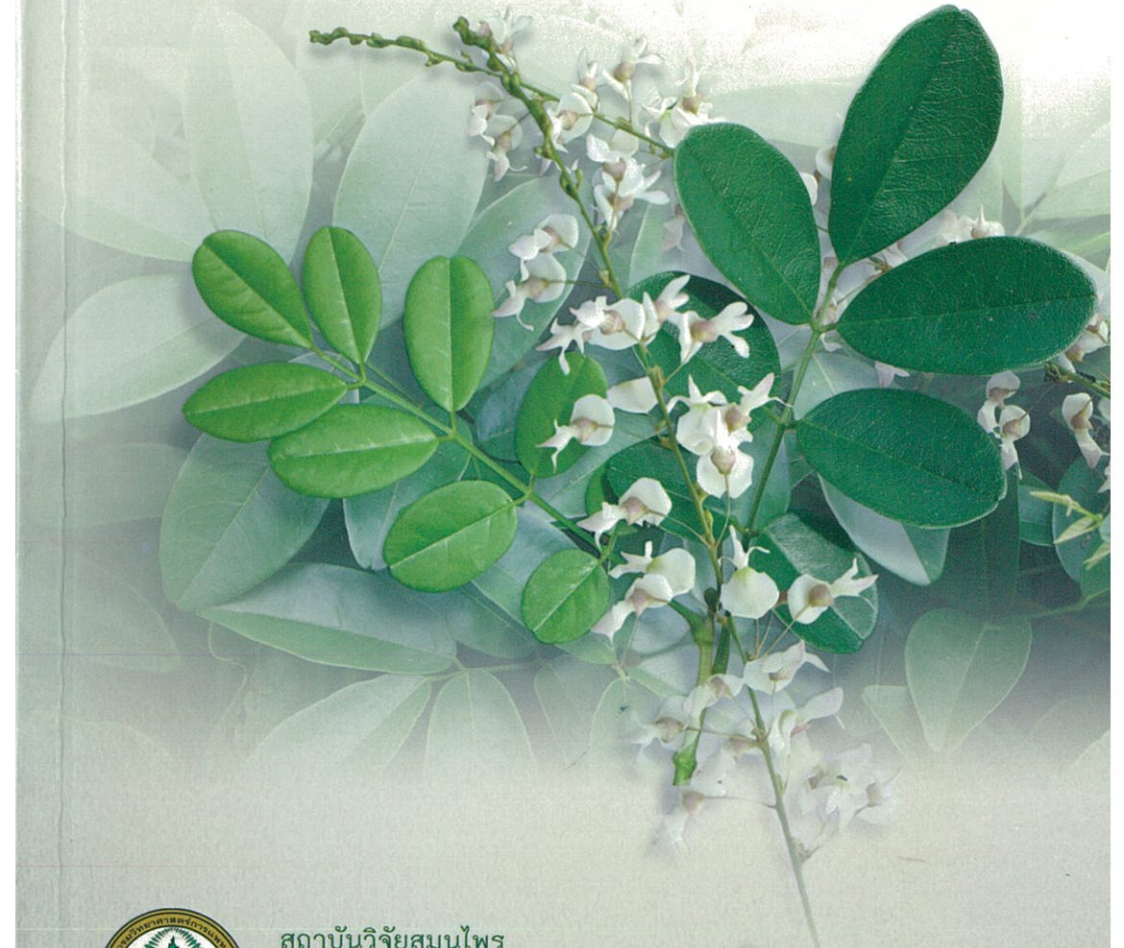
สมุนไพรน่ารู้ (5)

เถาวัลย์เปรียง

Derris scandens (Roxb.) Benth.



สถาบันวิจัยสมุนไพร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข

สมุนไพรน่ารู้ (5)

เถาวัลย์เปรียง

Derris scandens (Roxb.) Benth.

สถาบันวิจัยสมุนไพร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข

สมุนไพรน่ารู้ (5) : เถาวัลย์เปรียง

ที่ปรึกษา

นายแพทย์บุญชัย	สมบูรณ์สุข	นายแพทย์นิพนธ์	โพธิ์พัฒนชัย
นายแพทย์ปฐม	สวรรค์ปัญญาเลิศ	นายมงคล	เจนจิตติกุล
นางณุฉัตรา	จันทร์สุวานิชย์		

คณะผู้นิพนธ์

นลินภัสร์	ศักดิ์ติยสุนทร
ประนอม	เดชวิศิษฏ์สกุล
กัลยา	อนุลักขณาปกรณ์
ธัญญ์วัณณ์	มงคลชัยภักดิ์
ทรงพล	ชีวะพัฒน์
ประไพ	วงศ์สินคงมั่น
ไพริน	ทองคุ้ม
สดุดี	รัตนจรัสโรจน์
ปภาวดี	สุฉันทบุตร
พิลาศลักษณ์	อัครชลานนท์
สรเพชร	มาสุด
พราว	ศุภจริยาวัตร

ประสานการจัดพิมพ์

สุธิดา	ไชยราช
ฐตินภา	นุ่มใส

ISBN	978-616-11-1466-4
เจ้าของลิขสิทธิ์	สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี โทร. 0-2951-0491, 0-2589-9866
พิมพ์ครั้งที่ 1	กุมภาพันธ์ พ.ศ.2556
จำนวนพิมพ์	1,000 เล่ม
ออกแบบ	บริษัท 1241 มิราคูลัส จำกัด
พิมพ์ที่	โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ

คำนำ

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ตระหนักถึงความสำคัญของการวิจัยและพัฒนาสมุนไพร เพื่อให้ได้องค์ความรู้และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนการใช้สมุนไพรเพื่อการดูแลสุขภาพ รวมถึงความจำเป็นพื้นฐานของการเผยแพร่ข้อมูลการศึกษาวิจัย เพื่อให้เกิดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับพืชสมุนไพรที่จะนำไปสู่การพัฒนาต่อไป ดังนั้นจึงได้รวบรวมข้อมูลและประมวลสาระที่น่ารู้ของสมุนไพรที่มีศักยภาพในการพัฒนาและมีผู้สนใจนำไปใช้ในการดูแลสุขภาพ จัดทำเป็นเอกสารเผยแพร่ทางวิชาการในชุด สมุนไพรน่ารู้ และได้ตีพิมพ์เผยแพร่ไปแล้ว 4 เรื่อง คือ สมุนไพรน่ารู้ (1) ผักคาวตอง สมุนไพร น่ารู้ (2) ปัญจขันธ์ สมุนไพรน่ารู้ (3) บัวบก และสมุนไพรน่ารู้ (4) กระชายดำ ซึ่งได้รับความสนใจจากนักวิชาการและประชาชนทั่วไปเป็นอย่างมาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสถาบันวิจัยสมุนไพร จึงได้จัดทำเอกสารวิชาการ สมุนไพรน่ารู้ (5) เถาวัลย์เปรียง โดยได้ประมวลสาระน่ารู้เกี่ยวกับสมุนไพรเถาวัลย์เปรียงที่สืบค้นได้จากรายงาน และผลจากการศึกษาวิจัยของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในด้านต่างๆ ประกอบด้วย ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์และการใช้ประโยชน์พื้นบ้าน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการสร้างแคลลัส เอกลักษณ์ทางเภสัชเวท เอกลักษณ์ด้านลายพิมพ์ดีเอ็นเอ องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางเคมี การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา การศึกษาพิษวิทยาและความปลอดภัย การศึกษาวิจัยทางคลินิก การพัฒนาผลิตภัณฑ์ และรายการสิทธิบัตรที่น่าสนใจของเถาวัลย์เปรียง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์หวังว่าข้อมูลจากหนังสือเล่มนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อนักวิชาการในการนำข้อมูลไปศึกษาวิจัยต่อยอด และผู้บริโภคในการนำสมุนไพรเถาวัลย์เปรียงไปใช้เพื่อการดูแลสุขภาพต่อไป

(นายแพทย์บุญชัย สมบูรณ์สุข)
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กันยายน 2555

สารบัญ

หน้า

คำนำ 3

พฤกษศาสตร์และการใช้ประโยชน์พื้นบ้าน 5

เอกลักษณ์ทางเภสัชเวท 7

เอกลักษณ์ด้านลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 10

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการสร้างแคลลัส 21

องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางเคมี 25

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา 44

การศึกษาพิษวิทยาและความปลอดภัย 54

การศึกษาวิจัยทางคลินิก 57

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ 62

สิทธิบัตรที่น่าสนใจ 71

พฤกษศาสตร์และการใช้ประโยชน์พื้นบ้าน

ประนอม เดชวิศิษฏ์สกุล

ชื่อไทย	เถาวัลย์เปรียง
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Derris scandens* (Roxb.) Benth.
วงศ์	LEGUMINOSAE (FABACEAE)

ลักษณะของพืช

เถาวัลย์เปรียงเป็นไม้เถาเนื้อแข็ง กิ่งอ่อนมีขนสั้นนุ่ม **ใบ** ประกอบแบบขนนกปลายคี่ ใบรูปขอบขนานหรือรูปขอบขนานแกมรูปไข่กลับ โคนใบมน ปลายใบป้านมนแหลมเล็กน้อย ขอบใบเรียบ ผิวใบด้านบนเกลี้ยง ผิวใบด้านล่างมีขนละเอียด หูใบเล็กร่วงง่าย **ดอก** ช่อกระจะ ช่อดอกยาว ออกตามซอกใบ ดอกย่อย กลีบเลี้ยง โคนกลีบเชื่อมติดกันเป็นรูปถ้วย ปลายแยกเป็น 4-5 หยัก กลีบดอก สีชมพูหรือม่วง 5 กลีบ กลีบกลางรูปไข่กลับ กลีบคู่บนรูปขอบขนาน กลีบคู่ล่างติดกันเป็นรูปท้องเรือ เกสรเพศผู้มี 10 อัน ก้านชูเกสรติดกัน เกสรเพศเมีย รังไข่อยู่เหนือวงกลีบ มีขนคลุม **ผล** เป็นฝักสีน้ำตาล แบบแห้งไม่แตก รูปขอบขนาน ปลายและโคนฝักแหลม เมล็ดรูปไต สีน้ำตาลเข้ม มี 1–5 เมล็ด[1]

การใช้ประโยชน์พื้นบ้าน

ตามตำราแพทย์แผนโบราณของไทยกล่าวว่า เถาหรือลำต้นของเถาวัลย์เปรียง มีรสเฝื่อนเอียนเล็กน้อย ใช้รับประทานเป็นยาถ่ายเสมหะลงสู่ทวารหนัก ถ่ายเส้น ทำให้เส้นอ่อนและหย่อนดี ขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะพิการ เป็นยาถ่ายเฉพาะเสมหะเท่านั้น ไม่ได้ให้ถ่ายอุจจาระเดิน จึงเหมาะในโรคบิด โรคไอ โรคหวัด และใช้ดีในเด็ก เถาวัลย์เปรียงเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ใช้มากในทุกจังหวัดในประเทศไทย มักนิยมใช้เถาหั่นตากแห้งคั่วไฟชงน้ำดื่มต่างน้ำชา ทำให้เส้นหย่อน แก้อาการเมื่อยขบได้ดี[2-6]

เอกสารอ้างอิง

1. ประนอม เดชวิศิษฏ์สกุล, ไพริน ทองคุ้ม, ธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ, สุธีพงศ์ สืบสาครชูพงษ์, ถิรวดี จันทะรัง, โสภิดาวรรณ วิเชียรกุล และคณะ. เครื่องยาสมุนไพรไทย. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ; 2554. หน้า 62–3.
2. เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณของยาเทศและยาไทย. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์กรุงธน; 2522. หน้า 264–5.
3. สมาคมโรงเรียนแพทย์แผนโบราณ. ประมวลสรรพคุณยาไทย (ภาคสอง) ว่าด้วยพฤกษชาติ วัตถุธาตุ และ สัตว์วัตถุนานาชนิด. พระนคร: สำนักวัดพระเชตุพนฯ (วัดโพธิ์) ท่าเตียน; 2507. หน้า 137.
4. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. กรุงเทพมหานคร: โอ.เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์; 2540. หน้า 228.
5. มานะ ไทยวิบูลวงศ์. ตำราแพทย์เภสัชกรรมแผนโบราณ. กรุงเทพมหานคร: 2518. หน้า 6.
6. วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ห.จ.ก. ประชุมทองการพิมพ์; 2536. หน้า 349–50.

เอกลักษณ์ทางเภสัชเวท

ประนอม เดชวิศิษฏ์สกุล
ไพริน ทองคุ้ม

ลักษณะของเครื่องยา[1]

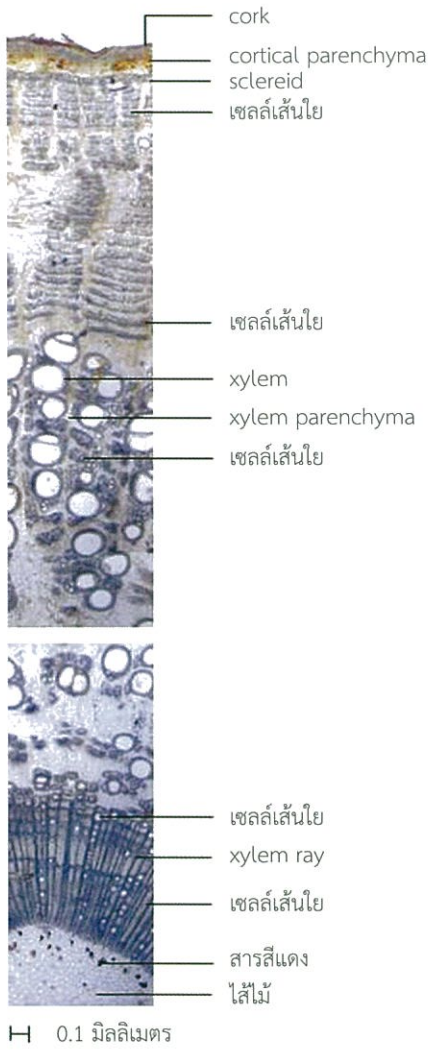
เครื่องยาเถาวัลย์เปรียง ได้จากพืช *Derris scandens* (Roxb.) Benth. วงศ์ LEGUMINOSAE (FABACEAE) เป็นส่วนของลำต้นถูกหั่นเป็นชิ้นเฉียง สีน้ำตาล แข็ง ผิวหยาบ เป็นเสี้ยน ส่วนที่เป็นเปลือกไม้ ผิวขรุขระ หยาบ ย่น เป็นร่อง ส่วนที่เป็นเนื้อไม้ ผิวเป็นเสี้ยน มีลายเป็นวงหลายวงซ้อนกัน ซึ่งเกิดจากการเรียงสลับของเนื้อเยื่อที่มีลักษณะแตกต่างกัน มีกลิ่นอ่อน

รูปที่ 1 เครื่องยาเถาวัลย์เปรียง

ลักษณะทางจุลภาคของเครื่องยา[2]

ภาคตัดขวางลำต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ภาคตัดขวางลำต้นประกอบด้วย **cork** เป็นเซลล์รูปร่างสี่เหลี่ยม ผนังค่อนข้างหนา เรียงตัว 3-4 ชั้น บางเซลล์พบสารสีแดง ผลึกรูปปริซึม **cortical parenchyma** เป็นเซลล์รูปร่างหลายเหลี่ยม บางเซลล์พบสารสีแดง ผลึกรูปปริซึม เรียงตัวล้อมรอบ sclereid **sclereid** เป็นเซลล์ผนังหนามาก ผนังมีรอยแตก เรียงตัวเป็นแถวล้อมรอบเนื้อเยื่อท่อลำเลียง **เนื้อเยื่อท่อลำเลียง** ประกอบด้วย xylem ขนาดใหญ่และเล็ก มีผนังแบบรอยเว้า และแบบรอยเว้ามีขอบ **xylem parenchyma** เป็นเซลล์รูปร่างค่อนข้างกลมถึงค่อนข้างรี ผนังบาง บางเซลล์พบผลึกรูปปริซึม เซลล์ที่อยู่ล้อมรอบ xylem และที่อยู่ล้อมรอบไส้ไม้เป็นเซลล์ผนังหนาและมีรู **xylem ray** เป็นเซลล์รูปร่างยาวเรียงตัวสลับกับ xylem ตามแนวรัศมี **เซลล์เส้นใย** เป็นเซลล์ผนังหนา เรียงตัวเป็นกลุ่มยาวสลับกับ xylem parenchyma ตามขวางและเรียงตัวเป็นกลุ่มแทรกอยู่กับ xylem ray ตามแนวรัศมี **ไส้ไม้** เป็นเซลล์รูปร่างค่อนข้างกลมขนาดใหญ่และเล็ก บางเซลล์พบสารสีแดง

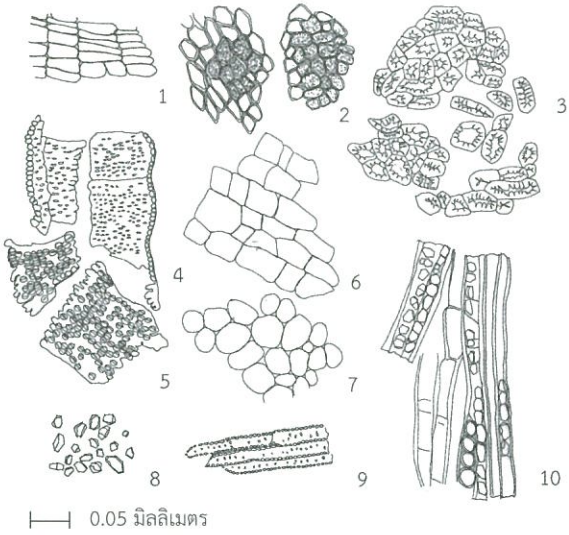


รูปที่ 2 ภาคตัดขวางลำต้นเถาวัลย์เปรียง

ลักษณะผงของเครื่องยา

ผงเครื่องยาเถาวัลย์เปรียง มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล มีกลิ่นอ่อน รสจืด

ผงของเครื่องยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 3 ผงของเครื่องยาเถาวัลย์เปรียง

1. cork
2. parenchyma บางเซลล์พบสารสีแดง
3. sclereid
4. ชิ้นส่วน vessel แบบรอยเว้า
5. ชิ้นส่วน vessel แบบรอยเว้ามีขอบ
6. parenchyma
7. เซลล์ไส้ไม้
8. ผลึกรูปปริซึม
9. ชิ้นส่วน xylem parenchyma ผนังมีรู
10. ชิ้นส่วนเซลล์เส้นใยอยู่ร่วมกับ xylem parenchyma ที่มีผลึกรูปปริซึม

เอกสารอ้างอิง

1. ประนอม เดชวิศิษฏ์สกุล, ไพริน ทองคุ้ม, ธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ, สุธีพงศ์ สืบสาครชูพงษ์, ถิรวดี จันทะรัง, โสภิดาวรรณ วิเชียรกุล และคณะ. เครื่องยาสมุนไพรไทย. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ; 2554. หน้า 63.
2. ประนอม เดชวิศิษฏ์สกุล, ไพริน ทองคุ้ม, โสภิดาวรรณ วิเชียรกุล, ปวีณา สาขี, สุพรต อุปสาคร, ถิรวดี จันทะรัง และคณะ. เอกลักษณ์ทางเภสัชเวทของเครื่องยาสมุนไพรไทย. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ; 2552. หน้า 60-63.

เอกลักษณ์ด้านลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ธัญญ์วัณณ์ มงคลชัยภักดิ์
สรเพชร มาสุด
ปภาวดี สุฉันทบุตร

การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprint) เป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในการศึกษาลักษณะของรูปแบบพันธุกรรม (genotype) ของพืช ซึ่งมีความแตกต่างของยีนในแต่ละชนิด (species) หรือแต่ละสายพันธุ์ (strains) จึงสามารถใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อจำแนกชนิดของพืชที่อยู่ในสกุล (genus) เดียวกัน หรือใช้จำแนกสายพันธุ์ของพืชชนิดเดียวกันได้ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจึงมีประโยชน์ในการใช้ช่วยคัดเลือกสายพันธุ์ของสมุนไพรที่มีคุณภาพดี เช่นมีสารสำคัญในปริมาณสูงเพื่อการขยายพันธุ์ หรือใช้ในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบสมุนไพรได้

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีหลักการทำที่คล้ายคลึงกันแตกต่างกันเพียงการใช้เทคนิคเครื่องหมาย ดีเอ็นเอ (DNA marker) ซึ่งสามารถนำมาตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรม โดยใช้เทคนิคการเพิ่มปริมาณ DNA หรือ PCR (polymerase chain reaction) ซึ่งมีหลายเทคนิคที่นำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์พืชอย่างได้ผล เช่น เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequent Repeat)[1]

การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเถาวัลย์เปรียง มีขั้นตอนพอสังเขป ดังนี้

1. สกัด DNA โดยใช้ชุดสกัด DNA จากพืช UltraClean™ (MO BIO Laboratories, Inc.) และใช้วิธีดัดแปลงของ Doyle และ Doyle[2]

2. ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณ DNA

3. เพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR

4. แยกขนาด DNA ด้วยวิธี electrophoresis

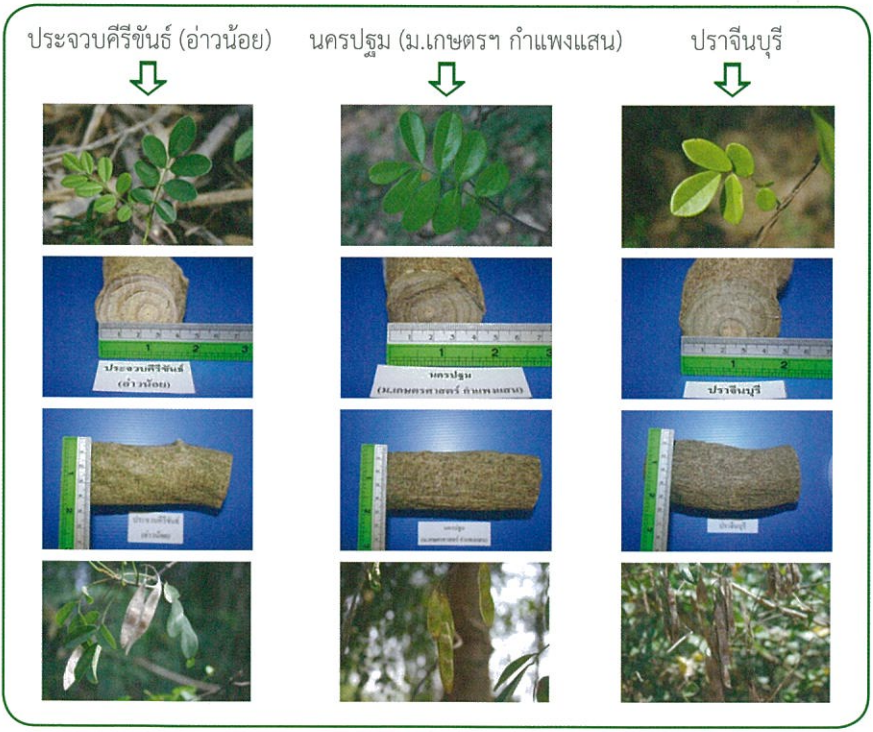
5. นำรูปแบบดีเอ็นเอที่ได้ไปวิเคราะห์ ข้อมูล
   - 5.1 โปรแกรม UVIband version 12.11 (ใช้กับเทคนิค ISSR)
   - 5.2 โปรแกรม NTSYS-pc version 2.0[3] (ใช้กับเทคนิค AFLP)
   - 5.3 Similarity Coefficient[4]

6. วิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม WinBoot[5] (ใช้กับเทคนิค ISSR) และจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA[3] (ใช้กับเทคนิค AFLP)

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเถาวัลย์เปรียง

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของตัวอย่างเถาวัลย์เปรียง โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างเถาวัลย์เปรียง DMSc Herbarium No. 4568 จากพิพิธภัณฑ์พืช กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยใช้หลักพฤกษอนุกรมวิธาน (รูปที่ 1-3)

รูปที่ 1 ลักษณะภายนอกเถาวัลย์เปรียงของจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (อ่าวน้อย), นครปฐม (ม.เกษตรฯ กำแพงแสน) และปราจีนบุรี จากซ้ายไปขวา ตามลำดับ



รูปที่ 2 ลักษณะใบ ลำต้นตัดตามขวาง ลักษณะผิวด้านข้าง และลักษณะฝักเถาวัลย์เปรียง ของจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (อ.อ่าวน้อย), นครปฐม (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน) และปราจีนบุรี (อ.กบินทร์บุรี) ตามลำดับ (ดูตามแนวลูกศร)

รูปที่ 3 ลักษณะดอกของเถาวัลย์เปรียง

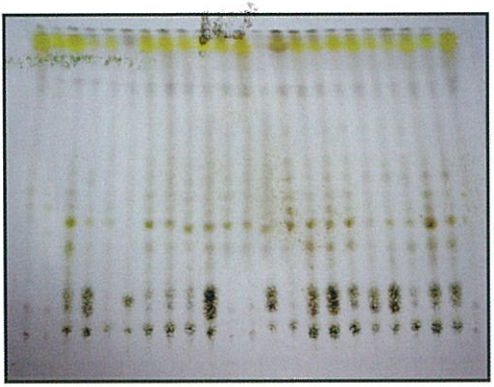
2. เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีรงคเลขผิวบาง (TLC Fingerprint) การใช้ TLC Fingerprint ในการตรวจสอบลายพิมพ์ทางเคมีของเถาวัลย์เปรียงจากแหล่งต่างๆ 19 แหล่ง โดยเทียบกับตัวอย่างเถาวัลย์เปรียงอ้างอิงหมายเลข 001 จากพิพิธภัณฑ์พืช กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อตรวจสอบรูปแบบทางเคมีของตัวอย่างเถาวัลย์เปรียง กับเถาวัลย์เปรียงอ้างอิงว่ามีลักษณะคล้ายกันหรือไม่ โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. สกัดตัวอย่างเถาวัลย์เปรียง 1.0 กรัมด้วย ethanol จำนวน 20 มิลลิลิตร โดยวิธี reflux บนอ่างไอน้ำที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที กรองขณะร้อน นำสารที่กรองได้ไประเหยจนแห้งด้วยเครื่องสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ละลายสารที่ได้ด้วย ethanol จำนวน 3.0 มิลลิลิตร ใช้หลอดรูเล็ก (capillary tube) ดูดสารที่ได้หยดลงบนแผ่น silica gel ตัวอย่างละ 5 ไมโครลิตร

2. น้ำยาแยกใช้ chloroform, methanol, น้ำและ acetic acid ในอัตราส่วน 80:30:5:1

3. การตรวจสอบ นำแผ่น silica gel ไปพ่นด้วยสารละลาย 20% Sulfuric acid ใน ethanol ทิ้งไว้ให้แห้ง นำแผ่น silica gel ไปทำให้ร้อนบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที สังเกตสีที่เกิดขึ้นภายใต้แสงธรรมชาติ

การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี TLC Fingerprint ของเถาวัลย์เปรียง เปรียบเทียบกับเถาวัลย์เปรียงอ้างอิง พบว่าทุกตัวอย่างเมื่อตรวจสอบด้วย sulfuric acid ให้รูปแบบของรงคเลขผิวบางที่คล้ายคลึงกัน ดังรูปที่ 4 แสดงว่าการใช้รงคเลข ผิวบางสามารถตรวจสอบความแตกต่างทางด้านเคมีของเถาวัลย์เปรียงได้ดีในระดับหนึ่ง



C 1 2 3 4 x 5 6 7 8 9 10 C 11 12 13 14 15 16 17 18 19 C

รูปที่ 4 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี TLC Fingerprint ของสารสกัดด้วยเอทานอลจากเถาวัลย์เปรียงจากแหล่งต่างๆ เปรียบเทียบกับเถาวัลย์เปรียงอ้างอิง เมื่อใช้สารละลายผสม chloroform: methanol: H_2O: acetic acid ในอัตราส่วน 80:30:5:1 เป็นน้ำยาแยก ตรวจสอบด้วยสารละลาย sulfuric acid 20% เมื่อได้รับความร้อน กำหนดให้ C = เถาวัลย์เปรียงอ้างอิง, 1 = ระยอง (อ.ปลวกแดง), 2 = จันทบุรี (อ.มะขาม), 3 = นนทบุรี (อ.เมือง), 4 = นครปฐม (มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา อ.พุทธมนฑล), X = callus เถาวัลย์เปรียง (อาหารสูตร 43+C1), 5 = นครนายก (อ.เมือง), 6 = ปราจีนบุรี (อ.กบินทร์บุรี), 7 = สระแก้ว (อ.วัฒนานคร), 8 = นครปฐม (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน), 9 = พิษณุโลก (อ.บางกระทุ่ม), 10 = ลพบุรี (อ.ท่าวุ้ง), 11 = บุรีรัมย์ (อ.ลำปลายมาศ), 12 = กรุงเทพฯ (อ.ธนบุรี), 13 = เพชรบุรี (ต.กลัดหลวง อ.ท่ายาง), 14 = ประจวบคีรีขันธ์ (สถานเสาวภา อ.หัวหิน), 15 = ขอนแก่น (อ.หนองสองห้อง), 16 = นครราชสีมา (อ.สูงเนิน), 17 = กาญจนบุรี (บ้านวังเย็น อ.เมือง), 18 = เพชรบุรี (ต.เขากระปุก อ.ท่ายาง), 19 = ประจวบคีรีขันธ์ (ต.อ่าวน้อย อ.เมือง)

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค ISSR

ได้ทำการทดสอบไพรเมอร์จำนวน 12 primers พบว่า ISSR primer M15 มีลำดับเบสเป็น 5´-GAAT GAAT GAAT GAAT-3´ เป็นไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งได้แถบ DNA ดังรูปที่ 5 แต่เนื่องจากได้จำนวน primer ที่เหมาะสมมีเพียง 1 primer เท่านั้น การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานโดยใช้เทคนิค ISSR เท่านั้น

รูปที่ 5 ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค ISSR กำหนดให้ M = 100-base pairs DNA marker (BioExcellence), C = ชุดควบคุม, 1 = ระยอง (อ.ปลวกแดง), 2 = จันทบุรี (อ.มะขาม), 3 = นนทบุรี (อ.เมือง), 4 = นครปฐม (มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา อ.พุทธมณฑล), 5= นครนายก (อ.เมือง), 6 = ปราจีนบุรี (อ.กบินทร์บุรี), 7 = สระแก้ว (อ.วัฒนานคร), 8=นครปฐม (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน), 9 = พิษณุโลก (อ.บางกระทุ่ม), 10 = ลพบุรี (อ.ท่าวุ้ง), 11 = บุรีรัมย์ (อ.ลำปลายมาศ), 12 = กรุงเทพฯ (อ.ธนบุรี), 13 = เพชรบุรี (ต.กลัดหลวง อ.ท่ายาง), 14 = ประจวบคีรีขันธ์ (สถานเสาวภา อ.หัวหิน), 15 = ขอนแก่น (อ.หนองสองห้อง), 16 = นครราชสีมา (อ.สูงเนิน), 17 = กาญจนบุรี (บ้านวังเย็น อ.เมือง), 18 = เพชรบุรี (ต.เขากระปุก อ.ท่ายาง) และ 19 = ประจวบคีรีขันธ์ (ต.อ่าวน้อย อ.เมือง)

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP[6]

นำ DNA ที่มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ng/µl) มาทำปฏิกิริยา AFLP โดยผ่านกระบวนการDigestion, Ligation, Pre-amplification (PCR I) และ amplification (PCR II) ตามลำดับ สุ่มทดลองหาไพรเมอร์ (screen primers) จำนวน 42 primers ที่ให้แถบ DNA ที่แตกต่างกัน (polymorphic bands) พบว่าได้primer ที่ให้แถบ DNA แตกต่างกันจำนวน 10 primers (ตารางที่ 1) เมื่อนำ DNA มาวิเคราะห์แยกแถบ

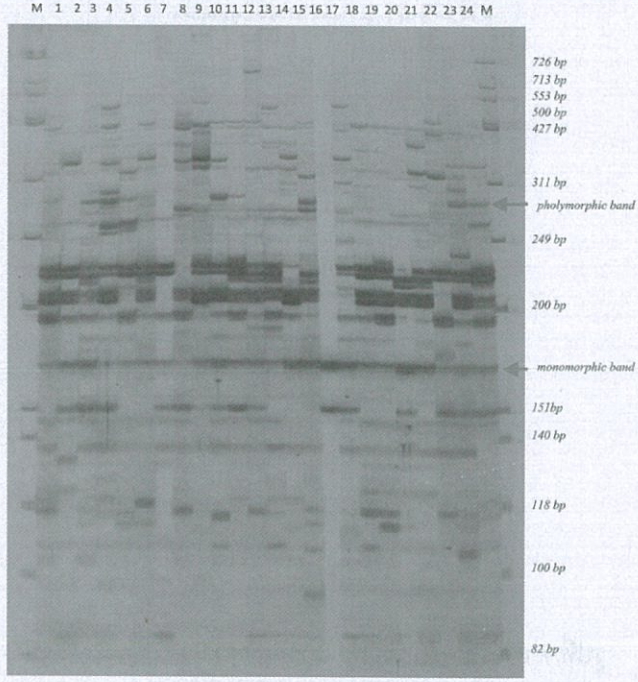
DNA โดยผ่าน 4.5 % denatured polyacrylamide gel electropholysis แล้วย้อมสีด้วยวิธี Silver staining จนปรากฏแถบชัดเจน (รูปที่ 6, 7 และ 8) นำข้อมูลมาวิเคราะห์หาค่า similarity coefficient โดยใช้ค่าสหสัมพันธ์[4] โดยกำหนดให้ 1 แทนแถบที่ปรากฏในตำแหน่ง (loci) นั้นๆ และ 0 แทนตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบ DNA ต่อจากนั้นจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc version 2.05 ได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 9 ตารางที่ 2 สามารถจัดกลุ่มตัวอย่างตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ 3 กลุ่มใหญ่ โดยมีตัวอย่างจากปราจีนบุรี (อ.กบินทร์บุรี) เพียงตัวอย่างเดียวที่ถูกจัดแยกออกจากตัวอย่างอื่นเป็นกลุ่มที่สามอย่างชัดเจน ส่วนกลุ่มใหญ่ที่สอง มีตัวอย่างจากนครปฐม (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน)และสระแก้ว (อ.วัฒนานคร) ส่วนกลุ่มที่หนึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยภายในได้อีกสองกลุ่มย่อย ดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 1.1 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก เพชรบุรี (ต.เขากระปุก อ.ท่ายาง)

กลุ่มย่อยที่ 1.2 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก กรุงเทพฯ (อ.ธนบุรี), กาญจนบุรี (บ้านวังเย็น อ.เมือง), ขอนแก่น (อ.หนองสองห้อง), จันทบุรี (อ.มะขาม), จันทบุรี (อ.เมือง), นครนายก (อ.เมือง), นครราชสีมา (อ.สูงเนิน), นครนายก (อ.เมือง), นนทบุรี (อ.เมือง), นนทบุรี (อ.บางใหญ่), บุรีรัมย์ (อ.แกลง), บุรีรัมย์ (อ.ลำปลายมาศ), ประจวบคีรีขันธ์ (สถานเสาวภา อ.หัวหิน), ประจวบคีรีขันธ์ (ต.อ่าวน้อย อ.เมือง), ปราจีนบุรี (อ.กบินทร์บุรี), พิษณุโลก (อ.บางกระทุ่ม), พิษณุโลก (อ.พรมพิราม), เพชรบุรี (ต.กลัดหลวง อ.ท่ายาง), ระยอง (อ.ปลวกแดง), ระยอง (อ.วังจันทร์) และลพบุรี (อ.ท่าวุ้ง)

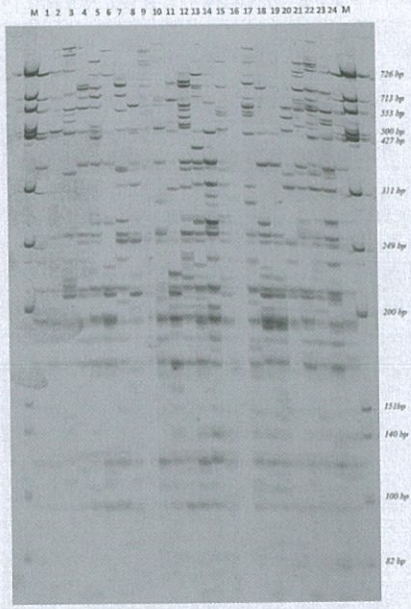
ตารางที่ 1 Primers ที่ใช้ในการตรวจสอบลายพิมพ์ DNA

No.	Primers	ER	MS
1	Pr 3	ACA	CAC
2	Pr 4	AAG	CTG
3	Pr 7	ACG	CTG
4	Pr 24	AAC	CTG
5	Pr 32	AGC	CTG
6	Pr 33	AGC	CGG
7	Pr 38	AGC	CAA
8	Pr 39	AGC	CTC
9	Pr 40	ACT	CTG
10	Pr 41	ACT	CGG

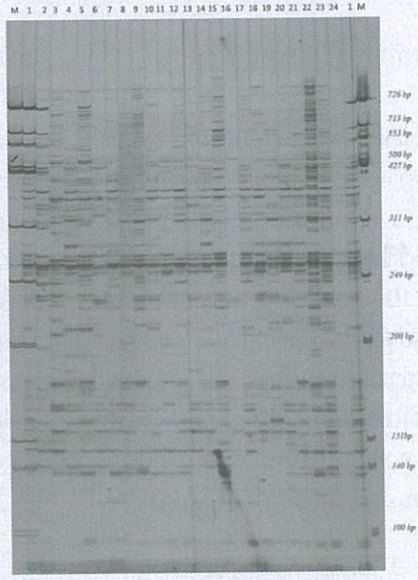


รูปที่ 6 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ primer ER-AGC และMS-CTC

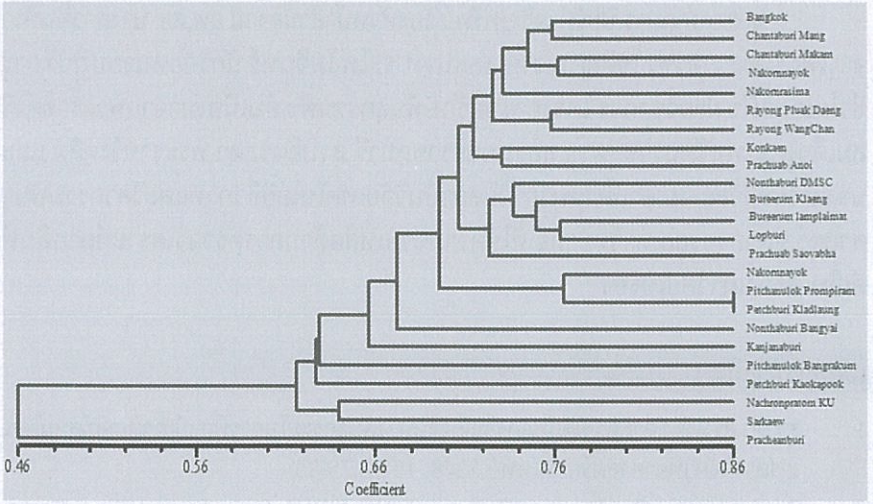
หมายเหตุ : M = DNA ขนาดมาตรฐาน (ØX174 DNA/HinfI Marker, Fermentas®), 1 = กรุงเทพฯ (อ.ธนบุรี), 2 = กาญจนบุรี (บ้านวังเย็น อ.เมือง), 3 = ขอนแก่น (อ.หนองสองห้อง), 4 = จันทบุรี (อ.มะขาม), 5 = จันทบุรี (อ.เมือง), 6 = นครนายก (อ.เมือง), 7 = นครปฐม (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน), 8 = นครราชสีมา (อ.สูงเนิน), 9 = นครนายก (อ.เมือง), 10 = นนทบุรี (อ.เมือง), 11 = นนทบุรี (อ.บางใหญ่), 12 = บุรีรัมย์ (อ.แกลง), 13 = บุรีรัมย์ (อ.ลำ-ปลายมาศ), 14 = ประจวบคีรีขันธ์ (สถานเสาวภา อ.หัวหิน), 15 = ประจวบคีรีขันธ์ (ต.อ่าวน้อย อ.เมือง), 16 = ปราจีนบุรี (อ.กบินทร์บุรี), 17 = พิษณุโลก (อ.บางกระทุ่ม), 18=พิษณุโลก (อ.พรมพิราม), 19 = เพชรบุรี (ต.กลัดหลวง อ.ท่ายาง), 20 = เพชรบุรี (ต.เขากระปุก อ.ท่ายาง), 21 = ระยอง (อ.ปลวกแดง), 22 = ระยอง (อ.วังจันทร์), 23 = ลพบุรี (อ.ท่าวุ้ง), 24 = สระแก้ว (อ.วัฒนานคร)



รูปที่ 7 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ primer ER-ACT และMS-CTG



รูปที่ 8 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ primer ER-AAG และ MS-CTG



รูปที่ 9 Dendrogram ความสัมพันธ์การจัดกลุ่มของเถาวัลย์เปรียงจำนวน 24 แหล่ง

ตารางที่ 2 การจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc

กลุ่มใหญ่	กลุ่มย่อย	ตัวอย่าง (จังหวัด)
กลุ่มที่ 1	1.1	เพชรบุรี (อ.เขากระปุก)
	1.2	กรุงเทพฯ (อ.ธนบุรี), กาญจนบุรี (บ้านวังเย็น อ.เมือง), ขอนแก่น (อ.หนองสองห้อง), จันทบุรี(อ.มะขาม), จันทบุรี (อ.เมือง), นครนายก (อ.เมือง), นครราชสีมา (อ.สูงเนิน), นครนายก (อ.เมือง), นนทบุรี (อ.เมือง), นนทบุรี (อ.บางใหญ่), บุรีรัมย์ (อ.แกลง), บุรีรัมย์ (อ.ลำปลายมาศ), ประจวบคีรีขันธ์ (สถานเสาวภา อ.หัวหิน), ประจวบคีรีขันธ์ (ต.อ่าวน้อย อ.เมือง), พิษณุโลก (อ.บางกระทุ่ม), พิษณุโลก (อ.พรมพิราม), เพชรบุรี (อ.ท่ายาง), ระยอง (อ.ปลวกแดง), ระยอง (อ.วังจันทร์), ลพบุรี (อ.ท่าวุ้ง)
กลุ่มที่ 2		นครปฐม (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน), สระแก้ว (อ.วัฒนานคร)
กลุ่มที่ 3		ปราจีนบุรี (อ.กบินทร์บุรี)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร.ปิยรัฏ์ เจริญทรัพย์ รองหัวหน้าสำนักงาน อพ.สธ. นางสาวอินทิรา จารุเพ็ง นางสาวอรชร โชติญาณวงษ์ และนางประไพ โมจินทร์ นักวิจัยหน่วยปฏิบัติการชีวโมเลกุลพืช ฝ่ายวิชาการ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต และนางสาวมะลิวัลย์ จรรยาณิชกุล นักวิจัยสถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือด้านการตรวจวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเถาวัลย์เปรียง

เอกสารอ้างอิง

1. สุชาดา สุขหร่อง.ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ : หลักฐานทางพันธุกรรมในการพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพร. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2548; 19 (1):75-85.
2. Doyle JJ and Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 1991; 12(1): 13-5.
3. Rohlf FJ. NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), version 2.0. Exeter Software, Setauket, New York. 1997
4. Dice LR. Measures of the amount of ecology association between species. Ecology 1945; 26: 297-302.
5. Yap IV and Nelson RJ. WinBoot: A program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA-based dendrograms. IRRI Disc Ser No.14. Int Rice Res Inst, Manila, Philippines; 1996
6. Vos PR, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, and Zabeau M. AFKP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucl Aci Res 23: 1995; 4407-14.

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการสร้างแคลลัส

ธัญญ์วัณณ์ มงคลชัยภักดิ์
สรเพชร มาสุด
ปภาวดี สุฉันทบุตร

เถาวัลย์เปรียง *Derris scandens* (Roxb.) Benth. วงศ์ LEGUMINOSAE (FABACEAE) มีการศึกษาวิจัย พบว่ามีสรรพคุณต่างๆ สารสกัดด้วย 50% ethanol มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน[1] ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ[2,3] ต้านอนุมูลอิสระ[4] ลดความดันโลหิต[5] ต้านเชื้อรา[6] มีความปลอดภัยในการใช้[7] สารสำคัญในเถาวัลย์เปรียงที่มีฤทธิ์ลดการอักเสบ และต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารกลุ่ม isoflavones เช่น genistein และอนุพันธุ์ มีรายงานฤทธิ์ต้านมะเร็งของ isoflavones หลายชนิด รวมทั้งฤทธิ์ต้านการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็ง[8]

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบของเถาวัลย์เปรียง ทดลองทางคลินิกร่วมกับโรงพยาบาลศิริราชในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อม[9] โดยเทียบกับยาต้านอักเสบ Naproxen พบว่าเถาวัลย์เปรียงรักษาโรคข้อเข่าเสื่อมได้ดี และมีแนวโน้มปลอดภัยกว่ายา Naproxen เพราะผู้ป่วยที่ได้รับยา Naproxen มีอาการข้างเคียงคือ หิวบ่อย แสบท้อง จุกเสียดแน่นท้อง ในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับสารสกัดเถาวัลย์เปรียงไม่มีอาการข้างเคียงดังกล่าว

เถาวัลย์เปรียงต้องใช้ระยะเวลาปลูกนานหลายปี จึงนำมาใช้เป็นยาได้อาจทำให้มีปัญหาเรื่องวัตถุดิบในอนาคต ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้เกิด callus ใช้ระยะเวลาสั้นเพียง 1-2 เดือน เพื่อการสร้างสารทุติยภูมิ สำหรับพัฒนาเป็นยาสมุนไพรและสามารถเพิ่มปริมาณการผลิต callus โดยใช้ Fermentor[10] จึงเป็นวิธีหนึ่งที่แก้ปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบได้ในอนาคต

วิธีการศึกษา

วัสดุและสารเคมี

1.1 ใบอ่อนเถาวัลย์เปรียง จากสวนสมุนไพรกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี

1.2 Clorox 10 เปอร์เซ็นต์

1.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
1.4 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
1.5 ตู้ปลอดเชื้อ
1.6 มีด
1.7 คีม (forceps)
1.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์
1.9 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skooge)[11]
1.10 Kinetin
1.11 2,4 D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)
1.12 citric acid
1.13 chitosan 0.1 %
1.14 BA (Benzyl aminopurine)
1.15 IBA (indole butyric acid)

วิธีการ

นำใบเถาวัลย์เปรียงมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox 10 % นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ที่ดัดแปลงจากสูตรอาหาร MS[11] ดังนี้

1. สูตรอาหาร 43 + C1 ประกอบด้วย Kinetin 3 มิลลิกรัม/ลิตร (มก/ล) และ 2,4-D 1 มก/ล เพิ่มธาตุเหล็ก เท่าตัวรวมกับ Citric acid 150 มก/ล และรวมกับ Chitosan 0.1 % ความเข้มข้น 1 มก./ล.

2. สูตรอาหาร BAP 1 มก/ล รวมกับ IBA 1 มก/ล

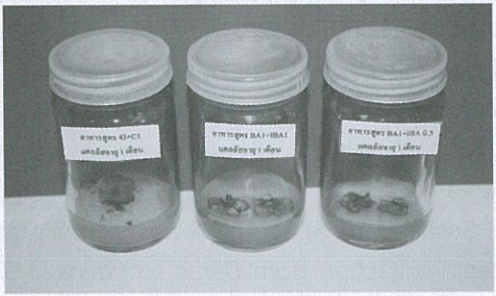
3. สูตรอาหาร BAP 1 มก/ล รวมกับ IBA 0.5 มก/ล

ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง callus จากสูตรอาหารต่างๆ เป็นเวลา 1 และ 2 เดือน ตามลำดับ

ผลการศึกษา

การใช้อาหารสูตร BAP 1 มก/ล รวมกับ IBA 1 มก/ล ทำให้เกิด callus มีลักษณะฟูแน่น สีเขียวปนสีน้ำตาลเข้มและเกิด callus ได้ดีกว่าการใช้อาหารสูตร BAP 1 มก/ล รวมกับ IBA 0.5 มก/ล และอาหารสูตร 43 + C1 ที่มี chitosan 0.1% ขนาด

ความเข้มข้น 1 มก/ล ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน ขนาดของ callus มีขนาดใหญ่กว่าเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (รูปที่ 1 และ 2)



รูปที่ 1 การเกิด callus จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของเถาวัลย์เปรียงบนอาหารสูตร 43 + C1, BAP1 + IBA1, BAP1 + IBA0.5 อายุ 1 เดือน (จากซ้ายไปขวา)

รูปที่ 2 การเกิด callus จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของเถาวัลย์เปรียงบนอาหารสูตร 43 + C1, BAP1 + IBA1, BAP1 + IBA0.5 อายุ 2 เดือน (จากซ้ายไปขวา)

เอกสารอ้างอิง

1. Chuthaputhi A, Chavalittumrong P. Immunomodulating activity of *Derris scandens* Benth. Thai J Pharm Sci. 1998; 22: 137-48.
2. Laupattarakasem P, Houghton PJ, Hoult JR, Inharat A. An evaluation of the activity related to inflammation of four plants used in Thailand to treat arthritis. J Ethnopharmacol. 2003; 85: 207-13.
3. กัลยา อนุลักขณาปกรณ์, บรรจง ชาวไร่, ยุวดี เมตตาเมธา, ประไพ วงศ์สินคงมั่น, อภิรักษ์ ศักดิ์เพ็ชร, จารีย์ บันสิทธิ์, ปราณี ชวลิตธำรง. ฤทธิ์ต้านอักเสบของ

ผักคาวตอง (*Houttuynia cordata* Thunb.) และเถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens* Benth.). สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข [สืบค้น 7 กันยายน 2554]. Available from : http://www.dtam.moph.go.th/alternative/viewstory.phd?id=520.

4. ฐิติพร ทับทิมทอง, กัลยา อนุลักขณาปกรณ์, จิรานุช มิ่งเมือง, อภิรักษ์ ศักดิ์เพ็ชร, จารีย์ บันสิทธิ์. ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของเถาวัลย์เปรียง รางจืด ผักคาวตอง, ปัญจขันธ์ และบัวบก. [สืบค้น 18 พฤศจิกายน 2554]. Available from: http://www.dtam.moph.go.th/alternative/viewstory.php?id=494.
5. Jansakul C, Srichanbarn A, Saelee A. Some pharmacological studies of a hypotensive fraction from *Derris scandens*. J Sci Soc Thailand. 1997; 23: 323-34.
6. Sekine T, Inagaki M, Koseki T, Murakoshi I, Fuji Y, Yamamoto K, Ru angrungsi N, Ikegami F. Antifungal constituents of Thai medicinal plants, *Derris scandens* and *Rauwolfia verticillata*. Current advances in natural Product research. The Third NRCT-JSPS joint seminar. Bangkok, Thailand. 1996 ; 229-35.
7. Chavalittumrong P, Chivapat S, Chuthaputti A, Rattanajarasroj S, Panyamang S. Chronic toxicity study of *Derris scandens*. Songklana karin J Sci Technol. 1999; 21: 426-33.
8. พิสมัย เหล่าภัทรเกษม, บรรจบ ศรีภา, วิรุฬห์ เหล่าภัทรเกษม. ฤทธิ์ต้านการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งของเถาวัลย์เปรียงต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี. ศรีนครินทร์เวชสาร. 2550; 22: 339-45.
9. Kuptniratsaikul V, Pinthong T, Bunjob M, Thanakhumtorn S, Chinswangwatanakul P, Thamlikitkul V. Efficacy and safety of *Derris scandens* Benth. extracts in patients with knee osteoarthritis. J Altern Complement Med. 2011; 17:147-53.
10. Stanbury PF, Whitakser A, Hall SJ. Principles of Fermentation Technology. Oxford: Pergamon Press, 1995.
11. Murashige T, Skooge T. A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plantarum. 1962; 15: 473-93.

องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางเคมี

ประไพ วงศ์สินคงมั่น

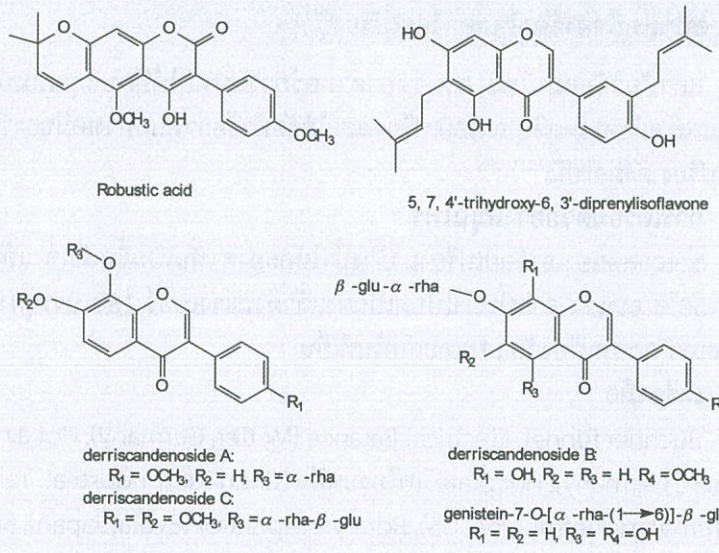
จากภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยระบุว่า สมุนไพรเถาวัลย์เปรียง ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Derris scandens* (Roxb.) Benth. วงศ์ LEGUMINOSAE (FABACEAE)[1] มีสรรพคุณดังนี้ เถาใช้เป็นยาแก้กระษัย แก้เส้นเอ็นขอด แก้ปวดเมื่อย ขับปัสสาวะ บางแหล่งนิยมนำเถาหั่นตากแห้งคั่วไฟ ชงน้ำดื่มแทนน้ำชา ใช้แก้ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ถ้าใช้เถาดองเหล้าจะเป็นยาขับระดู ส่วนรากใช้เบื่อปลา (แต่ไม่มีคุณสมบัติฆ่าแมลง)[2-4] จากข้อมูลด้านการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามีรายงานว่า สารสกัดจากลำต้นเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ลดความดันโลหิต[5] ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์[6] ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน[6] และฤทธิ์ต้านการอักเสบ[7-8] โดยสารเคมีที่มีสูตรโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของ isoflavone ได้แก่ genistein 7-O-α-rhamnosyl (1→6)-β-glucosyl glycoside มีฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[8] ส่วนอนุพันธ์ของ isoprenyl ได้แก่ 3'-γ,γ-dimethylallylwighteone และ scandenin มีฤทธิ์ลดความดันโลหิตและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์[9] ในขณะที่อนุพันธ์ของ isoflavone และ benzil มีฤทธิ์ลดความดันโลหิต ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์[9] นอกจากนี้พบว่าสารเคมีกลุ่ม diprenylisoflavone เช่น 5,7,4'-trihydroxy-6,8-diprenylisoflavone มีฤทธิ์เป็นยาต้านเชื้อราชนิด *Trichophyton mentagrophytes* ด้วย[10] สารเคมีกลุ่ม prenylated isoflavones เช่น scandenone, scandinone, isoscandinone, scandenin A, scandenin B, 4',5',7-trihydroxybiprenyl isoflavone มีฤทธิ์ยับยั้ง α-glucosidase[11] สารสกัดจากรากเถาวัลย์เปรียงมีสารเคมีกลุ่ม diprenylisoflavone เช่น warangalone, robustic acid, 8-γ,γ-dimethylallylwighteone, 3'- γ,γ -dimethylallylwighteone มีฤทธิ์ยับยั้ง cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit ของตับหนู โดยความเข้มข้นในการยับยั้งร้อยละ 50 หรือ IC_{50} มีค่าเท่ากับ 3.5, 10, 20, 24 และ 33 ไมโครโมล่าร์ตามลำดับ และเสนอว่า สารเคมีที่มีสูตรโครงสร้างเป็น prenyl (หรือ dimethylallyl) ดังกล่าว จำเป็นต่อการแสดงฤทธิ์ ซึ่งอาจเป็นเหตุผลที่รากเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ในการเบื่อปลา[12] ดังนั้น น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งว่าองค์ประกอบทางเคมีชนิดใดที่พบใน

เถาวัลย์เปรียง และวิธีการในการควบคุมคุณภาพทางเคมีของวัตถุดิบและสารสกัดสมุนไพรเถาวัลย์เปรียงเป็นอย่างไร

องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง

จากการสืบค้นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ มีรายงานว่าพบองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรส่วนเถา (ลำต้น) ของเถาวัลย์เปรียง ประกอบด้วยกลุ่มต่างๆ ดังนี้

1. สารกลุ่ม isoflavones, isoflavone glycosides และ prenylated isoflavones[5-14,17,19,27] เช่น derrisscandenosides A-F; derrisisoflavones A-F; derrisscanosides A-B; 7,8-dihydroxy-4′-methoxyisoflavone; 4′,5-dihydroxy-3′-prenyl-2″,2″-dimethylchromeno[7,8:6″,5″] isoflavone (scanderone); diadzein 7-O-[α-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-glucopyranoside; 3′-γ,γ-dimethylallylwighteone; 8-γ,γ-dimethylallylwighteone; eturunagarone; flemmichapparins B-C; formononetin 7-O-[α-rhamnopyranosyl (1→6)]-β-glucopyranoside; formononetin 7-O-β-glucopyranoside; 3′-formyl-4′,5-dihydroxy-3′-formyl-2″,2″-dimethylchromeno[6,7:5″,6″]-isoflavone (scandenal); 3′-formylalpinumisoflavone; genistein 7-O-[α-rhamnopyranosyl (1→6)]-β-glucopyranoside; 5-hydroxy-2″,2″-dimethylchromeno-[6,7:5″,6″]-2‴,2‴-dimethylchromeno[3′,4′:5″,6‴]isoflavone; 7-hydroxy-4′,8-dimethoxyisoflavone 7-O-β-glucopyranoside; 8-hydroxy-4′,7-dimethoxyisoflavone-8-O-β-glucopyranoside; 2-(1-hydroxy-1-methylethyl)-3-hydroxy-2,3-dihydrofuranoalpinumisoflavone; isochandalone; isorobustone; lupalbigenin; lupinisoflavone G; lupiwighteone; maackiain; osajin; scandione (2′,2″-dihydroxy-4′-methoxy-4″,5″-methylenedioxybenzil); scandinone; senegalensin; 5,7,4′-trihydroxy-6,3′-diprenylisoflavone; 5,7,4′-trihydroxy-6,8-diprenylisoflavone; 5,7,4′-trihydroxy-6-prenyl-8-(2‴-hydroxy-3‴-methylbut-3‴-enyl) isoflavone (erysenegalensein E); 5,7,4′-trihydroxy-6-(2‴-hydroxy-3‴-methylbut-3‴-enyl)-3′-prenylisoflavone (lupinisol A); ulexone A; warangalone



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบางชนิดกลุ่ม isoflavonoids

2. สารกลุ่ม coumarins และสารที่เกิดจากการสลายตัว[15-16, 20-22] เช่น 4,4′-di-O-methylscandenin; 4,4′-di-O-methyllonchocarpic acid; 4-hydroxymethoxybenzoic acid; 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoic acid; robustic acid; scandenin

3. สารกลุ่ม steroids[18] เช่น β-sitosterol; taraxerol

4. สารกลุ่ม terpenoids[18] เช่น lupeol

นอกจากนี้ จากการสืบค้นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ยังมีรายงานว่าพบองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรส่วนรากของเถาวัลย์เปรียง ประกอบด้วยกลุ่มต่างๆ ดังนี้

1. สารกลุ่ม flavonoids[19] เช่น chandalone; chandanin; 8-γ,γ-dimethylallylwighteone; 3′-γ,γ-dimethylallylwighteone; nallanin; osajin; scandinone; warangalone (scandenone)

2. สารกลุ่ม coumarins[19,23,25] เช่น lonchocarpenin; lonchocarpic acid; scandenin; scandenin a; robustic acid

3. สารกลุ่ม plant hormones[25] เช่น Indole acetic acid (IAA); gibberellin like (GA); cytokinin like (CK); abscisic acid like (ABA)

ข้อกำหนดทางเคมีของวัตถุดิบเถาวัลย์เปรียง[28]

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของวัตถุดิบเถาวัลย์เปรียง และได้จัดทำข้อกำหนดทางเคมีของวัตถุดิบเถาวัลย์เปรียง ดังต่อไปนี้[28,30-32]

การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

นำเถาสดของเถาวัลย์เปรียงมาล้างน้ำให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วอบที่อุณหภูมิ 50°ซ จนแห้ง จากนั้นนำไปบดเป็นผงแล้วผ่านแร่งเบอร์ 180 บรรจุผงแห้งที่ได้ในภาชนะปิดสนิท ป้องกันแสงและเก็บในที่เย็น

เครื่องมือ

Buchner funnel, Electrical Balance (Metler, Germany), Hot air oven (Mammert, Germany), Hot plate, เครื่องบดปั่น (Chun Tseh Industrial, Taiwan), Muffle furnace (Thermolyne, US), Rotary evaporator (Eyela, Japan), Shaker (IKA Labortechnik, Germany), Sieve Apparatus (Retsch, Germany), Sieve Mesh No. 180 (Endocott, UK), Sonicator, UV carbinet (Camag, Switzerland), Water-bath, เครื่องแยกโครมาโทกราฟสมรรถนะสูง (HPLC) ของบริษัท Waters ประเทศสหรัฐอเมริกา ประกอบด้วย เครื่องควบคุมปั๊ม รุ่น 600, เครื่องฉีดสารตัวอย่าง รุ่น 717, คอลัมน์ ยี่ห้อ Novapak® C18 ขนาด 3.9 x 150 ซม., 60 A°, 4 µm และเครื่องตรวจวัดชนิดโฟโตไดโอดแอเรย์รุ่น 2770

วัสดุวิทยาศาสตร์

Silica gel GF254 precoated plate, 0.25 mm thickness (E. Merck, Germany) Silica gel RP18F254 precoated plate, 0.25 mm thickness (E. Merck, Germany) Capillary tube, Sep-Pak C18 Cartridge และ Nylon filter

สารมาตรฐานและสารเคมี

genistein 7-O-[α-rhamnopyranosyl(1→6)]-β-glucopyranoside ใช้เป็นสารเทียบ ซึ่งแยกได้ด้วยเทคนิค column chromatography และพิสูจน์สูตรโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิค spectroscopy, acetic anhydride, concentrated hydrochloric acid, concentrated sulfuric acid, cupric sulfate, diphenylboric acid-2-aminoethyl ester, magnesium ribbon, methanol, polyethylene glycol 4000, potassium sodium tartrate, sodium hydroxide และ deionized water (DI water)

สารเคมีทุกชนิดที่ใช้กับเครื่องแยกโครมาโทกราฟสมรรถนะสูง เป็นชนิดที่ใช้เฉพาะกับเครื่องแยกโครมาโทกราฟสมรรถนะสูง (LC gradient grade) ของบริษัท Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา สำหรับน้ำบริสุทธิ์ที่ใช้กับเครื่องแยกโครมาโทกราฟสมรรถนะสูงเป็นน้ำที่กรองผ่านเครื่องกรอง Ultra Pure Water System

สารละลาย Fehling:-

1. เตรียมสารละลาย cupric sulfate 3.5 g ในน้ำ 50 ml เก็บในขวดทึบแสงที่มีฝาปิดสนิท

2. เตรียมสารละลาย alkaline tartrate โดยละลาย potassium sodium tartrate 17.3 g และ sodium hydroxide 5.0 g ในน้ำ ปรับปริมาตรให้ได้ 50.0 ml เก็บในขวดทนด่างที่มีฝาปิดสนิท

3. นำสารละลายในข้อ 1 และ 2 มาผสมกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 และเตรียมทันทีก่อนใช้

วิธีการทดสอบ

1. เอกลักษณ์ทางเคมี (Chemical Identification)

1.1 การตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมี (Preliminary Chemical Test)

ก. การตรวจสอบสารกลุ่ม flavonoids

ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 1.0 g ใส่ในหลอดทดลอง สกัดด้วย methanol 10 ml ต้มบน water-bath นาน 5 นาที กรอง นำสารละลายตัวอย่างที่กรองได้ไประเหยให้แห้งด้วย rotary evaporator ละลาย residue ด้วย methanol 1 ml เติมแผ่น magnesium ribbon ที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ 2-3 ชิ้น และ conc. hydrochloric acid 3-4 หยด นำไปอุ่นในอ่างอังไอน้ำ จะสังเกตเห็นสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดง

ข. การตรวจสอบสารกลุ่ม terpenoids

ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 0.5 g ใส่ในหลอดทดลอง สกัดด้วย methanol 10 ml ต้มบนwater-bath นาน 5 นาที กรอง นำสารละลายตัวอย่างที่กรองได้ไประเหยให้แห้งด้วย rotary evaporator ละลาย residue ด้วย acetic achydride 2 ml แล้วค่อยๆ หยด conc. sulfuric acid 1 ml ลงไปด้านข้างหลอด จะสังเกตเห็นวงแหวนสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลาย

ค. การตรวจสอบสารกลุ่ม saponins

ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 0.5 g ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาเกลียวปิดสนิท เติม น้ำ 10 ml เขย่าแรงๆ นานประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ จะสังเกตเห็นฟองที่เกิดขึ้นที่คงทนได้นานกว่า 15 นาที

ง. การตรวจสอบสารกลุ่ม reducing sugar

ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 0.5 g เติม น้ำ 10 ml นำไปต้มบนอ่างอังไอน้ำ นาน 10 นาที กรอง นำสารละลายตัวอย่างที่กรองได้ไปเติมผงถ่าน 0.3 g กรอง นำสารละลายที่กรองได้มาเติมสารละลาย Fehling นำไปอุ่นในอ่างอังไอน้ำนาน 2-3 นาที จะสังเกตเห็นตะกอนสีแดงอิฐเกิดขึ้น

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบเบื้องต้นทางเคมีของวัตถุดิบเถาวัลย์เปรียง

การตรวจสอบกลุ่มสารเคมี	วิธีทดสอบ	ผลการทดสอบ
1. สารกลุ่ม flavonoids	Shinoda Test	ได้สารละลายสีน้ำตาลแดง
2. สารกลุ่ม terpenoids	Liebermann-Burchard's Test	ได้วงแหวนสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของชั้นสารละลาย
3. สารกลุ่ม saponins	Forth Test	เกิดฟองที่คงทนนานกว่า 15 นาที
4. สารกลุ่ม reducing sugars	Fehling's Test	ตะกอนสีแดงอิฐ

1.2 การตรวจสอบเพื่อยืนยันผล *(Confirmatory Test)*

1.2.1 Thin-layer Chromatography (TLC)

สารละลายตัวอย่าง ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 1.0 กรัม นำมาต้มสกัดด้วยวิธี reflux ใน ethanol 20.0 มิลลิลิตร นาน 20 นาที กรองขณะร้อน นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ 50°ซ ละลายสารที่เหลืออยู่ด้วย ethanol 3.0 ml

สารละลายมาตรฐาน genistein 7-O-[α-rhamno-pyranosyl(1→6)]-β-glucopyranoside 1.0 มิลลิกรัม ละลายใน ethanol 1.0 มิลลิลิตร

ตัวดูดซับ TLC plate silica gel GF254, 0.25 mm thickness

น้ำยาแยก ผสม chloroform: methanol: น้ำ ในอัตราส่วน 70: 40: 10 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ใช้เฉพาะสารละลายชั้นล่าง

ถังทำโครมาโทกราฟี ใส่น้ำยาแยกลงในถังให้มีความสูงจากก้นถังประมาณ 1 เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมงก่อนใช้

น้ำยาตรวจสอบ Natural products-polyethyleneglycol (NP/PEG)

-น้ำยา NP : ละลายสาร diphenylboric acid-2-aminoethyl ester 1.0 กรัม ใน methanol 100.0 มิลลิลิตร

- น้ำยา PEG : ละลาย polyethylene glycol 4000 จำนวน 5.0 กรัม ใน ethanol 100.0 มิลลิลิตร

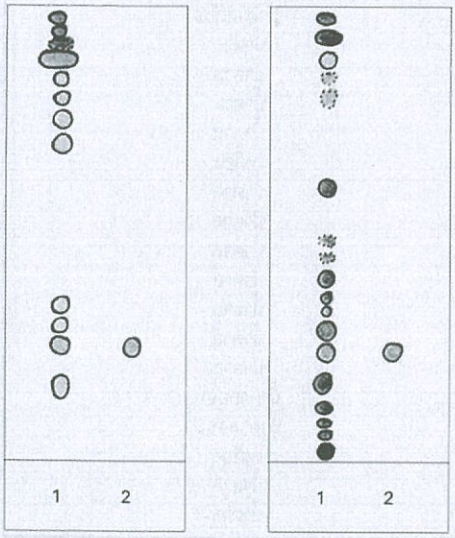
วิธีการ ใช้หลอดรูเล็ก (capillary tube) ดูดสารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐาน ชนิดละ 5 ไมโครลิตร มาแต้มบนแผ่น TLC จำนวน 2 แผ่น ชนิด GF 254 ในแนวระดับเดียวกัน ให้ห่างจากขอบล่างของแผ่น TLC ประมาณ 2 เซนติเมตร และให้มีระยะห่างระหว่างหยดสารละลายแต่ละชนิดประมาณ 1 เซนติเมตร ผึ่งให้แห้ง นำไปตั้งในถังทำโครมาโทกราฟีที่เตรียมไว้ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้น้ำยาแยกซึมขึ้นไปตามผิวฉาบสูง 15 เซนติเมตร นำแผ่น TLC ออกจากถังทำโครมาโทกราฟี ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปตรวจสอบดังนี้

1. นำแผ่น TLC แผ่นที่ 1 ไปอุ่นที่อุณหภูมิ 80° ซ เป็นเวลา 10 นาที แล้วพ่นด้วยน้ำยา NP ก่อน แล้วพ่นทับด้วยน้ำยา PEG ทิ้งให้แห้ง สังเกตแผ่น TLC ภายใต้ UV366

2. นำแผ่น TLC แผ่นที่ 2 ไปพ่นด้วยสารละลาย 20.0% w/v sulfuric acid ใน ethanol อังบนเตาไฟฟ้าที่ 105°ซ นาน 5 นาที สังเกตแผ่น TLC ภายใต้แสงธรรมชาติ

ผลการตรวจสอบ

จากการตรวจสอบได้โครมาโทแกรมผิวบาง ดังรูปที่ 2 โดยตำแหน่งของจุดสีต่างๆ บนแผ่น TLC จะแสดงด้วยค่า hR_f (100 R_f) โดยที่ R_f (retardation factor หรือ relative front) หมายถึง อัตราส่วนระยะทางที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่น้ำยาแยกเคลื่อนที่ ค่า hR_f และผลการตรวจสอบแสดงในตารางที่ 2-3



รูปที่ 2 โครมาโทแกรมผิวบางของสารสกัด ethanol จากผงเถาวัลย์เปรียง

1 = สารสกัด ethanol จากผงเถาวัลย์เปรียง

2 = สารละลายมาตรฐาน

◌ = จุดสีที่พบในบางตัวอย่าง

I = ตรวจสอบด้วย UV366 ภายหลังพ่นด้วยน้ำยา NP/PEG

II = ตรวจสอบด้วยแสงธรรมชาติ ภายหลังพ่นด้วยสารละลาย 20% w/v sulfuric acid

ตารางที่ 2 ค่า hR_f ขององค์ประกอบทางเคมีประเภท flavonoids ของสารสกัด ethanol จากเถาวัลย์เปรียง

จุดสี	ค่า hR_f	การตรวจสอบด้วย UV366** หลังพ่นด้วยน้ำยา NP/PEG
1	18-19	เหลือง
2*	24	เหลือง
3	28-29	เหลือง
4	31-32	เหลือง
5	70-71	เหลือง
6	75	เหลือง
7	79-80	เหลือง
8	83-84	เหลือง
9	87-88	เหลืองเข้ม
10	89	ส้ม
11	91-92	เหลืองอมส้ม
12	96	เหลืองอมส้ม

* genistein 7-O-[α-rhamnopyranosyl(1⟶6)]-β-glucopyranoside

** จุดเรืองแสง

ตารางที่ 3 ค่า hR_f ขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด ethanol จากเถาวัลย์เปรียง

จุดสี	ค่า hR_f	การตรวจสอบด้วยแสงธรรมชาติ หลังพ่นด้วยสารละลาย 20%w/v sulfuric acid
1	2	น้ำตาลเข้ม
2	5	น้ำตาล
3	7-8	น้ำตาล
4	10-11	น้ำตาล
5	16-18	น้ำตาล
6*	22-24	เหลือง
7	27-28	น้ำตาล
8	35-36	น้ำตาล
9	37-38	น้ำตาล
10	40-41	น้ำตาล
11	42	น้ำตาล
12	44-45	น้ำตาล
13	58-59	น้ำตาล
14	80	น้ำตาลอ่อน
15	81-83	น้ำตาลอ่อน
16	87-88	เหลือง
17	92-93	น้ำตาล
18	96-97	น้ำตาล

* genistein 7-O-[α-rhamnopyranosyl(1⟶6)]-β-glucopyranoside

1.2.2 High-performance Liquid Chromatography (HPLC)

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งสารตัวอย่างมา 1.0 กรัม ในขวดรูปชมพู่ นำไปสกัดในเมทานอล 10.0 มิลลิลิตร โดยใช้ sonicator นาน 30 นาที กรองขณะร้อน หากมีตะกอน ให้กรองด้วยกระดาษกรอง นำสารละลายที่กรองได้มาปรับปริมาตรให้ได้ 10.0 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายจำนวน 1.0 มิลลิลิตรมากรองผ่าน SepPak C18 และกรองด้วย nylon filter ขนาด 0.45 µm

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ละลายสารมาตรฐาน genistein-7-O- [α-rhamnopyranosyl-(1$\rightarrow$6)]-β-glucopyranoside จำนวน 1.0 มิลลิกรัมใน methanol 1.0 มิลลิลิตร

น้ำยาแยก

ใช้ DI water และ methanol ผสมกันแบบ gradient ในอัตราส่วน 35: 65 (t=0), 15: 85 (t=5), 0: 100 (t= 10) ตามลำดับ

อัตราเร็วของน้ำยาแยก

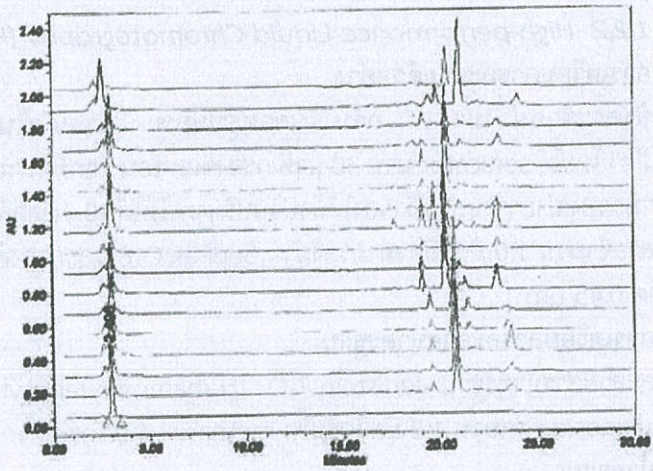
0.5 มิลลิลิตร / นาที

ปริมาณสารที่ใช้ในการฉีด

ใช้สารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน ชนิดละ 2 ไมโครลิตร

การตรวจสอบ

ใช้ตัวตรวจวัดชนิด photodiode array detector ที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร สังเกต peak ที่เกิดขึ้นในโครมาโทแกรม พบ genistein-7-O-[α-rhamnopyranosyl-(1$\rightarrow$6)]-β-glucopyranoside ที่เวลา 2.49 นาที (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 โครมาโทแกรมของสารสกัดเมทานอลจากเถาวัลย์เปรียงโดยใช้วิธี HPLC

2. ปริมาณความชื้น

ไม่เกินร้อยละ 7.0 โดยน้ำหนัก

ชั่งผงสมุนไพร 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) นำไปอบที่อุณหภูมิ 105°ซ นาน 5 ชั่วโมง และอบต่ออีก 1 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักคงที่* คำนวณค่าร้อยละของปริมาณความชื้นของผงสมุนไพร

3. ปริมาณเถ้ารวม

ไม่เกินร้อยละ 8.0 โดยน้ำหนัก

เผาผงสมุนไพร 2 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ใน muffle furnace โดยค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิเป็น 450°ซ จนได้เถ้าสีขาว (ปราศจากคาร์บอน) ทิ้งไว้ให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก หากเถ้ายังมีสีดำให้เติมน้ำ 2 ml นำไปทำให้แห้งบน water-bath แล้วนำไปเผาจนได้น้ำหนักคงที่* ชั่งน้ำหนัก คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้ารวมจากน้ำหนักของผงสมุนไพร

4. ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

ไม่เกินร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก

เติม hydrochloric acid ที่มีความเข้มข้น 2 M จำนวน 25.0 มิลลิลิตร ลงในถ้วยกระเบื้องที่มีเถ้ารวม ปิดด้วยฝากระจกนาฬิกา ต้มนาน 5 นาที กรองด้วยกระดาษ

* น้ำหนักคงที่ (constant weight) หมายถึง น้ำหนักที่ได้จากการชั่งน้ำหนัก 2 ครั้ง มีค่าต่างกันไม่เกิน 0.5 mg โดยการชั่งครั้งที่สองเพื่อหาความต่างของน้ำหนัก จะชั่งภายหลังจากการอบที่ใช้เวลาเพิ่มขึ้นอีก 1 ชั่วโมง

กรองชนิดปราศจากเถ้า ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน จนน้ำล้างตะกอนเป็นกลาง นำเถ้าที่กรองได้และกระดาษกรองใส่ลงในถ้วยกระเบื้องใบเดิม ทำให้แห้งบน hot plate นำไปเผาที่อุณหภูมิ 500°ซ จนได้น้ำหนักคงที่* คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดของผงสมุนไพร

5. ปริมาณสารสกัดด้วย 95% ethanol

ไม่น้อยกว่าร้อยละ 6.0 โดยน้ำหนัก

หมักผงสมุนไพร 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ด้วย ethanol จำนวน 100.0 มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิทนาน 24 ชั่วโมง โดย 6 ชั่วโมงแรกให้เขย่าขวดด้วยเครื่องเขย่า ตั้งทิ้งไว้อีก 18 ชั่วโมง กรอง นำสารละลายที่กรองได้ จำนวน 20.0 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยปากกว้างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ปล่อยให้ระเหยจนแห้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 105°ซ จนได้น้ำหนักคงที่* คำนวณค่าร้อยละของปริมาณสารที่สกัดได้จากผงสมุนไพร

6. ปริมาณสารสกัดด้วย 50% ethanol

ไม่น้อยกว่าร้อยละ 14.0 โดยน้ำหนัก

หมักผงสมุนไพร 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ด้วย 50% ethanol จำนวน 100.0 มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิทนาน 24 ชั่วโมง โดย 6 ชั่วโมงแรกให้เขย่าขวดด้วยเครื่องเขย่า ตั้งทิ้งไว้อีก 18 ชั่วโมง กรอง นำสารละลายที่กรองได้ จำนวน 20.0 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยปากกว้างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ปล่อยให้ระเหยจนแห้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 105°ซ จนได้น้ำหนักคงที่* คำนวณค่าร้อยละของปริมาณสารที่สกัดได้จากผงสมุนไพร

7. ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ

ไม่น้อยกว่าร้อยละ 14.0 โดยน้ำหนัก

วิธีทำเช่นเดียวกับข้อ 5 แต่เปลี่ยนเป็นใช้น้ำที่อิ่มตัวด้วย chloroform** เป็นตัวทำละลายแทน 95% ethanol

8. ดัชนีการเกิดฟอง

ไม่น้อยกว่าร้อยละ 14.0 โดยน้ำหนัก

ชั่งผงสมุนไพร 1.00 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำเดือด

---

* น้ำหนักคงที่ (constant weight) หมายถึง น้ำหนักที่ได้จากการชั่งน้ำหนัก 2 ครั้ง มีค่าต่างกันไม่เกิน 0.5 mg โดยการชั่งครั้งที่สองเพื่อหาความต่างของน้ำหนัก จะชั่งภายหลังจากการอบหรือเผาที่ใช้เวลาเพิ่มขึ้นอีก 1 ชั่วโมง

** น้ำที่อิ่มตัวด้วย chloroform (chloroform water) เตรียมโดยผสม chloroform ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ DI water ปริมาตร 900 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วย DI water จนครบ 1000 มิลลิลิตร

100.0 มิลลิลิตร และอุ่นบน water-bath นาน 30 นาที เริ่มจับเวลาเมื่อน้ำเริ่มเดือด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกรองด้วย Buchner funnel ปรับปริมาตรด้วยน้ำ ให้ครบ 100.0 มิลลิลิตร ใน volumetric flask ระวังอย่าให้มีฟองระหว่างปรับปริมาตร pipette สารละลายใส่ในหลอดทดลอง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 มิลลิเมตร ชนิดมีฝาเกลียวปิดสนิท จำนวน 10 หลอด โดยเริ่มตั้งแต่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำจนครบ 10.0 มิลลิลิตร ทุกหลอดทดลอง เขย่าขึ้นลงให้ได้อัตรา 30 ครั้งต่อ 15 วินาที เมื่อครบเวลาให้วัดส่วนสูงของฟอง และคำนวณดัชนีการเกิดฟอง ดังนี้

ดัชนีการเกิดฟอง = 1000/ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบที่ทำให้เกิดฟองสูงกว่า 1 เซนติเมตร

ตารางที่ 4 ข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีของผงสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง

รายการ	เกณฑ์	
	ไม่เกิน	ไม่น้อยกว่า
1. ปริมาณความชื้น	7.0% โดยน้ำหนัก	-
2. ปริมาณเถ้ารวม	8.0% โดยน้ำหนัก	-
3. ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด	1.0% โดยน้ำหนัก	-
4. ปริมาณสารสกัดด้วย 95%ethanol	-	6.0% โดยน้ำหนัก
5. ปริมาณสารสกัดด้วย 50%ethanol	-	14.0% โดยน้ำหนัก
6. ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ	-	14.0% โดยน้ำหนัก
7. ดัชนีการเกิดฟอง	-	200

ข้อกำหนดทางเคมีของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงใน 50% ethanol[29]

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสารสกัดเถาวัลย์เปรียง ซึ่งเตรียมโดยสกัดผงสมุนไพรเถาวัลย์เปรียงใน 50% ethanol ด้วยวิธี reflux เพื่อเตรียมเป็นสารสกัดที่มีความเข้มข้นประมาณ 10 เท่าของวัตถุดิบ กรอง ระเหยให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator และเก็บสารสกัดในขวดแก้วสีชา มีฝาปิดสนิท ระบุชื่อสมุนไพร แหล่งที่มา วันที่เก็บ และวันที่เตรียม โดยเก็บที่อุณภูมิไม่เกิน 4°ซ โดยจัดทำเป็นข้อกำหนดทางเคมีของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงใน 50% ethanol ดังนี้[29-32]

1. เอกลักษณ์ทางเคมี (Chemical Identification)

1.1 การตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมี (Preliminary Chemical Test)

ก. การตรวจสอบสารกลุ่ม flavonoids

ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 0.5 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ทดสอบเช่นเดียวกับที่ระบุในวัตถุดิบเถาวัลย์เปรียง จะสังเกตเห็นสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดง

ข. การตรวจสอบสารกลุ่ม terpenoids

ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 0.5 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ทดสอบเช่นเดียวกับที่ระบุในวัตถุดิบเถาวัลย์เปรียง จะสังเกตเห็นวงแหวนสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลาย

ค. การตรวจสอบสารกลุ่ม saponins

ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 0.5 กรัม ทดสอบเช่นเดียวกับที่ระบุในวัตถุดิบเถาวัลย์เปรียง จะสังเกตเห็นฟองที่เกิดขึ้นที่คงทนได้นานกว่า 15 นาที

ง. การตรวจสอบสารกลุ่ม reducing sugar

ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 0.5 กรัม ทดสอบเช่นเดียวกับที่ระบุในวัตถุดิบเถาวัลย์เปรียง จะสังเกตเห็นตะกอนสีแดงอิฐเกิดขึ้น

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบเบื้องต้นทางเคมีของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงใน 50% ethanol

การตรวจสอบกลุ่มสารเคมี	วิธีทดสอบ	ผลการทดสอบ
1. สารกลุ่ม flavonoids	Shinoda Test	ได้สารละลายสีน้ำตาลแดง
2. สารกลุ่ม terpenoids	Liebermann-Burchard's Test	ได้วงแหวนสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของชั้นสารละลาย
3. สารกลุ่ม saponins	Forth Test	เกิดฟองที่คงทนนานกว่า 15 นาที
4. สารกลุ่ม reducing sugars	Fehling's Test	ได้ตะกอนสีแดงอิฐ

1.2 การตรวจสอบเพื่อยืนยันผล (Confirmatory Test)

1.2.1 Thin-layer Chromatography (TLC)

สารละลายตัวอย่าง ชั่งผงแห้งของตัวอย่าง 0.1 กรัม นำมาสกัดด้วยวิธี sonicator ใน 50% ethanol 10.0 มิลลิลิตร นาน 30 นาที กรองขณะร้อน นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ 50°ซ ละลายสารที่เหลืออยู่ด้วย 50% ethanol 2.0 ml

สารละลายมาตรฐาน genistein 7-O-[α-rhamnopyranosyl (1→6)]-β-glucopyranoside 1.0 มิลลิกรัม ละลายใน ethanol 1.0 มิลลิลิตร

ตัวดูดซับ TLC plate silica gel RP18F254, 0.25 mm thickness

น้ำยาแยก ผสม methanol: DI water ในอัตราส่วน 40: 60

ถังทำโครมาโทกราฟี ใส่น้ำยาแยกลงในถังให้มีความสูงจากก้นถังประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมงก่อนใช้

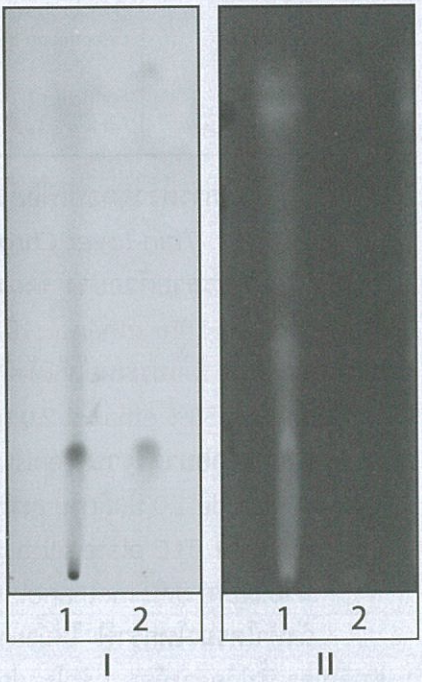
น้ำยาตรวจสอบ Natural products-polyethyleneglycol (NP/PEG)

- น้ำยา NP : ละลายสาร diphenylboric acid-2-aminoethyl ester จำนวน 1.0 กรัม ใน methanol 100.0 มิลลิลิตร

- น้ำยา PEG : ละลาย polyethylene glycol 4000 จำนวน 5.0 กรัม ใน ethanol 100.0 มิลลิลิตร

วิธีการ ใช้หลอดรูเล็ก (capillary tube) ดูดสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน ชนิดละ 2 ไมโครลิตร มาแต้มบนแผ่น TLC ชนิด RP18F254 ในแนวระดับเดียวกัน ให้ห่างจากขอบล่างของแผ่น TLC ประมาณ 2 เซนติเมตร และให้มีระยะห่างระหว่างหยดสารละลายแต่ละชนิดประมาณ 1 เซนติเมตร ผึ่งให้แห้ง นำไปตั้งในถังทำโครมาโทกราฟีที่เตรียมไว้ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้น้ำยาแยกซึมขึ้นไปตามผิวฉาบสูง 15 เซนติเมตร นำแผ่น TLC ออกจากถังทำโครมาโทกราฟี ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปตรวจสอบ โดยนำแผ่น TLC ไปดูภายใต้ UV254 บันทึกผลแล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 80°ซ เป็นเวลา 10 นาที แล้วพ่นด้วยน้ำยา NP ทิ้งให้แห้งแล้วพ่นทับด้วยน้ำยา PEG ทิ้งให้แห้ง สังเกตแผ่น TLC ภายใต้ UV366

ผลการตรวจสอบ จากการตรวจสอบได้โครมาโทแกรมผิวบาง ดังรูปที่ 4 โดยตำแหน่งของจุดสีต่างๆ บนแผ่น TLC จะแสดงด้วยค่า hR_f ($100R_f$) โดยที่ R_f (retardation factor หรือ relative front) หมายถึง อัตราส่วนระยะทางที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่น้ำยาแยกเคลื่อนที่ ค่า hR_f และผลการตรวจสอบแสดงในตารางที่ 6



รูปที่ 4 โครมาโทแกรมผิวบางของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงใน 50% ethanol

1 = สารสกัดเถาวัลย์เปรียงใน 50% ethanol
2 = สารละลายมาตรฐาน
I = ตรวจสอบด้วย UV254
II = ตรวจสอบด้วย UV366 ภายหลังพ่นด้วยน้ำยา NP/PEG

ตารางที่ 6 ค่า hR_f และผลการตรวจสอบสารประเภทฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงใน 50% ethanol

จุดสี	ค่า hR_f	การตรวจสอบ	
		UV254	เรืองแสงภายใต้ UV366
1	7-8	-	ฟ้าอ่อน
2*	16-18	quenching	เขียวอ่อน
3	37-41	-	เขียวอ่อน
4	65-67	-	เขียวอ่อน
5	70-71	light quenching	เขียวอ่อน
6	80-82	light quenching	ฟ้าอ่อน

* genistein-7-O- [α-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-glucopyranoside

1.2.2 High-performance Liquid Chromatography (HPLC)

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งผงตัวอย่างมา 0.5 กรัม ในขวดรูปชมพู่ นำไปสกัดใน 50% ethanol 10.0 มิลลิลิตร โดยใช้ sonicator นาน 30 นาที กรองขณะร้อน หากมีตะกอน ให้กรองด้วยกระดาษกรอง นำสารละลายที่กรองได้มาปรับปริมาตรให้ได้ 10.0 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายจำนวน 1.0 มิลลิลิตรมากรองผ่าน SepPak C18 และกรองด้วย nylon filter ขนาด 0.45 ไมครอน

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ละลายสารมาตรฐาน genistein-7-O-[α-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-glucopyranoside จำนวน 4.0 มิลลิกรัมใน 50% ethanol 1.0 มิลลิลิตร

น้ำยาแยก

ใช้ 1% acetic acid, DI water และ acetonitrile ผสมกันแบบ gradient ในอัตราส่วน 92:0:8 (t=0), 65:0:35 (t=10), 0:85:15 (t= 15) ตามลำดับ

อัตราเร็วของน้ำยาแยก

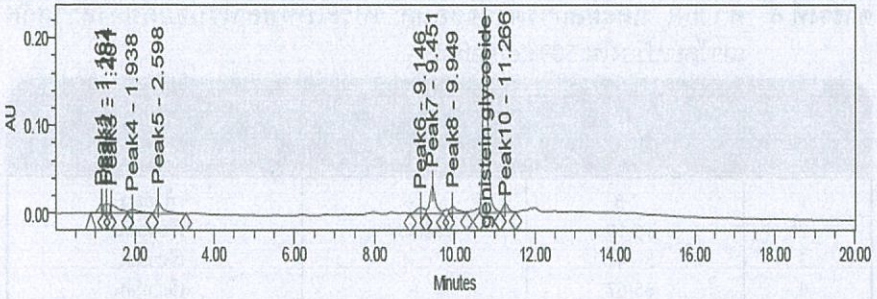
1.5 มิลลิลิตร / นาที

ปริมาณสารที่ใช้ในการฉีด

ใช้สารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน ชนิดละ 2 ไมโครลิตร

การตรวจสอบ

ใช้ตัวตรวจวัดชนิด photodiode array detector ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร สังเกต peak ที่เกิดขึ้นในโครมาโทแกรม พบ genistein-7-O-[α-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-glucopyranoside ที่เวลา 10.75 นาที (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 โครมาโทแกรมของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงด้วย 50 % ethanol โดยใช้วิธี HPLC

2. ปริมาณความชื้น

ไม่เกินร้อยละ 6.0 โดยน้ำหนัก

ชั่งผงตัวอย่าง 1 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) แล้วทดสอบเช่นเดียวกับที่ระบุในวัตถุดิบสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง

3. ปริมาณสารสกัดด้วย 50% ethanol

ไม่น้อยกว่าร้อยละ 79.0 โดยน้ำหนัก

หมักผงสมุนไพร 1 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) แล้วทดสอบเช่นเดียวกับที่ระบุในวัตถุดิบสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง

4. ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ

ไม่น้อยกว่าร้อยละ 67.0 โดยน้ำหนัก

หมักผงสมุนไพร 1 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ในน้ำที่อิ่มตัวด้วย chloroform เป็นตัวทำละลายแทน แล้วทดสอบเช่นเดียวกับที่ระบุในวัตถุดิบสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง

5. ดัชนีการเกิดฟอง

ไม่น้อยกว่า 333

ชั่งผงสมุนไพร 1.00 กรัม แล้วทดสอบเช่นเดียวกับที่ระบุในวัตถุดิบสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง

6. ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ไม่น้อยกว่า 4.5

ชั่งผงสมุนไพร 1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วย DI water ประมาณ 80 มิลลิลิตร โดยใช้ sonicator นาน 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่

อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรจนครบ วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter บันทึกผลที่วัดได้

ตารางที่ 7 ข้อกำหนดทางเคมีของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงใน 50% ethanol

รายการ	เกณฑ์	
	ไม่เกิน	ไม่น้อยกว่า
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ	-	67.0 % โดยน้ำหนัก
ปริมาณสารสกัดด้วย 50 % ethanol	-	79.0 % โดยน้ำหนัก
ปริมาณความชื้น	6.0 % โดยน้ำหนัก	-
ดัชนีการเกิดฟอง	-	333
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	-	4.5

เอกสารอ้างอิง

1. นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, อุทัย โสธนะพันธุ์, ประไพ วงศ์สินคงมั่น. ทีแอลซี: วิธีอย่างง่ายในการวิเคราะห์คุณภาพเครื่องยาไทย. นนทบุรี : สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก; 2551. หน้า 311.
2. พเยาว์ เหมือนวงศ์ญาติ. สมุนไพรก้าวใหม่ (แก้ไขปรับปรุงใหม่จากตำราวิทยาศาสตร์สมุนไพร), พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพมหานคร: บริษัท ที.พี. พริ้นท์ จำกัด; 2537. หน้า 86-7.
3. สมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย. งานนิทรรศการสมุนไพร ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ศรีเมืองการพิมพ์; 2519. หน้า 81-3.
4. สมาคมโรงเรียนแพทย์แผนโบราณ. ประมวลสรรพคุณยาไทย ภาคสอง. พระนคร: สำนักวัดพระเชตุพนวิมลมังคลาราม (วัดโพธิ์) ท่าเตียน; 2507. หน้า 137.
5. Rukachaisirikul V, Sukpondma Y, Jansakul C, Taylor WC. Isoflavone glycosides from *Derris scandens*. Phytochem 2002; 60(8): 827-34.
6. Mahabusarakam W, Deachathai S, Phongpaichit S, Jansakul C, Taylor WC. A benzil and isoflavone derivatives from *Derris scandens*. Phytochem 2004; 65: 1185-91.
7. Laupattarakasem P, Houghton PJ, Hoult JR, Itharat A. An evaluation of the activity related to inflammation of four plants used in Thailand to treat arthritis. J Ethnopharmacol 2003; 85(2-3): 207-15.
8. Laupattarakasem P, Houghton PJ, Robin J, Hoult, S. Anti-inflammatory isoflavonoids from the stems of *Derris scandens*. Planta Med 2004; 70(6): 496-501.

9. Mokkhasmit M, Ngarmvathana W, Sawasdimongkol K, Permphiphat U. Pharmacological evaluation of Thai medicinal plants. J Med Ass Thailand 1971; 54: 490-504.
10. Sekine T, Inagaki M, Ikegami F, Fuji Y, Ruangrungsi N. Six deprenylisoflavones, derrisisoflavones A-F, from *Derris scandens*. Phytochem 1999; 52(1): 87-94.
11. Rao SA, Srinivas PV, Tiwari AK, Vanka UM, Rao RV, Dasari KR, et al. Isolation, characterization and chembiological quantification of a-glucosidase enzyme inhibitory and free radical scavenging constituents from *Derris scandens* Benth. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2007; 855(2): 166-72.
12. Babu TH, Tiwari AK, Rao VR, Ali AZ, Rao JM, Babu KS. A new prenylated isoflavone from *Derris scandens* Benth. J Asian Nat Prod Res 2010; 12(7): 634-8.
13. Dhawan BN, Patnaik GK, Rastogi RP, Singh KK, Tandon JS. Screening of Indian plants for biological activity. Indian J Exp Biol 1977; 15: 208-19.
14. Sekine T, Inagaki M, Koseki T, Murakoshi I, Fuji Y, Yamamoto K, et al. Antifungal constituents of Thai medicinal plants, *Derris scandens* and *Rauwolfia verticillata*. Current advances in natural product research. The Third NRCT-JSPS joint seminar. Bangkok, Thailand 1996: 229-35.
15. Wang BH, Ternai B, Polya G. Specific inhibition of cyclic AMP-dependent protein kinase by warangalone and robustic acid. Phytochem 1997; 44(5): 787-96.
16. Rao MN, Krupadanam GLD, Srimannarayana G. Four isoflavones and two 3-aryl coumarins from stems of *Derris scandens*. Phytochem 1994; 37(1): 267-9.
17. Dianpeng L, Mingan O, Jansakul C, Chongren Y. Two isoflavonoids from the stems of *Derris scandens*. Yaoxue Xuebao 1999; 34: 43-5.
18. Senegupta P, Das PB, Saha SK. Triterpenes from *Derris scandens* (Roxb.) Benth. J Indian Chem Soc 1971; 48(1): 95-6.
19. Pelter A and Stainton P. Extractives from *Derris scandens* II. Isolation of osajin and two new isoflavones, scandenone and scandinone. J Chem Soc C Org 1966; 7: 701-4.
20. Falshaw CP, Harmer RA, Ollis WD, Wheeler RE, Lalitha VR, Rao NVS. Natural occurance of 3-aryl-4-hydroxycoumarin II. Phytochemical examination of *Derris scandens*. J Chem Soc C 1969; 3: 374-82.
21. Rao NV and Seshadri TR. Chemical examination of *Derris scandens*. Ibid 1947; 365-74.

22. Johnson AP, Pelter A, Stainton P. Extractive from *Derris scandens* II. The structures of scandenin and lonchocarpic acid. J Chem Soc C 1966; 2: 192-203.
23. Clark EP. Scandenin-a constituent of the roots of *Derris scandens*. J Org Chem 1943; 8(5): 489-92.
24. Rao SNV and Khan WA. Structural studies on scandenin. I. A study of its physical and chemical properties. Indian J Chem 1963; 1(2): 74-7.
25. De PS, Basu PS. Content of different phytohormones and indole acetic acid metabolism in root nodules of *Derris scandens* Benth. J Basic Microbiol 1996; 36(5): 299-304.
26. Dhawan BN, Patnaik GK, Rastogi RP, Singh KK, Tanden JS. Screening of Indian plants for biological activity. Indian J Exp Biol 1977; 15: 208-19.
27. มยุรี ชวนกำเนิดการ และสว่างจิตต์ วิทยาลัย. การหาส่วนประกอบทางเคมีของต้นเถาวัลย์เปรียง. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยรามคำแหง. วารสารวิจัย 2547. 7(2): 78-92.
28. ประไพ วงศ์สินคงมั่น, ธิดารัตน์ บุญรอด, เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, จารีย์ บันสิทธิ์, ปราณี ชวลิตธำรง. ข้อกำหนดทางเคมีและกายภาพของเถาวัลย์เปรียง. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก 2547; 2(3): 18-34.
29. ประไพ วงศ์สินคงมั่น, ธิดารัตน์ บุญรอด, เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, จารีย์ บันสิทธิ์, ปราณี ชวลิตธำรง. คุณภาพทางเคมีของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงใน 50% เอทานอล. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก 2548; 3(1):86-101.
30. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai Herbal Pharmacopoeia. Volume II. Bangkok: Prachachon; 2000.
31. Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. Plant Drug Analysis. Berlin: Springer-Verlag; 1990. pp. 303-4.
32. World Health Organization. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials. Geneva: World Health Organization, 1998.

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

กัลยา อนุลักขณาปกรณ์
สดุดี รัตนจรัสโรจน์

จากการรวบรวมข้อมูลการศึกษาวิจัยพบว่า มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเถาวัลย์เปรียงหลายเรื่องทั้งในสัตว์ทดลอง และหลอดทดลอง เช่น ฤทธิ์ต้านอักเสบ ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อัลฟากลูโคซิเดส ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ลดความดันโลหิต ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และฤทธิ์ต้านเชื้อรา

◀ **ฤทธิ์ต้านอักเสบ**

จากรายงานการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลอง[1] พบว่าการให้สารสกัดด้วยน้ำของลำต้นเถาวัลย์เปรียงขนาด 100 และ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แก่หนูขาวทางช่องท้องสามารถลดการบวมของอุ้งเท้าหนูขาวหลังได้รับสารคาราจีแนน (carrageenan-induced hind paw edema) ได้ 82% และ 91% ตามลำดับ แสดงว่าสารสกัดนี้มีฤทธิ์ต้านอักเสบ ในขณะที่การให้สารสกัดนี้แก่หนูขาวทางปากไม่เกิดผลใดๆ แสดงว่าเมื่อให้สารสกัดทางปากอาจทำให้ active compounds ไม่ถูกดูดซึมจากระบบทางเดินอาหาร/ถูก metabolised อย่างรวดเร็วเป็น inactive compounds ก่อนที่จะมาถึงบริเวณที่เกิดการอักเสบจึงไม่ลดการบวมของอุ้งเท้าหนูขาว ผลการศึกษานี้ไม่สนับสนุนวิธีดั้งเดิมซึ่งได้รับสมุนไพรโดยการรับประทานอาจเนื่องมาจากคนและสัตว์มีการตอบสนองต่อสมุนไพรนี้แตกต่างกัน และอาจมี metabolism ของยาแตกต่างกันด้วย

ทัศนีย์ วังศรีมงคล[2] ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบแบบเฉียบพลันในสัตว์ทดลอง พบว่าสารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงแสดงฤทธิ์ยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าหนูขาวที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร carrageenan และให้ผลลดอาการปวดในการทดสอบโดยวิธี writhing สำหรับการทดสอบการอักเสบแบบเรื้อรังพบว่าสารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ โดยมีผลต่อการสร้าง TNF-α ของเซลล์ THP-1 ที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร lipopolysaccharide และยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์ HUVECs ส่วนการทดสอบการอักเสบแบบเรื้อรังในสัตว์ทดลองพบว่า สารสกัดดังกล่าวสามารถลดการสร้างตัวของ granulation tissue ในการฝังด้ายเพื่อทำให้เกิดการอักเสบโดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง

คณะผู้วิจัยของสถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์[3] ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงในหนูขาวด้วยวิธี carrageenan-induced hind paw edema โดยทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการป้องกันหรือลดการบวมของอุ้งเท้าหนูขาวเมื่อได้รับสารคาราจีแนน ได้แก่ สารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดด้วย 50% เอทานอล และสารสกัดด้วย 95% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน indomethacin พบว่าสารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียง เมื่อให้แก่สัตว์ทดลองโดยการกรอก (gastric intubation) มีฤทธิ์ลดการบวมของอุ้งเท้าหนูขาว ในขณะที่สารสกัดอื่นๆ ไม่แสดงฤทธิ์ดังกล่าว สารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดด้วย 50% เอทานอล และสารสกัดด้วย 95% เอทานอล ขนาด 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เมื่อฉีดเข้าช่องท้องหนูขาวมีฤทธิ์ลดการบวมของอุ้งเท้าหนูขาว โดยความแรงในการออกฤทธิ์เรียงตามลำดับ ดังนี้ สารสกัดน้ำ > สารสกัด 50% เอทานอล > สารสกัด 95% เอทานอล ≃ indomethacin ขนาด 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

จากรายงานการศึกษาวิจัยในหลอดทดลอง Laupattarakasem P และคณะ[1] ได้ทดสอบผลของสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเอทานอลจากลำต้นของเถาวัลย์เปรียงที่ได้จากการแยกลำดับส่วนต่อการสังเคราะห์สารอิโคซานอยด์ (eicosanoids) โดยใช้ rat peritoneal leukocytes และมี calcium ionoplore A23187 เป็นตัวกระตุ้นให้ leukocytes สังเคราะห์สาร eicosanoids (leukotrienes และ prostaglandins) ผลพบว่า สารสกัดด้วยน้ำของลำต้นเถาวัลย์เปรียงลดการหลั่งเอนไซม์ myeloperoxidase (MPO) 88% จาก rat peritoneal leukocytes ส่วนสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเอทานอลขนาด 500 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร ยับยั้งเอนไซม์ lipoxygenase โดยลดการเกิด leukotriene B4 89% และ 29% ตามลำดับ เนื่องจาก leukotriene B4 ซึ่งมีเอนไซม์ 5-lipoxygenase เป็นเอนไซม์หลักที่มีบทบาทสำคัญและมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดการอักเสบในโรคเรื้อรังหลายชนิดรวมทั้ง arthritis ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์ lipoxygenase ของสารสกัดนี้อาจจะมีผลลดกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่นเดียวกันกับการศึกษาของทัศนีย์ วังศรีมงคล[2] ซึ่งพบว่าสารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงลดการสร้าง eicosanoids โดยเฉพาะการยับยั้งผ่านขบวนการทาง cyclooxygenase และ lipoxygenase ส่วนการยับยั้งผ่านขบวนการ enzyme degradation โดยการหลั่งเอนไซม์ MPO พบว่าสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดที่ให้

Laupattarakasem P และคณะ[4] ได้ศึกษาต่อโดยแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดด้วยน้ำจากลำต้นของเถาวัลย์เปรียง พบว่ามีสารประกอบกลุ่ม isoflavonoids

อยู่ 4 ชนิด ที่มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ โดยพบว่า 7-O-α-rhamnol(1→6)-β-glucosylgenistein, genistein, 5,7,4′-trihydroxy-6,5′-diprenylisoflavone และ scandenin มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ที่ 50% (IC_{50}) ในการทดสอบในหลอดทดลอง ที่ระดับความเข้มข้น 1500, 100, 3 และ 8 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ และยับยั้งเอนไซม์ 5-lipoxygenase ที่ระดับความเข้มข้น 2500, 80, 6 และ 1.6 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสาร genistein และ scandenin ที่พบในส่วนสกัดด้วยน้ำจากลำต้นของเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ในการลดการหลั่งเอนไซม์ elastase myeloperoxidase (MPO) ที่ 50% (IC_{50}) จากการศึกษาใน rat peritoneal leukocytes ที่ระดับความเข้มข้น 0.22 และ 0.14 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ การที่สารประกอบดังกล่าวสามารถยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase และ 5-lipoxygenase รวมทั้งลดการหลั่ง elastase myeloperoxidase ได้นั้นแสดงให้เห็นว่าสารประกอบดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ

จากการศึกษาวิจัยต่างๆ ที่ได้รายงานฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดเถาวัลย์เปรียง ซึ่งอาจนำมาใช้เป็นข้อมูลที่เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อสนับสนุนในการรักษาอาการอักเสบ

◀ **ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน**

คณะผู้วิจัยของสถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์[5] ได้ศึกษาฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันผ่านเซลล์ (cell-mediated immunity) ของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงในหลอดทดลอง (*in vitro* activity) โดยศึกษาผลของสารสกัด 50% เอทานอลจากลำต้นเถาวัลย์เปรียงต่อเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte จากม้ามของหนูถีบจักร ได้แก่ ผลต่อการแบ่งตัวของ lymphocyte (lymphoproliferation) การตอบสนองต่อฤทธิ์กระตุ้นให้เซลล์แบ่งตัวของสารจำพวก mitogens (mitogen response) และผลต่อ activity ของ natural killer cells (NK activity) พบว่า สารสกัดความเข้มข้น 0.78-50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของ lymphocyte รวมทั้งสามารถเสริมฤทธิ์ของ T-cell mitogens ได้แก่ phytohaemagglutinin (PHA) และ concanavalin A (ConA) ในการกระตุ้นให้ lymphocyte แบ่งตัวได้ การเสริมฤทธิ์ของ T-cell mitogens นี้อาจเนื่องมาจากฤทธิ์กระตุ้นการหลั่ง interleukin-2 (IL-2) ของสารสกัด อย่างไรก็ตาม สารสกัดในขนาด 0.39-1.56 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีผลต่อ NK activity

คณะผู้วิจัยยังได้ศึกษาผลของสารสกัด 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียง ในสัตว์ทดลอง โดยให้สารสกัดทางปากแก่หนูถีบจักร (*in vivo* activity) นาน 15 วัน ในขนาดเทียบเท่าผงยา 0.03 และ 3 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน หรือคิดเป็น 1 และ 100 เท่าของขนาดที่ใช้ในคนเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาพบว่า การแบ่งตัวในสภาวะที่ไม่มี mitogen ของ lymphocyte จากม้ามของหนูถีบจักรที่ได้รับสารสกัดทั้งสองขนาดไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม ส่วนการตอบสนองต่อฤทธิ์กระตุ้นให้ lymphocyte แบ่งตัวของ PHA ขนาด 0.25-1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรหรือ ConA ขนาด 0.1-0.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรของหนูถีบจักรที่ได้รับสารสกัดทั้งสองขนาดก็ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมเช่นกัน จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงสามารถแสดง immunomodulating activity ต่อ lymphocyte จากม้ามของหนูถีบจักร แต่ไม่มีผลต่อการแบ่งตัวของ lymphocyte ในสัตว์ทดลองทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี T-cell mitogen

การศึกษาวิจัยในคน คณะผู้วิจัยของสถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์[6] ได้ดำเนินการทดสอบผลของสารสกัด 50% แอลกอฮอล์จากลำต้นเถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens* Benth.) ต่อ peripheral blood mononuclear cells (PBMC) ที่ได้จากอาสาสมัครปกติจำนวน 68 คนและผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 21 คน โดยทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*) ผลต่อ PBMC ที่ได้จากอาสาสมัครปกติ (n=68) พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ถึง 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรมีผลเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte และผลนี้ลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 100 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร สารสกัดที่ความเข้มข้น 10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ถึง 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรเพิ่มการทำงานของ natural killer (NK) cells และผลลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (n=21) นอกจากนั้นยังมีผลกระตุ้นการหลั่ง IL-2 ที่ความเข้มข้น 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (n=4) โดยไม่พบผลนี้ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนผลต่อ PBMC ที่ได้จากผู้ติดเชื้อเอชไอวี (n=21) พบว่าสารสกัดในขนาด 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีผลเพิ่มการทำงานของ NK cells

จากผลการศึกษาวิจัยแสดงให้เห็นว่า เถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์กระตุ้นหรือเพิ่มภูมิคุ้มกันได้ ซึ่งอาจมีส่วนช่วยควบคุมและ/หรือเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

◀ **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ**

Laupattarakasem P และคณะ[1] ศึกษาผลของสารสกัดต่อ hypoxanthine/xanthine oxidase system โดยใช้ ferricytochrome c เป็น reducing agent พบว่าสารสกัดด้วยน้ำขนาด 500 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร มีฤทธิ์แอนติออกซิเดนท์ (antioxidant effect)

จากรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดด้วยน้ำจากลำต้นของเถาวัลย์เปรียงโดยใช้วิธี Thiobarbituric acid (TBA)[2] พบว่าสาร 5,7,4'-trihydroxy-6,5'-diprenylisoflavone และ scandenin ที่แยกได้จากเถาวัลย์เปรียงสามารถลดการสร้าง malondialdehyde (MDA) ได้ 50% (IC_{50}) ที่ระดับความเข้มข้น 0.06 และ 0.026 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ

Rao SA และคณะ[7] ได้ศึกษาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-diphynel-2-picrylhydrazil) ของสาร 3 ชนิดที่แยกได้จากเถาวัลย์เปรียง ซึ่งพบว่าเป็นสารใหม่กลุ่ม prenylated isoflavones ได้แก่ isoscandinone, scandenin A และ scandenin B และพบว่า scandenin B และ scandenin A มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ (free radical (DPPH) scavenging. activity) โดยสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50% ที่ 6.18 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 4.98 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบฤทธิ์กับ trolox ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่สามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50% ที่ 1.48 กรัม/ มิลลิลิตร เช่นเดียวกันกับรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของเถาเอ็นอ่อนและเถาวัลย์เปรียงที่พบว่า สารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาเอ็นอ่อนและเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ยับยั้งสารอนุมูลอิสระในระบบ DPPH[3]

คณะผู้วิจัยของสถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์[8] ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของเถาวัลย์เปรียงพบว่า สารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงแสดงฤทธิ์แอนติออกซิเดนท์โดยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของน้ำตาล 2-deoxy-D-ribose ซึ่งเหนี่ยวนำโดย hydroxy radical ที่เกิดจาก Fenton's reaction (IC_{50} = 15.94 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ Trolox equivalent antioxidant activity (TEAC) = 17.61)

เนื่องจากอนุมูลอิสระมีผลต่อการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อ ดังนั้นการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงนี้เป็นผลทำให้ลดการทำลายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่เกิดจากอนุมูลอิสระทำให้ลดขบวนการอักเสบได้อีกทางหนึ่ง

◄ **ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อัลฟากลูโคซิเดส**

Rao SA และคณะ[7] รายงานว่าสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มและสารสกัดด้วยเฮกเซนของเถาวัลย์เปรียง แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อัลฟากลูโคซิเดส และสารซึ่งเป็นสารประกอบหลัก ได้แก่ scandinone, scadenone, scandenin A, scandenin B และ 4′,5′,7′-trihydroxybiprenylisoflavone สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลฟากลูโคซิเดสในลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลในลำไส้เล็ก ทำให้การย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลช้าลง

◄ **ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง**

Saetung A และคณะ[9] ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งปอด (large cell lung carcinoma; CORL-23) และเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (human prostate cancer; PC3) และเซลล์ปกติ 1 ชนิด ได้แก่ เซลล์ fibroblast (human fibroblast cell line; 10FS) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลของเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด โดยมีค่า IC_{50} < 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และไม่มีผลต่อเซลล์ปกติ ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำของเถาวัลย์เปรียงไม่มีผลต่อทั้งเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง

Laupattarakasem P และคณะ[10] ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงในการต้านการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี 3 ชนิด ได้แก่ KKU100, KKU-M139 และ KKU-M213 และเซลล์มะเร็งชนิดอื่นๆ เปรียบเทียบกับยาต้านมะเร็งชนิด antimiotic เช่น paclitaxel พบว่าสารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ต้านการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งหลายชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (KKU-M139 และ KKU-M213 ยกเว้น KKU-100) มะเร็งตับ (HepG2) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) ในขณะที่ paclitaxel ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ทุกชนิด โดยผลของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีจะได้ผลดีกับเซลล์ชนิด squamous cell carcinoma (KKU-M139) และ adenosquamous carcinoma (KKU-M213) แสดงให้เห็นว่าเถาวัลย์เปรียงน่าจะมีศักยภาพในการยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้โดยอย่างน้อยผ่านกลไกการยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์

Hematulin A และคณะ[11] ได้ศึกษาผลของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงต่อการตอบสนองต่อรังสีของเซลล์มะเร็ง โดยนำสารสกัดด้วย 90% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียงที่ความเข้มข้นต่ำๆ คือ 15-30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มาให้กับเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง 2 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ และเซลล์มะเร็งกล่องเสียง จากนั้นนำไปฉายรังสีแล้วประเมินความอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง พบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงทำให้เซลล์

มะเร็งลำไส้ใหญ่มีความไวต่อรังสีมากขึ้น เป็นผลให้เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ตายมากขึ้น ในขณะที่สารสกัดเถาวัลย์เปรียงทำให้เซลล์มะเร็งกล่องเสียงทนต่อรังสีมากขึ้น ทำให้เซลล์มะเร็งกล่องเสียงตายน้อยลง แสดงว่าหากนำสารสกัดเถาวัลย์เปรียงนี้มาใช้ร่วมกับการฉายรังสีจะทำให้เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ตายได้มากขึ้น และให้ผลในทางตรงกันข้ามเมื่อให้สารสกัดเถาวัลย์เปรียงร่วมกับการฉายรังสีจะทำให้เซลล์มะเร็งกล่องเสียงตายน้อยลง

◀ **ฤทธิ์ลดความดันโลหิต**

Jansakul C และคณะ[12] ได้แยกส่วนของสารที่มีผลทำให้ลดความดันโลหิต (hypotensive fraction) (สารสกัดด้วย n-butanol) จากส่วนสกัดด้วยน้ำของลำต้นแห้งเถาวัลย์เปรียงโดยวิธีโครมาโตกราฟี และทดสอบฤทธิ์ลดความดันโลหิตของสาร ดังนี้

การศึกษาแบบ *in vivo* โดยการฉีด hypotensive fraction (0.04-1.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) เข้าทางหลอดเลือดดำของหนูขาวที่สลบ พบว่ามีผลลดความดันโลหิตและลดอัตราการเต้นของหัวใจ ซึ่งความแรงในการลดความดันโลหิตและการลดอัตราการเต้นของหัวใจแปรผันโดยตรงกับขนาดของสารที่ฉีดให้แก่สัตว์ทดลอง การยับยั้ง cholinergic receptor ด้วย atropine (15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความแรงในการลดความดันโลหิตและการลดอัตราการเต้นของหัวใจของ hypotensive fraction ส่วนการยับยั้ง β-adrenergic receptor ด้วย DL-propanolol (0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ไม่ทำให้ความแรงในการลดความดันโลหิตเปลี่ยนแปลง แต่ทำให้ฤทธิ์ในการลดอัตราการเต้นของหัวใจของ hypotensive fraction ลดน้อยลง

การศึกษาแบบ *in vitro* พบว่า hypotensive fraction มีผลทำให้หลอดเลือดแดงทรวงอกที่มีเนื้อเนื่อเยื่อชั้น endothelium และให้หดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine เกิดการคลายตัว และผลดังกล่าวนี้จะถูกลบล้างไปเมื่อเนื้อเยื่อชั้น endothelium ถูกทำลายหรือโดยการ incubate หลอดเลือดที่มีเนื้อเยื่อชั้น endothelium ด้วย N^G-nitro-L-arginine (300 มิลลิโมลาร์) ผลต่อกล้ามเนื้อ atrium พบว่า hypotensive fraction มีผลยับยั้งการหดตัวได้เองของกล้ามเนื้อ atrium โดยความแรงในการออกฤทธิ์แปรผันโดยตรงกับขนาดของสารที่ใช้ การ incubate กล้ามเนื้อ atrium ด้วย hypotensive fraction (0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) นาน 10 นาที มีผลทำให้ลดความแรงในการเพิ่มอัตราการหดตัวได้เองของกล้ามเนื้อ atrium โดย isoproterenol จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดด้วย n-butanol ที่แยกได้จากส่วนสกัดด้วยน้ำของลำต้นของเถาวัลย์เปรียงโดยใช้วิธีโครมาโตกราฟี มีฤทธิ์ลดความดันโลหิตในหนูขาว กลไกการออกฤทธิ์ของ hypotensive fraction ในการลดความดันโลหิตและลดอัตราการเต้น

ของหัวใจอาจเกี่ยวข้องทั้งโดยทางตรง โดยมีผลไปยับยั้งที่ β-adrenergic receptor ที่กล้ามเนื้อหัวใจ และโดยทางอ้อมโดยการไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของ nitric oxide จาก endothelial cell ของหลอดเลือด แล้ว nitric oxide มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดคลายตัว

Rukachaisirikul V และคณะ[13] พบว่าสารกลุ่ม isoflavone glycosides ที่แยกได้จาก hypotensive fraction ของลำต้นแห้งเถาวัลย์เปรียง ได้แก่ rhamnosyl-(1→6)-glucosyl isoflavones แสดงฤทธิ์ลดความดันโลหิตที่ชัดเจน และมี negative chronotropic activity คือ ลดอัตราการเต้นของหัวใจด้วย โดยลดค่าเฉลี่ย arterial blood pressure ได้มากกว่า 75 มิลลิเมตรปรอท และลดอัตราการเต้นของหัวใจได้มากกว่า 60 ครั้ง/นาที และฤทธิ์นี้ยังคงอยู่นานอย่างน้อย 1 นาที

◀ **ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์**

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเถาวัลย์เปรียงโดยทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อเถาวัลย์เปรียงด้วยวิธี agar diffusion method และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (minimum inhibitory concentration, MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธี agar diffusion method และ broth macrodiffusion method[14] พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของเถาวัลย์เปรียงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ *S.aureus*, E. *Coli* และ *S.epidermidis* โดยมีค่า MIC ระหว่าง 2-4 กรัม/ลิตร และค่า MBC ระหว่าง 4-16 กรัม/ลิตร ในขณะที่ยาปฏิชีวนะ gentamicin sulphate มีค่า MIC น้อยกว่า 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร จากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำของเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งที่เกิดจากการติดเชื้อในโรงพยาบาล คือ S. *aureus* และ E. *Coli* และเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามปกติในร่างกายคน คือ S. *epidermidis* เมื่อใช้ความเข้มข้นที่สูงมากเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะ อย่างไรก็ตามหากต้องการนำเถาวัลย์เปรียงไปพัฒนาต่อเป็นผลิตภัณฑ์หรือยาต้านเชื้อควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติม โดยเตรียมสารสกัดเถาวัลย์เปรียงให้บริสุทธิ์ขึ้นก่อนนำไปใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

◀ **ฤทธิ์ต้านเชื้อรา**

Sekine T และคณะ[15] ได้แยกสารใหม่กลุ่ม isoflavones จากส่วนสกัดด้วยเอทานอลของลำต้นแห้งเถาวัลย์เปรียงโดยวิธีโครมาโตกราฟี ได้แก่ diprenylisoflavones (derrisisoflavones A-F), lupalbigenin, scandinone, erysenegalensein E, lupinisol A, lupinisflavone G และ 5, 7,4'trihydroxy-6, 8-diprenylisoflavone

และศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราจำพวก dermatophytes (Anti-dermatophyte activity) ของสารประกอบต่างๆ ที่แยกได้จากลำต้นเถาวัลย์เปรียงด้วยวิธี microdilution โดยใช้ Sabouraud glucose broth เมื่อทดสอบกับเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* TIMM1189 พบว่า ส่วนสกัดย่อยที่ละลายใน benzene ที่แยกได้จากส่วนสกัดด้วยเอทานอลของลำต้นแห้งเถาวัลย์เปรียงแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา T. *mentagrophytes* เล็กน้อยโดยมีค่า MIC = 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน lanoconazole ซึ่งมีค่า MIC = 6 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารประกอบที่แยกได้พบว่า derrisisoflavones-C, lupalbigenin และ scandinone มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสูงขึ้น โดยมีค่า MIC = 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่สารประกอบอื่นๆ มีฤทธิ์ต้านเชื้อราน้อยกว่า โดยมีค่า MIC = 500-1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารอ้างอิง

1. Laupattarakasem P, Houghton PJ, Hoult JRS, Itharat A. An evaluation of the activity related to inflammation of four plants used in Thailand to treat arthritis. J Ethnopharmacol. 2003; 85: 207-15.
2. ทัศนีย์ วังศรีมงคล. 2549. ฤทธิ์ต้านการอักเสบของเถาเอ็นอ่อนและเถาวัลย์เปรียง. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
3. กัลยา อนุลักขณาปกรณ์, บรรจง ชาวไร่, ประไพ วงศ์สินคงมั่น, อภิรักษ์ ศักดิ์เพ็ชร, ยุวดี เมตตาเมธา, จารีย์ บันสิทธิ์, ปราณี ชวลิตธำรง. ฤทธิ์ต้านอักเสบของเถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens Benth.*) ในหนูแรท สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
4. Laupattarakaseam P, Houghton P, Hoult JRS. Anti-inflammatory isoflavonoids from the stem of *Derris scandens*. Planta Med. 2004; 70: 496-501.
5. Chuthaputti A, Chavalittumrong P. Immunomodulating Activity of *Derris scandens* Benth. Thai J Pharm Sci. 1998; 22: 137-48.
6. Sriwanthana B, Chavalittumrong P. *In vitro* effect of *Derris scandens* on normal lymphocyte proliferation and its activities on natural killer cells in normals and HIV-1 infected patients. J Ethnopharmacol. 2001; 76: 125-29.

7. Rao SA, Srinivas PV, Tiwari AK, Vanka UMS, Rao RVS, Dasari KR, Rao MJ. Isolation characterization and chemobiological quantification of α-glucosidase enzyme inhibitory and free radical scavenging constituents from *Derris scandens* Benth. J Chromatography B. 2007; 855: 166–72.
8. ฐิติพร ทับทิมทอง, กัลยา อนุลักขณาปกรณ์, จิรานุช มิ่งเมือง, อภิรักษ์ ศักดิ์เพ็ชร, จารีย์ บันสิทธิ์, ปราณี ชวลิตธำรง. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเถาวัลย์เปรียง รางจืด ผักคาวตอง บัวบก และปัญจขันธ์. นำเสนอในการประชุมวิชาการด้านการแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้านไทย การแพทย์ทางเลือกแห่งชาติ ในงานมหกรรมสมุนไพรแห่งชาติ ครั้งที่ 3 ณ อิมแพค อารีนา เมืองทองธานี กรุงเทพฯ สิงหาคม 2549.
9. Saetung A, Itharat A, Dechsukum C, Keawpradub K, Wattanapiromsakul C, Ratanasuwan P. Cytotoxic activity of Thai medicinal plants for cancer treatment. Songklanakarin J Sci Technol 2005; 27 (Suppl. 2): 469-78.
10. Laupattarakasem P, Sripa B, Laupattarakasem W. Antimigration of cancer cells by *Derris scandens* on cholangiocarcinoma cells. Srinagarind Med J 2007; 22 (4): 339-45.
11. Hematulin A, Ingkaninan K, Limpeanchob N, Sagan D. *Derris Scandens* Benth extract radiosensitizes HT-29 colon cancer cells. Siriraj Med J 2011; 63: 85-8.
12. Jansakul C, Srichanbarn A, Saelee A. Some pharmacological studies of a hypotensive fraction from *Derris scandens*. J Sci Soc Thailand 1997; 23: 323-34.
13. Rukachaisirikul V, Sukpondma Y, Jansakul C, Taylor WC. Isoflavone glycosides from *Derris scandens*. Phytochem 2002; 60: 827–34.
14. Sittiwet C, Puangpronpitag D. Antimicrobial properties of *Derris scandens* aqueous extract. J biol Sci 2009; 9(6): 607-11.
15. Sekine T, Inagaki M, Ikegami F, Fujii Y, Ruangrungsi N. Six diprenylisoflavones, derrisisoflavones A-F, from *Derris scandens*. Phytochem 1999; 52: 87-94.

การศึกษาพิษวิทยาและความปลอดภัย

ทรงพล ชีวะพัฒน์
พราว ศุภจริยาวัตร

การศึกษาพิษวิทยาของเถาวัลย์เปรียง

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้รวบรวมข้อมูลงานวิจัยทางด้านพิษวิทยาของสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง โดยที่ในปัจจุบันมีรายงานวิจัยพิษวิทยาเกี่ยวกับเถาวัลย์เปรียงมากมายทั้งในหลอดทดลอง (*in vitro*) และสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ดังต่อไปนี้

การศึกษาความเป็นพิษของสมุนไพรเถาวัลย์เปรียงต่อเซลล์มะเร็ง ที่เป็นส่วนประกอบในตำรับยารักษาโรคมะเร็งของภาคใต้ โดยทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งปอด (COR L-23) และเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (PC3) และเซลล์ปกติอีก 1 ชนิด ได้แก่ เซลล์ fibroblast (10FS) โดยการนำสมุนไพรมาสกัดด้วยน้ำและ ethanol เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ในเบื้องต้น โดยใช้หลักการเจือจางในความเข้มข้นต่างๆ เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ร้อยละ 50 (IC_{50}) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดชั้น ethanol ของเถาวัลย์เปรียงมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดเท่ากับ 21.04±0.57 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากเท่ากับ 43.45±3.60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเซลล์ fibroblast (10FS) 32.98±0.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร[1] ดังนั้นควรระมัดระวังในการพัฒนาเถาวัลย์เปรียงเพื่อใช้รักษามะเร็งปอดและต่อมลูกหมากเนื่องจากรายงานการวิจัยในข้างต้นจะเห็นได้ว่าสารสกัดชั้น ethanol ของเถาวัลย์เปรียงมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติสูงกว่าเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การศึกษาฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของเถาวัลย์เปรียงโดยใช้วิธี Ames test ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100 ซึ่งในการทดลองใช้ส่วนของลำต้นเถาวัลย์เปรียงสกัดด้วย ethanol ผลการทดลองพบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ที่ดีในการต้านการก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ที่ % modification เท่ากับ 81.08±12.39 และ 93.34±10.10 ตามลำดับ[2] จากการทดลองข้างต้นสารสกัดเถาวัลย์เปรียงไม่ทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน โดยการฉีดสารสกัด 50% ethanol จากส่วนเหนือดินเถาวัลย์เปรียงเข้าทางช่องท้องหนูถีบจักร พบว่า ขนาดที่เป็นพิษทำให้หนู

ตายร้อยละ 50 (LD_{50}) คือ 1 กรัมต่อกิโลกรัม แต่เมื่อให้โดยการป้อนทางปาก หรือฉีดใต้ผิวหนังในขนาด 10 กรัมต่อกิโลกรัม กลับไม่พบความเป็นพิษใดๆ ต่อสัตว์ทดลอง[3]

เถาวัลย์เปรียงเป็นสมุนไพรที่ใช้กันมากและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง โดยที่มีรายงานข้อมูลความปลอดภัยของสมุนไพรชนิดนี้น้อยมาก ดังนั้น สถาบันวิจัยสมุนไพรจึงได้ศึกษาพิษเรื้อรัง (6 เดือน) ของสารสกัดด้วย 50% ethanol ของเถาวัลย์เปรียงในหนูขาวพันธุ์วิสตาร์ โดยแบ่งหนูขาวออกเป็น 4 กลุ่มๆละ 20 ตัวต่อเพศ (เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 10 ตัว) กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับน้ำ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน กลุ่มที่ 2-4 ได้รับสารสกัดโดยการกรอก (gastric incubation) ขนาด 6, 60 และ 600 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม/วัน หรือเทียบเท่ากับผงเถาวัลย์เปรียงแห้ง 0.03, 0.3 และ 3 กรัม/น้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม/วัน หรือ 1, 10 และ 100 เท่าของขนาดที่ใช้กับคนต่อวัน เป็นเวลาติดต่อกัน 24 สัปดาห์ ในระหว่างการทดลองจะชั่งน้ำหนักหนูขาว, วัดปริมาณอาหารที่หนูขาวกินทุกสัปดาห์ และสังเกตอาการผิดปกติที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 24 จะเก็บตัวอย่างเลือดจากสัตว์ทดลองทั้ง 4 กลุ่ม นำไปวิเคราะห์ค่าชีวเคมีและค่าโลหิตวิทยา รวมทั้งสังเกตความผิดปกติของอวัยวะภายในทั้งหมดที่อาจเกิดขึ้น จากนั้นเก็บชิ้นส่วนอวัยวะภายในทำการชั่งน้ำหนักและเก็บรักษาไว้ใน 10% phosphate buffered formalin และนำไปศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา ค่าทางชีวเคมีของซีรั่ม หรือพยาธิสภาพของอวัยวะภายในที่มีความสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัด และไม่พบความผิดปกติใดๆ ที่สามารถสรุปได้ว่าเนื่องมาจากความเป็นพิษของสารสกัด[4]

นอกจากนี้การศึกษาวิจัยของเถาวัลย์เปรียงที่ดำเนินการโดยสถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ตั้งแต่การเตรียมวัตถุดิบจนถึงขั้นทดสอบความปลอดภัยของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงต่อระบบภูมิคุ้มกันในอาสาสมัคร พบว่ามีความปลอดภัยดี ซึ่งเถาวัลย์เปรียงเป็นยาสมุนไพรที่คนไทยรู้จักการใช้ประโยชน์มาเนิ่นนาน และปัจจุบันนี้ได้มีการผลิตเป็นแคปซูลสารสกัดเถาวัลย์เปรียงตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตยาจากสมุนไพร โดยมีการควบคุมคุณภาพตามมาตรฐานสากล ซึ่งถือได้ว่ามีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำมาใช้ รวมไปถึงการศึกษาวิจัยในระดับสูงขึ้นไปของเถาวัลย์เปรียงซึ่งจะนำมาสู่การใช้ประโยชน์จากสมุนไพรให้มีความปลอดภัยได้ดี

เอกสารอ้างอิง

1. Saetung A, Itharat A, Dechsukum C, Wattanapiromsakul C, Keawpradub N and Ratanasuwan P Cytotoxic activity of Thai medicinal plants for cancer treatment. Songklanakarin J Sci Technol. 2005; 27: 470-478.
2. Laomee J, Sriharit Y, Ritthaisong P and Supphaprasit W Antimutagenic and free radical scavenging activities of *Derris scandans*, *Acanthopanax trifoliatum* and *Pseuderanthemum palatiferum*. The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference. 2012.
3. นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน (2). กรุงเทพมหานคร: บริษัท ประชาชน จำกัด, 2541: 290-1.
4. Chavalittumrong P, Chivapat S, Chuthaputti A., Rattanajarasroj S, and Punyamong S. Chronic toxicology of crude extract of *Derris scandens* Benth. Songklanakarin J Sci Technol. 1999; 21(4): 425-33.

การศึกษาวิจัยทางคลินิก

กัลยา อนุลักขณาปกรณ์
สดุดี รัตนจรัสโรจน์

จากรายงานการศึกษาวิจัยในหลอดทดลอง พบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์ และกระตุ้นการหลั่งของ IL-2 ได้ และเมื่อทดสอบโดยใช้ mononuclear cells จากกระแสเลือดของคนปกติ พบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงช่วยเพิ่มการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ถึง 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และช่วยเพิ่มการทำงานของ NK cells อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ถึง 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และยังพบปริมาณ IL-2 เพิ่มขึ้นอีกด้วย ผลการศึกษาวิจัยดังกล่าวแสดงว่า สารสกัดเถาวัลย์เปรียงสามารถเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบอาศัยเซลล์ของคนปกติในหลอดทดลองได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถเพิ่มการทำงานของ NK cells ของผู้ติดเชื้อ HIV ได้ ซึ่งการช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกายนี้อาจนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือผู้ติดเชื้อ HIV ต่อไป จากการศึกษาความเป็นพิษโดยการป้อนสารสกัดเถาวัลย์เปรียงให้แก่หนูขาวในขนาดสูงถึง 600 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน หรือขนาด 75-100 เท่าของขนาดที่ใช้ในคนต่อวัน เป็นเวลา 6 เดือน ผลการศึกษาไม่พบอาการที่แสดงถึงความเป็นพิษต่ออวัยวะใดๆ และไม่พบการทำงานที่ผิดปกติของระบบต่างๆ ของหนูขาว

ด้วยข้อมูลที่เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ดังกล่าวข้างต้นนี้ คณะผู้วิจัยของสถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงได้ดำเนินการศึกษาวิจัยทางคลินิกโดยประเมินความปลอดภัยและประสิทธิผลของเถาวัลย์เปรียงทั้งในอาสาสมัครปกติ และผู้ป่วยที่มีอาการปวดหลังส่วนล่าง รวมทั้งผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อม โดยมีรายละเอียดดังนี้

◄ การประเมินความปลอดภัยและประสิทธิผลของเถาวัลย์เปรียงในอาสาสมัครปกติ

ปราณี ชวลิตธำรง และคณะ[1] ได้ทดสอบความปลอดภัยและประสิทธิผลเบื้องต้นต่อระบบภูมิคุ้มกันของเถาวัลย์เปรียงในอาสาสมัครจำนวน 12 ราย โดยให้อาสาสมัครรับประทานแคปซูลเถาวัลย์เปรียงที่สกัดจากผงเถาวัลย์เปรียง (50% เอทานอล)

ครั้งละ 1 แคปซูล (200 มิลลิกรัม/แคปซูล) วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าอาสาสมัครทั้ง 12 รายไม่มีอาการข้างเคียงใดๆ ระหว่างรับประทานสารสกัด ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีบางค่าที่เปลี่ยนแปลงไปจากก่อนได้รับสารสกัดแต่อยู่ในช่วงของค่าปกติ นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณ IL-2, IL-4 และ IL6 ในซีรั่มเพิ่มขึ้น แสดงว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงขนาด 400 มิลลิกรัม/วัน มีความปลอดภัยเมื่อรับประทานติดต่อกันนาน 2 เดือน และสามารถเหนี่ยวนำให้มีการหลั่งของ IL-2, IL-4 และ IL6 ที่อาจมีส่วนควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

จากการศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงในอาสาสมัครปกติระยะที่ 1 ไม่พบอาการข้างเคียงและความผิดปกติทางโลหิตวิทยาและทางเคมีคลินิก และยังพบว่ามีแนวโน้มเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย คณะผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการศึกษาต่อในคนระยะที่ 2 เพื่อประเมินประสิทธิผลที่ชัดเจนของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงในการช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกายในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 47 ราย[2] โดยให้อาสาสมัครรับประทานสารสกัดเถาวัลย์เปรียง (50% เอทานอล) บรรจุแคปซูล ขนาด 200 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น เป็นเวลา 2 เดือน ผลการศึกษานี้พบว่าอาสาสมัครทั้ง 47 รายไม่มีอาการข้างเคียงใดๆ ระหว่างรับประทานสารสกัด ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีบางค่าที่เปลี่ยนแปลงไปจากก่อนได้รับสารสกัดอยู่ในช่วงของค่าปกติ นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณ IL-2 และ γ-IFN ในซีรั่มเพิ่มขึ้น แสดงว่าการรับประทานสารสกัดจากผงเถาวัลย์เปรียงขนาด 400 มิลลิกรัม/วัน เป็นเวลา 2 เดือน มีความปลอดภัย และอาจมีส่วนช่วยควบคุมและ/หรือเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

◀ การศึกษาประสิทธิผลและผลข้างเคียงของเถาวัลย์เปรียงในผู้ป่วยที่มีอาการปวดหลังส่วนล่าง

ปัจจุบันปัญหาทางสุขภาพที่ทำให้ประชาชนจำนวนมากต้องมารับบริการในการตรวจรักษา คือ อาการปวดหลังส่วนล่าง ซึ่งเป็นอาการที่พบบ่อยที่สุดในผู้ที่ประกอบอาชีพใช้แรงงานในหมู่ชาวไร่ชาวนา กรรมกรที่ทำงานหนัก และในหมู่คนที่ทำงานนั่งโต๊ะนานๆ รวมทั้งการดำเนินชีวิตประจำวันที่มีความเครียด ความวิตกกังวล หรือการทำกิจกรรมในท่าทางที่ไม่เหมาะสมทำให้เกิดอาการปวดหลังได้ ผู้ป่วยที่มีอาการปวดหลังเฉียบพลันควรพักการใช้หลัง หลีกเลี่ยงการยกของหนัก ใช้แผ่นเย็นประคบหลัง ใช้หมอนรองใต้ข้อเข่าในขณะนอนหรือนอนตะแคงกอดหมอนข้างเพื่อช่วยลด

ความตึงตัวของกล้ามเนื้อหลังได้ หากอาการไม่ดีขึ้นควรพบแพทย์เพื่อตรวจวินิจฉัยต่อไป หากมีอาการปวดหลังเรื้อรัง ควรต้องบริหารกำลังกล้ามเนื้อเป็นเวลานานต่อเนื่องกัน ต้องระวังผลข้างเคียงของการใช้ยา เช่น แผลในกระเพาะอาหาร บวมตามตัว ความดันโลหิต และหลอดเลือดอุดตัน เป็นต้น ผู้ป่วยบางรายที่มีความไม่มั่นคงของกระดูกสันหลังอาจได้ประโยชน์จากการใส่อุปกรณ์พยุงหลัง อย่างไรก็ตาม อาการปวดหลังเรื้อรังควรอยู่ในความดูแลของแพทย์เพื่อการรักษาที่ถูกต้องเหมาะสม เมื่อมีอาการปวดหลังเกิดขึ้นก็ทำให้ไม่สุขสบายเพราะความปวด การเคลื่อนไหวไม่สะดวก ส่งผลให้การปฏิบัติภารกิจประจำวัน หรือการทำงานประกอบอาชีพไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร เป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบทั้งด้านร่างกาย จิตใจ เศรษฐกิจและสังคม

เถาวัลย์เปรียง เป็นสมุนไพรไทยที่มีส่วนเถาและรากมีสรรพคุณตามตำรายาไทยว่า ทำให้เส้นเอ็นอ่อนลง แก้เส้นเอ็นพิการ และแก้อาการปวดเมื่อยตามร่างกาย เป็นสมุนไพรไทยที่ชาวบ้านนำมาใช้เป็นยารักษาบรรเทาอาการปวดเมื่อยร่างกายมานานแล้ว จากรายงานการศึกษาทางเภสัชวิทยาโดยศึกษาในหลอดทดลอง พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากลำต้นของเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ต้านอักเสบ โดยลดการหลั่ง myeloperoxide ลดการสร้าง eicosanoid และยับยั้ง leukotriene B4 ซึ่งเป็นสารที่หลั่งออกมาเมื่อเกิดการอักเสบทำให้เกิดการปวดเมื่อย[3] นอกจากนี้ในสารสกัดมีอนุพันธ์ของสารไอโซฟลาโวนอยด์ คือ genistein-7-O-[γ-rhamnopyranosyl-(1$\rightarrow$6)-β-glucopyranoside) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอักเสบ และต้านอนุมูลอิสระ[4]

เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาการลดอาการปวดหลังส่วนล่างโดยยาเถาวัลย์เปรียง สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงได้ดำเนินการร่วมกับโรงพยาบาลวังน้ำเย็น จังหวัดสระแก้ว[5] เพื่อศึกษาประสิทธิผลและผลข้างเคียงของเถาวัลย์เปรียงในรูปสารสกัดเปรียบเทียบกับยาไดโคลฟีแนคในการบรรเทาอาการปวดหลังส่วนล่าง โดยได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาการวิจัยในคนด้านการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข การศึกษานี้แบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่รับประทานแคปซูลที่บรรจุผงสารสกัดด้วย 50% เอทานอลของเถาวัลย์เปรียง ขนาด 200 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 7 วัน (n = 37) และกลุ่มที่รับยาไดโคฟีแนค ขนาด 25 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 7 วัน (n = 33) ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดเถาวัลย์เปรียงมีจำนวนเม็ดเลือดขาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 7 ของการรักษา แต่ค่าที่ตรวจวัดได้ยังอยู่ในช่วงค่าปกติ และไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าทางชีวเคมีรวมทั้งผลข้างเคียงใดๆ ขณะรับประทานสารสกัด ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาไดโคลฟีแนคนั้น ตรวจไม่พบอาการเปลี่ยนแปลงใดๆ ผู้ป่วยทั้ง 2

กลุ่มมีระดับอาการปวดลดลงอย่างชัดเจนในวันที่ 3 และวันที่ 7 แสดงว่าการรับประทานสารสกัดเถาวัลย์เปรียงด้วย 50% เอทานอลขนาดวันละ 600 มิลลิกรัม นาน 7 วัน สามารถลดอาการปวดหลังส่วนล่างไม่แตกต่างจากการใช้ไดโคฟีแนคขนาดวันละ 75 มิลลิกรัม สรุปผลการศึกษาไม่พบความผิดปกติใดๆ ที่ไม่พึงประสงค์ และพบว่าช่วยลดระดับความรู้สึกปวดได้ไม่ต่างจากยาไดโคลฟีแนค จึงอาจสรุปได้ว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับรักษาผู้ป่วยอาการปวดหลังส่วนล่าง

◄ การศึกษาประสิทธิผลและความปลอดภัยของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อม

โรคข้อเข่าเสื่อมเป็นโรคที่พบบ่อยมากโดยเฉพาะผู้สูงอายุ ความชุกของโรคข้อเข่าเสื่อมในผู้สูงอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไปพบประมาณร้อยละ 35-46 ผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมมักมีอาการปวดเข่า บริเวณรอบๆ ลูกสะบ้า หรือในข้อพับเข่า มีเสียงดังเวลาขยับเคลื่อนไหวข้อ มีอาการฝืดหรือคล้ายข้อยึด หรือมีอาการบวมอักเสบในเข่า เป็นต้น จากอาการดังกล่าวจะส่งผลให้ผู้ป่วยไม่สามารถทำงานหรือประกอบกิจวัตรประจำวัน เช่น ยืน เดินได้ตามปกติ การรักษาหลักของโรคข้อเข่าเสื่อมนอกจากการบริหารกล้ามเนื้อต้นขาให้แข็งแรงแล้วผู้ป่วยส่วนมากยังได้รับยาแก้ปวดร่วมด้วย ซึ่งอุปสรรคสำคัญของการใช้ยาแก้ปวดกลุ่ม Non-Steriodal Anti-inflammatory Drug (NSAIDs) คือ ผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหาร และค่าใช้จ่ายโดยเฉพาะอย่างยิ่งยากลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 นั้นมีราคาแพง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ร่วมดำเนินการวิจัยทางคลินิกกับคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล[6] เพื่อศึกษาประสิทธิผลและความปลอดภัยของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงในการรักษาอาการอักเสบจากข้อเข่าเสื่อม โดยมีผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมเข้าร่วมโครงการจำนวน 107 คน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาแผนปัจจุบันนาโปรเซน (Naproxen) ขนาด 250 มิลลิกรัม รับประทานวันละ 2 ครั้ง หลังอาหารติดต่อกันนาน 4 สัปดาห์ (n=52) และกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาสารสกัดเถาวัลย์เปรียงขนาด 400 มิลลิกรัมรับประทานวันละ 2 ครั้ง หลังอาหารติดต่อกันนาน 4 สัปดาห์ (n=55) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงขนาด 400 มิลลิกรัม รับประทานวันละ 2 ครั้ง ติดต่อกันนาน 4 สัปดาห์ในการรักษาผู้ป่วยข้อเข่าเสื่อมมีประสิทธิผลและความปลอดภัยไม่แตกต่างจากการรักษาด้วย Naproxen ขนาด 250 มิลลิกรัม รับประทานวันละ 2 ครั้ง ติดต่อกันนาน 4 สัปดาห์ และผู้ป่วยที่ได้รับยาทั้งสองกลุ่มมีความพึงพอใจต่อการรักษาร้อยละ 80

จากข้อมูลการศึกษาวิจัยทางคลินิกด้านความปลอดภัยและประสิทธิผลในการรักษาดังกล่าวข้างต้นเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่สำคัญซึ่งสรุปได้ว่าเถาวัลย์เปรียงเป็นสมุนไพรทางเลือกสำหรับบรรเทาอาการปวดเมื่อย การอักเสบของกล้ามเนื้อและข้อเข่าเสื่อม ช่วยให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยที่มีอาการปวดหลังส่วนล่างและผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมดีขึ้น ซึ่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์โดยสถาบันวิจัยสมุนไพรได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตและการควบคุมคุณภาพให้กับกับองค์การเภสัชกรรมไปแล้ว ปัจจุบันเถาวัลย์เปรียงได้ถูกบรรจุไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2555[7] โดยระบุสรรพคุณบรรเทาอาการปวดกล้ามเนื้อ ลดการอักเสบของกล้ามเนื้อ

เอกสารอ้างอิง

1. Chalittumrong P, Sriwanthana B, Pattamadilok S, Rattanajarasroj S, Chantapet P, Warachit P. Safety of *Derris scandens* hydroalcolic extract in healthy volunteers. J Thai Traditional Altern Med 2005; 3(1): 17-26.
2. ปราณี ชวลิตธำรง และคณะ. รายงานการวิจัยปีที่ 1 การศึกษาประสิทธิผลในการเพิ่มภูมิคุ้มกันของเถาวัลย์เปรียงในอาสาสมัครสุขภาพดี. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 2548.
3. Laupattarakaseam P, Houghton PJ, Hoult JRS, Itharat A. An evaluation of the activity related to inflammation of four plants used in Thailand to treat arthritis. J Ethnopharmacol 2003; 85: 207-15.
4. Laupattarakaseam P, Houghton P, Hoult JRS. Anti-inflammatory isoflavonoids from the stem of *Derris scandens*. Planta Med 2004; 70: 496-501.
5. ยุทธพงษ์ ศรีมงคล, ไพจิตร์ วราชิต, ปราณี ชวลิตธำรง, บุษราวรรณ ศรีวรรธนะ, รัดใจ ไพเราะ, จันธิดา อินเทพ, บุญญาณี ศุภผล, ประไพ วงศ์สินคงมั่น. การเปรียบเทียบสรรพคุณของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงกับไดโคลฟีแนคเป็นยาบรรเทาอาการปวดหลังส่วนล่าง. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 2550; 5(1): 17-23.
6. Kuptniratsaikul V, Pinthong T, Bunjob M, Thanakhumtorn S, Chinswangwatanakul P, Thamlikitkul V. Efficacy and safety of *Derris scandens* Benth extracts in patients with knee osteoarthritis. J Altern Complement Med 2011; 17(2): 147-53.
7. บัญชียาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2555 ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ (ฉบับที่ 5). หน้า 203.

การพัฒนาผลิตภัณฑ์

นลินภัสร์ ศักดิ์ติยสุนทร
พิลาศลักษณ์ อัครชลานนท์

การนำสมุนไพรมาพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมในการใช้ โดยมีคุณภาพและมีประสิทธิผลตามที่ต้องการ มีสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงหลายประการ คือ การคัดเลือกส่วนของสมุนไพรที่จะนำมาใช้ให้ถูกต้อง วิธีการเตรียมให้ได้ส่วนที่ออกฤทธิ์ วิธีการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพสม่ำเสมอกันทุกครั้งที่ใช้ วิธีการคงสภาพสารสำคัญออกฤทธิ์ในวัตถุดิบสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ และการพัฒนาสูตรตำรับ สำหรับวิธีการเตรียมให้ได้ส่วนที่ออกฤทธิ์ที่ต้องการ ประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ คือ การแปรรูปสมุนไพรให้อยู่ในรูปลักษณะที่เหมาะสมในการนำไปใช้ หรือเป็นรูปสารสกัดที่พร้อมนำเข้ากระบวนการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อไป เช่น เป็นผลิตภัณฑ์แคปซูลหรือเม็ด เป็นชาชงหรือเป็นน้ำสมุนไพร เป็นผลิตภัณฑ์ครีม หรือผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาภายนอกร่างกาย เป็นต้น การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะสามเรื่อง ได้แก่ ขั้นตอนและวิธีการแปรรูปสมุนไพรในเบื้องต้น การแก้ไขปัญหาสำคัญในการแปรรูปสมุนไพรที่ปนเปื้อนสารอันตรายจากเชื้อรา และกระบวนวิธีการที่ดีในการศึกษาคุณภาพของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ มีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

◀ ขั้นตอนและวิธีการแปรรูปสมุนไพรในเบื้องต้น

การแปรรูปสมุนไพรให้อยู่ในรูปแบบที่ต่างจากที่เกิดตามธรรมชาติ เช่น จากส่วนที่เป็นใบ ลำต้น ดอก ผลหรือเมล็ดของพืช ถูกแปรเปลี่ยนเป็นรูปผงแห้ง สารสกัดของเหลว และน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น จำเป็นต้องมีขั้นตอนที่เหมาะสมในการดำเนินการ การแปรรูปสมุนไพรก่อให้เกิดประโยชน์ในด้านต่างๆ คือ

- ช่วยลดการปนเปื้อนสิ่งที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ เช่น เชื้อก่อโรค สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และสารพิษตกค้าง เป็นต้น
- ทำให้สะดวกในการนำสมุนไพรไปใช้ การขนย้าย และการเก็บรักษา
- ช่วยคงสภาพของสารสำคัญในสมุนไพร ทำให้ไม่เสื่อมสลายได้ง่าย โดยปกป้องสารสำคัญในสมุนไพรให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสม
- ทำให้สมุนไพรอยู่ในรูปที่สามารถออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น และมีรูปแบบที่เหมาะสมน่าใช้

ขั้นตอนการแปรรูปสมุนไพร ประกอบด้วย[1]

1. การคัดเลือกสมุนไพร

โดยคัดเลือกสิ่งที่ต้องการใช้หรือการคัดสิ่งที่ไม่ต้องการออก ทั้งนี้สิ่งแปลกปลอมไม่ควรเกินร้อยละ 2 ของน้ำหนัก

2. การทำความสะอาดสมุนไพร

หลังการเก็บเกี่ยวสมุนไพรแล้ว ควรรีบทำความสะอาดสมุนไพรทันที และทำให้แห้งโดยเร็วที่สุด เพื่อป้องกันการทำลายของเชื้อจุลินทรีย์และแมลงหรือไข่แมลงที่ติดมากับสมุนไพร และกำจัดฝุ่นละออง เชื้อจุลินทรีย์ สารพิษตกค้างจำพวกโลหะหนัก สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และ อะฟลาท็อกซิน (aflatoxin) การทำความสะอาดสมุนไพรมีหลายวิธี เช่น การเช็ดด้วยผ้าสะอาด การล้างด้วยน้ำสะอาด เป็นต้น สำหรับสมุนไพรที่หลุดร่วงได้ง่าย มีน้ำหนักเบาหรือมีขนาดเล็กๆ เช่น จำพวก ใบ ดอก ผลและเมล็ดของพืช ที่อาจหลุดลอยไปกับน้ำได้ง่าย ถ้าจำเป็นต้องล้างด้วยน้ำ ให้ใช้ภาชนะที่มีตะแกรงตาถี่ๆ ปิดป้องกันสมุนไพรลอยไปกับน้ำ อย่างไรก็ตามการล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้ง หรือแช่สมุนไพรไว้ในน้ำเป็นเวลานาน ต้องระวังการสูญเสียสารสำคัญที่มีอยู่ในสมุนไพร เนื่องจากสมุนไพรหลายชนิด มีสารสำคัญที่ละลายในน้ำได้ดี เช่น ปัญจขันธ์ ใบชุมเห็ดเทศ ฟ้าทะลายโจร หญ้าหนวดแมว เป็นต้น สมุนไพรที่เป็นหัวหรือเหง้าหลังการทำความสะอาดด้วยน้ำแล้วอาจนำไปนึ่งหรือลวกด้วยน้ำร้อนก่อนทำให้แห้ง วิธีนี้จะทำให้เก็บสมุนไพรได้นานขึ้น ช่วยป้องกันการเกิดเชื้อรา

3. การลดขนาดสมุนไพร

เพื่อทำให้สมุนไพรแห้งได้ง่าย มีความสะดวกในการนำไปแปรรูป และประหยัดเนื้อที่ในการเก็บรักษา ควรลดขนาดสมุนไพรให้มีความหนาประมาณ 4-5 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร สำหรับสมุนไพรที่มีสารระเหยง่ายไม่ควรลดขนาดจนเล็กเกินไป เพราะจะทำให้สูญเสียสารสำคัญได้ง่ายในระหว่างการทำให้แห้ง การบดเป็นผง และระหว่างการเก็บ

4. การทำให้สมุนไพรแห้ง

มีหลายวิธี เช่น การผึ่งลม การผึ่งแดด และการอบด้วยความร้อนในตู้อบ สองวิธีแรกไม่ควรทำในที่โล่งแจ้ง เพราะอาจปนเปื้อนฝุ่นละออง เชื้อจุลินทรีย์ มูลสัตว์ ควรกั้นพื้นที่ให้เป็นสัดส่วนชัดเจน มีฝาผนังและหลังคาที่สามารถป้องกันนก หนู สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์อื่นเข้ามาได้ และมีชั้นวางสมุนไพรที่สูงจากพื้นไม่น้อยกว่าครึ่งเมตร เกลี่ยสมุนไพรให้แผ่เป็นชั้นบางๆ เพื่อให้แห้งได้เร็วและพร้อมๆ กัน การวางสมุนไพรทับซ้อนกันหนา จะทำให้สมุนไพรที่อยู่ด้านล่างมีสีคล้ำลง คุณภาพลดลงเนื่องจากสมุนไพรที่ถูกซ้อนทับได้รับ

ความร้อนสะสมนานกว่าจะแห้ง จึงควรหมั่นกลับสมุนไพรบ่อยๆ สำหรับสมุนไพรที่มีขนาดเบาอาจใช้วิธีอบในตู้อบที่มีลมลอยตัวปล่อยออกมาจากด้านล่างและด้านข้าง วิธีนี้จะทำให้สมุนไพรแห้งได้เร็วขึ้นมาก โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำให้สมุนไพรแห้ง ขึ้นอยู่กับสมุนไพรแต่ละชนิด เช่นสมุนไพรที่มีกลิ่นหอม มีสารระเหยง่าย ใช้อุณหภูมิไม่เกิน 30 องศาเซลเซียส สมุนไพรที่เป็นจำพวกดอก ใบ และพืชล้มลุก ใช้อุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส จำพวกเปลือก รากและกิ่ง ที่มีเนื้อค่อนข้างแข็ง ใช้อุณหภูมิไม่เกิน 65 องศาเซลเซียส และจำพวกผลและเมล็ดที่มีเนื้อแข็ง ใช้อุณหภูมิไม่เกิน 90 องศาเซลเซียส

5. การบดแร่งสมุนไพร

สมุนไพรแห้งที่สามารถบดให้เป็นผงได้ง่าย ควรมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก การบดสมุนไพรนั้นควรแยกบดสมุนไพรแต่ละชนิด เนื่องจากสมุนไพรแต่ละชนิดมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน อาจทำให้ใช้เวลาในการบดเป็นผงแตกต่างกัน หากนำสมุนไพรหลายชนิดมาบดรวมกัน สมุนไพรที่บดเป็นผงได้ง่ายจะต้องถูกบดต่อเนื่องเป็นเวลานานเกินความจำเป็น ทำให้เกิดการสะสมความร้อนในระหว่างการบด ซึ่งสารบางอย่างในสมุนไพรสูญเสียได้ และสารที่มีความเหนียว เช่น น้ำมันหอมระเหยจะออกมาในระหว่างการบด ทำให้ไม่สามารถทำการบดต่อไปได้ ดังนั้นในการบดแต่ละครั้ง นอกจากไม่นำสมุนไพรต่างชนิดมาบดรวมกันแล้ว ยังควรทยอยนำผงสมุนไพรที่บดเป็นผงแล้วออกมาจากเครื่องนำไปผ่านแร่งเพื่อคัดแยกขนาดตามที่ต้องการ ผงบางส่วนที่มีขนาดใหญ่ให้นำกลับไปบดอีก อย่าทิ้งส่วนที่บดเป็นผงได้ยาก จะต้องนำกลับไปบดรวมกับสมุนไพรชนิดเดียวกันในครั้งต่อไป สำหรับขนาดของผงสมุนไพรที่เหมาะสมนั้น ขึ้นกับวัตถุประสงค์ในการนำสมุนไพรไปใช้ เช่น ต้องการนำไปบรรจุในแคปซูลหรือทำเป็นเม็ดรับประทาน ให้บดสมุนไพรเป็นผงละเอียดมาก อย่างน้อยต้องผ่านแร่งเบอร์ 80 ได้หมด หากต้องการเตรียมเป็นชาชงโดยบรรจุสมุนไพรในถุงชา ถ้าเป็นผงละเอียดจะทำให้หลุดร่วงออกมาจากถุงชาได้ง่าย หรือต้องการนำสมุนไพรไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่อไป ก็ให้บดเป็นผงขนาดหยาบเช่นเดียวกัน

เครื่องบดหรือเครื่องย่อยขนาดสมุนไพรมีหลายแบบ ในการเลือกใช้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสมุนไพรที่ต้องการบด และความละเอียดของผงที่ต้องการ เครื่องแต่ละแบบมีหลักในการบดให้เป็นผงแตกต่างกัน ที่นิยมใช้บดสมุนไพรมีรายละเอียดพอสังเขป ดังนี้

- แบบใช้รางบด (Roller Mills) ย่อยขนาดโดยใช้น้ำหนักของรางเหล็กคู่บดไปบนสมุนไพรจนละเอียด ใช้บดสมุนไพรได้หลายชนิดที่มีน้ำหนักและมีเส้นใยน้อย
- แบบใช้มีด (Cutter Mills) ย่อยขนาดโดยการตัดและดึงด้วยใบมีด ทำให้ได้ผงที่ไม่ละเอียดมากนัก เหมาะสำหรับสมุนไพรที่มีน้ำหนักเบาหรือมีเส้นใยมาก

- แบบใช้การบดสี (Attrition Mills) ย่อยขนาดโดยมีแผ่นหินหรือแผ่นเหล็กสองแผ่นวางประกบกันและหมุนในทิศทางตรงกันข้าม ทำให้สมุนไพรที่อยู่ระหว่างแผ่นหินทั้งสองกลายเป็นผง เหมาะสำหรับสมุนไพรที่มีน้ำหนักเบาและมีความแข็งปานกลาง แบบนี้สามารถบดผงยาได้ละเอียดมาก

◄ การแก้ปัญหาสำคัญในการแปรรูปสมุนไพรที่ปนเปื้อนสารอันตรายจากเชื้อรา

อะฟลาท็อกซิน (Aflatoxin) เป็นสารพิษที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus, A. parasiticus, A. nomius* และ *A. tamarii* ที่พบในธรรมชาติมี 4 ชนิด คือ อะฟลาท็อกซิน B1, B2, G1 และ G2 จากรายงานพบว่า อะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งในตับในสัตว์ทดลองหลายชนิด องค์การอนามัยโลกจัดให้อะฟลาท็อกซินเป็นสารพิษจากเชื้อราที่อยู่ในระดับรุนแรงที่สุดโดยเฉพาะชนิด B1 ก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์และเป็นสารก่อมะเร็งในตับ คุณสมบัติที่สำคัญของสารพิษอะฟลาท็อกซิน คือ ทนความร้อนได้ถึง 260 องศาเซลเซียส การฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ (Pasturization) คือ ที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 30 นาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า หรือที่อุณหภูมิไม่ต่ำว่า 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 15 วินาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า และการฆ่าเชื้อด้วยวิธีสเตอริไรซ์ (Sterillzation) คือที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส ไม่สามารถทำลายอะฟลาท็อกซินให้หมดไปได้ อะฟลาท็อกซินเสื่อมสลายได้ภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต (Ultraviolet) แสงแดด และรังสีแกมม่า (gamma) มีความคงตัวในสภาพที่เป็นกรด สลายตัวในสภาพที่เป็นด่าง และถูกทำลายได้ด้วยคลอรีน[2]

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 พ.ศ.2529 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน กำหนดให้มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารได้ไม่เกิน 20 พีพีบี (20 ส่วนในพันล้านส่วน) หรือ 20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม[3] เชื้อราที่สร้างอะฟลาท็อกซินมีสีเขียวอมเหลืองหรือสีเขียวเข้ม สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า การป้องกันไม่ให้อะฟลาท็อกซินปนเปื้อนในวัตถุดิบทางการเกษตรที่นำมาใช้ ให้คำนึงถึงการเก็บเกี่ยวผลผลิตทางการเกษตรที่ดี ไม่ทำให้ผลผลิตเกิดการหัก การช้ำ และปนเปื้อนสิ่งสกปรกควบคุมความชื้นในผลผลิตให้ไม่เกินร้อยละ 10 ช่วยป้องกันการเจริญของเชื้อราได้ในการเก็บรักษาผลผลิตต้องคัดแยกเมล็ดหรือส่วนที่เสียออกไป และรักษาสภาพแวดล้อมของโรงเก็บให้แห้งสะอาดอยู่เสมอ

การกำจัดเชื้อราและสารพิษอะฟลาท็อกซินในสมุนไพร พบรายงานการวิจัยในขณะนี้สรุปได้ว่า มีการทดลองใช้รังสีแกมม่า น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรและสารสกัด

จากสมุนไพร มีข้อมูลที่น่าสนใจสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมวัตถุดิบและการเก็บรักษาสมุนไพร รายละเอียดพอสังเขปดังนี้

1. วิธีการใช้รังสีแกมม่า

มีรายงานการศึกษาทดลองใช้รังสีแกมม่ากำจัดสารพิษอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สมุนไพร โดยการใช้รังสีแกมม่าขนาด 8-15 กิโลเกร์ย (Kilogray) กำจัดเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* ได้อย่างสมบูรณ์[4-5] ในวัตถุดิบสมุนไพร เช่น จันทน์แปดกลีบหรือโป๊ยกั๊ก (Aniseed)[6], พริกไทยแอฟริกัน (*Piper guinneese*)[7], เทียนแดง (*Nigella sativa*)[8] และเม็ดบัว (Lotus seed)[9] แต่ในสมุนไพรบางชนิด เช่น พริกไทยดำ (Black pepper) การฉายด้วยรังสีแกมม่าขนาด 60 กิโลเกรย์ ยังไม่สามารถกำจัดสารพิษอะฟลาท็อกซินในสมุนไพรได้[10] ขนาดของรังสีแกมม่าที่นิยมใช้ในการกำจัดสารพิษอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนสมุนไพรมีขนาดไม่เกิน 8 กิโลเกรย์[5]

2. วิธีการใช้น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร

มีรายงานการศึกษาพบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร มีประสิทธิภาพกำจัดสารพิษอะฟลาท็อกซินได้ เช่น น้ำมันหอมระเหยจาก โหระพา (*Ocimum basilicum*)[11-12], และ เทียนแดง[13] โดยสารสำคัญที่มักพบในน้ำมันหอมระเหย คือ Thymol และ Eugenol[11]

3. วิธีการใช้สารสกัดจากสมุนไพร

มีรายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารพิษอะฟลาท็อกซินคือ สารสกัดแอลกอฮอล์ของทับทิม (*Punica granatum*)[14] และกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*)[13] โดยมี Thymol และ Carvacrol เป็นสารสำคัญอยู่ในสารสกัด[15-16] สารสกัดคลอโรฟอร์มและอะซิโตนของกระวานเทศ (*Elettaris cardamomum*) และ กานพลู (*Syzygium aromaticum*) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus*[17]

◄ กระบวนการที่ดีในการศึกษาคุณภาพของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์

ในการวิจัยและพัฒนาสมุนไพรเพื่อนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์เป็นยา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ผลิตภัณฑ์ดูแลผิว และอื่นๆ จำเป็นต้องดำเนินการศึกษาและวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบสมุนไพรและผลิตภัณฑ์สมุนไพรก่อนนำมาใช้ เพื่อประเมินคุณภาพ ประสิทธิภาพ ประสิทธิผลและความปลอดภัยของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ รวมทั้งประเมินความคุ้มค่าในการดำเนินการ ซึ่งต้องใช้บุคลากรในสหสาขาวิชาการ

ต่างๆ ร่วมดำเนินการ รวมทั้งใช้งบประมาณจำนวนมาก กระบวนวิธีการที่ดีในการศึกษาคุณภาพของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ จำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อกำหนดเกณฑ์มาตรฐานของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ เพื่อควบคุมวัตถุดิบสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพสม่ำเสมอกันทุกครั้งที่ผลิต ซึ่งเป็นการช่วยคุ้มครองผู้บริโภค กระบวนวิธีการที่ดีในการศึกษาคุณภาพฯดังกล่าว ประกอบด้วยการศึกษาวิเคราะห์คุณภาพของสมุนไพรในด้านต่างๆ รวม 5 ด้าน ดังต่อไปนี้[18]

1. การศึกษาทางพฤกษศาสตร์ (Botanical study)

ประกอบด้วยการศึกษาอย่างน้อย 3 ด้าน คือ

- การรวบรวมสมุนไพรและตรวจสอบชื่อชนิดของสมุนไพร (Collection and identification)
- การศึกษาลักษณะของสมุนไพรทางมหภาค (Macroscopic study) หรือด้วยตาเปล่า
- การศึกษาลักษณะของสมุนไพรทางจุลภาคผ่านกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic study)

2. การศึกษาทางกายภาพ (Physical study)

ประกอบด้วยการศึกษาอย่างน้อย 4 ด้าน คือ

- การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ (Physico-chemical values)
- การศึกษาลักษณะของผงยาทางจุลภาค (Powder microscopy)
- การศึกษาสิ่งสกัดด้วยตัวทำละลาย (Extractive values)
- การศึกษาคุณสมบัติของเถ้า (Ash values)

3. การศึกษาทาง Organoleptic

ประกอบด้วยการศึกษาอย่างน้อย 3 ด้าน คือ

- การศึกษาสี กลิ่น รส
- การศึกษาทางสันฐานวิทยา (Morphological character)
- การศึกษาโครงสร้างและรอยแตกหัก (Structure and fracture)

4. การศึกษาทางเคมี (Chemical study)

ประกอบด้วยการศึกษาอย่างน้อย 4 ด้าน คือ

- การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี (Chemoprofiling)
- การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting)
- การศึกษาคุณภาพและปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีในสมุนไพร (Qualitative and quantitative)

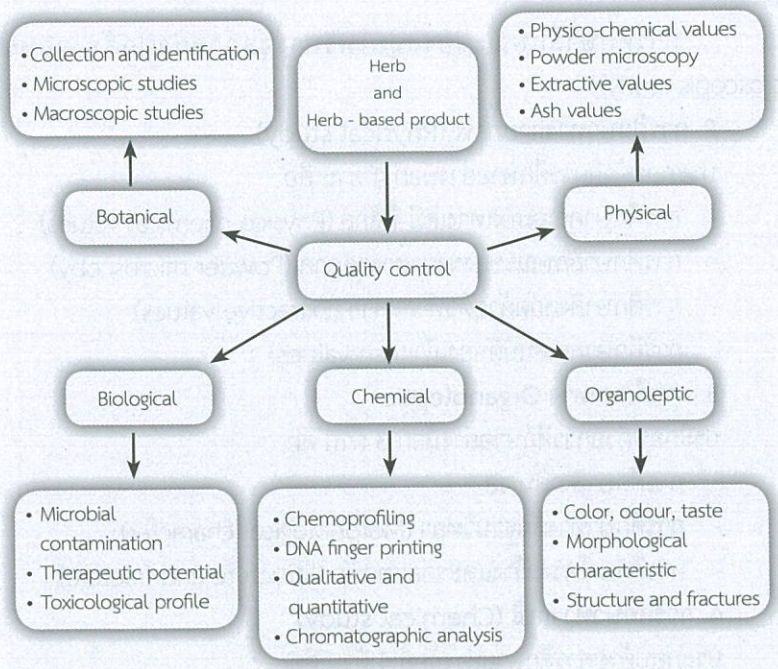
- การศึกษาทางโครมาโทแกรม (Chromatographic analysis)

5. การศึกษาทางชีวภาพ (Biological study)

ประกอบด้วยการศึกษาอย่างน้อย 3 ด้าน คือ

- การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (Microbial contamination)
- การศึกษาศักยภาพในการรักษา (Therapeutic potential)
- การศึกษาคุณสมบัติทางพิษวิทยา (Toxicological profile)

สรุปกระบวนวิธีการที่ดีในการศึกษาคุณภาพของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์เป็นแผนภูมิดังนี้



กระบวนวิธีการที่ดีในการศึกษาคุณภาพของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์
(Good quality study and evaluating of herb and finished product)

เอกสารอ้างอิง

1. กองวิจัยและพัฒนาสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการผลิตวัตถุดิบสมุนไพร.โรงพิมพ์ทหารผ่านศึก; 2538.
2. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. Aflatoxin.2012, [สืบค้น31 สิงหาคม 2555]; [5 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ http://www.pharm.su.ac.th/cheminlife/cms/index.php/kitchen-room/37-aflatoxin.html.
3. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98.เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ลงวันที่ 21 มกราคม พ.ศ. 2529.
4. Wen HW et al. Efficacy of gamma irradiation for protection against post harvest insect damage and microbial contamination of adlay. Postharvest Biol Technol 2008; 50(2–3): 208–15.
5. Katušin-Ražem B, Novak B, Ražem D. Microbiological decontamination of botanical raw materials and corresponding pharmaceutical products by irradiation. Radiat Phys Chem 2001; 62(2–3): 261–75.
6. Al-Bachir M. Effect of gamma irradiation on microbial load and sensory characteristics of aniseed (*Pimpinella anisum*). Bioresour Technol 2007; 98(10): 1871–76.
7. Onyenekwe PC, Ogbadu GH and Hashimoto S. The effect of gamma radiation on the microflora and essential oil of Ashanti pepper (*Piper guineense*) berries. Postharvest Biol Technol 1997; 10(2):161–7.
8. Zeinab EM EB et al. Inhibitory effect of gamma radiation and *Nigella sativa* seeds oil on growth, spore germination and toxin production of fungi. Radiat Phys Chem 2001; 60(3):181–9.
9. Bhat R, Sridhar KR and Karim AA. Microbial quality evaluation and effective decontamination of nutraceutically valued lotus seeds by electron beams and gamma irradiation. Radiat Phys Chem 2010; 79(9):976–81.
10. Jalili M, Jinap S and Noranizan A. Effect of gamma radiation on reduction of mycotoxins in black pepper. Food Control 2010; 21(10):1388–93.
11. Singh AK et al. Essential oil of *ocimum basilicum* as a safe plant based antimicrobial in checking post harvest microbial infestation and aflatoxin contamination of food commodities. J pharm Res 2011;4(2): 526-9.
12. Atanda OO, Akpan I and Oluwafemi F. The potential of some spice essential oils in the control of *A. parasiticus* CFR223 and aflatoxin production. Food Control 2007; 18(5):601–7.

13. Saifeldin A.F et al. Effect of *Hibiscus sabdariffa* extract and *Nigella sativa* oil on the growth and aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* strains. Food Control 2012; 25(1): 59–63.
14. Mostafa A A, Al-Rahmah A N and Abdel-Megeed A. Evaluation of some plant extracts for their antifungal and antiaflatoxigenic activities. J Med Plants Res 2011; 5(17): 4231-38.
15. Al-Rahmah N, Mostafa A, and Abdel-Megeed A. Antifungal and antiaflatoxigenic activities of some plant extracts. African Microbiol Res 2011; 5(11): 1342 48.
16. Razzaghi-Abyaneh M et al. Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Int Food Microbiol 2008; 123(3): 228–33.
17. Al-Sohaibani S et al. Xerophilic aflatoxigenic black tea fungi and their inhibition by *Elettaria cardamomum* and *Syzygium aromaticum* extracts. Saudi J Biol Sci 2011; 18(4): 387–94.
18. Mukherjee P and Hougton PJ. Evaluation of herbal medicinal products: Prospectives on quality, safety and efficacy. London: Cromwell Press Group; 2009.

สิทธิบัตรที่น่าสนใจ

พิลาศลักษณ์ อัครชลานนท์
ธัญญ์วัณณ์ มงคลชัยภักดิ์
สรเพชร มาสุด

สิทธิบัตรของผลิตภัณฑ์เถาวัลย์เปรียงที่จดไว้กับกรมทรัพย์สินทางปัญญา มีรายการดังตาราง

ลำดับที่	เลขที่คำขอ	เลขที่ประกาศ	เลขที่สิทธิบัตร	ประเภทสิทธิบัตร	ชื่อสิ่งประดิษฐ์/การออกแบบ	บทคัดย่อ	ข้อถือสิทธิ์	ผู้ขอจดสิทธิบัตร	ผู้ประดิษฐ์/ออกแบบ
1	07030 00884	4725	4725	อนุสิทธิบัตร เคมี	ผลิตภัณฑ์แคปซูลสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens* (Roxb.) Benth.) ในการรักษาผู้ที่มีอาการปวดและในการช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย	ผลิตภัณฑ์แคปซูลสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง ได้จากการ ...	1. ผลิตภัณฑ์แคปซูลสมุนไพรเถาวัลย์เปรียง...	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	ธิดารัตน์ บุญรอด, บุษราวรรณ ศรีวรรธนะ, ธีระวุฒิ ปิ่นทอง, กัลยา อนุลักขณาปกรณ์, มาลี บรรจบ, จารีย์ บันสิทธิ์, ไพจิตร วราชิต, พงศ์พันธ์ วงศ์มณี, ปราณี ชวลิตธำรง, ทรงพล ชีวะพัฒน์, เอมมนัส อัตตวิชญ์, ประไพ วงศ์สินคงมั่น, สุธิดา ไชยราช, ปัทมาวดี เสตะกัณณะ, สดุดี รัตนจรัสโรจน์, สมจิตร์ เนียมสกุล, สมเกียรติ ปัญญามัง, ทรงพล ผดุงพัฒน์, อภิรักษ์ ศักดิ์เพ็ชร, บุญญาณี ศุภผล, สังคม คณิตวิทยา, ธวัช จอมใจ, อัมรา โยวัง
2	06030 01135	2950	2950	อนุสิทธิบัตร เคมี	ยาสมุนไพรกุณฑีดำ	การประดิษฐ์นี้กล่าวถึงยาสมุนไพรกุณฑีดำ ...	1. ยาสมุนไพรกุณฑีดำ ซึ่งประกอบด้วย ...	นายประยูร เพชรสังวาลย์	ประยูร เพชรสังวาลย์

ลำดับที่	เลขที่คำขอ	เลขที่ประกาศ	เลขที่สิทธิบัตร	ประเภทสิทธิบัตร	ชื่อสิ่งประดิษฐ์/การออกแบบ	บทคัดย่อ	ข้อถือสิทธิ์	ผู้ขอจดสิทธิบัตร	ผู้ประดิษฐ์/ออกแบบ
3	04030 00018	2216	2216	อนุสิทธิบัตร เคมี	ยาสุมสมุนไพร	องค์ประกอบของยาสมุนไพรในการประดิษฐ์นี้ ...	1. องค์ประกอบยาสุมสมุนไพรซึ่งประกอบด้วย ...	นายถ่าย อ่ำศรี, นางปทุมวดี มีนาค	ถ่าย อ่ำศรี, ปทุมวดี มีนาค
4	04030 00694	1822	1822	อนุสิทธิบัตร เคมี	ยาแคปซูลเถาวัลย์เปรียง	ยาแคปซูลเถาวัลย์เปรียงประกอบด้วยเถาวัลย์เปรียง, ...	1.ตำรับยาแคปซูลเถาวัลย์เปรียงซึ่งประกอบด้วย ...	มูลนิธิโรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร	สุภาภรณ์ ปิติพร
5	04030 00174	1692	1692	อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม)	ที่นอนธรรมรักษา	ที่นอนสมุนไพรโดยนำเอาสมุนไพรไทย-จีน มาล้างแล้ว ...	1.ที่นอนสมุนไพรโดยที่สมุนไพรประกอบคือ โกฏเชียง ...	นางสาวญาณชาติ นารถไทยวัฒนา	กนกพร สุวรรณศิลา
6	99010 02398	40146		สิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์	สูตรผสมสมุนไพรสำหรับรักษาโรคเอดส์ และ/หรือโรคที่เกี่ยวข้องกับโรคเอดส์	การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับการใช้สูตรผสม ...	1. สูตรผสมสมุนไพรของการประดิษฐ์นี้สำหรับบำบัดและ ...	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	โสภณ เรืองสำราญ, อมร เพชรสม, นาตยา งามโรจนวณิชย์, ธีรยุทธ วีไลวัลย์, ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, ประวิทย์ สิงห์โตทอง, ประภาส ขอพึ่ง, กุลพันธ์ ศิริวัฒน์, ศีลพงศ์ ใบเงิน, สันติ ตั้งประภา, เกษม สุขก้องวารี

เอกสารอ้างอิง

กรมทรัพย์สินทางปัญญา กระทรวงพาณิชย์. เถาวัลย์เปรียง. 2555, [สืบค้น 13 มิถุนายน 2555] เข้าถึงได้ที่ http://110.164.177.243/DIP Search/PatentSearch/Search Quick.aspx.

ISBN 978-616-11-1466-4