



วว.

โครงการวิจัยที่ ภ. 45-04 / ย. 3 / รายงานฉบับสมบูรณ์

ศึกษาลู่ทางการใช้ประโยชน์ สมุนไพรที่หายากและใกล้สูญพันธุ์



สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ. 45-04

การพัฒนาทรัพยากรพรรณพืชสมุนไพรที่หายากและใกล้สูญพันธุ์

โครงการย่อยที่ 3

ศึกษากลุ่มการใช้ประโยชน์สมุนไพรที่หายากและใกล้สูญพันธุ์

รายงานฉบับสมบูรณ์

ศึกษากลุ่มการใช้ประโยชน์สมุนไพรที่หายากและใกล้สูญพันธุ์

โดย

บุปผชาติ พตด้วง

รัตนศิริ จิวานนท์ พงศธร หลิมศิริวงษ์

กฤติยา ทิทยากร มณีรัตน์ มีพลอย

วิภาพร พัฒน์เวช ยาวลักษณ์ เบ็ญมาศ

ชญวรัตน์ กาจสงคราม ชาญชัย จงสิริฤกษ์

บรรณาธิการ

ลิขิต หาญจางสิทธิ์

บุญเรียม น้อยชุมแพ

วว., กรุงเทพฯ 2555

สงวนลิขสิทธิ์

รายงานฉบับนี้ได้รับการอนุมัติให้พิมพ์โดย
ผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



(นายขงวุฒิ เสาวพฤกษ์)
ผู้ว่าการ

บทกล่าวนำ

ปัจจุบันนักวิจัยทั่วโลกกำลังสนใจค้นคว้าหาวิธีใช้ประโยชน์จากสมุนไพร เพื่อพัฒนาเป็นยาและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ตามตำรายาพื้นบ้าน หรือพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดหายาบ, ทั้งศึกษาสูตรโครงสร้างสารออกฤทธิ์เพื่อใช้เป็นต้นแบบของสารกึ่งสังเคราะห์หรือสารสังเคราะห์ในอุตสาหกรรมยา ทำให้ประเทศที่เป็นถิ่นกำเนิดสมุนไพร เช่น ประเทศไทยต้องจ่ายค่าสิทธิบัตรสูงมากรวมอยู่ในราคาผลิตภัณฑ์ หรือการถ่ายทอดเทคโนโลยี. ดังนั้น จึงจำเป็นต้องเร่งสร้างองค์ความรู้เพื่อพัฒนาสมุนไพรอย่างครบวงจร โดยเริ่มที่สมุนไพรหายากและใกล้สูญพันธุ์ก่อน.

คณะนักวิจัยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการวิจัยโครงการศึกษาสู่ทางการใช้ประโยชน์สมุนไพรที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ ในชุดโครงการพัฒนาทรัพยากรพรรณพืชสมุนไพรที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ ระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2545-2549, โดยนำผงสมุนไพรมาศึกษาคุณสมบัติทางพิษเคมี ด้วยเทคนิค TLC fingerprints และ HPLC fingerprints เพื่อใช้อ้างอิงชนิดของสมุนไพร. ทั้งได้ทำการศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดเอทานอลจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นที่บ่งชี้ถึงศักยภาพในการพัฒนาเชิงอุตสาหกรรม. สมุนไพรที่วิจัยในโครงการนี้ได้มีการรวบรวมพันธุ์ไว้ในแปลงขยายพันธุ์ที่สถานีวิจัยพืชล้มลุก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา เพื่อเป็นแหล่งศึกษาค้นคว้าของนักศึกษาและประชาชนทั่วไป.

โครงการวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความร่วมมือร่วมใจจากนักวิจัย 4 กลุ่ม คือ นักวิชาการเกษตร ทำการจำแนกและจัดหาวัตถุดิบสมุนไพร; นักเภสัชเคมีและนักเคมี ทำการศึกษา TLC fingerprints และ HPLC fingerprints, ความเป็นพิษต่อโรสื่อน้ำตาล, ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน, ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส; นักเภสัชวิทยา ทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ; และนักจุลชีววิทยา ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค. โดยได้มีการหมุนเวียนนักวิจัย ตามความจำเป็นของโครงการ.

กิตติกรรมประกาศ

คณะนักวิจัยขอแสดงความขอบคุณเกสท์กรทวิศักดิ์ สุนทรธนาศาสตร์ ผู้อำนวยการฝ่าย
เภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ที่อำนวยความสะดวกในการทำวิจัย; ขอบขอบคุณปริญญา วิไลรัตน์
และคุณสายัณห์ ต้นพานิช ผู้อำนวยการสถานีวิจัยพืชลำตะคอง, ดร. ปิยะ เฉลิมกลิ่น ผู้อำนวยการ
ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร วว. และคุณอิทธิฤทธิ์ อึ้งวิเชียร ที่อนุเคราะห์วัดดุจิบสมุนไพร พร้อม
รูปภาพและข้อมูลทางพฤกษศาสตร์; ขอบขอบคุณมนตรี แก้วดวง, คุณประยูรท กาวิละเวส, คุณ
สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจนันท์ และคณะเจ้าหน้าที่สถานีวิจัยพืชลำตะคองทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือในการ
จัดหาวัตถุดิบและถ่ายภาพสมุนไพร; ขอบขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่
ช่วยปฏิบัติการวิจัย คือ คุณไสว นาคาแก้ว ช่วยทำความสะอาดและบดผงสมุนไพร, คุณธนายุทธ ศรี
สม ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา, คุณเดือนตา เสมาทอง, คุณวิเชียร เขยนอก และคุณสังวาลย์ บรรจง
จิตรชัย ห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยาและพิษวิทยา; ขอขอบคุณคุณเดือนใจ เสมาทอง และเจ้าหน้าที่
ฝ่ายสนับสนุนงานวิจัย วว. ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือให้การดำเนินโครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี.

คำย่อ

ภาษาไทย

มคก.	=	ไมโครกรัม
มคล.	=	ไมโครลิตร
มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
มม.	=	มิลลิเมตร
ซม.	=	เซนติเมตร
ชม.	=	ชั่วโมง
°ซ.	=	องศาเซลเซียส

ภาษาอังกฤษ

ATCC	=	The American Type Culture Collection
BHA	=	Butylated hydroxyanisole
BHT	=	Butylated hydroxytoluene
DMST	=	Department of Medical Sciences Thailand
DPPH	=	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
EEP	=	Ethyl phenylpropionate
TLC	=	Thin Layer Chromatography
RP-HPLC	=	Reverse-phase High Performance Liquid Chromatography
LC ₅₀	=	Concentration of 50% Lethality
EC ₅₀	=	Concentration of 50% Effectiveness
IC ₅₀	=	Concentration of 50% Inhibition
BW	=	Body weight
LAB	=	Laboratory strain
L-DOPA	=	L-3, 4-dihydroxyphenylalanine
MIC	=	Minimum inhibitory concentration
µg	=	Microgram
mg	=	Milligram
ml	=	Millilitre
Phz	=	Phenylbutazone
<i>sp.</i>	=	1 species
<i>spp.</i>	=	>1 species
AR	=	Analytical reagent
N	=	Normality
w/v	=	Weight/volume
v/v	=	Volume/volume
%	=	Per cent
°C	=	Degree Celcius
<i>et al.</i>	=	And others

สารบัญ

	หน้า
บทกล่าวนำ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
คำย่อ	ค
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญรูป	ฉ
ABSTRACT	1
บทคัดย่อ	2
1. บทนำ	4
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	6
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	37
(1) บอระเพ็ดพุงช้าง (<i>Stephania suberosa</i> Forman)	37
(2) สบู่เลือด [<i>Stephania venosa</i> (Blume) Spreng]	45
(3) ข้าวหลามดง [<i>Goniothalamus laoticus</i> (Finet and Gagnep.) Ban]	53
(4) มะป่วน (<i>Mitrephora tomentosa</i> Hook. f.)	59
(5) จำปาหลวง (<i>Manglietia utilis</i> Dandy)	65
(6) ยี่หุบป्ली [<i>Magnolia liliifera</i> (L.) Baill. var. <i>liliifera</i>]	72
(7) หินระเบิด (<i>Osyris</i> sp.)	80
(8) ช้างงาเอก (unidentified sp.)	86
(9) ลีรินธรวัลลี (<i>Bauhinia sirindhorniae</i> K. & S.S. Larsen)	93
(10) รากสามสิบ (<i>Asparagus racemosus</i> Willd.)	99
(11) หมูมานประสานกาย (<i>Schefflera leucantha</i> Viguier)	106
(12) พญาไม้ (<i>Podocarpus neriifolius</i> D. Don)	112
(13) กวาวเครือขาว (<i>Pueraria candollei</i> Wall. ex Benth. var. <i>mirifica</i>)	118
(14) ว่านชักมดลูก (<i>Curcuma comosa</i> Roxb.)	125
(15) เถาวัลย์เปรียง [<i>Derris scandens</i> (Roxb.) Benth]	133
4. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	139
5. เอกสารอ้างอิง	146

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ก	153
ภาคผนวก ข	154
ภาคผนวก ค	155
ภาคผนวก ง	158
ภาคผนวก จ	160
ภาคผนวก ฉ	162
ภาคผนวก ช	167

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1.	รายชื่อวัตถุดิบสมุนไพร	6
ตารางที่ 2.	ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดหัวบระเพ็ดพุงช้าง, kojic acid และ thymol	40
ตารางที่ 3.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหัวบระเพ็ดพุงช้าง, BHT, BHA และ Vitamin C	41
ตารางที่ 4.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหัวบระเพ็ดพุงช้างและ kojic acid	41
ตารางที่ 5.	ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของผงแห้งหัวบระเพ็ดพุงช้าง	42
ตารางที่ 6.	ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดอายุ 3 ปี จากหัวบระเพ็ดพุงช้าง	43
ตารางที่ 7.	ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหัวบระเพ็ดพุงช้าง	44
ตารางที่ 8.	ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดหัวสบู่เลือด	49
ตารางที่ 9.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหัวสบู่เลือด	49
ตารางที่ 10.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหัวสบู่เลือด	50
ตารางที่ 11.	ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดหัวสบู่เลือด	51
ตารางที่ 12.	ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดอายุ 2.5 ปี จากหัวสบู่เลือด	51
ตารางที่ 13.	ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหัวสบู่เลือด	52
ตารางที่ 14.	ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง	56
ตารางที่ 15.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง	56
ตารางที่ 16.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง	57
ตารางที่ 17.	ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง	57
ตารางที่ 18.	ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง	58
ตารางที่ 19.	ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดกิ่งมะป่วน	62
ตารางที่ 20.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดกิ่งมะป่วน	62
ตารางที่ 21.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดกิ่งมะป่วน	63

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 22.	ฤทธิ์ด้านอักเสบเฉียบพลันที่ไขว้หูหนู ของสารสกัดกิ่งมะป่วน	63
ตารางที่ 23.	ฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดกิ่งมะป่วน	64
ตารางที่ 24.	ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง	68
ตารางที่ 25.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง	69
ตารางที่ 26.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง	69
ตารางที่ 27.	ฤทธิ์ด้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง	70
ตารางที่ 28.	ฤทธิ์ด้านอักเสบเฉียบพลันที่ไขว้หูหนู ของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง	70
ตารางที่ 29.	ฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง	71
ตารางที่ 30.	ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลของสารสกัดใบยี่หุบป्ली	76
ตารางที่ 31.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดใบยี่หุบป्ली	76
ตารางที่ 32.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดใบยี่หุบป्ली	77
ตารางที่ 33.	ฤทธิ์ด้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดใบยี่หุบป्ली	77
ตารางที่ 34.	ฤทธิ์ด้านอักเสบเฉียบพลันที่ไขว้หูหนู ของสารสกัดใบยี่หุบป्ली	78
ตารางที่ 35.	ฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดใบยี่หุบป्ली	79
ตารางที่ 36.	ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลของสารสกัดลำต้นหินระเบิด	83
ตารางที่ 37.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดลำต้นหินระเบิด	83
ตารางที่ 38.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดลำต้นหินระเบิด	84
ตารางที่ 39.	ฤทธิ์ด้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดลำต้นหินระเบิด	84
ตารางที่ 40.	ฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดลำต้นหินระเบิด	85
ตารางที่ 41.	ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลของสารสกัดรากช้างงาเอก	89
ตารางที่ 42.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดรากช้างงาเอก	89
ตารางที่ 43.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดรากช้างงาเอก	90
ตารางที่ 44.	ฤทธิ์ด้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดรากช้างงาเอก	90
ตารางที่ 45.	ฤทธิ์ด้านอักเสบเฉียบพลันที่ไขว้หูหนู ของสารสกัดรากช้างงาเอก	91
ตารางที่ 46.	ฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดรากช้างงาเอก	92
ตารางที่ 47.	ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี	96
ตารางที่ 48.	ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี	96

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 49. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี	97
ตารางที่ 50. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ไอบูโพรเฟน ของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี	97
ตารางที่ 51. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี	98
ตารางที่ 52. ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดรากสามสิบ	103
ตารางที่ 53. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดรากสามสิบ	103
ตารางที่ 54. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดรากสามสิบ	104
ตารางที่ 55. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดรากสามสิบ	104
ตารางที่ 56. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดรากสามสิบ	105
ตารางที่ 57. ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดใบหนุमानประสานกาย	109
ตารางที่ 58. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดใบหนุमानประสานกาย	109
ตารางที่ 59. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดใบหนุमानประสานกาย	110
ตารางที่ 60. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดใบหนุमानประสานกาย	110
ตารางที่ 61. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดใบหนุमानประสานกาย	111
ตารางที่ 62. ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดใบพญาไม้	115
ตารางที่ 63. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดใบพญาไม้	115
ตารางที่ 64. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดใบพญาไม้	116
ตารางที่ 65. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดใบพญาไม้	116
ตารางที่ 66. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดใบพญาไม้	117
ตารางที่ 67. ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดหัวกวาวเครือขาว	122
ตารางที่ 68. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหัวกวาวเครือขาว	122
ตารางที่ 69. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหัวกวาวเครือขาว	123
ตารางที่ 70. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดหัวกวาวเครือขาว	123
ตารางที่ 71. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหัวกวาวเครือขาว	124
ตารางที่ 72. ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก	129
ตารางที่ 73. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก	129
ตารางที่ 74. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก	130
ตารางที่ 75. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก	131

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 76.	ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก	132
ตารางที่ 77.	ความเป็นพิษต่อไรสน้ำตาลของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง	136
ตารางที่ 78.	ฤทธิ์ดักจับอนุโมลอิสระ DPPH ของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง	136
ตารางที่ 79.	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง	137
ตารางที่ 80.	ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง	137
ตารางที่ 81.	ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง	138

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1.	ขั้นตอนการทำ TLC fingerprints จากผงสมุนไพร	21
รูปที่ 2.	ขั้นตอนการทำ HPLC fingerprints จากผงสมุนไพร	23
รูปที่ 3.	ขั้นตอนการทดสอบความเป็นพิษต่อโรตีน้ำตาลของสารสกัดสมุนไพร	25
รูปที่ 4.	ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดสมุนไพร	27
รูปที่ 5.	ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสมุนไพร	30
รูปที่ 6.	ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดสมุนไพร	32
รูปที่ 7.	ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนูของสารสกัดสมุนไพร	34
รูปที่ 8.	ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพร	36
รูปที่ 9.	บอระเพ็ดพุงช้าง (<i>Stephania suberosa</i> Forman)	37
รูปที่ 10.	TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งหีบอบบอระเพ็ดพุงช้าง	38
รูปที่ 11.	HPLC fingerprint ของหีบอบบอระเพ็ดพุงช้าง	39
รูปที่ 12.	สมุนไพร [Stephania venosa (Blume) Spreng]	45
รูปที่ 13.	TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งหีบสมุนไพร	47
รูปที่ 14.	HPLC fingerprint ของหีบสมุนไพร	48
รูปที่ 15.	ข้าวหลามดง [<i>Goniothalamus laoticus</i> (Finet and Gagnep.) Ban]	53
รูปที่ 16.	TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งเนื้อไม้กึ่งข้าวหลามดง	54
รูปที่ 17.	HPLC fingerprint ของเนื้อไม้กึ่งข้าวหลามดง	55
รูปที่ 18.	มะป่วน (<i>Mitrephora tomentosa</i> Hook. f.)	59
รูปที่ 19.	TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งกิ่งมะป่วน	60
รูปที่ 20.	HPLC fingerprints ของกิ่งมะป่วน	61
รูปที่ 21.	จำปาหลวง (<i>Manglietia utilis</i> Dandy)	65
รูปที่ 22.	TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งกิ่งจำปาหลวง	66
รูปที่ 23.	HPLC fingerprint ของกิ่งจำปาหลวง	67
รูปที่ 24.	ยี่หุบปลี [<i>Magnolia liliifera</i> (L.) Baill. var. <i>liliifera</i>]	72

สารบัญรูป (ต่อ)

		หน้า
รูปที่ 25.	TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งใบยี่หุบปลี	74
รูปที่ 26.	HPLC fingerprint ของใบยี่หุบปลี	75
รูปที่ 27.	หินระเบิด (<i>Osyris sp.</i>)	80
รูปที่ 28.	TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งลำต้นหินระเบิด	81
รูปที่ 29.	HPLC fingerprint ของลำต้นหินระเบิด	82
รูปที่ 30.	ช้างงาเอก (unidentified <i>sp.</i>)	86
รูปที่ 31.	TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งรากช้างงาเอก	87
รูปที่ 32.	HPLC fingerprint ของรากช้างงาเอก	88
รูปที่ 33.	สิรินธรวัลดี (<i>Bauhinia sirindhorniae</i> K. & S.S. Larsen)	93
รูปที่ 34.	TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งเถาสิรินธรวัลดี	94
รูปที่ 35.	HPLC fingerprint ของเถาสิรินธรวัลดี	95
รูปที่ 36.	รากสามสิบ (<i>Asparagus racemosus</i> Willd.)	99
รูปที่ 37.	TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งรากสามสิบ	101
รูปที่ 38.	HPLC fingerprint ของรากสามสิบ	102
รูปที่ 39.	หนุ่แมนประสานกาย (<i>Schefflera leucantha</i> Viguier)	106
รูปที่ 40.	TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งใบหนุ่แมนประสานกาย	107
รูปที่ 41.	HPLC fingerprint ของใบหนุ่แมนประสานกาย	108
รูปที่ 42.	พญาไม้ (<i>Podocarpus neriifolius</i> D. Don) ใบ และผล	112
รูปที่ 43.	TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งใบพญาไม้	113
รูปที่ 44.	HPLC fingerprint ของใบพญาไม้	114
รูปที่ 45.	กวาวเครือขาว (<i>Pueraria candollei</i> Wall. ex Benth. var. <i>mirifica</i>)	118
รูปที่ 46.	TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งหัวกวาวเครือขาว	120
รูปที่ 47.	HPLC fingerprint ของหัวกวาวเครือขาว	121
รูปที่ 48.	ว่านชักมดลูก (<i>Curcuma comosa</i> Roxb.)	125
รูปที่ 49.	TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งหัวว่านชักมดลูก	127
รูปที่ 50.	HPLC fingerprint ของหัวว่านชักมดลูก	128
รูปที่ 51.	เถาวัลย์เปรียง [<i>Derris scandens</i> (Roxb.) Benth]	133

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 52. TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งลำต้นเถาวัลย์เปรียง	134
รูปที่ 53. HPLC fingerprint ของลำต้นเถาวัลย์เปรียง	135

ACCESSIBLE UTILIZATION OF RARE AND EXTINGUISHABLE MEDICINAL PLANTS

Buppachart Potduang, Rattanasiri Giwanon, Krittiya Thisayakorn, Wipaporn Phatvej, Tanwarat Kajsongkram, Pongsatorn Limsiriwong, Maneerat Meeploy, Yaowaluck Benmart and Chanchai Chongsiroeg

ABSTRACT

Accessible utilization study were carried out on 15 rare indigeneous medicinal plants including (1) *Stephania suberosa* Forman, (2) *S. venosa* (Blume) Spreng, (3) *Goniothalamus laoticus* (Finet and Gagnep.) Ban, (4) *Mitrephora tomentosa* Hook. f., (5) *Manglietia utilis* Dandy, (6) *Magnolia liliifera* (L.) Baill. var. *liliifera*, (7) *Osyris sp.*, (8) 'Chang nga-ek' (unidentified *sp.*), (9) *Bauhinia sirindhorniae* K. & S.S. Larsen, (10) *Asparagus racemosus* Willd., (11) *Schefflera leucantha* Viguiet, (12) *Podocarpus neriifolius* D. Don, (13) *Pueraria candollei* Wall. ex Benth. var. *mirifica*, (14) *Curcuma comosa* Roxb. and (15) *Derris scandens* (Roxb.) Benth. TLC fingerprints and RP-HPLC fingerprints of each plant were carried out for authentic plant references. Biological activities of the crude ethanol extracts were assayed. The inhibitory activity on *Artemia sp.* gave the LC₅₀ of 50-1000µg/ml for 1, 2, 3, 5; 1000-3000µg/ml for 4, 8, 10, 14; and >3000µg/ml for the remainders. The antioxidant activity, using the DPPH radical scavenging assay, showed the EC₅₀ of <5µg/ml for 3, 5, 7, 9, 12; 5-20µg/ml for 1, 2, 6, 8, 14; and >20µg/ml for others. The dopachrome microplate assay for anti-tyrosinase activity exhibited the IC₅₀ of 0.08-0.20mg/ml for 12, 14; 1-5mg/ml for 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 13; and <5mg/ml for the rest. The anti-inflammatory assay on rat ear oedema induced by EPP (Ethylphenylpropiolate) showed that the topically applied 2mg/ear of the extract 4, 5 were as active as phenylbutazone, and the extract 6, 8, 9 were more effective than phenylbutazone at 0.5h. The acute rat paw oedema model induced by carrageenin showed that the orally given 250mg/kg body weight of the extracts were less effective than phenylbutazone, except the extract of 2 was 4 times more effective and the dry powdered tuber 1 was 0.3 times of phenylbutazone at 1h. The agar dilution method assay on microbial growth of 18 species (21 strains) showed that the extracts were active against various enteropathogens, respiratory tract pathogens and dermatopathogens with the minimum inhibitory concentration (MIC) between 0.5-1mg/ml for 5, 14, 15; 0.5-5mg/ml for 4, 7, 12; 0.5-10mg/ml for 6, 8, 9; and 5-20mg/ml for 1, 2, 3, 10, 11, 13.

Key Word Index: Rare plants, Rare herbs, Medicinal plants, TLC fingerprint, steroids and terpenes, alkaloids, flavonoids, *Artemia*, cytotoxicity, antioxidant, anti-tyrosinase, anti-microbial, anti-inflammation

ศึกษาสู่ทางการใช้ประโยชน์สมุนไพรที่หายากและใกล้สูญพันธุ์

บุปผชาติ พตด้วง¹, รัตนศิริ จิวนนท์¹, กฤติยา ทิทยากร¹, วิภาพร พัฒน์เวช¹,
ธัญวรัตน์ กาจสงคราม¹, พงศธร หลิมศิริวงษ์¹, มณีรัตน์ มีพลอย², เยาวลักษณ์ เบ็ญมาศ²
และชาญชัย จงศิริฤกษ์²

บทคัดย่อ

การศึกษาลู่ทางใช้ประโยชน์สมุนไพรไทยที่หายาก 15 ชนิด คือ (1) บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว) [*Stephania suberosa* Forman], (2) สนู่เลือด (หัว) [*S. venosa* (Blume) Spreng], (3) ข้าวหลามดง (กิ่ง) [*Goniothalamus laoticus* (Finet and Gagnep.) Ban], (4) มะป่วน (กิ่ง) [*Mitrephora tomentosa* Hook. f.], (5) จำปาหลวง (กิ่ง) [*Manglietia utilis* Dandy], (6) ยี่หุบป्ली (ใบ) [*Magnolia liliifera* (L.) Baill. var. *liliifera*], (7) หินระเบิด (ลำต้น) [*Osyris* sp.], (8) ช้างงาเอก (ราก) [unidentified sp.], (9) สิริรินทร์วัลลี (32 ประดง) (เถา) [*Bauhinia sirindhorniae* K. & S.S. Larsen], (10) รากสามสิบ (ราก) [*Asparagus racemosus* Willd.], (11) หนุมานประสานกาย (ใบ) [*Schefflera leucantha* Viguier], (12) พญาไม้ (ใบ) [*Podocarpus neriifolius* D. Don], (13) กวาวเครือขาว (หัว) [*Pueraria candollei* Wall. ex Benth. var. *mirifica*], (14) ว่านชักมดลูก (หัว) [*Curcuma comosa* Roxb.] และ (15) เถาวัลย์เปรียง (เถา) [*Derris scandens* (Roxb.) Benth.]. ได้ทำ TLC fingerprints และ RP-HPLC fingerprints ของผงสมุนไพรแต่ละชนิด. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบเอทานอลพบความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล โดยสมุนไพร 1, 2, 3, 5 มีค่า LC₅₀ 50-1000 ไมโครกรัม/มล. (มก./มล.), สมุนไพร 4, 8, 10, 14 มีค่า LC₅₀ 1000-3000 มก./มล. นอกนั้นมีค่า LC₅₀ มากกว่า 3000 มก./มล.; พบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเมื่อทดสอบการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยสมุนไพร 3, 5, 7, 9, 12 มีค่า EC₅₀ น้อยกว่า 5 มก./มล., สมุนไพร 1, 2, 6, 8, 14 มีค่า EC₅₀ 5-20 มก./มล. นอกนั้นมีค่า EC₅₀ มากกว่า 20 มก./มล.; พบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เมื่อทดสอบด้วยวิธี

.....
ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร

dopachrome ในจานหลุม โดยสมุนไพร 12, 14 มีค่า IC_{50} 0.08-0.20 มก./มล., สมุนไพร 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 13 มีค่า IC_{50} 1-5 มก./มล. นอกนั้นมีค่า IC_{50} มากกว่า 5 มก./มล. การทดสอบในหนูขาวเทียบกับ phenylbutazone พบว่าเมื่อทาสารสกัดเฉพาะที่ ขนาด 2 มก./หู สามารถต้านการอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนูขาว (ซึ่งกระตุ้นด้วย ethylphenylpropiolate) โดยสมุนไพร 6, 8, 9 มีฤทธิ์มากกว่า phenylbutazone ส่วนสมุนไพร 4, 5 มีฤทธิ์พอกๆกับ phenylbutazone ที่ 0.5 ชั่วโมง; เมื่อให้สารสกัดทางปากขนาด 250 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. พบมีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูขาว (ซึ่งกระตุ้นด้วย carrageenin) โดยสารสกัดส่วนใหญ่มีฤทธิ์น้อยกว่า phenylbutazone แต่สารสกัดสมุนไพร 1 มีฤทธิ์เป็น 4 เท่าและผงสมุนไพร 2 มีฤทธิ์เป็น 0.3 เท่าของ phenylbutazone ที่ 1 ชั่วโมง. เมื่อทดสอบกับจุลินทรีย์จำนวน 18 ชนิด 21 สายพันธุ์ ด้วยวิธี agar dilution พบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร โรคทางเดินหายใจ และโรคผิวหนังหลายชนิด โดยสมุนไพร 5, 14, 15 มีค่า MIC (ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์ได้) อยู่ระหว่าง 0.5-1 มก./มล., สมุนไพร 4, 7, 12 มีค่า MIC 0.5-5 มก./มล., สมุนไพร 6, 8, 9 มีค่า MIC 0.5-10 มก./มล., สมุนไพร 1, 2, 3, 10, 11, 13 มีค่า MIC 5-20 มก./มล.

1. บทนำ

การวิจัยสมุนไพรหายากและใกล้สูญพันธุ์ มีวัตถุประสงค์ให้ได้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับวิจัยต่อยอด และป้องกันการแอบอ้างสิทธิเหนือทรัพยากรสมุนไพรของประเทศไทย.

สมุนไพร 15 ชนิดในโครงการนี้ หลายชนิดยังไม่เคยมีการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์มาก่อน บางชนิดมีรายงานการศึกษาด้านต่างๆ บ้างแล้ว ได้แก่ บอระเพ็ดพุงช้าง, สมู่เลือด, รากสามสิบ, หนุ-มานประสานกาย, กวาวเครือขาว, ว่านชักมดลูก และเถาวัลย์เปรียง.

คณะนักวิจัยได้ทำการศึกษาวิจัยสมุนไพร 15 ชนิด ในด้านต่างๆ ดังนี้:

1. เก็บรวบรวมข้อมูลสมุนไพรจากข้อมูลปฐมภูมิ และทุติยภูมิ
2. การวิจัยในห้องปฏิบัติการ

2.1 ศึกษาโครมาโตแกรมของผงสมุนไพร ได้แก่:

2.1.1 ทำ TLC fingerprint 3 ชนิด ของผงสมุนไพร คือ

- (1) TLC fingerprint ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์.
- (2) TLC fingerprint ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทอัลคาลอยด์.
- (3) TLC fingerprint ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทฟลาโวนอยด์.

2.1.2 ทำ RP-HPLC (Reverse phase-HPLC) fingerprint ของผงสมุนไพร.

2.2 ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร ได้แก่:

2.2.1 ทดสอบความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาล *Artemia sp.* ในงานหุลุม.

2.2.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น ด้วยวิธี DPPH radical scavenging ในงานหุลุม.

2.2.3 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase) ในงานหุลุม.

2.2.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบเฉียบพลัน 2 โมเดล เลือกใช้ตามความสามารถในการละลาย คือ Acute rat paw oedema สำหรับสารสกัดที่ไม่ค่อยละลายในอะซิโตน และ Acute rat ear oedema สำหรับสารสกัดที่ละลายได้ดีในอะซิโตน.

2.2.5 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (Antimicrobial) ด้วยวิธี Agar dilution.

โดย TLC fingerprints และ HPLC fingerprints ใช้สำหรับอ้างอิงชนิดของสมุนไพร, ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล จะชี้บ่งถึงความเป็นพิษต่อเซลล์ซึ่งอาจพัฒนาเป็นยารักษามะเร็งได้, ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นแสดงถึงศักยภาพในการป้องกัน/รักษาโรคจากความเสื่อม/ชะลอความแก่; ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส แสดงถึงศักยภาพในการรักษาฝ้า. ส่วนฤทธิ์ต้านอักเสบและฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค แสดงถึงศักยภาพในการรักษาโรคหลายชนิด รวมทั้งการรักษาสิว.

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วัสดุ อุปกรณ์

2.1.1 สมุนไพร

วัตถุดิบสมุนไพร 15 ชนิด เก็บจากแหล่งต่างๆในประเทศไทยโดยสถานีวิจัยพืชล้มลุก และหัวหน้าโครงการในชุดโครงการพัฒนาทรัพยากรพรรณพืชสมุนไพรที่หายากและใกล้จะสูญพันธุ์ มีตัวอย่างสมุนไพรหมายเลขอ้างอิง LRS 0101-1015 รวบรวมไว้ที่สถานีวิจัยพืชล้มลุก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา ดังตารางที่ 1.

ตารางที่ 1. รายชื่อวัตถุดิบสมุนไพร

หมายเลข อ้างอิง	ชื่อสมุนไพร, ชื่อวิทยาศาสตร์, วงศ์-อนุวงศ์	ส่วน ที่ใช้	แหล่งสมุนไพร, ชื่อผู้เก็บ, วันที่เก็บ
LRS 0101	บอระเพ็ดพุงช้าง <i>Stephania suberosa</i> Forman, MENISPERMACEAE	หัว	ตลาดนัดสวนจตุจักร, กทม. ปริญญา วิไลรัตน์, 13 ต.ค. 2544
LRS 0102	สนับเถ็ด <i>Stephania venosa</i> (Blume) Spreng (syn. <i>S. rotunda</i> Lour.), MENISPERMACEAE	หัว	ตลาดนัดสวนจตุจักร, กทม. ปริญญา วิไลรัตน์, 13 ต.ค. 2544
LRS 0103	ข้าวหลามดง <i>Goniothalamus laoticus</i> (Finet and Gagnep.) Ban, ANNONACEAE	กิ่ง	วนอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ. นครนายก ดร. ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 1 พ.ย.2544
LRS 0104	มะปวน <i>Mitrephora tomentosa</i> Hook. f. (syn. <i>Mitrephora vandaeflora</i> Kurz), ANNONACEAE	กิ่ง	อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี ดร. ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 21 มี.ค.2545
LRS 0105	จำปาหลวง <i>Manglietia utilis</i> Dandy, MAGNOLIACEAE	กิ่ง	ต. เกริงกระเวีย อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี ดร. ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 19 ม.ค.2545

ตารางที่ 1 (ต่อ)

หมายเลข อ้างอิง	ชื่อสมุนไพร, ชื่อวิทยาศาสตร์, วงศ์-อนุวงศ์	ส่วน ที่ใช้	แหล่งสมุนไพร, ชื่อผู้เก็บ, วันที่เก็บ
LRS 0106	ยี่หุบปลี <i>Magnolia liliifera</i> (L.) Baill. var. <i>liliifera</i> , MAGNOLIACEAE	ใบ	ต. เกริงกระเวีย อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี ดร. ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 19 ม.ค.2545
LRS 0107	หินระเบิด <i>Osyris sp.</i> , SANTALACEAE	ลำต้น	ภู่วัว บ้านภูเงิน ต. บ้านด้อง อ. เซกา จ. หนองคาย, ปริญญา วิไลรัตน์, 15 ส.ค.2545
LRS 0108	ข้างงาเอก unidentified <i>sp.</i>	ราก	ภู่วัว บ้านภูเงิน ต. บ้านด้อง อ. เซกา จ. หนองคาย, ปริญญา วิไลรัตน์, 17 ม.ค.2545
LRS 0109	สิรินธรวัลดี (32 ประดง) <i>Bauhinia sirindhorniae</i> K. & S.S. Larsen, LEGUMINOSAE	ลำต้น (เถา)	ภู่วัว บ้านภูเงิน ต. บ้านด้อง อ. เซกา จ. หนองคาย, ปริญญา วิไลรัตน์, 14 ม.ค.2545
LRS 0110	รากสามสิบ <i>Asparagus racemosus</i> Willd., LILIACEAE	ราก	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา, ปริญญา วิไลรัตน์, 12 พ.ค.2546
LRS 0111	หนุमानประสานกาย <i>Schefflera leucantha</i> Viguier, ARALIACEAE	ใบ	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา, ปริญญา วิไลรัตน์, 15 พ.ย.2546
LRS 0112	พญาไม้ <i>Podocarpus neriifolius</i> D. Don, PODOCARPACEAE	ใบ, กิ่ง	อ. เขาสอยดาว จ. จันทบุรี, อิทธิฤทธิ์ อึ้งวิเชียร, 16 ธ.ค.2546
LRS 0113	กวาวเครือขาว <i>Pueraria candollei</i> Wall. ex Benth. var. <i>mirifica</i> , LEGUMINOSAE-PAPILIONACEAE	หัว	สถานีวิจัยพืชล้มลุก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา, สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจนันท์, 15 ม.ค.2548
LRS 0114	ว่านชักมดลูก <i>Curcuma comosa</i> Roxb., ZINGIBERACEAE	หัว	ต.บ้านม่วง อ.สังคม จ.หนองคาย, สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจนันท์, 5 ม.ค.2548
LRS 0115	เถาวัลย์เปรียง <i>Derris scandens</i> (Roxb.) Benth, FABACEAE	ลำต้น (เถา)	สถานีวิจัยพืชล้มลุก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา, สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจนันท์, 15 ม.ค.2548

2.1.2 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้เตรียมสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร

2.1.2.1 วัสดุ

- (1) เอทานอล (95% Ethanol, กรมสรรพสามิต).
- (2) สำลี.
- (3) กระดาษกรองเบอร์ 41 (บริษัท Whatman, ประเทศอังกฤษ).

2.1.2.2 อุปกรณ์

- (1) เครื่องชั่ง.
- (2) ตู้อบลมร้อน.
- (3) เครื่องบดเป็นผง.
- (4) ถังหมัก (Percolator).
- (5) เครื่องปั่นเหวี่ยงระเหยสารภายใต้สุญญากาศ (รุ่น Univapo Gyrator, บริษัท Uniequip, ประเทศเยอรมนี).
- (6) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.1.3 วัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ทำ TLC fingerprints ของตัวอย่างผงสมุนไพร

2.1.3.1 สารเคมีที่ใช้ทำ TLC โดยบ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์.

- (1) สารสเตอรอยด์มาตรฐานเบต้า-ซิโตสเตอรอล (Beta-sitosterol , บริษัท Sigma, สหรัฐอเมริกา).
- (2) นำยวานิลลิน-กรดซัลฟูริก (Vanillin-H₂SO₄, ภาคผนวก ข.).
- (3) เฮกเซน (Hexane AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).
- (4) คลอโรฟอร์ม (Chloroform AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).

2.1.3.2 สารเคมีที่ใช้ทำ TLC โดยบ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทอัลคาลอยด์.

- (1) สารอัลคาลอยด์มาตรฐานควินินซัลเฟต (Quinine sulphate, บริษัท BDH, ประเทศอังกฤษ).
- (2) นำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent, ภาคผนวก ข.).
- (3) 0.1 N กรดซัลฟูริก (0.1N Sulphuric acid, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).
- (4) 5% แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (5%Ammonium hydroxide, บริษัท Merck, ประเทศเยอรมนี).

(5) แอนไฮดรรัสโซเดียมซัลเฟต (Anhydrous sodium sulphate AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).

(6) คลอโรฟอร์ม (Chloroform AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).

(7) เมทานอล (Methanol AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).

2.1.3.3 สารเคมีที่ใช้ทำ TLC โดยบังคับด้วยสารมาตรฐานประเภทฟลาโวนอยด์

(1) สารมาตรฐานรูทีน (Rutin, บริษัท Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).

(2) สารมาตรฐานเคอร์เซติน (Quercetin, บริษัท Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).

(3) น้ำยานเจอร์รัลโปรคักส์-พอลิเอทิลีนไกลคอล (NP/PEG, ภาคผนวก ข.).

(4) เมทานอล (Methanol AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).

2.1.3.4 วัสดุอื่นๆ

(1) ตัวทำละลายต่างๆ (Analytical solvents, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย) สำหรับเตรียมน้ำยาแยกสาร ได้แก่ 99.7%เอทานอล (Absolute ethanol), อะซิโตน (Acetone), เฮกเซน (Hexane), คลอโรฟอร์ม (Chloroform), โทลูอิน (Toluene), เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate), กรดฟอร์มิก (Formic acid), กรดซัลฟูริก (Sulphuric acid), แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide), เมทานอล (Methanol) และ กรดอะซิติก (Acetic acid).

(2) กระดาษลิตมัส pH 0-14 (บริษัท Merck, ประเทศเยอรมนี).

(3) กระดาษกรองเบอร์ 41 (บริษัท Whatman, ประเทศอังกฤษ).

(4) TLC plate (Silica gel 60 F₂₅₄, ขนาด 20x20 ซม., หนา 0.25 มม., บริษัท Merck, ประเทศเยอรมนี).

2.1.3.5 อุปกรณ์

(1) เครื่องชั่งละเอียด (Mettler Toledo รุ่น AG 204, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).

(2) Magnetic stirrer (A-53 series B, บริษัท S.B.S. Instrument, สหรัฐอเมริกา).

(3) Vortex mixer (บริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา).

(4) เครื่องปั่นเหวี่ยงระเหยสารภายใต้สุญญากาศ (รุ่น Univapo Gyrotor, บริษัท Uniequip, ประเทศเยอรมนี).

(5) ปิเปตรูเล็ก (Capillary pipette) ขนาด 1 มล. และ 2 มล. (บริษัท Desaga, ประเทศเยอรมนี).

(6) ปิเปตอัตโนมัติขนาด 20, 200 และ 1000 มล. (บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).

- (7) ถังทำ TLC (TLC chamber, ผลิตในประเทศไทย).
- (8) เครื่องเป่าลมร้อน (Dryer, ผลิตในประเทศไทย).
- (9) เครื่องพ่นน้ำยาตรวจวัด (TLC sprayer, บริษัท Desaga, ประเทศเยอรมนี).
- (10) UV viewing cabinet (UV lamp dual wavelength 254/365 nm, บริษัท Alltech, สหรัฐอเมริกา).
- (11) กล้องดิจิทัล (Keter KT-1000F, Taiwan และ NIKON รุ่น COOLPIX880 ประเทศญี่ปุ่น).
- (12) เครื่องสแกนเนอร์ (Computer Scanner, Hewlett-Packard hp scanjet 457C).
- (13) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.1.4 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ทำ HPLC fingerprint ของตัวอย่างผงสมุนไพร

2.1.4.1 สารเคมี

- (1) สารมาตรฐานรูทีน (บริษัท Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (2) สารมาตรฐานเคอร์เซติน (บริษัท Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (3) เมทานอล (HPLC Methanol, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).
- (4) อะซิโตนไนไตรล์ (HPLC Acetonitrile, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).
- (5) น้ำ (HPLC Water, บริษัท สิทธิพิ, ประเทศไทย).
- (6) TFA (HPLC Trifluoroacetic acid, บริษัท Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).

2.1.4.2 วัสดุอื่น

- (1) กระดาษกรองเบอร์ 41 (บริษัท Whatman, ประเทศอังกฤษ).
- (2) เยื่อกรองเซลลูโลสอะซิเตต (Filter membrane ชนิด Cellulose acetate). ขนาดความพรุน 0.45 ไมครอน, เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มม. (บริษัท Pall, สหรัฐอเมริกา) ใช้กรองสารละลาย A.
- (3) เยื่อกรองไนลอน (Filter membrane ชนิด Nylon) ขนาดความพรุน 0.45 ไมครอน, เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มม. (บริษัท Alltech, สหรัฐอเมริกา) ใช้กรองสารละลาย B.
- (4) เยื่อกรองผ่านกระบอกฉีดยา (Syringe filter membrane ชนิด Nylon) ขนาดความพรุน 0.45 ไมครอน, เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มม. (บริษัท Orange Scientific, ประเทศเบลเยียม) ใช้กรองสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน.

2.1.4.3 อุปกรณ์

- (1) เครื่องชั่งละเอียด(Mettler Toledo รุ่น AG 204, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (2) Vortex mixer (บริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา).
- (3) Magnetic stirrer (A-53 series B, บริษัท S.B.S. Instrument, สหรัฐอเมริกา).
- (4) ปิเปตอัตโนมัติขนาด 20, 200 และ 1000 มล. (บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).
- (5) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 1000, 500, 50, 25, 10 มล.
- (6) ชุดกรองสารละลาย (บริษัท Pall, สหรัฐอเมริกา).
- (7) Vacuum pump สำหรับกรองสารละลาย (บริษัท Gast, สหรัฐอเมริกา).
- (8) Ultrasonic cleaner (บริษัท Astrason, สหรัฐอเมริกา).
- (9) กระบอกฉีดยา (syringe) ขนาด10 มล. (บริษัท Popper & Sons, ประเทศอิตาลี).
- (10) Microsyringe ขนาด 100 มล. (บริษัท ITO, ประเทศญี่ปุ่น).
- (11) ชุดเครื่องมือ HPLC (Waters 1525 Binary HPLC pump, auto-degasser, UV detector and Breeze software, บริษัท Waters, สหรัฐอเมริกา).
- (12) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.1.5 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ทดสอบความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาล

2.1.5.1 ไข่ไรสีน้ำตาล (บริษัท INVE (Thailand), ประเทศไทย)

2.1.5.2 สารเคมี

- (1) สารมาตรฐาน Kojic acid (บริษัท Sigma, สหรัฐอเมริกา).
- (2) สารมาตรฐาน Thymol (บริษัท Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (3) Tween 80 (บริษัท ศรีจันทร์สห โอสถ, ประเทศไทย).
- (4) 99.7%เอทานอล (99.7%Ethanol AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).
- (5) น้ำทะเลเทียม 3.7% น้ำหนัก/ปริมาตร (เตรียมจากเกลือทะเล 3.7 กรัมในน้ำสะอาด 100 มล.).

2.1.5.3 อุปกรณ์

- (1) เครื่องชั่งละเอียด (Mettler Toledo รุ่น AG 204, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (2) ปิเปตอัตโนมัติขนาด 20, 200 และ 1000 มล. (บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).

- (3) ปิเปตอัตโนมัติดูดจ่ายของเหลวแบบต่อเนื่องช่องเดียว (Single stepper, บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).
- (4) เครื่องเขย่า (Vortex mixer, บริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา).
- (5) Magnetic stirrer (A-53 series B, บริษัท S.B.S. Instrument, สหรัฐอเมริกา).
- (6) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาดต่างๆ.
- (7) จานหลุมก้นแบน ชนิด 96 หลุม (Microtitre Plate 96 well / flat bottom, บริษัท Bibby Sterilin, ประเทศอังกฤษ).
- (8) ปั๊มให้อากาศ (Aquarium air pump).
- (9) โคมไฟ.
- (10) กล่องพลาสติก 2 ช่อง ขนาด 11 x 16.5 x 3.5 ซม. (กว้าง x ยาว x สูง), ก้นด้วยแผ่นพลาสติกเจาะรูขนาด 0.8 ซม. 3 รู, ปิดรูด้วยกระดาษกาว).
- (11) กล้องจุลทรรศน์ (4x) (Labomed, ประเทศอินเดีย).
- (12) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.1.6 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

2.1.6.1 สารเคมี

- (1) สารมาตรฐาน BHT (Butylated hydroxytoluene, บริษัท BDH, ประเทศอังกฤษ).
- (2) สารมาตรฐาน BHA (Butylated hydroxyanisole, บริษัท BDH, ประเทศอังกฤษ).
- (3) วิตามินซี (L-Ascorbic acid, บริษัท BDH, ประเทศอังกฤษ).
- (4) DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, บริษัทSigma ประเทศเยอรมนี).
- (5) 99.7%เอทานอล (99.7%Ethanol AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).

2.1.6.2 อุปกรณ์

- (1) เครื่องชั่งละเอียด (Mettler Toledo รุ่น AG 204, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (2) ปิเปตอัตโนมัติขนาด 20, 200 และ 1,000 มคล. (บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).
- (3) ปิเปตอัตโนมัติดูดจ่ายของเหลวแบบต่อเนื่องช่องเดียว (Single stepper, บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).

- (4) ปิเปตอัตโนมัติดูดจ่ายของเหลวแบบ 8 ช่อง (บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).
- (5) เครื่องเขย่า (Vortex mixer, บริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา).
- (6) Magnetic stirrer (A-53 series B, บริษัท S.B.S. Instrument, สหรัฐอเมริกา).
- (7) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาดต่างๆ.
- (8) เครื่องวัดการดูดแสงในงานหลุม (Microplate reader, รุ่น Sunrise remote, บริษัท TECAN, ประเทศออสเตรีย).
- (9) งานหลุมก้นแบน ชนิด 96 หลุม (Microtitre Plate 96 well / flat bottom, บริษัท Bibby Sterilin, ประเทศอังกฤษ).
- (10) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.1.7 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส

2.1.7.1 สารเคมี

- (1) สารมาตรฐาน Kojic acid (บริษัท Sigma, สหรัฐอเมริกา).
- (2) เอนไซม์ไทโรซิเนส [EC 1.14.18.1] (Tyrosinase from mushroom, บริษัท Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (3) L-DOPA (L-3, 4-dihydroxyphenylalanine, บริษัท Sigma, สหรัฐอเมริกา).
- (4) 99.7%เอทานอล (99.7%Ethanol AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).
- (5) คลอโรฟอร์ม (Chloroform AR, บริษัท Labscan Asia, ประเทศไทย).
- (6) โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) (เตรียมจาก $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.44 กรัม และ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.39 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มล.).

2.1.7.2 อุปกรณ์

- (1) เครื่องชั่งละเอียด (Mettler Toledo รุ่น AG 204, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (2) ปิเปตอัตโนมัติขนาด 20, 200 และ 1000 มล. (บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).
- (3) ปิเปตอัตโนมัติดูดจ่ายของเหลวแบบ 8 ช่อง (บริษัท ThermoLabsystems, ประเทศฟินแลนด์).
- (4) เครื่องเขย่า (Vortex mixer, บริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา).
- (5) Magnetic stirrer (A-53 series B, บริษัท S.B.S. Instrument, สหรัฐอเมริกา).

- (6) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาดต่างๆ.
- (7) เครื่องวัดการดูดแสงในงานหลุม (Microplate reader, รุ่น Sunrise remote, บริษัท TECAN, ประเทศออสเตรีย).
- (8) งานหลุมก้นแบน ชนิด 96 หลุม (Microtitre Plate 96 well / flat bottom, บริษัท Bibby Sterilin, ประเทศอังกฤษ).
- (9) เครื่องปั่นเหวี่ยงระเหยสารภายใต้สูญญากาศ (รุ่น Univapo Gyrator, บริษัท Uniequip, ประเทศเยอรมนี).
- (10) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 25 มล.
- (11) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.1.8 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ

2.1.8.1 Model Rat Paw Oedema

2.1.8.1.1 สัตว์ทดลอง

หนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้ จำนวน 30 ตัวต่อ 1 การทดลอง, ซื้อจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐม.

2.1.8.1.2 สารเคมี

- (1) Phenylbutazone (Batch no.S-97003 บริษัท Jiangsu Medicines, ประเทศจีน).
- (2) Carrageenin (บริษัท Sigma, สหรัฐอเมริกา).
- (3) น้ำกลั่น.
- (4) 0.9% w/v Normal saline.
- (5) น้ำมันถั่วเหลือง (น้ำมันพืชตราอรุณ, ประเทศไทย).
- (6) Tragacanth
- (7) 70% v/v Ethanol (เตรียมจาก 95% Ethanol, กรมสรรพสามิต).

2.1.8.1.3 วัสดุอื่นๆ

- (1) สำลี.
- (2) อาหารหนูทดลอง (บริษัท โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย).
- (3) น้ำดื่มสัตว์ทดลอง (น้ำกรอง, วว.).

2.1.8.1.4 อุปกรณ์

(1) เครื่องชั่งละเอียด (Ohaus EO2140, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
(2) ปิเปตอัตโนมัติขนาด 20, 200 และ 1000 มล. (บริษัท Nishiyo, ประเทศญี่ปุ่น).

- (3) เครื่องเขย่า (Vortex mixer, บริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา).
- (4) Magnetic stirrer (A-53 series B, บริษัท S.B.S. Instrument, สหรัฐอเมริกา).
- (5) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาดต่างๆ.
- (6) Plethysmometer (Ugo Basile, 21025 Comerio-Varese, ประเทศอิตาลี).
- (7) Stomach tube.
- (8) กระจกกลีดยา ขนาด 1 มล.
- (9) เข็ม No. 26 G.
- (10) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.1.8.2 Model Rat Ear Oedema

2.1.8.2.1 สัตว์ทดลอง

หนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้ จำนวน 30 ตัวต่อ 1 การทดลอง, ซึ่งจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐม.

2.1.8.2.2 สารเคมี

- (1) Phenylbutazone (Batch no.S-97003 บริษัท Jiangsu Medicines, ประเทศจีน).
- (2) Ethyl phenylpropionate (EPP, บริษัท Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (3) น้ำกลั่น.
- (4) 0.9% w/v Normal saline.
- (5) 70% Ethanol v/v (เตรียมจาก 95% Ethanol, กรมสรรพสามิต).
- (6) อาหารหนูทดลอง (บริษัท โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย).
- (7) น้ำดื่มสัตว์ทดลอง (น้ำกรอง, วว.).

2.1.8.2.3 อุปกรณ์

- (1) เครื่องชั่งละเอียด (Ohaus EO2140, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์).
- (2) ปิเปตอัตโนมัติขนาด 20, 200 และ 1000 มล. (บริษัท Nishiyu, ประเทศญี่ปุ่น).
- (3) เครื่องเขย่า (Vortex mixer, บริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา).
- (4) Magnetic stirrer (A-53 series B, บริษัท S.B.S. Instrument, สหรัฐอเมริกา).
- (5) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาดต่างๆ.
- (6) Pocket Thickness Gage (บริษัท Mitutoyo, ประเทศญี่ปุ่น).
- (7) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.1.9 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

2.1.9.1 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

จุลินทรีย์ก่อโรคจำนวน 19 ชนิด 21 สายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงและจำแนกชนิดจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย แบ่งเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ (Holt *et al*, 1994) ดังนี้:

- (1) เชื้อแบคทีเรียเจริญแบบใช้อากาศ (Aerobes) 12 ชนิด 13 สายพันธุ์ ได้แก่:

Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci ได้แก่:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Pseudomonas vulgaris* LAB (Laboratory strain)

Gram negative, facultative anaerobic rods ได้แก่:

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* ATCC 10708
- *Salmonella typhimurium* ATCC 13311
- *Salmonella velterans* LAB
- *Shigella dysenteriae* DMST 2137
- *Klebsiella pneumoniae* LAB

Gram positive cocci ได้แก่:

- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

- *Streptococcus* sp. LAB

(2) เชื้อแบคทีเรียเจริญแบบไม่ใช้อากาศ (Anaerobes) 6 ชนิด ได้แก่:

Gram negative non-sporing rods ได้แก่:

- *Bacteroides* sp. LAB

Gram positive non-sporing rods ได้แก่:

- *Propionibacterium* sp. LAB

- *Lactobacillus* sp. LAB

Gram positive spore-forming rods ได้แก่:

- *Clostridium* sp. LAB

Gram positive cocci ได้แก่:

- *Peptococcus* sp. LAB

- *Streptococcus mutans* LAB

(3) เชื้อยีสต์ 1 ชนิด 2 สายพันธุ์ ได้แก่:

- *Candida albicans* ATCC 10231

- *Candida albicans* ATCC 90028

2.1.9.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

(1) อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเจริญแบบใช้อากาศ

● MHB (Mueller Hinton Broth; Difco Laboratories) ใช้เป็นอาหารเหลวเพาะเชื้อเริ่มต้น (Inoculum).

● MHA (Mueller Hinton Agar; Difco Laboratories) ใช้เป็นอาหารแข็งทดสอบ.

(2) อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเจริญแบบไม่ใช้อากาศ

● WC Broth (Wilkins and Chalgren Broth; เตรียมจาก Wilkins and Chalgren, 1976) ใช้เป็นอาหารเหลวเพาะเชื้อเริ่มต้น.

● WC Agar (Wilkins and Chalgren Agar; เตรียมจาก Wilkins and Chalgren, 1976) ใช้เป็นอาหารแข็งทดสอบ.

(3) อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์

● SDB (Sabouraud Dextrose Broth; Difco Laboratories) ใช้เป็นอาหารเหลวเพาะเชื้อเริ่มต้น.

- SDA (Saboraud Dextrose Agar; Difco Laboratories) ใช้เป็นอาหารแข็งทดสอบ.

2.1.9.3 สารเคมี

- (1) อะซิโตน (Acetone AR, บริษัท Merck, สหรัฐอเมริกา).

2.1.9.4 อุปกรณ์

- (1) เครื่องชั่งละเอียด (รุ่น EK 120i, บริษัท AND, ประเทศญี่ปุ่น).
- (2) ปิเปตชนิดมีขีดแบ่งปริมาตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 1, 5 และ 10 มล.
- (3) เครื่องเขย่า (Vortex mixer, บริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา).
- (4) Magnetic stirrer (A-53 series B, บริษัท S.B.S. Instrument, สหรัฐอเมริกา).
- (5) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาดต่างๆ.
- (6) เครื่องมือต่างๆ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ได้แก่ ซ้อนตักสาร ห่วงเขี่ยเชื้อ และเข็มเพาะเชื้อ.
- (7) หลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 13x100 มม., 16x125 มม., 16x150 มม. และ 20x150 มม.
- (8) Inoculum replicating apparatus (ประกอบไปด้วย Multipoint inoculator และแผ่นหลุม).
- (9) เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer, บริษัท Shimadzu, ประเทศญี่ปุ่น).
- (10) จานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 100x15 มม.
- (11) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator, ยี่ห้อ Termark รุ่น B 112 V, ประเทศอังกฤษ).
- (12) โถบ่มไร้อากาศ (Anaerobic Jar, บริษัท Merck, สหรัฐอเมริกา).
- (13) อุปกรณ์เครื่องแก้ว.

2.2 วิธีการ

2.2.1 การเก็บรวบรวมข้อมูลสมุนไพร

เก็บรวบรวมข้อมูลสมุนไพรเกี่ยวกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์, สรรพคุณ และข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) จาก 2 แหล่ง คือ:

- (1) ข้อมูลปฐมภูมิได้จากการสำรวจของสถานีวิจัยพืชล้มลุก ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร, รายงานการวิจัย.

(2) ข้อมูลทุกขณภูมิ ได้จากหนังสือ, วารสารวิชาการ, อินเทอร์เน็ต.

2.2.2 การศึกษาโครมาโตแกรมของสมุนไพร

2.2.2.1 การเตรียมผงสมุนไพร

นำสมุนไพรแต่ละชนิดมาล้างทำความสะอาด แล้วฟาน, สับ หรือหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40-50° ซ. และบดให้ละเอียด.

2.2.2.2 การทำ TLC fingerprints ของผงสมุนไพร

(1) การทดลองเพื่อหาน้ำยาแยกที่เหมาะสม

ทดลองผสมน้ำยาแยก (Developing solvent) ที่มีตัวทำละลายสัดส่วนต่างๆกัน ใส่ลงในถังทำ TLC ให้สูงจากก้นถัง 0.5 ซม., ทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที เพื่อให้บรรยากาศในถังอิ่มตัวด้วยไอของน้ำยาแยก. จากนั้น ใช้ปิเปตรูเล็ก (Capillary pipette) ป้ายสารละลายตัวอย่างบนแผ่น TLC (Silica gel 60 F₂₅₄, หนา 0.25 มม.) แล้วนำไปใส่ในถังทำ TLC ที่เตรียมไว้, ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้น้ำยาซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC ตามระยะทางที่กำหนด. นำแผ่น TLC ที่ได้มาเป่าแห้ง, แล้วพ่นด้วยน้ำยาเฉพาะซึ่งทำให้เกิดสี หรือเรืองแสงภายใต้รังสียูวี. น้ำยาแยกที่ดีจะให้โครมา-โตแกรมของแถบสารที่แยกกันชัดเจน. (Bolliger *et al.* 1965; Merck 1980; Wagner และ Bladt 1996).

(2) การทำ TLC fingerprint ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์

1. ชั่งผงสมุนไพร ประมาณ 5-10 กรัม เติมหะเสน 25-50 มล. เขย่านาน 30 นาที, กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41, ชะล้างกระดาษกรอง (rinse) ด้วยสะเสน 5 มล., รวมสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงระเหยสารภายใต้สูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40-50° ซ.

2. นำสารสกัดแห้งที่ได้มาละลายด้วยคลอโรฟอร์ม 0.5 มล. ได้สารละลายตัวอย่างสมุนไพร.

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานเบต้า-ซิโตสเตอรอล (Beta-sitosterol) 1 มก./มล. ในคลอโรฟอร์ม.

4. นำสารละลายตัวอย่างสมุนไพร (ข้อ 2.2) และสารละลายสารมาตรฐาน (ข้อ 2.3) ชนิดละ 5 ไมโครลิตร (มคล.) มาป้ายบนแผ่น TLC, เป่าแห้งแล้วนำไปใส่ในถังทำ TLC ที่อิ่มตัวด้วยน้ำยาแยก, ตั้งทิ้งไว้ให้น้ำยาซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 10 ซม. นำแผ่น TLC ที่ได้มาเป่าแห้ง, ตรวจดูแถบสารภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร แล้วพ่นด้วยน้ำยาวานิลลิน-กรดซัลฟิวริก (Vanillin-H₂SO₄, ภาคผนวก ข.). จากนั้น นำมาอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105° ซ. เป็นเวลา

10 นาที สังเกตแถบสี. หุ้มแผ่น TLC ด้วยพลาสติกก่อนนำไปบันทึกภาพโครมาโตแกรมที่ได้ ด้วยเครื่องสแกนเนอร์.

(3) การทำ TLC fingerprint ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทอัลคาลอยด์

1. ชั่งผงสมุนไพร ประมาณ 30 กรัม เติม 0.1N กรดซัลฟิวริก 100 มล. เขย่านาน 20 นาที, กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41, ซะล้างกระดาษกรองด้วย 0.1N กรดซัลฟิวริก 10 มล. รวมสารสกัดที่ได้มาทำให้เป็นด่างโดยเติม 5% แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จนได้ pH 8-9. สกัดอัลคาลอยด์อิสระที่ได้ด้วยคลอโรฟอร์ม (3x40 มล., ครั้งละ 10 นาที) ในกรวยแยก (Separatory funnel). รวมสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มมาจัดน้ำที่ปนอยู่โดยกรองผ่านโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัสบนกระดาษกรองเบอร์ 41, แล้วนำสารสกัดที่กรองได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงระเหยสารภายใต้สูญญากาศที่อุณหภูมิ 45° ซ.

2. นำสารสกัดแห้งที่ได้มาละลายด้วยเมทานอล 0.5 มล. ได้สารละลายตัวอย่างสมุนไพร.

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานควินินซัลเฟต (Quinine sulphate) 1 มก./มล. ในเมทานอล.

4. นำสารละลายตัวอย่างสมุนไพร (ข้อ 3.2) และสารละลายสารมาตรฐาน (ข้อ 3.3) ชนิดละ 5 มล. มาป้ายบนแผ่น TLC, เป่าแห้ง แล้วนำไปใส่ในถังทำ TLC ที่อิมตัวด้วยน้ำยาแยก, ตั้งไว้ให้น้ำยาซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 10 ซม. นำแผ่น TLC ที่ได้มาเป่าแห้ง, ตรวจสอบแถบสารภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร แล้วพ่นด้วยน้ำยาตราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent, ภาคผนวก ข.), เป่าแห้ง, สังเกตแถบสี. หุ้มแผ่น TLC ด้วยพลาสติกก่อนนำไปบันทึกภาพโครมาโตแกรมด้วยเครื่องสแกนเนอร์.

(4) การทำ TLC fingerprint ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทฟลาโวนอยด์

1. ชั่งผงสมุนไพรประมาณ 10 กรัม เติมเมทานอล 40 มล. อุณหภูมิ 60° ซ. นาน 5 นาที บนอ่างให้ความร้อนแบบแห้ง (heat block), ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41, ซะล้างกระดาษกรองด้วยเมทานอล 10 มล. รวมสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงระเหยสารภายใต้สูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40-50° ซ.

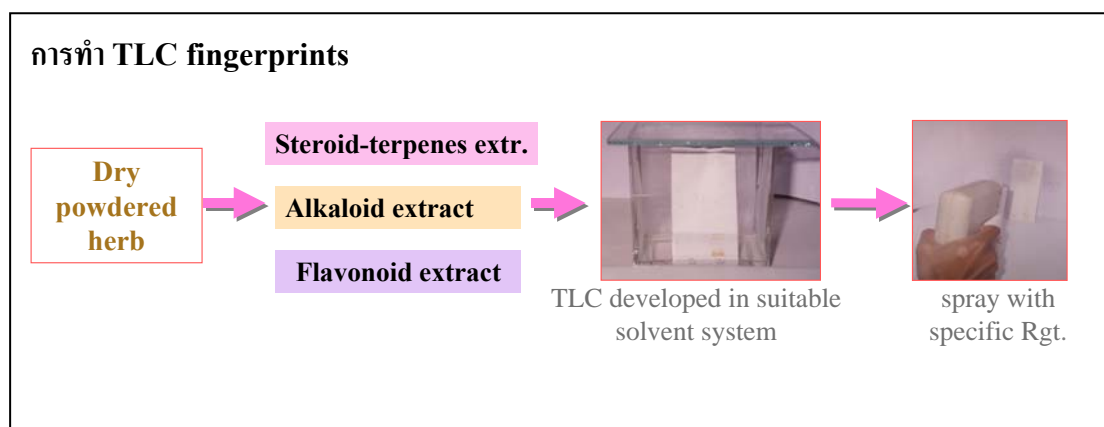
2. นำสารสกัดแห้งที่ได้มาละลายด้วยเมทานอล 0.5 มล. ได้สารละลายตัวอย่างสมุนไพร.

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานรูทีน (Rutin) 1 มก./มล. ในเมทานอล.

4. เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์เซติน (Quercetin) 1 มก./มล. ในเมทานอล.

5. นำสารละลายตัวอย่าง (ข้อ 4.2) และสารละลายสารมาตรฐาน (ข้อ 4.3 หรือ 4.4) ชนิดละ 5 มล. มาป้ายบนแผ่น TLC, เป่าแห้ง แล้วนำไปใส่ในถังทำ TLC ที่อิมตัวด้วยน้ำยาแยก, ตั้งไว้ให้

นำยาซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 10 ซม. นำแผ่น TLC ที่ได้มาเป่าแห้ง. ตรวจสอบแถบสารภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร, แล้วพ่นด้วยน้ำยานเจอร์รัลโปรดักส์-พอลลิเอทิลีนไกลคอล (NP/PEG, ภาคผนวก ข.) เป่าแห้ง. สังเกตการเรืองแสงภายใต้รังสียูวี ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร, แล้วบันทึกภาพโครมาโตแกรมด้วยกล้องดิจิทัล หรือคินสอสี (เมื่อถ่ายภาพได้ไม่ชัดเจน).



รูปที่ 1. ขั้นตอนการทำ TLC fingerprints จากผงสมุนไพร.

2.2.2.3 การทำ HPLC fingerprint

(1) การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

ชั่งผงสมุนไพรประมาณ 1-10 กรัม เติมนิเมธานอล 50 มล. เขย่านาน 2 นาที ด้วยเครื่อง Vortex mixer. กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเป็น 50 มล. ในขวดวัดปริมาตร, เขย่าให้เข้ากันดีก่อนแบ่งใส่กระบอกฉีดยาและกรองผ่านเยื่อกรอง (Syringe filter membrane ขนาดความพรุน 0.45 ไมครอน) เก็บไว้ในขวดมีฝาปิดที่อุณหภูมิ 5-10° ซ.

(2) การเตรียมสารละลายมาตรฐานรูทีนและเคอร์เซติน

1. เตรียม Stock solutions เข้มข้น 1 มก./มล. ในเมทานอล (1,000 ppm) ของสารมาตรฐานรูทีนและเคอร์เซติน แยกกัน, เก็บไว้ในขวดแก้วมีฝาปิดที่อุณหภูมิ 5-10° ซ.

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 0.2 มก./มล. ในเมทานอล (200 ppm) ของรูทีนและเคอร์เซติน แยกกัน โดยปีเปิด Stock solution (ข้อ 2.1) 2 มล., นำมาเจือจางโดยเติมนิเมธานอลให้เป็น 10 มล. ในขวดวัดปริมาตร, เก็บไว้ในขวดแก้วมีฝาปิดที่อุณหภูมิ 5-10° ซ.

3. เตรียมสารละลายผสมมาตรฐานอัตราส่วน 1:1 โดยบีเปตสารละลายมาตรฐานรูทีน 200 ppm (ข้อ 2.2) 1 มล. และสารละลายมาตรฐานเคอร์เซติน 200 ppm (ข้อ 2.2) 1 มล., เขย่าให้เข้ากันดี แล้วกรองผ่านกระบอกกักตุนและเยื่อกรอง (ขนาดความพรุน 0.45 ไมครอน) เก็บไว้ในขวดมีฝาปิดที่ อุณหภูมิ 5-10° ซ.

(3) การเตรียมน้ำยาชะสาร (Mobile phase, วัตถุประสงค์อื่นที่)

1. เตรียมสารละลาย A โดยนำน้ำ HPLC ปริมาตรพอควรมาใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มล., เติมนีโตนอลและ TFA (Trifluoroacetic acid) ปริมาตรต่างๆ กัน, ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำ HPLC, เขย่าให้เข้ากันดีแล้วกรองด้วยชุดกรองสารละลายผ่านเยื่อกรองเซลลูโลส แดชิตเตด ขนาดความพรุน 0.45 ไมครอน, ไล่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Ultrasonic นาน 15 นาที, ปิดฝา และทิ้งให้เย็นก่อนนำไปใช้กับเครื่อง HPLC.

2. เตรียมสารละลาย B โดยนำ Acetonitrile ปริมาตรพอควรมาใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มล., เติมนีโตนอลและ TFA (Trifluoroacetic acid) ปริมาตรต่างๆ กัน, ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. ด้วย Acetonitrile, เขย่าให้เข้ากันดีแล้วกรองด้วยชุดกรองสารละลายผ่านเยื่อกรอง ไนลอน ขนาดความพรุน 0.45 ไมครอน, ไล่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Ultrasonic นาน 15 นาที, ปิดฝา และทิ้งให้เย็นก่อนนำไปใช้กับเครื่อง HPLC.

(4) สภาพการวิเคราะห์ของเครื่อง HPLC

ตั้งค่าสภาพการวิเคราะห์ของเครื่อง HPLC ดังนี้:

1. Pump : binary gradient (solvent A และ solvent B)

Solvent A → water with TFA and methanol

Solvent B → acetonitrile with TFA and methanol

2. Detector : UV detector, $\lambda = 270$ nm

3. Column Heater : Temp. 30 °C

4. Column XTerra RP-18, 5 μ m, size 3.9x150 mm

5. Flow Rate: 1 ml/min

(5) การทำ HPLC fingerprint ของสารสกัดตัวอย่าง

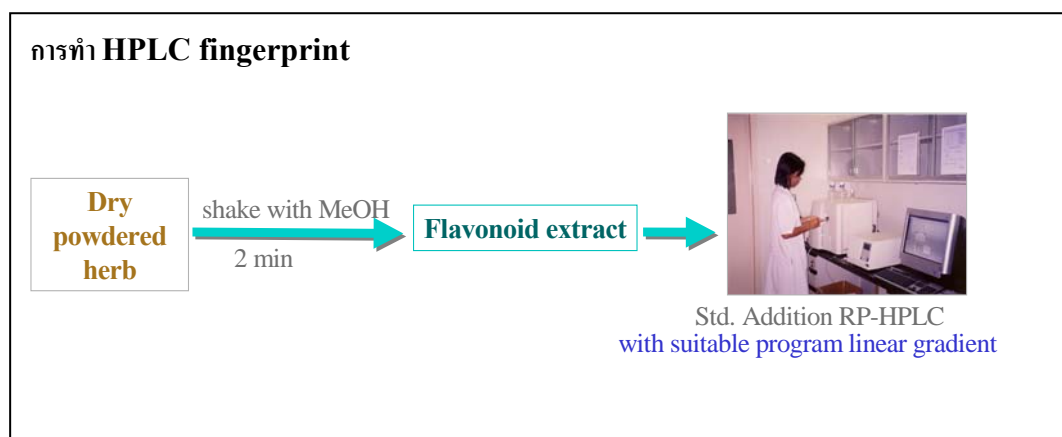
1. ทดลองหาโปรแกรม Linear gradient ในเวลา 40 นาที ของสารละลาย A และ B ที่ เหมาะสมกับสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด. โดยตั้งค่า Method และป้อนคำสั่งให้ HPLC pump ผสม

สารละลาย A และสารละลาย B สัดส่วนต่างๆ. เริ่มต้นด้วย 100%A + 0%B ที่ 0 นาที, ปรับสัดส่วน %A และ %B จนเปลี่ยนเป็น 0%A + 100%B ที่ 25-30 นาที และกลับมาเป็น 100%A + 0%B ที่ 31-40 นาที. จากนั้น ทดลองฉีดสารสกัดตัวอย่าง 20 มล.เข้าเครื่อง HPLC สังกะยมโครมา-โตแกรมที่ได้ และปรับโปรแกรม Linear gradient จนได้โครมาโตแกรมที่แยกพีกได้ดี.

2. วิเคราะห์สารสกัดตัวอย่าง โดยฉีดสารสกัดตัวอย่าง 20 มล. เข้าเครื่อง HPLC ที่ตั้งโปรแกรม Linear gradient เหมาะสมกับสารสกัดสมุนไพร (ข้อ 5.1) ให้สารละลายผสม A และ B พาสารสกัดผ่านคอลัมน์ RP-18 เป็นเวลา 40 นาที, ได้โครมาโตแกรมของสารสกัดตัวอย่าง.

3. วิเคราะห์สารมาตรฐาน โดยฉีดสารละลายผสมมาตรฐานอัตราส่วน 1:1 ของ rutin 200ppm และเคอร์เซติน 200ppm 20 มล.เข้าเครื่อง HPLC ที่ตั้งโปรแกรม Linear gradient เดียวกันกับสารสกัดตัวอย่าง, ได้โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน.

4. ทำคุณภาพวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเติมสารละลายมาตรฐาน (Standard addition) โดยเติมสารละลายผสมมาตรฐาน 1:1 ของ rutin 200ppm และเคอร์เซติน 200ppm ปริมาณเหมาะสมลงในสารสกัดตัวอย่าง, เขย่าให้เข้ากัน, ฉีด 20 มล.เข้าเครื่อง HPLC ที่ตั้งโปรแกรม Linear gradient เดิม, ได้โครมาโตแกรมของสารสกัดตัวอย่างเทียบกับพีกของสารมาตรฐาน.



รูปที่ 2. ขั้นตอนการทำ HPLC fingerprint จากผงสมุนไพร.

2.2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร

2.2.3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบเอทานอล

ซึ่งผงแห้งสมุนไพรที่รูน้่านักแน่นอน บรรจุลงใน Percolator ชนิดสเตนเลสที่ปลายเปิด อดด้วยสำลี เติม 95%เอทานอล ให้ท่วมผงสมุนไพร. หมักทิ้งไว้ 24 ชม. เมื่อครบเวลาแล้วไขส่วนสกัดที่ได้ให้ไหลช้าๆ ด้วยอัตราเร็ว 3 มล./นาที่. กากของสมุนไพรนำมาหมักซ้ำด้วย 95%เอทานอลใหม่ 24 ชม.แล้วไขออกกรองรับสารสกัดอีก 2 ครั้ง, ครั้งสุดท้ายให้ล้างด้วย 95%เอทานอลใหม่ จนได้สารสกัดใส. รวมสารสกัดที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงระเหยสารภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 45° ซ. จะได้สารสกัดหยาบเอทานอลลักษณะเหนียว, ชั่งหนัก และคำนวณ %yield จากน้ำหนักผงแห้ง.

2.2.3.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาล (*Artemia sp.*)

ใช้วิธีทดสอบความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาล ในจานหลุม (Microplate assay) ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Solis *et al.* (1992) ดังนี้:

(1) การเพาะเลี้ยงไรสีน้ำตาล

นำไข่อาร์ทีเมีย (*Artemia cyst*) มาโปรยลงในภาชนะซึ่งบรรจุน้ำทะเลเทียม (3.7% w/v NaCl), ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง พร้อมปั๊มให้อากาศเป็นเวลา 48 ชม. จากนั้น เทไข่ที่ฟักแล้วใส่ลงในส่วนที่หนึ่งของภาชนะพลาสติกที่แบ่งเป็นสองส่วนและมีรูที่ผนังกัน, ใช้ฟอยล์ปิดภาชนะส่วนที่มีไข่ที่ฟักแล้ว, ส่องไฟล่อให้ลูกไรว่ายน้ำผ่านรูออกมายู่อีกด้านของภาชนะ, นำลูกไรที่ได้ไปใช้.

(2) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ซึ่งสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร (ข้อ 2.3.3.1) มาละลายในน้ำทะเลเทียม (3.7% w/v NaCl) ที่มี 0.25%Tween80 แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ

(3) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Thymol โดยชั่ง Thymol มาละลายในน้ำทะเลเทียม (3.7% w/v NaCl) ที่มี 0.25%Tween80 แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ.

2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Kojic acid โดยชั่ง Kojic acid มาละลายในน้ำทะเลเทียม (3.7% w/v NaCl) ที่มี 0.25%Tween80 แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ.

(4) วิธีทดสอบความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาล

ทดสอบความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลของสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆ (ข้อ 2) โดยใช้ไรสีน้ำตาล 30 ตัว (แบ่งใส่ในจานหลุมๆละ 5 ตัว รวม 6 หลุม) ต่อ 1 ความเข้มข้น ดังนี้:

ปิเปตไรสีน้ำตาล 5 ตัวใน 100 มก. ของน้ำทะเลเทียม (3.7% w/v NaCl) ที่มี 0.25% Tween80 มาใส่ในแต่ละหลุมของจานหลุม รวม 6 หลุม. เติมสารละลายตัวอย่าง (ข้อ 2) 100 มก. ลงในแต่ละหลุม ได้ปริมาตรรวม 200 มก./หลุม, กำหนดความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างเป็น มก./มล. ทำเช่นเดียวกันนี้จนครบทุกความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง ส่วนหลุมควบคุมจะเติม 100 มก. ของน้ำทะเลเทียม (3.7% w/v NaCl) ที่มี 0.25% Tween80 แทน. ปิดฝาจานหลุมแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง 22°-29° ซ. 24 ชั่วโมง. จากนั้น ใช้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 4x) นับจำนวนรวมของไรสีน้ำตาลที่ตายใน 6 หลุมของแต่ละความเข้มข้น.

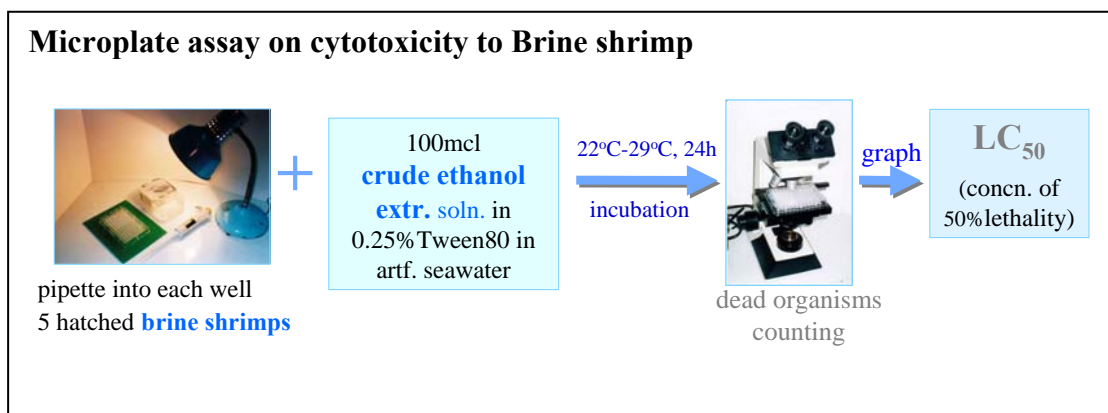
(5) การคำนวณ

1. หาร้อยละของการตาย (%Lethality) จากสูตร

$$\%Lethality = \text{No.of dead organism in 6 wells} \times 100/30$$

2. หาค่า LC_{50} (Concentration of 50%Lethality, ความเข้มข้นที่ทำให้ไรสีน้ำตาลตายครึ่งหนึ่ง) โดยสร้างกราฟ Log concentration vs %Lethality ด้วยโปรแกรม Excel แล้วแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรง จะได้ค่า x , และ $\text{antilog } x$ จะเป็นค่า LC_{50} (Ballantyne และคณะ 1995).

นำค่า LC_{50} ของสารละลายตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับค่า LC_{50} ของสารละลายมาตรฐาน Thymol (ข้อ 3.1) และสารละลายมาตรฐาน Kojic acid (ข้อ 3.2) ซึ่งทดสอบด้วยวิธีเดียวกัน.



รูปที่ 3. ขั้นตอนการทดสอบความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลของสารสกัดสมุนไพร.

2.2.3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ใช้วิธี DPPH radical scavenging microplate assay ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Hatano และคณะ (1989) และ Tewtrakul (1998) ดังนี้:

(1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ซึ่งสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร (ข้อ 2.3.3.1) มาละลายใน 99.7%เอทานอล แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ.

(2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT (Butylated hydroxytoluene) โดยชั่ง BHT มาละลายใน 99.7%เอทานอล แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ.

2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHA (Butylated hydroxyanisole) โดยชั่ง BHA มาละลายใน 99.7%เอทานอล แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ.

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี โดยชั่งวิตามินซี (Ascorbic acid) มาละลายใน 99.7%เอทานอล แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ.

(3) การเตรียมสารละลาย DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH 6×10^{-5} โมลาร์ โดยชั่งสารอนุมูลอิสระ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 0.237 มก. มาละลายใน 99.7%เอทานอล 10 มล.

(4) วิธีทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH

ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 100 มล. ใส่ในจานหลุม, เติมสารละลาย DPPH 100 มล. ทำให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลุมเป็น 200 มล., ทำ 3 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง, คำนวณความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างเป็น มก./มล. ทำเช่นเดียวกันนี้จนครบทุกความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง. ทำ Blank (B) ของแต่ละความเข้มข้นโดยเติม 100 มล. ของ 99.7% เอทานอล ลงใน 100 มล. ของสารละลายตัวอย่าง. ส่วนหลุมควบคุม (Control, C) จะเติม 100 มล. ของสารละลาย DPPH ลงใน 100 มล. ของ 99.7% เอทานอล. วางจานหลุมบนถาดของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Microplate reader), เขย่าให้เข้ากันดี, บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ในที่มืด. จากนั้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร.

(5) การคำนวณ

1. หาค่าร้อยละของความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ (% Scavenging) ได้จากสูตร

$$\% \text{ Scavenging} = \left(\frac{C - (A-B)}{C} \right) \times 100$$

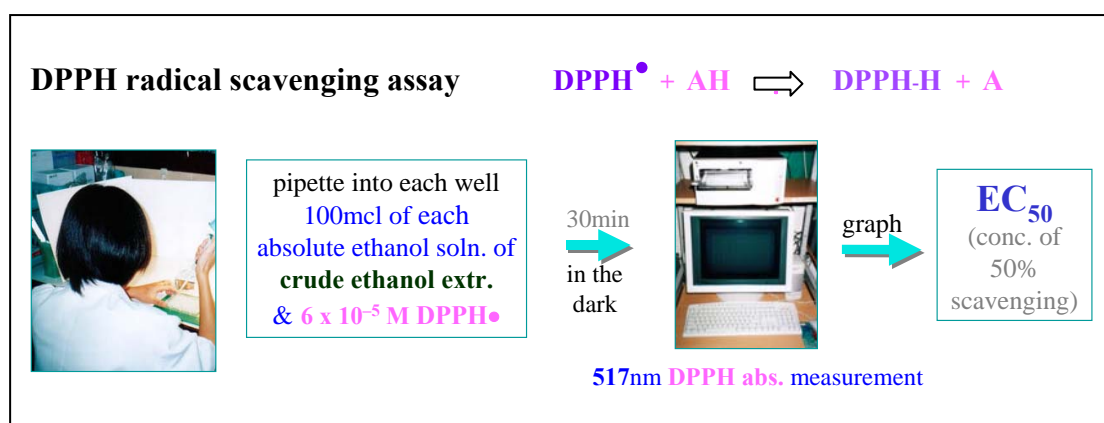
เมื่อ A แทนค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ในหลุมปฏิกิริยา.

B แทนค่าการดูดกลืนแสงของสารทดสอบ (blank).

C แทนค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ในหลุมควบคุม (control).

2. หาค่า EC_{50} (Concentration of 50% Scavenging, ความเข้มข้นของสารละลายทดสอบที่ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง) โดยสร้างกราฟ Log concentration vs % Scavenging ด้วยโปรแกรม Excel แล้วแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรง จะได้ค่า x , และ $\text{antilog } x$ จะเป็นค่า EC_{50} (Ballantyne *et al.* 1995).

นำค่า EC_{50} ของสารละลายตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับค่า EC_{50} ของสารละลายมาตรฐาน BHT (ข้อ 1), BHA (ข้อ 2) และวิตามินซี (ข้อ 3) ซึ่งทดสอบด้วยวิธีเดียวกัน.



รูปที่ 4. ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดสมุนไพร.

2.2.3.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ใช้ Dopachrome microplate assay ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Masamoto และคณะ (1980), Morita *et al.* (1994), Iida *et al.* (1995) และ ศรีตุลารักษ์ (2541) เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในกระบวนการชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินของร่างกาย, โดยวัดการเปลี่ยน L-DOPA ไปเป็นสารตัวกลางสีแดงที่เสถียร ชื่อ โดปาโครม (dopachrome) ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ดังนี้:

(1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ซึ่งสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร (ข้อ 2.2.3.1) มาละลายในคลอโรฟอร์ม 20 มล. แล้ว partition ด้วย 20% เอทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร) ครั้งละ 8 มล. 3 ครั้ง, รวมสารสกัดในชั้น 20% เอทานอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มล. ด้วยขวดวัดปริมาตร. นำชั้นคลอโรฟอร์มไประเหยแห้งภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 45° ซ., ซึ่งน้ำหนัก แล้วนำไปหักออกจากน้ำหนักสารสกัดหยาบเอทานอลที่ใช้ จะได้น้ำหนักสารสกัดในชั้น 20% เอทานอล. คำนวณความเข้มข้นของสารสกัดในชั้น 20% เอทานอล เป็น มก./มล., นำสารสกัดที่ได้มาเจือจางด้วย 20% เอทานอล ให้มีความเข้มข้นต่างๆ.

(2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Kojic acid

ซึ่ง Kojic acid 14.2 มก. มาละลายใน 20% เอทานอล 10 มล. ได้สารละลายมาตรฐาน Kojic acid 10 มิลลิโมลาร์ แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ.

(3) การเตรียมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 314.8 ยูนิต/มล. ในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ซึ่งเอนไซม์ไทโรซิเนส 0.2 มก. มาละลายใน 0.02 โมลาร์โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.8) 5 มล.

(4) การเตรียมสารละลาย L-DOPA 0.34 มิลลิโมลาร์ ในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ซึ่ง L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine) 0.32 มก. มาละลายใน 0.02 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.8) 5 มล.

(5) วิธีทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

แบ่งงานหลุมออกเป็น 4 ส่วน คือ หลุมควบคุม (A), Blank ของหลุมควบคุม (B), หลุมทดลอง (C), Blank ของหลุมทดลอง (D).

หลุมควบคุม (A) ให้เปิด 20% เอทานอล 50 มก. ใส่ในงานหลุม, เติมโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 มก. และสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 50 มก., เขย่าให้เข้ากัน; ส่วน Blank ของหลุมควบคุม (B) ให้ใส่โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 มก. แทนสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส.

หลุมทดลอง (C) ให้เปิดสารละลายตัวอย่าง 50 มก. ใส่ในงานหลุม, เติมโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 มก. และสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 50 มก., เขย่าให้เข้ากัน, ทำ 3 ซ้ำทุกๆ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ใช้, ส่วน Blank ของหลุมทดลอง (D) ให้ใส่โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 มก. แทนสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส.

นำงานหลุมทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 25° ซ. 10 นาที. จากนั้น เติมสารละลาย L-DOPA 50 มก., เขย่าให้เข้ากัน, วัดการดูดกลืนแสงก่อนบ่ม ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในงานหลุม (Microplate reader), บ่มที่อุณหภูมิ 25° ซ. 2 นาที แล้ววัดการดูดกลืนแสงหลังบ่ม ที่ความยาวคลื่นเดิม. นำค่าการดูดกลืนแสงก่อนบ่มไปหักออกจากราคาการดูดกลืนแสงหลังบ่ม, ความต่างที่ได้จะเป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารโดปาโครมที่เกิดขึ้นในเวลา 2 นาทีของปฏิกิริยา ($A_{2\text{min}} - A_{0\text{min}}$).

(6) การคำนวณ

1. หาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (%Tyrosinase inhibition) ได้จากสูตร

$$\% \text{Tyrosinase inhibition} = \left[\frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \right] \times 100$$

A, B, C และ D เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร

(A-B) = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร โดปาโครมที่เกิดขึ้นในหลุมควบคุม

เมื่อ A เป็นค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม

(20%เอทานอล+เอนไซม์ในบัฟเฟอร์+L-DOPA)

B เป็นค่าการดูดกลืนแสงของ Blank of A (20% เอทานอล+บัฟเฟอร์+L-DOPA)

(C-D) = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร โดปาโครมที่เกิดขึ้นในหลุมทดลอง

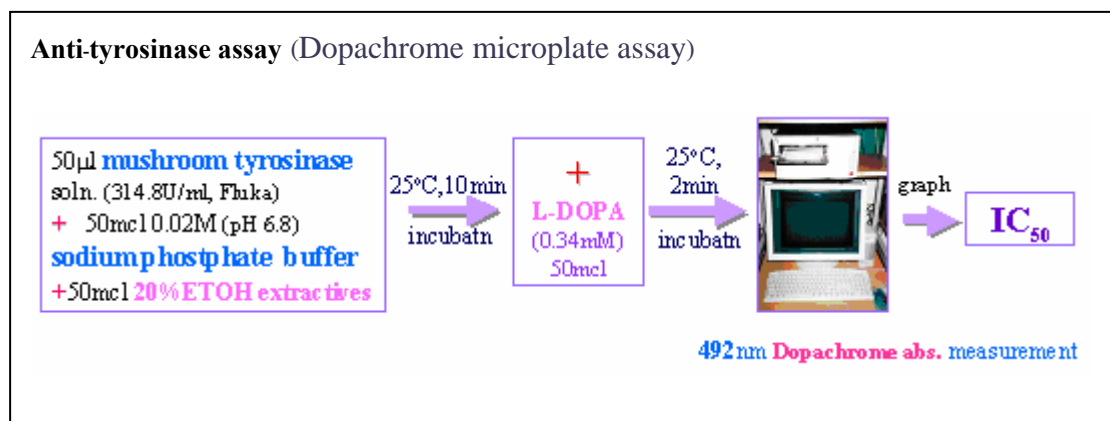
เมื่อ C เป็นค่าการดูดกลืนแสงของหลุมทดลอง

(สารทดสอบ+เอนไซม์ในบัฟเฟอร์+L-DOPA)

D เป็นค่าการดูดกลืนแสงของ Blank of C (สารทดสอบ+บัฟเฟอร์+L-DOPA)

2. หาค่า IC_{50} (Concentration of 50%Tyrosinase inhibition, ความเข้มข้นของสารละลายทดสอบที่ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ครึ่งหนึ่ง) โดยใช้โปรแกรม Excel สร้างกราฟ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition แล้วแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรง จะได้ค่า x , และ $\text{antilog } x$ จะเป็นค่า IC_{50} (Ballantyne *et al.* 1995).

นำค่า IC_{50} ของสารละลายตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับค่า IC_{50} ของสารละลายมาตรฐาน Kojic acid (ข้อ 2) ซึ่งทดสอบด้วยวิธีเดียวกัน.



รูปที่ 5. ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสมุนไพร.

2.2.3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบ

2.2.3.5.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู

ใช้ Rat paw oedema model ซึ่งประยุกต์จากวิธีการของ Winter *et al.* (1962) เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูจากการฉีดสาร Carrageenin ดังนี้:

(1) การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำหนูขาวเพศผู้ พันธุ์ Wistar จำนวน 30 ตัว มาปรับความคุ้นเคยด้วยการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อนการทดสอบนาน 1 สัปดาห์ (เลี้ยงด้วยน้ำกรอง และอาหารหนูทดลอง) และงดอาหารหนูอย่างน้อย 16 ชั่วโมง (แต่ให้ได้รับน้ำตามปกติ) ก่อนทำการทดสอบ.

(2) การเตรียมสารแขวนลอยพื้น

เตรียมสารแขวนลอยพื้น ที่ประกอบด้วยน้ำมันพืชและ Tragacanth.

(3) การเตรียมสารแขวนลอย 50 มก./มล. ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร

ซึ่งสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร 5 กรัม มาเตรียมเป็นสารแขวนลอยใน 100 มล. ของสารแขวนลอยพื้นน้ำมันพืชและ Tragacanth (ข้อ 2).

(กรณีทดสอบผงแห้งสมุนไพร จะเตรียมเป็นสารแขวนตะกอนในน้ำกลั่น)

(4) การเตรียมสารแขวนลอย 50 มก./มล. ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone

ซึ่งสารมาตรฐาน Phenylbutazone 5 กรัม มาเตรียมเป็นสารแขวนลอยใน 100 มล. ของสารแขวนลอยพื้นน้ำมันพืชและ Tragacanth (ข้อ 2).

(5) เตรียมสารละลาย 1% Carrageenin

ซึ่ง Carrageenin 1 กรัม มาละลายใน 100 มล. ของ 0.9% Normal saline

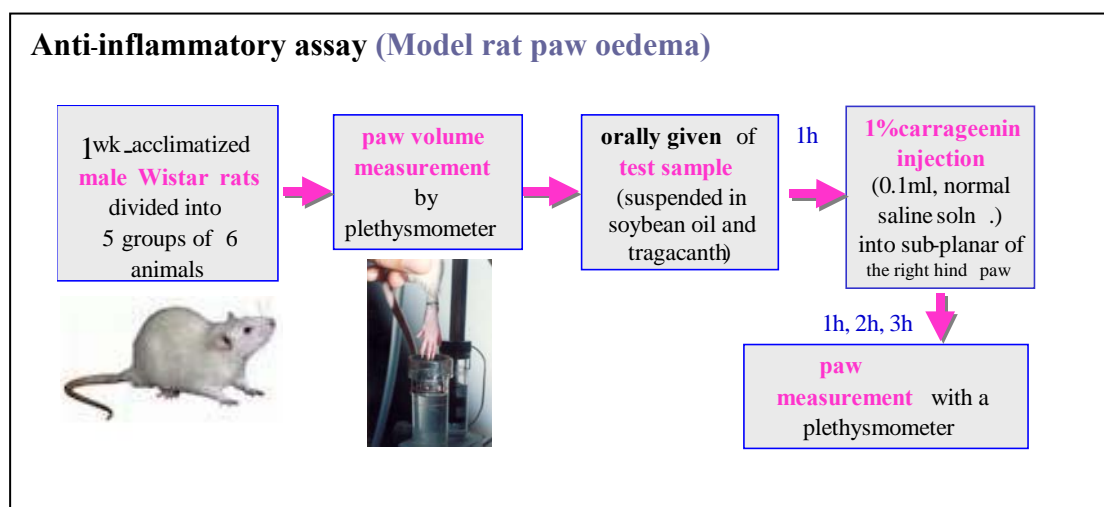
(6) วิธีทดสอบ

ดำเนินการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบ โดยแบ่งหนูทดลองเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว, ใช้ Stomach tube ป้อนสารทดสอบแก่หนูทดลองทางปาก ดังนี้:

1. กลุ่มควบคุมบวก: ป้อนสารแขวนลอยของสารมาตรฐาน Phenylbutazone ขนาด 250 มก./น้ำหนักตัว 1 กก.
2. กลุ่มควบคุม: ป้อนสารแขวนลอยพื้น ปริมาตร 1.5 มล.
3. กลุ่มทดสอบ: ป้อนสารแขวนลอยของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพรรักษาขนาด 100-1,000 มก./น้ำหนักตัว 1 กก.

หลังจากนั้น 1 ชม. ให้ฉีด 0.1 มล.ของสารละลาย 1% Carrageenin เข้าใต้ผิวหนังที่อุ้งเท้าหนูข้างขวา เพื่อกระตุ้นการอักเสบ. จากนั้น ใช้ Plethysmometer วัดปริมาตรเท้าข้างขวาของหนูทุกตัวที่เวลา 1, 2 และ 3 ชั่วโมง เทียบกับก่อนทดสอบเพื่อหาค่าเฉลี่ยปริมาตรการบวม. คำนวณค่าร้อยละของการยับยั้งการอักเสบเทียบกับกลุ่มควบคุม.

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ โดยใช้ student “t” test $p \leq 0.05$ (ชานิจารกิจ 2531).



รูปที่ 6. ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดสมุนไพรรักษา.

2.2.3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู

ใช้ Rat ear oedema model ซึ่งประยุกต์จากวิธีการของ Brattsand *et al.* (1982) เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนูจากการกระตุ้นด้วยสาร Ethyl phenylpropiolate (EPP) ดังนี้:

(1) การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำหนูขาวเพศผู้ พันธุ์ Wistar จำนวน 30 ตัว มาปรับความคุ้นเคยด้วยการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อนการทดสอบนาน 1 สัปดาห์ (เลี้ยงด้วยน้ำกรอง และอาหารหนูทดลอง) และงดอาหารหนูน้อย 16 ชั่วโมง (แต่ให้ได้รับน้ำตามปกติ) ก่อนทำการทดสอบ.

(2) การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร

ชั่งสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร 1 กรัม มาละลายในอะซิโตน 1 มล.

(3) การเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน Phenylbutazone

ชั่งสารมาตรฐาน Phenylbutazone 0.1 กรัม มาละลายในอะซิโตน 1 มล.

(4) การเตรียมสารละลาย 5%EPP

ตวง Ethyl phenylpropiolate (EPP) 5 มล. มาผสมให้เข้ากันดีกับอะซิโตน 100 มล.

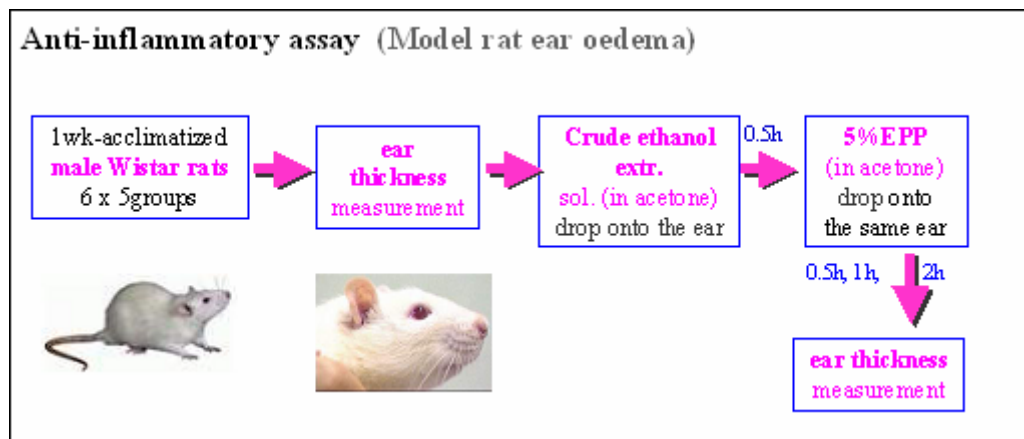
(5) วิธีทดสอบ

ดำเนินการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบ โดยแบ่งหนูทดลองเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว, วัดความหนาใบหูข้างขวาของหนูทุกตัวด้วย Pocket thickness gage แล้วใช้ปิเปตหยอดสารทดสอบ 20 มล. ที่ใบหูข้างขวาของหนู โดยแบ่งหยอด 10 มล. ที่ใบหูด้านนอก และ 10 มล. ที่ใบหูด้านใน ดังนี้:

1. กลุ่มควบคุมบวก: หยอดสารละลายของสารมาตรฐาน Phenylbutazone ขนาด 2 มก. /หู.
2. กลุ่มควบคุม: หยอดอะซิโตน 20 มล./หู.
3. กลุ่มทดสอบ: หยอดสารละลายของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร ขนาด 200 มก. /หู, 2 มก. / หู และ 20 มก. /หู.

หลังจากนั้น 30 นาที ให้กระตุ้นการอักเสบด้วยการหยอดสารละลาย 5%EPP ที่ใบหูข้างเดิม โดยหยอด 10 มล. ที่ใบหูด้านนอก และหยอดอีก 10 มล. ที่ใบหูด้านใน, แล้ววัดความหนาใบหูข้างขวาที่เวลา 0.5, 1 และ 2 ชั่วโมง เทียบกับก่อนทดสอบเพื่อหาค่าเฉลี่ยปริมาตรการบวม. คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการอักเสบเทียบกับกลุ่มควบคุม.

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ โดยใช้ student “t” test $p \leq 0.05$ (ชำนาญกรกิจ 2531).



รูปที่ 7. ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูของสารสกัดสมุนไพร.

2.2.3.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

ใช้วิธี Agar dilution (เสตะกัณณะ *et al.* 2542, Washington II and Sutter 1980) ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค จำนวน 19 ชนิด 21 สายพันธุ์ ดังนี้:

(1) การเตรียมจุลินทรีย์ทดสอบ

นำหัวเชื้อจุลินทรีย์มาใส่ในอาหารเหลวเพาะเชื้อเริ่มต้น 5 มล. (ใช้ MHB, WC Broth และ SDB สำหรับแบคทีเรียเจริญแบบใช้อากาศ, แบบไม่ใช้อากาศ และยีสต์ ตามลำดับ). นำไปเพาะในตู้บ่มเชื้อโดยบ่มที่ 37°C. เป็นเวลา 18-24 ชม. สำหรับแบคทีเรียชนิดเจริญแบบใช้อากาศ และ 48 ชม. สำหรับแบคทีเรียชนิดเจริญแบบไม่ใช้อากาศและยีสต์ แล้วนำมาปรับความหนาแน่นของเชื้อให้ได้ 10^6 - 10^7 เซลล์/มล. ด้วยอาหารเหลวเพาะเชื้อเริ่มต้นที่ใช้.

(2) การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร

ซึ่งสารสกัดหยาบเอทานอลจากสมุนไพร นำมาละลายในอะซิโตนให้มีความเข้มข้นต่างๆ ระหว่าง 20-1,200 มก./มล.

(3) การเตรียมอาหารวุ้นแข็งสำหรับงานเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอาหารวุ้นแข็ง ตามชนิดของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยใช้ MHA, WC Agar และ SDA สำหรับแบคทีเรียเจริญแบบใช้อากาศ, แบบไม่ใช้อากาศ และยีสต์ ตามลำดับ แล้วนึ่งฆ่าเชื้อ.

(4) การเตรียมงานเลี้ยงเชื้อควบคุมลบ

ปิเปตอาหารวุ้นแข็งที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ข้อ 3) 20 มล. มาใส่ในงานเลี้ยงเชื้อ, วางไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง.

(5) การเตรียมงานเลี้ยงเชื้อควบคุมบวก

ปิเปตอาหารวุ้นแข็งที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ข้อ 3) 20 มล. มาใส่ในงานเลี้ยงเชื้อ, เติมอะซิโตน 1 มล., ผสมให้เข้ากัน, วางไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง.

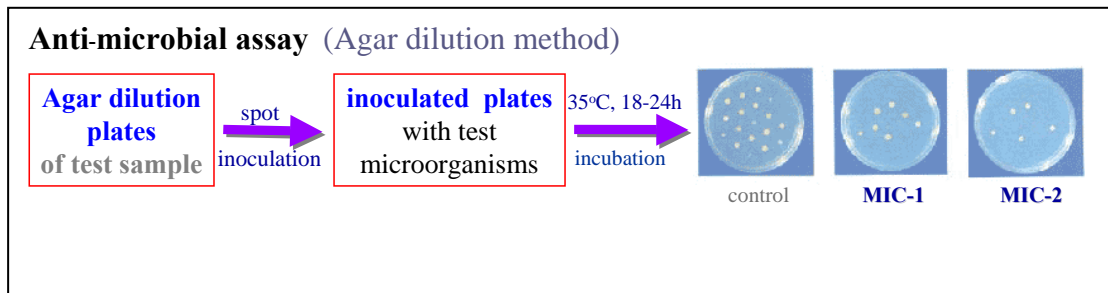
(6) การเตรียมงานทดสอบ (Agar dilution plates)

ปิเปตสารละลายความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดขยายเอทานอลจาก สมุนไพร (ข้อ 2) มาเติมลงในอาหารวุ้นแข็งที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วและทิ้งไว้พออุ่นๆ (ข้อ 3) ในอัตราส่วน 1: 40, ผสมให้เข้ากัน, คำนวณความเข้มข้นเป็น มก./มล. ของสารสกัดสมุนไพรในอาหารวุ้นแข็งที่ได้. จากนั้นปิเปต 20 มล. มาใส่ในงานเลี้ยงเชื้อ, วางไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง.

(7) วิธีทดสอบ

ดำเนินการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยนำจุลินทรีย์ทดสอบมาเพาะบนงานทดสอบและงานควบคุมลบ ด้วยวิธี Spot inoculation, ทำ 3 ซ้ำต่อชนิดจุลินทรีย์. โดยปิเปตเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ (ข้อ 1) ใส่ลงใน Seed plate ของ Multipoint inoculators สายพันธุ์ละ 0.1 มล./หลุม. จุ่ม Inoculator ลงในหลุม แล้วนำมาแตะบนผิวของอาหารวุ้นแข็ง จากนั้น นำมาบ่มเพาะในตู้บ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสม คือ แบคทีเรียชนิดเจริญแบบใช้อากาศ บ่มที่ 35°C. เป็นเวลา 18-24 ชม., ส่วนแบคทีเรียชนิดเจริญแบบไม่ใช้อากาศ และยีสต์ บ่มที่ 35°C. เป็นเวลา 48 ชม.

ตรวจสอบการเจริญของเชื้อบนงานทดสอบและงานควบคุม, จะหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบไม่สามารถเจริญได้ (MIC, Minimum Inhibitory Concentration).



รูปที่ 8. ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพร.

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

(1) บอระเพ็ดพุงช้าง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Stephania suberosa* Forman

วงศ์ MENISPERMACEAE

ชื่อพ้อง บอระเพ็ดพุงช้างตัวเมีย, บัวบก (ภาคกลาง); กิ่งกลางดง (ภาคเหนือ)



(ก) เถาอ่อน



(ข) หัว



(ค) ดอก (สีส้ม), ผลอ่อน

รูปที่ 9. บอระเพ็ดพุงช้าง (*Stephania suberosa* Forman)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้เถาขนาดกลาง เถาอ่อนมีสีเขียวงอกมาจากลำต้นที่พองเป็นหัวขนาดใหญ่เหนือพื้นดิน (Caudexes). หัวทรงกลม ผิวเรียบ เนื้อสีเหลืองอ่อน บางหัวมีขนาดโตเท่ากำมะถัน. ใบกลมก้นปัด ปลายแหลม ขนาด 3-4 นิ้ว, ใบเดี่ยวเรียงสลับ มีสีเขียวทั้งตัวใบ เส้นใบและก้านใบ. ดอกเล็ก กลีบดอกสีส้มออกเป็นช่อตามง่ามใบ, ช่อดอกตัวเมียอัดกันแน่นมากกว่าช่อดอกตัวผู้. ผลเล็กเบียดกันเป็นพวง, ผลอ่อนสีเขียว, ผลแก่สีแดง. ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ดและแยกหน่อ.

แหล่งกำเนิด: เป็นไม้ประจำถิ่นของไทย (ยังไม่มีรายงานว่าพบในต่างประเทศ) พบเลื้อยพาดพันต้นไม้ใหญ่ในป่าดงดิบเขาขึ้น.

สรรพคุณ:

หัวรักษาเบาหวาน, มะเร็ง, ลดความดันโลหิต โดยนำหัวมาฝาน ตากแห้ง 2-3 แฉก บดเป็นผงผสมน้ำผึ้ง ปั้นเป็นลูกกลอนขนาดเท่าปลายนิ้วก้อย กินครั้งละ 3-5 เม็ด ก่อนอาหารเช้า วันละครั้ง

(วุฒิชัย 2540). บางตำราว่าผงกิบกับน้ำผึ้งรวง เจริญอาหาร ทำให้แข็งแรง, ขับลม, เป็นยาอายุวัฒนะ (รัตนรังษี 2534).

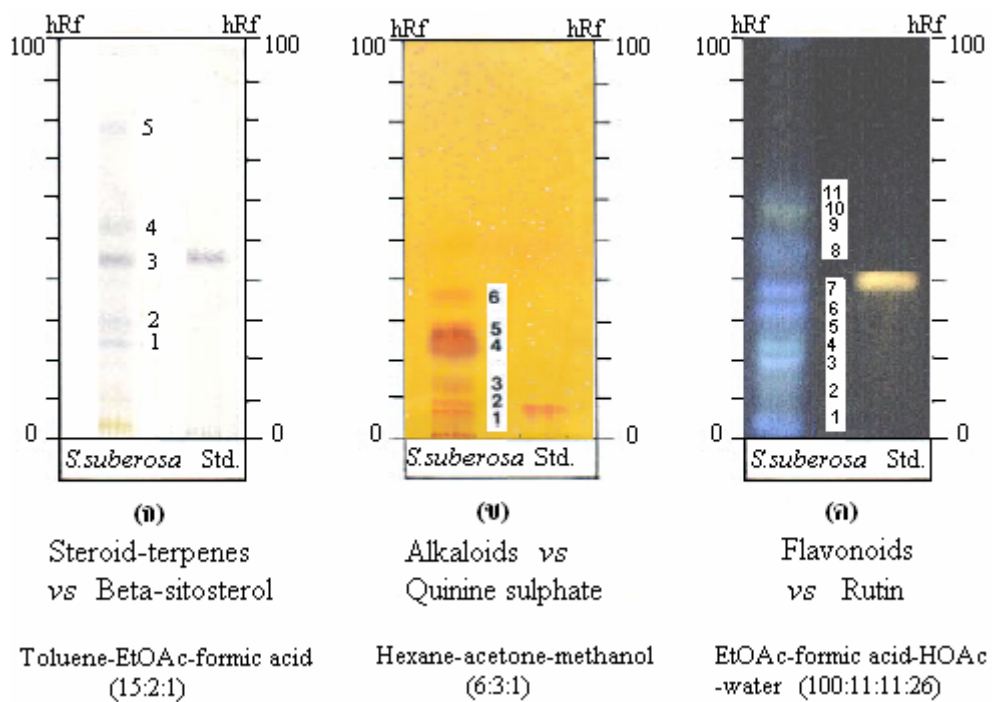
ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) :

หัวบอระเพ็ดพวงช้างพบมี tetrahydropalmitine ซึ่งเป็นโปรโตเบอเบอรินอัลคาลอยด์ (Protoberberine alkaloids) (วัลย์กนก และพัฒนาประทีป 2536) ที่มีฤทธิ์กดระบบประสาทส่วนกลาง, สงบประสาท (sedative), กล่อมประสาท (tranquilizer), เพิ่มกำลังบีบตัวของมดลูก (uterotonic), ด้านแบคทีเรีย และลดความดันโลหิต (Simeon *et al.* 1989).

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: หัว (Caudexes, ลำต้นที่พองเป็นหัวขนาดใหญ่เหนือพื้นดิน)

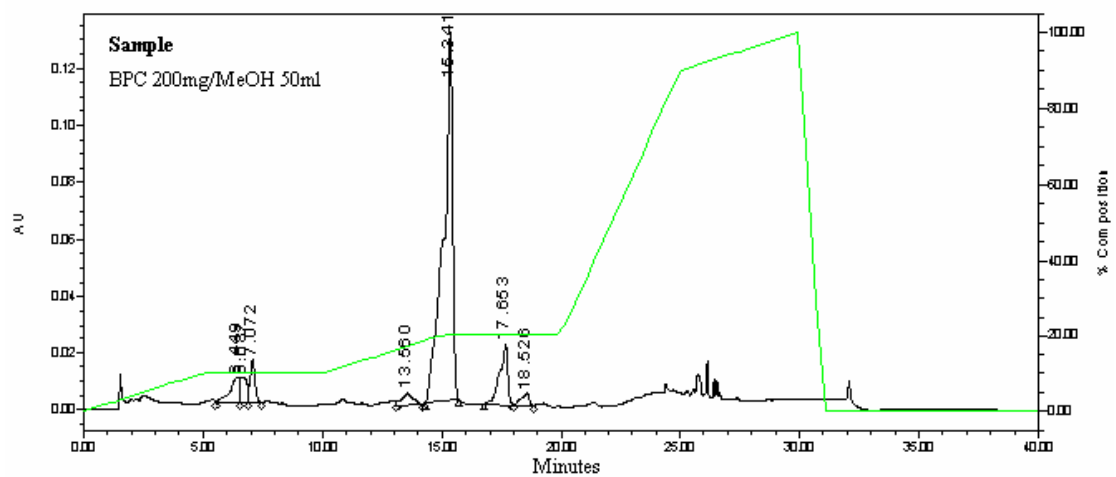
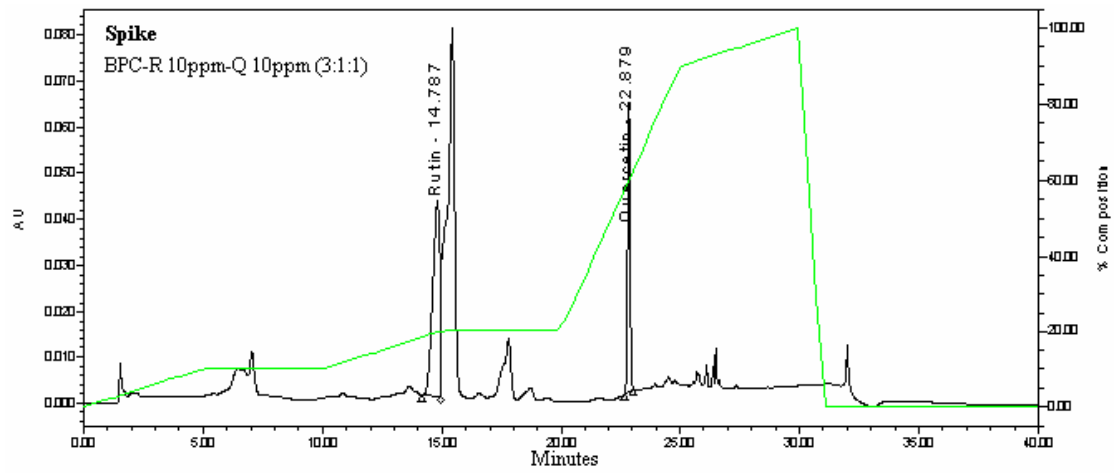
ผลการวิจัยผสมุนไพรร

1. TLC fingerprints



รูปที่ 10. TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งหัวบอระเพ็ดพวงช้าง.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.5%TFA+20%methanol in water

Solvent B 0.5%TFA+10%methanol in acetonitrile

รูปที่ 11. HPLC fingerprint ของหับพระเปิดพวงช้าง.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดหยาบเอทานอลจากหัวบอระเพ็ดพุงช้าง คิดเป็น 13.38% yield ของน้ำหนักผงแห้ง .
2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล.

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 2.

พบสารสกัดหัวบอระเพ็ดพุงช้างมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 366.84$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 4.5 ของ kojic acid ($LC_{50} = 16.68$ มก./มล.) และร้อยละ 3.7 ของ thymol ($LC_{50} = 13.59$ มก./มล.).

ตารางที่ 2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดหัวบอระเพ็ดพุงช้าง, kojic acid และ thymol

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} (µg/ml)
Caudexes extract	100	2	10	$y = 89.059x - 178.39$	366.84
	250	2.3979	20		
	500	2.6990	60		
	750	2.8751	73.33		
	1000	3	100		
Kojic acid	1	0	0	$y = 50x - 11.11$	16.68
	10	1	16.67		
	100	2	100		
Thymol	1	0	0	$y = 50x - 6.6667$	13.59
	10	1	30		
	100	2	100		

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 3.

พบสารสกัดหัวบอระเพ็ดพุงช้าง สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 10.69$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็นร้อยละ 39.4 ของ BHT ($EC_{50} = 4.21$ มก./มล.), ร้อยละ 39.6 ของ BHA ($EC_{50} = 4.23$ มก./มล.) และร้อยละ 11.4 ของ Vitamin C ($EC_{50} = 1.22$ มก./มล.).

ตารางที่ 3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหัวบระเพ็ดพวงช้าง, BHT, BHA และ Vitamin C

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC ₅₀ (µg/ml)
Caudexes extract	0.5	-0.3010	24.48	y = 24.547x + 24.744	10.69
	2.5	0.3979	27.86		
	25	1.3979	53.13		
	250	2.3979	89.06		
BHT	0.25	-0.6021	18.69	y = 28.196x + 32.416	4.21
	0.50	-0.3010	23.53		
	1.25	0.0969	27.68		
	5	0.6990	57.44		
	50	1.6990	79.58		
BHA	0.25	-0.6021	9.53	y = 35.246x + 27.929	4.23
	0.50	-0.3010	14.62		
	1.25	0.0969	27.31		
	2.50	0.3979	46.15		
	25	1.3979	76.92		
Vitamin C	0.25	-0.6021	22.77	y = 40.555x + 46.519	1.22
	0.50	-0.3010	25.25		
	2.50	0.3979	67.33		
	3.75	0.5740	81.19		
	25	1.3979	95.54		

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า y = 50 ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x, และ antilog x จะเป็นค่า IC₅₀ ดังตารางที่ 4.

พบสารสกัดหัวบระเพ็ดพวงช้างมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า IC₅₀ = 1.31 มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.18 ของ kojic acid.

ตารางที่ 4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหัวบระเพ็ดพวงช้างและ kojic acid

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC ₅₀ (mg/ml)
Caudexes extract	0.1016	-0.9931	3.31	y = 47.289x + 45.016	1.31
	0.4063	-0.3912	19.01		
	1.6250	0.2109	53.72		
	3.2500	0.5119	70.25		
	6.5000	0.8129	85.95		
Kojic acid	1.42x10 ⁻⁵	-4.8477	2.38	y = 24.828x + 115.39	0.0023
	7.1x10 ⁻⁴	-3.1487	25.40		
	1.42x10 ⁻³	-2.8477	38.89		
	1.42x10 ⁻²	-1.8477	78.57		
	7.1x10 ⁻²	-1.1487	88.10		

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของผงแห้ง และสารสกัดอายุ 3 ปี จากหัวบอระเพ็ดพุงช้าง ได้ผลดังนี้:

5.1 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของผงแห้งหัวบอระเพ็ดพุงช้าง

ผงแห้งหัวบอระเพ็ดพุงช้างขนาด 500 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเป็น 0.72 เท่า ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของผงแห้งหัวบอระเพ็ดพุงช้าง

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	34.8 ±12.3	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	9.7 ± 8.1	72.3 ^a	1	C
Caudexes powder 250 mg/kg BW	1	27.3 ± 9.7	21.5	0.30	E
Caudexes powder 500 mg/kg BW	1	16.8 ± 4.8	51.7 ^a	0.72	D

^a = $p < 0.05$

Activity classification: A ≥ 2, B = 1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

5.2 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดอายุ 3 ปีจากหัวบอระเพ็ดพุงช้าง

สารสกัดเอทานอล อายุ 3 ปี จากหัวบอระเพ็ดพุงช้าง (เก็บที่ 15 ° ซ.) ขนาด 500 มก./น.น. ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเป็น 0.74 เท่าของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 6, ซึ่งแสดงว่าสารสกัดมีฤทธิ์ดี แม้เก็บไว้นาน 3 ปีก็ยังมีฤทธิ์พอๆ กับผงบอระเพ็ดพุงช้าง.

ตารางที่ 6.ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดอายุ 3 ปี จากหัวบอระเพ็ดพุงช้าง

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	22.8 ±18.4	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	20.4 ±16.8	10.5	1	C
Caudexes extract 250 mg/kg BW	1	13.3± 10.3	41.6 ^a	3.96	A
Caudexes extract 500 mg/kg BW	1	10.5± 14.4	54.0 ^a	5.14	A

^a = p < 0.05

Activity classification: A ≥2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดหัวบอระเพ็ดพุงช้าง ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (5-30 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Shigella dysenteriae*, *Clostridium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.*; จุลินทรีย์ในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Propionibacterium acnes*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคผิวหนังบางชนิด โดยค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 5-10 มก./มล. ดังตารางที่

7.

ตารางที่ 7. อุณหภูมิที่ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหัวบอระเพ็ดพวงช้าง

Cultured strains	MIC (mg/ml)	
Aerobes		
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>30	
Gram negative, facultatively anaerobic rods		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10	
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	5	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	5	
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	5	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	5	
Gram positive cocci		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	5	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	5	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	30	
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	20	
Anaerobes		
Gram negative non-sporing rods		
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	5	
Gram positive non-sporing rods		
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	5	
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	5	
Gram positive spore-forming rods		
<i>Clostridium sp.</i> LAB	5	
Gram positive cocci		
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	5	
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	5	
Yeast		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>30	
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	>30	
	¹ positive control	+
	² negative control	+

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(2) สบู่เลือด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Stephania venosa* (Blume) Spreng; syn. *S. rotunda* Lour.

วงศ์ MENISPERMACEAE

ชื่อพ้อง บอระเพ็ดพุงช้างตัวผู้, ว่านสบู่เลือด, ว่านบอระเพ็ดพุงช้าง (ภาคกลาง);
กระท่อมเลือด (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ); บอระเพ็ดขางแดง (ภาคใต้);
เปล้าเลือดเครือ (ภาคเหนือ)



(ก) ใบ, เถา



(ข) หัว

รูปที่ 12. สบู่เลือด [*Stephania venosa* (Blume) Spreng].

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้เลื้อยพาดพันต้นไม้ใหญ่, ใบสีเขียวเข้ม เส้นใบเห็นชัดทางด้านล่างและมีสีน้ำตาลแดง, กิ่งก้านมีน้ำยางสีแสดเข้ม, ลำต้นบนดินมีอายุปีเดียว งอกมาจากลำต้นที่พองเป็นหัวขนาดใหญ่เหนือพื้นดิน (Caudexes). หัวกลมโต, ผิวขรุขระ, เนื้อในสีเหลืองเข้ม เมื่อตากแห้งเป็นสีแสด. ใบเดี่ยว เรียงสลับ ใบรูปไข่แกมสามเหลี่ยมกว้าง ขอบใบเว้าเล็กน้อย กว้าง 7-12 ซม. ยาว 6-11 ซม. ผิวใบด้านล่างสีอ่อนกว่าด้านบน และมีขนละเอียดเล็กน้อย. ดอกช่อแยกเพศ, ดอกตัวผู้และตัวเมียอยู่คนละต้น, ช่อดอกตัวผู้ยาวประมาณ 4-16 ซม. มีขนสั้นๆ กลีบดอกสีส้มแดง. ช่อดอกตัวเมียอัดกันแน่นมากกว่า, ดอกตัวเมียมีก้านดอกยาวประมาณ 1 มม. ผลเล็กเบียดกันเป็นพวง, ผลสกรูรูปไข่กลับ ผลอ่อนสีเขียว, ผลแก่สีแสด, ก้านผลยาวประมาณ 7 มม. (มหาวิทยาลัยมหิดล 2538, วลัยกนก และพัฒนาประทีป 2536).

แหล่งกำเนิด: พบขึ้นตามเชิงเขา ที่ราบและตามภูเขา ในพื้นที่สูงถึง 1,600 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล. มีเขตกระจายพันธุ์ในแถบทะเลอันดามัน, ประเทศไทย, เวียดนาม, จีนตอนใต้, มาเลเซีย, ดอนเหนือ

ของเกาะสุมาตราและเกาะบอร์เนียว, หมู่เกาะลังกาวิ, เกาะชวา, ฟิลิปปินส์ (วัลย์กนค และ พัฒนา ประทีป 2536).

สรรพคุณ:

เถาต้มน้ำขับพยาธิ. รากบำรุงเส้นประสาท. ใบใส่แผล รักษาแผลสดและแผลเรื้อรัง. น้ำยางสีแดงจากกิ่งก้านนำมาผสมยาสกัดตามตัวให้อยู่ยงคงกระพัน แต่เมื่อถ่ายปัสสาวะแล้วฤทธิ์จะหมดไป (ชาวบ้านเรียกว่า อยู่ยงคงกระพันเพียงชั่วขณะเบาเดียว). หัวหั่นเป็นแว่นคองเหล้ากินบำรุงกำลัง ทำให้หนังช้ำอยู่ยงคงกระพัน ถูกตีไม้เจ็บ และเป็นยาบำรุงกำหนด, หรือใช้หัวตากแห้ง บดป่นเป็นลูกกลอนกินเป็นยาอายุวัฒนะ เจริญอาหาร (มหาวิทยาลัยมหิดล 2538, วุฒิชรรณเวช 2540, รัตนรังสี 2534). ชาวเวียดนามใช้หัวเป็นยาสงบประสาท (hypnotic tranquilizers) (Nguyen Xuan and Do Tat Loi. 1991).

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) :

สารสกัดอัลคาลอยด์จากหัวสมุนไพร ในขนาด 1.1-11 มก./มล. มีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของธรรมชาติของลำไส้เล็กและมดลูก จึงอาจนำมาพัฒนาเป็นยารักษาอาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบได้ (Hoang 1993).

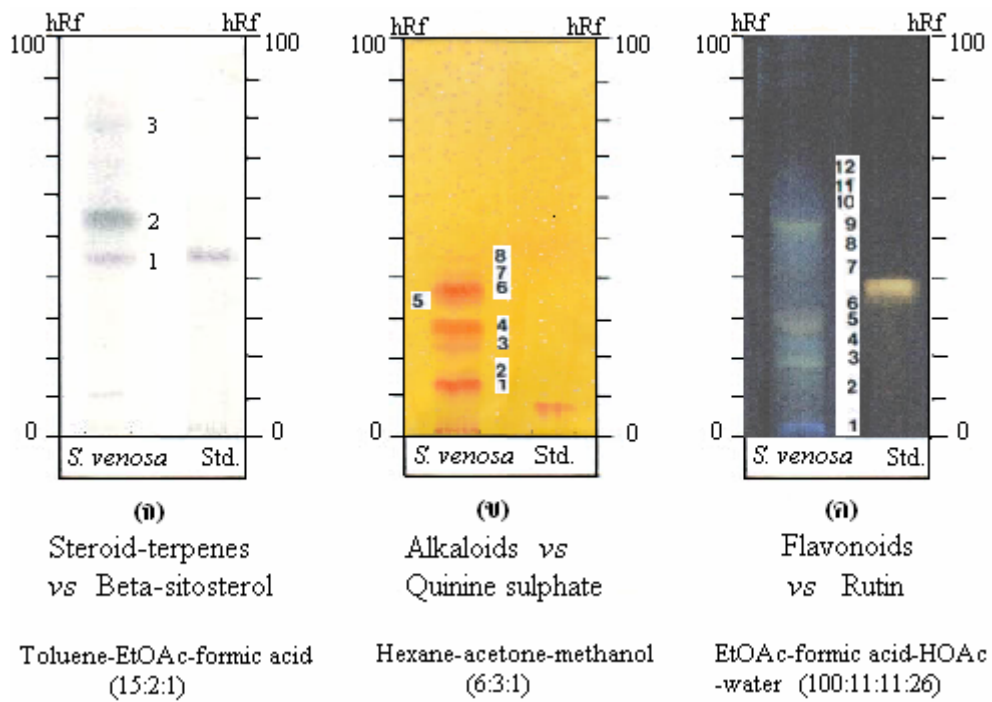
อะพอร์ฟีนอัลคาลอยด์ (aporphine alkaloids) หลายชนิดจากหัวสมุนไพร มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* จึงอาจนำมาพัฒนาเป็นยารักษามาลาเรียได้. โดยพบว่า dehydrostephanine และ dehydrocrebanine มีค่า IC_{50} 40 และ 50 นาโนกรัม/มล. ตามลำดับ, และอัลคาลอยด์ดังกล่าวเป็น 6a,7-dehydroaporphine alkaloids (Likhitwitayawuid *et al.* 1999).

สารสกัดเมทานอลจากหัวสมุนไพรขนาด 0.1 มก./มล. สามารถยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ acetylcholinesterase ได้ถึง 90% จึงอาจนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคสมองเสื่อมอัลไซเมอร์ได้ (Ingkaninan *et al.* 2001).

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: หัว (Caudexes, ลำต้นที่พองเป็นหัวขนาดใหญ่เหนือพื้นดิน)

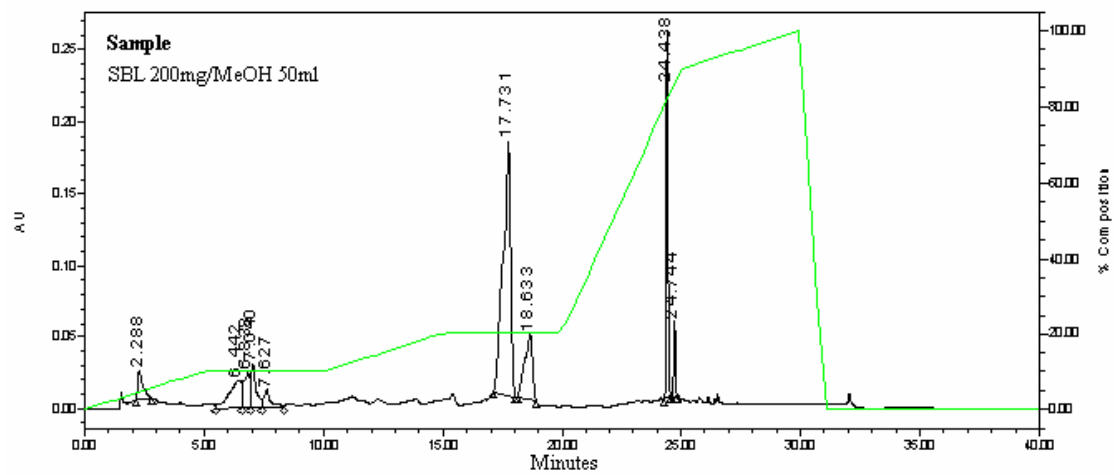
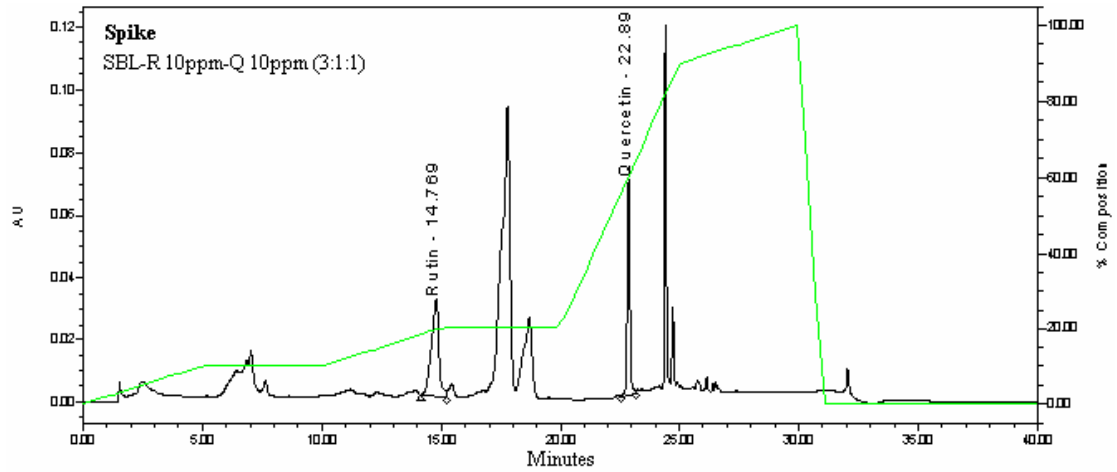
ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

1. TLC fingerprints



รูปที่ 13. TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งหัวสมุนไพร.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.5%TFA+20%methanol in water

Solvent B 0.5%TFA+10%methanol in acetonitrile

รูปที่ 14. HPLC fingerprint ของหัวสบู่เลือด.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดเหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดเหยาบเอทานอลจากหัวสมุนไพรเถียง คัดเป็น 11.62% yield ของน้ำหนักผงแห้ง

2. ความเป็นพิษต่อโรตีน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 8.

พบสารสกัดหัวสมุนไพรเถียงมีความเป็นพิษต่อโรตีน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 300.56$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 5.5 ของ kojic acid และร้อยละ 4.5 ของ thymol.

ตารางที่ 8. ความเป็นพิษต่อโรตีน้ำตาลของสารสกัดหัวสมุนไพรเถียง

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Caudexes extract	100	2	13.33	$y = 97.279x - 191.05$	300.56
	250	2.3979	23.33		
	500	2.6990	73.33		
	750	2.8751	96.67		
	1000	3	100		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 9.

พบสารสกัดหัวสมุนไพรเถียง สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 7.13$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็นร้อยละ 59 ของ BHT, ร้อยละ 59.3 ของ BHA และร้อยละ 17.1 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 9. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหัวสมุนไพรเถียง

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Caudexes extract	0.5	-0.3010	27.34	$y = 26.027x + 27.796$	7.13
	2.5	0.3979	32.81		
	25	1.3979	54.95		
	250	2.3979	97.40		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 10.

พบสารสกัดหัวสบู่เลือดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 1.55$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.15 ของ kojic acid.

ตารางที่ 10. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหัวสบู่เลือด

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Caudexes extract	0.096	-1.0177	3.33	$y = 42.407x + 41.943$	1.55
	0.480	-0.3188	21.67		
	2.400	0.3802	55.41		
	3.600	0.5563	68.92		
	12	1.0792	89.19		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของผงแห้ง, สารสกัดเอทานอล และสารสกัดอายุ 2.5 ปี จากหัวสบู่เลือด ได้ผล ดังนี้:

5.1 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของผงแห้งหัวสบู่เลือด

ผงแห้งหัวสบู่เลือดขนาด 500-1000 มก./น.น.ตัว 1 กก. ไม่มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลัน

5.2 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดเอทานอลจากหัวสบู่เลือด

สารสกัดเอทานอลจากหัวสบู่เลือดขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันได้ดี เป็น 4.13 เท่าของสารมาตรฐาน Phenylbutazone ขนาดเท่ากัน ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 11.

พบว่าสารสกัดเอทานอลจากหัวสบู่เลือดขนาด 750 มก./น.น.ตัว 1 กก. แสดงความเป็นพิษ โดยทำให้หนูตาย 1 ตัว และอีก 2 ตัวมีอาการตัวสั่น เกร็ง และค่อนข้างซีมลง คล้ายอาการพิษของสารฆ่าแมลงกลุ่ม organophosphates ซึ่งยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase.

ตารางที่ 11.ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดหัวสมุนไพร

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	35	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	28.7	18	1	C
Caudexes extract 250 mg/kg BW	1	9	74.3	4.13	A

Activity classification: A \geq 2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

5.3 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดอายุ 2.5 ปีจากหัวสมุนไพร

สารสกัดเอทานอล อายุ 2.5 ปี จากหัวสมุนไพร (เก็บที่ 15 ° ซ.) ขนาด 500 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลัน เป็น 1.98 เท่าของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 12.

ตารางที่ 12.ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดอายุ 2.5 ปี จากหัวสมุนไพร

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	39.0 \pm 11.0	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	34.8 \pm 18.3	10.8	1	C
Caudexes extract 500 mg/kg BW	1	30.7 \pm 22.2	21.4	1.98	A

Activity classification: A \geq 2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

ผงแห้งหัวสมุนไพรไม่มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลัน แต่สารสกัดเอทานอลจากหัวสมุนไพร ขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ต้านอักเสบเฉียบพลันได้ดี เป็น 4.13 เท่าของ Phenylbutazone 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 (ตารางที่ 11).

จากตารางที่ 11 และ 12 เมื่อเก็บสารสกัดเอทานอลจากหัวสมุนไพรไว้ 2.5 ปี พบมีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันลดลง โดยต้องเพิ่มสารสกัดเป็น 500 มก./น.น.ตัว 1 กก. จึงจะมีฤทธิ์ต้านอักเสบ เป็น 1.98 เท่าของ Phenylbutazone 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1.

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดหัวสปู่เลือดในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (5-30 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*; จุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 5-10 มก./มล. ดังตารางที่ 13.

ตารางที่ 13. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหัวสปู่เลือด

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	30
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	5
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	5
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	10
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	10
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	10
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	20
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	5
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	5
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	5
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	5
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	5
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	5
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	5
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	5
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(3) ข้าวหลามดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Goniothalamus laoticus* (Finet and Gagnep.) Ban

วงศ์ ANNONACEAE

ชื่อพ้อง ไม่มี



(ก) ต้น, ดอก



(ข) ดอก



ปิยะ เฉลิมกลิ่น-ภาพ

(ค) ผล

รูปที่ 15. ข้าวหลามดง [*Goniothalamus laoticus* (Finet and Gagnep.) Ban].

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้ยืนต้นสูง 5-7 เมตร, เรือนยอดเป็นพุ่มโปร่ง เปลือกต้นหนาสีเทาดำ, กิ่งอ่อนมีขนสีน้ำตาลเข้ม. ใบเดี่ยวเรียงสลับสองข้างกิ่งในระนาบเดียวกัน, แผ่นใบรูปขอบขนานแกมรูปไข่กลับปลายเรียวแหลม โคนใบสอบ เนื้อใบหนาและเหนียว ด้านบนสีเขียวเข้มเป็นมัน ด้านล่างสีอ่อนกว่า, ก้านใบยาว, ใบกว้าง 4-7 ซม. ยาว 10-20 ซม. ดอกยาวสีเหลืองนวลถึงชมพู ออกราวๆ เดือนเมษายน- กรกฎาคม เป็นดอกเดี่ยวหรือออกเป็นกระจุกสั้นๆ 2-5 ดอก ตามลำต้น กิ่งก้านและง่ามใบ, ก้านดอกยาว. ผลกลุ่ม 6-12 ผล รูปกลมรีหรือทรงกระบอก ปลายมน ไม่มีก้าน, สีเขียวอมเหลือง, มี 2-4 เมล็ด.

แหล่งกำเนิด: เป็นพืชหายาก พบขึ้นในป่าดิบแล้ง ที่ระดับความสูง 200-900 เมตร แถบภาคเหนือ, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศไทย, และพบที่ประเทศลาวและเวียดนาม.

สรรพคุณ:

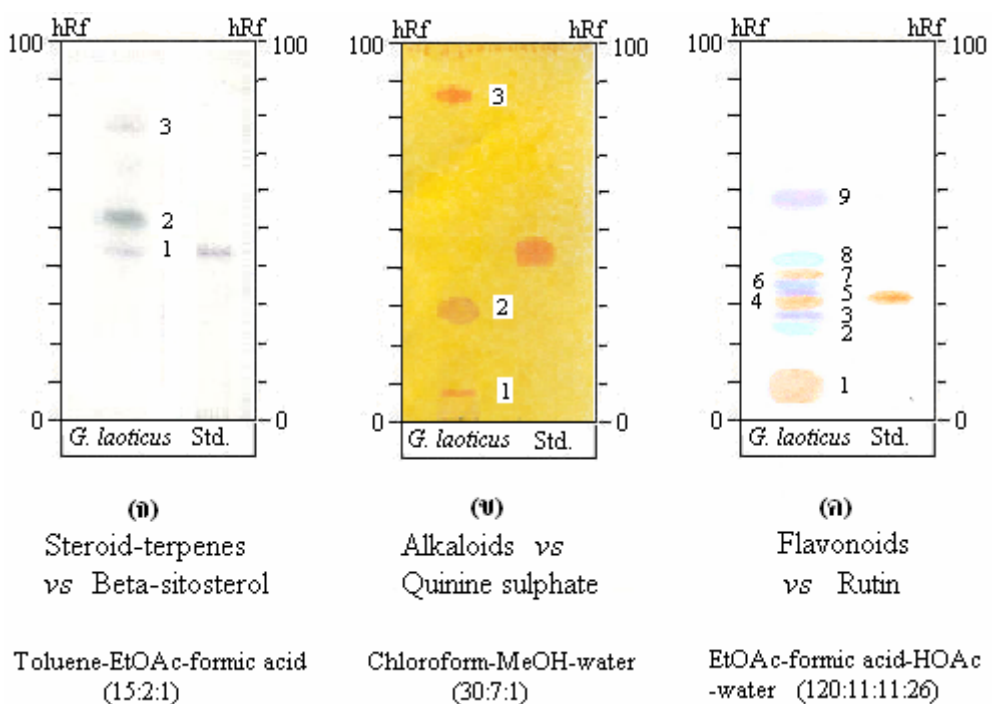
ยาพื้นบ้านอีสานใช้ แก่นผสมแก่นส้านดินและรากเคดแช่น้ำดื่ม แก่ซางเด็ก, หรือใช้แก่นผสมลำต้นไม้กระทืบโรง, ลำต้นกำลังเสือโคร่ง, แก่นหรือรากเจ็ดซางสารใหญ่ นำมาดองเหล้าหรือต้มน้ำดื่ม บำรุงกำลัง (มูลนิธิมหาวิทยาลัยมหิดล 2543; สำนักงานเสริมสร้างเอกลักษณ์ของชาติ 2543).

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) : ไม่มี

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: กิ่ง-ปอกเปลือก (เนื้อไม้จากกิ่ง)

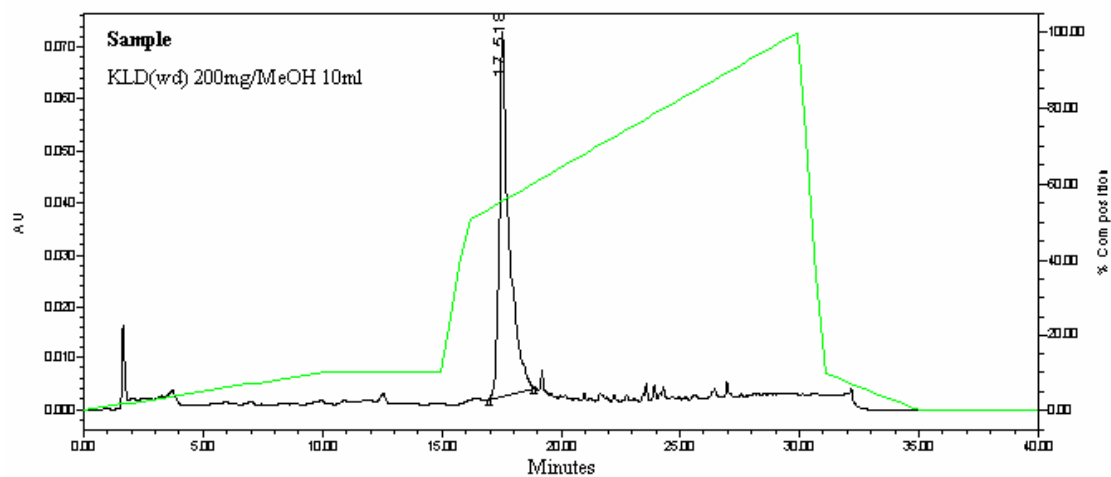
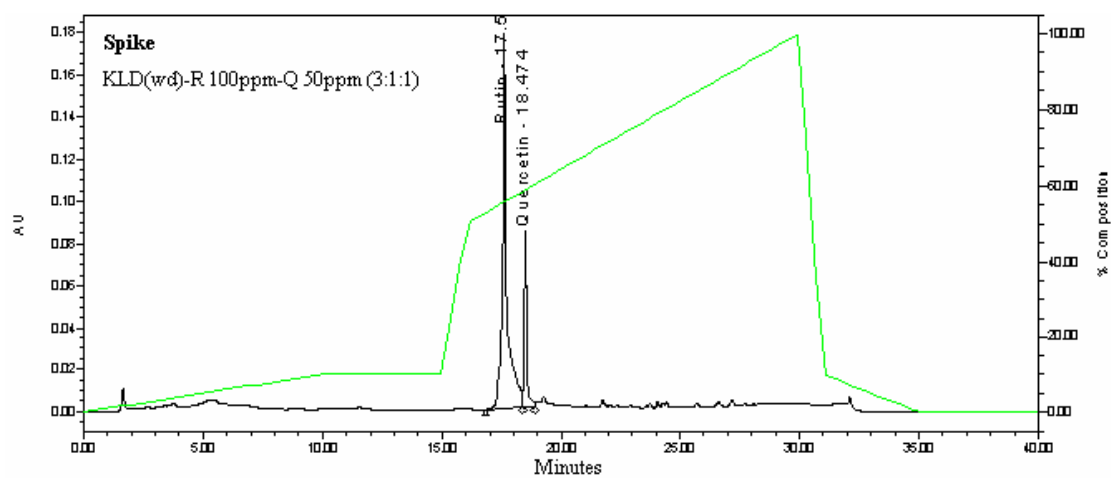
ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

1. TLC fingerprints



รูปที่ 16. TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.1%TFA+10%methanol in water

Solvent B 0.1%TFA+ 5%methanol in acetonitrile

รูปที่ 17. HPLC fingerprint ของเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. ได้สารสกัดหยาบเอทานอลจากเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง คิดเป็น 8.34%yield ของน้ำหนักผงแห้ง
2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล
เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 14.

พบสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดงมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐาน คือ มีค่า $LC_{50} = 53.28$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 31.3 ของ kojic acid และร้อยละ 25.5 ของ thymol.

ตารางที่ 14. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Branches	12.5	1.0969	10	$y = 45x - 27.694$	53.28
extract	125	2.0969	90		
	1,250	3.0969	100		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 15.

พบสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ดีกว่า BHT และ BHA เล็กน้อย โดยสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดงมีค่า $EC_{50} = 4.05$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็นร้อยละ 104 ของ BHT, ร้อยละ 104.4 ของ BHA และร้อยละ 30.1 ของ Vitamin C

ตารางที่ 15. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Branches	0.4	-0.3979	26.04	$y = 28.601x + 32.62$	4.05
extract	2	0.3010	28.65		
	20	1.3010	82.03		
	200	2.3010	94.01		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4.ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 16.

พบสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดงมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 1.38$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.17 ของ kojic acid.

ตารางที่ 16. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Branches extract	0.266	-0.5751	6.96	$y = 63.842x + 41.065$	1.38
	0.532	-0.2741	23.48		
	1.064	0.0269	36.52		
	2.128	0.3280	64.35		
	4.255	0.6289	82.61		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดหยาบเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทานอลจากเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง ขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเป็นครั้งหนึ่ง (0.54 เท่า) ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 17.

ตารางที่ 17. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	33.5 ± 5.5	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	4.7 ± 3.9	86.0 ^{a,b}	1	C
Branches extract 250 mg/kg BW	1	18 ± 7.3	46.3 ^{a,b}	0.54	D

^a = $p < 0.05$ ^b = $p < 0.01$

Activity classification: A ≥ 2, B = 1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดงในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (5-30 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค 10 ชนิด 11 สายพันธุ์ ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Shigella dysenteriae*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus spp.*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 5-10 มก./มล. ดังตารางที่ 18.

ตารางที่ 18. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดเนื้อไม้กิ่งข้าวหลามดง

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	10
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	5
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	10
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	10
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(4) มะป่วน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mitrephora tomentosa* Hook. f. (syn. *Mitrephora vandaeiflora* Kurz)

วงศ์ ANNONACEAE

ชื่อพ้อง นมหนู (กรุงเทพฯ); มะดัก (สระบุรี); กระโปกกระจ๊อน, กิ่งจั้น (จันทบุรี);
คงคำขาว, ปอแฮด, แฮด (เชียงใหม่); นางนวล (ลำปาง); ลำควนคง (ขอนแก่น);
กล้วยขี้เหิน, ขี้เหิน (อุตรธานี); กล้วยเหิน (สกลนคร); แดงคง (เลย).



(ก) ดอก, ใบ



ปิยะ เฉลิมกลิ่น-ภาพ

(ข) ผล

รูปที่ 18. มะป่วน (*Mitrephora tomentosa* Hook. f.).

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้ต้นขนาดกลาง สูง 10-15 เมตร มีทรงพุ่มค่อนข้างกลม, กิ่งอ่อนมีขน สีน้ำตาลหนาแน่น, เปลือกลำต้นเรียบ สีน้ำตาล, แตกกิ่งขนานกับลำต้น. ใบมะป่วนเป็นรูปขอบขนาน กว้าง 3-6 ซม. ยาว 10-15 ซม. โคนใบมนหรือเว้าเล็กน้อย ปลายใบแหลม, เนื้อใบค่อนข้างหนาและเหนียว, ใบอ่อนมีขนสีน้ำตาลด้านล่างมากกว่าด้านบน, เส้นกลางใบด้านบนเป็นร่อง, ด้านล่างเป็นสันและมีขนหนาแน่น, เส้นแขนงใบมี 10-14 คู่. ก้านใบยาว 6 มม.

ดอกสีเหลือง มีกลิ่นหอมอ่อนๆ, ออกดอกเดือนมีนาคมถึงเมษายน, เมื่อถึงใบหมดแล้ว ออกดอกพร้อมกันทั้งต้นจะสวยงามมาก. ดอกออกเป็นกระจุก 2-3 ดอกตรงข้ามใบ, ปลายกลีบมีลายเป็นแถบสีม่วง, ก้านดอกยาว 1-1.5 ซม. มีใบประดับโอบหุ้มก้านดอก. กลีบเลี้ยงรูปไข่ ยาว 6-7 มม., ด้านนอกมีขนหนาแน่น. กลีบดอกเรียงเป็น 2 ชั้น, กลีบชั้นนอกรูปไข่แกมรูปขอบขนาน ปลายแหลมและโค้ง, ขอบกลีบบิด, กว้าง 1-1.5 ซม. ยาว 2.5 ซม. กลีบดอกชั้นในรูปช้อน, โคนกลีบเรียว

แคบ, ปลายกลีบแผ่กว้างประกบกันเป็นรูปกระเช้า, กว้างและยาว 1.5 ซม. ดอกบานมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 ซม.

ผลกลุ่ม, ก้านช่อผลยาว 1.5-2 ซม., มีผลย่อย 16-24 ผล, ก้านผลยาว 1.5 ซม. ผลรูปกลมรี ยาว 3 ซม. ผลอ่อนมีขนสีน้ำตาลหนาแน่น, ผลแก่สีเหลือง (ผลแก่หลังจากดอกบาน 4 เดือน), แต่ละผลมี 3-7 เมล็ด. ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดและตอนกิ่ง (เฉลิมกลิ่น 2546).

แหล่งกำเนิด: พบขึ้นในป่าดิบชื้นและป่าดิบแล้งของทุกภาค, ยกเว้นภาคใต้, ที่ระดับความสูง 100-300 เมตร. พบปลูกเป็นไม้ประดับบ้างในชื่อ “นมหนู” (เฉลิมกลิ่น 2546).

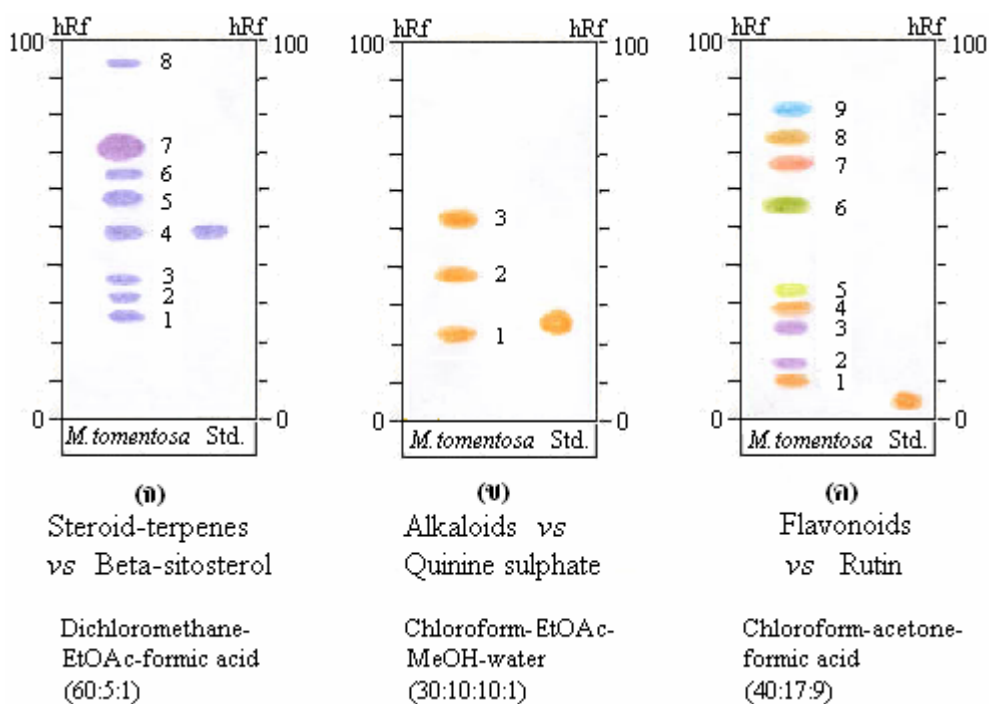
ประโยชน์: พบมีการนำเนื้อไม้มาเป็นเชื้อเพลิง, ยังไม่พบว่ามีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยา

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี): ไม่มี

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: กิ่ง

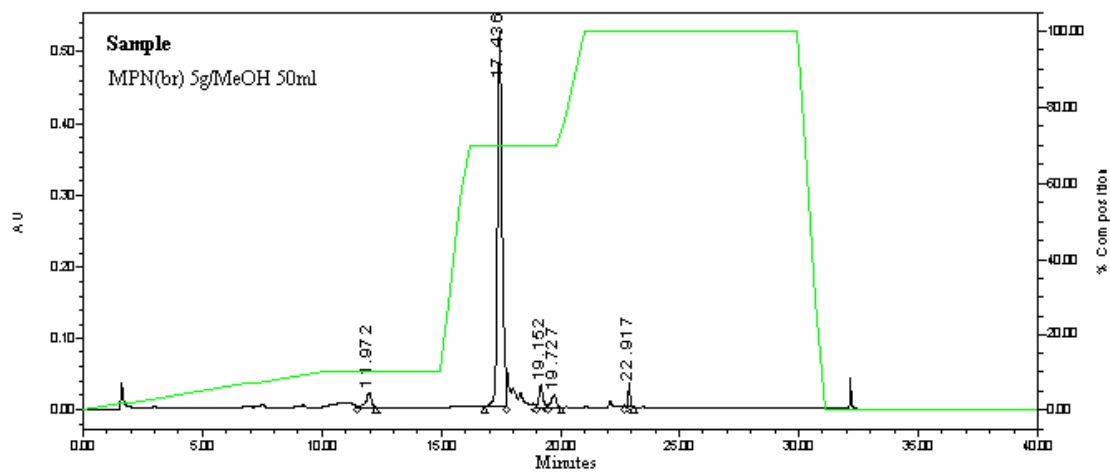
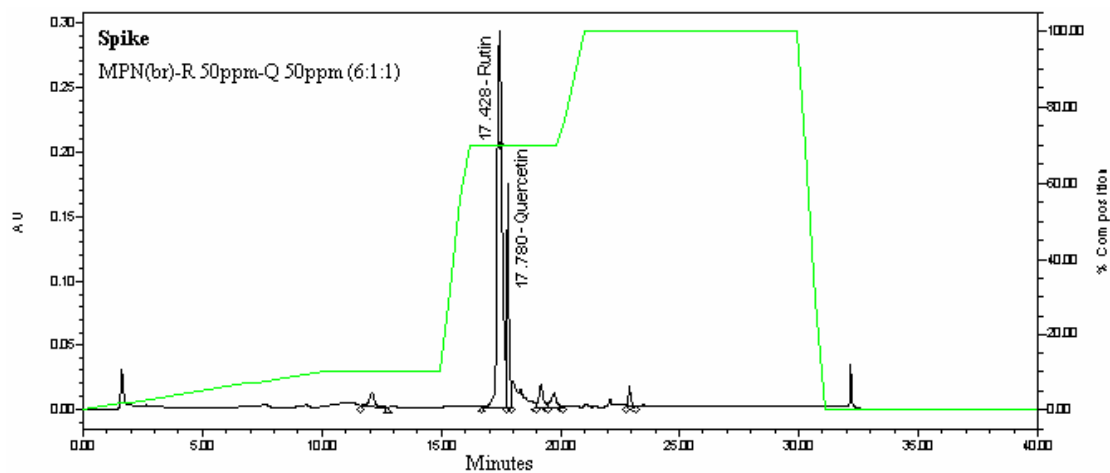
ผลการวิจัยผสมุนไพร:

1. TLC fingerprints



รูปที่ 19. TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งกิ่งมะปวน.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.1%TFA+10%methanol in water
Solvent B 0.1%TFA in acetonitrile

รูปที่ 20. HPLC fingerprint ของกิ่งมะป่วน.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดหยาบเอทานอลจากกิ่งมะป่วน คิดเป็น 5.41% yield ของน้ำหนักผงแห้ง

2. ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs % Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 19.

พบสารสกัดกิ่งมะป่วนมีความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 2347.82$ มกค./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.7 ของ kojic acid และร้อยละ 0.6 ของ thymol.

ตารางที่ 19. ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาลของสารสกัดกิ่งมะป่วน

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Branches extract	500	2.6990	3.33	$y = 82.681x - 228.69$	2347.82
	1,500	3.1761	20.00		
	2,000	3.3010	43.33		
	8,000	3.9031	100		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs % Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 20.

พบสารสกัดกิ่งมะป่วน สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 35.63$ มกค./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 11.8 ของ BHT, ร้อยละ 11.9 ของ BHA และร้อยละ 3.4 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 20. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดกิ่งมะป่วน

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Branches extract	5	0.6990	22.67	$y = 39.946x - 11.987$	35.63
	25	1.3979	36.80		
	50	1.6990	49.60		
	250	2.3979	90.40		
	500	2.6990	93.60		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs % Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 21.

พบสารสกัดกิ่งมะป่วนมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 3.74$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.06 ของ kojic acid.

ตารางที่ 21. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดกิ่งมะป่วน

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Branches extract	1	0	12.75	$y = 73.352x + 7.9707$	3.74
	2	0.3010	23.53		
	4	0.6021	50.98		
	6	0.7782	64.71		
	8	0.9031	77.45		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

สารสกัดเอทานอลจากกิ่งมะป่วนขนาด 2 มก./หู มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู พอๆกับสารมาตรฐาน 5%Phenylbutazone 2 มก./หู ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 22.

ตารางที่ 22. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู ของสารสกัดกิ่งมะป่วน

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	13.7 ± 0.8	-	-	-
5%Phenylbutazone 2 mg/ear	1	6.5 ± 1.4	52.4 ^a	1	C
Branches extract 2 mg/ear	1	6.2 ± 2.3	54.9 ^a	1.05	C

^a = $p < 0.05$ ^b = $p < 0.01$

Activity classification: A ≥ 2, B = 1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดกึ่งมะปวน ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-30 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Shigella dysenteriae*; จุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 0.5-5 มก./มล. ดังตารางที่ 23.

ตารางที่ 23. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดกึ่งมะปวน

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	5
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>30
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	>30
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>30
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	5
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	5
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	5
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	5
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	2
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	2
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	5
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	5
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0.5
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	0.5
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(5) จำปาหลวง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Manglietia utilis* Dandy

วงศ์ MAGNOLIACEAE

ชื่อพ้อง ตองสะกา, ตองสะกาใบใหญ่ (กะเหรี่ยง-กาญจนบุรี); มณฑลคอย (ตัก)



(ก) ใบ, ดอกอ่อน



(ข) ดอก

รูปที่ 21. จำปาหลวง (*Manglietia utilis* Dandy).

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่, สูง 10- 30 เมตร, แตกกิ่งเป็นพุ่มกลม โปร่ง, กิ่งเปราะหักง่าย, เปลือกสีเทา-สีม่วงปนน้ำตาล หรือน้ำตาลเข้ม เปลือกค่อนข้างฉ่ำน้ำและมีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว. ใบรูปรีแกมรูปขอบขนาน กว้าง 8-12 ซม. ยาว 20-30 ซม., โคนใบสอบแหลมหรือเป็นรูปลิ้ม, ปลายใบเรียวและมีติ่งแหลม, ขอบใบเรียบและเป็นคลื่นเล็กน้อย. ดอกออกที่ยอด ระหว่างเดือน พฤศจิกายน-กุมภาพันธ์, ดอกบานตั้งขึ้นสีเหลืองนวล ส่งกลิ่นหอมเย็น, บานอยู่ได้ 2-3 วัน, ดอกตูมรูปกระสวย.

ผลเป็นรูปทรงกระบอกเล็กๆ เรียวยาว มีผลย่อย 42-80 ผล, ผลอ่อนสีเขียวเข้ม, ผลแก่สีน้ำตาล. ผลย่อยแตกตามรอยต่อในแนวตั้ง มีเมล็ดสีแดง 1-12 เมล็ด ส่วนมากมี 4-5 เมล็ด.

ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด (ควรเก็บผลตั้งแต่ระยะเริ่มแก่เต็มที่ก่อนที่ผลแก่จะร่วงหรือร่วงหล่นลงมาใหม่ๆ แล้วนำมาเก็บไว้ในร่ม 2-3 วัน แล้วจึงนำเมล็ดสีแดงสดที่หลุดออกมาไปเพาะ จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด) (เฉลิมกลิ่น 2545).

แหล่งกำเนิด: พบขึ้นกระจายในป่าดิบเขา ตามแนวสันเขา, ริมลำธาร และในหุบเขา ที่ระดับความสูง 600-1,000 เมตร ในภาคเหนือ ภาคตะวันตกเฉียงใต้และภาคใต้ของประเทศไทย (เฉลิมกลิ่น 2545).

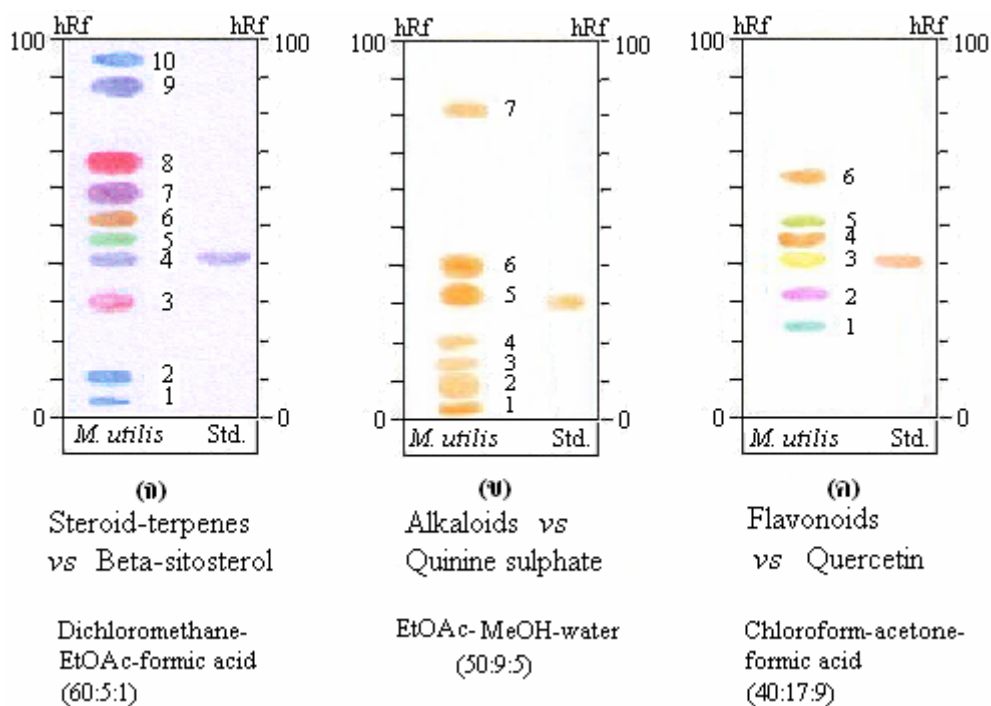
ประโยชน์: เนื้อไม้อ่อน ใช้ทำเฟอร์นิเจอร์บางประเภท และพบปลูกเป็นไม้ประดับโชว์ทรงพุ่ม แต่ยังไม่พบสรรพคุณการใช้ในยาพื้นบ้าน (เฉลิมกลิ่น 2545).

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) : ไม่มี

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: กิ่ง

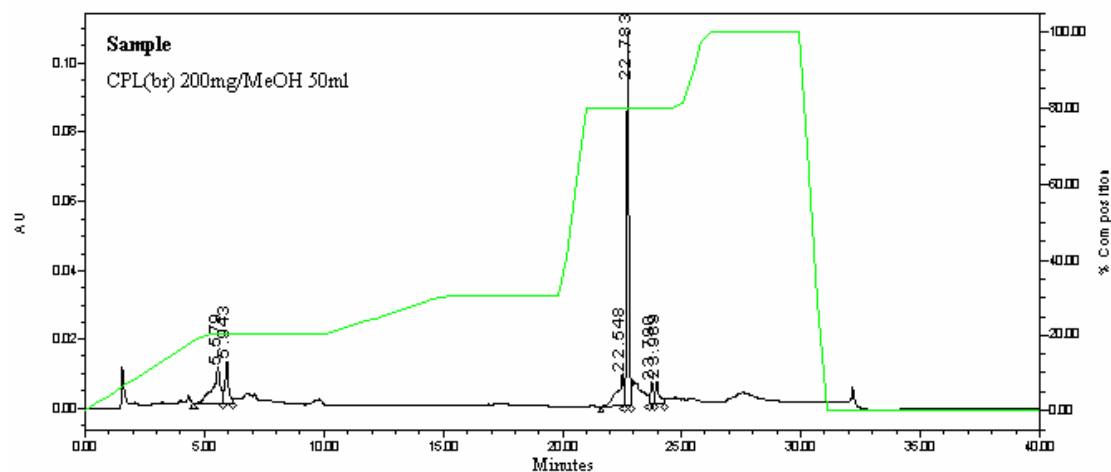
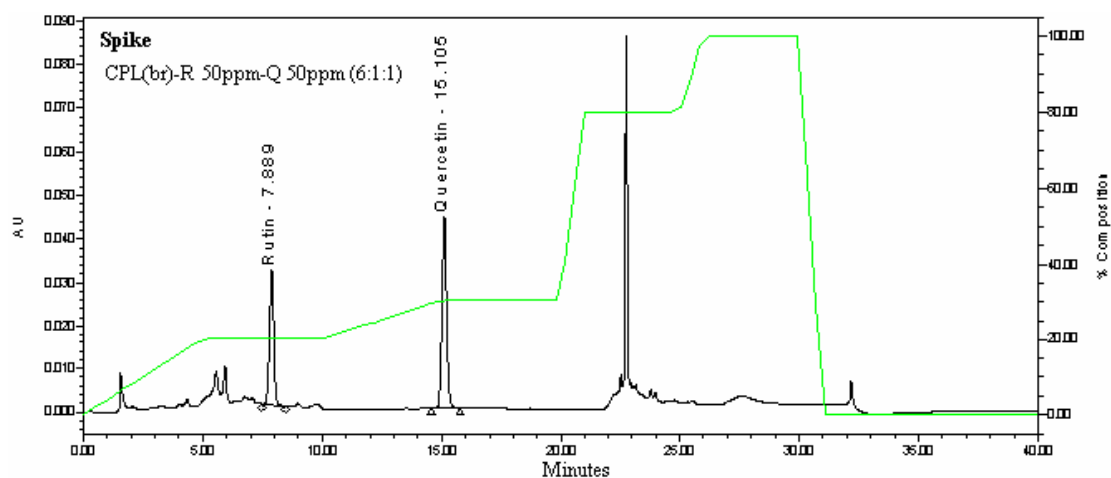
ผลการวิจัยผสมุนไพรร:

1. TLC fingerprints



รูปที่ 22. TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งกิ่งจำปาหลวง.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.2% TFA+20%methanol in water

Solvent B 0.2% TFA+10%methanol in acetonitrile

รูปที่ 23. HPLC fingerprint ของกิ่งจำปาหลวง.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดหยาบเอทานอลจากกิ่งจำปาหลวง คิดเป็น 8.65% yield ของน้ำหนักผงแห้ง

2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 24.

พบสารสกัดกิ่งจำปาหลวงมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 902.16$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 1.8 ของ kojic acid และร้อยละ 1.5 ของ thymol.

ตารางที่ 24. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Branches extract	350	2.5441	3.33	$y = 114.28x - 287.73$	902.16
	750	2.8751	40		
	1,250	3.0969	66.67		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 25.

พบสารสกัดกิ่งจำปาหลวงสามารถจับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าสารมาตรฐาน โดยสารสกัดกิ่งจำปาหลวงมีค่า $EC_{50} = 0.99$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็น 4.2 เท่า (ร้อยละ 425.3) ของ BHT, มีฤทธิ์เป็น 4.3 เท่า (ร้อยละ 427.3) ของ BHA และมีฤทธิ์เป็น 1.2 เท่า (ร้อยละ 123.2) ของ Vitamin C.

ตารางที่ 25.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Branches extract	0.25	-0.6021	27.37	$y = 34.688x + 50.196$	0.99
	5	0.6990	78.59		
	10	1.0000	88.08		
	15	1.1761	89.70		
	25	1.3979	94.58		

BHT, BHA, Vitamin C's EC₅₀ = 4.21, 4.23, 1.22 $\mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC₅₀ ดังตารางที่ 26.

พบสารสกัดกิ่งจำปาหลวง มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า IC₅₀ = 2.52 มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.09 ของ kojic acid.

ตารางที่ 26. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC ₅₀ (mg/ml)
Branches extract	0.97	-0.0132	14	$y = 101.81x + 9.1893$	2.52
	1.94	0.2878	29		
	2.94	0.4683	55		
	4.90	0.6902	84		
	6.86	0.8363	95		

Kojic acid's EC₅₀ = 0.0023 mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู และที่ใบหูหนู ได้ผล ดังนี้:

5.1 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดเอทานอลจากกิ่งจำปาหลวง

สารสกัดเอทานอลจากกิ่งจำปาหลวง ขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันน้อยมาก เป็น 0.11 เท่าของสารมาตรฐาน Phenylbutazone ขนาดเท่ากัน ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 27.

ตารางที่ 27ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	18.2 ±11.1	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	5.3 ± 6.0	70.9 ^{a,b}	1	C
Branches extract 250 mg/kg BW	1	16.8 ± 6.9	7.7	0.11	E

^a = p < 0.05 ^b = p < 0.01

Activity classification: A ≥2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

5.2 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนูของสารสกัดเอทานอลจากกิ่งจำปาหลวง

สารสกัดเอทานอลจากกิ่งจำปาหลวงขนาด 2 มก./หู มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู เท่ากับสารละลายมาตรฐาน 5%Phenylbutazone 2 มก./หู ในช่วงเวลาที่ 1 ดังตารางที่ 28.

ตารางที่ 28. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู ของสารสกัดกิ่งจำปาหลวง

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	14.0 ±4.0	-	-	-
5%Phenylbutazone 2 mg/ear	1	8.2 ±2.4	41.7 ^a	1	C
Branches extract 2 mg/ear	1	8.2 ±1.6	41.7 ^{a,b}	1	C

^a = p < 0.05 ^b = p < 0.01

Activity classification: A ≥2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

จากตารางที่ 27 และ 28 สารสกัดเอทานอลจากกิ่งจำปาหลวงไม่มีฤทธิ์ต้านอักเสบเมื่อให้ทางปาก แต่เมื่อทาภายนอกจะมีฤทธิ์ต้านอักเสบเท่ากับสารละลายมาตรฐาน 5%Phenylbutazone ในอะซิโตน.

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดกึ่งจำปาหลวงในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-30 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่เท่ากับ 0.5 มก./มล. ดังตารางที่ 29.

ตารางที่ 29. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดกึ่งจำปาหลวง

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.5
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.5
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	>30
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>30
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	0.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	0.5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	0.5
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	0.5
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	0.5
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	0.5
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	0.5
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	0.5
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	0.5
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	0.5
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0.5
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	0.5
	¹ positive control
	² negative control

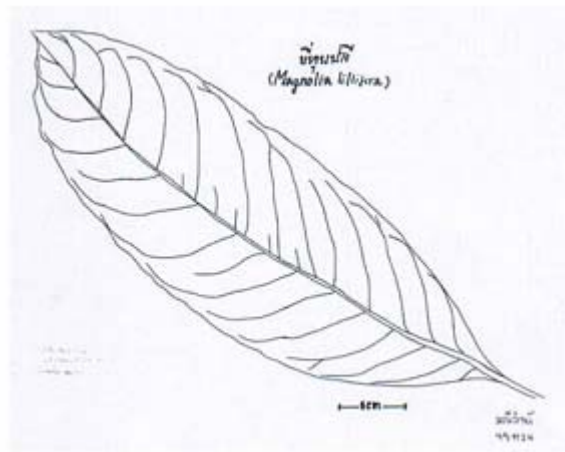
+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(6) ยี่หุบป्ली

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Magnolia liliifera* (L.) Baill. var. *liliifera*
(syn. *Talauma siamensis* Dandy)

วงศ์ MAGNOLIACEAE

ชื่อพ้อง จำปาป่า (ตราด), ปูนิใหญ่ (ชุมพร)



(ก) ใบ



(ข) ดอก

รูปที่ 24. ยี่หุบป्ली [*Magnolia liliifera* (L.) Baill. var. *liliifera*].

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้ต้นขนาดเล็ก ถึงขนาดกลาง สูง 10-20 เมตร, แตกกิ่งค่อนข้างมาก, ทรงพุ่มโปร่งกลม, เนื้อไม้และกิ่งเหนียว. เปลือกสีเทาปนน้ำตาล, หนา 3-5 มม. มีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว. ใบรูปขอบขนานแกมรูปไข่กลับ, กว้าง 8-12 ซม. ยาว 18-30 ซม., โคนใบรูปลิ้ม, ปลายใบแหลม, ขอบใบเรียบและเป็นคลื่นลอนใหญ่, ผิวใบเรียบเป็นมันทั้งสองด้าน ด้านบนสีเขียวเข้ม ด้านล่างสีอ่อนกว่า, เนื้อใบหนา แข็งกรอบ, เส้นกลางใบด้านบนเป็นร่อง ด้านล่างนูนเด่น, เส้นแขนงใบมีจำนวน 10-16 คู่เด่นชัดที่ด้านล่างของใบ, ก้านใบยาว 2.5-4.5 ซม., โคนก้านใบป่อง มีรอยหูใบยาวตลอดความยาวของก้านใบ.

ดอกออกที่ปลายยอด ราวๆ เดือนสิงหาคม-ตุลาคม. ดอกตูมรูปไข่, ดอกบานตั้งขึ้น เริ่มแย้มและส่งกลิ่นหอมตั้งแต่ช่วงพลบค่ำ. กลีบดอกมี 9 กลีบ เรียงเป็น 3 ชั้นๆ ละ 3 กลีบ. กลีบดอกชั้นนอกสุดรูปรี กว้าง 2-2.5 ซม. ยาว 3-4 ซม. ค่อนข้างหนา ด้านนอกสีเขียวอ่อน ขอบกลีบห่อขึ้น

ปลายกลีบโค้งงอเข้าหากกลางดอก. กลีบดอกชั้นกลางและชั้นในสุด รูปช้อน, มีขนาดแคบและสั้นกว่าเล็กน้อย, หนาอบน้ำ, สีขาวนวล ขอบกลีบห่อขึ้น ปลายกลีบโค้งงอเข้าหากกลางดอก, ดอกบานอยู่ได้ 2-3 วัน.

ผลเป็นรูปกลมรี, มีผลย่อย 7-15 ผล เรียงอัดแน่นอยู่บนแกนกลางผลอันเดียวกัน, เปลือกผลหนาแข็งและเชื่อมติดกัน. ผลอ่อนสีเขียวเข้มและมีช่องอากาศเป็นจุดประสีขาวกระจายทั่วผล, ผลแก่สีน้ำตาล, เปลือกผลย่อยหลุดออกตามรอยเชื่อม มีเมล็ดสีแดงเข้ม.

ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด, การตอนและทาบกิ่ง (กิ่งตอนของยี่หุบปลีออกรากยากมากและเลี้ยงไม่ค่อยรอด, ส่วนการทาบกิ่งโดยใช้จำปาเป็นต้นตอพบว่าได้ผลดี). ควรเก็บผลแก่ในช่วงที่เปลือกผลเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล นำมาผึ่งไว้ในร่ม 3-4 วัน ผลย่อยจะแตกตามรอยเชื่อม, แกะเมล็ดสีแดงเข้มมาเพาะในกระบะทราย พรมน้ำให้ชุ่ม ราวด้วยสารป้องกันเชื้อราและแมลง แล้วคลุมด้วยถุงพลาสติก, นำมาไว้ในที่ร่มรำไร 1-2 เดือน จึงเริ่มงอก) (เฉลิมกลิ่น 2545).

แหล่งกำเนิด: พบขึ้นในป่าดิบชื้น ที่ระดับความสูง 50-800 เมตร ในภาคตะวันออกเฉียงใต้ ภาคตะวันตกเฉียงใต้ และภาคใต้ตอนบนของประเทศไทย, รวมทั้งประเทศกัมพูชา เวียดนาม พม่าและอินโดนีเซีย (เฉลิมกลิ่น 2545).

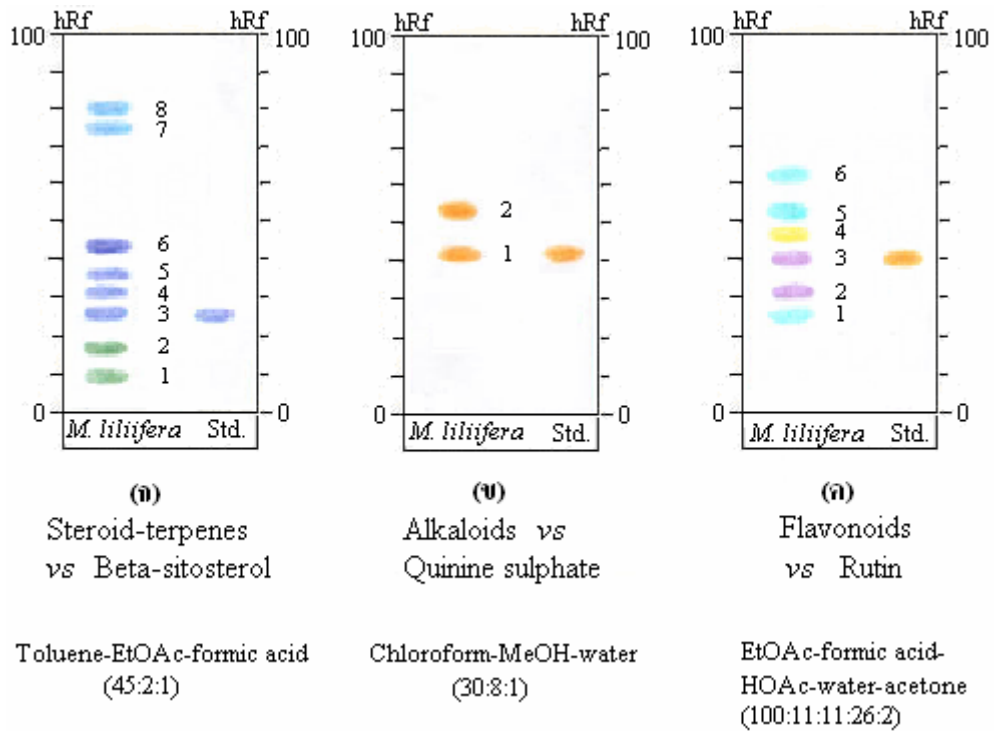
ประโยชน์: เนื้อไม้แข็ง ใช้เป็นไม้ก่อสร้างและทำเฟอร์นิเจอร์, ทำอุปกรณ์การเกษตร, ถ่านฟืน, และปลูกเป็นไม้ประดับโชว์ทรงพุ่มที่มีดอกหอมและสวยงาม, แต่ยังไม่พบสรรพคุณการใช้ในยาพื้นบ้าน (เฉลิมกลิ่น 2545).

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) : ไม่มี

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: ใบ

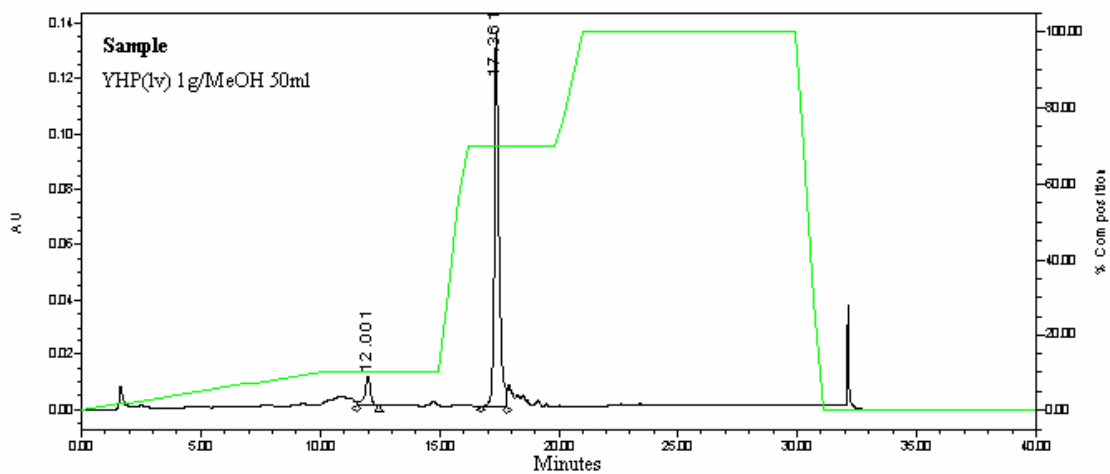
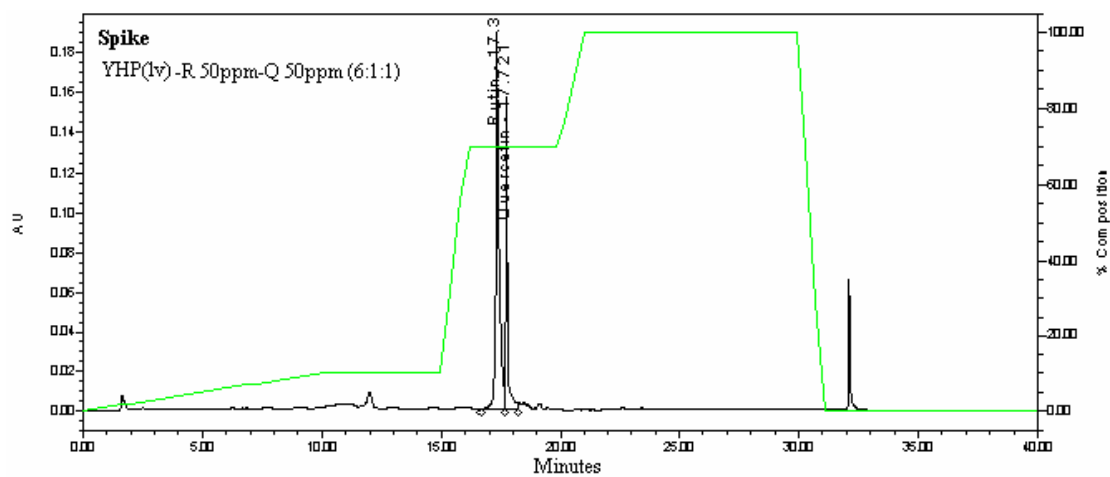
ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

1. TLC fingerprints



รูปที่ 25. TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งใบยี่หุบปลี.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.1%TFA+10%methanol in water

Solvent B 0.1%TFA in acetonitrile

รูปที่ 26. HPLC fingerprint ของใบยี่หุบปัส.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดหยาบเอทานอลจากใบยี่หุบปลี คิดเป็น 7.83% yield ของน้ำหนักผงแห้ง

2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 30.

พบสารสกัดใบยี่หุบปลีมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 4556.73$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.4 ของ kojic acid และร้อยละ 0.3 ของ thymol.

ตารางที่ 30. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดใบยี่หุบปลี

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Leaves extract	2,000	3.3010	13.33	$y = 113.14x - 363.94$	4556.73
	4,000	3.6021	33.33		
	6,000	3.7782	70		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 31.

พบสารสกัดใบยี่หุบปลีสามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 16.33$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็นร้อยละ 25.8 ของ BHT, ร้อยละ 25.9 ของ BHA และร้อยละ 7.5 ของ Vitamin C

ตารางที่ 31. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดใบยี่หุบปลี

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Leaves extract	2.5	0.3980	23.99	$y = 32.758x + 10.263$	16.33
	5	0.6990	28.30		
	25	1.3979	61.46		
	250	2.3979	92.45		
	500	2.6990	93.80		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 32.

พบสารสกัดใบยี่หุบปติ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 3.89$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.06 ของ kojic acid.

ตารางที่ 32. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดใบยี่หุบปติ

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Leaves extract	4	0.6021	43.14	$y = 73.818x + 6.4494$	3.89
	5	0.6990	58.82		
	7.5	0.8751	78.43		
	10	1.0000	86.27		
	20	1.3010	96.08		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู และที่ใบหูหนู ได้ผล ดังนี้:

5.1 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดเอทานอลจากใบยี่หุบปติ

สารสกัดเอทานอลจากใบยี่หุบปติขนาด 100 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันพอๆ กับสารมาตรฐาน Phenylbutazone ขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 2 ดังตารางที่ 33.

ตารางที่ 33. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดใบยี่หุบปติ

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	2	80.0 ± 23.3	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	2	28.9 ± 18.8	63.9 ^a	1	C
Leaves extract 100 mg/kg BW	2	29.7 ± 12.5	62.9 ^a	0.98	C

^a = $p < 0.05$ ^b = $p < 0.01$

Activity classification: A ≥ 2 , B = 1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

5.2ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนูของสารสกัดเอทานอลจากใบยี่หุบปลี

สารสกัดเอทานอลจากใบยี่หุบปลีขนาด 2 มก./หู มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู ได้ดี เป็น 1.33 เท่าของสารละลายมาตรฐาน 5%Phenylbutazone 2 มก./หู ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 34.

ตารางที่ 34. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู ของสารสกัดใบยี่หุบปลี

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	18.17 ± 4.88	-	-	-
5%Phenylbutazone 2 mg/ear	1	12.67 ± 1.21	30.28	1	C
Leaves extract 2 mg/ear	1	10.83 ± 1.33	40.37 ^{a,b}	1.33	B

^a = p < 0.05 ^b = p < 0.01

Activity classification: A ≥2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

จากตารางที่ 33 และ 34 สารสกัดเอทานอลจากใบยี่หุบปลีเมื่อให้ทางปากมีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันในชั่วโมงที่ 2 พอๆ กับสารมาตรฐาน Phenylbutazone และเมื่อให้เฉพาะที่มีฤทธิ์ดีกว่าสารมาตรฐานในชั่วโมงที่ 1.

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดใบยี่หุบปลี ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-20 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Enterococcus faecalis*, *Shigella dysenteriae*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 5-10 มก./มล. ดังตารางที่ 35.

ตารางที่ 35. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดใบยี่หุบปติ

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>20
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	>20
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>20
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST2137	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	10
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	20
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	>20
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	>20
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	>20
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	>20
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	>20
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	>20
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0.5
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	0.5
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(7) หินระเบิด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Osyris sp.*

วงศ์ SANTALACEAE

ชื่อพ้อง ไม่มี



(ก) ต้น



(ข) ใบ, ดอก

รูปที่ 27. หินระเบิด (*Osyris sp.*).

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1-2 เมตร พบขึ้นอยู่ในที่แจ้ง เจริญเติบโตแทรกอยู่ระหว่างซอกหิน, ใบมีสีเขียวอมเทาเป็นกระจุกอยู่ปลายกิ่ง. ขยายพันธุ์ด้วยการตัดชำยอด และเพาะเมล็ด, เป็นพืชที่ยังไม่สามารถสืบค้นข้อมูลทางวิชาการได้.

แหล่งกำเนิด: เป็นพืชหายากที่ใกล้จะสูญพันธุ์ พบขึ้นอยู่ในถิ่นแถบๆบริเวณภูว้าว ภูสิงห์ จ.หนองคาย โดยมีประชากรค่อนข้างเบาบาง (วิไลรัตน์ 2545, ต้นพานิช และคณะ 2548).

สรรพคุณ:

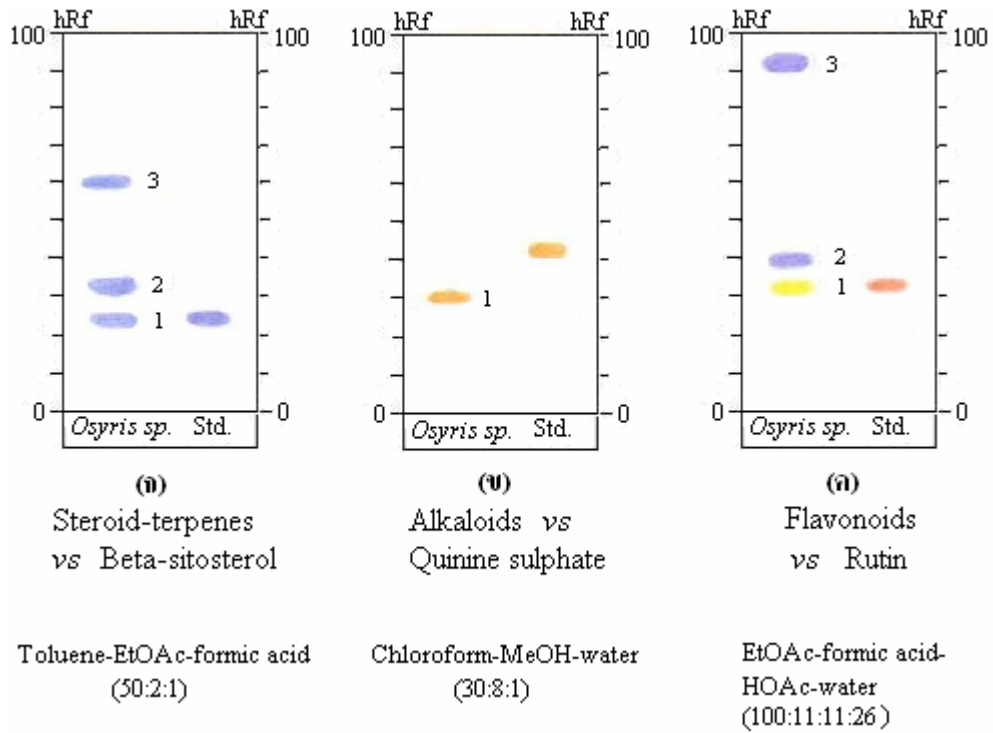
ต้นหรือราก ด้มหรือดองสุราดื่ม แก้ปวดเมื่อย, บำรุงเส้นเอ็น, บำรุงกำลัง, บำรุงกำหนด (วิไลรัตน์ 2545, ต้นพานิช และคณะ 2548).

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) : ไม่มี

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: ลำต้น

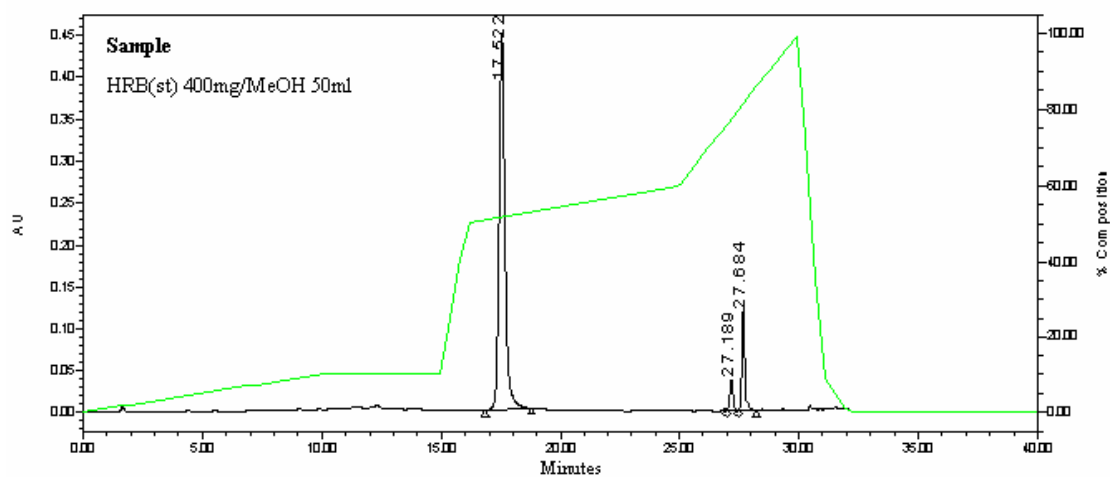
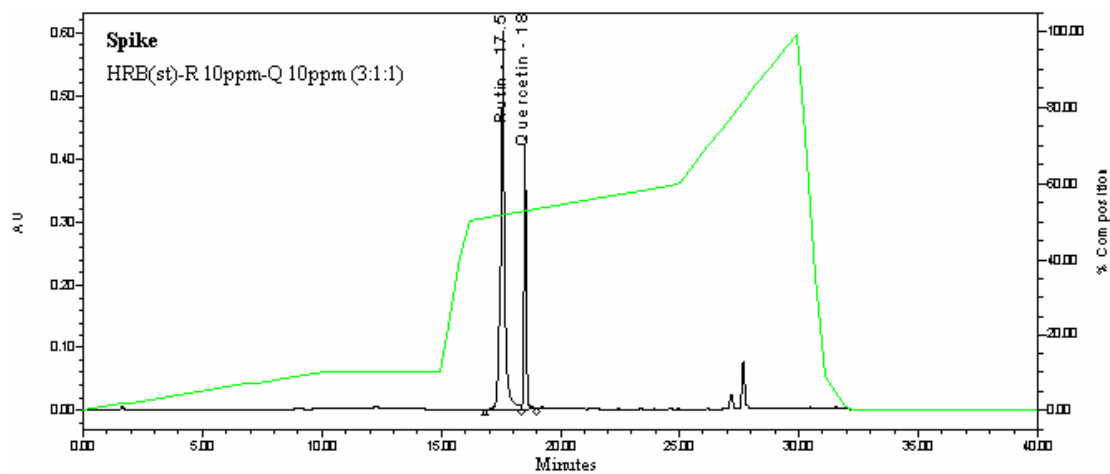
ผลการวิจัยผสมไมโคร:

1. TLC fingerprints



รูปที่ 28. TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งลำต้นหินระเบิด.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.1%TFA+10%methanol in water

Solvent B 0.1%TFA+ 5%methanol in acetonitrile

รูปที่ 29. HPLC fingerprint ของลำต้นหินระเบิด.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. ได้สารสกัดหยาบเอทานอลจากลำต้นหินระเบิด คิดเป็น 17.01%yield ของน้ำหนักผงแห้ง

2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 36.

พบสารสกัดลำต้นหินระเบิดมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 3120.71$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.5 ของ kojic acid และร้อยละ 0.4 ของ thymol.

ตารางที่ 36. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดลำต้นหินระเบิด

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} (µg/ml)
Stems extract	1,250	3.0969	6.67	$y = 117.45x - 360.4$	3120.71
	2,500	3.3979	33.33		
	8,000	3.9031	100		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 37.

พบสารสกัดลำต้นหินระเบิดสามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่า BHT และ BHA โดยมีค่า $EC_{50} = 2.63$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็น 1.6 เท่า (ร้อยละ 160.1) ของ BHT, มีฤทธิ์เป็น 1.6 เท่า (ร้อยละ 160.8) ของ BHA และมีฤทธิ์เป็น 0.46 เท่า (ร้อยละ 46.4) ของ Vitamin C.

ตารางที่ 37. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดลำต้นหินระเบิด

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} (µg/ml)
Stems extract	0.1	-1.0000	18.91	$y = 22.217x + 40.66$	2.63
	1	0.0000	34.83		
	10	1.0000	68.66		
	50	1.6990	82.59		
	500	2.6990	96.02		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4.ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 38.

พบสารสกัดลำต้นหินระเบิดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 2.12$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.11 ของ kojic acid.

ตารางที่ 38. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดลำต้นหินระเบิด

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Stems extract	0.02	-1.6990	14	$y = 18.66x + 43.892$	2.12
	0.10	-1.0000	23		
	1	0.0000	42		
	1.50	0.1761	46		
	2	0.3010	53		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5.ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู พบสารสกัดหยาบเอทานอลจากลำต้นหินระเบิดขนาด 500 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเกินครึ่งหนึ่งของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 39.

ตารางที่ 39. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดลำต้นหินระเบิด

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	36.0 ±20.0	-		
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	15.4 ± 7.5	57.2 ^a	1	C
Stems extract 500 mg/kg BW	1	24.3 ±11.8	32.4	0.57	D

^a = $p < 0.05$ ^b = $p < 0.01$

Activity classification: A ≥2, B = 1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดลำต้นหินระเบิดในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-20 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Salmonella velterans*, *Shigella dysenteriae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptococcus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 0.5-10 มก./มล. ดังตารางที่ 40.

ตารางที่ 40. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดลำต้นหินระเบิด

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1
<i>Pseudomonas vulgaris</i> LAB	>20
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	>20
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>20
<i>Salmonella velterans</i> LAB	0.5
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	0.5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	1
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	1
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	5
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	10
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	5
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	5
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	5
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	20
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>20
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	>20
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(8) ช้างงาเอก

ชื่อวิทยาศาสตร์ unidentified *sp.*

วงศ์ unidentified

ชื่อพ้อง เหล็กชืดิน



(ก) ใบ, ราก

(ข) ต้น

รูปที่ 30. ช้างงาเอก (unidentified *sp.*).

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

พืชต้นเดี่ยว หลายฤดู, เจริญเติบโตได้ร่มไม้อื่น, ชอบดินร่วนปนทราย. ใบเดี่ยวเรียงตรงข้าม, รูปใบหอกถึงขอบขนาน, กว้าง 5-7 ซม. ยาว 20-23 ซม., ปลายใบแหลม โคนใบมนหรือเว้าตื้นเล็กน้อย, ไม่มีก้านใบหรือก้านสั้น. ดอกช่อสั้นมาก ออกที่ยอด, กลีบสีขาว มี 4 กลีบ. รากเดี่ยว หยั่งลึกลงในดิน สีก่อนข้างขาว, เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-1.5 นิ้ว ยาว 1-2 ฟุต. เมล็ดค่อนข้างกลม ผิวขรุขระเล็กน้อย สีเหลืองถึงน้ำตาล ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (ต้นพานิช และคณะ 2548).

แหล่งกำเนิด: พบขึ้นอยู่ในถิ่นแคบๆ บริเวณภูทอก ภูวัว และภูสิงห์ จ.หนองคาย

ประโยชน์: ยาพื้นบ้านใช้รากต้มหรือดองสุราต้มเพื่อบำรุงกำลัง

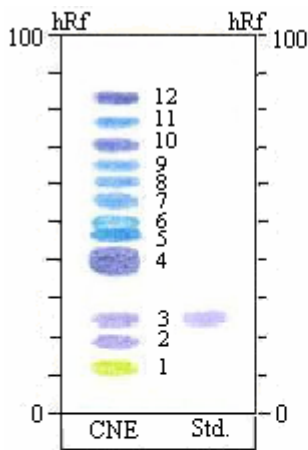
ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) : ไม่มี

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: ราก

ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

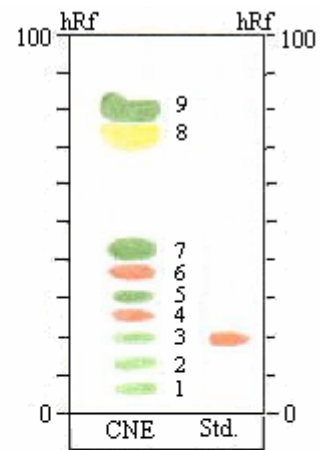
1. TLC fingerprints

ไม่พบอัลคาลอยด์ ในสารสกัดจากผงแห้งรากข้างงาเอก



(a)
Steroid-terpenes
vs Beta-sitosterol

Dichloromethane-
EtOAc-formic acid
(150:5:1)

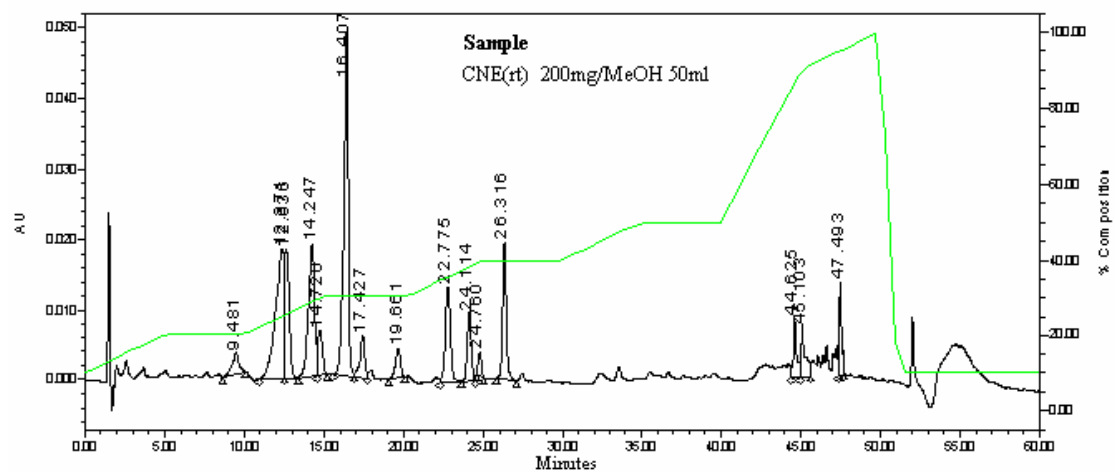
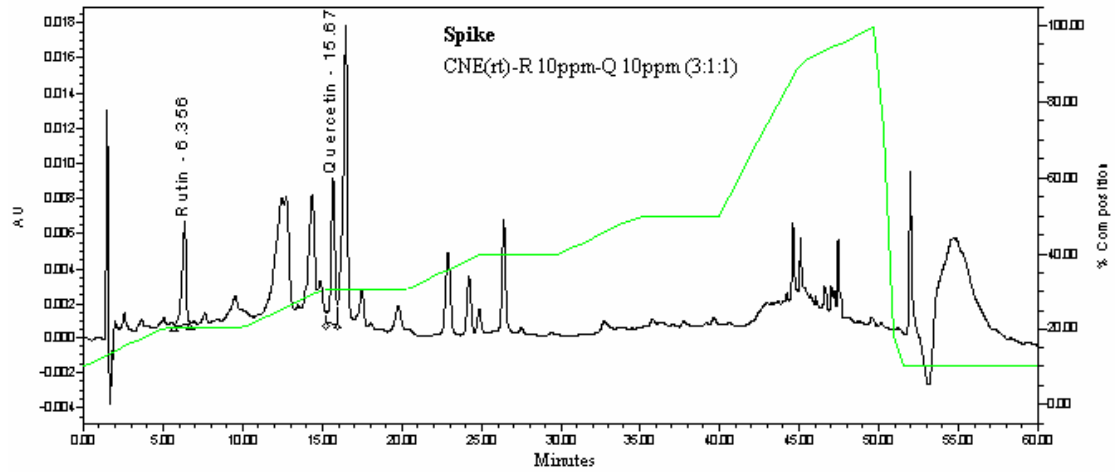


(b)
Flavonoids
vs Rutin

EtOAc-MeOH-water
(100:14:10)

รูปที่ 31. TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งรากข้างงาเอก.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.5%TFA+20%methanol in water

Solvent B 0.5%TFA+10%methanol in acetonitrile

รูปที่ 32. HPLC fingerprint ของรากขี้างาเอก.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดหยาบเอทานอลจากรากช้างงาเอก คิดเป็น 11.13% yield ของน้ำหนักผงแห้ง

2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 41.

พบสารสกัดรากช้างงาเอกมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 1984.19$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.8 ของ kojic acid และร้อยละ 0.7 ของ thymol.

ตารางที่ 41. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดรากช้างงาเอก

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Roots extract	2,500	3.3979	53.33	$y = 27.683x - 41.287$	1984.19
	5,000	3.6990	60		
	10,000	4.0000	70		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 42.

พบสารสกัดรากช้างงาเอกสามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 8.34$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 50.4 ของ BHT, ร้อยละ 50.7 ของ BHA และร้อยละ 14.6 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 42. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดรากช้างงาเอก

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Roots extract	1	0.0000	21.00	$y = 36.682x + 16.214$	8.34
	5	0.6990	34.00		
	10	1.0000	52.50		
	50	1.6990	82.00		
	100	2.0000	90.50		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 43.

พบสารสกัดรากช้างงาเอกมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 2$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.12 ของ kojic acid.

ตารางที่ 43. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดรากช้างงาเอก

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Roots extract	0.1	-1.0000	9.89	$y = 32.659x + 40.164$	2
	1	0.0000	36.26		
	2	0.3010	47.25		
	4	0.6021	60.44		
	6	0.7782	69.23		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู และที่ใบหูหนู ได้ผล ดังนี้:

5.1 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดเอทานอลจากรากช้างงาเอก

สารสกัดเอทานอลจากรากช้างงาเอก ขนาด 500 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันได้ดี เป็น 3.6 เท่าของสารมาตรฐาน Phenylbutazone ขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 44.

ตารางที่ 44. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดรากช้างงาเอก

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	$35.5 \pm 18.1.0$	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	30.0 ± 22.0	15.5	1	C
Roots extract 500 mg/kg BW	1	15.6 ± 13.5	55.9 ^a	3.6	A

^a = $p < 0.05$ ^b = $p < 0.01$

Activity classification: $A \geq 2$, $B = 1.1-1.9$, $C = 1$, $D = 0.5-0.9$, $E < 0.5$ times of phenylbutazone

5.2 ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ไขว้หูของสารสกัดเอทานอลจากรากข้างงาเอก

สารสกัดเอทานอลจากรากข้างงาเอก ขนาด 2 มก./หู มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ไขว้หูได้ดีเป็น 3 เท่าของสารละลายมาตรฐาน 5%Phenylbutazone 2 มก./หู ในเวลาครึ่งชั่วโมงแรก ดังตารางที่ 45.

ตารางที่ 45. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ไขว้หูของสารสกัดรากข้างงาเอก

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	0.5	18.50 ± 3.73	-	-	-
5%Phenylbutazone 2 mg/ear	0.5	16.00 ± 5.73	13.51	1	C
Roots extract 2 mg/ear	0.5	11.00 ± 2.37	40.54 ^{a,b}	3	A

^a = p < 0.05 ^b = p < 0.01

Activity classification: A ≥2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

จากตารางที่ 44 และ 45 สารสกัดเอทานอลจากรากข้างงาเอก มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันดีกว่าสารมาตรฐานมากกว่า 2 เท่า ทั้งเมื่อให้ทางปากและให้เฉพาะที่

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดรากข้างงาเอก ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-20 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Salmonella velterans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp.*, *Shigella dysenteriae*, *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *P. vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Propionibacterium acnes*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 0.5-10 มก./มล. ดังตารางที่ 46.

ตารางที่ 46. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดรากข่างาเอก

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.5
<i>Pseudomonas vulgaris</i> LAB	20
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.5
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	>20
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>20
<i>Salmonella velterans</i> LAB	0.5
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	0.5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	0.5
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	0.5
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	5
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	10
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	5
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	0.5
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	10
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	10
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>20
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	>20
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(9) ลีรินธรวัลดี

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Bauhinia sirindhorniae* K. & S.S. Larsen

วงศ์ LEGUMINOSAE-CAESALPINIOIDEAE

ชื่อพ้อง สามสิบสองประดง



รูปที่ 33. ลีรินธรวัลดี (*Bauhinia sirindhorniae* K. & S.S. Larsen).

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้เถาเนื้อแข็ง ยาว 10-20 เมตร ใบ ออกเดี่ยวๆ เรียงสลับ แผ่นใบเว้าเป็นแฉกลึกตรงกลาง คล้ายใบชงโค. ดอกจำนวนมากออกแน่นบนช่อเป็นพวงกลม ขนาดกว้าง 8-12 ซม., สีแสด, มีลักษณะเด่น คือ กลีบเลี้ยงมีลักษณะเป็นกาบหุ้มกลีบดอกแตกต่างไปจากกลีบเลี้ยงของพืชสกุล *Bauhinia* ทั้งหมด, กลีบดอกไม่บานแผ่ออกแต่จะซ้อนกันอยู่ในกลีบเลี้ยง. ดอกออกในเดือน มิถุนายน-กันยายน. ผลเป็นฝักแบนคล้ายฝักชงโค.

แหล่งกำเนิด: เป็นพืชพื้นถิ่นของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบขึ้นที่ระดับความสูง 150-200 เมตร บริเวณป่าภูทอกน้อย จ. หนองคาย, จ. นครพนม และ จ. สกลนคร. ได้รับการบันทึกเป็นพืชชนิดใหม่ของโลกในวารสารพฤกษศาสตร์สากล *Nordic Journal of Botany* เล่มที่ 17 ตอน 2 ปี ค.ศ. 1997 โดยขอพระราชทานพระบรมราชานุญาตจากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ตั้งชื่อชนิดตามพระนามาภิไธย (Larsen and Larsen 1997).

ประโยชน์: เถาต้มน้ำอาบ, ดื่ม, หรือคองสุราดื่ม แก้ปวดเมื่อย, แก้ประดงข้อ, ประดงผิวหนัง, บำรุงร่างกาย (วิไลรัตน์ 2546).

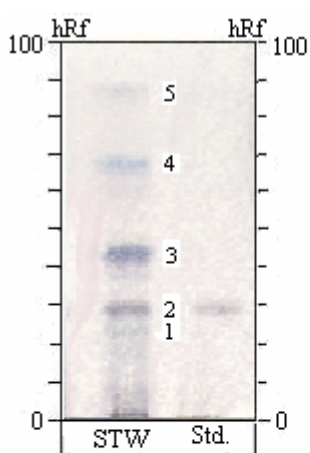
ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) : ไม่มี

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: เถา (ลำต้น)

ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

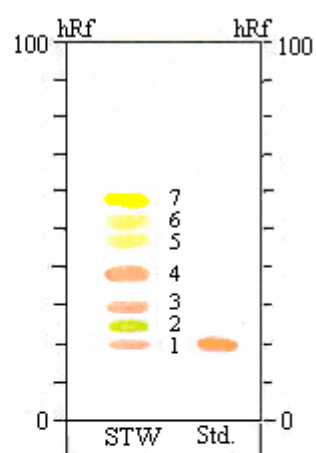
1. TLC fingerprints

ไม่พบอัลคาลอยด์ ในสารสกัดจากผงแห้งเถาสิรินครวัลลี



(n)
Steroid-terpenes
vs Beta-sitosterol

Dichloromethane-
EtOAc-formic acid
(150:5:1)

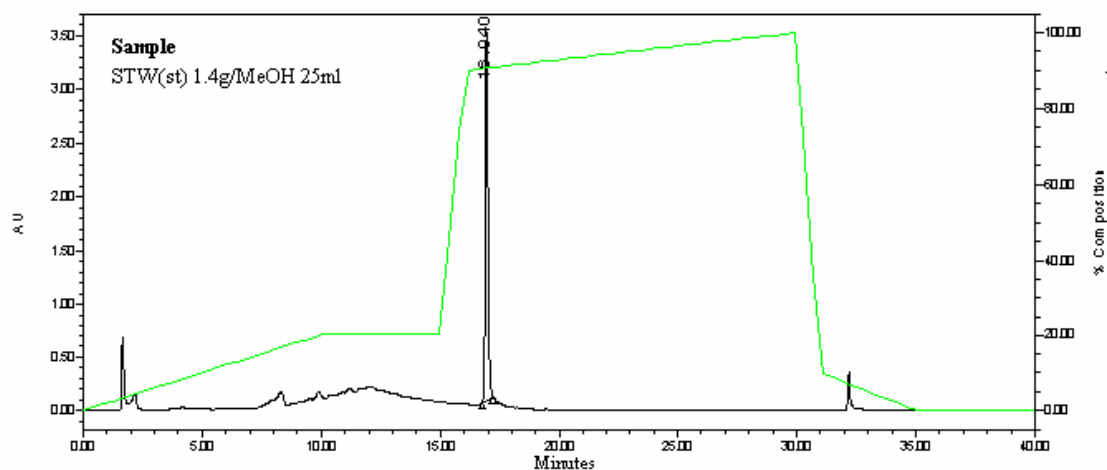
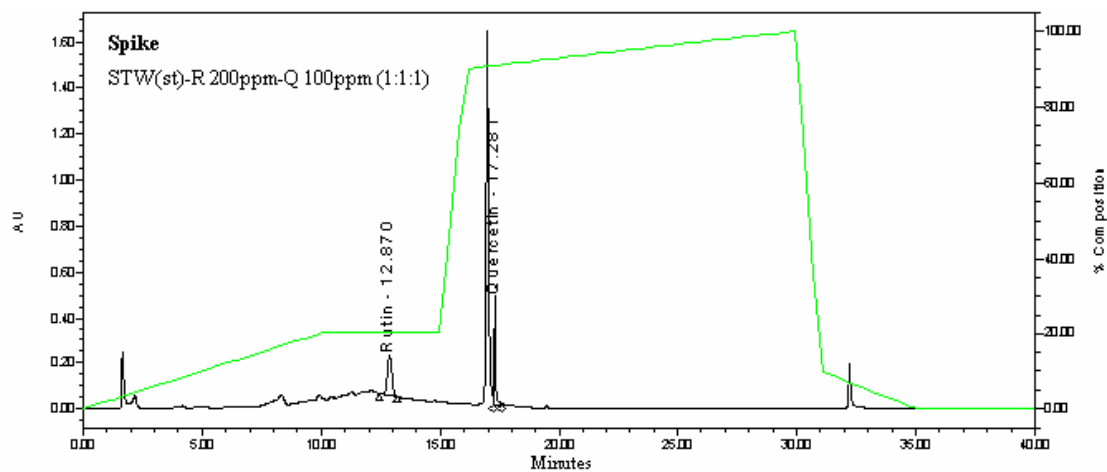


(o)
Flavonoids
vs Rutin

EtOAc-MeOH-water
(100:14:10)

รูปที่ 34. TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งเถาสิรินครวัลลี.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.1%TFA+10%methanol in water

Solvent B 0.1%TFA+ 5%methanol in acetonitrile

รูปที่ 35. HPLC fingerprint ของเถาสีรินชรวัลลี.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดหยาบเอทานอลจากเถาสีรินธรวัลดี คิดเป็น 21.79% yield ของน้ำหนักผงแห้ง.

2. ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 47.

พบสารสกัดเถาสีรินธรวัลดีมีความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 4191.47$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.4 ของ kojic acid และร้อยละ 0.3 ของ thymol.

ตารางที่ 47. ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาลของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Stems	1,250	3.0969	0	$y = 112.94x - 359.11$	4191.47
extract	2,500	3.3979	13.33		
	5,000	3.6990	53.33		
	10,000	4.0000	100		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 48.

พบสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 2.02$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็น 2.1 เท่า (ร้อยละ 208.4) ของ BHT, เป็น 2.1 เท่า (ร้อยละ 209.4) ของ BHA และร้อยละ 60.4 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 48. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Stems	0.1	-1.0000	21.89	$y = 19.487x + 44.053$	2.02
extract	1	0.0000	45.77		
	10	1.0000	66.67		
	50	1.6990	77.11		
	500	2.6990	94.53		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 49.

พบสารสกัดเถาสีรินธรวัลดีมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 0.08$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 2.88 ของ kojic acid.

ตารางที่ 49. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Stems extract	0.01	-2.0000	21.88	$y = 30.497x + 83.28$	0.08
	0.05	-1.3010	43.75		
	0.10	-1.0000	53.13		
	0.50	-0.3010	75.00		
	1	0.0000	82.29		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

สารสกัดเอทานอลจากเถาสีรินธรวัลดีขนาด 2 มก./หู มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู พอกับสารมาตรฐาน 5%Phenylbutazone 2 มก./หู ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 50.

ตารางที่ 50. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่ใบหูหนู ของสารสกัดเถาสีรินธรวัลดี

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	0.5	16.83 ± 3.87	-	-	-
5%Phenylbutazone 2 mg/ear	0.5	11.83 ± 2.93	29.70	1	C
Stems extract 2 mg/ear	0.5	9.67 ± 2.80	42.57 ^{a,b}	1.43	B

^a = $p < 0.05$ ^b = $p < 0.01$

Activity classification: A ≥ 2 , B = 1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดเถาสีรินชรวัดลีในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-20 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella velterans*, *Shigella dysenteriae*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptococcus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium acnes*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 0.5-10 มก./มล. ดังตารางที่ 51.

ตารางที่ 51. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดเถาสีรินชรวัดลี

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10
<i>Pseudomonas vulgaris</i> LAB	>20
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.5
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	>20
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>20
<i>Salmonella velterans</i> LAB	2
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	0.5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	0.5
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	0.5
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	10
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	10
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	20
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	10
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	10
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	10
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>20
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	>20
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(10) รากสามสิบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Asparagus racemosus* Willd.

วงศ์ LILIACEAE

ชื่อพ้อง ไม่พบชื่อพ้องภาษาไทย แต่ภาษาสันสกฤตเรียก ศตาวารี (Shatavaree)



(ก) เถา, ดอก



(ข) ดอก



(ค) รากแห้ง

Wichien 2003- ภาพ

รูปที่ 36. รากสามสิบ (*Asparagus racemosus* Willd.)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้เถาเนื้อแข็ง ยาว 1-2 เมตร, ใบ เล็กเรียวยาวเป็นแบบเดียวกัน คล้ายใบสน. ดอก สีขาว เล็กๆ ออกเป็นช่อคล้ายร่มเล็กๆ (spikes). รากเป็นกระจุก มีลักษณะคล้ายนิ้วมือ.

แหล่งกำเนิด: พบได้ทั่วไปในเขตร้อนที่มีร่มเงา และเขตร้อนชื้นของทวีปอินเดีย, เอเชีย, ออสเตรเลีย และ แอฟริกา (Thakur *et al.* 1989).

สรรพคุณ:

รากสามสิบเป็นสมุนไพรในคัมภีร์พระเวทที่มีการใช้มานานหลายพันปีแล้ว ชาวเขาในอินเดียใช้แก้ร้อนและดับกระหาย. รากสามสิบมีรสขม หวาน มีพลังเย็น ช่วยเพิ่มมวลเพิ่มเนื้อให้ร่างกาย มีคุณสมบัติชุ่มชื้น. มีสรรพคุณช่วยบำรุงกำหนด เป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงน้ำนม บำรุงทารกในครรภ์ บำรุงตับปอด แก้ตับปอดพิการ ช่วยหล่อเลี้ยงและบำรุงร่างกาย เสริมสร้างและพัฒนาความจำและสติปัญญา บำรุงไฟธาตุ ช่วยแก้ธาตุไฟและธาตุลมกำเริบ (อาการของธาตุไฟ ได้แก่ ร้อนใน ปากเป็นแผล รุ่มร้อนในร่างกาย ปวดหัวร่วมกับมีอาการร้อนที่กลางกระหม่อม โรคกระเพาะไปจนถึงโรคผิวหนังที่มีการอักเสบร่วมด้วย เช่น เป็นฝี เป็นหนอง. ส่วนอาการธาตุลมกำเริบ เช่น ร่างกายชubbอ่อมอ่อนเพลีย, ผิวหนังแห้ง, ท้องผูกบ่อย, อุจจาระแข็ง ไปจนถึงอาการปวดข้อ, ปวดกระดูก, กระดูกเสื่อม, กล้ามเนื้อลีบ) (มูลนิธิสุขภาพไทย 2546).

มีการนำรากสามสิบมาใช้รักษาโรคต่างๆ หลายชนิด เช่น โรคเครียด, โรคเรื้อรัง, มะเร็ง, รักษาอาการไอ, อาการบวมหน้า, การอักเสบของทางเดินอาหารและทางเดินปัสสาวะ, บำรุงกำหนด, กระตุ้นการหลั่งน้ำนม, รักษาอาการวัยทองในสตรี โดยใช้สารสกัดรากสามสิบในแอลกอฮอล์ 25% รับประทานครั้งละ 30-60 มล.ต่อสัปดาห์ (Joshi 1988).

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) :

รากสามสิบมีสารประกอบสำคัญหลายชนิดในกลุ่มสเตอรอยด์ซาโปนิน (shatavarins D), ไอโซฟลาโวนส์ D-glucopyranoside, อัลคาลอยด์ asparagine, วงแหวนไฮโดรคาร์บอน racemol, พอลิแซคคาไรด์ (polysacchrides) และสารเมือก (mucilage) (Joshi 1988; Saxena and Chourasia 2001; Sekine TIFFNal 1995; Sekine TFNMIaRN 1997).

สารสกัดจากรากสามสิบไม่มีพิษแบบเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลันในสัตว์ทดลอง, มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulation) และช่วยปรับสมดุลร่างกาย (adaptogenic activity) (Rege *et al.* 1999).

ทางคลินิกพบสารสกัดจากรากสามสิบในตำรับยาอายุวัฒนะในคัมภีร์อายุรเวท รักษาอาการผิดปกติจากความเครียดได้ เช่น ลดน้ำตาลในเลือด, การเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ, ซึมเศร้า, หลงลืม และภูมิคุ้มกันต่ำ (Bhattacharya *et al.* 2000).

สารซาโปนินจากรากสามสิบ ยับยั้งฮอร์โมนด้านการขับปัสสาวะ ADH (Gaitonde and Jetmalani 1969), และยับยั้งการหดเกร็งของมดลูกในสัตว์ทดลอง (Gaitonde and Jetmalani 1969).

สารสกัดเมธานอลจากรากสามสิบยับยั้งอาการไอในหนู (Mandal and Kumar *et al.* 2000), ต้านออกซิเดชันในเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียของตับหนู และต้านเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน และออกซิเดชันของโปรตีน รวมทั้งช่วยป้องกันอันตรายจากรังสี คือ การสูญเสียโปรตีน thiols และการเสื่อมฤทธิ์ของเอนไซม์ superoxide dismutase (Kamat *et al.* 2000).

สารสกัดเมธานอลจากรากสามสิบที่ความเข้มข้น 50-150 มก./มล. ยับยั้งแบคทีเรียหลายชนิด คือ *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *S. sonnei*, *S. flexneri*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* (Mandal and Nandy *et al.* 2000) โดยสาร 9,10-Dihydrophenanthrene (Boger *et al.* 1985). และสารนี้ยังจับกับตัวรับของฮอร์โมนแอนโดรเจน เพื่อยับยั้งการเจริญของต่อมลูกหมากด้วย (Chang and Liao 1987).

รากลามสลิปมีฤทธิ์ปรับสมดุลในสัตว์ทดลอง โดยกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดขาว และนิว-
โทรฟิล, ป้องกันการกดไขกระดูกจาก cyclophosphamide (Thatte and Dahanukar 1988),
ยับยั้งการเกิดมะเร็งเต้านม (Rao 1981), กระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจ (Rege and
Dahanukar 1993) โดยเพิ่มการเคลื่อนไหวกของแมคโครฟาจและการสร้าง Interleukin-1 และ
TNF-alpha (Dhuley 1997), และการให้หนูกินรากลามสลิปวันละ 200 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก.
สามารถป้องกันการทำลายเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหารจากสารเคมีได้ (Nyman *et al.* 1995).

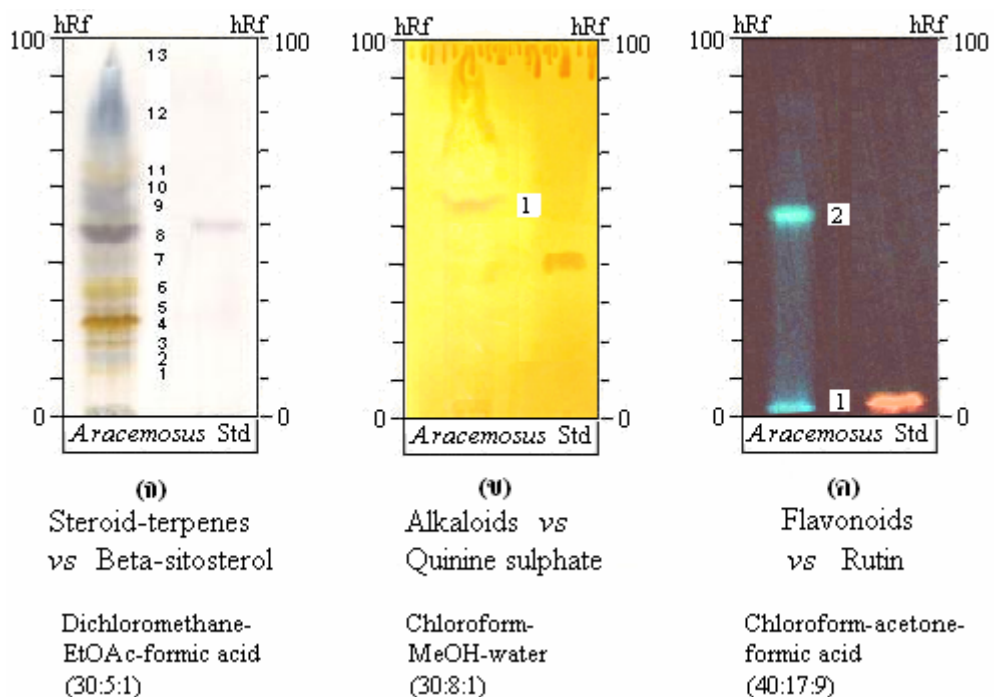
ขาดอาการท้องอืดท้องเฟ้อจากรากลามสลิป มีผลทางคลินิกช่วยเพิ่มระดับเอนไซม์อะมิเลส
และไลเปส (Dange *et al.* 1969) และช่วยลดระยะเวลาที่อาหารเคลื่อนผ่านกระเพาะลง 37%
($p < 0.001$) (Dalvi *et al.* 1990).

การทดลองในควาย (Patel and Kanitkar 1969) และผลทางคลินิก (Sharma *et al.*
1996) พบสารสกัดรากลามสลิปช่วยเพิ่มการผลิตน้ำนม โดยเพิ่มการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติโคส-
เตอรอยด์ หรือ โพรแลคติน ซึ่งไปเพิ่มเนื้อเยื่อของเต้านมและปริมาณน้ำนม (Anon 1992).

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: ราก

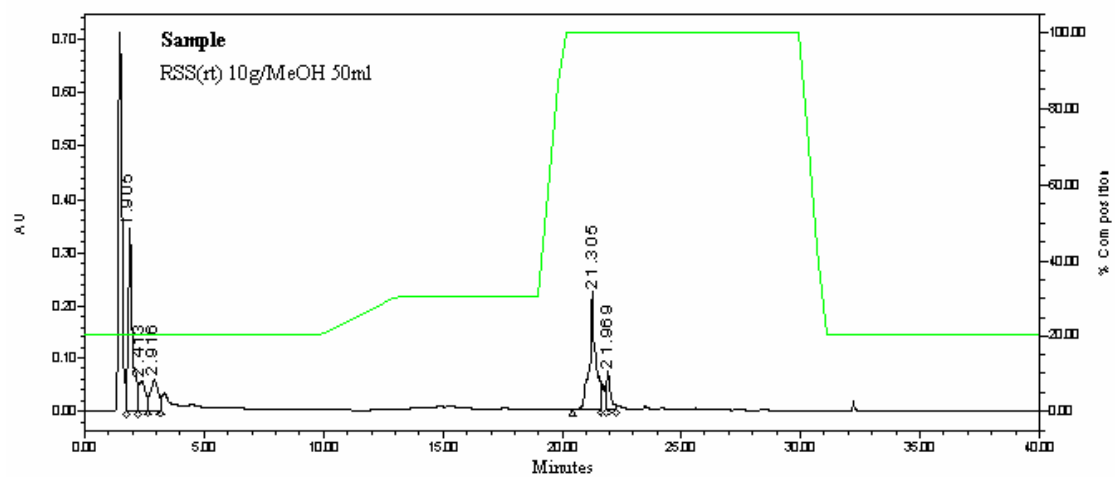
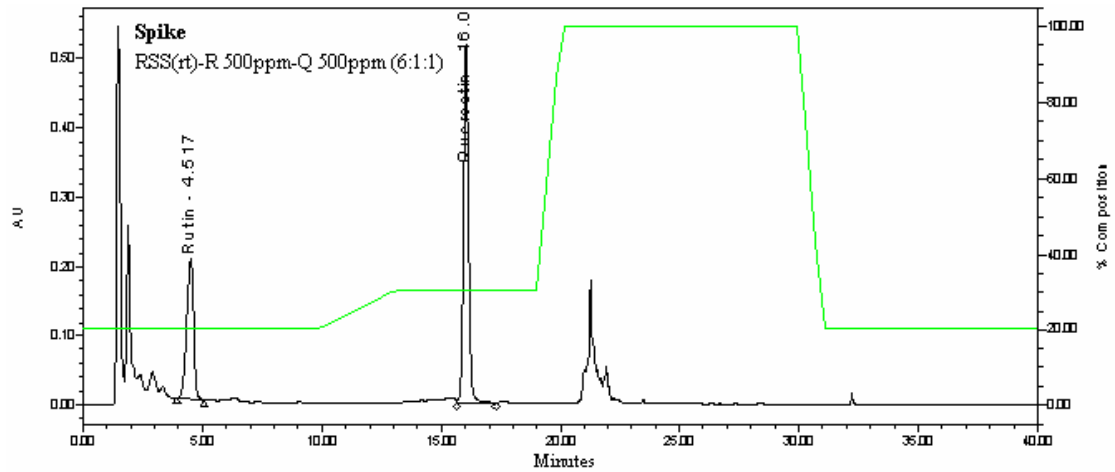
ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

1. TLC fingerprints



รูปที่ 37. TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งรากลามสลิป.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.1%TFA+10%methanol in water

Solvent B 0.1%TFA in acetonitrile

รูปที่ 38. HPLC fingerprint ของรากสามสิบ.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. ได้สารสกัดหยาบเอทานอลจากรากสามสิบ คิดเป็น 35.75%yield ของน้ำหนักผงแห้ง

2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 52.

พบสารสกัดรากสามสิบมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 2189.49$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.8 ของ kojic acid และร้อยละ 0.6 ของ thymol.

ตารางที่ 52. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดรากสามสิบ

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} (µg/ml)
Roots	1,000	3.0000	0	$y = 138.86x - 413.84$	2189.49
extract	1,250	3.0969	20		
	2,500	3.3979	56.66		
	5,000	3.6990	100		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 53.

พบสารสกัดรากสามสิบสามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 381.91$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 1.1 ของ BHT, BHA; และร้อยละ 0.3 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 53. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดรากสามสิบ

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} (µg/ml)
Roots	50	1.6990	7.46	$y = 52.359x - 85.189$	381.91
extract	100	2.0000	17.16		
	500	2.6990	50.75		
	1000	3.0000	73.88		
	2500	3.3979	94.78		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 54.

พบสารสกัดรากสามสิบมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 7.98$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.03 ของ kojic acid.

ตารางที่ 54. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดรากสามสิบ

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Roots extract	2.5	0.3979	26.51	$y = 46.767x + 7.8191$	7.98
	5	0.6990	40.96		
	10	1.0000	53.01		
	15	1.1761	63.86		
	20	1.3010	68.67		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดหยาบเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทานอลจากรากสามสิบ ขนาด 500 มก./น.น. ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเป็น 0.33 เท่า ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 55.

ตารางที่ 55. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดรากสามสิบ

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	33.8 ± 16.1	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	22.7 ± 15.4	33	1	C
Roots extract 500 mg/kg BW	1	30.2 ± 14.3	10.8	0.33	E

Activity classification: $A \geq 2$, $B = 1.1-1.9$, $C = 1$, $D = 0.5-0.9$, $E < 0.5$ times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดรากสามสิบในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (5-20 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Enterococcus faecalis*,

Salmonella velterans, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptococcus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus spp.*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยส่วนใหญ่มีค่า MIC = 10 มก./มล. ดังตารางที่ 56

ตารางที่ 56. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดรากสามสิบ

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20
<i>Pseudomonas vulgaris</i> LAB	>20
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	>20
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>20
<i>Salmonella velterans</i> LAB	10
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	10
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	5
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	20
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	10
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	10
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	10
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	10
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	10
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	10
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	10
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	20
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(11) หนุมานประสาณกาย

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Schefflera leucantha* Viguier

วงศ์ ARALIACEAE

ชื่อพ้อง สังกกรณี, ว่านอ้อยช้าง (เลย); ชิดชะลึ่ง, กุชิดชะลึ่ง (จีน)



(ก) ต้น



(ข) ใบ, ดอก

http://www.nstrc.rit.ac.th/site_herb/page_hanuman.htm

รูปที่ 39. หนุมานประสาณกาย (*Schefflera leucantha* Viguier).

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้พุ่มสูง 1-2 เมตร, เป็นไม้กลางแจ้งและชอบความชื้น, ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขามากมาย. ใบประกอบแบบนิ้วมือ, มีใบย่อย 5-7 ใบ, ก้านใบยาว 3-9 ซม., ใบย่อยรูปรี ค่อนข้างเรียบมันทั้งด้านบนและด้านล่าง, กว้าง 1.5-2 ซม. ยาว 5-10 ซม., ปลายใบเรียวแหลม, โคนใบแหลม. ดอกเล็กสีขาวแกมเขียวหรือแกมเหลืองอ่อน ออกที่ยอดเป็นช่อแบบกระจาย. ผลกลมเท่าเมล็ดพริกไทย สีเหลืองเป็นพวงหนาแน่น. ขยายพันธุ์โดยใช้กิ่งปักชำ, ตอนกิ่ง, เมล็ด (ผู้พัฒนาพงศ์ 2525; สุชาวรรณ 2535).

แหล่งกำเนิด: พบปลูกทั่วไป

ประโยชน์: รสชาติหอมสุขุม. ใช้ทั้งต้นปรุงยาแก้ปวดเมื่อยตามเนื้อตัว แก้อัมพฤกษ์ ทำให้เลือดลมเดินสะดวก, ต้มดื่มรักษาโรคกระเพาะและลำไส้. ใบสดตำผสมสุราหรือดื่มกับน้ำกินแก้ไอ

แก้เจ็บคอ, คออักเสบ, แก้ปอดและหลอดลมอักเสบ แก้หืด, แก้ภูมิแพ้. ใบสดตำพอกแผลสด ห้ามเลือดสมานแผล แก้อักเสบบวม. ใบสดตำผสมสุราคั้นดื่มละลายลิ้มเลือดในสมอง. ใบสดตำคั้นน้ำดื่มรักษามะเร็งปากมดลูก.

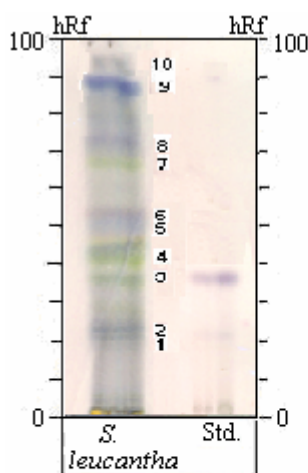
ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) : ใบมีสารประกอบ Oleic acid, Betulinic acid, D-glucose, D-xylose, L-rhamnose. พบว่า saponin จากใบมีฤทธิ์ขยายหลอดลม (Pancharoen *et al.*, 1994) และไม่พบความเป็นพิษในหนู (Witthawaskul *et al.*, 2003). สารสกัดด้วยน้ำจากใบมีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดหนู (Satayavivad *et al.*, 1996).

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: ใบ

ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

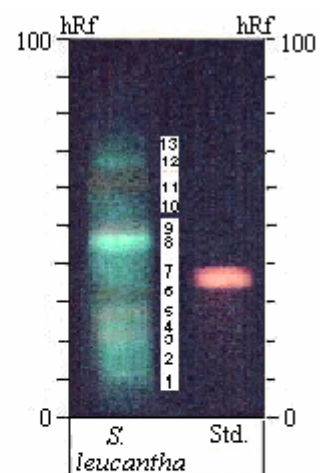
1. TLC fingerprints

ไม่พบอัลคาลอยด์ ในสารสกัดจากผงแห้งใบหนูมานประสานกาย



(ก)
Steroid-terpenes
vs Beta-sitosterol

Dichloromethane-
EtOAc-formic acid
(60:5:1)

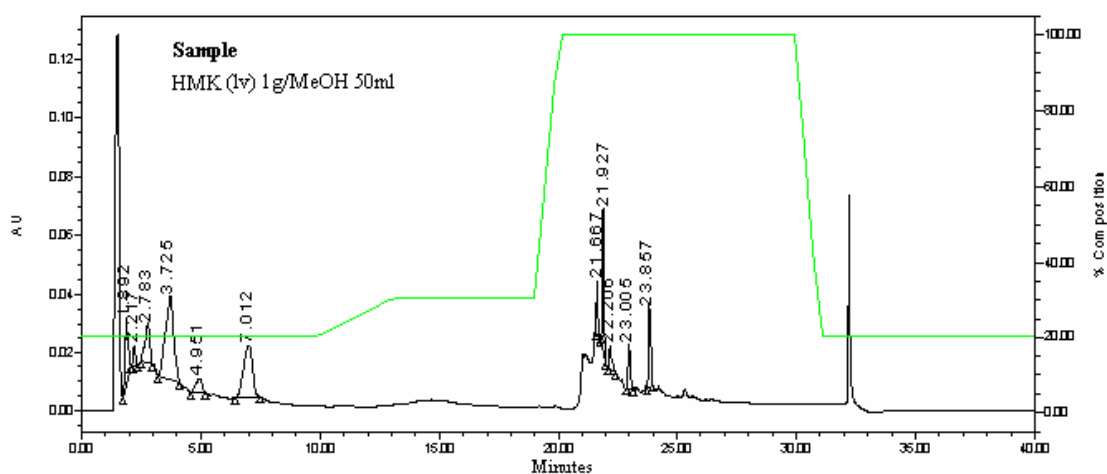
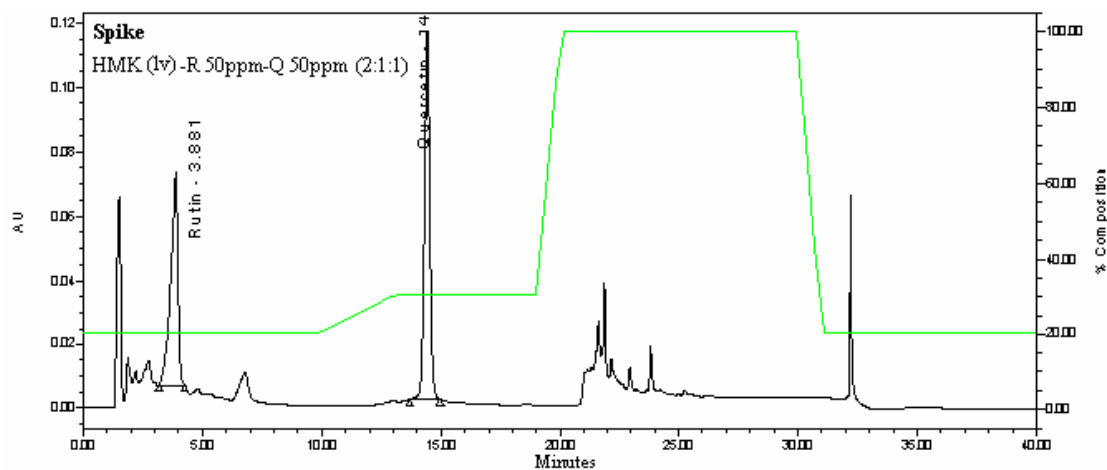


(ข)
Flavonoids
vs Rutin

EtOAc-formic acid-
HOAc-water
(100:11:11:26)

รูปที่ 40. TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งใบหนูมานประสานกาย.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.2%TFA+10%methanol in water

Solvent B 0.3%TFA in acetonitrile

รูปที่ 41. HPLC fingerprint ของใบหนุมานประสานกาย.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดหยาบเอทานอลจากใบหนุมานประสานกาย คิดเป็น 9.01% yield ของน้ำหนักผงแห้ง.

2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 57.

พบสารสกัดใบหนุมานประสานกายมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 4111.15$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.4 ของ kojic acid และร้อยละ 0.3 ของ thymol.

ตารางที่ 57. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดใบหนุมานประสานกาย

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Leaves	2,000	3.3010	0	$y = 164x - 542.69$	4111.15
extract	5,000	3.6990	60		
	8,000	3.9031	100		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 58.

พบสารสกัดใบหนุมานประสานกาย สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 71.9$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 5.9 ของ BHT และ BHA, และร้อยละ 1.7 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 58. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดใบหนุมานประสานกาย

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Leaves	10	1.0000	27.30	$y = 40.748x - 25.659$	71.90
extract	50	1.6990	34.57		
	100	2.0000	40.50		
	500	2.6990	93.03		
	1,000	3.0000	100		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4.ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 59.

พบสารสกัดใบหนุมานประสานกายมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 10.53$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.02 ของ kojic acid.

ตารางที่ 59. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดใบหนุมานประสานกาย

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Leaves extract	8	0.9031	22.86	$y = 209.35x - 164.08$	10.53
	10	1.0000	48.57		
	12	1.0792	60.00		
	14	1.1461	78.79		
	16.5	1.2175	88.57		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5.ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดหยาดเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบหนุมานประสานกายขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเป็น 0.56 เท่า ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 60.

ตารางที่ 60. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดใบหนุมานประสานกาย

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	43.50 ± 19.8	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	33.4 ± 6.3	23.22	1	C
Leaves extract 250 mg/kg BW	1	37.8 ± 11.2	13.03	0.56	D

Activity classification: A ≥ 2, B = 1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดใบหนุ่แมนประสานภายในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-20 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคลหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*; จุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก คือ *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Streptococcus spp.*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 10-20 มก./มล. ดังตารางที่ 61.

ตารางที่ 61. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดใบหนุ่แมนประสานภายใน

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>20
<i>Pseudomonas vulgaris</i> LAB	>20
Gram negative, facultatively anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>20
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	>20
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>20
<i>Salmonella velterans</i> LAB	>20
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	>20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	10
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	20
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>20
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	>20
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	20
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	10
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	10
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	10
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	5
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	10
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	10
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>20
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	20
	¹ positive control
	² negative control

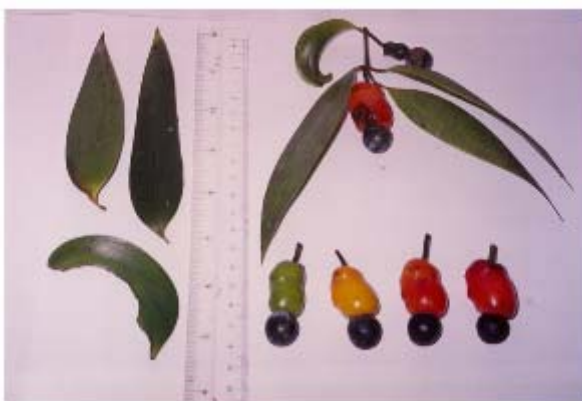
+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(12) พญาไม้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Podocarpus neriifolius* D. Don

วงศ์ PODOCARPACEAE

ชื่อพ้อง ชุนไม้, พญาไ้ราก (นครราชสีมา); ซางคำ, ซางจิง, ซางหอม (เชียงใหม่); ดอกโต (เลย); บัวละแวง (เชียงราย); ไม้ลำตัน (อุดรธานี); สมุลแว้ง (ภาคกลาง)



รูปที่ 42. พญาไม้ (*Podocarpus neriifolius* D. Don) ใบ และผล.

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้ต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ไม้ผลัดใบ สูง 25-30 เมตร. เรือนยอดมีกิ่งก้านมาก รูปเจดีย์ทึบ ลำต้นเปลาตรง, เปลือกนอกสีเทาอ่อนข้างเรียบ แตกเป็นร่องตื้นๆ ตามยาวของลำต้น, เปลือกในสีชมพู บางที่แตกเป็นสะเก็ดเล็กๆ. ใบ เดี่ยวรูปขอบขนานแคบ กว้าง 1-1.8 ซม. ยาว 7-20 ซม. เรียงสลับเวียนกันเป็นกลุ่มตอนปลายกิ่ง ปลายใบมักกลม, เนื้อใบหนา เกือบเกลี้ยง ปลายเรียวแหลม, หลังใบสีเขียวเข้มกว่าท้องใบ, มีเส้นกลางใบชัดเจน. ดอก สีเหลืองอ่อน แยกเพศ, ดอกเพศผู้มักออกเป็นช่อแบบหางกระรอก ตามง่ามใบ โดยมากมักออกเป็นช่อเดี่ยวหรือเป็นกระจุกละไม่เกิน 3 ช่อ, แต่ละช่อยาว 2-3 ซม., ก้านช่อดอกสั้นมาก บางที่แทบมองไม่เห็น, โคนก้านมีกาบเป็นเกล็ดหนาๆ หุ้มดอก; ดอกเพศเมียออกเป็นช่อเดี่ยวๆ ตามง่ามใบ, รังไข่ตั้งอยู่บนก้านส่วนที่บวม. ผลรูปไข่รีหรือเกือบกลม กว้าง 9 มม. ยาว 10-13 มม.

พญาไม้ ออกดอกระหว่างเดือนมกราคม-มีนาคม และเป็นผลระหว่างเดือนมีนาคม-มิถุนายน. ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด (สารานุกรมพืช 2549; กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช 2549).

แหล่งกำเนิด: พบในประเทศไทย เนปาล เกาะสุมาตรา ฟิลิปปินส์ถึงนิวกินี และตองก้า. ประเทศไทยจัดเป็นไม้หวงห้ามธรรมดา พบขึ้นอยู่ห่างๆ กันในป่าดงดิบทางภาคใต้, ภาคตะวันออก, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ที่สูงจากระดับน้ำทะเลระหว่าง 600-1,500 เมตร. ยกเว้นภาคใต้ เช่น จังหวัดระนองพบขึ้นอยู่ในที่ต่ำราว 40 เมตรจากระดับน้ำทะเล.

สรรพคุณ: ใบต้มรักษาโรคตามข้อ

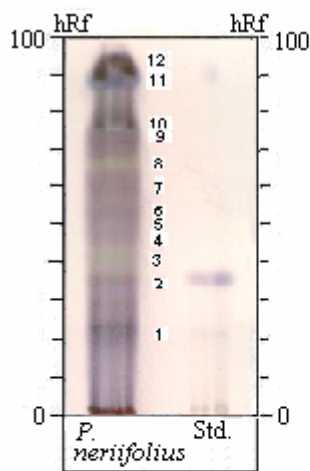
ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) : ไม่มี

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: ใบ

ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

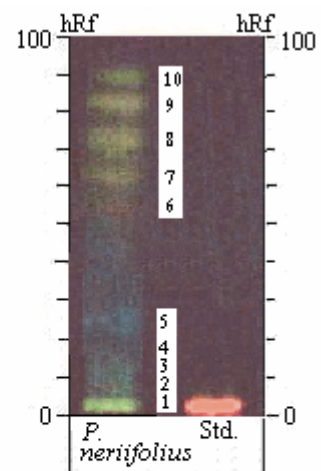
1. TLC fingerprints

ไม่พบอัลคาลอยด์ ในสารสกัดจากผงแห้งใบพญาไม้



(i)
Steroid-terpenes
vs Beta-sitosterol

Dichloromethane-
EtOAc-formic acid
(60:5:1)

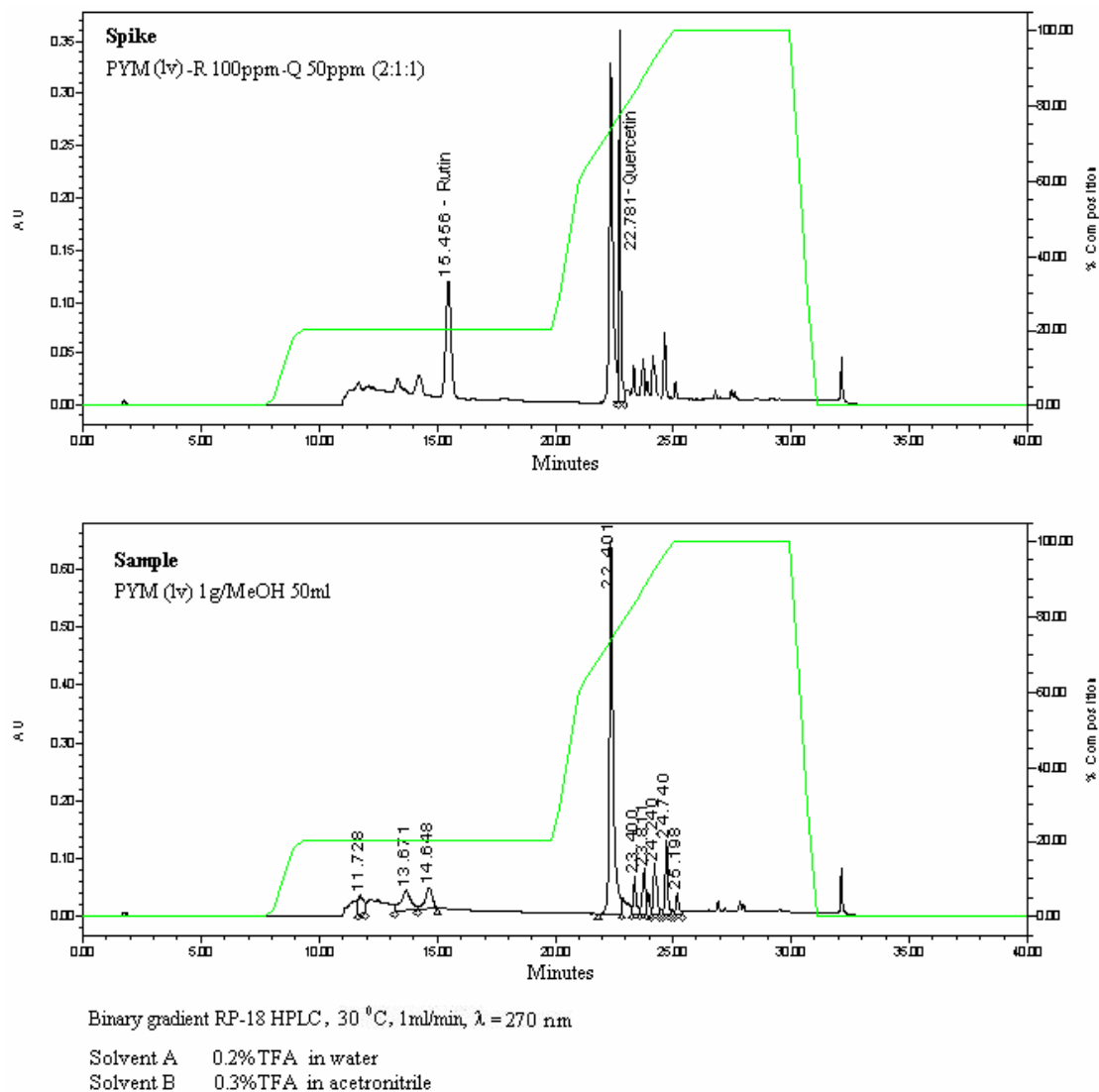


(ii)
Flavonoids
vs Rutin

Chloroform-acetone-
formic acid
(40:17:9)

รูปที่ 43. TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งใบพญาไม้.

2. RP-HPLC fingerprint



รูปที่ 44. HPLC fingerprint ของใบพญาไม้.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. ได้สารสกัดหยาบเอทานอลจากใบพญาไม้ คิดเป็น 5.4%yield ของน้ำหนักผงแห้ง.

2. ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 62.

พบสารสกัดใบพญาไม้ มีความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลน้อยมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 9023.16$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.18 ของ kojic acid และร้อยละ 0.15 ของ thymol.

ตารางที่ 62. ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลของสารสกัดใบพญาไม้

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Leaves extract	7,000	3.8400	0	$y = 392.91x - 1504.1$	9023.16
	8,000	3.9000	40		
	9,000	3.9500	50		
	10,000	4.0000	63.33		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 63.

พบสารสกัดใบพญาไม้สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี โดยมีค่า $EC_{50} = 2.01$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็น 2.1 เท่า (ร้อยละ 209.5) ของ BHT, มีฤทธิ์เป็น 2.1 เท่า (ร้อยละ 210.4) ของ BHA และมีฤทธิ์เป็น 0.6 เท่า (ร้อยละ 60.7) ของ Vitamin C.

ตารางที่ 63. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดใบพญาไม้

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Leaves extract	0.5	-0.3010	28.77	$y = 36.49x + 38.936$	2.01
	1	0.0000	33.27		
	5	0.6990	61.01		
	10	1.0000	91.75		
	50	1.6990	92.88		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4.ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 64.

พบสารสกัดใบพญาไม้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 0.2029$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 1.1 ของ kojic acid.

ตารางที่ 64. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดใบพญาไม้

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Leaves extract	0.1	-1.0000	37.16	$y = 38.667x + 76.789$	0.2029
	0.2	-0.6990	50.68		
	0.4	-0.3979	62.16		
	0.6	-0.2218	68.92		
	0.8	-0.0969	71.62		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดหยาบเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบพญาไม้ ขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันน้อยมาก โดยมีฤทธิ์เพียง 0.14 เท่า ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. ในช่วงเวลาที่ 2 ดังตารางที่ 65.

ตารางที่ 65. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดใบพญาไม้

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	2	78.7 ± 29.1	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	2	35.7 ± 19.1	54.7 ^a	1	C
Leaves extract 250 mg/kg BW	2	72.5 ± 31.6	7.8	0.14	E

^a = $p < 0.05$ ^b = $p < 0.01$

Activity classification: A ≥ 2, B = 1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดใบพญาไม้ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-10 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *S. velterans*, *Shigella dysenteriae*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus spp.*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 0.5-5 มก./มล. ดังตารางที่ 66.

ตารางที่ 66. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดใบพญาไม้

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.5
<i>Pseudomonas vulgaris</i> LAB	>10
Gram negative, facultative anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>Choleraesuis</i> ATCC 10708	0.5
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	5
<i>Salmonella velterans</i> LAB	0.5
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	3
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	3
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	0.5
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	>5
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	>5
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	>5
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	>5
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	>5
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	>5
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>2.5
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	>2.5
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(13) กวาวเครือขาว

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pueraria candollei* Wall. ex Benth. var. *mirifica*

วงศ์ LEGUMINOSAE-PAPILIONACEAE

ชื่อพ้อง -



สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจนันท์-ภาพ

(ก) เถา

(ข) ดอก

(ค) หัว

รูปที่ 45. กวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* var. *mirifica*).

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้เถาเนื้อแข็ง อายุหลายปี มีหัวใต้ดินขนาดใหญ่ เนื้อในสีขาว รสเบื่อเมา. เกิดตามป่าดงดิบเขาสูง พบมากในภาคเหนือ. ใบประกอบแบบขนนก มี 3 ใบย่อย เรียงสลับ, ใบกว้าง 8-14 ซม. ยาว 12-20 ซม. เนื้อใบด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขนประปราย. ดอกออกเป็นช่อแยกแขนง ออกที่ซอกใบและปลายกิ่ง, ช่อยาวได้ถึง 30 ซม., ดอกย่อยคล้ายดอกถั่ว สีน้ำเงินอมม่วง. ผลเป็นฝักแบนรูปขอบขนาน กว้าง 7 มม. ยาว 3 ซม. ผิวมีขน, ภายในฝักมี 3-5 เมล็ด. เมล็ดแบน มีลักษณะคล้ายโล่ สีม่วงแกมน้ำตาล. กว้าง 9 มม. ยาว 10-13 มม. ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด.

แหล่งกำเนิด: อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง และพบขึ้นในป่าเบญจพรรณ บนพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเล 250-800 ม. ในป่าสูงทางภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของ ไทย.

สรรพคุณ: หัวมีรสเมาเบื่อ บำรุงเนื้อหนังให้เต่งตึง ทำให้หน้าอกโต, บำรุงสุขภาพให้สมบูรณ์, บำรุงความกำหนัด, เป็นยาอายุวัฒนะ (พืชชื่อกวาวเครือมี 2 ชนิด คือ ชนิดหัวขาวและชนิดหัวแดง. ชนิดหัวแดงมีพิษมากไม่นิยมใช้ทำยา. ทั้งกวาวเครือขาว และกวาวเครือแดงกินมากเป็นพิษ) (วุฒิชัยธรรมเวช 2540; มหาวิทยาลัยมหิดล 2547).

ยาแผนโบราณใช้หัวกวาวเครือขาวเป็นส่วนประกอบในตำรายาบำรุงสุขภาพและบำรุงสตรีที่ประจำเดือนไม่ปกติ หัวบดเป็นผงผสมน้ำผึ้งปั้นให้มีขนาดเท่าเม็ดล็ดพริกไทย รับประทานวันละ 1 เม็ด เป็นยาอายุวัฒนะทั้งชายและหญิงสูงวัย ทำให้ผิวหนังเต่งตึงมีน้ำมีนวล, หน้าอกโต, ผมหงอกกลับดำ, ช่วยเพิ่มเส้นผม, แก้โรคตาฟาง ต้อกระจก, ทำให้ความจำดี, ช่วยให้การเดินเหินคล่องแคล่ว, บำรุงโลหิต เจริญอาหาร, ช่วยให้นอนหลับสนิท, คนหนุ่มสาวไม่ควรรับประทาน (สมิตะสิริ 2541).

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) :

องค์ประกอบเคมีที่สำคัญในหัว คือ miroestrol และ deoxymiroestrol ซึ่งอยู่ในกลุ่มฮอร์โมนเอสโตรเจน และพบมี coumarins (coumestrol และ mirificoumestan) (Ingham, Tahara and Dziedzic 1986); สเตียรอยด์ (beta-sitosterol, stigmasterol, pueraria mirifica sterol) (Hoyodom 1971); น้ำตาลซูโครส, ฟลิกแคลเซียมออกซาลेट, อัลเคน, แอลกอฮอล์, ไขมัน (เช่น pueraria mirifica glyceride) และแร่ธาตุ (เช่น ลิเทียม, โพแทสเซียม, แคลเซียม, ฟอสฟอรัส, โปรตีน และใยอาหาร) (Jones and Pope 1961).

หัวกวาวเครือขาวมีฤทธิ์ลดจำนวนอสุจิ, ทำให้อสุจิก่อนไหลน้อยลง, จำนวนตัวอ่อนที่ฝังในมดลูกหนูเพศเมียลดลง, จำนวนและน้ำหนักของลูกหนูลดลง แต่ไม่ก่อให้เกิดความพิการ (लगคจันท์ และสมิตะสิริ 2528) และพบมีผลคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนต่ออวัยวะสืบพันธุ์ของหนูถีบจักร เช่น ทำให้น้ำหนักอวัยวะลดลง, น้ำหนักมดลูกเพิ่มขึ้น (ชนะชัย และสมิตะสิริ 2530; Rodkaew *et al.* 2543) และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของต่อมน้ำนมและการสร้างน้ำนม (สมิตะสิริ และคณะ 2532).

กวาวเครือขาวขนาด 10 มก./นน.ตัว 1 กก./ครั้ง เมื่อให้ทางปากวันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน ทำให้เซลล์ตับของหนูมีขนาดเล็กลง แต่ระดับเอนไซม์ตับไม่เปลี่ยนแปลง (กันธเสวี และคณะ 2530); ไม่พบพิษเฉียบพลันในหนูถีบจักร ($LD_{50} > 16$ กก./นน.ตัว 1 กก.). ไม่พบพิษกึ่งเรื้อรังในหนูพันธุ์วิสตาร์ โดยผงกวาวเครือขาวขนาด 10-100 มก./นน.ตัว 1 กก./วัน ให้กิน

ติดต่อกัน 90 วัน ไม่ทำให้เกิดความผิดปกติต่อค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางเคมี และไม่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของอวัยวะภายใน; แต่ขนาด 1000 มก./นน.ตัว 1 กก./วัน ทำให้หนูเจริญเติบโตลดลง และมีจำนวนฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (ชีวพัฒน์ และคณะ 2543).

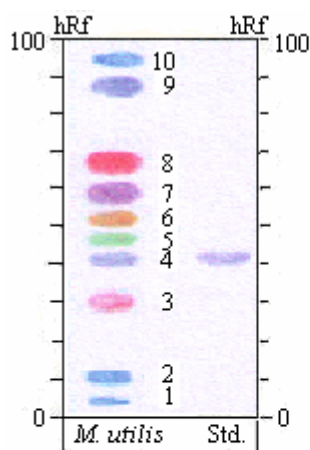
การทดสอบกับลิงเพศเมียวัยหมดประจำเดือน โดยให้กินกวาวเครือขาววันละ 1,000 มก./วัน เป็นเวลา 90 วัน พบว่ากวาวเครือขาวสามารถลดการสูญเสียมวลกระดูกเนื่องจากการขาดฮอร์โมนส์เอสโตรเจนได้ (Trisomboon *et al.* 2005).

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: หัว

ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

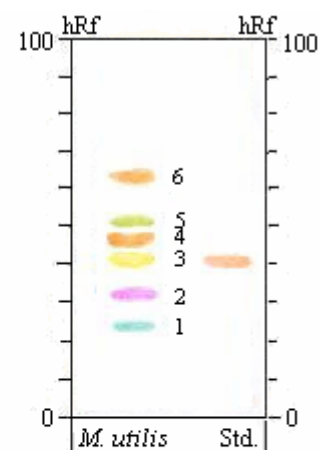
1. TLC fingerprints

ไม่พบอัลคาลอยด์ ในสารสกัดจากผงแห้งหัวกวาวเครือขาว



(ก)
Steroid-terpenes
vs Beta-sitosterol

Toluene-
EtOAc-formic acid
(15:2:1)

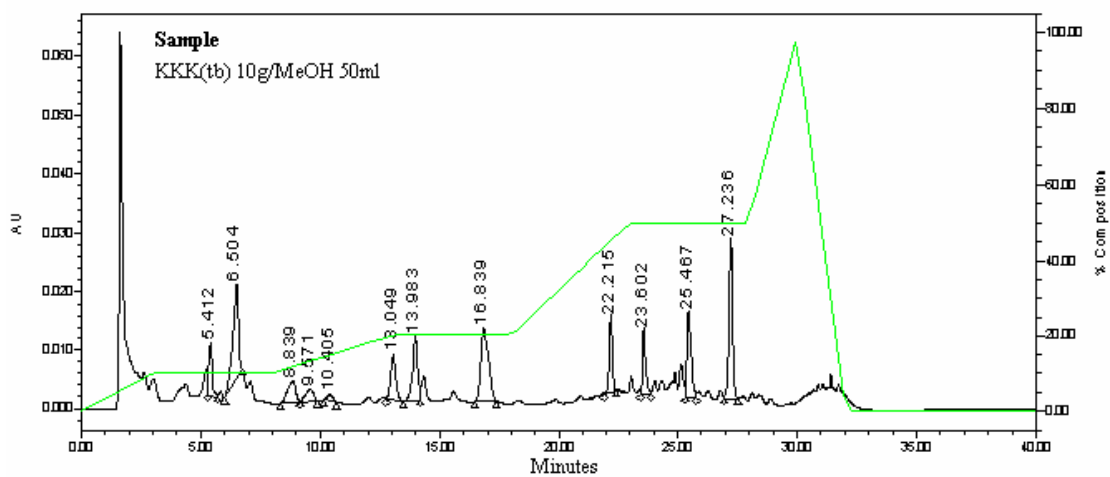
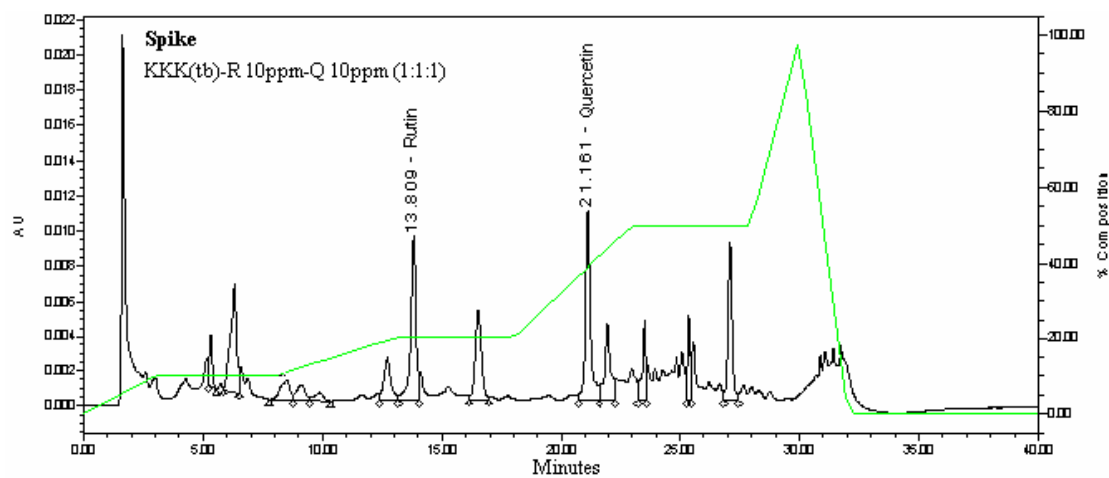


(ข)
Flavonoids
vs Quercetin

Chloroform-acetone-
formic acid
(60:17:9)

รูปที่ 46. TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งหัวกวาวเครือขาว.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270 \text{ nm}$

Solvent A 0.1%TFA+10%methanol in water

Solvent B 0.1%TFA+20%methanol in acetonitrile

รูปที่ 47. HPLC fingerprint ของห้วกวาวเครือขาว.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล

1. ได้สารสกัดหยาบเอทานอลจากหัวกวาวเครือขาว คิดเป็น 8.66%yield ของน้ำหนักผงแห้ง.

2. ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาล

พบสารสกัดหัวกวาวเครือขาวไม่มีความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาล คือ สารสกัด 10,000 มก./มล. ทำให้โรสิน้ำตาลตายเพียงร้อยละ 10 ดังนั้น จึงมีค่า $LC_{50} = >10,000$ มก./มล. ในขณะที่ kojic acid มีค่า $LC_{50} = 16.68$ มก./มล. และ thymol มีค่า $LC_{50} = 13.59$ มก./มล. ดังตารางที่ 67.

ตารางที่ 67. ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาลของสารสกัดหัวกวาวเครือขาว

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Tubers extract	5,000	3.6990	0	-	>10,000
	6,000	3.7782	0		
	7,000	3.8451	0		
	8,000	3.9031	0		
	9,000	3.9542	0		
	10,000	4.0000	10		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 68.

พบสารสกัดหัวกวาวเครือขาวสามารถจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า $EC_{50} = 48.98$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็นร้อยละ 8.6 ของ BHT และ BHA; และมีฤทธิ์เป็นร้อยละ 2.5 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 68. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหัวกวาวเครือขาว

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Tubers extract	10	1.0000	36.92	$y = 20.404x + 15.516$	48.98
	50	1.6990	48.55		
	100	2.0000	56.47		
	150	2.1761	56.95		
	200	2.3010	65.91		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4.ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 69.

พบสารสกัดห้วกวาวเครือขาวมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 4.69$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.05 ของ kojic acid.

ตารางที่ 69. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดห้วกวาวเครือขาว

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Tubers extract	0.5	-0.3010	3.13	$y = 43.373x + 20.879$	4.69
	1	0.0000	20.83		
	2.5	0.3979	47.92		
	5	0.6990	52.08		
	10	1.0000	58.33		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5.ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดห้วกวาวเครือขาว พบว่าสารสกัดห้วกวาวเครือขาวขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเป็น 0.81 เท่า ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. ในช่วงเวลาที่ 1 ดังตารางที่ 70.

ตารางที่ 70. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดห้วกวาวเครือขาว

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	30.7 ± 15.8	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	25.6 ± 21.2	16.7	1	C
Tubers extract 250 mg/kg BW	1	26.5 ± 15.8	13.6	0.81	D

Activity classification: $A \geq 2$, $B = 1.1-1.9$, $C = 1$, $D = 0.5-0.9$, $E < 0.5$ times of phenylbutazone

6.ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดหัวกวาวเครือขาวในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-20 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. intermedicus*, *Candida albicans*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 5-10 มก./มล. ดังตารางที่ 71.

ตารางที่ 71. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหัวกวาวเครือขาว

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10
Gram negative, facultative anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	10
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	> 20
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	> 20
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	10
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	> 20
<i>Staphylococcus intermedicus</i> ATCC 29663	15
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	> 20
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	> 20
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	> 20
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	> 20
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	> 20
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	> 20
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	> 20
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	5
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	10
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹ Assay media with acetone, ² Assay media

(14) ว่านชักมดลูก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Curcuma comosa* Roxb.

วงศ์ ZINGIBERACEAE

ชื่อพ้อง ว่านชักมดลูกตัวเมีย



สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจนันท์-ภาพ

(ก) ต้น

(ข) เหง้า

รูปที่ 48. ว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa* Roxb.).

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

พืชล้มลุกปีเดียว มีลำต้นเป็นเหง้าอยู่ใต้ดิน, ส่วนเหนือดินสูงได้ถึง 1 เมตร, ใบเดี่ยวกว้างและยาว, ก้านใบเป็นกาบปีกบินสีเขียวอ่อน. เหง้าโต เนื้อสีเหลืองอ่อน. ขยายพันธุ์โดยใช้เหง้าปลูก.

ว่านชักมดลูกมีหลายพันธุ์ โดยพันธุ์พื้นเมืองของไทย คือ *Curcuma comosa* Roxb. (ว่านชักมดลูกตัวเมีย) ไม่มีสีน้ำตาลอมแดงที่เส้นกลางใบ และเนื้อในเหง้ามีสีเหลืองอ่อน. ส่วน *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (ว่านชักมดลูกตัวผู้) เป็นพันธุ์นำเข้า มีถิ่นกำเนิดในอินโดนีเซีย. และเนื้อในเหง้ามีสีเหลืองเข้ม (Thaihealth.info.com 2005).

แหล่งกำเนิด: เป็นพืชพื้นถิ่นพบปลูกทั่วไปในประเทศไทย มีแหล่งปลูกในภาคเหนือ (เชียงใหม่, เพชรบูรณ์) และอีสาน (เลย, หนองคาย).

สรรพคุณ:

เหง้ามีรสฝาดเผื่อน, ชักมดลูกให้เข้าอู่, แก้มดลูกพิการ, แก้ปวดมดลูก, แก้ประจำเดือนมาไม่ปกติ, แก้ธาตุพิการอาหารไม่ย่อย, แก่ริดสีดวงทวาร, แก้ไส้เลื่อน. ประโยชน์แก้โรคกระเพาะอาหาร ลำไส้, แก่โรคมะเร็ง และฝีภายในต่างๆ (วุฒิชัยธรรมเวช 2540).

ยาแผนโบราณว่านชักมดลูกที่มีจำหน่าย ระบุสรรพคุณว่าใช้แทนการอยู่ไฟ ช่วยเสริมสร้างน้ำนม และกระตุ้นช่องคลอดหลังคลอดบุตร, ช่วยให้ผิวพรรณชุ่มชื้น มีน้ำมีนวล, แก่อาการปวดประจำเดือนอย่างรุนแรงระหว่างมีรอบเดือน.

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) :

เหง้าว่านชักมดลูก พบสาร curcumin, terpenes, volatile oil เป็นต้น (Thaihealth.info.com 2005). นักวิจัยจากบริษัท Merck สกัดพบสารใหม่ที่มีฤทธิ์ฆ่าหนอนพยาธิ (Jurgens *et al.* 1994).

ว่านชักมดลูก *C. comosa* มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนของเพศหญิง แต่ฤทธิ์อ่อนกว่า (Piyachaturawat *et al.*, 1999).

สารสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์จากเหง้าว่านชักมดลูก ลดคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในสัตว์ทดลอง (Piyachaturawat *et al.* 1997, 1999), และสารสกัดว่านชักมดลูกมีฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งน้ำดี จึงไม่ควรใช้ในผู้ที่มีปัญหาท่อน้ำดีอุดตันหรือเป็นนิ่วในถุงน้ำดี, และไม่ควรใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานหรือใช้ขนาดสูง เพราะจะทำให้มีอาการปวดท้องได้ (Suksamrarn *et al.* 1997; Piyachaturawat *et al.* 1998).

สารสกัดขยายเอทานอลจากเหง้าว่านชักมดลูก ไม่พบพิษถึงเรื้อรังในหนูขาว โดยไม่พบความผิดปกติของการเจริญเติบโตและการกินอาหาร แต่การให้ในขนาดสูงมีผลเพิ่มน้ำหนักและขนาดของกระเพาะอาหาร (Chivapat *et al.* 2002).

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2548 คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ชีวภาพและพัฒนาตำรับยารักษาแผล จากว่านชักมดลูก ในชุดโครงการวิจัย การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรสายพันธุ์ใหม่ *Curcuma cf.comosa* Roxb. คือ:

โครงการวิจัยย่อยที่ 1: การจำแนกชนิด การสกัด แยกสารบริสุทธิ์ และศึกษาโครงสร้างเคมีของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากเหง้าของพืชสมุนไพร *Curcuma cf. comosa* Roxb.

โครงการวิจัยย่อยที่ 2: การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการหายของแผลของพืชสมุนไพร *Curcuma cf. comosa* Roxb.

โครงการวิจัยย่อยที่ 3: การศึกษาฤทธิ์ด้านจุลชีพของพืชสมุนไพร *Curcuma cf. comosa* Roxb.

โครงการวิจัยย่อยที่ 4: การศึกษาฤทธิ์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และด้านการอักเสบ-ปวดของพืชสมุนไพร *Curcuma cf. comosa* Roxb.

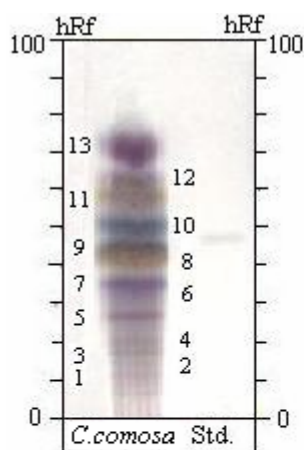
โครงการวิจัยย่อยที่ 5: การพัฒนาตำรับยาเตรียมจากส่วนสกัดที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพร *Curcuma cf. comosa* Roxb. เพื่อใช้ในการรักษาแผล.

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: หัว (เหง้า)

ผลการวิจัยผงสมุนไพร:

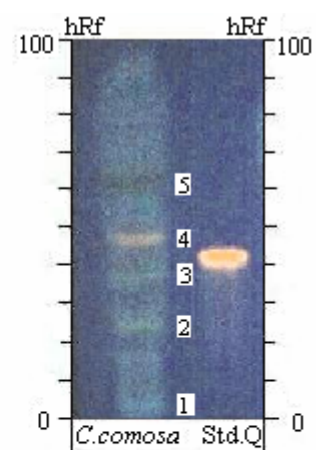
1. TLC fingerprints

ไม่พบอัลคาลอยด์ ในสารสกัดจากผงแห้งหัวว่านชักมดลูก



(ก)
Steroid-terpenes
vs Beta-sitosterol

Toluene-
EtOAc-formic acid
(15:2:1)

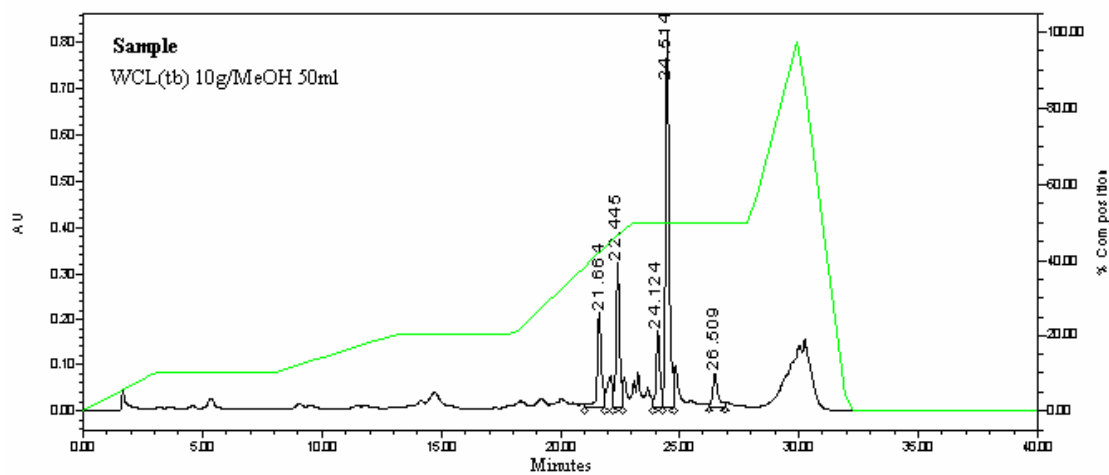
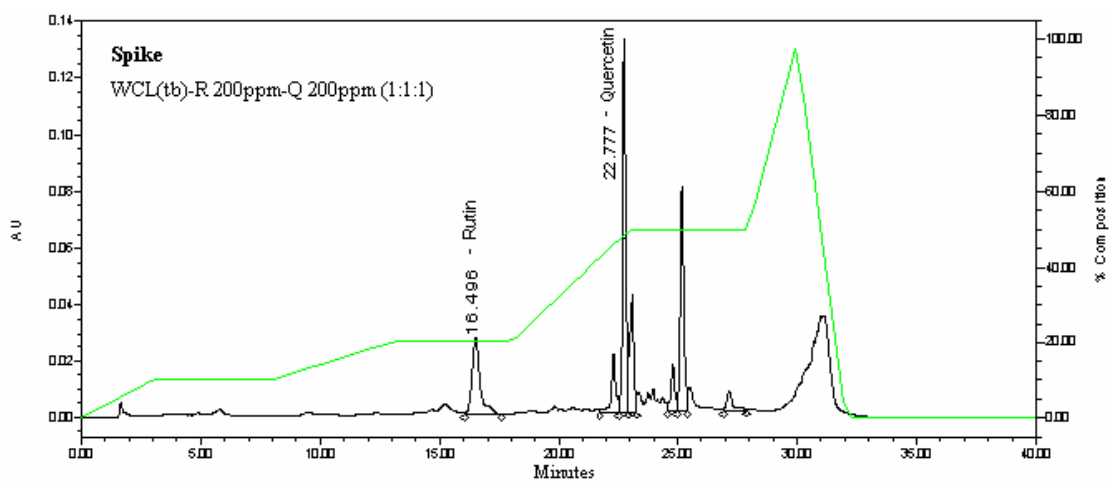


(ข)
Flavonoids
vs Quercetin

Chloroform-acetone-
formic acid
(60:17:9)

รูปที่ 49. TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งหัวว่านชักมดลูก.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, λ = 270 nm

Solvent A 0.1%TFA + 10%methanol in water

Solvent B 0.1%TFA + 50%methanol in acetonitrile

รูปที่ 50. HPLC fingerprint ของหัวว่านชักมดลูก.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. ได้สารสกัดหยาบเอทานอลจากหัวว่านชั้กมดลูก คิดเป็น 4.72% yield ของน้ำหนักผงแห้ง.

2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 72.

พบสารสกัดหัวว่านชั้กมดลูกมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 1565.79$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 1.07 ของ kojic acid และร้อยละ 0.87 ของ thymol.

ตารางที่ 72. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดหัวว่านชั้กมดลูก

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Tubers extract	1200	3.0792	13.33	$y = 274.94x - 828.36$	1565.79
	1400	3.1461	40		
	1600	3.2041	60		
	1800	3.2553	63.33		
	2000	3.3010	76.67		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 73.

พบสารสกัดหัวว่านชั้กมดลูกสามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า $EC_{50} = 13.15$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็นร้อยละ 32 ของ BHT, ร้อยละ 32.2 ของ BHA และร้อยละ 9.3 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 73.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC ₅₀ (µg/ml)
Tubers extract	1	0.0000	26.93	y = 25.465x + 21.507	13.15
	5	0.6990	31.49		
	10	1.0000	45		
	50	1.6990	69.08		
	100	2.0000	72.50		

BHT, BHA, Vitamin C's EC₅₀ = 4.21, 4.23, 1.22 µg/ml respectively (จากตารางที่ 3)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า y = 50 ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x, และ antilog x จะเป็นค่า IC₅₀ ดังตารางที่ 74.

พบสารสกัดหัวว่านชักมดลูกมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า IC₅₀ = 0.1075 มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็นร้อยละ 2.1 ของ kojic acid.

ตารางที่ 74. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC ₅₀ (mg/ml)
Tubers extract	0.01	-2.0000	27.71	y = 21.684x + 71.003	0.1075
	0.05	-1.3010	40.96		
	0.10	-1.0000	51.81		
	0.25	-0.6021	57.83		
	0.50	-0.3010	63.86		

Kojic acid's EC₅₀ = 0.0023 mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดหยาบเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทานอลจากหัวว่านชักมดลูกขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเป็น 0.29 เท่า ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 75.

ตารางที่ 75.ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	41.50 ±7.8	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	18.33 ±5.9	55.8 ^a	1	C
Tubers extract 250 mg/kg BW	1	34.83 ±5.6	16.1	0.29	E

^a = p < 0.05 ^b = p < 0.01

Activity classification: A ≥2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดหัวว่านชักมดลูกในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-10 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Shigella dysenteriae*, *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.*; จุลินทรีย์ในช่องปาก คือ *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus mutans*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. intermedicus*, *Streptococcus spp.*, *Propionibacterium acnes*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 0.5-1 มก./มล. ดังตารางที่ 76.

ตารางที่ 76. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหัวว่านชักมดลูก

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.5
Gram negative, facultative anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1.0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0.5
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	10.0
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>10.0
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	1.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	0.5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	1.0
<i>Staphylococcus intermedius</i> ATCC 29663	0.5
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	0.5
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	0.5
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	0.5
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	0.5
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	> 10.0
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	0.5
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	1.0
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	> 10.0
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	> 10.0
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

(15) เถวัลย์เปรียง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Derris scandens* (Roxb.) Benth

วงศ์ FABACEAE

ชื่อพ้อง พานไสน, เถตาปลา (โคราช), เครือเขาหนั่ง (ภาคกลาง)



(ก) ต้นและดอก



Photo- <http://www.wanakorn.com>

(ข) ใบ และจั่นสมุนไพรวง (เถาแห้ง)

รูปที่ 51. เถวัลย์เปรียง [*Derris scandens* (Roxb.) Benth].

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ไม้เถาเลื้อยขนาดใหญ่ ยอดอ่อนมีขนนุ่ม. เนื้อไม้ในเถาเป็นวง ๆ คล้ายเถาคันแดง. ใบประกอบแบบขนนกเรียงสลับ มีใบย่อย 7-9 ใบ. ใบย่อยรูปไข่ หรือรูปรีแกมขอบขนาน, กว้าง 1-2.5 ซม., ยาว 3-5 ซม. (ใบกลมเล็กคล้ายใบอัญชัน). แผ่นใบหนาแข็ง สีเขียวเข้มเป็นมัน. ดอกออกที่ซอกใบใกล้ปลายกิ่ง, เป็นช่อสีขาวห้อยลง, ดอกจำนวนมาก มี 5 กลีบ คล้ายดอกถั่ว มีกลิ่นหอมอ่อนๆ, กลีบรองดอกสีม่วงดำ, ปลายกลีบดอกสีชมพูเรื่อ. ออกดอกพร้อมกันทั้งต้นในเดือนกันยายน-พฤศจิกายน. ฝักแบนเล็ก มีเมล็ด 2-4 เมล็ด. ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดหรือแยกไหลใต้ดิน (สุวรรณารณ 2535).

แหล่งกำเนิด: เป็นพรรณไม้ที่มีมากที่สุดในประเทศไทย มักขึ้นเองตามชายป่า และที่โล่งทั่ว ๆ ไป. ใช้กันทุกจังหวัด ปลูกเป็นไม้ประดับเลื้อยไต่ซุ้ม กิ่งเหนียว ทนทาน กิ่งแตกเถายืดยาวอย่างรวดเร็ว ชอบอากาศเย็น แต่แสงแดดจัด ทนแล้งได้ดี ปลูกในที่แล้งดอกจะดก แต่จะมีขนาดเล็กกว่าปลูกในที่ชุ่มชื้น. มีถิ่นกำเนิดจากตะวันออกของอินเดีย มาเลเซีย จีน และทางตอนเหนือของทวีปออสเตรเลีย.

สรรพคุณ: ใช้เถาขับปัสสาวะ แก้บิด แก้หวัด ใช้เถาคั่วไฟชงน้ำ กินแก้ปวดเมื่อย, รากเป็นยาฆ่าแมลง. ตำรับยาไทยใช้เป็นยารักษาอาการไข้ เป็นยาอายุวัฒนะ และขับปัสสาวะ. บางจังหวัดใช้เถานำมาหั่นตาก แล้วคั่วไฟชงน้ำกินแทนน้ำชา ทำให้เส้นหย่อนรักษาอาการเมื่อยขบ.

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (ถ้ามี) :

ลำต้นมีไอโซฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ คือ genistein; 3'-gamma,gamma-dimethylallylweighteone และ scandenin (Laupattarakasem, Houghton and Hoult 2004).

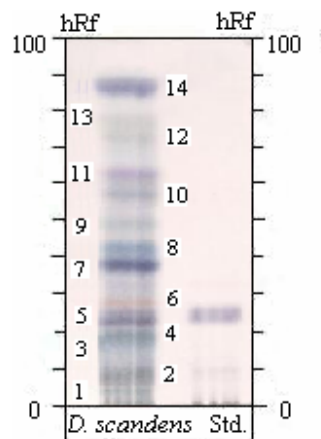
สารสกัดเอทานอลของเถาวัลย์เปรียงส่วนที่อยู่เหนือดิน เมื่อฉีดเข้าทางช่องท้อง (IP injection) มีความเป็นพิษต่อหนูถีบจักร โดยมีค่า $LC_{50} = 1\text{g/kg}$ และเมื่อให้สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล (1:1) ทางปากในขนาด 10 g/kg ไม่พบอาการพิษในหนู (บุณยะประกฤษ และ โชคชัย-เจริญพร 2541).

ส่วนที่ใช้ในการวิจัย: ลำต้น (เถา)

ผลการวิจัยผสมสมุนไพร:

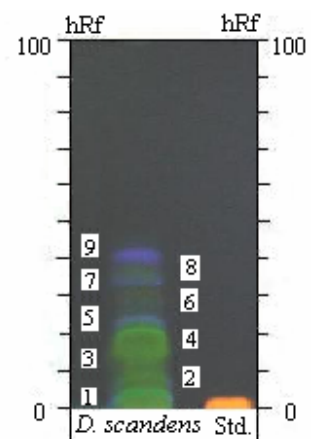
1. TLC fingerprints

ไม่พบอัลคาลอยด์ ในสารสกัดจากผงแห้งลำต้นเถาวัลย์เปรียง



(ก)
Steroid-terpenes
vs Beta-sitosterol

Dichloromethane-
EtOAc-formic acid
(150:5:1)

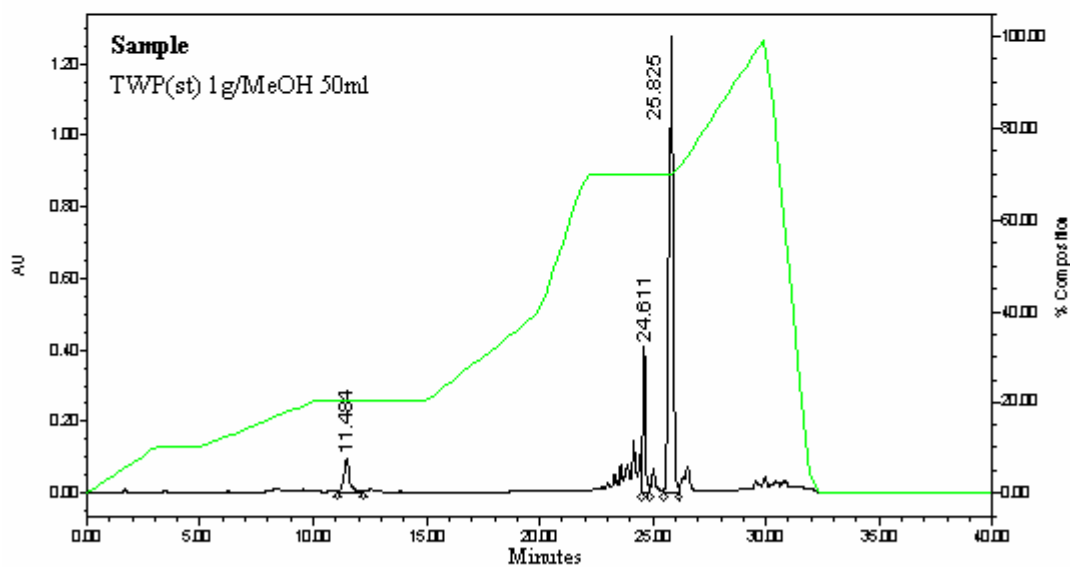
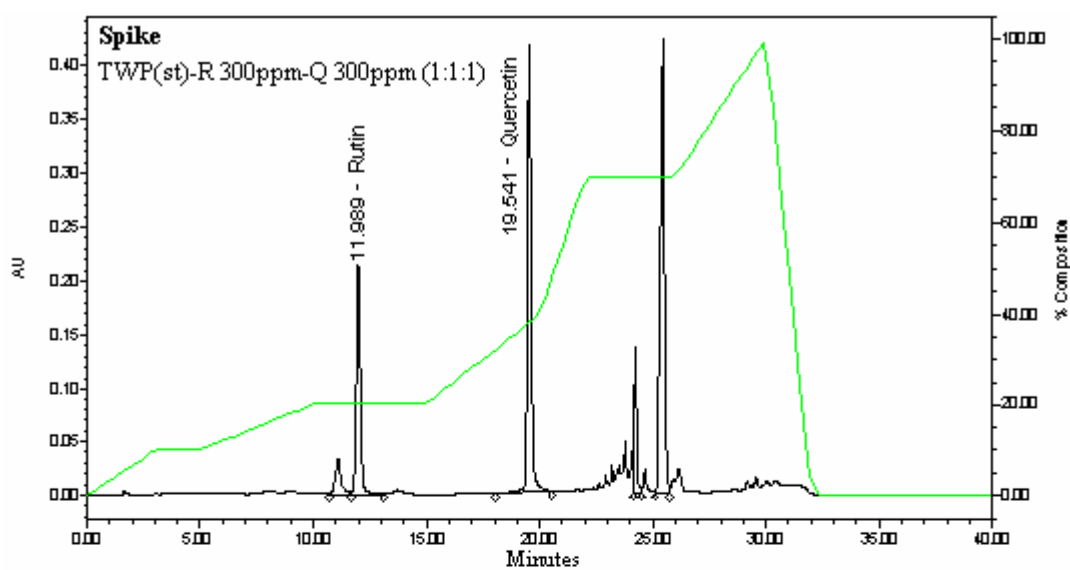


(ข)
Flavonoids
vs Quercetin

Toluene-
EtOAc-formic acid
(50:2:1)

รูปที่ 52. TLC fingerprints ของสารสกัด 2 ชนิดจากผงแห้งลำต้นเถาวัลย์เปรียง.

2. RP-HPLC fingerprint



Binary gradient RP-18 HPLC, 30 °C, 1ml/min, $\lambda = 270$ nm

Solvent A 0.1%TFA+10%methanol in water

Solvent B 0.1%TFA+20%methanol in acetonitrile

รูปที่ 53. HPLC fingerprint ของลำต้นเตาวัลย์เปรียง.

ผลการวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. ได้สารสกัดหยาบเอทานอลจากลำต้นเถาวัลย์เปรียง คิดเป็น 9.13% yield ของน้ำหนักผงแห้ง

2. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Lethality จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า LC_{50} ดังตารางที่ 77.

พบสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียงมีความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลน้อยมาก คือ มีค่า $LC_{50} = 7182.88$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.23 ของ kojic acid และร้อยละ 0.19 ของ thymol.

ตารางที่ 77. ความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาลของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Lethality	Linear equation	LC_{50} (µg/ml)
Stems extract	5000	3.6990	10	$y = 321.5x - 1189.8$	7182.88
	6000	3.7782	13.33		
	7000	3.8451	36.67		
	8000	3.9031	70		
	9000	3.9542	90		
	10000	4.0000	93.33		

Kojic acid, Thymol's $LC_{50} = 16.68, 13.59 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Scavenging จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50} ดังตารางที่ 78.

พบสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียงสามารถจับอนุมูลอิสระ DPPH มีค่า $EC_{50} = 51.35$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เป็นร้อยละ 8.2 ของ BHT, BHA; และร้อยละ 2.4 ของ Vitamin C.

ตารางที่ 78. ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง

Treatment	Concentration (µg/ml)	Log concentration	% Scavenging	Linear equation	EC_{50} (µg/ml)
Stems extract	10	1.0000	24.92	$y = 43.713x - 24.773$	51.35
	50	1.6990	39.63		
	100	2.0000	56.04		
	150	2.1761	71.52		
	200	2.3010	85.14		

BHT, BHA, Vitamin C's $EC_{50} = 4.21, 4.23, 1.22 \mu\text{g/ml}$ respectively (จากตารางที่ 3)

4.ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อแทนค่า $y = 50$ ในสมการกราฟเส้นตรงของ Log concentration vs %Tyrosinase inhibition จะได้ค่า x , และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50} ดังตารางที่ 79.

พบสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า $IC_{50} = 5.55$ มก./มล. ซึ่งแสดงว่ามีฤทธิ์เพียงร้อยละ 0.04 ของ kojic acid.

ตารางที่ 79 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง

Treatment	Concentration (mg/ml)	Log concentration	% Tyrosinase inhibition	Linear equation	IC_{50} (mg/ml)
Stems extract	1	0.0000	26.39	$y = 41.706x + 18.95$	5.5526
	2.5	0.3979	29.17		
	5	0.6990	42.67		
	10	1.0000	53.85		
	15	1.1761	79.17		

Kojic acid's $EC_{50} = 0.0023$ mg/ml (จากตารางที่ 4)

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนูของสารสกัดหยาบเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทานอลจากลำต้นเถาวัลย์เปรียงขนาด 250 มก./น.น.ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันเป็น 0.48 เท่า ของสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. ในชั่วโมงที่ 1 ดังตารางที่ 80.

ตารางที่ 80. ฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลันที่อุ้งเท้าหนู ของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง

Treatment	Hr	Mean of Oedema	% Inhibition	Antiinflammatory activity (times of phenylbutazone)	Activity classification
Control	1	38.70 ±8.7	-	-	-
Phenylbutazone 250 mg/kg BW	1	21.17 ±7.4	48.2 ^a	1	C
Stems extract 250 mg/kg BW	1	31.33 ±3.0	23.3	0.48	E

^a = $p < 0.05$ ^b = $p < 0.01$

Activity classification: $A \geq 2$, $B = 1.1-1.9$, $C = 1$, $D = 0.5-0.9$, $E < 0.5$ times of phenylbutazone

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

สารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียงในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (0.5-10 มก./มล.) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Bacteroides*, *Peptococcus spp.*; จุลินทรีย์ในช่องปากคือ *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus mutans*; จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. intermedicus*, *Streptococcus spp.*, *Propionibacterium acnes*; รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคปอดบวม คือ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่า MIC ส่วนใหญ่เป็น 0.5 มก./มล. ดังตารางที่ 81.

ตารางที่ 81. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดลำต้นเถาวัลย์เปรียง

Cultured strains	MIC (mg/ml)
Aerobes	
Gram negative aerobic/microaerophilic rods and cocci	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.5
Gram negative, facultative anaerobic rods	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0.5
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> ATCC 10708	> 10
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	> 10
<i>Shigella dysenteriae</i> DMST 2137	0.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LAB	0.5
Gram positive cocci	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	0.5
<i>Staphylococcus intermedicus</i> ATCC 29663	0.5
<i>Streptococcus sp.</i> LAB	3
Anaerobes	
Gram negative non-sporing rods	
<i>Bacteroides sp.</i> LAB	0.5
Gram positive non-sporing rods	
<i>Lactobacillus sp.</i> LAB	0.5
<i>Propionibacterium acnes</i> LAB	0.5
Gram positive spore-forming rods	
<i>Clostridium sp.</i> LAB	> 10
Gram positive cocci	
<i>Peptococcus sp.</i> LAB	10
<i>Streptococcus mutans</i> LAB	0.5
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>10
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	>10
	¹ positive control
	² negative control

+ = Cultured growth, ¹Assay media with acetone, ²Assay media

4. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การวิจัยผงสมุนไพร:

1. TLC fingerprints

TLC fingerprints ของสารสกัด 3 ชนิดจากผงแห้งสมุนไพร คือ สารสกัดสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์, สารสกัดอัลคาลอยด์ และสารสกัดฟลาโวนอยด์ มีลักษณะเฉพาะซึ่งใช้จำแนกชนิดสมุนไพรได้ โดยสาระสำคัญอยู่ที่วิธีการสกัด, ความเข้มข้นของสารสกัด, ส่วนผสมของน้ำยาแยกสารซึ่งได้จากการทดลอง และเทคนิคการทำ (รายละเอียดปรากฏในเอกสารสิทธิบัตร)

สมุนไพรที่สามารถทำ TLC fingerprints ของสารสกัดจากผงแห้งได้ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่:

- | | |
|---------------------------|-----------------------|
| (1) บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว) | (5) จำปาหลวง (กิ่ง) |
| (2) สบู่เลือด (หัว) | (6) ยี่หุบปลี (ใบ) |
| (3) ข้าวหลามดง (กิ่ง) | (7) หินระเบิด (ลำต้น) |
| (4) มะป่วน (กิ่ง) | (8) รากสามสิบ (ราก) |

สมุนไพรที่สามารถทำ TLC fingerprints ของสารสกัดจากผงแห้งได้เพียง 2 ชนิด ยกเว้นสารสกัดอัลคาลอยด์ ได้แก่:

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| (1) ช้างงาเอก (ราก) | (5) กวาวเครือขาว (หัว) |
| (2) สิรินครวัลลี (เถา) | (6) ว่านชักมดลูก (หัว) |
| (3) หนุมานประสานกาย (ใบ) | (7) เถาวัลย์เปรียง (เถา) |
| (4) พญาไม้ (ใบ) | |

2. RP-HPLC fingerprint

HPLC fingerprint ของสารสกัดฟลาโวนอยด์จากผงแห้งสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด มีลักษณะเฉพาะที่ใช้ในการจำแนกสมุนไพรได้ โดยสาระสำคัญอยู่ที่วิธีการเตรียมสารละลายตัวอย่าง, ความเข้มข้นและสัดส่วนของสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน, การปรับสภาวะวิเคราะห์ของเครื่อง HPLC, ส่วนผสมของน้ำยาแยกสาร และการออกแบบโปรแกรม Linear gradient ซึ่งได้จากการทดลอง (รายละเอียดปรากฏในเอกสารสิทธิบัตร).

การวิจัยฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอล:

1. สารสกัดหยาบเอทานอลจากผงแห้งสมุนไพร มี %yield ดังนี้:

(1) บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว)	13.38%	(9) สิรินครวัลลี (เถา)	21.79%
(2) สนุ่นเลือด (หัว)	11.62%	(10) รากสามสิบ (ราก)	35.75%
(3) ข้าวหลามดง (กิ่ง)	8.34%	(11) หนุมานประสานกาย (ใบ)	9.01%
(4) มะป่วน (กิ่ง)	5.41%	(12) พญาไม้ (ใบ)	5.40%
(5) จำปาหลวง (กิ่ง)	8.65%	(13) กวาวเครือขาว (หัว)	8.66%
(6) ยี่หุบปลี (ใบ)	7.83%	(14) ว่านชักมดลูก (หัว)	4.72%
(7) หินระเบิด (ลำต้น)	17.01%	(15) เถาวัลย์เปรียง (เถา)	9.13%
(8) ช้างงาเอก (ราก)	11.13%		

2. ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาล

แสดงด้วยค่าความเข้มข้นที่ทำให้โรสิน้ำตาลตายครึ่งหนึ่ง คือ ค่า LC_{50} (Concentration of 50% Lethality) เทียบกับสารมาตรฐาน Thymol ($LC_{50} = 13.59$ มก./มล.) และ Kojic acid ($LC_{50} = 16.68$ มก./มล.) โดยค่า LC_{50} น้อย แสดงว่ามีฤทธิ์ชีวภาพมาก ได้แก่:

2.1 กลุ่มที่มีค่า LC_{50} น้อยกว่า 1,000 มก./มล. คือ

ข้าวหลามดง (กิ่ง)	$LC_{50} = 53.28$ มก./มล.
สนุ่นเลือด (หัว)	$LC_{50} = 300.56$ มก./มล.
บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว)	$LC_{50} = 366.84$ มก./มล.
จำปาหลวง (กิ่ง)	$LC_{50} = 902.16$ มก./มล.

2.2 กลุ่มที่มีค่า LC_{50} ระหว่าง 1,000-3,000 มก./มล. คือ

ว่านชักมดลูก (หัว)	$LC_{50} = 1565.79$ มก./มล.
ช้างงาเอก (ราก)	$LC_{50} = 1984.19$ มก./มล.
รากสามสิบ (ราก)	$LC_{50} = 2189.49$ มก./มล.
มะป่วน (กิ่ง)	$LC_{50} = 2347.82$ มก./มล.

2.3 กลุ่มที่มีค่า LC_{50} ระหว่าง 3,001-5,000 มก./มล. คือ

หินระเบิด (ลำต้น)	$LC_{50} = 3120.71$ มก./มล.
หนุมานประสานกาย(ใบ)	$LC_{50} = 4111.15$ มก./มล.

ลิวินทรวัลลี (เถา) $LC_{50} = 4191.47$ มกก./มล.

ยี่หุบปลี (ใบ) $LC_{50} = 4556.73$ มกก./มล.

2.4 กลุ่มที่มีค่า LC_{50} มากกว่า 5,000 มกก./มล. คือ

เถาวัลย์เปรียง (เถา) $LC_{50} = 7182.88$ มกก./มล.

พญาไม้ (ใบ) $LC_{50} = 9023.16$ มกก./มล.

กวาวเครือขาว (หัว) $LC_{50} = >10,000$ มกก./มล.

สารสกัดจากข้าวหลามดง (กิ่ง) สบู่เลือด (หัว) บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว) จำปาหลวง (กิ่ง) มีฤทธิ์ชีวภาพมากกว่าสมุนไพรอื่น โดยมีค่า LC_{50} ต่ำกว่า 1,000 มกก./มล. จึงอาจนำมาศึกษาต่อไป เพื่อสกัดสารต้านมะเร็ง และสารต้านอนุมูลอิสระได้.

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

แสดงด้วยค่าความเข้มข้นที่ดักจับอนุมูลอิสระได้ครั้งหนึ่ง คือ ค่า EC_{50} (Concentration of 50% Scavenging) เทียบกับสารมาตรฐาน Vitamin C ($EC_{50} = 1.22$ มกก./มล.), BHT ($EC_{50} = 4.21$ มกก./มล.) และ BHA ($EC_{50} = 4.23$ มกก./มล.) โดยค่า EC_{50} น้อย แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดี ได้แก่:

3.1 กลุ่มที่มีค่า EC_{50} น้อยกว่า 5 มกก./มล. คือ

จำปาหลวง (กิ่ง) $EC_{50} = 0.99$ มกก./มล.

พญาไม้ (ใบ) $EC_{50} = 2.01$ มกก./มล.

ลิวินทรวัลลี (เถา) $EC_{50} = 2.02$ มกก./มล.

หินระเบิด (ลำต้น) $EC_{50} = 2.63$ มกก./มล.

ข้าวหลามดง (กิ่ง) $EC_{50} = 4.05$ มกก./มล.

3.2 กลุ่มที่มีค่า EC_{50} ระหว่าง 5-15 มกก./มล. คือ

สบู่เลือด (หัว) $EC_{50} = 7.13$ มกก./มล.

ช้างงาเอก (ราก) $EC_{50} = 8.34$ มกก./มล.

บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว) $EC_{50} = 10.69$ มกก./มล.

ว่านชักมดลูก (หัว) $EC_{50} = 13.15$ มกก./มล.

3.3 กลุ่มที่มีค่า EC_{50} ระหว่าง 16-50 มก./มล. ได้แก่

ยี่หุบปลี (ใบ)	$EC_{50} = 16.33$ มก./มล.
มะป่วน (กิ่ง)	$EC_{50} = 35.63$ มก./มล.
กวางเครือขาว (หัว)	$EC_{50} = 48.98$ มก./มล.

3.4 กลุ่มที่มีค่า EC_{50} มากกว่า 50 มก./มล. คือ

เถาวัลย์เปรียง (เถา)	$EC_{50} = 51.35$ มก./มล.
หนุมานประสานกาย(ใบ)	$EC_{50} = 71.90$ มก./มล.
รากสามสิบ (ราก)	$EC_{50} = 381.91$ มก./มล.

สารสกัดจากจำปาหลวง (กิ่ง), พญาไม้ (ใบ), สิรินครวัลลี (เถา), หินระเบิด (ลำต้น) และข้าวหลามดง (กิ่ง) มีค่า EC_{50} ต่ำกว่า 5 มก./มล. ซึ่งใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน จึงอาจนำมาศึกษาต่อไป เพื่อพัฒนาเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันได้.

4.ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

แสดงด้วยค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ครึ่งหนึ่ง คือ ค่า IC_{50} (Concentration of 50% Tyrosinase inhibition) เทียบกับสารมาตรฐาน Kojic acid ($IC_{50} = 0.0023$ มก./มล.) โดยค่า IC_{50} น้อย แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินได้ดี ได้แก่:

4.1 กลุ่มที่มีค่า IC_{50} น้อยกว่า 1 มก./มล. คือ

สิรินครวัลลี (เถา)	$IC_{50} = 0.08$ มก./มล.
ว่านชักมดลูก (หัว)	$IC_{50} = 0.1075$ มก./มล.
พญาไม้ (ใบ)	$IC_{50} = 0.2029$ มก./มล.

4.2 กลุ่มที่มีค่า IC_{50} ระหว่าง 1-2 มก./มล. คือ

บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว)	$IC_{50} = 1.31$ มก./มล.
ข้าวหลามดง (กิ่ง)	$IC_{50} = 1.38$ มก./มล.
สบู่เลือด (หัว)	$IC_{50} = 1.55$ มก./มล.
ช้างงาเอก (ราก)	$IC_{50} = 2.00$ มก./มล.

4.3 กลุ่มที่มีค่า IC₅₀ ระหว่าง 2.1-5 มก./มล. คือ

หินระเบิด (ลำต้น)	IC ₅₀ = 2.12 มก./มล.
จำปาหลวง (กิ่ง)	IC ₅₀ = 2.52 มก./มล.
มะป่วน (กิ่ง)	IC ₅₀ = 3.74 มก./มล.
ยี่หุบปลี (ใบ)	IC ₅₀ = 3.89 มก./มล.
กวาวเครือขาว (หัว)	IC ₅₀ = 4.69 มก./มล.

4.4 กลุ่มที่มีค่า IC₅₀ มากกว่า 5 มก./มล. คือ

เถาวัลย์เปรียง (เถา)	IC ₅₀ = 5.55 มก./มล.
รากสามสิบ (ราก)	IC ₅₀ = 7.98 มก./มล.
หนุมานประสานกาย (ใบ)	IC ₅₀ = 10.53 มก./มล.

สารสกัดจากสิรินธรวัลดี (เถา), ว่านชักมดลูก (หัว) และพญาไม้ (ใบ) มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสดีกว่าสมุนไพรอื่น คือ มีค่า IC₅₀ ต่ำกว่า 1 มก./มล. จึงอาจนำมาศึกษาต่อไปเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งของสารยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานินได้.

5. ฤทธิ์ต้านอักเสบ

5.1 ฤทธิ์ต้านอักเสบที่อุ้งเท้าหนู

ใช้ทดสอบสารที่ให้ทางปาก แสดงฤทธิ์ต้านอักเสบด้วยค่าร้อยละของการยับยั้งอาการบวมที่อุ้งเท้าหนู (%Inhibition) ในชั่วโมงที่ 1 เทียบเป็นสัดส่วนกับสารมาตรฐาน Phenylbutazone 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. (Phz) โดยจำแนกความแรงเป็น 5 ระดับ คือ A ≥2, B =1.1-1.9, C = 1, D = 0.5-0.9, E < 0.5 เท่าของ Phz พบฤทธิ์ต้านอักเสบ ดังนี้:

(1) ผงแห้งสมุนไพร

บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว) 500 มก./น.น. ตัว 1 กก. มีฤทธิ์เป็น 0.72 เท่า ของ Phz (ระดับ D)

(2) สารสกัดหยาบเอทานอล 100 มก./น.น. ตัว 1 กก.

ยี่หุบปลี (ใบ) 100 มก./น.น. ตัว 1 กก. มีฤทธิ์เป็น 0.98 เท่า ของ Phz (ระดับ C)

(3) สารสกัดหยาบเอทานอล 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.

บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. มีฤทธิ์ > 3.96 เท่า ของ Phz (ระดับ A)

สนับเถ็ด (หัว) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก. มีฤทธิ์เป็น 4.13 เท่า ของ Phz (ระดับ A)

กวาวเครือขาว (หัว) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.81 เท่า ของ Phz	(ระดับ D)
หนุมานประสานกาย(ใบ) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.56 เท่า ของ Phz	(ระดับ D)
ข้าวหลามดง (กิ่ง) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.54 เท่า ของ Phz	(ระดับ D)
เถาวัลย์เปรียง (เถา) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.48 เท่า ของ Phz	(ระดับ E)
บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.30 เท่า ของ Phz	(ระดับ E)
ว่านชักมดลูก (หัว) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.29 เท่า ของ Phz	(ระดับ E)
พญาไม้ (ใบ) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.14 เท่า ของ Phz	(ระดับ E)
จำปาหลวง (กิ่ง) 250 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.11 เท่า ของ Phz	(ระดับ E)

(4) สารสกัดหยาบเอทานอล 500 มก./น.น. ตัว 1 กก.

ช้างงาเอก (ราก) 500 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 3.60 เท่า ของ Phz	(ระดับ A)
หินระเบิด (ลำต้น) 500 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.57 เท่า ของ Phz	(ระดับ D)
รากสามสิบ (ราก) 500 มก./น.น. ตัว 1 กก.	มีฤทธิ์เป็น 0.33 เท่า ของ Phz	(ระดับ E)

สมุนไพรที่มีฤทธิ์ดี และน่าสนใจจะนำมาพัฒนาเป็นแหล่งของสารต้านอักเสบที่ให้ทางปาก ได้แก่ บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว), สนู่เลือด (หัว) และช้างงาเอก (ราก).

5.2 ฤทธิ์ต้านอักเสบที่ไขว้หนู

ใช้ทดสอบสารที่คาดว่าจะใช้ทาภายนอก แสดงฤทธิ์ต้านอักเสบด้วยค่าร้อยละในการยับยั้งอาการบวมที่ไขว้หนู (%Inhibition) ในชั่วโมงที่ 1 เทียบเป็นสัดส่วนกับสารมาตรฐาน Phenylbutazone 2 มก./หนู (Phz) โดยจำแนกความแรงเป็น 5 ระดับ คือ $A \geq 2$, $B = 1.1-1.9$, $C = 1$, $D = 0.5-0.9$, $E < 0.5$ เท่าของ Phz พบฤทธิ์ต้านอักเสบ ดังนี้:

ช้างงาเอก (ราก) 2 มก./หนู	มีฤทธิ์เป็น 3.00 เท่า ของ Phz	(ระดับ A)
สิรินธรวัลดี (เถา) 2 มก./หนู	มีฤทธิ์เป็น 1.43 เท่า ของ Phz	(ระดับ B)
ยี่หุบป्ली (ใบ) 2 มก./หนู	มีฤทธิ์เป็น 1.33 เท่า ของ Phz	(ระดับ B)
จำปาหลวง (กิ่ง) 2 มก./หนู	มีฤทธิ์เป็น 1.00 เท่า ของ Phz	(ระดับ C)
มะป่วน (กิ่ง) 2 มก./หนู	มีฤทธิ์เป็น 1.05 เท่า ของ Phz	(ระดับ C)

สมุนไพรที่มีฤทธิ์ดี และน่าสนใจจะนำมาพัฒนาเป็นแหล่งของสารต้านอักเสบเฉพาะที่ ได้แก่ ช้างงาเอก (ราก), สิรินธรวัลดี (เถา) และยี่หุบป्ली (ใบ).

6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

แสดงด้วยค่า MIC คือ ความเข้มข้นน้อยสุดสามารถที่ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร, โรคในช่องปาก, โรคผิวหนัง และโรคปอดบวม พบสารสกัดหยาบสมุนไพรมีค่า MIC ต่อจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่ ดังนี้:

จำปาหลวง (กิ่ง)	MIC = 0.5 มก./มล.	(no MIC range)
เถาว์วัลย์เปรียง (เถา)	MIC = 0.5 มก./มล.	(MIC range = 0.5-10 มก./มล.)
ว่านชักมดลูก (หัว)	MIC = 0.5, 1 มก./มล.	(MIC range = 0.5-10 มก./มล.)
พญาไม้ (ใบ)	MIC = 0.5, 3 มก./มล.	(MIC range = 0.5-5 มก./มล.)
หินระเบิด (ลำต้น)	MIC = 0.5-5 มก./มล.	(MIC range = 0.5-20 มก./มล.)
ลิรินธรวัลดี (เถา)	MIC = 0.5, 10 มก./มล.	(MIC range = 0.5-20 มก./มล.)
ช้างงาเอก (ราก)	MIC = 0.5, 10 มก./มล.	(MIC range = 0.5-20 มก./มล.)
มะป่วน (กิ่ง)	MIC = 5 มก./มล.	(MIC range = 0.5-5 มก./มล.)
สบู่เลือด (หัว)	MIC = 5 มก./มล.	(MIC range = 5-30 มก./มล.)
บอระเพ็ดพุงช้าง (หัว)	MIC = 5 มก./มล.	(MIC range = 5-30 มก./มล.)
ข้าวหลามดง (กิ่ง)	MIC = 5, 10 มก./มล.	(MIC range = 5-10 มก./มล.)
ยี่หุบปลี (ใบ)	MIC = 10 มก./มล.	(MIC range = 0.5-20 มก./มล.)
กวาวเครือขาว (หัว)	MIC = 10 มก./มล.	(MIC range = 5-15 มก./มล.)
รากสามสิบ (ราก)	MIC = 10 มก./มล.	(MIC range = 5-20 มก./มล.)
หนุมานประสานกาย(ใบ)	MIC = 10 มก./มล.	(MIC range = 5-20 มก./มล.)

สมุนไพรที่มีฤทธิ์ดี และน่าสนใจจะนำมาพัฒนาเป็นแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ จำปาหลวง (กิ่ง), เถาว์วัลย์เปรียง (เถา), ว่านชักมดลูก (หัว), พญาไม้ (ใบ), หินระเบิด (ลำต้น), ลิรินธรวัลดี (เถา) และช้างงาเอก (ราก).

โครงการวิจัยต่อยอด:

ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ วว. ได้รับการจัดสรรงบประมาณประจำปี พ.ศ. 2551-2554 “โครงการวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอาง (Cosmeceuticals) รักษาผิวจากสมุนไพร” ซึ่งจะได้นำหัวบอระเพ็ดพุงช้าง (*S. suberosa*) มาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ด้านสิวอักเสบ.

5. เอกสารอ้างอิง

- กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช. 2549. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://yator.yru.ac.th/~research/db-plant2/punmai/pabok/podocarpus_nerii/podocarpus_nerii.htm [เข้าถึงเมื่อ 17 ตุลาคม 2550].
- กฤษณพันธ์, วันดี. 2536. *ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 117-129.
- คันธเสวี, อษรธา; สมิตะสิริ, ยุทธนา; ชื่นประเสริฐ, สุชาติ และ วงศ์คำ, วีระ. 2530. ผลของกวางขาวต่อเอนไซม์ glutamic oxaloacetic transaminase และ glutamic pyruvic transaminase ในซีรัมและพยาธิสภาพของตับของหนูขาวเพศผู้. ใน *บทคัดย่อการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13*, วันที่ 20-22 ตุลาคม 2530: 480-1. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- โครงการจัดทำข้อมูลสมุนไพรเชิงพาณิชย์เพื่อบริการ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/NANA/2004-11-19-peuraria.pdf/> [เข้าถึงเมื่อ 2 พฤศจิกายน 2548].
- เฉลิมกลิ่น, ปิยะ. 2545. จำปาหลวง. ใน *แมกโนเลียเมืองไทย*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บ้านและสวน. หน้า 69-71.
- เฉลิมกลิ่น, ปิยะ. 2545. ยี่หุบป्ली. ใน *แมกโนเลียเมืองไทย*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บ้านและสวน. หน้า 161-163.
- เฉลิมกลิ่น, ปิยะ. 2546. มะปวน. ใน *พรรณไม้วงศ์กระดังงา*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บ้านและสวน. หน้า 234-235.
- ชำนาญกิจ, เต็มศรี. 2531. *สถิติประยุกต์ทางการแพทย์*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ชีวพัฒน์, ทรงพล; ชวลิตธารง, ปราณี; รัตนจรัสโรจน์, สดุดี และคณะ. 2543. พิษวิทยาของกวางเครือขาว. *ว. กรมวิทย พ* 42(3): 202-223.
- ต้นพานิช, สายัณห์; แก้วดวง, มนตรี; กาวิละเวส, ประยุทธ์; คำนวน ชลธิชา และสุรสิทธิ์ วงษ์สังจานันท์. 2548. *รายงานฉบับสมบูรณ์: การสำรวจรวบรวมอนุรักษ์พันธุ์พืชสมุนไพรที่หายากและใกล้จะสูญพันธุ์*. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
- ผู้พัฒนาพงศ์, ลีนา 2525. *สมุนไพรไทย ตอนที่ 3*. กรุงเทพฯ: ฝ่ายพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กองบำรุงกรมป่าไม้. หน้า 191.

- ชนะชัย, สุภาศรี และ สมิตะสิริ, ยุทธนา. 2530. *ฤทธิ์ในการคุมกำเนิดของกวางขาวในหนูถีบจักร*. ใน เอกสารการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13, วันที่ 20-22 ตุลาคม 2530.
- บุญยะประกฤษ, นันทวัน และ โชคชัยเจริญพร, อรณูช. 2541. *สมุนไพรไม้พื้นบ้าน (2)*. กรุงเทพฯ: บริษัทประชาชน จำกัด.
- ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2538. *สยามไภษัชยพฤกษ*. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, หน้า 212.
- ภูมิพิชญ์ สุขาวรรณ. 2535. *พืชสมุนไพรใช้เป็นยา เล่มที่ 7*. ไม้ได้ระบุแหล่งพิมพ์. หน้า 63
- มูลนิธิมหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. *สารานุกรมสมุนไพร เล่ม 4: กกยาอีสาน*. กรุงเทพฯ: มูลนิธิมหาวิทยาลัยมหิดล, หน้า 127.
- มูลนิธิสุขภาพไทย. 2546. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.khonnaruk.com/html/verandah/herb/h_255.html/ [เข้าถึงเมื่อ 1 มิถุนายน 2546].
- รัตนรังสี, วิพุธโยคะ. 2534. *เพชรน้ำหนึ่งของโบราณจารย์*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, หน้า 216.
- लगจันท์, ยุพดี และ สมิตะสิริ, ยุทธนา. 2528. *ผลของกวางขาวต่อการสืบพันธุ์ในหนูขาวเพศผู้*. ใน เอกสารการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 11, วันที่ 24-26 ตุลาคม
- วลัยกนก, เศรษฐพงศ์ และ พัฒนาประทีป, อรลักษ์ณ. 2536. *ปริญญาธิพนธ์ “โครงการศึกษาอัลคาลอยด์ในหัวสบู่เลือด”*. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วุฒิชรรณเวช, วุฒิ. 2540. *ร่วมอนุรักษ์มรดกไทย: สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, หน้า 264, 618.
- วิไลรัตน์, ปริญา. 2545. ข้อมูลจากการสำรวจและสัมภาษณ์.
- วิไลรัตน์, ปริญา. 2546. ข้อมูลจากการสำรวจและสัมภาษณ์.
- ศรีตุลาจารย์, บุญชู. 2541. *องค์ประกอบทางเคมีของมะหาดและหาดหนูน*. วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเภสัชเวท. ภาควิชาเภสัชเวท. บัณฑิตวิทยาลัย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สมิตะสิริ, ยุทธนา. 2541. *ภาพรวมงานวิจัยและพัฒนาการกวางเครือขาวตั้งแต่อดีต (พ.ศ. 2524) ถึงปัจจุบัน (พ.ศ.2541)*. ในเอกสารสัมมนาวิชาการ”กวางเครือ”. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 2541: 31-25.

- สมิตะศิริ, ยุทธนา; แปงจิตต์, เสรี และ อนันตลาโกชัย, สมบูรณ์. 2532. การยับยั้งการให้นมในหนู ที่กำลังให้นมด้วยกวางขาว เปรียบเทียบกับเอสโตรเจน. *วารสารคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่* **16** : 7-11.
- สุชาวรรณ, ภูมิพิชญ์. 2535. *พืชสมุนไพรใช้เป็นยาเล่มที่ 6*. ไม่ได้ระบุแหล่งพิมพ์. หน้า 13
- เสตะกัณณะ, ป.; บุญรอด, ธ. และคณะ. 2542. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ในสมุนไพร ไทย. ใน *ว กรรมวิทย์ พ.* **42**(4): 381-93.
- สารานุกรมพืช 2549. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.dnp.go.th/Botany/Web_Dict/ [เข้าถึงเมื่อ 2 มิถุนายน 2550].
- สำนักงานเสริมสร้างเอกลักษณ์ของชาติ. 2543. *พืชถิ่นเดียวและพืชหายากของไทย*. กรุงเทพฯ: สำนักงานเสริมสร้างเอกลักษณ์ของชาติ, หน้า 50-51.
- อยู่สุข, สมพิศ; รัตนากะ, ธิดารัตน์; ทรรณลักษณ์, สุมล และ บุญศิริ, เจดศักดิ์. 2544. “อาร์ทีเมีย” ไร สีนํ้าตาลหรือไรนํ้าเค็ม. *นิตยสารอินไซด์กึ่งไทย*. ชลบุรี: สำนักพิมพ์สยามดีเอ็นเอ, หน้า 39.
- Anon. 1992. Bharatiya Vidya Bhavan's Swami Prakashananda Ayurveda research Center. *Selected Medicinal Plants of India*. Bombay: Chemexcil, p. 43-46.
- Bhattacharya, S.K., Bhattacharya, A. and Chakrabarti, A. 2000. Adaptogenic activity of Siotone, a polyherbal formulation of Ayurvedic rasayanas. *Indian J. Exp. Biol.* **38**: 119-128.
- Boger, D.L., Mitscher, L.A., Mullican, M.D., Drake, S.D. and Kitos P. 1985. Antimicrobial and cytotoxic properties of 9,10-dihydrophenanthrenes: structure-activity studies on juncusol. *J. Med. Chem.* **28**: 1543-1547.
- Bolliger, H.R., Brenner, M., Ganshirt, H., Manglod, H.K., Seiler, H., Stahl, E. and Waldi, D. 1965. *Thin-layer chromatography: A laboratory handbook*. New York: Academic Press.
- Ballantyne, B., Marrs, T. and Turner, P. 1995. *General & applied toxicology*. Abridged ed. London: Macmillan press.
- Brattsand R., Thalen A., Roempke K., Källström L. and Gruvstad E. (1982). Influence of 16 α , 17 α -acetal substitution and steroid nucleus fluorination on the topical to systemic activity ratio of glucocorticoids. *J. Steroid Biochem.* **16**: 779-786.
- Busarawan Sriwanthana and Pranee Chavalittumrong. 2001. *In vitro* effect of *Derris scandens* on normal lymphocyte proliferation and its activities on natural killer cells in normals and HIV-1 infected patients. *Journal of Ethnopharmacology* **76**: 125-129
- Chang, C.S. and Liao, S.S. 1987. Topographic recognition of cyclic hydrocarbons and related compounds by receptors for androgens, estrogens, and glucocorticoids. *J. Steroid Biochem* **27**: 123-131.
- Chansakaow, S. et al. 2000. Identification of Deoxymiroestrol as the actual rejuvenating principle of “Kwao Keur”, *Pueraria mirifica*. The known miroestrol may be an artifact. *J. Nat. Prod.* **63**(2):173-5

- Chansakaow, S. *et al.* 2000. Isoflavonoids from *Pueraria mirifica* and their estrogenic activity. *Planta Med.* **66**.
- Dalvi, S.S., Nadkarni, P.M. and Gupta, K.C. 1990. Effect of *Asparagus racemosus* (Shatavari) on gastric emptying time in normal healthy volunteers. *J. Postgrad. Med.* **36**: 91-94.
- Dange, P.S., Kanitkar, U.K. and Pendse, G.S. 1969. Amylase and lipase activities in the root of *Asparagus racemosus*. *Planta Med.* **17**: 393-395.
- Dhuley, J.N. 1997. Effect of some Indian herbs on macrophage functions in ochratoxin A treated mice. *J. Ethnopharmacol.* **58**: 15-20.
- Gaitonde, B.B. and Jetmalani, M.H. 1969. Antioxytotic action of saponin isolated from *Asparagus racemosus* Willd (Shatavari) on uterine muscle. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **179**: 121-129.
- Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fugita, Y., Yasuhara, T., Yoshida, T. and Okuda, T. 1989. Effect of the interaction of tannin with co-existing substance VI. Effect of tannins and related poly-phenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 2016-2012.
- Hoang, Khai Toan (Trung Tam KN-NCD-QD, Vietnam). 1993. *Tab Chi Duoc Hoc 1993*. In *Chemical Abstracts* Vol. **119**: 66.
- Hoyodom, M. 1971. Constituents of the tuberous roots of *Pueraria mirifica*. Master Thesis-Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 33p.
- Iida, K., Hase, K., Shimomura, K., Sudo, S., Katota, S. and Namba, T. 1995. Potent inhibitors of tyrosinase activity and melanin biosynthesis from *Rheum officinale*. *Planta Med.* **61**: 425-428.
- Ingham, J.L., Tahara, S. and Dziedzic S.Z. 1986. A chemical investigation of *Pueraria mirifica* roots. *Z. Naturforsch. Ser. C.* **41**: 403-8.
- Jones, H.E.H. and Pope, G.S. 1961. A method for the isolation of miroestrol from *Pueraria mirifica*. *J. Endocrinol.* **22**: 303.
- Joshi, J.D.S. 1988. Chemistry of ayurvedic crude drugs: Part VIII: Shatavari: 2. Structure elucidation of bioactive shatavarin I and other glycosides. *Indian Journal of Chemistry Section B Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **27**(1): 12-16.
- Jurgens, T.M., Frazier, E.G., Schaeffer, J.M., Jones, T.E., Zink, D.L., Borris, R.P., Nanakorn, W., Beck, H.T. and Balick, M.J. 1994. Novel nematocidal agents from *Curcuma comosa*. *J Nat Prod.* Feb; **57**(2): 230-5.
- Kamat, J.P., Bloor, K.K., Devasagayam, T.P. and Venkatachalam, S.R. 2000. Antioxidant properties of *Asparagus racemosus* against damage induced by gamma-radiation in rat liver mitochondria. *J. Ethnopharmacol* **71**:425-435.
- Kittisak Likhitwitayawuid, Sukanya Dej-adisai, Vichien Jongbunprasert, and Jerapan Krungkrai. 1999. Antimalarials from *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessilifolra*, *Diospyros montana* and *Murraya siamensis*. *Planta Med.* **65**(1999): 754-756.
- Kornkanok Ingkaninan; Thitaree Yuyaem; and Woravit Thongnoi. 2001. Anti-cholinesterase activity of *Stephania*. *Naresuan University Journal* **1**(1) (January-June).

- Larsen, K. and Larsen, S.S. 1997. *Bauhinia sirindhorniae* sp. Nov. (*Leguminosae-Caesalpinioideae*) a remarkable new species from Thailand. *Nordic J. Bot.* **17**(2): 113-118. Icones, Anatomy and morphology, Palynology.
- Laupattarakasem, P., Houghton, P. and Hoult, J. 2004. Anti-inflammatory isoflavonoids from the stems of *Derris scandens*. *Planta Med* 2004; **70**:496-501
- Mandal, S.C., Kumar, C.K.A., Mohana Lakshmi, S., Sinha, S., Murugesan, T., Saha, B.P. *et al.* 2000. Antitussive effect of *Asparagus racemosus* root against sulfur dioxide-induced cough in mice. *Fitoterapia* **71**: 686-689.
- Mandal, S.C., Nandy, A., Pal, M. and Saha, B.P. 2000. Evaluation of antibacterial activity of *Asparagus racemosus* Willd. root. *Phytother. Res.* **14**: 118-119.
- Masamoto, Y., Iida, S. and Kubo, M. 1980. Inhibitory effect of chinese crude drugs on tyrosinase. *Planta Med.* **40**: 361-365.
- Merck, E. 1980. *Dyeing reagents for thin-layer and paper chromatography*. Damstadt: E. Merck.
- Morita, H., Kayashita, T., Kobata, H., Gonda, A., Yakeya, K. and Itokawa, H. 1994. *Pseudostellalin A-C*, new tyrosinase inhibitory cyclic peptides from *Pseudostellaria heterophylla*. *Tetrahedron* **50**: 6797-6804.
- Nguyen Xuan and Do Tat Loi. 1991. Selection of traditional medicines for study. *J. of Ethnopharmacology* **32**: 57-70.
- Nyman, P. *et al.* 1995. Glimpses of Indian Ethnopharmacology. In Joshi P., *Ethnomedicine of Tribal Rajasthan*. Pushpangadan, Kerala: Tropical Botanic Garden and Research Institute, p. 159.
- Pancharoen, O., Tuntiwachwuttikul, P., Taylor, W.C., Picker, K. 1994. Triterpenoid glycosides from *Schefflera lucantha*. *Phytochemistry* **35**(4): 987-92.
- Patel, A.B. and Kanitkar, U.K. 1969. *Asparagus racemosus* Willd. Form bordi, as a galactagogue, in buffaloes. *Indian Vet. J.* **46**: 718-721.
- Piyachaturawat, P., Teeratagolpibal, N., Toskulkao, C. and Suksamrarn, A. 1997. Hypolipidemic effect of *Curcuma comosa* in mice. *Artery*. **22**(5):233-41.
- Piyachaturawat, P., Suwanumpai, P., Komarat, P., Chuncharunee, A. and Suksamrarn, A. 1998. Effect of phloracetophenone on bile flow and biliary lipids in rat. *Hepatology Research* . **12**: 198-206.
- Piyachaturawat, P., Timinkul, A., Chuncharunee, A. and Suksamrarn, A. 1999. Effect of *Curcuma comosa* extract on male fertility in rats. *Pharmaceutical Biology (Formerly Int. J. of Pharmacog.)* **37**(1) / January, pp. 22-27.
- Piyachaturawat, P., Charoenpiboonsin, J., Toskulkao, C. and Suksamrarn, A. 1999. Reduction of plasma cholesterol by *Curcuma comosa* extract in hypercholesterolaemic hamsters. *J. Ethnopharmacol. Aug* **66**(2) :199-204.
- Prior, R. L. and Cao, G. 2000. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity : A review. *J. AOAC Int.* **83**(4): 950-956.
- Promboon, Y. 1998. Food as antioxidants in cancer prevention and treatment. *Conference on free radicals in health and diseases*. Faculty of Pharmacy, Mahidol University.
- Rao, A.R. 1981. Inhibitory action of *Asparagus racemosus* on DMBA-induced mammary carcinogenesis in rats. *Int. J. Cancer* **28**: 607-610.
- Rege, N.N., Thatte, U.M. and Dahanukar, S.A. 1999. Adaptogenic properties of six rasayana herbs used in Ayurvedic medicine. *Phytother. Res.* **13**:275-291.
- Rege, N.N. and Dahanukar, S.A. 1993. Quantitation of microbicidal activity of mononuclear phagocytes: an in vitro technique. *J. Postgrad. Med.* **39**: 22-25.

- Rodkaew, P. *et al.* 2543. Effect of white Gwow extract on in vitro maturation of mouse oocytes: preliminary study. สัมมนาวิชาการเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรกรรม ครั้งที่ 2 การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อการแพทย์แผนไทย. 21-23 มิถุนายน 2543, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Rukachaisirikul, V., Sukpondma, Y., Jansakul, C. and Taylor, W.C. 2002. Isoflavone glycosides from *Derris scandens*. *Phytochemistry* **60**(8): 827-34
- Sams-Dodd, S.L. 2002. Determination of scavenging effect on 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals. [online]. Available at: <http://www.sams-dodd.com/tds/T-A00067-00000.html>, [accessed 2 June 2007].
- Satayavivad J, Bunyapraphatsara N, Thiantanawat A. and Kositchaiwat U. 1996. Hypoglycemic activity of the aqueous extract of *Schefflera leucantha* Viguier in rats. *Thai Journal of Phytopharmacy* **3**(1): 1-5.
- Saxena, V.K. and Chourasia, S. 2001. A new isoflavone from the roots of *Asparagus racemosus*. *Fitoterapia* **72**: 307-309.
- Sekine TIFFNal. 1995. Structure and relative stereochemistry of a new polycyclic alkaloid, asparagine a, showing anti-oxytocin activity, isolated from *Asparagus racemosus*. *J. Chem. Soc.* **1**: 391-3. *Perkin Trans.*
- Sekine TFNMIaRN. 1997. Racemosol, a 9,10-Dihydrophenanthrene from *Asparagus racemosus*. *Phytochemistry* **44**:763-4.
- Sharma, S., Ramji, S., Kumari, S. and Bapna, J.S. 1996. Randomized controlled trial of *Asparagus racemosus* (Shatavari) as a lactagogue in lactational inadequacy. *Indian Pediatr.* **33**: 675-677.
- Simeon, S.; Rios, J. L.; and Villar, A. 1989. Pharmacological activities of protoberberine alkaloids. *Plants Me'dicinales et Phytothe'vapie* **XXII** : 202-250.
- Solis, P.N., Wright, C.W., Anderson, M.M., Gupta, M.P. and Phillipson, J.D. 1992. A Microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (Brine Shrimp). *Planta Med.* **59**: 250-252.
- Songpol Chivapat, Angkana Herunsalee, Nuchattra Chansuvanich, Songpol Phadungpat, Somchit Niumsukul, Suphan Charuchongkolwongse and Anuthep Rangripipat. 2002. Subchronic toxicity study of *Curcuma comosa* ethanolic extract. *Third Symposium on Zingiberaceae, July 7-12, at Khon Kaen, Thailand.*
- Soonthornchareonnon, N. and Kaewsuan, S. 2001. Antioxidant activity of Thai medicinal plants and Thai wines. *Thai J. of Phytopharm.* **8**(2), 8-13.
- Suksamrarn, A., Eiamong, S., Piyachaturawat, P. and Byrne, L.T. 1997. Phloracetophenone glucoside with choleric activity from *Curcuma comosa*. *Phytochemistry* **45**:103-105.
- Tewtrakul, S. 1998. Antioxidant activity of selected *Piper* species. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* **20**(2), 177-181.
- Thaihealth.info.com 2005. ว่านชักมดลูกกินแล้วสวยจริงหรือ. [online]. Available at: <http://www.thaihealth.info/samunpai15.asp>, [accessed 2 June 2007].
- Thakur, R. S., Puri, H. S. and Husain, A. 1989. *Major Medicinal Plants of India*. Lucknow: Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants. p.78-81.
- Thatte, U.M. and Dahanukar, S.A. 1988. Comparative study of immunomodulating activity of Indian medicinal plants, lithium carbonate and glucan. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* **10**: 639-644.

- Trisomboon, H., Malaivijitnond, S., Suzuki, J., Hamada, Y., Watanabe, G. and Taya, K. 2005. Long-term treatment effects of Pueraria mirifica phytoestrogens on parathyroid hormone and calcium levels in aged menopausal cynomolgus monkeys. *J Reprod Dev.* 2004 Dec; **50**(6):639-45.
- U.S. Geological Survey 2001. *Brine Shrimp and Ecology of Great Salt Lake*. [online]. Available at: <http://ut.water.usgs.gov/shrimp/>, [accessed 2 June 2007].
- Vichien 2003. *Asparagus racemosus*, Liliaceae. [online]. Available at: <http://www.pharm.chula.ac.th/vichien/crude-45/cardiac/asparg.htm>, [accessed 2 June 2007].
- Wagner, H. and Bladt, S. 1996. *Plant drug analysis*. Berlin: Springer-Verlag.
- Wang, S.Y. and Zheng, W. 2001. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *J. Agric. Food Chem.* **49**(10), 4977-4982.
- Washington II, J.A., and Sutter, V.L. 1980. Dilution susceptibility test: agar and macro-broth dilution procedure. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 3rd edn. American Society for Microbiology, Washington D.C.
- Winter, C.A., Riskey, E.A. and Nuss, G.W. 1962. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**: 544-547.
- Witthawaskul, P., Panthong, A., Kanjanapothi, D., Taesothikul, T., Lertprasertsuke, N. 2003. Acute and subacute toxicities of the saponin mixture isolated from *Schefflera leucantha* Viguiet. *J. Ethnopharmacol.* **89**(1): 115-121.

ภาคผนวก ก

กลุ่มสารที่เลือกมาทำ TLC fingerprint

โดย มณีรัตน์ มีพลอย, ธัญวรัตน์ กาจสงคราม และบุปผาชาติ พตด้วง

สเตอรอยด์ (Steroids) เป็นสารประกอบอินทรีย์ ที่มีชีวิตสังเคราะห์มาจาก isoprene units คือ isopentenyl diphosphate (IPP) และ dimethylallyl diphosphate (DMAPP) 6 หน่วย. สารสเตอรอยด์จากพืชใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาคุมกำเนิด เช่น Diosgenin จากพืชตระกูล Dioscorea, Hecogenin จากใบป่านซีซาร์ (*Agave sisalana*) เป็นต้น. นอกจากนี้ยังพบว่า β -sitosterol ในพืชหลายชนิด มีฤทธิ์รักษาโรคไขมันในเลือดสูง และมีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนในสัตว์.

เทอร์ปีนส์ (Terpenes) เป็นสารกลุ่มใหญ่ในพืชที่มีชีวิตสังเคราะห์มาจาก isoprene units พบมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญ เช่น ฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด, ด้านเชื้อมาลาเรีย, ด้านเนื้องอกและมะเร็ง เป็นต้น, ตัวอย่างเช่น Ginkgolide B จากใบแป๊ะก๊วย ใช้รักษาความผิดปกติของการไหลเวียนโลหิตในสมองและทั่วร่างกาย, Glycyrrhizic acid จากชะเอม (*Glycyrrhiza glabra*) มีฤทธิ์ยับยั้งไวรัสชนิด herpes simplex และ vaccinia viruses เป็นต้น.

อัลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารประกอบของ คาร์บอน, ไฮโดรเจน, ไนโตรเจนและออกซิเจน มักพบอัลคาลอยด์ในส่วนต่างๆ ของพืชชั้นสูง เช่น ใบ, ดอก, ผล, เมล็ด, ราก, เปลือก. ส่วนมากจะพบในพืชดอก และพบในพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว พบอัลคาลอยด์ได้บ้างในพืชชั้นต่ำ, ในสัตว์และจุลินทรีย์. อัลคาลอยด์เป็นกลุ่มสารที่มีประโยชน์ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด, ยาชาเฉพาะที่, ยาแก้ไอ, ยาแก้หอบหืด, ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้, ยาลดความดันโลหิต, และยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เช่น Morphine และ Codeine ในยางจากผลฝิ่น เป็นยาระงับปวดและยาแก้ไอ, Reserpine จากรากระย่อน้อย เป็นยาลดความดันและอัลคาลอยด์บางชนิดเป็นพิษต่อร่างกาย.

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบจำพวกพอลิฟีนอล (Polyphenolic compounds). ฟลาโวนอยด์ที่พบในธรรมชาติอาจอยู่ในรูปอิสระ หรือในรูปไกลโคไซด์ มักพบเป็นสารสีในดอกไม้ พืชผักและผลไม้. พบว่าฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ฆ่าแมลง, ด้านเชื้อรา, แก้อักเสบ, และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ.

ภาคผนวก ข

นํ้ายาพ่นเพื่อตรวจหาากลุ่มสารสำคัญบน TLC (Merck 1980)

1. นํ้ายวานิลลิน-กรดซัลฟิวริก (Vanillin-H₂SO₄)

วิธีเตรียมนํ้ายา: ละลายวานิลลิน 3 กรัม ในสารละลายที่มี absolute ethanol 100 มล.
และกรดซัลฟิวริก 0.5 มล.

วิธีใช้: ฉีดพ่นลงบนแผ่น TLC แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 110°ซ. นาน 5-10 นาที จนเกิดสี
(อาจใช้เครื่องเป่าลมร้อน แทนการอบก็ได้)

2. นํ้ายาตราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent)

วิธีเตรียมนํ้ายา: สารละลาย A: ละลายบิสมัท (III) ไนเตรต 0.85 กรัม ในสารละลายที่มี
99.7% กรดแอสติค 10 มล. และนํ้า 40 มล.

สารละลาย B: ละลายโปตัสเซียมไอโอไดค์ 8 กรัม ด้วยนํ้า 20 มล.

Stock solution: ผสมสารละลาย A และ B ในอัตราส่วนที่เท่ากัน

วิธีใช้: ผสม Stock solution 1 มล. กับ 99.7% กรดแอสติค 2 มล. และนํ้า 10 มล.
แล้ว นำไปฉีดพ่นบนแผ่น TLC

3. นํ้ายาเนเจอร์ลโปรดัคส์-พอลิเอทิลีนไกลคอล

(NP/PEG, Natural products-Polyethyleneglycol)

วิธีเตรียมนํ้ายา: สารละลาย A: ละลายไดฟีนิลโบรลออกซีเอทิลเอมีน 1 กรัม
ด้วยเมทานอล 100 มล.

สารละลาย B: ละลายพอลิเอทิลีนไกลคอล-6000 ปริมาณ 5 กรัม
ด้วยเอทานอล 100 มล.

วิธีใช้: ฉีดพ่นสารละลาย A แล้วตามด้วยสารละลาย B
นำไปตรวจวัดการเรืองแสงภายใต้แสงยูวี ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

ภาคผนวก ค

ไรสีน้ำตาล

โดย มณีรัตน์ มีพลอย, พงศธร หลิมศิริวงษ์ และบุปผาชาติ พุดด้วง



รูปที่ 1. ไรสีน้ำตาล หรืออาร์ทีเมีย (*Artemia*).

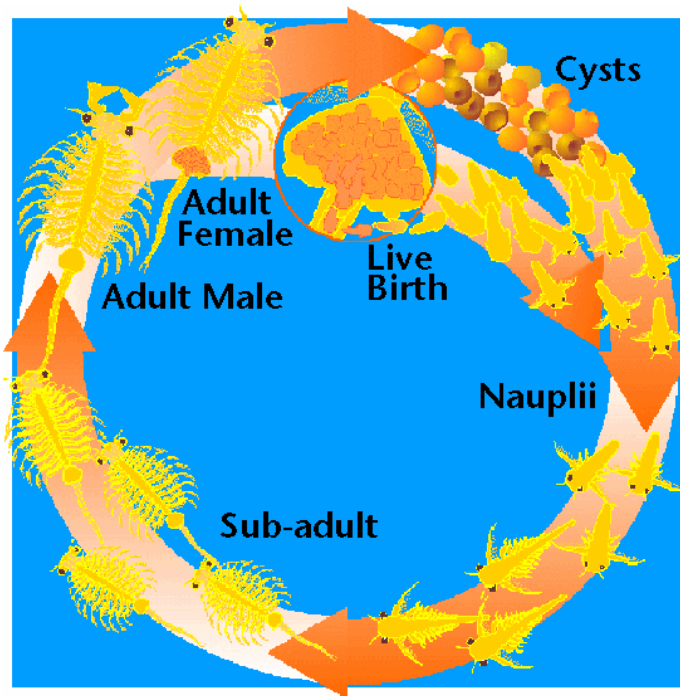
อาร์ทีเมีย (*Artemia*) หรือไรสีน้ำตาลหรือไรน้ำเค็ม (brine shrimp) เป็นสัตว์น้ำในไฟลัมอาร์โทรโปดา (Arthropoda), จำพวกครัสเตเชีย (Crustacea) เช่นเดียวกับกุ้ง, กั้งและปู แต่อาร์ทีเมียเป็นพวกที่ไม่มีเปลือกแข็งหุ้มลำตัว.

ในปี ค.ศ. 1775 Schlosser รายงานการพบไรสีน้ำตาลเป็นครั้งแรก ที่นาเกลือใกล้เมืองลิมิงตัน ประเทศอังกฤษ ซึ่ง Linnaeus ได้ศึกษาและตั้งชื่อว่า *Cancer salina* ในปี ค.ศ. 1778. ต่อมา ในปี ค.ศ. 1819 Leach ให้ชื่อใหม่เป็น *Artemia salina*.

อาร์ทีเมีย มีหลายสปีชีส์ (species) ได้แก่ *Artemia salina* ค้นพบที่ประเทศอังกฤษ, *Artemia franciscana* ที่ทวีปอเมริกาเหนือ อเมริกากลาง และอเมริกาใต้, *Artemia persimilis* ที่ประเทศอาร์เจนตินา, *Artemia urmiana* ที่ประเทศอิหร่านและ *Artemia monica* ที่ทะเลสาบโมนา ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นต้น.

โดยทั่วไปจะพบไรสีน้ำตาลตามธรรมชาติเฉพาะในทะเลสาบน้ำเค็มที่มีความเค็มสูงและอุดมไปด้วยสาหร่าย ซึ่งมีมากกว่า 300 แห่่ง แต่ที่มีปริมาณมากพอเก็บรวบรวมส่งออกจำหน่ายได้

คือ San Francisco Bay และ Great Salt Lake ประเทศสหรัฐอเมริกา หรือที่ Buahai Bay ประเทศจีน เป็นต้น.



รูปที่ 2. วงจรชีวิตของโรตีน้ำตาล.



รูปที่ 3. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ.

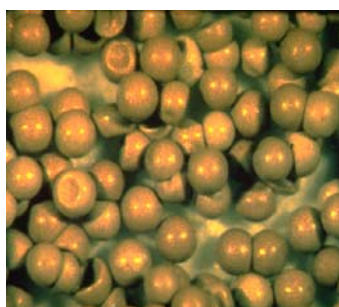
โรตีน้ำตาลกิน phytoplankton และสามารถมีอายุได้นานถึง 3 เดือนเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม. โรตีน้ำตาลมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) หรือแบบไม่อาศัยเพศ (parthenogenesis).

การสืบพันธุ์ แบบไม่อาศัยเพศ เกิดขึ้นเมื่อมีแต่ประชากรเพศเมีย ซึ่งจะออกไปที่สามารถพัฒนาไปเป็นโรตีน้ำตาลเพศเมียเท่านั้น.

สำหรับตัวเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์ อาจออกลูกเป็นตัวหรือเป็นไข่ก็ได้ ปกติโรตีน้ำตาลออกลูกเป็นตัว แต่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความเค็มสูง หรือเกิดการแบ่งชั้นของน้ำ ความเค็ม, ออกซิเจนลดลงถึงขั้นวิกฤติ, อุณหภูมิเปลี่ยนแปลง จึงจะออกลูกเป็นไข่ ครั้งละ 50-300

ฟอง ขึ้นอยู่กับขนาดของแม่และสายพันธุ์ ไชมีเปลือกแข็งห่อหุ้มเรียกว่า ซีสต์ (cyst) (รูปที่ 4ก) ซึ่งอยู่ได้นานในสภาพที่แห้งและไม่มีออกซิเจน.

เมื่อนำซีสต์มาเพาะในน้ำทะเล จะเริ่มกระบวนการเมทาโบลิซึมและการพัฒนาของเอ็มบริโอ (embryo) แล้วเมมเบรนส่วนนอกจะแตกออกหลังจาก 24 ชม. ไปแล้ว (รูปที่ 4ข). หลังจากนั้น 2-3 ชม. จึงพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นตัวอ่อน (nauplius larvae) ออกจากเมมเบรน (รูปที่ 4ค).



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4. (ก) ไชโรสีน้ำตาล, (ข) ตัวอ่อนกำลังออกจากไข่, (ค) ตัวอ่อนไรสีน้ำตาล (nauplius larvae).

ตัวอ่อนไรสีน้ำตาลว่ายน้ำได้ ระยะแรกจะใช้อาหารจากถุงไข่แดง หลังลอกคราบครั้งที่ 2 จึงจะพัฒนาระบบย่อยอาหาร และจะทำการลอกคราบอีก 15 ครั้ง เข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยใน 7-15 วัน และพร้อมจะทำหน้าที่สืบพันธุ์ต่อไป.

บริษัทหลายแห่งได้ทำการเพาะเลี้ยงไรสีน้ำตาลเพื่อผลิตไข่จำหน่ายให้แก่ห้องทดลองและผู้วิจัย. ไชโรสีน้ำตาลมีราคาถูก เก็บไว้ได้นานในภาชนะแห้งปิดสนิท, เนื่องจากมันมีความสามารถพิเศษในการหยุดชะงักกระบวนการเมทาโบลิซึม และมีชีวิตในสภาวะที่ขาดออกซิเจนเป็นระยะเวลานาน.

ตัวอ่อนไรสีน้ำตาลที่เพาะได้ในห้องทดลอง ถูกนำมาใช้ในการทดสอบทางชีวภาพของสารพิษ ยาและสารเคมี และใช้บ่งชี้ความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity test) ของสารเคมีและสารสกัดจากสมุนไพร เพื่อประเมินศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นสารต้านมะเร็ง, สารฆ่าแมลง, สารต้านหนองพยาธิ, หรือสารต้านจุลินทรีย์ได้ (อยู่สุข และคณะ 2544; U.S. Geological Survey 2001).

ภาคผนวก ง

อนุมูลอิสระ

โดย มณีรัตน์ มีพลอย, พงศธร หลิมศิริวงษ์ และบุปผาชาติ พตด้วง

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นโมเลกุลพลังงานสูงซึ่งมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยา. เมื่ออนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์ต่างๆ ของร่างกายจะทำให้เกิดการทำลายของเซลล์และระบบภูมิคุ้มกัน จึงเป็นสาเหตุของโรคต่างๆหลายชนิด เช่น โรคไขข้ออักเสบรูมาตอยด์, โรคหัวใจ, โรคมะเร็ง, โรคตับ, และโรคเสื่อมจากความแก่ เช่น Alzheimer เป็นต้น.

อนุมูลอิสระ มีหลายชนิด ได้แก่ superoxide anion ($O_2^{\bullet -}$), hydroxy radicals (OH^{\bullet}), peroxy radicals (ROO^{\bullet}), hydrogen peroxide (H_2O_2), และ singlet oxygen (1O_2) เป็นต้น.

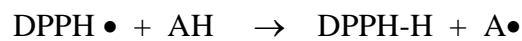
อนุมูลอิสระเกิดขึ้นตลอดเวลาในขบวนการเมตาบอลิซึมแต่ร่างกายมีกลไกขจัดอนุมูลอิสระเหล่านี้ให้สมดุลและไม่ทำให้เกิดโรค. กลไกการควบคุมอนุมูลอิสระในร่างกายที่สำคัญ คือ เอนไซม์กลุ่ม antioxidant enzymes ได้แก่ superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase และ cytochrome oxidase เป็นต้น. อย่างไรก็ตาม ในสภาวะเครียด หรือ ถูกกระตุ้นด้วยสารเคมี/รังสีบางอย่าง อนุมูลอิสระอาจถูกสร้างมากเกินไปจนเกิดการทำลายเซลล์ในร่างกายได้.

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) สามารถช่วยป้องกันการทำลายของอนุมูลอิสระได้. โดยสารดังกล่าวจะเข้าจับกับอนุมูลอิสระและทำให้กลายเป็นสารที่ไม่ไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยา. สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ พบมากในผัก, ผลไม้ และ เมล็ดธัญพืช ซึ่งได้แก่ วิตามิน เอ, วิตามิน ซี, วิตามิน อี และ บีตา-แคโรทีน เป็นต้น (Promboon 1998).

การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นการวัดความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity) เช่น การจับ hydroxyl radical (OH^{\bullet}), การจับ superoxide anion ($O_2^{\bullet -}$) และการจับ peroxy radicals (ROO^{\bullet}) เป็นต้น (Prior and Cao 2000; Soonthornchareonnon and Kaewsuwan 2001; Wang and Zheng 2001).

การวิจัยนี้ได้ใช้วิธีวัดความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร.

สารที่มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (radical scavenger, AH) จะทำปฏิกิริยารีดักชันคือ ให้โปรตอนไปจับกับอนุมูลอิสระ DPPH ได้เป็นสาร DPPH-H ดังสมการ



เป็นผลให้ปริมาณอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จึงลดลง (Hatano *et al.* 1989; Tewtrakul 1998; Sams-Dodd 2002).

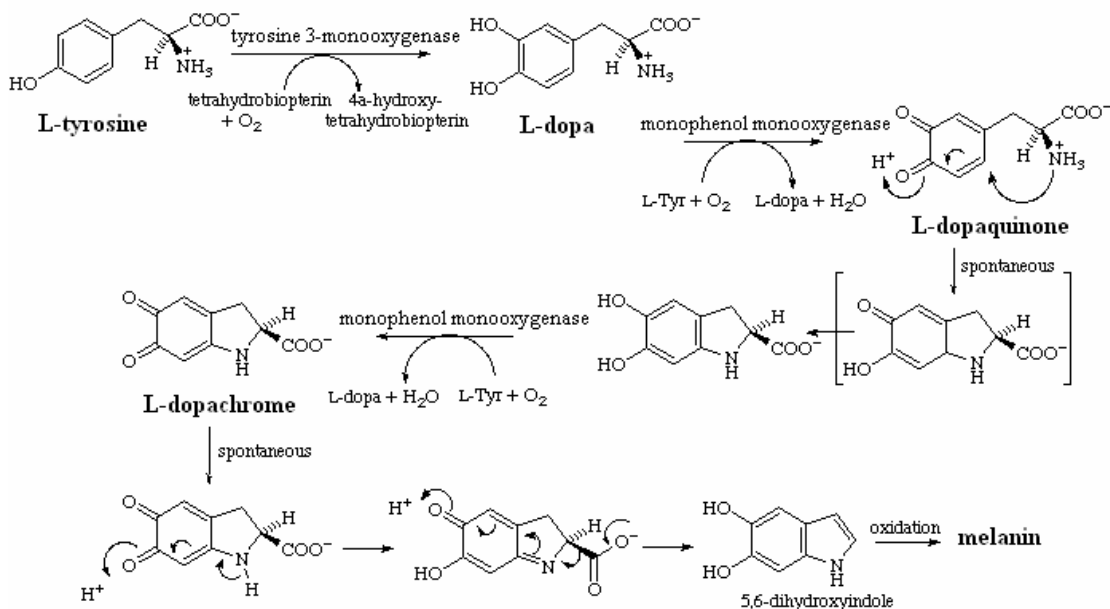
ภาคผนวก จ

เอนไซม์ไทโรซิเนส

โดย มณีรัตน์ มีพลอย และบุปผาชาติ พตด้วง

เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) เป็นเอนไซม์โมโนออกซิเจเนสที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล (copper monooxygenase enzyme). เอนไซม์นี้พบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในพืช, เชื้อรา, แมลง และสัตว์. ในคนพบเอนไซม์ไทโรซิเนสในเมลานโซม (melanosome) ซึ่งเป็นโครงสร้างสีน้ำตาลที่ถูกสร้างขึ้นโดยเซลล์เมลานোসัยต์ (melanocyte) บริเวณชั้นล่างสุดของหนังกำพร้า.

เอนไซม์ไทโรซิเนสมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการสร้างเม็ดสีเมลานินของผิวหนัง โดยทำหน้าที่เร่งการเปลี่ยนกรดอะมิโนชนิดไทโรซีน (tyrosine) ไปเป็นสารโดปา (dopa) ด้วยปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน, และเปลี่ยน dopa ไปเป็นโดปาคิวโนน (dopaquinone) ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน. จากนั้นโดปาคิวโนนจะถูกเปลี่ยนผ่านสารตัวกลางอีกหลายตัว จนเกิดพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) ไปเป็นเม็ดสีเมลานิน ดังรูปที่ 1.



รูปที่ 1. ขบวนการชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินจากไทโรซีน.

เมลานินที่ถูกสร้างขึ้นที่ผิวหนังมี 2 ชนิด คือ ชนิดสีดำ หรือสีน้ำตาล เรียกว่ายูเมลานิน (eumelanin) ซึ่งเป็นกลุ่มเม็ดสีที่ไม่ละลายน้ำ และมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (insoluble nitrogenous), มีโครงสร้างหลักเป็น 5,6 ไดไฮดรอกซีอินโดล (5, 6 dihydroxyindole). ส่วนเมลานินอีกชนิดจะมีสีเหลือง หรือสีส้ม เรียกว่าฟีโอเมลานิน (phaeomelanin). สัดส่วนของ eumelanin และ phaeomelanin จะแตกต่างกันไปในแต่ละบุคคล ขึ้นอยู่กับเชื้อชาติและสายพันธุ์.

ปัจจุบันมีการนำความรู้เกี่ยวกับกระบวนการชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินมาประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับทำให้ผิวขาวขึ้น ลบเลือนฝ้า กระ จุดด่างดำ มักมีส่วนผสมของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในกระบวนการสร้างเมลานิน. พบว่าสารดังกล่าวมักอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) โมเลกุลเล็ก.

คณะนักวิจัย ได้พัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานิน โดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในจานหลุม เพื่อใช้ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของสมุนไพรในโครงการศึกษาสู่ทางการใช้ประโยชน์สมุนไพรที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ (พ.ศ. 2545-2549)

Dopachrome microplate assay นี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Masamoto *et al.* 1980; Morita *et al.* 1994; Iida *et al.* 1995 และ ศรีตุลารักษ์ 2541 ซึ่งอาศัยความรู้เกี่ยวกับกระบวนการชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน (รูปที่ 1) กล่าวคือ เอนไซม์ไทโรซิเนสทำหน้าที่เปลี่ยนสารโดปา (dopa) ไปเป็นโดปาควิโนน (dopaquinone) แล้วเปลี่ยนแปลงต่อไปจนได้สารตัวกลางสีแดงที่คงตัวชื่อ โดปาโครม (dopachrome) ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร. สารโดปาโครมนี้เป็นสารตัวกลางที่จะถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็นเมลานิน. เมื่อตัวอย่างทดสอบมีสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จะมีผลทำให้การสังเคราะห์โดปาโครมจากสารตั้งต้นโดปา เกิดน้อยลง และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงของโดปาโครมที่ลดลงได้ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลท (microplate reader).

วิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในจานหลุมที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ เป็นวิธีการทดสอบที่แม่นยำ รวดเร็ว และเชื่อถือได้ ซึ่งนอกจากจะใช้วิเคราะห์หาสมุนไพรที่มีศักยภาพจะนำมาพัฒนาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางป้องกันรักษาฝ้า, จุดด่างดำแล้ว ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์คุณภาพเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารเหล่านี้ได้ด้วย.

ภาคผนวก จ

คณะนักวิจัย

ปีที่ 1 พ.ศ. 2545
ชื่อสมุนไพร บอระเพ็ดพุงข้าง, สมุนไพรเถื่อน, ข้าวหลามดง

ความรับผิดชอบ	นักวิจัย
1. หัวหน้าโครงการวิจัย	ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พุดด้วง
2. การจัดหาสมุนไพร	นายปริญญา วิไลรัตน์, นายมนตรี แก้วดวง, นายประยุทธ กาวิละเวส, นายสุรสิทธิ์ วงษ์สัจจามันท์
3. การทำความสะอาด, อบแห้ง, บด	นายไสว นาคาแก้ว
4. การสกัดสารสกัดหยาบเอทานอล	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
5. การทำ TLC fingerprint	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, นางชญวรัตน์ กาจสงคราม, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
6. การทำ HPLC fingerprint	นางสาวเขาวลัษณ์ เบญจมาศ
7. ศึกษาความเป็นพิษต่อโรสีน้าตาลด้วย Brine shrimp microplate assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
5. ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
6. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี วิธี Dopachrome microplate assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
7. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar dilution	นางรัตนศิริ จิวานนท์, นายธนายุทธ ศรีสม
8. ศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลัน - Rat Paw Oedema Model	นางกฤติยา ทิษยากร, นายวิเชียร เขยนอก, นายสังวาลย์ บรรจงจิตรชัย

คณะนักวิจัย

ปีที่ 2

พ.ศ. 2546

ชื่อสมุนไพร

มะป่วน, จำปาหลวง, ยี่หุบปลี

ความรับผิดชอบ	นักวิจัย
1. หัวหน้าโครงการวิจัย	ภ.ญ. ดร. นุปผาชาติ_พุดด้วง
2. การจัดหาสมุนไพร	ดร. ปิยะ เฉลิมกลิ่น
3. การทำความสะอาด, อบแห้ง, บด	นายไสว นาคาแก้ว
4. การสกัดสารสกัดหยาบเอทานอล	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
5. การทำ TLC fingerprint	นางสาวเขวาลักษณ์ เบญจมาศ, นางชัญวรัตน์ กาจสงคราม, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
6. การทำ HPLC fingerprint	นางสาวเขวาลักษณ์ เบญจมาศ, นางชัญวรัตน์ กาจสงคราม
7. ศึกษาความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลด้วย Brine shrimp microplate assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
5. ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
6. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี วิธี Dopachrome microplate assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, ภ.ก. พงศธร หลิมศิริวงษ์
7. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar dilution	นางรัตนาศิริ จิวานนท์, นายธนายุทธ ศรีสม
8. ศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลัน - Rat Paw Oedema Model - Rat Ear Oedema Model	นางกฤติยา ทิษยากร, นายวิเชียร เขยนอก

คณะนักวิจัย

ปีที่ 3

พ.ศ. 2547

ชื่อสมุนไพรมะ

ช้างงาเอก, สิรินครวัลลี, รากสามสิบ

ความรับผิดชอบ	นักวิจัย
1. หัวหน้าโครงการวิจัย	ภ.ญ. ดร. นุปผาชาติ พตด้วง
2. การจัดหาสมุนไพรมะ	นายปริญญา วิไลรัตน์, นายมนตรี แก้วดวง, นายประยุทธ กาวิละเวส, นายสุรสิทธิ์ วงษ์สัจจามันท์
3. การทำความสะอาด, อบแห้ง, บด	นายไสว นาคาแก้ว
4. การสกัดสารสกัดหยาบเอทานอล	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย
5. การทำ TLC fingerprint	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. นุปผาชาติ พตด้วง
6. การทำ HPLC fingerprint	นางสาวเขवालักษณ์ เบญจมาศ
7. ศึกษาความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลด้วย Brine shrimp microplate assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. นุปผาชาติ พตด้วง
5. ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. นุปผาชาติ พตด้วง
6. ศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วย วิธี Dopachrome microplate assay	นางสาวมณีรัตน์ มีพลอย, นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. นุปผาชาติ พตด้วง
7. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar dilution	นางรัตนาศิริ จิวานนท์, นายธนายุทธ ศรีสม
8. ศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลัน - Rat Paw Oedema Model - Rat Ear Oedema Model	นางสาววิภาพร พัฒน์เวช, นางเดือนตา เสมาทอง, นายวิเชียร เขยนอก

คณะนักวิจัย

ปีที่ 4

พ.ศ. 2548

ชื่อสมุนไพรมะ

หนุมานประสานกาย, พญาไม้, กวาวเครือขาว

ความรับผิดชอบ	นักวิจัย
1. หัวหน้าโครงการวิจัย	ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
2. การจัดหาสมุนไพรมะ	นายปริญญา วิไลรัตน์, นายอิทธิฤทธิ์ อึ้งวิเชียร, นายสายัณห์ ต้นพานิช, นายมนตรี แก้วดวง, นายประยุทธ กาวิละเวส, นายสุรสิทธิ์ วงษ์สัจจนันท์
3. การทำความสะอาด, อบแห้ง, บด	นายไสว นาคาแก้ว
4. การสกัดสารสกัดหยาบเอทานอล	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์
5. การทำ TLC fingerprint	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
6. การทำ HPLC fingerprint	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
7. ศึกษาความเป็นพิษต่อโรตีน้ำตาลด้วย Brine shrimp microplate assay	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
5. ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
6. ศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วย วิธี Dopachrome microplate assay	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
7. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar dilution	นางรัตนศิริ จิวนันท์, นายธนายุทธ ศรีสม
8. ศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลัน - Rat Paw Oedema Model - Rat Ear Oedema Model	นางสาววิภากร พัฒน์เวช, นางเดือนดา เสมาทอง, นายวิเชียร เขยนอก

คณะนักวิจัย

ปีที่ 5 พ.ศ. 2549
ชื่อสมุนไพร ว่านชั้กมดลูก, เถาวัลย์เปรียง

ความรับผิดชอบ	นักวิจัย
1. หัวหน้าโครงการวิจัย	ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
2. การจัดหาสมุนไพร	นายสายัณห์ ต้นพานิช, นายมนตรี แก้วดวง, นายประยุทธ กาวิละเวส, นายสุรสิทธิ์ วงษ์สัจจามันท์
3. การทำความสะอาด, อบแห้ง, บด	นายสุรสิทธิ์ วงษ์สัจจามันท์, นายไสว นาคาแก้ว
4. การสกัดสารสกัดหยาบเอทานอล	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์
5. การทำ TLC fingerprint	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
6. การทำ HPLC fingerprint	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
7. ศึกษาความเป็นพิษต่อโรตีน้าตาลด้วย Brine shrimp microplate assay	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
5. ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
6. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย วิธี Dopachrome microplate assay	นายชาญชัย จงศิริฤกษ์, ภ.ญ. ดร. บุปผาชาติ พตด้วง
7. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar dilution	นางรัตนศิริ จิวานนท์, นายธนายุทธ ศรีสม
8. ศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบเฉียบพลัน - Rat Paw Oedema Model	นางสาววิภาพร พัฒน์เวช, นางเดือนตา เสมาทอง, นายวิเชียร เขยนอก

ภาคผนวก ข
ผลผลิตของงานวิจัย

ก. ผลงานวิจัยที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

1. โครมาโตแกรมรกลเลขผิวบาง (TLC fingerprint) ของพืชต้นแบบ สำหรับใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพสมุนไพรหายากหลายชนิด ได้แก่ ข้าวหลามดง, สบู่เลือด, บอระเพ็ดพุงช้าง, มะป่วน, จำปาหลวง, ยี่หุบปลี, หินระเบิด, ช้างงาเอก, สิรินครวัลลี (สามสิบสองประดง), รากสามสิบ, หนุมานประสานกาย, พญาไม้, กวาวเครือขาว, ว่านชักมดลูก, เถาวัลย์เปรียง.
2. โครมาโตแกรมเดนซิโตเมตรีของพืชต้นแบบเพื่อวิเคราะห์คุณภาพบอระเพ็ดพุงช้างและสบู่เลือด.
3. โครมาโตแกรม RP-HPLC ของพืชต้นแบบเพื่อวิเคราะห์คุณภาพสมุนไพรหายากหลายชนิดในข้อ 1.
4. กระบวนการผลิตสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรครอย่างกว้างขวาง จากสมุนไพรหายากหลายชนิดในข้อ 1.

ข. การเสนอขอจดสิทธิบัตร

ลำดับที่	ชื่อการประดิษฐ์	ปี พ.ศ. ที่ยื่นจด
1	โครมาโตแกรมรกลเลขผิวบางของพืชต้นแบบ สำหรับอ้างอิงเทียบวัดในการวิเคราะห์คุณภาพบอระเพ็ดพุงช้างและสบู่เลือด (Authentic plants' thin-layer chromatograms as reference standards for qualitative analysis of <i>Stephania suberosa</i> and <i>S. venosa</i> tubers)	2547
2	โครมาโตแกรมเดนซิโตเมตรีของพืชต้นแบบเพื่อวิเคราะห์คุณภาพบอระเพ็ดพุงช้างและสบู่เลือด (Authentic plants' densitograms for qualitative analysis of <i>Stephania suberosa</i> and <i>S. venosa</i> tubers)	2547
3	โครมาโตแกรมของพืชต้นแบบเพื่อวิเคราะห์คุณภาพบอระเพ็ดพุงช้างและสบู่เลือดด้วย HPLC (Authentic plants' HPLC chromatograms for qualitative analysis of <i>Stephania suberosa</i> and <i>S. venosa</i> tubers)	2547

การเสนอขอจดสิทธิบัตร (ต่อ)

ลำดับ ที่	ชื่อการประดิษฐ์	ปี พ.ศ. ที่ยื่นจด
4	กระบวนการผลิตสารสกัดจากหัวบอระเพ็ดพวงช้างที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคอย่างกว้างขวาง (Production process of wide spectrum anti-pathogenic microbial extract from <i>Stephania suberosa</i> tubers)	2548
5	กระบวนการผลิตสารสกัดจากหัวสบู่เลือดที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคอย่างกว้างขวาง (Production process of wide spectrum anti-pathogenic microbial extract from <i>Stephania venosa</i> tubers)	2548
6	กระบวนการผลิตสารสกัดจากรากสามสิบที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค (Production process of anti-pathogenic microbial extract from <i>Asparagus racemosus</i> roots)	2550

ค. ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่

ค.1 วารสารระดับนานาชาติ

1. Buppachart Potduang, Krittiya Thisayakorn, Rattanasiri Giwanon, Tanwarat Kajsongkram, Pongsatorn Limsiriwong, Maneerat Meeploy and Yaowaluck Benmart. 2003. TLC fingerprints and biological activities of *Stephania Suberosa* and *S. venosa*. Proceeding in the sixth JSPS-NRCT Joint Seminar., Thailand, December 2-4, 2003.
2. Buppachart Potduang, Yaowaluck Benmart, Wipaporn Phatwech, Rattanasiri Giwanon, Maneerat Meeploy and Chanchai Chongsiriroeg. 2004. Accessible utilization of *Bauhinia sirindhorniae*. E-Proceeding of the 20th FAPA Congress, Bangkok, Thailand. November 30-December 3, 2004.
3. B. Potduang, T. Kajsongkram, P. Limsiriwong, R. Giwanon, K. Thisayakorn, M. Meeploy, Y. Benmart. 2005. Chief constituents and biological activities determination of *Stephania venosa*. Proc. WOCMAP III, Vol.3: Perspectives in Natural Product chemistry. Acta Horticulturae 677 February 2005, p. 57-64.
4. Buppachart Potduang, Chanchai Chongsiriroeg, Yaowaluck Benmart, Rattanasiri Giwanon, Winai Supatanakul and Sayan Tanpanich. 2007. Biological activities of *Schefflera leucantha*. *Afr.J.Trad.CAM* [online] 4(2) (2007): 157-164. Available at: <http://www.africanethnomedicines.net/ojs2/index.php/ajtcam/issue/view/33>, [accessed 13 October 2007]
5. Buppachart Potduang, Maneerat Meeploy, Rattanasiri Giwanon, Yaowaluck Benmart, Montree Kaewduang and Winai Supatanakul. 2008. Biological activities of *Asparagus racemosus*. *Afr.J.Trad.CAM* (2008) 5(3): 230-237.

[online]. Available at:
<http://www.africanethnomedicines.net/ojs2/index.php/ajtcam/issue/view/40>,
[accessed 23 June 2008].

ค.2. วารสารระดับชาติ

1. Buppachart Potduang, Maneerat Meeplay, Tanwarat Kajsongkram, Pongsatorn Limsiriwong, Rattanasiri Giwanon, Krittiya Thisayakorn, Jarus Thisayakorn, Sin Tangsatirapakdi and Taweesak Suntorntanasat . 2002. Accessible utilization of ‘Khaolaam Dong’(ข้าวหลามดง), a rare and extinguishable medicinal plant of Thailand. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.26 Supplement Issue December 2002*.
2. Buppachart Potduang, Rattanasiri Giwanon, Yaowaluck Benmart, Maneerat Meeplay, Wipaporn Patwech, Pongsatorn Limsiriwong, Tanwarat Kajsongkram. 2003. TLC fingerprints and biological activities of the unidentified ‘Hin Raberd’(หินระเบิด). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.27 Supplement Issue December 2003*.
3. Buppachart Potduang, Rattanasiri Giwanon, Krittiya Thisayakorn, Tanwarat Kajsongkram, Maneerat Meeplay, Yaowaluck Benmart and Chanchai Chongsiriroek. 2004. Chromatographic fingerprints and biological activities of ‘Mapuan’ (*Mitrephora tomentosa*) (มะป่วน). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.28 Supplement Issue December 2004*.
4. Buppachart Potduang, Yaowaluck Benmart, Maneerat Meeplay, Rattanasiri Giwanon, Krittiya Thisayakorn and Pongsatorn Limsiriwong. 2004. Chromatographic fingerprints and biological activities of ‘Champa Luang’ (*Manglietia utilis*) (จำปาหลวง). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.28 Supplement Issue December 2004*.
5. Buppachart Potduang, Wipaporn Phatvej, Yaowaluck Benmart, Rattanasiri Giwanon, Maneerat Meeplay, Chanchai Chongsiriroek and Tanwarat Kajsongkram. 2004. Chromatographic fingerprints and biological activities of ‘Yihup Pli’ (*Magnolia liliifera*) (ยี่หุบป्ली). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.28 Supplement Issue December 2004*.
6. Buppachart Potduang, Chanchai Chongsiriroeg, Rattanasiri Giwanon, Wipaporn Phatwech, Yaowaluck Benmart, and Maneerat Meeplay 2004. Chromatographic fingerprints and biological activities of the unidentified ‘Chang nga-ek’ (ช้างงาเอก). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.28 Supplement Issue December 2004*.
7. Buppachart Potduang, Maneerat Meeplay, Yaowaluck Benmart, Rattanasiri Giwanon, Wipaporn Phatvej and Chanchai Chongsiriroek 2004. Chromatographic fingerprints and biological activities of ‘Rag samsib’ (*Asparagus racemosus*) (รากสามสิบ). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.28 Supplement Issue December 2004*.

8. Buppachart Potduang, Wipaporn Phatvej, Rattanasiri Giwanon, Chanchai Chongsiriroek and Yaowaluck Benmart. 2005. Chromatographic fingerprints and biological activities of 'Kwaw kreua kau' (*Pueraria candollei*) (กวาวเครือขาว). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.29* Supplement Issue December 2005, p.13.
9. Buppachart Potduang, Rattanasiri Giwanon, Wipaporn Phatvej, Chanchai Chongsiriroek and Yaowaluck Benmart. 2005. Chromatographic fingerprints and biological activities of 'Payamai' (*Podocarpus neriifolius*) (พญาไม้). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.29* Supplement Issue December 2005, p.14.
10. Buppachart Potduang, Chanchai Chongsiriroek, Yaowaluck Benmart, Rattanasiri Giwanon and Wipaporn Phatvej. 2005. Chromatographic fingerprints and biological activities of 'Hanuman Prasankai' (*Schefflera leucantha*) (หนุมานประสานกาย). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.29* Supplement Issue December 2005, p.15.
11. Rattanasiri Giwanon, Chanchai Chongsiriroek, Thanayut Srisom, Buppachart Potduang and Taweesak Suntornantasat. 2005. Screening of 13 medicinal plants for antimicrobial activity. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.29* Supplement Issue December 2005, p.81.
12. Wipaporn Phatvej, Amonrat Khayungarnawee, Tuanta Sematong, Buppachart Potduang and Taweesak Suntornantasat. 2005. Anti-inflammatory, on rat ear edema, activity of some uncommon Thai medicinal plants. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.29* Supplement Issue December 2005, p.90.
13. Wipaporn Phatvej, Amonrat Khayungarnawee, Tuanta Sematong, Buppachart Potduang and Taweesak Suntornantasat. 2005. Anti-inflammatory, on rat paw edema, activity of some uncommon Thai medicinal plants. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.29* Supplement Issue December 2005, p.91.
14. Buppachart Potduang, Chanchai Chongsiriroek, Wipaporn Phatvej and Rattanasiri Giwanon. 2006. Chromatographic fingerprints and biological activities of 'Wan Chakmodluk' (*Curcuma comosa*) (ว่านชักมดลูก). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.30* Supplement Issue December 2006, p.61.
15. Buppachart Potduang, Chanchai Chongsiriroek, Rattanasiri Giwanon and Wipaporn Phatvej. 2006. Chromatographic fingerprints and biological activities of 'Taowan Priang' (*Derris scandens*) (เถาวัลย์เปรียง). *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.30* Supplement Issue December 2006, p.62.