

นิพนธ์ต้นฉบับ

การก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังของสารสกัดแอลกอฮอล์ดีป्लीในอาสาสมัคร สุขภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ ๑)

วรางคณา ไตรยสุทธิ์*, อรุณพร อธิรัตน์**,***,
พัลลภ จักรวิทย์อำรง***, ภูริทัต กนกกั้งสดาล****

บทคัดย่อ

- บทนำ:** การทดสอบการก่อการระคายเคืองและการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันต่อผิวหนังจำเป็นอย่างยิ่งในการทดสอบความปลอดภัยของสารสกัดของพืชก่อนนำมาใช้ ซึ่งดีป्लीเป็นพืชที่ใช้เป็นส่วนประกอบของตำรับยาไทยหลายตำรับ และใช้เป็นยาทาภายนอกบรรเทาอาการปวดอักเสบของกล้ามเนื้อ โดยการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่าดีป्लीมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ดังนั้นการศึกษาการก่อการระคายเคืองของดีป्लीจึงมีความสำคัญในการใช้เป็นข้อมูลเตรียมยาทาจากดีป्लीในอนาคต โดยวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการก่อการระคายเคืองและการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันของสารสกัดแอลกอฮอล์ของดีป्लीในอาสาสมัครสุขภาพดี
- วิธีการศึกษา:** ด้วยวิธีการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (closed patch test under occlusion) ใช้ชุดทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป TRUE test® เป็นตัวควบคุม โดยเปรียบเทียบกับสารสกัดแอลกอฮอล์ของดีป्लीที่ความเข้มข้นร้อยละ ๐.๕, ๑, ๓ และ ๕
- ผลการศึกษา:** จากการทดสอบสารสกัดเอทานอล ๕๕% ของดีป्ली ในการก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังของอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน ๑๐ คน เป็นเพศชาย ๕ คน เพศหญิง ๕ คน อายุระหว่าง ๒๑ - ๕๖ ปี พบว่าไม่ก่อการระคายเคืองและไม่พบการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิคุ้มกัน ส่วนผลการทดสอบชุดทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป TRUE test® ไม่พบการระคายเคือง แต่พบการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันในสารที่ใช้ทดสอบ คือ wool alcohol (lanolin), epoxy resin, thimerosal และ gold sodium thiosulfate (GST) (ความถี่ชนิดละ ๑/๑๐ หรือร้อยละ ๑๐)
- วิจารณ์ และสรุปผลการศึกษา:** สารสกัดแอลกอฮอล์ของดีป्लीไม่พบการก่อการระคายเคืองและการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันต่อผิวหนังของอาสาสมัครจึงมีความปลอดภัยสูง ดังนั้นดีป्लीมีความเหมาะสมในการนำไปใช้เตรียมยาหรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ สำหรับใช้ภายนอกกับผิวหนัง
- คำสำคัญ:** การระคายเคืองต่อผิวหนัง, สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์, ดีป्ली, อาสาสมัครสุขภาพดี

วันที่รับบทความ: ๓ มิถุนายน ๒๕๕๔

วันที่อนุญาตให้ตีพิมพ์: ๕ กรกฎาคม ๒๕๕๔

* นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สถาบันการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

** ศูนย์ความเป็นเลิศทางการวิจัยแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

*** ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

**** สถาบันการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

unnā

ผลติปัส (Long Pepper) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper chaba* Hunt. มีชื่อพ้องว่า *Piper retrofractum* Vahl. อยู่ในวงศ์ PIPERACEAE มีชื่ออื่นว่า ตีปัสเชือก ประดงข้อ* ซึ่งตามทฤษฎีของแพทย์แผนไทยจัดเป็นสมุนไพรประจำธาตุดิน ช่วยระงับธาตุปฏิวาหะ ดอกตีปัสเป็นยารสเผ็ดร้อนขม สรรพคุณทางแผนโบราณใช้บำรุงธาตุ ขับลม แก้จุกเสียด ใช้เป็นยาสำหรับใช้กับทางเดินหายใจ เช่น ขับเสมหะ แก้หืด แก้หลอดลมอักเสบ และแก้หอบหืดไม่หลับ แก้ลมบ้าหมู เป็นยาขับน้ำดี เป็นยาขับระดู ทำให้สตรีเกิดอาการแท้งบุตร เป็นยาขับพยาธิในท้อง ใช้เป็นยาทาภายนอกสำหรับบรรเทาอาการปวดที่กล้ามเนื้อ โดยทำให้ร้อนแดงและมีเลือดมาเลี้ยงบริเวณนั้นมากขึ้นจึงสามารถแก้อาการอักเสบ* ตีปัสถูกใช้เป็นตัวยาตัวหนึ่งในตำรับยาไทย เช่น ยาสหัสธารา* เบญจกูล และอีกหลายตำรับ ซึ่งสารสำคัญในผลติปัส คือ piperine เป็นสารที่มีผลต่อ TRPV1 ซึ่งมีผลต่อการปวด* นอกจากนี้จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาขึ้นเอทธานอลของตีปัสยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ทั้งฤทธิ์ต้านการอักเสบเฉียบพลัน* และฤทธิ์ต้านการอักเสบกึ่งเรื้อรัง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) นอกจากนี้การศึกษาคือความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรัง (toxicity) ของตีปัสไม่พบการก่อให้เกิดพิษในสัตว์ทดลอง*

ดังนั้น ตีปัส น่าจะถูกนำมาใช้ในการเป็นยาทาแก้การอักเสบของกล้ามเนื้อ แก้ปวด ยับยั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียโดยการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดเอทธานอลของตีปัสในรูปยาทา ยังไม่มีรายงานผลการระคายเคืองในการใช้สารสกัดเอทธานอลของตีปัสทาบนผิวหนังของอาสาสมัครสุขภาพดี ดังนั้นการศึกษาประสิทธิผลของยาทาจากสารสกัดขึ้นเอทธานอลของตีปัสจะเป็นข้อมูลการศึกษาในผู้ป่วยหรือเพื่อนำไปใช้เตรียมยาหรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ สำหรับใช้ภายนอกกับผิวหนังจากสารสกัดขึ้นเอทธานอลของตีปัส

วิธีการศึกษา

๑. รูปแบบการศึกษา

เป็นการศึกษาทดลองทางคลินิกในอาสาสมัครสุขภาพดี เพื่อศึกษาการก่อการระคายเคือง และการก่อการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ของสารสกัดแอลกอฮอล์ตีปัส ด้วยวิธีการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (closed patch test under occlusion) ใช้ชุดทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป TRUE test® เป็นตัวควบคุม

๒. สารทดสอบผิวหนังจากสารสกัดสมุนไพร

เตรียมสารสกัดแอลกอฮอล์ของตีปัสที่เก็บจากอำเภอเขาสมิง จังหวัดจันทบุรี เนื่องจากมีการปลูกตีปัสจำนวนมาก

และสามารถเก็บผลสดๆ มาศึกษาในงานวิจัย โดยนำมาทำให้แห้งที่อุณหภูมิ ๕๐ องศาเซลเซียส บดเป็นผง จำนวน ๕๐๐ กรัม หมักด้วยแอลกอฮอล์ ๘๕% นาน ๓ วัน กรองและระเหยแห้ง ด้วยเครื่อง evaporator ทำให้แห้งด้วย Vacuum dry ได้สารสกัด ๘๘.๕ กรัม และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณของ piperine ด้วย High performance liquid chromatography (HPLC) ตามวิธีของ Itharat and Sakpukdeejaroen* ได้สาร piperine มีปริมาณ ๑๘๔.๑๐ มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดตีปัส

การตรวจสอบการก่อการระคายเคืองและการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ต่อผิวหนังของอาสาสมัคร โดยเตรียมสารสกัดแอลกอฮอล์ของตีปัสในสารพืชน้ำมันบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ ๐.๕, ๑, ๓ และ ๕ น้ำหนักต่อน้ำหนัก (ปริมาณสารสกัดสมุนไพรหน่วยกรัมของวาสลีนต่อหน่วยกรัมของวาสลีน)*

๓. สารทดสอบสำเร็จรูปมาตรฐาน

ใช้ชุดทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป TRUE test® ชนิด ๓ ชุดทดสอบ (3 panel) ซึ่งในเวชปฏิบัติใช้เป็นชุดทดสอบคัดกรองเบื้องต้นในการหาสาเหตุของผู้ป่วยโรคผื่นแพ้สัมผัส ชุดทดสอบนี้ประกอบด้วยสารทดสอบมาตรฐาน ๓๖ ชนิด ที่เป็นสาเหตุที่พบบ่อยของโรคผื่นแพ้สัมผัส

๔. การพิจารณาทางจริยธรรม

การศึกษาวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติให้ทำการวิจัยโดยคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ชุดที่ ๑ คณะแพทยศาสตร์ หนังสือรับรองเลขที่ ๑๐๐/๒๕๕๙

๕. อาสาสมัคร

ตัวอย่างเป็นอาสาสมัครสุขภาพดีจากการประกาศรับสมัครอาสาสมัครเพื่อการวิจัย ซึ่งการวิจัยนี้เป็นการวิจัยทางคลินิกระยะที่ ๑ จำนวนอาสาสมัครที่แนวทางจริยธรรมการทำวิจัยในคนในประเทศไทย พ.ศ. ๒๕๕๐ ระบุไว้ไม่ควรเกิน ๓๐ คน โดยการทำการ closed patch test under occlusion เพื่อการทดสอบสารที่ไม่ใช่สารทดสอบมาตรฐานต้องทำการทดสอบอย่างต่ำ ๑๐ คน จึงจะสามารถแปลผลได้* ดังนั้นการศึกษานี้จึงเลือกใช้อาสาสมัครเป็นคนปกติที่มีสุขภาพดีจำนวน ๑๐ คน เลือกตัวอย่างแบบเจาะจง (purposive sampling) โดยกำหนดเกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (inclusion criteria) คือ เป็นเพศหญิงและเพศชาย อายุระหว่าง ๒๐ - ๖๐ ปี จำนวน ๑๐ คน มีสุขภาพแข็งแรง และกำหนดเกณฑ์การไม่รับอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (exclusion criteria) คือ มีโรคประจำตัวหรือมีประวัติเป็นโรคหัวใจ โรคตับ โรคไต โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน เช่น โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคแพ้ภูมิตัวเอง มีประวัติแพ้ยาสมุนไพร มีผื่นแพ้ยา สำหรับผู้ที่ได้รับยา เช่น ยาแก้แพ้ ยาทาสดิเอรอลยด์ ยาคุมกำเนิด

ที่ไม่สามารถหยุดยาได้อย่างน้อย ๑๔ วัน มีผื่น แผลเป็น หรือ รอยโรคที่ผิวหนังบริเวณแผ่นหลัง และถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่ตั้งครรภ์และไม่อยู่ในระหว่างให้นมบุตร

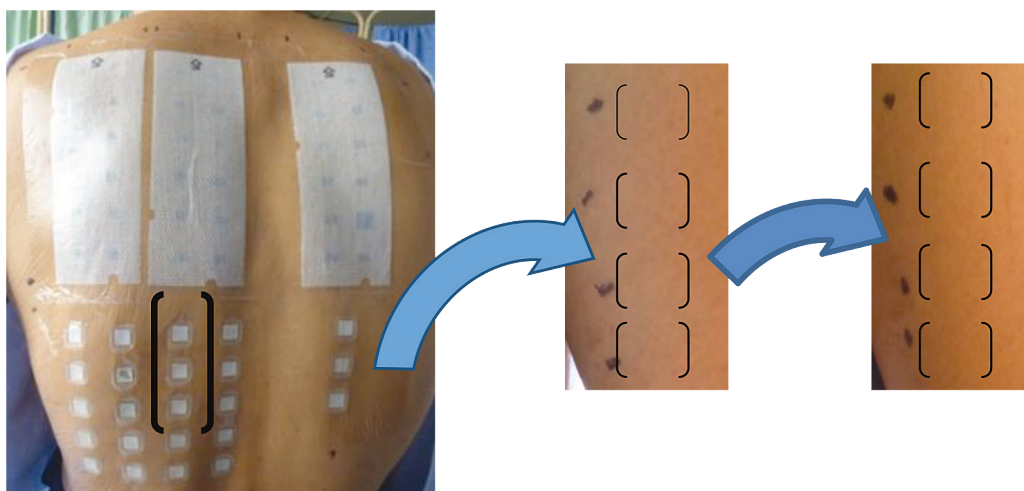
๖. การทดสอบผิวหนัง

ใช้วิธีการทดสอบตามมาตรฐานโดยปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (closed patch test under occlusion) เพื่อดูการก่อการระคายเคือง (irritant reaction) และการเกิดการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ (allergic reaction) ซึ่งการอ่านและแปลผลตามคำแนะนำของ International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG)^๗ ดังนี้

ตรวจแผ่นหลังส่วนบนของอาสาสมัคร สังเกตว่ามี ผื่น ตุ่ม ในบริเวณใดในลำตัวหรือไม่ หลังจากนั้นเช็ดให้สะอาดด้วย ๗๐% แอลกอฮอล์ ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำสารทดสอบจากสารสกัดดีปัสไคโน Finnc Chamber[®] หลุมละความเข้มข้นคือ ร้อยละ ๐.๕, ๑, ๓ และ ๕ ตามลำดับ โดยใส่ปริมาณเล็กน้อย แล้วปิดให้พอดีกับขอบของปากหลุมเพื่อไม่ให้สารทดสอบ

ล้นขอบออกมาเวลาปิดที่แผ่นหลัง จากนั้นนำแผ่นสารทดสอบของดีปัสไคโนที่เตรียมไว้และ TRUE test[®] ลอกแผ่นฟิล์มกันน้ำออก ปิดลงบนแผ่นหลังตามแนวข้างกระดูกสันหลังระหว่างสะบักของอาสาสมัครทั้ง ๒ ข้าง ซึ่งควรติดให้แนบสนิทกับผิวหนัง แล้วปิดทับแผ่นทดสอบทั้งหมดด้วย Microfilm ดังรูปที่ ๑ (รูปซ้าย)

เมื่อปิดสารทดสอบครบ ๔๘ ชั่วโมง (วันที่ ๒) ให้แกะแผ่นทดสอบทั้งหมดออกแล้วไม่ปิดกลับไปอีกเลย จากนั้นเช็ดแผ่นหลังบริเวณที่ทดสอบของอาสาสมัครให้สะอาดด้วย ๗๐% แอลกอฮอล์ จึงให้อาสาสมัครนั่งพักประมาณ ๓๐ นาที แล้วทำการอ่านผลครั้งที่ ๑ ดังรูปที่ ๑ (รูปกลาง) และอ่านผลครั้งที่ ๒ ที่เวลา ๙๖ ชั่วโมง (วันที่ ๔) ดังรูปที่ ๑ (รูปขวา) และมีการอธิบายให้อาสาสมัครสังเกตอาการที่เกิดขึ้นตั้งแต่ปิดสารทดสอบวันแรกจนถึง ๓ สัปดาห์ เพื่อสังเกตอาการผิดปกติที่อาจเกิดขึ้นจากสารทดสอบ



รูปที่ ๑ การปิดแผ่นทดสอบบนแผ่นหลังตามแนวข้างกระดูกสันหลังระหว่างสะบักของอาสาสมัครทั้ง ๒ ข้าง (รูปซ้าย) การอ่านผลครั้งที่ ๑ เมื่อปิดสารทดสอบครบ ๔๘ ชั่วโมง (วันที่ ๒) (รูปกลาง) และการอ่านผลครั้งที่ ๒ ที่เวลา ๙๖ ชั่วโมง (วันที่ ๔) (รูปขวา)

ตารางที่ ๑ การแปลผลตามคำแนะนำของ International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG)^๗

ระดับความรุนแรง	การแปลผล
?+	ผลบวกไม่ชัดเจน (doubtful)
+	ผลบวกอย่างอ่อน (weak reaction) คือ มีผื่นนูนแดง แต่ไม่มีตุ่มน้ำ
++	ผลบวกอย่างแรง (strong reaction) คือ มีผื่นนูนแดง มีตุ่มใสขนาดเล็ก
+++	ผลบวกอย่างรุนแรง (extreme reaction) คือ มีผื่นนูนแดง มีตุ่มน้ำใสขนาดใหญ่ หรือเป็นแผล
IR	ปฏิกิริยาจากการทำให้ระคาย

ผลการศึกษา

อาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน ๑๐ คน เป็นเพศชาย ๕ คน เพศหญิง ๕ คน อายุระหว่าง ๒๑ - ๕๖ ปี (M = ๓๒.๓, SD. = ๑๐.๐๐) ผลการทดสอบสารสกัดแอลกอฮอล์ของดีปลี่ ที่ความเข้มข้นร้อยละ ๐.๕, ๑, ๓ และ ๕ ไม่พบการก่อการระคายเคืองและไม่พบการแพ้แบบปฏิกิริยาอิมมูน ส่วนผลการทดสอบชุดทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป TRUE test® ไม่พบการระคายเคือง แต่พบการแพ้แบบปฏิกิริยาอิมมูนในสารที่ใช้ทดสอบคือ wool alcohol (lanolin), epoxy resin, thimerosal และ gold sodium thiosulfate (GST) (จำนวนและความถี่ชนิดละ ๑ คน หรือความถี่ชนิดละ ๑/๑๐) ดังตารางที่ ๒ และภายหลังการปิดสารทดสอบวันแรกถึง ๓ สัปดาห์ อาสาสมัครที่มีอาการแพ้สารมาตรฐานอาการค่อยๆ บรรเทาขึ้น และไม่มีอาการผิดปกติใดๆ เกิดขึ้นเพิ่มเติม

ตารางที่ ๒ แสดงความถี่ของการระคายเคือง (irritant reaction) และการเกิดการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ (allergic reaction) ของอาสาสมัครปกติ

[illegible]

[illegible]

ตารางที่ ๒ แสดงความถี่ของการระคายเคือง (irritant reaction) และการเกิดการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ (allergic reaction) ของอาสาสมัครปกติ (ต่อ)

สารทดสอบ	จำนวนอาสาสมัครที่เกิดปฏิกิริยาตามระยะเวลาที่อ่านผล									
	๔๘ ชั่วโมง					๙๖ ชั่วโมง				
	ไม่ชัด		ผลบวก			ไม่ชัด		ผลบวก		
	?+	+	++	+++	IR	?+	+	++	+++	IR
สารสกัดสมุนไพร										
๑. สารสกัดดีป्ली										
EtOH. Ext. 0.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒. สารสกัดดีป्ली										
EtOH. Ext. 1%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๓. สารสกัดดีป्ली										
EtOH. Ext. 3%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๔. สารสกัดดีป्ली										
EtOH. Ext. 5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๕. Pure white petrolatum										
(negative control)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ สัญลักษณ์ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็ก a - j ที่ถูกยกไว้บนตัวเลขแสดงถึงอาสาสมัครคนที่ ๑ - ๑๐ ตามลำดับว่ามีการระคายเคืองหรือการแพ้จำนวนกี่คน

วิจารณ์ และสรุปผลการศึกษา

การแพทย์แผนไทยใช้ผลของดีป्लीเป็นยาทาภายนอกสำหรับบรรเทาอาการปวดที่กล้ามเนื้อโดยใช้ร่วมกับยาอื่น อาทิเช่น ตำรับสหัสธาราซึ่งมีสารสกัดดีป्लीมากเป็นอันดับที่สองรองจากพริกไทยที่เป็นพืชตระกูลเดียวกัน^๖ โดยเป็นการทำให้ร้อนแดงและมีเลือดมาเลี้ยงบริเวณนั้นมากขึ้นจึงสามารถแก้อาการอักเสบ^๗ ซึ่งมีการศึกษาพบสารสำคัญในผลของดีป्ली คือ piperine^๘ ที่มีผลต่อ TRPV1 ซึ่งเป็น receptor ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการตอบสนองของระบบประสาทสัมผัส เช่น ความเจ็บปวด ความเผ็ด^๙ พบลักษณะแบบเดียวกันนี้ในสารสมุนไพรหลายอย่าง เช่น พริก ขิง กานพลู การบูร^{๑๐} โดยมีฤทธิ์ทำให้เกิดความรู้สึกร้อน (counter irritant) จึงสามารถนำมาใช้ในการบรรเทาอาการปวดกล้ามเนื้อ บรรเทาอาการปวดเส้นประสาท ปวดแหว่ บรรเทาอาการคัน และการอักเสบของนิ้วมือนิ้วเท้าเนื่องจากความหนาวเย็น และดีป्लीยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่ามีฤทธิ์สามารถต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ทั้งฤทธิ์ด้านการอักเสบเฉียบพลัน^{๑๑}

และฤทธิ์ด้านการอักเสบกึ่งเรื้อรัง จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่า สารสกัดชั้นเอทานอล ไม่มีผลทำให้เกิดอาการแพ้ ทั้งสี่ความเข้มข้น คือ ความเข้มข้นร้อยละ ๐.๕, ๑, ๓ และ ๕ ทั้งการระคายเคืองและแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ อีกทั้งไม่พบรอยแดงทั้งที่เวลา ๔๘ และ ๙๖ ชั่วโมง

ส่วนผลการทดสอบชุดทดสอบมาตรฐานสำเร็จรูป TRUE test[®] ไม่พบการระคายเคือง แต่พบการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ในสารที่ใช้ทดสอบ คือ wool alcohol (lanolin), epoxy resin, thimerosal และ gold sodium thiosulfate (GST) (ความถี่ชนิดละ ๑/๑๐ หรือร้อยละ ๑๐) แสดงว่าอาสาสมัครคนที่ ๑ หรือคนที่ a มีอาการแพ้ wool alcohol (lanolin) แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ระดับบวก ๑ คือ เกิดรอยที่ ๙๖ ชั่วโมง คนที่ ๘ หรือคนที่ h มีอาการแพ้ thimerosal แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้เช่นกันระดับบวก ๑ เมื่อเวลา ๔๘ ชั่วโมง และเมื่อเวลา ๙๖ ชั่วโมง แพ้เพิ่มเป็นระดับบวก ๒ แต่ไม่แพ้ gold sodium thiosulfate ซึ่งอาจแพ้ปรอทแต่ไม่แพ้ซิลเฟออร์ที่มีในสารนี้ เพราะไม่แพ้ gold sodium thiosulfate ที่เป็นทั้งทองและ

กัมมะถัน ส่วนคนที่ ๑๐ หรือคนที่ j มีอาการแพ้ epoxy resin แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ระดับบวก ๑ เมื่อเวลา ๔๘ ชั่วโมง และเมื่อเวลา ๙๖ ชั่วโมง และมีอาการแพ้ gold sodium thiosulfate แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ระดับบวก ๒ เมื่อเวลา ๔๘ ชั่วโมง และเมื่อเวลา ๙๖ ชั่วโมง แสดงว่าคนที่ ๑๐ หรือคนที่ j มีอาการแพ้สารที่มีส่วนประกอบเป็นทองและกัมมะถัน ได้แก่ gold sodium thiosulfate แต่คนที่ ๑๐ ไม่แพ้ thimerosal หรือ sodium ethylmercuri thiosalicylate ซึ่งเป็นสารที่มีส่วนผสมของปรอทและซัลเฟอร์ที่ใช้มาเชื้อ แสดงว่าคนที่ ๑๐ หรือคนที่ j แพ้ทองแต่ไม่แพ้ปรอทและซัลเฟอร์

เนื่องจากอาสาสมัครไม่มีการระคายเคืองและการแพ้สารสกัดชั้นเอทธานอลของติปลิที่ใส่ความเข้มข้น แสดงว่าสารสกัดชั้นเอทธานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ ๕ ก็ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ดังนั้นในการวิจัยต่อไปควรใช้ความเข้มข้นมากกว่านี้เพื่อดูว่าความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ก่อให้เกิดผื่นแพ้สัมผัสต่อผิวหนัง อย่างไรก็ตามยังไม่มีผู้ใดศึกษาเรื่องการระคายเคืองของสารสกัดติปลิมาก่อน มีเพียงการศึกษาของ piperine จากพริกไทย ขนาดที่ระคายเคืองคือ ๗๕ ppm^{๑๐} ดังนั้นในสารสกัดติปลิที่ใช้มี piperine ปริมาณ ๑๙๔.๑๐ มิลลิกรัม ต่อกรัมของสารสกัดติปลิ เมื่อใช้ ๕ กรัม มี piperine ๙๗๐.๕ มิลลิกรัมหรือ ๐.๙๗๐๕ กรัม และในครีม ๑๐๐ กรัม มี piperine ๐.๙๗๐๕ กรัม หรือร้อยละ ๑ ซึ่งมีค่ามากกว่า ๗๕ ppm แต่ไม่พบอาการแพ้ ทั้งนี้สารอื่นที่ผสมในครีมอาจช่วยลดการเกิดระคายเคืองจากสาร piperine ได้ ซึ่งการศึกษาสารสกัดชั้นเอทธานอลของติปลิครั้งนี้ถือว่าได้ความรู้ใหม่ในการทดสอบต่อผิวหนังของสารสกัดสมุนไพรที่มีสาร piperine เป็นสารสำคัญ

ผลการศึกษารูปได้ว่า สารสกัดแอลกอฮอล์ของติปลิไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองและการแพ้แบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ต่อผิวหนังของอาสาสมัครจึงมีความปลอดภัยสูง แม้ในการวิจัยนี้ยังทำการทดสอบในอาสาสมัครจำนวนไม่มากนัก ดังนั้นสารสกัดชั้นเอทธานอลของติปลิความเข้มข้นร้อยละ ๐.๕, ๑, ๓ และ ๕ มีความเหมาะสมนำไปใช้เตรียมยาหรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ สำหรับใช้ภายนอกกับผิวหนัง และศึกษาประสิทธิผลเมื่อใช้ในผู้ป่วยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงานวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศทางการวิจัยแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

๑. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ติปลิ. [อินเทอร์เน็ต] ๒๕๕๙. [เข้าถึงเมื่อ ๑๔ มีนาคม ๒๕๕๙] เข้าถึงได้จาก: <http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=223>.
๒. ชยันต์ พิเชียรสุนทร, แม้นมาส ชวลิต, วิเชียร จีรวงศ์. คำอธิบายตำราโอสถพระนารายณ์. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์อมรินทร์; ๒๕๔๘.
๓. Pinsornsak P, Kanokkangsadal P, Itharat A. The clinical efficacy and safety of the sahasara remedy versus diclofenac in the treatment of osteoarthritis of the knee: A double-blind, randomized, and controlled trial. Evid Based Complement Alternat Med 2015; 2015:103046.
๔. Rao VR, Suresh G, Babu KS, Raju SS, Vishnu vardhan MV, Ramakrishna S, et al. Novel dimeric amide alkaloids from *Piper chaba* Hunter: Isolation, cytotoxic activity, and their biomimetic synthesis. Tetrahedron 2011;67:1885-92.
๕. นันทวัน บุญยะประภัศร, อรุณช โชคชัยเจริญพร. สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน. กรุงเทพมหานคร: บริษัทประชาชน; ๒๕๔๑ หน้า ๔๙๖-๕๐๓.
๖. Itharat A, Sakpakdeejaroen I. Determination of cytotoxic compounds of Thai traditional medicine called Benjakul using HPLC. J Med Assoc Thai 2010;93 Suppl 7:S198-203.
๗. วรมหา สุวรรณรัตน์. การศึกษาทางคลินิกระยะที่ ๑ เรื่องความปลอดภัยของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียร (ห้าราก) และสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบของตำรับ. [วิทยานิพนธ์ปริญญาโท] ปทุมธานี: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; ๒๕๕๔.
๘. Tominaga M, Caterina MJ. Thermosensation and pain. J Neurobiol 2004;61:3-12.
๙. Vriens J, Nilius B, Vennekens R. Herbal compounds and toxins modulating TRP channels. Curr Neuropharmacol 2008;6:79-96.
๑๐. Dessirier JM, Nguyen N, Sieffermann JM, Carstens E, O'Mahony M. Oral irritant properties of piperine and nicotine: psychophysical evidence for asymmetrical desensitization effects. Chem Senses 1999;24:405-13.

Abstract

Irritant reaction on skin of long pepper extract in healthy volunteers (clinical trial phase I)

Varangkhan Triyasut*, Arunporn Itharat**,****, Panlop Chakkavittumrong***, Puritat Kanokkangsadal****

* Student of Master of Science, Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University

** Centre of Excellence in Applied Thai Traditional Medicine Research (CEATMR), Faculty of Medicine, Thammasat University

*** Department of Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University

**** Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University

Introduction: Testing promoter irritation and allergic reaction to the skin's immune is absolutely necessary for safety testing of the plant extract before formulation. *Piper chaba* fruits (long pepper) is a component in multi-drug formulations of Thai traditional medicine. It is used for topical pain relief, anti-inflammation of the muscles. In pharmacological studies, it could be used as anti-inflammatory and reducing pain. The extract is not toxic in either sub-acute and chronic toxicity test. Thus, study of safety of *Piper chaba* extract regarding irritation and immunomodulatory allergy on skin is necessary. These data are used for formulation of topical preparation in the future. Objective was to investigate on irritant reaction and immunomodulatory allergy of the ethanolic extract of *Piper chaba* fruit (long pepper) on skin in healthy volunteers.

Method: Clinical safety was studied of ethanolic extract of *Piper chaba* fruit (long pepper). The allergic reaction and irritation reaction in normal human skin were tested using closed patch test under occlusion by comparison between standard testing or TRUE test® as control with the concentration of the ethanolic extract of *Piper chaba* fruit at concentration 0.5, 1, 3 and 5%.

Result: From clinical study, ten healthy adults were 5 males, 5 females, aged and 21 - 56 years. They had no irritation or immunomodulatory allergic reaction with all the concentration of the ethanolic extract of *Piper chaba* fruit (long pepper) test and no irritation in TRUE test®. However, the irritation of positive allergic reagent, especially wool alcohol (lanolin), epoxy resin, thimerosal and gold sodium thiosulfate (GST) showed the highest frequency in these volunteers (frequency of finding in volunteer was 1/10 in each reagent or 10%).

Discussion and Conclusion: In conclusion, the ethanolic extract of *Piper chaba* fruit showed no irritation nor allergic reaction to human skin, so it may be safe and suitable for drug preparation and the other products of external skin treatment.

Key words: Irritant reaction, Ethanolic extract, Long pepper, *Piper chaba*, Healthy volunteers