

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของสารสกัดทับทิม*

STUDY ON ANTIFUNGAL ACTIVITY OF POMEGRANATE EXTRACT

จิระภา ดำรงโภคภัณฑ์

Jeerapa Damrongpokaphan

สถาบันโรคผิวหนัง กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

Institute of Dermatology, Bangkok, Thailand

Corresponding author E-mail: Jeerapa.pokaphan@hotmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของสารสกัดทับทิม ในกลุ่ม dermatophytes และเพื่อทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดทับทิม ในการยับยั้งเชื้อราในกลุ่ม dermatophyte โดยเปรียบเทียบขนาดของ inhibition zone ของเชื้อราทดสอบกับสารสกัดทับทิมกับเชื้อราในกลุ่ม Dermatophyte 5 ชนิดโดยใช้วิธี agar well diffusion และเปรียบเทียบผลที่ได้กับยา clotrimazole โดยใช้สารสกัดทับทิมซึ่งเป็นผลไม้ที่มีสารสกัดมีประโยชน์ โดยทับทิมสามารถต้านการอักเสบและอาการแพ้ มีผลลดโปรตีนเกี่ยวกับการอักเสบของเซลล์ เช่น นิวโทรฟิล มาโครฟาจ และโมโนไซต์ พบว่า สภาพภูมิอากาศที่ร้อนชื้นของทางภาคใต้เป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้เชื้อราเจริญได้ดี ส่งผลให้ประชากรเป็นโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราและเชื้อยีสต์ได้ง่าย ยารักษาเชื้อราที่ผิวหนัง ต้องใช้ต่อเนื่อง มีราคาแพง และมีฤทธิ์ข้างเคียง เช่น อาการระคายเคืองผิวหนัง, หน้าลอก แดง, ตุ่มพอง, บวม, คัน และลมพิษ ผู้ป่วยบางส่วนหันมานิยมใช้ยาจากธรรมชาติหรือสมุนไพรทดแทนยา คุณประโยชน์ของสารสกัดทับทิมเป็นสิ่งที่สำคัญในการรักษาอาการต่างๆ โดยเฉพาะฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา ผลการวิจัยพบว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดทับทิมจากการทดลอง สามารถยับยั้งเชื้อของกลุ่ม dermatophytes อยู่ระหว่าง 31.25-11.72 mg/mL ยับยั้งเชื้อ *T. mentagrophytes*, *M. canis*, *T. rubrum*, *E. floccosum*, *M. gypseum* โดยวิธีการทดลองในการใช้ยาต้านเชื้อราจำพวก clotrimazole ที่ความเข้มข้น 100 µg /ml สามารถยับยั้งเชื้อ *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *E. floccosum* สารสกัดทับทิมมีกลไกการออกฤทธิ์แบบผ่านยีน (genomic pathway) ร่างกายสามารถตอบสนองต่อโปรตีนในลักษณะหรือรูปแบบที่แตกต่างกัน

คำสำคัญ: ทับทิม, เชื้อรา, สารสกัดทับทิม, การยับยั้ง

Abstract

The purpose of this research was to study the fungicidal activity of pomegranate extracts in the group dermatophytes and to test the effectiveness of pomegranate extracts in inhibiting the fungus group dermatophyte by comparing the size of inhibition zone of fungi tested with pomegranate extract and group of fungi. Dermatophyte 5 species using the agar well diffusion method and comparing the results with clotrimazole using pomegranate extract, which is a fruit that has beneficial extracts. Pomegranate can fight inflammation and allergic reactions. It has the effect of reducing inflammatory proteins in cells such as neutrophils, macrophages, and monocytes. It was found that the hot and humid climate of the southern region is a factor that

* Received 8 November 2023; Revised 27 November 2023; Accepted 29 November 2023

promotes the growth of fungi. As a result, the population is prone to skin diseases caused by fungi and yeast. Medicine to treat skin fungus It must be used continuously, is expensive, and has side effects such as facial irritation, peeling, redness, blisters, swelling, itching and hives. Some patients turn to using natural or herbal medicines instead of medicine. The benefits of pomegranate extract are important in treating various symptoms. Especially the effect of inhibiting fungus. The research results found that mechanism of action of pomegranate extract from experiments can stop the germs of the group dermatophytes between 31.25-11.72 mg/mL, inhibits infection *T. mentagrophytes*, *M.canis*, *T.rubrum*, *E.floccosum*. *M.gypseum* by the experimental method of using the antifungal drug clotrimazole at a concentration of 100mg /ml can inhibit infection. *M.canis*, *M.gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T.rubrum*, *E.floccosum* Pomegranate extract has a mechanism of action through the genetic pathway. The body can respond to proteins in different ways or forms.

Keywords: Pomegranate, Fungicide, Pomegranate Extract, Inhibition

บทนำ

ในปัจจุบันกระแสของพืชสมุนไพรในประเทศไทย คนไทยและคนต่างชาติให้ความสนใจในการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรมากขึ้น เนื่องจากในประเทศไทยมีพื้นที่ตั้งอยู่เขตร้อนชื้นจึงทำให้มีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตสูง พืชพรรณต่าง ๆ มีจำนวนพันธุ์พืชไม่น้อยกว่า 20,000 ชนิด ทำให้มีการใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ของสมุนไพรที่มีอยู่ในประเทศไทยอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะทับทิมที่มีสารสำคัญอยู่ในกลุ่ม phytoestrogen มีสารที่พบในทับทิมอยู่หลายชนิด ซึ่งพบในเปลือกของผลและน้ำมันจากเมล็ด ได้แก่ สารในกลุ่ม polyphenol เช่น quercetin และ kaempferol (Chauhan, D. & Chauhan, J. S., 2001) สารกลุ่ม flavonoid glycosid (El-Toumy, S. A. A. & Rauwald, W. H., 2002) สาร ellagic acid และ ellagic tannin (Polyrazoglu และคณะ, 2002) และ organic acid (Heftmann และคณะ, 1966) ที่สำคัญพบสารกลุ่มสเตียรอยด์ คือ estrone (Dean, J. V. et al., 1988), estradiol (Abd El Wahab, S. M., 1998) และ testosterone (Lau, K. K. S. et al., 2003) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอื่นๆ เช่น Laurie acid, manitol, pelargonin, piperidine, punicalcortin (A, B, C), punicalin, steric acid, strictinin, tannin, tellimagrandin I, tricosanoic acid และ unicalin xanthoxylin เป็นต้น (นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร, 2541)



ภาพที่ 1 ผลทับทิม (Pomegranate)

เนื่องจากยารักษาเชื้อราที่ผิวหนังซึ่งต้องใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานาน เป็นยาที่มีราคาแพง และ อาจมีฤทธิ์ข้างเคียง เช่น อาการระคายเคืองผิวหนัง, หน้าลอก, ผิวหน้าแดง, ตุ่มพอง, บวม, คัน และ ลมพิษ ร่วมกับปัจจุบันมี

กระแสความนิยมผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น ทำให้ผู้ป่วยบางส่วนหันมานิยมใช้ยาจากธรรมชาติหรือสมุนไพรทดแทนยาแผนตะวันตกที่ทำมาจาก การสังเคราะห์ทางเคมี สมุนไพรเป็นส่วนหนึ่งในวิถีชีวิตและสังคมไทย มาโดยตลอด โดยนำมา ประกอบในอาหารคาว หวาน หรือใช้เป็นยารักษาโรคโดยตรงเพื่อการรักษาและฟื้นฟูสุขภาพ หรือใช้เพื่อการเสริมความงาม ภูมิปัญญาไทยเหล่านี้ได้รับการส่งเสริม สืบทอด และพัฒนามาอย่าง ยาวนาน เนื่องจากประเทศไทยเป็นเขตร้อนชื้น มีพันธุ์พืชไม่น้อยกว่า 20,000 ชนิด ซึ่งสามารถนำมาใช้ เป็นสมุนไพรกว่า 1,800 ชนิด หาได้ง่ายราคาถูก สามารถปลูกได้เองภายในครัวเรือน อีกทั้งพืช สมุนไพรพื้นบ้านจัดว่าเป็นพืชที่มี องค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ที่มีประโยชน์ในทางเภสัชวิทยา สามารถใช้ในการรักษาโรค เช่น ลดการติดเชื้อของ แผลอักเสบ ลดการเกิดหนอง รักษาและรักษาโรค ผิวหนังบางชนิดได้ แต่การพัฒนาสมุนไพรเพื่อทดแทนยาแผน ปัจจุบันที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ต้องมีการวิจัยและพัฒนาสมุนไพรเพื่อใช้เป็นยาอย่างครบวงจร เพื่อพิสูจน์ สรรพคุณและยืนยันความปลอดภัยในการใช้สมุนไพรในการรักษาโรค เพื่อประเมินประสิทธิผลของยาจากสมุนไพร เทียบกับยาแผนปัจจุบัน และการวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อใช้สมุนไพรที่มีปริมาณสารสำคัญที่แน่นอน และ ควรส่งเสริมให้มีการผลิตยาจากสมุนไพรขึ้นใช้เองในโรงพยาบาลจังหวัดหรืออำเภอที่มีศักยภาพและ มีบุคลากร สาธารณสุขเพียงพอ รวมทั้งให้ประชาชนในท้องถิ่นได้มีส่วนร่วมในการปลูกพืชสมุนไพร เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการ ผลิตยาของโรงพยาบาล เพื่อใช้ยาสมุนไพรนั้นในการรักษาผู้ป่วยในท้องถิ่น เพื่อลดอัตราการนำเข้าของยาแผน ปัจจุบัน

โรคผิวหนังจากเชื้อรา กลุ่ม cutaneous mycoses เป็นโรคจากการติดเชื้อราที่บริเวณผม ขน และเล็บ โดยเชื้อราสามารถลุกลามจากชั้น stratum corneum ไปอยู่ที่รูขุมขน ผม โคนเล็บ และข้างเล็บ เชื้อราที่ทำให้เกิด โรคกลุ่ม cutaneous mycoses ที่พบบ่อย ได้แก่ โรคที่เกิดจากเชื้อกลุ่ม dermatophytes เรียกว่า โรคกลาก หรือ dermatophytosis จัดเป็นโรคติดเชื้อราที่พบบ่อยที่สุดชนิดหนึ่ง โรคกลากเป็นการติดเชื้อที่ผิวหนัง ชั้นนอก ซึ่งเกิดจากเชื้อรากลุ่ม dermatophytic fungi เกิดจากการสัมผัสกับเชื้อรา โดยอาจได้รับเชื้อผ่านทางดิน, การสัมผัสโดยตรงกับสัตว์หรือผ่านทางขนของสัตว์ที่เป็นพาหะ ร่วมกับสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของผิวหนังของผู้ ติดเชื้อ เช่น ผิวหนังที่มีบาดแผล หรือ ผิวหนังที่เปื่อยยุ่ยจากความอับชื้น โรคผิวหนังจากเชื้อราสามารถก่อโรคได้ทั้ง ร่างกาย เช่น ศีรษะ ใบหน้า หนวด-เครา บริเวณขาหนีบ ผิวหนังบริเวณลำตัว ผิวหนังบริเวณมือ ผิวหนังบริเวณเท้า และ เล็บมือหรือเล็บเท้า เชื้อก่อโรคกลากที่พบบ่อยในคนมี 3 สกุล ได้แก่ *Trichophyton*, *Epidermophyton* และ *Microsporum* (พรพรรณ ภูมิรัตน์ และคณะ, 2556)



ภาพที่ 2 โรคกลาก (Dermatophytosis)

โรคกลุ่ม cutaneous mycoses ที่เกิดจากเชื้อรากลุ่มอื่นๆ เรียกว่า dermatomycosis โดยเชื้อที่พบบ่อย คือ *Candida* ซึ่งเป็นเชื้อยีสต์ฉวยโอกาส ที่ก่อโรคได้บ่อยที่สุด ได้แก่ *C. albicans* ในสภาวะที่ร่างกาย แข็งแรง สามารถพบเชื้อกลุ่มนี้เป็นเชื้อแฝงที่ หู ตา ระบบทางเดินอาหาร อวัยวะสืบพันธุ์ ผิวหนัง และช่องคลอด เป็นต้น และจัดเป็นเชื้อประจำถิ่นที่มีความสำคัญต่อร่างกายของมนุษย์แต่เมื่อร่างกายอ่อนแอ ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่สมดุล



จึงทำให้ *C. albicans* เพิ่มจำนวนมากกว่าปกติ และ ก่อให้เกิดการติดเชื้อ เรียกโรคติดเชื้อจาก *Candida* ว่า candidiasis หรือ candidosis ซึ่งส่วนใหญ่พบการติดเชื้อที่เยื่อเมือก (mucous membrane) ของร่างกาย อาการที่พบบ่อย คือ การเกิดฝ้าขาวในช่องปาก และลำคอ ช่องคลอด ผิวหนัง ขาหนีบ *C. albicans* เป็นยีสต์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-37 องศาเซลเซียส สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ (สุรชัย รัตนสุข, 2557)

ทับทิม (*Punica granatum* Linn.) เป็นพืชวงศ์ *Punicaceae* พบในประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน ตะวันออกกลาง เอเชียใต้ และหลายประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทย ลักษณะของทับทิมเป็นไม้พุ่ม สูงไม่เกิน 3 เมตร ปลายกิ่งอ่อนห้อยลู่ลง ปลายกิ่งเลื้อยมักกลายเป็น หนามแหลม ใบของทับทิมเป็นใบเดี่ยว ออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน รูปหอกกลับ เนื้อใบเนียน ดอกทับทิมมีสีแดง ออกเป็นดอกเดี่ยวๆ หรือรวมเป็นกระจุก ประมาณ 5 ดอก ผลทับทิมนั้นมีลักษณะกลมโต ผิว นอกแข็งเป็นมัน ผลแก่จะแตก้าออกให้เห็นเมล็ดที่มีเนื้อเยื่อใสๆ สีขาวอมชมพูอยู่ภายใน ทับทิมมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการ เช่น ลดน้ำตาลในเลือด ลดความดันโลหิตสูง ยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ ขับพยาธิ ขับปัสสาวะ ป้องกันฟันผุ และมีฤทธิ์ในการคุมกำเนิด วิธีการใช้ทับทิมในตำรายาโบราณนั้นใช้โดยนำเมล็ดทับทิมมารับประทาน หรือนำมาตากแห้งป่นเป็นผงจากนั้นตวง 1-2 ช้อนชา ชงกับน้ำร้อนดื่ม เข้า-เย็น ก่อนอาหาร (นันทวัน บุญยะประภัสร์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร, 2541) นอกจากนี้มีรายงานความเป็นพิษของทับทิม โดยพบว่าสารสกัดส่วนที่มี gallotannin จากเปลือกของผลทับทิม ความเข้มข้น 0.5% เป็นพิษต่อตับ (Anon, 1978) สาร tannic acid จาก เปลือกผลป้อนกระต่าย ขนาด 1 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 40 วัน ทำให้เกิดอาการเป็นพิษ สารสกัดจากผิวทับทิมด้วยน้ำ ขนาด 0.4 มิลลิกรัมต่อวัน ทำให้นกกระจอกตัวผู้ตายได้

ในปี ค.ศ. 1978 มีการทำการทดลองสารสกัดจากเมล็ดทับทิมพบว่า สามารถลดระดับ น้ำตาลในเลือดได้ (Comai, K. et al., 1978) หากนำสารสกัดจากเมล็ดทับทิมในสารละลายแอลกอฮอล์ในความเข้มข้น 300 และ 600 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม จากนั้นป้อนสารสกัดเมล็ดทับทิมให้หนูที่เป็นเบาหวานกิน เมื่อเปรียบเทียบผลการลดน้ำตาลกับยาแผนปัจจุบัน chlorpropamide ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าสามารถลดน้ำตาลในเลือด 47 และ 52 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 12 ชั่วโมง (Das, P. et al., 2011) จากคุณสมบัติต่างๆ มากมายของสารสกัดทับทิมที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ผู้วิจัยจึงมีความสนใจและให้ความสำคัญกับสารสกัดทับทิมที่มีส่วนยับยั้งเชื้อราได้ โดยการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของสารสกัดทับทิม

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของสารสกัดทับทิม

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยวิทยาศาสตร์ในสาขาราวทยา โดยใช้วิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) เพื่อทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดทับทิม ในการยับยั้งเชื้อราในกลุ่ม dermatophyte โดยเปรียบเทียบขนาดของ inhibition zone ของเชื้อราทดสอบกับสารสกัดทับทิมกับเชื้อราในกลุ่ม Dermatophyte 5 ชนิดโดยใช้วิธี agar well diffusion และเปรียบเทียบผลที่ได้กับยา clotrimazole

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งสาร
2. เครื่องนึ่งอบปลอดเชื้อ
3. Vortex mixer
4. ตู้อุณหภูมิเก็บเชื้อ
5. ตู้ปลอดเชื้อ

สารเคมี และน้ำยาทดสอบ

อาหารเลี้ยงเชื้อ และอาหารทดสอบชีวภาพ

Potato dextrose agar; PDA

Mueller –Hinton agar

สารเคมีในการทดลอง

1. Dimethyl sulfoxide (DMSO)



6. เครื่องระเหยสาร

อุปกรณ์

1. Teasing needle
2. Loop
3. Glass Petri dish
4. Seropipet
5. Rack
6. slide
7. cover slip
8. slide culture set
9. Millipore filter membrane 0.45 um & FilterPapers No.1
10. Volumetric flask
11. Autopipette
12. Forceps
13. Swab
14. Micropipette tip
15. scotch tape

2. Ethanol 95% Merck / Thailand

3. Alcohol 70% Merck / Thailand

4. McFarland standard No. 1.0

5. Clotrimazole New Life Pharma Co., Ltd. / Thailand

6. Lactophenol cotton blue

เชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ

1. *Epidermophyton floccosum*

2. *Microsporum gypseum*

3. *Microsporum canis*

4. *Trichophyton rubrum*

5. *Trichophyton mentagrophytes*

สมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบ

สารสกัดทับทิม ทับทิมที่ใช้ในการทดลองเป็นทับทิมไทย ที่ปลูกในเขตพื้นที่ในประเทศไทย และเก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงเดือนเมษายน ถึง พฤษภาคม ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช (Herbarium No.080252)

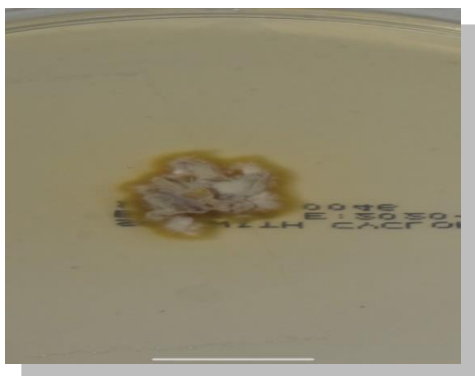
การตรวจหาสารสำคัญโดยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) โดย GC-MS เป็นเครื่องมือที่ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของเครื่อง GC (Gas chromatography) ซึ่งเป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างให้ออกมาที่ละองค์ประกอบ ก่อนที่จะเข้าสู่ detector (Hewlett-Packard 5973) และอีกส่วนคือ เครื่อง MS (Mass spectrometry) ซึ่งจะทำหน้าที่เป็น detector ในการตรวจสอบดูว่าองค์ประกอบต่างๆ ที่ผ่านออกมาจากเครื่อง GC นั้น มีเลขมวล (mass number) เป็นเท่าไร เพื่อที่จะได้สามารถทำนายได้ว่า สารที่เราสนใจอยู่นั้นประกอบด้วยองค์ประกอบชนิดใดบ้าง และมีปริมาณเท่าไร (Hewlett Packard 6890) และจากการศึกษาพบว่า สารสกัดทับทิมและน้ำทับทิมมีสารฟีนอลิก (TPC) และสารฟลโวนอยด์ (FT) ปริมาณมาก และ TPC มากกว่า FT ปริมาณของ TPC ดังนี้ $PPE/e > PPE/w > PSE/e > PSE/w > PJ$ 451.96 ± 4.29 ; 380.54 ± 5.87 ; 77.93 ± 1.62 ; 51.58 ± 0.85 และ 2.55 ± 0.42 pg GAE/mg ของสารสกัดตามลำดับ และ ปริมาณ FT ดังนี้ 37.61 ± 1.44 ; 26.05 ± 0.93 ; 16.66 ± 0.47 ; 10.55 ± 0.14 และ 0.24 ± 0.03 ug CAE/mg ของสารสกัด ในทำนองเดียวกันผลการวิเคราะห์ antioxidant activity ทั้ง 3 วิธี คือ scavenging DPPH radicals, ferric antioxidant reducing power (FRAP) และ lipid peroxidation inhibition / ferric thiocyanate (FTC) พิจารณาจากค่า IC_{50} ที่ 24 ซม. พบว่า ประสิทธิภาพ ของ antioxidant activity ของ PPE มากกว่า PSE และ PJ และ ใกล้เคียงกับสาร antioxidants มาตรฐานคือ catechin (CA), epigallocatechin-3-gallate (EGCG) และ สารสังเคราะห์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารคือ 3-ferf-butyl-4-



hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxyl toluene (BHT) ปริมาณของ TPC และ FT ในแต่ละส่วนของทับทิมมีความสัมพันธ์ (correlation) กับคุณสมบัติ antioxidation และพบว่าทับทิมไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์มีชีวิตปกติ ซึ่งใช้ *Artemia salina* เป็นต้นแบบทดลองแต่มีความเป็นพิษยับยั้งการเจริญเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งสายพันธุ์ของคน ซึ่งใช้เซลล์มะเร็งเต้านมของคน MCF-7 เป็นต้นแบบในการทดลอง สารสกัดเปลือกและเมล็ดทับทิมแสดงโปรไฟล์ทางพิษวิทยาเพื่อใช้ในการพัฒนาทางเภสัชวิทยาและการรักษาโดยการวิเคราะห์สถิติ ดังนั้น NOAEL (no-observed-adverse-effect-level) เรียงดังนี้ $PPE/w > PSE/e > PPE/e > PSE/w$ ซึ่งมีค่า 1,250, 1,000, 750, and 100 ug/ml ตามลำดับ LOAEL (lowest-observed-adverse-effect-level) เรียงดังนี้ $PPE/w = PSE/e > PPE/e > PSE/w$ มีค่า 1,500, 1,000, and 500 ug/ml ตามลำดับ ส่วนค่า MOS (margin of safety) และ TI (therapeutic index) ดังนี้ $PPE/w > PSE/e > PPE/e > PSE/w$ โปรไฟล์ทางพิษวิทยาเหล่านี้เป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทับทิมทางเภสัชวิทยา ผู้วิจัยจึงได้ทำการทดลองวิจัยผลิตภัณฑ์ของสารสกัดทับทิมยับยั้งการเจริญเติบโต และฆ่าเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes ได้ โดยเปรียบเทียบขนาดของ inhibition zone ของเชื้อราทดสอบกับสารสกัดทับทิมกับเชื้อราในกลุ่ม Dermatophyte 5 ชนิดโดยใช้วิธี agar well diffusion และเปรียบเทียบผลที่ได้กับยา clotrimazole เพื่อเป็นทางเลือกในทาง การแพทย์ให้มีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต วิธีการทดลองโดยใช้เชื้อทดสอบเชื้อราที่นำมาทำการทดสอบจำนวน 5 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่ม dermatophyte ได้แก่

1. *E. floccosum* 1 สายพันธุ์
2. *M. gypseum* 1 สายพันธุ์
3. *M. canis* 1 สายพันธุ์
4. *T. rubrum* 1 สายพันธุ์
5. *T. mentagrophytes* 1 สายพันธุ์

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อบน PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 7 - 14 วัน นำมาย้อม lactophenol cotton blue เพื่อ ดูลักษณะ septate hyphae, macroconidia และ microconidia เพื่อยืนยันเชื้อแต่ละชนิด ซึ่งทำการจำแนกเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes แต่ละ genus และ species ดังรูปภาพที่ ดังต่อไปนี้



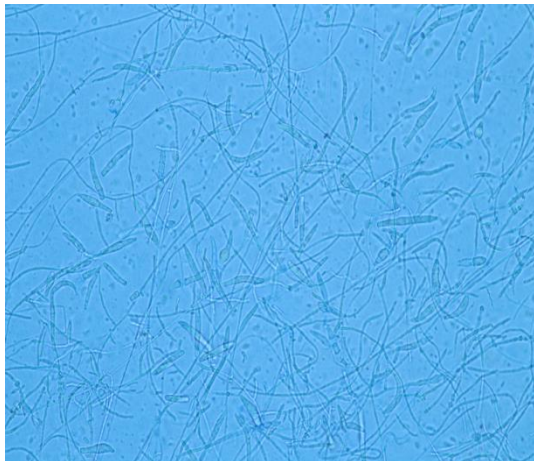
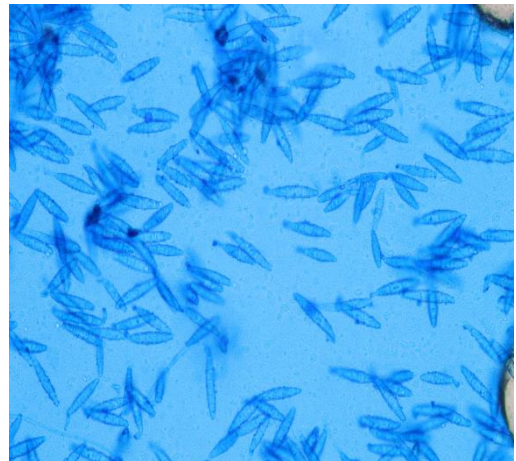
ภาพที่ 3 *E. floccosum* 1

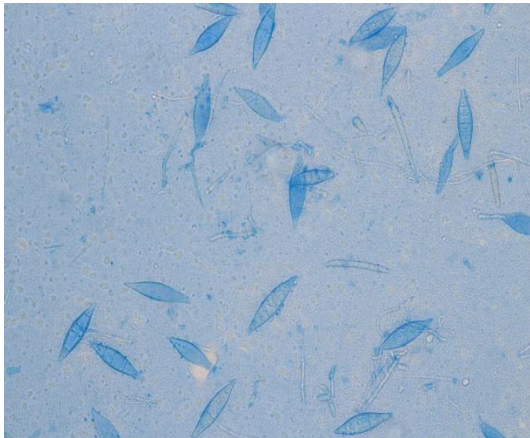
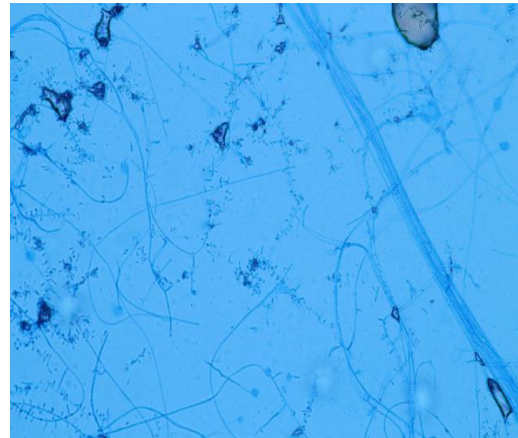
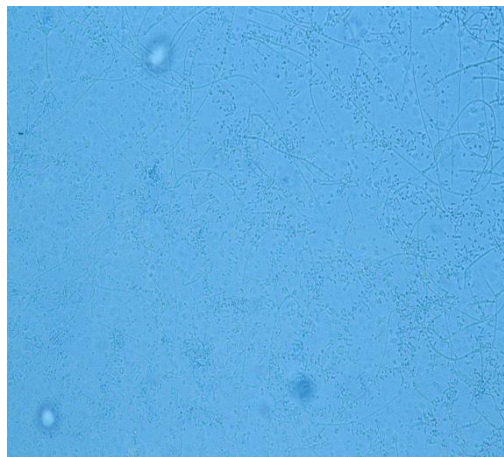


ภาพที่ 4 *M. gypseum*

ภาพที่ 5 *M. canis*ภาพที่ 6 *T. rubrum*ภาพที่ 7 *T. mentagrophytes*

จากรูปภาพลำดับที่ 8-12 แสดงให้เห็นถึงลักษณะของ เชื้อราในกลุ่ม dermatophytes จากกล้องซึ่งได้จากการย้อมสี Lactophenolcottonblue เป็นผลที่ได้จากการทดลอง ดังนี้

ภาพที่ 8 *E. floccosum*ภาพที่ 9 *M. gypsum*

ภาพที่ 10 *M. canis*ภาพที่ 11 *T. rubrum*ภาพที่ 12 *T. mentagrophytes*

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยเชื่อว่า ทับทิมสามารถต้านการอักเสบและอาการแพ้ โดยเปลือกทับทิมมีสารสกัดชนิดฟีนอลิก ฟีนอลิก สเตอโรล ไทนิน เอ และกรานาติน บี ซึ่งสารสกัดเหล่านี้ไปมีผลในการลดการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น นิวโทรฟิล มาโครฟาจ และโมโนไซต์ เป็นต้น และยังพบว่าสภาพภูมิอากาศที่ร้อนชื้นของทางภาคใต้จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งเสริมให้เชื้อราเจริญได้ดี ซึ่งส่งผลให้ประชากรเป็นโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราและเชื้อยีสต์ได้ง่าย ซึ่งการรักษาเชื้อราที่ผิวหนัง ซึ่งต้องใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานาน มีราคาแพง และอาจมีฤทธิ์ข้างเคียง เช่น อาการระคายเคืองผิวหนัง, หนังสือก, ผิวหน้าแดง, ตุ่มพอง, บวม, คัน และลมพิษ การรักษาโรคกลากสามารถใช้วิธีการทายาหรือการกินยา โดยสารต้านเชื้อรา (Anti-fungal agents) ที่นิยมใช้ปัจจุบันมี 4 กลุ่มคือ Azole, Polyene, Griseofulvin และ Allylamine derivatives ทั้งนี้การเลือกวิธีการรักษาและชนิดของสารต้านเชื้อราเพื่อการรักษานั้นขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค และการตอบสนองของเชื้อต่อตัวยาที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อระยะเวลาและการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อราในผู้ป่วยแต่ละราย ร่วมกับกระแสความนิยมผลิตภัณฑ์ ที่มาจากธรรมชาติจึงเพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ ทำให้ผู้ป่วยบางส่วนหันมานิยมใช้ยาจากธรรมชาติหรือสมุนไพรทดแทนยา ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาการสังเคราะห์หรือการสกัดทับทิมเพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของสารสกัดทับทิม ในกลุ่ม dermatophytes

อภิปรายผล

การทดลองในครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทำการทดลอง 3 ครั้ง โดยผลการทดลองในแต่ละครั้งได้ผลที่แตกต่างกันกับครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 โดยสามารถอภิปรายผลได้ ดังนี้ ผลการทดลองการยับยั้งเชื้อกลุ่ม dermatophytes ของสารสกัดทับทิม ความเข้มข้น 250 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *M.canis* *M.gypseum* *T. mentagrophytes* *T.rubrum* *E.floccosum* เกิด inhibition zone บน MHA Plate และ PDA Plate เท่ากับ 20, 20, 23, 22, 20 ตามลำดับ และ สารสกัดทับทิม ความเข้มข้น 500 mg/mL สามารถยับยั้งเชื้อ *M.canis* *M.gypseum* *T. mentagrophytes* *T.rubrum* *E.floccosum* เกิด inhibition zone บน MHA Plate 25, 24, 28, 26, 28 mm และบน PDA Plate 24, 24, 26, 25, 28 (ครั้งที่ 2 mm ในส่วนของ ยา clotrimazole ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *M.canis*, *M.gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T.rubrum*, *E.floccosum* เกิด inhibition zone บน MHA Plate 21, 20, 21, 21, 20 และ บน PDA Plate 21, 20, 21, 21, 20 mm และ ยา clotrimazole ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *M.canis*, *M.gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T.rubrum*, *E.floccosum* เกิด inhibition zone บน MHA Plate 24, 24, 25, 24, 24 mm และ บน PDA Plate 24, 24, 25, 24, 24mm เมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อราที่เกิด โดยสารสกัดทับทิมได้ดี ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นในการนำสารสกัดทับทิมไปใช้ซึ่งต้องมีปริมาณที่เข้มข้นจึงสามารถจะยับยั้งเชื้อกลุ่ม dermatophytes เทียบเคียงกับการใช้ยา clotrimazole (ปาริยา อุดมกุศลศรี, กมลชัย ตรงวานิชนาม, มาลินี ลิ้มโกคา, 2550); (บาจริย์ จันทรภาณุกร, 2559)

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองพบว่าสรุปได้ว่า สารสกัดทับทิมมีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา โดยได้ผลการทดลองที่สามารถยับยั้งเชื้อกลุ่ม dermatophytes แสดงว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดสารสกัดทับทิมของผู้วิจัยให้ผลใกล้เคียงกับผลการศึกษาของยา clotrimazole ได้เป็นอย่างดี จากการศึกษาค้นคว้านี้สามารถสรุปรูปแบบกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดทับทิม (เมล็ดและเปลือก) ได้ว่า เป็นการออกฤทธิ์แบบผ่านยีน (genomic pathway) หมายถึง การให้สารชนิดใดชนิดหนึ่งเข้าไป ในสิ่งมีชีวิตแล้ว ส่งผลให้สิ่งมีชีวิตนั้นสามารถแสดงกลไกการตอบสนองได้ในระดับยีน โดยส่วนใหญ่การออกฤทธิ์ในระดับนี้ร่างกายจะใช้เวลาในการตอบสนอง สำหรับตัวชี้วัดของการออกฤทธิ์แบบผ่านยีนคือระดับของโปรตีนซึ่งร่างกายจะตอบสนองต่อโปรตีนเหล่านี้ในลักษณะหรือรูปแบบที่ แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรตีนนั้นๆ ข้อเสนอแนะที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากทับทิมแสดงการออกฤทธิ์แบบผ่านยีนคือ การเพิ่มขึ้นของเซลล์ แนนอนที่สุดว่าพืชสมุนไพรชนิดนี้ย่อมมีความสำคัญต่อการรักษาโรคทั้งในปัจจุบันและอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- นันทวัน บุญยะประสงค์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. (2541). สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน เล่ม 1-2. กรุงเทพมหานคร: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- บาจริย์ จันทระภาณุกร. (2559). กิณวียาคลินิกและไวรัสวิทยาคลินิก. ปทุมธานี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรังสิต.
- ปาริยา อุดมกุศลศรี, กมลชัย ตรงวานิชนาม, มาลินี ลิ้มโกคา. (2550). ประสิทธิภาพของสมุนไพรไทยบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อโรคในปลาในห้องปฏิบัติการ. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรพรรณ ภูมิรัตน์ และคณะ. (2556). เชื้อราทางการแพทย์. วารสารการแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ, 2(1), 31-44.
- สุรัชย์ รัตนสุข. (2557). ความหลากหลายของแมลงก่ต่อนในสระแก้วราชภูมิ มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 1 (หน้า, 545-549). กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัย ราชภัฏกำแพงเพชร.
- Abd El Wahab, S. M. (1998). Characterization of certain steroid hormones in Punica granatum L. seeds. Bulletin of Faculty of Pharmacy-Cairo University, 36(1), 11-16.
- Chauhan, D. & Chauhan, J. S. (2001). Flavonoid Diglycoside from Punica granatum. Pharmaceutical Biology, 39(2), 155-157.
- Comai, K. et al. (1978). Differences between lean and obese Zucker rats : the effect of poorly absorbed dietary lipid on energy intake and body weight again. The Journal of Nutrition, 108(5), 856-35.
- Das, P. et al. (2011). Drug utilization pattern and effectiveness analysis in diabetes mellitus at a tertiary care centre in Eastern. Nepal Indian Journal of Physiology and Pharmacology, 55(3), 272-80.
- Dean, J. V. et al. (1988). The conversion of nitrite to nitrogen oxide (s) by the constitutive NAD (P) H-nitrate reductase enzyme from soybean. Plant Physiology, 88(2), 389-395.
- El-Toumy, S. A. A. & Rauwald, W. H. (2002). Two ellagitannins from Punica granatum heartwood. Phytochemistry, 61(8), 971-974.
- Lau, K. K. S. et al. (2003). Superhydrophobic carbon nanotube forests. Nano Letters, 3(12), 1701-1705.