The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences

Volume 15
Issue 4 *1990*

Article 5

1-1-1990

Activity of Betel Leaf Ointment on Skin Diseases(ฤทธิ์ของขี้ผึ้งพลูต่อโรคผิวหนัง)

ลัดดาวัลย์ บุญวัตนกรกิจ

สารี วิรุฬหผล

ประนอม โพธิยานนท์

วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม

นภดล นพคุณ

See next page for additional authors

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/tjps

Part of the Pharmacology Commons

Recommended Citation

บุญวัตนกรกิจ, ลัดดาวัลย์; วิรุฬหผล, สารี; โพธิยานนท์, ประนอม; อิ่มอุดม, วิไลลักษณ์; นพคุณ, นภดล; มันทรานนท์, อิงอร; สิงหเสนี, พาลาภ; เก็งทอง, สุรพงท์; ลออปักษา, อารีวัตน์; and เมฆธน, โสภณ (1990) "Activity of Betel Leaf Ointment on Skin Diseases(ฤทธิ์ของขี้ผึ้งพลูต่อโรคผิวหนัง)," *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*: Vol. 15: Iss. 4, Article 5.
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/tjps/vol15/iss4/5

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

Activity of Betel Leaf Ointment on Skin Diseases(ฤทธิ์ของขี้ผึ้งพลูต่อโรคผิวหนัง)

Authors

สัตตาวัลย์ บุญวัตนกรกิจ, สารี วิรุฬหผล, ประนอม โพธิยานนท์, วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม, นภดล นพคุณ, อิงอร มันทรานนท์, พาลาภ สิงหเสนี, สุรพงท์ เก็งทอง, อารีวัตน์ ลออปักษา, and โสภณ เมฆธน

This article is available in The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences: https://digital.car.chula.ac.th/tjps/vol15/iss4/5

650ง7ล ผิวหนัง, โรค
650ง7ล พล(ฟัน)

ปฐมนิพนธ์

ORIGINAL ARTICLE

63006815

ฤทธิ์ของขี้ผึ้งพลูต่อโรคผิวหนัง

*รศ. ลัดดาวัลย์ บุญรัตนกรกิจ ภม.**
*รศ. ประนอม โพธิยานนท์ ภม.****
*ผศ. นพ. นภดล นพคุณ พบ. *****
*รศ. พาลาภ สิงหเสนี Ph.D.******
*ผศ. อารีรัตน์ ลออปักษา ภม.***
*รศ. สารี วิรุฬหผล ภม.***
*รศ. วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม Ph.D.*******
*ผศ. อิงอร มันทรานนท์ ภม.**
*ผศ. สุรพงษ์ เก็งทอง ภม.**
*นพ. โสภณ เมฆธน พบ.******

บทคัดย่อ

ขี้ผึ้งพลู 4% ซึ่งทำจากสารสกัดใบพูลด้วยอีเธอร์ใน modified polyethylene glycol ointment มีประสิทธิภาพดีมากในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ 7 ชนิด ที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังซึ่งเป็นเชื้อราประเภท dermatophytes 5 ชนิด คือ *Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Epidermophyton floccosum, Microsporum gypseum* และ *Candida albicans* เชื้อราเหล่านี้เป็นสาเหตุของโรคกลากที่เป็นตามผิวหนัง ผม หนังศีรษะ และเล็บ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* และ β - hemolytic streptococcus Group A ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง พวกแผลอักเสบเป็นหนอง ฝี และสิว ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 7 ชนิดของขี้ผึ้งพลูในห้องปฏิบัติการเมื่อเทียบกับยาต้านเชื้อราที่ขายกันอย่างแพร่หลายในท้องตลาด 4 ชนิด ปรากฏว่าขี้ผึ้งพลูมีประสิทธิภาพดีกว่ามาก

* ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
*** ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
**** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
***** หน่วยโรคผิวหนัง ภาควิชาอายุรกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ผลการทดสอบความเป็นพิษของขี้ผึ้งพลูต่อผิวหนังหนูตะเภา ไม่พบผื่นแดงหรืออาการระคายเคืองใด ๆ ทั้งก่อนฉายแสงและหลังฉายแสงอุลตราไวโอเลต ผลการทดลองทางคลินิกซึ่งให้คนไข้โรคกลาก 15 ราย ทายาขี้ผึ้งพลูวันละ 2 ครั้งทุกวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และต้องกลับมาพบแพทย์เพื่อตรวจเพาะเชื้อในปลายสัปดาห์ 1, 2, 3, 4 และ 6 ผลปรากฏดังนี้ : **รักษาหาย** (ผื่นหาย ตรวจไม่พบเชื้อรา) 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 40 **ดีขึ้น** (ยังมีผื่นแต่ตรวจไม่พบเชื้อรา) 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 26 **ไม่หาย** (ยังมีผื่น และตรวจพบเชื้อรา) 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 34 แสดงว่าขี้ผึ้งพลูมีประสิทธิภาพในการรักษาทางคลินิกประมาณร้อยละ 66 (รักษาหายร้อยละ 40 (และดีขึ้นร้อยละ 26)) (ไทยเภสัชสาร ปีที่ 15(4) : หน้า 277-288 (2533))

บทนำ

โรคผิวหนังเป็นโรคที่พบมากในประเทศไทย โดยเฉพาะโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อรา มักมีการแพร่กระจายมากในบริเวณที่เป็นสลัมหรือบริเวณที่ขาดแคลนน้ำ แม้ว่าจะไม่เป็นโรคที่ร้ายแรงแต่ก็สามารถติดต่อกันได้ง่ายและจัดเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญอย่างหนึ่ง ปัจจุบันมียารักษาเชื้อรามากมาย ทั้งยาทาเฉพาะที่และยารับประทาน สำหรับยาทานั้นได้แก่ยาละลายขุยและยายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งส่วนใหญ่มีราคาแพงและการรักษาเชื้อราต้องใช้เวลาอย่างน้อย 4 สัปดาห์ เพราะฉะนั้นจึงเป็นการสิ้นเปลืองมาก ผู้มีรายได้น้อยจึงมักไม่รักษาปล่อยให้เป็นไปเรื่อย ๆ ทำให้มีการแพร่กระจายโรคกว้างขวางมากขึ้นจนเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่ สำคัญ ถ้าสามารถผลิตยารักษาโรคผิวหนังจากสมุนไพร ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีราคาถูกและปลอดภัยขึ้นใช้ได้เองก็จะเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล ประชาชนผู้มีรายได้ต่ำก็สามารถซื้อหามาใช้ได้เป็นการช่วยให้ประชาชนมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น และเป็นการลดการขาดดุลย์การค้ากับต่างประเทศด้วย

จากรายงานผลโครงการวิจัยสมุนไพรพลูตอนที่ 1 เรื่องฤทธิ์ของสมุนไพรพลูต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง พบว่าขี้ผึ้งพลูที่ทำจากสารสกัดใบพลูด้วยอีเธอร์ 2% ใน polyethylene glycol มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ที่นำมาทดสอบได้ถึง 5 ชนิด เป็นเชื้อราพวก dermatophytes ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคกลากที่เป็นตามผิวหนัง ผม ศีรษะ และ เล็บ ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงมาก ถึง 3 ชนิด คือ *Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum,* และ *Epidermophyton floccosum* และเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง แผลอักเสบ แผลที่เป็นหนอง ฝี และ สิว คือ *Staphylococcus aureus* และ β - hemolytic streptococcus Group A (1) สำหรับงานวิจัยฉบับนี้เป็นการปรับปรุงคุณภาพของขี้ผึ้งพลูทั้งด้านความเข้มข้นของตัวยาและให้เนื้อขี้ผึ้งน่าใช้ขึ้นและศึกษาประสิทธิภาพทางการรักษาของขี้ผึ้งพลูทางคลินิก โดยทดลองกับคนไข้ที่เป็นโรคกลาก

วิธีดำเนินการวิจัยและผลการวิจัย

แบ่งออกเป็น 5 ขั้นตอน

1. การสกัดสารสำคัญที่ออกฤทธิ์จากใบพลู
2. การทำขี้ผึ้งพลู
3. การทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เปรียบเทียบกับยาต้านเชื้อราที่ขายกันอย่างแพร่หลายในท้องตลาด
4. การทดสอบความเป็นพิษ
5. การทดสอบทางคลินิก

1. การสกัดสารสำคัญที่ออกฤทธิ์จากใบพลู

นำใบพลูมาผึ่งในที่ร่มหรืออบที่อุณหภูมิต่ำ ๆ (50° ซ) แห้งแล้วบดให้เป็นผงจากนั้นสกัดแยกสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ด้วยเครื่องมือที่เรียก “Soxhlet Apparatus” ซึ่งตัวทำละลายจะวนเวียนกลับมาสกัดใหม่ได้ตลอดเวลา ทำให้ไม่เปลืองตัวทำละลาย ใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ petroleum ether สกัดสารที่ไม่พึงประสงค์ออกไปก่อนเป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นนำกากที่เหลือมาสกัดด้วย ether ต่ออีกเป็นเวลา 20 ชั่วโมงนำสารสกัดด้วย ether นี้ไประเหยตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ ๆ และภายใต้สุญญากาศ

2. การทำขี้ผึ้งพลู

จากผลงานโครงการวิจัยสมุนไพรพลู ตอนที่ 1 เรื่อง "ฤทธิ์ของสมุนไพรพลูต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง" (1) พบว่าขี้ผึ้งพลู 2% ใน polyethylene glycol ointment (PEG) นั้นดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับอื่น ๆ ที่ทำขึ้น 4 ตำรับ แต่เมื่อนำไปทดลองรักษาคนไข้โรคกลาก ผลปรากฏว่าประสิทธิภาพในการรักษายังไม่ดีพอ และเนื้อขี้ผึ้งค่อนข้างแข็ง เมื่อทาจะเหนียวเหนอะหนะ จึงได้ทำการปรับปรุงตำรับขึ้นใหม่โดยเพิ่มความแรงเป็น 4% สารสกัดใบพลูใน modified polyethylene glycol ointment เพื่อให้เนื้อขี้ผึ้งอ่อนตัวลงจะได้ลดความเหนอะหนะ

สูตรตำรับ Modified Polyethylene Glycol Ointment ประกอบด้วย

Polyethylene glycol 4000	22.5	กรัม
Polyethylene glycol 400	77.5	กรัม
To make	100.0	กรัม

การทดสอบความคงตัวของขี้ผึ้งพลู 4% มี 2 วิธี

1. ทดสอบความคงตัวแบบเร่งรัด (stress condition) โดยวิธี Freeze and Thaw (2) คือการเก็บขี้ผึ้งพลูที่อุณหภูมิ 55° ซ 1 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 15° ซ 1 ชั่วโมง สลับกัน อุณหภูมิละ 3 ครั้ง
2. ทดสอบความคงตัวโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

3. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เปรียบเทียบกับยาต้านเชื้อราที่ขายกันอย่างแพร่หลายในท้องตลาด

ทำโดยวิธี Agar Diffusion Test (3)

3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

เชื้อรา	*Trichophyton rubrum* *
	Trichophyton mentagrophytes *
	Epidermophyton floccosum *
	Microsporum gypseum *
เชื้อยีสต์	*Candida albicans* ATCC 10231
เชื้อแบคทีเรีย	*Staphylococcus aureus* ATCC 25922
	ß - hemolytic streptococcus Group A *

3.2 วิธีเตรียมเชื้อ

เตรียมสปอร์ของเชื้อราโดยการเพาะเลี้ยงบน Sabouraud's Dextrose Agar slant ที่อุณหภูมิห้องนาน 5-10 วัน หรือจนกว่าจะมีสปอร์เกิดขึ้น สำหรับเชื้อยีสต์เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกันกับ

---

* เชื้อได้จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

เชื้อรา แต่ใช้เวลาเพียง 24-48 ชั่วโมง *S. aureus* เพาะเลี้ยงบน Tryptic Soy Agar slant ที่อุณหภูมิ 37° ซ นาน 24 ชั่งโมง ß - hemolytic streptococcus Group A เพาะเลี้ยงบน Blood Agar slant ที่อุณหภูมิ 37° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เมื่อจะนำมาทดสอบ ใช้น้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ ความแรง 0.9% จำนวน 5 มล. ล้างเชื้อออกจาก slant สำหรับเชื้อรานำมากรองผ่านสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อแยกเอาเส้นใยออก นำ suspension ของสปอร์ที่กรองได้และเชื้อยีสต์ ไปปรับให้มีจำนวนประมาณ 10^7 สปอร์ หรือ เซลล์/มล. ส่วนเชื้อแบคทีเรียปรับให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 Mc Farland standard (1 Mc Farland turbidity standard เท่ากับ $3x10^8$ เซลล์/มล.)

3.3 วิธีเตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดสอบ

3.3.1 เชื้อราและยีสต์

1. ใช้ปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sabouraud's Dextrose Agar) ที่หลอมเหลวแล้ว จำนวน 25 มล. ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 150 มม. ตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

2. ดูด suspension ของเชื้อราและยีสต์ (10^7 สปอร์หรือ เซลล์/มล.) จำนวน 1.0 มล. ใส่ลงใน Sabouraud's Dextrose Agar ที่หลอมเหลวและทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิ 45° - 50° ซ จำนวน 99.0 มล. ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อจุลินทรีย์ให้เข้ากัน

3. ใช้ปิเปตดูดเชื้อจากข้อ 2 จำนวน 10 มล. เททับให้ทั่วพื้นหน้าของอาหารในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

3.3.2 เชื้อแบคทีเรีย

1. ใช้ปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ (Tryptic Soy Agar สำหรับ *Staphylococcus aureus* และ Blood Agar สำหรับ ß - hemolytic streptococcus Group A) จำนวน 60 มล. ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 150 มม. เพื่อให้มีความหนา 4 มม. ตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

2. ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ (swab) จุ่มลงใน suspension ของเชื้อที่เตรียมไว้ (0.5 Mc Farland standard) และนำมากดกับข้างหลอดแก้ว เพื่อไม่ให้มีปริมาณของเชื้อมากเกินไป นำไปป้ายให้ทั่วพื้นหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งให้หมุนจานอาหารเลี้ยงเชื้อไป 60 องศา

3.4 วิธีทดสอบ

บรรจุขี้ผึ้งพลู (ความแรง 4%) ลงใน cups ที่ปราศจากเชื้อสูง 10 มม. และมีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 6 มม. นำไปวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ตามข้อ 3.3 ใช้ 3 cup ต่อเชื้อจุลินทรีย์ 1 ชนิด

บ่มเชื้อราและยีสต์ไว้ที่อุณหภูมิห้อง อ่านผลภายหลัง 3 - 5 วันสำหรับเชื้อรา และภายหลัง 24 - 48 ชั่วโมงสำหรับเชื้อยีสต์ แต่สำหรับเชื้อแบคทีเรียนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37° ซ อ่านผลภายหลัง 24 ชั่วโมง

ทำการทดสอบเช่นเดียวกันนี้กับยาต้านเชื้อรา 4 ชนิดที่มีขายแพร่หลายในท้องตลาด ได้แก่

1. Tolnaftate Cream (1%)
2. Isoconazole nitrate Cream (1%)
3. Oxiconazole nitrate Cream (1%)
4. Miconazole nitrate Cream (2%)

กลุ่มควบคุม มี 2 กลุ่มคือ

1. growth control เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อของเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรียเช่นเดียวกับที่ใช้ในการทดสอบ แต่ไม่วาง cup ที่บรรจุขี้ผึ้งพลู เชื้อจุลินทรีย์จะต้องมีการเจริญภายหลังจากที่บ่มเชื้อไว้

2. ointment base control เตรียมจากการนำ cup ที่บรรจุ ointment base ซึ่งไม่มีสารสกัดจากพลู วางลงบน จานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม สำหรับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

การอ่านผล

วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ โซนใส รอบ ๆ cups รวมเส้นผ่าศูนย์กลางของ cups รายงานค่าเฉลี่ยเป็นมิลลิเมตร โดยเปรียบเทียบกับ ointment base control

4. การทดสอบความเป็นพิษ

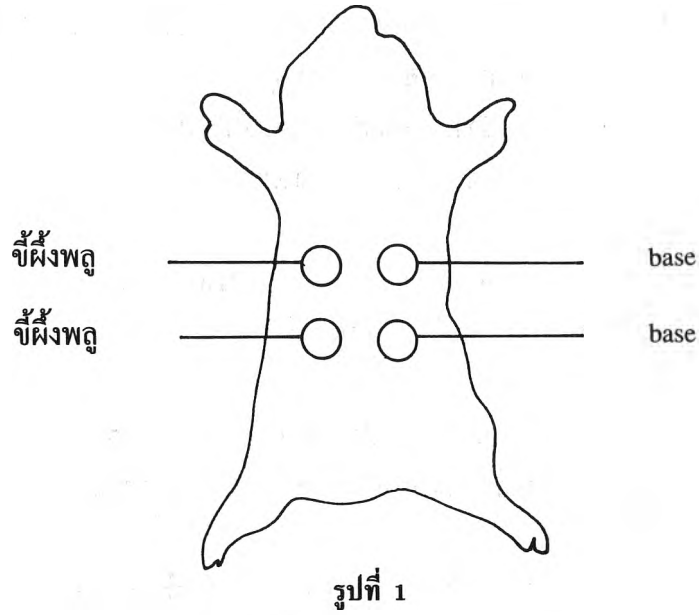
พิษเมื่อฉายแสง (Phototoxicity) ของขี้ผึ้งพลู เมื่อทดสอบในหนูตะเภา

4.1 วิธีการและอุปกรณ์

สัตว์ทดลอง : หนูตะเภาเพศผู้ 10 ตัว เพศเมีย 10 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 380.6 กรัม

ตัวยา : ขี้ผึ้งพลู 4% ใน base คือ Modified Polyethylene Glycol

นำหนูตะเภามาโกนขนโดยใช้กรรไกรตัดผมไฟฟ้า ให้บริเวณกว้างเพียงพอ (กว้าง x ยาว ประมาณ 7 x 7 ซม.) ทิ้งระยะเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง ก่อนทายา (5) แบ่งบริเวณแผ่นหลังสำหรับทายาเป็น 4 จุด (4) ด้านซ้าย 2 จุด ด้านขวา 2 จุด (หนูตะเภาแต่ละตัวให้ทาขี้ผึ้งพลู และทา base เพื่อใช้เป็นจุดเปรียบเทียบ) แต่ละจุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 ซม. ระยะห่างระหว่างจุดประมาณ 0.5 ซม.
(รูปที่ 1)



รูปที่ 1

ผู้วิจัย 1 ท่านเป็นผู้ให้ code ของขี้ผึ้งพลูและ base และผู้วิจัยอีก 1 ท่านเป็นผู้อ่านผลการทดลอง ทายาซ้ำทุก 24 ชั่วโมงโดยใช้ stainless spatula และสังเกตผลเป็นระยะเวลา 6 วัน ในวันที่ 6 หลังจากทายาแล้วนำสัตว์ทดลองมาใส่กล่องสี่เหลี่ยมซึ่งเจาะช่องให้แสงอุลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 366 nm ผ่านเป็นเวลานาน 3 ชั่วโมงแล้วสังเกตผลทันทีที่นำสัตว์ทดลองออกจากกล่อง และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงหลังจากนั้น (5)

4.2 การวัดผลการทดลอง

เกณฑ์การสังเกตผล (4) ทำได้โดยพิจารณาลักษณะอาการของผิวหนังที่เปลี่ยนแปลงได้แก่ อาการบวมแดง อักเสบ ของแผล อาศัยเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

เกณฑ์การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง

ให้คะแนน 0 เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

1 เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย

2 เมื่อบริเวณที่มีสีแดงมีขอบเขตแน่ชัด

3 เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นปานกลางจนถึงรุนแรง

4 เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นรุนแรง

เกณฑ์การเกิดอาการบวม อักเสบ

ให้คะแนน 0 เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

1 เมื่อการบวมแดงเกิดขึ้นน้อยมาก

2 เมื่อมีการบวมแดงเกิดขึ้นเล็กน้อย

3 เมื่อมีการบวมแดงขั้นปานกลาง (บวมสูงขึ้นประมาณ 1 มม.)

4 เมื่อมีการบวมแดงขั้นรุนแรง

5. การทดสอบทางคลินิก

5.1 การเลือกผู้ป่วย

ใช้ผู้ป่วยที่เป็นโรคราที่ผิวหนัง ที่เกิดจากเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes จำนวน 15 ราย ผู้ป่วยที่รับเข้าศึกษาต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

5.1.1 เลือกเฉพาะผู้ที่เป็นโรคกลากตามลำตัว แขน ขา หรือขาหนีบเท่านั้น โดยไม่รวมผู้ป่วยที่เป็นเชื้อราที่ศีรษะ เล็บ มือ และเท้า

5.1.2 ต้องพบสายราจากผื่นโดยการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

5.1.3 ไม่ได้รับยาต้านเชื้อราทั้งยาทาและยากินมาก่อนอย่างน้อย 2 สัปดาห์

5.2 วิธีศึกษา

5.2.1 การตรวจครั้งแรก

1. การตรวจบันทึกลักษณะ และตำแหน่งของผื่นให้คะแนนความรุนแรงของโรค (0 = ไม่มีผื่น, 1 = มีผื่นปานกลาง, 2 = มีผื่นรุนแรง) โดยดูจากลักษณะทางคลีนิก และอาการดังต่อไปนี้

1. Desquamation
2. Exudation or incrustation
3. Vesiculation or pustules
4. Fissures
5. Maceration
6. Erythema
7. Inflammation
8. Subject complaint

2. ตรวจหาสายราด้วยกล้องจุลทรรศน์

3. ขูดสะเก็ดจากผื่นเพื่อเพาะเชื้อในวุ้นเพาะเชื้อชนิด Mycosel อ่านผลการเพาะเชื้อทุกสัปดาห์จนกว่าเชื้อราจะขึ้น ถ้าเชื้อราไม่ขึ้นภายใน 4 สัปดาห์ แสดงว่าการตรวจนั้นปราศจากเชื้อ

5.2.2 การให้ยา

ให้เริ่มใช้ยาซึ่งเป็นขี้ผึ้งพลู ทาบริเวณที่เป็นโรคบาง ๆ วันละ 2 ครั้ง นาน 4 สัปดาห์ ให้ผู้ป่วยสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดขึ้นรวมทั้งผลข้างเคียงต่าง ๆ

5.2.3 การติดตามผล

ให้ผู้ป่วยกลับมาพบแพทย์ทุกสัปดาห์ที่ 1,2,3,4, และที่ 6 ติดต่อกัน เพื่อประเมินผลการรักษาโดยทำเช่นเดียวกันกับข้อ 5.2.1 ทุกประการ

5.2.4 การประเมินผลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

จะทำหลังจากสัปดาห์ที่ 6 และเมื่อได้ผลการเพาะเชื้อราครั้งสุดท้ายแล้ว โดยมีหลักเกณฑ์ในการประเมินดังนี้

1. รักษาหาย (Cure) เมื่อพบว่าผื่นหายไปหมด, ตรวจไม่พบสายราและเพาะเชื้อไม่ขึ้น
2. ดีขึ้น (Improve) ผื่นลดน้อยลง แต่ยังมีรอยโรค เช่น สะเก็ด รอยแดง คัน ฯลฯ, ตรวจไม่พบสายราและเพาะเชื้อไม่ขึ้น
3. ไม่หายผื่นไม่ลดน้อยลง หลังจากรักษามาครบ 4 สัปดาห์ ยังตรวจพบสายราหรือเพาะเชื้อขึ้น

5.2.5 ประเมินผลข้างเคียงที่อาจจะมี เช่น คัน ผื่นแพ้ หรือระคายเคือง

5.3 ผลการศึกษา

5.3.1 ลักษณะทางคลินิก

ผู้ป่วยด้วยโรคเชื้อราผิวหนัง ที่เข้ารับการทดลองใช้ยาขี้ผึ้งพลูจำนวน 15 คน เป็นชาย 9 คน หญิง 6 คน อายุอยู่ระหว่าง 17-43 ปี ระยะเวลาที่เป็นโรคราที่ผิวหนังตั้งแต่ 1 สัปดาห์ จนถึง 1 ปี มีอยู่ 8 ราย ที่เคยรักษามาก่อน ในกลุ่มนี้ 2 รายได้รับการรักษาที่คลินิคเอกชนได้ยาทาไม่ทราบชื่อ ดีขึ้นแล้วกลับมาเป็นอีกอีก 6 ราย ซื้อยาทาเองตั้งแต่ขี้ผึ้งซีม่า สกินเดียว ผงกำมะถัน ยาสเตียรอยด์ กระเทียม ชาจีน และยาที่ไม่ทราบชื่ออื่น ๆ อีก

ตำแหน่งที่เป็น เป็นที่ลำตัว (Tinea corporis) 9 ราย, เป็นที่ขาหนีบ (Tinea cruris) 4 ราย เป็นทั้งสองแห่งร่วมกัน 2 ราย

5.3.2 ชนิดของเชื้อราที่ตรวจพบก่อนให้ยา

ผลการเพาะเชื้อพบ *Tricophyton rubrum* ในผู้ป่วย 11 ราย (ที่ลำตัวแขนขา 5 ราย, ที่ขาหนีบ 4 ราย และพบทั้งสองแห่ง 2 ราย), พบ *Trichophyton mentagrophytes* 2 ราย (ที่ลำตัวทั้งสองราย), พบ *Microsporum gypseum* 1 ราย (ที่บริเวณขา) และ *Epidermophyton floccosum* 1 ราย (ที่บริเวณเอว)

ผลการทดลอง

1. การสกัดสารสำคัญที่ออกฤทธิ์จากใบพลู

ผงใบพลูแห้ง 4,876 กรัมได้สารสกัดรวม 437 กรัมคิดเป็นร้อยละ 8.96

2. การทำขี้ผึ้งพลู

ขี้ผึ้งพลู 4% ใน modified polyethylene glycol ointment มีความคงตัวดีเมื่อผ่านขั้นตอนการทดสอบความคงตัวทั้ง 2 วิธีแล้ว พบว่าลักษณะเนื้อขี้ผึ้งยังมีความนุ่มเนียนดี

3. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ขี้ผึ้งพลู 4% มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 7 ชนิดได้มากกว่ายาต้านเชื้อราที่ขายกันอย่างแพร่หลายในท้องตลาดทั้ง 4 ชนิด ที่นำมาเปรียบเทียบ แม้ base ที่ใช้ทำขี้ผึ้งพลูจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้บ้างแต่น้อยมาก เมื่อเทียบกับขี้ผึ้งพลู (ตารางที่ 1)

4. การทดสอบความเป็นพิษ

จากการทดลองโดยทา base (modified polyethylene glycol) อย่างเดียวและสังเกตผลภายหลังทาทุกวันเป็นเวลา 6 วัน ไม่พบอาการผื่นแดงหรือบวมอักเสบใด ๆ ทั้งสิ้นทั้งก่อนและหลังฉายแสง

สำหรับการทดลองทาขี้ผึ้งพลู 4% ใน modified polyethylene glycol ointment ทุกวันเป็นเวลา 6 วัน ไม่พบอาการอักเสบ หรือผื่นแดงใด ๆ ทั้งก่อนและหลังฉายแสงตามระยะเวลาที่กำหนด

5. การทดสอบทางคลินิก

คนไข้โรคกลาก 15 ราย

รักษาหาย	6	ราย คิดเป็นร้อยละ	40
ดีขึ้น	4	ราย คิดเป็นร้อยละ	26
ไม่หาย	5	ราย คิดเป็นร้อยละ	33

ผลข้างเคียง ร้อยละ 70 พบว่ายามีกลิ่นพลูมากเกินไป ทำให้ไม่น่าใช้ ร้อยละ 10 (2 ราย) มีอาการคันและมีผื่นเห่อขึ้นตรงบริเวณที่ทายา อาการปรากฏหลังจากทายาไป 4 สัปดาห์ เมื่อหยุดยาอาการดีขึ้น

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

ขี้ผึ้งพลู 4% ซึ่งทำจากสารสกัดใบพลูด้วยอีเธอร์ใน modified polyethylene glycol ointment มีประสิทธิภาพดีมากในห้องทดลอง ในการยังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนัง ในกลุ่ม dermatophytes 5 ชนิด คือ *Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Epidermophyton floccosum, Microsporum gypseum* และ *Candida albicans* ซึ่งเชื้อราเหล่านี้เป็นสาเหตุของโรคกลากที่เป็นตามผิวหนัง ผม หนังศีรษะ และ เล็บ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* และ β - hemolytic streptococcus Group A ซึ่งเป็นสาเหตุ ของโรคติดเชื้อที่ผิวหนังประเภท แผลอักเสบ เป็นหนอง ฝีและ สิว ประสิทธิภาพของขี้ผึ้งพลูในห้องทดลองในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด เมื่อเทียบกับยาต้านเชื้อราที่ขายกันอย่างแพร่หลายในท้องตลาด 4 ชนิด ปรากฏว่าขี้ผึ้งพลูมีประสิทธิภาพดีกว่ามาก

เมื่อนำขี้ผึ้งพลูไปทดสอบความเป็นพิษ กับผิวหนังหนูตะเภาแล้วไม่พบผื่นแดงหรืออาการระคายเคืองใด ๆ ทั้งก่อนฉายแสงและหลังฉายแสงอุลตราไวโอเลต

ผลการทดลองทางคลินิกโดยให้คนไข้โรคกลาก 15 ราย พบว่า รักษาหาย 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 40 ดีขึ้น 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 26 ไม่หาย 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 33

แสดงว่าขี้ผึ้งพลูมีประสิทธิภาพในการรักษาทางคลินิกประมาณร้อยละ 66 (รักษาหายร้อยละ 40 ดีขึ้นร้อยละ 26) และมีประสิทธิภาพในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ถึงร้อยละ 66 เช่นกัน

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของขี้ผึ้งพลู 4% เปรียบเทียบกับ ointment base และยาต้านเชื้อราอื่น ๆ 4 ชนิด

เชื้อจุลินทรีย์ / ยา	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ โซนใส (มิลลิเมตร)						
	T. rubrum	*T. mentagrophytes*	*E. floccosum*	*M. gypseum*	*C. albicans*	*S. aureus*	β – hemolytic-streptococcus Group A
ขี้ผึ้งพลู 4%	58	55	80	58	49	21	30
ointment base (Modified Polyethylene Glycol)	14	14	14	14	16	16	24
ยาต้านเชื้อราอื่นที่จำหน่ายแพร่หลายในท้องตลาด							
1. tolnaftate 1 %	26	21	15	18	0	0	0
2. isoconazole nitrrate 1 %	37	30	51	25	28	22	10
3. oxiconazole nitrate 1 %	30	16	47	20	21	14	0
4. miconazole nitrate 2 %	32	27	46	27	27	18	10

การใช้สารสกัดรวมคือสารสกัดใบพลูด้วยอีเธอร์ ซึ่งประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดอาจทำให้เกิดความยุ่งยากในการควบคุมคุณภาพ แต่การที่ไม่แยกสกัดสารบริสุทธิ์ออกมาทำเป็นยาตำรับ เพราะการแยกสารบริสุทธิ์นั้นยุ่งยาก ต้องใช้เวลาและงบประมาณมาก ซึ่งจะทำให้ต้นทุนการผลิตสูง ไม่เหมาะที่จะทำเป็นอุตสาหกรรม เหตุผลสนับสนุนอีกประการหนึ่งคือประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ของสารสกัดใบพลูด้วยอีเธอร์สูงมาก ซึ่งน่าจะเนื่องมาจากสารที่ออกฤทธิ์ยังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด เสริมกัน ซึ่งคงจะต้องทำการวิจัยต่อไป และจากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดในพลูด้วยอีเธอร์ ปรากฏว่าไม่ทำให้เกิดผื่นแดง หรืออาการระคายเคืองใด ๆ จึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องสกัดแยกสารอื่นออกไปซึ่งจะเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และยุ่งยากในการสกัดแยก

ส่วนผลงานวิจัยทางด้านความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในห้องทดลองนั้นได้ผลดีมาก ดีกว่ายาที่ขายกันอย่างแพร่หลายในท้องตลาดทั้ง 4 ชนิด ที่นำมาเปรียบเทียบ ซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง แม้ความแรงของขี้ผึ้งพลู (4%) จะสูงกว่าความแรงของยาอื่น ก็เพราะใช้สารสกัดรวม ไม่ได้ใช้สารบริสุทธิ์ การรักษาทางคลินิกให้ผลดีพอสมควรแต่ควรจะให้ผลดีกว่านี้เมื่อเทียบกับผลทางห้องทดลอง คาดว่าอาจจะเป็นเพราะเนื้อขี้ผึ้งที่ใช้เป็น base ของขี้ผึ้งพลู ยังไม่เหมาะสม ทำให้การดูดซึมตัวยาเข้าผิวหนังไม่ได้เต็มที่ควรที่จะต้องมีการศึกษาวิจัยเพื่อปรับปรุงตำรับยาให้มีคุณภาพดียิ่งขึ้น และต้องทำการศึกษาในผู้ป่วยจำนวนมากขึ้นด้วย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยสมุนไพรเรื่อง "ฤทธิ์ของขี้ผึ้งพลูต่อโรคผิวหนัง" ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะผู้วิจัยขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

1. ลัดดาวัลย์ บุญรัตนกรกิจ และ คณะ (2533) *ฤทธิ์ของสมุนไพรพลูต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง ไทยเภสัชสาร* ปีที่ 15 ฉบับที่ 4 หน้า .....
2. Lachman, L., Liebermann, H.A. and Kanig, J.L. (1970) Emulsion *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy,* 2 nd ed ., p 210, Lea & Febiger, Philadelphia.
3. Lorian, V., (1980) *Antibiotics in Laboratory Medicine,* p. 24 - 33, 170 - 178 Williams and Wilkins Baltimore, London.
4. Draize, J.H., Woodard, G. and Calverly, H.O. (1944) Methods for the study of lrritation and Toxicity of Substances Applied Topically to the Skin and Mucous Membranes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics,* 82, 377 - 391.
5. Division of Toxicology, Department of Medical Sciences, Bangkok, *Thailand, Photo-toxicity (Johnson's Method)* Personal Communication.

Activity of Betel Leaf Ointment on Skin Diseases

Laddawan Boonyaratanakornkit M.Sc. (Pharm.)*
Pranom Pothiyanont M.Sc. (Pharm.) ***
Nopadon Noppakun M.D. *****
Palarp Sinhaseni Ph. D. ****
Areerat Laorpaksa M. Sc. (Pharm.)**
Saree Virunhaphol M.Sc. (Pharm.) **
Vilailag Im-udom Ph.D. ****
Ing-on Mondranont M.Sc. (Pharm.) *
Surapong Kengtong M.Sc. (Pharm.) *
Sopon Mekthong M.D. *****

ABSTRACT

4% Betel Leaf Ointment, prepared from ether extract of *Piper betle* leaves in modified polyethylene glycol ointment base, is found to be very effective in inhibiting the growth of seven microorganisms that can cause skin diseases in man. Five of them are dermatophytes : *Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Epidermophyton floccosum, Microsporum gypseum* and *Candida albicans.* These fungi infect skin and produce ringworm of all skin, scalp and nails. The other two are bacteria, *Staphylococcus aureus* and β - hemolytic streptococcus Group A, which cause skin infection, wound inflammation, abscess and acne. Compared with four antifungal drugs in the market, the efficacy of Betel Leaf Ointment in repressing the growth of these microorganisms is far better *in vitro.*

In the toxicity test in guinea pigs, the ointment produced no rash or irritation either before or after UV irradiation. Clinical trial was performed in 15 patients with ringworm who applied the ointment twice daily for 4 weeks. The patients were followed up at the end of the 1st, 2nd, 3rd, 4th, 6th week. The result were as followed : **cure** (no lesion and no fungi left) 6 cases = 40%, **improve** (still some lesions left but no fungi) 4 cases = 26% **not cure** (lesions and fungi as before) 5 cases = 34%. The clinical efficiency of Betel Leaf Ointment is estimated to be 66% (40% cure plus 26% improove). (Th. J. Pharm. Sci. Vol. 15 No.4, 277-288 (1990))

* Dept. of Pharmaceutical Botany, Fac. of Pharmaceutical Sciences, C.U.
** Dept. of Microbiology, Fac. of Pharmaceutical Sciences, C.U.
*** Dept. of Pharmacy, Fac. of Pharmaceutical Sciences, C.U.
**** Dept. of Pharmocology, Fac. of Pharmaceutical Sciences, C.U.
***** Dept. of Internal Medicine, Fac. of Medicine, C.U.