนของ Group A จะเป็น *Streptococcus pyogenes* ซึ่งเป็นเชื้อ ที่เก่าแก่ที่ก่อโรคในมนุษย์ เชื้อ *Streptococcus pyogenes* เป็นเชื้อก่อโรคหลักในมนุษย์และทำให้เกิดการบุกรุกเฉพาะบริเวณหรือทั่วร่างกาย รวมทั้งทำให้เกิดความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อ

เชื้อจะมีรูปร่างกลมหรือรีและมีการเรียงตัวเป็นโซ่ การแบ่งตัวของเชื้ออาจแบ่งในแนวตั้งฉากกับแกนยาวของสายโซ่ ส่วนใหญ่ของสายโซ่อาจแตกออกเป็นลักษณะ Diplococci ในบางครั้ง อาจเห็นเป็นลักษณะคล้ายท่อน ความยาวของสายจะแตกต่างกันและขึ้นกับสภาพแวดล้อม เชื้อ Streptococci จะติดสีแกรมบวก อย่างไรก็ตาม ถ้าเชื้อมีอายุมากหรือเชื้อตายจะสูญเสียความสามารถในการติดสี แกรมบวกและอาจพบเป็นสีแกรมลบ ใน Streptococci บางตัวสามารถเกิดการเปลี่ยนสีหลังจากบ่มข้ามคืน

การเพาะเลี้ยง

เชื้อ Streptococci สามารถเจริญในอาหารแข็งเห็นเป็นโคโลนีลักษณะคล้ายจานเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร เชื้อ *Streptococcus pyogenes* จะเกิด 8-hemolysis ส่วนในสปีชีส์อื่นจะให้รูปแบบของ hemolysis ที่แตกต่างกัน

ลักษณะการเจริญ

เชื้อจะมีการใช้กลูโคสเพื่อสร้างพลังงานและจะได้กรดแลคติคเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย การเจริญของ Streptococci จะไม่ดีนักในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว แม้กระทั่งมีการส่งเสริมการเจริญในเลือดหรือ ในสารที่ได้จากเนื้อเยื่อก็ตาม ความต้องการสารอาหารของเชื้อจะแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ โดยเฉพาะ เชื้อที่ก่อโรคในมนุษย์มักจะต้องการปัจจัยที่ใช้ในการเจริญจำนวนมาก การเจริญและการเกิด hemolysis จะเกิดได้ดีถ้าบ่มในสภาวะที่มี CO, 10% เชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิด hemolysis จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อ Streptococci จะเป็น Facultative anaerobe สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะ Aerobe และ Anaerobe ได้ ยกเว้น Peptostreptococci ที่จัดเป็น Obligate Anaerobe

ความหลากหลายของเชื้อ

ความหลากหลายของเชื้อสามารถเห็นได้จากความแตกต่างของลักษณะโคโลนีของเชื้อ ซึ่งส่วนใหญ่มักพบในสายพันธุ์ของ *Streptococcus pyogenes* โดยจะพบลักษณะโคโลนี 2 ลักษณะ คือ โคโลนีที่มีลักษณะ เป็นผิวด้านหรือโคโลนีที่มีลักษณะเป็นมันวาว โคโลนีที่เห็นลักษณะเป็นผิวด้านเกิดจากเชื้อที่สร้าง M Protein จำนวนมากและมักจะเป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรง ส่วนโคโลนีของ *Streptococcus pyogenes* ที่เป็นมันวาว เกิดจากเชื้อที่สร้าง M Protein จำนวนน้อย และมักจะไม่รุนแรง

การก่อโรคของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*

1. โรคคออักเสบ (Pharyngitis หรือ Streptococcal Sore Throat) เชื้อ *Streptococcus pyogenes* เป็นสาเหตุสำคัญในการก่อให้เกิดโรคคออักเสบเป็นอันดับหนึ่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย พบบ่อยในเด็กอายุ 5-15 ปี ในคนปกติจะพบเชื้อนี้อาศัยอยู่ในลำคอประมาณ ร้อยละ 15-20 โดยไม่ก่อให้เกิดโรค โรคคออักเสบจะมีอาการเจ็บคอ ต่อมทอนซิลบวมโตมีสีแดง อาจมีหนอง เป็นไข้ ไอ ปวดศีรษะ ต่อมน้ำเหลืองใต้คางโต บางครั้งอาจลุกลามถึง หูชั้นกลาง ทำให้เกิดหูชั้นกลางอักเสบ (Otitis Media) และเกิดโรคปอดบวมได้

2. กลุ่มอาการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง (Pyodermal Infection) ได้แก่ ผิวหนัง อักเสบ (Impetigo) ไฟลามทุ่ง (Erysipelas) เซลล์และเนื้อเยื่ออักเสบ (Cellulitis)

2.1 ผิวหนังอักเสบ (Impetigo) เป็นการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่บริเวณ ผิวหนัง พบในเด็กอายุ 2-5 ปี การติดเชื้อมักเริ่มจากมีตุ่มน้ำเล็ก ๆ ที่ผิวหนัง แล้วจะแตกออกเป็นตุ่มหนอง มักเกิดขึ้นบริเวณหน้า แขนและขา

2.2 ไฟลามทุ่ง (Erysipelas) เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดบริเวณชั้นผิวหนังและเนื้อเยื่อชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous Tissue) จะมีอาการไข้ ปวดศีรษะ หนาวสั่น อาเจียน ที่บริเวณผิวหนังจะอักเสบบวมแดงแล้วลุกลามอย่างรวดเร็ว มักพบภายหลังจากการเป็นโรคคอ อักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* (Streptococcal Sore Throat)

2.3 เซลล์และเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis) เป็นการติดเชื้อลึกลงใต้ชั้นผิวหนัง เมื่อมีบาดแผล ทำให้ผิวหนังบวมแดง และมีการลุกลามสู่ต่อมน้ำเหลืองอย่างรวดเร็ว ทำให้มีอาการไข้

3. ไข้ดำแดง (Scarlet Fever) เกิดจากเชื้อ *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์ที่มีการสร้าง สเตรปโตค็อกคัลไพโอจินิกเอกโซทอกซิน ผู้ป่วยจะมีอาการผื่นขึ้นเฉียบพลัน เป็นปื้นแดง เริ่มจากทรวงอก คอ แขน ขา บางรายอาจพบจุดเลือดออก (Petechiae) ในคนผิวคล้ำอาจพบ ลักษณะ

ขรุขระคล้ายกระดาษทราย (sandpaper) ไม่พบขึ้นแดง รอบปากจะมีสีขาว ผู้ป่วยมัก เจ็บคอและคอแดงร่วมด้วย

4. กลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษของเชื้อสเตรปโตค็อกคัส (Streptococcal Toxic Shock Syndrome: STSS) เกิดจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์ที่สร้างสเตรปโตค็อกคัลไพโอจินิกเอกโซทอกซิน ผู้ป่วยจะมีอาการคล้ายกับกลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (Toxic Shock Syndrome: TSS) โดยจะมีอาการเป็นผื่นแดง ระบบหายใจ ล้มเหลว อุจจาระร่วง ช็อกและอาจเสียชีวิตได้

5. ภาวะไข้หลังคลอด (Puerperal Sepsis) เกิดจากการติดเชื้อที่กล้ามเนื้อมดลูก (Endometrium) ในระหว่างคลอด ทำให้เชื้อแพร่เข้าสู่กระแสเลือด

6. อาการแทรกซ้อนภายหลังการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* (post streptococcal sequelae) จะทำให้เกิดอาการแทรกซ้อน 2 โรค ได้แก่ ไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลัน (acute rheumatic fever) และกรวยไตอักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute glomerulonephritis)

6.1 ไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลัน จัดเป็นโรคออโตอิมมูน (Autoimmune Disease) เกิดขึ้นภายหลังจากการเป็นโรคคออักเสบ มีสาเหตุจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* มักพบในผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้องหรือผู้ป่วยที่เป็นโรคคออักเสบชนิดเรื้อรัง กลไกการเกิดโรคเนื่องจากร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีต่อโปรตีนเอ็มของเชื้อ ซึ่งแอนติบอดีนี้ จะทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (Cross Reaction) กับเนื้อเยื่อหัวใจ โดยเฉพาะลิ้นหัวใจ เกิดการ ทำลายเนื้อเยื่อหัวใจ ทำให้มีอาการกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ ลิ้นหัวใจอักเสบ ข้ออักเสบหลายข้อ โดยเฉพาะข้อใหญ่ ๆ ได้แก่ ข้อเข่า ข้อเท้า ข้อศอก และมีผื่นแดงตามตัว แขน ขา ผู้ป่วยที่ เป็นโรคนี้จะมีความแรงหรือไตเตอร์ของแอนติบอดีต่อสเตรปโตไลซินโอ (Antistreptolysin 0. ASO Titer) ในระดับสูง ใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการวินิจฉัยโรคไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลันได้

6.2 กรวยไตอักเสบชนิดเฉียบพลัน เกิดขึ้นภายหลังจากการเป็นโรคคออักเสบหรือโรคพุพองตามผิวหนังที่เกิดจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์เนไฟรโทจินิก (Nephritogenic Strain) มีกลไกการเกิดโรคคือ การเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน ที่เป็นตัวเชื้อและแอนติบอดี (antigen-antibody; Ag-Ab Complex) จะไปเกาะบริเวณ โกลเมรูไล (Glomeruli) ของไต ซึ่ง Ag- Ab complex จะไปกระตุ้นคอมพลีเมนต์ ทำให้เกิด การอักเสบของกรวยไต ไตบวม ไตทำงานผิดปกติ ความดันโลหิตสูง มีเลือดและโปรตีนใน ปัสสาวะ (Hematuria and Proteinuria) (อิส-ยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2555)

ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อน

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อน
ที่ขึ้น ณ ป่าพื้นราบ อ.ศรีบญเรือง จ.หนองบัวลำภู ถ่ายเมื่อวันที่ 12 ส.ค. 2562

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อสมุนไพร เถาเอ็นอ่อน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult.

วงศ์ Asclepiadaceae

เป็นพืชในวงศ์ตีนเป็ด เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ ว่า เครือเถาเอ็น เครือเขาเอ็น (เชียงใหม่), เขาควาย (นครราชสีมา), เสน่งกู (บุรีรัมย์), หญ้าลิเลน (ปัตตานี), หมอตีนเป็ด (สุราษฎร์ธานี), ตีนเป็ดเครือ (ภาคเหนือ), เครือเอ็นอ่อน (ภาคอีสาน), เมื่อย (ภาคกลาง), กวน (ฉาน-แม่ฮ่องสอน), นอออหมี (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน), กู่โกวเถิง (จีนกลาง) เป็นต้นเถาเอ็นอ่อน จัดเป็นไม้เถาเลื้อยพาดพันกับต้นไม้อื่น เป็นไม้เลื้อยจำพวกเถาเนื้อแข็ง เถาลำต้นกลม เปลือกเถาเรียบหนาเป็นสีน้ำตาลอมสีดำหรือเป็นสีแดงเข้มและมีลายประตลอดเถา ยาวประมาณ 4-5 เมตร ก้านเล็ก มีสีเทาอมเขียวและไม่มีขนปกคลุม เมื่อเถาแก่เปลือกจะหลุดลอกออกเป็นแผ่น ๆ มียางสีขาวข้นทั้งต้น ใบเถาเอ็นอ่อน ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้ามกัน ลักษณะของใบเป็นรูปรีหรือรูปไข่ ปลายใบมนมีหางสั้น โคนใบสอบ ส่วนขอบใบเรียบ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 3-8 เซนติเมตรและยาวประมาณ 5-18 เซนติเมตร แผ่นใบค่อนข้างหนา หลังใบเรียบเป็นมันและลื่น ท้องใบเรียบเป็นสีเขียวนวล ใบอ่อนมีขนปกคลุม ส่วนใบแก่ไม่มีขน เส้นใบตาม

ขวางจะเป็นเส้นตรงไม่โค้ง ใบหนึ่งจะมีประมาณ 30 คู่ ส่วนก้านใบสั้น ยาวได้ประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ดอกเถาเอ็นอ่อน ออกดอกในเดือนมีนาคม-เมษายน ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบ ดอกย่อยเป็นสีเหลืองอ่อนหรือสีเป็นสีขาวอมเหลือง ดอกมีกลีบดอก 5 กลีบ โคนกลีบดอกเชื่อมติดกัน ส่วนกลีบเลี้ยงดอกเป็นสีเขียวมี 5 กลีบ ผลเถาเอ็นอ่อน ออกผลเป็นฝัก ลักษณะของฝักเป็นรูปทรงกระสวย กลมยาว ยาวประมาณ 6.5-10 เซนติเมตร และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางฝักประมาณ 1-2 เซนติเมตร ฝักมีเนื้อแข็ง โคนผลติดกัน ปลายผลแหลม ผิวผลเป็นมันลื่น พอแก่แล้วจะแตกอ้าออก ภายในผลมีเมล็ดสีน้ำตาลมีขนปุยสีขาวติดอยู่และปลิวไปตามลมได้ ลักษณะของเมล็ดเป็นรูปรีหรือรูปกลมยาวแบน มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ลักษณะภายนอกเป็น ไม้เถา เนื้อแข็ง เถากลมเปลือกเถาเรียบ เปลือกมีผิวบาง ๆ สีแดงเข้มหุ้มอยู่ เถาแก่เปลือกหนาสีดำ เมื่อเถาแก่เปลือกจะหลุดลอกออกเป็นแผ่น มียางสีขาวข้นทั้งต้น รสขมเบื่อมัน ต้นเถาเอ็นอ่อน ส่วนใหญ่ชอบขึ้นอยู่ตามป่าราบ (วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2538)

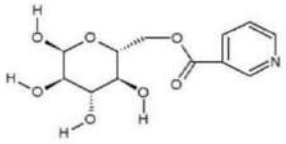
สารประกอบทางเคมี (Chemical constituents)

เถาเอ็นอ่อนพบสารประกอบทางเคมีที่สำคัญ 2 กลุ่ม ได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloids) เช่น ส่วนของเถา (ลำต้น) มีบูคานาไนน์ (buchananine) ซึ่งจากรายงานการศึกษาของ (Dutta *at el.,*1978) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีสเปคโตรสโคปี (spectroscopic techniques) พบว่ามีบูคานาไนน์และ 1,3,6-โอ-ไตรนิโคติโนอิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนส (1,3,6-O-trinicotinoyl-α-D-glucopyranose) เป็นสารประกอบหลัก (Dutta *et al.,* 1980)

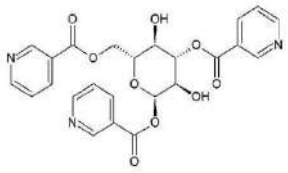
สารประกอบทางเคมีอีกกลุ่มหนึ่งในเถาเอ็นอ่อนเป็นสารกลุ่มคาร์ดีโนไลด์ (cardenolides) เช่น ส่วนของใบมี คริปโทซิน (cryptosin) (รูปที่ 1ค) (Venkateswara *et al.,* 1987) ซาเมนโทจีนิน (sarmentogenin) (Shah and Khare, 1981) ซาเมนโทไซมาริน (sarmentocymarin) (Purushothaman *et al.,* 1988) และคาร์ดีโนไลด์ไกลโคไซด์ (cardenolide glycosides) เป็นสารที่มีโครงสร้างแบบสเตียรอยด์ไกลโคไซด์ (steroid glycoside) คล้ายโครงสร้างของดิจ๊อกซิน (digoxin) ซึ่งเป็นยากลุ่มคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ (Cardiac glycoside) รักษาโรคหัวใจล้มเหลวและหัวใจเต้นผิดจังหวะ สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ คริปทาโนไซด์เอ (cryptanosides A) และคริปทาโนไซด์ซี (cryptanosides C) เป็นสารสำคัญหลักในกลุ่มคาร์ดีโนไลด์ไกลโคไซด์ที่พบมากในส่วนของใบและราก ส่วน คริปทาโนไซด์บี (cryptanosides B) และคริปทาโนไซด์ดี (cryptanosides) พบเฉพาะในส่วนของใบ (Purushothaman *et al.,* 1988)

ตารางที่ 1 ชนิดของสารประกอบทางเคมีในเถาเอ็นอ่อน

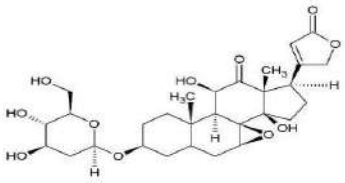
ชนิดของสารประกอบทางเคมี	ส่วนของพืชที่พบ	เอกสารอ้างอิง
Alkaloids		
-buchananine	เถา	Dutta *et al.,* 1978
-1, 3, 6-O-trinicotinoyl-α-D-glucopyranose	เถา	Dutta *et al.,* 1978
Cardenolides		
-cryptosin	ใบ	Venkateswara *et al.,* 1987
-sarmentogenin	ใบ	Shah and Khara, 1981
-sarmentocymarin	ใบ	Purushothaman *et al.,* 1988
-cardenolide glycosides		
cryptanoside A	ใบ ราก	Purushothaman *et al.,* 1988
cryptanoside B	ใบ	Purushothaman *et al.,* 1988
cryptanoside C	ใบ ราก	Purushothaman *et al.,* 1988
cryptanoside D	ใบ	Purushothaman *et al.,* 1988



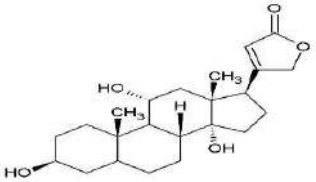
Buchananine



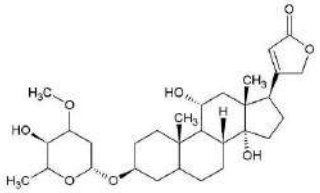
1,3,6-O-trinicotinoyl-α-D-glucopyranose



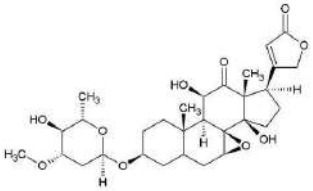
Cryptosin



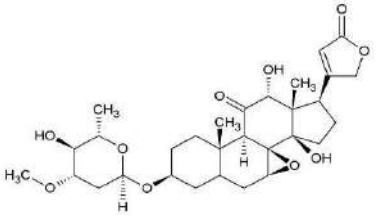
sarmentogenin



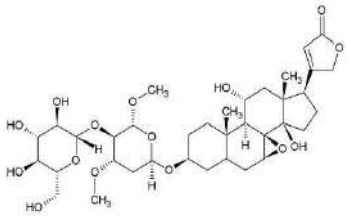
Sarmentocymarin



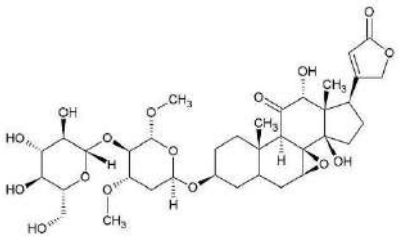
cryptanosides A



cryptanosides B



cryptanosides C



cryptanosides D

ภาพที่ 4 ชนิดของสารประกอบทางเคมีในเถาเอ็นอ่อน

ที่มา : (Purushothaman *et al.,* 1988)

สารก่อเจล (Gelling agents)

สารก่อเจลที่ใช้ในเจลวัฏภาคเดียวส่วนใหญ่เป็นพวกโพลิเมอร์ได้แก่ natural gum (alginate, carrageenan, pectin, etc.) acrylic polymers หรือ cellulose derivatives (methylcellulose, carboxymethylcellulose,etc.) เป็นต้น การใช้ carbopol 940 เป็นสารก่อเจล มีข้อดีคือ ในความเข้มข้นต่ำก็สามารถก่อเจลที่มีความหนืดสูง มีความคงตัวต่อความร้อน ไม่เป็นแหล่งอาหารของจุลทรีย์ และไม่เกิดพิษ นอกจากนี้ carbopol 940 ยังมีคุณสมบัติ high cross-link density ทำให้ mesh size ภายในโครงร่างของเจลมีขนาดเล็ก มีปริมาตรอิสระน้อย จึงสามารถอัตราการแพร่ของตัวยาหรือสารออกจากตำรับเจลได้ดีกว่าสารก่อเจลที่มี cross-link density ต่ำกว่า (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2547 น.31-32)

การเตรียมเจลเป็นรูปแบบยาที่มีลักษณะเหมือนเจลลี่ เนื้อเจลเกิดจากการกระจายสารก่อเจลที่เป็นพอลิเมอร์ซึ่งมีโมเลกุลใหญ่ในปริมาณพอเหมาะลงในตัวทำละลาย ทำให้ได้ห่วงโซ่พอลิเมอร์ในลักษณะร่างแหสามมิติในตัวทำละลายได้ความหนืดที่สูง และเป็นพันธะระหว่างพอลิเมอร์กับตัวทำละลายที่คงสภาพมากทีเดียว เนื้อเจลที่ค่อนข้างโปร่งใส โดยตัวทำละลายส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตัวยาหรือสารออกฤทธิ์ที่ใช้อาจเป็นสารบริสุทธิ์ที่สังเคราะห์ กึ่งสังเคราะห์ หรือสารสกัดจากสมุนไพร ผู้พัฒนาตำรับยาเตรียมเจลสมุนไพร ต้องมีความรอบรู้และประสบการณ์ในส่วนต่อไปนี้ เพื่อให้เกิดประโยชน์ และประสิทธิผลสูงสุดสำหรับผู้บริโภค

1. สารก่อเจลในตัวทำละลาย ได้แก่ การเลือกใช้พอลิเมอร์และความเข้มข้นที่เหมาะสม เช่น คาร์โบเมอร์ในปริมาณ 0.5-1.5% โดยน้ำหนัก พอโลซาเมอร์ ในปริมาณ 10-20% โดยน้ำหนัก เป็นต้น

2. ตัวยาหรือสารออกฤทธิ์ที่ใช้อาจเป็นสารบริสุทธิ์ที่สังเคราะห์ กึ่งสังเคราะห์ หรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาทำให้บริสุทธิ์พร้อมใช้ (pure extract) หรืออาจใช้สารสกัดดิบ (crude extract)

3. ตำรับ ซึ่งมีส่วนประกอบต่าง ๆ ได้แก่ ตัวยา สารก่อเจล สารต้านออกซิเดชั่น สี และสารแต่งกลิ่น ซึ่งต้องเป็นไปตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง รวมทั้งประกาศ และกฎกระทรวงสาธารณสุขที่เกี่ยวข้อง

4. กรรมวิธีการเตรียมที่เหมาะสม และตามลำดับขั้นตอน

5. ภาชนะบรรจุที่สามารถปกป้องผลิตภัณฑ์ ไม่เกิดอันตรกิริยากับผลิตภัณฑ์ รวมถึงความสวยงามของภาชนะบรรจุเพื่อดึงดูดใจลูกค้า (สมบูรณ์ เจตลีลา และคณะ, 2557)

กลุ่มที่แก้ปัญหาสิวด้วยการซื้อเครื่องสำอางมาใช้ พบว่าผลิตภัณฑ์ส่วน ใหญ่ที่เคยใช้คือ ครีมทาสิว 26.5% และสบู่เหลวหรือโฟม 24.3% แต่เครื่องสำอางประเภทสิวที่ผู้บริโภคอยากให้ มีมากที่สุด 3 ประเภทแรก คือ เจลทาสิว 33.9% ครีมทาสิว 25.8% และสบู่เหลวหรือโฟม 25.8% ปัจจัยที่มี อิทธิพลมากที่สุดในการเลือกซื้อเครื่องสำอางประเภทสิว คือ ประสิทธิภาพในการรักษา

75.8% รองมาคือ คำแนะนำของผู้ที่เคยใช้ 56.5% และความปลอดภัยในการใช้ 51.6% ตามลำดับ ดังนั้นการพัฒนาในขั้นต่อไป เป็นการผลิตให้อยู่ในรูปเจลมีสูตรพื้นฐานเป็นเจลใส (ณิชากร เจริญกุลม, 2547)

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุด เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิว จากการพัฒนาสูตรตำรับอีมัลชั่นเจลซึ่งมีสารสกัดเอทานอลเข้มข้น จะเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบในแต่ละตำรับคือ Carbomer ในปริมาณ 0.6%, 0.7% หรือ 0.8% w/w Poloxamer ในปริมาณ 4.0% หรือ 5.0% w/w และ Isopropyl Myristate (IPM) ใช้ในปริมาณ 2.0% หรือ 3.0% w/w นำตำรับที่เตรียมได้มาประเมินความหนืด pH และฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย จากการทดลองพบว่าการเพิ่มปริมาณ Carbomer หรือ Poloxamer จะเพิ่มความหนืดของยาเตรียม โดย Carbomer จะมีอิทธิพลมากกว่า ส่วนการเปลี่ยนแปลง IPM มีผลต่อความหนืดของยาเตรียมไม่ชัดเจน ตำรับยาเตรียมมีอยู่ 4 ตำรับที่ให้ความหนืดความเหมาะสมคือ 600 - 700 Cps โดยใช้ Carbomer, Poloxamer และ IPM ในปริมาณ (i) 0.6%, 5.0% และ 2.0% (ii) 0.6%, 5.0% และ 3.0% (iii) 0.7%, 4.0% และ 2.0% และ (iv) 0.7%, 4.0% และ 3.0% ตามลำดับ ส่วนตำรับอื่นจะมีความหนืดที่น้อยหรือมากเกินไปเมื่อเทียบกับ Voltaren® Emulgel® สำหรับค่า pH ของทุกตำรับยาเตรียมสามารถควบคุมให้อยู่ในช่วง 4.5 - 5.5 ซึ่งเหมาะสมที่จะใช้กับบริเวณผิวหน้า ปัญหาที่พบสำหรับผลิตภัณฑ์อีมัลชั่นเจลคือประสิทธิภาพในการต้าน *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505และ *Propionibacterium acnes* ลดลงบ้าง เมื่อเทียบกับสารสกัดเอทานอลจากเปลือกผลมังคุด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าส่วนประกอบในตำรับโดยเฉพาะสารก่อเจลที่หน่วงการปลดปล่อย α-mangostin ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียลดลง (กวิน บุญณายานนท์ และเทพฤทธิ์ ทองสุกมาก, 2553)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ฤทธิ์ระงับปวดของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน (analgesic activity)

Hanprasertpong *at el.,* (2014) ศึกษาผลของ สารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 60, 125 และ 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต่อการระงับปวดที่สัมพันธ์กับ การอักเสบในหนูถีบจักร สายพันธุ์ Swiss albino โดยการฉีดเข้า ทางช่องท้อง และกลุ่มควบคุมเชิงบวกได้รับอินโดเมธาซิน ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องเช่นเดียวกัน หลังจากนั้น 30 นาที หนูถีบจักรถูกเหนี่ยวนำให้เกิด writhing response (อาการเจ็บปวดภายในช่องท้องซึ่งแสดงออกโดยการ เกร็งของกล้ามเนื้อบริเวณหน้าท้อง โดยจะสังเกตอาการที่หนูมี การบิดตัว เอาท้องถูแนบไปกับพื้นและเหยียดขาหลังออก) ด้วย กรดอะซิติก (acetic acid) ความเข้มข้นร้อยละ

0.75 (โดย ปริมาตร) 0.1 มิลลิลิตรต่อ 10 กรัมของน้ำหนักตัวหนูถีบจักร โดยการฉีดเข้าทางช่องท้อง ตั้งแต่นาทีที่ 5 หลังจากฉีดกรดอะซิติก จะสังเกตและบันทึกจำนวนครั้งการเกิด writhing response ภายในเวลา 15 นาที พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของ เถาเอ็นอ่อน มีฤทธิ์ระงับปวดในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัด โดยสามารถลดการเกิด writhing response ในหนูถีบ จักร ได้ร้อยละ 31.25, 50.00 และ 50.53 ตามลำดับ ขณะที่อินโดเมธาซินสามารถลดการเกิด writhing response ในหนูถีบจักรได้ ร้อยละ 70.31

ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน (anti-inflammatory activity)

Laupattarakasem *et al.* (2006) ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดลองโดยใช้สารแคลเซียมไอโอโนฟอร์ A23187 (calcium ionophore A23187) ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลต่อลิตร กระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิดโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์นิวโทรฟิลลิวโคไซต์ (polymorphonuclear neutrophils leukocytes หรือ PMNs) ที่ได้มาจากหนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อน ต่อการยับยั้งการผลิตไอโคซานอยด์ (eicosanoid) ซึ่งเป็นสารชักนำการอักเสบ พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถา เอ็นอ่อนขนาด 200, 400 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการผลิตไอโคซานอยด์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซิจิเนส (cyclooxygenase) และ 5-ลิโพออกซิจิเนส (5-lipooxygenase) ในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัด โดยสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ ขนาด 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการผลิตไอโคซานอยด์ได้ใกล้เคียงกับ อินโดเมธาซินขนาด 5 ไมโครโมลต่อลิตร และในการศึกษา เดียวกันนี้ยังศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบส่วน เอทานอลของเถาเอ็นอ่อนในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง ชนิด THP-1 (human leukemia monocytic THP-1 cell) ที่ถูก กระตุ้นการสร้างทูเมอร์เนคโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา (tumor necrosis factor-alpha หรือ TNF-α) ด้วยสาร ลิโพพอลิแซ็กคา ไรด์ (lipopolysaccharide หรือ LPS) ขนาด 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อน ขนาด 1, 5, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้ง การแสดงออกของยีน TNF-α ซึ่งเป็นยีนสื่อกลางการอักเสบใน ลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัด และสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ ขนาด 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการแสดงออกของยีน TNF-α ได้ใกล้เคียงกับเดกซาเมทาโซน (dexamethasone) ขนาด 1 ไมโครโมลต่อลิตร ส่วนการศึกษาของ

Hanprasertpong *at el.,* (2014) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูขาว สายพันธุ์ Sprague-Dawley โดย Pharmacological Activities of Cryptolepis dubia (Burm.f.) M.R.Almeida Sriset Y.*et al.* ฉีดคาราจีแนน (carrageenan-induced rat paw edema) ความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยปริมาตร) 0.05 มิลลิลิตร บริเวณอุ้งเท้าหลังข้างขวาของหนูขาวหลังจากที่ได้รับสารสกัดหยาบ

ส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม 30 นาที กลุ่มควบคุมเชิงบวกได้รับอินโดเมธาซินขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องและวัดปริมาตรของอุ้งเท้าหนูหลังจากการฉีดคาราจีแนนที่ 1, 3 และ 5 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อนมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยสามารถลดปริมาตรอุ้งเท้าของหนูขาวได้ในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัด ซึ่งมีร้อยละยับยั้งการอักเสบคือร้อยละ 22.58, 34.28 และ 46.06 ตามลำดับ ขณะที่อินโดเมธาซินมีร้อยละยับยั้งการอักเสบคือ ร้อยละ 58.36 และการศึกษาเดียวกันนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูขาว สายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบแบ บเฉียบพลันด้วย เอธิลฟีนิล โพรพิโอเลท (ethyl phenylpropiolate หรือ EPP) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร โดยการทาที่ใบหูทั้งสองข้างหลังการทำสารสกัดหยาบ ส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ใบ หูทั้งสองข้างของหนูขาวและกลุ่มควบคุมเชิงบวกได้รับอินโดเมธาซินขนาด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการทำเช่นเดียวกันและวัดความหนาของใบหูหลังจากทา EPP ที่ 15, 30, 60 และ 120 นาที พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อน สามารถลดการบวมที่ใบหูทั้งสองข้างของหนูขาวได้อย่างมีนัยสำคัญและสามารถลดการบวมที่ใบหูของหนูขาวได้ใกล้เคียงกับอินโดเมธาซิน

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน (anti-bacterial activity)

Sittiwet and Puangpronpitag (2009) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนน้ำของใบเถาเอ็นอ่อนต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Lactobacillus plantarum, Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis luteus* ในหลอดทดลองโดย การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารสกัดขนาด 125, 250 และ 500 กรัมต่อลิตร ด้วยวิธี disc diffusion agar มีเจนตามัยซินซัลเฟต (gentamicin sulphate) ขนาด 10 มิลลิกรัมต่อ ลิตร เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก ทำการวัดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (minimal inhibitory concentration หรือ MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimal bactericidal concentration หรือ MBC) พบว่าสารสกัดหยาบ ส่วนน้ำของใบขนาด 500 กรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Lactobacillus plantarum, Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis luteus* ด้วยค่าบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) เท่ากับ 12.6, 21.0, 12.4, 19.6, 14.2, 23.0, 14.8 และ 16.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ และให้ค่า MIC ของสารสกัดต่อเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 4, 2, 4, 1, 2, 4, 16, และ 4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และให้ค่า MBC ของสารสกัดต่อ เชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 8, 4, 16, 2, 4, 16,

32 และ 16 กรัมต่อ ลิตร ตามลำดับ ขณะที่เจนตามัยซินซัลเฟตมีค่าบริเวณการ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 19.6, 21.6, 19.0, 19.3, 20.0, 21.3, 19.7 และ 17.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ และมีค่า MIC ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 8 ชนิดที่น้อยกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่สามารถวัดค่า MBC ได้จากข้อมูลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเถาเอ็นอ่อนมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและอาจจะมีประโยชน์ในแง่ของการใช้เป็นยาเสริมกับยาแผนปัจจุบันเพื่อการลดปัญหาดื้อยาต่อไปในอนาคต

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน (Toxicity studies)

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่แสดงให้ทราบถึงประโยชน์ทางยาหลายประการของเถาเอ็นอ่อน แต่การศึกษาความเป็นพิษจะเป็นข้อมูลที่ยืนยันความปลอดภัยและสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้วิจัยและผู้บริโภคสำหรับการนำเถาเอ็นอ่อนไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะประโยชน์ทางยา ซึ่งเถาเอ็นอ่อนมีข้อควรระมัดระวังที่ผู้บริโภคต้องตระหนักอยู่เสมอโดยเฉพาะผู้ป่วยโรคหัวใจ เนื่องจากใบของต้นเถาเอ็นอ่อนมีสารประกอบทางเคมีกลุ่มคาร์ดีโนไลด์ ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของหัวใจ (Rao and Banning, 1990) อย่างไรก็ตามการนำเถาเอ็นอ่อนมาใช้ประโยชน์ส่วนมากจะนิยมใช้ส่วนเถามากกว่าส่วนใบ ซึ่งส่วนเถามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ดีอีกทั้งยังมีสรรพคุณเด่นในการรักษาอาการปวดเมื่อยตามร่างกายและยังไม่พบรายงานความเป็นพิษของการใช้ส่วนเถาของต้นเถาเอ็นอ่อนดังเช่นการศึกษาของ Laupattarakasem *at el.* (2006) ถึงความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวในหนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley (rat leukocytes) เซลล์โมโนไซต์ชนิด THP-1 (human monocytes THP-1 cell line) และเซลล์บุผนังหลอดเลือดจากรก (human umbilical vein endothelial cells) ในหลอดทดลองโดยวิธี methyl tetrazolium 3-[4, 5-Dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenylte trazolium bromide (MTT) ของสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสาหรับทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โมโนไซต์ชนิด THP-1 และเซลล์บุผนังหลอดเลือดจากรก และสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 400 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสาหรับทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว พบว่าสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนทุกขนาดไม่มีผลทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารใด ๆ อีกทั้งการศึกษาเดียวกันนี้ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) ของเถาเอ็นอ่อนในหนูถีบจักรเพศผู้และเพศเมีย สายพันธุ์ ICR โดยการให้สารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยการป้อนทางปาก ต่อเนื่องกันนาน 7 วัน และให้สารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 200, 400, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยการฉีดเข้าทางช่องท้อง ต่อเนื่องกันนาน 7 วัน ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว สังเกตอาการและพฤติกรรมของหนูถีบจักรหลังจากได้รับสารสกัดที่ 1, 2, 3 และ 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดหยาบส่วน

เอทานอลของเถาเอ็นอ่อนทุกขนาดที่ให้ในหนูถีบจักรโดยการป้อนทางปากและการฉีดเข้าทางช่องท้องไม่มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อหนูถีบจักรทั้งเพศผู้และเพศเมีย ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว ไม่มีอาการซึม หนูถีบจักรสามารถเคลื่อนไหวและทำกิจกรรมต่าง ๆ ได้ปกติ อีกทั้งขนาดของสารสกัดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 (lethal dose 50% หรือ LD50) ในหนูถีบจักรทั้งสองเพศที่ได้รับสารสกัดโดยการป้อนทางปากและการฉีดเข้าทางช่องท้อง คือ ขนาด 900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อพิจารณาจาก LD50 ที่มีค่าสูง จึงแสดงให้เห็นถึงความมีพิษต่ำของสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อน ขณะที่ Hanprasertpong *at el.,*(2014) ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อนในหลอดทดลองโดยวัดการทางานของเอนไซม์แลคเตตดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase หรือ LDH) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่บ่งชี้การได้รับบาดเจ็บหรือถูกทำลายของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนจากฝ่าเท้าหมู พบว่าสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 6.25, 12.50, 25.00, 50.00 และ 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรไม่มีผลเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ LDH ในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนจากฝ่าเท้าหมู

เถาเอ็นอ่อนมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา หลายประการ การศึกษาในหลอดทดลองของสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาขนาด 12.5, 25 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีฤทธิ์ ปกป้องกระดูกอ่อนในกระดูกอ่อนของหมูที่ถูกทำลายจากการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะอักเสบด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า การศึกษาใน สัตว์ทดลองของสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาขนาด 60, 125 และ 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีฤทธิ์ระงับ ปวดในหนูถีบจักรที่ถูก เหนี่ยวนำให้เกิด writhing response ด้วยกรดอะซิติก และที่ขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบต่อการเหนี่ยวนำ ด้วยคาราจีแนนบริเวณอุ้งเท้าของหนูขาว สำหรับสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาขนาด 1, 5, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตรมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับ ยั้งการสร้างทูเมอร์เนคโครซิสแฟกเตอร์แอลฟาในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว THP-1 ที่ถูกกระตุ้นด้วย สารลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ ยิ่งไปกว่านี้สารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของใบขนาด 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมมีฤทธิ์ปกป้องตับในหนู ขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับจากพาราเซตามอล สารสกดั หยาบส่วนน้ำของใบมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumonia* ซึ่งให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 1 และ 2 กรัมต่อลิตร ตามลำาดับ บูคานา ไนน์เป็นสารอลัคาลอยด์ซึ่งพบได้ในส่วนเถาเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญของเถาเอ็นอ่อน อย่างไรก็ตามยังไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ สนับสนุนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของบูคานาไนน์ (ยลดา ศรีเศรษฐ์ และคณะ 2560)

จากรายงานการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของเถาเอ็นอ่อนไม่มีความเป็นพิษหรือมีความเป็นพิษค่อนข้างต่ำทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองเมื่อได้รับสารสกัดในขนาดที่

ไม่สูงมาก ดังนั้นการศึกษาความเป็นพิษของเถาเอ็นอ่อนจึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อยืนยันความปลอดภัยของการใช้เถาเอ็นอ่อนและเป็นข้อมูลสนับสนุนให้ผู้วิจัยนำเถาเอ็นอ่อนไปศึกษาเชิงลึกและพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

สมุนไพร

เถาเอ็นอ่อน นำมาจาก อำเภอศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู

เครื่องมือ

1. เตาอบ (Oven, ยี่ห้อ Memmert, รุ่น UN 260)
2. เครื่องระเหยระบบสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator with cooling system, ยี่ห้อ Heidolph, รุ่น S/N 200020687 0215)
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, ยี่ห้อ Memmert, รุ่น WNB 14-45)
4. เครื่องอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer, ยี่ห้อ PG Instruments, รุ่น T80)
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, LABTECH)
6. เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Hot Plate stirrer, ยี่ห้อ Jlabtech, รุ่น LMS - 100)
7. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Balance 4 Position, ยี่ห้อ Mettlertoledo, รุ่น New classic MS)
8. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (balance 2 position, ยี่ห้อ Mettlertoledo, รุ่น New classic MS)
9. เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixers & Shakers, ยี่ห้อ Scientific Industries, รุ่น Vortex Genie 2)
10. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave , ยี้ห้อ Hirayama, รุ่น HVE 50)
11. ตู้บ่มเชื้อ (Cooled Incubator, ยี่ห้อ Velp scientifica , รุ่น FOC2251)
12. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuges, ยี่ห้อ Hettich, รุ่น MIKRO 220R)
13. อ่างอัลตราโซนิก (Ultrasonic bath, ยี่ห้อ witeg, รุ่น WUC-DO3H)
14. เครื่องวัดค่าหลายพารามิเตอร์ (Multi-parameter analyser , ยี่ห้อ Consort, รุ่น C3010)

วัสดุและอุปกรณ์

1. บีกเกอร์ (Beaker)
2. หลอดหยดสาร (Dropper)
3. กระบอกตวง (Graduated cylinder)
4. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
5. ฐานตั้งเหล็ก (Base and stand)
6. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
7. กรวยกรอง (Hirsch funnel)
8. หลอดทดลอง (Test tube)
9. ตะแกรงวางหลอดทดลอง (Test tube rack)
10. ปิเปตต์ (Measuring pipette)
11. ลูกยางดูดสารเคมี (Rubber pipette bulb)
12. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
13. กรวยแยก (Separatory funnel)
14. ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
15. กระดาษกรอง (Filter paper)
16. เตาไฟฟ้า (Hot plate)
17. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette)
18. อะลูมิเนียมฟลอยด์ (Aluminium foil)
19. สติกเกอร์กระดาษ (Paper label)
20. ปากกาเคมี
21. 96 well microtiter plate
22. เพลส (Plate)
23. 6 mm paper disc
24. Loop
25. กระจกนาฬิกา (Watch glass)

สารเคมี

1. Distilled water
2. Sulphuric acid, H_2SO_4 ((A.R. grade) (QReC^{TM}, New Zealand)
3. Ethanol, C_2H_5OH, (A.R. grade) (Merck, Germany)

4. Lead (II) acetate, $(CH_3COO)_2$ $Pb•3H_2O$) (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
5. Sodium sulfate, Na_2SO_4), (A.R. grade) (Merck, Germany)
6. Formaldehyde, CH_2O (A.R. grade) (Carlo erba, Italy)
7. Ammonia solution, NH_3 (A.R. grade) (QReC^{TM}, New zealand)
8. Hydrochloric acid, HCl (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
9. Gelatin agar (Lab grade) (HiMedia Laboratories, India)
10. Potassium bromide, KBr (Ajax Finechem, Australia)
11. Potassium bromate, $KBrO_3$ (Panreac Quimica Sau, E.U.)
12. Ferric chloride or Iron (III) chloride hexahydrate, $FeCl_3$• $6H_2O$ (A.R. grade) (Merck, Germany)
13. Acetic acid, CH_3COOH) (A.R. grade) (Merck, Germany)
14. Mercuric (II) chloride, $HgCl_2$), (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
15. Cadmium iodide, CdI_2 (A.R. grade) (Sigma-aldrich, Spain)
16. Bismuth (III) nitrate, $Bi(NO_3)_3•5H_2O_2$, (A.R. grade) (Merck, Germany)
17. Ascorbic Acid, $C_6H_8O_6$, (A.R. grade) (Daejung, Korea)
18. Iodine, I_2, (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
19. Picric acid, $C_6H_3N_3O_7$, (A.R. grade) (USA)
20. Tannic acid, $C_{76}H_{52}O_{46}$, (A.R. grade) (Daejung, Korea)
21. Potassium iodide, KI, (A.R. grade) (Merck, Germany)
22. Sodium chloride, NaCl, (Lab grade) (Alpha chemika, USA)
23. 3,5-dinitrobenzoic acid), (A.R. grade) (Sigma-aldrich, Sweden)
24. Sodium hydroxide, NaOH), (A.R. grade) (Merck, Germany)
25. Dichloromethane, CH_2Cl_2), (A.R. grade) (Burdick & Jackson, Korea)
26. Potassium hydroxide, KOH), (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
27. Ether, $(C_2H_5)_2O$), (J.T. Baker, USA)
28. 3,5–dinitrosalicylic acid, $C_7H_4N_2O_7$, (A.R. grade) (Tokyo chemical Industry, Japan)
29. Sodium sulfite, Na_2SO_3 (Gammaco, Thailand)

30. Potassium sodium tartrate, $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$ (A.R. grade) (Sigma-aldrich, Spain)
31. Hydrogen peroxide, H_2O_2 (Ajax Finechem, Australia)
32. α-naphthol, $C_{10}H_7OH$ (Sigma-aldrich, USA)
33. Muller - Hinton broth (Himedia, India)
34. Muller - Hinton agar (Oxoid, United Kingdom)
35. Ampicilin (Oxoid, United Kingdom)
36. Norfox (Oxoid, United Kingdom)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อนตามหลักพฤกษศาสตร์

ตัดลำต้นของเถาเอ็นอ่อนที่โตเต็มที่ ซึ่งขึ้นอยู่ใน ป่าพื้นราบ อำเภอศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภูเมื่อวันที่ 12 สิงหาคม 2562 นำไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างพรรณไม้ที่คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม

2. การเตรียมสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

นำเถาเอ็นอ่อนสด ล้างทำความสะอาดนำมาลดขนาดด้วยการตัดเป็นชิ้นเล็ก ผึ่งลมให้แห้งจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิทอีกครั้ง แล้วนำไปหมักกับเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นเวลา 3 วัน และเขย่าขวดที่หมักสารวันละ 8 ชั่วโมง เมื่อครบ 3 วัน แล้ว กรองเอาแต่ของเหลว นำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศโดยใช้ความเร็วในการหมุน 90 rpm ที่อุณภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่เข้มข้นเก็บใส่ขวดทึบแสง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อไว้ใช้ในการทดสอบต่อไป

3. การวิเคราะห์กลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน ใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการเกิดตะกอน ดังนี้

3.3.1 การตรวจสอบกลุ่มสารแอนทราควิโนน (Antraquinones) ใช้วิธีการทดสอบของบอร์นทราเกอร์ (Borntrager's test) ชั่งสารสกัดเถาเอ็นอ่อน 0.2 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid, H_2SO_4) 10% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที แล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก และปล่อยที่อุณหภูมิห้องให้สารละลายเย็นลง นำสารละลายมาสกัดด้วยการเติมไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) 5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งไว้ให้แยกชั้น ดูดชั้น

คลอโรฟอร์มออกมาเติมสารละลายแอมโมเนีย (ammonia, NH_3) 10% จำนวน 3 หยด สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูแดง แสดงว่ามีแอนทราควิโนน

3.3.2 การตรวจสอบกลุ่มสารเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) ใช้การทดสอบของซาลโควสกี (Salkowski test) ชั่งสารสกัดเถาเอ็นอ่อน 0.2 กรัม สกัดสีออก ด้วยการเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าแล้ว ทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้น ดูดชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์ออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง แล้วเติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentrated H_2SO_4) จำนวน 5 หยด สารละลายเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อ แสดงว่ามีเทอร์พีนอยด์

3.3.3 การตรวจสอบกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ใช้การทดสอบของไคอาดินิน (Cyadinin test) ชั่งสารสกัดเถาเอ็นอ่อน 0.2 กรัม ละลายสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตัดลวดแมกนีเซียม (magnesium ribbon) ชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงไป 3 ชิ้น นำไปอุ่นในเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Concentrated HC1) จำนวน 5 หยด เขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีส้มแดง แสดงว่ามีฟลาโวนอยด์

3.3.4 การตรวจสอบกลุ่มสารซาโปนิน (Saponins) ใช้การทดสอบการเกิดฟอง (Frothing test) ชั่งสารสกัดเถาเอ็นอ่อน 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที นำมาเขย่าอย่างแรง สารละลายมีฟอง แสดงว่ามีซาโปนิน

3.3.5 การตรวจสอบกลุ่มสารแทนนิน (Tannins) ชั่งสารสกัดเถาเอ็นอ่อน 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที กรองเอาส่วนที่ไม่ละลายออก หยดสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 10% จำนวน 5 หยด ลงไปในของเหลวที่ได้จากการกรอง แล้วเขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงินดำ แสดงว่ามีแทนนิน

3.3.6 การตรวจสอบกลุ่มสารแอลคาลอยด์ (Alkaloids)ใช้การทดสอบของดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's test) ชั่งสารสกัดเถาเอ็นอ่อน 0.2 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 2% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที แล้วกรองเอาส่วนที่ไม่ละลายออก หยดน้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด แล้วเขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีส้มและมีตะกอน แสดงว่ามีแอลคาลอยด์ วิธีเตรียมน้ำยาดราเจนดอร์ฟ ชั่งโพแทสเซี่ยมไอโอไดด์ (potassium iodide) 16 กรัม บิสมัท (bismuth (III) nitrate) 0.85 กรัม ตวงน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ผสมทั้ง 3 เข้าด้วยกัน นำส่วนผสมที่ได้มา ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมกรดอซิติกปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร

3.3.7 การตรวจสอบกลุ่มสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides) โครงสร้างพื้นฐานของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์เป็นสารจาพวกสเตอรอยด์ มีสเตอรอยด์นิวเคลียส

(steroid nucleus) คาร์บอนตาแหน่ง 17 มีวงแหวนแลกโตนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated lactone ring) และมีน้ำตาลดีออกซี (deoxy-sugar) การทดสอบ ชั่งสารสกัดเถาเอ็นอ่อน 0.2 กรัม สกัดสีออกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าแล้ว ทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้น ดูดชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์ออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง ละลายสารสกัดด้วยเอทานอล 80% ปริมาตร 6 มิลลิลิตร แล้วแบ่งใส่หลอดทดลองออกเป็น 3 หลอด

1) หลอดที่ 1 ทดสอบสเตอรอยด์ (steroids) ด้วยวิธีการทดสอบของลีเบอร์แมน (Liebermann test) โดยเติมกรดแกลเชียลแอซีติก (glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentrated H_2SO_4) จำนวน 3 หยด สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงินและน้ำเงินเขียว แสดงว่ามีสเตียรอยด์

2) หลอดที่ 2 ทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด (Cardiac glycosides) ส่วนวงแหวนแลกโตนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated lactone ring) ด้วยการเติมน้ำยาเคดเด (Kedde reagent) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วง แสดงว่ามีส่วนวงแหวนแล็กโทน

3) หลอดที่ 3 ทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด (Cardiac glycosides) ส่วนน้ำตาลดีออกซี (deoxy-sugar) ด้วยวิธีการทดสอบของเคลเลอร์คิเลียนิ (Keller-Kiliani test) โดยเติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) จานวน 3 หยดลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนเป็นสีดา รินกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentrated H_2SO_4) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ให้ค่อย ๆ ไหลลงข้างหลอด สารละลายปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่ามีส่วนน้ำตาลดีออกซี (ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์, วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย, 2556, น.726)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี Disk diffusion และวิธี broth microdilution

4.1 การศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารสกัดเถาเอ็นอ่อน โดยวิธี Disk diffusion เชื้อที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* DMST 20646 (MRSA) และ *Streptococcus pyogenes* DMST 17020

1) นำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller – Hinton agar (MHA)

2) เตรียมเอทานอลร้อนละ 50 และสารสกัดเถาเอ็นอ่อน ให้มีความเข้มข้น 250,500และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3) นำสารละลายที่ปรับความเข้มข้นแล้ว ปริมาตร 30 ไมโครลิตร หยดลงบน parper disc ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางแผ่น paper disc ของสารสกัด เป็นเวลา 30 นาที

4) วางแผ่นยา Ampicillin และ Norfloxacin บนอาหาร MHA ที่มีเชื้อ

5) วาง Paper disc ของ เอทานอลร้อยละ 50 บนอาหาร MHA ที่มีเชื้อ

6) บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยใช้ Vernier caliper วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (Inhibition zone) รอบ paper disc

7) ทำซ้ำ 3 ครั้งต่อเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด

4.2. การศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารสกัดเฉาเอ็นอ่อน โดยวิธี broth microdilution method อ้างอิงตามวิธีของ Choi, J.-Y. *et al.* (2012)

ทำโดยบ่มเชื้อ ประมาณ $5x10^7$CFU/ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (Muller - Hinton broth, MHB) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.098 ถึง 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อข้ามคืนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จึงได้ผล Minimal Inhibitory Concentration (MIC) มา ซึ่งค่า MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มองเห็นได้ พิจารณาการยับยั้งเชื้อโดยการนำไปเทียบกับ well เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่สารสกัดเฉาเอ็นอ่อนหรือ well ควบคุม จากนั้นหาค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) โดยนำ well ที่ไม่เห็นการเจริญของเชื้อจากการหาค่า MIC มาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (MHA) หลังบ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง อ่านค่า MBC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทำให้ปริมาณเชื้อลดลง 99% กล่าวคือไม่พบโคโลนีเจริญบนอาหาร MHA

5. การตั้งตำรับและศึกษาความคงตัวทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเฉาเอ็นอ่อน

5.1 นำค่าความเข้มข้นของสารสกัดเฉาเอ็นอ่อน ที่สูงกว่าหรือเท่ากับ MBC มาตั้งตำรับเจล 4 สูตรตำรับ **ดังตารางที่ 2**

ตารางที่ 2 สูตรตำรับเจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

ส่วนประกอบ	หน้าที่ของส่วนประกอบ	ปริมาณที่ใช้ (กรัม)			
		สูตร 1	**สูตร 2**	**สูตร 3**	**สูตร 4**
สารสกัดเถาเอ็นอ่อน	Active ingredient	สูงกว่า MBC	สูงกว่า MBC	สูงกว่า MBC	สูงกว่า MBC
Carbomer940	สารก่อเจล	1	0.5	1	0.5
Glycerin	สารเพิ่มความชุ่มชื้น	5	-	5	-
Propylene glycol	สารเพิ่มความชุ่มชื้น	-	5	-	5
Triethanolamine	สารปรับ pH	qs to pH 7.0	qs to pH 7.0	qs to pH 7.0	qs to pH 7.0
Concentrated paraben	สารกันเสีย	0.5	0.5	0.5	0.5
Perfume	สารแต่งกลิ่น	qs	qs	qs	qs
Colorant	สารแต่งสี	qs	qs	qs	qs
DI Water	ตัวทำละลาย	93	93	93	93

ขั้นตอนการเตรียมตำรับเจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

1. ชั่งสารต่าง ๆปริมาณตามที่กำหนดไว้ในตารางที่ 2

2. โปรย Carbopol 940 ใน DI Water คนให้กระจายตัว ไม่เกาะเป็นก้อน เติม Triethanolamine ลงไปจนได้เจลใส วัด pH ให้ได้ประมาณ 5.5 – 6.5 ทิ้งไว้ให้พองตัวเต็มที่

3. เติมสารสกัดเถาเอ็นอ่อนลงไป คนให้เข้ากัน

4. เติมสารเพิ่มความชุ่มชื้น สารแต่งกลิ่น สารแต่งสี และสารกันเสียตามตำรับในตารางที่ 2

5. บรรจุเจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อนในขวดปิดสนิท

5.2 การทดสอบทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

นำเจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อนทุกตำรับมาเก็บไว้ในที่ร้อนสลับเย็น โดยเก็บไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 45 °C 24 ชั่วโมง และเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำเช่นนี้ 5 รอบ วัดคุณลักษณะทางกายภาพของเจลทุกตำรับโดยวัดก่อนและหลังเก็บในที่ร้อนสลับเย็น (ก่อนเริ่มรอบที่ 1 และหลังสิ้นสุดรอบที่ 5) ดังนี้

1. ความหนืด ตรวจวัดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer
2. pH ตรวจวัดด้วยเครื่อง pH meter
3. สี กลิ่น การแยกชั้น และการตกตะกอน ตรวจวัดโดยการสังเกต

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation)

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อนเป็นเภสัชภัณฑ์ใช้ทาภายนอกเฉพาะที่ โดยการนำสารสกัดเถาเอ็นอ่อนมาทดสอบหาสารสำคัญและศึกษาฤทธิ์ต้านเชื่อแบคทีเรียด้วยวิธีทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* DMST 20646 (MRSA) และ *Streptococcus pyogenes* DMST 17020 ในขั้นตอน Disk diffusion และ Broth dilution method ซึ่งผู้วิจัยได้นำสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของแบคทีเรียแล้วนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ เจลต้านเชื้อแบคทีเรียใช้ทาผิวภายนอกเมื่อทดสอบทางกายภาพแล้วจึงนำผลิตภัณฑ์เจลที่ได้ไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียในการต้านฤทธิ์อีกครั้งเพื่อเป็นการทดสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์

ผลการวิจัยวิจัย ดังนี้

1 ผลการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อน

2 ผลการสกัดของเถาเอ็นอ่อน

3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางพฤกษเคมีของเถาเอ็นอ่อน

4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของเถาเอ็นอ่อน

5 ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

1. ผลการตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อนตามหลักพฤกษศาสตร์

พบว่าตัวอย่างพืชสมุนไพรที่ผู้วิจัยเก็บมาจาก จ.หนองบัวลำภู เมื่อนำไปตรวจสอบกับตัวอย่างพรรณไม้ของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม เป็นพืชที่อยู่ในวงค์ Asclepiadaceae มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. (เมื่อย: ภาคกลาง, เถาเอ็นอ่อน: ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) และตรงกับตัวอย่างพรรณไม้หมายเลข MSU.PH-ASC-CB01 ของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ภาพที่ 5 ขั้นตอนการเตรียมสมุนไพรแห้ง ซ้าย : เถาเอ็นอ่อนสด กลาง : เถาเอ็นอ่อนที่ลดขนาด ขวา : การอบเถาเอ็นอ่อน

2. ผลการสกัดของเถาเอ็นอ่อน

ครั้งที่ 1 สมุนไพรอบแห้ง 500 กรัม หมักในเอทานอลร้อยละ50 3,500 มิลลิลิตร (1/7) ใส่เครื่องเขย่า 3 วัน วันละ 8 ชั่วโมง สารสกัดที่กรองแล้วได้ 2,500 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศ (rotary evaporator) จนได้สารสกัดที่เข้มข้น 3.5 g

ครั้งที่ 2 สมุนไพรอบแห้ง 402 กรัม หมักในเอทานอลร้อยละ50 2,835 มิลลิลิตร (1/7) ใส่เครื่องเขย่า 3 วัน วันละ 8 ชั่วโมง สารสกัดที่กรองแล้วได้ 2,000 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศ (rotary evaporator) จนได้สารสกัดที่เข้มข้น 3.0 กรัม ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการสกัดสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

ครั้งที่	น้ำหนักสมุนไพรอบแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	% yield
1	500	3.5	0.70
2	402	3	0.74

จากตารางที่ 3 พบว่ามี % yield ของครั้งที่ 1 และ 2 เท่ากับ 0.70 และ 0.74 ตามลำดับ

ภาพที่ 6 ขั้นตอนการสกัดสาร ซ้าย : การเขย่า, กลาง : สารสกัดที่กรองแล้ว ขวา : การระเหยสารสกัด

3. ผลวิเคราะห์กลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน ใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการเกิดตะกอน ดังนี้ 1. กลุ่มสารแอนทราควิโนน (Antraquinone) 2. กลุ่มสาร เทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) 3.กลุ่มสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) 4. กลุ่มสารซาโปนิน (Saponin) 5. กลุ่มสารแทนนิน (Tannin) 6. กลุ่มสารแอลคาลอยด์ (Alkaloid) และ 7. กลุ่มสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycoside) **ดังตารางที่ 4**

ตารางที่ 4 ผลวิเคราะห์กลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

ตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญ	ก่อน	หลัง	ผลการตรวจสอบ	ผลที่ได้
1.กลุ่มสารแอนทราควิโนน (Antraquinone)			ไม่มีการเปลี่ยนสีเป็นสีชมพู	-
2.กลุ่มสาร เทอร์พีนอยด์ (Terpenoid)			เกิดวงแหวนสีน้ำตาลชัดเจน	+
3.กลุ่มสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)			เกิดสีส้มแดง	+
4.กลุ่มสารซาโปนิน (Saponin)			เขย่าให้เกิดฟองทิ้งไว้ 30 ฟองยังอยู่แสดงว่ามีซาโปนิน	+
5.กลุ่มสารแทนนิน (Tannin)			เกิดตะกอนสีส้ม	+
6.กลุ่มสารแอลคาลอยด์ (Alkaloid)			เกิดสีน้ำเงิน	+
7. กลุ่มสารคาร์ดิแอกไกลโคไวด์ (Cardiac glycoside)				

ตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญ	ก่อน	หลัง	ผลการตรวจสอบ	ผลที่ได้
7.1 สารสเตอร์รอยด์ (Steroids)			ไม่เกิดสีแต่เกิดการแยกชั้นของสาร	-
7.2 วงแหวนแลกโตนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated lactone ring)			ไม่เกิดสีและไม่เกิดการแยกชั้น	-
7.3 น้ำตาลดีออกซี (deoxy-sugar))			เกิดวงแวนสีน้ำเงินชัดเจน	+

หมายเหตุ - ไม่เกิดผล (ตรวจไม่พบ)

\+ เกิดผล (ตรวจพบ)

จากตารางที่ 4 พบว่าผลทดสอบกลุ่มสารพฤกษสาสตร์ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน มีสารสำคัญดังนี้ กลุ่มสารเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) กลุ่มสารฟาโวนอยด์ (Flavonoids) กลุ่มสารซาโปนิน (Saponin) กลุ่มสาร แทนนิน (Tannin) และกลุ่มสารอัลคาลอยด์ (Alkaloid)

4. ผลทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี Disk diffusion และวิธี Broth microdilution

4.1 ผลการศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง 4 ชนิด ต่อสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี Disk diffusion ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลผิวหนัง 4 ชนิดต่อสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี Disk diffusion

เชื้อแบคทีเรีย	Inhibition zone (มิลลิเมตร)					
	สารสกัดความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			Norfloxacin	Ampicillin	Negative control (เอทานอลร้อยละ50)
	250	500	1000			
Staphylococcus aureus DMST 8840	-	-	-	14 .00 ± 1.73	25.00 ± 1.00	-
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	-	6.33 ± 0.58	11.33 ± 4.93	18.33 ± 1.53	8.00 ± 3.46	-
Streptococcus pyogenes DMST 17020	-	-	18.67 ± 0.58	18.67 ± 1.53	26.67 ± 18.15	-
MRSA DMST 20646	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ - ไม่เกิด Inhibition Zone

จากตารางที่ 5 พบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน โดยวิธี Disk diffusion มีความเข้มข้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนแสดง Inhibition zone ต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 คือ 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 6.33 ± 0.58 และ 11.33 ± 4.93 ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 18.67 ± 0.58

4.2 ผลการศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดซึ่งเป็นสาเหตุแผลผิวหนังต่อสารสกัดเถาเอ็นอ่อน โดยวิธี broth microdilution method แสดงเป็นค่า MIC และ MBC

ตารางที่ 6 ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนต่อเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดซึ่งเป็นสาเหตุของแผลผิวหนัง โดยวิธี Broth dilution method

เชื้อแบคทีเรีย	**MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)**	**MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)**
Staphylococcus aureus DMST 8840	125	มากกว่า 250
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	62.5	มากกว่า 250
Streptococcus pyogenes DMST 17020	250	มากกว่า 250
MRSA DMST 20646	31.25	มากกว่า 250

จากตารางที่ 6 พบว่าผลการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, *Streptococcus pyogenes* DMST 17020 และ MRSA DMST 20646 มีค่าท่ากับ 125, 62.5, 250, และ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ความเข้มข้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, *Streptococcus pyogenes* DMST 17020 และ MRSA DMST 20646 มีค่ามากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อแบคทีเรียทุกชนิด

5 ผลการตั้งตำรับและศึกษาความคงตัวทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

5.1 ผลการตั้งตำรับผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

นำค่าความเข้มข้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน ที่สูงกว่าหรือเท่ากับ MBC มาตั้งตำรับเจล 4 สูตรตำรับ **ดังตารางที่ 7**

ตารางที่ 7 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

ส่วนประกอบ	ปริมาณ 100 (กรัม)			
	สูตร 1	**สูตร 2**	**สูตร 3**	**สูตร 4**
สารสกัดเถาเอ็นอ่อน	0.5	0.5	0.5	0.5
Carbomer 940	1	1	0.5	0.5
Glycerin	5	-	5	-
Propylene glycol	-	5	-	
Triethanolamine	qs	qs	qs	qs
Concentrated paraben	0.5	0.5	0.5	0.5
Perfume	qs	qs	qs	qs
Colorant	qs	qs	qs	qs
DI Water	93	93	93	93

จากตารางที่ 7 พบว่าสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 ที่เติม Carbomer 940 1% และสูตรที่ 3 สูตรที่ 4 เติม Carbomer 940 0.5% สูตรที่ 1 สูตรที่ 3 เติม Glycerin สูตรที่ 2 สูตรที่ 4 เติม Propylene glycol จากสูตรตำรับ 4 สูตรในตาราง สูตรที่ 1 และสูตรที่ 3 มีความหนืดมากกว่าสูตรที่ 2 และสูตรที่ 4

5.2 ผลทดสอบทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

ผลทดสอบทางกายภาพของเจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อนด้วยวิธี freeze thaw cycling จำนวน 5 รอบ วัดค่าความหนืด pH และสีของผลิตภัณฑ์ ก่อนและหลัง freeze thaw cycling ผลที่ได้ **ดังตารางที่ 8**

ตารางที่ 8 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

สูตรที่	ค่าความหนืด (mean ± SD)		ค่า pH		สี	
	ก่อน (cP)	**หลัง** (cP)	**ก่อน**	**หลัง**	**ก่อน**	**หลัง**
1	56,600±798.9994	46,320±2,595.997	6.243±0.153	6.207±0.057	เขียวเข้ม	เขียวเข้ม
2	31,480±499.5998	33,040±249.7999	6.593±0.080	6.457±0.006	เขียวเข้ม	เขียวเข้ม
3	ND	ND	6.637±0.040	6.410±0.010	เขียวเข้ม	เขียวเข้ม
4	ND	ND	6.293±0.666	6.357±0.035	เขียวเข้ม	เขียวเข้ม

หมายเหตุ ND ไม่สามารถวัดความหนืดได้

จากตารางที่ 8 ผลการวัดความหนืดพบว่าสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีค่าความหนืดก่อนทำ freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 56,600±798.9994 และ 31,480±499.5998 ตามลำดับ

และหลัง freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 46,320±2,595.997 และ 33,040±249.7999 ตามลำดับ แต่สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 ไม่สามารถวัดค่าความหนืดได้เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีความหนืดน้อยมาก

ผลการวัดค่า pH พบว่าสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 ก่อนทำ freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 6.243±0.153, 6.593±0.080, 6.637±0.040 และ 6.293±0.666 ตามลำดับ และหลังการทำ freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 6.207±0.057, 6.457±0.006, 6.410±0.010 และ 6.357±0.035 ตามลำดับ

สีของผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 ตำรับมีสีเขียวเข้ม เมื่อนำไป freeze thaw cycling ผลที่ได้สีไม่จางลง

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การพัฒนาตำรับเจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย มี

วัตถุประสงค์การวิจัย

(1) เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

(2) เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน และ

วิธีดำเนินการวิจัย

(1) ตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อนตามหลักพฤกษศาสตร์

(2) การเตรียมสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

(3) การวิเคราะห์กลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

(4) การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี Disk diffusion และวิธี broth microdilution

(5) การตั้งตำรับและศึกษาความคงตัวทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากเถาเอ็นอ่อน

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้พบว่า

1. การตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อนตามหลักพฤกษศาสตร์โดยตัดลำต้นของเถาเอ็นอ่อนที่โตเต็มที่ นำไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างพรรณไม้ที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม ตรงกับตัวอย่างพรรณไม้หมายเลข MSU.PH-ASC-CB01 ของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2. การสกัดสารสกัดเถาเอ็นอ่อนทำซ้ำ 2 ครั้งจนได้สารสกัดที่เข้มข้นที่มีลักษณะเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้มครั้งที่ 1 สมุนไพรอบแห้ง 500 กรัม หมักในเอทานอลร้อยละ 50 ปริมาตร 3,500 มิลลิลิตร ใส่เครื่องเขย่า 3 วัน วันละ 8 ชั่วโมง สารสกัดที่กรองแล้วได้ 2,500 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (rotary evaporator) จนได้สารสกัดที่เข้มข้น 3.5 กรัม ครั้งที่ 2 สมุนไพรอบแห้ง 402 กรัม หมักในเอทานอลร้อยละ 50 ปริมาตร 2,835 มิลลิลิตร ใส่เครื่องเขย่า 3

วัน วันละ 8 ชั่วโมง สารสกัดที่กรองแล้วได้ 2,000 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศ (rotary evaporator) ได้สารสกัดที่เข้มข้น 3.0 กรัม รวมการสกัด 2 ครั้งได้สารสกัดเถาเอ็นอ่อน 6.5 กรัม ซึ่งมีร้อยละผลผลิตของสารสกัด (% yield) เท่ากับ 0.70 และ 0.74 ตามลำดับ

3. การตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน จากการนำสารสกัดมาตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น พบว่ามีกลุ่มสารสำคัญคือ กลุ่มสารเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) กลุ่มสารฟาโวนอยด์ (Flavonoids) กลุ่มสารซาโปนิน (Saponin) กลุ่มสารแทนนิน (Tannins) และกลุ่มสารแอลคาลอยด์ (Alkaloids)

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน จากการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าสารสกัดมีความหนืดเกินไปจึงทำให้ค่าที่ได้ไม่สัมพันธ์กับผลจากการศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อนโดยวิธี broth microdilution method ต่อเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด อ้างอิงตามวิธีของ Choi, J.-Y., *et al.* (2012) ความเข้มข้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840*, Staphylococcus epidermidis* DMST 15505*, Streptococcus pyogenes* DMST 17020 และ MRSA มี ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 125, 62.5, 250 และ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ความเข้มข้นของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840*, Staphylococcus epidermidis* DMST 15505*, Streptococcus pyogenes* DMST 17020 และ MRSA มีค่าเฉลี่ยมากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต้านเชื้อแบคทีเรีย

ผลการวัดความหนืดของเจลพบว่าสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีค่าร้อยละความหนืดก่อนทำ freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ 56,600±798.9994 และ 31,480±499.5998 ตามลำดับ และหลัง freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ 46,320±2,595.997 และ 33,040±249.7999ตามลำดับ แต่สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 ไม่สามารถวัดค่าความหนืดได้เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีความหนืดน้อยมาก

ผลการวัดค่า pH ของเจลพบว่าสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 มีค่าpH ก่อนทำ freeze thaw cycling อยู่ที่ 6.243±0.153, 6.593±0.080, 6.637±0.040 และ6.293±0.666 หลังการทำ freeze thaw cycling มีค่า pH อยู่ที่ 6.207±0.057, 6.457±0.006, 6.410±0.010 และ 6.357±0.035 ตามลำดับ

สีของเจลทุกตำรับก่อนและหลัง freeze thaw cycling พบว่าไม่เปลี่ยนสี

จากผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพเบื้องต้นของเจลทั้ง 4 ตำรับ พบว่าทั้ง 4 สูตร สูตรที่ดีที่สุดคือสูตร 2 เพราะหลังการทำ freeze thaw cycling เจลสูตรที่ 2 มีค่า pH

อยู่ที่ 6.457±0.006 ซึ่งมีคุณลักษณะซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของ มอก.478-2555 กล่าวคือมีค่า pH อยู่ที่ 3.5-7.5 อีกทั้งมีความหนืดเหมาะสม และมีสีสม่ำเสมอ

อภิปรายผล

1. การตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์ของเถาเอ็นอ่อนตามหลักพฤกษศาสตร์ พบว่าตรงกับตัวอย่างพรรณไม้หมายเลข MSU.PH-ASC-CB01 ของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2. ผลของการสกัดสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

ได้ร้อยละผลผลิตของการสกัดเฉลี่ย 2 ครั้งเท่ากับ 0.72 ทั้งนี้ผู้วิจัยใช้เอทานอลร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายในการสกัดเช่นเดียวกับงานวิจัยของ ทัศนีย์ วังศรีมงคล.(2549) ซึ่งศึกษาศักยภาพในแง่ด้านฤทธิ์ต้านการอักเสบของเถาเอ็นอ่อนและเถาวัลย์เปรียงที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50

3.การตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

จากการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดเถาเอ็นอ่อน พบว่ามีกลุ่มสารสำคัญ คือสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์(Flavonoids) สารกลุ่มซาโปนิน (Saponin) สารกลุ่มแอลคาลอยด์(Alkaloids) และสารกลุ่มแทนนิน (Tannins) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Duta *et al.* (1978) และ Duta *et al.* (1980) ที่ได้พบสาร buchananine (6-O-trinicotinoyl-α-D-glucopyranose) และ 1,3,6-O-trinicotinoyl-α-D-glucopyranose ในสารสกัดหยาบเถาเอ็นอ่อน ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม Alkaloid และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vinayaka *et al.* ซึ่งทำการสกัดเถาเอ็นอ่อนด้วย methanol และน้ำ และพบสารพฤกษเคมีกลุ่ม Saponins, Alkaloids และ Tannins ในสารสกัดดังกล่าว

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดที่เป็นสาเหตุของแผลผิวหนัง ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840*, Staphylococcus epidermidis* DMST 15505*, Streptococcus pyogenes* DMST 17020 และ MRSA มีค่าเท่ากับ 125, 62.5, 250 และ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840*, Staphylococcus epidermidis* DMST 15505*, Streptococcus pyogenes* DMST 17020 และ MRSA มีค่ามากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อแบคทีเรียทุกชนิด ผลการวิจัยที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sittiwet และ Puangpronpitag (2009) ซึ่งศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดของใบเถาเอ็นอ่อนที่สกัดด้วยน้ำ ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุ

ให้อาหารบูดเสีย เช่น *Staphylococcus aureus* DMST 8840 และ *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505ในหลอดทดลอง และพบว่าสารสกัดหยาบส่วนน้ำของใบเถาเอ็นอ่อนขนาด 500 กรัมต่อลิตรมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุด

5. ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

ผลการวัดความหนืดของเจลพบว่าสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีค่าร้อยละความหนืดก่อนทำ freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ 56,600±798.9994 และ 31,480±499.5998 ตามลำดับ และหลัง freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ 46,320±2,595.997 และ 33,040±249.7999ตามลำดับ แต่สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 ไม่สามารถวัดค่าความหนืดได้เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีความหนืดน้อยมาก

จากการวัดค่า pH ของเจลสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 ก่อนทำ freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ที่ 6.243±0.153, 6.593±0.080, 6.637±0.040 และ 6.293±0.666 ตามลำดับ และหลังการทำ freeze thaw cycling มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ที่ 6.207±0.057, 6.457±0.006, 6.410±0.010 และ 6.357±0.035 ตามลำดับ ซึ่งตามข้อกำหนดของ มอก.478-2555 กำหนดให้ผลิตภัณฑ์เจลสำหรับผิว มีค่า pH อยู่ที่ 3.5-7.

สีของผลิตภัณฑ์เจลทั้ง 4 ตำรับมีสีเขียวเข้ม เมื่อนำไป freeze thaw cycling ผลที่ได้สีไม่จางลง

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการพัฒนาตำรับเจลเพิ่มขึ้น โดยใช้สารก่อเจลหลากหลายชนิด

ควรมีการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของแผลผิวหนัง ของผลิตภัณฑ์เจลที่พัฒนาขึ้น

ข้อเสนอแนะครั้งต่อไป

ควรมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดเถาเอ็นอ่อนในรูปแบบอื่นๆ เช่น สเปรย์ ขี้ผึ้ง และครีม

บรรณานุกรม

กวิน บุญฌายานนท์ และเทพฤทธิ์ ทองสุกมาก. (2553). **การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุด**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2557). **ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร "เถาเอ็นอ่อน** (ออนไลน์). เข้าถึงจาก: www.thaicrudedrug.com.สรรพคุณและประโยชน์ของเถาเอ็นอ่อน.

ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. (2547). **การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหย**. ทุนอุดหนุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ หน้า 34.

ณิชากร เจริญกุลม, หทัยรัตน์ ริมคีรี, เพ็ญขวัญ ชมปรีดา, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์ และชื่นจิตร แจ้งเจนกิจ. (2547). **การพัฒนาเจลทาสิวที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยจีน**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 หน้า 481-487.

ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม. **ยกเลิกมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เครื่องสำอาง : ครีมและโลชันทาผิว และกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ทาบำรุงผิว**. (2555, 14 ธันวาคม). ราช กิจจานุเบกษา. เล่ม 129 ตอนพิเศษ 188 ง.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2557). **หนังสือสมุนไพรในอุทยานแห่งชาติภาคเหนือ** (พิมพ์ครั้งที่ 5). นนทบุรี : ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทย หน้า 120.

ภัทรชัย กีรติสิน. (2552). **ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์** (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.

ยลดา ศรีเศรษฐ์, กนกวรรณ จารุกำจร และวรัญญา จตุพรประเสริฐ. (2560). ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเถาเอ็นอ่อน. **วรสารเภสัชศาสตร์อีสาน**. *13*(1) หน้า 1-10.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. (2538). **หนังสือพจนานุกรมสมุนไพรไทย** (พิมพ์ครั้งที่ 5). "เถาเอ็นอ่อน" กรุงเทพฯ: รวมสาส์น หน้า 354.

วิทยา บุญวรพัฒน์. (2554). **หนังสือสารานุกรมสมุนไพรไทย-จีน ที่ใช้บ่อยในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : สมาคมศาสตร์การแพทย์แผนจีนในประเทศไทย.

วิศิษฎ์ ตั้งนภากร, ธงชัย กีรติหัตยากร, ภานุวัฒน์ ปานเกตุ และกิตติพงษ์ เกิดฤทธิ์. (2559). **เอกสารความรู้ผู้ดำเนินการสปาเพื่อสุขภาพ** (พิมพ์ครั้งที่ 1).กรุงเทพฯ:กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ กระทรวงสาธารณสุข หน้า132-136.

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์, วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย. (2556). การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดา. **วารสารวิทยาศาสตร์ มข**. *41*(3), 723-730.

สมบูรณ์ เจตลีลา และวารี ลิมป์วิกรานต์. (2557). **ผลิตภัณฑ์สมุนไพร ตอนที่ 3 บทความเผยแพร่ความรู้สู่ประชาชน**. ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล หน้า 252.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิตและวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์. (2556). **แบคทีเรียทางการแพทย์** (พิมพ์ครั้งที่ 3) กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า 30-119.

Akinjogunla O. J., Adegoke A. A., Mboto C. I., Chukwudebelu I. C. and Udokang I. P. (2009). Bacteriology of automobile accident wounds infection. **International Journal of Medicine and Medical Sciences**, 1(2), 023-027.

Choi, J.-Y., Damte, D., Lee, S.-J., Kim, J.-C. & Park, S.-C. (2012). Antimicrobial Activity of Lemongrass and Oregano essential oil against standard antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and field isolates from chronic mastitis cow. **International Journal of Phytomedicine**, 4 (1), 134-139.

Dutta SK., Sharma BN and Sharma PV. (1978). Buchananine, a novel pyridine Alkaloid from *Cryptolepis buchanani*. **Phytochemistry**, 17, 2047-2048.

Dutta SK., Sharma BN and Sharma PV. (1980). A new nicotinoyl glucoside from *Cryptolepis buchanani*. **Phytochemistry**, 19, 1278.

Hanprasertpong N, Teekachunhatean S., Chaiwongsa R., Ongchai S., Kunanusorn P., Sangdee C., Panthong A., Bunteang S., Nathasaen N., Reutrakul V. (2014). Analgesic Anti-Inflammatory and Chondroprotective Activities of *Cryptolepis buchanani* Extract: In Vitro and In Vivo Studies. **BioMed research international**. 2014, 1-8.

Laupattarakasem P., Wangsrimongkol T., Surarit R. and Hahnvajanawong C. (2006). In vitro and in vivo anti-inflammatory potential of *Cryptolepis buchanani*. **Journal of Ethnopharmacology**, *108*(3), 349-354.

Laupattarakasem, P., Wangsrimongkol, T., Surarit, R., & Hahnvajanawong, C. (2006). *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory potential of *Cryptolepis buchanani*. **Journal of ethnopharmacology**, 108(3), 349–354.

Purushothaman KK., Vasanth S, Comnolly JD and Rycroft DS. (1988). New sarverogenin and isosarverogenin in glycoside from *Cryptolepis buchanani* (Asclepiadaceae). **Journal of the Mexican Chemical Society 1988**; 19: 28-31.

Rao, VR., Banning, JW. (1990). Interactions of cryptosin with mammalian cardiac beta-adrenoceptors. **Drug and chemical toxicology**, 2-3, 173–194.

Shah BB., Khare MP. *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult., a new source of sarmentogenin. **Journal of Nepal Chemical Society 1981**; 1: 103-107.

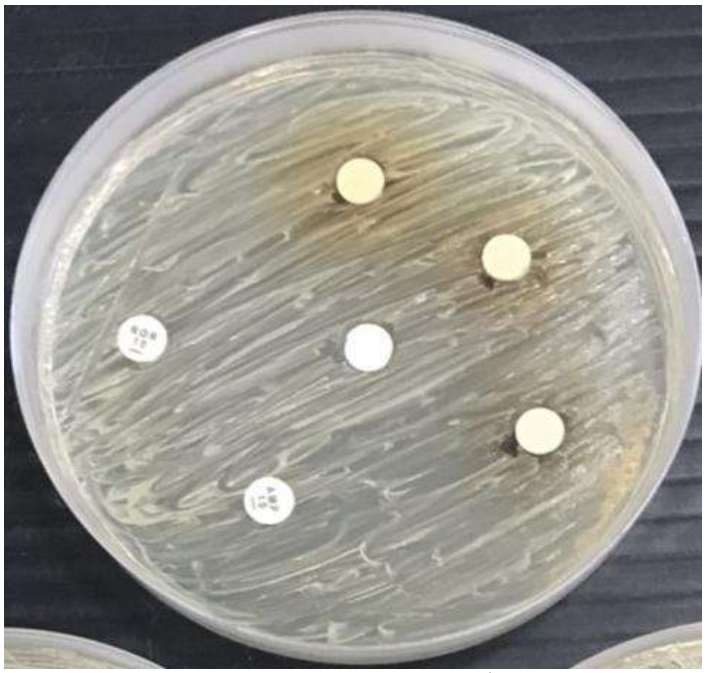
Sittiwet C., Puangpronpitag D. Anti-bacterial of *Cryptolepis buchanani* Aqueous extract. **International Journal of Biological Chemistry 2009**; 3(2): 90-94.

Venkateswara R., Narenda N. Viswamitra MA. Vaidyanathan CS. Cryptosin-a new cardenolide in tissue culture and intact plants of *Cryptolepis buchanani* Roem.& Schult. **Plant Cell Reports 1987**; 6: 193-291.

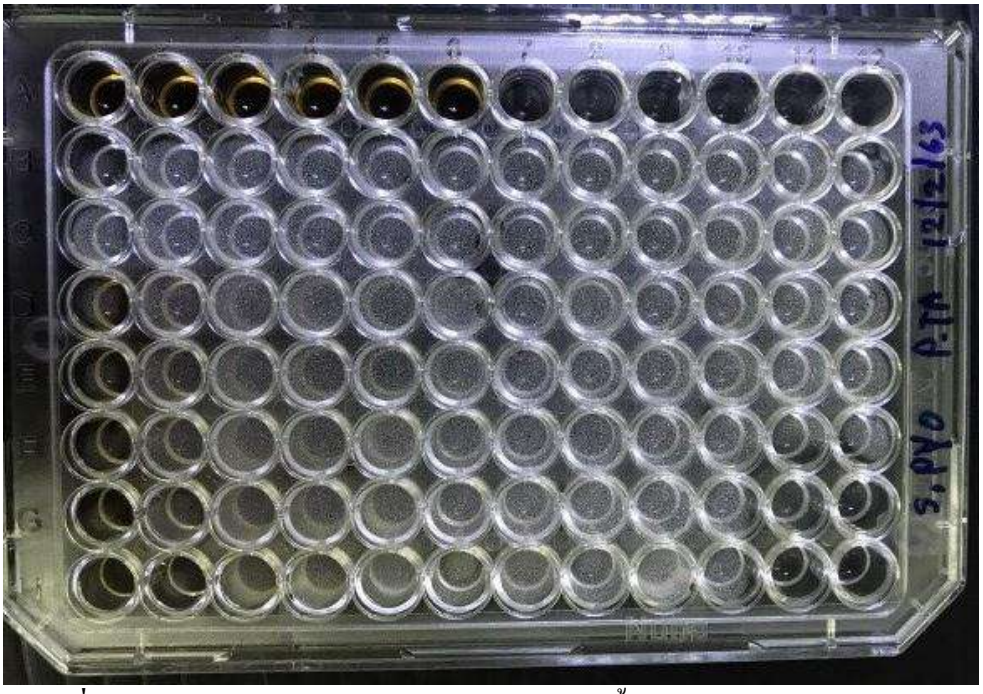
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตัวอย่างภาพการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disc diffusion และ Broth microdilution



ภาพที่ 7 Inhibition zone ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*



ภาพที่ 8 การหาค่า MIC ของสารสกัดเถาเอ็นอ่อนต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ด้วยวิธี Broth microdilution

ภาคผนวก ข
ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อน

ภาพที่ 9 เจลสารสกัดเถาเอ็นอ่อนทั้ง 4 ตำรับ

ภาคผนวก ค

เอกสารการตอบรับบทความวิจัย

มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น
WESTERN UNIVERSITY
๖๐๐ ตำบลสระลงเรือ อำเภอห้วยกระเจา จังหวัดกาญจนบุรี ๗๑๑๗๐
๖๐๐ SRALONGRUA, HUAYKRACHAO, KANCHANABURI ๗๑๑๗๐
TEL. ๐-๓๕๖๔-๔๐๐๐ FAX. ๐-๓๕๖๔-๑๑๔๔ http://www.western.ac.th

ที่ มท.๐๓๐๐/ว.๘๔๕/๒๕๖๓

๓๑ ตุลาคม ๒๕๖๓

เรื่อง รับรองการส่งบทความเข้าร่วมนำเสนอในการประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ ๑๗

เรียน นางสาวอรารีวี สลิตจำรูญศักดิ์

ตามที่มหาวิทยาลัยเวสเทิร์นร่วมกับสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเอเชียอาคเนย์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร สถาบันเทคโนโลยีแห่งสุวรรณภูมิ มหาวิทยาลัยเนชั่น วิทยาลัยนอร์ทเทิร์นและเครือข่ายวิจัยประชาชื่น ได้จัดการประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ ๑๗ ในวันเสาร์ที่ ๒๘ และวันอาทิตย์ที่ ๒๙ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๖๓ เวลา ๐๘.๓๐ - ๑๗.๐๐ น. ณ อาคารคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น วิทยาเขตวัชรพล นั้น

ในการนี้มหาวิทยาลัยเวสเทิร์นในฐานะผู้จัดงานขอรับรองว่าบทความเรื่อง การพัฒนาตำรับเจลต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเถาเอ็นอ่อน ได้ผ่านการพิจารณาให้เข้าร่วมนำเสนอในการประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ ๑๗ และจะได้ลงตีพิมพ์ ในเอกสารรวบรวมบทความต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัครดา เกิดประทุม)
รองอธิการบดี

สำนักวิจัยและบริการวิชาการ
โทรศัพท์. ๐-๒๕๖๓-๕๒๕๒ ต่อ ๕๐๑๗

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – นามสกุล	อรวรีว์ สลิตจำรูญศักดิ์
วันเดือนปีเกิด	9 กันยายน 2514
สถานที่เกิด	จังหวัดชลบุรี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	2/2 ซ. รัชดาภิเษก 5 ถ. รัชดาภิเษก (ท่าพระ) แขวงดาวคะนอง เขต ธนบุรี กทมฯ 10600
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลาย จากศูนย์การศึกษานอกโรงเรียนเขตบางกอกใหญ่ กรุงเทพมหานคร ปีการศึกษา 2550 ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (แพทย์แผนไทย) จากมหาวิทยาลัยรามคำแหง ปีการศึกษา 2552 ปริญญาโท ศึกษาศาสตรมหาบัณฑิต (สุขศึกษา) จากมหาวิทยาลัยรามคำแหง ปีการศึกษา 2559
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ธุรกิจส่วนตัว