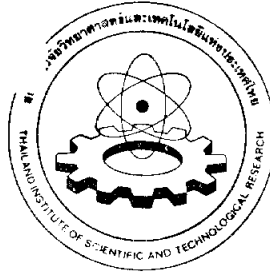




RP1986/759-3

Pharmaceuticals from
medicinal plants:



ภ. 25-11/รายงานฉบับที่ 2

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

การศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดแสดงฤทธิ์
จากสมุนไพรข่าลิง *Alpinia conchigera* Griff.

โดย

ศศิธร วสุวัต

พุทธรินทร์ วรรณิสสร

วิไลพร เข้มขำ

ทวีศักดิ์ สุนทรธนาศาสตร์

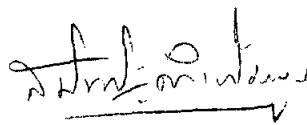
บัทมา สุนทรสารทูล

อรุบล โชติหงส์

วท., กรุงเทพฯ ๖ 2529
ไม่พิมพ์เผยแพร่

รายงานฉบับนี้ได้รับการอนุมัติให้พิมพ์โดย

ผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



(ศาสตราจารย์พิเศษ ดร.สมิทธิ์ คำเพิ่มพูล)

ผู้ว่าการ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ. 25-11

โครงการ วิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมยาจากสมุนไพร

รายงานฉบับที่ 2

การศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดแสดงฤทธิ์
จากสมุนไพรข่าลิง *Aciporia conchigera* Griff.

โดย

ศศิธร วสุวัต

พุทธรินทร์ วรณิสสร

วิไลพร แหม่ช้าง

ทวีศักดิ์ สุนทรธนะสาร

ปัทมา สุนทรสารทูล

อรุบล โชติพงษ์

วท., กรุงเทพฯ 2529

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	ก
ABSTRACT	1
บทคัดย่อ	2
คำนำ	3
อุปกรณ์และวิธีการ	4
ก. การสกัดและการทดสอบความสามารถของตัวยาสกัดในการ ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ	4
ข. การทดสอบอาการระคายเคืองเบื้องต้น (test of primary irritation) ของครีมน้ำมันข่าลิ้ง 3%	7
ค. การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน และ approximate lethal dose ของน้ำมันข่าลิ้ง	8
ผลการทดลอง	9
สรุป วิจารณ์ และเสนอแนะ	18
กิตติกรรมประกาศ	20
เอกสารอ้างอิง	20

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. ผลการวิเคราะห์สเมิไพร์ฆ่าลิ่ง (% กรัมจากน้ำหนักแห้ง)	9
ตารางที่ 2. ผลผลิตของสารสกัดแสดงฤทธิ์จากฆ่าลิ่ง	9
ตารางที่ 3. ผลของยาสกัดจากเหง้าฆ่าลิ่งในความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อ จุลินทรีย์ทดสอบ	10
ตารางที่ 4. ผลของ Condensate ในความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจุลินทรีย์ทดสอบ	10
ตารางที่ 5. ผลการยับยั้งความเจริญของจุลินทรีย์ของครีมฆ่าลิ่งสกัด Inhibition zone (cm)	11
ตารางที่ 6. ผลของครีมฆ่าชนิดต่าง ๆ ต่อเชื้อแบคทีเรีย	12
ตารางที่ 7. ผลการยับยั้งเชื้อราของครีมฆ่าลิ่งสกัด	12
ตารางที่ 8. แสดงผลการทดลองการศึกษากการก่อให้เกิดอาการระคายเคือง เบื้องต้นของครีมน้ำมันฆ่า 3% ต่อผิวหนังกระต่าย	13

บทนำ

โครงการศึกษาคัดสมมติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคของสมุนไพรฆ่าต่าง ๆ นี้ เป็นโครงการย่อยในโครงการสมุนไพรฆ่าเชื้อโรค ของสาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (สวก.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ได้เริ่มโครงการตั้งแต่ปี พ.ศ. 2521. เนื่องจากประเทศไทยต้องสั่งยามาฆ่าเชื้อโรคต่าง ๆ รวมทั้งยาปฏิชีวนะจากต่างประเทศ ปีละมากกว่า 500 ล้านบาท (C.I.F.), สวก.จึงศึกษาสมุนไพรฆ่าเชื้อโรคเพื่อคัดเลือกสมุนไพรที่มีผลในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราได้ดีมาพัฒนาใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมผลิตยามาฆ่าเชื้อโรคที่เหมาะสม อันจะเป็นการช่วยลดการสั่งยาจากต่างประเทศได้บางส่วน.

การศึกษาประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อโรคของฆ่าในขั้นต้น ให้ผลเป็นที่น่าสนใจมาก. จากการศึกษายา 3 ชนิด คือ ข่าแกง, ข่าป่า และข่าลิง พบว่าข่าลิงมีผลในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า ข่าแกงและข่าป่า. จึงได้ทำการวิจัยศึกษาถึงผลที่มีทั้งต่อเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราเพื่อรวบรวมผลข้อมูลต่าง ๆ ให้เพียงพอแก่การพิจารณาความเหมาะสมในการนำสมุนไพรฆ่าข่าลิงมาพัฒนาให้เกิดอุตสาหกรรมยาที่เหมาะสมต่อไป, อันจะมีผลกระทบในทางส่งเสริมอาชีพปลูกข่าลิงเพื่อเป็นวัตถุดิบทางยาได้.

PHARMACOLOGICAL STUDY ON THE ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY
OF ACTIVE PRINCIPLES FROM *Alpinia conchigera* GRIFF.

By Sasithorn Wasuwat, Puttarin Vannissorn, Wilaiporn Chamchaang,
Taweesak Suntornatanasat, Pattama Soontornsaratune and Arubol Chotippong

ABSTRACT

The 70% ethanol Alpinia conchigera extract at the minimum inhibitory concentration (MIC) of 20-50 milligrams/millilitre inhibited Staphylococcus aureus and at the concentration of 15-25 milligrams/disc inhibited bacterial growth of 10-15 mm with similar effectiveness comparing with chloramphenicol (30 ug/disc) and ampicillin (10 ug/disc). This extract had no inhibitory effect on fungi.

Distilled conchigera oil possessed antifungal property against Trichophyton mentagrophytes, Microsporum gypseum and Epidermophyton floccosum, among which the maximum inhibition was to E. floccosum at the minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.07-0.1% in similar effectiveness comparing with Canesten[®] (Bayer) as control.

Distilled conchigera oil had low acute toxicity with approximate lethal dose of 10.7 grams per kg body weight when administered in single-dose orally to mice.

The study of 3% distilled conchigera oil cream, formulated by using PNP-1 cream base, determined by Serial Dilution Method was better than Punch Test Method.

It was noted that 3% distilled conchigera oil cream had no dermal irritation in rabbits.

การศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดแห้ง
จากสมุนไพรข่าลิง *Alpinia conchigera* Griff.

โดย ศศิธร วสุวัต*, พุทธิรินทร์ วรณิสสร*, วิไลพร แซ่มช้าง*, ทวีศักดิ์ สุนทรอนศาสตร์*,
ปัทมา สุนทรการทูล* และ อรุณ โชติพงษ์*

บทคัดย่อ

สารสกัดจากข่าลิงด้วย 70% ethanol ที่ความเข้มข้น (MIC) 20-50 มิลลิกรัม/
มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ชนิด Staphylococcus aureus
ได้, และที่ความเข้มข้น 15-25 mg/disc ยับยั้งเชื้อได้ 10-15 mm. เปรียบเทียบ
ได้ใกล้เคียงกับ Chloramphenical 30 µg/disc และ Ampicillin 10 µg/disc.
สารสกัดนี้ไม่มีผลต่อเชื้อรา.

น้ำมันข่าลิงมีผลยับยั้งเชื้อรา Trichophyton mentagrophytes, Microsporum
gypseum และ Epidermophyton floccosum โดยมีผลสูงสุดต่อเชื้อ E. floccosum
ที่ความเข้มข้น (MIC) 0.07-0.1%, และเปรียบเทียบประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ Canesten
(Bayer) ซึ่งใช้เป็นสารแสดงฤทธิ์เปรียบเทียบ.

น้ำมันข่าลิงมีความเป็นพิษเฉียบพลันต่ำ มีค่า Approximate Lethal Dose 10.7
กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว เมื่อทดลองโดยการให้รับประทานครั้งเดียว (single oral dose)
ในหนูถีบจักร (mice).

ครีมน้ำมันข่าลิง 3% พัฒนาโดยใช้สูตรครีมเบส สวภ. 1 พบว่าให้ผลในการทดลอง
โดยวิธี Serial Dilution คึกว่าการทดลองโดยใช้วิธี Punch Test.

ครีมน้ำมันข่าลิง 3% นี้ไม่ก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อผิวหนัง เมื่อทดสอบกับผิวหนัง
กระต่าย.

* สาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
แห่งประเทศไทย

คำนำ

สาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (สวท.), สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) ได้ทำการวิจัยคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคต่าง ๆ, และรายงานเมื่อ พ.ศ. 2524 ได้ทำการศึกษาซ้ำ 3 ชนิด ได้แก่:

- ชำสด Alpinia spp. ชื่อจากปากคลองตลาด.
- ชำแกง Alpinia galanga (L.) Willd Syn., Languas galanga (L.) Stuntz และ Alpinia pyramidata EL.
- ชำลิง Alpinia conchigera Griff. ในทางฆ่าเชื้อ Bacillus subtilis ATCC 6633, Sarcina lutea ATCC 9341, Staphylococcus aureus ATCC 6538 p. Salmonella typhi Siriraj Hospital, Salmonella typhimurium ATCC 13311, Escherichia coli ATCC 10536, Pseudomonas aeruginosa Siriraj Hospital, Shigella dysenteriae Siriraj Hospital, และ Lactobacillus buchneri. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก พบว่าสารแสดงฤทธิ์ที่ได้จากการสกัดด้วย alcohol ได้ผลดีกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ. พบว่า ชำลิงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียสูงกว่าชำอีกสองชนิด, แต่ก็ยังมีผลต่ำกว่ายาปฏิชีวนะที่ใช้เปรียบเทียบในการทดลองมาก.

การสำรวจเอกสารยังไม่พบรายงานการศึกษาผลทางยาและเคมีของชำลิง Alpinia conchigera, แต่พบมีรายงานเกี่ยวกับชำอื่น ๆ ได้แก่ Alpinia galanga, A. speciosa, A. katsumadai, A. flabellata, A. japonica, A. nutans, A. oxyphylla, และ A. fructus.

งานวิจัยตามโครงการนี้ได้ทำต่อเมื่อ พ.ศ. 2526 โดยศึกษาผลในทางฆ่าเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคทางผิวหนัง 3 ชนิด คือ:

Trichophyton mentagrophytes (T.m.), Microsporum gypseum (M.g.)

และ Epidermophyton floccosum (E.f.)

ควบคู่ไปกับการศึกษาผลในทางฆ่าเชื้อแบคทีเรียทางผิวหนัง 2 ชนิด คือ:

Staphylococcus aureus และ Pseudomonas aeruginosa, โดยจัดทำเป็นโครงการร่วมมือแก่ภาควิชาอายุรศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล.

โครงการร่วมนี้มีความประสงค์เพื่อการศึกษาสัณฐานแสดงฤทธิ์จากส่มุนไพรซ่าเพื่อใช้ประโยชน์ในทางพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาเคมีรักษาโรคทางผิวหนังที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา.

อุปกรณ์และวิธีการ

ก. การสกัดและการทดสอบความสามารถของตัวยาสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ

1. อุปกรณ์

1.1 ข่าลิง ฆ่าจากร้านขายส่งส่มุนไพรในกรุงเทพมหานคร.

1.2 ตัวทำละลาย ethyl alcohol 95% ฆ่าจากองค์การเภสัชกรรม, กระทรวงสาธารณสุข.

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

1.3.1.1 Trypticase Soy broth pH 7.5

1.3.1.2 Trypticase Soy agar pH 7.5

1.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อรา

1.3.2.1 Sabouraud dextrose broth

1.3.2.2 Sabouraud dextrose agar

1.4 เชื้อแบคทีเรีย

1.4.1 Staphylococcus aureus (S.a.)

1.4.2 Pseudomonas aeruginosa (P.a.)

1.5 เชื้อรา

1.5.1 Trichophyton mentagrophytes (T.m.)

1.5.2 Microsporum gypseum (M.g.)

1.5.3 Epidermophyton floccosum (E.f.)

1.6 ครีม base Carbopol 934

1.7 ครีมเบสอิมัลชัน ชนิด non-irritate

1.8 Percolator ชนิด stainless steel

1.9 เครื่องกลั่น steam distillation

1.10 Rotary evaporator ของ Büchi สวิตเซอร์แลนด์

1.11 Canesten ของ Bayer

1.12 Chloramphenical ของ Difco (30 mg/disc)

2. วิธีการ

2.1 สกัดสารแสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้ 70% ethyl alcohol ใช้กรรมวิธี Percolator Technique แล้วระเหยแห้งด้วยเครื่องมือ rotary evaporator.

2.2 สกัดสารแสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา โดยใช้วิธีกลั่นด้วยไอน้ำ แยกเก็บส่วนที่เป็นน้ำมัน.

2.3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้ Carbopol 934 cream base.

2.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมฆ่าเชื้อรา โดยใช้สูตร 1 และ 3% น้ำมันสกัดจากฆ่าเชื้อใน cream base PNP-1 ซึ่งเป็นชนิด non-irritate, ให้นาสู่ครโดย สาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ.

2.5 การทดสอบความสามารถของตัวยาสกัดจากฆ่าเชื้อ ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ใช้วิธี Dilution Agar Method ผสมยาสกัดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อตามความเข้มข้นที่ต้องการ. เพาะเชื้อทดสอบลงบนผิวหน้าอาหารและบ่มเชื้อที่ 37°C. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรีย, และที่ 30°C. เป็นเวลา 10 วัน สำหรับเชื้อรา.

ทำการตรวจผลเทียบกับ control ซึ่งเป็นการเพาะเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งไม่ได้ผสมตัวยาสกัดจากข่าลิง.

2.6 การทดสอบความสามารถของครีมข่าลิง ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ

2.6.1 วิธี Punch Test

ใช้อาหารชนิด agar เทลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 25 มิลลิลิตร. เมื่ออาหารแข็งดีแล้ว เทอาหารที่ผสมเชื้อจุลินทรีย์ประมาณตามต้องการ (อาหาร 5 มิลลิลิตรผสมเชื้อจุลินทรีย์ 0.1 มิลลิลิตร). เมื่ออาหารผสมเชื้อจุลินทรีย์ (seed layer) แข็งดีแล้วให้เจาะเนื้อตรงกลางและเขี่ยออกทิ้งไป เกิดเป็นรูตรงกลางสำหรับใส่สารทดลองต่าง ๆ ตามปริมาณที่ต้องการแล้วนำไปหมักในตู้บอดูณหภูมิตามต้องการดังกล่าวใน 2.5, ตรวจผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ที่เกิดขึ้น.

2.6.2 วิธี Dilution Method

2.6.2.1 ตรวจผลต่อแบคทีเรีย

ซึ่งครีมข่าลิงชนิดต่าง ๆ ใส่ในหลอดที่ปราศจากเชื้อ หลอดละ 1 กรัม. เติมหาอาหารชนิดเหลวลงไปในหลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วใส่เชื้อแบคทีเรียที่ทราบจำนวนลงไปในแต่ละหลอด ๆ ละ 0.1 มิลลิลิตร. นำให้เข้ากันนำไปหมักที่อุณหภูมิ 37°C. 24 ชั่วโมง ตรวจผล.

ซึ่งครีมเบสเป็น control ทำเช่นเดียวกันโดยตลอด.

ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในแต่ละหลอดด้วยวิธี plate count เทียบกับ control.

ทำเช่นเดียวกับ 2.6.2 แต่ใส่เชื้อราแต่ละชนิดหมักที่ 30°C.

เป็นเวลา 10 วัน จึงตรวจผล.

การศึกษาทางเคมี

ได้ทำการศึกษาทาง gas chromatography เปรียบเทียบระหว่างน้ำมันสกัดจากข่าแกง, ข่าป่า และข่าลิง โดยใช้เครื่อง Perkin-Elmer Sigma 3.

ข. การทดสอบอาการระคายเคืองเบื้องต้น (test of primary irritation) ของครีม
น้ำมันข่าลิง 3%

1. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

- กระจายข่าน้ำหนักประมาณ 2-3 กิโลกรัม 6 ตัว.

- Patch ผ้าโปร่งชนิดคูดซี่มที่มีคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, ผ้าโปร่งชนิดคูดซี่มและผ้าพันแผลมาตรฐานเลขที่ มอก. 251, ผ้าโปร่งชนิดคูดซี่มชนิดที่ 5 มีจำนวนเส้นด้ายพุ่ง 19 เส้น/25.4 มม. ด้ายยืน 23 เส้น/25.4 มม. น้ำหนักเฉลี่ย 27.42 กรัม/ม² ซ้อนกัน 10 ชั้น ขนาด 2.54 ซม. × 2.54 ซม. ทำให้ปราศจากเชื้อด้วย autoclave.

- ปัดตาเลียนไฟฟ้า.

- ครีมน้ำมันข่าลิง 3%.

- ครีมเบส สวก. 1.

2. วิธีการทดลอง ได้ใช้วิธีที่ดัดแปลงไปจากวิธีของ Draize (1944).

ใช้กระจาย 6 ตัว ขลิบขนบริเวณลำตัวได้หัวไหล่ขีดกระดูกสันหลังทั้ง 2 ซ้างให้เกรียน ขีดผิวหนังแต่ไม่ให้เป็นแผล. แบ่งผิวหนังที่เตรียมไว้เป็น 4 บริเวณให้ได้บริเวณละ 2.5 × 2.5 ซม.² ใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18 ขีดผิวหนังที่เตรียมไว้ 2 บริเวณเป็นรอยยาวรอยละ 2.5 ซม. บริเวณละ 4 รอย (2 รอยทางยาว และ 2 รอยทางขวาง #) แต่ขีดไม่ถึงชั้นเลือดออก. ซึ่งตัวอย่างครีมข่าลิงจำนวน 0.5 กรัม ลงบน patch ปิดบนผิวหนังกระจายที่เตรียมไว้ 1 patch และปิดบนผิวหนังขูดลอกอีก 1 patch. ครีมเบสทำเช่นเดียวกัน คือ patch หนึ่งปิดบนผิวหนังที่ขูดลอก อีก patch หนึ่งปิดบนผิวหนังธรรมดา ปิดด้วยแถบขาว และห่อลำตัวกระจายด้วยผ้ายัด. เมื่อครบ 24 ชั่วโมง เอา patch ออกตรวจดูอาการผิดปกติ เช่น บวม แดง บริเวณที่ปิด patch, ให้คะแนนตามเกณฑ์การให้คะแนน.

หลักเกณฑ์การให้คะแนน

อาการแดง	อาการผิปกติ	คะแนน
	ไม่แดง	0
	แดงเล็กน้อยแทบสังเกตไม่ได้	1
	แดงจนมองเห็นได้ชัด	2
	แดงปานกลางถึงแดงมาก	3
	แดงซ้ำถึงผิวหนังตลอกสะเก็ด	4
อาการบวม	อาการผิปกติ	
	ไม่บวม	0
	บวมเล็กน้อยแทบสังเกตไม่ได้	1
	บวมน้อย (ขอบบวมเห็นได้ชัด)	2
	บวมปานกลาง (บวม, บวม 1 มม.)	3
	บวมมาก (บวม > 1 มม. และลามออกไป)	4

การคำนวณหาค่า Primary Irritation Index

$$= \frac{\text{คะแนนรวมค่าเฉลี่ยของกระต่ายแต่ละตัว}}{\text{จำนวนกระต่ายทดสอบ}}$$

เกณฑ์ตัดสิน ค่า Primary Irritation Index ต้องไม่เกิน 1 จึงจะถือว่าผ่านการทดสอบ

ค. การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน และ approximate lethal dose ของน้ำมันข่าลิง

1. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลอง Swiss mice JCL/ICR Strain ทั้ง 2 เพศ จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ
น้ำหนักเพศเมีย 21-22 กรัม, น้ำหนักเพศผู้ 25-26 กรัม อหอาหาร 20 ชั่วโมงก่อนทำการทดลอง.

ตัวอย่างทดสอบ น้ำมันข่าลิงเตรียมอยู่ในรูป emulsion ความเข้มข้น 20% w/w.

วิธีการทดลอง ตามวิธีของ Deichmann และ Le Blanch (1943).

ให้ตัวอย่างทดสอบแก่สัตว์ทดลองทางปากโดยใช้ special oral feeding needle.

สังเกตและบันทึกอาการผิปกติที่เกิดขึ้นอย่างละเอียด นาน 1-2 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตอาการเป็นระยะ.

หลังจาก 3 วัน สัตว์ทดลองที่มีชีวิตอยู่ ถือว่าไม่ตายจากพิษเฉียบพลันของตัวอย่างทดสอบที่ให้.

ผลการทดลอง

ตารางที่ 1. ผลการวิเคราะห์สมุนไพรมะขาม (% กรัม จากน้ำหนักแห้ง)

โดยห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

รายการวิเคราะห์	% จากน้ำหนักแห้ง
Water and volatile matter	12.7
Fat	1.3
Ash	9.0
Fibre	21.7
Protein	2.7
Carbohydrate	65.4
Water soluble ash	4.0
Acid insoluble ash	4.3
Chloroform soluble extractive	3.9
Alcohol soluble extractive	15.3

ตารางที่ 2. ผลผลิตของสารสกัดแห้งจากข่า

ข่าสกัดด้วย 70 % ethanol	ร้อยละ 9
ข่าสกัดด้วย 80 % ethanol	ร้อยละ 10.5
น้ำมันข่ากลั่น	ร้อยละ 1.3

ตารางที่ 3. ผลของยาสกัดจากเหง้าข่าลงในความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจุลินทรีย์ทดสอบ

Conc. (mg/ml)	<u>S. aureus</u>			<u>P. aeruginosa</u>		
	A	B	C	A	B	C
control	+4	+4	+4	+4	+4	+4
5	a	+4	+4	+4	+4	+4
10	a	a	+4	+4	+4	+4
20	-	-	+3	-*	+4	+4
50	-	-	-	-*	-	-
70	-	-	-	-*	-	-

หมายเหตุ A = less water-soluble fraction

B = total fractions

C = very water-soluble fraction

+4 = มีการเจริญสูงสุด

+3 = มีการเจริญสูง

a = มีการเจริญน้อยมาก

- = ไม่มีการเจริญ

* = solvent มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ

ตารางที่ 4. ผลของ Condensate ในความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจุลินทรีย์ทดสอบ

Conc. %(w/v)	<u>Trichophyton</u> <u>mentagrophytes</u>	<u>Microsporium</u> <u>gypseum</u>	<u>E.</u> <u>floccosum</u>	<u>S.</u> <u>aureus</u>	<u>P.</u> <u>aeruginosa</u>
control	+4	+4	+4	+4	+4
10	+2	+2	+2	+4	+4
50	+1	+1	+1	+2	+2
90	+1	+1	+1	a	a
100	+1	+1	+1	a	a

หมายเหตุ +4 = มีการเจริญสูงสุด

+2 = มีการเจริญปานกลาง

+1 = มีการเจริญน้อย

a = มีการเจริญน้อยมาก

ตารางที่ 5. ผลการยับยั้งความเจริญของจุลินทรีย์ของครีมฆ่าถึงสกัด Inhibition zone (cm)

ตัวอย่างทดสอบ	<u>Trichophyton</u> <u>mentagrophytes</u>	<u>Microsporium</u> <u>gypseum</u>	<u>E. floccosum</u>	<u>S. aureus</u>	<u>P. aeruginosa</u>
- Conchigera oil 0.001 g	1.5	0.5	2.3	0.7	0
0.003 g	2.3	1.4	3.2	0.7	0
- Conchigera oil cream 1%	0.4	0	0	0	0
- Conchigera oil cream 3%	0.6	0.1	1.3	0.4	0
- Conchigera 70% ethanol extract cream	0.75	0.5	0.65	0.75	0.5
- Canesten	1.9	1.9	2.0	not test	not test
- Chloramphenical	not test	not test	not test	0.7	0
- Control cream for Conchigera oil cream	0	0	0	0	0
- Control Carbopol cream for Conchigera 70% ethanol extract cream	0	0	0	0	0

ตารางที่ 6. ผลของครีมชาชนิดต่าง ๆ ต่อเชื้อแบคทีเรีย (dilution method)

สารทดสอบ	จำนวนแบคทีเรียที่พบ	
	<u>S. aureus</u>	<u>P. aeruginosa</u>
1. Control	1.66×10^{11}	1.01×10^{11}
2. Oil cream 1%	2.9×10^5	2.0×10^8
3. Oil cream 3%	1.4×10^5	1.81×10^6
4. Cream 70% Ext.	< 100	< 100

Cell คำนวณของ S. aureus = 4.17×10^7 cells

Cell คำนวณของ P. aeruginosa = 2.18×10^7 cells

ตารางที่ 7. ผลการยับยั้งเชื้อราของครีมชาถึงสกัด

ครีมชาถึง	การยับยั้งเชื้อรา (dilution method) เส้นผ่าศูนย์กลางของ colony (cm)		
	<u>Trichophyton</u>	<u>Microsporium</u>	<u>Epidermophyton</u>
	<u>mentagrophytes</u>	<u>gypseum</u>	<u>floccosum</u>
Conchigera oil cream 1%	0	0	0
Conchigera oil cream 3%	0	0	0
Control cream base for Conchigera oil cream	7	8	7
70% ethanol extract Conchigera cream	0	0	0
Control cream base for 70% ethanol extract cream	0	0	0

ตารางที่ 8. แสดงผลการทดลองการศึกษาการก่อให้เกิด
อาการระคายเคืองเบื้องต้นของครีมน้ำมันช่า 3% ต่อผิวหนังกระต่าย

กระต่าย ตัวที่	ครีมน้ำมันช่า 3%				ครีมเบส สวภ. 1			
	ผิวหนังปกติ		ผิวหนังช่วนถลอก		ผิวหนังปกติ		ผิวหนังช่วนถลอก	
	อาการแดง	บวม	อาการแดง	บวม	อาการแดง	บวม	อาการแดง	บวม
1	0	0	1	0	0	0	1	0
2	1	0	2	0	1	0	1	0
3	0	0	1	0	0	0	1	0
4	0	0	1	0	0	0	1	0
5	0	0	1	0	0	0	1	0
6	0	0	1	0	0	0	1	0

ค่า Primary Irritation Index ของครีมน้ำมันช่า 3% = 0.33

ค่า Primary Irritation Index ของครีมเบส สวภ. 1 = 0.29

การทดลองศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน และ Approximate Lethal Dose ของน้ำมันข้าว พบว่าอาการพิษเฉียบพลันที่เกิดขึ้นสามารถแบ่งได้เป็น 3 ระยะ คือ:

1. Skeleton muscle relaxation

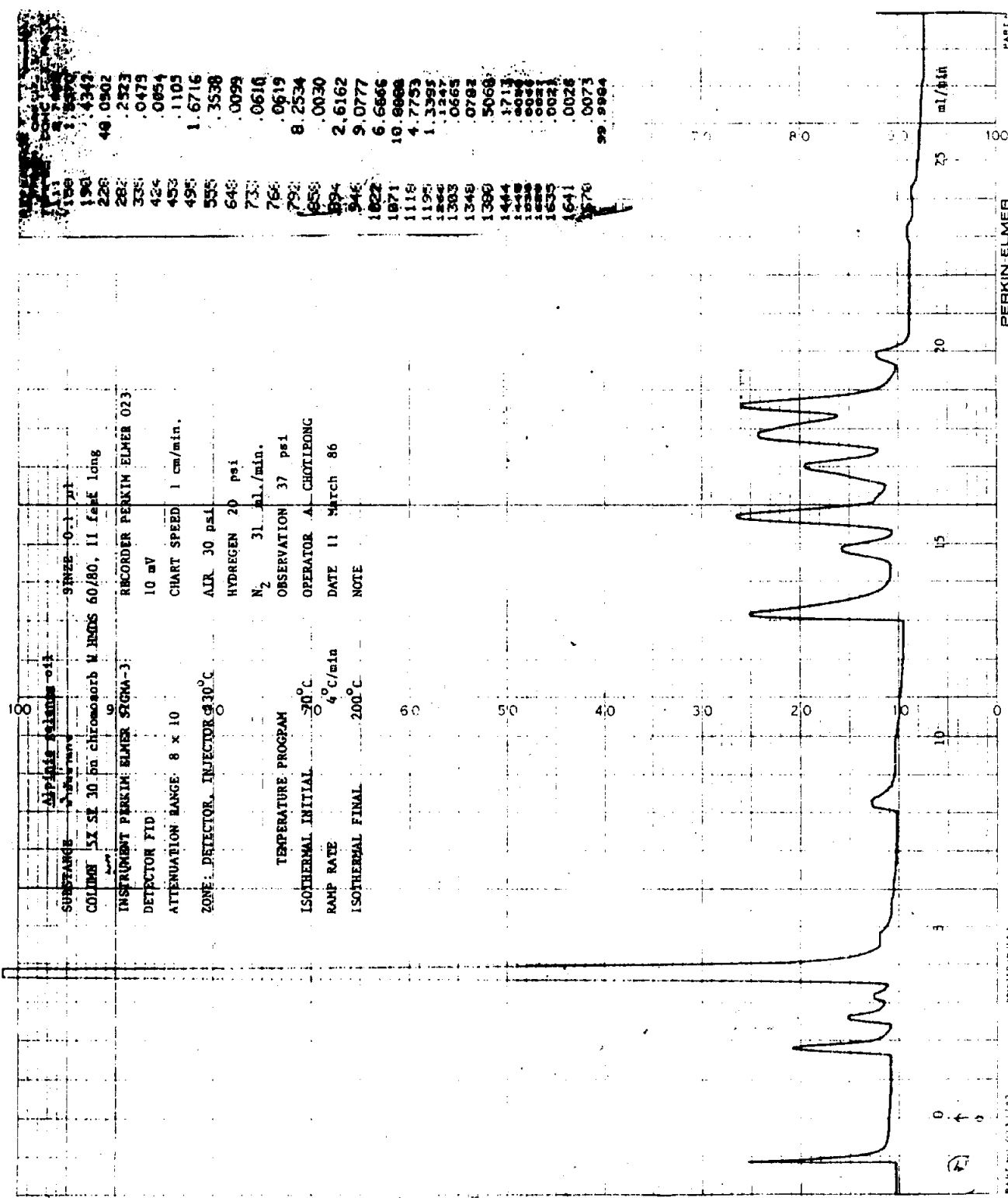
สัตว์ทดลองมีอาการเดินโซเซ เดินล้ม หลังจากให้ตัวอย่างทดสอบ 3-5 นาที. กล้ามเนื้อขาหน้าและขาหลังอ่อนแรง, ระดับของ relaxation แปรผันตรงกับขนาดของตัวอย่างที่ให้ มีอาการซึม. Skeleton muscle relaxation คงอยู่นานประมาณ 3 ชั่วโมง, อาการซึม คงอยู่ประมาณ 5 ชั่วโมง และจะ recover เป็นปกติ.

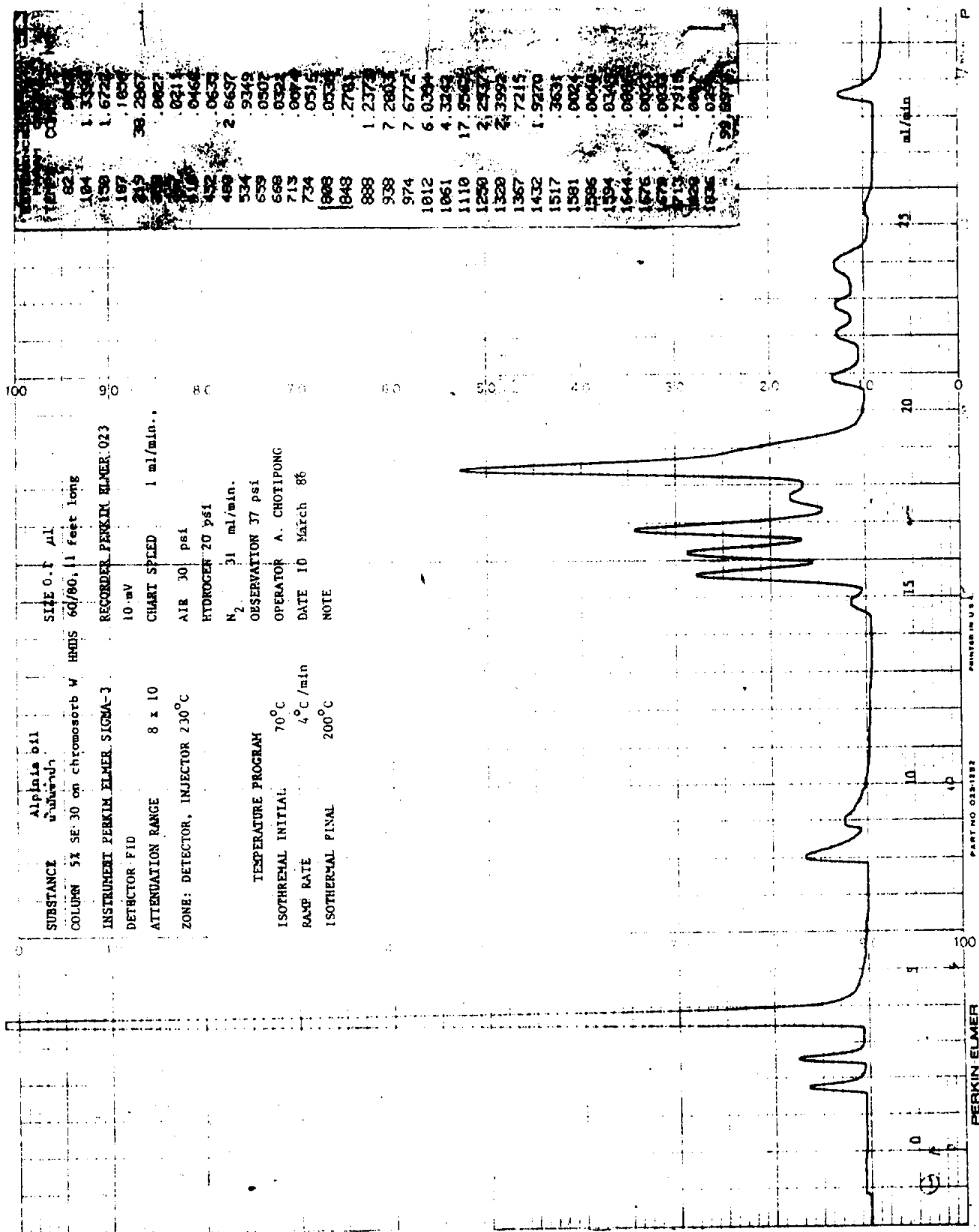
2. สูญเสีย righting reflex สัตว์ทดลองที่ไม่ฟื้นจากระยะที่ 1 จะเข้าสู่ระยะที่ 2. สัตว์ทดลองที่ได้รับตัวอย่างในขนาดสูง จะสูญเสีย righting reflex อย่างรวดเร็วใน 20-30 นาที หลังได้รับตัวอย่าง [7.1 g/kg-10.7 g/kg]. สัตว์ทดลองที่ฟื้นจะมีอาการในระยะนี้ อยู่นานประมาณ 6-24 ชั่วโมง. สัตว์ทดลองที่ไม่ฟื้นจะเข้าสู่ระยะที่ 3.

3. หยุดหายใจ สัตว์ทดลองหายใจช้าลงจนหยุดหายใจ ในขณะที่หัวใจยังทำงานต่อไปอีก ระยะเวลาหนึ่ง.

ไม่พบอาการผิดปกติในสัตว์ทดลองที่ได้รับ control solvent.

ค่า Approximate Lethal Dose ของน้ำมันข้าวลึงเท่ากับ 10.7 g/kg ทั้งในหนู ถีบจักรเพศผู้และเพศเมีย จัดได้ว่าเป็นสารกลุ่ม practically nontoxic.





สรุป วิจารณ์ และเสนอแนะ

1. สารสกัดแสดงฤทธิ์จากข่าลิงโดยใช้ alcohol ความเข้มข้น 70% ให้ผลยับยั้งความเจริญของแบคทีเรียชนิด S. aureus ได้ดีกว่าชนิด Pseudomonas aeruginosa. ความเข้มข้นน้อยสุด (MIC) 20-50 มิลลิกรัม/ซีซี โดยวิธี dilution ไม่มีผลยับยั้งความเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ทดสอบที่ความเข้มข้น 20-50 มิลลิกรัม/ซีซี, และไม่สามารถทดลองที่ความเข้มข้นสูงกว่า 50 มิลลิกรัม/ซีซี เพราะตัวทำละลาย ethanol ที่ใช้ในการทดลองมีผลในการยับยั้งเชื้อรา.
2. น้ำมันข่าลิงกลั่น ไม่มีผลยับยั้งความเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทดลอง แต่มีผลยับยั้งความเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นน้อยสุด (MIC) 0.07-0.1%.
3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ของครีมข่าสกัดทั้ง 3 ชนิดพบว่า ข่าสกัดด้วย 70% ethyl alcohol ใช้ Carbopol 934 cream base 7%.
4. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมน้ำมันสมุนไพรข่าลิงกลั่นพบว่าใช้ cream base สวก. 1 ได้ผลดีทั้งชนิดผสมน้ำมัน 1 และ 3%.
5. ผลการยับยั้งความเจริญของแบคทีเรียของ ครีมข่าสกัดด้วย 70% ethanol พบว่ามีผลเล็กน้อยต่อเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา. แต่ผลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับครีมข่าผลิตจากน้ำมันข่ากลั่นแล้ว ผลในการยับยั้งเชื้อราของครีมทำจาก 70% ethanol มีผลต่ำกว่ามาก. ผลการทดลองเมื่อ พ.ศ. 2524 แสดง inhibition zone ต่อเชื้อ S. aureus เพียง 10-15 มม. ของข่าลิงที่ความเข้มข้น 15-25 mg/disc เปรียบเทียบกับ Chloramphenical 30 µg/disc และ Ampicillin 10 µg/disc.
6. ผลการยับยั้งความเจริญต่อเชื้อราของครีมน้ำมันกลั่นพบว่า ครีมน้ำมันข่า 3% มีผลในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด และมีผลต่อเชื้อ Epidermophyton floccosum มากที่สุดเช่นเดียวกับ Canesten (Bayer).
7. การทดลองความเป็นพิษเฉียบพลันต่อหนูพบว่า ในการให้ทางปาก น้ำมันข่าลิงจะมีค่า Approximate Lethal Dose 10.7 กรัม/กิโลกรัม จัดว่าเป็นสารในกลุ่มไม่เป็นพิษ.

8. การทดลองความระคายเคืองต่อผิวหนังกระต่ายพบว่ามีความ Primary Irritation Index 0.33 ถือว่าผ่านการทดลองได้.
9. จากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า น้ำมันข่าลิงมีลู่วางนำมาศึกษาเพื่อประเมินความคุ้มค่าในการใช้ในอุตสาหกรรมผลิตยาฆ่าเชื้อโรคทางผิวหนัง.
10. กรรมวิธีศึกษาผลการยับยั้งเชื้อวิธี Serial Dilution พบว่าให้ผลดีกว่าวิธี Punch Test เพราะตัวอย่างกระจายตัวได้ดีกว่า.
11. การแยกสกัดองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันข่าลิงสกัด กำลังดำเนินการในสาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อศึกษาสารแต่งฤทธิ์บริสุทธิ์ควบคู่ไปกับแผนงานปลูกสมุนไพรข่าลิงเพื่อศึกษาจุดคุ้มทุนต่อ.
12. การศึกษาทางคลินิกดำเนินการโดย พ.ญ.พัชรี สุนทรพะลิน และคณะ จะทำรายงานแยกต่างหาก.
13. แผนงานผลิตขั้นกึ่งโรงงานกำลังดำเนินการต่อ พร้อมทั้งงานศึกษาทางเภสัชวิทยา, พิษวิทยา, เศรษฐกิจการลงทุน และการผลิตวัตถุดิบทางเกษตรโดยท. เพื่อพัฒนาใหม่จากสมุนไพรไทยตามโครงการ UNIDO/THA/82/006 เพื่อการผลิตขั้นอุตสาหกรรม.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ดำเนินงานวิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่ได้อนุมัติงบประมาณเพื่อการวิจัยศึกษา; แก่โครงการ UNIDO/THA/82/006 ที่ได้อนุมัติความช่วยเหลือในรูปของเครื่องมือ, ทุนฝึกอบรม และผู้เชี่ยวชาญ; แก่องค์การยูนิเซฟซึ่งได้จัดสรรทุนให้แก่ พ.ญ.พัชรี สุนทรพะลิน ซึ่งได้แบ่งให้เป็นค่าใช้จ่าย 10,000 บาท ช่วยเหลือในโครงการนี้แก่สาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติของวท.

เอกสารอ้างอิง

ดิษบุญตร, พรสวรรค์; วสุวัต, ศศิธร; เทพลีธา, ปัทมา และ ศรีจันทร์, ศิริเพ็ญ. 2524.

การศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคของสมุนไพรต่าง ๆ. วท. : กรุงเทพฯ.

รายงานฉบับที่ 1, โครงการวิจัยที่ 21-10.

พงษ์อนุรอด, เสงี่ยม. 2508. "ไม้เทศเมืองไทย." หน้า 94 (เกษมบรรณกิจ : กรุงเทพฯ).

DEICHMANN, Wm. B. and LE BLANCH, T.J. 1943. Determination of the approximate lethal dose with about six animals. J. Indust. Hyg. & Toxicology. 25 : 415-417.

DRAIZE, John H., WOODARD, Geoffrey and CALVERY, Herbert O. 1944. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membrane. J. Pharm. Exp. Therapy 82 : 337-390.