

## การศึกษามาตรฐานทางเภสัชเวท ฤทธิ์ด้านแบคทีเรีย & เชื้อราเพื่อพัฒนาเภสัชภัณฑ์จากสารสกัดใบผัก ข้าวรักษาโรคผิวหนัง

สมพร ภูติยานันต์<sup>1</sup>, ศิริพร โอโกโนกิ<sup>1</sup>, เกษร นันทจิต<sup>1</sup>, บงกชวรรณ สุตะพาหะ<sup>2</sup>, บรรยง คันทะวะ<sup>3</sup>  
คณะเภสัชศาสตร์<sup>1</sup> คณะเทคนิคการแพทย์<sup>2</sup> คณะแพทยศาสตร์<sup>3</sup> มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผักข้าวเป็นชื่อไทยพื้นเมืองที่ใช้เป็นอาหารและเป็นสมุนไพรที่สำคัญตามความเชื่อของแพทย์แผนไทย เช่น ด้านเชื้อจุลินทรีย์ ด้านมะเร็ง ด้านอนุมูลอิสระ และลดน้ำตาล เป็นต้น (Putiyanan S., 2003) การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจ รวบรวมพันธุ์และตรวจเอกลักษณ์เพื่อจัดทำตัวอย่างมาตรฐานทางเภสัชเวท และควบคุมมาตรฐานพันธุ์ผักข้าวก่อนนำไปพัฒนาตำรับยารักษาโรคผิวหนัง โดยศึกษาเอกลักษณ์มาตรฐานของพันธุ์ผักข้าวเพื่อตรวจสอบชื่อพฤกษศาสตร์ (botanical name) ศึกษามาตรฐานใบผักข้าวโดยตัดตามขวาง เปรียบเทียบกับผงบิผักข้าว จากการศึกษาพบเนื้อเยื่อ upper และ lower epidermis, trichome, collenchyma, palisade mesophyll, spongy mesophyll, guard cell/stoma, vascular bundle เป็นต้น ซึ่งพบเหมือนกับผงบิผักข้าว รวมถึงศึกษามาตรฐานของใบผักข้าวโดยการหาค่าคงที่ของใบ (constant value of leaf surface) ได้ค่า stomatal index, veinlet termination number, vein-islet number และ palisade ratio คือ  $11.84 \pm 1.77$ ,  $5.95 \pm 1.31$ ,  $2.38 \pm 0.40$  และ  $4.49 \pm 0.73$  ตามลำดับ ซึ่งเป็นเอกลักษณ์มาตรฐานของผักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) และพบว่าสารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์ที่สกัดด้วย hexane และ dichloromethane มีฤทธิ์ด้านเชื้อราดีกว่าฤทธิ์ด้านแบคทีเรีย สารสกัดด้วย hexane มีฤทธิ์ด้านเชื้อราก่อโรค 3 ชนิด และพบว่า สารสำคัญที่แยกได้จากส่วนสกัด hexane ที่มีฤทธิ์ด้านเชื้อรา มีข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีเป็นสารใหม่ที่ไม่ชื่อว่า momordica triterpenoid ester

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับยาทาภายนอกสารสกัดจากใบฟักข้าว งานวิจัยได้เริ่มจากการสกัดแยกส่วนใบฟักข้าวด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ hexane, ethyl acetate, ethanol และ methanol ตามลำดับ สารสกัดที่ได้แต่ละส่วนถูกนำมาศึกษาสมบัติเคมีกายภาพ เช่น ลักษณะภายนอก ความหนืด และสมบัติการละลาย ผลการทดลองพบว่าสารสกัดแต่ละส่วนมีลักษณะภายนอกคล้ายกันคือมีลักษณะเป็นของแข็งแข็ง เหนียวหนืดสีเขียวมืคล้ำ มีสมบัติการละลายในตัวทำละลายแต่ละชนิดแตกต่างกัน เมื่อนำสารสกัดเหล่านั้นมาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันใช้วิธี ABTS และวิธี FRAP ส่วนการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ใช้วิธีการแพร่ผ่านหลุมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทดสอบกับเชื้อก่อโรคและไม่ก่อโรคซึ่งเป็นเชื้อที่เก็บจากตัวอย่างจริง ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* พบว่าสารสกัดใบฟักข้าวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำ แต่ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูง มีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียมาก และสารสกัดที่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราได้แรงที่สุดคือ สารสกัดที่ได้จากการสกัดแยกด้วย ethanol และ ethyl acetate ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดทั้งสองส่วนนี้ เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นตอนการพัฒนาตำรับต่อไป

การพัฒนาตำรับสารสกัดได้เริ่มจากการพัฒนาตำรับยาพื้นก่อน แล้วทำการคัดเลือกตำรับยาพื้นที่เหมาะสม กล่าวคือต้องเป็นตำรับที่มีสมบัติที่ต้องการได้แก่มีลักษณะภายนอกดีน่าใช้ มี pH และความหนืดเหมาะสม และโดยเฉพาะมีพฤติกรรมการไหลที่ต้องการคือเป็นชนิด non Newtonian shear thinning ผลการทดลองสามารถพัฒนาได้ตำรับยาพื้นครีม 5 ตำรับ คือ C-1, C-2, C-3, C-4, และ C-5 และยาพื้นเจล 5 ตำรับ คือ G-1, G-2, G-3, G-4, และ G-5 โดยทุกๆ ตำรับเมื่อนำมาผสมกับสารสกัดใบฟักข้าวส่วนที่คัดเลือก ควรผสมเข้ากันได้ดี

ผลการทดลองพบว่า มีครีมพื้นและเจลพื้นบางชนิดเท่านั้น ที่สามารถเข้ากันได้กับสารสกัดดังกล่าว ซึ่งเมื่อคัดเลือกตำรับยาพื้นที่เหมาะสมแล้ว พบว่าครีมพื้น C-2 และเจลพื้น G-3 เป็นตำรับยาพื้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับสารสกัดดังกล่าว การทดลองยังพบว่าตำรับสารสกัดจากยาพื้นทั้งสองชนิดสามารถต้านเชื้อราก่อโรคได้ดี แต่หากเปรียบเทียบกันพบว่าตำรับสารสกัดจาก ethanol ให้ผลดีกว่าตำรับดังกล่าวนี้จึงถูกเลือกไปทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นในสัตว์ทดลอง ผลการทดลองพบว่าตำรับดังกล่าวไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคืองใดๆ ต่อผิวหนัง

อย่างไรก็ตาม การวิจัยพบว่าตำรับสารสกัดใบฟักข้าวที่พัฒนาได้มีกลิ่นเหม็นของใบฟักข้าว แม้จะทดลองใช้สารสกัดที่เอา chlorophyll ออกแล้วก็ตาม ดังนั้นจึงพิจารณาแต่งกลิ่นของตำรับด้วยน้ำหอมกลิ่นต่างๆ ผลการทดลองพบว่าตำรับที่แต่งด้วยกลิ่น jasmine เป็นตำรับที่น่าพอใจที่สุด

โดยสรุปการวิจัยนี้สามารถพัฒนาตำรับยาทาภายนอกสารสกัดใบฟักข้าวที่เหมาะสมได้ ตำรับที่พัฒนาได้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราก่อโรคผิวหนังเป็นอย่างดี

Fak khaao is Thai local name, which was used for dietary as well as medicinal use in Thai Traditional Medicine, for example: antimicrobial activity, anticancer, antioxidant agents and antidiabetes etc. (Putiyanan S., 2003). The aims of this work were to collect and identify botanical name of Fak khaao: *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. as voucher specimen, and to standardize pharmacognostic characters for quality controlling of materials before the formulation process. The macroscopic characters were studied for sample collecting and microscopic characters of transverse section of Fak khaao's leaves were compared to the leaf powders showed the upper and lower epidermis, trichome, collenchyma, palisade mesophyll, spongy mesophyll, stoma (guard cell), vascular bundles etc., which were similar to microscopic description of drug powders. The values of stomatal index, veinlet termination number, vein-islet number and palisade ratio were calculated for standardization of samples, which were  $11.84 \pm 1.77$ ,  $5.95 \pm 1.31$ ,  $2.38 \pm 0.40$  and  $4.49 \pm 0.73$  respectively. The results established the standard characters of *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. being botanical name of Fak Khaao, which can be used to produce leaf extract preparation for treatment of skin diseases. Crude and purified hexane and dichloromethane extracts showed antimicrobial activity but antifungal activity was more active than antibacterial activity. The hexane extract showed antifungal activity against three pathogenic fungi and one active chemical constituent of hexane extract showed the structure elucidation of one new momordica triterpenoid ester on the basis of spectroscopic analysis.

This research project was aimed to develop the pharmaceutical topical preparation of Fak Khaao (FK) leaf extract. The research was firstly done with extraction process on FK leaves by using several solvents, i.e. hexane, ethyl acetate, ethanol, and methanol respectively. The obtained fractionates were further investigated for their physicochemical properties, e.g. external appearance, viscosity and solubility. It was found that all fractionates possessed similar external characteristic as a viscous semisolid mass with dark green color. Each fractionate exhibited different solubility behavior in different solvents. The fractionates were tested for their antioxidant and antimicrobial activities. The antioxidant activity test was carried out by using ABTS method and FRAP test. Results indicated that the FK fractionates possessed low antioxidant activity. The antimicrobial test was conducted by means of agar well diffusion method using non-pathogenic and pathogenic bacteria and fungi, i.e. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, and *Aspergillus flavus* as test microorganisms. The results indicated that FK fractionates possessed extremely stronger potential on antifungal than antibacterial activity. Among all fractionates obtained, the ethanol fraction and ethyl acetate fraction showed the most potent activity. Hence, these two fractions were selected for further study on formulation development.

Several cream and gel bases were prepared and tested for their appearance and other physicochemical properties, e.g. pH, viscosity, and rheological behavior. Only the base formulations with good appearance and suitable required properties, e.g. suitable pH and viscosity particularly with non Newtonian shear thinning flow were classified as good for further investigation. According to

this, five formulations of each cream and gel bases were selected. They were C-1, C-2, C-3, C-4, and C-5 for cream bases and G-1, G-2, G-3, G-4, and G-5 for gel bases. The selected bases were then tested for their compatibility to the selected FK fractionates. It was found that only some bases can be mixed well with FK fractionates without any separation. From thesis results, cream base C-2 and gel base G-3 were considered to be the most suitable for FK fractionates, both ethanol fraction and ethyl acetate fraction. The formulations of C-2 and G-3 after incorporated with each FK fractionate showed good antifungal activity. In addition, the formulation of ethanol fraction exhibited stronger activity than that of ethyl acetate fraction. Hence the cream and gel formulation were then selected for primary irritation test. Results indicated that both formulations provided no irritation.

However, the products showed unpleasant odor of FK leaves even after chlorophyll was prior removed from the fractionates. The attempt to improve the odor of the products was taken by adding some essential oils as fragrance. It was found that the most pleasant product could be achieved by addition of jasmine fragrance.

It was concluded that the suitable topical products of FK leaf extract could be developed. The obtained product with desired good characteristics showed high potential in antidermatophytic activity.