



รายงานการวิจัย/รายงานการวิจัยชุดโครงการวิจัย เรื่อง

การประยุกต์ใช้สารสกัดจากลำพูเพื่อใช้ในรูปแบบยา

Application of the extracts from *Sonneratia caseolaris* for pharmaceutical preparations

รองศาสตราจารย์ ดร.ธวัชชัย แพชมัด

Associate Professor Dr. Thawatchai Phaechamud

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีย์ เจริญธีรบูรณ์

Assistant Professor Dr. Juree Charoenteeraboon

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

สถาบัน วิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2555

คำนำ

การศึกษาการนำสารสกัดจากลำพูมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมได้อาศัยความรู้ทางเทคโนโลยีเภสัชกรรมมาผสมผสานกันหลายส่วน และนำนวัตกรรมการนำส่งยามาประยุกต์ใช้ในการออกแบบระบบนำส่งสารออกฤทธิ์จากลำพู ทั้งนี้ได้ทดลองเตรียมและพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบเจลไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและโครงสร้างความพรุนสูง งานวิจัยเรื่องนี้มุ่งเน้นศึกษาถึงการเตรียมและคุณสมบัติของตำรับที่พัฒนาขึ้นทั้งสองระบบ

ผู้วิจัย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำวิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ซึ่งให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยนี้ และขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ในความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ สำหรับการวิจัย ขอขอบคุณ นางสาวจรรยา บุญช่วย นายพงศธร อีสระยังยืน นางสาวพัชรภรณ์ ตันติยาภรณ์ และ นางสาวอร เศรษฐจินดาเลิศ รวมทั้งนักวิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมในการทำงานวิจัยจนเสร็จจุลวง

ชื่อโครงการ	การพัฒนาสารสกัดจากลำพูและการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อใช้ ทางยา
ชื่อผู้วิจัย	รองศาสตราจารย์ ดร.รัชชัย แพชมัด
ชื่อผู้ร่วมวิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรรย์ เจริญธีรบูรณ์
หน่วยงานที่สังกัด	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย	สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีที่เสร็จ	พ.ศ. 2555

บทคัดย่อ

โครงสร้างความพรุนสูงโคโตะซาน-อากาศเยื่อ-อะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เตรียมขึ้นจากวิธีทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง เพื่อนำมาบรรจุสารสกัดจากเมล็ดลำพู ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการประเมินลักษณะโครงสร้างอย่างละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น ความสามารถในการดูดซับน้ำ ความกรอบ ความแข็งแรงของโครงสร้าง การปลดปล่อยสารสกัดจากโครงสร้างความพรุนสูง และฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* โดยวิธีการแพร่สู่ฟันและการเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อ โครงสร้างความพรุนสูงมีความสามารถดูดซับน้ำได้มากและมีความกรอบน้อย โดยโครงสร้างความพรุนสูงที่ผ่านการบรรจุสารสกัดจากเมล็ดลำพูมีความแข็งแรงมากกว่าโครงสร้างที่ไม่ได้บรรจุสารสกัด และโครงสร้างที่บรรจุสารสกัดลำพูสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *P. acnes* ทั้งนี้การปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากโครงสร้างความพรุนสูงเป็นไปตามรูปแบบ Higuchi's model ซึ่งโครงสร้างความพรุนสูงที่บรรจุสารสกัดจากเมล็ดลำพูนี้อาจพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบต่างๆได้ เช่น ผลิตภัณฑ์แต่งแผล เป็นต้น

คำสำคัญ: ลำพู, การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

Research Title	Application of the extracts from <i>Sonneratia caseolaris</i> for pharmaceutical preparations
Researcher	Associate Professor Dr. Thawatchai Phaechamud
Co-researcher	Assistant Professor Dr. Juree Charoenteeraboon
Office	Faculty of Pharmacy, Silpakorn University
Research Grants	Research and Development Institute, Silpakorn University
Year	2012

Abstract

Chitosan-acacia-aluminium monostearate scaffolds were prepared by freeze drying method for loading with *Sonneratia caseolaris* seed extract. These obtained scaffolds were evaluated for their fine structure by scanning electron microscope (SEM). The physicochemical properties (e.g. water sorption, weight loss and hardness), drug release and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes* were also determined with agar diffusion and broth dilution techniques. The obtained scaffold exhibited the high water sorption and low erosion. The hardness of *Sonneratia caseolaris* seed extract loaded-scaffold was higher than that of unloaded scaffold. The loaded scaffold showed the antibacterial activity against *S. aureus* and *P. acnes*. The release profile of total phenolic compound from *Sonneratia caseolaris* seed extract-loaded scaffold was fitted well with Higuchi's model. Therefore chitosan-acacia-aluminium monostearate loaded with *S. caseolaris* seed extract might be developed into many products such as wound dressing etc.

Key words: *Sonneratia caseolaris*, antimicrobial activity

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
สารบัญเรื่อง	iv
สารบัญตาราง	v
สารบัญรูป	vi
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	vii
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	4
ผลการวิจัยและวิจารณ์	11
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	41
บรรณานุกรม	42
ภาคผนวก	-
ประวัติผู้ทำวิจัย	44

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	รายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ	7
2	ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคของสารทดสอบชุดที่ 1	12
3	ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคของสารทดสอบชุดที่ 2	13
4	ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคของสารทดสอบชุดที่ 1 และ 2 เมื่อสารทดสอบตกตะกอนแล้วนำส่วนใสมาทดสอบ	13
5	ผลการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดที่ทดสอบเมื่อสารทดสอบยังไม่ตกตะกอน (สารทดสอบชุดที่ 1)	14
6	ผลการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดที่ทดสอบเมื่อสารทดสอบยังไม่ตกตะกอน (สารทดสอบชุดที่ 2)	15
7	คุณสมบัติของเชื้อที่ใช้	18
8	ค่าเฉลี่ยของ clear zone ในการทดสอบความไวของเชื้อ	19
9	ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดส่วนต่างๆของลำพู	20
10	ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดส่วนต่างๆของลำพูภายหลังจากย้อมมายังตัวกลางใหม่	20
11	เชื้อทดสอบแกรมบวกที่ใช้ในการทดลอง	22
12	เชื้อทดสอบแกรมลบที่ใช้ในการทดลอง	22
13	การยับยั้งเชื้อโรคต่างๆที่ทดสอบด้วยวิธี broth microdilution method ของสารสกัดจากลำพู (S (1-4), P (1-4) และ L (1-4))	25
14	การยับยั้งเชื้อโรคต่างๆที่ทดสอบด้วยวิธี broth microdilution method ของสารสกัดจากลำพู S4 , P4 และ L4 ซึ่งทำการทดสอบซ้ำ	26
15	การยับยั้งเชื้อโรคต่างๆ ที่ทดสอบด้วยวิธี broth microdilution method ของสารสกัด L, E, S, P, T, F และ C ซึ่งเป็นส่วนต่างๆของลำพูที่สกัดด้วยการหมักด้วยเมธานอล	27
16	การยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดจากลำพูด้วยการทดสอบด้วยวิธี disk diffusion	29
17	ค่า MIC การยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดจากลำพูจากการทดสอบวิธี Microdilution method	30
18	การยับยั้งเชื้อ <i>Leptospira inteerogans</i> ของสารสกัดจากลำพู	31
19	ฤทธิ์ทำลายเชื้อ (MBC) และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (MIC) ของสารสกัดจากลำพู	31
20	ฤทธิ์ของ P4 ต่อเชื้อ <i>Salmonella</i> & <i>Shigella</i> 34 สายพันธุ์	33
21	Plate count colony	37
22	การยับยั้งเชื้อด้วย BACTEC MGIT 960 : Antimycobacterial activity	37
23	การยับยั้งเชื้อวัณโรค (TB*) ของสารสกัดจากลำพู	38

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	Clear zone diameter จากการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดจากส่วนต่างๆของลำพูที่สกัดด้วยการหมักด้วยเมธานอล	19
2	ผลการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรต่อเชื้อ <i>Salmonella</i> 100 สายพันธุ์ (สมุนไพร SO, P4 และ P1 ที่ 3 mg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ทดสอบทั้งหมดเป็น 94, 35 และ 0 % ตามลำดับ)	33
3	ฤทธิ์ของสารสกัดต่อเชื้อ <i>Shigella</i> 100 สายพันธุ์ (สมุนไพร P4, SO และ P1 ที่ 3 mg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ทดสอบทั้งหมดเป็น 99, 88 และ 0% ตามลำดับ)	33
4	ฤทธิ์ของสารสกัด P4 ต่อเชื้อ <i>Salmonella & Shigella</i> 34 สายพันธุ์	34
5	Microplate Alamar Blue Assay (MABA): จำนวนเซลล์และการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสี	36
6	BACTEC™ MGIT™ 960 Indicator System	37
7	ฤทธิ์สารสกัดลำพู (100 ug/ml) ต่อการต้านเชื้อวัณโรค <i>M. tuberculosis</i> H37Ra	38
8	MIC ₉₀ ของสารสกัดต่อแบคทีเรียก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลทดสอบในช่วง 1050-1500 ug/ml	40
9	MIC ₉₀ ของสารสกัดต่อแบคทีเรียสาเหตุของโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจทดสอบในช่วง 375-1500 ug/ml	40

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

cfu/ml	=	colony-forming units per mliliter
Da	=	dalton
DMSO	=	dimethyl sulfoxide
INH	=	isoniazid
MBC	=	minimal bactericidal concentration
MIC	=	minimal inhibitory concentration
MRSA	=	methicilin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
ml	=	milliliter
mg	=	milligram
NA	=	not active
nm	=	nanometer
RIE	=	rifampin
SD	=	standard deviation
µg	=	microgram

(cm

µg

%

Trolox Equivalent Antioxidant Capacity assay (TEAC)

SDA (Difcotm Sabouraud Dextrose Agar: Becton, Dickenson and Company Sparks)

SDB (Difcotm Sabouraud Dextrose Broth: Becton, Dickenson and Company Sparks)

TSA (Difcotm Tryptic Soy Agar(Soybean-casein Digest Agar): Becton, Dickenson and Company, Sparks, MD, USA)

TSB (Difcotm Tryptic Soy Broth(Soybean-casein Digest Agar): Becton, Dickenson and Company, Sparks, MD, USA)

