



ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ของสารสกัดและยาครีมจากตำรับยาแก้มูกติด

Antifungal activity against *Candida albicans* of extract and cream derived from Muttakit herbal formula

กฤติยา แก้วกุล* นันทพงศ์ ขำทอง และ วาลูกา พลายงาม

Krittaya Kaewkul*, Nanthaphong Khamthong, and Waluga Plaingam

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต

Master of Science in Oriental Medicine Program, College of Oriental Medicine, Rangsit University, Pathum Thani

*Corresponding author, E-mail: krittaya.pla@outlook.com

บทคัดย่อ

ตำรับยาแก้มูกติดเป็นยาแผนไทยที่ใช้รักษาอาการมูกติดหรือตกขาวได้อย่างมีประสิทธิภาพและไม่มีผลข้างเคียง แต่ยังไม่มียารายงานการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและการพัฒนายาในรูปแบบยาทาภายนอก งานวิจัยนี้จึงเกี่ยวข้องกับการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ของตำรับยาแก้มูกติด สมุนไพรเดี่ยวในตำรับ (ผักคราดหัวแหวน, ผักเสี้ยนผี, ผักเป็ดแดง และผลผักชีลา) และยาครีมที่พัฒนาจากตำรับยาแก้มูกติด โดยนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. albicans* ด้วยวิธี agar well diffusion ด้วยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้ง (inhibition zone) หาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (minimum inhibitory concentration: MIC) ด้วยวิธี broth micro-dilution และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum fungicidal concentration: MFC) ด้วยวิธี drop plate พบว่าสารสกัดตำรับยาแก้มูกติดและยาครีมมีค่าโซนใสของการยับยั้งเท่ากับ 28.33 และ 25.00 mm ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าของยา ketoconazole (44.67 mm) สำหรับสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีค่าโซนใสของการยับยั้งอยู่ในช่วง 18.33-28.00 mm เมื่อนำไปหาค่า MIC พบว่า สารสกัดตำรับยาแก้มูกติดมีฤทธิ์ในระดับกลาง แต่มีฤทธิ์ที่ดีกว่ายาครีมด้วยค่า MIC เท่ากับ 62.5 และ >500 µg/mL ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับยา ketoconazole (MIC <62.5 µg/mL) สารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีค่า MIC เท่ากับ 62.5 µg/mL ยกเว้นสารสกัดผลผักชีลาที่มีค่า MIC เท่ากับ 125 µg/mL สารสกัดทั้งหมดมีค่า MFC เท่ากับ 250 µg/mL ส่วนยาครีมมีค่า MFC เท่ากับ >500 µg/mL ผลการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นแนวทางในการพัฒนายาครีมให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นและพัฒนาตำรับยาแก้มูกติดในรูปแบบยาทาอื่น ๆ ต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา ตำรับยาแก้มูกติด ตกขาว *Candida albicans*

Abstract

Muttakit herbal formula, a Thai herbal medicine for the treatment of leukorrhea, has been proven effective with no side effects, but there has been no report on antimicrobial activities against pathogenic microorganisms and the development of topical medications from this herbal medicine. This research, therefore, focused on an antifungal activity against *Candida albicans* of the Muttakit herbal formula, every single herb in the formula (*Spilanthes acmella*, *Cleome viscosa*, *Alternanthera bettzickiana*, and *Coriandrum sativum*), and the cream developed from this herbal formula. The antifungal activity was preliminarily evaluated using an agar well diffusion method and expressed as an inhibition zone. A minimum inhibitory concentration (MIC) and a minimum fungicidal concentration (MFC) were then determined using broth micro-dilution and drop plate methods, respectively. From the results, the Muttakit herbal formula extract and the cream gave inhibition zones of 28.33 and 25.00 mm which were lower than that of ketoconazole (44.67 mm). For those of the four herbal extracts in the formula, their inhibition zones were between 18.33 and 28.00 mm. In addition, the antifungal activity of the Muttakit herbal formula extract was moderate but much better than that of the cream with MIC values of 62.5 and >500 µg/mL, respectively, when compared to that of ketoconazole (MIC <62.5



µg/mL). All the four herbal extracts gave the equal MIC value of 62.50 µg/mL except for *C. sativum* (MIC 125 µg/mL). All the herbal extracts displayed an equal MFC value of 250 µg/mL, while the cream gave the MFC value of >500 µg/mL. The results of this study could be used to develop the more effective herbal cream and further the development of the Muttakit herbal formula into other topical products.

Keywords: Antifungal activity, Muttakit herbal formula, Leukorrhea, *Candida albicans*

1. บทนำ

ในทางการแพทย์แผนไทยมูกิด หมายถึง โรคของสตรี มักมีระดูขาว ปัสสาวะขุ่นข้น บางครั้งบริเวณขอบทวารเบาอาจเป็นเม็ด เป็นแผล คัน เปื่อย แสบ เหม็นคาว มีอาการแสบอก กินอาหารไม่ร่ำรส ปวดหลัง และปวดเสียวมดลูก (กองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย, 2559, น. 354; Jaroenngarmsamer & Promdao, 2016. p. 7) ซึ่งในทางการแพทย์แผนปัจจุบันอาการดังกล่าวเทียบได้กับภาวะตกขาว (leukorrhea) หรือโรคติดเชื้อในอวัยวะเพศสตรีและช่องคลอดมีอาการคันในช่องคลอด หรือรอบ ๆ ปากช่องคลอดอย่างมาก มีตกขาวลักษณะข้นขาวคล้ายแป้งเปียกหรือคราบนม อาจมีอาการปวดเฉียบขณะร่วมเพศ หรือมีอาการปัสสาวะบ่อยและปวดแสบปวดร้อน ในบางรายอาจมีผื่นแดงรอบ ๆ ปากช่องคลอดหรือบริเวณขาหนีบร่วมด้วย (สุรเกียรติ์ อาชานุกาพ, 2553, น. 880)

อาการมูกิด เกิดจากการอักเสบ เนื่องจากบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ การแพ้สารระคายเคือง การบาดเจ็บของอวัยวะสืบพันธุ์ การติดเชื้อรา ได้แก่ เชื้อรา *Candida albicans* เป็นต้น รวมไปถึงปัจจัยร่วมอื่น ๆ ได้แก่ การสวนล้างช่องคลอด การรับประทานยาคุมกำเนิด การใส่ห่วงยางคุมกำเนิด การตั้งครรรภ์ ความอับชื้นบริเวณอวัยวะเพศ เป็นต้น ซึ่งอาการมูกิดที่เป็นในระยะเวลานาน อาจนำไปสู่โรคมะเร็งปากมดลูก ซึ่งพบได้เป็นอันดับที่ 5 ของโรคมะเร็งทั้งหมด และพบได้เป็นอันดับที่ 2 ของโรคมะเร็งในสตรี (กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2561, น. 2, 7)

เชื้อรา *C. albicans* เป็นเชื้อราต้นเหตุที่พบได้บ่อยที่สุดของอาการมูกิด ซึ่งพบได้มากถึง 80-85% (ชัยเลิศ พงษ์นริศร, 2553) ทางทางการแพทย์แผนปัจจุบันมีวิธีการรักษาโรคช่องคลอดอักเสบจากเชื้อรา (candidal vaginitis) โดยการใช้ยาเหน็บช่องคลอด ไนสแตติน (nystatin) ขนาด 10,000 ยูนิต เหน็บเช้า 1 เม็ด ก่อนนอน 1 เม็ด ติดต่อกัน 14 วัน หรือใช้ยาเหน็บช่องคลอดโคลไตรมาโซล (clotrimazole) ขนาด 500 mg เหน็บครั้งเดียวก่อนนอน หรือขนาด 100 mg เหน็บวันละครั้งก่อนนอน ติดต่อกัน 6 วัน หรือใช้ยาฆ่าเชื้อราคีโตโคนาโซล (ketoconazole) 400 mg วันละครั้งก่อนนอนเป็นเวลา 5 วัน (สุรเกียรติ์ อาชานุกาพ, 2553, น. 880) แต่เชื้อรา *C. albicans* เป็นเชื้อราที่มีค่า MIC ที่ต้องการรักษาของยา clotrimazole คิดเป็นร้อยละ 77.38 และมีค่า MIC ที่ต้องการรักษาของยา ketoconazole คิดเป็นร้อยละ 8.33 (เกรียงศักดิ์ จิตวัชรนันท์, 2550, น. 112) และมีแนวโน้มที่จะเป็นโรคติดเชื้อราในช่องคลอดชนิดเกิดซ้ำได้

ในทางการแพทย์แผนไทยมีการรักษาอาการมูกิดด้วยยาสมุนไพร ซึ่งมีระบุไว้ในตำราแพทย์ศาสตร์สงเคราะห์ 3 ตำรับ โดยหนึ่งในนั้นเป็นตำรับยาจากตำราพฤษยาถลงของพระยาเกษตรหิรัญรักษ์ ประกอบไปด้วยสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ผักเป็ดแดง ผักคราดหัวแหวน ผักเสี้ยนผี และผักชีลา (สถาบันภาษาไทย กรมวิชาการ กระทรวงศึกษาธิการ, 2547, น. 667-668) ซึ่งมีสรรพคุณที่คล้ายคลึงกัน คือ ฟอกโลหิตประจำเดือน กัดผิวหนัง และบำรุงโลหิต (ชยันต์ พิเชียรสุนทร, แม้นมาส ขวลิต และ วิเชียรจิรวรงค์, 2552, น. 360, 453, 459, 465) จากการสืบค้นข้อมูลเบื้องต้นมีรายงานว่าตำรับยาแก้มูกิดรักษาอาการมูกิดในผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพและไม่มีผลข้างเคียง โดยทดลองให้ผู้ป่วยจำนวน 30 ราย อายุ 20-45 ปี รับประทานตำรับยาแก้มูกิด ครั้งละ 2 แคปซูล (800 mg) ก่อนอาหารเช้าและเย็น เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของอาการมูกิดของผู้ป่วยลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึง สัปดาห์ที่ 2 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพของตำรับยาแก้มูกิดในแต่ละสัปดาห์มีค่าสูงขึ้น และผู้ป่วยมีความพึงพอใจต่อการรักษาเป็นอย่างมาก จึงมีค่าเฉลี่ยต่อการรักษาเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (กชมน อินทร์บัว, 2554, น. 39-41) แต่ยังไม่



มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ของตำรับยาแก้มูกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในห้องปฏิบัติการ และเนื่องจากในทางการแพทย์แผนปัจจุบันมีการใช้ยาทาภายนอกรักษาควบคู่ไปกับยาใช้ภายใน แต่แพทย์แผนไทยมีเฉพาะยาที่ใช้รับประทานยังไม่มีการพัฒนาตำรับยาทาใช้ภายนอกในการรักษาควบคู่กัน ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* ของตำรับยาแก้มูกัดและสมุนไพรแต่ละชนิดในตำรับ รวมไปถึงการพัฒนาสูตรจากตำรับยาแก้มูกัดเพื่อเป็นแนวทางในการรักษาควบคู่ไปกับยาใช้ภายใน

2. วัตถุประสงค์

- 2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ของตำรับยาแก้มูกัดและสมุนไพรในตำรับ
- 2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ของยาครีมที่พัฒนามาจากตำรับยาแก้มูกัด

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

เครื่องมือ ได้แก่ rotary evaporator (BUCHI, Switzerland), climatic stability chamber (Binder, Germany), incubator (LTE Scientific, England), light microscope (Sartorius, Germany), pH meter (Sartorius, Germany), pipette (Accumax, India), pipette tips (Accumax, India) และ Durham tube (Pyrex-Corning International K.K., Japan), viscometer (Drawell, China) สารเคมี ได้แก่ 95% ethanol (ซีทีแลบอราตอรี ไทย), ketoconazole (Nizoral, Thailand), eumulgin SG (Myskinrecipes, Thailand), stearic acid (เคมีภัณฑ์, ไทย), emulium wax (กรุงเทพเคมี, ไทย), cetyl alcohol (เคมีภัณฑ์, ไทย), stearyl alcohol (เคมีภัณฑ์, ไทย), jojoba oil (กรุงเทพเคมี, ไทย), coconut oil (กรุงเทพเคมี, ไทย), propylene glycol (เคมีภัณฑ์, ไทย), xanthan gum (เคมีภัณฑ์, ไทย), EDTA (เคมีภัณฑ์, ไทย), tocopherol (Namsiang Group, Thailand), Mueller Hinton agar (Himedia, USA), potato dextrose broth (Diffco, USA), dimethyl sulfoxide (Loba, India), normal saline solution (ANB, Thailand), distilled water (RCI Labscan, Thailand), sterile water (ANB, Thailand) และ resazurin (Jiangsu, China)

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 ตัวอย่างสมุนไพร

จัดซื้อสมุนไพรแห้งในตำรับยาแก้มูกัดทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ผักคราดหัวแหวน ผักเป็ดแดง ผักเสี้ยนผี และผลผักชีลา จากร้านเวซพงค์โฮสเทล (ฮักอันตั้ง) กรุงเทพมหานคร นำมาอบด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มาบดละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า

3.2.2 การสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพรที่บดละเอียดแล้วมาสกัด โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ตำรับยาแก้มูกัดและสมุนไพรเดี่ยวในตำรับ หมักสมุนไพรด้วย 95% เอทานอล เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง ส่วนกากที่กรองได้นำมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่กรองได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator และนำสารสกัดที่ได้มาระเหยแห้งบนอ่างอังไอน้ำ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (%yield) และเก็บสารสกัดไว้ในโถสุญญากาศ

3.2.3 การเตรียมเชื้อรา *Candida albicans* และการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

โดยเชื้อเชื้อที่ต้องการทดสอบจากอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 1 โคลโลนี ใส่ลงในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเทียบความขุ่นทุกครั้งก่อนนำมาใช้ทดสอบ ให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard และในส่วนของการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ *C. albicans* ใช้ Mueller Hitton agar เป็นอาหารในการ



เพาะเลี้ยงเชื้อ เตรียมโดยซัง MHA 7.6 g แล้วเติมน้ำกลั่น 200 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปเข้าเครื่อง autoclave จากนั้นนำมาเทใส่ plate แล้วรอจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจะคงรูป

3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลชีพ

Agar well diffusion (Lorian, 1996, pp. 28-35, 57-58) เป็นการหาค่าขอบเขตการยับยั้งการเจริญของจุลชีพ (inhibition zone) โดยเตรียมสารสกัดตำรับยาแก้มูกตืดและสารสกัดสมุนไพรในตำรับ ให้มีความเข้มข้น 500 µg/mL เจือจางลงครึ่งละ 2 เท่า (two-fold dilution) ด้วย sterile water ปิเปิดเชื้อ *C. albicans* 100 µL ลงบนผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) และใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้ทั่ว เจาะหลุมบนผิวหน้าอาหาร MHA โดยให้หลุมอยู่ตรงกลางของจานอาหาร ปิเปิดสารสกัด อย่างละ 100 µL หยดลงในหลุมที่มีเชื้อ *C. albicans* สำหรับยาครีมแก้มูกตืดให้ซังน้ำหนักที่แน่นอนของครีมที่หยดลงไป 0.2338, 0.1882 และ 0.1654 g) และในส่วนของยาควบคุมแบบบวก (positive control) ใช้ ketokonazole เตรียมโดย ketokonazole 1 g เจือจางด้วย DMSO 1 mL และเจือจางลง 2 เท่าด้วย sterile water แล้วปิเปิด 100 µL หยดลงในหลุมที่มีเชื้อ *C. albicans* เช่นกัน หลังจากนั้นจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จึงใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส หรือบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ (inhibition zone) รอบหลุม ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ จากนั้นทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (minimum inhibitory concentration: MIC) ด้วยวิธี broth micro-dilution (CLSI, 2018, p. 1) โดยเตรียมสารสกัดตำรับยาแก้มูกตืด สารสกัดสมุนไพรในตำรับ ยาครีมตำรับยาแก้มูกตืด และยา ketoconazole ให้มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 500-62.5 µg/mL เจือจางลงครึ่งละ 2 เท่า ด้วย sterile water ปิเปิดเชื้อ *C. albicans* จำนวน 80 µL ลงใน 96-well plate เติมน้ำในหลุมที่ความเข้มข้น 500-62.5 µg/mL อย่างละ 20 µL และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้ใส่สารละลาย resazurin 0.04% w/v จำนวน 20 µL ลงในหลุมทุกหลุม และนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง อ่านผลและบันทึกผล ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ สังเกตจากการเปลี่ยนสีของ resazurin ซึ่งมีสีน้ำเงิน หากมีการเจริญของเชื้อสีของ resazurin จะเปลี่ยนเป็นสีชมพู ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ (โดยเลือกค่า MIC ที่เท่ากันอย่างน้อย 2 ซ้ำมาใช้รายงานผล) และการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum fungicidal concentration: MFC) ด้วยวิธี drop plate ใช้ loop แตะสารสกัดจากการทำการทดสอบหาค่า MIC ที่อยู่ใน 96-well plate ทุกหลุมแล้วนำมา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA นำเชื้อไปเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญของเชื้อ โดยสังเกตการเจริญเป็นโคโลนีบนรอยที่ streak ช่องที่มีความเข้มข้นต่ำสุดและไม่มีการเจริญของเชื้อ คือ ค่า MFC ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อยืนยันผล

3.2.5 การพัฒนายาครีมแก้มูกตืด

- 1) ส่วนประกอบของตำรับยาครีม (ตารางที่ 1)
- 2) ขั้นตอนการเตรียมครีม

ซังสารทุกตัวในเฟส A รวมกัน แล้วนำไปอุ่นให้ได้อุณหภูมิ 70-75 °C สำหรับเฟส B ซัง propylene glycol แล้วค่อย ๆ โปรย xanthan gum ลงไป ใช้แท่งแก้วคนให้กระจายตัว เติมน้ำ EDTA ลงไปคนให้เข้ากันแล้วเติมน้ำ purified water 50 mL แล้วนำไปอุ่นบน water bath ให้ได้อุณหภูมิ 73-75 °C ผสมเฟส A กับเฟส B ขณะที่อุณหภูมิของเฟส A มากกว่าเฟส B ไม่เกิน 3 °C คนในทิศทางเดียวกันตลอดเวลาจนครีมอุ่น (40-45 °C) นำเฟส C และเฟส D ผสมลงไปคนให้เข้ากัน แล้วบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์



ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของตำรับยาครีม

เฟส	ส่วนประกอบ	ปริมาณ (g)	หน้าที่
A	1) Eumulgin SG	0.5	Emulsifier
	2) Stearic acid	2	Emulsifier
	3) Emulium wax	3	Emulsifier
	4) Cetyl alcohol	2	Emulsifier
	5) Stearyl alcohol	2	Emulsifier
	6) Jojoba oil	8	Oil emollient
	7) Coconut oil	8	Oil emollient
B	8) Propylene glycol	3	Humectant
	9) Xanthan gum	0.5	Thickener
	10) Purified water	50	Solvent
	11) EDTA	0.1	Chelating agent
C	12) Tocopherol	0.1	Antioxidant
D	13) สารสกัดสมุนไพรร 12% ในน้ำ	20.8	Solvent

3.2.6 การประเมินสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของตำรับยาครีม

1) สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของครีม

1.1) ลักษณะเนื้อครีม ต้องเนียน เป็นเนื้อเดียวกัน

1.2) สี ต้องไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

1.3) การแยกชั้น จะต้องไม่แยกชั้น ไม่จับตัวเป็นก้อน และไม่ตกตะกอน

1.4) การกระจายตัว เมื่อทาลงบนผิวจะต้องกระจายตัวได้ดี

1.5) ความหนืด ไม่ข้นและไม่เหลวจนเกินไป โดยใช้เครื่องวัดความหนืด (viscometer)

1.6) ค่าความเป็นกรดต่าง ต้องมี pH อยู่ในช่วง 3.5-7.5 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

กระทรวงอุตสาหกรรม, 2561, น. 2)

2) การทดสอบความคงตัวของครีม โดยเก็บครีมในเครื่อง climatic stability test ที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 24 ชม. สลับกับอุณหภูมิ 5 °C 24 ชม. นับเป็น 1 รอบ ทำซ้ำ 6 รอบ โดยนำครีมออกมาประเมินสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ในรอบที่ 3 และ 6

4. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อเบื้องต้นด้วยวิธี Agar well diffusion

จากการทดสอบการยับยั้งด้วยวิธี agar well diffusion ของเชื้อ *C. albicans* ด้วยสารสกัดโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีอาการเจริญของเชื้อ (inhibition zone) พบว่าสารสกัดตำรับยาแก้มูกมีค่าโซนใสของการยับยั้งมากที่สุดอยู่ที่ 28.33 mm (ตารางที่ 2) เนื่องจากมีสารสกัดของสมุนไพรร 12 ชนิดรวมกัน จึงทำให้สามารถยับยั้งเชื้อได้มากกว่าสารสกัดชนิดอื่น ๆ แต่ในส่วนของยาครีมที่พัฒนามาจากตำรับยาแก้มูกมีค่าการยับยั้งน้อยกว่าสารสกัดตำรับยาแก้มูกที่ 25.00 mm อาจมาจากสาเหตุที่ครีมมีส่วนประกอบของสารเคมีอื่น ๆ ผสมอยู่จึงทำให้การนำส่งยาหรือการแพร่ของยาได้น้อยลงส่งผลให้สาร



สกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยลง และนอกจากนี้สีและกลิ่นของสารสกัดมีความเฉพาะ ทำให้ผสมในครีมได้ในปริมาณจำกัด ทำให้ครีมของตำรับยาแก้มดกัดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เทียบเท่ากับสารสกัดตำรับยาแก้มดกัด สารสกัดสมุนไพรเดี่ยว ได้แก่ ผักคราดหัวแหวน ผักเสี้ยนผี ผักเป็ดแดง และผลผักชีลา มีค่าโซนใสของการยับยั้งน้อยกว่าตำรับยาแก้มดกัดอยู่ในช่วง 18.33-28.00 mm โดยสารสกัดผลผักชีลามีค่าการยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 28.00 mm ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดตำรับยาแก้มดกัด เมื่อเทียบกับยา ketoconazole ที่มีค่าโซนใสของการยับยั้งอยู่ที่ 44.67 mm

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบหาค่า Inhibition zone, MIC และ MFC ต่อเชื้อ *C. albicans*

ตัวอย่างทดสอบ	Inhibition zone (mm)	MIC (µg/mL)	MFC (µg/mL)
สารสกัดตำรับยาแก้มดกัด	28.33±13.87	62.5	250
สารสกัดผักคราดหัวแหวน	18.33±3.21	62.5	250
สารสกัดผักเสี้ยนผี	23.00±4.58	62.5	250
สารสกัดผักเป็ดแดง	26.33±10.21	62.5	250
สารสกัดผลผักชีลา	28.00±9.64	125	250
ยาครีมตำรับยาแก้มดกัด	25.00±10	>500	>500
Ketoconazole	44.67±5.51	<62.5	<62.5

4.2 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ด้วยวิธี Broth micro-dilution

จากการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งของเชื้อ *C. albicans* (ตารางที่ 2) พบว่าสารสกัดตำรับยาแก้มดกัด และสมุนไพรเดี่ยวทุกชนิดมีฤทธิ์อยู่ในระดับกลางโดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 µg/mL ยกเว้นสารสกัดผลผักชีลาที่มีค่า MIC เท่ากับ 125 µg/mL ในส่วนของยาครีมแก้มดกัดพบว่ามีฤทธิ์อ่อนมากโดยมีค่า MIC เท่ากับ >500 µg/mL เมื่อเทียบกับยา ketoconazole ที่มีค่า MIC อยู่ที่ <62.5 µg/mL แสดงให้เห็นว่ายาครีมไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ อาจเนื่องด้วยสารสกัดที่ผสมลงในยาครีมมีปริมาณจำกัดและเจือจางลงจนไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ นอกจากนี้ส่วนประกอบของครีมในตำรับอาจมีผลให้สารสำคัญในสารสกัดเกิดการแพร่ได้น้อยลง ซึ่งควรทำการศึกษาการนำส่งยาครีมต่อไปในอนาคต

4.3 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MFC) ด้วยวิธี Drop plate




การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ ของเชื้อ *C. albicans* พบว่าสารสกัดตำรับยาแก้มดกัดและสมุนไพรเดี่ยวทุกชนิดมีค่า MIC เท่ากับ 250 µg/mL สำหรับยาครีมแก้มดกัดมีค่า MIC >500 µg/mL เมื่อเทียบกับยา ketoconazole ที่มีค่า MIC อยู่ที่ <62.5 µg/mL สอดคล้องกับผลการทดสอบค่าโซนใสของการยับยั้งและค่า MIC

4.4 การประเมินสมบัติทางกายภาพและเคมี และความคงตัวของครีม

ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมีของตำรับยาครีม (ตารางที่ 3) พบว่าหลังเตรียมเสร็จ เนื้อครีมเนียน ไม่แข็งกระด้าง สีเขียวอ่อนจากสารสกัดสมุนไพร ไม่มีการแยกชั้น ซึมเข้าผิวได้ดี ไม่เหนอะหนะ มีกลิ่นของสารสกัดสมุนไพร และเมื่อทาแล้วสามารถล้างออกได้ง่าย เมื่อทำการทดสอบในสภาวะเร่ง พบว่าครีมไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม แต่ความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งยังอยู่ในมาตรฐาน มอก. ในช่วง 3.5-7.5 แต่อย่างไรก็ตามลักษณะ สีของครีมปรากฏเป็นสีเขียวอ่อนของสารสกัดสมุนไพร และมีกลิ่นของสารสกัดสมุนไพร ทำให้ครีมดูไม่น่าใช้ และค่าความหนืดมีแนวโน้มลดลง แต่ไม่มีผลต่อความคงตัวของครีมและเมื่อทาลงบนผิว ซึ่งควรวิจัยและพัฒนาต่อไป



ตารางที่ 3 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของตำรับยาครีม

คุณสมบัติ	หลังเตรียมเสร็จ	รอบที่ 3	รอบที่ 6
รูปครีม			
เนื้อครีม	เนื้อครีมเนียน ไม่แข็งกระด้าง	เนื้อครีมเนียน ไม่แข็งกระด้าง	เนื้อครีมเนียน ไม่แข็งกระด้าง
สี	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน
การแยกชั้น	ไม่มีการแยกชั้น	ไม่มีการแยกชั้น	ไม่มีการแยกชั้น
การกระจายตัว	ความรู้สึกเมื่อทาผิว ทาง่าย ซึม เข้าผิวได้ดี ไม่เหนอะหนะ	ความรู้สึกเมื่อทาผิว ทาง่าย ซึม เข้าผิวได้ดี ไม่เหนอะหนะ	ความรู้สึกเมื่อทาผิว ทาง่าย ซึม เข้าผิวได้ดี ไม่เหนอะหนะ
กลิ่น	กลิ่นสารสกัดสมุนไพร	กลิ่นสารสกัดสมุนไพร	กลิ่นสารสกัดสมุนไพร
การล้างออก	สามารถล้างน้ำออกได้ง่าย	สามารถล้างน้ำออกได้ง่าย	สามารถล้างน้ำออกได้ง่าย
ความหนืด	SP: L4, RPM: 60 V: 17934 cP 88.8%	SP: L4, RPM: 60 V: 8744.6 cP 86.6%	SP: L4, RPM: 60 V: 8367.8 cP 82.8%
ความเป็นกรด-ด่าง	6.34	6.80	6.85

5. สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ของสารสกัดตำรับยาแก้มดกัดและยาครีมที่พัฒนาจากสารสกัดตำรับยาแก้มดกัดที่ยังไม่มีรายงานการศึกษามาก่อน รวมถึงฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับ โดยการทดสอบค่าโซนใสของการยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยวิธี agar well diffusion ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ด้วยวิธี broth micro-dilution และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MFC) ด้วยวิธี drop plate ทำให้ทราบว่า สารสกัดตำรับยาแก้มดกัดมีฤทธิ์อยู่ในระดับกลาง โดยมีค่าโซนใสของการยับยั้งและ MIC เท่ากับ 28.33 mm และ 62.5 µg/mL ตามลำดับ เมื่อเทียบกับยา ketoconazole ซึ่งมีค่าโซนใสของการยับยั้งและ MIC เท่ากับ 44.67 mm และ <62.5 µg/mL ตามลำดับ สำหรับยาครีม พบว่ามีค่าโซนใสของการยับยั้งเท่ากับ 25.00 mm ซึ่งต่ำกว่าของสารสกัดตำรับยาแก้มดกัด และมีฤทธิ์ในระดับอ่อนมากด้วยค่า MIC เท่ากับ >500 µg/mL สำหรับสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีค่าโซนใสของการยับยั้งอยู่ในช่วง 18.33-28.00 mm และค่า MIC เท่ากับ 62.5 µg/mL ยกเว้นสารสกัดผลผักชีลาที่มีค่า MIC เท่ากับ 125 µg/mL สารสกัดทั้งหมดมีค่า MFC เท่ากับ 250 µg/mL ส่วนยาครีมมีค่า MFC เท่ากับ >500 µg/mL

ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าสารสกัดตำรับยาแก้มดกัดสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* ได้ แต่ไม่เทียบเท่ากับยา ketoconazole และตำรับยาครีมแก้มดกัดไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ เนื่องจากมีข้อจำกัดของปริมาณสารสกัดที่สามารถผสมในยาครีม หากผสมมากเกินไปจะทำให้สีและกลิ่นของครีมไม่น่าใช้ นอกจากนี้ส่วนประกอบต่างๆ ของครีมอาจส่งผลให้เกิดการนำส่งยาหรือการแพร่ของสารสำคัญได้น้อยลง ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพของครีมลดลง จึงควรศึกษาผลของปัจจัยเหล่านี้เพื่อพัฒนายาครีมให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นและพัฒนาตำรับยาแก้มดกัดในรูปแบบยาทาอื่น ๆ ต่อไป



6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.นันทพงศ์ ชำทอง และ ดร.วาสุภา พลายงาม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาและถ่ายทอดเทคนิคการทำปฏิบัติการในการวิจัย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

7. เอกสารอ้างอิง

- กขมน อินทร์บัว. (2554). *ประสิทธิผลของตำรับยาแก้มุตกิด* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). ปทุมธานี: มหาวิทยาลัยรังสิต.
- กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2561). *ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2560*. สืบค้นจาก https://www.nci.go.th/th/File_download/Nci%20Cancer%20Registry/HOSPITAL-BASED%202015.pdf
- กองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย. (2559). *พจนานุกรมศัพท์แพทย์และเภสัชกรรมแผนไทยฉบับราชบัณฑิตยสถาน*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- เกรียงศักดิ์ จิตวัชรนันท์. (2550). การศึกษาภาวะการติดเชื้อราในช่องคลอดของสตรีที่มารับบริการตรวจคัดกรองโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่ศูนย์กามโรค และโรคเอดส์เขต 10 เชียงใหม่. *สาธารณสุขล้านนา*, 3(1), 102-116.
- ชัยนต์ พิเชียรสุนทร, แม้นมาส ขวลิต และ วิเชียร จีรวงศ์. (2552). *คำอธิบายตำราพระโอสถพระนารายณ์*. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: อมรินทร์.
- ชัยเลิศ พงษ์นริศร. (2553). *ภาวะตกขาว*. สืบค้นจาก https://w1.med.cmu.ac.th/obgyn/index.php?option=com_content&view=article&id=413:leukorrhea&catid=
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. (2564). *ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร Herbal Body Cream/Lotion*. สืบค้นจาก <https://www.tisi.go.th/assets/website/pdf/tiss/s138-2564.pdf>
- สถาบันภาษาไทย กรมวิชาการ กระทรวงศึกษาธิการ. (2547). *แพทยศาสตร์สงเคราะห์ (ภูมิปัญญาทางการแพทย์และมรดกทางวัฒนธรรมของชาติ)*. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ: cursสภาลาดพร้าว.
- สุรเกียรติ อาชานุกาพ. (2553). *ตำราการตรวจรักษาโรคทั่วไป 2*. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: โอเอสพับลิชชิ่ง.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2008). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Jaroengarmsamer, P., & Promdao, W. (2016). Muttakit, vaginal discharge in Thai traditional medicine. *International Journal of Management and Applied Science*, 2(11), 7-10.
- Lorian, V. (1996). *Antibiotics in laboratory medicine*. 4th ed. Baltimore, MD: Williams & Wilkins.