

นิพนธ์ค้นฉบับ

ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดชั้นเอทานอลในสมุนไพรวัวและ
ตำรับยาสตรีหลังคลอด

ขวัญชนก หมอกมี้ด*, ศรีโสภา เรืองหนู***, อรุณพร อิลูรัตน์***

บทคัดย่อ

- บทนำ:** ยาสตรีหลังคลอดเป็นตำรับยาที่บัญญัติอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ใช้เป็นยาขับน้ำคาวปลา บำรุงเลือด และช่วยให้มดลูกเข้าอู่เร็วในหญิงหลังคลอด และยังไม่มียาวิจัยที่เกี่ยวกับฤทธิ์ต้านการอักเสบของตำรับยาสตรีหลังคลอด การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดเอทานอลของสมุนไพรวัวและตำรับยาสตรีหลังคลอด เพื่อเป็นแนวทางการวิจัยในสัตว์ทดลองและคลินิกต่อไป
- วิธีการศึกษา:** นำสมุนไพรวัวเดี่ยวและตำรับยาสตรีหลังคลอดที่สกัดด้วย ๙๕% เอทานอล มาทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทูในเซลล์แมคโคฟาจและดูการรอดชีวิตของเซลล์
- ผลการศึกษา:** สารสกัดชั้นเอทานอลของตำรับยาสตรีหลังคลอด มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.15 ± 0.30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดสมุนไพรวัวในตำรับที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทูมากที่สุดคือ สารสกัดชั้นเอทานอลของดอกสารภี โดยมีฤทธิ์ยับยั้งที่ IC_{50} เท่ากับ 0.08 ± 0.005 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่เพรดนิโซโลน (สาร positive control) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.065 ± 0.003 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- วิจารณ์ และสรุปผลการศึกษา:** สารสกัดตำรับยาสตรีหลังคลอดชั้นเอทานอล มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยสามารถยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทูได้ดี และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโคฟาจในหนู
- คำสำคัญ:** ฤทธิ์ต้านการอักเสบ, เอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู, ตำรับยาสตรีหลังคลอด

วันที่รับบทความ : ๑๒ เมษายน ๒๕๖๐

วันที่อนุญาตให้ตีพิมพ์: ๑๘ กรกฎาคม ๒๕๖๐

* คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

** สถานการณ์แพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

*** ศูนย์ความเป็นเลิศทางการวิจัยแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ผู้ให้ติดต่อ: อาจารย์ ดร.ศรีโสภา เรืองหนู สถานการณ์แพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ๙๙ หมู่ ๑๘ ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี ๑๒๑๒๐ อีเมล srisopa_r@yahoo.com

บทนำ

ตำรับยาสตรีหลังคลอด เป็นตำรับยาที่ใช้ในหญิงหลังคลอดที่ถูกบัญญัติไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติ^๑ ซึ่งใช้เป็นยาที่ช่วยในการขับน้ำคาวปลา ช่วยให้มีดลูกเข้าอู่และช่วยในการไหลเวียนของเลือดในหญิงหลังคลอด ประกอบด้วยสมุนไพรตัวเดียว ๑๗ ชนิด ได้แก่ แก่นแก่แล แก่นขนุน ว่านซั้กมดลูก แก่นฝางเสน เถาสะค้าน รากเจตมูลเพลิงแดง ดอกตีป्ली โกลฐเชียง เถากำแพงเจ็ดชั้น อย่างละ ๑๐ กรัม พริกไทยล่อน รากข้าพลุ ดอกคำฝอย ดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกสารภี เกสรบัวหลวง อย่างละ ๕ กรัม การใช้ยาสมุนไพรของหญิงหลังคลอดส่วนใหญ่จะมีรสเผ็ดร้อน^๒ โดยจะเป็นยาที่ใช้แทนการอยู่ไฟ และรักษาตามอาการของหญิงหลังคลอด เนื่องจากในทางการแพทย์แผนไทยยึดหลักสมดุลของธาตุต่างๆ ในร่างกาย เพราะในภาวะหลังคลอดนั้นมีความแปรปรวนที่ทำให้เกิดความไม่สมดุลของธาตุในร่างกายขึ้น เนื่องจากการคลอดต้องใช้แรงลมในการเบ่งและเสียเลือดออกไปเป็นจำนวนมาก จึงส่งผลให้ธาตุดิน น้ำ ลม ไฟ เสียสมดุล การรับประทานอาหารหรือยาที่มีรสร้อนจึงช่วยทำให้ร่างกายของหญิงหลังคลอดอบอุ่น ทำให้ธาตุไฟเพิ่มขึ้นส่งผลให้ธาตุต่างๆ กลับคืนสู่ภาวะปรกติ^๓ นอกจากการรับประทานยาแล้วยังมีการอยู่ไฟตามหลักของหมอพื้นบ้านที่ช่วยให้การฟื้นฟูร่างกายของหญิงหลังคลอดอีกด้วย และนอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การต้านมะเร็ง^๔ การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี พบว่ามีสารประกอบ brazilin และ piperine^๕ เป็นต้น จะเห็นได้ว่า ตำรับยาสตรีหลังคลอด

เป็นตำรับยาที่น่าสนใจในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับอาการที่เป็นในหญิงหลังคลอด เช่น การติดเชื้อ การอักเสบ เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยต้องการศึกษาฤทธิ์การต้านการอักเสบของสารสกัดในสมุนไพรเดี่ยวและตำรับยาสตรีหลังคลอดสกัดด้วยวิธีการหมักด้วย ๙๕% เอทานอล เนื่องจากที่ผ่านมา ตำรับสตรีหลังคลอดนี้ ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบด้วยวิธีการยับยั้งเอนไซม์ไซโคออกซีจีเนส-ทูมาก่อน ดังนั้นจึงทำการทดสอบการอักเสบด้วยวิธีการยับยั้งเอนไซม์ไซโคออกซีจีเนส-ทูในเซลล์แมคโคฟาจในหนู (เซลล์ RAW 264.7) เพื่อประโยชน์ในการศึกษาในสัตว์ทดลองและเพื่อเป็นข้อมูลในการทำวิจัยทางคลินิกของตำรับยาสตรีหลังคลอดต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาวิจัย มีแหล่งที่มา ดังแสดงในตารางที่ ๑ โดยการตรวจสอบความถูกต้องของสมุนไพร ตรวจสอบจาก คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (Southern Center of Thai Medicinal Plants) ซึ่งประกอบไปด้วยสมุนไพร ๑๗ ชนิด ได้แก่ แก่นแก่แล แก่นขนุน ว่านซั้กมดลูก แก่นฝางเสน เถาสะค้าน รากเจตมูลเพลิงแดง ดอกตีป्ली โกลฐเชียง เถากำแพงเจ็ดชั้น (อย่างละ ๑๐ กรัม) พริกไทยล่อน รากข้าพลุ ดอกคำฝอย ดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกสารภี เกสรบัวหลวง (อย่างละ ๕ กรัม) นำสมุนไพรทำการบดหยาบ และนำมา รวมกันเป็นตำรับยาสตรีหลังคลอด

ตารางที่ ๑ แสดงชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ แหล่งที่มา ส่วนที่ใช้ ของสมุนไพรในตำรับยาสตรีหลังคลอด

สมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์	แหล่งที่มา	ส่วนที่ใช้
โกฐเชียง	<i>Angelica sinensis</i>	UMBELLIFERAE	จีน	ราก
ขนุน	<i>Artocarpus heterophyllus</i>	MORACEAE	นครราชสีมา	แก่น
ฝางเสน	<i>Caesalpinia sappan</i>	LEGUMINOSAE	กรุงเทพมหานคร	แก่น
คำฝอย	<i>Carthamus tinctorius</i>	COMPOSITAE	เชียงใหม่	ดอก
ว่านชักมดลูก	<i>Curcuma Comosa</i>	ZINGIBERACEAE	เพชรบูรณ์	เหง้า
มะลิ	<i>Jasminum sambac</i>	OLEACEAE	นครปฐม	ดอก
แกแล	<i>Maclura cochinchinensis</i>	MORACEAE	ประจวบคีรีขันธ์	แก่น
สารภี	<i>Mammea siamensis</i>	GUTTIFERAE	ราชบุรี	ดอก
บุนนาค	<i>Mesua ferrea</i>	GUTTIFERAE	ราชบุรี	ดอก
พิกุล	<i>Mimusops elengi</i>	SAPOTACEAE	ราชบุรี	ดอก
ตีปาลี	<i>Piper longum</i>	PIPERACEAE	จันทบุรี	ผล
พริกไทย	<i>Piper Nigrum</i>	PIPERACEAE	จันทบุรี	ผล
สะค้าน	<i>Piper ribesoides</i>	PIPERACEAE	สกลนคร	แก่น
ข้าพลุ	<i>Piper samentosum</i>	PIPERACEAE	ราชบุรี	ราก
เจตมูลเพลิงแดง	<i>Plumbago indica</i>	PLUMBAINACEAE	กรุงเทพมหานคร	ราก
กำแพงเจ็ดชั้น	<i>Salacia chinensis</i>	CELASTRACEAE	ราชบุรี	แก่น

การสกัดสมุนไพรในตำรับยาสตรีหลังคลอด

นำสมุนไพรเดี่ยวที่บดหยาบมาในอัตราส่วนที่กำหนด มาทำการหมักด้วย ๙๕% เอทานอล เป็นเวลา ๓ วัน จากนั้นจึง นำมากรอง และระเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator นำกากที่ได้จากการกรองไปหมักซ้ำด้วยวิธีการเดียวกันอีก ๒ รอบ นำสารสกัดที่ได้มาระเหยแห้งอีกครั้งด้วย rotary evaporator เช่นเดิม ส่วนตำรับจะทำโดยการนำสมุนไพรมาผสมกันดังกล่าว ข้างต้นและทำการสกัดตามวิธีการเดียวกับการสกัดสมุนไพร ตัวเดี่ยว เมื่อได้สารสกัดแล้วจึงนำไปเก็บในภาชนะที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิ -๒๐ องศาเซลเซียส

การเพาะเลี้ยงเซลล์^๔

นำเซลล์แมคโคฟาจในหนู (เซลล์ RAW 264.7) เพาะเลี้ยงในภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด ๗๕ ตารางเซนติเมตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี 10% FBS ๑ มิลลิโมลาร์ sodium pyruvate (Gibco, สหรัฐอเมริกา) และบ่มเพาะเซลล์ ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ๕% (ปริมาตรต่อปริมาตร) และทำการ sub-culture ทุกๆ ๓ วัน

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเกี่ยวกับการต้าน การอักเสบโดยทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู (cyclooxygenase-2) และดูความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโคฟาจ ในหนู (RAW 264.7)

การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบด้วยวิธีการยับยั้งเอนไซม์ ไซโคลออกซีจีเนส-ทู (COX-2)

วิธีการทดสอบ

นำสารสกัดที่สกัดเก็บไว้ มาชั่งให้ได้ปริมาณ ๕๐ มิลลิกรัม และชั่งสารทดสอบมาตรฐาน (positive control) prednisolone ชั่งปริมาณ ๑ มิลลิกรัม แล้วนำมาทำการละลาย ด้วย DMSO ให้ได้ความเข้มข้นที่ ๕๐ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อ เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นในการทดสอบต่อเซลล์ RAW 264.7

นำเซลล์แมคโคฟาจของหนู (RAW 264.7) ที่เลี้ยงไว้ใน สภาวะที่ไม่มีสารกระตุ้นด้วย LPS ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ๕% (ปริมาตรต่อปริมาตร) นาน ๔๘ - ๗๒ ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจะทำการเก็บเซลล์ที่เจริญ

เติบโตมา และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ ๑,๕๐๐ รอบต่อนาที เป็นระยะเวลานาน ๕ นาที จากนั้นทำการนำเซลล์ลงไปใส่ใน 96 well plate (๑ x ๑๐^๔ เซลล์ต่อหลุม) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี 10% FBS ปริมาตรหลุมละ ๑๐๐ ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ๕% (ปริมาตรต่อปริมาตร) นาน ๒๔ ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าทิ้งและเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ที่ถูกระตุ้นด้วย LPS (๕ นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร ๑๐๐ ไมโครลิตรลงไปใส่ใน 96 well plate และเติมสารสกัดที่เตรียมไว้ ที่มีความเข้มข้น ๕๐ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจางสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ ๐.๐๐๐๑ ถึง ๑๐๐ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM โดยเติมสารสกัดที่เจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปใส่ใน 96 well plate ปริมาตร ๑๐๐ ไมโครลิตรต่อหลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ๕% (ปริมาตรต่อปริมาตร) นาน ๒๔ ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ดูดสารละลายผิวหน้า (supernatant) ใน 96 well plate มา ๕๐ ไมโครลิตร ใส่ลงไปใน ชุด ELISA 96 well plate (Cayman Chemical Company, USA) จากนั้นจึงเติม PGE₂ Tracer (๕๐ ไมโครลิตร) และแอนติบอดี PGE₂ (๕๐ ไมโครลิตร) ลงไปในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่มเพาะ ๒๔ ชั่วโมงในสภาวะที่มีดิวทอกซิน ๔ องศาเซลเซียส จากนั้นล้างด้วยบัฟเฟอร์ (Poly-sorbate ๐.๕ มิลลิลิตร เจือจางในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร) แต่ละหลุมเป็นจำนวน ๕ ครั้ง ด้วยปริมาตร ๔๐๐ ไมโครลิตร และเติมรีเอเจนท์ของ Ellman (๒๐๐ ไมโครลิตร) เพิ่มลงไป ในแต่ละหลุมและนำไปบ่มเป็นเวลา ๑ ชั่วโมง ๓๐ นาที ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยที่ ๔๑๒ นาโนเมตร ทำการทดสอบแต่ละตัวอย่าง ๒ ซ้ำ และนำ

ค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิด Prostaglandins (PGE₂) โดยคำนวณหา IC₅₀ การทดสอบความมีชีวิตของเซลล์โดยวิธี MTT

วิธีการทดสอบ

นำเซลล์แมคโคฟาจ RAW 264.7 ที่เลี้ยงไว้ในสภาวะที่ไม่มีการกระตุ้นด้วย LPS ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ๕% (ปริมาตรต่อปริมาตร) นาน ๔๘ - ๗๒ ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจะทำการเก็บเซลล์ที่เจริญเติบโตมา และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ ๑,๕๐๐ รอบต่อนาที เป็นระยะเวลานาน ๕ นาที จากนั้นทำการนำเซลล์ลงไปใส่ใน 96 well plate (๑ x ๑๐^๔ เซลล์ต่อหลุม) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี 10% FBS ปริมาตรหลุมละ ๑๐๐ ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ๕% (ปริมาตรต่อปริมาตร) นาน ๒๔ ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าทิ้งและเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ที่มีสารสกัด ปริมาตร ๑๐๐ ไมโครลิตร และอาหารเลี้ยงเซลล์ ปริมาตร ๑๐๐ ไมโครลิตร ลงไปใส่ใน 96 well plate โดยจะมีช่องของคอนโทรลมีเดีย คือ ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเซลล์ ๒๐๐ มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ แล้วนำไปบ่มเช่นเดิมเป็นระยะเวลา ๒๔ ชั่วโมง จากนั้นจึงดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกไปทิ้ง ปริมาตร ๑๐๐ ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย MTT ลงไปปริมาตร ๑๐ ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียสเป็นเวลา ๓ - ๔ ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้งให้หมดและละลายผลึกฟอร์มาซานด้วยไอโซโพรพานอลกรดไฮโดรคลอริก ๐.๐๔ โมลาร์ (isopropanol 0.04 M HCl) ปริมาตร ๑๐๐ ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ๕๗๐ นาโนเมตร แล้วนำค่ามาคำนวณหาความมีชีวิตของเซลล์ ดังสมการ

$$\% \text{ การรอดชีวิตของเซลล์} = \left(\frac{\text{ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง}}{\text{ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของคอนโทรลมีเดีย}} \right) \times 100$$

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านการอักเสบ โดยวิธีการการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู (cyclooxygenase-2) จะทำการทดสอบซ้ำตัวอย่างละ ๒ ครั้ง และทดสอบความมีชีวิตของเซลล์โดยวิธี

MTT จะทำการทดสอบซ้ำตัวอย่างละ ๓ ครั้ง เพื่อเป็นการตรวจสอบความแม่นยำของผลที่ได้ และนำผลที่ได้ในการทดลองมาตรวจวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (\pm SEM)

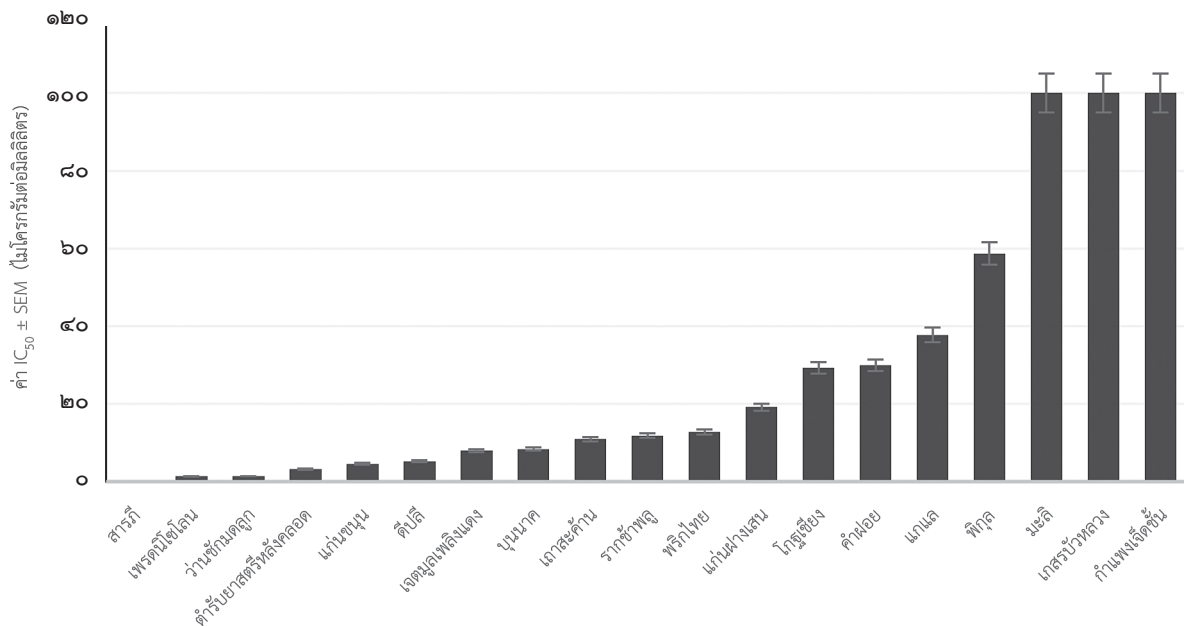
ผลการศึกษา

จากผลการทดสอบพบว่า สารสกัดเอทานอลตำรับ ยาสตรีหลังคลอด มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบที่มีการยับยั้ง เอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู (COX-2) ที่ IC_{50} เท่ากับ 3.15 ± 0.30 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ขณะที่ เพรดนิโซโลน ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.065 ± 0.003 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ในขณะที่สารสกัดชั้นเอทานอลของดอกสารภี มีฤทธิ์

ในการต้านการอักเสบดีกว่าเพรดนิโซโลน โดยสามารถยับยั้ง เอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู (COX-2) ได้ที่ IC_{50} เท่ากับ 0.08 ± 0.005 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร อีกทั้งไม่มีความเป็นพิษต่อ เซลล์อีกด้วย ดังตารางที่ ๒ ซึ่งแสดงค่าฤทธิ์การต้านการอักเสบ โดยการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู ($IC_{50} \pm SEM$) และ เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของเซลล์

ตารางที่ ๒ แสดงฤทธิ์การต้านการอักเสบโดยการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู $IC_{50} \pm SEM$ (n = ๒) และเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของเซลล์ (n = ๓)

สมุนไพร	รหัสแสดง	$IC_{50} \pm SEM$ (ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร)	เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของเซลล์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร)
โกฐเชียง	ASE	29.25 ± 1.43	> ๑๐๐
แก่นขนุน	AHE	4.57 ± 0.08	> ๑๐๐
แก่นฝางเสน	CSE	19.13 ± 0.72	80.87 ± 2.10
คำฝอย	CTE	29.87 ± 0.77	> ๑๐๐
ว่านชักมดลูก	CCE	1.37 ± 0.08	> ๑๐๐
มะลิ	JSE	> ๑๐๐	86.77 ± 2.65
แกแล	MCE	37.76 ± 0.79	> ๑๐๐
สารภี	MSE	0.08 ± 0.005	75.37 ± 0.32
บุนนาค	MFE	8.38 ± 0.68	87.43 ± 2.28
พิกุล	MEE	58.68 ± 6.53	> ๑๐๐
เกสรบัวหลวง	NNE	> ๑๐๐	87.87 ± 2.65
ดีปลี	PLE	5.22 ± 0.53	85.56 ± 7.34
พริกไทย	PNE	12.72 ± 0.79	57.34 ± 6.23
เถาสะค้าน	PRE	10.88 ± 8.88	87.54 ± 5.43
รากข้าวพลู	PSE	11.79 ± 3.20	> ๑๐๐
เจตมูลเพลิงแดง	PIE	7.86 ± 2.44	88.56 ± 4.23
กำแพงเจ็ดชั้น	SCE	> ๑๐๐	> ๑๐๐
ตำรับยาสตรีหลังคลอด	STK95E	3.15 ± 0.30	> ๑๐๐
Prednisolone (positive control)	PN	0.065 ± 0.003	> ๑๐๐



รูปที่ ๑ แสดงฤทธิ์การต้านการอักเสบโดยการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู (COX-2) (n = ๒)

วิจารณ์ และสรุปผลการศึกษา

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า สารสกัดเอทานอลของตำรับยาศรีหลังคลองมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบโดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ซึ่งเอนไซม์นี้ทำหน้าที่เปลี่ยน arachidonic acid ให้เป็น prostaglandin G₂ (PGE₂) ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีความสำคัญในการสร้างสาร PGE₂ ที่เป็น inflammatory mediators ที่สำคัญในกระบวนการอักเสบเฉียบพลัน^๕ เนื่องจากในกระบวนการอักเสบเฉียบพลันจะพบได้ว่า ปริมาณของ PGE₂ จะถูกสร้างขึ้นในปริมาณที่สูงขึ้น^{๕, ๖} ในเซลล์แมคโคฟาจที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย LPS ซึ่งกระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นมีผลทำให้ปริมาณเอนไซม์ cyclooxygenase-2 เพิ่มขึ้น^๗

การศึกษาในสารสกัดชั้นเอทานอลในสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาศรีหลังคลอง พบว่า สมุนไพรตัวเดียวที่มีศักยภาพมากที่สุดในการยับยั้งการอักเสบ คือ สารสกัดเอทานอลของดอกสารภี โดยมีฤทธิ์ยับยั้งที่ IC₅₀ เท่ากับ ๐.๐๘ ± ๐.๐๐๕ ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบที่ใกล้เคียงสารมาตรฐาน (prednisolone) อีกทั้งไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย (๗๕.๓๗ ± ๐.๓๒ ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร) และยังไม่มียารายงานการวิจัยฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้ง

เอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-ทู ของตำรับยาศรีหลังนี้มาก่อน แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาของไทยยับยั้งการอักเสบอื่นๆ ไปจนถึงระดับโมเลกุล และการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบในสัตว์ทดลอง ยังต้องการข้อมูลเพิ่มเติมถึงฤทธิ์การต้านการอักเสบ และความเป็นพิษของตำรับยาศรีหลังคลอง เพื่อใช้ในการส่งเสริมการนำสมุนไพรในตำรับยาศรีหลังคลองที่ถูกบัญญัติในบัญชียาหลัก มาใช้กับหญิงหลังคลอดเพื่อพัฒนาเป็นยาแก้ปวดและต้านการอักเสบที่มีผลข้างเคียงที่ลดลง

ดังนั้นงานวิจัยนี้ใช้สรุปเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการใช้ตำรับยาศรีหลังคลองในหญิงหลังคลอดเพื่อใช้ในการลดการอักเสบและบรรเทาอาการเจ็บปวดของหญิงหลังคลอดเพื่อขับน้ำคาวปลา แต่อย่างไรก็ตาม ในบัญชียาหลักแห่งชาติได้ระบุไว้ให้รับประทานในรูปแบบยาต้ม ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาตำรับยาที่สกัดด้วยชั้นน้ำต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการวิจัยและศูนย์ความเป็นเลิศการวิจัยแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

๑. Meepradit K. Effect of postpartum herbal of Kab-Choeng hospital, Surin province. Master thesis, Pharmaceutical Science, Silpakorn University, Thailand; 2014.
๒. Inprasit J, Ruangnoo S, Itharat A. In vitro cytotoxic activity of Sa-Tri-Lhung-Klod remedy and its herbal ingredients on ovarian and cervical carcinoma cell lines. Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmai het thangphaet 2014; Suppl 8:S149-55.
๓. Inprasit, J. Biological activities of Sa-Tri-Lhang-Klod remedy for women's health. Master thesis, Science in applied Thai traditional medicine, Thammasat University, Thailand; 2014.
๔. Liu YW, Mei HC, Su YW, Fan HT, Chen CC, Tsai YC. Inhibitory effects of Pleurotus tuber-regium mycelia and bioactive constituents on LPS-treated RAW 264.7 cells. J Funct Foods 2014;70-7:662.
๕. Lenon GB, Li CG, Xue CC, Thien FC, Story DF. Inhibition of inducible nitric oxide production and iNOS protein expression in lipopolysaccharide-stimulated rat aorta and Raw 264.7 macrophages by ethanol extract of a Chinese herbal medicine formula (RCM-101) for allergic rhinitis. J Ethnopharmacol 2008;116:547-53.
๖. Liu YW, Su YW, Ong WK, Cheng TH, Tsai YC. Oral administration of Lactobacillus plantarum K68 ameliorates DSS-induced ulcerative colitis in BALB/c mice via the anti-inflammatory and immunomodulatory activities. Int Immunopharmacol 2011;11:2159-66.
๗. Kakatum N. Anti-inflammatory activity of thai traditional remedy extract for muscle pain treatment called SAHASTHARA and its plant ingredients. A Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science in applied thai traditional medicine faculty of medicine Thammasat University; 2011.

Abstract

Anti-inflammatory of the ethanolic extract of Thai traditional post-partum remedy (Sa-Tri-Lhang-Klod) and plant ingredients

Khwanchanok Mokmued*, Srisopa Ruangnoo**, ***, Arunporn Itharat**, ***

* Student of Master of Sciences Program (Applied Thai Traditional Medicine), 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: Dr.Srisopa Ruangnoo, Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University 99 Paholyotin Rd., Khlongluang, Pathumthani 12120 E-mail: srisopa_r@yahoo.com

Introduction: Thai traditional remedy for postpartum care called “Sa-Tri-Lhang-Klod” (STK) which is the lists of The National List of Essential Herbal Medicines (NLEM) has been used for postpartum care for excrete lochia, blood tonic and blood circulation. Previous study has no report of this remedy for anti-inflammatory by inhibition cyclooxygenase-2 enzyme (COX-2). Thus, the objective of the study was to investigate anti-inflammatory effects of the ethanolic extract of STK remedy via inhibition of COX-2 enzyme.

Method: STK were extracted with 95% ethanol. The ethanolic extract of remedy and plant ingredients in these remedy were tested for anti-inflammatory effects via COX-2 pathway on macrophages cells of murine (RAW 264.7). Moreover, the viability of macrophage cells was determined by MTT assay.

Result: The results showed that the IC_{50} value of the ethanolic extract of remedy was 3.15 ± 0.30 $\mu\text{g/ml}$ while, prednisolone (positive control) was at 0.065 ± 0.003 $\mu\text{g/ml}$. In addition, the IC_{50} values of ethanolic extract of *Mammea siamensis* (0.08 ± 0.005 $\mu\text{g/ml}$) were higher than prednisolone.

Discussion and Conclusion: The ethanolic extract of Sa-Tri-Lhang-Klod remedy showed anti-inflammatory by inhibition of cyclooxygenase-2 enzyme and non-toxic for cell (viability of cell).

Key words: Anti-inflammatory, Cyclooxygenase-2, Thai traditional post partum remedy