

# ฤทธิ์ต้านอักเสบในหลอดทดลองของสารสกัดเอทานอลจากสมุนไพรไทยที่ใช้ในตำรับยาไทยแก้ปวดและแก้ไข้

## In vitro Anti-inflammatory Activity of Ethanolic Extracts from the Medicinal Plants Used in Thai Analgesic and Antipyretic Formula

อัชฉร่า แก้วน้อย<sup>1\*</sup>, ศุภรัตน์ ดวนใหญ่<sup>1</sup>, รัตนะ รุ่งสุข<sup>1</sup>, จันทนา ยะหัวฝาย<sup>2</sup>, อ้อมบุญ วลัยสุต<sup>1</sup>, พิชาทพัชร จูติธนาอภิพงษ์<sup>3</sup>

Atchara Kaewnnoi<sup>1\*</sup>, Supharat Duanyai<sup>1</sup>, Rattana Rungsuk<sup>1</sup>, Jantana Yahuafai<sup>2</sup>, Omboon Vallisuta<sup>1</sup>, Pichapat Thititanaapipong<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

<sup>2</sup>งานวิจัยคลินิกและนวัตกรรม กลุ่มงานวิจัยและประเมินเทคโนโลยี สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

<sup>3</sup>คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

<sup>1</sup>Department of Thai Traditional Medicine, Bansomdejchaopraya Rajabhat University

<sup>2</sup>Clinical Research and Innovation Section, Division of Research and Technology Assessment, National Cancer Institute

<sup>3</sup>Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus

\*Corresponding author; E-mail: Atchara.ka@bsru.ac.th

Received: 04 July 2024 /Revised: 13 September 2024 /Accepted: 13 September 2024

### บทคัดย่อ

ใบคนทา ผลคนทา ใบมะค่าไก่ และ เหง้าว่านนางคำ มีการใช้ประโยชน์เป็นตัวยาสมุนไพรแก้อาการปวดและลดไข้ ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถในการต้านการอักเสบในหลอดทดลองของใบคนทา ผลคนทา ใบมะค่าไก่ และ เหง้าว่านนางคำ ที่นำมาสกัดด้วยเอทานอล ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดด้วยวิธีการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ในเซลล์ RAW 267.4 ที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสารก่อการอักเสบ Lipopolysaccharide (LPS) ด้วย Griess reagent ผลการทดลองพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากเหง้าว่านนางคำ ใบมะค่าไก่ ใบคนทา และผลคนทา มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยสามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า  $IC_{50}$   $20.99 \pm 9.16$ ,  $28.11 \pm 8.02$ ,  $42.06 \pm 3.26$ ,  $52.38 \pm 7.92$   $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ โดยไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ผลงานวิจัยนี้สนับสนุนการใช้แบบพื้นบ้านและการแพทย์แผนไทย และเป็นข้อมูลเบื้องต้นทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยสนับสนุนในการพัฒนาเป็นยาสมุนไพรแก้ปวดและลดไข้ต่อไป แต่อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอักเสบด้วยกลไกอื่น ๆ ในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม

**คำสำคัญ:** ใบคนทา ผลคนทา ใบมะค่าไก่ เหง้าว่านนางคำ

## Abstract

The leaves of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr., the fruits of *H. perforata* (Blanco) Merr., the leaves of *Putranjiva roxburghii* Wall., and the rhizome of *Curcuma aromatica* Salisb. have been used as herbal ingredients for pain reduction and against fevers. The objective of this study is to investigate the ability of *in vitro* anti-inflammation of *H. perforata* leaves, *H. perforata* fruits, *P. roxburghii* leaves, and *C. aromatica* rhizome obtained by extraction with ethanol. The anti-inflammatory activity of the extract was evaluated by inhibition of nitric oxide production in RAW 264.7 induced by inflammatory agent Lipopolysaccharide (LPS) by Griess reagent method. The results showed that the ethanolic extract of *C. aromatica* rhizome, *P. roxburghii* leaves, *H. perforata* leaves, and *H. perforata* fruits exerted anti-inflammatory activity by significantly inhibiting nitric oxide production having the  $IC_{50}$  value of  $20.99 \pm 9.16$ ,  $28.11 \pm 8.02$ ,  $42.06 \pm 3.26$ ,  $52.38 \pm 7.92$   $\mu\text{g/ml}$  respectively without any toxicity to RAW 267.4 cells. The results of this study support their uses in folklore medicine and traditional medicine. It is the preliminary scientific information that encourages further development into herbal analgesic and antipyretic products. However, further studies on anti-inflammatory activity using other mechanisms at the molecular level are needed to be investigated.

**Keywords:** *Harrisonia perforata* leaves, *H. perforata* fruits, *Putranjiva roxburghii* leaves, *Curcuma aromatica* rhizome

## บทนำ

การสำรวจสุขภาพประชาชนไทยครั้งที่ 6 ปี 2562-2563<sup>1,3</sup> พบว่าประชากรไทยอายุ 15 ปีขึ้นไป 1.9% กินยาแก้ปวดทุกวัน โดยผู้หญิงมีความชุกในการกินยาแก้ปวดสูงกว่าผู้ชาย<sup>2,3</sup> และการใช้ยาแก้ปวดเพิ่มขึ้นตามอายุ โดยประชากรในภาคกลางและกรุงเทพมหานครมีการใช้ยาแก้ปวดมากที่สุด การทำงานที่ขาดการเคลื่อนไหวร่างกายเป็นเวลานานเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีอาการปวดจากออฟฟิศซินโดรม นอกจากนี้ประเทศไทยได้เข้าสู่สังคมผู้สูงอายุอย่างสมบูรณ์<sup>4</sup> ทำให้คนไทยมีแนวโน้มพึ่งพายาแก้ปวดมากขึ้น อาการปวดเมื่อยในผู้สูงอายุอาจเกิดจากการเสื่อมลงของร่างกายทุกระบบ

การเปลี่ยนแปลงในระบบกล้ามเนื้อและกระดูก โรคข้อเสื่อม เนื้อกระดูกบางลง ร่างกายลดความสามารถในการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ อีกทั้งร่างกายมีความเสี่ยงที่จะถูกทำลายเพิ่มขึ้นจากสิ่งแวดล้อมและสารเคมี<sup>3</sup> การรักษาโดยใช้ยาแก้ปวด เช่น ยาพาราเซตามอล ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (Non-steroidal anti-inflammatory drugs หรือ NSAIDs) แต่ประชาชนยังขาดความรู้ในการใช้ยากลุ่มนี้อย่างเหมาะสม<sup>5</sup> ซึ่งอาจนำไปสู่การใช้ยาเกินความจำเป็นและเกิดอันตรายด้วยอาการไม่พึงประสงค์ จากปัญหาดังกล่าวการเพิ่มทางเลือกการรักษาเพื่อทดแทนการใช้ยา กลุ่มนี้จึงมีความสำคัญในการดูแลสุขภาพของ

ประชากรไทย ปัจจุบันมียาสมุนไพรที่ถูกบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติแบ่งได้เป็นหลายกลุ่มการรักษา โดยมียาในกลุ่มอาการทางกล้ามเนื้อและกระดูกมากที่สุดจำนวน 24 ชนิด ยาแก้ไอ 9 ชนิด<sup>6</sup> ทั้งนี้จากการรวบรวมข้อมูลของผู้ที่เข้ามารับการรักษาที่ห้องคลินิก มรภ.บ้านสมเด็จเจ้าพระยาพบว่า มีผู้ที่มีอาการปวดเป็นจำนวน 80% ของผู้เข้ารับบริการทั้งหมด<sup>7</sup> แสดงถึงปัญหาทางสาธารณสุขและความต้องการใช้ยาสมุนไพรในการบำบัดอาการปวด อีกทั้งสมุนไพร ใบคนทา ผลคนทา ใบมะค่าไก่ และ เหง้าว่านนางคำ ล้วนมีบันทึกการใช้ในการแพทย์พื้นบ้าน หรือ การแพทย์แผนไทยในการใช้เป็นยาแก้ปวดแก้ไอ

**คนทา** (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.) อยู่ในวงศ์ส้ม (Rutaceae) มีเขตการกระจายพันธุ์ในเขตร้อน และมีบันทึกในตำรายาไทยส่วนที่ใช้และสรรพคุณ ทั้งต้นรสขมเผื่อน แก้ไข้ได้ทุกชนิด รากและต้นมีรสขมเผื่อน ใช้แก้ไอ แก้ปวด ทุบขี้ผึ้งใช้ จากเป็นส่วนประกอบหลักในตำรับยาแก้ไอ เบญจโลกวิเชียร หรือยาห้าราก ใบคนทา รสขม แก้ปวด ดอก แก้พิษแดนต่อย<sup>8</sup> ผล รสขมฝาด แก้ปวดฟัน<sup>9,10</sup> ฤทธิ์ต้านอักเสบ มีรายงานวิจัย พบว่าสารกลุ่มลิโมนอยด์ในผลและรากคนทาแสดงฤทธิ์ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในหลอดทดลอง<sup>11</sup> ใบคนทาจากประเทศจีน พบสารลิโมนอยด์เช่นกัน<sup>12</sup>

**มะค่าไก่** (*Putranjiva roxburghii* Wall.) อยู่ในวงศ์ Putranjinaceae<sup>13</sup> มีเขตการกระจายพันธุ์ในเขตร้อนประเทศอินเดีย บังคลาเทศ เนปาล ไทย พม่า และศรีลังกา<sup>14</sup> มีส่วนที่ใช้และสรรพคุณดังนี้ ใบ ใช้แก้ไอ แก้ไข้หวัด ถ่ายพิษไข้ ตำให้ละเอียดพอกแก้พิษฝี<sup>10</sup> แก้ปวดเมื่อยตามร่างกายผล ใช้แก้

ปวดข้อ ปวดกล้ามเนื้อ<sup>15,16</sup> การใช้ในอินเดียทางอายุรเวทมีการใช้ประโยชน์จากใบมะค่าไก่ในการแก้ไอ แก้หวัด แก้อาการปวดข้อเช่นกัน<sup>17</sup> การศึกษาวิจัยสารสกัด 70% เอทานอลจากใบ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเทียบเท่า ascorbic acid มีฤทธิ์ต้านอักเสบและแก้ปวดเมื่อให้ทางปากในหนูทดลอง และสามารถลดการบวมของฝ่าเท้าและหูหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบได้ สารสกัดเอทานอลที่ละลายได้ในอีเทอร์ มีฤทธิ์ลดไข้ในหนูแรทและลดการบวมของฝ่าเท้าและหูหนูได้ใกล้เคียงกับแอสไพรินและ indomethacin<sup>14,17</sup>

**ว่าน นางคำ** (*Curcuma aromatica* Salisb.) วงศ์ Zingiberaceae มีเขตการกระจายพันธุ์ในประเทศอินเดีย จีน และคาบสมุทรมอินโดจีน<sup>18</sup> สรรพคุณการแพทย์แผนไทย อายุรเวท และแผนจีนพบว่า มีรายงานการใช้เพื่อต้านเนื้องอก ภาวะเลือดคั่ง คอเจ็บจากการติดเชื้อ สารสกัดจากเหง้า มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านอักเสบ ยับยั้งการแพร่ของเซลล์<sup>19,20</sup> ในประเทศอินเดียมีการใช้เป็นยาต้านจุลชีพและเครื่องประทุษนิม<sup>20</sup>

อนึ่ง การอักเสบเป็นการตอบสนองทางชีวภาพที่ซับซ้อนของเซลล์หรือเนื้อเยื่อเมื่อร่างกายเกิดภาวะติดเชื้อ ได้รับความเจ็บ หรือได้รับสารระคายเคืองต่าง ๆ เข้าสู่ร่างกาย<sup>21,22</sup> โดยการอักเสบเป็นระยะเวลาสั้นหรือมากเกินไปที่เกิดขึ้นในร่างกายมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคมะเร็ง และโรคที่เกิดจากการอักเสบอื่น ๆ เช่น การปวดกล้ามเนื้อ การบาดเจ็บกล้ามเนื้อ หรือการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส ร่างกายตอบสนองทำให้เกิดอาการไข้<sup>23</sup> เมื่อเกิดการอักเสบเซลล์เม็ดเลือด

ชาวชนิด นิวโทรฟิลด์ และแมคโครฟาจ จะเคลื่อนสู่บริเวณอักเสบ เกิดการทำลายสิ่งแปลกปลอมมีการสร้าง inflammatory mediator หลายชนิด<sup>24,25</sup> ได้แก่ Tumor necrosis factor-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-6 (IL-6), Prostaglandin E2 (PGE<sub>2</sub>) และ Nitric oxide (NO) สารเหล่านี้ทำให้เกิดอาการ ปวด บวม แดง ร้อน

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ด้านอักเสบของของใบคนทา ผลคนทา ใบมะค่าไก่ และ เหง้าว่านนางคำ ซึ่งตามบันทึกการแพทย์แผนไทยมีฤทธิ์แก้ไข้และแก้ปวดตึงกล้ามเนื้อ โดยเน้นการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจ อันเป็นการยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจเป็นวิธีที่ยอมรับในการคัดกรองเบื้องต้นของฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยในงานวิจัยนี้ได้เตรียมสารสกัดเอทานอลเพื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่มีประโยชน์ต่อการพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรทั้งสี่ชนิดนี้

## วิธีการวิจัย

### การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างพืชคนทา เก็บจากจังหวัดอยุธยา โดยส่งระบุลักษณะทางพฤกษ-อนุกรมวิธาน เพื่อใช้ในการจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งสำหรับอ้างอิงในงานวิจัย ณ สถาบันอุทยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศูนย์อ้างอิงทางพฤกษศาสตร์ของพืชสมุนไพรและเครื่องยา ได้รับความหมายเลข voucher specimen คือ PBM 006172 - 006173 ขณะที่มะค่าไก่เก็บจากจังหวัดลำปาง และ

ว่านนางคำ เก็บในพื้นที่จังหวัดสกลนคร โดยส่งระบุลักษณะทางพฤกษ-อนุกรมวิธาน เพื่อใช้ในการจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งสำหรับอ้างอิงในงานวิจัย ณ พิพิธภัณฑ์สมุนไพร กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก จ.ลำปาง โดยมะค่าไก่ ได้รับความหมายเลข voucher specimen คือ TTM No.0005457 และ ว่านนางคำ ได้รับความหมายเลข voucher specimen คือ TTM No.0005464

### วิธีเตรียมตัวอย่างสารสกัด

นำตัวอย่างพืชคนทา ผลคนทา มะค่าไก่ ว่านนางคำ ที่เก็บมาได้ ล้างทำความสะอาดและตัดแต่งให้มีขนาดที่เหมาะสม จากนั้นผึ่งให้แห้งในที่ร่ม และทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) อุณหภูมิ 50 °C บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง (sample mill) และผ่านร่ง (sieve) เบอร์ 60 ใช้ผงสมุนไพร 20 g สกัดโดยวิธีหมัก (Maceration) ด้วย 95% เอทานอล 200 mL ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ทำการเขย่าเป็นครั้งคราว จากนั้นกรองและนำสารละลายของสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งระบบสุญญากาศ แล้วนำไปทำให้แห้งโดยใช้วิธี freeze dry จะได้สารสกัดหยาบ ใบคนทา (HPL) ผลคนทา (HPF) มะค่าไก่ (PRL) ว่านนางคำ (CAR) เก็บรักษาในตู้เย็น

### การเพาะเลี้ยงเซลล์ (Cell culture)

เพาะเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 จาก American Type Culture Collection (ATCC, USA) เลขที่ TIB-71 ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)

ที่มีส่วนประกอบของ 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin (100 units/mL) และ streptomycin (100 µg/mL) จากนั้นนำไปเก็บไว้ใน CO<sub>2</sub> incubator ที่มีปริมาณ CO<sub>2</sub> อยู่ 5% อุณหภูมิ 37 °C และทำการ sub-culture ทุก ๆ 3 วัน

### การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดสมุนไพรเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ด้วยวิธี MTT assay

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ใน 96 well-plate ( $5 \times 10^4$  cells/well) โดยบ่มเซลล์ในตู้บ่มเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทดสอบกับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ HPL (12.50, 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL), HPF (6.25, 12.50, 25, 50, 100, 200 µg/mL), PRL (25, 50, 100, 200, 400 µg/mL) และ CAR (3.125, 6.25, 12.50, 25, 50, µg/mL) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย MTT (ความเข้มข้น 5 µg/mL) ในแต่ละหลุม นำไปเก็บไว้ใน CO<sub>2</sub> incubator ที่มีปริมาณ CO<sub>2</sub> อยู่ 5% อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารละลายทิ้งไปแล้ว เติม DMSO 100 µL เพื่อละลายสาร formazan ที่เกิดขึ้น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 550 nm โดยสารที่ทดสอบจะนับว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่า 80 % เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

### ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการสร้าง nitric oxide

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ใน 96 well-plate ( $5 \times 10^4$  cells/well) โดยบ่มเซลล์ในตู้บ่มเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง<sup>26</sup> นำมาทดสอบกับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ HPL (12.50, 25, 50, 100, 200 µg/mL), HPF (6.25, 12.50, 25, 50, 100 µg/mL), PRL (12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL) และ CAR (1.562, 3.125, 6.25, 12.50, 25 µg/mL) และเติมสาร lipopolysaccharide (LPS; Escherichia coli serotype 0111: B4) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ng/mL เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นการสร้าง NO ในการทดลองนี้จะใช้สาร Dexamethasone ความเข้มข้น 40 µM เป็น positive control และทำการตรวจวัดปริมาณ NO ที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร LPS โดยวัดปริมาณของไนตริกออกไซด์ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเซลล์ในรูปของ nitrite โดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์มาทำปฏิกิริยากับ Griess reagent (โดยเติม sulfanilamide และ N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride (NED) อย่างละ 25 µL) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 nm โดยใช้เครื่อง Microplate reader โดยค่าที่ได้จะทำการเทียบกับ standard nitrite (NO<sub>2</sub>) (Promega Ltd. USA)

### วิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดสอบด้วย LPS อย่างเดียวกับกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ ความแปรปรวนทางเดียว (One way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )<sup>27</sup>

## ผลการศึกษา

### ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

จากการศึกษาผลของสารสกัด HPL, HPF, PRL และ CAR ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงแมคโครฟาจ RAW 264.7 ด้วยวิธี MTT assay พบว่า สารสกัด HPL ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/mL}$  (Figure 1A) สารสกัด HPF ความเข้มข้น 200  $\mu\text{g/mL}$  (Figure 1B) สารสกัด PRL ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/mL}$  (Figure 1C) และ CAR ความเข้มข้น 50  $\mu\text{g/mL}$  (Figure 1D) มีความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

โดยอัตราความมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของสมุนไพรที่มีผลทำให้ความมีชีวิตของเซลล์มากกว่า 80 % ดังนั้น สารสกัด HPL ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$  สารสกัด HPF ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50, 100  $\mu\text{g/mL}$  สารสกัด PRL ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$  และ สารสกัด CAR ความเข้มข้น 1.562, 3.125, 6.25, 12.5, 25  $\mu\text{g/mL}$  ในการทดสอบกับเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

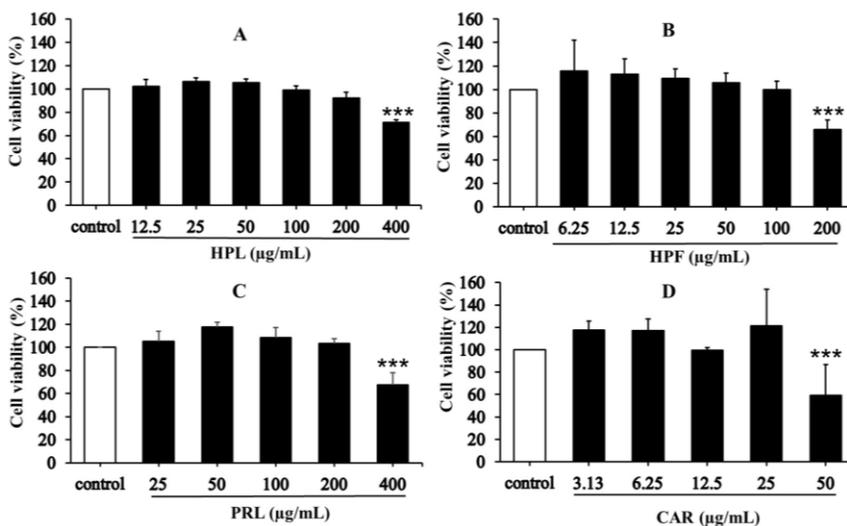


Figure 1. The effects of extracts on the viability of RAW 264.7 cells were assessed. Cells were treated with various concentrations of extracts for 24 hours, and cell viability was evaluated using an MTT assay. (A) HPL, (B) HPF, (C) PRL and (D) CAR. Viability is expressed as a percentage relative to untreated cells. Data are expressed as the means $\pm$ S.D. \*\*\*  $p < 0.001$ , compared with the control group,  $n = 3$ .

### ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง nitric oxide

หลังจากทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO ของสารสกัด HPL, HPF, PRL และ CAR เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ถูกกระตุ้นการสร้าง NO ด้วย LPS (Figure 2) พบว่า HPL ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$  สามารถลดการสร้าง NO ( $23.98\text{-}4.71\ \mu\text{M}$ ) ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทดสอบด้วย LPS ( $30.41\pm 0.98\ \mu\text{M}$ ) อย่างเดียว (Figure 2A) สารสกัด HPF ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50, 100  $\mu\text{g/mL}$  สามารถลดการสร้าง NO ( $27.12\text{-}8.09\ \mu\text{M}$ ) ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05\text{-}P<0.001$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทดสอบด้วย LPS ( $30.41\pm 0.98\ \mu\text{M}$ ) อย่างเดียว (Figure 2B) สารสกัด PRL ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$  สามารถลดการสร้าง NO ( $10.52\text{-}1.64\ \mu\text{M}$ )

ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05\text{-}P<0.001$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทดสอบด้วย LPS ( $18.41\pm 2.37\ \mu\text{M}$ ) อย่างเดียว (Figure 2C) และสารสกัด CAR ที่ความเข้มข้น 12.50  $\mu\text{g/mL}$  และ 25  $\mu\text{g/mL}$  สามารถลดการสร้าง NO เหลือ 10.8  $\mu\text{M}$  และ 8.40  $\mu\text{M}$  ตามลำดับ ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทดสอบด้วย LPS ( $18.41\pm 2.37\ \mu\text{M}$ ) อย่างเดียว (Figure 2D) ในขณะที่สารมาตรฐาน Dexamethasone ความเข้มข้น 40  $\mu\text{M}$  ลดการสร้าง NO ลงเหลือ  $14.09\pm 2.12\ \mu\text{M}$  จากการศึกษาพบว่าสารสกัด HPL, HPF, PRL และ CAR มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งการสร้าง NO ได้ดี มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $52.38\pm 7.92$ ,  $42.06\pm 3.26$ ,  $28.11\pm 8.02$  และ  $20.99\pm 9.16\ \mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ (Table 1)

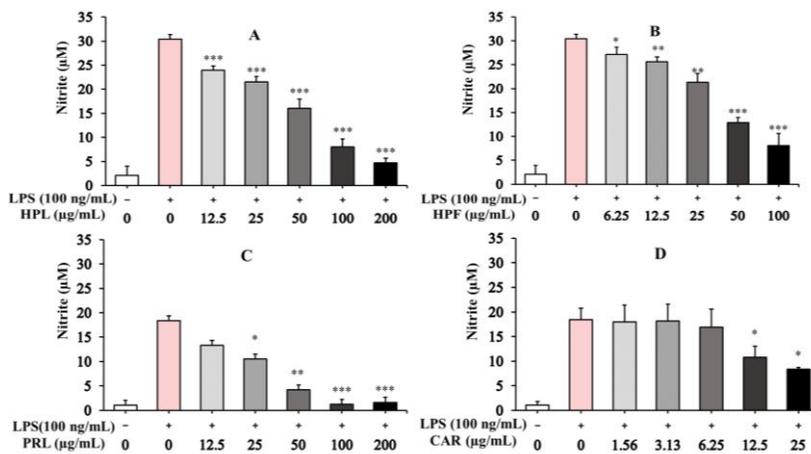


Figure 2. Effects of extracts on the nitric oxide production in LPS-induced RAW 264.7 cells. Cells were treated with various concentrations of extracts and LPS (100 ng/mL) stimulation for 24 h. The amount of nitric oxide in the medium was measured using the Griess reagent. (A) HPL, (B) HPF, (C) PRL and (D) CAR. Data are expressed as the means $\pm$ S.D. \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$ , compared with the LPS group,  $n=3$ .

Table 1 Half-maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) for the inhibition of NO production.

Samples	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Harrisonia perforata</i> leaves (HPL)	52.38±7.92
<i>H. perforata</i> fruits (HPF)	42.06±3.26
<i>Putranjiva roxburghii</i> leaves (PRL)	28.11±8.02
<i>Curcuma aromatica</i> rhizome (CAR)	20.99±9.16

Data are expressed as the means±S.D.

### อภิปรายผล

NO มีความสำคัญในกระบวนการอักเสบ ดังนั้นฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง NO ถูกใช้เป็นตัวชี้ที่แสดงถึงความสามารถในการลดการอักเสบของสารสกัดจากใบคนทา (HPL) ผลคนทา (HPF) ใบมะคำไก่ (PRL) และ เหง้าว่านนางคำ (CAR) จากการศึกษาพบว่า สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการหลั่ง NO ได้ดี เนื่องจากในกระบวนการอักเสบพบว่า NO จะถูกสร้างขึ้นในปริมาณสูงมากในเซลล์เพาะเลี้ยงแมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบจาก LPS NO จัดเป็น inflammatory mediator ที่ถูกสร้างมาจากเซลล์เม็ดเลือดขาว เช่น neutrophil และ macrophage โดยเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) ทำให้ NO ถูกชักนำให้สร้างขึ้นเป็นจำนวนมาก มีผลทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดขยายตัว ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวสามารถเคลื่อนเข้าสู่เนื้อเยื่อและกำจัดสิ่งแปลกปลอม และยังเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดอาการบวม แดง ร้อน ในบริเวณที่มีการอักเสบ ดังนั้นการยับยั้งการหลั่งของ NO จึงเป็นแนวทางหลักสำคัญทางหนึ่งในการควบคุมกระบวนการอักเสบ<sup>28</sup>

จากผลการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าใบคนทา ผลคนทา ใบมะคำไก่ และเหง้าว่านนางคำ เป็นพืชสมุนไพรไทยที่มีศักยภาพในการยับยั้งการอักเสบ โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างสาร NO ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 มีรายงานวิจัยที่แสดงว่าสารออกฤทธิ์ในผลและรากคนทา คือ harperfolide ซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่ม limonoid มีฤทธิ์ยับยั้งการผลิต NO ในเซลล์แมคโครฟาจ J774.A1 โดยมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 6.51 µM<sup>11</sup> ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่ใบคนทาจะมีสารนี้เช่นกัน จึงทำให้มีฤทธิ์ยับยั้งการผลิต NO ในการทดลองนี้ จากประสบการณ์ศึกษาชีวสังเคราะห์ของ tropane alkaloid hyoscyamine ในลูกผสม *Duboisia* วงศ์ Solanaceae โดยใส่สารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ของ hyoscyamine คือกรดอะมิโน ornithine ที่ติดสารกำมันตรังสี C14 เข้าไปในลำดับพบว่าสามารถแยก hyoscyamine ที่มีกำมันตรังสี C14 ได้จากรากและใบลูกผสม *Duboisia* ซึ่งแสดงว่า hyoscyamine ถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ราก และถูกส่งไปที่ใบโดยขบวนการเคลื่อนย้าย (translocation) และการคายน้ำ (transpiration)<sup>29</sup> อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องแยกสาร harperfolide จากใบคนทาเพื่อยืนยันสมมุติฐานนี้ มีรายงานว่า

ไบคอนทาจากประเทศจีนก็พบสารลิโมนอยด์ 12 $\beta$ -Acetyloxyperforatin<sup>12</sup> หนึ่ง ในการทดลองนี้สารสกัดจากไบคอนทามีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างสาร NO ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ด้วยค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 52.38 $\pm$ 7.92  $\mu$ g/mL ใกล้เคียงกับสารสกัดจากผลคนทาซึ่งมี ค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 42.06 $\pm$ 3.26  $\mu$ g/mL งานวิจัยนี้จึงเป็นการสนับสนุนฤทธิ์ต้านอักเสบที่ทดสอบในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ซึ่งสนับสนุนการบันทึกในการแพทย์แผนไทยว่าทั้งต้นแก้ไข้ได้ทุกชนิด ใบและผลใช้แก้ปวดได้<sup>8,9</sup> ผลการวิจัยนี้จึงแสดงถึงศักยภาพของผลและไบคอนทาที่อาจนำไปพัฒนาเป็นยาแก้ไข้แก้ปวดที่เกิดจากการอักเสบต่อไป

ในการศึกษานี้พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากเหง้าว่านนางคำสามารถยับยั้ง NO ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดแอลกอฮอล์ในหนูทดลองโดยการให้ทางปากขนาด 100 mg/kg ซึ่งให้ผลการต้านอักเสบเทียบเท่ายา prednisolone น้ำมันหอมระเหยจากว่านนางคำก็มีฤทธิ์ต้านอักเสบเช่นกัน<sup>20</sup> สารออกฤทธิ์เป็นสารกลุ่ม cucurminoid ที่มีอยู่ 1.5% และสารระเหยได้ที่มีอยู่ 4-8% (25) สารที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบคือเคอร์คิวมิน germacrene, curdione, zederone ด้วยการยับยั้ง Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B)<sup>19</sup> เป็นผลให้สามารถลดการหลั่งสารก่อการอักเสบ เช่น TNF- $\alpha$  โดยเคอร์คิวมินมีฤทธิ์แรงสุด<sup>19</sup> สาร demethoxycurcumin มีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของเส้นเลือดใหม่<sup>31</sup> นอกจากนี้สารกลุ่ม cucurminoid สามารถยับยั้งแบคทีเรียกรัม

บวกที่เป็นสาเหตุของแผล ฝีหนอง สิว รวมทั้ง *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา methicillin และยาในกลุ่มเบตาแลคแตม (MRSA) เนื่องจากเข้าไปขัดขวางกระบวนการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -lactamase และยังมีสาร tumerone ซึ่งยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้หลายชนิดเนื่องจากมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนและ DNA ของแบคทีเรีย<sup>30</sup> ผลงานวิจัยนี้สนับสนุนฤทธิ์ต้านอักเสบของเหง้าว่านนางคำและการใช้ในการแพทย์พื้นบ้านและการแพทย์แผนไทย

สารสกัดใบมะค่าไก่มีงานวิจัยที่ทำการทดสอบในสัตว์ทดลองในด้านลดการอักเสบของผิวหนัง โดยการกินและลดการบวมของหนู โดยการทา<sup>17,32</sup> ในประเทศไทยมีตำรับยาทาพระเส้นซึ่งมีใบมะค่าไก่เป็นส่วนประกอบหลัก<sup>33</sup> มีงานวิจัยพบสารสำคัญเป็นไตรเทอร์พีนอยด์ชนิด 5 วงชื่อ friedelin<sup>34</sup> ซึ่งมีฤทธิ์ต้านฮีสตามีน ที่ตัวรับ H1 นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ต้านไวรัส HIV และต้านมะเร็งอีกด้วย<sup>35</sup> นอกจากนี้ยังมีการทดสอบใช้ friedelin ขนาด 2 และ 4 มิลลิกรัม ทาบนหนูทดลอง พบว่าสามารถลดการบวมที่เกิดจากการให้อักเสบด้วยน้ำมันสลัดได้<sup>36</sup> ผลของงานวิจัยนี้จึงเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์อีกชิ้นหนึ่งสนับสนุนการใช้ใบมะค่าไก่เป็นส่วนประกอบหลักยาทาพระเส้น อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาคัดกรองเบื้องต้นฤทธิ์ต้านอักเสบเท่านั้น ดังนั้นควรทำการศึกษาสารตัวอื่น ได้แก่ TNF- $\alpha$ , IL-6, PGE<sub>2</sub> ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบเพื่อยืนยันฤทธิ์ต้านการอักเสบของสมุนไพรชนิดนี้ต่อไป

## สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของใบคนทา ผลคนทา ใบมะค่าไก่ และเหง้าว่านนางคำ ของสารสกัดด้วย 95% เอทานอล แสดงฤทธิ์ด้านการอักเสบในหลอดทดลองได้ดี และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ในความเข้มข้นที่ทดสอบ สารออกฤทธิ์ด้านอักเสบในคนทาเป็นสารในกลุ่ม limonoid คือ harperfolide ในเหง้าว่านนางคำคือสารกลุ่ม cucurminoid และยังมีฤทธิ์ต้านจุลชีพอีกด้วย สนับสนุนการใช้แก้ไข้ในแผนไทย ในใบมะค่าไก่ออกฤทธิ์ด้านการอักเสบเป็นไตรเทอร์พีนอยด์คือ friedelin ซึ่งมีฤทธิ์ต้านจุลชีพอีกด้วย สนับสนุนการใช้แก้ไข้ในแผนไทย หากเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอักเสบของสมุนไพรที่ทำการศึกษ โดยพิจารณาจากความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์และความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง NO จะเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ ใบมะค่าไก่ ผลคนทา ใบคนทา เหง้าว่านนางคำ ผลการศึกษานี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นทางวิทยาศาสตร์เท่านั้น เนื่องจากไนตริกออกไซด์เป็นหนึ่งในสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบจึงควรศึกษากลไกยับยั้งการอักเสบอื่น ๆ ในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้อง และการศึกษาเพื่อยืนยันฤทธิ์ด้านอักเสบในสัตว์ทดลองและการศึกษาทางคลินิก เพื่อให้ประชาชนเกิดความมั่นใจและยังเป็นการช่วยส่งเสริมการนำพืชสมุนไพรมาใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐานเพื่อพัฒนาเป็นยาแก้ไข้ แก้ปวด และต้านอักเสบที่มีผลข้างเคียงน้อยต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

## เอกสารอ้างอิง

1. วิชัย เอกพลากร, หทัยชนก พรอคเจริญ, วราภรณ์ เสถียรนพเก้า. การสำรวจสุขภาพประชาชนไทยโดยการตรวจร่างกาย ครั้งที่ 6. กรุงเทพมหานคร: 2564.
2. Aging Society VS. Aged Society in Global and Thai Context. [Internet]. 2024 [cited 2024 May 23]. Available from: [https://resource.tcdc.or.th/ebook/AgingSociety\\_Report\\_official.pdf](https://resource.tcdc.or.th/ebook/AgingSociety_Report_official.pdf)
3. ปรีชา รักษ์พลเมือง. ปวดเมื่อยเมื่อสูงอายุ. [อินเทอร์เน็ต]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 20 พ.ค 2567]. เข้าถึงได้จาก: <https://si.mahidol.ac.th/th/healthdetail.asp?aid=160>
4. ไทยพับลิก้า. เมื่อไทยเข้าสู่สังคมสูงวัยอย่างสมบูรณ์ Aged Society ผู้สูงอายุไทยได้รับสวัสดิการอะไรบ้าง. [อินเทอร์เน็ต]. 2567 [เข้าถึงเมื่อ 20 พ.ค.2567]. เข้าถึงได้จาก: <https://thaipublica.org/2024/02/thailand-becomes-aged-society/>
5. จิตภา สุขสุสินธุ์, นิชาพร แซ่ลี, วรณคล เชื้อมงคล. ความรู้และพฤติกรรมการใช้ยาพาราเซตามอลของประชาชน แขวงนวมินทร์ เขตปทุม กรุงเทพมหานคร. ศรีนครินทร์เวชสาร 2564;36:451-9.
6. กองผลิตภัณฑ์สมุนไพร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. บัญชียาหลักแห่งชาติด้านสมุนไพร พ.ศ. 2566. พิมพ์ครั้งที่ 1.ปทุมธานี: มินนี่ กรุ๊ป; 2566.
7. หน่วยเวชระเบียน. งานเวชระเบียนและสถิติ. ช่องขงโคคลินิกการแพทย์แผนไทยมหาวิทยาลัย



- ราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา. กรุงเทพฯ:  
2566.
8. นันทวัน บุญยะประภัสร์, อรณัฐ โชคชัยเจริญพร.  
สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน (1). พิมพ์ครั้งที่ 1.  
กรุงเทพมหานคร: ประชาชน จำกัด; 2539.
  - 9.ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ ม.  
อุบลราชธานี [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ  
10 ม.ค. 2566]. เข้าถึงได้จาก: [https://apps.  
phar.ubu.ac.th/phargarden/main.php?acti  
on=viewpage&pid=312](https://apps.phar.ubu.ac.th/phargarden/main.php?action=viewpage&pid=312)
  10. ยงศักดิ์ ตันติปฏิภก. ตำราเภสัชกรรมไทย เล่ม 1.  
พิมพ์ครั้งที่ 1. สมุทรสาคร: บริษัท พิมพ์ดี  
จำกัด; 2561.
  11. Choodej S, Sommit D, Pudhom K.  
Rearranged limonoids and chromones  
from *Harrisonia perforata* and their anti-  
inflammatory activity. *Bioorg Med Chem  
Lett* 2013;23:3896-900.
  12. Gui PY, Yan XH, Yuan WJ, Ma YL, Ding X,  
Liu S, et al. 12  $\beta$ -Acetyloxyperforatin, a  
New Limonoid from *Harrisonia perforata*.  
*Nat Prod Res* 2019;33:2830-6.
  13. Joy A, Ap pavoo RM, Wilsy IJ.  
Antibacterial activity of *Putranjiva*  
*roxburghii* Wall: A medicinal plant. *Int J  
Health Sci* 2022;6:3032-7.
  14. Rajahamsa AKL, KS D, Rao TKVK, Kumar  
AVR P, Reddy GRS, MS P. Multi-model  
confirmatory evaluation of anti-  
inflammatory, analgesic and antioxidant  
activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. *Int J  
Biomed Adv Res* 2013;12:921-32.
  15. Sudha BR, Sarath P. Screening and  
Evaluation of Bioactivity of Methanolic  
Extract of Leaf of *Putranjiva roxburghii*  
Wall. (*Putranjivaceae*). *Int J Pharm Biol Sci*  
2019;9:1148-56.
  16. นันทวัน บุญยะประภัสร์, อรณัฐ โชคชัยเจริญ.  
สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน (3). กรุงเทพมหานคร:  
ประชาชน จำกัด; 2539.
  17. Raghavendra HL, Kekuda TRP, Valleesha  
NC, Sudharshan SJ, Chinmaya A.  
Screening for Cytotoxic activity of  
Methanol Extract of *Putranjiva roxburghii*  
Wall (*Euphorbiaceae*)Seeds. *Phcog J*  
2010;10:335-7.
  18. *Curcuma aromatica* Salisb. [Internet].  
2024 [cited 2024 May 23]. Available from:  
[https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsi  
d:ipni.org:names:796426-1](https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:796426-1).
  19. Pintatum A, Maneerat W, Logie E, Tuentner  
E, Sakavitsi ME, Pieters L, et al. In Vitro  
Anti-inflammatory, Anti-Oxidant, and  
Cytotoxic Activities of  
Four *Curcuma* Species and the Isolation of  
Compounds from *Curcuma*  
*aromatica* Rhizome. *Biomolecules*  
2020;10:799.
  20. Ahmad S, Ali M, Ansari SH, Ahmed F.  
Phytoconstituents from the rhizomes of



- Curcuma aromatica Salisb. J Saudi Chem Soc 2011;15:287-90.
21. Dunster JL. The macrophage and its role in inflammation and tissue repair: mathematical and systems biology approaches. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med 2016;8:87-99.
22. Kang SG, Lee GB, Vinayagam R, Do GS, Oh SY, Yang SJ, et al. Anti-Inflammatory, Antioxidative, and Nitric Oxide-Scavenging Activities of a Quercetin Nanosuspension with Polyethylene Glycol in LPS-Induced RAW 264.7 Macrophages. Molecules 2022;27:7432.
23. Ogoina D. Fever, fever patterns and diseases called 'fever'--a review. J Infect Public Health 2011;4:108-24.
24. Jiang Z, Zhu L. Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma. J Asthma Allergy 2016;9:101-7.
25. Sadeghi-Aliabadi H, Aliasgharluo M, Fattahi A, Mirian M, Ghannadian M. In vitro cytotoxic evaluation of some synthesized COX-2 inhibitor derivatives against a panel of human cancer cell lines. Res Pharm Sci 2013;8:298.
26. Joo T, Sowndhararajan K, Hong S, Lee J, Park SY, Kim S, et al. Inhibition of nitric oxide production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells by stem bark of *Ulmus pumila* L. Saudi J Biol Sci 2014;21:427-35.
27. Duncan DB. Multiple range and multiple F test. Biometrics, 1955;11:1-42.
28. Watkins LR, Maier SF, Goehler LE. Immune activation: the role of pro-inflammatory cytokines in inflammation, illness responses and pathological pain states. Pain 1995;63:289-302.
29. Luanratana O, Griffin WJ. Alkaloid Biosynthesis in Duboisia Hybrid. J Nat Prod 1982;45:551-6.
30. พรพรรณ สิริมนต์, รัตติยา แวนนุกูล. องค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเหง้าว่านนางคำ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2021;6:118-25.
31. Ahmed S, Ansari SH, Ali M, Bhatt D, Ansari F. Phytochemical and Biological Investigations on Curcuma aromatica: A review. Phcog Rev 2008;2:151-6.
32. Reanmongkol W, Noppapan T, Subhadhirasakul S. Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of Putranjiva roxburghii Wall. leaf extract in experimental animals. J Nat Med 2009;63:290-6.
33. กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. ข้อมูลรายการอ้างอิงผลิตภัณฑ์



- สมุนไพร ประเภท ตำรายาแผนไทย ฉบับ พ.ศ.  
2566 สำหรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ขจัดแจ้ง.  
2566; 368.
34. Abhimanyu KK, Ravindra CS, Avanapu  
RS. A validated HPTLC method for the  
quantification of friedelin in *Putranjiva*  
*roxburghii* Wall extracts and in polyherbal  
formulations. *Bull Fac Pharm Cairo Univ*  
2017;55:79-84.
35. Merck. Friedelin. [Internet]. 2024 [cited  
2024 May 23]. Available from:  
[https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/prod  
uct/aldrich/855022](https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/product/aldrich/855022)
36. Toledo CR, Pereira VV, Duarte LP, Sousa  
GF, Silva-Cunha A. Anti-angiogenic  
activity and safety of intraocular  
application of triterpenes. *Doc Ophthalmol*  
2021;143:259-70.