



## ฤทธิ์สมานแผลของสารสกัดจากใบพลู

### Wound Healing Properties of *PIPER BETLE* Leaf Extract

กนกอร สมบัติ<sup>1</sup> และธีรทัศน์ สุดสาย<sup>2</sup>

<sup>1</sup> นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต (on\_suju@hotmail.com)

<sup>2</sup> อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต (teerataad.s@windowslive.com)

#### บทคัดย่อ

พลู (*Piper betle* L.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณค่าทางการแพทย์พื้นบ้านในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์สมานแผลของใบพลู โดยนำสารสกัดใบพลูด้วยเอทานอลมาสกัดแยกส่วนด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ได้ส่วนสกัดจากตัวทำละลายดังกล่าวตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ และคุณสมบัติการกระตุ้นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในหลอดทดลอง จากการศึกษพบว่าสารสกัดใบพลูด้วยเอทานอลและส่วนสกัดที่แยกได้มีฤทธิ์ด้านการอักเสบที่ดี โดยมีค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วง 5.6-11.6  $\mu\text{g/ml}$  ซึ่งส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบดีที่สุด คือ ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท ( $IC_{50}$  เท่ากับ 5.6  $\mu\text{g/ml}$ ) อีกทั้งยังมีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ( $IC_{50}$  เท่ากับ 2.7  $\mu\text{g/ml}$ ) และจากส่วนสกัดทั้งหมดพบว่าส่วนสกัดไดคลอโรมีเทนสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (126.9%) และการเคลื่อนย้ายของเซลล์ (64.3%) ได้ดีที่สุดในวันที่ 2 ของการทดลอง มากกว่านั้นยังสามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 ได้สูงที่สุด (42.1  $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ความเข้มข้น 12.5  $\mu\text{g/ml}$  จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าใบพลูมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ และการกระตุ้นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการสมานแผล

**คำสำคัญ:** ใบพลู, ฤทธิ์สมานแผล, ฤทธิ์ด้านการอักเสบ, ฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ

#### ABSTRACT

*Piper betle* L. is one of the invaluable medicinal plants that has been traditionally used to treat inflammatory wound in folk medicine in Southeast Asia countries. The objective of this research was aimed to study the wound healing properties of *P. betle* leaf. The ethanolic extract of *P. betle* was successively partitioned over hexane, dichloromethane, ethyl acetate and water to give the corresponding fractions. The anti-inflammatory, anti-oxidant and fibroblast stimulatory activities of the ethanolic extract and its fractions were test using in vitro study. The ethanolic extract and its fractions were showed good anti-inflammatory activity with  $IC_{50}$  value ranging 5.6-11.6  $\mu\text{g/ml}$ . Moreover, it was found that the ethyl acetate fraction the potent anti-inflammatory activity

(5.6  $\mu\text{g/ml}$ ) also exhibited the most anti-oxidant activity with an  $IC_{50}$  values 2.7  $\mu\text{g/ml}$ . Among the isolated fractions, the dichloromethane fraction showed the potent fibroblast stimulatory activities via enhanced fibroblast proliferation (126.9%) and fibroblast migration (64.3%) on day two as well as stimulation of collagen production (42.1  $\mu\text{g/ml}$ ) at concentration of 12.5  $\mu\text{g/ml}$ . This study revealed that ethanolic extract of *P. betle* and its fractions



possess anti-inflammatory effect, anti-oxidant activity and fibroblast stimulatory activities which are important factors for wound healing enhancement.

**Keywords:** Piper Betle Leaf, Wound Healing, Anti-Inflammation, Anti-Oxidant

## 1. บทนำ

แม้ในปัจจุบันวิทยาศาสตร์การแพทย์จะมีการพัฒนาเจริญก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็วทำให้ค้นพบวิธีการทันสมัยในการรักษาโรค แต่การใช้ยาสมุนไพรก็ยังเป็นสิ่งที่ได้รับการยอมรับ อีกทั้งรัฐบาลได้ตระหนักถึงคุณค่าของสมุนไพร จึงได้กำหนดนโยบายส่งเสริมให้มีการใช้สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน โดยจัดเข้าในแผนพัฒนาสาธารณสุขตามแผนพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 10 (พ.ศ. 2550-2554) ซึ่งกำหนดนโยบายส่งเสริมให้นำสมุนไพรมาใช้แทนยาแผนปัจจุบันและส่งเสริมให้ประชาชนรู้จักช่วยเหลือตนเองด้วยสมุนไพรเมื่อมีอาการเจ็บป่วยที่ไม่รุนแรง ซึ่งพลูเป็นสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่จัดอยู่ในงานสาธารณสุขมูลฐานรักษาอาการโรคทางผิวหนัง ได้แก่ กลาก เกลื้อน และลมพิษ มากกว่านั้นยังจัดอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ซึ่งมีข้อบ่งใช้คือ บรรเทาอาการผิวหนังอักเสบและอาการอักเสบจากแมลงกัดต่อย นอกจากนี้พลูยังมีสรรพคุณทางยาแผนไทยอีกมากมาย เช่น แก้ตาแดง แก้ไอและเจ็บคอ แก้หอบหืด แก้เส็บขบ แก้อาการฟกช้ำวมของกล้ามเนื้อ และแก้ปวดเส็บปวดร้อนจากน้ำร้อนลวก เป็นต้น (สมพร ภูติยานันต์, 2557) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าพลูมีสรรพคุณทางยาแผนไทยในการรักษาอาการที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเป็นหลัก ซึ่งการอักเสบเป็นกระบวนการตอบสนองของร่างกายต่อเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายเพื่อซ่อมแซมตัวเองทันทีหลังได้รับบาดเจ็บ (Nguyen, Orgil, & Murphy, 2009) โดยกระบวนการซ่อมแซมหรือการสมานแผลสามารถแบ่งได้ 3 ระยะ แต่ละระยะมีการทำงานต่อเนื่องและทับซ้อนกัน คือ ระยะที่ 1 ระยะการห้ามเลือด (hemostasis) และระยะที่มีการอักเสบ (inflammatory phase) ระยะที่ 2 ระยะงอกขยาย (proliferative phase หรือ fibroplasia) และระยะที่ 3 ระยะปรับตัวเข้าสู่ภาวะปกติ (maturation หรือ remodeling phase) ซึ่งการสมานแผลที่เกิดขึ้นทั้งหมดนี้จะช่วยให้เนื้อเยื่อกลับคืนสู่สภาพและทำหน้าที่ได้ใกล้เคียงปกติมากที่สุด (กมลวรรณ เจนวิดิสุข, 2556) จากสรรพคุณทางยาของพลูในการรักษาอาการที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและการสมานแผล จึงสนใจศึกษาฤทธิ์สมานแผลของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลู เพื่อนำข้อมูล ไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ใช้สำหรับรักษาบาดแผลรูปแบบต่าง ๆ ในอนาคต

## 2. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบและสมานแผลของสารสกัดจากใบพลู

## 3. การดำเนินการวิจัย

### 3.1 การสกัดสารจากใบพลู

เก็บตัวอย่างใบสดของพลูจากอำเภอห้วยยอด จังหวัดตรัง แล้วนำมาล้างทำความสะอาดและสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งแห้งสนิทแล้วนำไปบดเป็นผงหยาบ นำผงหยาบใบพลู 500 g มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ปริมาณ 3 L ด้วยวิธีการรีฟลักซ์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สกัดซ้ำ 4 ครั้ง จากนั้นกรองสารสกัดที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และรวมสารสกัดทั้งหมดนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 °C จากนั้นชั่งน้ำหนักสารสกัดเอทานอลปริมาณ 64.7 g มาสกัดแยกส่วน



ด้วยวิธีสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction) ซึ่งสามารถแยกส่วนสกัดได้ดังนี้ คือ ส่วนสกัดเฮกเซน ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดน้ำ ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดและส่วนสกัดจากไบโพลูมาเตรียมสารละลายของตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10 mg/ml ใน Dimethyl sulfoxide (DMSO) สำหรับทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

### 3.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

#### 3.2.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ความเข้มข้น  $1 \times 10^5$  cells/well ใน 96 well plate ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ Roswell Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640) โดยบ่มเซลล์ในตู้  $CO_2$  incubator ที่อุณหภูมิ  $37^\circ C$  เป็นเวลา 60 นาที ล้างเซลล์ด้วย phosphate-buffered saline (PBS) solution และเติม RPMI-1640 ที่ประกอบด้วย 100 ng/ml Lipopolysaccharide (LPS) ปริมาณ 100  $\mu$ l ลงในแต่ละหลุม จากนั้นเติมสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (1-100  $\mu$ g/ml) ปริมาณ 100  $\mu$ l และบ่มเซลล์ในตู้  $CO_2$  incubator ที่อุณหภูมิ  $37^\circ C$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจวัดปริมาณ nitric oxide (NO) ที่เซลล์สร้างขึ้นในอาหารเลี้ยงเซลล์ด้วย Griess reagent และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm ด้วย microplate reader (Epoch, Biotek) (Sudsai, Wattanapiromsakul, & Tewtrakul, 2013) นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่ายับยั้งการสร้าง NO และสร้างกราฟระหว่างค่ายับยั้งการสร้าง NO กับความเข้มข้นของตัวอย่างเพื่อหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่สามารถยับยั้ง NO ที่ 50% ( $IC_{50}$ ) จากการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ สารมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษา คือ Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), L-Nitro arginine (L-NA) และ Indomethacin

การคำนวณ % การยับยั้งการสร้าง NO มีดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(A-B) / (A-C)] \times 100$$

โดยที่ A-C : nitrite concentration, A : LPS (+), sample (-), B : LPS (+), sample (+), C : LPS (-), sample (-)

#### 3.2.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เตรียมตัวอย่างสารสกัดและสารมาตรฐานในเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.78-25  $\mu$ g/ml นำตัวอย่างและสารมาตรฐาน คือ Butylated hydroxytoluene (BHT) และ Quercetin มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) โดยเติมตัวอย่างที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 100  $\mu$ l ลงใน 96 well plate หลังจากนั้นเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น  $6 \times 10^{-5}$  M ปริมาตร 100  $\mu$ l แล้วนำไปบ่มในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ตรวจวัดค่าการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วย microplate reader (Epoch, Biotek) จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและสร้างกราฟระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่ทำการทดสอบจำนวน 4 ซ้ำเพื่อหา  $50\%$  inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) (Sudsai et al., 2013) โดยการคำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มีดังนี้

การคำนวณ % การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH radical มีดังนี้

$$\% \text{Inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

โดยที่  $A_{\text{control}}$  = Absorbance of control - Absorbance of control blank

$A_{\text{sample}}$  = Absorbance of sample - Absorbance of sample blank



### 3.2.3 การเพิ่มจำนวนและการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ( $1 \times 10^5$  cells/well) และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ( $2 \times 10^4$  cells/well) ลงใน 96 well plate ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 และ Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM) ที่ประกอบด้วย 10% fetal bovine serum (FBS) ตามลำดับ หลังจากบ่มเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ที่ได้รับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1-100  $\mu\text{g/ml}$  และ 6.25-50  $\mu\text{g/ml}$  ในตู้  $\text{CO}_2$  incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ จึงเติมสารละลาย 3-(4, 5-dimethylthiazole-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) (10  $\mu\text{l}$ , 5 mg/ml) ลงในแต่ละหลุมแล้วนำไปบ่มในตู้  $\text{CO}_2$  incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลาอีก 4 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลายทิ้งไปแล้วเติม DMSO และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm คำนวณหาค่าร้อยละการเพิ่มจำนวนและการรอดชีวิตของเซลล์เทียบกับกลุ่มควบคุม

### 3.2.4 การเคลื่อนย้ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929

ศึกษาการเคลื่อนย้ายของเซลล์โดยวิธี scratch assay เป็นวิธีสร้างแผลบนโมโนเลเยอร์ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 (Balekar, Katkam, Nakpheng, Jehtae, & Srichana, 2012) โดยเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ที่ความเข้มข้น  $5 \times 10^4$  cells/ml ใน 24 well plate ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่ประกอบด้วย 10% FBS ในตู้  $\text{CO}_2$  incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากเซลล์เจริญเป็นโมโนเลเยอร์แล้วจึงใช้ปิเปตต์ที่ป (P100) ขูดให้เกิดแผลจำลอง จากนั้นล้างเซลล์ด้วยสารละลาย PBS และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 6.25  $\mu\text{g/ml}$  ลงไปปริมาตร 1 ml และนำเซลล์มาถ่ายรูปโดยใช้ microphotograph ที่กำลังขยายภาพเป็น 4 เท่า (วันที่ 0) จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในตู้  $\text{CO}_2$  incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C และตรวจวัดการเคลื่อนย้ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ในวันที่ 1 และ 2 การวิเคราะห์ภาพถ่ายระยะที่เซลล์เคลื่อนย้ายในวันต่าง ๆ ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (ImageJ1.42q/Java1.6.0\_10) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละการเคลื่อนย้ายของเซลล์เทียบกับวันที่ 0 ของการทดสอบ

### 3.2.5 การตรวจวัดปริมาณการผลิตคอลลาเจนชนิดที่ 1

เลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ที่ปริมาณ  $2 \times 10^4$  cells/well ใน 96 well plate ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่ประกอบด้วย 10% FBS หลังจาก 24 ชั่วโมง เติม DMEM ที่มีสารตัวอย่างความเข้มข้น 3.12-6.25  $\mu\text{g/ml}$  และนำเซลล์ไปบ่มใน  $\text{CO}_2$  incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจวัดปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 1 ที่เซลล์ผลิตขึ้นในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ด้วย Sircol Collagen Assay Kit (Bicolor Life Science Assays, Northern Ireland, UK) โดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์ปริมาตร 100  $\mu\text{l}$  ผสมกับ Dye solution ปริมาตร 1 ml ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15,000  $\times g$  เป็นเวลา 10 นาที จนได้ตะกอนของ soluble collagen จากนั้นละลายตะกอนคอลลาเจนด้วย Alkali reagent แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 1 จากกราฟมาตรฐานของ Soluble Collagen Type I (bovine skin collagen type I standard from American disease free animals)

### 3.2.6 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

สำหรับการวิเคราะห์ทางสถิตินั้นข้อมูลทั้งหมดจะถูกระบุในรูปของ mean  $\pm$  standard error of mean (S.E.M.) (ทำการทดลองซ้ำจำนวน 4 ครั้ง) ซึ่งการคำนวณหาค่า  $\text{IC}_{50}$  จะถูกคำนวณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป



Microsoft Excel และการวิเคราะห์ข้อมูลจะใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance: ANOVA) ร่วมกับ Dunnett's test ทั้งนี้ค่า  $p$ -value ที่มีค่า  $p < 0.05$  ซึ่งถือเป็นค่านัยสำคัญทางสถิติ

#### 4. ผลการวิจัย

##### 4.1 ผลต้านการอักเสบของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลู

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบพลูมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งการสร้าง NO ได้ดี มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $5.9 \mu\text{g/ml}$  และยังพบว่าส่วนสกัดเฮกเซน ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดน้ำที่แยกจากสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 5.7, 11.6, 5.6 และ  $26.5 \mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ โดยส่วนสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ใช้คือ L-NA ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $8.3 \mu\text{g/ml}$  (แสดงดังตารางที่ 4.1) ซึ่ง L-NA มีกลไกยับยั้ง iNOS ทำให้การสร้าง NO ลดลง ดังนั้นสารสกัดและส่วนสกัดที่แยกได้จากใบพลูอาจมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบโดยผ่านกลไกการแสดงออกของยีน iNOS หรืออาจมีผลยับยั้งกลไกอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดการอักเสบภายในเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Ganguly, Mula, Chattopadhyay, and Chatterjee (2007) ที่พบว่าสารสกัดใบพลูด้วยเอทานอลลดการอักเสบในหนูทดลองที่ถูกชักนำให้เกิดข้ออักเสบ โดยการลดระดับ NO ผ่านกระบวนการยับยั้งการแสดงออกของยีน iNOS นอกจากนี้สารสกัดจากใบพลูขนาด  $300 \text{ mg/kg}$  สามารถยับยั้งการอักเสบแบบเรื้อรังในหนูทดลองได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับพืชสกุลพริกไทย มากกว่านั้นยังสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Abraham, Kanthimathi and Azi (2012) โดยมีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO ของสารสกัดจากใบพลู พบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO ดีที่สุด ตามด้วยส่วนสกัดน้ำ ส่วนสกัดเฮกเซน และส่วนสกัดเมทานอล มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 52.3, 57.7, 94.3 และ  $143.3 \mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการยับยั้งการสร้าง  $\text{NO}^a$  ใน RAW 264.7 cells ของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลู

| ตัวอย่างทดสอบ        | % การยับยั้งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ( $\mu\text{g/ml}$ ) |                  |                   |                  |                  |                     | $IC_{50}$<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|----------------------|---|------------------|-------------------|------------------|------------------|---------------------|-----------------------------------|
|                      | 0   | 1                | 3                 | 10               | 30               | 100                 |                                   |
| สารสกัดเอทานอล       | $0.0 \pm 3.4$   | $11.1 \pm 2.4^*$ | $42.7 \pm 0.8^*$  | $70.8 \pm 0.8^*$ | $78.4 \pm 3.7^*$ | $90.3 \pm 1.2^*$    | 5.9                               |
| ส่วนสกัดเฮกเซน       | $0.0 \pm 3.4$   | $7.4 \pm 1.3$    | $32.0 \pm 2.5^*$  | $66.4 \pm 0.9^*$ | $90.2 \pm 1.3^*$ | $80.7 \pm 1.3^{b*}$ | 5.7                               |
| ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน | $0.0 \pm 3.4$   | -                | $14.60 \pm 0.7^*$ | $48.2 \pm 1.2^*$ | $65.2 \pm 0.6^*$ | $88.4 \pm 1.1^*$    | 11.6                              |
| ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท | $0.0 \pm 3.4$   | $8.1 \pm 0.9$    | $32.7 \pm 2.9^*$  | $71.4 \pm 0.9^*$ | $85.9 \pm 2.4^*$ | $81.7 \pm 0.6^*$    | 5.6                               |
| ส่วนสกัดน้ำ          | $0.0 \pm 3.4$   | -                | -                 | $28.6 \pm 0.6^*$ | $47.3 \pm 3.3^*$ | $86.1 \pm 1.0^*$    | 26.5                              |
| L-NA                 | $0.0 \pm 2.0$   | -                | -                 | $12.0 \pm 1.8$   | $29.0 \pm 2.1$   | $89.4 \pm 0.8$      | 8.3                               |

<sup>a</sup> แสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E.M. (n เท่ากับ 4); <sup>b</sup> มีความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่า 80%

- หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

ค่า % การยับยั้งของตัวอย่างทดสอบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ( $0 \mu\text{g/ml}$ ) โดย  $*p < 0.05$

##### 4.2 ผลต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลู

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดเอทานอล ส่วนสกัดเฮกเซน ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดน้ำ มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 10.9, 4.1, 35.7, 2.7 และ  $11.5 \mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) ซึ่งสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูนี้มีความสามารถในการ



ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ( $IC_{50}$  เท่ากับ 12.8  $\mu\text{g/ml}$ ) แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐาน Quercetin ( $IC_{50}$  เท่ากับ 1.0  $\mu\text{g/ml}$ ) ซึ่งผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท ซึ่งการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Abraham, Kanthimathi and Azi (2012) โดยมีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ตามด้วยส่วนสกัดเฮกเซน และส่วนสกัดเมทานอล มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 40, 144.3 และ 345.7  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน คือ Quercetin ( $IC_{50}$  เท่ากับ 30.0  $\mu\text{g/ml}$ ) และ Rutin ( $IC_{50}$  เท่ากับ 33.7  $\mu\text{g/ml}$ ) พบว่าส่วนสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐาน Quercetin และ Rutin

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลู

| ตัวอย่างทดสอบ        | % การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ( $\mu\text{g/ml}$ ) |                |                |                |                |                | $IC_{50}$<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|----------------------|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------------------|
|                      | 0.78  | 1.56           | 3.12           | 6.25           | 12.50          | 25             |                                   |
| สารสกัดเอทานอล       | -   | 6.7 $\pm$ 0.6  | 10.5 $\pm$ 3.4 | 26.5 $\pm$ 1.2 | 51.7 $\pm$ 2.1 | 89.1 $\pm$ 2.1 | 10.9                              |
| ส่วนสกัดเฮกเซน       | 19.5 $\pm$ 1.2  | 37.4 $\pm$ 1.1 | 71.5 $\pm$ 1.9 | 89.0 $\pm$ 0.6 | 91.7 $\pm$ 1.5 | 93.5 $\pm$ 1.0 | 4.1                               |
| ส่วนสกัดไคคลอโรมีเทน | -   | -              | 7.3 $\pm$ 1.0  | 11.9 $\pm$ 0.7 | 21.5 $\pm$ 1.3 | 37.3 $\pm$ 2.5 | 35.7                              |
| ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท | 10.2 $\pm$ 1.3  | 25.9 $\pm$ 2.4 | 56.3 $\pm$ 3.2 | 89.1 $\pm$ 0.6 | 90.7 $\pm$ 0.2 | 91.5 $\pm$ 0.3 | 2.7                               |
| ส่วนสกัดน้ำ          | -   | -              | 2.2 $\pm$ 1.6  | 25.4 $\pm$ 1.4 | 53.8 $\pm$ 2.5 | 93.2 $\pm$ 1.9 | 11.5                              |
| Quercetin            | 40.6 $\pm$ 2.7  | 62.4 $\pm$ 0.3 | 91.3 $\pm$ 0.6 | 92.0 $\pm$ 1.6 | 94.6 $\pm$ 1.1 | 93.9 $\pm$ 1.8 | 1.0                               |
| BHT                  | 2.4 $\pm$ 0.4   | 8.2 $\pm$ 1.4  | 17.6 $\pm$ 1.1 | 30.4 $\pm$ 1.1 | 50.0 $\pm$ 0.9 | 67.6 $\pm$ 0.7 | 12.8                              |

ค่า% การยับยั้งของตัวอย่างทดสอบแสดงในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E.M. (n เท่ากับ 4)

#### 4.3 ผลการเพิ่มจำนวนและการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929

จากการศึกษาผลการเพิ่มจำนวนและการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูที่ความเข้มข้น 6.25-50  $\mu\text{g/ml}$  พบว่าสารสกัดเอทานอล ส่วนสกัดเฮกเซน และส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทที่ความเข้มข้น 6.25-25  $\mu\text{g/ml}$  เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่า 80% อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 50  $\mu\text{g/ml}$  ของสารสกัดและส่วนสกัดดังกล่าวแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ในขณะที่ส่วนสกัดของไคคลอโรมีเทนและน้ำไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการศึกษา นอกจากนี้ยังพบว่ามีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมของสารสกัดเอทานอล (6.25  $\mu\text{g/ml}$ ), ส่วนสกัดเฮกเซน (6.25-12.5  $\mu\text{g/ml}$ ), ส่วนสกัดไคคลอโรมีเทน (6.25-25  $\mu\text{g/ml}$ ), ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท (6.25  $\mu\text{g/ml}$ ) และส่วนสกัดน้ำ (12.5  $\mu\text{g/ml}$ ) สามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 แตกต่างอย่างนัยสำคัญที่  $p < 0.05$  (แสดงดังตารางที่ 4.3)



ตารางที่ 4.3 แสดงผลของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูต่ออัตราการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929

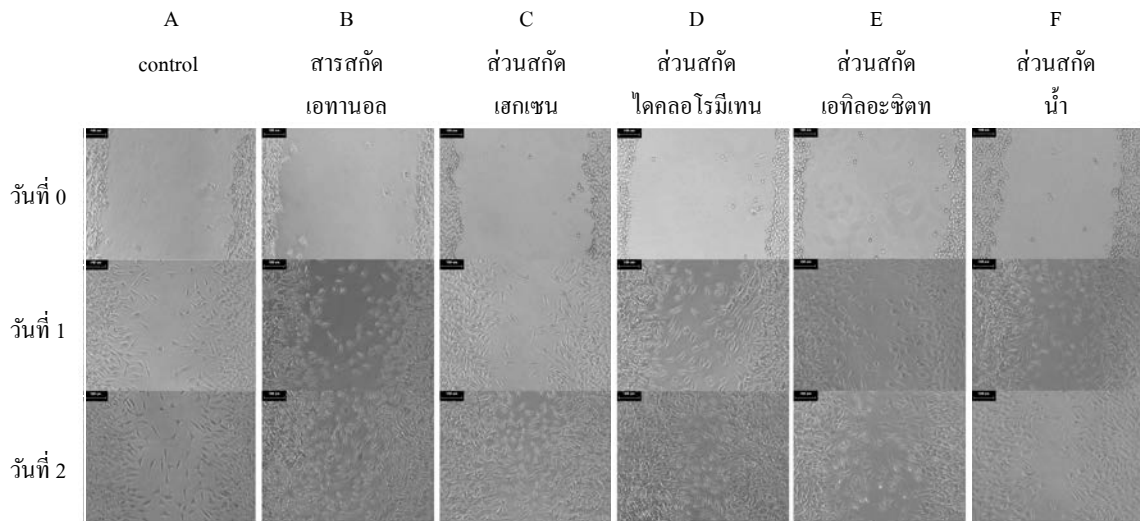
| ตัวอย่างทดสอบ        | % อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (µg/ml) |                  |              |               |              |             |
|----------------------|---|------------------|--------------|---------------|--------------|-------------|
|                      | Control   | Negative control | 6.25         | 12.5          | 25           | 50          |
| สารสกัดเอทานอล       | 100.0 ± 3.6   | 98.8 ± 1.1       | 114.3 ± 4.7* | 104.0 ± 4.1   | 87.5 ± 3.1   | 49.6 ± 4.2  |
| ส่วนสกัดเฮกเซน       |   |                  | 109.3 ± 5.9* | 105.7 ± 7.9 * | 94.5 ± 6.5   | 58.5 ± 3.2  |
| ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน |   |                  | 124.4 ± 1.4* | 126.9 ± 4.1*  | 110.3 ± 4.9* | 87.5 ± 5.3  |
| ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท |   |                  | 109.8 ± 5.4* | 105.3 ± 4.0   | 102.1 ± 3.8  | 69.3 ± 2.7  |
| ส่วนสกัดน้ำ          |   |                  | 107.1 ± 5.2  | 110.1 ± 3.9*  | 105.4 ± 2.7  | 100.6 ± 5.2 |

แสดงค่าเฉลี่ย ± S.E.M. (n เท่ากับ 4)

ค่า % การยับยั้งของตัวอย่างทดสอบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (0 µg/ml) โดย \* $p < 0.05$

#### 4.4 ผลของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูต่อการเพิ่มจำนวนและการเคลื่อนย้ายของเซลล์ L929

การเพิ่มจำนวนและการเคลื่อนย้ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญในการรักษาบาดแผลโดยสร้างเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นมาทดแทนเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บหรือสูญเสียไป ซึ่งการศึกษาฤทธิ์สมานแผลของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 จะใช้วิธี scratch assay ซึ่งวิธีนี้เป็นศึกษาการเคลื่อนย้ายของเซลล์โดยใช้ปิเปตต์ที่ปลายแหลมทำให้เกิดแผลบนโมโนเลเยอร์ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 (Balekar, Katkam, Nakpheng, Jehtae, & Srichana, 2012) จากนั้นจะมีการเพิ่มจำนวนและเคลื่อนย้ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 เพื่อปิดบริเวณแผลที่ถูกขูดออกให้ติดกัน โดยจะประเมินผลก่อนการทดสอบด้วยตัวอย่าง (วันที่ 0) และระหว่างการทดสอบ (วันที่ 1 และ 2) แสดงดังรูปที่ 4.1 โดยผลการศึกษาพบว่าสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูที่ความเข้มข้น 6.25 µg/ml ทำให้มีการเคลื่อนย้ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 เพิ่มขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่  $p < 0.05$  โดยในวันที่ 1 ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทสามารถกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนย้ายของเซลล์มากที่สุด ตามด้วยสารสกัดเอทานอล ส่วนสกัดเฮกเซน ส่วนสกัดน้ำ และส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน โดยมีร้อยละของอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 เท่ากับ 28.6, 27.6, 26.4, 26.1 และ 23.1 ตามลำดับ ในขณะที่การเคลื่อนย้ายของเซลล์ของวันที่ 2 ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทนสามารถกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนย้ายของเซลล์มากที่สุด ตามด้วยส่วนสกัดเฮกเซน สารสกัดเอทานอล ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดน้ำ โดยมีร้อยละของอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์เท่ากับ 64.3, 44.6, 42.9, 41.6 และ 34.4 ตามลำดับ จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าส่วนสกัดไดคลอโรมีเทนจากใบพลูมีร้อยละของอัตราการเคลื่อนย้ายของเซลล์ที่ดีโดยเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 2 หลังจากได้รับสารทดสอบ (แสดงดังตารางที่ 4.4)



รูปที่ 4.1 แสดงผลของสารสกัดและส่วนสกัดใบพลูต่อการเคลื่อนย้ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ที่ถูกขูดให้เป็นแผลจำลองในแนวนอนด้วยปิเปตทิป (P100) แล้วถ่ายภาพก่อนการทดสอบ (วันที่ 0) และวันที่ทำการทดสอบ (วันที่ 1, 2) ด้วยสารสกัดเอทานอล (B), ส่วนสกัดเฮกเซน (C), ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน (D), ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท (E), ส่วนสกัดน้ำ (F) และชุด control (A) ที่ความเข้มข้น 6.25  $\mu\text{g/ml}$  และภาพถ่ายถูกนำมาวิเคราะห์หาอัตราการเคลื่อนย้ายของเซลล์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการสมานแผลในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลู

| ตัวอย่างทดสอบ        | ความเข้มข้น<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | ความยาวระหว่างแผลจำลอง ( $\mu\text{m}$ ) |                       |                   | % อัตราการเคลื่อนย้ายของเซลล์ |                  |
|----------------------|-------------------------------------|--|-----------------------|-------------------|-------------------------------|------------------|
|                      |                                     | วันที่ 0                                 | วันที่ 1              | วันที่ 2          | วันที่ 1                      | วันที่ 2         |
| Control              | -                                   | 653.8 $\pm$ 2.4                          | 518.0 $\pm$ 11.7      | 475.9 $\pm$ 8.3   | 20.7 $\pm$ 1.8                | 27.1 $\pm$ 1.3   |
| สารสกัดเอทานอล       | 6.25                                | 699.5 $\pm$ 3.5                          | 506.3 $\pm$ 17.4<br>* | 382.2 $\pm$ 17.8* | 27.6 $\pm$ 2.5*               | 42.9 $\pm$ 2.6 * |
| ส่วนสกัดเฮกเซน       | 6.25                                | 677.0 $\pm$ 10.3                         | 498.0 $\pm$ 26.4<br>* | 368.5 $\pm$ 8.7*  | 26.4 $\pm$ 3.9                | 44.6 $\pm$ 1.3*  |
| ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน | 6.25                                | 699.6 $\pm$ 2.9                          | 538.0 $\pm$ 21.8*     | 237.3 $\pm$ 13.1* | 23.1 $\pm$ 3.1                | 64.3 $\pm$ 1.9*  |
| ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท | 6.25                                | 615.8 $\pm$ 8.3                          | 439.7 $\pm$ 11.4*     | 357.2 $\pm$ 8.5*  | 28.6 $\pm$ 1.8*               | 41.6 $\pm$ 1.4*  |
| ส่วนสกัดน้ำ          | 6.25                                | 583.3 $\pm$ 11.4                         | 431.4 $\pm$ 4.8*      | 374.7 $\pm$ 20.2* | 26.1 $\pm$ 0.8*               | 34.3 $\pm$ 3.5*  |

แสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E.M. (n เท่ากับ 4); - หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

ค่า % การขยับตัวของตัวอย่างทดสอบแตกต่างกันมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (0  $\mu\text{g/ml}$ ) โดย \* $p < 0.05$

#### 4.5 ผลของการผลิตคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929





คอแลเจนเป็น โปรตีนที่มีปริมาณมากที่สุดของ โปรตีนในร่างกายทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงและความสมบูรณ์กับเนื้อเยื่อทั้งหมดและยังมีหน้าที่สำคัญในการสมานบาดแผล (Enoch & Leaper, 2005) คอแลเจนชนิดที่ 1 เป็นโครงสร้างหลักของเซลล์ผิวหนังในขบวนการสมานบาดแผล นอกจากนี้ปริมาณของคอแลเจนที่สูงจะสัมพันธ์กับการยืดหยุ่นของผิวหนัง (Balekar et al, 2012) จากการศึกษาพบว่าระดับของคอแลเจนในอาหารเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยผลเพิ่มการผลิตคอแลเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ (ตารางที่ 4.5) โดยปริมาณของคอแลเจนหลังจากได้รับสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูที่ความเข้มข้น 3.12-12.5  $\mu\text{g/ml}$  อยู่ระหว่าง 11.5-42.1  $\mu\text{g/ml}$  มากกว่านั้นจากการศึกษาพบว่าส่วนสกัดไคคโลโรมีเทนที่ความเข้มข้น 12.5  $\mu\text{g/ml}$  สามารถกระตุ้นการผลิตคอแลเจนได้สูงที่สุดของความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบเท่ากับ 42.1  $\mu\text{g/ml}$  ในขณะที่สารสกัดเอทานอล ส่วนสกัดเฮกเซน ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดน้ำที่ความเข้มข้น 6.25, 3.12, 3.12 และ 12.5  $\mu\text{g/ml}$  สามารถกระตุ้นการผลิตคอแลเจนได้ดีที่สุดของความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบเท่ากับ 34.0, 36.0, 32.1 และ 36.4  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ซึ่งสนับสนุนผลการศึกษากฎที่สมานแผลของสารสกัดจากใบพลูในการกระตุ้นกระบวนการสมานแผล โดยการสร้างเนื้อเยื่อและคอแลเจนปิดบาดแผลในหนูขาวเพศเมียที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดบาดแผลที่หลัง (Nilugal, Perumal, Ugander, & Chittor, 2014)

ตารางที่ 4.5 แสดงผลของสารสกัดและส่วนสกัดจากใบพลูต่อการผลิตคอแลเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์ L929

| ตัวอย่างทดสอบ        | การผลิตคอแลเจน ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ( $\mu\text{g/ml}$ ) |                |                |                |
|----------------------|---|----------------|----------------|----------------|
|                      | 0   | 3.12           | 6.25           | 12.5           |
| Control              | 22.7 $\pm$ 2.9  | -              | -              | -              |
| สารสกัดเอทานอล       | -   | 19.9 $\pm$ 2.2 | 34.0 $\pm$ 1.3 | 27.8 $\pm$ 3.1 |
| ส่วนสกัดเฮกเซน       | -   | 36.0 $\pm$ 2.7 | 31.1 $\pm$ 2.6 | 20.5 $\pm$ 2.0 |
| ส่วนสกัดไคคโลโรมีเทน | -   | 27.9 $\pm$ 2.6 | 37.5 $\pm$ 2.4 | 42.1 $\pm$ 2.3 |
| ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท | -   | 32.1 $\pm$ 1.5 | 20.0 $\pm$ 2.4 | 18.5 $\pm$ 1.7 |
| ส่วนสกัดน้ำ          | -   | 11.5 $\pm$ 2.5 | 28.0 $\pm$ 3.2 | 36.4 $\pm$ 3.8 |

แสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E.M. (n เท่ากับ 4); - หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

ค่า % การยับยั้งของตัวอย่างทดสอบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (0  $\mu\text{g/ml}$ ) โดย \* $p < 0.05$

## 5. บทสรุป

การศึกษาค้นสมบัติที่จำเป็นต่อการสมานแผลของใบพลูในด้านต่าง ๆ คือ ด้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ การเพิ่มจำนวนเซลล์และการเคลื่อนย้ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ รวมถึงการสร้างคอแลเจน พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบพลูมีคุณสมบัติสมานแผลที่ดี โดยส่วนสกัดที่แยกได้จากใบพลูมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและด้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยเฉพาะส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท ในขณะที่ส่วนสกัดไคคโลโรมีเทนจากใบพลูมีฤทธิ์กระตุ้นให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์เพิ่มจำนวนและเพิ่มการเคลื่อนย้ายของเซลล์ และสามารถกระตุ้นการผลิตคอแลเจนชนิดที่ 1 ได้สูงที่สุดจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าใบพลูมีศักยภาพในการสมานแผลโดยลดการอักเสบ ส่งเสริมการสร้างเนื้อเยื่อและคอแลเจนในการรักษาบาดแผลได้



## 6. ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาส่วนสกัดต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอลจากใบพลูมีฤทธิ์ในกระบวนการสมานแผลที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของสารสำคัญที่พบได้ในแต่ละส่วนสกัด ดังนั้นการศึกษาสารสำคัญในส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไปในอนาคต

### เอกสารอ้างอิง

- กมลวรรณ เจนวิถีสุข. (2556). กระบวนการหายของแผลและหลักการรักษา. *ศรีนครินทร์เวชสาร*, 28, 10-17.
- สมพร ภูติยานันต์. (2551). *สมุนไพรใกล้ตัว เล่ม 13 ว่าด้วยสมุนไพรแต่งสี กลิ่น รส*. เชียงใหม่: ตูลย์การพิมพ์.
- Abraham, N.N., Kanthimathi, M S & Azi, A.A. (2012) *Piper betle* Shows Antioxidant Activities, Inhibits MCF-7 Cell Proliferation and Increases Activities of Catalase and Superoxide Dismutase. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(220), 1-11.
- Balekar, N., Katkam, N.G., Nakpheng, T., Jehtae, K., & Srichana, T. (2012). Evaluation of Wound Healing Potential of *Wedelia trilobata* (L.) Leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 817-824.
- Enoch, S., & Leaper, D.J. (2005). Basic Science of Wound Healing. *Journal of Surgery (Oxford)*, 23(2), 37-42.
- Ganguly, S., Mula, S., Chattopadhyay, S., & Chatterjee, M. (2007). An Ethanol Extract of *Piper betle* Linn. Mediates Its Anti-inflammatory Activity Via Down-regulation of Nitric Oxide. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(5), 711-718.
- Hajare, R., Darvhekar, V. M., Shewale, A., & Patil, V. (2011). Evaluation of Antihistaminic Activity of *Piper betel* Leaf in Guinea Pig. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(2), 113-117.
- Nguyen, D.T., Orgil, D.P., & Murphy, G.F. (2009). *The Pathophysiologic Basis for Wound Healing and Cutaneous Regeneration*. Woodhead Publishing (UK/Europe) & CRC Press (US): Cambridge/Boca Raton.
- Nilugal, C.K., Perumal, K., Ugander, R.E., & Chittor, A. (2014). Evaluation of Wound Healing Activity of *Piper Betle* Leaves and Stem Extract in Experimental Wistar Rats. *American Journal of PharmTech Research*, 4(3), 443-452.
- Sudsai, T., Wattanapiromsakul, C., & Tewtrakul, S. (2013). Inhibition of Nitric Oxide Production by Compounds from *Boesenbergialongiflora* Using Lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 Macrophage Cells. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 35(3), 317-323.