



รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัย  
ทุนสนับสนุนการวิจัยจาก  
คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว

เรื่อง  
การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังจากสารสกัดใบสาบเสือ  
Research and development of skin care products from  
*Chromolaena odorata* leaf extract

จัดทำโดย  
นางนिरามย์ ฝางกระโทก

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว

2558

## บทคัดย่อ

สาบเสือ (*Chromolaena odorata*) เป็นวัชพืชที่พบได้ทั่วไปและมีการนำใบสดมาใช้ในการรักษาแผลสด สมานแผลและห้ามเลือด ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดใบสาบเสือในการต้านอนุมูลอิสระและเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว และยังไปกว่านั้น ผลกระทบสำหรับผิวหนังที่มีฤทธิ์ในการรักษาสิวยังได้ถูกพัฒนาอีกด้วย จากการศึกษาพบว่า สารสกัดใบสาบเสือที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณฟีนอลิกที่สูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดจากเมทานอล เฮกเซนและน้ำ ตามลำดับ จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* และ *Propionibacteria acnes* พบว่า สารสกัด 50% เอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งได้สูงที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 400, 800 และ 200  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 800, >1600 และ 200  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัดจากเมทานอล ส่วนสารสกัดจากเฮกเซนและน้ำไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวที่ความเข้มข้นที่ทดสอบ ดังนั้น สารสกัด 50% เอทานอลจึงถูกนำมาพัฒนาสูตรตำรับเจลแต้มสิวโดยผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.5 และ 3.0% w/w เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพของเจลที่มีต่อการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิด พบว่า เจลทั้ง 2 ความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ดี แต่อย่างไรก็ตาม เจลตำรับดังกล่าวไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *P. acnes* และจากการทดสอบความคงตัว พบว่า เจลที่ความเข้มข้น 1.5% w/w มีความคงตัวมากกว่า 3.0% w/w ยิ่งไปกว่านี้ ยังได้แสดงผลของสารสกัดที่มีต่อบรรจุภัณฑ์อีกด้วย จากการศึกษาครั้งนี้ อาจกล่าวโดยสรุปได้ว่า สารสกัด 50% เอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่เป็นสาเหตุของสิวได้ดีและสามารถนำมาพัฒนาเป็นเจลสำหรับแต้มสิวที่มีประสิทธิภาพที่ดี

**คำสำคัญ:** สาบเสือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย สิว เจลแต้มสิว

## ABSTRACT

Siam weed (*Chromolaena odorata*) is a weed found in general area. Its traditional use is for wound healing and for stanching. The objectives of this study are to determine the anti-oxidative and anti-bacterial activities against acne causative agents of *C. odorata* extracts. In addition, the skin care product for the acne treatment was also developed. The results of this study showed that the 50% ethanolic extract from *C. odorata* (COE) exhibited strongest anti-oxidative activity and contained highest total phenolics than methanolic extract (COM), hexane extract (COH) and water extract (COW), respectively. The COE also inhibited the acne causative agent growth including *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* and *Propionibacteria acnes* with MIC of 400, 800 and 200 µg/ml, respectively, and MBC of 800, >1600 and 200 µg/ml, respectively. The COM and COH showed lower activity, whereas, COW did not. Therefore, the COE was selected to develop the gel formulation for acne treatment. The 1.5 and 3.0% w/w COE were added into the gel base formula. The developed gels were then analysed for the bacterial growth inhibition and the results showed that both formulas could inhibit the growth of *S. aureus* and *S. epidermidis* but not of *P. acnes*. For stability test, the 1.5% w/w gel showed higher stability than 3.0% w/w gel. Moreover, the effect of extract on packaging was also showed. The overall results of this study can be concluded that the COE has strongest anti-bacterial activity against acne causative agent and can be developed into the effective acne gel.

**Key words:** *Chromolaena odorata*, anti-oxidative activity, anti-bacterial activity, acnes, acne gel

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว ที่ได้ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นिरามัย ผางกระโทก

กันยายน 2558

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	ก
Abstract.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญภาพ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	2
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย.....	5
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	10
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย.....	22
เอกสารอ้างอิง.....	25

## สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะของต้นและใบสาบเสือที่นำมาใช้ในการสกัด.....	5
รูปที่ 2 กราฟ % inhibition ของสารสกัดใบสาบเสือแต่ละ fraction และวิตามินซีและวิตามินอี ในการวิเคราะห์ antioxidant ด้วยวิธี DPPH.....	11
รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานของ tannic acid ในการวิเคราะห์ปริมาณ total phenolics.....	12
รูปที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของเจลสูตรตำรับที่พัฒนาได้.....	15
รูปที่ 5 การเกิด inhibition zone ของเชื้อแบคทีเรีย <i>S. aureus</i> (A), <i>S. epidermidis</i> (B) และ <i>P. acnes</i> (C) ที่เกิดจากการทดสอบด้วยเจลเบส เจลสาบเสือเข้มข้น 1.5% w/w และ 3.0% w/w และสารสกัด COE ที่ความเข้มข้น 5 mg.....	16
รูปที่ 6 ลักษณะทางกายภาพของเจลเบส เจลสาบเสือเข้มข้น 1.5% และ 3.0% หลังจากเก็บไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน และทดสอบความคงตัวโดยใช้สภาวะ heating cooling cycle.....	17
รูปที่ 7 ลักษณะทางกายภาพของเจลเบส เจลสาบเสือเข้มข้น 1.5% และ 3.0% หลังจากทดสอบ ความคงตัวโดยใช้สภาวะ heating cooling cycle เมื่อหยดลงบนภาชนะแบนราบ (A) และเมื่อที่เอียงภาชนะ (B).....	18
รูปที่ 8 ลักษณะทางกายภาพของหลอดที่บรรจุเจลเบส เจลสาบเสือเข้มข้น 1.5% และ 3.0% ก่อน (A) หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน (B) และหลังจากทดสอบความคงตัว โดยใช้สภาวะ heating cooling cycle (C).....	20
รูปที่ 9 ลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างบรรจุภัณฑ์ที่เลือกมาในการบรรจุเจลแต้มสิวจากสารสกัด ใบสาบเสือ.....	21

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบสาบเสือ.....	3
ตารางที่ 2 % yield และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดแต่ละ fraction.....	10
ตารางที่ 3 ค่า antioxidant และปริมาณ total phenolics ในสารสกัดใบสาบเสือแต่ละ fraction.....	12
ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดใบสาบเสือแต่ละ fraction.....	12
ตารางที่ 5 สูตรตำรับในการเตรียมเจลเบสและเจลสำหรับแต้มสิวจากสารสกัดใบสาบเสือ.....	13
ตารางที่ 6 Inhibition zone ของเจลที่ทดสอบเปรียบเทียบกับสารสกัด COE.....	14
ตารางที่ 7 ผลการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน.....	19

## บทที่ 1

### บทนำ

ต้นสาบเสือ (*Chromolaena odorata* (L) R.M. King & H. Rob) หรือ Siam weed จัดเป็นวัชพืชที่พบได้ทั่วไปในหลายประเทศ ต้นสาบเสือนี้อาศัยเป็นยาที่ถูกนำมาใช้เพื่อการรักษาโรคและอาการต่างๆ มากมาย โดยเฉพาะการนำมาใช้ในตำรายาพื้นบ้าน เช่น มีการนำใบสาบเสือมาพอกแผลสดเพื่อห้ามเลือด ใช้ปิดแผลเพื่อสมานแผล รักษาแผลไฟไหม้และแผลเปื่อยพุพอง แก้อักเสบ แก้พิษน้ำเหลือง สำหรับการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์ได้มีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากใบสาบเสือ โดยพบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือนี้ออกฤทธิ์ด้านการอักเสบ ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านอนุมูลอิสระ ลดความดันโลหิต ลดเบาหวาน มีฤทธิ์ในการสมานแผลและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ต้นสาบเสือ ซึ่งเป็นวัชพืชแต่จัดเป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพสูง เหมาะที่จะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อสุขภาพและความงามได้ โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์สมานแผลและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดใบสาบเสือ ซึ่งเป็นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังเพื่อการบำรุงผิวและรักษาโรคทางผิวหนัง เช่น สิว ฝ้า ผิวหนังอักเสบ ซึ่งในปัจจุบันผลิตภัณฑ์เพื่อความงามหรือเวชสำอางที่มีส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติกำลังเป็นที่นิยมอย่างมากในท้องตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง ดังนั้น สารสกัดใบสาบเสือซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและสารสำคัญมากมายจึงเป็นพืชที่มีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อบำรุงสุขภาพผิวและช่วยลดหรือป้องกันปัญหาทางผิวหนังได้

#### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อผลิตสารสกัดจากใบสาบเสือ
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดที่ได้
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของสารสกัดที่ได้
4. เพื่อพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังที่มีส่วนผสมของสารสกัดที่ได้

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรม

ต้นสาบเสือ (*Chromolaena odorata* (L) R.M. King & H. Rob) หรือ Siam weed จัดเป็นพืชสมุนไพรที่เป็นวัชพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในหลายๆ ประเทศทั่วโลก มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (วิทย์ เทียงบุญธรรม, 2548) ดังนี้

ต้นสาบเสือ เป็นพรรณไม้ล้มลุก ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขามากมาย จนดูเป็นทรงพุ่ม มีขนนุ่มประปรายขึ้นตามลำต้นและกิ่งก้านสาขา ลำต้นสูงประมาณ 3 – 5 ฟุต

ใบสาบเสือเป็นไม้ใบเดี่ยว ออกตรงข้ามกันเป็นคู่ ๆ ลักษณะของใบเป็นรูปหอก ปลายแหลม โคนใบสอบ แฉก ขอบใบจักเป็นฟันเลื่อย ตัวใบจะมีขนปกคลุมทั่วทั้งใบ มีสีเขียวขนาดของใบกว้างประมาณ 1 – 2.5 นิ้ว ยาว 2 – 4 นิ้ว ก้านใบยาว 1 – 2 นิ้ว และมีขนปกคลุม

ดอกสาบเสือ ออกเป็นช่อ อยู่ตรงส่วนยอดของต้น ลักษณะของดอกที่โคนกลีบดอกจะเชื่อมติดกันเป็นหลอด และตรงปลายจะแยกออกเป็น 5 กลีบ สีน้ำเงินอมม่วงอ่อน ๆ หรือสีขาวม่วง

ผลสาบเสือ มีขนาดเล็ก แห้ง เรียวบาง มีสีดำ ซึ่งผลนี้จะเป็นสัน หรือเป็นเหลี่ยม 5 เหลี่ยม ยาวประมาณ 4 มม.

ต้นสาบเสือมีสรรพคุณเป็นยาที่ถูกนำมาใช้เพื่อการรักษามาแต่โบราณ ใบสาบเสือสามารถนำมาพอกแผลสดเพื่อห้ามเลือด ใช้ปิดแผลเพื่อสมานแผล รักษาแผลไฟไหม้และแผลเปื่อยพุพอง แก้กักเสบ แก้พิษน้ำเหลือง แก้ตาฟาง แก้กตาแฉะ แก้กริดสีดวงทวาร รักษาโรคลำไส้ (*Afolabi et al., 2007; Vo, 1997*) โดยตำรายาพื้นบ้านของชาวไทยใหญ่ ให้นำใบสาบเสือมาต้มน้ำอาบแก้ตัวบวมหรือขี้ไใสแผลช่วยห้ามเลือด ส่วนชาวลั๊วะ ปะหล่อง เมี่ยน ม้ง ขมุ ไทลื้อและกะเหรี่ยงให้นำใบสาบเสือมาขี้ไใสแผลสดเพื่อช่วยห้ามเลือด และยังสามารถนำมาตำผสมกับปูนพอกห้ามเลือด และช่วยกระตุ้นการทำงานหรือควบคุมการหดตัวของลำไส้สัตว์และมีผลต่อมดลูกของสัตว์ ส่วนรากสาบเสือสามารถนำมาต้มน้ำดื่มรักษาโรคระเคาะได้ นอกจากนี้ สาบเสือมีกลิ่นหอมแรง ใช้เป็นยาฆ่าแมลงได้ (วิทย์ เทียงบุญธรรม, 2548)

มีหลายการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ที่พบว่า สารสกัดและ/หรือสารสำคัญจากใบสาบเสือมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านอนุมูลอิสระ ลดความดันโลหิต ลดเบาหวาน และฤทธิ์ในการสมานแผล (*Onkaramurthy et al., 2013; Rao et al., 2010; Phan et al., 1998; Hanh et al., 2011; Phan et al., 2001*) มีการรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบสาบเสือมากมายที่แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบสาบเสือมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระอย่างมากและมีสารกลุ่ม glycosides, steroids, saponins, phenols, flavonoids, terpenoids และ tanins ในปริมาณมาก (*Vijayaraghava et al., 2013; Kusuma et al., 2014; Bhargava et al., 2013; Anyasor et al., 2011*) มีรายงานการแยกสารต่างๆ มากมายได้จากสารสกัดจากใบสาบเสือ ได้แก่ himachalol, 7-isopropyl-1,4-dimethyl-2-azulenol, androencecalinol, 2-methoxy-6-(1-methoxy-2-propenyl) naphthalene, phenyl derivatives, oxygenated sesquiterpenes, long-chain hydrocarbons, sesquiterpene hydrocarbons, oxygenated monoterpenes (2.8%), monoterpene hydrocarbons (*Joshi, 2013*) ซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ ยังมีรายงานทางวิทยาศาสตร์มากมายเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบสาบเสือ ดังตัวอย่างที่แสดงในตารางที่ 1 ซึ่งสนับสนุนสรรพคุณของใบสาบเสือในการสมานแผลและรักษาแผลสดนั้น ส่วนหนึ่งอาจมาจากผลจากฤทธิ์ในการต้านอักเสบและฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารจากใบสาบเสือนั่นเอง

ตารางที่ 1ฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบสาบเสือ

Fractions	Microorganisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	References
Ethanol extract	<i>Staphylococcus aureus</i>	250	Stanley <i>et al.</i> , 2014
	<i>Escherichia coli</i>	125	
	<i>Candida albicans</i>	250	
Cyclohexane extract	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1250	Atindehou <i>et al.</i> , 2013
	<i>Salmonella enterica</i>	1250	
	<i>Shigella sonnei</i>	1250	
	<i>Vibrio cholerae</i>	1250	
Dichloromethane extract	<i>K. oxytoca</i>	625	
	<i>S. enterica</i>	625	
	<i>S. sonnei</i>	625	
	<i>V. cholerae</i>	156	
Ethyl acetate extract	<i>K. oxytoca</i>	625	
	<i>S. enterica</i>	625	
	<i>S. sonnei</i>	625	
	<i>V. cholerae</i>	625	
Butanol extract	<i>K. oxytoca</i>	1250	
	<i>S. enterica</i>	625	
	<i>S. sonnei</i>	625	
	<i>V. cholerae</i>	312	
Methanol extract	<i>E. coli</i>	25000	Natheer <i>et al.</i> , 2012
	<i>S. flexneri</i>	50000	
	<i>Proteus mirabilis</i>	50000	
	<i>Pseudomonas diminuta</i>	50000	
	<i>Enterobacter cloacae</i>	50000	
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	25000	
Aqueous extract	<i>E. coli</i>	NA	Anyasor <i>et al.</i> , 2011
	<i>S. aureus</i>	200	
	<i>P. aeruginosa</i>	NA	
	<i>S. typhi</i>	300	
	<i>P. vulgaris</i>	NA	
	<i>Klebsiella</i> sp.	NA	

หมายเหตุ NA คือ not active

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบสาบเสือ (ต่อ)

Fractions	Microorganisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	References
Ethanol extract	<i>E. coli</i>	800	Anyasor <i>et al.</i> , 2011
	<i>S. aureus</i>	100	
	<i>P. aeruginosa</i>	NA	
	<i>S. typhi</i>	200	
	<i>P. vulgaris</i>	NA	
	<i>Klebsiella sp.</i>	NA	
Aqueous ethanol extract	<i>C. albicans</i>	>1000	Ngane <i>et al.</i> , 2006
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	>1000	
	<i>Microsporium gypseum</i>	500	
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	62.5	
	<i>T. rubrum</i>	125	
	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	1000	

หมายเหตุ NA คือ not active

มีรายงานการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากมายที่รายงานว่าใบสาบเสือนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง (Anyasor *et al.*, 2011; Vijayaraghavan *et al.*, 2013; Bhargava *et al.*, 2013; Kusuma *et al.*, 2014) และสารสกัดเอทานอลจากใบสาบเสือนั้นมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณมาก ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้สามารถปกป้องเซลล์ผิวหนังเฉพาะเลี้ยง ได้แก่ human dermal fibroblasts และ human epidermal keratinocytes จากการถูกทำลายจากอนุมูลอิสระได้ดี (Phan *et al.*, 2001; Thang *et al.*, 2001) และกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ fibroblasts และ endothelial cells ได้ดี (Phan *et al.*, 1998) ซึ่งอาจจะเป็นกลไกหนึ่งในการออกฤทธิ์รักษาแผลของใบสาบเสือ นอกจากนี้ สารสกัดและสารสำคัญที่แยกได้จากใบสาบเสือนั้นมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดี โดยพบว่า สารสกัดสามารถยับยั้งการแสดงออกของ iNOS และ COX-2 gene และลดการสร้าง PEG2 และ nitric oxide โดยยับยั้งผ่าน NF-kB pathway ในเซลล์ RAW264.7 macrophages ที่ถูกกระตุ้นการอักเสบด้วย LPS (Pandith *et al.*, 2013; Hanh *et al.*, 2011) และสารสกัดน้ำจากใบสาบเสือที่ความเข้มข้น 200 mg/kg สามารถลดการบวมของอุ้งเท้าหนูทดลองที่กระตุ้นการอักเสบแบบเฉียบพลันด้วยคาราจีแนนได้ถึง 80.5% (Owoyele *et al.*, 2005) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบสาบเสือสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ รักษาแผลและลดการอักเสบได้ดี ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาตั้งที่กล่าวมาข้างต้นนี้อาจเป็นผลมาจากสารสำคัญที่อยู่ในใบสาบเสือซึ่งได้ถูกรายงานไว้ โดยใบสาบเสือนั้นมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ สารในกลุ่ม alkaloids, saponins, tannins, flavonols, flavonones, chalcones, phenolics, protocatachuic acid และ essential oils (Hanh *et al.*, 2011; Phan *et al.*, 2001) เป็นต้น นอกจากนี้ การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดเอทานอลจากใบสาบเสือในหนูเม้าส์ พบว่า สารสกัดใบสาบเสือไม่มีความเป็นพิษพลัน โดยมีค่า LD<sub>50</sub> > 20 g/kg body weight ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดที่ทดสอบ (1-20 g/kg/body weight) ไม่ทำให้เกิดการตายในหนูที่ทดลอง (Ngane *et al.*, 2006)

### บทที่ 3

#### ระเบียบวิธีวิจัย

##### 1. วิธีการเตรียมสารสกัด

- 1.1. นำใบสบาดเสื่อสด (รูปที่ 1) 4.5 กิโลกรัม มาตากแห้ง ได้น้ำหนักแห้ง 1.2 กิโลกรัม แล้วบดให้ละเอียด
- 1.2. นำผงแห้งใบสบาดเสื่อ 700 กรัม มาหมักด้วยเฮกเซน 4 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน แล้วกรองเอาส่วนสารละลายออกมาทำให้แห้งด้วย rotary evaporator จะได้สารสกัดเฮกเซนใบสบาดเสื่อ หรือ *C. odorata* hexane extract (COH)
- 1.3. กากที่เหลือจากการหมักด้วยเฮกเซน นำมาทำให้แห้งแล้วเติมด้วยเมทานอล 4 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน แล้วกรองเอาส่วนสารละลายออกมาทำให้แห้งด้วย rotary evaporator จะได้สารสกัดเมทานอลใบสบาดเสื่อ หรือ *C. odorata* methanol extract (COM)
- 1.4. นำผงแห้งใบสบาดเสื่อ 350 กรัม มาหมักด้วย 50% ethanol เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการกรองแล้ว ทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator จนสารสกัดแห้งแล้วนำไปทำให้แห้งอีกครั้งด้วยเครื่อง freeze dryer จะได้สารสกัดใบสบาดเสื่อ หรือ *C. odorata* ethanol extract (COE)
- 1.5. นำใบสบาดเสื่อสด 2,166 กรัม มาล้างให้สะอาดแล้วปั่นด้วยเครื่องปั่น ทำการคั้นน้ำสด แล้วนำมากรอง จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer ทำให้ได้ผงแห้งของสารสกัดน้ำใบสบาดเสื่อ หรือ *C. odorata* water extract (COW)



รูปที่ 1 ลักษณะของต้นและใบสบาดเสื่อที่นำมาใช้ในการสกัด

## 2. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ total phenolic content

### 2.1. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ใช้วิธี DPPH Radical Scavenging Assay (Oh *et al.*, 2008)

#### 2.1.1. การเตรียม Stable Free radical

เตรียมสารละลาย DPPH (2,2 – diphenyl – picryl hydrazine) ความเข้มข้น 1mM ใน methanol ใน volumetric flask สีชา นำไป sonicate จนสารละลายใส เก็บใน vial สีชา ป้องกันแสง

#### 2.1.2. วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น

เตรียมตัวอย่าง ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ โดยเติมสารทดสอบ และสารละลาย DPPH เพื่อ screen หาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการฟอกจางสี (bleaching) สารละลาย DPPH ที่ใช้เพียงพอในการทำปฏิกิริยากับสารทดสอบที่ความเข้มข้นที่ใช้ ภายหลังเติมสารละลาย DPPH ลงในสารทดสอบทุกหลอด ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm เพื่อหาปริมาณ DPPH ที่เหลืออยู่เทียบกับหลอด control ที่มีเฉพาะ DPPH โดยไม่ได้ใส่สารทดสอบ และคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถจับอนุมูลอิสระได้ 50% (EC<sub>50</sub>) เปรียบเทียบกับค่า EC<sub>50</sub> ของสารมาตรฐานวิตามินอี และวิตามินซีด้วยวิธีทดสอบเดียวกัน

#### 2.1.3. การคำนวณและแปลผล

ทำการประหว่งค่าความเข้มข้น (mg/ml) กับค่า %inhibition

$$\%inhibition = [Abs_{control} - Abs_{sample} / Abs_{control}] \times 100$$

#### 2.1.4. การทำ standard curve

การทำ Standard curve ใช้วิตามินอี และวิตามินซีซึ่งจะเตรียมใหม่ทุกวัน ที่มีการวิเคราะห์ตัวอย่างโดยวิธีการเตรียมตามขั้นตอนต่างๆ เหมือนกับการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์โดย

เตรียม stock solution ของวิตามินทั้ง 2 ใน methanol ใน volumetric flask สีชานำมาเตรียมสารละลายมาตรฐาน ที่ 6 ความเข้มข้น โดยใช้ methanol ในการเจือจางและปรับปริมาตรให้ได้ตามความเข้มข้นที่ต้องการ

### 2.2. การหาปริมาณ total phenolics

ใช้วิธี Folin-Ciocalteu method (Lin and Tang, 2007)

#### 2.2.1. การเตรียม standard curve

ใช้ tannic acid ซึ่งเป็น galotannins เป็นสารละลายมาตรฐาน ทำการทดลองโดยใช้ tannic acid และเติม Folin reagent จากนั้นเติม 20% sodium carbonate solution ผสมให้เข้ากัน และ incubate ที่อุณหภูมิห้อง 40 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 725 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงไป plot กับความเข้มข้นของ tannic acid และหาค่าความสัมพันธ์ของความเข้มข้น (r<sup>2</sup>) จะต้องไม่ต่ำกว่า 0.99

#### 2.2.2. การหา total phenolics ในสารตัวอย่าง

นำสารละลายตัวอย่างในปริมาณต่าง ๆ กันที่ 3 ความเข้มข้น เดิม Folin reagent, 20% sodium carbonate ผสมให้เข้ากัน และ incubate ที่อุณหภูมิห้อง 40 นาที จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสง ที่ช่วงคลื่น 725 nm คำนวณค่าเฉลี่ย OD/ml จากนั้นคำนวณหา total phenolic content โดยเทียบกับ slope ของ standard curve และแสดงค่า total phenolic content เป็น equivalent tannic acid เป็นหน่วย mg/g ของตัวอย่าง

### 3. การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง

#### 3.1. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดทดสอบ

ซั่งสารสกัดมาละลายใน dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 100 mg/ml แล้วนำไป sonicate ให้สารสกัดละลายได้ดีขึ้น จากนั้นทำการกรองด้วย syringe filter ขนาด 0.4 ไมครอน

#### 3.2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

3.2.1. เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (ยกเว้น *Propionibacterium ances* DMST 14916 ที่ใช้เวลาในการบ่ม 3 วัน) โดยเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8013 และ *S. epidermidis* DMST 15505 บ่มในที่ที่มีอากาศ ส่วน *P. acnes* บ่มใน anaerobic jar

3.2.2. ทำการเจือจางเชื้อด้วย MHB ให้ได้ความเจือจางเท่ากับ McFarland No. 0.5 ซึ่งมีเชื้อโดยประมาณ  $1 \times 10^8$  cfu/ml จากนั้น ทำการเจือจางด้วย MHB อีกครั้งให้ได้เชื้อที่มีความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^6$  cfu/ml

#### 3.3. การทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC)

3.3.1. ทำการเจือจางสารสกัดด้วย MHB ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ แล้วปิเปต 100  $\mu$ l ลงในหลุมใน 96-well plate แล้วปิเปตเชื้อที่เจือจาง ( $1 \times 10^6$  cfu/ml) แล้ว ปริมาตร 100  $\mu$ l ลงในหลุมที่มีสารสกัดแต่ละความเจือจาง แล้วนำเพลทไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ยกเว้น *P. ances* ที่ใช้เวลาในการบ่ม 3 วัน) โดยเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* บ่มในที่ที่มีอากาศ ส่วน *P. acnes* บ่มใน anaerobic jar

3.3.2. นำเพลทออกมาพินิจความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดแต่ละความเจือจาง โดยหลุมที่มีเชื้อเจริญจะขุ่นและพบการตกตะกอนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก้นหลุม ส่วนเชื้อที่ถูกสารสกัดยับยั้งการเจริญจะพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อใสและไม่มีการตกตะกอนของเชื้อ โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่ทำให้พบอาหารเลี้ยงเชื้อใสจะถือว่าเป็นค่า MIC ของสารสกัดนั้น

#### 3.4. การทดสอบหาค่า minimum bactericidal concentration (MBC)

3.4.1. ปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อจากหลุมที่ให้ค่า MIC และหลุมที่มีความเข้มข้นมากกว่า MIC ปริมาตร 20  $\mu$ l มาเพาะเชื้อลงบนอาหาร tryptic soy agar (TSA) โดยใช้ drop plate technique แล้วนำเพลทไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ยกเว้น *P. ances* ที่ใช้เวลาในการบ่ม 5 วัน) โดยเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* บ่มในที่ที่มีอากาศ ส่วน *P. acnes* บ่มใน anaerobic jar

3.4.2. นำเพลทที่เชื้อเจริญแล้วมาดูการเจริญของแบคทีเรีย โดยความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ไม่พบการเจริญเป็นโคโลนีของแบคทีเรียถือว่าเป็นค่า MBC ของสารสกัดนั้น

#### 4. การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง

สารสกัด COE เป็น fraction ที่มี % yield สูงที่สุดและมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ผิวหนังได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ fraction อื่นๆ ดังนั้น จึงเลือก COE มาทำการเตรียมผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง ซึ่งในที่นี้ได้ทำการพัฒนาเจลแต้มสิวที่ผสมสารสกัดจากใบสาบเสือโดยใช้ส่วนของ fraction COE ซึ่งส่วนประกอบในการเตรียมเจลเบสและเจลที่ผสมสารสกัดดังแสดงในตารางที่ 5 และมีขั้นตอนการเตรียมเจล ดังนี้

1. ชั่ง glycerin, propylene glycol และน้ำกลั่นลงในบีกเกอร์ ผสมให้เข้ากันดี
2. ชั่ง carbopol แล้วค่อยๆ โปยลงในสารละลายในข้อ 1 คนด้วยแท่งแก้วคนให้ carbopol ค่อยๆ พองตัว ทิ้งเจลไว้ค้างคืนเพื่อให้เจลพองตัวเต็มที่
3. เติม sodium hydroxide แล้วคนให้ละลายเข้ากันดี เจลจะข้นเหนียวขึ้น
4. เติม 10% Methyl paraben และ 1% Sodium metabisulfide คนให้เข้ากัน
5. ละลายสารสกัด COE ลงในตัวทำละลาย 50% ethanol แล้วกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45  $\mu\text{m}$  แล้วเติมลงในเจลในข้อ 3 คนให้เข้ากันดี จะได้เจลแต้มสิวจากสารสกัดใบสาบเสือ
6. นำเจลเบสและเจลสาบเสือบรรจุลงในหลอดพลาสติกที่ล้างทำความสะอาดแล้ว หลอดละ 10 กรัม

#### 5. การทดสอบประสิทธิภาพของเจลตำรับ

นำเจลที่พัฒนาได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยเทคนิค Agar diffusion

5.1. เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร TSB แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (ยกเว้น *P. ances* ที่ใช้เวลาในการบ่ม 3 วัน) โดยเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* บ่มในที่ที่มีอากาศ ส่วน *P. ances* บ่มใน anaerobic jar

5.2. ทำการเจือจางเชื้อด้วย MHB ให้ได้ความเจือจางเท่ากับ McFarland No. 0.5 ซึ่งมีเชื้อโดยประมาณ  $1 \times 10^8$  cfu/ml จากนั้น ทำการเจือจางด้วย TSB อีกครั้งให้ได้เชื้อที่มีความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^6$  cfu/ml

5.3. ทำการป้ายเชื้อด้วย cotton swab ลงบนผิวหนังอาหาร TSA ให้ทั่วผิวหนัง เจาะหลุมบนอาหารด้วย cork borer ขนาด 7

5.4. หยอดเจลเบส เจลสาบเสือเข้มข้น 1.5% w/w (คิดเป็นสารสกัด COE 1.5 mg/หลุม) และเจลสาบเสือเข้มข้น 3.0% w/w (คิดเป็นสารสกัด COE 3 mg/หลุม) ลงในหลุม หลุมละ 100 mg และหยดสารสกัด COE ที่ละลายใน DMSO (100 mg/ml) ลงไปในหลุม 50  $\mu\text{l}$  (คิดเป็นสารสกัด COE 5 mg/หลุม)

5.5. นำเพลทที่หยอดสารทดสอบแล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ส่วน *P. ances* ที่ใช้เวลาในการบ่ม 5 วัน

5.6. นำเพลทที่บ่มแล้วมาวัด clear zone ที่เกิดรอบๆ หลุม

## 6. การทดสอบความคงตัวด้วยอุณหภูมิต่ำสลับสูง heating cooling cycle

- 6.1. นำเจลเบสและเจลسابเชื้อที่พัฒนาได้มาวางไว้ในตู้อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน
- 6.2. นำเจลเบสและเจลسابเชื้อที่พัฒนาได้อีกชุดหนึ่งมาทดสอบ heating cooling cycle ด้วยการนำมาวางไว้ในตู้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 6.3. ย้ายเจลไปวางไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ครบ 1 cycle
- 6.4. ทำการทดสอบซ้ำตามข้อ 6.2 และ 6.3 เป็นจำนวน 7 cycle
- 6.5. นำเจลที่ได้มาหาค่าคุณลักษณะทางกายภาพเปรียบเทียบกับเจลที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง

## 7. การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่ใช้อากาศทั้งหมด

- 7.1. นำเจลที่เตรียมได้ทั้งก่อนทำการทดสอบความคงตัวและหลังการทดสอบความคงตัวมา 1 กรัม ทำการเจือจางในสารละลาย 0.85% NaCl ปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้ได้ความเจือจาง  $10^{-1}$
- 7.2. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วลงบนจานอาหารปลอดเชื้อ แล้วเททับด้วยอาหาร TSA ที่หลอมเหลวอยู่ หมุนจานอาหารให้ตัวอย่างทดสอบกระจายเข้ากันดีกับอาหาร
- 7.3. เมื่ออาหารแข็งดีแล้ว นำจานอาหารบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 7.4. ทำการนับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหาร

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 1. การเตรียมสารสกัด

จากการสกัดสารสกัดใบสาบเสือ 4 fraction คือ hexane, methanol, 50% ethanol และน้ำ พบว่า สารสกัด 50% ethanol หรือ COE ให้ % yield สูงที่สุด คือ 29.36 % w/w รองลงมาคือ COM, COW และ COH โดยมี % yield เท่ากับ 4.47, 3.11 และ 1.11 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

#### 2. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ total phenolic content

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบสาบเสือแต่ละ fraction พบว่า สารสกัดที่สกัดจาก 50% ethanol (COE) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ fraction อื่นๆ คือ มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ  $0.0368 \pm 0.0005$  mg/ml รองลงมาคือ COM, COH และ COW ตามลำดับ (รูปที่ 2 และตารางที่ 3)

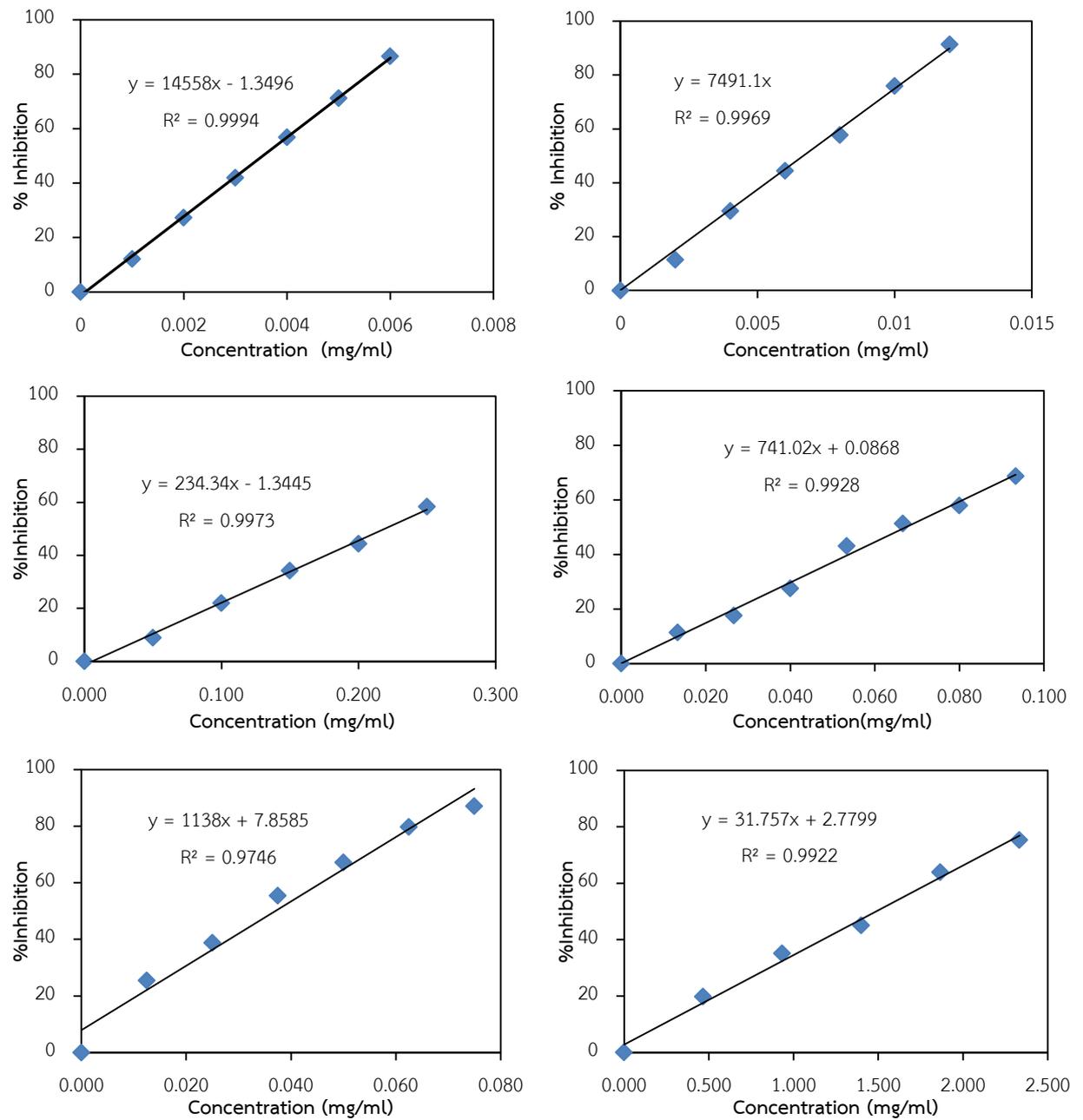
สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ total phenolic ที่อยู่ในสารสกัดแต่ละ fraction เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ tannic acid (รูปที่ 3) พบว่า สารสกัด COE มีปริมาณ phenolics สูงที่สุด คือ  $153.53 \pm 3.79$  mg/g รองลงมาคือ COM, COW และ COH ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ดังนั้น จะเห็นได้ว่า สารสกัดใบสาบเสือที่สกัดด้วย 50% ethanol มีสรรพคุณที่เกี่ยวกับการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัด fraction อื่นในการศึกษาครั้งนี้

#### 3. การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของสารสกัดใบสาบเสือแต่ละ fraction ที่มีต่อเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิว 3 ชนิด คือ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* พบว่า สารสกัดใบสาบเสือที่สกัดได้แต่ละ fraction มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ผิวหนังได้ค่อนข้างอ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน คือ Ampicillin และ Gentamicin แต่อย่างไรก็ตาม สารสกัด COE มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัด fraction อื่นๆ ที่ทดสอบในการศึกษาครั้งนี้ โดยเฉพาะการต้านเชื้อ *P. acnes* ซึ่งเป็นเชื้อที่สำคัญในการก่อให้เกิดสิว รองลงมาคือ สารสกัด COM ส่วนสารสกัด COH และ COW ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบเลย (ตารางที่ 4)

#### ตารางที่ 2 % yield และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดแต่ละ fraction

สารสกัด	% yield	ลักษณะทางกายภาพ
Hexane, COH	1.11	สีเขียวเข้ม-ดำ เหนียว ค่อนข้างเหลว
Methanol, COM	4.47	สีน้ำตาลเข้ม-ดำ เหนียว ไม่เหลว
50% ethanol, COE	29.36	สีน้ำตาลเข้ม-ดำ เหนียว ไม่เหลว
น้ำ, COW	3.11	สีน้ำตาลเข้ม ร่วน เหนียวเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้

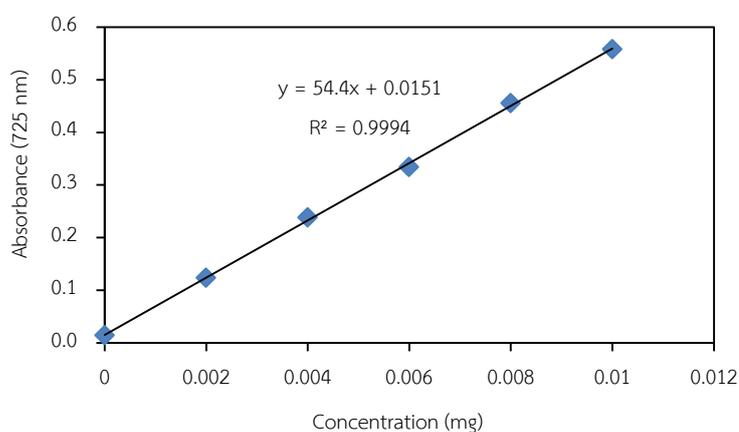


**รูปที่ 2** กราฟ % inhibition ของสารสกัดใบสาบเสือแต่ละ fraction และวิตามินซีและวิตามินอีในการวิเคราะห์ antioxidant ด้วยวิธี DPPH โดย A คือ วิตามินซี, B คือ วิตามินอี, C คือ COH, D คือ COM, E คือ COE และ F คือ COW

ตารางที่ 3 ค่า antioxidant และปริมาณ total phenolics ในสารสกัดใบสาบเสือแต่ละ fraction

สารสกัด	Antioxidant activity, EC <sub>50</sub> (mg/ml)	Total phenolic content (eq. tannic acid, mg/g)
COH	0.2191 ± 0.0108	15.41 ± 1.07
COM	0.0674 ± 0.0042	118.33 ± 1.95
COE	<b>0.0368 ± 0.0005</b>	<b>153.53 ± 3.79</b>
COW	1.4873 ± 0.0299	21.85 ± 2.77
Vit C	0.0035 ± 0.0001	ND
Vit E	0.0067 ± 0.0001	ND

หมายเหตุ ND = not determination



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานของ tannic acid ในการวิเคราะห์ปริมาณ total phenolics

ตารางที่ 4ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดใบสาบเสือแต่ละ fraction

สารสกัด	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>P. acnes</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
	(µg/ml)	(µg/ml)	(µg/ml)	(µg/ml)	(µg/ml)	(µg/ml)
COH	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600
COM	800 ± 0.00	1600 ± 0.00	>1600	>1600	800 ± 0.00	1600 ± 0.00
<b>COE</b>	<b>400 ± 0.00</b>	<b>800 ± 0.00</b>	<b>800 ± 0.00</b>	<b>&gt;1600</b>	<b>200 ± 0.00</b>	<b>200 ± 0.00</b>
COW	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600
Ampicillin	0.17 ± 0.25	0.21 ± 0.07	6.67 ± 2.31	8.00 ± 0.00	3.33 ± 1.15	4.00 ± 0.00
Gentamicin	2.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	32.00 ± 0.00	42.67 ± 18.48

#### 4. การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สำหรับผิวแห้ง

จากการพัฒนาเจลแต้มผิวจากใบสาบเสือ ทำให้ได้สูตรตำรับตามตารางที่ 5 และพบปัญหาในการตั้งตำรับของเจลสาบเสือนี้ คือ เมื่อเติมสารสกัดลงในเจลเบส สารสกัดจะทำให้เจลเหลวจนเจลเสียสภาพ ดังนั้น จึงไม่สามารถเติมสารสกัดในปริมาณมากได้ โดยความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุดที่สามารถเติมลงไปในการได้ คือ 3% w/w ดังนั้น เจลที่พัฒนาได้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ เจลเบส เจลสาบเสือความเข้มข้น 1.5% w/w และเข้มข้น 3.0% w/w บรรจุในหลอดพลาสติกสีขาว (รูปที่ 4)

เจลเบส มีลักษณะเป็นเจลใส ไม่มีสี เกาต์วดี หนืดข้น ไม่เหลวหรือไหล

เจลสาบเสือเข้มข้น 1.5% w/w/ มีลักษณะเป็นเจลใส มีน้ำตาล-เหลือง หนืดน้อยกว่าเจลเบสเล็กน้อย ไม่เหลวหรือไหล

เจลสาบเสือเข้มข้น 3.0% w/w/ มีลักษณะเป็นเจลใส มีน้ำตาล-เหลืองเข้ม หนืดน้อยกว่าเจลเบสมาก มีความเหลวหรือไหลเล็กน้อย

**ตารางที่ 5** สูตรตำรับในการเตรียมเจลเบสและเจลสำหรับแต้มผิวจากสารสกัดใบสาบเสือ

ส่วนประกอบ	อัตราส่วน (%)			หน้าที่ของส่วนประกอบ
	เจลเบส	1.5%	3.0%	
Glycerin	10	10	10	Humectants
Propylene glycol	10	10	10	Humectants
Carbopol 940	1.5	1.5	1.5	Gelling agent
5% Sodium hydroxide	5	5	5	Neutralizing agent
50% Ethanol	5	5	5	Solubilizing agent
COE	-	1.5	3	Active ingredient/extract
10% Methyl paraben	2	2	2	Preservative
1% Sodium metabisulfide	10	10	10	Anti-oxidative agent
Distilled water q.s. to	100	100	100	Vehicle

#### 5. การทดสอบประสิทธิภาพของเจลตำรับ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเจลที่พัฒนาได้ พบว่า สารสกัด COE ที่ความเข้มข้น 5 mg สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบได้ดี โดยเฉพาะ *S. epidermidis* (รูป 5B), *S. aureus* (รูป 5A) และ *P. acnes* (รูปที่ 5C) ตามลำดับ สำหรับเจลสาบเสือที่ทดสอบ พบว่า เจลที่ความเข้มข้น 3.0% (มีสาร COE เข้มข้น 3 mg) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้ดีกว่าเจลที่ความเข้มข้น 1.5% (มีสาร COE เข้มข้น 1.5 mg) และเจลเบส (มีสาร COE เข้มข้น 0 mg) ตามลำดับ (รูปที่ 5) ทั้งสารสกัด COE และเจลสาบเสือทั้ง 2 ความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* ได้ดี รองลงมาคือ *S. aureus* ดังแสดงในตารางที่ 6 แต่

อย่างไรก็ตาม เจลสาบเชื้อทั้ง 2 ความเข้มข้น ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. acnes* มีเพียงสารสกัด COE เท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *P. acnes* (ตารางที่ 6) ดังนั้น อาจกล่าวโดยสรุปได้ว่า เจลสาบเชื้อที่พัฒนาได้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิวได้โดยเฉพาะ *S. epidermidis* และ *S. aureus*

## 6. การทดสอบความคงตัวของเจลด้วยอุณหภูมิต่ำสลับสูง heating cooling cycle

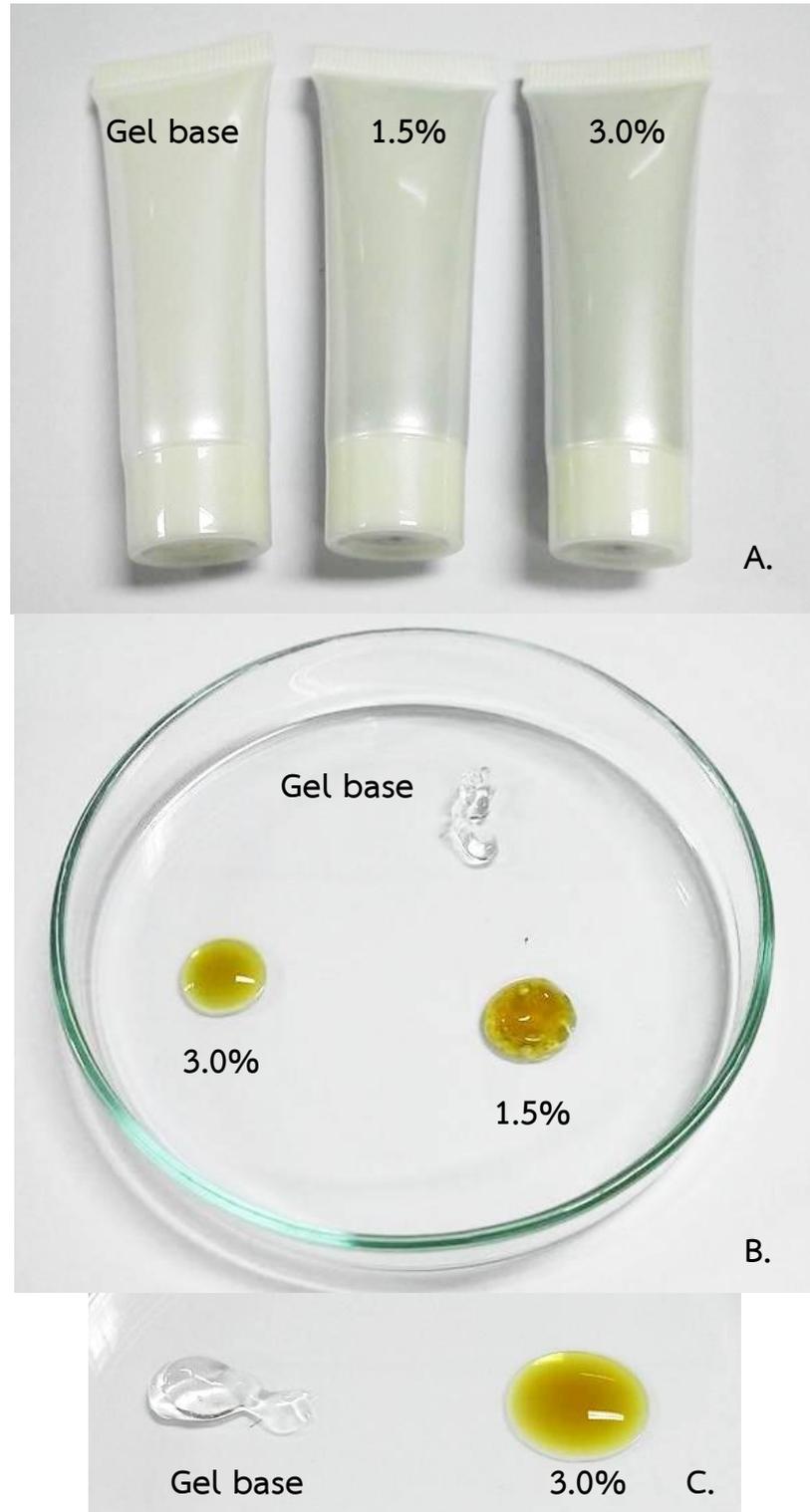
จากการทดสอบความคงตัวของเจลด้วยการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน เปรียบเทียบกับการเก็บรักษาด้วยสภาวะ heating cooling cycle พบว่า เจลเบส เจลสาบเชื้อเข้มข้น 1.5% และ 3.0% หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน และทดสอบความคงตัวโดยใช้สภาวะ heating cooling cycle มีลักษณะทางกายภาพของเนื้อเจลไม่แตกต่างกัน ทั้งสี กลิ่น และความหนืดของเนื้อเจล (รูปที่ 6) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับเจลก่อนทดสอบความคงตัว พบว่า สีของเจลหลังการทดสอบความคงตัวมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นกว่าเจลก่อนการทดสอบความคงตัว

จากการสังเกตความเหลวของเจลหลังการทดสอบความคงตัวด้วยสภาวะ heating cooling cycle พบว่า เจลเบสและเจลสาบเชื้อเข้มข้น 1.5 % ไม่ไหลเมื่อเอียงภาชนะ 45 องศา ในขณะที่เจลสาบเชื้อความเข้มข้น 3.0% มีความเหลวมากและไหลเมื่อเอียงภาชนะ (รูปที่ 7)

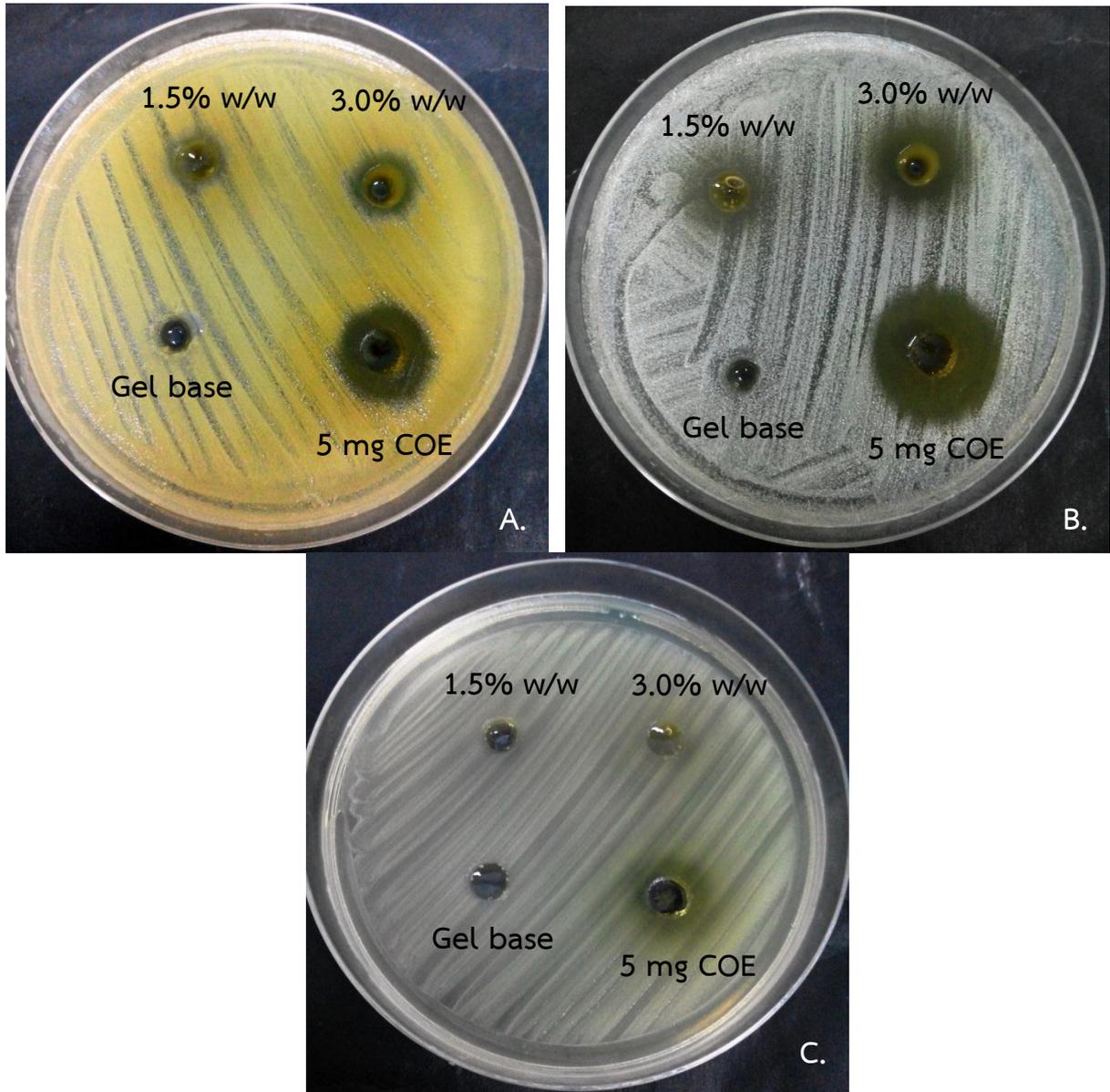
### ตารางที่ 6 Inhibition zone ของเจลที่ทดสอบเปรียบเทียบกับสารสกัด COE

ตัวอย่างทดสอบ	Inhibition zone (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. acnes</i>
เจลเบส	7.00 ± 0.00	7.00 ± 0.00	7.00 ± 0.00
เจลสาบเชื้อ (1.5% w/w)	10.00 ± 0.00	12.33 ± 0.58	7.00 ± 0.00
เจลสาบเชื้อ (3.0% w/w)	11.33 ± 0.58	16.67 ± 0.58	7.00 ± 0.00
สารสกัดสาบเชื้อ 5 mg	15.00 ± 0.00	21.33 ± 1.15	10.33 ± 0.58

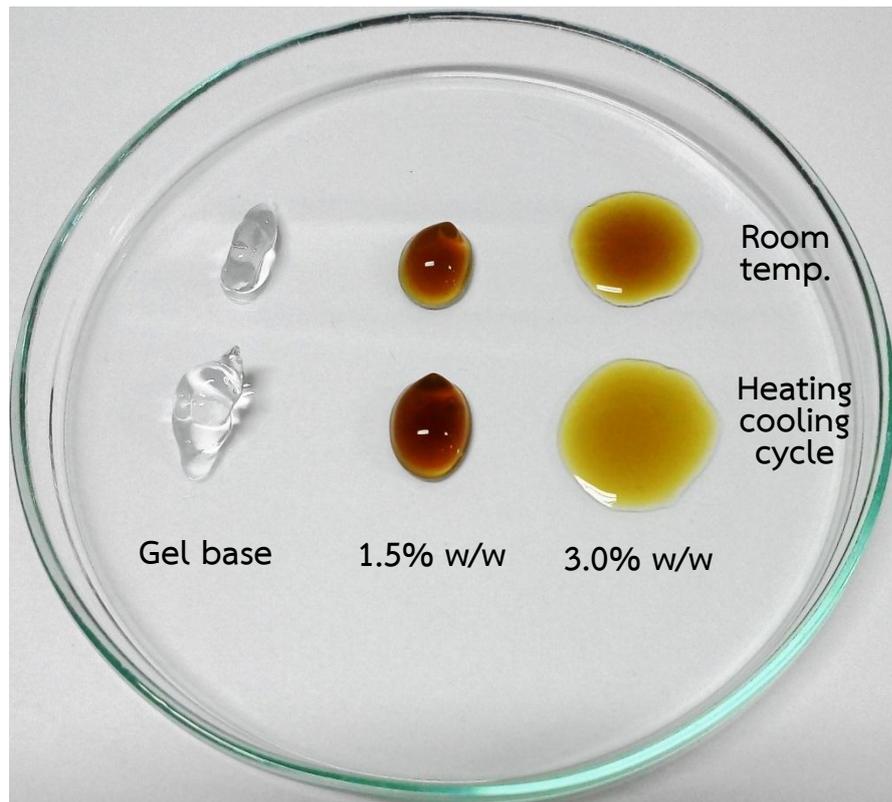
หมายเหตุ เส้นผ่าศูนย์กลางหลุมมีขนาด 7 mm



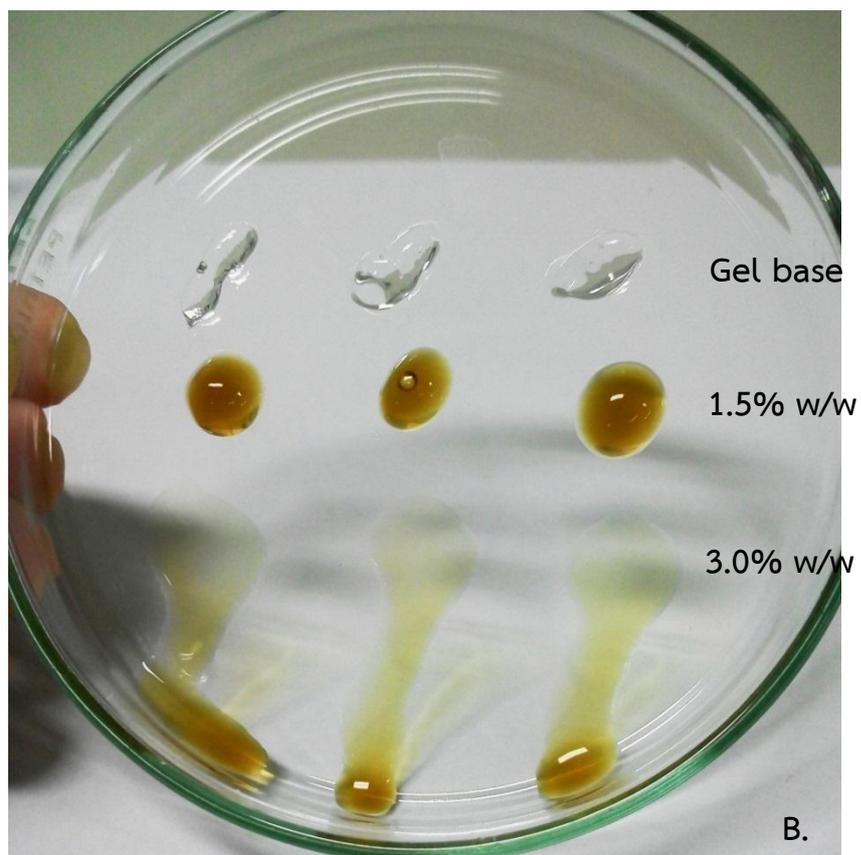
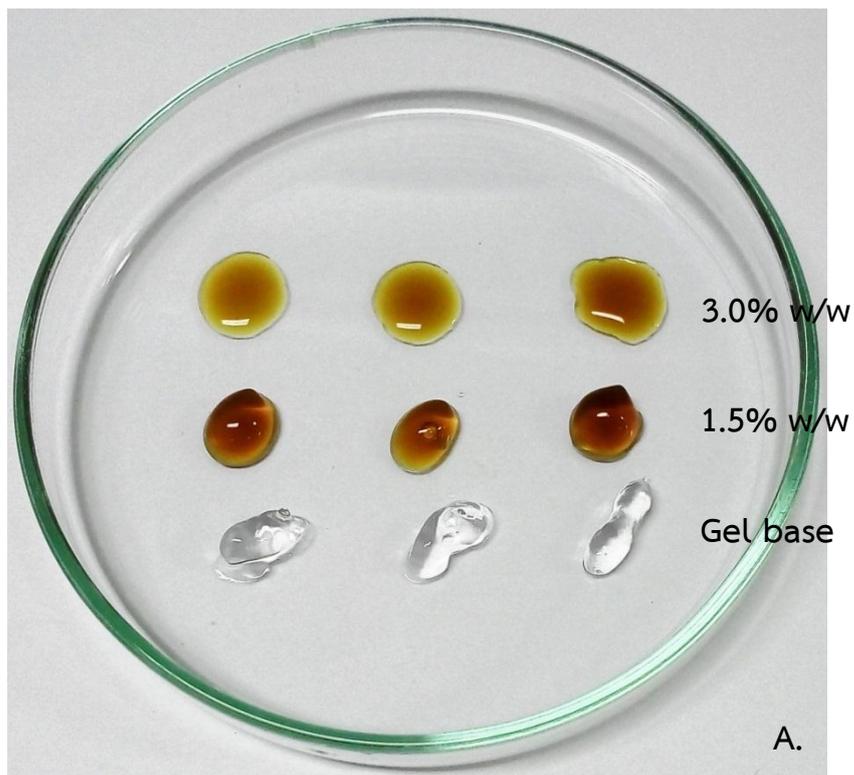
รูปที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของเจลสูตรตำรับที่พัฒนาได้ โดย A คือ ลักษณะภายนอกของเจลที่บรรจุในหลอดพลาสติก B และ C คือ ลักษณะทางกายภาพของเนื้อเจล



รูปที่ 5 การเกิด inhibition zone ของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (A), *S. epidermidis* (B) และ *P. acnes* (C) ที่เกิดจากการทดสอบด้วยเจลเบส เจลสาบเสื่อเข้มข้น 1.5% w/w และ 3.0% w/w และสารสกัด COE ที่ความเข้มข้น 5 mg



รูปที่ 6 ลักษณะทางกายภาพของเจลเบส เจลสารบเสือเข้มข้น 1.5% และ 3.0% หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน (บน) และทดสอบความคงตัวโดยใช้สภาวะ heating cooling cycle (ล่าง)



รูปที่ 7 ลักษณะทางกายภาพของเจลเบส เจลสาบเสือเข้มข้น 1.5% และ 3.0% หลังจากทดสอบความคงตัวโดยใช้สภาวะ heating cooling cycle เมื่อหยดลงบนภาชนะแบนราบ (A) และเมื่อที่เอียงภาชนะ (B)

นอกจากนี้แล้วยังพบอีกว่า หลอดพลาสติกที่บรรจุเจลมีสีเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับสีของหลอดก่อนการทดสอบความคงตัว โดยเฉพาะหลอดที่บรรจุเจลسابสีเข้มข้น 3.0% และ 1.5% ซึ่งหลอดมีสีน้ำตาลเหลือง ซึ่งเกิดจากการซึมของสารสกัดเข้าไปในเนื้อของพลาสติก (รูปที่ 8) จึงมีข้อเสนอแนะหากจะมีการผลิตเพื่อการค้าในอนาคต โดยควรเปลี่ยนบรรจุภัณฑ์ที่สารสกัดจะไม่ซึมหรือเป็นบรรจุภัณฑ์ที่มีสีเพื่อให้ไม่เห็นสีของสารสกัดที่ซึมออกมา ดังตัวอย่างที่แสดงในรูปที่ 9

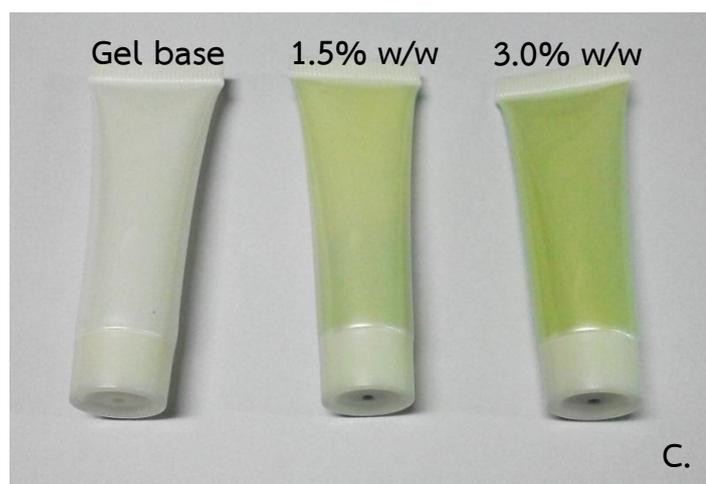
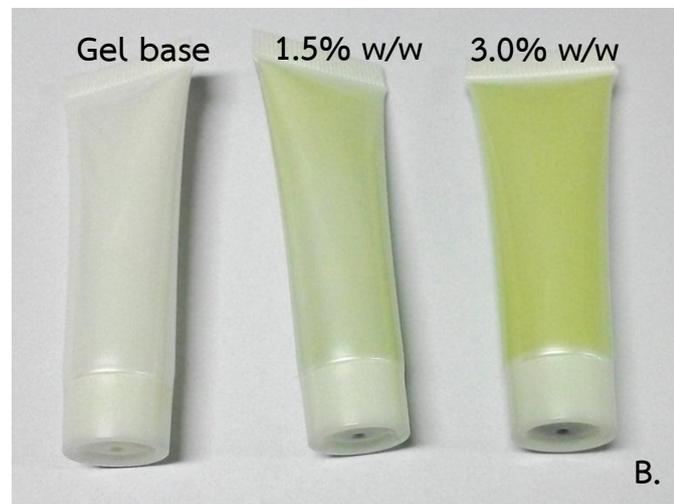
## 7. การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่ใช้อากาศทั้งหมด

จากผลการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่ใช้อากาศทั้งหมดของเจลก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวพบว่า มีการปนเปื้อนเพียงเล็กน้อยในเจลسابสีที่ความเข้มข้น 3.0% ก่อนการทดสอบความคงตัว ซึ่งเชื้อที่ปนเปื้อนเป็น *Bacillus* sp. ซึ่งเป็นเชื้อที่สร้างสปอร์ จึงเป็นไปได้ว่าเจลดังกล่าวอาจจะสปอร์ของเชื้อหลงเหลืออยู่ในหลอดพลาสติกที่บรรจุ แต่อย่างไรก็ตาม หลังการทดสอบความคงตัวแล้วไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเจลทั้ง 3 ชนิดที่ทดสอบ (ตารางที่ 7) ดังนั้น อาจกล่าวโดยสรุปได้ว่าเจลดำรับที่พัฒนาขึ้นนี้มีความปลอดภัย

### ตารางที่ 7 ผลการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน (CFU/g)		
	ก่อนการเก็บรักษา	หลังการเก็บรักษา 3 เดือนที่อุณหภูมิห้อง	หลังการเก็บแบบ heating cooling cycle
เจลเบส	<10	<10	<10
เจลسابสีเข้มข้น 1.5%	<10	<10	<10
เจลسابสีเข้มข้น 3.0%	17*	<10	<10

\* หมายเหตุ แบคทีเรียที่พบเป็น *Bacillus* sp.



**รูปที่ 8** ลักษณะทางกายภาพของหลอดที่บรรจุเจลเบส เจลสาบเสือเข้มข้น 1.5% และ 3.0% ก่อน (A) หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน (B) และหลังจากทดสอบความคงตัวโดยใช้สภาวะ heating cooling cycle (C)



รูปที่ 9 ลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างบรรจุภัณฑ์ที่เลือกมาในการบรรจุเจลแต้มสิวจากสารสกัดใบสบเสื่อ

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

ใบسابเสื่อที่ในการศึกษาครั้งนี้เป็นใบسابเสื่อที่เก็บจากบริเวณรอบๆ พื้นที่แปลงเกษตรของคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว และเมื่อนำใบسابเสื่อมาตากแห้งแล้วสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ COE, COM, COH และ COW เพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ทางเคมีและชีวภาพ โดยพบว่า สารสกัดที่สกัด COE มี % yield สูงที่สุด และเมื่อนำสารสกัดมาวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณ total phenolic ในสารสกัด พบว่า สารสกัด COE มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด และมีฤทธิ์ค่อนข้างดีเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน คือ วิตามินซีและวิตามินอี นอกจากนี้ สารสกัด COE ยังมีปริมาณ total phenolic สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัด fraction อื่นๆ ด้วย ซึ่งสัมพันธ์กับการศึกษาของ Bhargava และคณะ (2013) พบว่า สารสกัดจากใบسابเสื่อที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี แต่สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าเมทานอล ในขณะที่การศึกษาของ Anyasor และคณะ (2011) รายงานว่า สารสกัดจากใบسابเสื่อที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดจากเอทานอล ซึ่งตรงข้ามกับผลการศึกษาในครั้งนี้ แต่อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ Anyasor และคณะ (2011) พบว่า ปริมาณสารฟีนอลิกในสารสกัดใบسابเสื่อที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกมากกว่าที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งสัมพันธ์กับผลการศึกษาของผู้วิจัยในครั้งนี้ด้วย นอกจากนี้ ยังมีรายงานของ Kusuma และคณะ (2014) ที่รายงานว่าสารสกัดจากใบسابเสื่อที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจากเอทิลอะซิเตตและเฮกเซน ตามลำดับ เป็นการยืนยันว่าสารสกัดจากใบسابเสื่อมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดจากเอทานอล

สำหรับการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคทางผิวหนังของสารสกัดแต่ละ fraction พบว่า สารสกัด COE มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* ได้มากกว่าสารสกัด fraction อื่นๆ โดยเฉพาะการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* ซึ่งสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วย COE นี้ จัดได้ว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ทดสอบในระดับปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกันกับการศึกษาของ Nurul Huda และคณะ (2004) ซึ่งรายงานว่า สารสกัดใบسابเสื่อที่สกัดด้วยเมทานอลซึ่งให้สารสกัดที่มี polyphenol สูงนั้น มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ในระดับปานกลาง และเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่แสดงในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากใบسابเสื่อแต่ละ fraction มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดได้แตกต่างกันและมีฤทธิ์ในการยับยั้งในระดับปานกลางและสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดี และเมื่อเร็วๆ นี้ มีรายงานว่า สารสกัดใบسابเสื่อที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *P. acnes* โดยทำให้เกิด inhibition zone เท่ากับ  $17 \pm 1.67$  มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น  $400 \mu\text{g/ml}$  ในขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตและเฮกเซนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งดังกล่าว (Kusuma et al., 2014) ซึ่งสัมพันธ์กับผลการศึกษาของผู้วิจัย ดังนั้น อาจกล่าวโดยสรุปได้ว่า สารสกัดจากใบسابเสื่อมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุในการก่อสิวได้

จากการนำสารสกัด COE มาพัฒนาเป็นเจลสำหรับแต้มสิว พบว่า เจลเบสที่ในการศึกษาครั้งนี้มีลักษณะเนื้อเจลที่เกาะกันดี แต่เมื่อเติมสารสกัด COE เข้าไปจะทำให้เจลเกิดการเหลวขึ้นซึ่งเกิดจากสารสกัดมี pH ประมาณ 4 ซึ่งจะมีผลในการรบกวน pH ของเจลซึ่งทำให้เจลเกิดการแปรสภาพได้ ดังนั้น ในการเติมสารสกัดจึงต้องค่อยๆ เติมและใส่สารสกัดในปริมาณสูงไม่ได้ ดังนั้น เจลที่พัฒนาได้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ เจลที่มีสารสกัดใบสาบเสือเข้มข้น 1.5 และ 3.0% w/w จากนั้น เจลที่พัฒนาได้นี้ถูกนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของสิว พบว่า เจลสาบเสือทั้ง 2 ความเข้มข้น สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ดี ในขณะที่เจลที่พัฒนาไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* ซึ่งแตกต่างจากค่า MIC และ MBC จากผลการทดสอบสารสกัด COE ที่มีต่อการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิด ซึ่ง COE สามารถยับยั้ง *P. acnes* ได้ดีที่สุดในแง่เป็นไปได้อาการที่ในการทดสอบทำให้เชื้อสามารถสัมผัสกับสารสกัดได้มากและมีการซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียได้ดีกว่าวิธี agar diffusion ซึ่งสารสกัดจะต้องซึมผ่านเนื้อวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อไปถึงเซลล์แบคทีเรียจึงทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัด COE ในเจลที่ทดสอบลดลง นอกจากนี้ จากการใช้สารสกัด COE ที่ความเข้มข้น 5 mg หยดลงในหลุมเพื่อการเปรียบเทียบผลสามารถ พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดที่ทดสอบได้ดี แสดงว่า สารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีแต่ฤทธิ์ดังกล่าวอาจจะลดลงเมื่อสารสกัดถูกนำมาผสมกับเจลเบส ซึ่งอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีที่อาจจะส่งผลกระทบต่อฤทธิ์ของสารสกัดได้ลดลงและแตกต่างกันไปในแต่ละเชื้อ แต่อย่างไรก็ตาม เจลที่พัฒนาได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* และ *S. aureus* ได้ดี ดังนั้น เจลดังกล่าวจึงเหมาะแก่การนำมาเป็นเจลแต้มสิว ประกอบกับสารสกัดใบสาบเสือมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (Pandith *et al.*, 2013; Hanh *et al.*, 2011) และสารสกัดใบสาบเสือมีสารต้านอนุมูลอิสระมากจึงน่าจะช่วยให้ลดรอยดำที่เกิดจากการอักเสบของสิวได้ดีอีกด้วย

จากการทดสอบความคงตัว พบว่า เจลเบสและเจลจากสารสกัดใบสาบเสือเข้มข้น 1.5 และ 3.0% w/w ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพของเจลแต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีสารสกัดที่เป็นส่วนผสมในเจล โดยทำให้เจลมีสีเข้มขึ้น และจากการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนก่อนและหลังการเก็บรักษา พบว่า มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus* sp. เพียงเล็กน้อยในเจลใบสาบเสือเข้มข้น 3.0% w/w ซึ่งแหล่งของการปนเปื้อนอาจมาจากการสปอร์ของ *Bacillus* sp. ที่อาจจะปนเปื้อนอยู่ในสารสกัดซึ่งอาจมาจากดินที่ติดมากับใบสาบเสือ ทำให้เกิดการปนเปื้อนในเจลที่เตรียมได้ แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณเชื้อปนเปื้อนไม่ได้เกินเกณฑ์กำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้าหรือขาย โดยกำหนดว่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต้องไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Clostridium* sp. และ *C. albicans* และในกรณีเครื่องสำอางที่ใช้รอบดวงตาต้องมีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนทั้งหมดไม่เกิน 500 โคโลนี/กรัม ส่วนกรณีเครื่องสำอางทั่วไปต้องมีไม่เกิน 1,000 โคโลนี/กรัม ดังนั้น เจลที่พัฒนาดังกล่าวอยู่ในเกณฑ์กำหนดของกระทรวงสาธารณสุข และนอกจากนี้ เจลสาบเสือหลังการเก็บรักษาไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าว ดังนั้น จึงอาจกล่าวโดยสรุปได้ว่า เจลที่พัฒนาได้นี้มีความปลอดภัยเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนโดยเฉพาะเจลใบสาบเสือที่ความเข้มข้น 1.5% w/w

สำหรับบรรจุภัณฑ์ พบว่า สารสกัดใบสาบเสือซึ่งมีสีน้ำตาลเข้มเมื่อนำมาผสมในเจลแล้วบรรจุในหลอดพลาสติกจะทำให้เกิดการซึมของสีของสารสกัดจนทำให้หลอดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานเกิดการเปลี่ยนสี ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะไม่สวยงามและอาจมีผลต่อประสิทธิภาพของเจลได้ ดังนั้น การเปลี่ยนมาใช้บรรจุภัณฑ์ที่เป็นขวดแก้วสีชา หรือที่เป็นพลาสติกสีทึบหรือสีเข้มจะช่วยให้ปกปิดสีของสารสกัดที่ซึมออกมาหรือลดแสงที่อาจจะมีผลต่อการลดประสิทธิภาพของเจลลงได้

จากผลการศึกษาและการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลแต้มสิวจากสารสกัดใบสาบเสื่อดังที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพและศักยภาพของใบสาบเสือซึ่งเป็นพืชที่มีอยู่ทั่วไปในประเทศไทยและหลายๆ ประเทศทั่วโลก นอกจากนี้จะมีสรรพคุณทางยาในการรักษาแผลสดและห้ามเลือดตามตำรายาพื้นบ้านแล้ว การศึกษาทางวิทยาศาสตร์จำนวนมากที่ยืนยันประโยชน์ทางยาของใบสาบเสือ และการศึกษาในครั้งนี้เป็นการยืนยันประโยชน์ของใบสาบเสือที่มีต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อความงามซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อการค้าได้ เป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืชและก่อให้เกิดรายได้ได้อีกด้วย

## เอกสารอ้างอิง

- วิทย์ เทียงบุญธรรม, 2548. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 6. รวมสารสน (1977) จำกัด. กรุงเทพมหานคร.
- Afolabi C., Moladan A., Ibukun E. O., Dan-ologe I. A. Phytochemical constituents and antioxidants properties of extract from the leaves of *Chromolaena odorata*. Sci Res Essays. 2007: 2; 191-194.
- Anyasor G. N., Aina D. A., Olushola M., Aniyikaye A. F. Phytochemical constituent, proximate analysis, antioxidant, antibacterial and wound healing properties of leaf extracts of *Chromolaena odorata*. Ann Biol Res. 2011: 2(2); 441-451.
- Atindehou M., Lagnika L., Guérold B., Strub J. M., Zhao M., Dorsselaer A. V., Marchioni E., Prévost G., Haikel Y., Taddéi C., Sanni A., Metz-Boutigue M. H. Isolation and identification of two antibacterial agents from *Chromolaena odorata* L. active against four diarrheal strains. Adv Microbiol. 2013: 3; 115-121.
- Bhargava D., Mondal C. K., Shivapuri J. N., Mondal S., Kar S. Antioxidant properties of the leaves of *Chromolaena odorata* Linn. J Inst Med. 2013: 35; 53-56.
- Hanh T. T. H., Hang D. T. T., Minh C. V., Dat N. T. Anti-inflammatory effects of fatty acids isolated from *Chromolaena odorata*. Asian Pacific J Trop Med. 2011: 760-763.
- Joshi R. K. Chemical composition of the essential oil of *Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Rob. Roots from India. J Chemistry. 2013: 1-4.
- Kusuma I. W., Murdiyanto, Arung E. T., Syafrizal, Kim Y. Antimicrobial and antioxidant properties of medicinal plants used by the Bentian tribe from Indonesia. Food Sci Human Wellness. 2014: 3; 191-196.
- Lin J. Y., Tang C. Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. Food Chemistry. 2007: 101; 140-147.
- Natheer S. E., Sekar C., Amutharaj P., Rahman M. S. A., Khan K. F. Evaluation of antibacterial activity of *Morinda citrifolia*, *Vitex trifolia* and *Chromolaena odorata*. African J Pharm Pharmacol. 2012: 6(11); 783-788.
- Ngane A. N., Etame R. E., Ndifor F., Biyiti L., Zollo P. H. A., Bouchet P. Antifungal activity of *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson (*Asteraceae*) of Cameroon. Chemotherapy. 2006: 52; 103-106.

- Nurul Huda A. K., Mamat A. S., Effendy A. W. M., Hussin Z. M., Hasan S. M. Z. 2004. The antimicrobial effect of *Chromolaena odorata* extract on Gram-positive bacteria. 11<sup>th</sup> International conference of the Association of Institutions for Tropical Veterinary Medicine and 16<sup>th</sup> Veterinary Association Malaysia Congress 23-27 August 2004. Petaling Jaya. p342-343.
- Oh H. T., Kim S. H., Choi H. J., Chung M. J., Ham S. S. Antioxidative and antimutagenic activities of 70% ethanol extract from masou salmon (*Oncorhynchus masou*). *Toxicology*. 2008; 22; 1484-1488.
- Onkaramurthy M., Veerapur V. P., Thippeswamy B. S., Madhusudana Reddy T. N., Rayappa H., Badami S. Anti-diabetic and anti-cataract effects of *Chromolaena odrata* Linn., in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2013; 145; 363-372.
- Owoyele V. B., Adedili J. O., Soladoya A. O. Anti-inflammatory activity of aqueous leaf extract of *Chromolaena odorata*. *Inflammopharmacology*. 2005; 13; 479-484.
- Pandith H., Zhang X., Thongpraditchote S., Wongkrajang Y., Gritsanapan W., Baek S. J. Effect of Siam weed extract and its bioactive component scutellarein tetramethyl ether on anti-inflammatory activity through NF-kB pathway. *J Ethonopharmacol*. 2013; 147; 434-441.
- Phan T. T., Hughes M. A., Cherry G. W. Enhanced proliferation of fibroblasts and endothelial cells treated with an extract of the leaves of *Chromolaena odorata* (Eupolin), an herbal remedy for treating wounds. *Plast Reconstr Surg*. 1998; 101; 756-765.
- Phan T. T., Wang L., See P., Grayer R. J., Chan S. Y., Lee S. T. Phenolic compounds of *Chromolaena odorata* protect cultured skin cells from oxidative damage: implication for cutaneous wound healing. *Biol Pharm Bull*. 2001; 24; 1373-1379.
- Rao S. K., Chaudhury P. K., Pradhan A. Evaluation of anti-oxidant activities and total phenolic content of *Chromolaena odorata*. *Food Chem Toxicol*. 2010; 48; 729-732.
- Stanley M. C., Ifeanyi O. E., Nwakaego C. C., Esther I. O. Antimicrobial effects of *Chromolaena odorata* on some human pathogens. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2014; 3(3); 1006-1012.
- Thang P. T., Patrick S., Teik L. S., Yung C. S. Anti-oxidant effects of the extracts from the leaves of *Chromolaena odorata* on human dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes against hydrogen peroxide and hypoxanthine-xanthine oxidase induced damage. *Burns*. 2001; 27; 319-327.

Vijayaraghavan K., Ali S. M., Maruthi R. Studies on phytochemical screening and antioxidant activity of *Chromolaena odorata* and *Annona squamosa*. Int J Inn Res Sci Eng Tech. 2013; 2(12); 7315-7321.

Vo V. C. Dictionary of Vietnamese medicinal plants. In: Hanoi: Medical Publisher. 1997. p. 274.