



## ฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลองของตำรับครีมที่มีส่วนผสมของ สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb.

พิชญา สมานมิตร<sup>1</sup>, เศรษฐินาณี ดวงใจ<sup>1</sup>, รัตนา เล็กสมบุรณ์<sup>2</sup>, ปรีชา บุญจูง<sup>1</sup>, วริษฐา ศิลลาอ่อน<sup>1</sup>, ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูมิรักษา<sup>1\*</sup>

### บทคัดย่อ

ฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลองของตำรับครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ  
*Curcuma cf. comosa* Roxb.

พิชญา สมานมิตร<sup>1</sup>, เศรษฐินาณี ดวงใจ<sup>1</sup>, รัตนา เล็กสมบุรณ์<sup>2</sup>, ปรีชา บุญจูง<sup>1</sup>, วริษฐา ศิลลาอ่อน<sup>1</sup>, ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูมิรักษา<sup>1</sup>  
ว. เกษตรศาสตร์อีสาน, มีนาคม 2558; 11(ฉบับพิเศษ) : 54-60

**บทนำ:** *Curcuma cf. comosa* Roxb หรือ "ว่านหมาว้อ" เป็นสมุนไพรที่ชาวบ้านในภาคอีสานและประเทศกัมพูชานำเหง้าสดมาใช้รักษาบาดแผล งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลองของตำรับครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb **วิธีการดำเนินการวิจัย:** พัฒนาตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% w/w ทดสอบความคงตัวของตำรับครีมต่างๆ ด้วยวิธี heating-cooling cycle ประเมินความคงตัวจากลักษณะทางกายภาพ ความเป็นกรด-ด่าง ความหนืด และหาปริมาณสารสำคัญที่คงเหลือในตำรับด้วย High Pressure Liquid Chromatography คัดเลือกตำรับครีมที่มีความคงตัวดีมาทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลอง โดยใช้หนูสายพันธุ์ C57BL/6 อายุ 8 สัปดาห์ เจาะโพรงทั้งสองข้างให้เป็นรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตรด้วย metal ear punch ทาครีมปริมาณ 10 mg ที่โพรงบริเวณบาดแผล ทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 30 วัน โดยทาหุ้ข้างซ้ายด้วยตัวควบคุมคือ cream base ทาหุ้ข้างขวาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัด (n=6/กลุ่ม) บันทึกภาพบาดแผล และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบาดแผล แสดงผลเป็นร้อยละของการหายของบาดแผล และตรวจชิ้นเนื้อของบาดแผล เพื่อดูพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในวันที่ 0, 2, 10, 20 **ผลการศึกษาวิจัย:** ตำรับครีมที่มีสารสกัดความเข้มข้น 5% และ 10% w/w มีความคงตัวดีกว่าตำรับครีมที่มีสารสกัดความเข้มข้น 15% และ 20% w/w ทั้งลักษณะทางกายภาพ และความหนืด ส่วนความเป็นกรด-ด่างและปริมาณสารสำคัญที่คงเหลือทุกตำรับไม่มีความแตกต่างกัน จึงเลือกตำรับครีมที่มีสารสกัดความเข้มข้น 5% และ 10% w/w มาทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลอง พบว่าตำรับครีมที่มีสารสกัดความเข้มข้น 5% และ 10% w/w มีร้อยละของการหายของบาดแผลใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 66.67 และ 62.12 ในวันที่ 30 ตามลำดับ ซึ่งดีกว่าตัวควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ผลการตรวจชิ้นเนื้อของบาดแผลพบว่า เนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลของหนูที่ทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัดความเข้มข้น 5% และ 10% w/w มีการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดขาวชนิด PMN, fibroblast, collagen fiber และหลอดเลือด **สรุปผลการวิจัย:** ตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5% และ 10% w/w มีฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลอง มีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นยาใหม่ในอนาคต

**คำสำคัญ :** ฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผล, ตำรับครีม, สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตท, *Curcuma cf. comosa* Roxb.

<sup>1</sup> คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

<sup>2</sup> วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

\* ติดต่อผู้พิมพ์: chutinunpr@yahoo.com



## Abstract

### ***In vivo* Wound Healing Effects of Formulated Creams Containing Ethyl Acetate Extract of *Curcuma cf. comosa* Roxb**

Pitchaya Samanmit<sup>1</sup>, Settiyanee Duangjai<sup>1</sup>, Rattana Leksomboon<sup>2</sup>, Preecha Boonchoong<sup>1</sup>, Warisda Sila-on<sup>1</sup>, Chutinun Prasitpuriprecha<sup>1\*</sup>  
*IJPS, March 2015; 11(Supplement) : 54-60*

**Introduction:** *Curcuma cf. comosa* Roxb or "Wan-ma-wor" is a traditional herb that commonly used in Northeastern part of Thailand and Cambodia for the treatment of wound. The objective of this study was to investigate for *in vivo* wound healing effects of formulated cream containing ethyl acetate extract of *C. cf. comosa* Roxb. **Materials and Method:** Extract was formulated to creams with the concentration of 5%, 10%, 15% and 20% w/w. Those formulas were tested for stability by heating-cooling cycle method. They were evaluated for appearance, pH, viscosity and amount of active substances remaining in formulas by High Pressure Liquid Chromatography. The formulas having good stability were chosen to study for *in vivo* wound healing effects. Both ears of 8 weeks old of C57BL/6 mice were punched to make a hole with 2-millimeters of diameter by metal ear punch. Creams were applied to wounds once a day for 30 days. Left ear was applied with the control of cream base. Right ear was applied with formulated cream containing ethyl acetate extract of *C. cf. comosa* Roxb (n=6/group). Wound healing effects were determined by taking photographs and measuring the diameter of the wounds that be calculated into % of wound healing. The pathological effects of histology of these ears were also examined at day 0, 2, 10, 20. **Results:** The formulated creams containing 5% and 10% w/w of curcuma extract had the appearance and viscosity better than that of 15% and 20% w/w. But the results of pH and amount of active substances remaining in formulas were not different. Then 5% and 10% w/w of curcuma extract creams were chosen to study for *in vivo* wound healing effects. Results showed that 5% and 10% w/w of curcuma extract creams had indifferent of %wound healing about 66.67% and 62.12% at the day of 30, respectively. But both formulas had significantly wound healing effects better than the control (p<0.05). The histological effects expressed that tissues around the wound area of treatment groups were found PMNs, fibroblasts, collagen fibers and vessels. **Conclusion:** The formulated creams containing ethyl acetate extract of *C. cf. comosa* Roxb with the concentration of 5% and 10% w/w had *in vivo* wound healing effects that might be developed to a potential drug in the future.

**Keywords:** wound healing effects, formulated creams, ethyl acetate extract, *Curcuma cf. comosa* Roxb.

\* Corresponding author: chutinunpr@yahoo.com

## บทนำ

*Curcuma cf. comosa* Roxb เป็นว่านพื้นเมือง วงศ์ Zingiberaceae มีชื่อท้องถิ่นว่า "ว่านหมาว้อ" หรือ "ว่านหมาบ้า" ลักษณะภายนอกมีความคล้ายคลึงกับว่านขมิ้นชัน (*C. comosa* Roxb) แต่การเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์แตกต่างจากว่านขมิ้นชันอย่างน้อย 2 ตำแหน่ง (ตรวจเอกลักษณ์ด้วยการวิเคราะห์ DNA ของ 18s ribosome โดย Professor Katsuko Komatsu, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Japan) (Teerawatanasuk, 2003) ผู้วิจัยจึงใช้ชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *C. cf. comosa* Roxb (cf = look like) ก่อนการพิสูจน์พืชสายพันธุ์ใหม่

ชาวบ้านในจังหวัดอุบลราชธานี และประเทศกัมพูชา นิยมนำ *C. cf. comosa* Roxb มาใช้รักษาบาดแผล โดยผ่านเหง้าสด (rhizome) เป็นแผ่นบางๆ พันรอบบาดแผลที่เกิดจาก

ของมีคมตัดลึก แล้วพันด้วยผ้าปิดทับทิ้งไว้เป็นเวลา 3-5 วัน เมื่อเปิดออกดู จะพบว่ารอยแผลเชื่อมกันได้ดี เหลือเพียงรอยแดงและไม่มีการติดเชื้อ (Prasitpuriprecha, 2004) ซึ่งรายงานการวิจัยของ Panchatcharam (2006) พบว่าฟิซตระกูล Curcumin ทำให้บาดแผลหายเร็วขึ้นจากฤทธิ์การกระตุ้น collagen และลด reactive oxygen species ผู้วิจัยได้มีการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในหลอดทดลองของสารสกัดหยาบของ *C. cf. comosa* Roxb พบว่า สารสกัดมีฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผล โดยสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทมีฤทธิ์การกระตุ้นการหายของบาดแผลดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ, เมธิลแอลกอฮอล์ และเฮกเซน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจพัฒนาตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb และศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลองของตำรับครีมดังกล่าว

## ระเบียบวิธีวิจัย

### สารสกัดสมุนไพร

สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ได้จากการสกัดส่วนเหง้า ด้วยวิธี percolation สารสกัดที่ได้มี % yield = 10.24% w/w

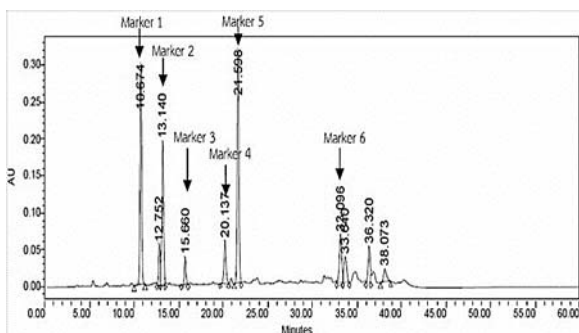
### การตั้งตำรับครีม

เตรียม cream base ที่มีส่วนผสมของ stearic acid, glyceryl monostearate, cetyl alcohol, cremophor A25, silicone oil, isopropyl myristate, carbopol ultrez, propylene glycol, triethanolamine, germaben II และ  $\alpha$ -tocopherol และเตรียมตำรับครีมที่มีสารสกัดสมุนไพร โดยผสมสารสกัดกับ cream base ให้มีปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 5%, 10%, 15% และ 20% w/w

### การทดสอบความคงตัวของตำรับ

ทดสอบความคงตัวของตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้นต่างๆ และ cream base เมื่อผ่านกรรมวิธี Heating and cooling cycle ทำโดยเก็บตำรับครีมในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Heraeus, Germany) ที่ 45 °C นาน 48 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 8 °C นาน 48 ชั่วโมง คิดเป็น 1 รอบ ทำซ้ำ 10 รอบ เปรียบเทียบกับตำรับครีมที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ในระยะเวลาเท่ากัน ประเมินความคงตัวของตำรับครีม ดังนี้

- ลักษณะทางกายภาพ สังเกตลักษณะเนื้อครีม การแยกชั้นและตกตะกอน สี และกลิ่น
- ความหนืด วัดด้วย Viscometer (LMS Instruments)
- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) วัดด้วย pH paper ช่วง pH 3.8-5.5 (Macherey- Nagel, Germany)
- ปริมาณสารสำคัญ วิเคราะห์หาปริมาณของสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ในตำรับครีมด้วยเครื่อง High Pressure Liquid Chromatography (Waters, USA) โดยกำหนดเป็น marker ที่ 1-6 จาก Chromatogram ของสารสกัดความเข้มข้น 0.5 mg/ml ที่ความยาวคลื่น 254 nm (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดง Chromatogram ของสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/ml

แสดงผลในรูป % Recovery ซึ่งเป็นร้อยละของปริมาณสารสำคัญที่พบภายหลังเตรียมเป็นตำรับครีม เทียบกับปริมาณสารสำคัญเริ่มต้นที่ใส่ในตำรับครีม คำนวณจากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ปริมาณสารสำคัญที่พบหลังเตรียมเป็นตำรับครีม} \times 100}{\text{ปริมาณสารสำคัญเริ่มต้นที่ใส่ในตำรับครีม}}$$

และ % Found ซึ่งเป็นร้อยละของปริมาณสารสำคัญที่พบในตำรับครีมที่ผ่านการทำ heating and cooling cycle เปรียบเทียบกับตำรับครีมที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ในระยะเวลาเท่ากัน คำนวณจากสูตร

$$\% \text{ Found} = \frac{\text{ปริมาณสารสำคัญในครีมที่ผ่าน heating and cooling cycle} \times 100}{\text{ปริมาณสารสำคัญในครีมที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25°C)}}$$

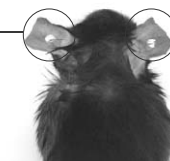
### ฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลอง

หนู mice สายพันธุ์ C57BL/6 อายุ 8 สัปดาห์ ซื้อจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ เลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการสัตว์ทดลองของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี สภาวะการเลี้ยงตามมาตรฐานของศูนย์สัตว์ทดลอง ที่อุณหภูมิ 23±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 55-60% ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปและให้น้ำตลอดเวลา โดยได้รับอนุมัติให้ใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการจริยบรรณสัตว์ทดลองของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี เลขที่การอนุมัติ 7/2555/research)

### การสร้างบาดแผลและการทาตำรับครีมที่บาดแผล (Clark, 1998)

สลบหนูด้วยยาฉีด Zoletil (Virbac, France) ทำความสะอาดบริเวณใบหูด้วยแอลกอฮอล์ เจาะใบหูทั้งสองข้างบริเวณกลางหูให้เป็นรูด้วย metal ear punch (Fisher Scientific, USA) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ไม่ปิดแผล และไม่ใช้ยาต้านจุลชีพตลอดการทดลอง ทาครีมปริมาณ 10 mg ที่ใบหูบริเวณบาดแผล วันละ 1 ครั้ง ทุกวัน เป็นเวลา 30 วัน โดยทาหูข้างซ้ายด้วยตัวควบคุม คือ cream base ทาหูข้างขวาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัด (n=6/กลุ่ม)

ทาหูข้างซ้ายด้วย cream base      ทาหูข้างขวาดำรับครีมที่มีสารสกัด



รูปที่ 2 บาดแผลบริเวณใบหูและการทาตำรับครีมที่บาดแผล



## การประเมินการหายของบาดแผล

บันทึกภาพลักษณะภายนอกของบาดแผลที่ใบหู และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบาดแผลด้วย vernier caliper วัดซ้ำ 3 ครั้ง ในวันที่ 0, 5, 10, 20, 30 คำนวณค่าร้อยละของการหายของบาดแผล (% wound healing) จากสูตร

$$\% \text{ wound healing} = \frac{\text{diameter at day}_0 - \text{diameter at day}_n}{\text{diameter at day}_0} \times 100$$

เมื่อ diameter at day<sub>0</sub> คือ เส้นผ่าศูนย์กลางของบาดแผลในวันที่ 0  
 diameter at day<sub>n</sub> คือ เส้นผ่าศูนย์กลางของบาดแผลในวันที่ n

## การตรวจชิ้นเนื้อทาง Histology (Deodhar, 1997)

ตรวจชิ้นเนื้อของใบหูเพื่อดูพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในวันที่ 0, 2, 10 และ 20 โดยเตรียมเนื้อเยื่อด้วย Paraffin technique ศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง Scan scope CS (Aperio, USA) พิจารณาการหายของบาดแผลจากการเพิ่มขึ้นของ Polymorphonuclear leucocytes (PMN), Fibroblast, Collagen fiber และหลอดเลือดบริเวณใกล้บาดแผล และร้อยละของการสร้างใหม่ของหนังกำพร้า ซึ่งจะมีปริมาณมากขึ้นตามระยะเวลา (Midwood, 2004)

## การวิเคราะห์ทางสถิติ

แสดงผลเป็นค่า mean  $\pm$  SD และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย Independent t-test และ Mann-Whitney test ยอมรับระดับความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ p value < 0.05 (\*)

## ผลการวิจัย

### 1. ความคงตัวของตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตท

เตทของ *C. cf. comosa* Roxb

#### 1.1 ลักษณะทางกายภาพ

ลักษณะทางกายภาพทั้งความเหลวของเนื้อครีม การแยกชั้น การตกตะกอน สี และกลิ่นของตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วย ethyl acetate ของ *C. cf. comosa* Roxb เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25°C (A) กับตำรับครีมเมื่อผ่านการทำ Heating and cooling cycle (B)

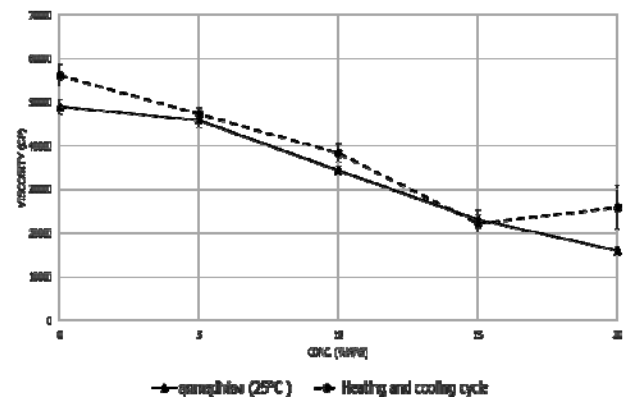
| ปริมาณสารสกัดในตำรับ (%w/w) | ตำรับครีมที่เก็บที่อุณหภูมิ 25°C (A) |            |            |       | ตำรับครีมที่ผ่านการทำ Heating and cooling cycle (B) |                                                   |                  |          |
|-----------------------------|--------------------------------------|------------|------------|-------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------|----------|
|                             | ความเหลวของครีม                      | การแยกชั้น | สี         | กลิ่น | ความเหลวของเนื้อครีม                                | การแยกชั้น                                        | สี               | กลิ่น    |
| 0                           | -                                    | -          | ขาว        | -     | เหมือน A                                            | เหมือน A                                          | เหมือน A         | เหมือน A |
| 5                           | +                                    | -          | น้ำตาลอ่อน | +     | เหมือน A                                            | เหมือน A                                          | เหมือน A         | เหมือน A |
| 10                          | +                                    | -          | น้ำตาล     | +     | เหมือน A                                            | เหมือน A                                          | เหมือน A         | เหมือน A |
| 15                          | ++                                   | -          | น้ำตาลเข้ม | +     | เหมือน A                                            | แยกชั้น เห็นเป็นจุดขาวเล็กน้อยกระจายทั่วเนื้อครีม | สีเข้มขึ้นกว่า A | เหมือน A |
| 20                          | +++                                  | -          | น้ำตาลเข้ม | +     | เหมือน A                                            | แยกชั้น เห็นเป็นจุดขาวจำนวนมากกระจายทั่วเนื้อครีม | สีเข้มขึ้นกว่า A | เหมือน A |

หมายเหตุ เมื่อจำนวน + แสดงระดับที่มากขึ้น

5%, 10%, 15% และ 20% w/w เมื่อผ่านการทำ Heating and cooling cycle เปรียบเทียบกับตำรับครีมที่เก็บที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลาที่เท่ากัน แสดงผลในตารางที่ 1 ซึ่งตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยสมุนไพรที่ความเข้มข้น 15% และ 20% w/w ไม่มีความคงตัวทางกายภาพ พบการแยกชั้นและตกตะกอนให้เห็นเป็นจุดขาวกระจายในเนื้อครีม ส่วนสีและกลิ่นของตำรับครีม จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรนั้น

## 1.2 ความหนืด

ความหนืดของตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% w/w เมื่อผ่านการทำ Heating and cooling cycle เปรียบเทียบกับตำรับครีมที่เก็บที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลาที่เท่ากัน พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความหนืดของตำรับครีมมีแนวโน้มลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร (รูปที่ 3)

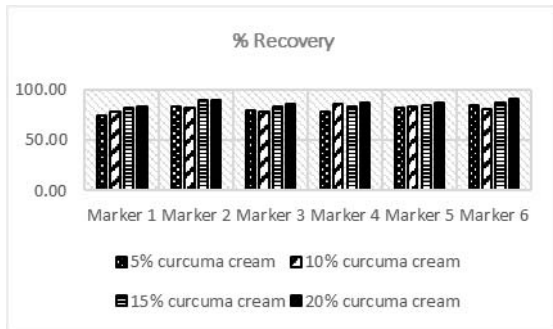


รูปที่ 3 ความหนืดของตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อผ่านการทำ Heating and cooling cycle เปรียบเทียบกับตำรับครีมที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25°C)

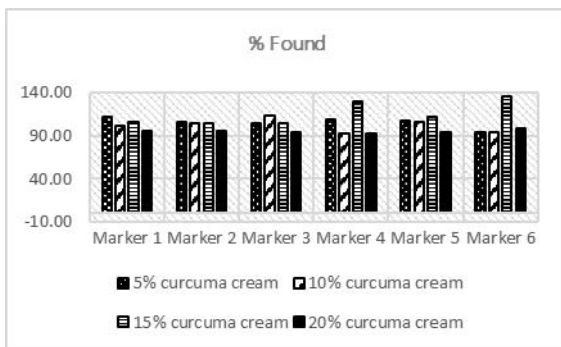
### 1.3 ความเป็นกรด – ต่าง (pH)

ความเป็นกรด-ต่างของตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% w/w เมื่อผ่านการทำ Heating and cooling cycle เปรียบเทียบกับตำรับครีมที่เก็บที่อุณหภูมิห้องพบว่าไม่แตกต่างกัน

### 1.4 ปริมาณสารสำคัญ



รูปที่ 4 % Recovery ของปริมาณสารสกัดที่พบภายหลังการเตรียมตำรับครีมต่างๆ เมื่อเทียบกับปริมาณสารสำคัญเริ่มต้นที่ใส่ในตำรับครีม



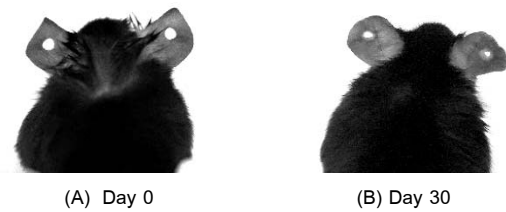
รูปที่ 5 % Found ของปริมาณของสารสกัดที่พบในตำรับครีมที่ผ่านการทำ heating and cooling cycle เปรียบเทียบกับตำรับครีมที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ในระยะเวลาเท่ากัน

รูปที่ 4 พบว่า % Recovery ของตำรับครีมที่มีสารสกัดความเข้มข้นต่างๆ มีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนรูปที่ 5 พบว่า % Found ของตำรับครีมที่มีสารสกัดความเข้มข้นต่างๆ มีค่าใกล้เคียงเช่นกัน

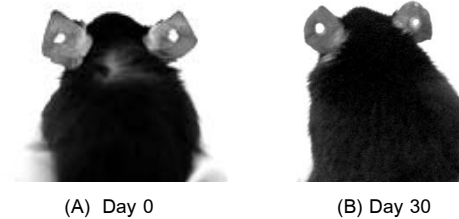
จากผลของลักษณะทางกายภาพ จึงคัดเลือกตำรับครีมที่มีความคงตัวดี คือ ตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5 % และ 10% w/w มาทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลองต่อไป

### 2. ฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลอง

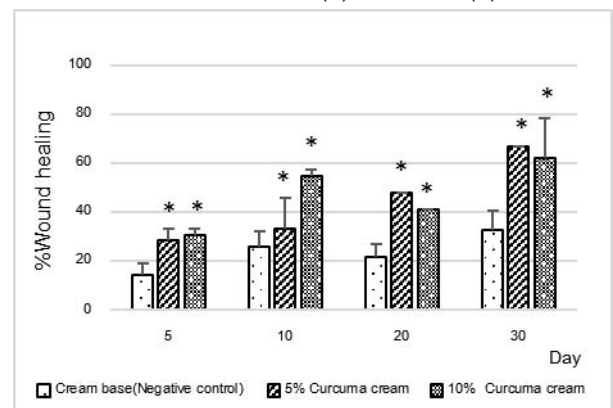
จากลักษณะภายนอกของบาดแผลที่บริเวณใบหูของหนูที่ถูกทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5% และ 10% w/w เมื่อเทียบกับ cream base พบว่า ขนาดของบาดแผลที่ถูกทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัด จะมีขนาดเล็กลง เมื่อเทียบกับ cream base ที่เป็นตัวควบคุม (รูปที่ 6 และ รูปที่ 7)



รูปที่ 6 บาดแผลที่ใบของหนู เมื่อทาใบหูข้างขวาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 5% w/w และทาใบหูข้างซ้ายด้วย cream base ในวันที่ 0 (A) และวันที่ 30 (B)



รูปที่ 7 บาดแผลที่ใบของหนู เมื่อทาใบหูข้างขวาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 10% w/w และทาใบหูข้างซ้ายด้วย cream base ในวันที่ 0 (A) และวันที่ 30 (B)

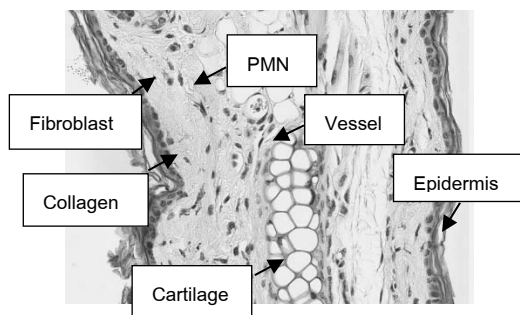


รูปที่ 8 % Wound healing ของหนูที่ทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5%, 10% w/w และ cream base เป็นเวลา 30 วัน  
 (\* =  $p < 0.05$  เทียบกับตัวควบคุม)

จากรูปที่ 8 ค่าร้อยละของการหายของบาดแผล (% wound healing) จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยหนูที่ทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัด จะมีค่าร้อยละของการหายของบาดแผลมากกว่าหนูที่ทาด้วย cream base ที่เป็นตัวควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของการหายของบาดแผลของหนูที่ทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 5% w/w กับ 10% w/w พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน

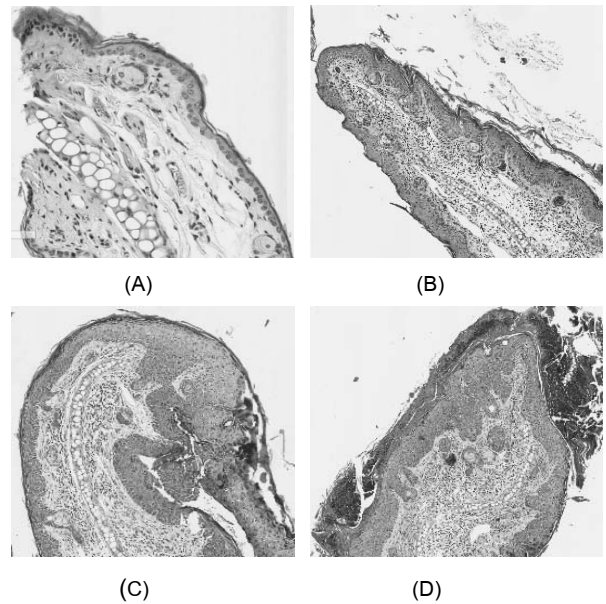
### 3. ผลการตรวจชิ้นเนื้อทาง histology

เมื่อเปรียบเทียบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลของหนูที่ถูกทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5%, 10% w/w และ cream base ในวันที่ 0, 2, 10, 20 พบว่าปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด polymorphonuclear leucocyte (PMN), fibroblast, collagen fiber และหลอดเลือดบริเวณใกล้เคียงบาดแผล มีค่าใกล้เคียงกัน แต่มากกว่าตัวควบคุม (cream base) ส่วนร้อยละของการสร้างใหม่ของหนังกำพร้ามีค่าไม่แตกต่างกัน โดยในวันที่ 10 จะมีการสร้างหนังกำพร้าขึ้นใหม่อย่างสมบูรณ์ (รูปที่ 9-10)



รูปที่ 9 ภาพเนื้อเยื่อของบาดแผล

เมื่อเปรียบเทียบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลของหนูที่ถูกทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5%, 10% w/w ที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด polymorphonuclear leucocyte (PMN), fibroblast, collagen fiber และหลอดเลือดบริเวณใกล้เคียงบาดแผล มีค่าใกล้เคียงกัน แต่มากกว่าตัวควบคุม (cream base) ส่วนร้อยละของการสร้างใหม่ของหนังกำพร้ามีค่าไม่แตกต่างกัน โดยในวันที่ 10 จะมีการสร้างหนังกำพร้าขึ้นใหม่อย่างสมบูรณ์



รูปที่ 10 ภาพเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลของหนู (A) ในวันที่ 0 (B) ทาด้วย cream base (C) ทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัด 5% w/w (D) ทาด้วยตำรับครีมที่มีสารสกัด 10% w/w ในวันที่ 20

### อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การพัฒนาตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ให้มีความคงตัวของตำรับดี ต้องใช้ปริมาณสารสกัดที่ความเข้มข้น 5% และ 10% w/w โดยมีลักษณะทางกายภาพที่ดี คือ มีความเหลวของเนื้อครีมไม่มาก ไม่มีแยกชั้น ไม่ตกตะกอน แต่มีสีและกลิ่นของสารสกัดสมุนไพรชัดเจน ส่วนความหนืด ความเป็นกรดต่าง และปริมาณสารสำคัญในตำรับไม่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อผ่านการทำ heating and cooling cycle

งานวิจัยนี้ใช้รูปแบบของการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลอง จากการสมานแผลของเนื้อเยื่อที่บริเวณบาดแผล ซึ่ง Clark (1998) พบว่ามีข้อดีกว่าการทำให้เกิดบาดแผลบริเวณผิวหนังอื่น เนื่องจากบาดแผลจะสามารถปิดสนิท ไม่เกิดแผลเป็น และติดเชื้อได้ยากกว่า เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลในสัตว์ทดลองของตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5% w/w กับ 10% w/w พบว่าใกล้เคียงกัน แต่ดีกว่า cream base ซึ่งฤทธิ์กระตุ้นการหายของบาดแผลของสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb อาจเป็นผลมาจากกลไกการกระตุ้น collagen และลด reactive oxygen species ของพืชตระกูล Curcumin (Panchatcharam, 2006) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ จึงทำให้บาดแผลหายได้เร็วขึ้น (Hwang, 2000)



ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าตำรับครีมที่มีสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของ *C. cf. comosa* Roxb ที่ความเข้มข้น 5% w/w และ 10% w/w มีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นยาใหม่ในอนาคต

## References

- Clark L, Clark R, Heber-katz E. 1998. A new murine model for mammalian wound repair and regeneration. *Clinical immunology and immunopathology*; 88(1), 35-45.
- Deodhar AK, Rana RE. Surgical physiology of wound healing: a review. *J Postgrad Med*. 1997;43(2):52-6.
- Hwang, JK, Shim JS, Pyun YR. Antibacterial activity of xanthorrhizol from *Curcuma xanthorrhiza* against oral pathogens. *Fitoterapia*, 2000; 71 : 321- 23.
- Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004;36(6):1031-7.
- Panchatcharam M, Miriyala S, Gayathri VS, Suguna L. 2006. Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species. *Mol Cell Biochem*; 290(1-2):87-96.
- Prasitpuriprecha C, Suttipan N, Werawattachai N, Intaranongpai. 2004. The usage of medicinal plants in Ubonratchathani, *UBU J.*; 6(2): 117-138.
- Teetawatanasuk N, Nakamura ES, Wangmaneerat A, Komatsu K, Saiki I. Anti-invasive and anti-angiogenic activities of *C. sp.* Extracts. *J.Trad.Med*, 2003; 20: 1-8.