

การตรวจหาฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของพืชสมุนไพร ด้วยวิธีการวัดการตอบสนองของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยท์

สุภาพร สุภารักษ์^{*†}, กนกวรรณ เจื่อนจันทร์ทอง^{*}, เพท่าย อุ่นผล^{*}, สิริลดา พิมพ์า ชีซอสัม^{*},
สิริไพลิน จอมจันทรวง^{*}, วิภาวี ธัญญเจริญ^{*}, พรชัย สันเจริญโกโคย[†], อาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์^{*},
ประไพ วงศ์สินคงมณี[‡], พิเชฐ บัญญัติ[§]

^{*} สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี 11000

[†] สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี 11000

[‡] สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี 11000

[§] กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี 11000

[¶] ผู้รับผิดชอบบทความ: supaporn.su@dmasc.mail.go.th

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของการวิจัยนี้ เพื่อตรวจคัดกรองทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยท์ (Peripheral Blood Mononuclear Cell; PBMC) สารสกัดสมุนไพรไทย จำนวน 17 สารสกัด ในระดับหลอดทดลอง ในห้องปฏิบัติการ ด้วยเทคนิค flow cytometry โดยการตรวจติดตามเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ติดฉลากด้วยสีเรืองแสง Carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE) หลังกระตุ้นด้วยสารสกัดสมุนไพร เมื่อเซลล์เกิดการตอบสนองและแบ่งตัว จะลดสัญญาณของ CFSE และตรวจวัดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยเครื่อง Flow cytometer ผลการทดสอบการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์ของไลคอบริจาต จำนวน 3 ราย พบสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของลิมโฟซัยท์ จำนวน 3 สารสกัด ได้แก่ ปอบิด HID (ปอบิด ชื่อวิทยาศาสตร์ *Helicteres isora* L. สารสกัดน้ำ), HSF (แมงลักกาสด ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze สารสกัดคั้นน้ำ), HSD (แมงลักคาแห้ง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze สารสกัดคั้นน้ำ), และพบว่า KPD (กระชายดำแห้ง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Kaempferia parviflora* Wallich, ex Baker. สารสกัดคั้นน้ำ) ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของลิมโฟซัยท์ จากผลทดสอบฤทธิ์สารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวในระดับหลอดทดลองนี้ สามารถบ่งชี้สรรพคุณสารสกัดสมุนไพรไทยเพื่อยืนยันสรรพคุณด้านวิทยาศาสตร์ ที่สามารถนำไปสู่การพัฒนาตำรับไทยเพื่อส่งเสริมการรักษาและกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยสมุนไพรไทยได้ต่อไป

คำสำคัญ: การปรับภูมิคุ้มกัน, สารสกัดสมุนไพร, การเพิ่มจำนวนลิมโฟซัยท์, carboxyfluorescein succinimidyl ester

Screening for Determination of Immunomodulatory Activities of Medicinal Plants Using Lymphocyte Proliferation Assay

Supaporn Suparak^{*†‡}, Kanokwan Ngueanchanthong^{*}, Petai Unpol^{*}, Sirilada Pimpa Chisholm^{*}, Siriphailin Jomjunyoung^{*}, Wipawee Thanyacharn^{*}, Pornchai Sincharoenpokai[†], Archawin Rojanawiwat^{*}, Prapai Wongsinkongman[‡], Phichet Banyati[§]

^{*}National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000, Thailand

[†]Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000, Thailand

[‡]Medical Sciences Technical Office, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000, Thailand

[§]Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000, Thailand

[‡]Corresponding author: supaporn.su@dmisc.mail.go.th

Abstract

The objective of this study was to screen Thai medicinal plant extracts for lymphoproliferative activities in peripheral blood mononuclear cells. Seventeen medicinal plant extracts were tested for lymphocyte proliferation *in vitro* assay, using the carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE) for intracellular labelling of lymphocytes and tracking the cell proliferation with the flow cytometer. The proliferative cells were detected by progressive reduction in CFSE fluorescence intensity. It was found that water extracts of *Helicteres isora* L., *Mesospaerum suaveolens* (L.) Kuntze, could stimulate the lymphocyte proliferation, while *Kaempferia parviflora* Wallich ex Baker inhibited lymphocyte proliferation *in vitro*. The screening tool for detecting immunomodulating activities of Thai medicinal plants could identify the properties of extracts that lead to the development of Thai traditional medicines to further promote treatment and stimulate immunity with Thai herbs.

Key words: immunomoderation, medicinal plant extract, lymphocyte proliferation, carboxyfluoresceinsuccinimidyl ester

บทนำและวัตถุประสงค์

ประเทศไทยมีสมุนไพรหลากหลายชนิดในแต่ละภูมิภาคของประเทศ และในปัจจุบันสมุนไพรเป็นทางเลือกที่ประชาชนนิยมบริโภคเพื่อสร้างเสริมสุขภาพกันมากขึ้น^[1] แม้ว่าสมุนไพรหลายชนิดยังไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์และทางการแพทย์สนับสนุนบ่งชี้สรรพคุณ กลไกหนึ่งที่กำลังกล่าวอ้างคือเป็นยาอายุวัฒนะ เสริมสร้างสุขภาพของร่างกาย คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาวิจัยทดสอบฤทธิ์สมุนไพรต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว

ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยตรวจหาฤทธิ์ต่อการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ (lymphocyte proliferation) ของสารสกัดสมุนไพรและยาตำรับเพื่อคัดเลือกหาสารสกัดสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการช่วยเสริมหรือควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

การศึกษานี้มีการตรวจวัดการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์เมื่อกระตุ้นด้วยสารสกัดสมุนไพร โดยย้อมเซลล์ลิมโฟไซต์ด้วยสีเรืองแสง carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE) และตรวจวัดด้วยเครื่อง

flow cytometer โดยลิ้มโพลีที่แบ่งตัวเพิ่มจำนวน สัญญาณสี CFSE จะลดลง โดยเทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ขนาดและศึกษาคุณสมบัติเซลล์ลิ้มโพลีที่ถูกกระตุ้นได้[2] โดยการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือกสารสกัดสมุนไพร 17 สารสกัด ที่มีการรายงานสรรพคุณด้านต่างๆทั้งการบำรุงกำลัง เป็นยาอายุวัฒนะ และสามารถรักษาและยับยั้งโรคติดเชื้อต่างๆ ได้แก่ HID (ปอบิด *Helicteres isora* L.), HSF (แมงลักคาสต *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze), HSD (แมงลักคาแห้ง *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze), CSS (กัญชา *Cannabis sativa* L.), CCF (ชิงโคนาส *Cinchona ledgeriana* Moens.), CCD (ชิงโคนาแห้ง *Cinchona ledgeriana* Moens.), AED 1 (พิลังกาส *Ardisia elliptica* Thunb.), ATD 01 (มะหาด *Artocarpus thailandicus* C.C.Berg), TTF (ย่านางสด *Tiliacora triandra* Diels), TTD (ย่านางแห้ง *Tiliacora triandra* Diels), PND (สารสกัดผงนัว), KPF (กระชายดำสด *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker.), KPD (กระชายดำแห้ง *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker.), Y5RW (สารสกัดตำรับ 5 ราก), RCS (สารสกัดรากกัญชา), PSPW (สารสกัดตำรับประสะเปราะใหญ่ด้วยน้ำ), PSPE (สารสกัดตำรับประสะเปราะใหญ่ด้วยเอทานอล) สารสกัดทั้งหมดนี้ ยังไม่มีรายงานผลทดสอบทางห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ยืนยันผลกระตุ้นการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ผลการคัดเลือกและทดสอบยืนยันสรรพคุณของสมุนไพรในการบ่งชี้และกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันจากการศึกษานี้ สามารถศึกษาวิจัยต่อยอดศึกษาฤทธิ์และสรรพคุณของสมุนไพรต่อเซลล์ลิ้มโพลีที่ถูกกระตุ้นเชิงลึก ที่มีความสำคัญต่อการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน หรือศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์

ลิ้มโพลีที่หลังถูกกระตุ้นได้ต่อไป และสามารถพัฒนา ยาตำรับสมุนไพรไทยสำหรับปรับระบบภูมิคุ้มกันให้เหมาะสม ทั้งเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันหรือยังยั้งการตอบสนองภูมิคุ้มกันในผู้มีระบบภูมิคุ้มกันไม่สมดุลได้อย่างเหมาะสม และมีความปลอดภัยสำหรับประชาชน

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์การวิจัย เพื่อทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิ้มโพลีในสารสกัดสมุนไพรไทย

ระเบียบวิธีศึกษา

สารสกัดสมุนไพร และวิธีการละลาย

รายชื่อสารสกัดสมุนไพร ตัวทำละลายที่เหมาะสม เอกลักษณ์ทางสมุนไพร เลขและสถานที่จัดเก็บ (ตารางที่ 1)

โดยก่อนนำสารสกัดสมุนไพรไปทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวของลิ้มโพลี นำสารสกัดสมุนไพร มาละลายด้วย complete RPMI 1640 (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) ที่ผสมด้วย 10% fetal bovine serum (FBS; Grand Island Biological Company, Grand Island, NY, USA) ให้ได้ความเข้มข้น ดังนี้ 1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml, 1 μ g/ml, 5 μ g/ml, 10 μ g/ml และ 100 μ g/ml ในกรณีที่ตัวทำละลาย คือ 95% เอทานอล หรือ 1%DMSO จะต้องควบคุมการทดสอบว่าไม่มีความเป็นพิษกับเซลล์

การจัดเตรียมตัวอย่างเลือดสำหรับทดสอบและการแยกเม็ดเลือดขาวลิ้มโพลี (peripheral blood mononuclear cells)

นำ leukocyte-enriched Buffy coats ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ

ตารางที่ 1 รายชื่อสารสกัดสมุนไพรและตัวทำละลายสารสกัด

สารสกัดสมุนไพร	ตัวทำละลาย	ชื่อวิทยาศาสตร์	หมายเลข voucher specimen
HID (โปบิต)	น้ำกลั่น	<i>Helicteres isora</i> L.	DMSC 5270
HSF (แมงลักคา สด)	น้ำกลั่น	<i>Mesosphaerum suaveolens</i> (L.) Kuntze	DMSC 5291
HSD (แมงลักคา แห้ง)	น้ำกลั่น		
CCF (ชิงโคนา สด)	น้ำกลั่น	<i>Cinchona ledgeriana</i> Moens.	DMSC 5312
CCD (ชิงโคนา แห้ง)	น้ำกลั่น		
ATD 01 (มะหาด)	น้ำกลั่น	<i>Artocarpus thailandicus</i> C.C.Berg	DMSC 5237
TTF (ย่านาง สด)	น้ำกลั่น	<i>Tiliacora triandra</i> Diels	DMSC 5240
TTD (ย่านาง แห้ง)	น้ำกลั่น		
KPF (กระชายดำ สด)	น้ำกลั่น	<i>Kaempferia parviflora</i> Wallich. ex Baker.	DMSC 5285
KPD (กระชายดำ แห้ง)	น้ำกลั่น		
CSS (กัญชา)	95% เอทานอล	<i>Cannabis sativa</i> L.	DMSC 5272
AED 1 (พิลังกาสา)	95% เอทานอล	<i>Ardisia elliptica</i> Thunb.	DMSC 5318

สภากาชาดไทยจำนวน 3 ราย ที่ได้รับการยินยอมตามกระบวนการบริจาคโลหิตและตรวจไม่พบการติดเชื้อ Hepatitis B virus, Hepatitis C virus และ HIV-1 virus นำมาปั่นแยก Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) โดยใช้ IsoPrep (Robbins Scientific, Sunnyvale, CA, USA)^[3]

นับปริมาณ PBMC และปรับความเข้มข้นของเซลล์ ด้วย complete RPMI 1640 (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) ที่ผสมด้วย 10% fetal bovine serum (FBS; Grand Island Biological Company, Grand Island, NY, USA) ให้ได้ PBMC ความเข้มข้น 2×10^5 cells/ml ก่อนนำไปทดสอบ

การทดสอบฤทธิ์สารสกัดสมุนไพร ต่อการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์

นำ PBMC ความเข้มข้น 2×10^5 cells/ml มา

ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง Carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE; Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) ที่ความเข้มข้น 0.5 μ M เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำสารสกัดสมุนไพร ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาเพาะเลี้ยงกับ PBMC ที่ถูกติดฉลากแล้ว นำไปบ่มที่ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ครบเวลานำเซลล์มาแยกด้วยสารเรืองแสง propidium iodide (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) เพื่อย้อมเซลล์ตาย ตรวจวัดการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ โดยเครื่อง Guava[®] easyCyte Flow Cytometers (Millipore Corp, Hayward, CA, USA) โดยเซลล์ที่เกิดการตอบสนองต่อสารสกัดสมุนไพรและแบ่งตัว (proliferating cell) จะเกิดการลดสัญญาณของ CFSE ลงและย้อมไม่ติดสี PI (แสดงในช่อง lower left) และเซลล์ที่ไม่แบ่งตัว (resting cells) จะไม่ลดสัญญาณ CFSE และย้อมไม่ติดสี PI (แสดงในช่อง lower right)

โดย Positive control กระตุ้นเซลล์ลิมโฟซัยท์ ด้วย Phytohemagglutinin (PHA) ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) และ Negative control คือเซลล์ลิมโฟซัยท์ควบคุมที่เพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกันแต่ไม่ถูกกระตุ้นด้วยสารใด

วิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติความแตกต่างของ

เซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟซัยท์ ที่เกิดการตอบสนองและแบ่งตัวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารสกัดสมุนไพรในแต่ละความเข้มข้น เปรียบเทียบกับกลุ่มเซลล์ควบคุมเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกันแต่ไม่ถูกกระตุ้นด้วยสารสกัดสมุนไพร (PBMC cell control) คำนวณโดยใช้โปรแกรม Statistic Package for the Social Sciences (SPSS) โดยใช้สถิติ pair *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.005$) ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูป Mean $\pm$ S.D.

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์สารสกัดสมุนไพรต่อการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์

สารสกัดสมุนไพร	% การแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์ (Mean $\pm$ S.D.)							
	Control	1 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml	1 $\mu\text{g/ml}$	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$
HID (ปอบิด)	46.30 $\pm$ 26.40	48.38 $\pm$ 25.40	49.41 $\pm$ 25.31	47.32 $\pm$ 27.26	49.06 $\pm$ 25.32	51.23 $\pm$ 26.69 [*]	52.63 $\pm$ 27.32 [*]	62.97 $\pm$ 24.37 [*]
HSF (แมงลักคา สด)	42.04 $\pm$ 12.63	41.74 $\pm$ 11.98	42.07 $\pm$ 12.96	42.65 $\pm$ 9.75	42.60 $\pm$ 10.47	45.07 $\pm$ 10.89	46.14 $\pm$ 10.58	55.77 $\pm$ 11.91 [*]
HSD (แมงลักคาแห้ง)	47.37 $\pm$ 15.25	46.49 $\pm$ 14.63	47.41 $\pm$ 12.35	46.99 $\pm$ 12.18	50.90 $\pm$ 13.01	50.57 $\pm$ 14.64	52.04 $\pm$ 13.04	65.21 $\pm$ 18.32 [*]
CSS (กล้วยชา)	57.37 $\pm$ 11.21	51.90 $\pm$ 10.28	51.07 $\pm$ 11.42	51.87 $\pm$ 7.82	58.32 $\pm$ 6.54	61.33 $\pm$ 1.58	66.19 $\pm$ 3.42	81.18 $\pm$ 6.52
CCF (ชิงโคนา สด)	63.41 $\pm$ 31.67	65.88 $\pm$ 28.94	65.23 $\pm$ 29.42	65.39 $\pm$ 29.06	62.65 $\pm$ 31.46	65.83 $\pm$ 28.95	68.35 $\pm$ 27.08	79.27 $\pm$ 17.44
CCD (ชิงโคนาแห้ง)	67.42 $\pm$ 27.60	68.46 $\pm$ 26.87	67.55 $\pm$ 27.40	67.85 $\pm$ 27.13	67.74 $\pm$ 27.28	69.07 $\pm$ 26.17	70.37 $\pm$ 25.20	82.22 $\pm$ 14.87
AED 1 (พิลังกาสงา)	48.93 $\pm$ 17.82	47.92 $\pm$ 19.87	45.39 $\pm$ 22.18	46.46 $\pm$ 21.08	47.42 $\pm$ 20.46	47.68 $\pm$ 18.34	49.46 $\pm$ 18.42	70.91 $\pm$ 20.48
ATD 01 (มะหาด)	54.00 $\pm$ 19.88	58.76 $\pm$ 19.58	59.39 $\pm$ 18.29	59.29 $\pm$ 20.52	58.04 $\pm$ 21.9	58.82 $\pm$ 22.64	59.90 $\pm$ 21.53	84.73 $\pm$ 9.87
TTF (ย่านาง สด)	42.24 $\pm$ 9.20	47.79 $\pm$ 4.81	44.94 $\pm$ 4.74	45.35 $\pm$ 0.72	40.41 $\pm$ 6.07	39.95 $\pm$ 9.92	42.82 $\pm$ 8.77	51.28 $\pm$ 14.62
TTD (ย่านางแห้ง)	41.40 $\pm$ 9.78	39.38 $\pm$ 8.57	38.68 $\pm$ 7.31	37.71 $\pm$ 8.40	42.51 $\pm$ 12.44	41.21 $\pm$ 12.02	40.09 $\pm$ 8.98	36.81 $\pm$ 16.02
PND (สารสกัดผงหัว)	49.84 $\pm$ 27.53	50.00 $\pm$ 28.36	49.50 $\pm$ 29.21	50.03 $\pm$ 27.54	50.17 $\pm$ 28.97	50.13 $\pm$ 30.33	50.75 $\pm$ 30.47	54.33 $\pm$ 29.61
KPF (กระชายดำ สด)	37.53 $\pm$ 17.98	35.07 $\pm$ 15.33	37.90 $\pm$ 18.40	37.43 $\pm$ 18.18	36.98 $\pm$ 17.53	33.99 $\pm$ 15.43	34.1 $\pm$ 15.570	38.71 $\pm$ 15.50
KPD (กระชายดำแห้ง)	38.30 $\pm$ 15.77	34.88 $\pm$ 15.05 [†]	37.50 $\pm$ 17.25	34.97 $\pm$ 15.76 [†]	35.18 $\pm$ 15.18 [†]	35.79 $\pm$ 15.31 [†]	35.84 $\pm$ 16.73 [†]	36.48 $\pm$ 14.67
Y5RW (สารสกัดตำรับ)	37.76 $\pm$ 27.67	44.96 $\pm$ 39.46	44.53 $\pm$ 36.42	45.29 $\pm$ 40.8	44.52 $\pm$ 41.09	43.79 $\pm$ 40.53	39.93 $\pm$ 39.27	41.01 $\pm$ 36.75
5 ราก)								
RCS (สารสกัดรากกล้วยชา)	37.76 $\pm$ 27.67	44.57 $\pm$ 39.81	45.79 $\pm$ 40.46	45.15 $\pm$ 39.99	44.46 $\pm$ 41.15	40.63 $\pm$ 37.92	40.27 $\pm$ 38.06	44.89 $\pm$ 31.37
PSPW (สารสกัดตำรับประสะ เปราะใหญ่ด้วยน้ำ)	37.76 $\pm$ 27.67	38.99 $\pm$ 30.24	41.41 $\pm$ 33.94	43.77 $\pm$ 39.64	43.81 $\pm$ 43.59	41.61 $\pm$ 38.76	40.51 $\pm$ 38.41	42.24 $\pm$ 34.94
PSPE (สารสกัดตำรับประสะ เปราะใหญ่ด้วยเอทานอล)	37.76 $\pm$ 27.67	43.74 $\pm$ 24.96	44.52 $\pm$ 39.49	44.87 $\pm$ 38.58	42.70 $\pm$ 38.73	42.04 $\pm$ 39.89	39.59 $\pm$ 37.08	42.81 $\pm$ 40.72

^{*} $p < 0.05$; paired *t*-test สารสกัดที่มีฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ สารสกัดสมุนไพร HID (ปอบิด), HSF (แมงลักคา สด), และ HSD (แมงลักคาแห้ง) เมื่อเทียบกับลิมโฟซัยท์ควบคุมในสภาวะที่ไม่มีสารสกัด

[†] $p < 0.05$; paired *t*-test สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ KPD (กระชายดำแห้ง)

ค่าผลทดสอบทั้งหมด แสดงในรูป Mean $\pm$ S.D. จากตัวอย่างเลือดผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 3 ราย

ผลการศึกษา

ผลทดสอบฤทธิ์สารสกัดสมุนไพร ต่อการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์

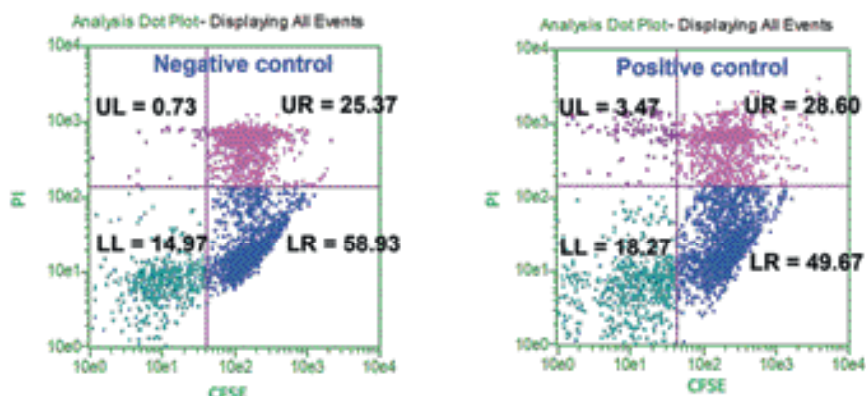
ตารางที่ 2 แสดงผลทดสอบฤทธิ์สารสกัดสมุนไพร 17 สารสกัด ได้แก่ HID (ปอบิด *Helicteres isora* L.), HSF (แมงลักคา สด *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze), HSD (แมงลักคาแห้ง *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze), CSS (กัญชา *Cannabis sativa* L.), CCF (ชิงโคนา สด *Cinchona ledgeriana* Moens.), CCD (ชิงโคนาแห้ง *Cinchona ledgeriana* Moens.), AED 1 (พิลังกาส่า *Ardisia elliptica* Thunb.), ATD 01 (มะหาด *Artocarpus thailandicus* C.C.Berg), TTF (ย่านาง สด *Tiliacora triandra* Diels), TTD (ย่านางแห้ง *Tiliacora triandra* Diels), PND (สารสกัดผงนิ้ว), KPF (กระชายดำ สด *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker.), KPD (กระชายดำแห้ง *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker.), Y5RW (สารสกัดตำรับ 5 ราก), RCS (สารสกัดรากกัญชา), PSPW (สารสกัดตำรับประสะเปราะใหญ่ด้วยน้ำ), PSPE (สารสกัดตำรับประสะเปราะใหญ่ด้วยเอทานอล) ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml, 1 μ g/ml, 5 μ g/ml, 10 μ g/ml และ 100 μ g/ml สารสกัดที่มีฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับสถานะที่ไม่มีสารสกัด ได้แก่ สารสกัดสมุนไพร HID (ปอบิด *Helicteres isora* L.), HSF (แมงลักคา สด *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze), และ

HSD (แมงลักคาแห้ง *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze) สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ KPD (กระชายดำแห้ง *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker.)

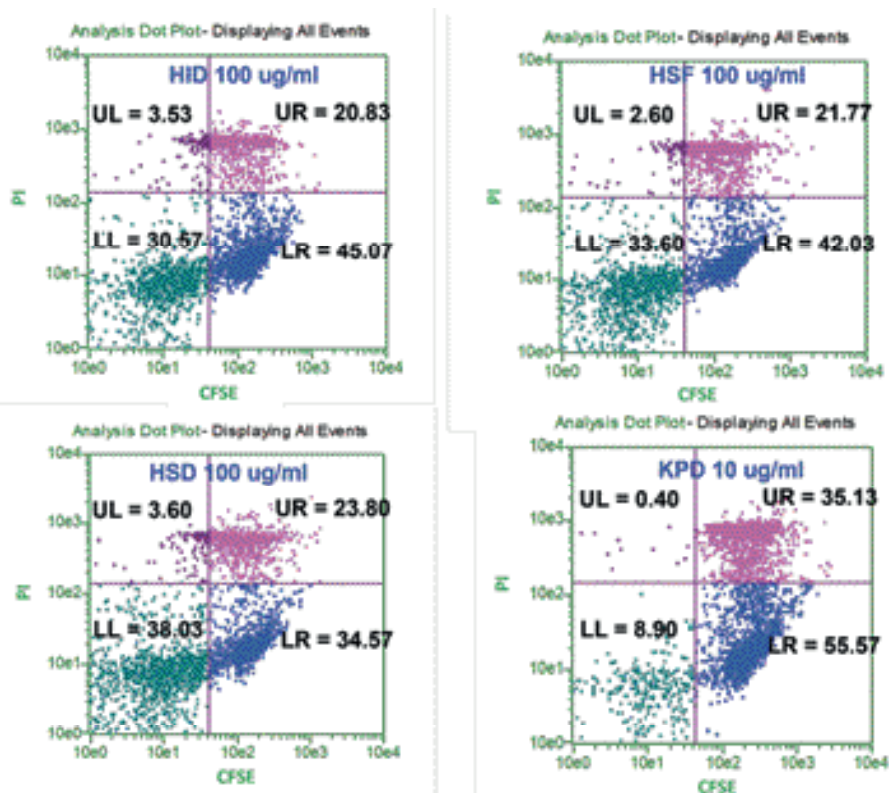
สารสกัดสมุนไพร ที่มีฤทธิ์กระตุ้นหรือยับยั้งการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์

ควบคุมการทดสอบการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ โดย Negative control คือเซลล์ลิมโฟไซต์ (PBMC) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์โดยไม่ถูกกระตุ้นใดๆ พบลิมโฟไซต์ที่มีการแบ่งตัว 14.97% และ Positive control คือเซลล์ลิมโฟไซต์ที่กระตุ้นด้วย Phytohemagglutinin (PHA) พบลิมโฟไซต์ที่มีการแบ่งตัว 18.27% (ภาพที่ 1A)

สารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ ได้แก่ สารสกัดสมุนไพร HID (ปอบิด *Helicteres isora* L.), HSF (แมงลักคา สด *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze), HSD (แมงลักคาแห้ง *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze) สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ ได้ 30.57%, 33.60%, 38.03% ตามลำดับ (ภาพที่ 1B) และ สารสกัดสมุนไพร KPD (กระชายดำแห้ง *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker.) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ โดยสามารถกระตุ้นลิมโฟไซต์ได้เพียง 8.90% (ภาพที่ 1B) และค่าผลทดสอบสารสกัดสมุนไพรในผู้เข้าร่วมวิจัยแต่ละราย (ตารางที่ 3)



- A. ควบคุมการทดลองด้วย Negative control คือ PBMC ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์โดยไม่ถูกกระตุ้น และ Positive control เพาะเลี้ยงเซลล์โดยกระตุ้นด้วย Phytohemagglutinin (PHA)



- B. การแบ่งตัวของลิ้มโฟซัยท์หลังถูกกระตุ้นด้วยสารสกัดสมุนไพร HID (โปบิต) 30.57%, HSF (แมงลักคา สด) 33.60%, HSD (แมงลักคาแห้ง) 38.03%, และ KPD (กระชายดำแห้ง) 8.90%

ภาพที่ 1 การแสดงผลตรวจวัดการแบ่งตัวของลิ้มโฟซัยท์หลังถูกกระตุ้นด้วยสารสกัดสมุนไพร นำ PBMC ที่ติดฉลากด้วยสีเรืองแสง CFSE มาเพาะเลี้ยงและกระตุ้นด้วยสารสกัดสมุนไพร เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง ครบเวลา ย้อมเซลล์ตายด้วย PI และตรวจวัดด้วยเครื่องเทคนิค flow cytometer จากภาพเซลล์ลิ้มโฟซัยท์ที่แบ่งตัว (proliferating cells, Lower Left/LL) เซลล์ที่ไม่แบ่งตัว (resting cells, Lower Right/LR) เซลล์ที่แบ่งตัวและตาย (dead stimulated cell, Upper Left/UL) เซลล์ที่ไม่แบ่งตัวและตาย (dead resting cell, Upper Right/UR) จากภาพแสดงลิ้มโฟซัยท์จากผู้เข้าร่วมวิจัยรายที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ สารสกัดสมุนไพร HID (ปอบิด), HSF (แมงลักคา สด), HSD (แมงลักคา แห้ง), KPD (กระชายดำ แห้ง) จากผู้เข้าร่วมวิจัย จำนวน 3 ราย

สารสกัดสมุนไพร		ความเข้มข้น							
		Control	1 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml	1 µg/ml	5 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml
HID (ปอบิด)	donor 1	44.51	48.93	49.46	43.58	45.52	51.33	52.50	60.42
	donor 2	73.55	73.51	74.69	76.25	75.96	77.87	80.02	88.51
	donor 3	20.84	22.71	24.07	22.12	25.69	24.49	25.38	39.98
	Mean	46.30	48.38	49.41	47.32	49.06	51.23	52.63	62.97
	p-value	NA	0.248	0.106	0.437	0.133	0.036*	0.024*	0.006*
HSF (แมงลักคา สด)	donor 1	47.27	47.54	48.45	46.50	43.21	49.34	50.76	55.45
	donor 2	51.22	49.72	50.61	49.89	52.74	53.18	53.62	67.83
	donor 3	27.64	27.97	27.16	31.56	31.83	32.69	34.03	44.02
	Mean	42.04	41.74	42.07	42.65	42.60	45.07	46.14	55.77
	p-value	NA	0.667	0.963	0.750	0.842	0.096	0.075	0.038*
HSD (แมงลักคา แห้ง)	donor 1	57.92	57.51	57.81	56.34	62.40	63.49	63.14	75.73
	donor 2	54.31	52.07	50.64	51.41	53.53	53.53	55.29	75.84
	donor 3	29.88	29.89	33.76	33.21	36.77	34.67	37.67	44.06
	Mean	47.37	46.49	47.41	46.99	50.90	50.57	52.04	65.21
	p-value	NA	0.331	0.989	0.858	0.259	0.251	0.143	0.014*
KPD (กระชายดำ แห้ง)	donor 1	35.75	33.57	34.79	32.40	33.00	33.52	32.79	36.30
	donor 2	51.34	48.64	50.50	48.71	49.70	49.42	49.77	50.82
	donor 3	49.10	42.99	50.57	45.01	43.12	45.08	47.40	42.44
	donor 4	17.02	14.33	14.13	13.78	14.88	15.14	13.42	16.37
	Mean	38.30	34.88	37.50	34.97	35.18	35.79	35.84	36.48
	p-value	NA	0.032	0.433	0.002†	0.049†	0.016†	0.016†	0.347

* $p < 0.05$; paired t -test สารสกัดมีฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับสถานะที่ไม่มีสารสกัด

† $p < 0.05$; paired t -test สารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ค่าผลทดสอบ แสดงในรูป Mean $\pm$ S.D. จากผลทดสอบตัวอย่างเลือดผู้เข้าร่วมวิจัย 3 ราย

NA: Not Applicable ไม่วิเคราะห์ทางสถิติ

อภิปรายผล

เพื่อป้องกันสรรพคุณสมุนไพรไทยให้มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์และตรวจสอบฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการก่อนนำไปใช้เพื่อสร้างเสริมสุขภาพหรือรักษา

โรค การศึกษาวิจัยนี้จึงทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ ของสารสกัดสมุนไพร 17 สารสกัด พบสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ ได้แก่ HID

(โปบิต *Helicteres isora* L.), HSF (แมงลักคาสด *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze), HSD (แมงลักคาแห้ง *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze), และ KPD (กระชายดำแห้ง *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker.) ยังยั้งการเพิ่มจำนวน ลิมโฟไซต์

จากการศึกษาข้อมูลสมุนไพร พบข้อมูลและสรรพคุณของสมุนไพร ดังนี้ โปบิต ชื่อวิทยาศาสตร์ *Helicteres isora* L. เป็นพืชในวงศ์ Malvaceae^[4] เป็นพืชที่ขึ้นตามริมป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง ที่รกร้าง พบได้ทั่วไปทั้งในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน และอินเดีย ลักษณะเป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 1-2 เมตร มีขนสีน้ำตาล ใบเดี่ยว รูปไข่กว้าง ขอบใบหยัก ออกดอกปีละครั้ง กลีบดอกสีส้ม ออกเป็นกระจุกที่ซอกใบ ผลเป็นฝักรูปยาว บิดเป็นเกลียวคล้ายเชือกข้วน ยาว 3-4 ซม. เมื่อแก่จะแตก มีสีน้ำตาลดำ

จากการศึกษาครั้งนี้ พบสารสกัดโปบิตจากผลแห้งด้วยน้ำความเข้มข้นเพียง 5-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ ยังไม่พบรายงานและหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สารสกัดโปบิตด้านกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกันที่แน่ชัด จากข้อมูลในตำรายาไทย โปบิตเปลือกต้นและราก มีสรรพคุณ บำรุงธาตุ ผลใช้แก้บิด แก้ปวดเบ่ง ท้องเสีย ขับเสมหะ ตำพอกแก้ปวดเคล็ด บวม และต้านการอักเสบ^[5-6] สารสำคัญในส่วนของผล โปบิตพบว่าประกอบด้วย rosmarinic acids และ isoronic acid^[7] และพบรายงานการศึกษาสาร rosmarinic acids จากผลโปบิตมีฤทธิ์ต้าน SARS-CoV-2^[8] ดังนั้น อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมทางคลินิกในผู้เข้าร่วมวิจัยที่ระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือติดเชื้อไวรัสต่าง ๆ เพื่อศึกษาประสิทธิผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวน

เซลล์เม็ดเลือดขาวและฤทธิ์ต้านการอักเสบสารสกัดโปบิต โดยทดสอบกระตุ้นการหลั่ง cytokine ชนิดต่าง ๆ จากการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ เช่น IL-2, IL-6 และ inflammatory cytokine ที่มีผลต่อการต้านการอักเสบ เพื่อทราบกลไกการกระตุ้นเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันและสามารถนำไปปรับสมดุลของระบบภูมิคุ้มกันได้เหมาะสมในผู้ป่วยติดเชื้อและภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องต่าง ๆ ได้ต่อไป

การศึกษาวิจัยประสิทธิผลของโปบิตในโรคเบาหวาน พบว่าสารสกัดจากผลโปบิตด้วยน้ำ^[9] และสารสกัดจากรากด้วย ethanol และ butanol^[10] มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดในหนูทดลองที่ทำให้เป็นเบาหวาน และป้องกันไม่ให้ระดับไขมันสูงขึ้น และการทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยงพบว่าเพิ่มการขนส่งน้ำตาลเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อของหนู^[11] และเพิ่มการขนส่งน้ำตาลเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อกระบังลม^[12] เนื่องจากโปบิตไม่ใช่พืชอาหาร จากการศึกษาศาสตร์ที่ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดโปบิต พบว่าสารสกัดโปบิตด้วยน้ำมีความปลอดภัยในการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบผลิตภัณฑ์ในขนาดที่ทดสอบ แต่สารสกัดโปบิตด้วย 95% เอทานอล หากจะนำมาใช้ความเข้มข้นต้องไม่เกิน 2,500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร^[13]

การศึกษานี้จึงสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อให้ประชาชนรับประทานโปบิตระดับความเข้มข้นที่มีความปลอดภัยเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเม็ดเลือดขาวและควบคุมป้องกันต้านการติดเชื้อไวรัส และสรรพคุณต่าง ๆ ที่ต้องการตามความเหมาะสม

HSD แมงลักคา ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze^[14] เป็นวัชพืชรานในประเทศเขตร้อนทั่วไป มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา และแพร่กระจายพันธุ์ไปยังเขตร้อนต่าง ๆ ทั่ว

โลก เช่นใน ปาปัวนิวกินี, ติมอร์, อินโดนีเซีย, บราซิล, อินโดนีเซีย, จีน และไทย สำหรับในประเทศไทยนั้นสามารถพบได้ทั่วทุกภาคของประเทศ^[15] เมงลักคาเป็นพืชล้มลุกและเป็นไม้พุ่มเตี้ยในตระกูลมินท์ มีกลิ่นแรง ต้นสูงได้ถึง 3 เมตร ลำต้นสีเหลือง และมีขน ใบรูปไข่ ใบยาว 2.5-10 เซนติเมตร ฐานใบรูปหัวใจ ดอกเป็นกลุ่ม กลีบฐานดอกมีฟันคล้ายขน 5 ซี่ สรรพคุณสำหรับตำรายาไทยเมงลักคา ใช้ใบ ยอดอ่อน และต้น ใช้เป็นชาชงเพื่อเป็นยาลดไข้ แก้หวัด ขับเหงื่อในคนที่ เป็นหวัด สารสกัดเอทานอลจากส่วนเหนือดินยับยั้งเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*)^[16] สามารถยับยั้งไวรัสซิคูนกยาสายพันธุ์เอเซีย และสารสกัดรากที่มี Ursolic acid เป็นสารสำคัญสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส HIV และยับยั้งการทำงานของ HIV-1 reverse transcriptase และ protease^[17] สารสกัดส่วนเหนือดินด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้าน SARS-CoV-2^[8] และการศึกษานี้พบว่าสารสกัดนี้เพิ่มการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์ในหลอดทดลอง มีรายงานวิจัยทดสอบทางคลินิกศึกษาประสิทธิผลเบื้องต้นและความปลอดภัยของสารสกัดสมุนไพรเมงลักคาในผู้ติดเชื้อเอชไอวี และการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันพบว่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (CD4) ไม่เพิ่มขึ้นและปริมาณเชื้อไวรัสในกระแสเลือด (HIV Viral load) ไม่ลดลง^[18] อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารสกัดเมงลักคาที่ทดสอบไม่เพียงพอสำหรับกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวในร่างกาย ดังนั้นการนำสารสกัดไปใช้สำหรับกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิผลของสารสกัดสมุนไพรในการเสริมภูมิคุ้มกันควรคำนึงถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมและกลไกในการออกฤทธิ์ในร่างกายของสารสกัดแต่ละประเภทเพื่อให้สามารถปรับใช้ความเข้มข้นที่สามารถออกฤทธิ์และมีความปลอดภัย

กระชายดำ ชื่อวิทยาศาสตร์ *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker. ชื่อวงศ์ Zingiberaceae ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้ล้มลุก มีเหง้าอยู่ใต้ดิน เนื้อในสีม่วงเข้ม มีกลิ่นหอม ใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ เหนือออกจากใต้ดิน รูปไข่หรือรูปรี ขอบใบเรียบและเป็นคลื่น หลังใบเรียบ ท้องใบเรียบสีม่วงแดง ดอกออกเป็นช่อตามซอกใบ ดอกขนาดเล็กสีขาว โคนเชื่อมติดกัน มีกาบใบหุ้มดอก สรรพคุณ เหง้ารับประทานเป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงกำลัง บำรุงกำหนด หรือใช้ผสมกับน้ำหรือสุรา เป็นยาแก้ตานซาง รักษาโรคเด็ก และแก้บิด^[19] สารสกัดกระชายดำด้วยเอทานอลหรือสารกลุ่ม methoxyflavones มีฤทธิ์ยับยั้ง viral protease activity การศึกษาพบการยับยั้ง HIV-1 protease, hepatitis C virus (HCV) protease, and human cytomegalovirus (HCMV) protease^[20] กระตุ้นการเพิ่มขึ้นของ mRNA ของ TNF-alpha และ IFN-beta ซึ่งมีผลยับยั้งการแบ่งตัวของ H5N1 virus^[21] และ *Plasmodium falciparum*^[22] และจากรายงานวิจัยพบว่าสารสกัดกระชายดำด้วยเอทานอลยังมีฤทธิ์ยับยั้ง cell viability และกระตุ้นการตายแบบ apoptosis ใน เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด myeloblastic leukemia (HL-60 cells) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด Human leukemic U937 cell line^[23] เซลล์มะเร็งปากมดลูกชนิด HeLa cell^[24] และการศึกษานี้พบว่าสารสกัดกระชายดำแห้งด้วยน้ำ มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในหลอดทดลอง ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 ng/ml ดังนั้นการใช้สารสกัดความเข้มข้นที่เหมาะสมจะมีผลต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันได้

การวิจัยครั้งนี้นอกจากจะเพิ่มองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์การแพทย์แล้ว ยังมีบทบาทสำคัญต่อการตรวจยืนยันสรรพคุณของสมุนไพรต่อการกระตุ้น

ระบบภูมิคุ้มกัน รวมทั้งนำไปสู่การพัฒนาศักยภาพในการผลิตเป็นยาในการดูแลรักษาผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพเสริมสร้างสุขภาพของประชาชนทั่วไปได้ แต่อย่างไรก็ดีการทดลองเพื่อหาความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรเมื่อใช้ระยะยาวเป็นอีกงานวิจัยที่สำคัญ พบว่าสมุนไพรจำนวนมากที่มีรายงานความเป็นพิษต่อดับและไต หากรูปแบบหรือขนาดที่ใช้ไม่ถูกต้อง เนื่องจากยังขาดข้อมูลด้านความปลอดภัยในการใช้ และควรระวังการเกิดอันตรกิริยากับยาแผนปัจจุบันเพราะอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยามากขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ใช้สมุนไพรได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยมากขึ้น

ข้อสรุป

การตรวจวัดการตอบสนองของลิมโฟไซต์หลังจากกระตุ้นด้วยสมุนไพร สามารถยืนยันและระบุชนิดของสมุนไพรที่กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และสามารถทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันและกลไกที่เกี่ยวข้องอันจะเป็นประโยชน์ต่อการส่งเสริมสุขภาพของประชาชนทั่วไปและผู้ป่วยที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้องค์ความรู้และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่จะได้ยังสามารถใช้สนับสนุนงานวิจัยเพื่อปรับปรุงและส่งเสริมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพรไทยได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินงบประมาณจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอขอบพระคุณนายไกรสิทธิ์ ลิ้มประเสริฐ นายกสมาคมเวชกรรมไทย ในการจัดเตรียมยาตำรับห้ารากและยาตำรับประสะ

เปราะใหญ่ นายศักดิ์วิชัย อ่อนทอง ห้องปฏิบัติการพิษภัณฑ์พืช สถาบันวิจัยสมุนไพร ในการเก็บรวบรวมพันธุ์พืชสมุนไพรในการวิจัย

References

1. Technical and Planting Division. Technical and knowledge bank working group [Internet]. [cited 2022 Oct 15]. Available from: <https://tpd.dtam.moph.go.th/index.php/news-ak/technical-manual-ak/554-herbresearch>
2. Lyons AB, Hasbold J, Hodgkin PD. Flow cytometric analysis of cell division history using dilution of carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester, a stably integrated fluorescent probe. *Methods Cell Biol.* 2001;63:375-98.
3. Böyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. Supplementum* 1968;97:7.
4. The plant list. Malvaceae [Internet]. 2013 [cited 2020 August 28]. Available from: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=helicteres+isora>
5. Santisuk T, Larsen K. Flora of Thailand: Volume 7 Part 3 Alismataceae Aponogetonaceae Ctenolophonaceae Cymodoceaceae Hamamelidaceae Hydrocharitaceae Lemnaceae Limnchartitaceae Melastomataceae Polygalaceae Potamogetonaceae Sterculiaceae. Bangkok: Royal Forest Dept; 2001.
6. Tang Y, Gilbert MG, Dorri LJ. *Helicteres*. In *Flora of China* Vol. 12. 2007. p. 318.
7. Kumar N, Kumar SA. Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Avartani (Helicteres isora Linn.)*: A review. *Asian Pac Journal of Tropical Biomedicine.* 2014;4(Suppl1):22-6.
8. Radapong S, Sahad T, Harnkit N, Suppajariyawat P, Akkpaiboon Okada P, Meechalad W, Sincharoenpokai P, Niumsukul S, Buaboa S, Ontong S, J. Ritchie K, Chaisomboonpan S. Anti-SARS-CoV-2 activity screening of the selected Thai medicinal plants and potential host-target molecules. *Bulletin of the Department of Medical Sciences.* 2022;64(2):93-105.
9. Boopathy Raja A, Elanchezhian C, Sethupathy S. Antihyperlipidemic activity of *Helicteres isora* fruit extract on streptozotocin induced diabetic male wistar rats. *European Review for Medicine Pharmacological*

- Sciences. 2010;14:191-6.
10. Venkatesh S, Madhava Reddy B, Dayanand Reddy G, Mullangi R, Lakshman M. Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of *Helicteres isora* roots in alloxan-induced diabetic rats: A possible mechanism of action. *Journal of Natural Medicines*. 2010;64(3):295-304.
 11. Gupta RN, Pareek A, Suthar M, Rathore GS, Basniwal PK, Jain D. Study of glucose uptake activity of *Helicteres isora* Linn. fruits in L-6 cell lines. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*. 2009;29(4):170-3.
 12. Suthar M, Rathore GS, Pareek A. Antioxidant and antidiabetic activity of *Helicteres isora* (L.) fruits. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009;71(6):695-9.
 13. Suppajariyawat P, Aunkat S, Sudhong W, Buabao S, Sincharoenpokai P. Investigation of mutagenic activity of *Helicteres isora* L. extract. *Journal of Thai Trad Alt Med*. 2020;18(3):548-59. (in Thai)
 14. Almeida-Bezerra JW, Rodrigues FC, Lima Bezerra JJ, Vieira Pinheiro AA, Almeida de Menezes S, Tavares AB, Costa AR, Augusta de Sousa Fernandes P, Bezerra da Silva V, Martins da Costa JG, Pereira da Cruz R. Traditional uses, phytochemistry, and bioactivities of *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022 Mar 10;2022
 15. Smitinand T. Thai plant names. 2nd ed. Bangkok: Royal Forest Department; 2001. 810 p. (in Thai)
 16. Faculty of Pharmacy Ubonratchathani University. Labiatae [Internet]. [cited 2022 Oct 15]. Available from: http://www.phargarden.com/main.php?action=view_page&pid=268 (in Thai)
 17. Mishra P, Sohrab S, Mishra SK. A review on the phytochemical and pharmacological properties of *Hyptis suaveolens* (L.) poit. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;7(1):65.
 18. Kunkongkapan S, Sriwantana B, Chavalittumrong P, Warachit P. Efficacy and safety of *Hyptis suaveolens* extract in HIV-infected individuals: A preliminary study. *Journal of Lanna Public Health*. 2007;3(3):255-62. (in Thai)
 19. Sapcharoen P. Medicinal plants in Thailand. 1st ed. Nonthaburi: Thai Traditional Medicine Development Foundation; 2006. 464 p. (in Thai)
 20. Sookkongwaree K, Geitmann M, Roengsumran S, Petsom A, Danielson UH. Inhibition of viral proteases by *Zingiberaceae* extracts and flavones isolated from *Kaempferia parviflora*. *Pharmazie*. 2006;61(8):717-21.
 21. Sornpet B, Potha T, Tragoolpua Y, Pringproa K. Antiviral activity of five Asian medicinal plant crude extracts against highly pathogenic H5N1 avian influenza virus. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2017;10(9):871-6.
 22. Yenjai C, Prasanphen K, Daodee S, Wongpanich V, Kittakoo P. Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia*. 2004;75(1):89-92.
 23. Banjerdpongchai R, Chanwikruy Y, Rattanapanone V, Sripanidkulchai B. Induction of apoptosis in the human Leukemic U937 cell line by *Kaempferia parviflora* Wall. ex. Baker extract and effects of paclitaxel and camptothecin. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2009;10(6):1137-40.
 24. Potikanond S, Sookkhee S, Na Takuathung M, Mungkornasawakul P, Wikan N, Smith DR, Nimlamool W. *Kaempferia parviflora* Extract exhibits anti-cancer activity against HeLa cervical cancer cells. *Front Pharmacol*. 2017;8:630.