

ฤทธิ์ต้านเชื้อสิว (*Propionibacterium acnes*) จากสมุนไพรไทย (Anti-*Propionibacterium acnes* from Thai herbal medicines)

วันวิสาข์ คุณะวัฒนกุล¹, วณิดา ไทรชมภู², คัทลียา เมฆจรัสกุล¹, อมรรัตน์ เจริญมิตร³,
ชิตชนก เหล็กดี⁴, ณัฐภาภานต์ ศรีจันทร์⁴

Wanwisa Khunawattanakul¹, Wanida Caichompoo², Catheleeya Mekjaraskul¹, Amonrat Charoenmit³,
Chidchanok Lekdee⁴, Natthaphakan Srichan⁴

Received: 2 December 2016 ; Accepted: 7 March 2017

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว *P. acnes* จากสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตักแตน (*Anethum graveolens* Linn.) เทียนขาว (*Cuminum cyminum* L.) เทียนยาวพาดิน (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague) มะเขว่น (*Zanthoxylum limonella* Alston) และสมุนไพรที่มีสารฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบจากหอมแดง (*Alliumascalonicum* L.) ด้วยวิธี agar disc diffusion method และ broth dilution method และนำมาหาปริมาณสารสำคัญของพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อสิว *P. acnes* ดีที่สุด โดยหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยรวม (Total volatile oil) ด้วยเครื่องมือ GC-MS ผลการศึกษาพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากเทียนยาวพาดิน มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อดีที่สุดในค่า inhibition zone เท่ากับ 85.00±0.00 มม. และเมื่อนำมาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 3.555 มก./มล. เมื่อนำมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเทียนยาวพาดิน พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด จำนวน 32 ชนิด โดยมี Thymol เป็นองค์ประกอบหลักคิดเป็นร้อยละ 39.03 รองลงมาเป็น unknown 2 คิดเป็นร้อยละ 31.85, 3,5-Dimethylanisole คิดเป็นร้อยละ 23.02 และ γ -terpinene คิดเป็นร้อยละ 1.99 ดังนั้น จะเห็นว่าสารสำคัญกลุ่มน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อสิว โดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากเทียนยาวพาดินซึ่งควรนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อรักษาสิวต่อไป

คำสำคัญ: *Propionibacterium acnes* น้ำมันหอมระเหยเทียนยาวพาดิน thymol

บทนำ

สิวคือการอักเสบของรูขุมขนและต่อมไขมัน (pilosebaceous unit) โดยมากมักเป็นบริเวณหน้า คอ และลำตัว ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีต่อมไขมันขนาดใหญ่อยู่หนาแน่น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดสิว เช่นยาบางชนิด เครื่องสำอาง และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น โดยสาเหตุของสิวเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลัก ได้แก่ (1) บทบาทของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาศัยอยู่ที่ผิวหนังและภายในต่อมไขมัน (2) การเกิดปฏิกิริยาการอักเสบ เป็นผลของ mediator

ต่างๆ ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Propionibacterium acnes* (3) มีความผิดปกติในการสร้างเคราตินภายในต่อมไขมัน และ (4) ต่อมไขมันสร้าง sebum เพิ่มขึ้น ซึ่งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว ได้แก่ *Propionibacterium* หรือ *Corynebacterium* เป็น anaerobic pleomorphic diphtheroid พบได้ทั่วไปตามผิวหนัง ผม ขน ช่องปาก ในคอมมีโดชนิดปิดมี *P. acnes* มากกว่าในคอมมีโดชนิดเปิด ในขณะที่คอมมีโดชนิดเปิดมี *Pityrosporum* และ cocci มากกว่าในคอมมีโดชนิดปิด เนื่องจาก

¹ อาจารย์, ²ผู้ช่วยศาสตราจารย์ หน่วยปฏิบัติการวิจัยเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

³ นิสิตบัณฑิตศึกษา, ⁴นิสิตเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

¹ Lecturer, ²Assist. Prof., Pharmaceutical Chemistry and Natural Product Research Unit, Faculty of Pharmacy, MahaSarakhm University, Kantharawichai District, Mahasarakham 44150, Thailand

³ Master Degree Student, ⁴Bachelor Degree Student, Faculty of Pharmacy, MahaSarakhm University, Kantharawichai District, Mahasarakham 44150, Thailand

* Corresponding author: Wanwisa Khunawattanakul, Pharmaceutical Chemistry and Natural Product Research Unit, Faculty of Pharmacy, MahaSarakhm University, e-mail: wanwisa.k@msu.ac.th

เชื้อพวก aerobes รวมตัวกันอยู่ในบริเวณปากชุมชนและส่วนใหญ่เป็นพวก cocci ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ลึกลงไปในห้องชุมชนเป็นพวก diphtheroids รวมทั้งเชื้อที่ทำให้เกิดฝีหนอง ได้แก่ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก พบอยู่ทั่วไปตามร่างกาย เช่น บริเวณผิวหนัง กรดไขมันจากต่อมเหงื่อ และต่อมไขมันจากผิวหนัง สามารถเกาะติดกับเนื้อเยื่อบริเวณจมูกและหลังโพรงจมูกโดยไม่ถูกขับไปกับเมือกหรือน้ำมูก บริเวณใบหน้าหรือผิวหนังเป็นที่อยู่อาศัยของแบคทีเรีย *S. epidermis* ซึ่งถ้าสิวเกิดการติดเชื้อเพิ่ม จะทำให้เกิดสิวกักเสบรุนแรงขึ้นและมีหนอง^{1,2}

การรักษาสิวในปัจจุบันพบว่ามียาหลายรูปแบบ สำหรับใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว ทั้งการรับประทานยาปฏิชีวนะในรูปแบบรับประทาน และรูปแบบยาใช้ภายนอก หรือใช้ควบคู่กัน แต่วิธีเหล่านี้พบว่ามียาผลข้างเคียงที่สามารถเกิดขึ้นได้เช่น การแพ้ยาปฏิชีวนะ การระคายเคืองผิวหนัง คัน ผื่นไวต่อแสง รวมถึงการดื้อยา^{3,4} จากข้อมูลดังกล่าวจึงนำมาสู่แนวคิดการนำสมุนไพรมาใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาสิว ซึ่งเป็นการรักษาเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาจากสารเคมีและผลกระทบจากการใช้ยา โดยแพทย์ทางเลือกได้มีการนำสมุนไพรมาใช้ในการรักษาสิว เช่น น้ำมันหอมระเหยจาก tea tree oil มีงานวิจัยยืนยันว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว^{3,5} และปัจจุบันได้มีผลผลิตขายในท้องตลาดในรูปแบบเจล ครีม และแผ่นแปะสิว รวมถึงปัจจุบันยังมีรายงานวิจัยอีกจำนวนมากยืนยันว่าน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรนั้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย^{1,2,3,5,6,7,8,9} และพบว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดสิวได้คือ terpinen-4-ol, α -terpinene, α -terpineol, 1,8-cineol, α -pinene, limonene^{3,10} ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้พบได้ในสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ พืชวงศ์ส้ม (Fam. Rutaceae) วงศ์ผักชี (Fam. Apiaceae) และวงศ์กระเพรา (Fam. Lamiaceae) เป็นต้น^{2,7} นอกจากนี้พบว่า มีสมุนไพรอีกหลายชนิดในวงศ์ผักชี ได้แก่ เทียนขาว เทียนแดง เทียนยาวพาดิน และวงศ์ส้ม ได้แก่ มะแขว่น¹¹ รวมทั้งหอมแดงเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์กระเทียม (Fam. Alliaceae) ที่มีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* และ *Staphylococcus aureus*¹²

จากการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่า แม้สมุนไพรดังกล่าวจะมีการศึกษานำร่องเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่สาเหตุของการเกิดฝีหนองและสิวจำนวนมาก แต่ยังคงขาดการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnes* ซึ่งเป็นเชื้อสำคัญที่ก่อให้เกิดสิวดังนั้น การวิจัยครั้งนี้จึงสนใจศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่เป็น

สาเหตุของการเกิดสิวคือ *P. acnes* ด้วยวิธี agar disc diffusion method และ broth dilution method ในสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สมุนไพรในวงศ์ผักชีคือ เทียนตาตักแตน (*Anethum graveolens* Linn.) เทียนขาว (*Cuminum cyminum* L.) เทียนยาวพาดิน (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague) สมุนไพรในวงศ์ส้ม คือ มะแขว่น (*Zanthoxylum limonella* Alston) และสมุนไพรในวงศ์กระเทียมหอมแดง (*Alliumascalonicum* L.) และหาปริมาณสารสำคัญของพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อสิวดีที่สุด เพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกสมุนไพรที่มีศักยภาพไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อรักษาสิวต่อไป

วิธีทดลอง

(1) การเตรียมตัวอย่างพืช

ตัวอย่างพืชสมุนไพร จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตักแตน (*A. graveolens* Linn.) เทียนขาว (*C. cyminum* L.) เทียนยาวพาดิน (*T. ammi* (L.) Sprague) ได้มาจากร้านยาแผนโบราณ อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม มะแขว่น (*Z. limonella* Alston) ได้จากร้านยาแผนโบราณ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ และหอมแดง (*A. ascalonicum* L.) ได้จากร้านค้าในอำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ตัวอย่างพืชสมุนไพรได้รับการตรวจสอบความถูกต้องโดยผู้เชี่ยวชาญจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(2) การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร

สมุนไพรจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตักแตน เทียนขาว เทียนยาวพาดินและมะแขว่น นำมากลั่นน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธี water distillation ด้วยเครื่อง cleverger apparatus ชนิดน้ำมันเบากว่าน้ำ ซึ่งตัวอย่างสมุนไพรแต่ละชนิด ๆ ละ 20 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาณ 200 มล. ใส่ใน round bottom flask ขนาด 500 มล. กลั่นนาน 4 ชั่วโมง วัดปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้ นำมาดูดน้ำด้วย sodium anhydrous และเก็บน้ำมันหอมระเหยไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C ส่วนหอมแดง นำมาสกัดด้วยวิธีการหมัก (maceration) นำหอมแดงสดมาล้างทำความสะอาด และหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 °C จนแห้ง แล้วนำมาบดเป็นให้ละเอียด ซึ่งผงหอมแดง 500 กรัม มาสกัดด้วย 50% EtOH ปริมาณ 1,000 มล. เป็นเวลา 7 วัน นำไป sonicate วันละ 2 ครั้ง เข้า-เย็นครั้งละ 10 นาที หลังจากนั้นนำมากรองแยกกากแล้วนำสารสกัดไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำสารสกัดหอมแดงที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C

(3) การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnes*

Agar disc diffusion method

- เตรียม inoculum เชื้อ โดยนำเชื้อ *P. acnes*

(DMST 14916 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion agar (BHI) บ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาชั่วโมง 24 ชั่วโมง เตรียมเชื้อทดสอบให้มีจำนวนเริ่มต้นประมาณ 10⁸ CFU/ml โดยเทียบด้วย McFarland Standards NO. 0.5

- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง โดยใช้ปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ปริมาณ 20 มล. ใส่ใน 1 จานเลี้ยงเชื้อ (plate) ทิ้งไว้ให้แห้งก่อนนำไปทดสอบ ทำให้แห้งโดยนำไปวางในตู้เพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37°C หรือ ในตู้ laminar flow ไม่เกิน 30 นาที

- ใช้ก้านพันสำลีปลอดเชื้อ (sterile cotton swab) จุ่มในสารละลายเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด และกระจายสารละลายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง รอให้ผิวหน้าอาหารแห้งประมาณ 5 นาที

- เตรียมตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรที่นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ ได้แก่ ดูน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรแต่ละชนิด ปริมาณ 15 µl และดูดสารสกัดหอมแดงที่ละลายด้วย 50% EtOH ความเข้มข้น 500 มก./มล. ปริมาณ 15 µl ใส่ลงบน แผ่น paperdisc ตามลำดับ ปล่อยให้แห้ง โดยมี negative control คือ 50% EtOH และ positive control คือ gentamicin ขนาด 40 µg/mL ใช้คีมคิปปปลอดเชื้อ (sterile forcep) คีบ paper disc วางแนบกับผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

- นำเชื้อไปบ่มที่สภาวะไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยคว่ำจานอาหารลงในกรณีทดสอบแต่ละเชื้อทดสอบ ทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ บันทึกข้อมูลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสยับยั้ง (Inhibition Zone) ที่เกิดขึ้นในหน่วยมิลลิเมตร

3.2 Broth dilution method

- นำหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ 12 หลอด เขียนหมายเลขกำกับที่หลอด

- ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHI ใส่ในหลอดที่ 2-12 หลอดละ 1 มล.

- ดูดสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดใส่ใน หลอดที่ 1 และ 2 หลอดละ 1 มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วใช้ปิเปตดูด

ตัวอย่างในหลอดที่ 2 ปริมาตร 1มล. ใส่ในหลอดที่ 3 ทำเช่นนี้จนถึงหลอดที่ 11

- ดูดสารละลายในหลอดที่ 11 ออกไป 1 มล. ส่วนหลอดที่ 12 จะมีอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นหลอดควบคุม โดยเรียงลำดับจากหลอดที่ 1 – 11 ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.20 และ 0.10 มก./มล. ตามลำดับ

- เติมน้ำ P. acnes ที่ต้องการทดสอบที่เตรียมได้ในข้างต้น จำนวนหลอดละ 1 มล. แล้วนำทุกหลอดทดลองไปบ่มที่สภาวะไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

- อ่านผลของ MIC โดยดูจากหลอดทดลองที่มีความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้โดยให้สังเกตความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับหลอดควบคุมในหน่วยมก./มล. โดย negative control คือ 10%DMSO และ positive control คือ gentamicin ขนาด 40 µg/mL

(4) การหาปริมาณสารสำคัญในสมุนไพร

เลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อสิวที่ดีที่สุดนำมาหาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ สารกลุ่มน้ำมันหอมระเหย นำน้ำมันหอมระเหย ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันหอมระเหยรวม (Total volatile oil) ด้วยเครื่องมือ GC-MS ด้วย column ชนิด silica capillary column (60 m × 0.25 mm, film thickness 0.25 µm) อัตราแก๊ส flow rate 1ml/min อุณหภูมิ 230°C

ผลการศึกษา

การสกัดสารจากสมุนไพร

ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตักแดนเทียนขาว เทียนยาวพาณีและมะแขวนด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) และสารสกัด 50% EtOH จากหอมแดง พบว่า หอมแดงให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด ร้อยละ 4.8 รองลงมาคือมะแขวนให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 4.0 ส่วนเทียนตาตักแดนให้ปริมาณสารน้อยที่สุดคือ ร้อยละ 1.6

Table 1 Percentage yield of various herbal extracts

Herbal extracts		% yield (v/w)
Essential oil	<i>Anethum graveolens</i> Linn.	1.6
	<i>Trachyspermum ammi</i> (L.) Sprague	3.5
	<i>Cuminum cyminum</i> L.	1.6
	<i>Zanthoxylum limonella</i> Alston	4.0
50%EtOH Extract	<i>Allium ascalonicum</i> L.	4.8

ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสิว *P. acne* ด้วยวิธี disc diffusion

method

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสิว *P. acne* ของน้ำมันหอมระเหยจากเทียนตาตุ๊กแดง เทียนยาวพาดิน เทียนขาวมะแขว่น และสารสกัด 50% EtOH จากหอมแดงพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเทียนตาตุ๊กแดง เทียนยาวพาดิน เทียนขาวมะ

แขว่น และสารสกัด 50% EtOH จากหอมแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสิว *P. acne* มีค่า inhibition zone เท่ากับ 18.66 ± 1.15, 85.00±0.00, 41.66 ± 2.88, 15.66 ± 0.57 และ 6.44 ± 0.19 มม. ตามลำดับ ส่วนสารมาตรฐานยา gentamicin (40µg/ml) ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. acne* เท่ากับ 14.66 ± 0.57, 14.33 ± 0.57 และ 15.66 ± 0.57 มม. ตามลำดับ

Table 2 Zone of inhibition (mm) of various herbal extracts against *P.acnes*

Herbal extracts	Zone of inhibition (mm)
<i>Anethum graveolens</i> Linn	18.66 ± 1.15
<i>Trachyspermum ammi</i> (L.) Sprague	85.00±0.00
<i>Cuminum cyminum</i> L.	41.66 ± 2.88
<i>Zanthoizylum limonella</i> Alston	15.66 ± 0.57
<i>Allium ascalonicum</i> L.	6.44 ± 0.19
µg/ml gentamicin 40	15.66 ± 0.57
DMSO	-*
50% EtOH	-*

* no inhibition zone was observed

ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสิว *P. acne* ด้วยวิธี Broth dilution

assay

ผลการศึกษาหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสิว *P.*

acne (MIC) พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด และสารสกัดหอมแดงพบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากผลแก่ของเทียนยาวพาดินมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสิว *P. Acne* ดีที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 3.555 mg/ml

Table 3 MIC (mg/ml) of various herbal extracts against *P. acnes*

Herbal extracts	MIC (mg/ml)
<i>Anethum graveolens</i> Linn	9.634
<i>Trachyspermum ammi</i> (L.) Sprague	3.555
<i>Cuminum cyminum</i> L.	3.768
<i>Zanthoizylum limonella</i> Alston	8.461
<i>Allium ascalonicum</i> L.	5.000

การหาปริมาณสารสำคัญของสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อสิว

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสิว *P. acne* ดีที่สุดคือ เทียนยาวพาดินเนื่องจากมีทั้งค่า inhibition zone และมีค่า MIC ดีที่สุด จึงนำเทียนยาวพาดินมาหาปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์คือปริมาณน้ำมันหอมระเหยรวม (Total volatile oil) ผลการศึกษาค้นพบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันเทียนยาวพาดินด้วยเครื่อง GC-MS รายงานเป็นปริมาณน้ำมันหอม

ระเหยรวม (Total volatile oil) ของน้ำมันหอมระเหย (Figure 1) พบว่าน้ำมันหอมระเหยเทียนยาวพาดินมีองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด 32 ชนิด โดยพบว่ามี Thymol เป็นองค์ประกอบหลักคิดเป็นร้อยละ 39.03 รองลงมาเป็น unknown 2 คิดเป็นร้อยละ 31.85, 3,5-Dimethylanisole คิดเป็นร้อยละ 23.02 และ γ-terpinene คิดเป็นร้อยละ 1.99 ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 4

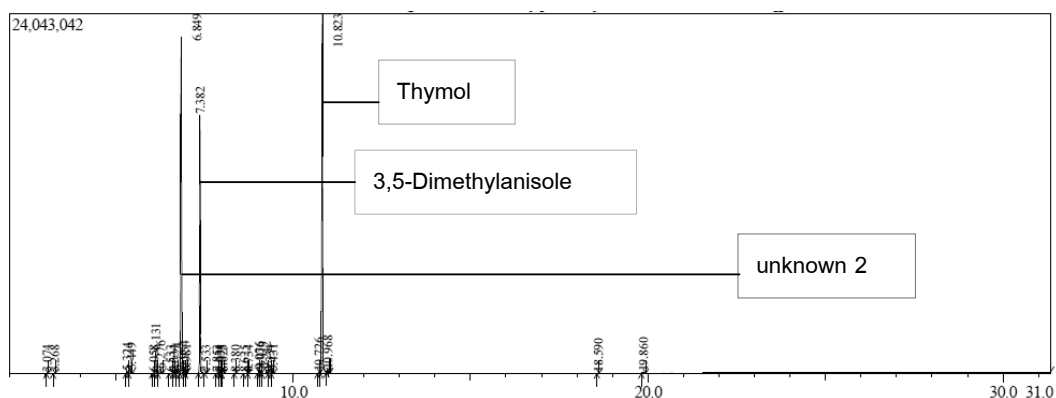


Figure 1 GC-MS chromatogram of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague essential oil

Table 4 Chemical components in *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague essential oil

No.	Compounds	Retention time (min)	Content (%)
1	unknown 1	3.074	0.07
2	Butanoic acid	3.268	0.03
3	α -phellandrene	5.324	0.17
4	β -ocimen	5.449	0.20
5	β -terpinene	6.058	0.05
6	γ -terpinene	6.131	1.99
7	Limonene	6.276	0.36
8	Terpinolene	6.533	0.02
9	Tran-sabinen hydrate	6.634	0.03
10	α -terpinolen	6.724	0.15
11	unknown 2	6.849	31.85
12	Cyclohexanemethanol	6.934	0.64
13	Cineol	6.981	0.09
14	3,5-Dimethylanisole	7.382	23.02
15	Cyclopentanol	7.533	0.02
16	Bicyclo[3.3.1]non-6-en-2-one	7.853	0.08
17	2,5,6-Trimethyldecane	7.935	0.04
18	β -Terpineol	7.975	0.04
19	Terpineol	8.025	0.05
20	unknown 3	8.380	0.03
21	4-Undecene	8.625	0.08
22	Oxirane	8.734	0.02
23	Acetaldehyde	9.036	0.31
24	Carvone oxide	9.076	0.36
25	1-Cyclohexyl-2-buten-1-ol	9.242	0.38
26	1-Nitroadamantane	9.334	0.06
27	Decalin	9.431	0.14
28	Durenol	10.726	0.15
29	Thymol	10.823	39.03
30	2,3,4,6-Tetramethylphenol	10.968	0.24
31	Ethyl heptadecanoate	18.590	0.04
32	n-Propyl 11-octadecenoate	19.860	0.26
	Total		100

สรุปและวิจารณ์ผล

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *P. acnes* โดยวิธี disc diffusion method พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตักแตน เทียนยาวพาดิ เทียนขาว มะแขว่น และสารสกัด 50% EtOH จากหอมแดง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* มีค่า inhibition zone เท่ากับ 18.66 ± 1.15 , 85.00 ± 0.00 , 41.66 ± 2.88 , 15.66 ± 0.57 และ 6.44 ± 0.19 มม. ตามลำดับ ซึ่งสารมาตรฐาน gentamicin 40 $\mu\text{g/ml}$ มีค่า inhibition zone เท่ากับ 15.66 ± 0.57 มม. ส่วนการศึกษาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด (MIC) ของตัวอย่างสมุนไพรทั้งหมดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. Acne* ดีที่สุดคือ เทียนยาวพาดิ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 3.555mg/ml อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าเทียนขาวจะมีค่า MIC ใกล้เคียงกับของเทียนยาวพาดิก็ตาม แต่เมื่อนำน้ำมันทั้งสองชนิดมาเจือจางลง 50 เท่าก็ยังพบว่าเทียนยาวพาดิมีค่า MIC น้อยที่สุด

จากผลการศึกษาพบว่า สารสำคัญกลุ่มน้ำมันหอมระเหยจะมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียและต้านเชื้อก่อสิ่วได้เป็นอย่างดี นอกจากนั้น จะเห็นได้ว่างานวิจัยนี้ได้ใช้น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อสิ่ว โดยไม่ได้ทำการเจือจางจึงทำให้สมุนไพรนั้นมี มีค่า inhibition zone ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับสารสกัดด้วย 50% EtOH จากหอมแดง และเมื่อนำน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นใหม่จากเทียนยาวพาดิที่มีฤทธิ์ที่ดีที่สุดมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS พบว่า มีองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด จำนวน 32 ชนิด โดยพบว่ามี Thymol เป็นองค์ประกอบหลักคิดเป็นร้อยละ 39.03 รองลงมาเป็น unknown 2 คิดเป็นร้อยละ 31.85, 3,5-Dimethylanisole คิดเป็นร้อยละ 23.02 และ γ -terpinene คิดเป็นร้อยละ 1.99 นอกจากนั้นยังพบองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ได้แก่ 4-Carene, α -Pinene, β -pinene, β -myrcene, γ -terpinene, p-Cymene, Limonene และ terpinolene ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Goudarzi และคณะ¹³ ที่พบว่าส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเทียนยาวพาดิ (ajowan) ประกอบด้วยสาร Thymol เป็นสารประกอบหลักมีปริมาณร้อยละ 36.7 และมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้ก่ออาหารเป็นพิษได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ เชื้อ *S. aureus*, *S. typhimorium*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* รวมทั้งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chaudhary และคณะ¹⁴ ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี disc diffusion method โดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันสำหรับสกัดเทียนขาวพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดี และยังพบว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเทียนขาวมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ดีกว่าสารสกัดจาก methanol ส่วนน้ำมันหอมระเหย

จากผลมะแขว่นก็พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิ่วได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับสารสกัดด้วย 50% EtOH จากหอมแดง แต่อย่างไรก็ตามในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการทดสอบเฉพาะตัวทำละลาย 50% EtOH ซึ่งหากใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นหรือที่มีความเข้มข้นของตัวทำละลายแตกต่างกันอาจจะทำให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิ่วจากสารสกัดกลุ่มฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ที่ดีขึ้น

สรุปได้ว่า สารสำคัญกลุ่มน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อสิ่วได้ดี โดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากเทียนยาวพาดิซึ่งมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อรักษาสิ่ว และอาจจะใช้สมุนไพรในกลุ่มดังกล่าวร่วมด้วยในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม สำหรับสนับสนุนทุนวิจัยศึกษาอาจารย์งบประมาณปี พ.ศ. 2558 และสำหรับการสนับสนุนในส่วนของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์ และเครื่องมือในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Lertsatitthanakorn P, Taweechaisupapong S, Aromdee C, Khunkitti W. In vitro bioactivities of essential oils used for acne control. *International Journal of Aromatherapy* 2006; 16(1): 43-49.
2. Viyoch J, Pisutthanan N, Faikreua A, Nupangta K, Wangtorpol K, Ngokkuen J. Evaluation of in vitro antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against *Propionibacterium acnes*. *International journal of cosmetic science* 2006; 28(2): 125-133.
3. Lee CJ, Chen LW, Chen LG, Chang TL, Huang CW, Huang MC, et al. Correlations of the components of tea tree oil with its antibacterial effects and skin irritation. *Journal of Food and Drug Analysis* 2013; 21(2): 169-176.
4. Musial W, Kubis A. Preliminary assessment of alginate acid as a factor buffering triethanolamine interacting with artificial skin sebum. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2003; 55(2): 237-240.
5. Luangnarumitchai S, Lamlerthton S, Tiyaboonchai W. Antimicrobial activity of essential oils against five strains of *Propionibacterium acnes*. *Mahidol Univer-*

- sity *Journal of Pharmaceutical Science* 2007; 34(1-4): 1428-1441.
60-64.
6. Lertsatitthanakorn P, Taweechaisupapong S, Aromdee C, Aromdee C, Khunkitti W. Effect of citronella oil on time kill profile, leakage and morphological changes of *Propionibacterium acnes*. *Journal of Essential Oil Research* 2010; 22(-): 270-274.
 7. Vasudeva N, Sharma T. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Citrus limetoides* tanaka. *Journal of Pharmaceutical Technology & Drug Research* 2012; 1(-): 1-7.
 8. Kakarla S, Ganjewala D. Antimicrobial Activity of Essential Oils of Four Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud) Varieties. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology* 2009; 3(Special Issue 1): 107-109.
 9. Limwattananon C, Rattanachotphanit T, Cheawchanwattana A, Waleekhachonloet O, Giwanon R, Choonhakarn C, et al. Clinical efficacy of Plai gel containing 1% Plai oil in the treatment of mild to moderate acne vulgaris. *IJPS* 2008; 4(2): 121-133.
 10. Jiang Y, Wu N, Fu NY, Wang W, Luo M, Zhao CJ, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environ Toxicol Pharmacol* 2011; 32(1): 63-68.
 11. ญัฐกานต์ วงศ์สีลม, จามจุรี จินะตา, บุษบา มะโนแสน, จิรัชต์กันทะชู, สุวีพร วันควาร, สุภาวดี ศรีแย้ม. การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่น. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร.* 2557; 37(1): 3-15.
 12. Amin M, Montazeri EA, Mashhadizadeh MA, Sheikh FA. Characterization of shallot, an antimicrobial extract of *Allium ascalonicum*. *Pak J Med Sci*, 2009; 25(6): 948-952.
 13. Goudarzi GR, Saharkhiz MJ, Sattari M and Zomorodian K. Antibacterial Activity and Chemical Composition of Ajowan (*Carum copticum* Benth. & Hook) Essential Oil. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2011; 13(-): 203-208.
 14. Chaudhary N, Husain SS, Ali M. Chemical composition and antimicrobial activity of volatile oil of the seeds of *Cuminum cyminum* L. *WJPPS* 2014; 3(7):