

บทคัดย่อ

ตำรับสมุนไพรไทยชื่อประสะเปราะใหญ่ มีสรรพคุณเป็นยารักษาอาการหวัด หอบหืด และแก้ไข้ ประกอบด้วยพืชสมุนไพรจำนวน 19 ชนิด คือ ผลกระวาน (*Amomum testaceum*), ผลเทียนตาตุ๊กแตน (*Anethum graveolens*), รากโกฐสอ (*Angelica dahurica*), รากโกฐเชียง (*Angelica sinensis*), โกฐจุฬาลำพาทั้งต้น (*Artemisia annua*), เหง้าโกฐเขมา (*Atractylodes lancea*), ผลเพียนขาว (*Cuminum cyminum*), แก่นจันทน์แดง (*Dracaena loureiri*), ผลเพียนข้าวเปลือก (*Foeniculum vulgare*), เหง้าเปราะหอม (*Kaempferia galanga*), เมล็ดเพียนแดง (*Lepidium sativum*), เหง้าโกฐหัวบัว (*Ligusticum sinense*), ดอกสารภี (*Mammea siamensis*), ดอกบุนนาค (*Mesua ferrea*), ดอกพิกุล (*Mimusops elengi*), แก่นจันทน์เทศ ดอกจันทน์ ลูกจันทน์ (*Myristica fragrans*), เกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera*), ผลเพียนดำ (*Nigella sativa*) และดอกกานพลู (*Syzygium aromaticum*) ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษารังนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ด้านการอักเสบและ ฤทธิ์ด้านการแพ้ของพืชสมุนไพรเดี่ยวและสมุนไพรทั้งตำรับ วิธีการศึกษาโดยการนำสมุนไพรมาแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำมาสกัดด้วยเอทานอล กากที่เหลือนำมาต้มน้ำ และส่วนที่สองนำสมุนไพรมาต้มน้ำ ซึ่งเป็นวิธีการสกัด ตามตำรา แผนไทย หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มา ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging assay ทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ โดยดูการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์และการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ RAW 264.7 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย LPS และทดสอบฤทธิ์ด้านการแพ้ โดยดูการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ β -hexosaminidase จากเซลล์ RBL-2H3 ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการแพ้

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดชั้นเอทานอล (Et) และชั้นน้ำ (EW, HW) ของกานพลูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 6.56, 4.73 และ 5.30 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ในการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ พบว่าสารสกัดชั้นเอทานอลของโกฐเขมา มีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์จากเซลล์ RAW 264.7 ได้ดีที่สุด (ค่า IC_{50} เท่ากับ 9.70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาได้แก่ โกฐเชียง และเพียนขาว (ค่า IC_{50} เท่ากับ 12.52 และ 13.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ส่วนสารสกัดเอทานอลทั้งตำรับมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 18.40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนั้นสารสกัดชั้นเอทานอลของเพียนขาว ตำรับรวม และโกฐเขมา มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α อีกด้วย (ค่า IC_{50} เท่ากับ 7.95, 20.34 และ 24.35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ในการทดสอบฤทธิ์ด้านการแพ้ จาก

ผลการทดลองพบว่าสารสกัดชั้นเอทานอลของสารภี มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ β -hexosaminidase จากเซลล์ RBL-2H3 ได้ดีที่สุด (ค่า IC_{50} เท่ากับ 7.90 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร) รองลงมาได้แก่ จันทน์แดง และดอกจันทน์ (ค่า IC_{50} เท่ากับ 10.67 และ 11.65 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ส่วนสารสกัดเอทานอลทั้งตำรับมีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.59 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดชั้นน้ำไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ และการหลั่งเอนไซม์ β -hexosaminidase (ค่า IC_{50} มากกว่า 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

โดยสรุป สารสกัดชั้นเอทานอลของประสะเปราะใหญ่ มีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้และต้านการอักเสบ โดยมีสารสกัดชั้นเอทานอลของโกฐเขมาและบุนนาคเป็นพืชที่มีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ จากการศึกษาครั้งนี้ใช้เป็นข้อมูลเพื่อสนับสนุนพืชสมุนไพรในการรักษาอาการหวัด แก้ไข้ โรคที่เกี่ยวข้องกับการแพ้และการอักเสบได้

งานในอนาคต ควรสกัดสารสำคัญจากโกฐเขมา และบุนนาค พร้อมทั้งแยกสารจากพืชสมุนไพรที่แสดงฤทธิ์ที่ดีที่สุดของแต่ละการทดสอบ ด้วยวิธีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการแยกสาร (Bioassay guide of isolation) เพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ต้านภูมิแพ้และต้านการอักเสบเพื่อใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพและการศึกษาความคงตัวของตำรับต่อไป

Abstract

Prasaprophyai preparation has been used in Thai traditional medicine preparation to treat colds, asthma and fever. It consists of nineteen medicinal plants. They are *Amomum testaceum* Ridl. (fruit), *Anethum graveolens* L. (fruit), *Angelica dahurica* Benth. (root), *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels (root), *Artemisia annua* L. (all part), *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. (rhizome), *Cuminum cyminum* L. (fruit), *Dracaena loureiri* Gagnep. (stem), *Foeniculum vulgare* Mill. var. *dulce* (Mill.) Thell. (fruit), *Kaempferia galanga* L. (rhizome), *Lepidium sativum* L. (seed), *Ligusticum sinense* Olive. cv. Chuanxiong (rhizome), *Mammea siamensis* Kosterm. (flower), *Mesua ferrea* L. (flower), *Mimusops elengi* L. (flower), *Myristica fragrans* Houtt. (stem, aril, seed), *Nelumbo nucifera* Gaertn. (pollen), *Nigella sativa* L. (seed) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry (flower-bud). The objectives of this study were to study the antioxidant activity, anti-inflammatory activities and anti-allergic activity of Prasaprophyai preparation and its ingredients. They were divided two parts. One part was extracted by macerating in 95% ethanol (Et), the residue of this extracts were boiled in water (EW) another part was boiled in water (HW). The methods of extraction were imitated from Thai traditional medicine books. These extracts were examined for their antioxidant activity using DPPH assay, anti-inflammatory assay by determination inhibitory activities against lipopolysaccharide (LPS) induced nitric oxide (NO) production and TNF- α release in RAW 264.7 cell lines using Griess reagent, and anti-allergic activity by inhibitory activity on the release of β -hexosaminidase from RBL-2H3 cells.

The results indicated that the ethanolic (Et), the water extracts from residue of ethanolic extract (EW) and water extract (HW) of *Syzygium aromaticum* showed the highest antioxidant activity (EC_{50} = 6.56, 4.73 and 5.30 μ g/ml, respectively). The results found that the ethanolic extract of *Atractylodes lancea* exhibited the most potent anti-inflammation by inhibitory activity against lipopolysaccharide (LPS) induced nitric oxide (NO) production in RAW 264.7 cells, with an IC_{50} value of 9.70 μ g/ml, followed by the ethanolic extract of *Angelica sinensis* and *Cuminum cyminum* (IC_{50} = 12.52 and 13.56 μ g/ml, respectively). The ethanolic extract of Prasaprophyai formula exhibited the inhibitory activity with IC_{50}

value of 18.40 $\mu\text{g/ml}$. The results also found the ethanolic extracts of *Cuminum cyminum*, Prasaprophyai formula and *Atractylodes lancea* exhibited a strong $\text{TNF-}\alpha$ inhibitory activity (IC_{50} = 7.95, 20.34 and 24.35 $\mu\text{g/ml}$, respectively). The ethanolic extract of *Mammea siamensis* was also found to exhibit the most potent anti-allergic effect against antigen-induced β -hexosaminidase release as a marker of degranulation in RBL-2H3 cells, with an IC_{50} value of 7.90 $\mu\text{g/ml}$, followed by the ethanolic extract of *Dracaena loureiri* and *Myristica fragrans* (Mace) (IC_{50} = 10.67 and 11.65 $\mu\text{g/ml}$ respectively). The ethanolic extract of Prasaprophyai formula exhibited the inhibitory activity with IC_{50} value of 16.59 $\mu\text{g/ml}$. The water extract (EW, HW) of all plants were apparently inactive in anti-inflammatory and anti-allergic activities.

In conclusion, the ethanolic extract of Prasaprophyai preparation showed anti-allergy and anti-inflammatory effect by reducing nitric oxide. The active plant extracts are the ethanolic extract of *Atractylodes lancea* and *Mesua ferrea* as the active ingredients for anti-allergy, antioxidant and anti-inflammation. These results can support using these Thai medicinal plants for treatment of fever, cold, allergy-related diseases and inflammatory-related diseases.

Future study should be continued to isolated active compounds from *Atractylodes lancea* and *Mesua ferrea* and isolated pure compounds from the plants which exhibited the highest each activity by bioassay guide isolation method. Their active ingredients should be markers for analysis and determination of the stability of Prasaprophyai preparation.