วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine
ปีที่ 16 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม 2561 Vol. 16 No. 2 May-August 2018

นิพนธ์ต้นฉบับ

ฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ของสารสกัดทองพันชั่ง

ปฐมาพร ปรึกษากร*,‡, ฉัตรภรณ์ ใจมา*, ภาณุพันธ์ ปัญญาใจ*, นันทวรรณ เมฆา†, รินทร์ลภัส อรรถเธียรไชย†, ปนัดดา เทพอัคศร*

*สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี 11000
†สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี 11000
‡ผู้รับผิดชอบบทความ: patamaporn.p@dmsc.mail.go.th

บทคัดย่อ

ทองพันชั่ง เป็นสมุนไพรที่ใช้ในทางการแพทย์แผนโบราณของไทยเพื่อการรักษาโรคผิวหนัง และผื่นคัน การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของพืชนี้ พบว่ามีฤทธิ์ดีต่อการต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคผิวหนังจากเชื้อรา การศึกษานี้มีเป้าหมายเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของทองพันชั่ง และวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดแต่ละชนิดเพื่อพัฒนาวิธีสกัดที่ทำให้ได้สารต้านเชื้อราในปริมาณสูง โดยนำส่วนใบ ลำต้น และรากแห้งของทองพันชั่งมาสกัดด้วยเอทานอลโดยวิธีการหมักและสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค จากนั้นทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดต่อเชื้อกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังจากเชื้อรา 3 ชนิด *(Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes* และ *Microsporum gypseum)* โดยวิธี broth microdilution method และนำสารสกัดแต่ละชนิดมาวิเคราะห์ลายพิมพ์นิ้วมือโครมาโทกราฟแบบของเหลวสมรรถนะสูง การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ของทองพันชั่งพบว่าสารสกัดจากส่วนรากมีฤทธิ์ต้านเชื้อราดีที่สุดในการต้านเชื้อราที่ใช้ทดสอบ การแยกสารบริสุทธิ์และวิเคราะห์สูตรโครงสร้างทางเคมีพบสาร rhinacanthins B, C, N และ Q เป็นสารสำคัญที่มีผลในการออกฤทธิ์ นอกจากนี้สารสกัดเอทานอลของรากทองพันชั่งที่นำมาสกัดแยกต่อด้วยเอทิลอะซิเตทให้ปริมาณสารกลุ่ม rhinacanthins รวมที่สูงขึ้นและมีฤทธิ์การต้านเชื้อราดีเทียบเท่ากับ rhinacanthin C (สารออกฤทธิ์หลักในการต้านเชื้อรา) ดังนั้นวิธีการสกัดดังกล่าวนี้จึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่น่าจะเหมาะสมสำหรับการเตรียมสารสกัดรากทองพันชั่งเพื่อนำไปพัฒนาเป็นตำรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้านเชื้อราได้ต่อไป

คำสำคัญ: ทองพันชั่ง, ต้านเชื้อรา, เดอร์มาโตไฟต์, ไรนาแคนทิน

Received date 19/07/17 *Accepted date 22/06/18*

Antifungal Activity of *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz Extracts Against Dermatophytes

Patamaporn Pruksakorn*,‡, Chattraporn Jaima*, Parnuphan Panyajai*, Nanthawan Mekha†, Rinrapas Autthateinchai†, Panadda Dhepakson*

**Medical Life Science Institute, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand*

†National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

‡Corresponding author: patamaporn.p@dmsc.mail.go.th

Abstract

Rhinacanthus nasutus (L.) Kurz (thongphanchang in Thai) has been used in Thai traditional medicine for the treatment of skin diseases and eczema. This plant exhibits the potent antifungal activity against dermatophytes. This study aimed to investigate the antifungal activity of *R. nasutus* extracts from various parts of the plant and determine the quantity of active substances for developing the extraction method to furnish the antifungal-rich extract. The dried leaves, stems and roots of *R. nasutus* were extracted with ethanol by maceration and ultrasonic-assisted extraction. The extracts were tested for their antifungal activity using three dermatophytes (*Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes*, and *Microsporum gypseum*) by broth microdilution method. Each extract was used for HPLC fingerprint analysis. The root extract showed the most potent antifungal activity against the tested dermatophyte species. Purification and structure elucidation revealed that the active substances are rhinacanthins B, C, N, and Q. In addition, the ethanolic extract of dried root that was further separated with ethyl acetate afforded a rhinacanthins-rich extract. This extract exhibited excellent antifungal activity, comparable to rhinacanthin C (a major active substance). Therefore, this extraction method might be suitable for preparing a *R. nasutus* root extract in order to develop antifungal herbal formulations.

Key words: *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz, antifungal, dermatophytes, rhinacanthins

บทนำ

โรคผิวหนังจากเชื้อรา โดยทั่วไปมีสาเหตุมาจากเชื้อราในกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ (dermatophytes) สามารถรักษาได้โดยการใช้ยาต้านเชื้อราทาบริเวณรอยโรค แต่ต้องรักษาต่อเนื่องหลังจากอาการของโรคทุเลาลงเพื่อให้หายขาด[1-2] ซึ่งยาต้านเชื้อราที่ใช้อยู่ในปัจจุบันต้องนำเข้าผลิตภัณฑ์ยาหรือเภสัชเคมีภัณฑ์จากต่างประเทศ แท้จริงแล้วการรักษาตามวิธีพื้นบ้านดั้งเดิมของไทยโดยใช้สมุนไพรทาบริเวณที่ติดเชื้อก็สามารถรักษาได้[3] แต่มีข้อจำกัดด้านความสะดวกในการนำไปใช้ ซึ่งการพัฒนาสมุนไพรต้านเชื้อราให้อยู่ในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งานในชีวิตประจำวัน และมีรายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ชัดเจน น่าจะส่งเสริมให้ประชาชนเกิดความเชื่อมั่นและหันมาใช้สมุนไพรเพื่อการรักษาโรค ทดแทนการใช้ยาแผนปัจจุบันได้มากขึ้น

ในทางการแพทย์พื้นบ้านของไทย สมุนไพรหลายชนิดมีการระบุสรรพคุณทางยาสำหรับใช้รักษาโรคผิวหนัง ผื่นคัน เช่น รากลำโพง ใบกรวยป่า ใบและรากเปล้าใหญ่ ใบสำมะงา ใบเสลดพังพอน ราก

เจตมูลเพลิงแดง และใบไม้เท้ายายม่อม นอกจากนี้สมุนไพรบางชนิดมีการระบุสรรพคุณในการใช้แก้กลากเกลื้อนได้ เช่น ใบและรากชุมเห็ดเทศ ใบน้อยหน่า ใบและรากทองพันชั่ง หัวกระเทียม เมล็ดลำโพง ใบกรวยป่า เนื้อไม้ขันทองพยาบาท และเมล็ดสะบ้า[3] จากผลการศึกษาเบื้องต้นที่ผ่านมาของคณะผู้วิจัย ซึ่งได้รวบรวมสมุนไพรที่มีการระบุสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนังที่สามารถพบได้ทั่วไป เช่น เสลดพังพอน ชุมเห็ดเทศ น้อยหน่า ทองพันชั่ง กระเทียม และสมุนไพรอื่น ๆ ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในประเทศ นำมาสกัดและทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังจากเชื้อราและเป็นเชื้อก่อโรคที่พบบ่อยในประเทศเขตร้อนชื้น เพื่อการค้นหาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ดี สำหรับนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้านโรคผิวหนังจากเชื้อรา จากผลการทดสอบเบื้องต้นดังกล่าวพบว่าสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ได้ดี เช่น เหง้าไพลดำ และเหง้าขมิ้นขาวป่า[4-5] อย่างไรก็ตามสารต้านเชื้อราในสมุนไพรดังกล่าวไม่คงตัวเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน จึงไม่เหมาะสมสำหรับนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้จากผลการทดสอบเบื้องต้นดังกล่าวยังพบว่าทองพันชั่งเป็นสมุนไพรอีกหนึ่งชนิดที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับสมุนไพรอื่นที่นำมาทดสอบ

ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz) เป็นพืชในวงศ์ Acanthaceae มีชื่อท้องถิ่นที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่เช่น ทองคันชั่ง หญ้ามันไก่ พืชนี้ขึ้นกระจายตัวในบางส่วนของประเทศอินเดีย จีน และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นพรรณไม้ล้มลุก มีลักษณะเป็นพุ่มขนาดเล็ก ส่วนโคนของลำต้นเนื้อเป็นแกนแข็ง มีความสูงประมาณ 1-2 เมตร ใบมีลักษณะเป็นรูปค่อนข้างรี ปลายและโคนใบแหลม ขนาดของใบกว้างประมาณ 2-5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 4-10 เซนติเมตร มีสีเขียวและมีจุดแต้มสีน้ำตาล ออกดอกเป็นช่อตรงซอกมุมใบ มีกลีบดอกเป็นสีขาว ทางการแพทย์แผนโบราณในประเทศไทยทองพันชั่งมีสรรพคุณโดดเด่นในการรักษาโรคผิวหนังกลากเกลื้อน และผื่นคัน[3,6-8] พืชนี้มีสารหลากหลายชนิดเป็นองค์ประกอบทางเคมี เช่น สารกลุ่ม flavonoids, benzenoids, glycosides, terpenoids, sterols, anthraquinones และ naphthoquinones[9] นอกจากนี้ยังมีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ต้านเชื้อรา[10-11] ต้านเชื้อแบคทีเรีย[12] ต้านไวรัส[13-14] ต้านการอักเสบ[15-16] ต้านอนุมูลอิสระ[16-17] และปกป้องเซลล์ตับ[18]

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารต้านเชื้อราของสารสกัดทองพันชั่ง โดยแบ่งเป็นส่วนใบ ลำต้น และราก เพื่อค้นหาส่วนของพืชที่มีฤทธิ์ดีและวิธีการสกัดให้ได้สารต้านเชื้อราในปริมาณสูงซึ่งข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของสารต้านเชื้อราในทองพันชั่งนี้สามารถนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารสกัดทองพันชั่งที่จะใช้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรสำหรับต้านเชื้อราที่ผิวหนังได้ต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

ตัวอย่างพืช

ทองพันชั่งเก็บจากจังหวัดราชบุรีเดือนกุมภาพันธ์ 2559 ตรวจระบุชื่อชนิดพันธุ์พืชและเก็บรักษาตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงเพื่องานวิจัย (Herbarium no. BKF 194241) ที่สำนักงานหอพรรณไม้

กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช กรุงเทพมหานคร

การเตรียมสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของทองพันชั่ง

ทองพันชั่งที่ใช้มีอายุมากกว่า 1 ปี เก็บในช่วงที่พืชออกดอก โดยใช้ส่วนใบทั้งหมดทุกขนาด ส่วนลำต้น และส่วนราก นำมาผึ่งในที่พ้นแสงให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (รูปที่ 1) และนำมาบดให้มีขนาดเล็กกว่า 3 มิลลิเมตร หรือสามารถผ่านแร่งขนาด 6 mesh ได้ จากนั้นนำผงสมุนไพรส่วนใบแห้ง ลำต้นแห้ง และรากแห้งน้ำหนักประมาณ 180, 80, และ 240 กรัม ตามลำดับ มาหมักด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1 กรัมของสมุนไพรแห้งต่อเอทานอล 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 16-18 ชั่วโมง และสกัดต่อด้วยคลื่นอัลตราโซนิค 15 นาที โดยทำการสกัดตามขั้นตอนข้างต้นซ้ำ 2 ครั้ง กรองและนำส่วนเอทานอลไประเหยแห้งภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดเอทานอลแห้ง 3 ตัวอย่างจากใบ ลำต้น และราก จากนั้นนำสารสกัดหยาบส่วนใบและรากที่ได้มาสกัดแยกต่อด้วยน้ำกับเอทิลอะซิเตท นำสารสกัดที่ละลายในชั้นเอทิลอะซิเตทไประเหยแห้งภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดเอทิลอะซิเตทแห้ง 2 ตัวอย่างจากใบและราก เก็บรักษาตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยมีน้ำหนักสารสกัดเทียบกับน้ำหนักสมุนไพรแห้งดังแสดงในตารางที่ 1

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของทองพันชั่ง

การวิเคราะห์ลายพิมพ์นิ้วมือโครมาโทกราฟ

รูปที่ 1 (ก) ต้นทองพันชั่ง (ข) ใบแห้ง (ค) ลำต้นแห้ง และ (ง) รากแห้ง

แบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC fingerprint) เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดทองพันชั่งรวม 5 ตัวอย่าง ได้แก่ สารสกัดเอทานอลจากใบ ลำต้น ราก และสารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบและราก ดำเนินการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาองค์-ประกอบทางเคมี โดยนำสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของทองพันชั่งมาละลายด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กรองผ่าน polyamide membrane filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ใช้ตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 30 ไมโครลิตรต่อการฉีด 1 ครั้ง วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิดรีเวอร์สเฟส (VertiSep^{TM} UPS C18 HPLC COLUMN 4.6 × 250 mm, 5 μm) ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วยร้อยละ 0.1 กรดไตรฟลูออโรอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ (สารละลาย ก) และร้อยละ 0.1 กรดไตรฟลูออโรอะซิติกในน้ำ (สารละลาย ข) กราเดียนท์ในอัตราเพิ่มคงที่ (linear gradient) อัตราส่วนจาก (ก:ข) 60:40 เป็น 75:25 ในเวลา 25 นาที และจาก 75:25 เป็น 100:0 ในเวลาจาก 25 นาทีถึง 35 นาที จากนั้นใช้ 100:0 ต่อจนถึง 45 นาที ความเร็วของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที วัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร

การแยกบริสุทธิ์สารจากรากทองพันชั่ง

นำรากทองพันชั่งแห้ง (150 กรัม) มาสกัดโดยการหมักด้วยเอทานอล 3 ลิตรเป็นเวลา 1 วัน ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง รวมและกรองสารสกัดเอทานอลที่ได้ นำไประเหยภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดหยาบ 23.1 กรัม จากนั้นสกัดแยกด้วยน้ำและเอทิลอะซิเตท ได้สารสกัดเอทิลอะซิเตทน้ำหนัก 6.0 กรัม นำส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตทมาแยกบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ชนิดรีเวอร์สเฟส (Grom-Sil 120 ODS-5 ST; 250 × 4 mm, 10 μm) ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วยร้อยละ 0.1 กรดไตรฟลูออโรอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์ (สารละลาย ก) และร้อยละ 0.1 กรดไตรฟลูออโรอะซิติกในน้ำ(สารละลาย ข) กราเดียนท์ในอัตราเพิ่มคงที่ (linear gradient) อัตราส่วนจาก (ก:ข) 50:50 เป็น 80:20 ในเวลา 10 นาที และจาก 80:20 เป็น 100:0 ในเวลาจาก 10 นาทีถึง 30 นาที ความเร็วของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทประมาณ 74 มิลลิกรัม ได้สาร 1, 2, 3 และ 4 ที่มีลักษณะกึ่งเหลวสีเหลืองส้มน้ำหนัก 4.1, 5.1, 31.0 และ 3.4 มิลลิกรัม ตามลำดับ การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างทางเคมีโดยการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค MS, ^{1}H NMR, และ ^{13}C NMR spectroscopies แล้วนำข้อมูลของน้ำหนักโมเลกุลและ NMR สเปคตรัมจาก DEPT, HMQC, HMBC และ COSY มาใช้เพื่อประกอบการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างทางเคมี

Rhinacanthin Q (1): สูตรโมเลกุล $C_{28}H_{26}O_7$ ESI-MS: m/z 497 $[M+Na]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.16 (6H, s, 2 × 10-CH_3), 2.79 (2H, s, H-9), 3.95 (3H, s, 1'-OCH_3), 3.97 (3H, s, 4'-OCH_3), 4.16 (2H, s, 11-OCH_2), 7.14 (1H, s, H-3'), 7.39 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-7), 7.45 (1H, s, 2-OH), 7.48 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-6), 7.55 (2H, m overlap, H-6' & H-7'), 7.85 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-8), 7.90 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-5), 8.08 (1H, dd, J = 7.2, 2.1 Hz, H-8'), 8.17 (1H, dd, J = 7.3, 2.1 Hz, H-5') ^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 25.6 (2C, 2 × 12-CH_3), 32.6 (C-9), 37.2 (C-10), 55.7 (4'-OCH_3), 63.4 (1'-OCH_3), 73.8 (C-

11), 103.8 (C-3'), 118.1 (C-2'), 122.0 (C-3), 122.2 (C-5'), 123.5 (C-8'), 125.8 (C-8), 126.7 (C-5), 126.8 (C-6'), 127.5 (C-7'), 128.8 (C-8a), 129.2 (C-8'a), 129.3 (C-4'a), 132.4 (C-7), 133.0 (C-4a), 134.5 (C-6), 151.3 (C-4'), 152.0 (C-1'), 154.1 (C-2), 166.2 (OC=O), 181.3 (C-1), 184.9 (C-4)

Rhinacanthin B (2): สูตรโมเลกุล $C_{25}H_{28}O_5$ ESI-MS: m/z 431 $[M+Na]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.40 (3H, s, 2-CH_3), 1.47 (3H, s, 2-CH_3), 1.51 (3H, d, 6.7, H-8'), 1.56 (3H, s, 6'-CH_3), 1.79 (3H, s, 2'-CH_3), 2.05 (2H, t, J = 7.6 Hz, H-5'), 2.23 (2H, q, J = 7.4 Hz, H-4'), 2.89 (1H, dd, J = 19.2, 4.9 Hz, H-4), 2.76 (1H, J = 19.2, 4.2 Hz, H-4), 5.13 (1H, t, J = 4.7 Hz, H-3), 5.17 (1H, q, J = 5.7, 1.8 Hz, H-7'), 6.72 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-3'), 7.68 (1H, td, J = 7.4, 1.4 Hz, H-8), 7.72 (1H, td, J = 7.4, 1.4 Hz, H-7), 8.08 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-6), 8.12 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-9). ^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 12.3 (2'-CH_3), 13.2 (C-8'), 15.5 (6'-CH_3), 22.9 (2-CH_3), 23.2 (C-4), 24.7 (2-CH_3), 27.4 (C-5'), 38.1 (C-4'), 69.3 (C-3), 79.1 (C-2), 118.0 (C-4a), 119.5 (C-7'), 126.1 (C-6), 126.5 (C-9), 127.1 (C-2'), 131.3 (C-9a), 132.2 (C-5a), 133.1 (C-8), 134.0 (C-7), 134.5 (C-6'), 143.6 (C-3'), 153.7 (C-10a), 167.0 (C-1'), 179.3 (C-10), 184.0 (C-5)

Rhinacanthin C (3): สูตรโมเลกุล $C_{25}H_{30}O_5$ ESI-MS: m/z 433 $[M+Na]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.01 (6H, s, 2 × 10-CH_3), 1.55 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-8'), 1.58 (3H, s, 6'-CH_3), 1.78 (3H, s, 2'-CH_3), 2.01 (2H, t, J = 7.6 Hz, H-5'), 2.16 (2H, q, J = 7.5 Hz, H-4'), 2.70 (2H, s, H-9), 3.90 (2H, s, 11-OCH_2), 5.20 (1H, q, J = 6.6 Hz, H-7'), 6.69 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-3'), 7.44 (1H, s, 2-OH), 7.68 (1H, td, J = 7.5, 1.0 Hz, H-7), 7.75 (1H, dt, J = 7.5, 1.0 Hz, H-6), 8.08 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-8), 8.11 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-5) ^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 12.3 (2'-CH_3), 13.3 (C-8'), 15.5 (6'-CH_3), 25.2 (2C, 2 x 12-CH_3), 27.23 (C-4'), 32.3 (C-9), 37.1 (C-10), 38.2 (C-5'), 72.8 (C-11), 119.3 (C-7'), 121.9 (C-3), 126.1 (C-8), 127.1 (C-5), 127.8 (C-2'), 129.5 (C-8a), 132.8 (C-7), 133.1 (C-4a), 134.6 (C-6'), 134.9 (C-6), 141.9 (C-3'), 154.2 (C-2), 168.1 (OC=O), 181.3 (C-1), 184.8 (C-4)

Rhinacanthin N (4): สูตรโมเลกุล $C_{27}H_{24}O_7$ ESI-MS: m/z 483 $[M+Na]^+$. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 1.15 (6H, s, 2 $_3$ 10-CH_3), 2.81 (2H, s, H-9), 3.86 (3H, s, 4'-OCH_3), 4.18 (2H, s, 11-OCH_2), 6.99 (1H, s, H-3'), 7.44 (1H, s, 2-OH), 7.52 (3H, m overlap, H-7), 7.62 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-6'), 7.98 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-8), 8.00 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-5) 8.13 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 8.36 (1H, d, J = 8.2 Hz, H8'), 14.45 (1H, s, 1'-OH) ^{13}C NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 25.4 (2C, 2 x 12-CH_3), 32.3 (C-9), 37.1 (C-10), 55.4 (4'-OCH_3), 73.3 (C-11), 100.2 (C-3'), 104.6 (C-2'), 121.5 (C-3), 121.8 (C-5'), 123.7 (C-8'), 125.5 (C-8'a), 125.9 (C-8), 126.3 (C-7'), 126.8 (C-5), 128.9 (C-6'), 129.1 (C-8a), 129.7 (C-4'a), 132.8 (C-4a, C-7), 134.8 (C-6), 147.5 (C-4'), 154.2 (C-2), 155.4 (C-1'), 170.6 (OC=O), 181.2 (C-1), 184.9 (C-4)

เชื้อจุลชีพ

เชื้อราแบบมีเส้นใยกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์สำหรับใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา ได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ประกอบด้วย *Trichophyton rubrum* DMST 30263, *Trichophyton mentagrophytes* DMST 19735, และ *Microsporum gypseum* DMST 21146 โดยทำการเพาะเลี้ยงบน sabouraud dextrose agar slants เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส และเปลี่ยนอาหารใหม่อย่างน้อยทุก 2 สัปดาห์ เตรียมเชื้อสำหรับการทดสอบโดยเจือจางเชื้อแต่ละชนิดในร้อยละ 0.85 sodium chloride (NaCl) ให้มีความขุ่นเมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตรเท่ากับ 1 McFarland standard เพื่อให้มีความหนาแน่นของเชื้อ 1-5 $\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางเชื้ออีกครั้งด้วยอาหาร RPMI-MOPS (RPMI 1640 medium, without sodium bicarbonate ที่มีส่วนประกอบของ 2 mM L-glutamine และ 165 mM morpholinepropanesulfonic acid) ในอัตราส่วน 1:50

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยวิธี Broth microdilution method

การทดสอบใช้วิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการตาม The Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) guideline (Document M38-A2)[19] โดยเตรียมสารสกัดทองพันชั่งจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ สารสกัดเอทานอลจากใบ ลำต้น ราก และสารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบและราก และสาร rhinacanthins 4 ตัวอย่าง ได้แก่ rhinacanthins Q B C และ N สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยละลายสารสกัดด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปละลายต่อในอาหาร RPMI-MOPS ให้มีความเข้มข้นเป็นสองเท่าของความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบโดยเตรียมเป็น two-fold serial dilution ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใน 96-well culture plate ชนิด U-shape wells (ความเข้มข้นสำหรับการทดสอบอยู่ในช่วง 0.78-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการทดสอบตัวอย่างสารสกัดทองพันชั่งแต่ละชนิด 3 ซ้ำ ใช้ ketoconazole (ความเข้มข้นสำหรับการทดสอบอยู่ในช่วง 0.078-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น positive control และใช้ DMSO เป็น negative control ใส่เชื้อที่เตรียมไว้สำหรับการทดสอบปริมาตร 50 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม บ่มถาดเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 96-120 ชั่วโมง หลังจากครบกำหนดการบ่มเลี้ยงอ่านผลการทดสอบโดยดูเส้นใยของเชื้อราที่ปรากฏในหลุมเป็นตัวบ่งชี้การเจริญของเชื้อรา ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ตัดสินจากความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อราในหลุม (ไม่พบเส้นใยของเชื้อราในหลุมเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า)

ผลการศึกษา

การสกัดทองพันชั่งด้วยเอทานอลได้ปริมาณสารสกัดเมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักแห้งจากส่วนต่าง ๆ ของพืช (% yields, w/w) ดังนี้ใบ 8.07%, ลำต้น 4.84% และ ราก 8.43% เมื่อนำสารสกัดเอทานอลจากส่วนใบและรากมาสกัดแยกต่อด้วยตัวทำละลายอินทรีย์คือเอทิลอะซิเตท พบว่าปริมาณสารสกัดในส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตทเมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักแห้งของใบคิดเป็น 2.82% และราก 2.92% ดังแสดงในตารางที่ 1 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา

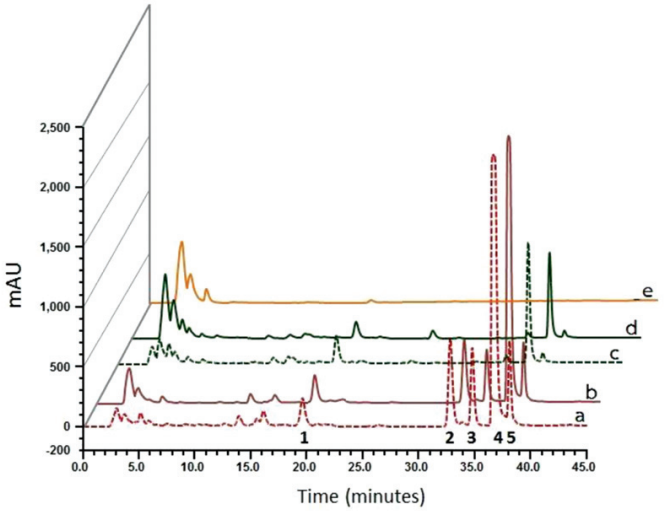
กลุ่มเดอร์มาโตไฟต์โดยวิธี broth microdilution method พบว่าสารสกัดเอทานอลจากส่วนใบและรากทองพันชั่งแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราต่อเชื้อกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ทดสอบที่ MICs ระหว่าง 3.13-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดจากส่วนรากมีฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ดีกว่าสารสกัดจากส่วนใบ ส่วนสารสกัดจากส่วนลำต้นแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อที่ใช้ทดสอบที่ความเข้มข้นสูงกว่าความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 1)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบ ลำต้น และรากของทองพันชั่งโดยวิเคราะห์ HPLC fingerprints (รูปที่ 2-3) พบว่าสารสกัดจาก

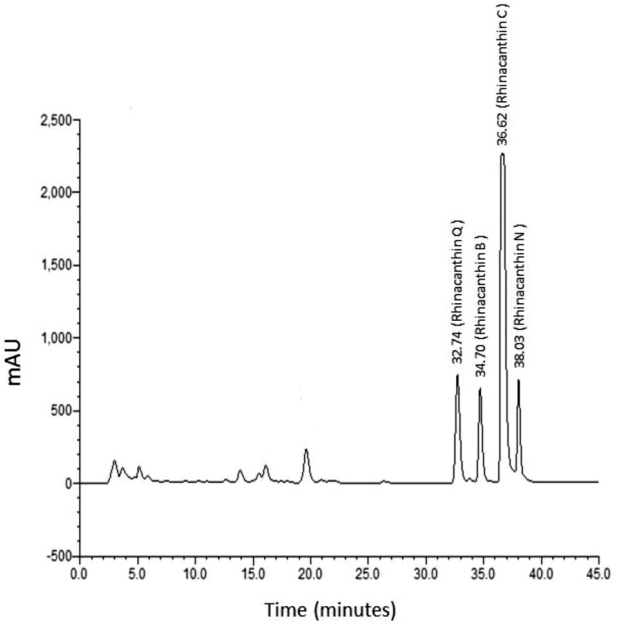
ตารางที่ 1 % Yield เทียบกับน้ำหนักแห้ง และค่า MICs ของสารสกัดจากทองพันชั่ง

สารสกัดทองพันชั่ง	% Yield (w/w)	ฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ (MIC, μg/mL)		
		T. rubrum	*T. mentagrophytes*	*M. gypseum*
สารสกัดเอทานอลและเอทิลอะซิเตทของราก	2.92	1.56	1.56	3.13
สารสกัดเอทานอลของราก	8.43	3.13	3.13	6.25
สารสกัดเอทานอลและเอทิลอะซิเตทของใบ	2.82	3.13	6.25	25
สารสกัดเอทานอลของใบ	8.07	12.50	50	50
สารสกัดเอทานอลของลำต้น	4.84	> 100	> 100	> 100
1	0.22*	6.25	6.25	25
2	0.28*	100	100	> 100
3	1.68*	1.56	1.56	3.13
4	0.18*	12.50	50	100
Ketoconazole	-	0.31	1.56	3.13

* % Yield ของ Rhinacanthins เทียบกับน้ำหนักรากแห้ง



รูปที่ 2 HPLC fingerprints ของสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของทองพันชั่ง โดยเส้นประสีแดงแทนสารสกัดรากทองพันชั่งที่สกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตท (a), เส้นทึบสีแดงแทนสารสกัดเอทานอลของรากทองพันชั่ง (b), เส้นประสีเขียวแทนสารสกัดใบทองพันชั่งที่สกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตท (c), เส้นทึบสีเขียวแทนสารสกัดเอทานอลของใบทองพันชั่ง (d), และเส้นทึบสีเหลืองแทนสารสกัดเอทานอลของลำต้นทองพันชั่ง (e)



รูปที่ 3 HPLC fingerprint ของรากทองพันชั่งที่สกัดด้วยเอทานอลและสกัดแยกต่อด้วยเอทิลอะซิเตท

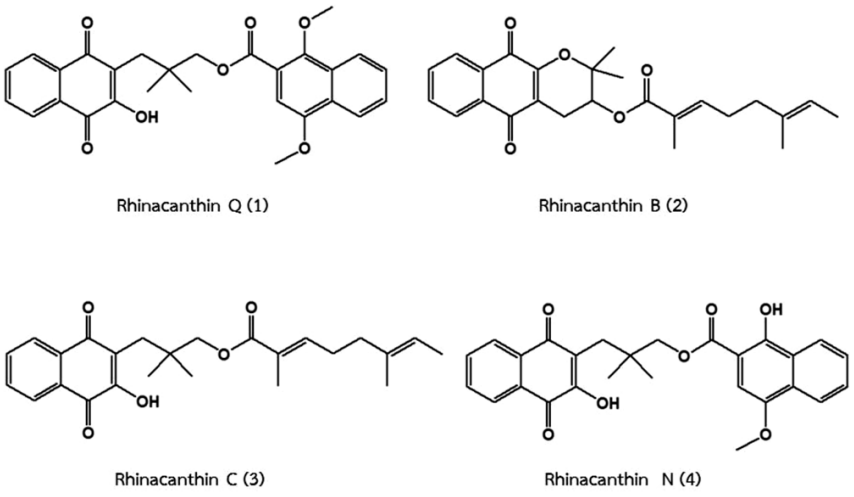
ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ rhinacanthins ในสารสกัดทองพันชั่งด้วยวิธี HPLC

ตัวอย่างสารสกัดของทองพันชั่ง	ค่าเฉลี่ย peak area ± SD (mAU x min)* ของ rhinacanthins				
	1	2	3	4	รวม
สารสกัดเอทานอลและเอทิลอะซิเตทของราก	346.14 ± 19.43	270.41 ± 19.37	1204.11 ± 8.18	249.40 ± 13.26	2070.05 ± 43.88
สารสกัดเอทานอลของราก	231.79 ± 4.10	175.27 ± 1.87	1024.32 ± 14.72	176.65 ± 3.01	1608.03 ± 12.50
สารสกัดเอทานอลและเอทิลอะซิเตทของใบ	-	23.41 ± 2.03	324.08 ± 14.81	34.03 ± 2.51	318.52 ± 18.99
สารสกัดเอทานอลของใบ	-	16.31 ± 2.95	215.23 ± 6.56	23.50 ± 2.05	255.04 ± 0.59
สารสกัดเอทานอลของลำต้น	-	-	-	-	-

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ใบและรากทองพันชั่งมีสารกลุ่ม rhinacanthins เป็นส่วนประกอบ โดยมีสัดส่วนปริมาณสารที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2 และพบว่าสารสกัดจากรากทองพันชั่งมีปริมาณของสารกลุ่มนี้มากกว่าสารสกัดจากส่วนใบ ในขณะที่สารสกัดจากส่วนลำต้นไม่พบสารกลุ่มดังกล่าว

เมื่อนำสารสกัดจากส่วนรากของทองพันชั่งมาแยกสารบริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟีเพื่อวิเคราะห์สูตรโครงสร้างทางเคมี สามารถแยกสารที่มีลักษณะกึ่งเหลวสีเหลืองส้มได้จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ rhinacanthin Q (1), rhinacanthin B (2), rhinacanthin C (3), และ rhinacanthin N (4) (รูปที่ 4) โดยปริมาณของสารที่แยกได้เมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของรากแห้งคิดเป็น 0.22%, 0.28%, 1.68% และ 0.18% w/w ตามลำดับ (ตารางที่ 1)



รูปที่ 4 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม rhinacanthins

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโต-ไฟต์ของสารกลุ่ม rhinacanthins และเปรียบเทียบความแรงในการแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราต่อเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้ง 3 ชนิด จากค่า MICs พบว่า 3 มีฤทธิ์ต้านเชื้อราดีกว่า 2, 4 และ 1 โดยความแรงในการต้านเชื้อราของ 3 > 1 > 4 > 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

อภิปรายผล

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ของสารสกัดทองพันชั่ง ได้เลือกเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ 3 ชนิด คือ *T. rubrum* เชื้อราในกลุ่ม Anthropophilic species (เชื้อรากลุ่มที่มักก่อโรคในคน), *T. mentagrophytes* เชื้อราในกลุ่ม Zoophilic species (เชื้อรากลุ่มที่มักก่อพยาธิสภาพในสัตว์) และ *M. gypseum* เชื้อราในกลุ่ม Geophilic species (เชื้อรากลุ่มที่เจริญได้ดีในดิน พืช และสิ่งแวดล้อม) ซึ่งเชื้อทั้งสามชนิดนี้เป็นเชื้อก่อโรคที่พบบ่อยในประเทศภูมิภาคเอเชีย และ *T. rubrum* เป็นเชื้อก่อโรคที่มักพบบ่อยในโรคกลากที่ลำตัว[20] การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดพืชแห้งส่วนใบ ลำต้น และรากพบว่าสารสกัดจากส่วนรากมีฤทธิ์ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นของพืช โดยแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราต่อเชื้อกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ทดสอบที่ MICs น้อยกว่า 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจากส่วนใบแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราต่อเชื้อกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ทั้ง 3 ชนิดที่ MICs ระหว่าง 12.5-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากส่วนลำต้นไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราต่อเชื้อกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ที่ความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ซึ่งผลการทดสอบนี้สอดคล้องกับสรรพคุณที่ระบุตามการแพทย์แผนโบราณของไทยในการใช้ส่วนของใบและรากทองพันชั่งสำหรับแก้กลาก[6] นอกจากนี้สารสกัดจากใบทองพันชั่ง ยังมีรายงานฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ก่อโรคในมนุษย์ด้วย โดยมีความจำเพาะต่อเชื้อ Bacilli มากกว่า Cocci แต่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter* spp. และ *Klebsiella* spp.[21-22] และสารสกัดใบทองพันชั่งมีรายงานฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Malassezia furfur* และ *Malassezia globosa* ซึ่ง

เป็นเชื้อหลักที่ก่อให้เกิดโรคเกลื้อนด้วย[23]

เมื่อนำสารสกัดเอทานอลของส่วนใบและราก มาสกัดแยกต่อด้วยเอทิลอะซิเตท พบว่าสารสกัดทั้งใบและรากในส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตทมีความแรงในการต้านเชื้อราสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าสารต้านเชื้อราในทองพันชั่งเป็นสารที่มีขั้วต่ำ ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทิลอะซิเตท การวิเคราะห์สารสกัดทองพันชั่งด้วยเทคนิค HPLC เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีพบว่าสารสกัดจากใบและรากทองพันชั่งมีลายพิมพ์ (fingerprint) ของโครมาโทแกรมที่มีลักษณะคล้ายกันแต่มีสัดส่วนปริมาณที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากส่วนใบและรากมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างกลุ่มเดียวกัน โดยพบว่าสารสกัดจากส่วนรากทองพันชั่งมีปริมาณของสารประกอบเหล่านั้นมากกว่าสารสกัดจากส่วนใบเมื่อเปรียบเทียบจากค่าพื้นที่ใต้พีค (peak area) ของโครมาโทแกรมที่ปรากฏ ในขณะที่สารสกัดจากส่วนลำต้นไม่พบสารกลุ่มดังกล่าว เมื่อนำสารสกัดรากทองพันชั่งมาแยกบริสุทธิ์เพื่อศึกษาสูตรโครงสร้างทางเคมี พบว่าสารต้านเชื้อราที่แยกได้เป็นสารในกลุ่ม naphthoquinone esters โดยมี 3 เป็นสารออกฤทธิ์หลักในการต้านเชื้อรา ซึ่งมีปริมาณคิดเป็น 1.68% w/w เมื่อเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของรากแห้ง และมีปริมาณมากกว่าสารต้านเชื้อราชนิดอื่นที่พบ ได้แก่ 1, 2 และ 4 สารเหล่านี้เคยมีรายงานมาก่อนแล้วในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของรากทองพันชั่งที่เก็บจากไต้หวัน[24-27] สารกลุ่มนี้หลายชนิด เช่น rhinacanthins C, G, N และ Q แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็งบางชนิด เช่น เซลล์มะเร็งเยื่อบุช่องปาก (HSC-2, HSC-3 และ HSC-4) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (HL-60) มากกว่าเป็นพิษต่อเซลล์ปกติที่อยู่ภายในช่องปาก โดย rhinacanthin C แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งที่มีค่า tumor-specific cytotoxicity สูงเทียบเท่ากับยาต้านมะเร็งหลายชนิด[27] ในการวิเคราะห์ HPLC fingerprint ของสารสกัดใบทองพันชั่ง พบว่ามี 3 เป็นสารออกฤทธิ์หลักเช่นกัน โดยมี 2 และ 4 เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย แต่มีในปริมาณที่น้อยกว่าสารสกัดจากรากทองพันชั่ง และไม่พบ 1 ในสารสกัดใบทองพันชั่ง

เมื่อพิจารณาถึงโครงสร้างทางเคมีของ 3 ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ 1, 2 และ 4 พบว่า 3 มีโครงสร้างที่ต่างจาก 2 เฉพาะในส่วนของ 2-hydroxy-1, 4-napthoquinone เท่านั้น การที่ 2 มีโครงสร้างเป็น dimethyldihydropyrano-1, 4-napthoquinone ส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านเชื้อราลดลงมาก ข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าส่วน 2-hydroxy-1, 4-napthoquinone skeleton มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารกลุ่มนี้

นอกจากสารสกัดรากทองพันชั่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อราที่แรงกว่าสารสกัดจากใบแล้ว เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดรากทองพันชั่งที่สกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตทกับ 3 ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลัก พบว่าให้ผลในการต้านเชื้อราต่อเชื้อที่ใช้ทดสอบเทียบเท่ากัน (ตารางที่ 1) ดังนั้น จึงสามารถใช้สารสกัดรากทองพันชั่งที่สกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตท โดยไม่จำเป็นต้องผ่านการแยกบริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี นอกจากนี้ข้อมูล HPLC fingerprint ของสารสกัดส่วนนี้แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดที่ได้มี 3 เป็นส่วนประกอบหลัก และมีสารอื่น ๆ ผสมอยู่เพียงเล็กน้อย (รูปที่ 3) ซึ่ง ปริมาณของสารสกัดรากทองพันชั่งที่สกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตทที่ได้คิดเป็น

2.92% w/w ของน้ำหนักแห้งของราก เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Horii H และคณะที่นำรากทองพันชั่งมาสกัดโดยการรีฟลักซ์ด้วยเมทานอล ครั้งละ 3 ชั่วโมงจำนวน 3 ครั้ง (ได้ปริมาณสารสกัดเมทานอล 6.92%) แล้วนำมาสกัดแยกต่อโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นลำดับ ซึ่งได้ปริมาณสารสกัดส่วนที่ละลายในชั้นเอทิลอะซิเตทคิดเป็น 1.33% w/w[27] พบว่าการสกัดรากทองพันชั่งด้วยเอทานอลโดยการหมักและสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค (ได้ปริมาณสารสกัดเอทานอล 8.43%) แล้วนำมาสกัดแยกต่อด้วยตัวทำละลายอินทรีย์คือเอทิลอะซิเตทตามวิธีในการศึกษานี้ ได้ปริมาณสารสกัดที่สูงกว่าวิธีการสกัดดังกล่าวนี้จึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่น่าจะเหมาะสมสำหรับการเตรียมสารสกัดรากทองพันชั่งเพื่อนำไปพัฒนาเป็นตำรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้านเชื้อราได้ต่อไป

ข้อสรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดทองพันชั่งมีฤทธิ์ดีในการต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคกลาก ข้อมูลผลการวิจัยเหล่านี้จึงเป็นการยืนยันสรรพคุณของใบและรากทองพันชั่งในการนำไปใช้รักษาโรคผิวหนังตามตำราแพทย์แผนโบราณของไทย และแสดงให้เห็นว่าส่วนรากของทองพันชั่งมีปริมาณสารต้านเชื้อรามากกว่าส่วนใบ นอกจากนี้วิธีการสกัดรากทองพันชั่งด้วยเอทานอลโดยการหมักและสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค แล้วนำไปสกัดแยกต่อด้วยเอทิลอะซิเตททำให้ได้สารต้านเชื้อราในปริมาณสูง ซึ่งข้อมูลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีทำให้ทราบว่าทองพันชั่งมีสาร rhinacanthin C เป็นสารออกฤทธิ์หลักในการต้านเชื้อรา ดังนั้นสาร rhinacanthin C น่าจะเหมาะสมสำหรับนำไปใช้เป็นสารมาตรฐานเพื่อการควบคุมคุณภาพของสารสกัดทองพันชั่งได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจระบุชื่อชนิดพันธุ์พืชและเก็บรักษาตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงเพื่องานวิจัย และขอขอบคุณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในการให้ทุนสนับสนุนการวิจัยนี้

References

1. Gupta AK, Ryder JE, Chow M, Cooper EA. Dermatophytosis: the management of fungal infections. Skinmed. 2005;4(5):305-10.
2. Degreef HJ, DeDoncker PR. Current therapy of dermatophytosis. J Am Acad Dermatol. 1994;31:S25-30.
3. Petplai D, Tinnakorn Na Ayuthaya P, Bunsit J. List of herbal medicines and indications for primary health care service. Bangkok: Department of Medical Sciences; 1979. (in Thai)
4. Pruksakorn P, Settasupana K, Mekha N, Autthateinchai R, Dhepakson P, Herunsalee A. Antifungal activity of ethanolic extracts from the rhizomes of Zingieraceae plants. J Thai Trad Alter Med. 2016;14(3):286-95. (in Thai)
5. Pruksakorn P, Mekha N, Autthateinchai R, Dhepakson P. Antifungal activities of ethanolic extract from the rhizomes of mango ginger (*khamin-khao-pa,* or *Curcuma amada* Roxb.) J Health Sci. 2017;26(2):438-6. (in Thai)
6. Thiangburanathum W. Dictionary of Thai Medicinal Plants. 5th ed. Bangkok: Aksornpittaya; 1999. 880 p. (in Thai)
7. Committee and teachers of the Thailand Association of Traditional Medicine School at Wat Phra Chetuphon (Wat Pho) Tha Tian, Bangkok. Handbook of Thai pharmacy, Drug Act B.E. 2510 and ministerial regulations. 2nd ed. Bangkok: Ampolpittaya; 1969. (in Thai)

8. Petplai D, Bunsit J, Weerachat N. Indigenous medicinal plants, part 1. 2nd ed. Bangkok: Medical Research Division, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health; 1985. (in Thai)
9. Bukke S, PS R, GS, Kedam TR. The study on morphological, phytochemical and pharmacological aspects of *Rhinacanthus nasutus*. (L) Kurz (A Review). J App Pharm Sci. 2011;1(8):26-32.
10. Kodama O, Ichikawa H, Akatsuka T, Santisopasri V, Kato A, Hayashi Y. Isolation and identification of an antifungal naphthopyran derivative from *Rhinacanthus nasutus*. J Nat Prod. 1993;56(2):292-4.
11. Deepa N, Ravichandran V. Anti-fungal activity of various extracts of *Rhinacanthus nasutus* (l).kurtz. Nat Prod Ind J. 2008;4(2):125-7.
12. 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.Mahidol J Pharm Sci. 2006; 33(1-4):15-22.
13. Sendi A, Chen JL, Jolad SD, Stoddart C, Rozhon E, Kernan M, *et al*. Two new naphthoquinones with antiviral activity from *Rhinacanthus nasutus*. J Nat Prod. 1996;59(8):808-11.
14. Thongchuai B, Tragoolpua Y, Sangthong P, Trisuwan K. Antiviral carboxylic acids and naphthoquinones from the stems of *Rhinacanthus nasutus*. Tetrahedron Lett. 2015;56(37):5161-3.
15. Bhusal N, Panichayupakaranant P, Reanmongkol W. In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of a standardized *Rhinacanthus nasutus* leaf extract in comparison with its major active constituent rhinacanthin-C. Sonklanakarin J Sci Technol. 2014;36(3): 325-31.
16. Siriwatanametanon N, Fiebich BL, Efferth T, Prieto JM, Heinrich M. Traditionally used Thai medicinal plants: In vitro anti-inflammatory, anticancer and antioxidant activities. J Ethnopharmacol. 2010;130(2):196-207.
17. Rao PV, Naidu MD. *Rhinacanthus nasutus*: a plant with potential activity in radical scavenging capacity. Curr Trends Biotechnol Pharm. 2010;4(3):791-4.
18. Shyamal S, Latha PG, Suja SR, Shine VJ, Anuja GI, Sini S, *et al*. Hepatoprotective effect of three herbal extracts on aflatoxin BI-intoxicated rat liver. Singapore Med J. 2010;51(4):326-31.
19. The Clinical and Laboratory Standard Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard. 2nd ed. CLSI Document M38-A2; 2008. 13 p.
20. Luplertlop N, Suwanmanee S. Dertmatophytosis: from bench to bedside. J Trop Med Parasitol. 2003;36:75-87. (in Thai)
21. Sattar MA, Abdullah NA, Khan AH, Noor AM. Evaluation of anti-fungal and anti-bacterial activity of a local plant *Rhinacanthus nasutus* (L.). J Biol Sci. 2004;4(3):498-500.
22. Siripong P, Wongseri V, Piyaviriyakul S, Yahaufai R, Chanpai R, Kanokmedakul K. Antibacterial of *Rhinacanthus nasutus* against clinically isolated bacteria from Thai cancer patients. Mahidol J Pharm Sci. 2006;33:15-22.
23. Wisuitiprot W. Antifungal activity of *Rhinacanthus nasutus* extract against Malassezia sp. J Health Sci. 2012;31(3):521-8. (in Thai)
24. Wu TS, Tien HJ, Yeh MY, Lee KH. Isolation and cytitoxicity of rhinacanthin-A and -B, two anphthoquinones, from *Rhinacanthus nasutus*. Phytocheistry. 1988;27(12):3787-8.
25. Wu TS, Hsu HC, Wu PL, Leu YL, Chan YY, Chern CY, *et al*. Naphthoquinone esters from the root of *Rhinacanthus nasutus*. Chem Pharm Bull. 1998;46(3):413-8.
26. Wu TS, Hsu HC, Wu PL, Teng CM, Wu YC. Rhinacanthin-Q, a naphthoquinone from *Rhinacanthus nasutus* and its biological activity. Phytochemistry. 1998;49(7):2001-3.
27. Horii H, Suzuki R, Sakagami H, Tomomura M, Tomomura A, Shirataki Y. New biological activities of rhinacanthins from the root of *Rhinacanthus nasutus*. Anticancer Res. 2013;33:453-60.