

ร่างรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

สารระงับการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระจากพืชในสกุลเพชรีใหญ่
(Anti-inflammatory and anti-oxidant compounds from *Stahlianthus sp.*)

โดย

คณะผู้วิจัย

- | | |
|---|---|
| 1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไชยยง รุจจนเวท | สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง |
| 2. ดร.นริศรา ไล่เลิศ | ภาควิชาสรีรวิทยา
คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 2. อาจารย์พหล แสนสมชัย | สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง |

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เกิดขึ้นและสำเร็จลุล่วงไปได้ ด้วยการสนับสนุนเงินทุนจาก สำนักงานคณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติ งบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 ผู้วิจัยได้รับคำชี้แนะอันเป็นประโยชน์ยิ่ง จากกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ และได้รับการประสานงานจากเจ้าหน้าที่ส่วนบริการงานวิจัย มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มา ณ โอกาสนี้



บทสรุปผู้บริหาร

ภูมิปัญญาพื้นบ้านของชาติพันธุ์ม้ง ระบุถึงการใช้ เหง้าของพืชสมุนไพรชื่อ “ซำฉี” บดทาภายนอก รักษาอาการอักเสบปวดบวมของกล้ามเนื้อ และต้มกินเป็นยาบำรุงร่างกาย การตรวจสอบลักษณะเบื้องต้น พบว่า ซำฉี เป็นพืชในสกุล *Stahlianthus* ของวงศ์ขิง (*Zingiberaceae*) การสืบค้นข้อมูลของคณะผู้วิจัย ก่อนการศึกษาครั้งนี้ โดยใช้ทรัพยากรสารสนเทศของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ไม่พบรายงานองค์ประกอบทางเคมี หรือฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชในสกุลนี้เลย ผลการทดสอบเบื้องต้น (preliminary study) โดยคณะผู้วิจัยพบว่าสารสกัดด้วยอัลกอฮอล์ของเหง้าพืชชนิดนี้ แสดงฤทธิ์ระงับการอักเสบได้ดียิ่งไม่น้อยกว่า diclofenac ซึ่งเป็นยาระงับการอักเสบที่ใช้แพร่หลายในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามแม้ว่าพืชชนิดนี้จัดเป็นพืชหายาก และไม่ใคร่เป็นที่รู้จักของคนทั่วไป แต่กลับเพาะปลูกขยายพันธุ์ได้ง่าย ดังนั้นการประเมินฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา โดยเฉพาะในส่วนที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ระงับการอักเสบ และค้นคว้าถึงองค์ประกอบทางเคมีที่แสดงฤทธิ์ดังกล่าว จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อเป็นพื้นฐาน ในการพัฒนาพืชสมุนไพรนี้ ให้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือเครื่องสำอางในลำดับต่อไป

การศึกษาครั้งนี้ จึงมีความมุ่งหมาย เพื่อศึกษาฤทธิ์ระงับการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระของพืชในสกุลเพชรใหญ่ชนิดนี้ แยกส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดนั้น

เพื่อบรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าว คณะผู้วิจัยได้กำหนดเก็บรวบรวมเหง้าแห้งของพืชสมุนไพรนี้ ให้ได้ไม่น้อยกว่า 10 กิโลกรัม แบ่งส่วนหนึ่งปลูกเพื่อให้อายุของพืชได้แก่เหง้าที่ที่เหลือ ส่วนหนึ่งเตรียมเป็นสารสกัดหยาบเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี สกัดส่วนที่เหลือด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทานอล และน้ำ ตามลำดับ ทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบของสารสกัดทั้งหมดในสัตว์ทดลอง คัดเลือกสารสกัดที่มีฤทธิ์ระงับการอักเสบ มาแยกเป็นส่วนสกัดต่างๆ ด้วยวิธีการทางโครมาโตกราฟี สุดท้ายทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดเหล่านั้น

ผลจากการสังเกตลักษณะของส่วนประกอบต่างๆของพืชที่ได้นำมาปลูก โดยเฉพาะในส่วนดอก เปรียบเทียบกับรายงาน ที่มีผู้นำเสนอมาก่อนแล้ว ทำให้สามารถบ่งชี้ได้ว่า พืชสมุนไพรที่ศึกษานี้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stahlianthus involucratus* (King ex Baker) Craib ex Loes ในวงศ์ *Zingiberaceae*

ในส่วนของสารสกัดหยาบและสารสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆนั้น ผลการทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบในสัตว์ทดลอง พบว่า สารสกัดหยาบ สารสกัดด้วยเฮกเซน และสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ต่างก็มีฤทธิ์ระงับการอักเสบ เมื่อรวมสารสกัดด้วยเฮกเซน และสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มเข้าด้วยกัน และใช้วิธีการทาง chromatography แยกส่วนสกัดต่างๆ ตาม polarity ออกเป็น 6 ส่วนสกัด ผลการทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบ พบว่า ทุกส่วนสกัดสามารถ

ระับการอักเสบ ได้ใกล้เคียงกัน ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย GC/MS พบว่า สารสกัดหยาบ มีสารประกอบ Benzyl Benzoate ในปริมาณที่สูงถึงร้อยละ 22.71 และยังพบสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของสารนี้ อีกในท่อกส่วนสกัด

ข้อค้นพบดังได้กล่าวมา ชี้ให้เห็นว่า พืชสมุนไพรในสกุลเพชรใหญ่ที่ชื่อ *Stahliaanthus involucratus* นี้ มีสารประกอบหลายชนิดที่มีฤทธิ์ระับการอักเสบได้ดี สามารถใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือเครื่องสำอางได้ การพบว่า Benzyl Benzoatesหรืออนุพันธ์ของสารนี้ มีอยู่ทั้งในสารสกัดหยาบและส่วนสกัดอื่นๆ เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ด้วยสามารถใช้สารประกอบนี้เป็นตัวชี้วัด (marker) สำหรับการทำผลิตภัณฑ์ ให้มีมาตรฐาน (standardization) ได้อีกด้วย

โครงการวิจัยนี้ เป็นโครงการต่อเนื่อง 2 ปี ผลสัมฤทธิ์ของโครงการในปีแรก เป็นไปตามที่กำหนดไว้ทุกประการ การศึกษาวิจัยที่จะมีขึ้นในปีที่สอง จะเป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้รูปแบบการทดสอบต่างๆ เมื่อเสร็จสิ้นการวิจัยในปีที่สองแล้ว ก็จะได้ข้อมูลเพียงพอที่จะเป็นพื้นฐาน ในการประดิษฐ์และพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ หรือเครื่องสำอางชนิดใหม่ได้



บทคัดย่อ

พืชในสกุลเพชราใหญ่ชนิดหนึ่ง (*Stahlianthus* sp.) ชาวไทยชาติพันธุ์ม้งเรียกว่า “ซำฉี” ใช้รักษาอาการอักเสบปวดบวมของกล้ามเนื้อ โดยใช้ส่วนเหง้าบดพอกทาภายนอก นอกจากนี้ยังใช้ทั้งหัวต้มกินเป็นยาบำรุงร่างกาย บรรเทาอาการปวดท้องและช่วยขับลม การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อ วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และประเมินฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชชนิดนี้ได้เก็บรวบรวมเหง้าของพืชนี้จากจังหวัดพะเยา ปลูกจนเมื่อโตเต็มที่แล้ว ลักษณะทางสัณฐานวิทยา บ่งชี้ว่าเป็นพืชชื่อ *Stahlianthus involucratus* ในวงศ์ Zingiberaceae การสกัดเหง้าแห้งของพืชชนิดนี้ด้วยเอทานอล ทำให้ได้สารสกัดหยาบ ที่แสดงฤทธิ์ระงับการอักเสบอย่างเด่นชัด เมื่อใช้การทดสอบฤทธิ์ต้านการบวมของใบหูหนูทดลอง และเมื่อสกัดเหง้าพืชด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่า สารสกัดด้วยเฮกเซนและสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ล้วนมีฤทธิ์ระงับการอักเสบ ขณะที่สารสกัดด้วยเอทานอลและสารสกัดด้วยน้ำ ไม่มีฤทธิ์ระงับการอักเสบที่ชัดเจน ได้แยกสารสกัดเฮกเซน และสารสกัดคลอโรฟอร์ม ออกเป็นส่วนสกัดต่างๆ ได้ 6 ส่วนสกัด ที่ล้วนมีฤทธิ์ระงับการอักเสบในระดับใกล้เคียงกัน ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย GC/MS พบว่า สารสกัดหยาบ มี benzyl benzoate อยู่ในปริมาณที่สูงถึงร้อยละ 22.71 และยังพบสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของสารนี้ อีกในทุกส่วนสกัด สามารถสรุปได้ว่า *Stahlianthus involucratus* มีฤทธิ์ระงับการอักเสบจริง สอดคล้องกับการใช้ประโยชน์ในแบบภูมิปัญญาพื้นบ้าน มีความเป็นไปได้อย่างยิ่งว่า สามารถประดิษฐ์ผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพ ที่มีสารสกัดจาก *S. involucratus* โดยใช้สาร benzyl benzoate หรืออนุพันธ์ของสารนี้เป็นตัวชี้วัด ในการทำมาตรฐานผลิตภัณฑ์

Abstract

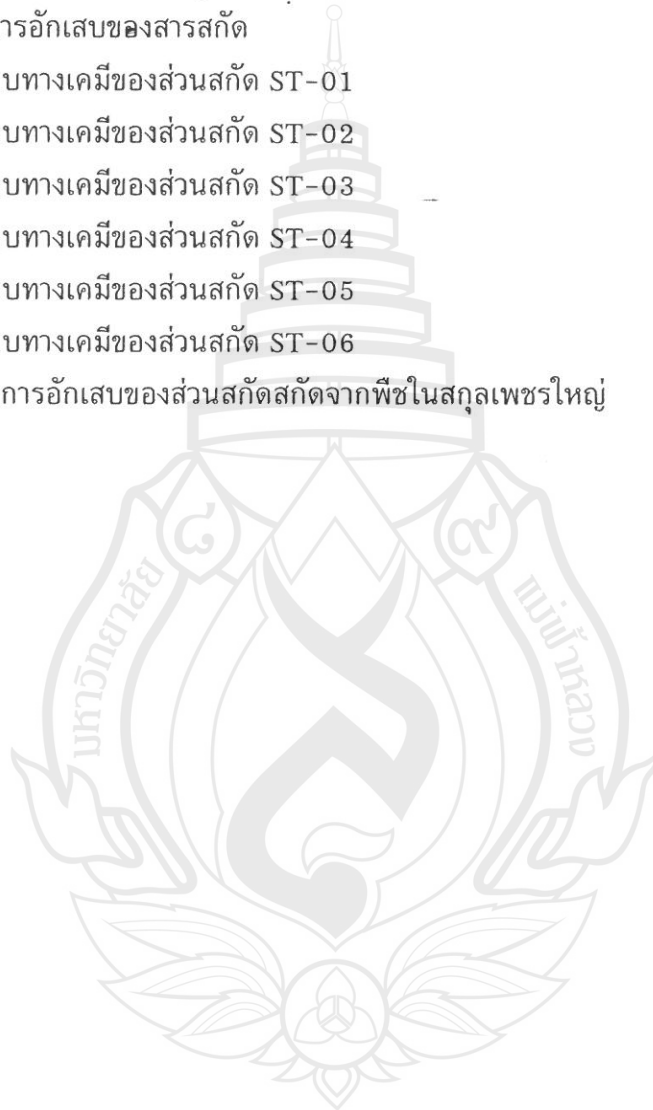
A medicinal plant, known among Mhong people as “Sa Chi”, has been used topically to relieve pain and inflammation of muscles and also as a tonic to promote good health, relieve stomach pain and flatulence. This study aimed to analyze chemical constituents and evaluate pharmacological effects of this plant. Dried rhizomes of Sa Chi were collected from Payao province. Cultivation of some rhizomes made it possible to identify the full grown plant, according to its morphology, as *Stahlianthus involucratus* in the Zingiberaceae family. The plant’s crude ethanolic extract showed marked anti-inflammatory effect as demonstrated in experimental rats. This positive effect was also found in hexane and chloroform extracts but not in the ethanol and aqueous extracts. Fractionation of the hexane and chloroform extracts using gradient concentrations of hexane/ethyl acetate gave 6 fractions with similar anti-inflammatory effect. Component analysis using GC/MS revealed that Benzyl benzoate comprises 22.71 % of the crude extract and derivatives of this compound were found as major components in all active fractions. It can be concluded that the anti-inflammatory effect of *Stahlianthus involucratus* demonstrated in this study is in accordance with its traditional uses. It is very likely that botanical health products containing *S.involucratus* can be invented using benzyl benzoate or its derivatives as a marker for standardization.

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1	บทนำ
	ภูมิหลังของการวิจัย
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย
	ความสำคัญและประโยชน์ที่ได้จากงานวิจัย
	สมมุติฐานของงานวิจัย
	ขอบเขตของการวิจัย
	นิยามศัพท์เฉพาะ
บทที่ 2	แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
	กระบวนการอักเสบ และยาระงับอาการอักเสบ
	พืชวงศ์ชিংกับฤทธิ์ระงับการอักเสบ
	พืชสกุลเพชราใหญ่ (<i>Stalanthus sp.</i>)
บทที่ 3	บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย
	พืชสมุนไพร
	การพิสูจน์ทราบชนิดพืช
	การแยกส่วนสกัด
	การวิเคราะห์องค์ประกอบสารสกัดด้วย GC/MS
	สัตว์ทดลอง
	การทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบ
	สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล
บทที่ 4	ผลการวิจัย
	พืชสมุนไพร
	การพิสูจน์ทราบชนิด
	องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ
	สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ
	ผลการทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบของสารสกัด
	องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด
	ผลการทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบของส่วนสกัด
บทที่ 5	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ
	สรุปผลการวิจัย
	ข้อเสนอแนะ
	เอกสารอ้างอิง
	ภาคผนวก: บทความย่อตีพิมพ์ในวารสาร Planta Medica
	ประวัตินักวิจัย

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4-1 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดพืชในสกุลเพชรใหญ่	13
ตารางที่ 4-2 ผลการสกัดแห้งของพืชในสกุลเพชรใหญ่ (<i>Stalanthus sp.</i>)	14
ตารางที่ 4-3 ฤทธิ์ระงับการอักเสบของสารสกัด	15
ตารางที่ 4-4 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-01	17
ตารางที่ 4-5 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-02	19
ตารางที่ 4-6 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-03	21
ตารางที่ 4-7 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-04	22
ตารางที่ 4-8 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-05	23
ตารางที่ 4-9 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-06	25
ตารางที่ 4-10 ฤทธิ์ระงับการอักเสบของส่วนสกัดสกัดจากพืชในสกุลเพชรใหญ่	27



สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1-1 พืชในสกุลเพชราใหญ่ (<i>Stahlianthus</i> sp.)	2
รูปที่ 4-1 Chromatogram ของสารสกัดพืชในสกุลเพชราใหญ่	12
รูปที่ 4-2 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-01	16
รูปที่ 4-3 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-02	18
รูปที่ 4-4 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-03	20
รูปที่ 4-5 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-04	22
รูปที่ 4-6 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-05	23
รูปที่ 4-7 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-06	24



บทที่ 1 บทนำ

ภูมิหลังของการวิจัย

พืชในสกุลเพชราใหญ่ชนิดหนึ่ง (*Stahlia sp.*) ชาวไทยชาติพันธุ์ม้งเรียกว่า “ซำฉิ” ใช้รักษาอาการอักเสบปวดบวมของกล้ามเนื้อ โดยใช้ส่วนเหง้าบดพอกทาภายนอก นอกจากนี้ยังใช้ทั้งหัวต้มกินเป็นยาบำรุงร่างกาย หรือกินหัวสดเพื่อบรรเทาอาการปวดท้องและช่วยขับลม พืชชนิดนี้ชาวม้งถือกันว่าเป็นยาสมุนไพรที่ดีที่สุดอย่างหนึ่ง การสืบค้นจากฐานข้อมูล ScienceDirect ในเดือน มิถุนายน พ.ศ.2554 ไม่พบรายงานองค์ประกอบทางเคมีหรือฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชในสกุลนี้เลย ผลการทดสอบเบื้องต้น (preliminary study) โดยผู้วิจัยพบว่าสารสกัดด้วยอัลกอฮอล์ของเหง้าพืชชนิดนี้ แสดงฤทธิ์ระงับการอักเสบได้ดียิ่งไม่น้อยกว่า diclofenac ซึ่งเป็นยาระงับการอักเสบที่ใช้แพร่หลายในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามแม้ว่าพืชชนิดนี้จัดเป็นพืชหายาก และไม่มีใครเป็นที่รู้จักของคนทั่วไป แต่กลับเพาะปลูกขยายพันธุ์ได้โดยง่าย จึงควรมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ฤทธิ์ระงับอาการอักเสบ และค้นคว้าถึงองค์ประกอบทางเคมีที่แสดงฤทธิ์ดังกล่าว เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในทางการแพทย์หรือเป็นเครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

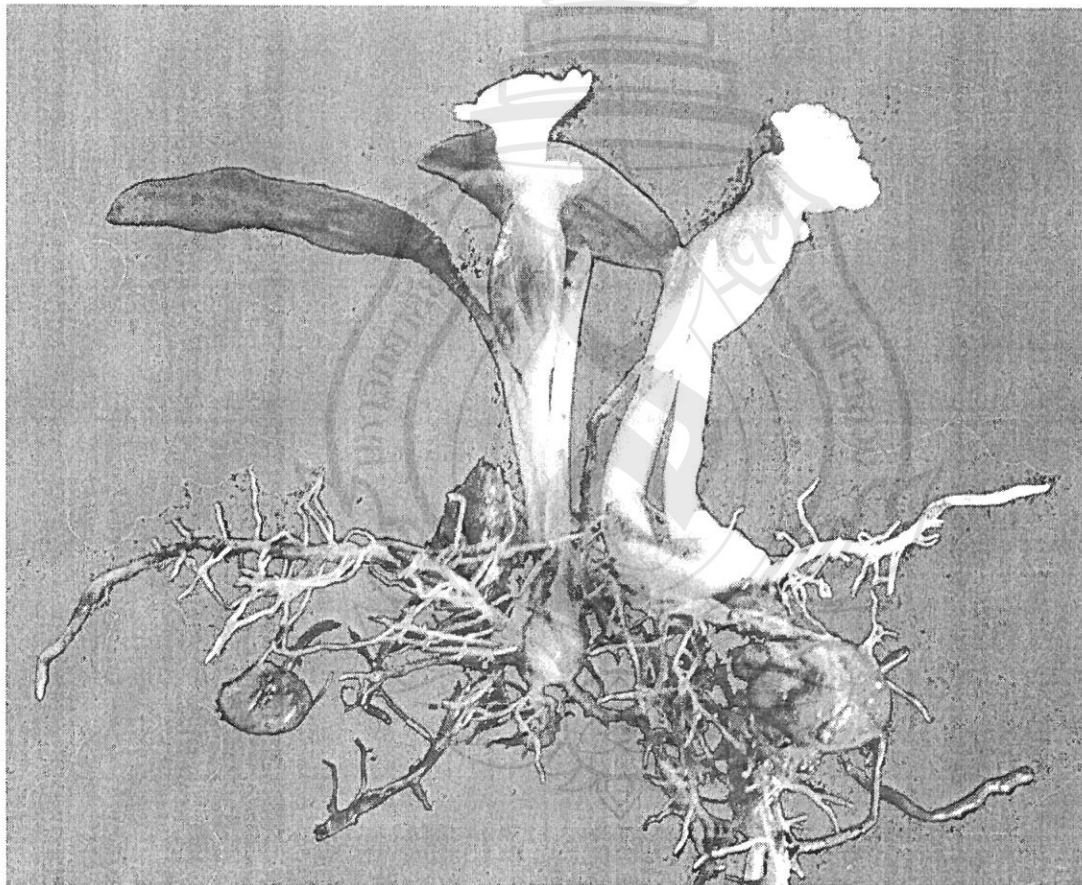
- 1) เพื่อศึกษาฤทธิ์ระงับการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระของพืชในสกุลเพชราใหญ่
- 2) เพื่อแยกส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาตามข้อ 1.
- 3) เพื่อศึกษาและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดนั้น

ความสำคัญและประโยชน์ที่ได้จากงานวิจัย

ผลของงานวิจัยนี้ จะทำให้ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีของของพืชในสกุลเพชราใหญ่ที่มีฤทธิ์ระงับการอักเสบ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนเลย รายงานการวิจัยครั้งนี้จะสามารถนำเสนอเป็นบทความวิจัย เพื่อตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการได้อย่างน้อย 1 เรื่อง ยิ่งไปกว่านี้ องค์ความรู้ที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ เพื่อสร้างต้นแบบผลิตภัณฑ์ระงับการอักเสบ หรือเครื่องสำอางได้ต่อไป

สมมติฐานของงานวิจัย

เป็นที่ทราบกันดีว่า พืชในวงศ์ขิง (Zingiberaceae plants) มีสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ ที่มีฤทธิ์ระงับการอักเสบในปริมาณค่อนข้างมาก การแพทย์พื้นบ้านมักใช้พืชในวงศ์นี้เพื่อขับลม รักษาโรคผิวหนัง และ แก้ปวดบวม มีงานวิจัยหลายชิ้นที่ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชในวงศ์นี้มีฤทธิ์ระงับการอักเสบ ระงับปวด ระงับการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ด้านจุลชีพ และ ด้านอาการแพ้ภูมิปัญญาชาวม้ง ในการใช้พืชในสกุลเพชรใหญ่ซึ่งอยู่ในวงศ์ขิงนี้ ก็สอดคล้องกับแนวคิดข้างต้น ประกอบกับพืชในสกุลนี้ จัดว่ามีความใกล้ชิดกับสกุล *Kaempferia* ซึ่งมีสาร ethyl cinnamate มีฤทธิ์ป้องกันแสงอัลตราไวโอเล็ต ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ระงับการอักเสบ และปกป้องผิวหนังจากแสงอัลตราไวโอเล็ตและอนุมูลอิสระ



รูปที่ 1-1 พืชในสกุลเพชรใหญ่ (*Stahlianthus* sp.)

ขอบเขตของการวิจัย

เก็บรวบรวมเหง้าของพืชที่ศึกษา (*Stahlianthus sp.*) ให้ได้ไม่น้อยกว่า 10 กิโลกรัม หั่นอบแห้ง (40 °C) ใช้แบบจำลอง Ethyl phenylpropiolate (EPP) - induced ear edema in rats เป็นวิธีการทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบ เพื่อขึ้นนำการแยกให้ได้ส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุด (activity-guided fractionation) การสกัดในเบื้องต้นทำโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเอทานอล ตามลำดับ คัดเลือกสารสกัดที่แสดงฤทธิ์ระงับการอักเสบได้ดีที่สุด แยกเป็นส่วนสกัดต่าง ๆ โดยใช้ column chromatography ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดที่แสดงฤทธิ์ดีที่สุด โดยใช้ Gas Chromatography ที่ต่อควบกับ Mass spectrophotometry (GC-MS) ทดสอบฤทธิ์ระงับปวดของส่วนสกัดนี้โดยใช้แบบจำลอง writhing response in mice และทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบเพิ่มเติมโดยแบบจำลอง formalin-induced paw edema in rats ทั้งแบบ early phase และ late phase เพื่อจำแนกฤทธิ์ระงับปวดและระงับการอักเสบ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดนี้โดยวิธี scavenging activity of DPPH ฤทธิ์กำจัดอนุมูล 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid cation (ABTS⁺) และฤทธิ์กำจัดอนุมูล Hydroxyl (OH⁻)

นิยามศัพท์เฉพาะ

การอักเสบ (Inflammation)

เป็นกระบวนการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อการบาดเจ็บจากสิ่งกระตุ้น ที่อาจเป็นได้ทั้งสิ่งที่มีชีวิต เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา หรือไวรัส และสิ่งไม่มีชีวิต ได้แก่ สารเคมีที่เป็นพิษ เป็นต้น อาการแสดงที่สำคัญของการอักเสบ คือ ปวด บวม แดง ร้อน

กระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นมากเกินไป ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อ สามารถยับยั้งได้ด้วยยาดับการอักเสบ (Anti-inflammatory drugs) ส่วนการอักเสบที่เกิดจากเชื้อจุลชีพ ต้องให้ยาดับจุลชีพ (Antibiotics) ร่วมด้วย

พืชในสกุลเพชรใหญ่ (*Stahlianthus sp.*)

เป็นพืชในวงศ์ขิง เดิมจัดอยู่ในสกุลเปราะ (Kaempferia) พืชในสกุลเพชรใหญ่นี้ ยังไม่มีชื่อเรียกในภาษาไทยทั่วไปที่ชัดเจน บางท้องถิ่นเรียก ว่านเพชรใหญ่ บางท้องถิ่นเรียก ว่านเพชรน้อย ในประเทศไทย มีรายงานการค้นพบพืชชนิดนี้แล้ว 6 ชนิด

ชาติพันธุ์มั่งในประเทศไทย ใช้เหง้าบดพอกทาภายนอก และต้มกินเป็นยาบำรุงร่างกาย หรือกินสดเพื่อบรรเทาอาการปวดท้องและช่วยขับลม

อนุมูลอิสระ (Free radical)

คืออะตอม หรือ กลุ่มของอะตอม ที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (unpaired electron) ซึ่งไม่เสถียร (unstable) จึงมักหาทางไปจับคู่กับอะตอมหรือโมเลกุลใกล้ๆ เพื่อขอแบ่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลเหล่านั้น ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ขึ้นเรื่อยๆ กระบวนการนี้ทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อ ทำให้เซลล์เสื่อมสภาพและตาย มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคทางภูมิคุ้มกัน มะเร็ง และความชรา



บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กระบวนการอักเสบ และยาระงับอาการอักเสบ

การอักเสบเป็นปฏิกิริยาของร่างกายที่ตอบสนอง หรือผ่อนคลายความรุนแรง ของอันตรายที่กำลังกระทำต่อร่างกาย กระบวนการอักเสบ มีความจำเป็น และสำคัญอย่างยิ่ง ต่อการมีชีวิตอยู่ เมื่อมีอันตรายแบบใด ๆ กระทำต่อร่างกาย เบื้องต้น ระบบภูมิคุ้มกัน จะทำการตอบสนองแบบไม่จำเพาะเจาะจง เพื่อควบคุม ลด จำกัดและทำลายสาเหตุของการอักเสบในทันที ไม่ให้ลุกลามทำลายเนื้อเยื่อร่างกายต่อไป เรียกการตอบสนองเช่นนี้ว่า การอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammation) และตามมาด้วยการซ่อมแซมความเสียหายเล็กน้อย ๆ จากการอักเสบเฉียบพลันครั้งนั้น แต่หากระบบภูมิคุ้มกัน ควบคุมสาเหตุก่อการอักเสบทันทีทันใด ไม่ได้ดี ทำให้การทำลาย ลุกลาม รุกรานอย่างต่อเนื่องนานออกไปอีก ระบบภูมิคุ้มกันจะขยายผลการควบคุม เพิ่มกลไกเฉพาะเจาะจง เพิ่มประสิทธิภาพการทำลายสาเหตุก่อการอักเสบอีก เรียกว่า ไปกระตุ้น adaptive immune response เรียกภาวะเช่นนี้ว่า การอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) มีเซลล์หรือเนื้อเยื่อถูกทำลายมากขึ้น และหากการควบคุมต้านทานยังทำไม่ได้หรือทำไม่ได้ดี การทำลายเนื้อเยื่ออย่างถาวรจะตามมา

ปัจจุบัน ยาที่ใช้ระงับการอักเสบได้แก่ยาในกลุ่มสเตียรอยด์ และยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ หรือเรียกสั้น ๆ ว่า NSAIDs ยาในกลุ่มหลังนี้จัดเป็นยาที่มีฤทธิ์ระงับปวด ลดไข้ และต้านการอักเสบ ผลข้างเคียงที่พบได้บ่อยจากการใช้ยาคือ ผลต่อระบบทางเดินอาหาร ซึ่งมักพบอาการปวดแสบท้องเกิดแผลและมีเลือดออกในกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ยังพบผลข้างเคียงต่อไต และระบบการแข็งตัวของเลือด ทำให้เกิดการบวมน้ำไปจนถึงภาวะไตพิการ และเพิ่มการมีเลือดออกในกระเพาะอาหาร สาเหตุสำคัญเกิดจากการที่ยาไปยับยั้ง เอนไซม์ cyclooxygenase หรือที่เรียกว่า COX ซึ่งทำหน้าที่สร้างสารสื่อกลางโพรสตาแกลนดินส์ ที่ทำหน้าที่ปกป้องเยื่อบุทางเดินอาหาร ควบคุมการทำงานของไต และทำให้เลือดแข็งตัวในบริเวณที่เกิดบาดแผลเพื่อให้เลือดหยุดไหล ในขณะที่เดียวกันการยับยั้งเอนไซม์ COX ก็จะทำให้เกิดผลในการรักษาคือระงับปวด และต้านการอักเสบ แต่จะเกิดขึ้นในบริเวณที่มีการอักเสบ

ในปัจจุบันมีการค้นพบว่า การเกิดผลในการรักษาและผลข้างเคียงนั้นมาจากการยับยั้งเอนไซม์ COX ที่ต่างชนิดกัน นั่นคือผลข้างเคียงเกิดจากการยับยั้งเอนไซม์ COX-1 ซึ่งพบตามปกติในบริเวณเยื่อบุทางเดินอาหาร ที่ไต และในเกร็ดเลือด ในขณะที่ผลการรักษาเกิดจากการยับยั้งเอนไซม์ COX-2 ซึ่งจะสร้างขึ้นในบริเวณที่ร่างกายหรือเซลล์ได้รับบาดเจ็บ เช่น การอักเสบ การเกิดบาดแผล การติดเชื้อ เป็นต้น ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนายาใหม่ ๆ ที่มีผลยับยั้ง

เฉพาะเอนไซม์ COX-2 มากกว่า COX-1 เพื่อลดผลข้างเคียงต่าง ๆ ที่กล่าวข้างต้น ปัจจุบันจึงมีการจัดแบ่งกลุ่มยา NSAIDs ใหม่เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

- 1) กลุ่มยา NSAIDs ที่มีอยู่เดิม หรือ Classical NSAIDs ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ COX-1 ได้เท่า ๆ กับเอนไซม์ COX-2 เมื่อใช้ยาในขนาดรักษาจะมีผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหาร ไต และเกล็ดเลือด ตัวอย่างเช่น แอสไพริน อินโดเมธาซิน ไอบูโพรเฟน ไดโคลฟีแนก และไพโรกซิแคม เป็นต้น
- 2) ยาที่เลือกยับยั้ง เอนไซม์ COX-2 ยากลุ่มนี้เมื่อใช้ขนาดรักษาจะเลือกยับยั้งเอนไซม์ COX-2 มากกว่า เอนไซม์ COX-1 (ประมาณ 2 ถึง 100 เท่า) ยาจึงมีผลข้างเคียงต่าง ๆ น้อยกว่ายากลุ่มที่ 1 ตัวอย่างเช่น นาบิวมีโทน (Nabumetone), เมลลิกซิคแคม (Meloxicam), ไนมิซูลิด (Nimesulide), อีโทโดแลก (Etodolac)
- 3) ยาที่เจาะจงยับยั้งเอนไซม์ COX-2 หรือเรียกเป็นกลุ่ม COXIBs ซึ่งเมื่อใช้ยาในขนาดรักษา แม้จะใช้ขนาดสูงขึ้นไป จะไม่มีผลยับยั้งเอนไซม์ COX-1 (ยากลุ่มนี้มีฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์ COX-2 สูงกว่า เอนไซม์ COX-1 มากกว่า 100 เท่าขึ้นไป) จึงไม่พบผลข้างเคียงต่อทางเดินอาหาร ไต และเกล็ดเลือด ตัวอย่างเช่น ซีรีค็อกซิบ (Cerecoxib) และ เอเธอโรค็อกซิบ (Etoricoxib) เป็นต้น

พืชวงศ์ขิงกับฤทธิ์ระงับการอักเสบ

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชที่พบได้ทั่วไปในเขตร้อน ประมาณกันว่าทั่วโลกมีพืชในวงศ์นี้อยู่ราว 1,400 ชนิด ใน 50 สกุล ในจำนวนนี้ พบในประเทศไทยราว 300 ชนิด วงศ์ขิงเป็นพืชล้มลุกมีอายุหลายปี มีลำต้นใต้ดินเป็นแบบเหง้า (rhizome) มีกลิ่นน้ำมันหอมระเหยตลอดต้น กลิ่นหอมแรง มักใช้เป็นยาหรือเครื่องเทศ มีสรรพคุณช่วยขับลม แก้ท้องอืดเพื่อบรรเทาอาการปวดบวม และรักษาโรคผิวหนัง มีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชในวงศ์นี้มากมาย เช่น ฤทธิ์ระงับการเกิดแผลในกระเพาะอาหารของกระชายดำ (Rujjanawate *et al.*, 2005) และ กระวานเทศ (Jamal *et al.*, 2006) ในส่วนที่เกี่ยวกับฤทธิ์ระงับการอักเสบ ด้านอาการแพ้และต้านจุลชีพ ได้แก่ ฤทธิ์ระงับการอักเสบของสารประกอบจากไพล (Pantong *et al.*, 1997) ฤทธิ์ต้านอาการแพ้ของขมิ้นชัน (Yano *et al.*, 2000) ข่า (Yoshigawa *et al.*, 2004) กระชายดำและไพล (Tewtrakul and Subhadsirasakul, 2007) ฤทธิ์ต้านจุลชีพของพืชหลายชนิดในวงศ์ขิง (Habsah *et al.*, 2000) เป็นต้น ในส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้แก่ ขมิ้นอ้อย (Mau *et al.*, 2003) พืชหลายชนิดในสกุล Zingiber และ Alpinia (Habsah *et al.*, 2000) สกุล Etlingera (Chan *et al.*, 2007) การศึกษาในระดับกลไกการออกฤทธิ์พบว่า สารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ COX-2 ได้แก่ สารสกัดจากพืชสกุลข่า (*Alpinia katsumudai* Hayata) กระวาน

(*Amomum cardamomum* L.) เวย์ (*Amomum xanthioides* Wall) ขมิ้นชัน (*Cummm longa* L.) ขมิ้นอ้อย (*Curruma zedoaria* Roscoe) ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) (Hong et al. 2002) สารสกัดจากกะทือ (*Zingiber zerumbet* Smith) (Chien et al. 2008) และสารสกัดจาก กระชายดำ (*Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker) (Sae-wong et al. 2009)

พืชสกุลเพชรใหญ่ (*Stalanthus* sp.)

สกุลเพชรใหญ่ (Genus *Stalanthus*) เป็นสกุลขนาดเล็กในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) มีการกระจายพันธุ์ในเขตเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Wu and Larsen, 2000) จนถึงปัจจุบัน มีรายงานการค้นพบพืชในสกุลนี้เพียง 6 ชนิด (Chaveerach et al., 2007) และยังไม่มีรายงานองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามาก่อนเลย โดยเหตุที่พืชหลายชนิดในวงศ์ขิง มีฤทธิ์ระงับการอักเสบ โดยกลไกยับยั้งเอนไซม์ COX-2 จึงมีความเป็นไปได้ ที่จะค้นพบสารออกฤทธิ์ระงับการอักเสบในพืชสกุลเพชรใหญ่เช่นกัน ประกอบกับพืชในสกุลนี้ จัดว่ามีความใกล้เคียงกับสกุล *Kaempferia* ซึ่งมีสาร ethyl cinnamate มีฤทธิ์ป้องกันแสงอัลตราไวโอเล็ต ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ ที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ระงับการอักเสบและปกป้องผิวหนังจากแสงอัลตราไวโอเล็ตและอนุมูลอิสระ

บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย

พืชสมุนไพร

ได้เก็บรวบรวมเหง้าพืชสมุนไพรจากบ้านมั่งขุนกำลัง และบ้านมั่งสันติสุข ในเขตอำเภอบึง จังหวัดพะเยา ในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ.2553-มกราคม พ.ศ. 2554 แบ่งส่วนหนึ่งปลูกเพื่อให้ได้ส่วนประกอบของพืชเพียงพอ สำหรับการพิสูจน์ทราบชนิด (authentication) และขยายพันธุ์ สำหรับใช้ในต่อไป

การพิสูจน์ทราบชนิดพืช

เปรียบเทียบลักษณะต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ใบ และช่อดอก กับลักษณะของพืชในสกุล เพชรใหญ่ (Stahlianthus) ที่พิสูจน์ทราบชนิด ตามที่มีผู้รายงานไว้แล้ว (Chaveerach, 2007)

การแยกส่วนสกัด

ล้างเหง้าสดให้หมดผงดิน ชั่งน้ำหนักสด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบแห้ง บดเป็นผงหยาบ แบ่งส่วนหนึ่ง (200 กรัม) สกัดด้วยเอทานอล ระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้แห้งสนิทด้วย freeze dryer ได้สารสกัดหยาบ (ST-Crude extr.)

สกัดผงแห้งที่เหลือด้วย เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทานอล และ น้ำ ตามลำดับ ระเหยเอาตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ และทำให้แห้งสนิทด้วย freeze dryer ได้สารสกัดเฮกเซน (ST-Hex-extr.) สารสกัดคลอโรฟอร์ม (ST-Chl-extr.) สารสกัดเอทานอล (ST-Eth-extr.) และสารสกัดด้วยน้ำ (ST-Aqu-extr.) ตามลำดับ

ผลการทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบในหนูขาว พบว่าสารสกัดเฮกเซน (ST-Hex-extr.) และสารสกัดคลอโรฟอร์ม (ST-Chl-extr.) สามารถลดการบวมของใบหูหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังปรากฏในรายงานความก้าวหน้าของงานวิจัยนี้แล้ว จึงได้รวมสารสกัดเฮกเซน (ST-Hex-extr.) และสารสกัดคลอโรฟอร์ม (ST-Chl-extr.) เข้าด้วยกัน ละลายส่วนผสมด้วย เฮกเซน เเทลงในคอลัมน์ที่บรรจุด้วย silica gel แล้วชะด้วยตัวทำละลาย ดังนี้ Hexane/Ethyl acetate 8/2, Hexane/Ethyl acetate 6/4, Hexane/Ethyl acetate 4/6, Hexane/Ethyl acetate 2/8, Ethyl acetate และ Methanol หลังจากระเหยเอาตัวทำละลายออก

ภายใต้ความดันต่ำ และทำให้แห้งสนิทด้วย freeze dryer ได้ส่วนสกัด 6 ส่วน กำหนดชื่อดังนี้ ST-01, ST-02, ST-03, ST-04, ST-05 และ ST-06

การวิเคราะห์องค์ประกอบสารสกัดด้วย GasChromatography/MassSpectrometry (GC/MS)

สารสกัดและส่วนสกัดที่วิเคราะห์ ได้แก่ สารสกัดหยาบ (ST-Crude extr.) และส่วนสกัดอื่น 6 ส่วนสกัด คือ ST-01, ST-02, ST-03, ST-04, ST-05 และ ST-06 วิเคราะห์องค์ประกอบ โดยใช้ chromatograph (GC 7890 Agilent Technologies) ที่มี column DB-5MS (30m x 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness) ที่ภาวะดังนี้ 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 อัตราไหลของฮีเลียมซึ่งเป็นก๊าซตัวพาอยู่ที่ 1.5 มล./นาที split ratio 1:25 Gas chromatograph นี้ ต่อควบกับ 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.)

สัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาว (rat) สายพันธุ์ Sprague-Dawley น้ำหนัก 30-50 กรัม จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา นครปฐม นำมาเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิที่ $22 \pm 3^{\circ}$ เซลเซียส และมีช่วงแสงสว่าง 12 ชั่วโมง มีด 12 ชั่วโมง ใช้ ขี้เลื่อยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเป็นวัสดุรองนอน อาหารเม็ดมาจาก บริษัท โมคภัณฑ์อาหารสัตว์ จำกัด กรุงเทพฯ สัตว์ทดลองได้รับอาหารและน้ำอย่างอิสระและเพียงพอ และได้รับการดูแลภายใต้การปฏิบัติตามจรรยาบรรณในการใช้สัตว์ทดลอง ของสภาวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2542

การทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบ

โดยการทดสอบ EPP-induced ear edema in rats (Brattsand *et al.*, 1982) ใช้หนูขาวเพศผู้หนัก 30-50 กรัม ให้สารทดสอบ หรือ ยามาตรฐาน (Diclofenac ขนาด 6 มิลลิกรัม/หู หรือ Phenylbutazone ขนาด 1 มิลลิกรัม/หู) โดยใช้ automatic pipet หยดที่ใบหู และให้ ethyl

phenylpropionate (EPP) ละลายใน acetone (50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ที่ใบหูทั้งด้านในและด้านนอกต่อมาทันที วัดความหนาของใบหูด้วย vernier caliper ที่เวลา 15, 30, 60 และ 120 นาทีต่อมา

สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

ในการทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม (arithmetic mean) โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one way ANOVA) และใช้การทดสอบ Duncan multiple range test ที่ความเชื่อมั่นมากกว่า 95 % ($p < 0.05$)



บทที่ 4 ผลการวิจัย

พืชสมุนไพร

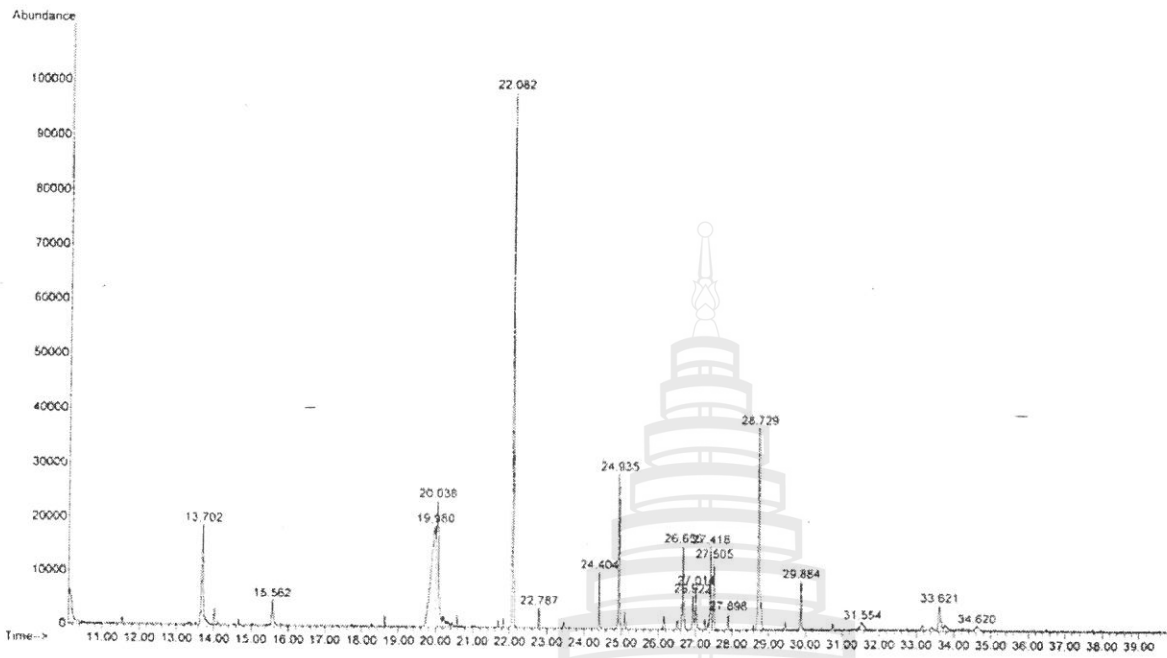
เก็บรวบรวมเหง้าพืชในสกุลเพชรใหญ่ (*Stalanthus* sp.) จากบ้านม่วงขุนกำลัง และ บ้านม่วงสันติสุข ในเขตอำเภอปง จังหวัดพะเยา ในช่วงเดือนพ.ศ.2553-มกราคม พ.ศ. 2554 ได้ประมาณ 15 กิโลกรัม หลังจากแบ่งเหง้าพืช 5.5 กิโลกรัม ปลูกในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2554 เพื่อให้มีดอกสำหรับการพิสูจน์ทราบชนิด (authentication) และขยายพันธุ์ ล้างเหง้าสดที่ เหลือให้หมดผงดิน ชั่งน้ำหนักสดได้ 6.8 กิโลกรัม หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบแห้ง ได้ 2.4 กิโลกรัม แบ่งผงแห้ง 200 กรัม สกัดด้วยเอทานอล สกัดผงแห้ง 2.2 กิโลกรัม ที่เหลือด้วย เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทานอล และ น้ำ ตามลำดับ

การพิสูจน์ทราบชนิด

พืชสมุนไพรที่ปลูก มีดอกในเดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2554 พบว่ามีลักษณะดังนี้ เป็นพืช อายุปีเดียว (Annual herb) มีเหง้าสั้น กลมรี ยาว 1-3 ซม. รากเป็นแบบฝอย (Fibrous roots) ลำต้นเทียมสูง 15-30 ซม. ปรากฏหลังจากช่อดอกแห้งแล้ว กาบใบมีสีเขียวอมแดง ก้านใบยาว 4.0-6.5 ซม. ด้านบนเป็นร่องตามยาว ใบเรียวยาว รูปไข่กลับหรือขอบขนาน ยาว 12.5-16.5 ซม. กว้าง 1.0-1.5 โคนใบสอบเรียว ปลายใบแหลม ช่อดอกแทงออกมาจากเหง้า ยาว 4.5-9.0 ซม. ก้านดอกยาว 3.0-6.0 ซม. กลีบประดับเป็นรูประฆัง (campanulate) ยาว 3.2-3.5 ซม. กว้าง 1.3-1.7 ซม. กลีบดอกมีสีขาว ตรงกลางเป็นสีเหลือง ก้านดอกย่อยสั้นมาก ตรงกับลักษณะของพืชที่ชื่อ *Stalanthus involucratus* (King ex Baker) Craib ex Loes ในวงศ์ Zingiberaceae (Chaveerach, 2007)

องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ

การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดหยาบ (ST-Crude extr.) ด้วย GC/MS พบว่า มีสารประกอบที่แสดงออกเป็น peak เห็นได้ชัดเจน 19 peak (รูปที่ 4-1) ซึ่งสามารถเทียบเคียงกับข้อมูลใน library ได้ 18 สาร ดังแสดงในตารางที่ 4-1 สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ Benzyl Benzoate และ Ethane isothiocyanato ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 22.71 และ 17.28 ตามลำดับ



รูปที่ 4-1 Chromatogram ของสารสกัดพืชในสกุลเพชรใหญ่



ตารางที่ 4-1 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดพืชในสกุลเพชรใหญ่

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	1-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.alpha.,4a.alpha.,4b.beta.,7.beta.,10a.beta.)]-
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

สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

การสกัดเหง้าพืชในสกุลเพชรใหญ่ (*Stalanthus involucratus*) ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ตามลำดับ polarity จากน้อยไปมาก คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทานอล และน้ำ พบว่า สารสกัดที่มีปริมาณมากที่สุดคือ สารสกัดเฮกเซน (ST-Hex-extr.) ซึ่งได้มาร้อยละ 2.44 ของน้ำหนักเหง้าแห้ง และได้สารสกัดคลอโรฟอร์ม (ST-Chl-extr.) สารสกัดเอทานอล (ST-Eth-extr.) และสารสกัดด้วยน้ำ (ST-Aqu-extr.) ร้อยละ 0.99, 0.96 และ 0.93 ตามลำดับ ดังแสดงใน ตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 ผลการสกัดเหง้าของพืชในสกุลเพชรใหญ่ (*Stalanthus sp.*)

วัตถุดิบ/สารสกัด	น้ำหนัก	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง
เหง้าสด	6.4 กิโลกรัม	
ผงแห้ง	2.4 กิโลกรัม	
สารสกัดด้วยเฮกเซน	53.61 กรัม	2.44
สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	21.79 กรัม	0.99
สารสกัดด้วยเอทานอล	21.18 กรัม	0.96
สารสกัดด้วยน้ำ	20.45 กรัม	0.93
หมายเหตุ ปริมาณร้อยละของสารสกัด คัดจากน้ำหนักแห้ง 2.2 กิโลกรัม		

ผลการทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบของสารสกัด

การทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบของ สารสกัดเฮกเซน (ST-Hex-extr.) สารสกัดคลอโรฟอร์ม (ST-Chl-extr.) สารสกัดเอทานอล (ST-Eth-extr.) และสารสกัดด้วยน้ำ (ST-Aqu-extr.) ด้วยวิธี EPP-induced ear edema in rats พบว่า สารสกัดเฮกเซน (ST-Hex-extr.) และสารสกัดคลอโรฟอร์ม (ST-Chl-extr.) ให้ผลระงับการอักเสบได้เช่นเดียวกับยามาตรฐาน diclofenac คือสามารถลดการบวมของใบหูหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทุกช่วงเวลาหลังจากทาสารกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ (EPP) คือตั้งแต่ที่เวลา 15 นาที 30 นาที 1 ชม. และ 2 ชม. ดังแสดงในตารางที่ 4-3

ตารางที่ 4-3 ฤทธิ์ระงับการอักเสบของสารสกัด

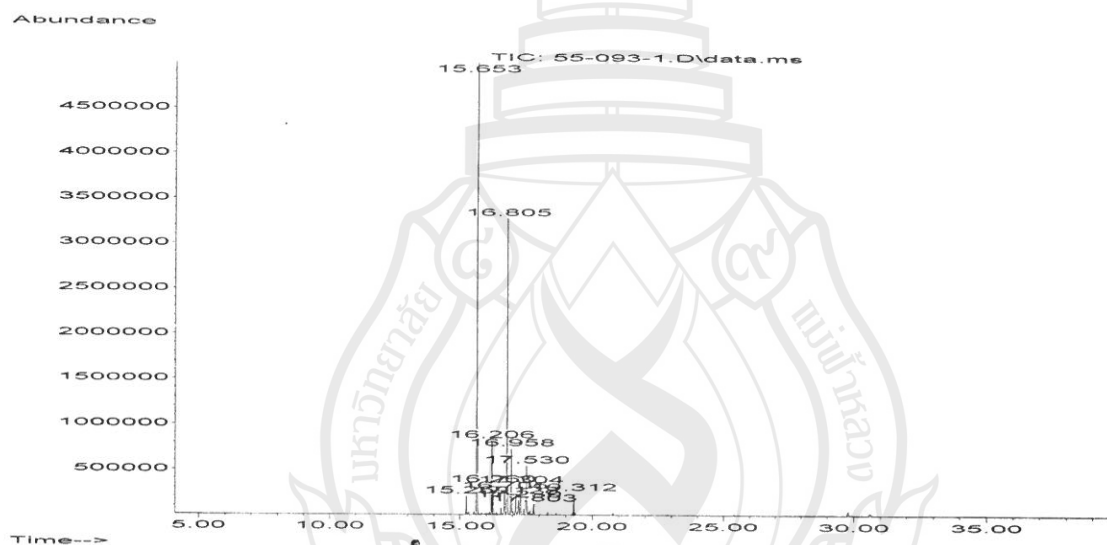
	ความหนาของใบหู (ไมโครเมตร) ที่เวลา				ระงับการอักเสบร้อยละ			
	15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที	15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
กลุ่มควบคุม	87 ± 6	115 ± 7	133 ± 6	115 ± 8				
5% DMSO	70 ± 10	130 ± 13	165 ± 12	143 ± 12				
Diclofenac	15 ± 2*	30 ± 3*	45 ± 2*	32 ± 4*	79	77	73	78
สารสกัดด้วยเฮกเซน	17 ± 2*	35 ± 2*	52 ± 4*	40 ± 5*	76	73	68	72
สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	12 ± 3*	31 ± 4*	45 ± 3*	35 ± 4*	83	76	73	76
สารสกัดด้วยเอทานอล	52 ± 5	74 ± 5	96 ± 4	102 ± 5	26	43	42	29
สารสกัดด้วยน้ำ	75 ± 6	98 ± 6	105 ± 5	120 ± 5	-7	25	36	16

หมายเหตุ

1. ข้อมูลแสดงเป็น mean ± S.E.M (n = 6) เครื่องหมาย * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่ม 5% DMSO group ($p < 0.05$)
2. ให้สารทดสอบ หรือ ยามาตรฐาน (Diclofenac ขนาด 6 มิลลิกรัม/หู) ละลายใน Dimethylsulfoxide (DMSO) ที่ใบหู และให้ ethyl phenylpropionate (EPP) ละลายใน acetone (50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ที่ใบหูทั้งด้านในและด้านนอกต่อมาทันที วัดความหนาของใบหูด้วย vernier caliper ที่เวลา 15, 30, 60 และ 120 นาทีต่อมา

องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด

การวิเคราะห์องค์ประกอบของส่วนสกัด ST-01 ด้วย GC/MS พบว่า มีสารประกอบที่แสดงออกเป็น peak เห็นได้ชัดเจน 13 peak (รูปที่ 4-2) ซึ่งสามารถเทียบเคียงกับข้อมูลใน library ได้ 13 สาร ดังแสดงในตารางที่ 4-4 สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ TRICYCLO[4.4.0.0(2,7)]DEC-3-ENE,3-DIMETHYL-8-(1-METHYLETHYL) และ 1H-CYCLOPROP[E]AZULENE, DECAHYDRO- 1,1,7-TRIMETHYL-4-METHYLENE ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 44.43 และ 24.53 ตามลำดับ

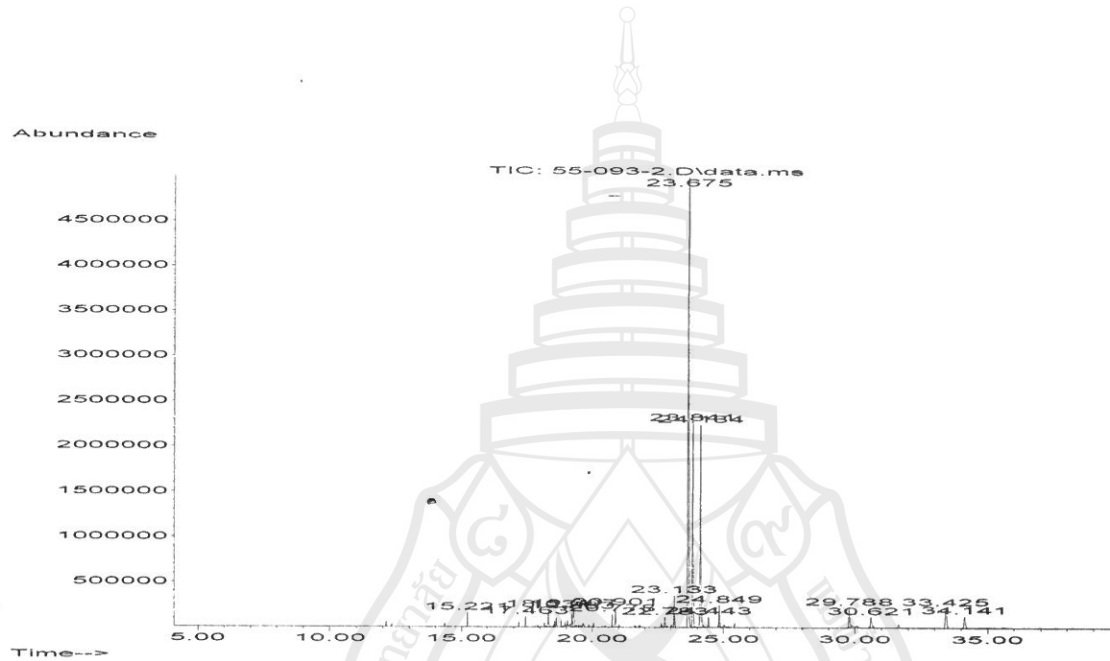


รูปที่ 4-2 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-01

ตารางที่ 4-4 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-01

Peak	RT	Area	Compound
1	15.258	1.49	4-ISOPROPYL-3,7-DIMETHYL-3A,3B,4,5,6,7-HEXAHYDRO-1H-CYCLOPENTA[2,3]CYCLOPROPA[1,2-A]BENZENE
2	15.653	44.43	TRICYCLO[4.4.0.0(2,7)]DEC-3-ENE,3-DIMETHYL-8-(1-METHYLETHYL)
3	16.209	5.65	TRICYCLO[2.2.1.0(2,6)]HEPTANE,-DIMETHYL-7-(4-METHYL-3-PENTENYL)-
4	16.258	2.37	CARYOPHYLLENE
5	16.706	2.12	2,6,6,9-TETRAMETHYL-1,4,8-CYCLOUNDECATRIENE
6	16.803	24.53	1H-CYCLOPROP[E]AZULENE, DECAHYDRO- 1,1,7-TRIMETHYL-4-METHYLENE
7	16.960	5.87	NAPHTHALENE,1,2,3,4,4A,5,6,8A-OCTAHYDRO-7-METHYL-4-METHYLENE-1-(1-METHYLETHYL)-, (1.ALPHA.,4A.ALPHA.,8A.ALPHA.)-
8	17.127	1.88	7-ISOPROPENYL-4A-METHYL-1-METHYLENEDECAHYDRONAPHTHALENE
9	17.230	1.77	2-ISOPROPENYL-4A,8-DIMETHYL-1,2,3,4,4A,5,6,8A-OCTAHYDRONAPHTHALENE
10	17.306	2.43	1-METHYL-4-(5-METHYL-1-METHYLENE-4-HEXENYL)-1-CYCLOHEXENE
11	17.532	4.80	1-ISOPROPYL-4,7-DIMETHYL-1,2,3,5,6,8A-HEXAHYDRONAPHTHALENE
12	17.803	0.85	1,1,6-TRIMETHYL-1,2-DIHYDRONAPHTHALENE \$\$ NAPHTHALENE, 1,2-DIHYDRO-1,1,6-TRIMETHYL-
13	19.310	1.82	1-ISOPROPYL-4,7-DIMETHYL-1,2,3,5,6,8A-HEXAHYDRONAPHTHALENE

การวิเคราะห์องค์ประกอบของส่วนสกัด ST-02 ด้วย GC/MS พบว่า มีสารประกอบที่แสดงออกเป็น peak เห็นได้ชัดเจน 18 peak (รูปที่ 4-3) ซึ่งสามารถเทียบเคียงกับข้อมูลใน library ได้ 12 สาร ดังแสดงในตารางที่ 4-5 สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ 5,8-DIHYDROXY-3-METHYL-1,2,3,4,-TETRAHYDRO-9,10-ANTHRAQUINONE 19-NORKAUR-16-ENE, (4.BETA.) ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 44.12

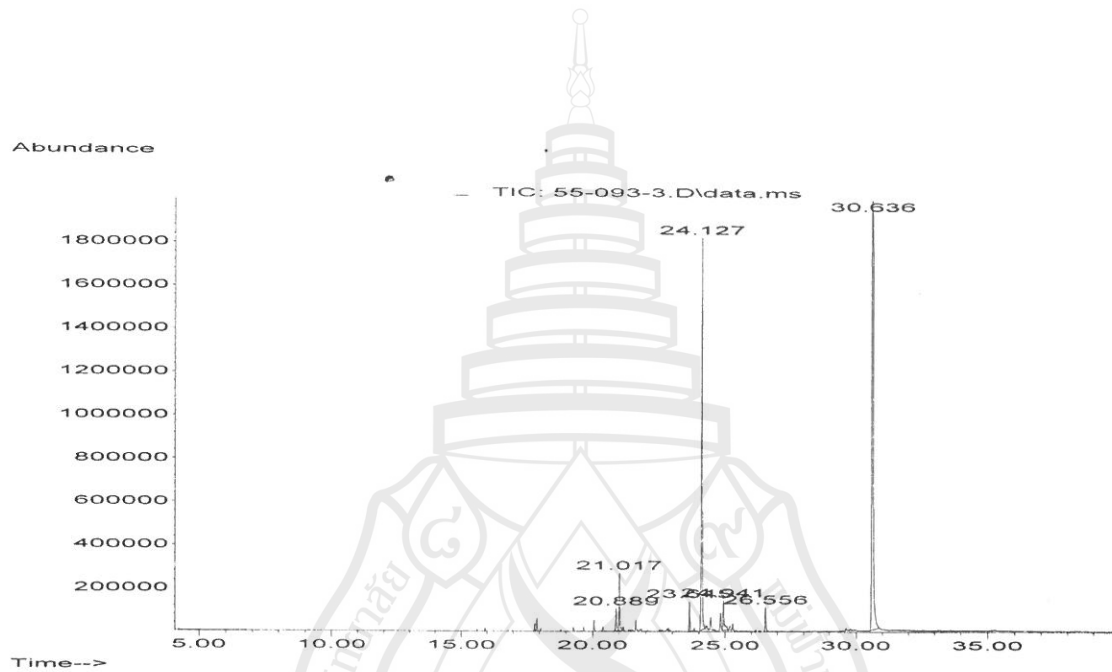


รูปที่ 4-3 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-02

ตารางที่ 4-5 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-02

Peak	RT	Area	Compound
1	15.220	0.78	ALPHA. TERPINENE
2	17.462	0.65	(+)-.DELTA.-CADINENE
3	18.332	1.26	CARYOPHYLLENE OXIDE
4	19.234	0.86	UNKNOWN
5	19.304	1.55	1,4-METHANO-1H-INDENE,OCTAHYDRO-1,7A-DIMETHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-,[1S-(1.ALPHA.,3A.BETA.,4.ALPHA.,7A.BETA.)]
6	20.779	0.86	4-ISOPROPYL-1,6-DIMETHYL-1,2,3,4-TETRAHYDRONAPHTHALEEE
7	20.903	1.21	STAHLIANTHUSONE
8	22.783	0.86	UNKNOWN
9	23.134	2.38	BENZO[1,2-B:5,4-B']DIFURAN-2-CARBOXYLIC ACID,8-METHOXY-5-METHYL-, METHYL ESTER
10	23.674	44.12	5,8-DIHYDROXY-3-METHYL-1,2,3,4,-TETRAHYDRO-9,10-ANTHRAQUINONE 19-NORKAUR-16-ENE, (4.BETA.)
11	23.842	16.86	UNKNOWN
12	24.134	17.59	UNKNOWN
13	24.441	0.93	2,3-DI(ISOPROPYL)-7-METHOXYINDENON BENZENE, ETHENYLPENTAETHYL-
14	24.852	1.71	UNKNOWN
15	29.789	2.18	3-(DIMETHYLAMINO)-4,7,7-TRIMETHYLBICYCLO[2.2.1]HEPTAN-2-OL
16	30.621	1.46	1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID
17	33.425	2.97	UNKNOWN
18	34.138	1.77	2,4',6-TRIMETHYLDIPHENYLSULFONE

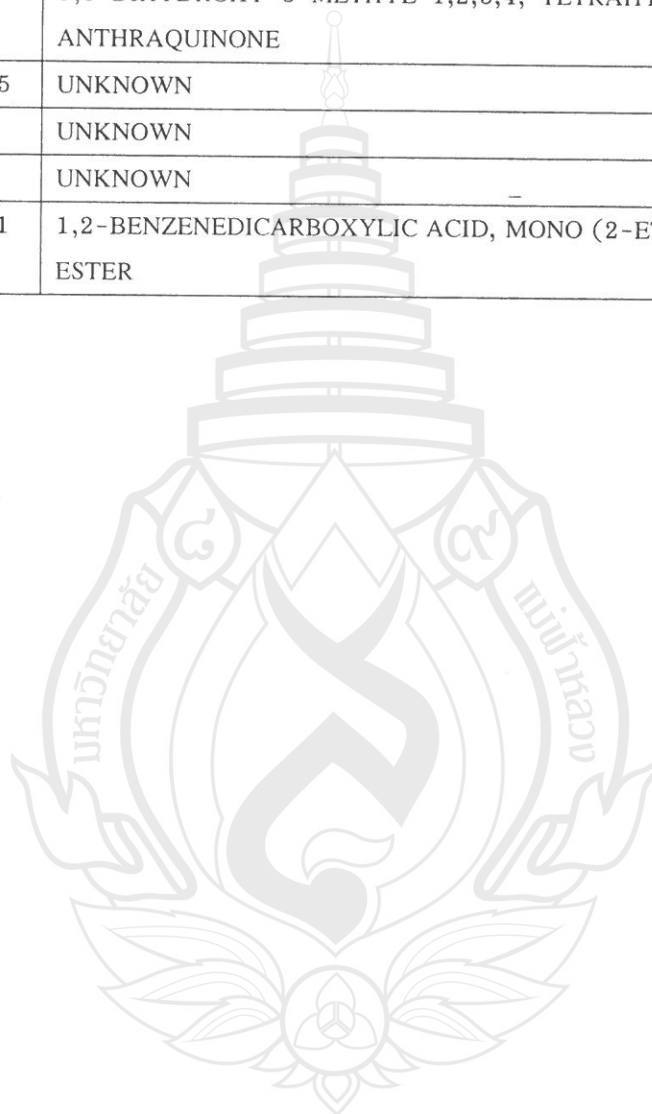
การวิเคราะห์องค์ประกอบของส่วนสกัด ST-03 ด้วย GC/MS พบว่า มีสารประกอบที่แสดงออกเป็น peak เห็นได้ชัดเจน 7 peak (รูปที่ 4-4) ซึ่งสามารถเทียบเคียงกับข้อมูลใน library ได้ 2 สาร ดังแสดงในตารางที่ 4-6 สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ 1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID, MONO (2-ETHYLHEXYL) ESTER ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 63.01



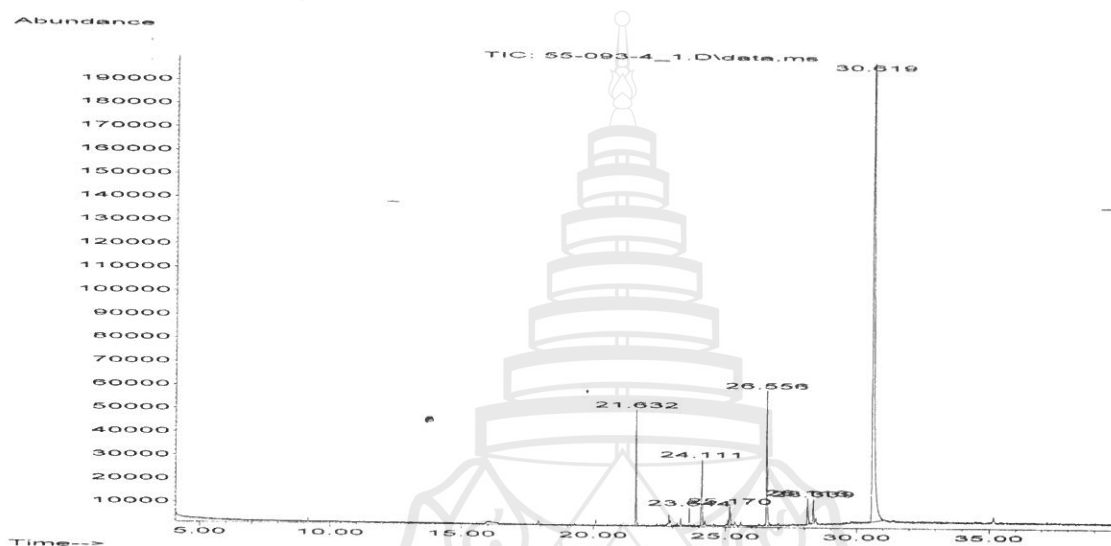
รูปที่ 4-4 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-03

ตารางที่ 4-6 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-03

Peak	RT	Area	Compound
1	20.887	1.64	UNKNOWN
2	21.017	3.17	UNKNOWN
3	23.642	1.67	5,8-DIHYDROXY-3-METHYL-1,2,3,4,-TETRAHYDRO-9,10-ANTHRAQUINONE
4	24.128	26.05	UNKNOWN
5	24.939	2.77	UNKNOWN
6	26.559	1.69	UNKNOWN
7	30.638	63.01	1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID, MONO (2-ETHYLHEXYL) ESTER



การวิเคราะห์องค์ประกอบของส่วนสกัด ST-04 ด้วย GC/MS พบว่า มีสารประกอบที่แสดงออกเป็น peak เห็นได้ชัดเจน 8 peak (รูปที่ 4-5) ซึ่งสามารถเทียบเคียงกับข้อมูลใน library ได้ 2 สาร ดังแสดงในตารางที่ 4-7 สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ 1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 74.81

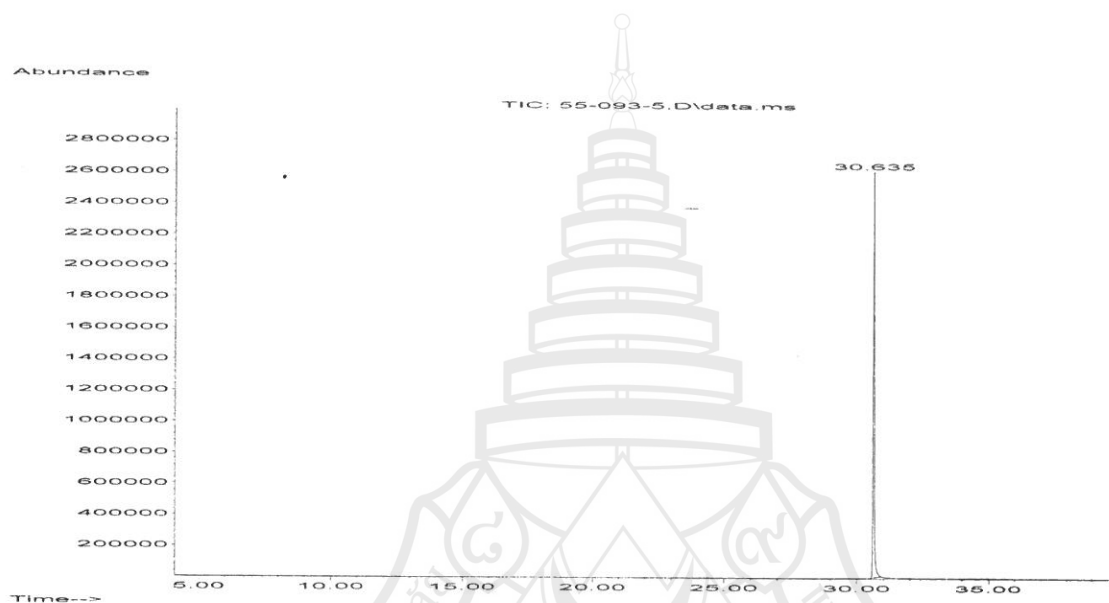


รูปที่ 4-5 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-04

ตารางที่ 4-7 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-04

Peak	RT	Area	Compound
1	21.632	5.56	UNKNOWN
2	23.642	0.88	1,1':2',1"-TERPHENYL, 4'-ETHYL
3	24.112	4.46	UNKNOWN
4	25.171	1.77	UNKNOWN
5	26.559	8.95	UNKNOWN
6	28.120	2.07	UNKNOWN
7	28.342	1.51	UNKNOWN
8	30.621	74.81	1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID

การวิเคราะห์องค์ประกอบของส่วนสกัด ST-05 ด้วย GC/MS พบว่า มีสารประกอบที่แสดงออกเป็น peak เห็นได้ชัดเจน 1 peak (รูปที่ 4-6) ซึ่งสามารถเทียบเคียงกับข้อมูลใน library ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4-8 สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ 1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 100.0

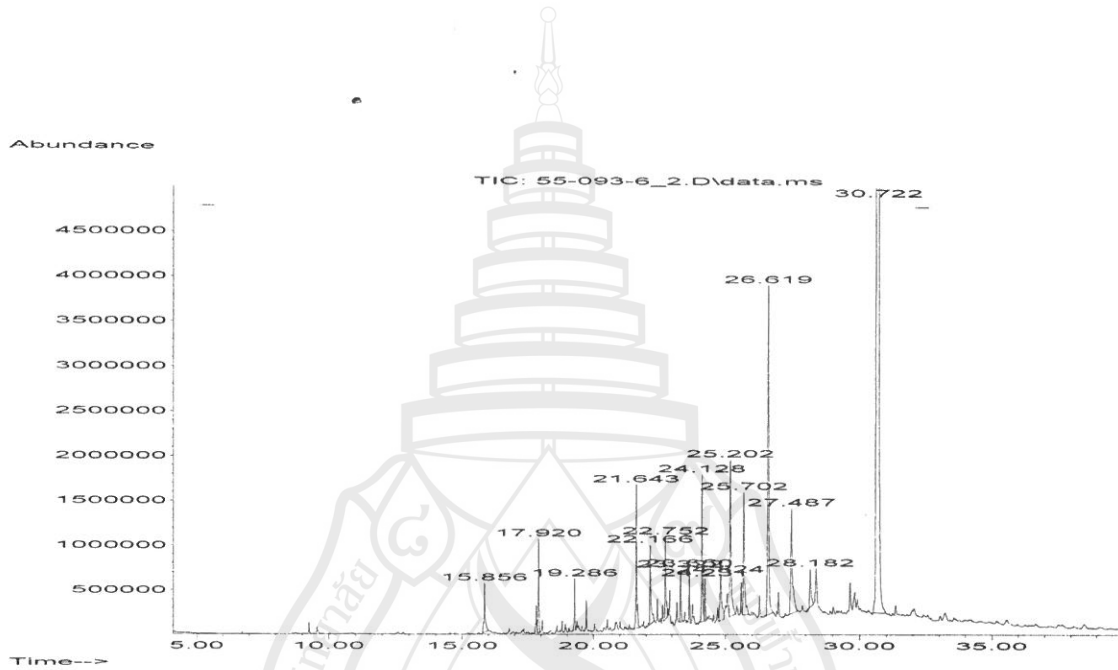


รูปที่ 4-6 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-05

ตารางที่ 4-8 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-05

Peak	RT	Area	Compound
1	30.632	100.00	1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID

การวิเคราะห์องค์ประกอบของส่วนสกัด ST-06 ด้วย GC/MS พบว่า มีสารประกอบที่แสดงออกเป็น peak เห็นได้ชัดเจน 17 peak (รูปที่ 4-7) ซึ่งสามารถเทียบเคียงกับข้อมูลใน library ได้ 5 สาร ดังแสดงในตารางที่ 4-9 สารประกอบที่มีมากที่สุดได้แก่ 1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID, DIISOCTYL ESTER ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 62.05



รูปที่ 4-7 Chromatogram ของส่วนสกัด ST-06

ตารางที่ 4-9 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ST-06

Peak	RT	Area	Compound
1	15.858	1.23	BENZENEACETAMIDE
2	17.921	1.31	1-ACETYL-5-(2-PYRROLIDINYL)-1,2,3,4-TETRAHYDROPYRIDINE
3	19.288	0.71	1,2,4-TRIMETHOXY-5-[(1E)-1-PROPENYL]BENZENE
4	21.643	2.75	HEXAHYDRODIBENZO[EF,KL]HEPTALENE 1(2H)-NAPHTHALENONE
5	22.167	1.98	UNKNOWN
6	22.751	1.76	UNKNOWN
7	23.323	0.95	UNKNOWN
8	23.647	0.98	UNKNOWN
9	24.128	2.91	UNKNOWN
10	24.231	0.76	HENICOSANE
11	24.825	1.76	UNKNOWN
12	25.203	3.96	UNKNOWN
13	25.700	3.36	UNKNOWN
14	26.618	8.39	UNKNOWN
15	27.488	4.11	UNKNOWN
16	28.185	1.03	UNKNOWN
17	30.724	62.05	1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID, DIISOCTYL ESTER

ผลการทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบของส่วนสกัด

การทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบของ ส่วนสกัด ทั้ง 6 ส่วน พบว่า ทุกส่วนสกัดสามารถลดการบวมของใบหูหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุกช่วงเวลาหลังจากทาสารกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ (EPP) คือตั้งแต่ที่เวลา 15 นาที 30 นาที 1 ชม. และ 2 ชม. ดังแสดงในตารางที่ 4-10 ส่วนสกัดที่สามารถลดการบวมได้ดีที่สุดคือ ส่วนสกัด ST-05 ซึ่งมีองค์ประกอบเป็น 1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID



ตารางที่ 4-10 ฤทธิ์ระงับการอักเสบของส่วนสกัดจากพืชในสกุลเพชรใหญ่

กลุ่มทดสอบ	ความหนาของใบหู (ไมโครเมตร) ที่เวลา			
	15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
กลุ่มควบคุม	224.2 ± 7.9	301.7 ± 7.9	305.8 ± 7.4	291.1 ± 6.8
PHBZ	76.1 ± 6.0*	86.1 ± 6.3*	112.2 ± 11.3*	84.4 ± 9.2*
ST-01	92.8 ± 23.0*	221.7 ± 18.6*	188.3 ± 27.4*	208.9 ± 24.8*
ST-02	78.9 ± 14.1*	123.3 ± 7.7*	119.4 ± 15.9*	149.4 ± 15.1*
ST-03	93.3 ± 9.8*	150.0 ± 14.8*	156.1 ± 14.0*	143.3 ± 11.9*
ST-04	96.7 ± 9.9*	113.9 ± 8.7*	154.4 ± 11.0*	137.8 ± 11.8*
ST-05	73.3 ± 8.2*	152.2 ± 10.4*	67.2 ± 17.1*	107.2 ± 9.2*
ST-06	101.1 ± 10.9*	170.0 ± 11.2*	137.8 ± 20.1*	167.2 ± 19.1*

กลุ่มทดสอบ	ระงับการอักเสบ(ร้อยละ)ที่เวลา			
	15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
PHBZ	66	71	63	71
ST-01	59	27	38	28
ST-02	65	59	61	49
ST-03	58	50	49	51
ST-04	57	62	50	53
ST-05	67	50	78	63
ST-06	55	44	55	43

หมายเหตุ

1. ข้อมูลแสดงเป็น mean ± S.E.M (n = 6) เครื่องหมาย * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)
2. ให้สารทดสอบ ขนาด 5 มิลลิกรัม/หู หรือ ยามาตรฐาน (Phenylbutazone ขนาด 1 มิลลิกรัม/หู) และให้ ethyl phenylpropionate (EPP) ละลายใน acetone (50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ที่ใบหูทั้งด้านในและด้านนอกต่อมาทันที วัดความหนาของใบหูด้วย vernier caliper ที่เวลา 15, 30, 60 และ 120 นาทีต่อมา

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

พืชในสกุลเพชรใหญ่ที่ทำการศึกษานี้ ยังไม่มีชื่อเรียกในภาษาไทยทั่วไปที่ชัดเจน บางท้องถิ่นเรียกพืชในสกุลนี้ว่า ว่านเพชรใหญ่ ขณะที่บางท้องถิ่นเรียก ว่านเพชรน้อย ชาติพันธุ์ มังเรียกพืชชนิดนี้ว่า “ซาลิ” ในประเทศไทย มีรายงานการค้นพบพืชในสกุลเดียวกันนี้แล้ว 6 ชนิด (Chaveerach et al., 2007) พืชชนิดนี้ เป็นพืชล้มลุกปีเดียว ควรปลูกในช่วงต้นฤดูฝน และเก็บ เหง้าในฤดูแล้ง ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้นำเหง้าพืชที่รวบรวมได้ส่วนหนึ่งมาปลูกขยายพันธุ์ เพื่อใช้เป็น วัสดุสำหรับการศึกษาวิจัยในปีต่อไป และเพื่อให้ได้ส่วนต่างๆ ของพืชสำหรับศึกษาลักษณะทาง สันฐานวิทยาเพื่อใช้ในการพิสูจน์ทราบ (identify) ชื่อวิทยาศาสตร์ที่แท้จริง

ผลจากการปลูกพืชชนิดนี้ จนได้ส่วนประกอบต่างๆ โดยเฉพาะดอก ทำให้สามารถสังเกต ลักษณะต่างๆ เปรียบเทียบกับลักษณะพืชที่มีผู้รายงานไว้แล้ว ผู้วิจัยจึงได้ระบุพืชชนิดนี้ว่าเป็นพืช ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stahlianthus involucratu* (King ex Baker) Craib ex Loes ในวงศ์ Zingiberaceae การสกัดเหง้าแห้งของพืชชนิดนี้ด้วยเอทานอล ทำให้ได้สารสกัดหยาบ และได้ วิเคราะห์องค์ประกอบ ด้วย GC/MS เพื่อแสดงอัตลักษณ์ของพืช สำหรับใช้ในการยืนยันชนิดพืช ในการศึกษาต่อไป ผู้วิจัยยังได้ร่วมกับคณะนักวิจัยที่คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเมินฤทธิ์ระงับการอักเสบ ของสารสกัดหยาบนี้ ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบ (เอ ทานอล) ของ *Stahlianthus involucratu* นี้ สามารถลดการบวมของใบหูและอุ้งเท้าที่อักเสบของ หนูทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญ และฤทธิ์ระงับการบวมนี้ยังผันแปรกับขนาดของสารทดสอบ (dose-dependent manner) อีกด้วย ผลการทดสอบนี้ ได้นำเสนอในการประชุมทางวิชาการ 7th Tannin Conference (Presymposium) and 58th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research ที่กรุง Berlin ประเทศ Germany ระหว่างวันที่ 29 สิงหาคม - 2 กันยายน 2010 และได้ตีพิมพ์บทความวิจัยใน วารสาร *Planta Medica* ในเวลาต่อมา (Kunanuson, 2010)

ในส่วนของการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆนั้น ผลการทดสอบคัดกรองเบื้องต้นโดยวิธี Epp-induced ear edema in rats พบว่าสารสกัดด้วยเฮกเซนและสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ต่างก็ มีฤทธิ์ระงับการอักเสบ ข้อค้นพบนี้ชี้ว่า สารออกฤทธิ์น่าจะเป็นกลุ่มที่ไม่มีขั้ว (nonpolar compounds) เช่น สารประกอบ terpenes และ flavonoids เป็นต้น

เนื่องจากสารสกัดด้วยเฮกเซนและสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ต่างก็มีฤทธิ์ระงับการอักเสบ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้รวมสารสกัดทั้งสองเข้าด้วยกัน และใช้ วิธีการทาง chromatography แยกส่วน

สกัดต่าง ๆ ตาม polarity ของตัวทำละลาย ได้ 6 ส่วนสกัด ผลการทดสอบฤทธิ์ระงับการอักเสบ พบว่า ทุกส่วนสกัดสามารถลดการบวมของหูหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุกช่วงเวลาหลังจากทาสารกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ (EPP) คือตั้งแต่ที่เวลา 15 นาที 30 นาที 1 ชม. และ 2 ชม.

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า สารสกัดหยาบ มี Benzyl Benzoate อยู่ใน ปริมาณที่สูงถึงร้อยละ 22.71 และยังพบสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของสารนี้ อีกในทุกส่วนสกัด

ข้อเสนอแนะ

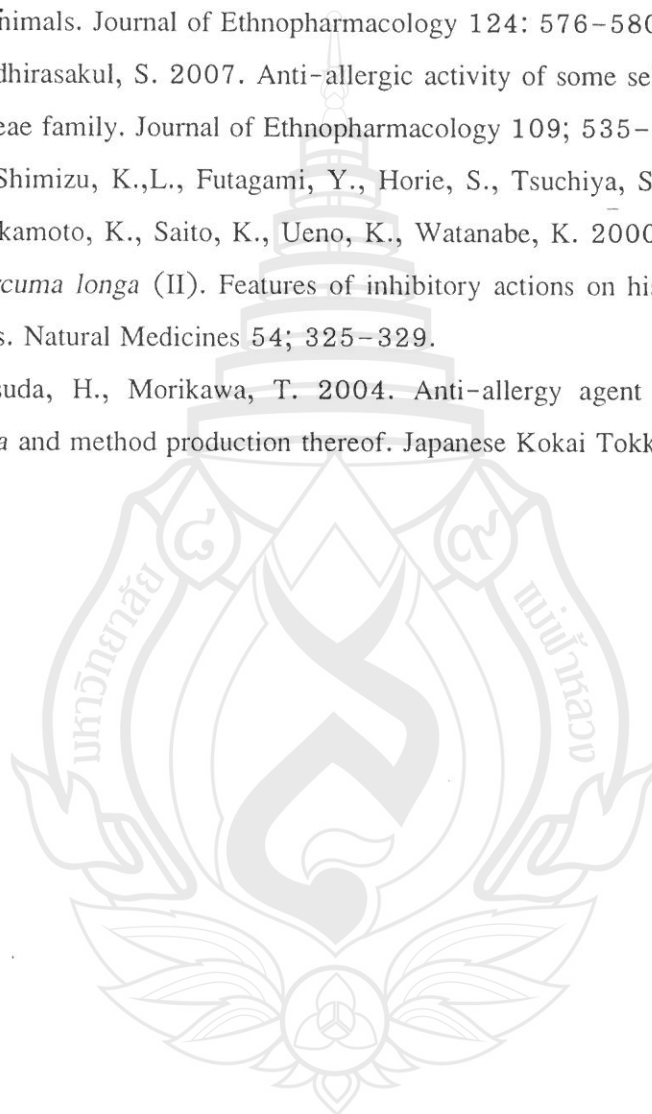
เนื่องจากทุกส่วนสกัด ล้วนมีฤทธิ์ระงับการอักเสบในระดับใกล้เคียงกัน การแยกเพื่อให้ได้ ส่วนสกัดใดส่วนสกัดหนึ่งเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมผลิตภัณฑ์จึงไม่มีความจำเป็น สารตั้ง ต้นที่มีฤทธิ์ ควรใช้สารสกัดหยาบ หรือสารสกัดด้วย nonpolar solvent และการพบว่า Benzyl Benzoates หรืออนุพันธ์ของสารนี้ มีอยู่ทั้งในสารสกัดหยาบและส่วนสกัดอื่น ๆ ทำให้สามารถใช้ สารประกอบนี้ เพื่อเป็นตัวชี้วัด (marker) สำหรับการทำให้ผลิตภัณฑ์ให้มีมาตรฐาน (standardization) ได้อีกด้วย

โครงการวิจัยนี้ เป็นโครงการต่อเนื่อง 2 ปี ผลสัมฤทธิ์ของโครงการในปีแรก เป็นไปตามที่ ได้เสนอไว้ครบถ้วนทุกประการ กล่าวคือ ได้เก็บรวบรวมพืชสมุนไพร เตรียมสารสกัดหยาบ ทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบของสารสกัด วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด แยกสารสกัดเป็นส่วนสกัดต่าง ๆ ทดสอบคัดกรองฤทธิ์ระงับการอักเสบของส่วนสกัด และวิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด

เอกสารอ้างอิง

- Chaveerach, A., Mokkalul, P., Sudmoon, R., Tane, T. and Garcia, V. F. 2007. A New Species of *Stahlianthus* (Zingiberaceae) from Northeastern Thailand. *Taiwania*, 52(4); 315-319.
- Chan, E.W.C., Lim, Y.Y. Mohammed, O. 2007. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etilingera* species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*, 104 (4); 1586-1593.
- Chien, T.Y., Chen, L.G., Lee a C.J., Lee, F.Y., Wang, C.C. 2008. Anti-inflammatory constituents of *Zingiber zerumbet*. *Food Chemistry* 110 (3): 584-589.
- Habsah, M., Amran, M., Mackeen, M.M., Lajis, N.H., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Rahman, A.A., Ghafar and Ali, A., M. 2000. Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Ethnopharmacology* 72 (3); 403-410.
- Hong, C.H., Hur, S.K., O-Jin, O., Kim, S.S., Nam, K.A., Lee, S.K. 2002. Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 83(1-2): 153-159
- Jamal, A., Javed, K., Aslam, M., Jafri, M. A. 2006. Gastroprotective effect of cardamom, *Elettaria cardamomum* Maton. fruits in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 103 (2); 149-153.
- Kunanusorn, P., Pingsusaen, P., Khonsung, P., Chiranthanut, N., Panthong, A., Rujjanawate, C., 2010. Anti-inflammatory effect of an ethanol extract from rhizomes of *Stahlianthus involucratus* in rats. *Planta Med* 76 - P614.
- Mau, J. L., Eric Y. C. L., Wang, N. P., Chen, C. C., Chang, C. H., Charng-Cherng Chyau, C. C. 2003. Composition and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. *Food Chemistry*, 82 (4); 583-591.
- Panthong, A., Kanjanapothi, D., Niwatananant, W., Tuntiwachwuttikul, P., Reutrakul, V., 1997. Anti-inflammatory activity of compound D {(E)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)but-3-en-2-ol} isolated from *Zingiber cassumunar*. *Phytomedicine* 4; 207-212.

- Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., Amornlerdpison, D., Pojanagaroon S. 2005. Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, 102 (1); 120-122.
- Sae-wong, C., Tansakul, P., Tewtrakul, S. 2009. Anti-inflammatory mechanism of *Kaempferia parviflora* in murine macrophagecells (RAW264.7) and in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology* 124: 576-580.
- Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S. 2007. Anti-allergic activity of some selected plants in the Zingiberaceae family. *Journal of Ethnopharmacology* 109; 535-538.
- Yano, S., Terai, M., Shimizu, K.,L., Futagami, Y., Horie, S., Tsuchiya, S., Ikegami, F., Sekine, T., Takamoto, K., Saito, K., Ueno, K., Watanabe, K. 2000. Anti-allergic activity of *Curcuma longa* (II). Features of inhibitory actions on histamine release from mast cells. *Natural Medicines* 54; 325-329.
- Yoshikawa, M., Matsuda, H., Morikawa, T. 2004. Anti-allergy agent obtained from *Alpinia galanga* and method production thereof. *Japanese Kokai Tokkyo Koho*, 9.



ภาคผนวก

Planta Med 2010; 76 - P614

Anti-inflammatory effect of an ethanol extract from rhizomes of *Stahlianthus involucratus* in rats

P Kuananusorn ¹, P Pingsusaen ¹, P Khonsung ¹, N Chiranthanut ¹, A Panthong ¹, C Rujjanawate ²

¹Chiang Mai University, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, 110 Indhawaroros Road, 50200 Chiang Mai, Thailand

²Mae Fah Luang University, School of Health Science, 333 Moo1, Thasud, Muang, 57100 Chiang Rai, Thailand

Stahlianthus involucratus (King) Craib ex Loes, a perennial herbaceous plant of the Zingiberaceae family, is widely distributed in Asia [1]. Since no pharmacological and phytochemical studies have been reported, this study aimed to investigate the anti-inflammatory activity of an ethanol extract from its rhizomes in rats using the ethyl phenylpropiolate (EPP)-induced ear edema model [2] and the carrageenin-induced hind paw edema model [3]. The topical application of the extract (5mg/ear) significantly inhibited EPP-induced ear edema, at all evaluation time points, with comparable percentages of inhibition to those of diclofenac (5mg/ear), the reference nonsteroidal anti-inflammatory drug. The extract (75, 150 and 300mg/kg p.o.) as well as diclofenac (10mg/kg p.o.) also significantly inhibited carrageenin-induced hind paw edema, at all evaluation time points. Moreover, the latter effect of the extract appeared to occur in a dose-dependent manner. The present study revealed an anti-inflammatory effect of the ethanolic extract from *S. involucratus* rhizomes in rats possibly through inhibition of cyclooxygenase similar to diclofenac.

Acknowledgements: This work was supported by the Faculty of Medicine Endowment Fund, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

References:

1. Chaveerach, A. et al. (2007) *Taiwania* 52:315-319.
2. Brattsand, R. et al. (1982) *J. Steroid. Biochem.* 16:779-786.
3. Winter, C.A. et al. (1962) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111:544-547.

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไชยยง รุจจนเวท

อาจารย์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย

การศึกษา B.Sc. (Medical Technology) ChiangMai University 1985

M.Sc. (Pharmacology) ChiangMai University 1988

Ph.D. (Pharmacology) ChiangMai University 1997

สมาชิกในกองบรรณาธิการ (Editorial Board Member)

1. Journal of Medicinal Plant Medicine (JMPR) ISSN 1996-0875
2. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA) ISSN 07177
3. International Journal of Cell & Molecular Biology ISSN 2220-7589

บทความวิจัยในวารสาร

1. **Rujjanawate, C.** Apisariyakul, A. 1989. Effect of paraquat on skeletal contractile responses in albino rats. Thai J Pharmacol 11: 25-32.
2. Marles, R., Durst, T., Kobaisy, M., Soucy-Breau, C., Abou-Zaid, M., Arnason, J.T., Kacew, Sam., Kanjanapothi, D., **Rujjanawate, C.**, Meckes, M., Lozoya, X. 1995. Pharmacokinetics metabolism and toxicity of the plant-derived phototoxin α -terthienyl, Pharmacology & Toxicology 77: 164-168.
3. **Rujjanawate, C.**, Kanjanapothi, D., Amornlerdpison, D. 2000. The gastroprotective effect of the aqueous extract of roselle. Thai J Phytopharmacy 7(2): 1-6.
4. Kawpinit, D., **Rujjanawate, C.**, Kanjanapothi, D., Panthong, A., Taesotikul, T. 2000. *Gynostemma pentaphyllum* makino: a plant with therapeutic potentials. ACGC Chemical Research Communications 11: 60-61.
5. **Rujjanawate, C.**, Amornlerdpison, D., Kanjanapothi, D. 2001. Gastroprotective effect of Thai propolis. Thai J Pharmacol 23(1): 9-15.
6. **Rujjanawate, C.**, Amornlerdpison, D., Kanjanapothi, D. 2001. Gastroprotective effect of Thai roselle mucilage. Thai J Pharmacol 23(2-3): 95-100.
7. **Rujjanawate, C.**, Kanjanapothi, D., Panthong, A. 2003. Pharmacological effect and toxicity of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth. J. Ethnopharmacology 89(1): 91-95.

8. Wisitpongphan, W., Ruangyuttikarn, W., **Rujjanawate, C.**, Panthong, A., Vinitketkumnuen, U., Lertprasertsuk, N. 2003. Toxicity tests of RangJert (*Thunbergia laurifolia* Linn.) leaves aqueous extract in rats. *Thai J Phytopharmacy* 10(2): 23-36.
9. Kanjanapothi, D., Panthong, A., Lertprasertsuke, N., Taesotikul, T., **Rujjanawate, C.**, Kaewpinit, D., Sudthayakorn, R., Choochote, W., Chaithong, U., Jitpakdi, A., Pitasawat, B. 2004. Toxicity of crude rhizome extract of *Kaempferia galanga* L. (Proh Hom). *J. Ethnopharmacology* 90(2-3): 359-365.
10. **Rujjanawate, C.**, Kanjanapothi, D., Amornlerdpison, D. 2004. The anti-gastric ulcer effect of *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Phytomedicine* 11(5): 431-435.
11. **Rujjanawate, C.**, Kanjanapothi, D., Amornlerdpison, D. 2004. Analgesic effect of *Sapindus rarak* Pericarp. *J. Trop. Med. Plants.* 5(1): 11-14.
12. **Rujjanawate, C.**, Kanjanapothi, D., Amornlerdpison, D. 2005. Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. *J. Ethnopharmacology* 102: 120-122.
13. **Rujjanawate, C.**, Kanjanapothi, D., Amornlerdpison, D. 2005. Antiulcerogenic activity of *Microspora floccosa*. *J. Trop. Med. Plants.* 6(2): 153-157.
14. Peerapornpisal, Y., Amornlerdpison, D., **Rujjanawate, C.**, Ruangrit, K., and Kanjanapothi, D., 2006. Two endemic species of macroalgae in Nan river, Northern Thailand as therapeutic agents. *Science Asia* 32 Supplement I: 71-76.
15. Pojanagaroon, S., **Rujjanawate, C.** 2006. Effect of different internal skin color of Krachai-Dam (*Kaempferia parviflora*) rhizomes on adaptogenic activity, *Khon Kaen Agriculture Journal.* 34(4) : 286-296.
16. Amornlerdpison, D., Peerapornpisal, Y., **Rujjanawate, C.**, Taesotikul, T., Nualchareon, M., Kanjanapothi, D. (2007): Hypotensive Activity of Some Marine Algae. *J Sci Res Chula (section T):* 363-368.
17. Amornlerdpison, D., Peerapornpisal, Y., **Rujjanawate, C.**, Taesotikul, T., Nualchareon, M., Kanjanapothi, D. (2007). Antioxidant activity of *Padina minor* Yamada. *KMITL Science and Technology Journal* 7 (S1):1-7.
18. Tiamjan, R., Panthong A., Taesotikul, T., **Rujjanawate, C.**, Taylor W.C., Kanjanapothi, D. 2007. Hypotensive Activity of *Tacca chantrieri* and Its Hypotensive Principles. *Pharmaceutical Biology* 45 (6): 481-485.
19. Pojanagaroon, S., **Rujjanawate, C.**, Kittakoop, P. 2009. Adaptogenic Active Fraction in Krachai-Dam (*Kaempferia parviflora* Wall ex Baker) Hexane Extract of Rhizomes, *Thai. Agri. Res. J.* 27(3): 256-274.

20. Keardrit, K., Rujjanawate, C., Amornlerdpison, D. 2010. Analgesic, Antipyretic and Anti-inflammatory Effects of *Tacca chantrieri* Andre, Journal of Medicinal Plants Research 4(19): 1991-1995.
21. Kunanusorn, P., Pingsusaen, P., Khonsung, P., Chiranthanut, N., Panthong, A., Rujjanawate, C., 2010. Anti-inflammatory effect of an ethanol extract from rhizomes of *Stahlianthus involucratus* in rats. *Planta Med* 76 - P614.
22. Pripdeevech, P., Pitija, K., Rujjanawate, C., Pojanagaroon, S., Kittakoop, P., Wongpornchai, S. 2012. Adaptogenic-active components from *Kaempferia parviflora* rhizomes, *Food Chemistry* 132: 1150-1155.

หนังสือ

1. ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว, ไชยยง รุจจนเวท. พิเคราะห์ตำรายาพื้นบ้านล้านนา ฉบับวัดศรีเกิด. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์มิ่งเมือง, 2546
2. ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว, ไชยยง รุจจนเวท. เหล้าล้านนา : สถาบันวิจัยสังคม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, โรงพิมพ์มิ่งเมือง, 2546
3. ไชยยง รุจจนเวท, บรรณาธิการ. 20 ปี สวนสมุนไพร สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน), 2549]
4. Chaiyong Rujjanawate, Editor. 20th Anniversary HRH Princess Chakri Sirindhorn Herbs Garden. PTT Public Company Limited, 2006.
5. ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว, ไชยยง รุจจนเวท. ตำรายาสมุนไพรของไทยใหญ่ในล้านนา เล่ม 1 : สถาบันวิจัยสังคม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, โรงพิมพ์มิ่งเมือง, 2550
6. ไชยยง รุจจนเวท. (2551). การอดอาหารและการจำกัดแคลอรี, ใน เทวัญ ธาณิรัตน์ และคณะ (บรรณาธิการ), อาหารเพื่อสุขภาพ (หน้า 565-590). กรุงเทพฯ : กรมการแพทย์ทางเลือก กรมพัฒนาแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข
7. Chaiyong Rujjanawate, Editor. The Essence of Thai Herbs. PTT Public Company Limited, 2008.
8. ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว, ไชยยง รุจจนเวท. ตำรายาสมุนไพรของไทยใหญ่ในล้านนา เล่ม 2: สถาบันวิจัยสังคม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, โรงพิมพ์มิ่งเมือง, 2551
9. ไพฑูรย์ ดอกบัวแก้ว, ไชยยง รุจจนเวท. ตำรายาสมุนไพรของไทยลื้อในจีน: สถาบันวิจัยสังคม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, โรงพิมพ์มิ่งเมือง, 2551

ผู้ร่วมวิจัย

นางสาวนริศรา ไล้เลิศ

อาจารย์ ระดับ 7 ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทรศัพท์ 0-5394-5362-4 โทรสาร 0-5394-5368

e-mail : nlailerd@mail.med.cmu.ac.th

การศึกษา Bachelor of Science (Nursing and Midwifery), Chiang Mai University,
Chiang Mai, Thailand 1990

Master of Science (Physiology), Chiang Mai University, Chiang Mai,
Thailand 1995

Ph.D. (Physiology), Mahidol University, Bangkok, Thailand 2004

บทความวิจัยในวารสาร

1. Lailerd N , Pongchaidecha A, Boonnayathap U, Chaiwan B, Mattayabun S. 1996. Effects of exercise and diabetic condition on gastrointestinal transit and glucose homeostasis in rats. *Thai J Physiol Sci* 9 (1):45.
2. Lailerd N , Saengsirisuwan V, Sloniger JA, Toskulkao C, Henriksen EJ. 2004. Effects of stevioside on glucose transport activity in insulin-sensitive and insulin-resistant rat skeletal muscle. *Metabolism* 53 (1):101-107
3. Sloniger JA, Saengsirisuwan V, Diehl CJ, Dokken BB, Lailerd N , Lemieux AM, Kim JS, Henriksen EJ. 2005. Defective Insulin Signaling in Skeletal Muscle of the Hypertensive TG (mREN2)27 Rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 288 (6):E1074-81.
4. Boonprasert P, Lailerd N, Chattipakorn N. 2008. Urocortins in heart failure and ischemic heart disease. *Int J Cardiol* 127: 307-312.
5. Kanlop N, Shinlapawittayatorn K, Sungnoon R, Chattipakorn S, Lailerd N, Chattipakorn N. 2008. Sildenafil citrate on the inducibility of ventricular fibrillation and upper limit of vulnerability in swine. *Med Sci Monit* 14(10): BR205-209.
6. Kusirisin W, Srichairatanakool S, Lerttrakarnnon P, Lailerd N, Suttajit M, Jaikang C, Chaiyasut C. 2009. Antioxidative activity, polyphenolic content and anti-glycation effect of some Thai medicinal plants traditionally used in diabetic patients. *Med Chem* 5(2):139-147.

7. Pongchaidecha A, Lailerd N, Boonprasert W, Chattipakorn N. 2009. Effects of curcuminoids supplement on cardiac autonomic status in high-fat-induced obese rats. *Nutrition* 25 (7-8): 870-878.



ผู้ร่วมวิจัย

นาย พหล แสนสมชัย

อาจารย์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

โทรศัพท์ 0 5391 6830 โทรสาร 0 5391 6830ล

E-mail: lyw11@hotmail.com

การศึกษา Bachelor of Science (Biochemistry), Chiang Mai University, Chiang Mai,
Master of Science (Biochemistry and Biochemical Technology), Chiang
Mai University,

