



ลักษณะทางเภสัชเวทและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของต้นพะเนียงฮัด

Pharmacognostic Character and Pharmacological Properties of *Elaeodendron glaucum* (Rottb.) Pers.

กัญญารัตน์ เป็งงำเมือง¹, ปิยะพร ทระจักษ์¹, พันธิวา กระจาย², จักรพงษ์ แท่งทอง³

นिरามัย ฟางกระโทก⁴, จินตนา จุลทัศน์^{1*}

Kanyarat Peng-ngummuang¹, Piyaporn Thorajak¹, Puntiva Krachai², Jakrapong Thangthong³

Niramai Fangkrathok⁴, Jintana Junlathat^{1*}

(Received: July 26, 2021; Revised: November 5, 2021; Accepted: November 25, 2021)

บทคัดย่อ

พะเนียงฮัด (*Elaeodendron glaucum* (Rottb.) Pers.) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Celastraceae ส่วนเปลือกต้นถูกนำมาใช้ในการรักษาแผลในผู้ป่วยเบาหวานตามภูมิปัญญาหมอพื้นบ้านอีสาน และในปัจจุบันยังใช้รักษาอย่างต่อเนื่อง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางเภสัชเวท โดยการศึกษาลักษณะทางมหัพรรณและลักษณะจุลพรรณของเครื่องยา ลักษณะทางเคมีฟิสิกส์และการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเปลือกต้นพะเนียงฮัด อันได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ผลการศึกษาพบว่า เปลือกต้นพะเนียงฮัดมีผงสีแดงปนน้ำตาล มีปริมาณที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง ($2.17 \pm 0.05\%w/w$) ปริมาณเถ้ารวม ($13.97 \pm 0.03\%w/w$) เถ้าที่ไม่ละลายในกรด ($0.41 \pm 0.11\%w/w$)

¹คณะแพทยแผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

¹Faculty of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ubon Ratchathani Rajabhat University

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย

²Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University

³คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

³Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University

⁴ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

⁴Center for Research and Development of Herbal Health Product, Faculty of Pharmaceutical Science, Khon Kaen University

*Corresponding Author: jintana.j@ubru.ac.th



ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (13.89 ± 0.20 %w/w) และปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล (16.48 ± 0.25 %w/w) ผลการศึกษาพฤกษเคมี พบว่าสารสกัดจากเปลือกต้นพะเนียงฮัด มีสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ แทนนิน และแอลคาลอยด์ โดยพบกรดแกลลิก และวานิลลินเป็นองค์ประกอบสำคัญ สารสกัดส่วนน้ำของเปลือกพะเนียงฮัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50} เท่ากับ 5.50 ± 0.10 และ 25.28 ± 0.63 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ (EC_{50} เท่ากับ 157.60 ± 1.25 $\mu\text{g/ml}$) และยังพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอีกด้วย ผลการศึกษาในครั้งนี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรและเป็นข้อมูลสำคัญในการสนับสนุนการใช้สมุนไพรพะเนียงฮัดตามภูมิปัญญาพื้นบ้าน ส่งเสริมการต่อยอดองค์ความรู้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรต่อไป

คำสำคัญ: พะเนียงฮัด ลักษณะทางเภสัชเวท ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

Abstract

Elaeodendron glaucum (Rottb.) Pers. is an indigenous herb belonging to the Celastraceae family. Its bark has been used to treat diabetic wounds according to the folk wisdom of Isan healers and is still being used for continuous healing. The purpose of this research was to study the pharmacognostic character of this plant by studying the macroscopic and microscopic characteristics of the drug, the physicochemical characterization and the chemical identification by high-performance liquid chromatography (HPLC). In addition, the pharmacological effects of its bark were also studied, including antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial activities. The results showed that the bark was reddish-brown, the loss on drying (2.17 ± 0.05 %w/w), total ash (13.97 ± 0.03 %w/w), acid-insoluble ash (0.41 ± 0.11 %w/w), water extractive (13.89 ± 0.20 %w/w) and ethanol extractive values (16.48 ± 0.25 %w/w). Phytochemical studies have shown that the bark extraction of this herb contains flavonoids, tannins and alkaloids. Gallic acid and vanillin were also found as important constituents. Moreover, the aqueous extract of the bark exhibited antioxidant activity (EC_{50} was 5.50 ± 0.10 and 25.28 ± 0.63 $\mu\text{g/ml}$ when tested by DPPH and ABTS, respectively), anti-inflammatory effect by inhibiting nitric oxide secretion (EC_{50} was 157.60 ± 1.25 $\mu\text{g/ml}$), and also revealed antibacterial activity. The results of this study are very useful in the quality control of herbs and are



important information to support the use of *E. glaucum* according to folk wisdom. The finding also helps to expand knowledge in herbal medicine product development.

Keywords: *Elaeodendron glaucum* (Rottb.) Pers., Pharmacognosy, Pharmacological activity

บทนำ

เครื่องยาสมุนไพรเป็นส่วนหนึ่งของพืชที่ใช้เป็นยามักถูกตัดเป็นชิ้นหรือบดเป็นผงซึ่งยากต่อการระบุชนิดของพืช จึงทำให้เกิดปัญหาในการใช้ เช่น การใช้ผิดชนิดโดยการนำสมุนไพรชนิดอื่นมาใช้ทดแทนจนเข้าใจผิดว่าเป็นชนิดเดียวกัน การใช้ผิดส่วน ทั้งนี้ชื่อของพืชชนิดเดียวกันเรียกได้หลายชื่อตามแต่ละท้องถิ่น ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อความถูกต้องของการใช้เครื่องยาในตำรับยา มีผลต่อประสิทธิภาพในการรักษา การศึกษาลักษณะทางเภสัชเวชของเครื่องยาสมุนไพรจึงเป็นขั้นตอนสำคัญในการช่วยตรวจยืนยันชนิดของเครื่องยา (Denchai, Rattarom, & Nualkeaw, 2018) ใช้ควบคุมคุณภาพของเครื่องยาโดยการดูแลลักษณะภายนอก ศึกษาเนื้อเยื่อของพืช การศึกษาลักษณะของผงยา และตรวจการปลอมปนของเครื่องยาสมุนไพร (Meeyutem, Prachasupap, Chotpool, Tumpad, & Chansukh, 2019) การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางเภสัชเวชของต้นพะเนียงฮัด โดยการศึกษาลักษณะทางมหากลักษณะทางจุลภาคของเครื่องยา ลักษณะทางเคมีฟิสิกส์และการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสมุนไพร เป็นวิธีการที่สามารถแยกสารผสมได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ

พะเนียงฮัด เป็นสมุนไพรพื้นบ้านอีสาน สามารถพบตามป่าชุมชน ท่งนา มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Elaeodendron glaucum* (Rottb.) Pers. วงศ์ Celastraceae มีชื่ออื่น ๆ เช่น หมากร้านองตัน กกกกคาย ตำรับยาของหมอกิตติ นาคุณ หมอพื้นบ้านในพื้นที่อำเภอพิบูลมังสาหาร จังหวัดอุบลราชธานี ใช้เปลือกต้นเป็นเครื่องยารักษาแผลเบาหวานช่วยให้แผลเรียบ กระตุ้นการเกิดใหม่ของเนื้อเยื่อ (Punthawongkoon et al., 2015) ในประเทศอินเดียใช้รากในการรักษาแผลงูกัด (Kumar & Saikia, 2020) พงใบใช้เป็นยาระงับอาการปวดศีรษะ เปลือกกรากนำมาบดผสมน้ำช่วยลดอาการบวม ใช้เป็นยาถอนพิษ ระงับพิษงูและทาถูบริเวณหน้าอกบรรเทาอาการปวดบวม (Javaweera, 2006) ตามภูมิปัญญาพื้นบ้านอีสานที่เปลือกต้นพะเนียงฮัดเป็นยารักษาแผลในผู้ป่วยเบาหวาน แผลเบาหวานมีความสัมพันธ์กับภาวะปลายเส้นประสาทเสื่อม ร่วมกับภาวะเส้นเลือดแดงส่วนปลายตีบ แผลเบาหวานโดยทั่วไปพบที่บริเวณเท้า คนที่มีภาวะเบาหวานจะมีความไวต่อการติดเชื้อทั้งเชื้อก่อโรคทั่วไปและเชื้อฉวยโอกาสในคนที่เป็เบาหวาน ซึ่ง



ปัจจัยที่ทำให้คนที่เป็นเบาหวานติดเชื้ต่าง ๆ ใ้ได้ง่าย ใ้ได้แก่ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายทำงานผิดปกติไป เช่น การตอบสนองของ T lymphocytes ลดลง การทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ลดลง ความผิดปกติของระบบ humoral immunity การสร้าง inflammatory cytokines ลดต่ำลง ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงจะส่งผลใ้เพิ่มความรุนแรงของเชื้ก่อโรคนในการติดเชื้ได้ และระบบ antioxidant ในร่างกายทำงานลดลง ระบบร่างกายที่ผิดปกติไป นอกจากนี้ภาวะน้ำตาลในปัสสาวะและผลกระทบบจากการรับยาต่าง ๆ ล้วนมีผลทำให้เกิดการติดเชื้ได้ง่าย (Khan & Junaid, 2017) เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติที่แข็งแรงกับคนที่เป็นเบาหวาน จะพบว่าคนที่เป็นเบาหวานจะสามารถติดเชื้ได้ง่ายกว่าคนปกติมาก และเกิดแผลอักเสบ ในปัจจุบันการรักษาได้แก่ การใช้ยาร่วมกับการตัดแต่งแผล การผ่าตัด หรือการใช้หนองแมลงวัน เป็นต้น แต่หลาย ๆ วิธียังมีข้อจำกัด การใช้สมุนไพรเป็นการแพทย์ทางเลือกที่ยังได้รับความนิยม และโดยเฉพาะในชุมชนที่อยู่ห่างไกล เช่น ที่อำเภอพิบูลมังสาหาร จังหวัดอุบลราชธานี การรับการรักษาแผลเบาหวานกับหมอพื้นบ้านยังคงเป็นที่นิยม จากการที่ยังมีผู้ป่วยเบาหวานมารับการรักษาแผลเบาหวานกับหมอกิตติ นาคุณ อย่างต่อเนื่อง พะเนียงฮัดเป็นสมุนไพรหลักที่หมอกิตติใช้ในการรักษาแผลเบาหวาน ดังนั้น การศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัด การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้แบคทีเรีย และฤทธิ์ต้านการอักเสบ จึงมีความสำคัญเพื่อให้ได้ข้อมูลทางห้องปฏิบัติการสำหรับการสนับสนุนการใช้ประโยชน์ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพร การศึกษานี้ยังสามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรและการศึกษาวิจัยพัฒนาเครื่องยาชนิดนี้ต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะทางเภสัชเวท การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีฟิสิกส์ การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น และศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ประกอบด้วยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านเชื้แบคทีเรียของเปลือกต้นพะเนียงฮัด

วิธีการวิจัย

การศึกษาลักษณะทางเภสัชเวท

การเตรียมตัวอย่าง เก็บตัวอย่างเปลือกต้นพะเนียงฮัดจาก 3 อำเภอในจังหวัดอุบลราชธานี โดยหมอกิตติ นาคุณเป็นผู้เก็บ ตัวอย่างอ้างอิง (voucher specimen) หมายเลข P01-P03 เก็บ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพร คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี



ศึกษาลักษณะของต้น ใบ ดอก ผล ตามอนุกรมวิธาน ตรวจยืนยันชนิดที่ถูกต้องโดยนักอนุกรมวิธานพืช คัดแยกสิ่งแปลกปลอม ล้างทำความสะอาด ทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส บดเป็นผงและ เก็บในขวดปิดสนิทที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป สารเคมีทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษานี้เป็น analytical reagent grade (AR grade)

การศึกษาลักษณะทางมหภาคและลักษณะจุลภาค ศึกษาต้นฐานวิทยาของสมุนไพรและเครื่อง ยา โดยการสังเกตลักษณะทางกายภาพด้วยตาเปล่า เช่น พื้นผิว ขนาด รูปร่าง สี รอยหัก ใช้ประสาท สัมผัสในการบรรยายกลิ่นและรสของเครื่องยา การศึกษาลักษณะทางจุลภาคจากการศึกษาลักษณะ เนื้อเยื่อพืชและการตรวจสอบลักษณะเซลล์ เนื้อเยื่อและสิ่งสะสมของพืชในผงยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound light microscope รายงานเป็นภาพถ่ายและภาพวาดลายเส้น

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีฟิสิกส์ นำผงตัวอย่างสมุนไพร ทั้ง 3 แหล่ง บดให้ละเอียด ร้อนผ่านร่อนเบอร์ 60 (ขนาด 250 μm) นำมาทดสอบเอกลักษณ์ทางเคมีฟิสิกส์ ประกอบด้วย ปริมาณสิ่ง แปลกปลอมโดยการคัดแยกชิ้นส่วนอื่น ๆ ของพืช พืชอื่น ชิ้นส่วนอวัยวะสัตว์หรือวัตถุอื่นที่อาจเจือปน มากับเครื่องยาออก ปริมาณเถ้าทั้งหมดโดยการชั่งผงยา 3 g ในถ้วยกระเบื้องและเผาที่ 500 องศา เซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักที่ชั่งติดต่อกัน 2 ครั้งต่างกันไม่เกิน 0.5 mg/g ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล ปริมาณความชื้นและสารระเหยแห้งหลังอบ วัดปริมาณน้ำใน สมุนไพรกลั่นโดยใช้ azeotropic apparatus ด้วยสารโทลูอีนที่ทำให้อิ่มตัว และการหาปริมาณน้ำมัน ระเหยง่ายด้วยชุดกลั่น Clevenger apparatus ตามวิธีในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Department of Medical Sciences, 2019)

การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น สกัดหยาบเอทิลเอซีเตดและเอทานอล จากเปลือกต้น พะเนียงจัดแบ่งการทดสอบสารออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แอลคาลอยด์ และ แทนนิน จะใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน เช่น การทดสอบสารแทนนิน โดยใช้ยาทดสอบ ferric chlorice solution ซึ่งจะให้สี น้ำเงินเขียว ม่วง หรือแดง ปฏิกิริยาการเกิดฟองในการทดสอบสารกลุ่ม ซาโปนิน การทดสอบการกลุ่มอัลคาลอยด์ด้วย Dragendorff's test จะสังเกตตะกอนสีน้ำตาลส้ม ในขณะที่ การทดสอบด้วย Mayer's test จะเกิดตะกอนสีขาวเหลือง (Alqethami & Aldhebiani, 2021)

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ศึกษาเอกลักษณ์ทาง เคมีของสารสกัดพืชสมุนไพรเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานด้วยเทคนิค HPLC ละลายสารสกัดใน เมทานอล และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องลดขนาดด้วยคลื่นความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที คอลัมน์ชนิด Agilent Technologies 1260



Infinity เป็นวัฏภาคย้อนกลับ C_{18} Agilent ZORBAX คอลัมน์ ขนาด $5\ \mu\text{m}$, $4.6 \times 150\ \text{mm}$ เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมระหว่าง อะซิโตนไครล์และ 1% กรดอะซิติก ที่สัดส่วน (7:93) โดยมีอัตราการไหลเท่ากับ $1.1\ \text{ml/min}$ และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น $272\ \text{nm}$ ใช้ gallic acid, chlorogenic acid, vanillin, epicatechin gallate (ECG), quercetin, coumaric acid, ferulic acid และ catechin เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ (Sripanidkulchai & Junlatat, 2014)

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

การเตรียมสารสกัดหยาบ สกัดเปลือกต้นพะเนียงอัดด้วยน้ำ ดำเนินการโดยต้มผงสมุนไพร เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง No. 1 จากนั้นนำมาทำแห้งโดยเครื่องทำให้แห้งด้วยความเย็น (Freeze dryer) จนสมุนไพรแห้งสนิท เก็บสารสกัดในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการวัดปริมาณฟีนอลิกรวม

ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay (Junlatat, Fangkrathok, & Sripanidkulchai, 2018) โดยเตรียมสารละลาย DPPH (2, 2 – diphenyl – picryl hydrazine) ความเข้มข้น $1\ \text{mM}$ แล้วเติมลงในสารละลายสารสกัดสมุนไพร บ่มนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $515\ \text{nm}$ ด้วยเครื่อง spectrophotometer จากนั้นคำนวณค่า % DPPH radical inhibition และค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถจับอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50}) เปรียบเทียบกับค่า EC_{50} ของสารมาตรฐานวิตามินซี

ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (Sridhar & Charles, 2019) โดยนำโดยนำสารสกัดละลายใน DMSO เจือจางแบบ 2-fold serial dilution ให้ได้ความเข้มข้น $2.5\text{--}0.001\ \text{mg/ml}$ จำนวน 8 ความเข้มข้น ใช้สารสกัดที่เตรียมไว้ ปริมาตร $100\ \mu\text{l}$ เติมสารละลาย ABTS^{+} $100\ \mu\text{l}$ ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $734\ \text{nm}$ ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer รายงานค่าที่วัดได้เป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% Inhibition) อนุมูลอิสระ ABTS^{+} และคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50}) โดยใช้ Trolox เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน

ศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method (Junlatat et al., 2018) โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ให้สารทดสอบผสมกับกับ Folin reagent แล้วเติม 20% sodium carbonate บ่มนาน 40 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ $725\ \text{nm}$ จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐาน gallic acid แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสมุนไพรเทียบกับกราฟมาตรฐาน แสดงค่า total phenolics เป็น gallic acid equivalent (GAE) เป็นหน่วย mg/g ของสารสกัด



การศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบ

เลี้ยงเซลล์ murine macrophage (RAW264.7 cells) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM) ที่มี 10% Fetal Bovine Serum และ 1% Penicillin-Streptomycin และเลี้ยงเซลล์ภายใต้สภาวะที่มี CO₂ 5%, 37 องศาเซลเซียส จากนั้นทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัด โดยใช้วิธี MTT assay (Fangkrathok, Sripanidkulchai, Junlatat, & Sripanidkulchai, 2021) เพื่อหาความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ แล้วจึงวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนไตรท์โดยปฏิกิริยา Griess โดยนำเซลล์แมคโครฟาจ RAW264.7 เพาะเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 24 หลุม (1.5×10⁵ เซลล์ต่อหลุม) หลังจากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของสกัดในความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (0-200 µg/ml) ในสภาวะที่มีหรือไม่มี *Escherichia coli* LPS นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ในหลอดทดลอง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,700 × g นาน 5 นาที จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเซลล์ 100 µl ผสมกับสารละลาย Griess [1% N-(1-naphthyl) ethylrne-diaminedihydrochloride และ 1% sulfanilamide ใน 5% phosphoric] จำนวน 100 µl ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 546 nm คำนวณร้อยละการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของสารสกัดโดยใช้สาร aminoguanidine เป็นสารควบคุมบวกในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (Junlatat et al., 2020)

การศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย

ศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย โดยการเตรียมสารสกัด โดยชั่งสารสกัด 100 mg ทำการละลายสารสกัดด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 1 ml แล้วทำการกรองด้วย syringe filter 0.4 µm จะได้สารสกัดที่เป็น stock solution ทำการทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อจุลินทรีย์ (ดัดแปลงจากวิธีของ Chuangchot, Tattawasart, Sripanidkulchai, Junlatat, & Fangkrathok, 2017) โดยนำเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus epidermidis* TISTR 518, *Escherichia coli* TISTR 780, *Bacillus subtilis* TISTR 008, *B. cereus* TISTR 687, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* TISTR 1529 และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 มาเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปรับเชื้อด้วย 0.85% NaCl ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 McFarland โดยการทดสอบหาค่า inhibition zone ค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ ค่า minimum bactericidal concentration (MBC) และทดสอบหาค่า inhibition zone โดยใช้วิธี Disk diffusion method เทียบกับยามาตรฐาน Tetracycline และ Ampicillin

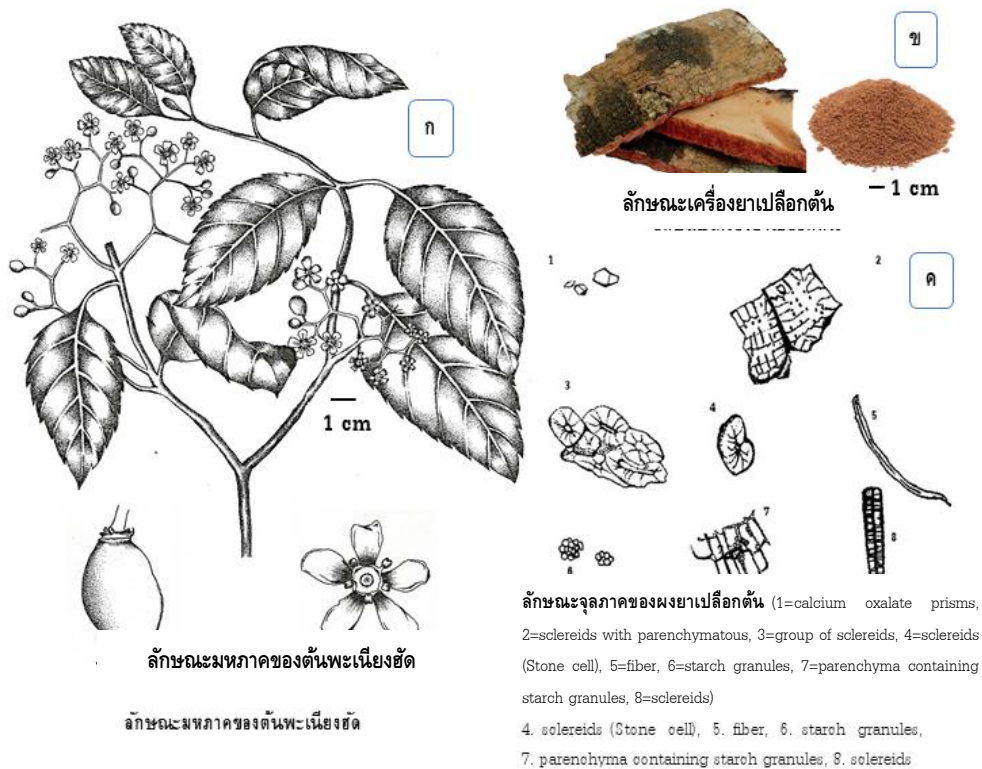


ผลการวิจัย

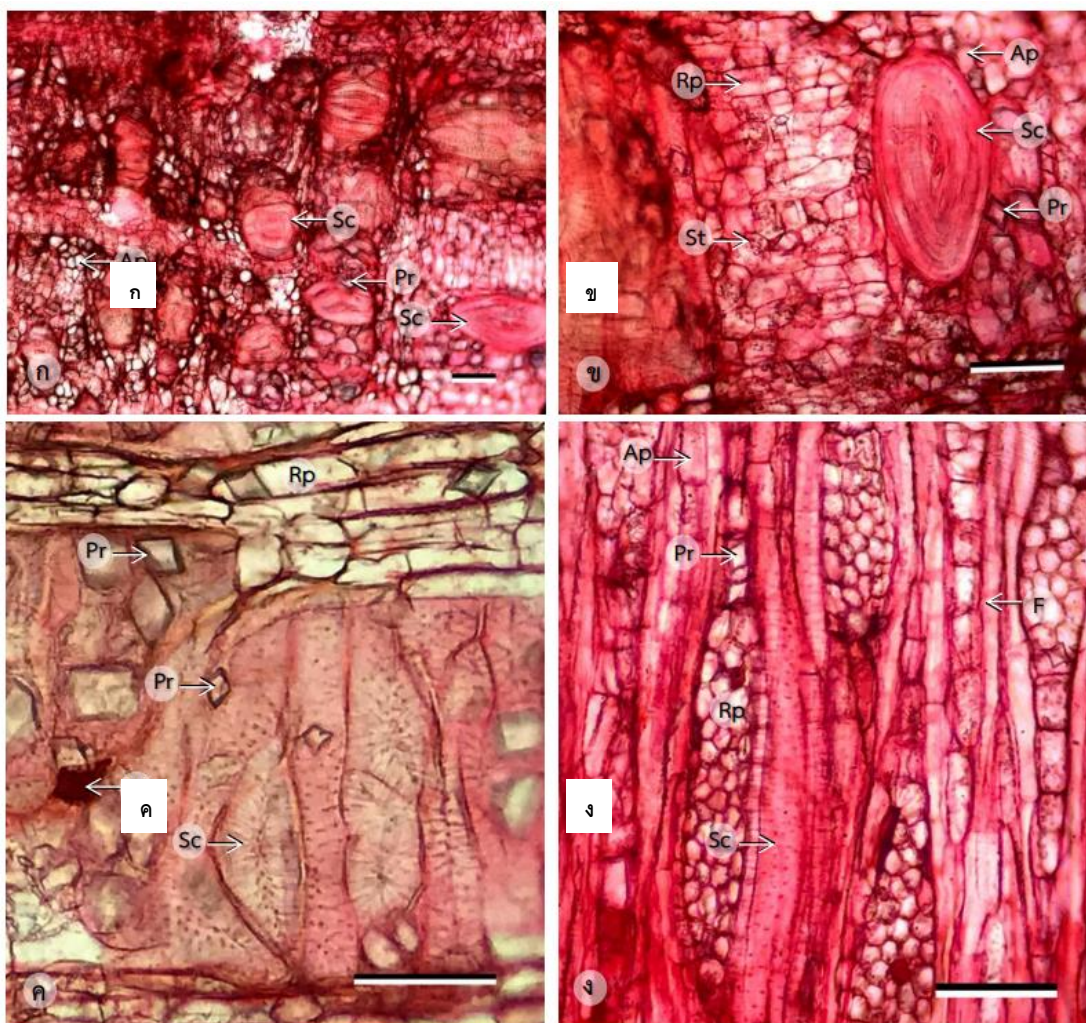
ลักษณะทางเภสัชเวทของเปลือกต้นพะเนียงฮัด

พะเนียงฮัดเป็นไม้ต้นขนาดเล็ก อาจสูงได้ถึง 10 เมตร ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม แผ่นใบหนาค่อนข้างหยาบ รูปรี หรือรูปไข่กลับ กว้าง 3-4 เซนติเมตร ยาว 4-7.5 เซนติเมตร โคนใบรูปลิ้น ปลายแหลม หรือเรียวแหลมเล็กน้อย หรือมน ขอบหยักมน พบน้อยเกือบเรียบ เส้นแขนงใบ 4-8 คู่ ก้านใบยาว 5-15 มิลลิเมตร หนูปริ้วง่าย ดอกช่อแบบกระจุก ออกที่ซอกใบหรือปลายยอด ยาวได้ถึง 11 เซนติเมตร ก้านดอกย่อยยาว 1-2 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยง โคนเชื่อม ปลายแยกเป็น 4 แฉก รูปไข่ ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร กลีบดอก 4 กลีบ รูปขอบขนานถึงรูปขอบขนานแกมรูปไข่ ยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 1 มิลลิเมตร จานฐานดอกแบน กลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้ 4 อัน แยกจากกัน ยาวประมาณ 1.5 มิลลิเมตร โคนติดอยู่บนขอบด้านนอกของจานฐานดอก อับเรณูเกือบกลม ปลายมน เกสรเพศเมีย รูปไข่ ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร รังไข่บางส่วนจมอยู่ในจานฐานดอก รังไข่มี 2 ช่อง แต่ละช่องมี 2 ออวูล ก้านชูปลายเกสรเพศเมียสั้นมาก ปลายแยกเป็น 2 แฉก ผลสด รูปเกือบรี กว้าง 5-8 มิลลิเมตร ยาว 12-15 มิลลิเมตร เมล็ดรูปเกือบรี กว้าง 3.5 มิลลิเมตร ยาว 6 มิลลิเมตร เครื่องยาเป็นผงสีน้ำตาลแดง ไม่มีกลิ่น รสฝาดเล็กน้อย (ภาพที่ 1)

การศึกษากายวิภาคศาสตร์เปลือกต้นพะเนียงฮัด โดยวิธีตัดตัวอย่างตามขวางและตามยาว พบการสะสมของเม็ดแป้ง ผลึกรูปปริซึม สารสะสมสีแดง และเซลล์สเคอไรด์ (sclereid) (ภาพที่ 2) จากการศึกษาจุลภาคของผงยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเซลล์สเคอไรด์และไฟเบอร์ (fiber cell) เป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่ทำให้เปลือกต้นมีความแข็งแรง ผลการศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมี-ฟิสิกส์ของพืชตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 1 ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ เท่ากับ 13.89 ± 0.20 %w/w ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล เท่ากับ 16.48 ± 0.25 %w/w และไม่พบปริมาณน้ำมันระเหยง่าย ผลการศึกษาพบกษเคมีสารที่พบในสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัด ได้แก่ กลุ่มฟลาโวนอยด์ แทนนิน และแอลคาลอยด์ (ตารางที่ 2) และมีลักษณะของ HPLC-chromatogram ดังภาพที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบ Retention time ของสารสกัดพะเนียงฮัดกับสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัดมีกรดแกลลิก (gallic acid) และวานิลลิน (vanillin) เป็นองค์ประกอบ โดยมี retention time ที่เวลา 2.539 และ 21.638 นาที ตามลำดับ ที่ความยาวคลื่น 272 นาโนเมตร



ภาพที่ 1 ลักษณะมหภาคและจุลภาคของต้นพะเนียงฮัด (ก. กิ่ง ข. เครื่องยา ค. จุลภาคผงยา)



ภาพที่ 2 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของเปลือกลำต้นพะเนียงฮัด ก.- ข. เปลือกจากการตัดตามขวาง ค. เปลือกจากการตัดตามแนวรัศมี ง. เปลือกจากการตัดตามแนวขนานเส้นสัมผัสกับผิว (สเกลบาร์ 100 ไมโครเมตร, Ap = Axial parenchyma cell, F = Fiber cell, Pr = Prism crystal, Rp = Ray parenchyma, Sc = Scleried cell, St = Starch grain, T = Red pigment)



ตารางที่ 1 การตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีฟิสิกส์ของเครื่องยาเปลือกต้นพะเนียงอัด

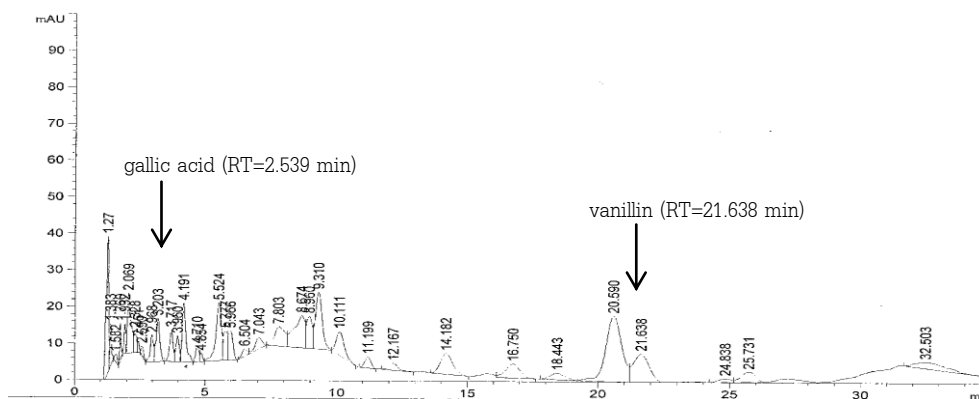
ข้อมูล	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก, %w/w)
ปริมาณเถ้ารวม	13.97 ± 0.03
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด	0.41 ± 0.11
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล	16.48 ± 0.25
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ	13.89 ± 0.20
ปริมาณความชื้นและสารระเหยแห้งหลังอบ	2.17 ± 0.05
ปริมาณน้ำ	2.37 ± 0.12
ปริมาณน้ำมันระเหยง่าย	ไม่พบ

หมายเหตุ: ทุกการทดสอบทำ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 2 การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากเปลือกต้นพะเนียงอัด

การทดสอบ	สารสกัดเปลือกต้นพะเนียงอัด	การทดสอบ	สารสกัดเปลือกต้นพะเนียงอัด
กลุ่มฟลาโวนอยด์		กลุ่มซาโปนิน	
Mg ribbon	+	การทำให้เกิดฟอง	-
HCl	-	กลุ่มแอลคาลอยด์	
NaOH	+	Dragendorff's test	+
กลุ่มแทนนิน		Hager's test	+
เจลาติน	+	Mayer's test	-
Ferric chloride	+	H ₂ O	-
1% Lead acetate	+	Kraut's test	+
		Tannic acid	-

หมายเหตุ: เครื่องหมาย + ให้ผลการทดสอบเป็นบวก และ - ให้ผลการทดสอบเป็นลบ ทุกการทดสอบทำ 3 ซ้ำ



ภาพที่ 3 ลักษณะ HPLC- chromatogram ของสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัด

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเปลือกต้นพะเนียงฮัด

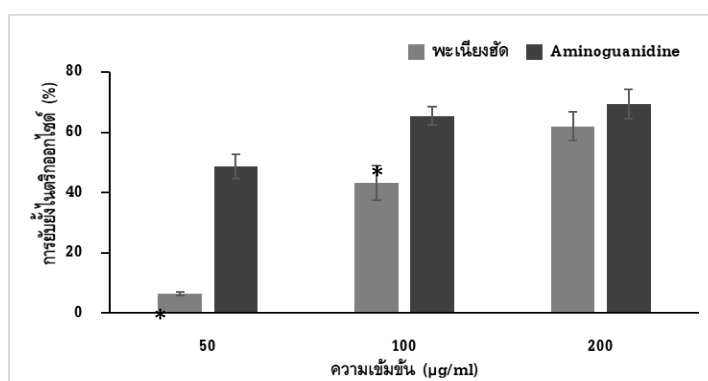
สารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS โดยสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัดมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานที่ใช้ในครั้งนี้อย่างวิตามินซีและ Trolox และยังพบว่าสารสกัดพะเนียงฮัดมีปริมาณสารสกัดสูง (%yield) ดังตารางที่ 3 จากการทดสอบผลของสารสกัดเปลือกพะเนียงฮัดต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ RAW 264.7 ด้วยวิธี MTT พบว่า สารสกัดพะเนียงฮัดมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ค่า IC_{50} มากกว่า 1000 $\mu\text{g/ml}$ ดังนั้นในการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยวัดผลจากการยับยั้งการหลั่งไนโตรริกออกไซด์จึงใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 50-200 $\mu\text{g/ml}$ และเมื่อศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนไตรต์ด้วยปฏิกิริยา Griess และคำนวณการยับยั้งการผลิตไนโตรริกออกไซด์ของสารสกัดในเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7) โดยเปรียบเทียบกับการผลิตไนโตรริกออกไซด์ในเซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียว พบว่าสารสกัดเปลือกพะเนียงฮัดสามารถยับยั้งการผลิตไนโตรริกออกไซด์ได้ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 153.88 ± 3.67 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งสามารถยับยั้งได้น้อยกว่าประมาณ 2.8 เท่าสารมาตรฐาน aminoguanidine (ภาพที่ 4) นอกจากนี้สารสกัดพะเนียงฮัดยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis* และ *B. Cereus* อย่างไรก็ตามยังมีฤทธิ์ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของ positive control ดังตารางที่ 4 และ 5



ตารางที่ 3 ปริมาณสารสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัด

สารทดสอบ	Yield (%)	DPPH* (EC ₅₀ , µg/ml)	ABTS* (EC ₅₀ , µg/ml)	Total phenolic* (µg gallic acid equiv./mg)
สารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัด	30.72	5.50±0.10	25.28±0.63	224.63±10.53
วิตามินซี	-	3.21±0.10	-	-
Trolox	-	-	5.95±0.37	-

* แสดงค่าเป็น mean ± SD (n=3)



ภาพที่ 4 ผลของสารสกัดพะเนียงฮัดในการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7)

* แตกต่างจาก positive control (Aminoguanidine) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4 Inhibition zone ของสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์	สารทดสอบ / Inhibition zone (mm)		
	Tetracycline (5 µg/disc)	Ampicillin (1 µg/disc)	สารสกัดพะเนียงฮัด (2 mg/disc)
<i>S. aureus</i>	18.33±1.03	31.00±1.26	15.17±1.33
<i>S. epidermidis</i>	16.17±1.33	42.67±0.58	11.00±1.00
<i>S. enterica</i> subsp. <i>Enterica</i>	21.00±0.89	NI	NI
<i>E. coli</i>	17.67±0.52	NI	NI
<i>P. aeruginosa</i>	13.50±1.38	NI	NI
<i>B. subtilis</i>	16.33±2.66	23.33±0.58	13.50±1.05
<i>B. cereus</i>	24.00±1.90	NI	12.83±1.47

หมายเหตุ: NI= no inhibition zone



ตารางที่ 5 ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัดที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อจุลินทรีย์	สารทดสอบ / ค่า MIC และ MBC			
	MIC		MBC	
	Ampicillin (µg/ml)	สารสกัดพะเนียงฮัด (mg/ml)	Ampicillin (µg/ml)	สารสกัดพะเนียงฮัด (mg/ml)
<i>S. aureus</i>	0.25*	4.00	0.50*	4.00
<i>S. epidermidis</i>	0.13*	4.00	0.25*	>4.00
<i>P. aeruginosa</i>	8.00*	>4.00	16.00*	>4.00
<i>B. subtilis</i>	8.00*	4.00	16.00*	>4.00
<i>B. cereus</i>	8.00*	4.00	16.00*	>4.00

อภิปรายผล

การศึกษาลักษณะทางเภสัชเวทของเครื่องยาสมุนไพรยังเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องทำการศึกษอย่างต่อเนื่องเพื่อส่งเสริมการใช้สมุนไพรที่ถูกต้อง ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นในการพัฒนาสมุนไพรไทย และการเลือกใช้ยาสมุนไพรอย่างปลอดภัย โดยการทดสอบหาปริมาณเถ้าซึ่งเถ้าเกิดได้จากสมุนไพรโดยตรงจากสารสะสมในเซลล์พืช ได้แก่ calcium oxalate prisms หรือเถ้าที่ได้จากวัสดุอื่น ๆ เช่น ดิน ทราช อาจพบได้มากในเครื่องยาที่มาจากหัว เหง้า ใต้ดิน จากการตรวจสอบปริมาณความชื้นของสมุนไพรเป็นสิ่งสำคัญเนื่องจากหากสมุนไพรมีความชื้นที่มากเกินไปส่งผลให้เพิ่มการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กระตุ้นการเกิดเชื้อรา ทำให้เครื่องยาเสื่อมสภาพได้ง่ายขึ้น (Department of Medical Sciences, 2019) จากการศึกษาได้หาปริมาณน้ำและปริมาณความชื้นและสารระเหยแห้งหลังอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเครื่องยานี้ตรวจไม่พบน้ำมันที่ระเหยง่ายทำให้ปริมาณที่หายไปเมื่อโดนความร้อนกล่าวคือปริมาณน้ำในเซลล์ของพืช การศึกษาปริมาณสารสกัดเป็นการหาปริมาณสารสกัดที่ได้จากเครื่องยาเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันในการศึกษานี้ได้ทำการสกัดด้วยน้ำและ 95 เปอร์เซ็นต์เอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วมากและปานกลาง ในบางการศึกษาอาจสกัดด้วยเฮกเซนหรือคลอโรฟอร์มที่เป็นสารที่มีขั้วต่ำ ทั้งนี้การเลือกชนิดของสารละลายขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารประกอบของเครื่องยานั้น ๆ หรือเลือกตามภูมิปัญญาดั้งเดิมที่มีการใช้ สารฟลาโวนอยด์ สามารถพบได้จากสารสกัดจากพืชสมุนไพร ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ทั้งในด้านการป้องกันและการรักษาโรค จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านแบคทีเรีย สารบางตัวในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านเชื้อรา สารต้านเชื้อไวรัสได้ เช่น สาร quercetin catechin และ hesperidine



นอกจากนี้ ฟลาโวนอยด์ยังจัดเป็นสารยับยั้งการอักเสบ (Momtaz et al., 2020) และสารกลุ่มแทนนินที่พบได้ในพืชสมุนไพรยังมีฤทธิ์ในการรักษาบาดแผลได้ (Kumari, Sangeetha, & Ali, 2018; Su et al., 2016) ซึ่งเราพบสารสำคัญเหล่านี้ในเปลือกต้นพะเนียงฮัด

ผลจากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่าสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบทั้งวิธี DPPH และ ABTS ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานวิตามินซี และ Trolox ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์อย่างยิ่งกับฤทธิ์ด้านการอักเสบ โดยในภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) สามารถทำให้เกิดภาวะการอักเสบเรื้อรังซึ่งนำไปสู่โรคร้ายต่าง ๆ (Biswas, Das, & Ray-Banerjee, 2017) จะเห็นได้ว่าสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ที่ถูกกระตุ้นด้วย *E.coli* LPS โดยไนตริกออกไซด์เป็นสารสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ทำหน้าที่เป็นสารสื่อกลางสำคัญในกลไกของการก่อโรคหลายชนิด (Junlatat et al., 2020) นอกจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ด้านการอักเสบแล้ว สารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัดยังมีความปลอดภัยต่อเซลล์ทดสอบโดยเมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัดพบว่า ค่า IC_{50} มากกว่า 10000 $\mu\text{g/ml}$ ยิ่งกว่านั้นสารสกัดเปลือกต้นพะเนียงฮัดยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อบริเวณผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อนของคนที่เป็นเบาหวาน *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis* และ *B. cereus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่พบมีฤทธิ์ในแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *S. Enterica* subsp. *Enterica*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ทั้งนี้โดยทั่วไปสารสำคัญที่อยู่ในพืชสมุนไพรจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความสามารถของสารสำคัญของสมุนไพรในการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (Junlatat et al., 2020) สารสำคัญในเปลือกต้นพะเนียงฮัดเป็นสารในกลุ่มแทนนินและฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารสำคัญในกลุ่มเหล่านี้มีรายงานว่า มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ด้านการอักเสบ และฤทธิ์ด้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลการศึกษาพบว่าเปลือกต้นพะเนียงฮัดมี gallic acid และ vanillin เป็นองค์ประกอบสำคัญ ซึ่งสารนี้ นอกจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีฤทธิ์ในการสมานแผลได้ดี (Yang et al., 2016; Tavares et al., 2018) ซึ่งเป็นอีกหนึ่งคุณสมบัติที่สำคัญในการใช้สมุนไพรพะเนียงฮัดในการรักษาแผลเบาหวาน



สรุป

เปลือกของต้นพะเนียงฮัดพบสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ แทนนิน แอลคาลอยด์ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน มีฤทธิ์ด้านการอักเสบและยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus* และ *S. epidermidis* ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ตามลำดับ โดยภาพรวมอยู่ในระดับพอใช้เมื่อเทียบกับยามาตรฐาน ผลการวิจัยนี้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการสนับสนุนการใช้ยาสมุนไพรพะเนียงฮัดในการรักษาแผลของหมอพื้นบ้าน เป็นข้อมูลนำไปสู่การจัดทำเอกลักษณ์เครื่องยาสมุนไพรไทยเพื่อใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของสมุนไพรเปลือกต้นพะเนียงฮัด สร้างมาตรฐานความปลอดภัยเบื้องต้น และสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภคในการเลือกใช้สมุนไพรต่อไป

ข้อเสนอแนะ

สำหรับการศึกษารั้งต่อไปควรศึกษาสารสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารสำคัญมีฤทธิ์รักษาบาดแผลดีที่สุดและศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับสัตว์ทดลอง รวมถึงการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัย

รายการอ้างอิง (References)

- Alqethami, A., & Aldhebiani, A. (2021). Medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia: Phytochemical screening. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1) 805-812.
- Biswas, S., Das, R., & Ray-Banerjee, E. (2017). Role of free radicals in human inflammatory diseases. *AIMS Biophysics*, 4(4), 596-614.
- Chuangchot, C., Tattawasart, U., Sripanidkulchai, B., Junlatat, J. & Fangkrathok, N. (2017). Antibacterial and antioxidant activity of *Rafflesia kerrii* extract against multidrug-resistant bacteria. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 39(2), 163-170.
- Denchai, R., Rattarom, R., & Nualkeaw, S. (2018). Species Identification of Crude Drug Under the Thai Name of “Thian Klaep” and Specification of Malted Barley. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(3), 154-164.
- Department of Medical Sciences. (2019). *Thai Herbal Pharmacopoeia 2019*. (Volum I). Bangkok. Prachachon Co.,Ltd. (in Thai)



- Fangkrathok, N., Sripanidkulchai, K., Junlatat, J., & Sripanidkulchai, B. (2021). Bioactivities of *Lentinus polychrous* and *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes) polysaccharide extracts. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 23(7), 51-61.
- Javaweera, D.M. (2006) *Medicinal Plants (Indigenous and exotic) Used in Ceylon*. Part II CA. Sri Lanka: The National Science Foundation, 24-26.
- Junlatat, J., Fangkrathok, N., & Sripanidkulchai, B. (2018). Antioxidative and melanin production inhibitory effects of *Syzygium cumini* extracts. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 40(5), 1136-1143.
- Junlatat, J., Peng-ngummuang, K., Tuseewan, M., Thorajake, P., Opat, P., Kumpapong, S., Konkhayan, S., & Fangkrathok, N. (2020). *In vitro* anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-microbial properties of local herbal recipe for diabetic ulcer treatment. *Interprofessional Journal of Health Sciences*, 18(2), 44-50.
- Khan, A., & Junaid, N. (2017). Prevalence of diabetic foot syndrome amongst population with type 2 diabetes in Pakistan in primary care settings. *Journal of Pakistan Medical Association*, 67(12), 1818-1824.
- Kumar, R., & Saikia, P. (2020). Wild edible plants of Jharkhand and their utilitarian perspectives. *Indian Journal Traditional Knowledge*, 19(2), 237-250.
- Kumari, S.J., Sangeetha, M., & Ali, S. (2018). Formulation and evaluation of herbal gel from tannin-enriched fraction of *Psidium guajava* Linn. Leaves for diabetic wound healing. *International Journal of Green Pharmacy*, 12(3)(Suppl), S490-S496.
- Meeyutem, P., Prachasupap, A., Chotpool, K., Tumpad, A., & Chansukh, K.K. (2019). Macroscopical and microscopical characteristics of Thai crude drugs under the name of Kaen-Kankrao. *Journal of Allied Health Sciences Suan Sunandha Rajabhat University*, 4(1), 34-40.
- Momtaz, S., Dibaj, M., Abdollahi, A., Amin, G., Bahramsoltani, R., Abdollahi, M., ..., & Abdolghaffari, A.H. (2020). Wound healing activity of the flowers of *Lilium candidum* L. in burn wound model in rats. *Journal of Medicinal Plants*, 19(73), 109-118.



- Punthawongkoon, C., Thuseewan, M., Pumthong, G., Nontapot, S., Sooktho, S., Junlathat, J., ... & Tienthongin, P. (2015). Indigenous wisdom of folk medical doctors living in Ubonratchathani. Ubonratchani: Withayakarnpim, (in Thai)
- Sridhar, K., & Charles, A.L. (2019). *In vitro* antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation method for EC_{50} using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, 275(1), 41-49.
- Sripanidkulchai, B., & Junlatat, J. (2014). Bioactivities of alcohol based extracts of *Phyllanthus emblica* branches: antioxidation, antimelanogenesis and anti-inflammation. *Journal of Natural Medicine*, 68, 615-622.
- Su, X., Liu, X., Wang, S., Li, B., Pan, T. & Liu, D., ... , & Li, K. (2016). Wound-healing promoting effect of total tannins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in rats. *Burns*, 43(4), 830–838.
- Tavares, E.A., Pontes, T.P., Barbosa, M.M., Araújo, A.A., Araújo, R.F., Figueiredo, J.G., ..., & Medeiros, A.C. (2018). Chitosan membrane modified with a new zinc (II)-vanillin complex improves skin wound healing in diabetic rats. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1511.
- Yang, D.J., Moh, S.H., Son, D.H., You, S., Kinyua, A.W., Ko, C.M., ..., & Kim, K.W. (2016). Gallic acid promotes wound healing in normal and hyperglucidic conditions. *Molecules*, 21(7), 899.