

นิพนธ์ค้นฉบับ

ฤทธิ์ต้านการแพ้ของพิกัดยาตรีภูฏก ตรีผลา และตรีสาร

นภาพร พัฒนาเจริญชัย*, อรุณพร อธิรัตน์** ***

บทคัดย่อ

- บทนำ:** พิกัดยาตรีภูฏกแพทย์แผนไทยใช้เป็นยาปรับธาตุหรือปรับระบบภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับโรคในฤดูฝน พิกัดยาตรีผลา ใช้ปรับธาตุในฤดูร้อน พิกัดยาตรีสารเป็นยาปรับธาตุในฤดูหนาว บัญชียาหลักแห่งชาติใช้ยาตรีภูฏกเพื่อปรับสมดุลธาตุในร่างกาย วัตถุประสงค์การวิจัยนี้เพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการแพ้ของพิกัดยาทั้ง ๓ ตำรับนี้
- วิธีการศึกษา:** นำสมุนไพรรวมสามพิกัดและสมุนไพรวัดเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบหมักด้วย ๙๕% เอทานอลและต้มกับน้ำและนำสารสกัดทั้งหมดมาทดสอบฤทธิ์ต้านการแพ้ โดยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ β -hexosaminidase จากเซลล์เม็ดเลือดขาวของหนู (RBL-2H3) ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการแพ้
- ผลการศึกษา:** จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านการแพ้พบว่าสารสกัดชั้นเอทานอลของตรีภูฏกมีฤทธิ์ต้านการแพ้ได้สูงที่สุด (IC_{50} เท่ากับ ๓๘.๐๒ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือสารสกัดชั้นเอทานอลของเมล็ดพริกไทยดำ ดอกดีปลี (IC_{50} เท่ากับ ๔๔.๙๗ และ ๕๐.๙๑ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ แต่ทั้งนี้สารสกัดชั้นเอทานอลของตรีภูฏกมีค่า IC_{50} สูงกว่าสารมาตรฐาน คือ คลอเฟนิรามีน (26.12 ± 1.88 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < ๐.๐๕)
- วิจารณ์ และสรุปผลการศึกษา:** จากผลการศึกษานี้พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลของพิกัดยาตรีภูฏกและสมุนไพรวัดเดี่ยวในพิกัดมีฤทธิ์ต้านการแพ้ที่ดีที่สุด สามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้พิกัดยาตรีภูฏกเพื่อเป็นยาปรับธาตุที่เกี่ยวข้องกับโรคภูมิแพ้ได้
- คำสำคัญ:** ฤทธิ์ต้านการแพ้, ตรีภูฏก, ตรีผลา, ตรีสาร

วันที่รับบทความ: ๓ กรกฎาคม ๒๕๖๐

วันที่อนุญาตให้ตีพิมพ์: ๘ สิงหาคม ๒๕๖๐

* หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ (เภสัชโภชนศาสตร์) คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
** สถานการณ์แพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
*** ศูนย์ความเป็นเลิศทางการวิจัยแพทย์แผนไทย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผู้ติดต่อ: รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณพร อธิรัตน์ สถานการณ์แพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และศูนย์ความเป็นเลิศทางการวิจัยแพทย์แผนไทย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อีเมล: iarunporn@yahoo.com

บทนำ

ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศในปัจจุบัน ทำให้โรคระบบทางเดินหายใจตามฤดูกาลมีความรุนแรงของโรคมากขึ้น เช่น โรคไข้หวัดใหญ่ โรคหัดหรือโรคหัดเยอรมัน หรือแม้แต่โรคภูมิแพ้ ซึ่งพบว่าประชากรทั่วโลกป่วยเป็นโรคภูมิแพ้มากขึ้น^๑ โรคภูมิแพ้คือ โรคที่มีความผิดปกติจากภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity) ของระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย ที่ตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมหรือสารก่อภูมิแพ้ (allergens) ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมรอบตัวเรา โดยเมื่อร่างกายได้รับสารก่อภูมิแพ้ ก็จะสร้างแอนติบอดี (อิมมูโนโกลบูลินอี: Immunoglobulin E) เพื่อตอบสนองอย่างจำเพาะเจาะจงกับสารก่อภูมิแพ้ชนิดนั้นๆ ซึ่งถูกกระตุ้นให้มีการสร้างขึ้นมาก่อนจากสารก่อภูมิแพ้ชนิดนั้นๆเอง^๒ สถานการณ์ของโรคภูมิแพ้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนทั้งทั่วโลกและในประเทศไทย โดยการสำรวจในประเทศไทยพบว่า มีอุบัติการณ์เพิ่มขึ้น ๓ - ๔ เท่า ภายในระยะเวลา ๔๐ ปีที่ผ่านมา ทำให้โรคภูมิแพ้เป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญ เนื่องจากเป็นโรคที่ส่งผลให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่แย่ลง ไม่สามารถดำเนินชีวิตได้เป็นปกติ^๓

ในทางการแพทย์แผนไทย ได้มีการจัดหมวดหมู่ยาเข้าด้วยกัน โดยจัดสมุนไพรที่มีรส หรือสรรพคุณที่ไม่ขัดกัน แล้วรวมเรียกเป็นชื่อเดียวกันทั้งนี้เพื่อสะดวกในการจดจำและการปรุงยา เรียกว่า คณะเภสัช เช่น การจัดตัวยาน้อยชนิด เรียกว่า จุลพิภค การจำกัดจำนวนตัวยาดังแต่สองสิ่งขึ้นไป เรียกว่า พิภคยา และมหาพิภคยา คือ การเอาตัวยาหลายสิ่งมารวมกัน ซึ่งพิภคยา ยังสามารถแบ่งออกได้เป็น พิภคยา ๒ สิ่ง ๓ สิ่ง จนถึง พิภคยา ๑๐ สิ่ง^๔ โดยจะมีชื่อเรียกต่างกัน ทั้งนี้ได้มีการประกาศจากคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติได้อนุมัติให้บรรจุยาตรีพิภค (ยา ๓ สิ่ง) ลงในบัญชียาหลักแห่งชาติเพื่อใช้ปรับสมดุลธาตุในร่างกายตามฤดูกาลต่างๆ ดังนี้ พิภคยาตรีภค (สมุนไพรที่มีรสเผ็ดร้อน ๓ อย่าง) เป็นยาประจำวันสันตฤดู หรือฤดูฝน ประกอบด้วยสมุนไพร ๓ ชนิด ได้แก่ เมล็ดพริกไทย ผลติปลี และเหง้าขิงแห้ง สมุนไพรเหล่านี้มีฤทธิ์ร้อน จะช่วยเพิ่มการไหลเวียนเลือดลมในร่างกาย ทางกรมแพทย์แผนไทยกล่าวไว้ว่า ในฤดูฝนคนส่วนใหญ่จะเจ็บป่วยจากธาตุลม จึงต้องใช้ยาที่มีฤทธิ์ร้อนเพื่อเพิ่มการทำงานของธาตุในร่างกาย พิภคยาตรีผลา (สมุนไพรที่เป็นผลไม้ ๓ อย่าง) เป็นยาประจำคิมหันตฤดู หรือฤดูร้อน ประกอบด้วยผลของสมุนไพร ๓ ชนิด ได้แก่

สมอไทย สมอพิเภก และมะขามป้อม โดยสมุนไพรทั้งสามชนิดเป็นสมุนไพรที่รสเปรี้ยวจึงเป็นยาที่ช่วยระบายความร้อนในร่างกายในฤดูร้อน เพราะมีฤทธิ์เป็นยาระบายได้^๕ นอกจากนี้ มะขามป้อมมีวิตามินซีสูงซึ่งอาจทำให้มีผลป้องกันหวัดหรืออาการแพ้และยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และพืคัยาตรีสาร (สมุนไพรที่ให้กลิ่นในฤดูหนาว) เป็นยาประจำเหมันตฤดู หรือฤดูหนาว ประกอบด้วยรากเจตมูลเพลิงแดง เกาสะค่าน และรากข้าวพลู สมุนไพรพืคัยาตรีสารมีรสร้อน กระจายเลือดลมและช่วยเพิ่มเมแทบอลิซึมในร่างกายในช่วงฤดูหนาว จะทำให้ร่างกายอบอุ่น^๖

มีรายงานการศึกษาพบว่า สารสกัดชั้นเอทานอลของพริกไทยดำมีฤทธิ์ต้านการแพ้ โดยการยับยั้งการหลั่งฮิสตามีนเนื่องจากสารสกัดชั้นเอทานอลของพริกไทยดำสามารถยับยั้งการหลั่งเอนไซม์เบต้าเฮกซามินิเดส (β -hexosaminidase) ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้จะถูกคัดหลั่งออกมาพร้อมกับฮิสตามีนทำให้เกิดการแพ้^๗ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ ๑๔.๐ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน piperine ซึ่งเป็นสารอัลคาลอยด์ พบในพริกไทยดำมีฤทธิ์ต้านการแพ้ที่ดี โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ ๑๖.๐ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร^๘ สารสกัดชั้นเอทานอลของขิงมีฤทธิ์ต้านการแพ้ มีค่า IC_{50} เท่ากับ ๔๐.๒ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร^๙ 6-gingerol ซึ่งเป็นสารสำคัญในขิงพบว่ามีฤทธิ์ต้านเยื่อจมูกอักเสบจากการแพ้ในสัตว์ทดลอง^{๑๐} แต่ทั้งนี้ยังไม่มียาสมุนไพรเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านการแพ้ของสมุนไพรทั้ง ๓ พืคัยาตรีสาร ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการแพ้ของพืคัยาตรีภค ตรีผลา และตรีสารและเปรียบเทียบสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบของตำรับเพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการใช้ยาสมุนไพรเพื่อต้านการแพ้

วิธีการศึกษา

๑. วัตถุประสงค์และวิธีการสกัด

นำวัตถุดิบสมุนไพรแต่ละชนิดซึ่งได้ทำเป็น Herbarium เปรียบเทียบเก็บในพิพิธภัณฑ์พืชของศูนย์สมุนไพรทักษิณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ดังแสดงในตารางที่ ๑ มาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ ๕๐ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง บดหยาบ นำสมุนไพรมาสกัดด้วยเอทานอลและน้ำ

ตารางที่ ๑ แสดงตำรับ และสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบของสมุนไพรแต่ละตำรับ

ตำรับ	ชื่อสมุนไพร	Species	Family	Part used	Voucher specimen number
ตรีภูกุก	พริกไทยดำ	<i>Piper nigrum</i> Linn.	PIPERACEAE	เมล็ด	SKP 146161401
	ดีปลี	<i>Piper retrofractum</i> Vahl.	PIPERACEAE	ดอก	SKP 146161801
	ขิง	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.	ZINGIBERACEAE	เหง้า	SKP 206261501
ตรีผลา	สมอไทย	<i>Phyllanthus emblica</i> Linn.	EUPHORBIACEAE	ผล	SKP 071160501
	สมอพิเภก	<i>Terminalia bellirica</i> Roxb.	COMBRETACEAE	ผล	SKP 049200201
	มะขามป้อม	<i>Terminalia chebula</i> Retz.	COMBRETACEAE	ผล	SKP 049200301
ตรีสาร	เจตมูลเพลิงแดง	<i>Piper interruptum</i> Opiz.	PIPERACEAE	เถา	SKP 146160901
	ข้าพลุ	<i>Piper sarmentosum</i> Roxb.	PIPERACEAE	ราก	SKP 146161901
	สะค้าน	<i>Plumbago indica</i> Linn.	PLUMBAGINACEAE	ราก	SKP 148161901

๑.๑ การหมักด้วยเอทานอล

นำสมุนไพรเดี่ยวของแต่ละพืชตามผสมกันในอัตราส่วนเท่าๆ กัน (๑ : ๑ : ๑) และสมุนไพรเดี่ยวในแต่ละพืชก็คั้นนำไปหมักด้วย ๙๕% เอทานอล (ทั้งหมด ๓ ครั้ง) กรองและทำให้แห้งด้วยวิธี evaporation ด้วยเครื่อง Rotary evaporator นำสารสกัดที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ ๔๕ องศาเซลเซียส เก็บที่อุณหภูมิ -๒๐ องศาเซลเซียส

๑.๒ การสกัดด้วยน้ำ

นำสมุนไพรเดี่ยวของแต่ละพืชตามผสมกันในอัตราส่วนเท่าๆ กัน (๑ : ๑ : ๑) นำมาต้มสกัดด้วยน้ำ กรองแล้วทำให้แห้งโดยวิธี freeze drying ด้วยเครื่อง Lyophilizers จากนั้นเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ -๒๐ องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบฤทธิ์

๒. การทดสอบฤทธิ์ต้านการแพ้ โดยวิธีการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ β -Hexosaminidase จากเซลล์ RBL-2H3

การทดสอบฤทธิ์ต้านการแพ้มีหลักการตั้งนี้ สารก่อภูมิแพ้ (antigen) จะกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด basophil (Rat basophilic leukemia; RBL-2H3 cells) ให้เกิดการ degranulation มีผลทำให้ฮิสตามีน (histamine) และสารตัวกลางอื่นๆ ที่ถูกเก็บสะสมไว้ใน granule ของเซลล์มาสต์ถูกหลั่งออกมาพร้อมกัน β -hexosaminidase เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่ถูกเก็บสะสมไว้ใน granule ของเซลล์มาสต์และจะถูกคัดหลั่งออกมาพร้อมกับฮิสตามีน ดังนั้นจึงใช้เอนไซม์นี้เป็น marker ในกระบวนการ degranulation ของเซลล์มาสต์ได้^{๑๓} โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้เซลล์มาสต์จากหนู (RBL-2H3) ที่ซื้อจาก American type culture collection ATCC (CRL-2256,

VA, USA) เลี้ยงเซลล์ในอาหารชนิด minimum essential medium eagle (MEM) ที่เติม 10% fetal bovine serum (FBS), 2mM glutamine, penicillin (๑๐๐ หน่วยต่อมิลลิลิตร) และ streptomycin (๑๐๐ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มี 5% CO₂ ทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๒ - ๓ วัน จนเซลล์มีความหนาแน่นประมาณร้อยละ ๘๐ จึงนำมาทำการทดลอง โดยการทดลองในครั้งนี้ได้ดัดแปลงวิธีมาจากงานวิจัยของ Tewtrakul และ Itharat^{๑๔} โดยจะใช้การวัดหาปริมาณเอนไซม์ β -hexosaminidase ที่หลั่งออกมาโดยใช้เทคนิควัดการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometry) เริ่มจาก subculture เซลล์มาสต์โดยใช้ 0.25% trypsin EDTA นำไปบ่มที่ ๓๗ องศาเซลเซียส จนเซลล์หลุดจากพื้นผิวภาชนะที่เลี้ยง ทำการปั่นล้างและดูด 0.25% trypsin EDTA ออก เติมหาอาหารลงไปและนับจำนวนเซลล์ให้ได้ ๕ x ๑๐^๕ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ดูดเซลล์ใส่ 24 wells plates หลุมละ ๔๐๐ ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ ๓๗ องศาเซลเซียส ๑ ชั่วโมง นำมาเติม anti-dinitrophenyl immunoglobulin E (anti-DNP IgE) (๐.๔๕ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในทุกหลุม ยกเว้นกลุ่ม Normal (N) เติมหาอาหารเลี้ยงเซลล์แทน นำไปบ่มที่ ๓๗ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง เพื่อ sensitize เซลล์ จากนั้นนำมาดูอาหารเลี้ยงเซลล์ออกให้หมด ล้างด้วย Siraganian buffer ๕๐๐ ไมโครลิตร [119 mM NaCl, 5 mM KCl, 5.6 mM glucose, 0.4 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 25 mM piperazine-N, N'-bis (2-ethanesulfonic acid) (PIPES), 0.1% bovine serum albumin (BSA) และ 40 mM NaOH, pH 7.2] เติมหาอาหารเลี้ยงเซลล์ หลุมละ ๑๖๐ ไมโครลิตร

นำไปป่มที่ ๓๗ องศาเซลเซียส ๑๐ นาที เติมสารสกัดที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปในกลุ่ม Test (T) หลุมละ ๒๐ ไมโครลิตร ส่วนกลุ่ม Control (C), Normal (N) เติม Siraganian buffer ๒๐ ไมโครลิตรแทน นำไปป่มที่ ๓๗ องศาเซลเซียส ๑๐ นาที เติม antigen (DNP-BSA) (ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ ๑๐ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในกลุ่ม Test และ Control หลุมละ ๒๐ ไมโครลิตร กลุ่ม Normal เติม Siraganian buffer ๒๐ ไมโครลิตรแทน เขย่าเบาๆ แล้วนำไปป่มที่ ๓๗ องศาเซลเซียส ๒๐ นาที จากนั้นจึงดูดเอาส่วนใสมาวัดหาปริมาณเอนไซม์ β -hexosaminidase โดยการดูดส่วนใสลงใน 96 wells plates หลุมละ ๕๐ ไมโครลิตร โดยดูดใส่เป็นสองส่วนเหมือนกัน ส่วนบนเติม substrate (1 mM *p*-nitrophenyl-*N*-acetyl- β -D-glucosaminide) ที่ละลายใน 0.1 M citrate buffer (pH 4.5) ส่วนล่าง (Blank) ใส่ 0.1 M citrate buffer แทน นำไปป่มที่ ๓๗ องศาเซลเซียส ๑.๓๐ ชั่วโมง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการเติม (0.1 M $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ pH 10.0) ลงไปหลุมละ ๒๐๐ ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ๔๐๕ นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ได้ร้อยละ ๕๐ (IC_{50}) ตามสมการดังนี้

$$\% \text{ Inhibition} = [1 - (\text{T} - \text{B}) / (\text{C} - \text{N})] \times 100$$

โดยที่ N แทนค่า absorbance ของ Normal
C แทนค่า absorbance ของ Control
T แทนค่า absorbance ของ Test
B แทนค่า absorbance ของ Blank

๓. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านการแพ้ ทำการทดสอบตัวอย่างละ ๓ ครั้ง ($n = 3$) และนำผลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการวัด (standard error of measurement; mean \pm SEM) และเปรียบเทียบผลโดยใช้สถิติ One-way analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับ ($p < 0.05$)

ผลการศึกษา

จากการสกัดผงสมุนไพร โดยเลียนแบบการสกัดหรือการเตรียมของหมอยพื้นบ้าน ได้ตัวอย่างสารสกัดชั้น ๙๕% เอทานอลและชั้นน้ำ ทั้งหมด ๑๕ ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบทั้งสามตรีฟักตยา พักตยาตรีผลาที่สกัดด้วยน้ำมีร้อยละของผลผลิตมากที่สุดคือ ๒๖.๓๑ ส่วนสารสกัดแอลกอฮอล์พบว่า สารสกัดตรีผลาก็มีร้อยละของสารสกัดมากที่สุดเช่นกัน คือ ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ ๑๙.๕๙ สารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่สกัดด้วย ๙๕% เอทานอล พบว่าร้อยละของผลผลิตของสารสกัดมากที่สุดคือ สมอไทย มีค่าเท่ากับ ๓๔.๘๕ รองลงมาคือ มะขามป้อม และสมอภิกษา โดยมีค่า ๒๑.๕๙ และ ๑๙.๕๙ ตามลำดับ แสดงอยู่ในตารางที่ ๒

เมื่อนำสารสกัดของทุกพักตยาและสมุนไพรเดี่ยว มาทดสอบฤทธิ์ต้านการแพ้โดยศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เบต้าเฮกโซซามินิเดส ซึ่งแสดงผลในตารางที่ ๓ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดชั้นเอทานอลของพักตยาตรีภูกภูมิฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เบต้าเฮกโซซามินิเดส ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} คือ ๓๘.๐๒ \pm ๑.๓๔ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดพักตยาตรีผลาและตรีผลาทั้งชั้นเอทานอลและชั้นน้ำ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เบต้าเฮกโซซามินิเดส น้อย โดยมีค่า IC_{50} คือ > 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสารสกัดของพักตยาทั้งหมดมีค่า IC_{50} สูงกว่า สารมาตรฐานคือ คลอเฟนิรามีน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$)

สารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เบต้าเฮกโซซามินิเดสที่ดีที่สุดคือ พริกไทยดำ โดยมีค่า IC_{50} คือ ๔๔.๙๗ \pm ๖.๑๖ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสมุนไพรเดี่ยวที่มีฤทธิ์รองลงมาคือ ตีปลี สะค่าน ข้าวพูน และขิง โดยมีค่า IC_{50} คือ ๕๐.๙๑ \pm ๖.๔๔, ๖๒.๙๐ \pm ๒.๒๗, ๗๘.๓๐ \pm ๓.๐๙ และ ๘๔.๘๖ \pm ๑๔.๒๘ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สมุนไพรเดี่ยวตัวอื่นๆ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เบต้าเฮกโซซามินิเดส น้อย โดยมีค่า IC_{50} คือ > 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อทำการเปรียบเทียบความแตกต่างกับสารมาตรฐานพบว่า สมุนไพรเดี่ยวทุกตัวมีค่า IC_{50} สูงกว่า สารมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$)

แต่ทั้งนี้พบว่า เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านการแพ้ระหว่าง พักตยากับสมุนไพรเดี่ยวภายในพักตยานั้นๆ พบว่า พักตยาตรีภูกภูมิให้ผลที่น่าสนใจ คือ เมื่อนำสมุนไพรเดี่ยวมารวมกันเป็นพักตยาตรีภูกภูมิแล้ว มีฤทธิ์ต้านการแพ้ที่ดีกว่าสมุนไพรเดี่ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$)

ตารางที่ ๒ แสดงชื่อสมุนไพร และร้อยละน้ำหนักเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักสมุนไพรแห้ง (% yield) ที่ได้จากการแช่สกัดสารด้วย ๙๕% เอทานอลและน้ำ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	คำย่อ	% yield
ตรีภูก	๙๕% เอทานอล	TKE	๙.๙๙
ตรีภูก	น้ำ	TKW	๑๕.๔๕
พริกไทยดำ	๙๕% เอทานอล	PN	๖.๓๑
ดีปลี	๙๕% เอทานอล	PR	๘.๘๘
ขิง	๙๕% เอทานอล	ZO	๔.๗๓
ตรีผลา	๙๕% เอทานอล	TPE	๑๙.๕๙
ตรีผลา	น้ำ	TPW	๒๖.๓๑
สมอไทย	๙๕% เอทานอล	TC	๓๔.๘๕
สมอพิเภก	๙๕% เอทานอล	TB	๑๙.๕๙
มะขามป้อม	๙๕% เอทานอล	PE	๒๑.๕๙
ตรีสาร	๙๕% เอทานอล	TSE	๗.๓๕
ตรีสาร	น้ำ	TSW	๒๑.๑๖
เจตมูลเพลิงแดง	๙๕% เอทานอล	PI	๑๐.๖๑
ข้าพลุ	๙๕% เอทานอล	Pii	๖.๒๑
สะค้าน	๙๕% เอทานอล	PS	๒.๔๗

ตารางที่ ๓ แสดงฤทธิ์ต้านการแพ้ของพิกัดยาตรีภูก ตรีผลา ตรีสาร สมุนไพรเดี่ยวในแต่ละพิกัด และแสดงการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานด้วย One-way analysis of variance (ANOVA)

สมุนไพรและ สารมาตรฐาน	(% เฮอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง เอนไซม์เบต้าเฮกไซซามินิเดส ในแต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม)					IC ₅₀ ± SEM (ไมโครกรัมต่อ มิลลิกรัม)	p-value เทียบกับ คลอเฟนิรามีน
	๑	๑๐	๒๐	๕๐	๑๐๐		
TKE	-	๑๔.๑๗ ± ๐.๘๘	๑๙.๕๕ ± ๑.๓๙	๖๐.๒๒ ± ๓.๘๑	๙๓.๙๑ ± ๑.๔๗	๓๘.๐๒ ± ๑.๓๔	๐.๐๐๗
TKW	-	-	-	-	๐	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
PN	-	๑๒.๓๘ ± ๕.๑๒	๑๖.๙๙ ± ๔.๓๕	๕๐.๒๕ ± ๖.๑๒	๙๐.๗๐ ± ๐.๙๑	๔๔.๙๗ ± ๖.๑๖	๐.๐๔๓
PR	-	๑๕.๐๕ ± ๓.๒๑	๒๐.๖๐ ± ๓.๖๐	๔๑.๑๘ ± ๔.๓๖	๘๓.๖๘ ± ๕.๖๐	๕๐.๙๑ ± ๖.๔๔	๐.๐๒๑
ZO	-	๑๗.๐๓ ± ๒.๕๔	๒๓.๑๕ ± ๕.๓๐	๓๓.๗๘ ± ๗.๑๑	๕๖.๑๕ ± ๑.๙๒	๘๔.๘๖ ± ๑๔.๒๘	๐.๐๑๕
TPE	๑๕.๔๗ ± ๐.๗๑	๒๒.๐๙ ± ๐.๖๑	-	๒๙.๐๙ ± ๐.๗๙	๓๔.๐๕ ± ๐.๘๔	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
TPW	-	-	-	-	๖.๔๓ ± ๑.๓๘	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
TC	-	-	-	-	๑๘.๒๐ ± ๔.๓๕	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
TB	-	-	-	-	๔๔.๖๔ ± ๑๓.๑๓	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
PE	-	-	-	-	๓๖.๔๘ ± ๑๙.๕๑	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
TSE	-	-	-	-	๒๕.๗๕ ± ๐.๕๔	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
TSW	-	-	-	-	๐.๙๕ ± ๐.๔๓	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
PI	-	-	-	-	๐.๘๑ ± ๖.๔๔	> ๑๐๐	> ๐.๐๐๑
Pii	๖.๕๔ ± ๐.๔	๑๐.๖๙ ± ๐.๕๕	-	๑๖.๐๖ ± ๑.๒๑	๗๑.๓๙ ± ๓.๗๘	๗๘.๓๐ ± ๓.๐๙	> ๐.๐๐๑
PS	๑๒.๗๖ ± ๔.๘๔	๑๗.๐๘ ± ๓.๐๘	-	๓๕.๕๓ ± ๑.๘๖	๗๒.๕๙ ± ๖.๕๓	๖๒.๙๐ ± ๒.๒๗	> ๐.๐๐๑
คลอเฟนิรามีน	-	๑๗.๗๔ ± ๐.๔๑	๓๘.๖๓ ± ๑.๑๗	๗๒.๐๔ ± ๓.๗๑	๙๑.๘๑ ± ๖.๔๘	๒๖.๑๒ ± ๑.๘๙	

วิจารณ์ และสรุปผลการศึกษา

ปฏิกิริยาภูมิแพ้เกิดขึ้นหลังจากสัมผัสสารก่อภูมิแพ้ เรียกว่า "Sensitization phase" หลังจากนั้น antigen-presenting cells เช่น macrophages หรือ dendritic cells จะนำ antigen นั้นไปเสนอต่อ T-helper cells (TH : CD 4+) และ B cell โดย Interleukin (IL)-4 และ IL-13 จาก TH-2 lymphocytes จะกระตุ้นให้ B cells สร้าง IgE ขึ้นมา โดย allergen-specific IgE เหล่านี้จะจับกับ high affinity receptors บน mast cell และ basophil รวมทั้ง low affinity receptors บนเซลล์อื่นๆ ด้วย เช่น monocyte, eosinophil และ platelet หลังจากนั้น เมื่อผู้ป่วยสัมผัสกับสารก่อภูมิแพ้ antigen จะทำให้เกิด cross-linking ของ IgE ที่อยู่ใกล้เคียงกันกระตุ้นให้เกิด degranulation ของ mast cells ปลดปล่อย inflammatory mediators ออกมามากมาย เช่น histamine, leukotriene C4 (LTC4), prostaglandin D₂ (PGD₂) สารสื่ออักเสบที่หลังออกมาจะทำให้เกิด early-phase response (EPR) สารสื่อทั้งหมดที่หลังออกมานี้ จะไปกระตุ้น end organs ทำให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ^{๑๔} จากการศึกษาฤทธิ์ต้านการแพ้โดยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง histamine จาก mast cell และ basophil พบว่า ในการเกิด degranulation จะมีการหลั่งสาร histamine ควบคู่ไปกับการหลั่งเอนไซม์ เบต้าเฮกโซซามินิเดส เสมอ^{๑๖} ดังนั้นในปัจจุบันการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง histamine จาก mast cell และ basophil จึงใช้ปริมาณเบต้าเฮกโซซามินิเดส ที่หลั่งออกมาเป็น marker หรือตัวชี้วัดถึงอาการแพ้ที่เกิดขึ้น ซึ่งวิธีการวัดปริมาณ เบต้าเฮกโซซามินิเดส ที่หลั่งออกมาโดยใช้เทคนิค UV-Visible spectrophotometry ถือเป็นวิธีที่เชื่อถือได้ สะดวก และรวดเร็ว^{๑๗}

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า พิกัดยาและสมุนไพร ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เบต้าเฮกโซซามินิเดส คือ พิกัด ยาตริกฏุก พริกไทย ตีปลี ข้าพลู สะค้าน และขิง ซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีรสร้อนทั้งนี้สอดคล้องกับทฤษฎีการแพทย์แผนไทย คือ ในคัมภีร์โรคนิทานได้กล่าวไว้ว่า "อาไปธาตุชื่อว่าน้ำมูก เมื่อพิการแตงนั้น ให้ปวดในสมอง ให้น้ำมูกตก ให้ตามัว ให้ปวดศีรษะโทษ ๔ ประการนี้"^{๑๘} เกิดจากความไม่สมดุลของ ธาตุน้ำ และธาตุลม ต้องเลือกใช้ยาสมุนไพร ที่มีรสร้อน เพื่อช่วยให้ธาตุน้ำและธาตุลมกลับมาทำงานได้อย่างสมดุล โดยอาการที่กล่าวไว้ในคัมภีร์สอดคล้องกับอาการและอาการแสดงของโรคภูมิแพ้ในทางแพทย์แผนปัจจุบัน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสารสกัดขึ้นเอทานอลของ พริกไทยดำมีฤทธิ์ต้านการแพ้ โดยการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์

เบต้าเฮกโซซามินิเดสมีค่า IC₅₀ เท่ากับ ๑๔.๐ ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ส่วน piperine ซึ่งเป็นสารอัลคาลอยด์ พบในพริกไทยดำ มีฤทธิ์ต้านการแพ้ที่ดี โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ ๑๖.๐ ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร^{๑๙} เป็นต้น และเมื่อสังเกตสมุนไพรร่วมที่มีฤทธิ์ต้าน การแพ้ของการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเป็นส่วนประกอบของตำรับ ยาเบญจกูลที่ประกอบด้วยสมุนไพรร่วม ๕ ชนิด คือ ตีปลี ข้าพลู สะค้าน เจตมูลเพลิงแดง และขิง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของศุภิตา มากชูชิตและคณะ ในปี พ.ศ. ๒๕๖๐ โดยศึกษาฤทธิ์ต้าน การแพ้ของสมุนไพรร่วม ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์เบต้า เฮกโซซามินิเดส ในเซลล์ RBL-2H3 พบว่า ตีปลี สะค้าน เจตมูลเพลิงแดง และขิง มีฤทธิ์ต้านการแพ้ที่ดี มีค่า IC₅₀ เท่ากับ ๑๔.๑๓ ± ๐.๙๒, ๑๕.๘๒ ± ๒.๐๐, ๑๓.๓๑ ± ๑.๗๘ และ ๑๒.๙๓ ± ๑.๒๘ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ^{๒๐} แต่เมื่อ เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการแพ้ของการศึกษาครั้งนี้กับการศึกษา ของศุภิตาพบว่า ตัวอย่างสารสกัดของรายงานของศุภิตามีฤทธิ์ ต้านการแพ้ที่ดีกว่า ทั้งนี้อาจจะเป็นเนื่องจากความแตกต่างของ วัตถุประสงค์สมุนไพรร่วมนำมาใช้ในการศึกษา ซึ่งอาจจะเป็นในฤดูกาล ที่แตกต่างกัน หรือเก็บจากสถานที่ที่มีสภาพภูมิศาสตร์ต่างกัน จึงทำให้ปริมาณสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต่างกัน^{๒๑} ดังนั้นจึง ควรมีการควบคุมคุณภาพทางเคมี (Chemical fingerprint) ของวัตถุดิบสมุนไพรก่อนว่ามีปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ตาม เกณฑ์มาตรฐานหรือไม่ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบทั้ง ๓ พิกัด พบว่าพิกัดยาตริกฏุก ซึ่งเป็นยาบำรุงร่างกายประจำ ฤดูฝน มีฤทธิ์ในการต้านการแพ้ที่ดีที่สุด และมีฤทธิ์ดีกว่า สมุนไพรร่วมคือ พริกไทย ขิง ตีปลี ซึ่งผลครั้งนี้ก็สอดคล้องกับ งานวิจัยของศุภิตา ที่พบว่า ตำรับยาเบญจกูลออกฤทธิ์ต้านการ แพ้ดีกว่าสมุนไพรร่วมเดี่ยวทั้ง ๕ ชนิดภายในตำรับ นั้นแสดงถึงผล ของการนำสมุนไพรร่วมมารวมกันจึงเกิดการเสริมฤทธิ์หรือเรียกว่า เกิด Synergistic effect ทั้งนี้ก็เป็นไปตามทฤษฎีการปรุงยาไทย ที่จะปรุงยาเป็นพิกัด หมายถึงการใช้สมุนไพรร่วมหลายๆ ตัว ตาม หลักเภสัชกรรมแผนไทยที่มารวมกันเพื่อเพิ่มฤทธิ์ และลดพิษ จากสมุนไพรร่วมเดี่ยวเพื่อทำให้มีสรรพคุณที่ดีขึ้นนั่นเอง

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรก ที่ได้มีการ ศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการแพ้ของพิกัดยาตริกฏุกที่ใช้ปรับ ธาตุประจำฤดูกาล สรุปได้ว่า พิกัดยาตริกฏุกนั้น เป็นยาที่ช่วย ปรับธาตุและบำรุงร่างกายในฤดูฝนได้จริง เนื่องจากในฤดูฝน มีความชื้นในอากาศสูง อากาศค่อนข้างเย็นและชื้น ทำให้โรค ภูมิแพ้กำเริบขึ้นโดยเกิดอาการของไข้หวัด มีน้ำมูกเนื่องจา การแพ้และมีความรุนแรงมากกว่าในทุกๆ ฤดูกาล ซึ่งผลของ งานวิจัยครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นอย่างเด่นชัด ว่าพิกัดยาตริกฏุกมี

ฤทธิ์ด้านการแพ้ที่ดี ในขณะที่พิกัดยาอื่นมีฤทธิ์ด้านการแพ้ที่น้อย แต่ทั้งนี้จากการทบทวนวรรณกรรมฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของตำรับยาตรีผลา พบว่า ตรีผลาเป็นแหล่งรวมวิตามินซี มีสารกรดเอลลาจิก กรดแกลลิก กรดชิบูลิคิน เบเลอริคานิน เบต้า-ซิโตสเตอรอล และฟลาโวนอยด์^{๒๑} และยังพบรายงานฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ ฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ปกป้องเยื่อบุกระเพาะอาหาร ฤทธิ์ปกป้องแผลกระเพาะอาหาร กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด ฤทธิ์ปกป้องเซลล์ตับ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ลดไขมันในเลือด และฤทธิ์ต้านมะเร็ง^{๒๒} ซึ่งตำรับตรีผลาอาจจะมีฤทธิ์ด้านการแพ้ด้วยกลไกอื่น เช่น วิตามินซีช่วยการเพิ่มการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวมาช่วยกำจัดฮิสตามีน^{๒๓} ที่ไม่เหมือนกับกลไกที่ทำการรักษาในครั้งนี้นั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องกลไกการออกฤทธิ์ด้านการแพ้ในระดับโมเลกุลของตรีผลาซึ่งเป็นตำรับรวมในอนาคตต่อไป นอกจากนี้เมื่อพิจารณาทฤษฎียาปรับธาตุตามทฤษฎีการแพทย์แผนไทย จะพบว่าพิกัดยาตรีผลา เป็นยาประจำฤดูร้อน ซึ่งโรคที่ระบาดในฤดูร้อน มักจะเกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร เช่น ท้องเสีย ดังนั้น ควรศึกษาว่าพิกัดยาตรีผลานั้นสามารถช่วยบรรเทาอาการท้องเสีย หรือมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงได้หรือไม่ ส่วนพิกัดยาตรีสาร เป็นยาประจำฤดูหนาว ซึ่งในฤดูหนาวโรคระบาดมักเกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจ เช่น ไข้หวัด หรือการติดเชื้อจากไวรัส ดังนั้นควรมีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส ฤทธิ์ป้องกันไข้หวัด หรือฤทธิ์เพิ่มภูมิต้านทาน เป็นต้น นอกจากนี้ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ด้านการอักเสบด้วย ทั้งการอักเสบเฉียบพลันและการอักเสบเรื้อรัง เนื่องจากในปฏิกิริยาของการแพ้ มักจะเกิดขึ้นพร้อมกับปฏิกิริยาการอักเสบเสมอ

จากผลการวิจัยสรุปได้ว่าตรีผลาเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการรักษาโรคภูมิแพ้ เป็นหวัดในช่วงฤดูฝนสมุนไพรเดี่ยวในตำรับจะมีฤทธิ์ด้านการแพ้น้อยกว่าตำรับ ทั้งนี้เนื่องจากมีสารสำคัญช่วยเสริมฤทธิ์ ซึ่งเป็นการสนับสนุนองค์ความรู้ของไทยที่ใช้อยาสุมไพรเป็นตำรับมากกว่าการใช้สุมไพรเดี่ยว ผลการวิจัยของตำรับยาตรีผลาที่สามารถรักษาอาการภูมิแพ้ในครั้งนี้นั้นควรนำไปพัฒนาเป็นอาหารเสริมต้านการแพ้ได้ ทั้งนี้เนื่องจากมีส่วนประกอบเป็นอาหาร คือ พริกไทย ขิง และดีปลี เป็นตำรับที่ประกอบไปด้วยเครื่องเทศ ซึ่งน่าจะปลอดภัยและเป็นอาหาร ดังนั้นจึงควรพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้บรรเทาอาการหวัด อาการแพ้โดยการทดลองในสัตว์ทดลองและศึกษาในคลินิกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักคณะกรรมการอุดมศึกษา และศูนย์ความเป็นเลิศทางการวิจัยแพทย์แผนไทย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Small P, Kim H. Allergic rhinitis, Allergy, asthma, and clinical immunology: official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology. 2011; 7Suppl1:S3.
- สมบูรณ์ จันทร์สกุลพร. ระบาดวิทยาและความสัมพันธ์ระหว่างโรคภูมิแพ้ทางเดินหายใจ. ใน: อรพรรณ โพชนุกูล, สมบูรณ์ จันทร์สกุลพร, บรรณาธิการ. โรคภูมิแพ้ทางเดินหายใจในเด็ก. พระนครศรีอยุธยา: เทียนวัฒนาพริ้นท์ติ้ง; ๒๕๕๘. หน้า ๑-๒๒.
- Kirtsreesakul V. Rhinosinusitis in allergic rhinitis. Songkla Med J 2006;2:299-303.
- กองการประกอบโรคศิลปะ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม, ไม่ระบุปีที่พิมพ์และสำนักพิมพ์.
- บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ. ๒๕๕๕ (List of herbal medicinal products A.D. 2012): ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. ๒๕๕๕ คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. นนทบุรี: กลุ่มงานพัฒนาวิชาการแพทย์แผนไทยและสมุนไพร สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข; ๒๕๕๖.
- Intharuksa A, Ando H, Miyake K, Sirisa-Ard P, Mikage M, Sasaki Y. Molecular analysis of Terminalia spp. distributed in Thailand and authentication of crude drugs from Terminalia plants. Biol Pharm Bull 2016;39:492-501.
- Samsaku W, Mahavorasirikul W, Na-Bangchang K. Inhibitory Activities of Thai medicinal plants with promising activities against malaria and cholangiocarcinoma on human cytochrome P450. Phytother Res 2015;29:1926-33.

๘. MacGlashan D Jr. Histamine: A mediator of inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:s53-9.
๙. Rivera J, Gilfillan AM. Molecular regulation of mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1214-25.
๑๐. Kraithep S, Oungbho K, Tewtrakul S. Anti-allergic activity of Thai medicinal plants used in longevity formulation. *Songklanakarin J Sci Technol* 2008;30:621-5.
๑๑. Tewtrakul S, Subhadhirasakul S. Anti-allergic activity of some selected plants in the Zingiberaceae family. *J Ethnopharmacol* 2007;109:535-8.
๑๒. Kawamoto Y, Ueno Y, Nakahashi E, Obayashi M, Sugihara K, Qiao S, et al. Prevention of allergic rhinitis by ginger and the molecular basis of immunosuppression by 6-gingerol through T cell inactivation. *J Nutr Biochem* 2016;27:112-22.
๑๓. Schwartz LB, Austen KF, Wasserman SI. Immunologic release of beta-hexosaminidase and beta-glucuronidase from purified rat serosal mast cells. *J Immunol* 1979;123:1445-50.
๑๔. Tewtrakul S, Itharat A. Anti-allergic substances from the rhizomes of *Dioscorea membranacea*. *Bioorg Med Chem* 2006;14:8707-11.
๑๕. ปาระยะ อาศนะเสน .โรคจมูกอักเสบจากภูมิแพ้ (Allergic rhinitis). [อินเทอร์เน็ต] ๒๕๖๐. [เข้าถึงเมื่อ ๒๐ มิถุนายน ๒๕๖๐] เข้าได้จาก: http://www.rcot.org/pdf/Allergic_Rhinitis.pdf.
๑๖. Schwartz LB, Lewis RA, Seldin D, Austen KF. Acid hydrolases and tryptase from secretory granules of dispersed human lung mast cells. *J Immunol* 1981;126:1290-4.
๑๗. Passante E, Frankish N. The RBL-2H3 cell line: its provenance and suitability as a model for the mast cells. *Inflamm Res* 2009;58:737-45.
๑๘. มูลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์ไทยเดิมา และโรงเรียนอายุรเวทอรัาง สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตรศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล. ตำราการแพทย์ไทยเดิมา (แพทยศาสตรสงเคราะห์ ฉบับอนุรักษ์). เล่มที่ ๑. กรุงเทพมหานคร: ศุภวณิชการพิมพ์; ๒๕๕๐.
๑๙. Makchuchit S, Rattarom R, Itharat A. The anti-allergic and anti-inflammatory effects of Benjakul extract (a Thai traditional medicine), its constituent plants and its some pure constituents using in vitro experiments. *Biomed Pharmacother* 2017;89:1018-26.
๒๐. Ruangnoo S, Jaiaree N, Makchuchit S, Panthong S, Thongdeeying P, Itharat A. An in vitro inhibitory effect on RAW 264.7 cells by anti-inflammatory compounds from *Smilax corbularia* Kunth. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2012;30:268-74.
๒๑. Kaur S, Michael H, Arora S, Härkönen PL, Kumar S. The in vitro cytotoxic and apoptotic activity of Triphala-an Indian herbal drug. *J Ethnopharmacology* 2005;97:15-20.
๒๒. Mukherjee PK, Rai S, Bhattacharyya S, Kumar Debnath P, Biswas TK, Jana U, et al. Clinical study of 'Triphala' - A Well Known Phytomedicine from India. 2006. 2006;5:51-4.
๒๓. Johnston CS, Martin LJ, Cai X. Antihistamine effect of supplemental ascorbic acid and neutrophil chemotaxis. *J Am Coll Nutr* 1992;11:172-6.

Abstract

Anti-allergic activity of Trikatuk, Triphala and Trisarn remedies

Napaporn Pattanacharoenchai*, Arunporn Itharat** ***

* Master student of Medical Sciences (Nutraceutical), Faculty of Medicine, Thammasat University

** Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University

*** Center of Excellence on Applied Thai Traditional Medicine Research (CEATMR), Faculty of Medicine, Thammasat University

Corresponding author: Arunporn Itharat, Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University and Center of Excellence on Applied Thai Traditional Medicine Research (CEATMR), Faculty of Medicine, Thammasat University E-mail: iarunporn@yahoo.com

Introduction: Trikatuk remedy (TK) has long been used in Thai traditional medicine for adaptogen or immunomodulatory agent and for treating diseases in the rainy season. Triphala remedy (TP) is used to adjust patients' elements in summer. Trisarn remedy (TS) is a Thai traditional medicine used in winter. Ya-Tri-Pi-kad is a Thai traditional medicine for adaptogens. It is composed of 9 plants. It is on National herbal drug list of Thailand. The objective of this research was to investigate the anti-allergic activity of TK, TP and TS remedies.

Method: Three remedies were extracted by 95% ethanolic and boiling in water and plants ingredients were extracted by 95% ethanol. All extracts were calculated the percentage of yield and tested for anti-allergic activity by the inhibition of β -hexosaminidase release from RBL-2H3 cell lines.

Result: The results showed that the ethanolic extract of TK displayed the highest anti-allergic activity with $IC_{50} = 38.02 \mu\text{g/ml}$ followed by the ethanolic extract of *Piper nigrum* and the ethanolic extract of *Piper retrofractum* ($IC_{50} = 44.97$ and $50.91 \mu\text{g/ml}$, respectively) but were not significantly different from standard chlorpheniramine (CPM) with $26.12 \pm 1.89 \mu\text{g/ml}$ (p-value < 0.05).

Discussion and Conclusion: The ethanolic extract of TK and its plants ingredients showed the most potent of anti-allergic activity. These results can support using Trikatuk remedy in Thai traditional medicine for adaptogen and allergy-related diseases.

Key words: Anti-allergic activity, Trikatuk, Triphala, Trisarn