Original Article

นิพนธ์ต้นฉบับ

ฤทธิ์ในการต้านเชื้อราของสารสกัดทองพันชั่ง *(Rhinacanthus nasutus)* ที่มีต่อ *Malassezia sp.*

วุฒิชัย วิสุทธิพรต
กลุ่มงานหลักสูตรแพทย์แผนไทย
วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดพิษณุโลก

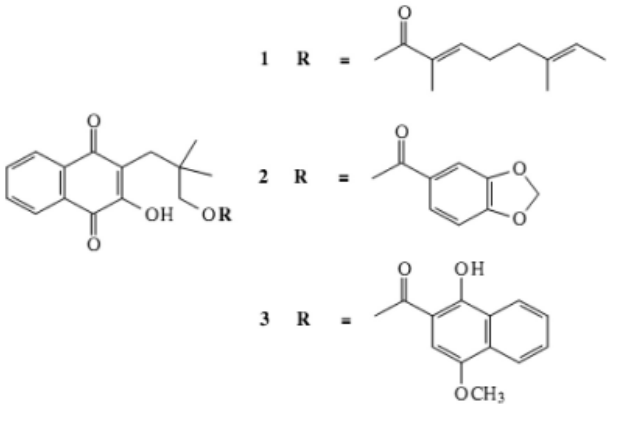
บทคัดย่อ ทองพันชั่ง *(Rhinacantus nasutus)* จัดเป็นหนึ่งในสมุนไพรไทยที่ถูกระบุไว้ในตำราแผนโบราณว่ามีประสิทธิภาพในการรักษาโรคผิวหนังประเภท กลาก เกลื้อนได้ดี มีงานศึกษาก่อนหน้านี้ระบุว่าสารสกัดทองพันชั่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกลากได้ดี แต่อย่างไรก็ตามผลของทองพันชั่งที่มีต่อเชื้อก่อโรคเกลื้อนยังไม่มีรายงานที่เด่นชัดมากนัก การศึกษานี้มุ่งหวังที่จะทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดทองพันชั่งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อราสายพันธุ์ *Malassezia furfur* และ *Malassezia globosa* ซึ่งเป็นเชื้อราหลักที่ก่อให้เกิดโรคเกลื้อน (Tinea vesicolor) โดยการตรวจวัดฤทธิ์ในการต้านเชื้อราในการทดลองใช้วิธี disc diffusion ร่วมกับ วิธี broth microdilution เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ (MIC) ซึ่งการผลทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากทองพันชั่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ได้อย่างเด่นชัด และพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีค่า MIC50 เท่ากับ 25 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Malassezia furfur* และ *Malassezia globosa* นอกจากนี้ผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดจากทองพันชั่งยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารสกัดในน้ำอีกด้วย จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบทองพันชั่งน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหนึ่งในการพัฒนาเป็นยารักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อรา

คำสำคัญ: **ทองพันชั่ง, เกลื้อน, มาลาเซเซีย เฟอร์เฟอร์, ไรนาแคนทิน**

บทนำ

ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* Kurz.) เป็นพืชล้มลุกที่อยู่ในวงศ์ Acanthaceae พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ทางการแพทย์แผนโบราณได้ใช้ทองพันชั่งในการเข้าตำรับยาเพื่อรักษาโรคมะเร็ง โรคตับอักเสบ โรคผิวหนัง ฯลฯ[1,2] ได้มีผู้ทำการวิจัย พบว่า ใบและรากทองพันชั่งประกอบด้วยสารประกอบไรนาแคนทิน (Rhinacanthins) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์แนพโทควิโนนเอสเทอร์ (Naphthoquinone ester) ที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อไวรัสได้[3-9] ตัวอย่างสารประกอบไรนาแคนทินที่พบ ได้แก่ ไรนาแคนทิน-ซี (rhinacanthin-C ไรนาแคนทิน-เอ็น (rhinacanthin-N),

ไรนาแคนทิน-คิว (rhinacanthin-Q) เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีโครงสร้างเป็น polyphenol ที่มีความแตกต่างกันในส่วนของเอสเทอร์โดยเป็นอะโรมาติกหรืออะลิฟาติกเอสเทอร์ (รูปที่ 1)[10] โดยพบว่า rhinacanthin-C มีอัตราส่วนมากที่สุดในสารสกัดจากสมุนไพรทองพันชั่ง[11] ฤทธิ์ที่สำคัญอีกประการของสารกลุ่ม rhinacanthins คือ ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ประเภทต่าง ๆ ซึ่งจากการศึกษาพบว่า สารกลุ่ม rhinacanthins สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด มีการศึกษาพบว่า สารสกัดจากต้นทองพันชั่งสามารถยับยั้งเชื้อไวรัส Herpes simplex type 1 (HSV-1) ได้ดี[12] นอกจากนี้ยังพบว่าสาร rhinacanthin-C และ rhinacanthin-D จากต้นทองพันชั่ง สามารถยับยั้งเชื้อ Cytomegalovirus ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีค่า ED50 เท่ากับ 0.02 และ 0.22 μg/ml ตามลำดับ[4] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า rhinacanthin-N สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกในกลุ่ม Streptococi, Enterococi และ β-hemolytic ได้ดีเทียบเท่ายาเจนต้าไมซิน (gentamycin) โดยพบว่า มีค่า MIC50 และ MIC90 เท่ากับ 4.9 และ 9.76 μg/ml ตามลำดับ[5,7,13] นอกเหนือจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรียแล้ว มีการศึกษาพบว่า rhinacanthins สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อโรคในคนได้อย่าง



รูปที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานของสาร Rhinacanthin-C (1), -D (2),-N (3)[10]

มีประสิทธิภาพ เช่น เชื้อรากลุ่ม *Trichrophyton rubrum, Trichrophyton mentagrophytes* and *Microsporum gypseum* ที่ก่อให้เกิดโรคกลาก (ringworm) โดยรายงานการศึกษาพบว่า rhinacanthin-C มีฤทธิ์ต้านเชื้อราในกลุ่ม Dermatophyte ดังกล่าวได้แรงที่สุด ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อ *Trichophyton rubrum, Trichrophyton mentagrophytes* และ *Microsporum gypseum* เท่ากับ 26.5, 26.5 และ 106 mg/ml ตามลำดับ[14] สำหรับการยับยั้งเชื้อราในกลุ่มของ Candida พบว่า สาร rhina-canthin-C, rhinacanthin-D และ rhinacanthin-N จากใบทองพันชั่ง สามารถยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 512, 64 และ 64 ug/ml ตามลำดับ[10] แต่อย่างไรก็ตามมีการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าสารสกัดจากทองพันชั่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสูงกว่าสาร rhinacantin-C ในปริมาณที่เท่ากันทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เสริมกันของสาร rhinacantin ชนิดอื่น ๆ ในสารสกัดจากทองพันชั่ง[11]

Malassezia sp. จัดเป็นเชื้อราสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังทั้งในคนและในสัตว์ โดยพบว่า *Malassezia furfur* และ *Malassezia globosa* เป็นเชื้อราสายพันธุ์หลักที่ก่อให้เกิดโรคเกลื้อน (Tinea vesicolor) บริเวณผิวหนังมนุษย์ รวมถึงเชื้อราบนหนังศีรษะ โดยมักพบอุบัติการของโรคมากในประชากรวัยรุ่นและผู้ที่มีผิวมัน โดยตัวยาแผนปัจจุบันที่แนะนำให้ใช้ คือ ketoconazole, zinc pyrithione, clotrimazole, sodium thiosulfate และ selenium disulfide เป็นต้น[15-18]

แม้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับถึงขอบข่ายการออกฤทธิ์ที่กว้างในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรทองพันชั่ง แต่อย่างไรก็ตามจากการทบทวนวรรณกรรมกลับพบว่า มีการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชทองพันชั่งต่อเชื้อราที่ก่อโรคในกลุ่มของ โรคเกลื้อนน้อยมาก โดยเฉพาะการศึกษาประสิทธิภาพในหลอดทดลอง *(In vitro)* โดยพบว่ามีรายงานแต่เพียงว่าใบและรากของต้นทองพันชั่งสามารถรักษา

ผู้ป่วยที่เป็นโรคเกลื้อนได้ดี โดยสามารถลดอัตราการเกิดซ้ำ (recurrent) ได้เป็นระยะเวลา 1 ปี[19] ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวยังไม่ทำให้ทราบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อในกลุ่มโรค Tinea versicolor เป็นอย่างไร การศึกษาครั้งนี้ต้องการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดทองพันชั่งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Malassezia furfur* และ *Malassezia globosa* โดยใช้ ketoconazole และ zinc pyrithione เป็นสารควบคุม

วิธีการศึกษา

วัสดุและสารเคมี

เชื้อรา *Malassezia furfur, Malassezia globosa* และ *Zinc pyrithione* ได้รับการสนับสนุนจาก ศูนย์วิจัยเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร สมุนไพรทองพันชั่ง เก็บจากสวนสมุนไพรของกลุ่มงานหลักสูตรการแพทย์แผนไทย วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดพิษณุโลก เอทิลอะซีเตด (ethylacetate) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulfoxide: DMSO) จัดซื้อจาก Labscan ประเทศไทย โพรไพลีน ไกลคอล (propylene glycol: PPG) และ olive oil จัดซื้อจาก เวชกิจเคมีภัณฑ์ (ประเทศไทย) ketoconazole จัดซื้อจากบริษัท Sigma, Sabouraud dextrose broth (SDB) และ Sabouraud dextrose agar (SDA) จัดซื้อจาก บริษัทไฮมีเดีย แล็บบอราทอรี่ โดยสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาวิจัยทั้งหมดเป็นสารเคมีที่ใช้สำหรับการศึกษาวิเคราะห์ (analytical grade) โดยเฉพาะ

การสกัดสารจากพืชทองพันชั่ง ชั่งใบทองพันชั่งแห้งน้ำหนัก 300 กรัม นำมาแช่ลงในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต (ethylacetate) 1,500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่องระเหยแห้ง (rotary evaporator, Buchi) จะได้สารสกัดทองพันชั่งลักษณะเหนียว สีเขียวเข้ม โดยเก็บสารสกัดเอาไว้ในที่แห้ง อุณหภูมิต่ำ[11] เนื่องจากสารสกัดทองพันชั่งที่ได้มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาเพื่อหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อใช้สำหรับการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลายหลัก ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบการละลายของสารสกัดทองพันชั่งกับตัวทำละลายดังต่อไปนี้ น้ำ, ethylacetate, methanol, dimethyl sulfoxide และ propylene glycol ตามลำดับ

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและการละลายของสารสกัดให้ เตรียมสารตัวอย่างโดยชั่งสารสกัดทองพันชั่งให้ได้น้ำหนัก 100 มิลลิกรัม ละลายลงในตัวทำละลาย ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยวิธี Disc diffusion ตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดทองพันชั่งด้วยวิธี disc diffusion test โดยประยุกต์ใช้วิธีในการตรวจหาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะของ The Clinical and Laboratory Standards Institute[20] โดยใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงไปในสารแขวนลอยเชื้อ *M. furfur* และ *M. globosa* ซึ่งได้ปรับความขุ่นไว้แล้วที่ได้จำนวนเซลล์ที่ 108 cfu/ml ป้ายเชื้อลงบนอาหารแข็ง (Sabouraud dextrose agar: SDA) ที่ผสม 1% olive oil เพื่อใช้เป็นอาหารและเพื่อปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโต ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์จัดเป็นเชื้อราประเภทชอบน้ำมัน (lipophilic fungi)[18,21] จากนั้นใช้ไม้พันสำลีป้ายให้ทั่วในลักษณะ 3 ทิศทาง ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 5 นาที จากนั้นคีบ standard paper disc (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm) วางบนผิวอาหารแล้วจึงปิเปตสารสกัดทองพันชั่งที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 100 mg/ml ปริมาตร 10 µl ลงบน paper disc และใช้สารละลายที่เป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 10 µl เป็นตัวควบคุมลบ แล้วจึงนำเข้าตู้บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ของโซนใสที่เกิดขึ้น โดยที่ paper disc มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบวกลบ

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ 2 ซ้ำ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยใช้วิธี Broth microdilution method สารสกัดทองพันชั่งที่ละลายในตัวทำละลาย propylene glycol: DMSO (1:1) ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านกระดาษกรอง 0.2 ไมโครเมตร เตรียมเชื้อ *M. furfur* และ *M. globosa* โดยกำหนดให้มีความเข้มข้น 106 cfu/ml โดยให้เชื้อกระจายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (Sabouraud dextrose broth: SDB) ผสม 1% olive oil จำนวน 100 µl/well การหาค่า minimum inhibition concentration (MIC) ทำโดยวิธี broth microdilution method (20) โดยกำหนดความเข้มข้นของสารสกัดทองพันชั่งในตัวทำละลายอยู่ในช่วงความเข้มข้น 100 µg/ml - 0.25 mg/ml (เพิ่มความเข้มข้นขึ้นทีละ 2 เท่าโดยเริ่มจาก 100 µg/ml) โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง propylene glycol และ DMSO (1:1) บ่มเชื้อหลังจากเติมสารสกัดเป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°C อ่านผลด้วย microplate reader (DTX880 Multimode detector, Beckman Coulter) โดยวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 620 nm แปลผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยเทียบกับ well ที่ไม่ได้เติมสารสกัด การทดลองนี้ใช้ 1% ketoconazole และ 1% zinc pyrithione เป็น positive control

ผลการศึกษา

ในการสกัดสารจากทองพันชั่งโดยใช้ ethylacetate พบว่าได้สารสกัดเหนียวสีเขียวเข้ม และสารสกัดดังกล่าวไม่ละลายน้ำ แต่ละลายใน DMSO และ methanol ได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ถึงแม้จะมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ DMSO และ methanol ด้วยการเพิ่มน้ำ ความสามารถในการละลายของสารสกัดทองพันชั่งก็ไม่เปลี่ยนแปลง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อมีการเพิ่มเติม propylene glycol ลงในตัวทำละลายต่างๆ พบว่าสามารถทำให้สารสกัดทองพันชั่งละลายได้มากขึ้น โดยพบว่า นอกจาก ethylacetate แล้ว ตัวทำละลายผสมระหว่าง propylene glycol : DMSO (1:1) จะช่วยให้สารสกัดทองพันชั่งละลายได้ดีที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 1 นอกจากความสามารถในการละลายของสารสกัดจะมีความแตกต่างกันเมื่อผสมลงในตัวทำละลายที่แตกต่างกันแล้ว ยังพบว่าสารสกัดทองพันชั่งที่ละลายในตัวทำละลายแตกต่างกันจะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งผลการศึกษาโดยวิธี disc diffusion แสดงให้เห็นว่าสารสกัดทองพันชั่งที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ให้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่แตกต่างกัน โดยพบว่าสารสกัดทองพันชั่งที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายผสมระหว่าง propylene glycol: DMSO สามารถ

ตารางที่ 1 การละลายของสารสกัดทองพันชั่งในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ตัวทำละลาย	การละลายของสารสกัดทองพันชั่ง
น้ำ	-
ethylacetate	+ + + +
dimethyl sulfoxide (DMSO)	+
methanol	+
propylene glycol (PPG)	+ +
50% dimethyl sulfoxide (ในน้ำ)	+
50% methanol (ในน้ำ)	+
50% propylene glycol (ในน้ำ)	-
methanol : DMSO (1:1)	+
PPG : DMSO (1:1)	+ + +
methanol : PPG (1:1)	+ +

หมายเหตุ
- *หมายถึง ไม่ละลาย*
+ *หมายถึง ละลายได้เล็กน้อยแต่มีตะกอนขนาดใหญ่เกาะกลุ่ม*
++ *หมายถึง ละลายบางส่วนและยังคงมีตะกอนเล็กและใหญ่ขนาดต่าง ๆ มองเห็นด้วยตาเปล่า*
+++ *หมายถึง ละลายได้มากแต่ยังคงพบตะกอนเล็กๆมองเห็นด้วยตาเปล่า*
++++ *หมายถึง ละลายได้สมบูรณ์ไม่มีตะกอนเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า*

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยวิธี Disc diffusion (n=3)

สารทดสอบ	ขนาดของโซนใส (mm, SD)	
	M. furfur	*M. globosa*
สารสกัดทองพันชั่งใน ethylacetate	-	-
สารสกัดทองพันชั่งใน DMSO	-	-
สารสกัดทองพันชั่งใน methanol	-	-
สารสกัดทองพันชั่งใน propylene glycol	3, 1.23	5, 0.15
สารสกัดทองพันชั่งใน 50% DMSO	2, 0.54	3, 0.86
สารสกัดทองพันชั่งใน 50% methanol	2, 0.65	3, 0.46
สารสกัดทองพันชั่งใน propylene glycol : methanol (1:1)	2, 0.98	2, 0.44
สารสกัดทองพันชั่งใน methanol : DMSO (1:1)	-	-
สารสกัดทองพันชั่งใน propylene glycol : DMSO (1:1)	11, 2.45	9, 3.24
1% ketoconazole	30, 4.21	32, 6.53
1% zinc pyrithione	14, 4.88	15, 7.56

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่มีผลในการยับยั้งเชื้อรา (MIC_{50}) ของสารตัวอย่าง (n=4)

ตัวอย่าง	MIC_{50} (mg/ml)	
	M. furfur	*M. globosa*
สารสกัดทองพันชั่งในตัวทำละลาย propylene glycol: DMSO (1:1)	25	25
1% ketoconazole	0.002	0.001
1% zinc pyrithione	0.05	0.05

ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด ในขณะที่สารสกัดทองพันชั่งที่ละลายใน ethylacetate ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดเลย ถึงแม้ว่า ethylacetate จะสามารถละลายสารสกัดได้ดีที่สุดก็ตาม แต่อย่างไรก็ตามผลในการยับยั้งเชื้อราของ ketoconazole ก็มีมากที่สุด ตามมาด้วย zinc pyrithione และ สารสกัดทองพันชั่งที่ละลายในตัวทำละลายผสมระหว่าง propylene glycol: DMSO ตามลำดับ

ซึ่งจากผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราพบพบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่มีส่วนผสมของ propylene glycol กับ DMSO ในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งถูกใช้เป็นตัวทำละลายในการคำนวณหา MIC ของสารสกัดทองพันชั่งโดยใช้วิธี broth microdilution method พบว่าสารสกัดทองพันชั่งมีค่า MIC50 เท่ากับ 25 mg/ml ทั้งในการทดสอบในเชื้อ *M. furfur* และ *M. globosa* (ตารางที่ 3)

วิจารณ์

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ เอทิลอะซีเตด (ethylacetate) ในการสกัดสารสำคัญออกจากสมุนไพรทองพันชั่ง ทั้งนี้เนื่องจากมีรายงานพบว่าสามารถสกัดสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้มากที่สุด[11,14] และจากการศึกษาการละลายของสารสกัดทองพันชั่งพบว่าสารสกัดทองพันชั่งละลายได้ดีที่สุดในตัวทำละลาย ethylacetate และไม่ละลายเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย แต่อย่างไรก็ตามในกระบวนการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา สารสกัดจำเป็นจะต้องละลายน้ำให้ได้มากที่สุดทั้งนี้เนื่องจากน้ำจัดเป็นตัวทำละลายหลักใน

กระบวนการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราของสารสกัด DMSO และ methanol จัดเป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติกึ่งมีขั้ว และสามารถละลายได้ทั้งในสารที่ละลายน้ำและสารที่ไม่ละลายน้ำ และในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดทองพันชั่งสามารถถูกละลายได้บางส่วนในตัวทำละลายทั้งสองชนิด แต่ถึงแม้จะมีการปรับความเข้มข้นของสารทั้งสองชนิดด้วยน้ำ (50% methanol และ 50% DMSO) ก็พบว่าความสามารถในการละลายของสารสกัดในตัวทำละลายทั้งสองชนิดก็ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใด โดยทั่วไปแล้ว propylene glycol (PPG) จัดเป็นสารช่วยเพิ่มการละลาย (solubilizer) ทางเภสัชกรรมชนิดหนึ่ง ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทดลอง นำ PPG มาช่วยเพิ่มการละลาย และพบว่าสามารถเพิ่มการละลายของสารสกัดทองพันชั่งในตัวทำละลายต่างๆได้มากขึ้น โดยพบว่าสามารถละลายสารสกัดได้เกือบสมบูรณ์ในตัวทำละลายผสมระหว่าง PPG และ DMSO นอกจากนี้ในการศึกษายังพบว่าความสามารถในการละลายน้ำที่แตกต่างกันนี้ส่งผลให้สารสกัดทองพันชั่งที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายต่าง ๆ ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Malassezia* sp. ได้แตกต่างกัน จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อโดยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดทองพันชั่งที่ละลายอยู่ใน ethylacetate ไม่มีแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราเลยถึงแม้ว่าสารสกัดทองพันชั่งจะสามารถละลายได้อย่างสมบูรณ์ใน ethylacetate ก็ตาม ในขณะที่สารสกัดทองพันชั่งที่ละลายอยู่ใน 50% DMSO และ 50% methanol สามารถยับยั้งเชื้อได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และพบว่าสารสกัดที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายผสมระหว่าง propylene glycol: DMSO ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อมากที่สุด สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำของสารสกัดทองพันชั่งที่มีน้อยส่งให้การแพร่ของสารสำคัญในชั้นอาหารเลี้ยงเชื้อมีได้น้อยเช่นกัน ถึงแม้ว่าสารสกัดจะมาสามารถละลายได้ใน ethylacetate แต่สารสำคัญใน ethylacetate ไม่สามารถแพร่ในชั้นอาหารได้ เนื่องจาก ethylacetate เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งต่างจากสารสกัดที่ละลายในตัวทำละลายผสมซึ่งจะสามารถแพร่ผ่านชั้นอาหารได้ดีกว่าเนื่องจากสารผสมทั้งสามชนิดคือ propylene glycol, methanol และ DMSO เป็นสารที่ละลายน้ำได้และยังสามารถเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของสารสกัดได้อีกด้วย[22-24]

ในการศึกษาหาค่า MIC ตัวทำละลายสารสกัดทองพันชั่งในการศึกษานี้คือ propylene glycol: DMSO เนื่องจากเหตุผลดังกล่าวมาข้างต้น ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดทองพันชั่งสามารถยับยั้งเชื้อราสายพันธุ์ *Malassezia* sp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ในความเข้มข้นที่เท่ากัน (25 mg/ml) ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวจัดได้ว่าน้อยกว่า MIC ของ 1% ketoconazole (0.001-0.002 mg/ml) และ 1% zinc pyrithione (0.05 mg/ml) เป็นอย่างมากทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่แตกต่างกัน หรืออาจเป็นเพราะความสามารถในการละลายน้ำที่น้อยกว่าสารควบคุมทั้งสองชนิดจึงทำให้สารสกัดทองพันชั่งออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ไม่ดีเท่าที่ควรจะเป็น

ข้อยุติ

ในการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดทองพันชั่งสามารถยับยั้งเชื้อ *Malassezia furfur* และ *Malassezia globosa* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 25 mg/ml นอกจากนี้ผลการศึกษายังชี้ให้เห็นว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดทองพันชั่งขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายน้ำ ดังนั้นในการพัฒนายารักษาโรคเชื้อราบนผิวหนังที่ทำมาจากสารสกัดทองพันชั่งสิ่งที่ควรคำนึงถึงระบบที่เอื้ออำนวยให้สารสกัดทองพันชั่งละลายได้มากที่สุดทั้งนี้เพื่อให้ประสิทธิภาพในการรักษาสูงที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ รศ. ดร. เนติ วระนุชหัวหน้าศูนย์วิจัยเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (COSNAT) ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างเชื้อรา Malassezia sp. และ Zinc pyrithione ให้แก่ผู้ทำวิจัย และวิจัยในครั้งนี้ได้รับการ

สนับสนุนงบประมาณจาก วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดพิษณุโลก

เอกสารอ้างอิง

1. มาโนช วามานนท์, เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. ยาสมุนไพรสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข; 2540.
2. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. สารานุกรมสมุนไพรไทย. กรุงเทพมหานคร: โอ เอส พริ้นติ้ง; 2538.
3. Rao V, Naidu D. *Rhinacanthus nasutus*: a Plant with potential activity in radical scavenging capacity. Curr Trends Biotechnol Pharm 2010;4:791-4.
4. Sendl A, Chen JL, Jolad SD, Stoddart C, Rozhon E, Kernan M. Two new naphthoquinones with antiviral activity from *rhinacanthus nasutus*. Am Chem Soc Am Soc Pharmacog 1996;96:1-4.
5. Siripong P, Wongseri V, Piyaviriyakul S, Yahaufai J, Chanpai R, Kanokmedakul K. Antibacterial potential of *rhinacanthus nasutus* against clinically isolated bacteria from Thai cancer patients. Mu J Pharm Sci 2006;33:15-22.
6. Siriwatanametanona N, Fiebichb BL, Efferthd T, Prietoa JM, Heinrich M. Traditionally used Thai medicinal plants: In vitro anti-inflammatory, anticancer and antioxidant activities. J Ethnopharm 2010;130:196-207.
7. Wu TS, Hsu HC, Wu PL, Teng CM, Wu YC. Rhinacanthin-Q, A Naphthoquinone from *Rhinacanthus Nasutus* and its biological activity. Phytochemistry 1998;49:2001-3.
8. งามผ่อง คงคาทิพย์, บุญส่ง คงคาทิพย์, สุวพร เหลืองขมิ้น, คมกริช หาสิตะพันธุ์, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, บรรณาธิการ. การสังเคราะห์และการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบไรนาแคนทิน-คิวที่แยกได้จากทองพันชั่ง. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41; 3-7 กุมภาพันธ์ 2546; มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2546.
9. ผ่องพันธ์ ศิริพงษ์, เพียงใจ คูประดินันท์, สุรัสวดี ปิยะวิริยะกุล, ศิริรัตน์ ตันสกุล, ฤทธิชัย จันทร์ผาย, จันทนา ยะหัวฝาย. ศักยภาพของสมุนไพรทองพันชั่งในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมโดยการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง 7,12 Dimethylbenzaanthracene ในหนูทดลอง. วารสารโรคมะเร็ง 2551;3:131-46.
10. ภาคภูมิ พาณิชยูปการนันท์. การแยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์สารกลุ่มควิโนนที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ จากใบของต้นทองพันชั่ง. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ; 2545.
11. Panichayupakaranant P, Charoonratana T, Sirikatitham A. RP-HPLC analysis of rhinacanthins in *rhinacanthus nasutus*: validation and application for the preparation of rhinacanthin high-yielding extract. J Chromatograp Sci 2009;47:705-8.
12. Akaanitapichat P, Kurokawa M, Tewtrakul S, Pramyothin P, Sripanidkulchai B, Shiraki K, editors. Inhibitory activities of Thai medicinal plants against Herpes simplex type 1, Poliovirus type 1, and measles virus. The Sixth JSPS-NRCT Joint Seminar: Recent advances in natural medicine research; 2-4 December 2003; Chulalongkorn Univesity. Bangkok: Chulapress; 2003.
13. Sasaki K, Abe H, Yoshizaki F. In vitro antifungal activity of naphthoquinone derivatives. Biol Pharm Bull 2002;25:669-70.
14. Panichayupakaranant P, Kongchai N, editors. Antifungal activities of rhinacanthins and *Rhinacanthus nasutus* extract. Proceeding of the Third Indochina Conference on Pharmaceutical Sciences; 20-23 May 2003. Bangkok. Nakhon Pathom: Faculty of Pharmacy, SU; 2003.
15. พรรณกร อิ่มวิทยา. เชื้อราก่อโรคในคน. กรุงเทพมหานคร: สามัคคีสาร (ดอกหญ้า); 2538.
16. Adityak G, Batra R, Bluhm R, Boekhout T, Dawson TL. Skin diseases associated with Malassezia species. J Am Acad Dermatol 2004;51:785-98.
17. Crespo-Erchiga V, Gómez-Moyano E, Crespob M. Pityriasis Versicolor and the yeasts of genus Malassezia. Actas Dermosifiliogr 2008;99:764-71.
18. Ljubojevic S, Skerlev M, Lipozencic J, Basta-Juzbasic A. The role of *Malassezia furfur* in dermatology. Clin Dermatol 2002;20:179-82.
19. Imwidthaya S, Nilvises N, Ditprasop P. Treatment of Pityriasia versicolor and dermatophtosis with medicinal plants namely *Cassia alata* L., *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz, *Brucea amarissima* Desv. Bangkok: Public Health Ministry/World Health Organization; 1987.
20. Institute CaLS. Performance standard for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacterial isolated from animal. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
21. Ro BI, Dawson TL. The role of sebaceous gland activity and scalp microfioral metabolism in the etiology of seborrheic dermatitis and dandruff. J Invest Derm Symp P 2005;10:194-7.
22. Smith P, O'Meara E, NcNulty D. Influence of disc content on zone sizes obtained in standard disc diffusion antimicrobial susceptibility tests. Aquaculture 2006;261:799-803.

23. Bonev B, Hooper J, Parisot Jl. Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. J Antimicrob Chemoth 2008; 61:1295-301.
24. Gaudreau C, Girouard Y, Gilbert H, Gagnon Je, Bekal S. Comparison of disk diffusion and agar dilution methods for erythromycin, ciprofloxacin, and tetracycline susceptibility testing of campylobacter coli and for tetracycline susceptibility testing of campylobacter jejuni subsp. jejuni. Antimicrob Agents Chemother 2008;52:4475-7.

Abstract **Antifungal Activity of *Rhinacantus Nasutus* Extract against *Malassezia sp*.**

Wudtichai Wisuitiprot

Department of Thai Traditional, Sirindhon Public Health College, Pitsanulok

Journal of Health Science **2012; 21:521-8.**

Rhinacantus nasutus is the potential medicinal plant indicated in traditional Thai medicine book for effectively treating tinea and ring worm. Several previous reports reveal that *Rhinacantus nasutus* extract inhibit the growth of fungus causing ring worm disease. However, the effectiveness of this extract on fungus causing tinea has not been identified. This study was to evaluate the efficacy of *R. nasutus* extract for inhibiting the growth of tinea fungus particularly *Malassezia furfur* and *Malassezia globosa*. The antifungal activity of *R. nasutus* extract was measured by using disc diffusion and broth microdilution methods. The result indicated that *R. nasutus* extract presented remarkably antifungal effect on *Malassezia sp*. The MIC50 of *R. nasutus* extract for *Malassezia furfur* and *Malassezia globosa* were 25 mg/ml. The study also revealed that the antifungal activity of *R. nasutus* extract depended upon its water solubility. Therefore, the result suggests that *Rhinacantus nasutus* is a promising alternative treatment for skin disease induced by fungal infection.

Key words: ***Rhinacanthus nasutus*,** Tinea**, *Malassezia sp.*, Rhinacanthin**