



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์ต้านทานความเหนียวของพืชที่มีสรรพคุณฟื้นฟูพื้และกำลัง
และชะลอความชราตามภูมิปัญญาของชาวไทยภูเขา

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไชยยง รุจจนเวท และคณะ

กันยายน พ.ศ. 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์ต้านทานความเหนียวของพืชที่มีสรรพคุณพื้นฟูพลังกำลัง

และชะลอความชราตามภูมิปัญญาของชาวไทยภูเขา

คณะผู้วิจัย

- ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ไชยยัง รุจจนเวท
- ดร.ดวงพร อมรเลิศพิสานต์
- ดร.นริศรา ไส้เลิศ

สังกัด

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพร สำหรับพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร จากการตรวจสอบข้อมูลทางเอกสาร และการสัมภาษณ์หมอยาชาวไทยภูเขา สามารถคัดเลือกพืชสมุนไพรได้ 37 ชนิด เตรียมเป็นสารสกัดหยาดด้วยเอทานอล การทดสอบฤทธิ์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด 5 ชนิด ได้แก่ เนระพูสีไทย ข่าป่า ข่าคม ปุดเขย่ง และ ว่านเพชรใหญ่ เมื่อนำสารสกัด ทั้ง 5 ชนิดนี้ ไปทดสอบฤทธิ์อื่นๆต่อไป พบว่า สารสกัดทั้ง 5 ชนิด ในขนาดที่ได้ทำการศึกษาไม่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลันในสัตว์ทดลอง และสามารถแสดงฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้า โดยการทดสอบ forced swim ในหนูถีบจักรได้ทุกสารสกัด แต่ในการทดสอบฤทธิ์ระงับปวด โดยวิธี writhing responses และวิธี hot plate และฤทธิ์ต้านความเครียด โดยวิธี immobilization-induced stress ในหนูถีบจักร พบว่า มีเพียงสารสกัด เนระพูสีไทย เท่านั้นที่ให้ผลเด่นชัดที่สุด ขณะที่สารสกัด ปุดเขย่ง แสดงฤทธิ์รองลงมา ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัด เนระพูสีไทย ด้วย GC-MS ชี้ว่า สารที่มีมากที่สุดได้แก่ Diosgenin ร้อยละ 42.15 การค้นพบนี้ ทำให้ได้องค์ความรู้อันเป็นพื้นฐานที่ทำให้เกิดการศึกษาวิจัยต่อเนื่องถึงกลไกการออกฤทธิ์ ตลอดจนการประเมินความปลอดภัยของพืชชนิดนี้ โดยละเอียด เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ต่อไป

Abstract

This study aimed to promote the use of medicinal plants as a basis for the invention of medicines or food supplements. Documentary citation together with the in-depth interview of hill tribe healers indicated that 37 plants have been used to promote good health and delay aging in general. The ethanolic extracts of these plants were screened for anti-free radical activities. Five extracts that exhibited the most potent activity were tested for acute toxicity, adaptogenic, analgesic and anti-stress activities using conventional approved methods. The most promising extract in terms of potency and efficacy was found to be that of *Tacca chantrieri*. GC-MS analysis indicated that the extract contained diosgenin as much as 42 % which can be further used as a marker in product standardization. Findings from this study thus warrant further researches for the mechanism of action and safety evaluation in order to develop commercial products.

บทสรุปผู้บริหาร

การตั้งถิ่นฐานและการผลิตแบบเกษตรกรรมในพื้นที่สูงของชาวเขาที่อยู่ในประเทศไทย ทำให้พวกเขาจำเป็นต้องเรียนรู้วิถีทางแห่งการพึ่งตนเองในทุกๆด้าน การส่งสมมุติปัญญการใช้ประโยชน์จากพืชต่างๆ นับเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่ส่งเสริมการอยู่รอดของบุคคลและชนเผ่า หนึ่งในสมมุติปัญญานั้นคือ การใช้พืชสมุนไพรเพื่อบำบัดความอ่อนล้า บำรุงกำลัง และชะลอความชรา แต่ท่ามกลางการพัฒนาและกระแสโลกาภิวัตน์ การเปลี่ยนแปลงในทุกๆด้าน ย่อมเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ สมมุติปัญญการใช้ประโยชน์จากพืช บ้างก็คงอยู่ บ้างก็ถูกละเลย เป็นที่น่าเสียดายยิ่ง ถ้าสมมุติปัญญามีคุณค่าเหล่านี้ จะสูญหายไป

ก่อนงานวิจัยนี้ ได้มีการศึกษาการใช้พืชสมุนไพรของชาวไทยภูเขามาบ้างแล้ว ผลงานที่สำคัญ ได้แก่ งานเขียนของ ดร. Edward F. Anderson พิมพ์ในปี 2546 เรื่อง Plants and People of the Golden Triangle ซึ่งให้รายละเอียดของพืช ในการใช้ประโยชน์ทางด้านต่างๆ ได้แก่ การก่อสร้าง การบำบัดรักษาโรค การใช้เป็นสีย้อมและประทีปความงาม การใช้เป็นอาหาร ตลอดจนบทบาทของพืชในวัฒนธรรมและวิถีชีวิต งานของ ดร. Anderson มีจุดเด่นอยู่ที่ การบ่งชี้ชื่อชนิดของพืชโดยอาศัยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ ทำให้แน่ใจในความถูกต้องของข้อมูล ต่อมาในปี 2549 ได้มีงานของ ดร. ยิ่งยง เทาประเสริฐ จากวิทยาลัยการแพทย์พื้นบ้านและการแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย เป็นการรวบรวมข้อมูลวิธีการวินิจฉัยความเจ็บไข้ และการใช้สมุนไพรบำบัดรักษา ตามความเชื่อของชนเผ่า จากการสัมภาษณ์หมอหรือผู้ที่มีประสบการณ์ บำบัดรักษา โดยมีได้ทดสอบฤทธิ์โดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ แม้ว่าการศึกษาของ ดร. ยิ่งยง มิได้ให้ข้อมูลรายละเอียดของพืชสมุนไพร โดยเฉพาะอย่างยิ่งชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง แต่ก็เห็นว่า มีคุณค่ายิ่งทางด้านมานุษยวิทยาทางการแพทย์

งานวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้าของพืช ที่มีสรรพคุณฟื้นฟูพลังกำลัง และชะลอความชรา ตามสมมุติปัญญะของชาวไทยภูเขานี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพร สำหรับพัฒนาเป็นยา หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร แต่เนื่องจาก สรรพคุณบำบัดความอ่อนล้า บำรุงกำลัง และชะลอความชรา นั้นยากที่จะพิสูจน์ให้ประจักษ์ได้โดยตรง ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ จึงใช้การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายชนิด เพื่อประเมินศักยภาพของพืชสมุนไพรที่สามารถนำไปสร้างเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปได้ ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ทดสอบคือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ต้านความเครียด และฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้า โดยใช้วิธีการอันเป็นที่ยอมรับทางวิชาการ

ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพร 37 ชนิด พบว่า พืชสมุนไพรที่ชื่อ เนระพูสีไทย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ระงับปวด ระงับอาการเครียดและต้านทานความเหนื่อยล้า ได้มากกว่าพืชชนิดอื่นๆ และสารสกัดของพืชชนิดนี้ มีองค์ประกอบที่เป็น Diosgenin อยู่ร้อยละ 42.15 ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการทำมาตรฐานผลิตภัณฑ์ได้

การได้ค้นพบนี้ ได้เป็นพื้นฐานที่ทำให้เกิดการศึกษาวิจัยต่อเนื่องถึงฤทธิ์ระงับปวดและระงับการอักเสบ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่นๆโดยละเอียด ตลอดจนได้ประเมินความปลอดภัยของพืชชนิดนี้ โดยอาศัยทุนสนับสนุนงานวิจัยจากแหล่งอื่นๆ ทำให้เกิดการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ระงับการอักเสบ 2 ชนิด ซึ่งกำลังได้รับการทดสอบฤทธิ์ในอาสาสมัคร (clinical trial) ที่มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เกิดขึ้นและสำเร็จลุล่วงไปได้ ด้วยการสนับสนุนเงินทุนจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และคำชี้แนะจากกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ รวมทั้งการประสานงานจากเจ้าหน้าที่สำนักงานฯ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มา ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณ ผู้ให้ข้อมูลชาวไทยภูเขา ที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการสัมภาษณ์และเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1. บทนำ	
ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	1
โจทย์และคำถามของการวิจัย	2
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ผลและประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	2
พื้นที่วิจัย	3
นิยามศัพท์	3
บทที่ 2. วัสดุและวิธีการ	
การสืบค้นข้อมูล	4
การเก็บรวบรวมและเตรียมสารสกัดพืชสมุนไพรพืชสมุนไพร	4
การตรวจคัดกรองกลุ่มสารสำคัญ	4
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	4
การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute oral toxicity)	5
การทดสอบฤทธิ์ระงับปวด	6
การทดสอบฤทธิ์ต้านความเหนียวล้า	6
การทดสอบฤทธิ์ต้านความเครียด	6
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	7
สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล	7
บทที่ 3. ผลการทดลอง	
ผลการสืบค้นข้อมูล	8
ผลการเตรียมสารสกัดและคัดกรองสารสำคัญ	8
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	8
ผลการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute oral toxicity)	9
ผลการทดสอบฤทธิ์ระงับปวด	9
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านความเหนียวล้า	10
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านความเครียด	10
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	10
บทที่ 4. อภิปรายผลและสรุปผลการทดลอง	
การศึกษาการประโยชน์จากพืชตามภูมิปัญญาของชาวไทยภูเขา	29
แนวคิดเกี่ยวกับความเจ็บไข้และการบำบัดรักษา	29
พืชที่ใช้บำรุงกำลัง	30
กลุ่มสารสำคัญในพืชที่คัดเลือก	30
ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	30
องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดสมุนไพรไทย	31
การประยุกต์ใช้องค์ความรู้จากงานวิจัยนี้	31

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5. Output ที่ได้จากโครงการ	
รายงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ	32
ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่มีศักยภาพในการผลิตเชิงพาณิชย์	32
รายงานการวิจัยที่ได้นำเสนอในการประชุมต่างๆ	33
เอกสารอ้างอิง	
เอกสารอ้างอิงภาษาไทย	34
เอกสารอ้างอิงภาษาอังกฤษ	35
ภาคผนวก	
ภาคผนวก 1. รายชื่อบุคคลที่ให้ข้อมูลพืชสมุนไพร	38
ภาคผนวก 2. Spray reagents สำหรับตรวจคัดกรองกลุ่มสาระสำคัญ	39
ภาคผนวก 3. รายงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์	40
ภาคผนวก 6. บทคัดย่อเสนอในการประชุม “นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเวทีวิจัยอาวุโส สกว” ครั้งที่ 8	45
ภาคผนวก 6. บทคัดย่อเสนอในการประชุม “นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเวทีวิจัยอาวุโส สกว” ครั้งที่ 9	46
ภาคผนวก 6. บทคัดย่อเสนอในการประชุม “นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเวทีวิจัยอาวุโส สกว” ครั้งที่ 10	47
ภาคผนวก 7. บทคัดย่อของ oral presentation ในการประชุมระดมสมองการสร้างเครือข่ายความร่วมมือด้านวิจัย ทอมก : วิถีวิจัยกับการพัฒนาประเทศ ประจำปี พ.ศ.2553	48
ภาคผนวก 8. บทคัดย่อของ oral presentation ในการประชุมวิชาการประจำปี การแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน และการแพทย์ทางเลือกแห่งชาติ ครั้งที่ 7	49

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3-1	รายชื่อพืชที่นำมาศึกษา	12
3-2	กลุ่มสารสำคัญที่ตรวจพบในสารสกัด	13
3-3	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด	14
3-4	ฤทธิ์ระงับปวด ของสารทดสอบโดยวิธี writhing responses ในหนูถีบจักร	15
3-5	ฤทธิ์ระงับปวด ของสารทดสอบโดยวิธี hot plate ในหนูถีบจักร	16
3-6	ผลการทดสอบ forced swim ในหนูถีบจักรที่ได้รับสารทดสอบ 15 และ 35 วัน	17
3-7	ฤทธิ์ต้านความเครียดของสารทดสอบโดยวิธี Immobilization (physical)-induced stress ในหนูขาว	18
3-8	องค์ประกอบของสารสกัด <i>Tacca chantrieri</i> (เนระพูสีไทย)	20
3-9	องค์ประกอบของสารสกัด <i>Alpinia malaccensis</i> (ข่าป่า)	22
3-10	องค์ประกอบของสารสกัด <i>Alpinia zerumbet</i> (ข่าคม) ด้วย GC/MS	24
3-11	องค์ประกอบของสารสกัด <i>Hornstedtia scyphifera</i> (ปุดเขย่ง)	24
3-12	องค์ประกอบของสารสกัด <i>Stahlianthus involucratus</i> (ว่านเพชรใหญ่)	28

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
3-1	ผลการวิเคราะห์สารสกัด <i>Tacca chantrieri</i> (เนระพูสีไทย) ด้วย GC/MS	19
3-2	ผลการวิเคราะห์สารสกัด <i>Alpinia malaccensis</i> (ข่าป่า) ด้วย GC/MS	21
3-3	ผลการวิเคราะห์สารสกัด <i>Alpinia zerumbet</i> (ข่าคม) ด้วย GC/MS	23
3-4	ผลการวิเคราะห์สารสกัด <i>Homstedtia scyphifera</i> (ปุดเขย่ง) ด้วย GC/MS	25
3-5	ผลการวิเคราะห์สารสกัด <i>Stahlianthus involucratus</i> (ว่านเพชรใหญ่) ด้วย GC/MS	27
5-1	ผลิตภัณฑ์ Tacca spray	33
5-2	ผลิตภัณฑ์ Tacca gel	33

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

นับแต่อดีตกาล ความอ่อนแอและความชรา เป็นสิ่งที่มนุษย์โดยธรรมชาติแล้ว แม้ไม่พึงปรารถนา ก็ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้อย่างสมบูรณ์ มนุษย์ชาติพันธุ์ต่างๆ ได้ศึกษาปรากฏการณ์ในธรรมชาติ ประกอบกับการลองผิดลองถูก จึงได้ค้นพบว่าการบริโภคพืชหรือสารจากธรรมชาติบางชนิดสามารถฟื้นฟูพลังและชะลอความชราได้ การแพทย์พื้นบ้านของทุกชาติพันธุ์ ล้วนกล่าวถึงพืชที่มีสรรพคุณฟื้นฟูพลังและชะลอความชรา ตามภูมิปัญญาของชาวตะวันออก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง จีน ญี่ปุ่น และเกาหลี ได้กล่าวถึง พืชในสกุลโสม (*Panax spp.*) ว่ามีสรรพคุณดังกล่าว ซึ่งปัจจุบันก็ได้มีการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์แล้วว่า พืชในสกุลโสมมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง ที่สามารถนำไปอธิบายความเป็นไปได้ของสรรพคุณที่กล่าวอ้างนั้น

ในส่วนของผู้บริโภคที่อยู่ในประเทศไทย การตั้งถิ่นฐานและการผลิตแบบเกษตรกรรมในพื้นที่สูงที่ห่างไกลชาวพื้นราบหรือชาวเขากลุ่มอื่นๆ ทำให้พวกเขาจำเป็นต้องเรียนรู้วิถีทางแห่งการพึ่งตนเองในทุกๆ ด้าน การส่งสมภูมิปัญญาการใช้ประโยชน์จากพืชต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมรอบตัว นับเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่ส่งเสริมการอยู่รอดของบุคคลและชนเผ่า หนึ่งในภูมิปัญญานั้นคือ การใช้พืชสมุนไพรเพื่อบำบัดความอ่อนล้า บำรุงกำลัง และชะลอความชรา ข้อมูลเหล่านี้ นักมานุษยวิทยา ได้ศึกษารวบรวมไว้แล้วจำนวนหนึ่ง แต่การนำเอาพืชจากภูมิปัญญาท้องถิ่นเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์หรือพัฒนาต่อไปได้นั้น ยังต้องมีหลักฐานจากการวิจัยที่สามารถพิสูจน์ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา บ่งชี้กลไกการออกฤทธิ์ และประเมินความปลอดภัย โดยเหตุที่สรรพคุณบำบัดความอ่อนล้า บำรุงกำลัง และชะลอความชรา นั้นยากที่จะพิสูจน์ให้ประจักษ์ได้โดยตรง ในห้องปฏิบัติการจึงใช้การทดสอบความอดทนของสัตว์ทดลองในสภาวะที่มีความเครียด ฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้าดังนี้ เป็นที่รู้จักกันโดยศัพท์ว่า adaptogenic effect และเรียกสารที่แสดงฤทธิ์ดังกล่าวว่า adaptogen ซึ่งปรากฏครั้งแรกในรายงานการวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชในสกุลโสม (Brekman, 1969a, Brekman, 1969b) การออกฤทธิ์เช่นนี้ เป็นการเพิ่มความต้านทานต่อการคุกคามที่จะก่อให้เกิดการเสียสุขภาพของร่างกาย และยังเพิ่มความอดทนต่อการทำงานแม้ในสภาวะที่ียากลำบาก สาร adaptogen มักออกฤทธิ์แบบ “ ป้องกัน ” (preventive) มากกว่าแบบ “ รักษา ” (curative) และมักแสดงฤทธิ์ได้ดีในยามที่ความต้านทานของร่างกายลดลง หรืออ่อนแอลง เช่นในภาวะเจ็บป่วยเรื้อรัง ภาวะที่มีความเครียดเป็นเวลานาน และภาวะสูงอายุ

จนถึงปัจจุบัน นอกจากโสม (Attele *et al.*, 1999) แล้ว พืชที่ได้มีรายงานจากการวิจัยว่า มีฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้า มีเพียง แปะกัวย (Ramachandran *et al.*, 1990), กระเทียม (Ushijima *et al.*, 1997), *Withania somnifera* (Bhattacharya and Muruganandam 2003), *Bacopa monniera* (Rai *et al.*, 2003), *Trichopus zeylanicus* (Singh *et al.*, 2005), *Evolvulus alsinoides* (Siripurapu *et al.*, 2005), *Hippophae rhamnoides* (Saggu *et al.*, 2006), และ *Caesalpinia bonduc* (Kannur *et al.*, 2006) พืชและสารสกัดจากพืชเหล่านี้ ได้ถูกพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารแล้วในต่างประเทศ โดยอ้างอิงข้อพิสูจน์จากการทดสอบการบังคับให้สัตว์ทดลองต้องว่ายน้ำ (forced swimming) ในอุณหภูมิต่ำ และในเวลาที่ยาวนาน (Ramachandran *et al.*, 1990) และการตรึงสัตว์ทดลองอยู่กับที่เพื่อให้เกิดความเครียด (Fregley. 1953; Bhattacharya *et al.* 1987) เป็นต้น

คณะวิจัยซึ่งประกอบด้วย นักเภสัชวิทยาที่มีประสบการณ์วิจัยทางด้านเภสัชวิทยา ของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ทำงานอยู่ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย สามารถเข้าถึงชาวไทยภูเขาได้เป็นอย่างดี มีความตั้งใจที่จะทำงานวิจัย ร่วมกันในการศึกษาศักยภาพของพืชสมุนไพรที่มีกล่าวอ้างโดยชาวไทยภูเขาว่ามีสรรพคุณฟื้นฟูพลังและชะลอความชรา เพื่อนำองค์ความรู้นี้เป็นพื้นฐานสำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสรรพคุณบำบัดความอ่อนล้า และฟื้นฟูพลัง หรือ วิจัยเกี่ยวกับกลไกชะลอความชรา (Delayed-aging mechanism) ในระยะยาวต่อไป

1.2 โจทย์และคำถามของการวิจัย

พืชสมุนไพร ที่ได้รับการกล่าวอ้างว่า มีฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้าและฟื้นฟูพลัง ตามภูมิปัญญาของชาวไทยภูเขา สามารถแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาโดยวิธีการทดสอบทางวิทยาศาสตร์หรือไม่ และจะสามารถนำฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานี้ ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งเสริมสุขภาพได้หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพร ตามภูมิปัญญาของชาวไทยภูเขา
2. เพื่อประเมินศักยภาพของพืชที่ผ่านการคัดกรองแล้ว สำหรับพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยใช้การทดสอบฤทธิ์ระงับปวดและฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้า

1.4 ผลและประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

องค์ความรู้จากงานวิจัยนี้ จะทำให้สามารถประเมินศักยภาพของทรัพยากรพืชสมุนไพรในประเทศไทยเราได้ดียิ่งขึ้นอย่างน้อยเพียงใด อย่างน้อยในแง่มุมหนึ่งทางเภสัชวิทยาและการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเชิงพาณิชย์ และถ้ามีการค้นพบว่าพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพในการพัฒนาต่อไปได้สูง ก็สามารถขยายผลไปสู่การพัฒนาในด้านอื่นๆ เช่น การเกษตร ธุรกิจอาหาร การท่องเที่ยวได้อีกด้วย

1.5 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยนี้ ได้ทำการทดสอบคัดกรองพืชสมุนไพรประมาณ 35-40 ชนิด โดยที่แต่ละชนิด ต้องมีรายงานการกล่าวอ้างจากชาวไทยภูเขาคล้ายคลึงกันอย่างน้อย 2 เผ่า ว่ามีสรรพคุณฟื้นฟูพลังและชะลอความชรา (Anderson, 1993)

1.7 พื้นที่วิจัย

สืบค้นข้อมูลจากชาวไทยภูเขา และเก็บรวบรวมพืชสมุนไพร จากพื้นที่ในเขตอำเภอเมืองและอำเภอแม่จัน จังหวัดเชียงราย อำเภอเชียงม่วน และอำเภอปง จังหวัดพะเยา ตำบล จังหวัดเชียงราย การวิจัยทางห้องปฏิบัติการทำที่ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย และมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

1.8 นิยามศัพท์

ฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้า

มาจากศัพท์ว่า adaptogenic effect คือความต้านทานต่อการคุกคามที่จะก่อให้เกิดการเสียดุลยภาพของร่างกาย และเพิ่มความอดทนต่อการทำงานแม้ในภาวะที่ยากลำบาก ฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้า

นี้ มักแสดงให้เห็นประจักษ์ได้ดีในยามที่ความต้านทานของร่างกายลดลง หรืออ่อนแอลง เช่นในภาวะเจ็บป่วย เรื้อรัง ภาวะที่มีความเครียดเป็นเวลานาน และภาวะสูงอายุ

ภูมิปัญญา

หมายถึง พื้นฐานความรู้ความสามารถ ความคิด ความเชื่อ ความสามารถทางพฤติกรรม ความสามารถในการแก้ไขปัญหา โดยใช้ประสบการณ์ที่สั่งสมไว้ในการปรับตัว และดำรงชีพในสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ โดยใช้ประสบการณ์ที่สั่งสมไว้ในการปรับตัว และดำรงชีพในสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อมทางสังคมและวัฒนธรรมที่ได้มีการพัฒนาสืบสานกันมา อันเป็นผลของการใช้สติปัญญาปรับตัวให้เข้ากับสภาพต่าง ๆ ในพื้นที่ที่กลุ่มชนเหล่านั้นตั้งถิ่นฐานอยู่ รวมทั้งได้มีการแลกเปลี่ยนวัฒนธรรมกับกลุ่มอื่น

ชาวไทยภูเขา

ในรายงานวิจัยฉบับนี้ มีความหมายถึงผู้คนหลายชนชาติ ที่อาศัยอยู่บนพื้นที่ที่เป็นภูเขาสูงในภาคเหนือ ได้แก่ ม้ง เมี่ยน อาข่า ลีซู ปากะยอ ลาหู่ ลาวเทิง เป็นต้น ผู้คนเหล่านี้แม้มีประวัติศาสตร์และการสืบทอดวัฒนธรรมที่เป็นเอกลักษณ์ของตนเองแตกต่างไปจากชาวไทยที่อาศัยบนพื้นราบ แต่ก็ได้สร้างตัวเป็นนครรัฐ ยังคงเป็นแต่เพียงกลุ่มชาติพันธุ์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับผู้คนส่วนใหญ่ในประเทศ จีน พม่า ไทย ลาว และเวียดนาม อย่างสันติ ปัจจุบันมีการส่งเสริมให้ใช้คำว่า ชาติพันธุ์ แทนคำว่า ชาวไทยภูเขา

บทที่ 2

วัสดุและวิธีการ

2.1 การสืบค้นข้อมูล

โดยการค้นคว้าเอกสารและสัมภาษณ์เชิงลึก หมอยาของชนเผ่า ผู้ที่ให้ข้อมูล (ภาคผนวก 1.) เป็นผู้บำบัดหรือใช้พืชสมุนไพรในการบำรุงสุขภาพ และมีความรู้ สามารถบ่งชี้ชนิดของพืชที่ใช้ได้ โดยผู้ให้ข้อมูลเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรมาให้ผู้วิจัยบ่งชี้ชนิดและชื่อทางพฤกษศาสตร์ที่ถูกต้อง ตรวจสอบข้อมูลที่ได้จากการสัมภาษณ์กับเอกสารที่มีผู้รายงานไว้ก่อน (ยิ่งยง เทาประเสริฐ, 2549a-e, ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว และไชยยัง รุจจนเวท, 2550; ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว และ ไชยยัง รุจจนเวท, 2551; Anderson, 1993) และตรวจทานชื่อพืชจากฐานข้อมูล IPNI (International Plant Name Index)

2.2 การเก็บรวบรวมและเตรียมสารสกัดพืชสมุนไพรพืชสมุนไพร

การสืบค้นข้อมูลพืชสมุนไพรที่เชื่อว่ามีสรรพคุณพื้นฟูพลังกำลัง นำไปสู่การเก็บรวบรวมพืชสมุนไพรจากพื้นที่ ในเขตอำเภอเมืองและอำเภอแม่จัน จังหวัดเชียงราย และจากพื้นที่ในอำเภอเชียงม่วนและอำเภอปง จังหวัดพะเยา 30 ชนิด หั่นพืชสมุนไพรเป็นชิ้นเล็กๆ บดหยาบ สกัดผงแห้ง ด้วย 95% EtOH ระเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำด้วย rotary evaporator ทำให้สารสกัดแห้งสนิทด้วย freeze dryer

2.3 การตรวจคัดกรองกลุ่มสารสำคัญ

โดยการ spot สารสกัดที่ต้องการตรวจบน TLC silica gel 60 F₂₅₄ (MERCK) โดยใช้ chloroform/methanol 1/1 เป็น mobile phase ตรวจสอบสารสำคัญ ได้แก่ alkaloids, saponins, flavonoids, cardiac glycosides, anthraquinones, anthrones และ coumarins โดยใช้ spray reagents (ภาคผนวก 2.)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทดสอบ Scavenging activity of DPPH (Hou *et al.*, 2001) ดังนี้ หยดสารทดสอบ 0.3 มล. ที่ละลายในเมทานอล ลงในหลอดทดสอบที่มี 1 M Tris-HCl buffer (pH 7.9) 0.1 มล. เติม 100 mM DPPH ที่ละลายใน เมทานอล 0.6 มล. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งในที่มืด 20 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็น blank คำนวณฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH เป็นร้อยละได้ดังนี้

$$\text{ฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH (\%)} = 100 \times [A_{517_{\text{blank}}} - A_{517_{\text{sample}}}] / A_{517_{\text{blank}}}$$

เมื่อ $A_{517_{\text{blank}}}$ และ $A_{517_{\text{sample}}}$ เป็นค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรของ blank และสารทดสอบตามลำดับ

ทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid cation (ABTS⁺) (Re *et al.*, 1999) ดังนี้ เตรียมน้ำยา 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid (ABTS) โดยการผสม 7 mM ABTS 5 มล. กับ 140 mM K₂S₂O₈ 88 ไมโครลิตร เก็บในที่มืด 16

ชั่วโมง เจือจางด้วย 95 % เอทานอล เพื่อให้อ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรได้ระหว่าง 0.70 – 0.05 ในการวัดฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS หยดน้ำยานี้ 1 มล.ลงในหลอดที่มีสารทดสอบหรือ เมทานอล ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 6 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรโดยใช้เอทานอลเป็น blank คำนวณฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS เป็นร้อยละได้ดังนี้

$$\text{ฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS (\%)} = \{1 - (A734_{\text{sample}} / A734_{\text{MeOH}})\} \times 100$$

เมื่อ $A734_{\text{sample}}$ และ $A734_{\text{MeOH}}$ เป็นค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรของ สารทดสอบ และ เมทานอลตามลำดับ

เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของ Trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี ที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)

ทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล Hydroxyl (OH[•]) (Halliwell *et al.*, 1987) ดังนี้ หยด 2.8 mM deoxyribose 0.2 มล. 2.8 mM H₂O₂ 0.38 มล. 25 mM FeCl₃ 0.2 มล. 100 mM และ nitrilotriacetic acid (NTA) 0.2 มล. ลงในหลอดที่มีสารทดสอบ 0.22 มล. สารทุกอย่างในการทดสอบนี้เตรียมโดยใช้ 10 mM potassium phosphate buffer (pH 7.40) ผสมให้เข้ากัน นำไป incubate ใน water bath ที่ 37 ± 0.5 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม 1% thiobarbituric acid (TBA) 1 มล. และ 2.8 % (w/v) trichloroacetic acid (TCA) 1 มล. incubate ใน water bath ที่ 100 °C 20 นาที ทำให้เย็นแล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์กำจัดอนุมูล hydroxyl เป็นร้อยละได้ดังนี้

$$\text{ฤทธิ์กำจัดอนุมูล hydroxyl (\%)} = (A532_{\text{control}} - A532_{\text{sample}} / A532_{\text{control}}) \times 100$$

เมื่อ $A532_{\text{control}}$ และ $A532_{\text{sample}}$ เป็นค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตรของ หลอดควบคุม และสารทดสอบ ตามลำดับ

2.5 การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute oral toxicity)

ทำการทดสอบ สารสกัดที่มี antioxidant efficacy สูงสุด ประมาณ 3-5 ชนิด ในหนูถีบจักร โดยวิธีการ Up and down ของ Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD, 2001) ดังนี้ ทำการทดสอบในหนูทีละ 1 ตัว อดอาหารหนูเพศเมีย 1 คืน แล้วป้อนสารทดสอบทางปากในขนาด 2000 มก./กก. หลังจากนั้น สังเกตอาการต่างๆ เปรียบเทียบกับหนูควบคุมที่ได้รับแต่พาหะในปริมาณที่เท่ากัน ถ้าหนูไม่ตายในเวลา 48 ชั่วโมง ทำเช่นเดียวกันอีก 4 ตัว ถ้าหนูที่ทดสอบตายถึง 3 ตัว (ใน 5 ตัว) หยุดการทดสอบนี้แล้วลดขนาดของสารทดสอบลงทีละ 3.2 เท่า การทดสอบสิ้นสุดเมื่อหนูรอดชีวิตติดต่อกัน 3 ตัว ทดสอบโดยใช้หนู 5 ตัวในแต่ละขนาดของสารทดสอบ

2.6 การทดสอบฤทธิ์ระงับปวด

โดยวิธี Writhing responses (Nakamura *et al.*, 1986) ดังนี้ ป้อนสารทดสอบหรือพาหะเข้าทางปากของหนูถีบจักร หลังจากนั้น 30 นาที ฉีด กรดอะเซติก 0.75 % ในขนาด 0.1 มล./ นน.ตัว 10 กรัม เข้าทางช่องท้องหนูทุกตัว อีก 5 นาทีต่อมา นับจำนวนการบิดเกร็งของกล้ามเนื้อท้องของหนู (writhing response) ในเวลา 15 นาที ถ้าสารทดสอบมีฤทธิ์ระงับปวด จำนวนการบิดเกร็งของกล้ามเนื้อท้องของหนูในกลุ่มทดสอบจะน้อยกว่าของกลุ่มควบคุม

โดยวิธี Hot plate (Woolfe and MacDonald, 1944) ดังนี้ วางสัตว์ทดลองบนแผ่นร้อนที่มีอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จับเวลาจนกระทั่งหนูยกขาหลังขึ้นเลีย ถือเป็น reaction time คัดหนูที่มี

reaction time เกิน 10 ;bokmuvvd เพื่อไม่เป็นการทำให้สัตว์เจ็บปวดโดยไม่จำเป็น สำหรับหนูที่เหลือ ป้อนสารทดสอบหรือพาหะเข้าทางปากของหนูถีบจักร หลังจากนั้น 30 นาที ทดสอบ reaction time อีก ครั้งหนึ่ง ถ้าสารทดสอบมีฤทธิ์ระงับปวด reaction time ของหนูในกลุ่มทดสอบจะมากกว่าของกลุ่ม ควบคุม

2.7 การทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า

ทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าโดยวิธี Forced swim test (Porsolt, 1977) ในหนูถีบจักร ดังนี้ ป้อนสารสกัดที่มี 10 % tween เป็นพาหะ วันละครั้งเป็นเวลา 35 วัน ในกลุ่มควบคุมป้อน 10 % tween ในปริมาณที่เท่ากัน และในกลุ่ม positive control ป้อน crude powder of ginseng root 100 มก/กก วันละครั้งเป็นเวลา 35 วันเช่นกัน นำหนูมาทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าในเวลาเดียวกันของวันทุกครั้ง ในวันที่ 0 15 และ 35 ดังนี้ ใช้ปิเกอร์แก้วสูง 14 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ซม. ใส่ น้ำอุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียสลงไปให้สูง 10 ซม. ปล่อยหนูถีบจักรลงในน้ำเป็นเวลา 6 นาที จับเวลาที่หนูเคลื่อนไหวใน 4 นาที หลังรวมกัน เปรียบเทียบเวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหว (immobility time) ของกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม ถ้า สารที่ป้อนให้หนูมีฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า เวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหวจะน้อยกว่าเวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหวของ กลุ่มควบคุม

2.8 การทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียด

ทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียดในหนูขาวโดยวิธี Immobilization (physical)-induced stress (Takagi et al., 1963) ดังนี้ งดอาหารแต่ไม่งดน้ำแก่หนูขาว 48 ชั่วโมง ป้อนสารทดสอบทางปากแก่หนูขาว หลังจากนั้น 60 นาที จับหนูตรึงและแช่ในน้ำเย็นอุณหภูมิ 22 ± 2 องศาเซลเซียส ในระดับกระดูก xyphoid เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำหนูขึ้นมารูณฆาติและผ่าเพื่อตรวจดูการเกิดแผลในกระเพาะ อาหารอันเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความเครียด

2.9 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดทั้ง 5 ชนิด ด้วย chromatograph (GC 7890 Agilent Technologies) ที่มี column DB-5MS (30m x 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness). โดยใช้ ภาวะดังนี้ อุณหภูมิของ GC oven ตั้งไว้ที่ 50 °C เป็นเวลา 5 นาที, เพิ่มขึ้น 200 °C ด้วยอัตรา 10 °C/ นาที, และเป็น 250 °C ที่ 5 °C/นาที คงไว้ 10 นาที. อุณหภูมิของการฉีดสารเป็น 250 °C; อัตราไหล ของฮีเลียมซึ่งเป็นก๊าซตัวพาอยู่ที่ 1.5 มล./นาที; split ratio 1:25. Gas chromatograph นี้ ต่อกับ mass selective detector (Agilent HP 5973) โดยใช้ parameters ดังนี้ : ionization voltage, 70 eV; ion source temperature, 230 °C. บ่งชี้โครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบโดยการเปรียบเทียบ relative retention times และ mass spectra กับข้อมูลที่มีในฐานข้อมูล NIST05a.L Database (Agilent Technologies Inc.).ทำ finger print ด้วยเทคนิคที่เหมาะสม (HPLC หรือ GC-MS)

2.10 สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม (arithmatic mean) ในการทดสอบฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ต้านความเครียด และฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้า โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one way ANOVA) และใช้การทดสอบ Duncan multiple range test ที่ความเชื่อมั่นมากกว่า 95 % ($p < 0.05$)

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ผลการสืบค้นข้อมูล

ได้รายชื่อพืช 37 ชนิด แสดงชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อวงศ์ ส่วนที่ใช้ และสรรพคุณบำรุงร่างกายตามภูมิปัญญาชาวไทยภูเขา ในตารางที่ 3-1

3.2 ผลการเตรียมสารสกัดและคัดกรองสารสำคัญ

เก็บตัวอย่างพืชแต่ละชนิด ได้น้ำหนักแห้ง ชนิดละ 1-4 กิโลกรัม เตรียมเป็นสารสกัดด้วยเอทานอล ผลการทดสอบคัดกรองสารสำคัญในสารสกัดของพืชทั้ง 37 ชนิด พบว่า สารกลุ่มที่มีในพืชจำนวนมากที่สุดคือ flavonoid มีอยู่ในพืชถึง 26 ชนิด รองลงมาคือ saponin พบในพืช 15 ชนิด สารกลุ่ม coumarin และ alkaloid พบในพืช 11 ชนิด และ antraquinone และ anthrone พบในพืช 2 และ 1 ชนิด ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-2

3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลการทดสอบ Scavenging activity of DPPH ฤทธิ์กำจัดอนุมูล 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid cation (ABTS⁺) และฤทธิ์กำจัดอนุมูล Hydroxyl (OH[•]) แสดงในตารางที่ 3-3

ผลการทดสอบ พบว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระด้วยการทดสอบ Scavenging activity of DPPH ที่ IC₅₀ น้อยกว่า 500 ug/ml มี 9 ชนิด ได้แก่ ราชวดีป่า (*Buddleja asiatica* Lour.) กุ่มน้ำ (*Crateva magna* DC.) หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* Linn.) เจตมูลเพลิงขาว (*Plumbago zeylanica* Linn.) เนระพูสีไทย (*Tacca chantrieri* Andr.) ข่าป่า (*Alpinia malaccensis* Roscoe) ข่าคน (*Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm.) ปุดเขย่ง (*Hornstedtia scyphifera* Steud.) และ ไม้มีชื่อ (*Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes.)

สารสกัดที่มีฤทธิ์กำจัดอนุมูล 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid cation (ABTS⁺) ที่ IC₅₀ น้อยกว่า 1000 ug/ml มี 9 ชนิด ได้แก่ ปัญจขันธ์ (*Gynostemma pentaphyllum* Makino) หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* Linn.) สาตแดง (*Phrynium capitatum* Willd.) พลุควาว (*Houttuynia cordata* Thunb.) เนระพูสีไทย (*Tacca chantrieri* Andr.) ข่าป่า (*Alpinia*

malaccensis Roscoe) ข่าตน (*Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm.) ปุดเขย่ง (*Hornstedtia scyphifera* Steud.) และ ไม้มีชื่อ (*Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes.)

สารสกัดที่กำจัดอนุมูล Hydroxyl ($\text{OH}^\cdot$) ที่ IC_{50} น้อยกว่า 300 ug/ml มี 8 ชนิด ได้แก่ ผักแว่นแดง (*Iresine herbstii* Hook. f.) เอื้องหมายนา (*Costus speciosus* Smith) พญาคาว (*Houttuynia cordata* Thunb.) เนระพูสีไทย (*Tacca chantrieri* Andr.) ข่าป่า (*Alpinia malaccensis* Roscoe) ข่าตน (*Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm.) ปุดเขย่ง (*Hornstedtia scyphifera* Steud.) และ ไม้มีชื่อ (*Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes.)

จากข้อมูลดังกล่าว จึงคัดเลือกสารสกัด ที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดทั้งสามการทดสอบ ได้ 5 ชนิด คือ

1. เนระพูสีไทย (*Tacca chantrieri* Andr.)
2. ข่าป่า (*Alpinia malaccensis* Roscoe)
3. ข่าตน (*Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm.)
4. ปุดเขย่ง (*Hornstedtia scyphifera* Steud.)
5. วานเพชราใหญ่ (*Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes.)

สารสกัด ทั้ง 5 ชนิดนี้ ได้นำไปทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อไป

3.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute oral toxicity)

ผลการทดสอบ สารสกัดที่มี antioxidant efficacy สูงสุดทั้ง 5 ชนิด ในหนูถีบจักร โดย วิธีการ Up and down ของ Organisation for Economic Co-operation and Development ดังนี้ ทำการทดสอบในหนูทีละ 1 ตัว อดอาหารหนูเพศเมีย 1 คืน แล้วป้อนสารทดสอบทางปากไม่ทำให้หนูทดสอบตัวแรกตายในเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อทำเช่นเดียวกันในหนูอีก 4 ตัว ก็ยังพบว่า ไม่มีหนูตัวใดตายภายในเวลา 48 ชั่วโมงเลย

3.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ระงับปวด

โดยวิธี Writhing responses เมื่อป้อนสารทดสอบเข้าทางปากของหนูถีบจักร หลังจากนั้น 30 นาที ฉีด กรดอะเซติก 0.75 % ในขนาด 0.1 มล./ นน.ตัว 10 กรัม เข้าทางช่องท้องหนูทุกตัว อีก 5 นาที ต่อมา นับจำนวนการบิดเกร็งของกล้ามเนื้อท้องของหนู (writhing response) ในเวลา 15 นาที พบว่า จำนวนการบิดเกร็งของกล้ามเนื้อท้อง ของหนูในกลุ่มทดสอบทุกกลุ่ม น้อยกว่าของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยการทดสอบนี้ morphine แสดงฤทธิ์ระงับปวดได้ ร้อยละ 100 ขณะที่ acetyl

salicylic acid แสดงฤทธิ์ระงับปวดได้เพียง ร้อยละ 33 สารสกัดที่แสดงฤทธิ์ระงับปวดโดยวิธีนี้ได้ดีที่สุดคือ สารสกัดของ *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย) คือระงับปวดได้ถึงร้อยละ 76 (ตารางที่ 3-4)

โดยวิธี Hot plate เมื่อวางสัตว์ทดลองบนแผ่นร้อนที่มีอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จับเวลา จนกระทั่งหนูยกขาหลังขึ้นเลีย ถือเป็น reaction time คัดหนูที่มี reaction time เกิน 10 วินาทีออก เพื่อ ไม่เป็นการทำให้สัตว์เจ็บปวดโดยไม่จำเป็น สำหรับหนูที่เหลือ ป้อนสารทดสอบหรือพาหะเข้าทางปากของ หนูลิบจักร หลังจากนั้น 30 นาที ทดสอบ reaction time อีกครั้งหนึ่ง พบว่า reaction time ของหนูใน กลุ่มทดสอบทุกกลุ่ม มากกว่าของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงว่า สารทดสอบทุกตัวมี ฤทธิ์ระงับปวด โดยการทดสอบนี้ morphine แสดงฤทธิ์ระงับปวดได้ ร้อยละ 91 และสารสกัดที่แสดงฤทธิ์ ระงับปวดโดยวิธีนี้ได้ดีที่สุดคือ สารสกัดของ *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย) คือระงับปวดได้ถึงร้อยละ 64 (ตารางที่ 3-5)

3.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า

ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าโดยวิธี Forced swim test ในเวลาเดียวกันของวัน ทุก ครั้ง ใน วันที่ 0 15 และ 35 พบว่า เฉพาะในวันที่ 35 เท่านั้น ที่เวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหวของหนูทดสอบทุก กลุ่มรวมทั้งหนูในกลุ่ม positive control น้อยกว่าเวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหวของกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 3-6)

3.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียด

ผลทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียดในหนูขาวโดยวิธี Immobilization (physical)-induced stress ในหนูขาวที่งดอาหารแต่น้ำ 48 ชั่วโมง เมื่อป้อนสารทดสอบทางปากแก่หนูขาว หลังจากนั้น 60 นาที จับหนูตรึงและแช่ในน้ำเย็นอุณหภูมิ 22 ± 2 องศาเซลเซียส ในระดับกระดูก xyphoid เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ทำการรุมฆาติโดยใช้ pentobarbital sodium ฉีดเข้าทางช่องท้อง ฝ่าเพื่อตรวจดูการเกิดแผลในกระเพาะ อาหารอันเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความเครียด พบว่า ค่าเฉลี่ยของแผลในกระเพาะอาหารหนู ที่ได้รับสารสกัด 3 ชนิด คือ *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย), *Alpinia malaccensis* (ข่าป่า) และ *Alpinia zerumbet* (ข่า คม) มีความยาวน้อยกว่าค่าเฉลี่ยของแผลในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยที่สารสกัด *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย) แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเกิดแผลได้ดีที่สุดถึงร้อยละ 83 ขณะที่สารสกัด *Hornstedtia scyphifera* (ปุดเขย่ง) ยับยั้งได้เพียงร้อยละ 35 และสารสกัด *Stahlianthus involucratus* (ว่านเพชรใหญ่) ไม่สามารถยับยั้งได้เลย(ตารางที่ 3-7)

3.8 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารทั้ง 5 ชนิด โดยใช้ GC/MS พบว่า สารสกัด *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย) มีองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ 9 ชนิด (ภาพที่ 4-1) ที่มีมากที่สุดได้แก่ Diosgenin ร้อยละ 42.15 รองลงมา คือ Ethyl alpha-d-glucopyranoside ร้อยละ 35.79 และ Oxalic acid, monoamide, n-propyl, pentadecyl ester ร้อยละ 6.13 ดังแสดงในตารางที่ 3-8

สารสกัด *Alpinia malaccensis* (ข่าป่า) มีองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ 16 ชนิด (ภาพที่ 4-2) ที่มี มากที่สุดได้แก่ 2-Propen-1-one, 1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenyl- (E)- ร้อยละ 66.527 รองลงมา คือ Trioxsalen ร้อยละ 29.29 ดังแสดงในตารางที่ 3-9

สารสกัด *Alpinia zerumbet* (ข่าคม) มีองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ 13 ชนิด (ภาพที่ 4-3) สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ alpha-d- glucopyranoside ร้อยละ 25.518, benzenedicarboxylic acid ร้อยละ 22.487 และ hexadecanoic acid ethyl ester ร้อยละ 10.816 ดังแสดงในตารางที่ 3-10

สารสกัด *Hornstedtia scyphifera* (ปุดเขย่ง) มีองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ 20 ชนิด (ภาพที่ 4-4) สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ (3E,5E,7E)-6-Methyl-8-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-3,5,7-octatrien-2-one ร้อยละ 46.688, และ Propane, 2,2-bis(ethylthio)-ร้อยละ 26.220 ดังแสดงในตารางที่ 3-11

สารสกัด *Stahlianthus involucratus* (ว่านเพชรใหญ่) มีองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ 18 ชนิด (ภาพที่ 4-5) สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ Benzyl Benzoate ร้อยละ 22.17 และ Ethane isothiocyanato ร้อยละ 17.28 ดังแสดงในตารางที่ 3-12

ตารางที่ 3-1 รายชื่อพืชที่นำมาศึกษา

ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้	สรรพคุณ
ห้อมช้าง	<i>Phlogacanthus curviflorus</i> Nees	Acanthaceae	ใบ	ระงับปวด
ผักแว่นแดง	<i>Ilex rehderi</i> Hook.f.	Amaranthaceae	ทั้งต้น	พื้นฟูกำลัง
ผักแว่นขาว	<i>Amaranthus spinosus</i> Linn.	Amaranthaceae	ทั้งต้น	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
แก้วมณีจีน	<i>Asteriscia laetiflora</i> Wallex Bess.	Asteraceae	ใบ	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
หนวดใหญ่	<i>Blumea balsamifera</i> DC.	Asteraceae	ใบ	ระงับปวดบำรุงร่างกาย
หนวดค้ำ	<i>Hula cappa</i> DC.	Asteraceae	ใบ	ระงับปวดบำรุงร่างกาย
เอื้องขมิ้นขาว	<i>Costus speciosus</i> Smith	Costaceae	เหง้า	ระงับปวดบำรุงร่างกายเสริมหลอดเลือด
เตี้ยดอก	<i>Impatiens balsamina</i> Linn.	Balsaminaceae	ทั้งต้น	พื้นฟูกำลัง
ราชดำป้า	<i>Buddleja cordata</i> Lour.	Buddlejaceae	ใบ	พื้นฟูกำลัง
กุ่มน้ำ	<i>Colea camogro</i> DC.	Capparidaceae	ใบ	พื้นฟูกำลัง
ป้อนุพัทธ์	<i>Gynostemma pentaphyllum</i> Makino	Cucurbitaceae	ใบ	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
มะระขี้นก	<i>Momordica charantia</i> Linn.	Cucurbitaceae	ทั้งต้น	เสริมฤทธิ์พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
หญียง	<i>Euphorbia heterophylla</i> Linn.	Euphorbiaceae	ทั้งต้น	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ขมิ้นคัสลัก	<i>Cassia occidentalis</i> Linn.	Fabaceae	ใบ	พื้นฟูกำลัง
ว่านผอมแดง	<i>Eleutheria bulbosa</i> (Miles) Urban	Liliaceae	หัว	ระงับปวด
สาคูแดง	<i>Phrynium capitatum</i> Willd.	Maranthaceae	ทั้งต้น	ระงับปวดพื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
เตือลื้อจีน	<i>Ficus semicordata</i> J.E. Smith	Moraceae	ใบ	ระงับปวดบำรุงร่างกาย
หม่อน	<i>Morus indica</i> Linn.	Moraceae	ใบ	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ตะบูนสีเหลือง	<i>Plumbago indica</i> Linn.	Plumbagaceae	ราก	บำรุงร่างกาย
ตะบูนสีชมพู	<i>Plumbago zeylanica</i> Linn.	Plumbagaceae	ราก	บำรุงร่างกาย
ชะงัดน้ำ	<i>Sambucus javanica</i> Reinw.	Sabucaceae	ใบ	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ต้นยาง	<i>Solanum elaeagnum</i> D. Don	Solanaceae	ทั้งต้น	พื้นฟูกำลัง
มะแว้งขาว	<i>Solanum nigrum</i> Linn.	Solanaceae	ผล	พื้นฟูกำลัง
ทุลศูกรม	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	Sauraceae	ใบ	ระงับปวดพื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
สร้อยอินทนิล	<i>Thunbergia grandiflora</i> Roxb.	Thunbergiaceae	ใบ	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
มะลูปูสีไทย	<i>Tacca chantrieri</i> Ande	Taccaceae	เหง้า	ระงับปวดบำรุงร่างกาย
มะกรูด	<i>Cleodendrum paniculatum</i> Linn.	Verbenaceae	ราก	บำรุงร่างกาย
ข่าป่า	<i>Alpinia malaccensis</i> Roscoe	Zingiberaceae	เหง้า	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ข่าผสม	<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B.L. Butt. & P.M. Sm.	Zingiberaceae	เหง้า	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ขมิ้นแดง	<i>Cucuma</i> sp.	Zingiberaceae	เหง้า	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ปุด	<i>Ellingera</i> sp.	Zingiberaceae	เหง้า	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ปุดข่อย	<i>Hemstalia scyphiflora</i> Steud.	Zingiberaceae	เหง้า	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
มะระป่า	<i>Kaempferia pulchra</i> Rid.	Zingiberaceae	เหง้า	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ว่านมหานอน	<i>Kaempferia rotunda</i> Linn.	Zingiberaceae	เหง้า	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ไม่มีชื่อ	<i>Stachanthus</i> sp.	Zingiberaceae	เหง้า	ระงับปวดพื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ไม่มีชื่อ	<i>Stachanthus</i> sp.	Zingiberaceae	เหง้า	ระงับปวดพื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย
ไม่มีชื่อ	<i>Zingiber</i> sp.	Zingiberaceae	เหง้า	พื้นฟูกำลังบำรุงร่างกาย

ตารางที่ 3-2 กลุ่มสารสำคัญที่ตรวจพบในสารสกัด

ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	Yield(%)	กลุ่มสารสำคัญ
ห้อมช้าง	<i>Phlogacanthus curvifolius</i> Nees	102	FLA
ผักแว่นแดง	<i>Ilex herbacea</i> Hook.f.	26	FLA
ผักขมิ้นแดง	<i>Amaranthus spinosus</i> Linn.	48	FLA
แก้วมือจีน	<i>Atemisia latifolia</i> WallexBess.	101	FLA, COU
หนวดใหญ่	<i>Blumea balsamifera</i> DC.	125	FLA
หนวดดำ	<i>hulacappa</i> DC.	101	FLA
เอื้องนกยูง	<i>Costus speciosus</i> Smith	42	FLA
เทียนดอก	<i>Impatiens balsamina</i> Linn.	117	FLA, ALK
ราชวัติป่า	<i>Buddleja asiatica</i> Lour.	126	SAP
กุ่มน้ำ	<i>Colea magna</i> DC.	141	SAP
ปัญญาธิ์	<i>Gynostemma pentaphyllum</i> Makino	54	SAP
มะระขี้นก	<i>Momordica charantia</i> Linn.	84	ALK, SAP
หญ้ายาง	<i>Euphorbia heterophylla</i> Linn.	102	FLA, COU, ANT, SAP
ชุมเห็ดเล็ก	<i>Cassia occidentalis</i> Linn.	75	SAP, ALK, ANQ
ว่านหอมแดง	<i>Beurtheine bulbosa</i> (Mille) Urban	43	FLA
สาคูแดง	<i>Phytium capitatum</i> Willd.	76	SAP
เตือลือหิน	<i>Ficus semicordata</i> J.E. Smith	95	FLA, ALK
หน่อหน	<i>Morus indica</i> Linn.	106	FLA, ALK
ตะบูนเล็งแดง	<i>Plumbago indica</i> Linn.	24	ALK
ตะบูนเล็งขาว	<i>Plumbago zeylanica</i> Linn.	43	ALK
สับ้าน้ำ	<i>Sambucus javanica</i> Reinw.	126	FLA, ANT
ต้นยาง	<i>Solanum elaeagnum</i> D. Don	82	ALK, SAP
มะม่วงขมิ้น	<i>Solanum nigrum</i> Linn.	51	ALK, SAP
ทุเรียน	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	84	FLA
สร้อยอินทนิล	<i>Thunbergia grandiflora</i> Roxb.	102	FLA
มะระขี้นก	<i>Tacca chantrieri</i> Ande	148	SAP
มะแว้ง	<i>Cleodendrum paniculatum</i> Linn.	52	FLA
ข่าป่า	<i>Alphitoma malaccensis</i> Roscoe	41	ALK, SAP, FLA, COU
ข่าคิม	<i>Alphitoma umbellata</i> (Pav.) B.L. Butt & R.M. Sm.	37	ALK, SAP, FLA, COU
ขมิ้นแดง	<i>Cucurbita</i> sp.	58	FLA, COU
ปุด	<i>Elitiga</i> sp.	45	FLA, COU
ปุดย่อง	<i>Harstadia scyphifolia</i> Steud.	51	SAP, FLA, COU
มะระป่า	<i>Koempferia pulchra</i> Rd.	44	SAP, FLA, COU
ว่านผดวน	<i>Koempferia rotunda</i> Linn.	47	SAP, FLA, COU
ว่านผดวนใหญ่	<i>Stichanthus involutus</i> (King) Gab	28	FLA, COU
-	<i>Stichanthus macrochlamys</i> Gab	31	FLA, COU
ชิงช้า	<i>Zingiber kenil</i> Gab	33	FLA, COU

หมายเหตุ

กลุ่มสารสำคัญ ALK = Alkaloid; SAP = Saponin; FLA = Flavonoid; ATQ = Antraquinone; ANT = Anthrone; COU = Coumarin

ตารางที่ 3-3ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	IC ₅₀ (µg/ml)		
		DPPH	ABTS ⁺	OH [•]
ห้อมช้าง	<i>Phlogacanthus curviflorus</i> Nees	758 ± 54	1251 ± 42	327 ± 25
ผักแว่นแดง	<i>Iresine herbstii</i> Hook. f.	591 ± 12	1070 ± 39	246 ± 21
ผักหนาม	<i>Amaranthus spinosus</i> Linn.	1291 ± 92	1120 ± 22	422 ± 18
แก้วมืองจีน	<i>Artemisia lactiflora</i> Wall. ex Bess.	832 ± 45	1257 ± 34	514 ± 24
หนาดใหญ่	<i>Blumea balsamifera</i> OC.	768 ± 28	1364 ± 24	354 ± 31
หนาดคำ	<i>Inula cappa</i> DC.	862 ± 12	1485 ± 36	578 ± 47
เอื้องขมขม	<i>Costus speciosus</i> Smith	1791 ± 74	1974 ± 16	228 ± 1
เทียนดอก	<i>Impatiens balsamina</i> Linn.	571 ± 15	1426 ± 24	451 ± 24
ราชดำดีป่า	<i>Buddleja asiatica</i> Lour.	156 ± 4	1584 ± 39	273 ± 1
กุ่มน้ำ	<i>Grateva magna</i> DC.	209 ± 17	1188 ± 10	475 ± 37
ปัญญาขัน	<i>Gynostemma pentaphyllum</i> Makino	542 ± 27	984 ± 23	542 ± 60
มะระขี้นก	<i>Momordica charantia</i> Linn.	521 ± 10	1167 ± 54	392 ± 21
หญ้ายาง	<i>Euphorbia heterophylla</i> Linn.	267 ± 5	832 ± 20	409 ± 10
ชุมเห็ดเล็ก	<i>Cassia occidentalis</i> Linn.	896 ± 65	1247 ± 65	754 ± 82
ว่านหอมแดง	<i>Eleutherine bulbosa</i> (Miller) Urban	1024 ± 92	1354 ± 54	584 ± 61
สาตแดง	<i>Phrynium capitatum</i> Willd.	598 ± 4	866 ± 16	457 ± 17
เดือปล้องหิน	<i>Ficus semicordata</i> J.E. Smith	1127 ± 87	1754 ± 64	687 ± 54
หม่อน	<i>Morus indica</i> Linn.	857 ± 41	1576 ± 45	541 ± 37
เจตมูลเพลิงแดง	<i>Plumbago indica</i> Linn.	687 ± 27	1458 ± 48	628 ± 27
เจตมูลเพลิงขาว	<i>Plumbago zeylanica</i> Linn.	189 ± 9	1474 ± 35	597 ± 34
สะพ้านกัน	<i>Sambucus javanica</i> Reinw.	658 ± 22	1364 ± 34	984 ± 67
ด้ายยาง	<i>Solanum erianthum</i> D. Don	876 ± 35	1241 ± 63	578 ± 34
มะแว้งนก	<i>Solanum nigrum</i> Linn.	675 ± 27	1758 ± 75	485 ± 27
พลูคว	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	567 ± 32	972 ± 2	169 ± 9
สร้อยอินทนิล	<i>Thunbergia grandiflora</i> Roxb.	1653 ± 31	1898 ± 18	331 ± 1
เนระพูสีไทย	<i>Tacca chantrieri</i> Andr.	194 ± 1	922 ± 21	243 ± 6
นมสวรรค์	<i>Clerodendrum paniculatum</i> Linn.	957 ± 28	1584 ± 53	421 ± 22
ข่าป่า	<i>Alpinia malaccensis</i> Roscoe	172 ± 28	292 ± 12	280 ± 7
ข่าคน	<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm.	348 ± 75	512 ± 18	205 ± 14
ขมิ้นแดง	<i>Curcuma roscoeana</i> Wall.	979 ± 90	2051 ± 20	471 ± 61
ปุดใหญ่	<i>Achras macrocheilos</i> Griff.	957 ± 54	1793 ± 92	322 ± 23
ปุดเขื่อง	<i>Homstedtia scyphifera</i> Steud.	478 ± 12	819 ± 41	219 ± 12
เปราะป่า	<i>Kaempferia pulchra</i> Ridl.	587 ± 23	1057 ± 45	321 ± 27
ว่านหางนอน	<i>Kaempferia rotunda</i> Linn.	521 ± 10	1124 ± 32	354 ± 12
ว่านเพชรใหญ่	<i>Stahlianthus involuatus</i> (King) Craib ex Loes.	118 ± 18	650 ± 33	252 ± 24
—	<i>Stahlianthus macroclamys</i> Craib	667 ± 90	1241 ± 18	377 ± 0
ขิงดา	<i>Zingiber keri</i> Craib	532 ± 86	1113 ± 14	200 ± 9

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็น mean ± S.D. (n=3)

ตารางที่ 3-4ฤทธิ์ระงับปวดของสารทดสอบโดยวิธี writhing responses ในหนูถีบจักร

สารทดสอบ	จำนวนครั้งของการบิดเกร็ง	ระงับปวดได้ร้อยละ
10% Tween	21 ± 3	-
Acetyl salicylic acid 150 mg/kg	14 ± 3	33
Morphine 10 mg/kg	0 ± 0*	100
TCH 200 mg/kg	5 ± 1*	76
AMA 200 mg/kg	7 ± 1*	67
ASE 200 mg/kg	8 ± 2*	62
HSC 200 mg/kg	9 ± 2*	57
SIN 200 mg/kg	6 ± 2*	71

TCH = *Tacca chantrieri* Andr. (เนระพูสีไทย); AMA = *Alpinia malaccensis* Roscoe (ข้าป่า); ASE = *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm. (ข้าคม); HSC = *Hornstedtia scyphifera* Steud. (ปุดเข่ง); SIN = *Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes. (ว่านเพชรใหญ่)

ข้อมูลแสดงเป็น Mean ± S.E.M (n= 10)

* มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ 10%Tween (กลุ่มควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ตารางที่ 3-5ฤทธิ์ระงับปวด ของสารทดสอบโดยวิธี hot plate ในหนูถีบจักร

สารทดสอบ	Reaction time (วินาที)		ระงับปวดเป็นร้อยละ
	Tc	Tr	
10% Tween	5.0 ± 0.3	5.3 ± 0.2	2
Acetyl salicylic acid 150 mg/kg	5.5 ± 0.2	5.4 ± 0.4	1
Morphine 10 mg/kg	5.2 ± 0.3	12.3 ± 1.2*	91
TCH 200 mg/kg	4.8 ± 0.3	7.7 ± 0.5*	64
AMA 200 mg/kg	5.8 ± 0.2	8.2 ± 0.9*	45
ASE 200 mg/kg	4.8 ± 0.3	10.3 ± 0.7*	36
HSC 200 mg/kg	4.8 ± 0.3	9.5 ± 0.7*	31
SIN 200 mg/kg	5.2 ± 0.3	9.3 ± 0.7*	61

TCH = *Tacca chantrieri* Andr. (เนระพูสีไทย); AMA = *Alpinia malaccensis* Roscoe (ข้าป่า); ASE = *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm. (ข้าคม); HSC = *Hornstedtia scyphifera* Steud. (ปุดเข่ง); SIN = *Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes. (ว่านเพชรใหญ่)

ข้อมูลแสดงเป็น Mean ± S.E.M (n= 10)

* มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ 10%Tween (กลุ่มควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ตารางที่ 3-6 ผลการทดสอบ forced swim ในหนูถีบจักรที่ได้รับสารทดสอบ 15 และ 35 วัน

สารทดสอบ	Immobility (วินาที)		
	วันที่ 0	วันที่ 15	วันที่ 35
10%Tween	550 ± 22	547 ± 10	583 ± 8
Ginseng powder 100 mg/kg	534 ± 13	542 ± 9	439 ± 24*
TCH 200 mg/kg	502 ± 18	547 ± 10	514 ± 18*
AMA 200 mg/kg	536 ± 18	553 ± 12	506 ± 18*
ASE 200 mg/kg	530 ± 13	533 ± 11	511 ± 25*
HSC 200 mg/kg	536 ± 14	555 ± 11	483 ± 30*
SIN 200 mg/kg	540 ± 20	540 ± 10	505 ± 23*

TCH = *Tacca chantrieri* Andr. (เนระพูสีไทย); AMA = *Alpinia malaccensis* Roscoe (ข้าป่า); ASE = *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm. (ข้าคม); HSC = *Hornstedtia scyphifera* Steud. (ปุดเขย่ง); SIN = *Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes. (ว่านเพชรใหญ่)

ข้อมูลแสดงเป็น Mean ± S.E.M (n= 10)

* มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ 10%Tween (กลุ่มควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

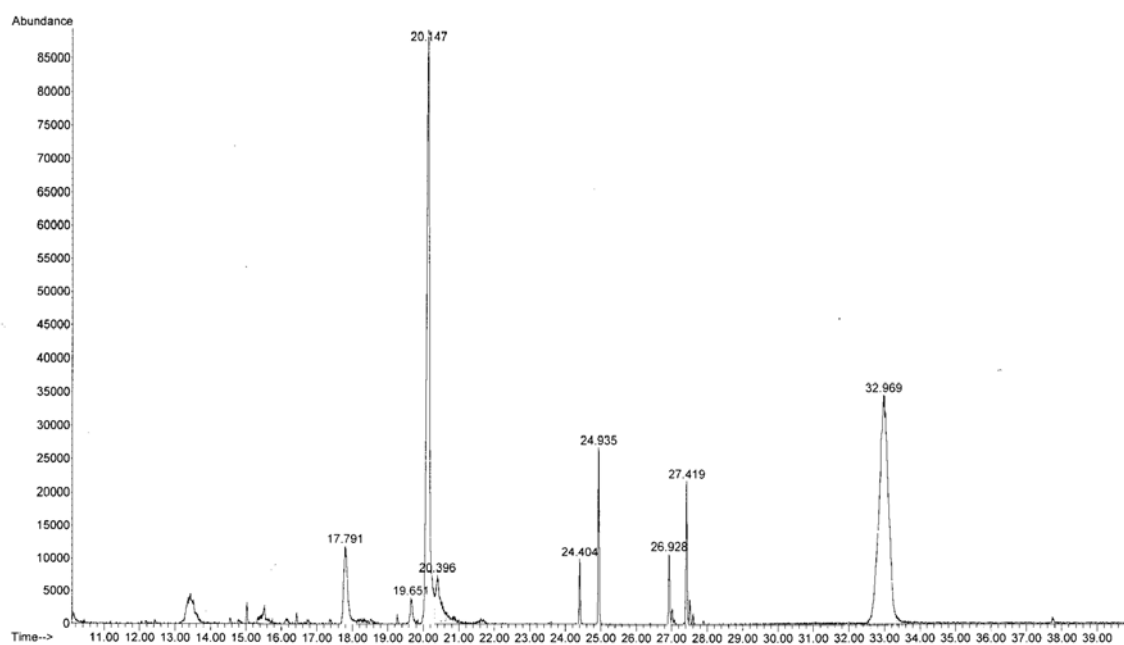
ตารางที่ 3-7 ฤทธิ์ด้านความเครียดของสารทดสอบโดยวิธี Immobilization (physical)-induced stress ในหนูขาว

สารทดสอบ	ความยาวรวมของแผลใน กระเพาะอาหาร (มิลลิเมตร)	ระงับได้ร้อยละ
10% Tween	18.8 ± 5.1	-
TCH 200 mg/kg	3.2 ± 1.4*	83
AMA 200 mg/kg	4.8 ± 2.2*	74
ASE 200 mg/kg	4.9 ± 1.6*	74
HSC 200 mg/kg	12.2 ± 3.6*	35
SIN 200 mg/kg	25.0 ± 3.3*	-

TCH = *Tacca chantrieri* Andr. (เนระพูสีไทย); AMA = *Alpinia malaccensis* Roscoe (ข้าป่า); ASE = *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm. (ข้าคม); HSC = *Hornstedtia scyphifera* Steud. (ปุดเขย่ง); SIN = *Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes. (ว่านเพชรใหญ่)

ข้อมูลแสดงเป็น Mean ± S.E.M (n= 8)

* มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ 10%Tween (กลุ่มควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

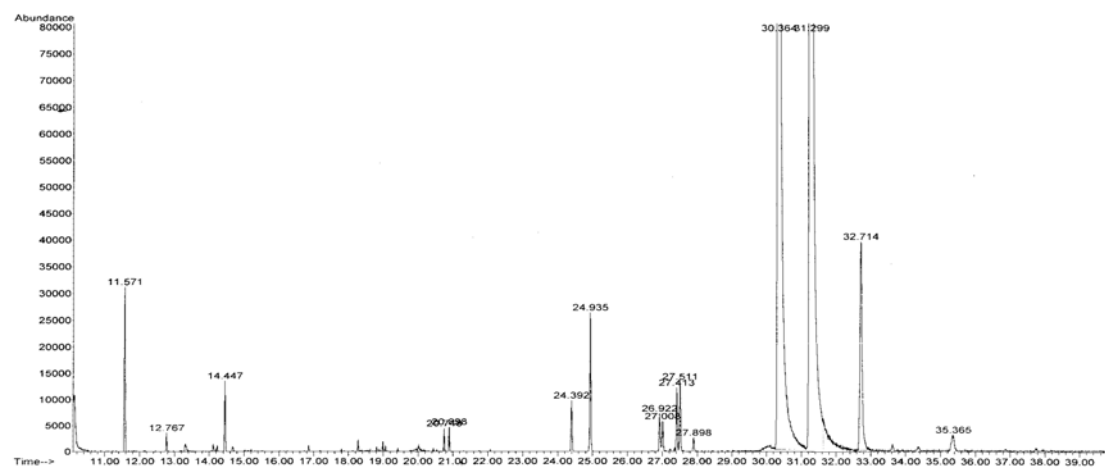


ภาพที่ 3-1 ผลการวิเคราะห์สารสกัด *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย) ด้วย GC/MS

ตารางที่ 3-8 องค์ประกอบของสารสกัด *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย)

Peak	RT	% of Total	Compound
1	17.791	6.13	Oxalic acid, monoamide, n-propyl,pentadecyl ester
2	19.651	1.33	Propanoic acid, ethyl ester
3	20.147	35.79	Ethyl alpha-d-glucopyranoside
4	20.396	4.38	beta-D-Glucopyranose, 4-O-.beta.-D-galactopyranosyl
5	24.404	1.36	n-Hexadecanoic acid
6	24.935	3.81	Hexadecanoic acid, ethyl ester
7	26.928	1.72	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-11-Octadecynenitrile
8	27.419	3.32	Linoleic acid ethyl ester
9	32.969	42.15	Diosgenin

RT = Retention time (min)

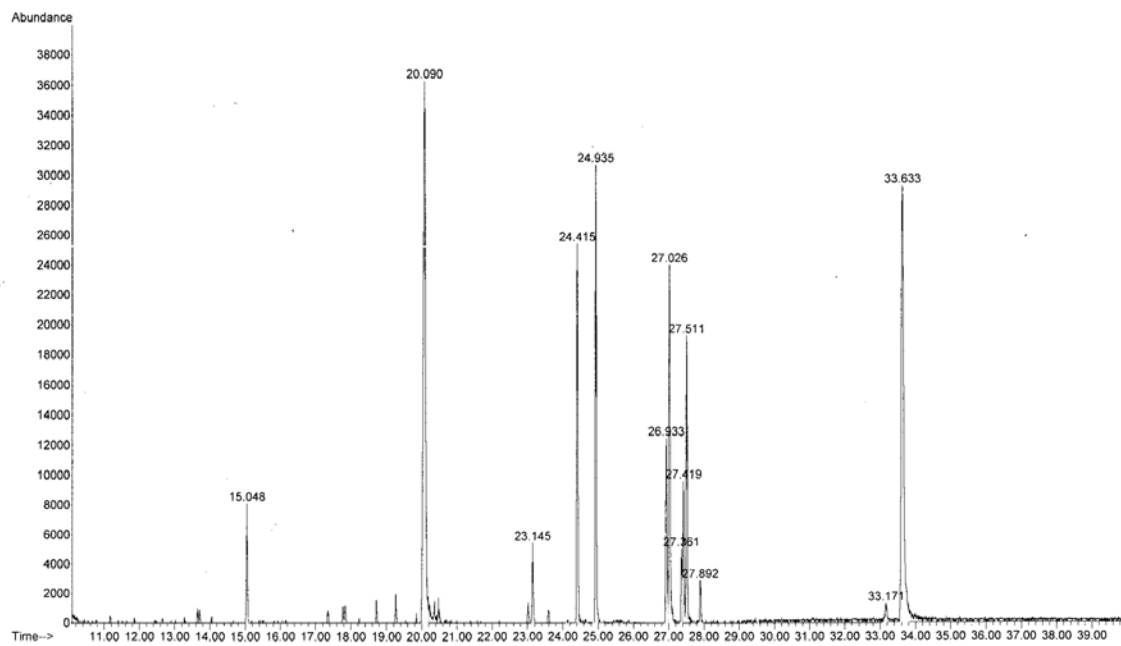


ภาพที่ 3-2 ผลการวิเคราะห์สารสกัด *Alpinia malaccensis* (ข่าป่า) ด้วย GC/MS

ตารางที่ 3-9 องค์ประกอบของสารสกัด *Alpinia malaccensis* (ข่าป่า)

Peak	RT	% of Total	Compound
1	11.571	0.533	Eucalyptol
2	12.767	0.046	N0 matches found
3	14.447	0.218	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.4-trimethyl-
4	20.748	0.059	Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-, [2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.)]-
5	20.898	0.059	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-,(4aR-trans)-
6	24.392	0.175	n-Hexadecanoic acid
7	24.935	0.511	Hexadecanoic acid, ethyl ester
8	26.922	0.149	9,12—Octadecadienoic acid
9	27.008	0.117	1,3-Cyclooctadiene
10	27.413	0.230	Linoleic acid ethyl ester
11	27.511	0.265	4-Methyl-1,4-heptadiene
12	27.898	0.049	Octadecanoic acid, ethyl ester
13	30.364	29.295	Trioxsalen
14	31.299	66.527	2-Propen-1-one,1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenyl- (E)-
15	32.714	1.588	4H-1-Benzopyran-4-one,2,3-dihydro-5,7-dihydroxy-2-phenyl-,(S)-
16	35.365	0.181	2-Mercaptobenzothiazole

RT = Retention time (min)

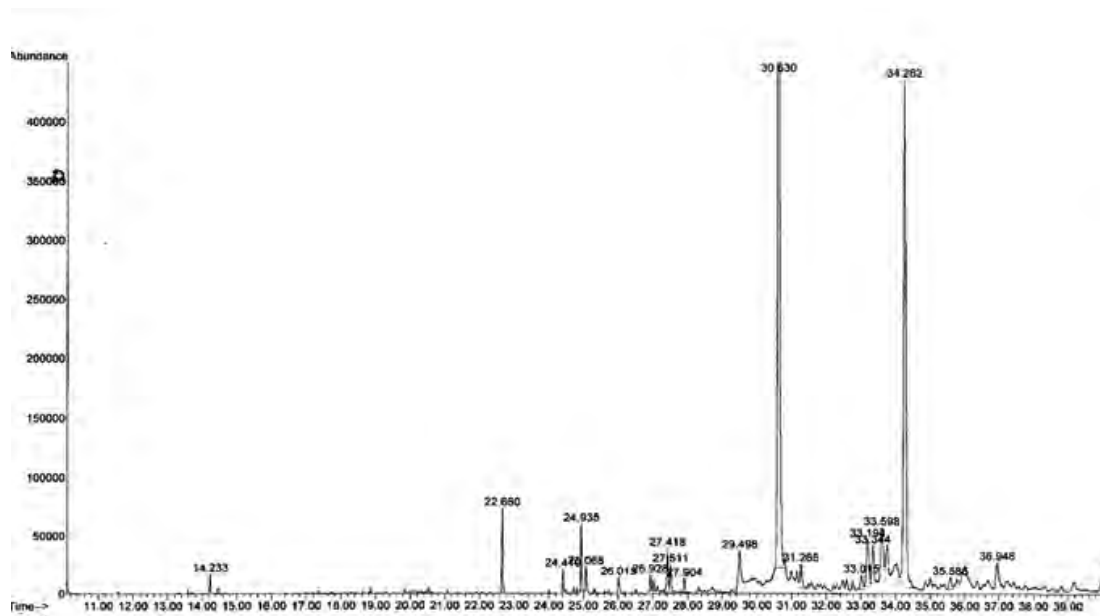


ภาพที่ 3-3 ผลการวิเคราะห์สารสกัด *Alpinia zerumbet* (ข่าคม) ด้วย GC/MS

ตารางที่ 3-10 องค์ประกอบของสารสกัด *Alpinia zerumbet* (ข่าคม) ด้วย GC/MS

Peak	RT	% of Total	Compound
1	15.048	2.464	Furan, 2,3-dihydro-4-methyl-
2	20.090	25.518	Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside
3	23.145	1.723	Phthalic acid, butyl isohexyl ester
4	24.415	9.213	n-Hexadecanoic acid
5	24.935	10.816	Hexadecanoic acid, ethyl ester
6	26.933	4.788	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-1
7	27.026	9.734	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-
8	27.361	1.578	Tetradecanoic acid
9	27.419	3.183	(R)-(-)-14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol
10	27.511	6.660	Methyl (Z)-5,11,14,17-eicosatetraenoate
11	27.892	0.984	Octadecanoic acid, ethyl ester
12	33.171	0.851	No matches found
13	33.633	22.487	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester

RT = Retention time (min)

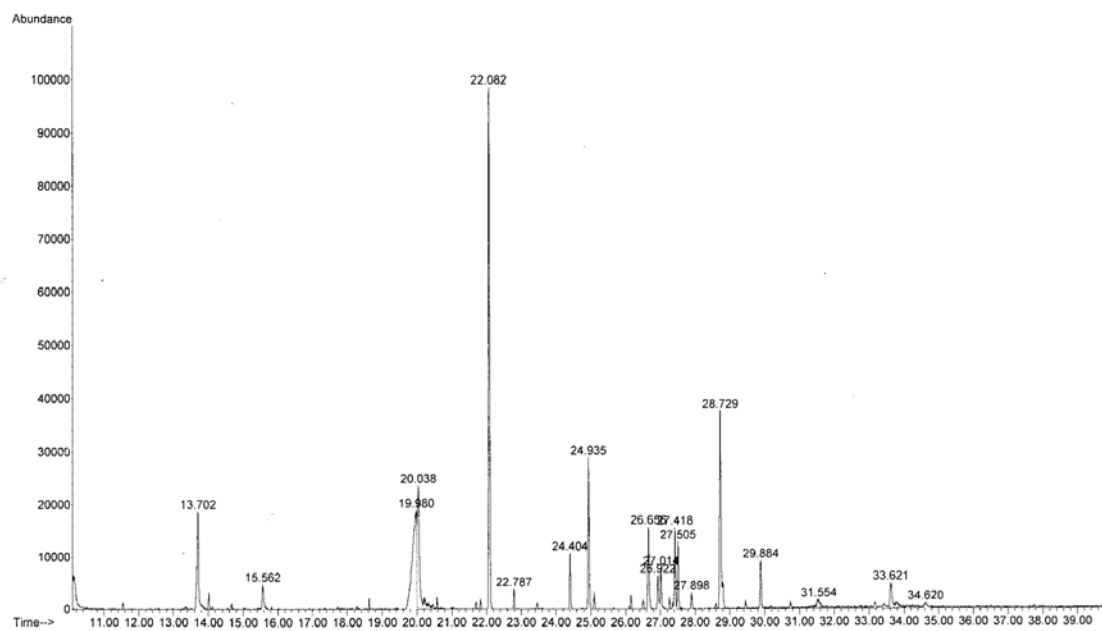


ภาพที่ 3-4 ผลการวิเคราะห์สารสกัด *Hornstedtia scyphifera* (ปูตะเขย่ง) ด้วย GC/MS

ตารางที่ 3-11 องค์ประกอบของสารสกัด *Hornstedtia scyphifera* (ปุดเขย่ง)

Peak	RT	% of Total	Compound
1	14.233	0.421	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-
2	22.560	2.233	5-(1-Bromo-1-methyl-ethyl)-2-methyl-cyclohexanol
3	24.410	0.638	Tridecanoic acid
4	24.935	1.748	Hexadecanoic acid, ethyl ester
5	25.068	0.839	cis, cis-2-Ethylbicyclo[4.4.0]decane
6	26.015	0.542	Acetic acid, 1-methyl-3-(1,3,3 trimethyl-bicyclo [4.1.0] hept-2-yl)-propenyl ester .
7	26.928	0.591	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
8	27.418	1.414	Linoleic acid ethyl ester
9	27.511	0.808	E-11-Hexadecenoic acid, ethyl ester
10	27.904	0.442	Octadecanoic acid, ethyl ester
11	29.498	3.166	3,7-Benzofurandiol, 2,3-dihydro-2,2-dimethyl-
12	30.630	48.688	(3E,5E,7E)-6-Methyl-8-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-3,5,7-octatrien-2-one
13	31.265	1.194	Pregn-14-en-20-ol, (5.alpha.,20S)-
14	33.015	0.662	Kauren-18-ol, acetate, (4.beta.)-
15	33.194	2.766	2-[4-Chloro-trans-styryl]-4-hydroxypyrimidine
16	33.344	1.648	(3,4-Dimethoxyphenyl) (3H-imidazol-4-yl) methanone
17	33.598	3.555	Furane-3-carboxylic acid, 2-methyl-, [2-(4-fluorophenylamino)-2-oxo] ethyl ester
18	34.262	26.220	Propane, 2,2-bis(ethylthio)-
19	35.585	0.692	Germacrene-1(10),4,11(13)-trien-12-oic acid, 6.alpha.-hydroxy-, .gamma.-lactone, (E,E)-
20	36.948	1.731	Germacrene-1(10),4,11(13)-trien-12-oic acid, 6.alpha.-hydroxy-, .gamma.-lactone, (E,E)-

RT = Retention time (min)



ภาพที่ 3-5 ผลการวิเคราะห์สารสกัด *Stahlianthus involucratus* (ว่านเพชรใหญ่) ด้วย GC/MS

ตารางที่ 3-12 องค์ประกอบของสารสกัด *Stahlianthus involucratus* (ว่านเพชรใหญ่)

Peak	RT	% of Total	Compound
1	13.702	6.95	Benzenecarboxylic acid
2	15.562	1.64	Resorcinol
3	19.980	17.28	Ethane, isothiocyanato-
4	20.038	9.11	Heptanoic acid
5	22.082	22.71	Benzyl Benzoate
6	22.787	0.71	l-Methoxy-3-(2-hydroxyethyl)nonane
7	24.404	2.42	n-Hexadecanoic acid
8	24.935	6.36	Hexadecanoic acid, ethyl ester
9	26.656	4.39	Phytol
10	26.922	1.71	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
11	27.014	2.02	cis,cis,cis-7,10,13-Hexadecatriena
12	27.418	3.73	Linoleic acid ethyl ester
13	27.505	2.96	7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester
14	27.898	0.68	D-Gluconic acid, 2,3,4,5-tetra-O-methyl-6-O-(2,3,4,6-tetra-O-methyl- α -D-glucopyranosyl)-, methyl ester
15	28.729	11.18	2-Phenanthrenol, 7-ethenyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-dodecahydro-1,1,4a,7-tetramethyl-, [2S-(2. α .,4a. α .,4b. β .,7. β .,10a. β .)]-
16	29.884	2.52	2-Isopropylidenehydrazono-3-methyl-6-chloro-2,3-dihydrobenzothiazole
17	31.554	0.87	No matches found
18	33.621	2.03	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester
19	34.620	0.74	No matches found

RT = Retention time (min)

บทที่ 4

อภิปรายผล

4.1 การศึกษาการใช้ประโยชน์จากพืชตามภูมิปัญญาของชาวไทยภูเขา

ก่อนงานวิจัยนี้ (ก่อน พ.ศ. 2550) ได้มีการศึกษาการใช้พืชสมุนไพรของชาวไทยภูเขามาบ้างแล้ว ผลงานศึกษาที่นับได้ว่าเป็นการรวบรวมภูมิปัญญาของชาวเขาในการใช้ประโยชน์จากพืช เป็นครั้งแรก เป็นงานเขียนของ ดร. Edward F. Anderson แห่งสวนพฤกษศาสตร์เมือง Phoenix มลรัฐ Arizona สหรัฐอเมริกา พิมพ์ในปี 2546 (Anderson, 1993) หนังสือนี้ ได้รายงานการใช้ประโยชน์จากพืชตามภูมิปัญญาของ 6 ชนเผ่าใหญ่ ได้แก่ กะเหรี่ยง ม้ง ละหู่ เมี่ยน อาข่า และ ลีซู ที่อาศัยอยู่ในดินแดนรอยต่อสามประเทศ ไทย ลาว พม่า ที่เรียกว่า สามเหลี่ยมทองคำ ผู้เขียนได้ให้รายละเอียดในด้านชื่อชนิดของพืช การใช้ประโยชน์ทางด้านการต่างๆ ได้แก่ การก่อสร้าง การบำบัดรักษาโรค การใช้เป็นสีย้อมและประเพณีความงาม การใช้เป็นอาหาร ตลอดจนบทบาทของพืชในวัฒนธรรมและวิถีชีวิต งานของ ดร. Anderson มีจุดเด่นอยู่ที่การบ่งชี้ชื่อชนิดของพืชโดยอาศัยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ ทำให้แน่ใจในความถูกต้องของข้อมูล

ในปี 2549 ได้มีงานของ ดร. ยิ่งยง เทาประเสริฐ จากวิทยาลัยการแพทย์พื้นบ้านและการแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย (ยิ่งยง เทาประเสริฐ, 2549a-e) เป็นการรวบรวมข้อมูลการใช้พืชสมุนไพรของชนเผ่าต่างๆ ได้แก่ ละหู่ ไทยใหญ่ อาข่า เมี่ยน และม้ง งานวิจัยนี้ เป็นการบันทึกข้อมูลวิธีการวินิจฉัยความเจ็บไข้ และการใช้สมุนไพรบำบัดรักษา ตามความเชื่อของชนเผ่า จากการสัมภาษณ์หมอหรือผู้มีประสบการณ์บำบัดรักษา โดยมีได้ทดสอบฤทธิ์โดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ แม้ว่าการศึกษาของ ดร. ยิ่งยง มิได้ให้ข้อมูลรายละเอียดของพืชสมุนไพร โดยเฉพาะอย่างยิ่งชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง แต่ก็เห็นว่า มีคุณค่ายิ่งทางด้านมานุษยวิทยาทางการแพทย์

ข้อมูลจากการศึกษาของ ดร. Anderson และ ดร.ยิ่งยง ทำให้ทราบว่า ชาวเขาที่อยู่บนพื้นที่สูงมีภูมิปัญญาอันอุดมในการใช้ประโยชน์จากพืชท้องถิ่น บรรดาภูมิปัญญาเหล่านี้ อาจมีสิ่งที่มีคุณค่า และมีศักยภาพที่จะเป็นประโยชน์ต่อผู้คนในสังคมอื่นๆ ถ้าได้รับการศึกษา วิเคราะห์ และพัฒนา

แม้ว่าถิ่นที่อยู่ของชาวไทยภูเขา ค่อนข้างห่างไกลจากชาวไทยพื้นราบอื่นๆ แต่ท่ามกลางการพัฒนาและกระแสโลกาภิวัตน์ การเปลี่ยนแปลงในทุกๆ ด้าน ย่อมเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ ภูมิปัญญาการใช้ประโยชน์จากพืช บ้างก็คงอยู่ บ้างก็ถูกละเลย เป็นที่น่าเสียดายยิ่ง ถ้าภูมิปัญญาที่มีคุณค่าเหล่านี้ จะสูญหายไป

4.2 แนวคิดเกี่ยวกับความเจ็บไข้และการบำบัดรักษา

ผลการศึกษาที่สรุปในงานของ ดร. Anderson ชี้ว่า ชาวไทยภูเขาโดยรวม เชื่อว่า ความเจ็บไข้เกิดขึ้นได้จากเหตุ 3 ประการได้แก่ เหตุโดยธรรมชาติ เช่น แขนหัก ขาหัก มีดบาด อาหารเป็นพิษ เป็นต้น เหล่านี้ล้วนเกิดจากสิ่งที่มองเห็น หรือเข้าใจได้ และมักมีวิธีการหรือยาสมุนไพรที่สามารถบำบัดรักษาได้ พืชสมุนไพรชนิดที่ปลูกไว้ในเขตบ้านเรือน ก็เพื่อใช้บำบัดรักษาความเจ็บไข้ชนิดนี้ เหตุประการที่สองคือเกิดจากภูตผี หรือวิญญาณชั่วร้าย มากระทำ ดังนั้นจึงต้องหลีกเลี่ยงการกระทำที่จะเป็นการรบกวน “ผี” เหล่านี้ ความเจ็บไข้ชนิดนี้ มักบำบัดรักษาได้โดยการทำพิธีขอขมา หรือทำให้ “ผี” หายไถ่ อาจมีการใช้พืชสมุนไพรในพิธีกรรมบ้าง แต่ส่วนใหญ่ของพิธี ยังเป็นเรื่องการบริกรรมของ “หมอผี” สาเหตุประการที่

สามของความเจ็บไข้ เป็นเรื่องของการขาดความสมดุลของพลังในร่างกายซึ่งเป็นแนวคิดที่ได้รับอิทธิพลมาจากการแพทย์จีน การบำบัดรักษา มักใช้พืชสมุนไพรหรือตำรับยา รวมทั้งการใช้อุปกรณ์หรือวิธีการบางอย่างกระทำต่อร่างกายผู้ป่วย เช่น การชูดมหนัง การใช้ ถ้วยดูด การใช้พืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ “ร้อน” หรือ “เย็น” เป็นต้น

4.3 พืชที่ใช้บำรุงกำลัง

ชาวเขามักบรรยายอาการอ่อนเพลียว่า รู้สึกเหมือนตัวหนัก ไม่คล่องแคล่ว เบื่ออาหาร ไม่มีกำลัง ทำงานที่ใช้แรงงาน นอนไม่หลับหรือหลับไม่สนิท รวมทั้งอาจมีอาการหงุดหงิด ไม่สบายใจ การบำบัดรักษา ด้วยพิธีกรรม อาจทำโดยการเรียกขวัญ ผูกข้อมือ หรือฆ่าสัตว์เช่นสังเวีย ในส่วนของพืชสมุนไพรที่ใช้บำบัดอาการต่างๆดังกล่าวมานี้ มีความหลากหลายมาก งานวิจัยนี้ ได้คัดเลือกพืชที่มีการกล่าวอ้างถึงสรรพคุณ อย่างใดอย่างหนึ่งหรือมากกว่า ในสรรพคุณ 5 ประการได้แก่ ระวังปวด ฟั่นพุงกำลัง บำรุงร่างกาย เสริมพลังทางเพศ และ เจริญอาหาร เมื่อตรวจสอบข้อมูลจากเอกสาร และจากการสัมภาษณ์หมอยาชาวไทยภูเขา ผู้ใช้แล้ว สามารถคัดเลือกพืชสมุนไพรได้ 37 ชนิด มาทำการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในขั้นต่อไป

4.4 กลุ่มสารสำคัญในพืชที่คัดเลือก

ผลการตรวจคัดกรองสารสกัดพืชทั้ง 37 ชนิด พบว่า สารกลุ่มที่มีในพืชจำนวนมากที่สุดคือ flavonoid และ saponin ซึ่งมีอยู่ในพืชถึง 26 และ 15 ชนิด ตามลำดับ ทั้ง flavonoids และ saponins ล้วนเป็น secondary metabolites ที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและระงับการอักเสบ สารในกลุ่มดังกล่าว หลายชนิด ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือแม้กระทั่งทำลายเซลล์ของแบคทีเรียหลายชนิด ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ reverse transcriptase และ protease ของไวรัส รวมทั้งทำลายโปรโตซัวบางชนิดที่ทำให้เกิดโรคด้วย (Havsteen, 2002; Sparg et al., 2004)

4.4 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ดังได้กล่าวมาแล้วในบทนำว่า สรรพคุณบำบัดความอ่อนล้า บำรุงกำลัง และชะลอความชรา นั้น ยากที่จะพิสูจน์ให้ประจักษ์ได้โดยตรง ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ จึงใช้การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายชนิด เพื่อประเมินศักยภาพของพืชสมุนไพรที่สามารถนำไปสร้างเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปได้ ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ทดสอบคือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ต้านความเครียด และฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้า โดยใช้วิธีการอันเป็นที่ยอมรับทางวิชาการ

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด 5 ชนิด ได้แก่ เนระพูสีไทย (*Tacca chantrieri* Andr.), ข่าป่า (*Alpinia malaccensis* Roscoe), ข่าคม (*Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm.), ปุดเขย่ง (*Hornstedtia scyphifera* Steud.) และ ว่านเพชรใหญ่ (*Stahlianthus involucratus* (King) Craib ex Loes.) และเมื่อนำสารสกัด ทั้ง 5 ชนิดนี้ ไปทดสอบฤทธิ์อื่นๆพบว่า สารสกัดทั้ง 5 ชนิด ในขนาดที่ได้ทำการศึกษา ไม่ทำให้เกิดพิษในสัตว์ทดลอง และสามารถแสดงฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้า โดยการทดสอบ forced swim ในหนูถีบจักรได้ทุกสารสกัด แต่ในการทดสอบฤทธิ์ระงับปวด โดยวิธี writhing responses และวิธี hot plate และฤทธิ์ต้านความเครียด โดยวิธี immobilization (physical)-induced stress ในหนูถีบจักรเช่นกัน พบว่า มีเพียงสารสกัด เนระพูสีไทย เท่านั้นที่ให้ผลเด่นชัดที่สุด ขณะที่สารสกัด ปุดเขย่ง แสดงฤทธิ์รองลงมา

4.6 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเนระพูสีไทย

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัด *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย) ด้วย GC-MS ซึ่งว่าสารที่มีมากที่สุดได้แก่ Diosgenin ร้อยละ 42.15 สอดคล้องกับผลการสกัดแยกสารกลุ่ม saponins ที่มีผู้รายงานมาแล้ว (Zhou *et al*, 1983, Yokosuka *et al*, 2002a, Yokosuka *et al*, 2002b, Yokosuka *et al*, 2002c, Yokosuka *et al*, 2003, Yokosuka *et al*, 2005)

4.5 การประยุกต์ใช้องค์ความรู้จากงานวิจัยนี้

การได้ค้นพบว่า สารสกัด *Tacca chantrieri* (เนระพูสีไทย) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ระวังปวด ระวังอาการเครียดและต้านทานความเหนื่อยล้า เป็นพื้นฐานที่ทำให้เกิดการศึกษาวิจัยต่อเนื่องถึงฤทธิ์ระงับปวดและระงับการอักเสบ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่นๆโดยละเอียด ตลอดจนได้ประเมินความปลอดภัยของพืชชนิดนี้ โดยอาศัยทุนสนับสนุนงานวิจัยจากแหล่งอื่นๆ ทำให้เกิดการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ระงับการอักเสบ 2 ชนิด ซึ่งกำลังได้รับการทดสอบฤทธิ์ในอาสาสมัคร (clinical trial) ที่มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย คาดว่างานวิจัยนี้ จะสามารถสรุปผลได้ในกลางปี 2555

บทที่ 5

Output ที่ได้จากโครงการ

5.1 รายงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

ได้รายงานผลงานวิจัยในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติ 1 เรื่องคือ Analgesic, Antipyretic and Anti-inflammatory Effects of *Tacca chantrieri* Andre ตีพิมพ์ในวารสาร Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(19). pp. 1991-1995, 4 October, 2010 ดังแสดงใน ภาคผนวก 3

รายงานวิจัยนี้ แสดงฤทธิ์ระงับปวดและระงับอักเสบของสารสกัด เนระพูสีไทย ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งในการศึกษาครั้งนี้ ผลงานวิจัยนี้ เป็นพื้นฐานให้สามารถทำการวิจัยต่อไป โดยอาศัยทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงเพิ่มเติม สร้างเป็นผลิตภัณฑ์ที่ศักยภาพเชิงพาณิชย์

5.2 ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่มีศักยภาพในการผลิตเชิงพาณิชย์

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้าของพืชที่มีสรรพคุณพื้นฟูพลังกำลัง และชะลอความชราตามภูมิปัญญาของชาวไทยภูเขา ทำให้สามารถคัดเลือกพืชที่มีฤทธิ์เด่นมาศึกษาฤทธิ์ระงับปวดและระงับการอักเสบโดยละเอียด โดยอาศัยทุนวิจัยเพิ่มเติมจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จนในที่สุดสามารถประดิษฐ์ผลิตภัณฑ์มาตรฐานจากสารสกัดของเนระพูสีไทย ทั้งยังได้ทำการทดสอบทางคลินิกด้วย ผลการวิจัยเบื้องต้นเป็นที่น่าพอใจ ได้ผลิตภัณฑ์ 2 ชนิด คือ

1. Tacca Spray (ภาพที่ 5-1) เป็นผลิตภัณฑ์ใช้ภายนอกสำหรับบรรเทาอาการอักเสบ ฟกช้ำ ปวดข้อและกล้ามเนื้อ มีสารสกัดจากพืชสมุนไพร เนระพูสีไทย ที่มีสารซาบินิน 2 % ไม่มีสารที่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ไม่ติดสีเสื้อผ้าใช้ฉีดยาบริเวณที่ปวดหรือมีการอักเสบ ลูบได้เบาๆ โดยไม่จำเป็นต้องนวด
2. Tacca Gel (ภาพที่ 5-2) เป็นผลิตภัณฑ์ใช้ภายนอกสำหรับบรรเทาอาการผิวหนังอักเสบ (Inflammatory acne) มีสารสกัดจากพืชสมุนไพร เนระพูสีไทย ที่มีสารซาบินิน 2 % ไม่มีสารที่ก่อให้เกิดการระคายเคือง มีวิธีใช้ ดังนี้ ล้างหน้าให้สะอาด แต้ม Tacca Gel บริเวณที่เป็นสิว วันละ 1-2 ครั้ง โดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นหลังจากการใช้ครั้งแรก



ภาพที่ 5-1 ผลิตภัณฑ์ Tacca Spray



ภาพที่ 5-2 ผลิตภัณฑ์ Tacca Gel

5.3 รายงานการวิจัยที่ได้นำเสนอในการประชุมต่างๆ

นอกเหนือจากการนำเสนอความก้าวหน้างานวิจัยในรูปแบบโปสเตอร์ ตามข้อกำหนดของ สกว. ในการประชุม “นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว.” ครั้งที่ 8, 9, และ 10 ที่ โรงแรมฮอลิเดย์อินน์ รีสอร์ท รีเจนท์ บีช ชะอำ จังหวัดเพชรบุรี ในเดือนตุลาคม 2551, 2552, และ 2553 ตามลำดับ บทความย่อ แสดงในภาคผนวก 4, 5, และ 6 แล้ว

บางส่วนของผลงานที่ได้จากการวิจัยนี้ ได้ถูกนำเสนอในรูปแบบ oral presentation ในการประชุม 2 ครั้งดังนี้

1.

การประชุมระดมสมองการสร้างเครือข่ายความร่วมมือด้านวิจัย ทอมก : วิจัยวิจัยกับการพัฒนาประเทศ ประจำปี พ.ศ.2553 วันที่ 21 พฤษภาคม 2553 โรงแรมเอเชียราชเทวี กรุงเทพฯ บทความย่อ แสดงในภาคผนวก 7.

2.

การประชุมวิชาการประจำปี การแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน และการแพทย์ทางเลือกแห่งชาติ ครั้งที่ 7 ระหว่างวันที่ 1-3 กันยายน 2553 ณ ศูนย์การประชุมและแสดงสินค้าอิมแพ็ค เมืองทองธานี กรุงเทพมหานคร บทความย่อ แสดงในภาคผนวก 8.

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิงภาษาไทย

ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว ไชยยัง รุจจนเวท ตำรายาสมุนไพรของไทยใหญ่ในล้านนา เล่ม 1 เชียงใหม่ โรงพิมพ์มิ่งเมือง 2550

ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว ไชยยัง รุจจนเวท ตำรายาสมุนไพรของไทยใหญ่ในล้านนา เล่ม 2 เชียงใหม่ โรงพิมพ์มิ่งเมือง 2551

ยิ่งยง เทาประเสริฐ บรรณาธิการ ตำราการแพทย์และสมุนไพรชนเผ่าเมี่ยน (Mien) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว. สำนักงานภาค) 2549a

ยิ่งยง เทาประเสริฐ บรรณาธิการ ตำราการแพทย์และสมุนไพรชนเผ่าม้ง (Mhong) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว. สำนักงานภาค) 2549b

ยิ่งยง เทาประเสริฐ บรรณาธิการ ตำราการแพทย์และสมุนไพรชนเผ่าละหู่ (Lahu) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว. สำนักงานภาค) 2549c

ยิ่งยง เทาประเสริฐ บรรณาธิการ ตำราการแพทย์และสมุนไพรชนเผ่าอาข่า (Akha) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว. สำนักงานภาค) 2549d

ยิ่งยง เทาประเสริฐ บรรณาธิการ ตำราการแพทย์และสมุนไพรชนเผ่าไทยใหญ่ (Shan) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว. สำนักงานภาค) 2549e

เอกสารอ้างอิงภาษาอังกฤษ

- Anderson, E.F., *Plants and People of the Golden Triangle.*, ChiangMai: Silkworm Books, 1993.
- Attele, A.S., J.A. Wu and C.S. Yuan. 1999. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem. Pharmacol.* 58: 1685–1693.
- Bhattacharya, S.K., Goel R, K., Kaur, R., Ghosal, S. 1987. Anti –stress activity of Sitoindosides VII and VIII, New Acylsterylglucosides from *Withania somnifera*. *Phytother. Res.*, 1: 32-37.
- Bhattacharya, S.K., Muruganandam, A.V. 2003. Adaptogenic activity of *Withania somnifera*: an experimental study using a rat model of chronic stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, Volume 75 (3): 547-555.
- Brekhman I.I., Kirillov O.I., 1969a. Effect of Eleutherococcus on the alarm-phase of stress. *Life Sciences. part I: Physiology and Pharmacology*; 8(3):113-21.
- Brekhman I.I., Dardymov I.V., 1969b. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Ann Rev Pharmacol* 9: 419-30
- Fregley, M.J. 1953. Minimal exposures needed to acclimatize rats to cold. *Am. J. Physiol.*, 173: 393–398.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Aruoma, O.I. 1987. The deoxyribose method: A simple test-tube assay for determination of rate constant for reactions of hydroxyl radicals. *Anal. Biochem.* 165: 215-219.
- Havsteen, B.H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics* 96: 67– 202.
- Hou, W.C., Y.C. Chen, H.J. Chen, Y.H. Lin, L.L. Yang, and M.H. Lee. 2001a. Antioxidant activities of trypsin inhibitor, a 33 kDa root storage protein of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam cv. Tainong 57). *J. Agric. Food Chem.* 49: 2978-2981.
- Kannur, D.M., Hukkeri, V.I., Akki K.S. 2006 Adaptogenic activity of *Caesalpinia bonduc* seed extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 108(3): 327-331
- Nakamura, H., Shimoda, A., Ishi, K., Kadokawa, T. 1986. Central and peripheral analgesic action of non-acidic non steroidal antiinflammatory drugs in mice-rats, *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* (Gent). 282: 16-25.
- OECD, 2001. Test no. 425: acute oral toxicity – up and down procedure. In: *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*. 17 December 2001, pp. 1–14.
- Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M. 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266 (5604): 730-732.

- Rai, D., Bhatia, G., Palit, G., Pal, R., Singh, S., Singh, H.K., 2003. Adaptogenic effect of *Bacopa monniera* (Brahmi). Pharmacol. Biochem. Behav. 75, 823–830.
- Ramachandran, U., H.M. Divekar, S.K. Grover, K.K. 1990. New experimental model for the evaluation of adaptogenic products. Journal of Ethnopharmacology 29 (3): 275-281.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 26 (9-10): 1231–1237.
- Saggu, S., Divekar, H.M., Sawhney, R.C., Gupta, V., Banerjee, P.K., Kumar, R. 2006. Adaptogenic and toxicity evaluation of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaf extract: A dose dependent study. Toxicology Letters, 164, Supplement, 20: S196.
- Singh, B., Chandan, B.K., Sharma, N., Singh, S., Khajuria, A., Gupta, D.K. 2005 Adaptogenic activity of glyco-peptido-lipid fraction from the alcoholic extract of *Trichopus zeylanicus* Gaerten (part II) Phytomedicine 12 (6-7): 468-481.
- Siripurapu, K.B., Gupta, P., Bhatia, G., Maurya, R., Nath, C., Palit, G. 2005. Adaptogenic and anti-amnesic properties of *Evolvulus alsinoides* in rodents. Pharmacology Biochemistry and Behavior 81(3): 424-432.
- Sparg, S.G., Light, M.E., van Staden, J. 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. Journal of Ethnopharmacology 94 : 219–243.
- Takagi T, Kasuya Y, Watanabe K. Studies on the drug for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1963; 12: 465-472.
- Ushijima, M., Sumioka, I., Kakimoto, M., Yokoyama, K., Uda, N., Matsuura, H., Kyo, E., Suzuki, A., Kasuga, S., Itakura, Y., Petesch, B.L., Amagase, H. 1997. Effect of garlic and garlic preparation on physiological and psychological stress in mice. Phytother. Res., 11: 226–230.
- Woolfe, G., MacDonald, A.D. 1944. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (DEMEROL). J. Pharmacol. Exper. Ther. 80: 300-307.
- Yokosuka A, Mimaki Y, Sakagami, H., Sashida Y (2002a). New diarylheptanoids and diarylheptanoid glucosides from the *Tacca chantrieri* and their cytotoxic activity. J Nat Prod 65: 283-289.
- Yokosuka A, Mimaki Y, Sashida Y (2002b). Steroidal and pregnane glycosides from the rhizomes of *Tacca chantrieri*. J Nat Prod 65: 1293-1298.
- Yokosuka A, Mimaki Y, Sashida Y (2002c). Spirostanol saponins from the rhizomes of *Tacca chantrieri* and their cytotoxic activity. Phytochemistry 61 (1):73-78.
- Yokosuka A, Mimaki Y, Sashida Y (2003). Chantriolides A and B, two new withanolide glucosides from the rhizomes of *Tacca chantrieri*. J Nat Prod 66: 876-878.

Yokosuka A, Mimaki, Y, Sakuma C, Sashida Y (2005). New glycosides of the campesterol derivative from the rhizomes of *Tacca chantrieri* . *Steroids* 70:257–265

Zhou J, Chen CH, Liu RM And Yang CR. Studies on the chemical components of the *Tacca chantrieri* Andre. *Chih Wu Hsueh Pao* 1983; 25; 6: 568-573.

ภาคผนวก

ภาคผนวก1. รายชื่อบุคคลที่ให้ข้อมูลพิษสมุนไพรร

รายชื่อ	ชนชาติ	ที่อยู่
นางอาป่ามาเยอะ	อาข่า	11 หมู่ 8 ต.ท่าสุต อ.เมือง จ.เชียงราย
นางฉา แซ่ว่าง	ม้ง	52 หมู่ 4 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นายวัฒนะ วิริยะส่องแสง	ม้ง	57 หมู่ 4 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นางระ อัสวจินดาพล	ม้ง	91 หมู่ 7 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นางสุภา หาญพญาไพร	ม้ง	1 หมู่ 7 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นางวิภา วรกิจพานิชย์	ม้ง	22 หมู่ 7 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นางหลือ แซ่ม้า	ม้ง	60 หมู่ 7 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นางป้า ยั้งยี่น	ม้ง	54 หมู่ 7 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นายธงชัย อัสวจินดาพล	ม้ง	76 หมู่ 4 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นางหม่อ อัสวจินดาพล	ม้ง	3 หมู่ 7 ต.ขุนควร อ.ปง จ.พะเยา
นายเสาร์คำ เจริญชัย	ไทยใหญ่	180 หมู่ 14 ต.ท่าตอน อ.แม่สาย จ.เชียงราย

ภาคผนวก 2. Spray reagents สำหรับตรวจคัดกรองกลุ่มสาระสำคัญ

กลุ่มสาร	Spray reagent	Positive result
alkaloids	Dragendorff's	สีน้ำตาลใน visible light
saponins	Vanillin-sulfuric acid	น้ำเงิน ใน visible light
flavonoids	Natural Products polyethyleneglycol	เหลือง เขียว ส้ม ใน visible light
cardiac glycosides	Kedde	ชมพู/ม่วง ใน visible light
anthraquinones	10% ethanolic KOH	แดง ใน visible light
anthrones	10% ethanolic KOH	เหลือง
coumarins	10% ethanolic KOH	เรืองแสงเขียวอมเหลือง ใน UV-365 nm

Full Length Research Paper

Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of *Tacca chantrieri* Andre

Kittipong Keardrit¹, Chaoyong Rujjanawate^{2*} and Duangporn Amornlerdpison³

¹Faculty of Science and Technology, Surindra Rajabhat University, Surindra, Thailand.

²School of Health Science, Mae Fah Luang University, Thailand.

³Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, 50290 Thailand.

Accepted 13 September, 2010

Tacca chantrieri Andre is an indigenous perennial of the tropics which is used by local healers to relieve pains of the body and stomach, and as an antidote for food poisoning. The present study was undertaken to investigate the analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activities of *T. chantrieri* as claimed in traditional medicine. The ethanolic extract of the plant's rhizome was prepared and tested in experimental animals. It was found that the extract significantly inhibited pain caused by acetic acid injection in the writhing response test in mice and the tail flick test in rats. This finding suggests that the extract exerts analgesic effect through both peripheral and central mechanisms. The analgesic effect was not antagonized by pretreatment with naloxone, an opioid antagonist and this signifies a mechanism other than that of the opioid system was utilized. The extract also significantly decreased the yeast-induced hyperthermia in rats. Anti-inflammatory effect of *T. chantrieri* extract was demonstrated in ethylphenylpropionate-induced ear edema and formalin tests in mice. These findings indicate that the ethanol extract of *T. chantrieri* possesses analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects, which is in accord with its use in traditional medicine.

Key words: *Tacca chantrieri* Andre, analgesic, anti-pyretic, anti-inflammatory.

INTRODUCTION

Tacca chantrieri Andre (Taccaceae) is an indigenous perennial of the tropics. The plant can be ornamental due to its queer looking flower that is shaped like a flying bat. The decoction of *T. chantrieri* rhizomes, alone or in combination with other herbs, is used by local healers in South-east Asia to relieve pains of the body and stomach, and as an antidote for food poisoning. Phytochemical studies of the rhizomes of *T. chantrieri* have yielded a wide array of saponins and glycosides (Yokosuka et al., 2002; 2005), and some compounds (spirostanol saponins and diarylheptanoid glucosides) have shown cytotoxic properties.

However, there has been no pharmacological study to support the beneficial effect of *T. chantrieri*. As per the traditional use, we hypothesized that the plant possesses analgesic antipyretic and anti-inflammatory activities.

Therefore, the aim of the current study was to investigate these activities of the plant in experimental animals. Crude ethanolic extract of *T. chantrieri* (TCE) was prepared from the plant's rhizome. The TCE was tested for analgesic activity using writhing responses in mice and tail flick test in rats. Anti-inflammatory activity was evaluated by formalin test in and ethyl phenylpropionate-induced ear edema in rats. Lastly, the TCE was tested for the antipyretic activity using yeast-induced hyperthermia in rats.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and extraction

The rhizomes of *T. chantrieri* were collected from Payao province in April 2009. The plant was authenticated by one of the authors (Rujjanawate) and the voucher specimen (no. 143) has been deposited at the school of Health Science, Mae Fah Luang University, Thailand. The air dried powdered rhizome was

*Corresponding author. E-mail: chaoyong@mfu.ac.th.

macerated with 95% ethanol overnight and filtered. The filtrate was concentrated in vacuo at 55°C and lyophilized to obtain a dry ethanolic extract (15.5% yield) which from now on is referred as TCE. The TCE was subsequently reconstituted in water to required concentrations for the experiments.

Animals

Male Sprague-Dawley rats weighing 150 - 200 g (or stated otherwise) and Swiss albino mice weighing 25 to 30 g were purchased from the National Laboratory Animal Center, Salaya Mahidol University, Thailand. They were acclimatized for at least 7 days in an animal room where the temperature was maintained at $22 \pm 3^\circ\text{C}$ and there was a 12 h light-dark cycle. The food was supplied by Pokphan Animal Feed Co. Ltd. Bangkok. The bedding was autoclaved. The animals had free access to food and water. All animals received humane care in compliance with the ethics in the use of animals issued by the National Research Council of Thailand 1999.

Writhing responses in mice

This is a basic screening test for analgesic activity. Briefly, a typical writhing response in mice was produced by an intraperitoneal injection of 0.75% acetic acid aqueous solution at a dose of 0.1 ml/10 g body weight. The TCE was administered intraperitoneally at 30 min before the acetic acid injection (Nakamura et al., 1986). Indomethacin and morphine at a dose of 10 mg/kg were served as positive controls for locally and centrally acting, respectively. Five minutes later, the number of writhes was counted over a period of 15 min. In the other two groups, mice were pretreated with an opioid antagonist naloxone (5 mg/kg, i.p.), 15 min before administration of the TCE (500 mg/kg, i.p.) or morphine (10 mg/kg i.p.).

Tail flick test in rats

The response to thermal pain was evaluated according to the tail flick test described by D'Amour and Smith (1941). The rat was placed on the tail-flick unit (Ugo Basile), so that the tail occluded a slit over a photocell. Heat was applied by a 100-W lamp mounted in a reflector. The apparatus was arranged so that when the operator turned on the lamp a timer was activated. When the rat felt pain and flicked its tail, light fell on the photocell then the timer was automatically stopped. The light intensity was adjusted to give a normal reaction time of 2 to 4 s. A 10 s cut-off time was used in order to prevent tissue damage. Two control readings, taken 30 min apart, were averaged and constituted the control reaction time. The extract was administered (i.p.) immediately after this step, and 30 min later, the post-extract reaction time was measured. The analgesic response was calculated as a percentage of the maximum possible response time. Morphine at a dose of 10 mg/kg was served as a positive control.

Formalin test in rats

The formalin test comprised the early phase and the late phase assessment of the analgesic effect which were performed separately according to the method of Dubuisson and Dennis (1977). Rats were injected intraperitoneally with the TCE. Thirty minutes later, they were administered 50 μl of a 2.5% solution of formalin, subcutaneously under the plantar surface of the left hind paw. They were then placed in an observation chamber and monitored for 1 h. The number of flinches indicated the severity of pain. Analgesic effect was determined in two phases: early phase

(first 5 min) and late phase (last 45 min) with a 10 min lag period in between phases. Acetyl salicylic acid (ASA) at a dose of 150 mg/kg was served as a positive control.

Ethyl phenylpropionate-induced ear edema in rats

The method was modified from that of Brattsand et al. (1982). Male rats weighing 30 to 50 g were used. Ear edema was induced by topical application of ethyl phenylpropionate (EPP) dissolved in acetone (50 mg/ml) in a volume of 10 μl to the inner and outer surfaces of both ears (20 μl /ear). The test sample was topically applied to the ear just before the irritant. The thickness of each ear was measured with a vernier caliper at 15, 30, 60 and 120 min after the edema induction. The edema thickness of the sample-tested group was compared to that of the vehicle group using phenylbutazone (PHBZ) at a dose of 1 mg/ear as a positive control.

Yeast-induced hyperthermia in rats

Rats were restrained individually in a plastic cage. A probe (model it-rr4) of an EXACON electronic thermometer (model MC8940, EXACON Scientific Instrument Aps, Denmark) was inserted to a depth of 2 cm into the rectum in order to record the initial rectum temperature. The animals were then febrile by injection of 20% suspension of Brewer's yeast in 0.9% NaCl at a dose of 10 ml/kg subcutaneously in the back below the neck. Eighteen hours later, the rectal temperatures were recorded again. Those animals with rectal temperatures lower than 38.0°C were excluded from the experiment. The TCE was administered intraperitoneally and the rectal temperature was then again recorded every 30 min for 2 h.

Statistical analysis

Data were subjected to statistical analysis using ANOVA and statistical comparison was done using Duncan Multiple Range Test. The value exceeding 95% confidence limits was considered to be significant.

RESULTS

Given intraperitoneally, TCE at doses of 250 and 500 mg/kg significantly inhibited acetic acid-induced writhing responses as shown in Table 1, which also shows the similar effect of reference compounds, indomethacin and morphine. Pretreatment of the animals with naloxone could significantly reverse the analgesic effect of morphine but not that of the TCE. Table 2 shows that TCE at a dose of 50 mg/kg could not significantly inhibit the pain response in the tail flick test while at higher doses (125, 250 and 500 mg/kg) the extract significantly prolonged the reaction time as did morphine, the positive control of this test.

In the formalin test, intraperitoneal administration of TCE at doses of 125, 250 and 500 mg/kg significantly lowered the number of flinches in both the early and late phases while TCE at a dose of 50 mg/kg could significantly lowered the number of flinches only in the late phase (Table 3). TCE showed significant inhibition in the EPP-induced rat ear edema model as shown in Table 4. The information obtained also indicated that TCE is

Table 1. Effect of *Tacca chantrieri* ethanolic extract (TCE) on acetic acid-induced writhing response in mice.

Treatment (i.p.)	No. of writhes	Inhibition (%)
Control	20 ± 1	
Indomethacin 10 mg/kg	8 ± 1*	60
Morphine 10 mg/kg	0 ± 0*	100
Naloxone 5 mg/kg + Morphine 10 mg/kg	18 ± 1	10
TCE 125 mg/kg	16 ± 3	20
TCE 250 mg/kg	12 ± 3*	40
TCE 500 mg/kg	6 ± 2*	70
Naloxone 5 mg/kg + TCE 500 mg/kg	6 ± 2*	70

Data are expressed as mean ± S.E.M. (n = 8). *significant different from control (p < 0.05).

Table 2. Effect of *Tacca chantrieri* ethanolic extract (TCE) on radiant heat-induced tail flick in rats.

Treatment (i.p.)	Tc (sec)	Tr (sec)	Inhibition (%)
Control	2.5 ± 0.1	2.5 ± 0.1	0
Morphine 10 mg/kg	3.1 ± 0.2	9.5 ± 0.5	93
TCE 50 mg/kg	2.9 ± 0.2	3.8 ± 0.3	13
TCE 125 mg/kg	3.6 ± 0.2	6.1 ± 0.3*	39
TCE 250 mg/kg	3.2 ± 0.1	9.4 ± 0.3*	91
TCE 500 mg/kg	3.1 ± 0.2	9.4 ± 0.6*	91

Data are expressed as mean ± S.E.M. (n = 10). Tc = control reaction time; Tr = reaction time after injection of test drugs. * Significantly different from Tc (p < 0.05).

markedly more potent than phenylbutazone (PHBZ), the reference drug in this test. In the yeast-induced hyperthermia in rats, it was found that TCE at doses of 125, 250 and 500 mg/kg could produce significant anti-pyretic effect (Table 5).

DISCUSSION

The analgesic effect of the CAF was evaluated using the acetic acid-induced writhing, the tail flick and the formalin (early and late phases) tests. These procedures are used to detect central and peripheral analgesia and to distinguish analgesic from anti-inflammatory properties. The writhing test is used for screening of the analgesic activity regardless of the central or peripheral causes. In the tail flick test, which uses a thermal stimulus, an increase in reaction time is generally considered as an important parameter of central analgesic activity (Chang and Lewis, 1989). The formalin test (Hunnskaar et al., 1985) is sensitive to NSAIDs and other mild analgesics. The test employs a chemical nociceptive stimulus that elicits a spontaneous response indicative of pain. The test has two different phases, possibly reflecting different types of pain (Dubuisson and Dennis, 1977; Hunnskaar et al., 1985). The early phase may be due to direct effects on nociceptors and can be inhibited by centrally acting

analgesics such as morphine. In contrast, the late phase may be due to an inflammatory response partly mediated by prostaglandins and can be inhibited by NSAIDs and steroids, as well as by the centrally acting drugs. As inflammation occurs at the site of formalin injection, it is possible to elucidate the role of inflammation on the responses in the two phases. It was previously shown that ASA and indomethacin are anti-nociceptive through partially different modes of action in this test (Hunnskaar et al., 1986).

It was also shown that ASA does not have any delay of onset of its action in the early phase compared to morphine (Hunnskaar and Hole, 1987). Both of these studies suggested that ASA has some effects which cannot be attributed to the inhibition of prostaglandin synthesis alone.

In this study, the analgesic effect of the extract was demonstrated in the writhing response in mice and tail flick tests in rats. The TCE at doses of 250 and 500 mg/kg was active in both the writhing response and the tail flick tests. This finding suggests that TCE exerts analgesic effect through both peripheral and central mechanisms. The finding that pretreatment of the mice with an opioid antagonist naloxone could not reverse the analgesic effect of the TCE in acetic acid-induced pain model indicates that this extract may be utilizing a mechanism other than that of the opioid system. The

Table 3. Effect of *Tacca chantrieri* ethanolic extract (TCE) on the formalin test in rats.

Treatment (i.p.)	No. of flinches	
	Phase I	Phase II
Control	30 ± 4	213 ± 26
ASA 150 mg/kg	21 ± 3	102 ± 11*
TCE 50 mg/kg	23 ± 2	130 ± 6*
TCE 125 mg/kg	11 ± 2*	56 ± 13*
TCE 250 mg/kg	7 ± 3*	34 ± 15*
TCE 500 mg/kg	0 ± 0*	0 ± 0*

Data are expressed as mean ± S.E.M. (n = 8). * Significantly different from control (p < 0.05)

Table 4. Effect of topical application of *Tacca chantrieri* ethanolic extract (TCE) on EPP-induced ear oedema in rats.

Treatment	edema ear thickness (µm)				% inhibition			
	15 min	30 min	60 min	120 min	15 min	30 min	60 min	120 min
Control	60 ± 5	162 ± 20	205 ± 15	228 ± 18				
PHBZ 1 mg/ear	12 ± 4*	105 ± 16*	130 ± 18*	142 ± 14*	80	35	37	38
TCE 0.5 mg/ear	21 ± 3*	98 ± 10*	120 ± 17*	134 ± 10*	65	40	41	41
TCE 1 mg/ear	7 ± 4*	45 ± 13*	102 ± 24*	98 ± 13*	88	72	50	57

Data are expressed as mean ± S.E.M. (n = 10). * Significantly different from control (p < 0.05); PHBZ = phenylbutazone.

Table 5. Effect of *Tacca chantrieri* ethanolic extract (TCE) on yeast-induced hyperthermia in rats.

Treatment (mg/kg i.p.)	Rectal temperature (°C)					
	Initial value	18 h after yeast injection	Minutes after TCE injection			
			30	60	90	120
Control	36.9 ± 0.1	38.5 ± 0.1	38.5 ± 0.1	38.4 ± 0.1	38.4 ± 0.1	38.3 ± 0.1
TCE 125	37.1 ± 0.2	38.6 ± 0.2	37.2 ± 0.2*	36.9 ± 0.2*	36.9 ± 0.2*	37.0 ± 0.2*
TCE 250	37.0 ± 0.1	38.1 ± 0.3	37.4 ± 0.3*	36.9 ± 0.3*	36.4 ± 0.4*	36.2 ± 0.4*
TCE 500	36.7 ± 0.1	37.9 ± 0.1	36.7 ± 0.3*	35.7 ± 0.3*	34.7 ± 0.3*	34.1 ± 0.4*

Data are expressed as mean ± S.E.M. (n = 10). * Significantly different from control (p < 0.05).

formalin test in mice was conducted to distinguish analgesic from anti-inflammatory properties (Hunskar et al., 1985). The finding that TCE as well as ASA exerted a marked analgesic activity in the late phase of the formalin test suggests an effect on acute inflammation. Results from the ear edema test using EPP as an inducer of inflammation confirm this suggestion.

Finally, the antipyretic effect of the extract was demonstrated in yeast-induced hyperthermia in rats. The production of prostaglandins appears to be a final common pathway responsible for fever production induced by several pyrogens (Milton, 1982). Therefore, it is reasonable to assume that the inhibition of prostaglandin biosynthesis may take part in the anti-inflammatory

and antipyretic activities of the TCE. In conclusion, this study confirms the ethnomedical use of *T. chantrieri* as an analgesic, antipyretic and anti-inflammatory agent. It's worth noting that steroidal saponins have been isolated from the rhizomes of the plant (Yokosuka et al., 2002; 2005) but it is not clear at present whether these substances are responsible for the pharmacological properties of TCE.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by Thailand Research Fund (grant no. DBG5080022) and Mae Fah

Luang University (grant no. 52107030011).

REFERENCES

- Brattsand R, Thalen A, Roempke K, Kallstrom L, 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. Mol. Biol.*, 16: 779-786.
- Chang JY, Lewis AJ (1989). Pharmacological methods in the control of inflammation (Modern methods in Pharmacology), vol. 5, Wiley-Liss, New York, pp. 195-212.
- D'Amour FE, Smith DL (1941). A method for determining loss of pain sensation. *J. Pharmacol. Experimental Therapeutics*, 72: 74-79.
- Dubuisson D, Dennis SG (1977). The formalin test : A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4: 161-174.
- Hunskaar S, Hole K (1987). The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 30:103-114.
- Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K (1985). Formalin test in mice, a useful technique in evaluating mild analgesics. *J. Neurosci. Methods*, 14: 69-76.
- Hunskaar S, Berge OG, Hole K (1986). Dissociation between antinociceptive and anti-inflammatory effects of acetylsalicylic acid and indomethacin in the formalin test. *Pain*, 25: 125-132.
- Milton AS (1982). Prostaglandins and fever. *TIPS*, 40: 490-492.
- Nakamura H, Shimoda A, Ishi K, Kadokawa T (1986). Central and peripheral analgesic action of non-acidic non steroidal antiinflammatory drugs in mice-rats, *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie (Gent)*. 282: 16-25.
- Yokosuka A, Mimaki Y, Sashida Y (2002). Spirostanol saponins from the rhizomes of *Tacca chantrieri* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry*, 61(1): 73-78.
- Yokosuka A, Mimaki Y, Sakuma C, Sashida Y (2005). New glycosides of the campesterol derivative from the rhizomes of *Tacca chantrieri*. *Steroids*, 70: 257-265.

ภาคผนวก 4. บทคัดย่อเสนอในการประชุม “นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว” ครั้งที่ 8

Ethnobotany of medicinal plants used by Hmong people for Health

Rujjanawate, C^{*} , Cassely M.

School of Health Science, Mae Fah Luang University, Chiangrai, 57100 Thailand.

Abstract

This report is a part of a research attempting to verify the claimed properties of the plants used by hill tribe people in Thailand to restore energy and delay aging. An ethnobotanical survey was conducted in two Hmong villages in Payao province, Thailand. A total of 45 plants belonging to 21 families have been documented for their therapeutic uses against body weakness and deterioration. Preparation methods are either as a decoction or boiling the herbs with chicken. Citation from scientific database reveals pharmacological activity of only some of these plants. Many of the plants particularly those in the genera *Hornstedtia*, *Zingiber*, and *Stahlianthus* of the *Zingiberaceae* family have not been reported for their phytochemistry and pharmacology.

Keywords: ethnobotany, Mhong, body weakness

Outputs

None

* Corresponding author.

Tel.: 053 916824 Fax: 053 916821

E-mail: chaiyong@mfu.ac.th

ภาคผนวก 5. บทคัดย่อเสนอในการประชุม “นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว” ครั้งที่ 9

Analgesic activity-guided fractionation of *Tacca chantrieri*

Rujjanawate, C.^{1*}, Amornlerdpison, D.²

¹ School of Health Science, Mae Fah Luang University, Chiangrai 57100, Thailand

² Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

Abstract

Tacca chantrieri, an indigenous perennial of the tropics has been used by hill tribe people in the north of Thailand as a health promoting tonic and a pain remedy. In this study we investigated the analgesic activity of the plant extract and its fractions. Acetic acid-induced writhing test was used to guide the fractionation. The ethanolic extract of *T. chantrieri* (TCE) was fractionated on the basis of polarity. Among the different fractions, the n-butanol fraction showed the highest analgesic activity in a dose-dependent manner. Bioassay-guided fractionation of TCE led to the isolation of four similarly active fractions. The HPLC fingerprint of these fractions were recorded and compared to those reported in previous literatures.

Keywords: *Tacca chantrieri*, analgesic, acetic-acid-induced writhing, activity-guided fractionation

Outputs

None

* Corresponding author.

Tel.: 053 916824 Fax: 053 916821

E-mail: chaiyong@mfu.ac.th

ภาคผนวก 6. บทคัดย่อเสนอในการประชุม “นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว” ครั้งที่ 10

A topical anti-inflammatory gel from *Tacca chantrieri* 's extract

Rujjanawate, C.^{1*} Sang-Ngern Mayuramas

¹*School of Health Science, Mae Fah Luang University, Chiangrai 70100. Thailand.*

²*School of Cosmetic Science, Mae Fah Luang University, Chiangrai 70100. Thailand*

Abstract

Previous results from our laboratory demonstrated that the rhizome extract of *Tacca chantrieri* contains saponins which were demonstrated to exhibit marked analgesic and anti-inflammatory actions in experimental animals. It is thus justified to formulate a standardized topical product containing the plant's extract for clinical evaluations. The ethanolic extract of *T. chantrieri* rhizomes was prepared. Chemical analysis of its components was done by means of gas chromatography/mass spectrometry. The gel containing the extract at concentrations of 1 and 2% was prepared. Carbopol[®] Ultrez 10, Carbopol[®] Ultrez 21, Carbopol[®] 934 and Hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) at concentrations of 1, 3 and 5 % were used as gelling agents. The resulting 12 gel formulations were then subjected to stability tests after which the most appropriate formulation was chosen for further production. It was concluded that a standardized topical anti-inflammatory gel containing *T. chantrieri*'s extract could possibly be mass produced. This topical gel could be a competent product in terms of production cost and efficacy.

Keywords: topical anti-inflammatory gel, *Tacca chantrieri*, extract

* Corresponding author.

Tel.: 0-5391-6824 ; Fax: 0-5391-6821

E-mail: chaiyong@mfu.ac.th

ภาคผนวก 7. บทคัดย่อของ oral presentation ในการประชุมระดมสมองการสร้างเครือข่ายความร่วมมือด้านวิจัย ทอมก : วิถีวิจัยกับการพัฒนาประเทศ ประจำปี พ.ศ.2553

Topical anti-inflammatory products from *Tacca chantrieri* extract

Chaiyong Rujjanawate¹, Pahol Saansoomchai², Mayuramas Sang-ngern², Vassana Netveera¹

¹ School of Health Science, Mae Fah Luang University

² School of Cosmetic Science, Mae Fah Luang University

Abstract

Tacca chantrieri Andre (Taccaceae) is an indigenous perennial of the tropics. The plant can be ornamental due to its queer looking flower that is shaped like a flying bat. The decoction of *T. chantrieri* rhizomes is used by local healers to relieve pains of the body and stomach, and as an antidote for food poisoning. The ethanolic extract of *T. chantrieri* rhizomes was prepared and evaluated for its pharmacological activities. Results from animal experimentations indicated profound analgesic, anti-inflammatory and anti-ulcerogenic effects of the extract. Further extraction revealed that the pharmacological active compounds were saponins. Two topical anti-inflammatory products from *T. chantrieri* rhizome extract were prepared, a lotion containing the crude extract and a gel containing active saponins. Both products were standardized by defining and assessing the saponin marker using chromatography method. The lotion can be easily prepared and mass produced while the gel will need more sophisticated and costly methods for industrial production. Co-ordination for further evaluation of the products, in terms of the efficacy, safety, investment, etc. is welcome.

ภาคผนวก 8. บทคัดย่อของ oral presentation ในการประชุมวิชาการประจำปี การแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน และการแพทย์ทางเลือกแห่งชาติ ครั้งที่ 7

A standardized anti-inflammatory lotion containing the bat flower's extract.

Chaiyong Rujjanawate

School of Health science, Mae Fah Luang University, Chiangrai 70100. Thailand.

Rationale: Bat flower (*Tacca chantrieri* Andre) is a perennial herb indigenous to the tropics. The plant is used traditionally as a pain remedy. Previous results from our

laboratory demonstrated that the rhizome extract of this plant contains saponins which were demonstrated to exhibit marked analgesic and anti-inflammatory actions in experimental animals. It is thus justified to formulate a standardized topical product containing the plant's extract to be used for further clinical evaluations.

Objective: To obtain a standardized anti-inflammatory lotion containing the bat flower's extract.

Methodology: The bat flower rhizomes were collected from Chiangrai province in April 2009. The plant was authenticated and the voucher specimen is deposited at the school of Health Science, Mae Fah Luang University, Thailand. The air dried powdered rhizome was macerated with 95% ethanol overnight and filtered. The filtrate was concentrated in vacuo at 55°C and lyophilized to obtain a dry ethanolic extract (15.5% yield). The extract components were analyzed by Gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS). To prepare a standardized lotion, the extract was dissolved in a mixture vehicle comprising ethanol and propylene glycol.

Results: The analysis of the chromatogram indicated the presence of 9 compounds in which the most two abundances were diosgenin (42.15%) and ethyl alpha.-d-glucopyranoside (35.79%). The lotion containing the extract at a concentration of 2% was prepared. The obtained lotion was a clear light brown fluid with pH7.5, totally water miscible and yielded no sticky feeling after its topical application.

Conclusion: The standardized anti-inflammatory lotion containing the extract from the bat flower rhizome was obtained. The lotion is being evaluated for the efficacy, safety, and investment. The preparation method was simple and not costly and the lotion can be mass produced.