

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลทั้งในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ของสารสกัดหยาบด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อ (*Curcuma cf. comosa* Roxb.) และทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลองของตำรับครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อ

การศึกษากิจกรรมกระตุ้นการหายของบาดแผลในหลอดทดลอง (*in vitro*) ทำโดยทดสอบฤทธิ์การเพิ่มจำนวนเซลล์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ผิวหนังของหนูชนิด L929 และเซลล์มะเร็งปากมดลูกของมนุษย์ชนิด HeLa cell ด้วยวิธี WST-1 cell proliferation assay และทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลจากแบบจำลองการหายของบาดแผล ด้วยวิธี Scratch assay ของสารสกัดหยาบด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 25-400 $\mu\text{g/ml}$ ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 400 $\mu\text{g/ml}$ มีฤทธิ์เพิ่มจำนวนเซลล์เพาะเลี้ยงทั้งชนิด L929 และ HeLa cell อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพร โดยมีค่า Proliferation index (P.I.) เท่ากับ 1.09 และ 1.19 ตามลำดับ และมีฤทธิ์ดีที่สุดในการเพิ่มจำนวนเซลล์ทั้งชนิด L929 และ HeLa cell ให้ชิดกันเร็วที่สุดที่เวลา 24 ชั่วโมง

การศึกษากิจกรรมกระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ของสารสกัดหยาบด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 0.1% w/v และ 0.2% w/v และตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 5% w/w และ 10% w/w ทำในหนูทดลองสายพันธุ์ C57BL/6 อายุ 8 สัปดาห์ จำนวน 6 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว โดยสร้างบาดแผลด้วยการเจาะให้เป็นรูที่ใบหูทั้งสองข้างด้วย metal ear punch ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ทาสารทดสอบที่ใบหูบริเวณบาดแผลทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 30 วัน โดยให้ใบหูข้างซ้ายของหนูทุกตัวทาด้วยตัวควบคุม กลุ่มที่ 1-3 ทาด้วยเอธิลอะซิเตท และหนูกลุ่มที่ 4-6 ทาด้วย cream base ส่วนใบหูข้างขวาทาด้วยสารสกัดหยาบด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 0.1% w/v (กลุ่มที่ 1), สารสกัดหยาบด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 0.2% w/v (กลุ่มที่ 2), Oxoferin® (กลุ่มที่ 3), ตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 5% w/w (กลุ่มที่ 4), ตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 10% w/w (กลุ่มที่ 5) และ Hirudoid® (กลุ่มที่ 6) บันทึกภาพ และประเมินการหายของบาดแผลจากร้อยละของการหายของบาดแผล (% wound healing) ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 0.2% w/v มีร้อยละของการหายของบาดแผลดีที่สุด ดีกว่าตัวควบคุมและ Oxoferin® อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยทำให้บาดแผลปิดสนิทได้ในวันที่ 30 (ร้อยละ 100) ส่วนตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิ

เตทของว่านหมาว้อที่ความเข้มข้น 5% และ 10% w/w มีร้อยละของการหายของบาดแผลใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 66.67 และ 62.12 ในวันที่ 30 ตามลำดับ ซึ่งดีกว่าตัวควบคุม และ Hirudoid® อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสุ่มตรวจชิ้นเนื้อทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลที่ใบหูของหนูที่ทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผล เพื่อดูพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในวันที่ 0, 2, 5, 10 และ 20 โดยประเมินจากความหนาแน่นของ polymorphonuclear (PMN), fibroblast, collagen fiber และหลอดเลือด และการสร้างชั้นหนังกำพร้าเพื่อปิดปากแผล ผลการวิจัยพบว่าเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลที่ทำด้วยสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อ และตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อ มีการเพิ่มขึ้นของ PMN, fibroblast, collagen fiber และหลอดเลือดมากกว่า Oxoferin®, Hirudoid® และกลุ่มควบคุม งานวิจัยนี้สรุปได้ว่า สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อมีฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลทั้งในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลอง จึงมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นยาใหม่ในอนาคต

คำสำคัญ : ฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในหลอดทดลอง ฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลอง สารสกัดหยาบด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อ ตำรับครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของว่านหมาว้อ

ABSTRACT

The objectives of these researches were to investigate for *in vitro* and *in vivo* wound healing effects of ethyl acetate crude extract of *Curcuma cf. comosa* Roxb. and *in vivo* wound healing effects of formulated cream of *Curcuma cf. comosa* Roxb.

In vitro wound healing effects of ethyl acetate crude extract of *Curcuma cf. comosa* Roxb. at concentration of 25-400 µg/ml were studied from cell proliferative activities in both mouse subcutaneous connective tissue cell cultures (L929) and human cervical carcinoma cell cultures (HeLa) by WST-1 cell proliferation assay and scratch assay that using as wound healing models. The results showed that crude extract at concentration of 400 µg/ml had significantly increased amount of cell cultures both L929 and HeLa with proliferation index (P.I.) of 1.09 and 1.19, respectively and also had strong activity to stimulate cell growth to close the space within 24 hours.

In vivo wound healing effects of ethyl acetate crude extract of *Curcuma cf. comosa* Roxb. at concentration of 0.1% and 0.2% w/v, formulated creams composed of 5% and 10% w/w ethyl acetate crude extract of *Curcuma cf. comosa* Roxb. were studied. The 8 weeks old of C57BL/6 mice were divided into 6 groups (n=6). Both ears of mice were punched to make a hole with 2-millimeters of diameter by metal ear punch. Samples were applied to wounds once a day for 30 days. Left ears of group 1-3 were applied with the control of ethyl acetate solvent. Right ears of group 1 and 2 were applied with 0.1% w/v and 0.2% w/v of ethyl acetate extracts of *Curcuma cf. comosa* Roxb., respectively. Right ears of group 3 were applied with Oxoferin®. While left ears of group 4-6 were applied with the control of cream base. Right ears of group 4 and 5 were applied with 5% w/w and 10% w/w of formulated creams of *Curcuma cf. comosa* Roxb., respectively. Right ears of group 6 were applied with Hirudoid®. Wound healing effects were determined by taking photographs and measuring the diameter of the wounds that be calculated into % of wound healing. The results showed that 0.2% w/v of ethyl acetate extract had % of wound healing significantly more than control and Oxoferin® ($p < 0.05$). The wound was completely healed at the day of 30 (100%). Whereas 5% and 10% w/w of curcuma creams had indifferent of %wound healing about 66.67% and 62.12% at the day of 30, respectively. But both formulated

creams had significantly wound healing effect better than cream base and Hirudoid® ($p < 0.05$). The pathological effects of histology of these ears were also examined at day 0, 2, 5, 10, 20 to evaluate the amount of polymorphonuclear (PMN), fibroblast, collagen fiber and vessels and the formation of epithelium healing the wound. The histological effects expressed that tissues around the wound area of treatment groups were found PMNs, fibroblasts, collagen fibers and vessels greater than control groups. In conclusion, ethyl acetate extract of *Curcuma cf. comosa* Roxb. had potential both *in vitro* and *in vivo* wound healing effects to be developed to a new drug in the future.

Keywords : *In vitro* wound healing effect, *In vivo* wound healing effect, ethyl acetate crude extract of *Curcuma cf. comosa* Roxb., formulated creams of ethyl acetate crude extract of *Curcuma cf. comosa* Roxb.