

Original Article

นิพนธ์ต้นฉบับ

ยารักษาโรคริดสีดวงทวารจากสมุนไพร เพชรสังฆาต

อังคณา หิรัญสาลี*

สุพรรณ ภัทรพรชัยวัฒน์*

รัตติมา จีนาพงษา**

ณัฐตรา จันทรสุวานิชย์*

ศรัณยา ธาราแสง*

*สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

**คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทคัดย่อ

เพชรสังฆาต (*Cissus quadrangularis* L.) เป็นพืชไม้เลื้อยมีสรรพคุณแก้ริดสีดวงทวาร ในปัจจุบัน บริโภคเถาของเพชรสังฆาตบดแห้งเพื่อรักษาโรคริดสีดวงทวาร จึงเป็นลักษณะยาที่ควบคุมคุณภาพได้ยาก มีความเสี่ยง ต่อเชื้อรา เชื้อจุลินทรีย์ และยังมีปริมาณ calcium oxalate สูงมาก อาจก่อให้เกิดความระคายเคืองและเป็น อันตรายต่อผู้ป่วยได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาจากเพชรสังฆาตในรูปแบบของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ และสามารถควบคุมคุณภาพได้ด้วยสารสำคัญ นำสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดเถาเพชรสังฆาตด้วย 95% เอทานอล ไปแยกตามลำดับความเป็นขี้ของสารได้เป็นสารสกัดย่อยสองสารสกัด คือ สารสกัดเฮกเซน และสารสกัดเอทานอล แล้วนำสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 1 และ 5 ใน สารละลาย ethylphenyl propiolate ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอาการบวมของใบหูหนู เปรียบเทียบกับอาการบวมของใบหูหนูที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยสาร ethylphenyl propiolate และมียาต้านอักเสบ indomethacin เป็นสารควบคุมบวม พบว่า สารสกัดเฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 สามารถลดอาการบวมของใบหูหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ได้ที่เวลา 30, 60 และ 120 นาที ส่วนสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 สามารถลดอาการบวมได้ที่เวลา 30 นาที ในขณะที่สารสกัดเอทานอลไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งอาการบวมของใบหูหนู นำสารสกัดเฮกเซนมาแยกหาสารสำคัญและตรวจสอบสูตรโครงสร้าง พบว่าเป็น lupeol จึงได้พัฒนาตำรับยารักษาโรคริดสีดวงทวาร โดยใช้สารสกัดเฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ใน fatty base ประเมินความคงตัวทางกายภาพของยาที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 8-15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือนพบว่าลักษณะของยาสมุนไพรเพชรสังฆาตไม่เปลี่ยนแปลง

คำสำคัญ: เพชรสังฆาต, ยารักษาโรคริดสีดวงทวาร, ฤทธิ์ต้านอักเสบ lupeol

บทนำ

ริดสีดวงทวารเป็นโรคที่พบได้ทั้งในเพศชายและเพศหญิง ผู้ป่วยจะมีอาการเลือดออกทางทวารหนัก มี

ก้อนยื่น คันและปวด⁽¹⁾ การรักษาโรคริดสีดวงทวาร⁽²⁾ มีหลายวิธี เช่น การกินยา การใช้ยาเหน็บ การผ่าตัด เป็นต้น แพทย์มักแนะนำให้ผู้ป่วยกินอาหารที่เป็นพืชเส้นใยเพื่อ

ช่วยระบบขับถ่ายให้ดีขึ้นซึ่งจะช่วยลดอาการเจ็บปวดการ รักษาทางเลือกอีกวิธีหนึ่งที่มีการใช้ในแถบยุโรป คือ การใช้สมุนไพรลดอาการอักเสบที่เกิดจากริดสีดวงทวาร⁽³⁻⁵⁾ ได้แก่ golden rod (*Solidago virgaurea*), เมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera*), Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*), St. John's Wort (*Hypericum perforatum*), yarrow (*Achillea millefolium*), ว่านหางจระเข้, เปลือกต้น horse chestnut, น้ำมันมะกอก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการใช้สมุนไพรตำรับรักษาโรคติดเชื้อจากทวารในประเทศจีน⁽⁶⁾ โดยช่วยลดอาการอักเสบและช่วยเพิ่ม การหมุนเวียนโลหิต สมุนไพรตำรับเหล่านี้ ได้แก่ fargelin, huai jiao wan และ jing wan hung ซึ่งเป็น ointment ใช้สำหรับทาแก้ปวด แก้คัน

สำหรับประเทศไทยสมุนไพรที่มีสรรพคุณรักษา โรคติดเชื้อจากทวาร คือ เพชรสังฆาต ซึ่งเป็นพืชไม้เลื้อย ในสกุล Vitaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cissus quadrangularis* L. มีชื่อเรียกอื่น ๆ ว่า สันชะควด (กรุงเทพฯ) สามร้อยต่อ (ประจวบคีรีขันธ์) หรือ ชันช้อ (ราชบุรี)⁽⁷⁾ ในตำรายาไทย^(8,9) ใช้ส่วนรากรักษากระดูกแตก-หัก ส่วนลำต้นมีสรรพคุณแก้หุน้ำหนวก เลือดกำเดา ประจำเดือนไม่ปกติ ช่วยเจริญอาหาร ขับน้ำเหลืองเสีย ส่วนใบใช้รักษากระดูกแตก-หัก รักษาโรคค้ำไส้ (เกี่ยวกับอาหารไม่ย่อย) และริดสีดวงทวาร ส่วนเถาสดของ เพชรสังฆาตมีสรรพคุณขับลมในลำไส้ แก้จุกเสียดท้อง ชันช้อเพื่อ ริดสีดวงทวารหนัก สารเคมีที่มีรายงานการ พบ⁽⁸⁾ คือ *Cissus quadrangularis* keto steroid, Lupenone, β -sitosterol, δ -amyrone, quercetin, calcium oxalate crystal, carotene, vitamin C เป็นต้น ปัจจุบันมีผู้กินเถาของเพชรสังฆาตเพื่อรักษาโรคติดเชื้อจากทวาร^(10,11) โดยใช้เป็นรูปแบบผงบดแห้ง และบรรจุ แคปซูล อย่างไรก็ตาม การใช้ยาสมุนไพรในรูปแบบผง บดแห้งเช่นนี้ยากต่อการควบคุมคุณภาพ เพราะไม่มีการควบคุมสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ อีกทั้งวัตถุดิบเพชร-สังฆาตมาจากแหล่งต่างกัน การเก็บในฤดูกาลที่แตก ต่างกัน ตลอดจนอายุของผงยาบดแห้ง เหล่านี้ล้วนมีผล

ต่อความสม่ำเสมอของคุณภาพของยา นอกจากนี้ผงยา บดแห้งยังมีความเสี่ยงต่อเชื้อรา ตลอดจนเชื้อจุลินทรีย์ ต่าง ๆ ที่มักพบในสมุนไพร โดยเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เกิด ได้ง่ายในระหว่างการผลิต หรือการเก็บรักษา สิ่งสำคัญ อีกประการคือ เพชรสังฆาตเป็นสมุนไพรที่มี calcium oxalate สูงมาก การใช้ผงยาบดแห้งจึงอาจก่อให้เกิด ความระคายเคืองและเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยได้

ในการพัฒนายาจากสมุนไพร รูปแบบหนึ่งที่จะ ช่วยแก้ปัญหาของการควบคุมคุณภาพ คือ การใช้ในรูปแบบ ของสารสกัดที่สามารถควบคุมคุณภาพได้ด้วยสาร สำคัญที่มีอยู่ในสารสกัด สารสกัดยังง่ายต่อการเก็บรักษา ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับเพชรสังฆาตไม่ปรากฏ รายงานการใช้สารสกัดในการรักษาโรคติดเชื้อจากทวาร จึงศึกษาเพื่อพัฒนายาจากเพชรสังฆาตในรูปแบบสาร สกัดที่มีฤทธิ์ ระบุสารสำคัญที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพ และเตรียมตำรับยาจากสารสกัดที่มีฤทธิ์ เพื่อใช้เป็น ข้อมูลในการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาสำหรับการศึกษา ประสิทธิภาพและส่งเสริมการใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ จากทวารต่อไป

วิธีการศึกษา

การศึกษาเชิงทดลอง (experimental study) นี้ เปรียบเทียบขนาดการบวมที่หูของหนูทดลองเมื่อสัมผัส สาร ethylphenyl propiolate (EPP) กับยาด้านอักเสบ indomethacin และสารสกัดจากวัตถุดิบ คือ เพชร-สังฆาตในสามรูปแบบ

การเตรียมตัวอย่างพืช

1. เก็บรวบรวมจากอำเภอนครชัยศรี จังหวัด นครปฐม โดยเก็บส่วนของลำต้นที่มีใบและดอกติดอยู่
2. ตรวจระบุชนิดของวัตถุดิบเพชรสังฆาตตาม หลักอนุกรมวิธานพืช^(9,12,13) และจัดเตรียมตัวอย่างพืช แห้งไว้เป็นหลักฐานอ้างอิง (voucher specimen)
3. นำวัตถุดิบเพชรสังฆาตไปล้างน้ำ ผึ่งให้แห้ง นำไปอบที่ 45 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท และบด เป็นผงละเอียด

การสกัดและแยกสารสำคัญจากสารสกัด**1. สารสกัดหยาบของเพชรสังฆาต**

นำเพชรสังฆาตที่อบแห้งและบดละเอียด น้ำหนัก 1,000 กรัม สกัดด้วยเครื่อง soxhlet extractor โดยใช้ 95% เอทานอล ปริมาตร 4 ลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ กรองและระเหยสารสกัดภายใต้ความดันสุญญากาศ

2. สารสกัดเฮกเซนของเพชรสังฆาตและสารสกัดเอทานอลของเพชรสังฆาต

สารสกัดหยาบของเพชรสังฆาตน้ำหนัก 30 กรัม ละลายใน 95% เอทานอล ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลาย n-hexane ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เขย่า วางทิ้งไว้ให้แยกชั้น เก็บสารละลายแต่ละส่วนที่แยกกัน และระเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันสุญญากาศ

3. สารบริสุทธิ์จากสารสกัดเพชรสังฆาต

สารสกัดเฮกเซนของเพชรสังฆาต น้ำหนัก 10 กรัม มาแยกโดยวิธี chromatography ด้วย silica gel 60 for column chromatography 300 กรัม ซึ่งบรรจุในคอลัมน์ ชุดด้วยตัวทำละลาย n-hexane และ ethyl acetate นำส่วนสกัดย่อยที่แยกได้ไปแยกสารให้บริสุทธิ์ โดยใช้ silica gel 60 F 254 (0.063-0.2 mm) for PTLC และ 10% ethyl acetate ใน n-hexane เป็น developing system และตกผลึกใน acetone

4. ตรวจสอบหาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์

สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดเพชรสังฆาต นำไปตรวจสอบหาสูตรโครงสร้างทางเคมี โดยวิธีทาง spectroscopy ด้วย infrared spectrometry (IR) และ nuclear magnetic resonance spectrometry (NMR)

การศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดเพชรสังฆาต^(14,15)

1. การเตรียมสารละลาย EPP, indomethacin และสารสกัดเพชรสังฆาต ถูกเตรียมให้อยู่ในรูปของสารละลาย 5% (v/v) ใน acetone indomethacin และสารสกัด ถูกเตรียมให้อยู่ในรูปของสารละลายใน 5%

EPP ใน acetone

2. เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอักเสบระหว่างสารสกัดหยาบ (C-4) สารสกัดเฮกเซน (C-5) และสารสกัดเอทานอลของเพชรสังฆาต (C-6) ในหนู rat สายพันธุ์ Sprague Dawley เพศผู้ อายุ 4-6 สัปดาห์ โดยใช้สาร EPP เหนี่ยวนำให้เกิดอาการบวมของใบหูหนู และมียาต้านอักเสบ indomethacin เป็นสารควบคุมบวก

การศึกษาแบ่งหนูทดลองออกเป็นกลุ่มทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 : หนูทดลองจำนวน 21 ตัว ได้รับสารละลาย 5% EPP ใน acetone เพียงอย่างเดียว

กลุ่มที่ 2, 3, และ 4 : หนูทดลองกลุ่มละ 6 ตัว ได้รับสารละลาย 0.1, 1, และ 5% indomethacin ใน 5% EPP ใน acetone ตามลำดับ

กลุ่มที่ 5, 6, และ 7 : หนูทดลองกลุ่มละ 9, 11 และ 11 ตัว ได้รับสารละลาย 0.1, 1, และ 5% สารสกัดหยาบ (C-4) ใน 5% EPP ใน acetone ตามลำดับ

กลุ่มที่ 8, 9, และ 10 : หนูทดลองกลุ่มละ 8 ตัว ได้รับสารละลาย 0.1, 1, และ 5% สารสกัดเฮกเซน (C-5) ใน 5% EPP ใน acetone ตามลำดับ

กลุ่มที่ 11, 12, และ 13 : หนูทดลองกลุ่มละ 8 ตัว ได้รับสารละลาย 0.1, 1, และ 5% สารสกัดเอทานอล (C-6) ใน 5% EPP ใน acetone ตามลำดับ

โดยวัดความหนาของหูหนูที่เวลาศูนย์ จากนั้นหาสารละลายของ EPP หรือ indomethacin หรือสารสกัดเพชรสังฆาตใน EPP ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ใบหูหนูทั้งด้านบนและด้านล่าง โดยทาตามละ 10 ไมโครลิตร หลังจากนั้นวัดความหนาของหูหนูเป็นมิลลิเมตรด้วย vernier calipers ภายหลังจากการทาสารละลายต่าง ๆ แล้วที่เวลา 15, 30, 60 และ 120 นาที

3. การคำนวณและสถิติ

ความหนาของใบหูหนูที่วัดได้จะถูกคำนวณเป็นร้อยละของความบวม (% edema) โดยเทียบกับความบวมที่เวลาศูนย์ของหนูแต่ละตัว เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายชนิดเดียวกันแต่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยใช้สถิติ Students' t-test

โดยความแตกต่างจะมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ p-value มีค่าน้อยกว่า 0.05

$$\% \text{ edema} = \frac{\chi_1 - \chi_0}{\chi_0} \times 100$$

χ_0 = ความหนาที่วัดได้ ณ เวลาศูนย์

χ_1 = ความหนาที่วัดได้ ณ เวลาอ่าน

การเตรียมยาจากสารสกัดเพชรสังฆาต⁽¹⁶⁾

1. หลอม fatty base น้ำหนัก 100 กรัม จนเหลว เติมสารสกัดที่มีผลแสดงประสิทธิภาพสูงสุดตามสัดส่วนการทดลองข้างต้นของเพชรสังฆาต

2. ประเมินความคงตัวของยา รักษาโรคไตชนิดสังเคราะห์จากสารสกัดเพชรสังฆาตที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 8-15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน แล้วตรวจสอบสี ความแข็ง และเนื้อยา

ผลการศึกษา

การเตรียมตัวอย่างพืช

จากการตรวจระบุนิคมพบว่าวัตถุดิบเพชรสังฆาตเป็นพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cissus quadrangularis* L. วงศ์ Vitaceae และตัวอย่างพืชแห้งที่เตรียมไว้เป็นหลักฐานอ้างอิงมีหมายเลขผู้เก็บ N.Chansuvanich 536 และมีหมายเลขพรรณไม้ DMSC 1656 เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

การสกัดและแยกสารสำคัญจากสารสกัด

1. สารสกัดหยาบของเพชรสังฆาต (C-4) มีลักษณะหนืดสีน้ำตาล น้ำหนัก 89.03 กรัม คิดเป็นร้อยละ 8.90

2. สารสกัดเฮกเซนของเพชรสังฆาต (C-5) มีลักษณะหนืดสีน้ำตาล น้ำหนัก 10.80 กรัม คิดเป็นร้อยละ 36 และสารสกัดเอทานอลของเพชรสังฆาต (C-6) มีลักษณะหนืดสีน้ำตาล น้ำหนัก 19.20 กรัม คิดเป็นร้อยละ 64

3. สารบริสุทธิ์จากสารสกัดเพชรสังฆาต เป็นผลึกรูปเข็ม น้ำหนัก 0.03 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.30 มี

จุดหลอมเหลว 214-216 องศาเซลเซียส

4. สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่ได้คือ lupeol (รูปที่ 1) มีค่าการดูดกลืนแสงอินฟราเรด และสัญญาณ NMR ดังนี้

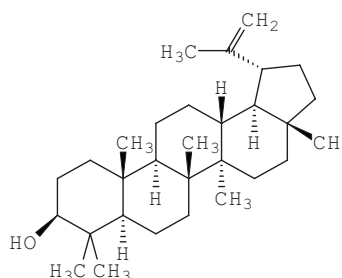
IR (ν_{\max} , cm^{-1}) : 3247.96, 2923.05, 1463.10, 1380.68, 1032.19 และ 982.96

NMR 200 MHz in CDCl_3 (δ , ppm) : 0.76(3H, S), 0.79(3H, S), 0.83(3H, S), 0.94(3H, S), 0.97(3H, S), 1.03(3H, S), 1.26(3H, S), 1.07-1.47(20H, m), 1.51-1.68(4H, m), 2.31-2.45(1H, dt, J=5.6, 11.1 Hz), 3.15-3.23(1H, dd, J=5.5, 10.0 Hz), 4.56-4.57(1H, m) และ 4.66-4.71(1H, m)

การศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดเพชรสังฆาต

การทดสอบละลาย 5% EPP ใน acetone ที่ใบหูหนู ทำให้หนูเกิดการอักเสบโดยเกิดอาการบวมที่หูหนู ซึ่งอาการบวมสูงสุดที่เวลา 60 นาที หลังจากที่ทำยาไปแล้ว หลังจากนั้นอาการบวมค่อย ๆ ลดลง

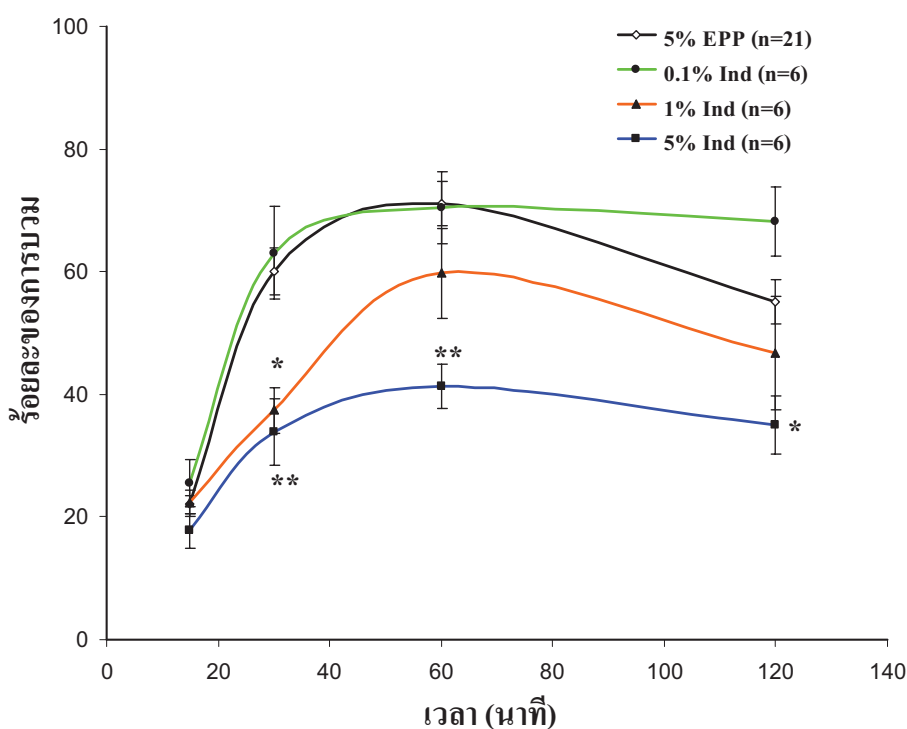
ยาด้านอักเสบ indomethacin เมื่อให้ร่วมกับ 5% EPP ใน acetone จะมีผลยับยั้งอาการบวมจากการเหนียวนำของ EPP ได้ โดยฤทธิ์ในการยับยั้งนี้ขึ้นกับความเข้มข้นของ indomethacin ที่ใช้ คือ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ไม่สามารถยับยั้งอาการบวม แต่ในความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ ร้อยละ 1 และ 5 สามารถยับยั้งอาการบวมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1, รูปที่ 2)



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ lupeol

ตารางที่ 1 ผลของ indomethacin ในสารละลาย 5% EPP ใน acetone ต่อการบวมของหูหนู

จำนวน	กลุ่มสัตว์ทดลอง		ร้อยละของการบวม (ค่าเฉลี่ย, SE)			
	% indomethacin ใน 5% EPP		15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
21	0		22.03, 1.55	60.02, 3.89	71.11, 3.64	55.06, 3.62
6	0.1		25.49, 3.84	63.06, 7.63	70.37, 5.85	68.17, 5.66
6	1		22.30, 2.11	37.36, 3.72*	59.72, 7.42	46.73, 9.18
6	5		17.77, 2.88	33.80, 5.42**	41.33, 3.69**	34.96, 4.67*

* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ รูปที่ 2 ผลของ indomethacin (Ind) ในสารละลาย 5% EPP ใน acetone ต่อการบวมของหูหนู (ค่า mean, SE) * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$

เมื่อให้สารสกัดหยาบ (C-4) ร่วมกับ 5% EPP พบว่า สารสกัดหยาบ (C-4) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 1 และ 5 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งอาการบวมของใบหูหนูที่เกิดจากการเหนียวหน้าโดย EPP ยกเว้นที่เวลา 30 นาที หลังจากทาสารละลาย EPP และสารสกัดหยาบ (C-4) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 พบว่า อาการบวมของใบหูหนู

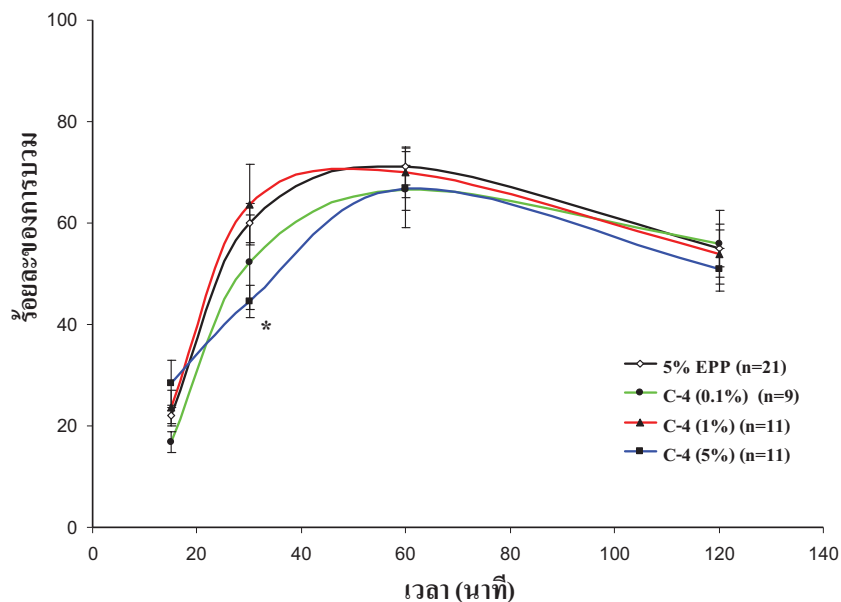
ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2, รูปที่ 3)

เมื่อให้สารสกัดเฮกเซน (C-5) ร่วมกับ 5% EPP พบว่า สารสกัดเฮกเซน (C-5) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 5 ไม่มีฤทธิ์ลดอาการบวมของใบหูหนู แต่สารสกัดเฮกเซน (C-5) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 กลับสามารถ

ตารางที่ 2 ผลของสารสกัดหยาบ (C-4) ในสารละลาย 5% EPP ใน acetone ต่อการบวมของหูหนู

จำนวน	กลุ่มสัตว์ทดลอง % C-4 ใน 5% EPP	ร้อยละของการบวม (ค่าเฉลี่ย, SE)			
		15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
21	0	22.03, 1.55	60.02, 3.89	71.11, 3.64	55.06, 3.62
9	0.1	16.78, 2.02	52.32, 9.34	66.58, 7.40	55.93, 6.62
11	1	23.57, 3.57	63.59, 7.97	70.02, 5.01	53.84, 5.95
11	5	28.52, 4.41	44.64, 3.17*	66.92, 4.34	50.86, 4.18

*p < 0.05



รูปที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบ (C-4) ในสารละลาย 5% EPP ใน acetone ต่อการบวมของหูหนู (ค่า mean, SE), *p < 0.05

ลดอาการบวมของใบหูหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ที่เวลา 30, 60 และ 120 นาที หลังจากทา สารสกัดและ EPP (ตารางที่ 3, รูปที่ 4)

เมื่อให้สารสกัดเอธานอล (C-6) ร่วมกับ 5% EPP พบว่าสารสกัดเอธานอล (C-6) ไม่สามารถลดอาการ บวมของใบหูหนูที่เกิดจากการเหนียวหน้าโดย EPP ได้เลย ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้หนูเกิดอาการอักเสบมากขึ้น โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 5 พบอาการ บวมของใบหูหนูมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

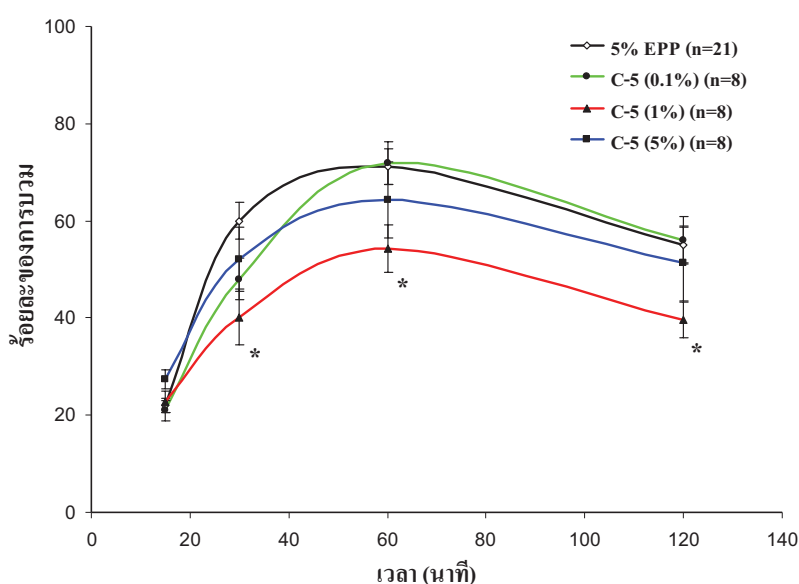
(p<0.001) ที่เวลา 120 นาที (ตารางที่ 4, รูปที่ 5)

การเตรียมยาจากสารสกัดเพชรสังฆาต

เตรียมยาโดยเติมสารสกัดเฮกเซนของเพชร สังฆาตน้ำหนัก 1 กรัมลงใน fatty base 100 กรัม ที่ เตรียมไว้แล้วคนให้เข้ากัน การประเมินความคงตัวของ ภายภาพของตำรับยาที่เตรียมจากสารสกัดเพชรสังฆาต เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 8-15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ลักษณะของยาสมุนไพรเพชรสังฆาตไม่ เปลี่ยนแปลง โดยยังคงมีสีเหมือนเดิม ยามีความคงตัว

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดเฮกเซน (C-5) ในสารละลาย 5% EPP ใน acetone ต่อการบวมของหูหนู

จำนวน	กลุ่มสัตว์ทดลอง % C-5 ใน 5% EPP	ร้อยละของการบวม (ค่าเฉลี่ย, SE)			
		15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
21	0	22.03, 1.55	60.02, 3.89	71.11, 3.64	55.06, 3.62
8	0.1	20.94, 2.16	48.02, 4.21	71.92, 4.44	55.94, 4.90
8	1	22.77, 2.19	40.19, 5.75*	54.29, 4.88*	39.56, 3.71*
8	5	27.49, 1.94	52.04, 6.67	64.30, 7.89	51.31, 7.69

* $p < 0.05$ รูปที่ 4 ผลของสารสกัดเฮกเซน (C-5) ในสารละลาย 5% EPP ใน acetone ต่อการบวมของหูหนู (ค่า mean, SE) * $p < 0.05$

เหมือนเดิมไม่แห้งหรือแข็งตัว และเนื้อเยื่อไม่แยกชั้น ยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน

วิจารณ์

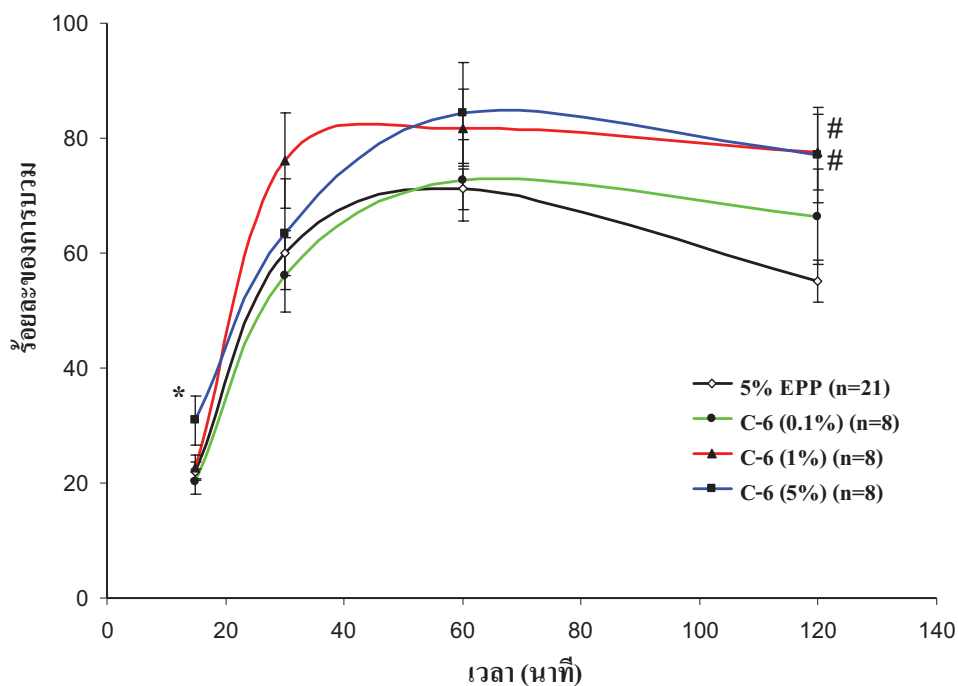
ในการพัฒนายาจากสมุนไพรจำเป็นต้องพิสูจน์สรรพคุณที่กล่าวว่ามีการใช้ในตำรายาไทยมาตั้งแต่โบราณด้วยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ ฤทธิ์ต้านอักเสบเป็นฤทธิ์หนึ่งที่นิยมศึกษาเนื่องจากอาการอักเสบ⁽¹⁷⁾ เป็นผลของปฏิกิริยาของร่างกายที่ต่อสู้กับเชื้อโรคหรือเมื่อเกิดอาการบาดเจ็บ จึงเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของ

ร่างกาย นอกจากนี้อาการอักเสบยังเกิดขึ้นโดยมีสาเหตุจากโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง เบาหวาน ไซซัส เป็นต้น สมุนไพรหลายชนิดมีการใช้รักษาอาการอักเสบและถูกนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ เช่น ขมิ้นชัน ชิง ชะเอม พริกไทย กานพลู กระเทียม กะเพรา เป็นต้น จากรายงานการใช้สมุนไพรรักษาโรคริดสีดวงทวาร^(10,11) ก็จะเป็นการลดอาการอักเสบที่เกิดขึ้นเช่นกัน ดังนั้น การพัฒนายารักษาโรคริดสีดวงทวารนี้จึงเลือกศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดเพชรสังฆาตชนิดต่าง ๆ ในหนูทดลอง เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์เหมาะสมที่จะพัฒนา

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดเอชานอล (C-6) ในสารละลาย 5% EPP ใน acetone ต่อการบวมของหูหนู

จำนวน	กลุ่มสัตว์ทดลอง % C-6 ใน 5% EPP	ร้อยละของการบวม (ค่าเฉลี่ย, SE)			
		15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
21	0	22.03, 1.55	60.02, 3.89	71.11, 3.64	55.06, 3.62
8	0.1	20.24, 2.12	56.22, 6.45	72.74, 7.02	66.35, 8.35
8	1	22.76, 2.06	76.08, 8.33	81.77, 6.73	77.65, 6.57#
8	5	30.91, 4.28*	63.39, 9.63	84.33, 8.72	77.02, 8.28#

*p < 0.05, #p < 0.001



รูปที่ 5 ผลของสารสกัดเอชานอล (C-6) ในสารละลาย 5% EPP ใน acetone ต่อการบวมของหูหนู (ค่า mean, SE) *p < 0.05, #p < 0.001

เป็นยา การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบของสมุนไพรในสัตว์ทดลอง จะทำให้สัตว์ทดลองเกิดอาการอักเสบเฉียบพลันนั้นกระทำได้หลายวิธี^(20,21) เช่น การเหนี่ยวนำให้เกิดอาการบวมที่หูสัตว์ทดลองด้วย ethyphenyl propiolate (EPP) การเหนี่ยวนำให้เกิดอาการบวมที่อุ้งเท้าสัตว์ทดลองด้วย carrageenan หรือ arachidonic acid หรือ albumin สำหรับรูปแบบของการทดสอบ

ฤทธิ์ต้านอักเสบในการศึกษานี้ คือ ฤทธิ์ลดอาการบวมของใบหูหนูที่เกิดจาก EPP และการทดสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบฤทธิ์นี้ได้ทดลองโดยการทาสารละลาย 5% EPP ใน acetone ที่ใบหูหนู ทำให้เกิดอาการบวมที่หูหนู ซึ่งมีอาการบวมสูงสุดที่เวลา 60 นาที หลังจากที่ทายาไปแล้ว และเมื่อให้ยาต้านอักเสบชนิดที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (non-steroidal anti-inflammatory agents,

NSAIDs) คือ indomethacin โดยทาร์ร่วมกับ 5% EPP ใน acetone พบว่า indomethacin ยับยั้งอาการบวมจากการเหนียวของ EPP ได้ โดยฤทธิ์ในการยับยั้งนี้ ขึ้นกับความเข้มข้นของ indomethacin ที่ใช้ คือจะยับยั้งอาการบวมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเข้มข้นสูง (1% และ 5%) จึงแสดงว่าวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบนี้ได้ผลดี

สารสกัดเพชรสังฆาตที่นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบมี 3 ชนิด คือ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย 95% เอทานอล (C-4) ซึ่งนำมาแยกตามความเป็นขั้วของสารได้เป็นสารสกัดเฮกเซน (C-5) และสารสกัดเอทานอล (C-6) ผลการทดสอบฤทธิ์ลดอาการบวมของใบหูหนูเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ร้อยละ 0.1, 1 และ 5 ในสารละลาย EPP พบว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งอาการบวมได้ดีที่สุดคือ สารสกัดเฮกเซน (C-5) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 สามารถลดอาการบวมของใบหูหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ได้ที่เวลา 30, 60 และ 120 นาที หลังจากทาสารสกัดเฮกเซนในสารละลาย EPP ส่วนสารสกัดหยาบ (C-4) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 สามารถลดอาการบวมได้ที่เวลา 30 นาที หลังจากทาสารสกัดในสารละลาย EPP ในขณะที่สารสกัดเอทานอล (C-6) ไม่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ แต่กลับทำให้หนูเกิดอาการบวมมากขึ้น จึงแสดงว่าการนำสารสกัดหยาบเพชรสังฆาตมาแยกตามลำดับความเป็นขั้วของสาร เป็นการแยกส่วนสกัดที่ไม่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ คือ สารสกัดเอทานอลออกไป ทำให้ได้เฉพาะส่วนสกัดเฮกเซนที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ และสรุปได้ว่า สารสกัดเฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นสารสกัดที่มีศักยภาพสูงสุดต่อฤทธิ์ต้านอักเสบ เหมาะที่จะนำไปพัฒนาเป็นยา ดังนั้น จึงเลือกใช้สารสกัดเฮกเซนของเพชรสังฆาต (C-5) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ในการทดลองเตรียมเป็นยา

จากรายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบเบื้องต้นของสมุนไพรรักษาเพชรสังฆาต⁽²²⁾ โดยใช้ผงบดละเอียดของเถาเพชรสังฆาตที่แขวนลอยในน้ำมันถั่วเหลือง กรอก

ในหนูทดลองที่ถูกเหนียวทำให้เกิดอาการอักเสบด้วย 1% carrageenan ขนาดที่ให้คือ 500, 1,000, 2,000 3,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่า เถาเพชรสังฆาตขนาด 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีฤทธิ์ ในขณะที่เถาเพชรสังฆาตขนาด 2,000 และ 3,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แสดงฤทธิ์ยับยั้งอาการอักเสบได้เพียงเล็กน้อยที่ 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ รายงานดังกล่าวยังได้สรุปว่า เถาเพชรสังฆาตไม่สามารถยับยั้งอาการอักเสบเฉียบพลันในหนูทดลอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะเห็นความแตกต่างอย่างชัดเจน กล่าวคือ ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นการศึกษาในสารสกัดที่ได้มีการแยกเป็นส่วนสกัดย่อย จนได้สารสกัดและทราบปริมาณที่แสดงฤทธิ์ต้านอักเสบ ในขณะที่รายงานการศึกษาดังกล่าวใช้เป็นวัตถุดิบ ซึ่งไม่สามารถบอกปริมาณสารสำคัญได้ แม้จะใช้ขนาดยาที่สูงก็ยังคงแสดงฤทธิ์ไม่ดี จึงเป็นเหตุผลที่สนับสนุนว่า การใช้สมุนไพรรักษาเพชรสังฆาตรักษาโรคริดสีดวงทวาร ควรใช้ในรูปแบบของสารสกัดมากกว่าในรูปแบบของวัตถุดิบ

สารสกัดเฮกเซนของเพชรสังฆาต ถูกนำไปแยกหาสารบริสุทธิ์ โดยวิธี chromatography สารบริสุทธิ์ที่ได้เป็นผลึกรูปเข็ม เมื่อตรวจสอบสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่ได้ โดยเทคนิคทาง spectroscopy ด้วย IR และ NMR เปรียบเทียบจุดหลอมเหลวกับสารตัวอย่าง พบว่า สารบริสุทธิ์ที่แยกได้เป็นสารกลุ่ม triterpenoid คือ lupeol ซึ่งสามารถใช้เป็นสารอ้างอิงมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพของสารสกัด เพื่อให้ได้สารสกัดมาตรฐานและควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมจากสารสกัดของเพชรสังฆาต เพื่อให้ได้ยาที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ

นอกจากนี้ตำรับยาที่พัฒนาขึ้น โดยใช้สารสกัดเฮกเซนของเพชรสังฆาตที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ใน fatty base และผ่านการประเมินความคงตัวของยาของตำรับยา สามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบของยาเหน็บเพื่อใช้รักษาโรคริดสีดวงทวารได้ต่อไป

ยาสมุนไพรรักษาเพชรสังฆาตที่ได้จากการศึกษานี้ มี

ข้อมูลสนับสนุนในเรื่องประสิทธิภาพ ทราบสารสำคัญ สำหรับการควบคุมคุณภาพ และรูปแบบตำรับยา สามารถนำไปศึกษาต่อในประสิทธิผลของการรักษาผู้ป่วยโรคกรดสีดวงทวาร ซึ่งจะเป็นการพัฒนาจากสมุนไพรเพื่อใช้ทดแทนยาที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศได้อย่างเป็นรูปธรรม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุนิทยีสุขสำราญ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ authentic lupeol และคุณเมทินี หลิมศิริวงษ์ สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่อง FT-IR

เอกสารอ้างอิง

1. Dennison AR, Whiston RJ, Rooney S, Morris DL. The management of hemorrhoids. *Am J Gastroenterol* 1989; 84:475-81.
2. The American Gastroenterological Association technical review on the diagnosis and treatment of hemorrhoids. *Gastroenterology* 2004; 126:1463-73.
3. University of Maryland Medical Center. Hemorrhoids. [cited 2008 Oct 24]; Available from: URL: <http://www.umm.edu/altmed/articles/hemorrhoids-000077.htm>
4. Carter J. Hemorrhoids with herbs. [cited 2008 Oct 24]; Available from: URL: <http://ezinearticles.com/?Hemorrhoids-With-Herbs&id=1515232>
5. Shortaville Family Health Center. More information on herbal remedies. [cited 2008 Oct 24]; Available from: URL: http://www.geocities.com/md_duba/hemreviews.html
6. Ambafronce-do.org. Using Asian herbal combinations for treating hemorrhoids. [cited 2008 Oct 24]; Available from: URL: <http://ambafronce-do.org/alternative/26185.php>
7. ดร.ณ เพ็ชรพลาย, จารีย์ บันลิตี, วิฑิตย์ นามมุลน้อย, บรรณาธิการ. สมุนไพรพื้นบ้าน (ฉบับรวม). พิมพ์ครั้งที่ 2.

- กรุงเทพมหานคร: พี เอ ลีฟวิ่ง; 2537. หน้า 94-5.
8. นันทวัน บุญยะประภัศร์, อรุณช โชคชัยเจริญพร, บรรณาธิการ. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน (3). กรุงเทพมหานคร: ประชาชน; 2542. หน้า 352-4.
 9. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544. กรุงเทพมหานคร: ประชาชน; 2544.
 10. ไม่ปรากฏชื่อผู้เขียน. สมุนไพรกับการรักษาโรคกรดสีดวงทวาร (หนัก). *จุลสารข้อมูลสมุนไพร* 2542; 16(4):17-21.
 11. ดวงรัตน์ เขียวชาญวิทย์. เพชรสังฆาตกับการรักษาโรคกรดสีดวงทวาร. *วารสารองค์การเภสัชกรรม* 2545; 28(1):17-22.
 12. Backer CA, van den Brink BRC. *Flora of Java*. vol 2. The Netherlands : N.V.P. Noordhoff, Groningen; 1965.
 13. Hooker JD. *The flora of British India*. vol 1. Kent England : Reeve; 1875.
 14. Brattsand R, Thalen A, Roempke K, Kallatrom L, Gruvstad E. Influence of 16a, 17a-acetal substitution and steroid nucleus fluorination on the topical to systemic activity ratio of glucocorticoids. *J Stero Biochem* 1982; 16:779-86.
 15. Pongprayoon U, Bohlin L, Soonthornsaratune P, Wasuwat S. Anti-inflammatory activity of *Ipomea pes-caprae* (L.) R. Br. *Phytother Res* 1991; 5:63-6.
 16. Rowe CR, Sheskey PJ, Weller PJ, editors. *Handbook of pharmaceutical excipients*, 4th ed. London UK : Royal Pharmaceutical Society of Great Britain; 2003. p. 454-9.
 17. Best anti inflammatory herbs. [cited 2008 Oct 24]; Available from: URL: <http://www.herbalremediesworld.com/anti-inflammatory-herbs.html>
 18. Moore E. Anti-inflammatory herbs: healing with herbal medicine and phytochemicals. [cited 2008 Oct 24]; Available from: URL: http://autoimmunedisease.suite101.com/article.cfm/anti_inflammatory_herbs
 19. Al-Achi A. Anti-inflammatory herbs. [cited 2008 Oct 24]; Available from: URL: http://www.uspharmacist.com/index.asp?show=article&page=8_1234.htm
 20. Ghule BV, Ghante MH, Uaganlawar AB, Yeole PG. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Lagenaria siceraria* Stand. fruit juice extract in rats and mice. *Pharmacog Mag* 2006; 2(8):232-5.
 21. Chuthaputti A, Permpipat U. Anti-inflammatory activity of *Curcuma longa* Linn. Rhizomes. *Bull Dept Med Sci* 1994; 36(4):197-209.
 22. Thisayakorn K, Thisayakorn C, Suntornantasart T. Preliminary anti-inflammatory study of *Cissus quadrangularis* L. in rats. *Thai J Pharm Sci* 2000; 24(Suppl.):26.

Abstract Hemorrhoid Remedy from *Cissus Quadrangularis* Linn

Angkana Herunsalee*, Suphan Pattarapornchaiwat*, Rattima Jeenapongsa, Nuchattra Chansuvanich*, Saranya Tharasawang***

*Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi, **Faculty of Pharmacy, Naresuan University, Pitsanulok

Journal of Health Science 2008; 17:SVI1578-88.

The stem of *Cissus quadrangularis* L. has been used as traditional medicine for hemorrhoid. Currently, in drug formulation, it is prepared by pulverizing dried stems resulting in dubious quality of the products and contaminations. Herbal medicine quality is influenced by several factors, such as when and where the raw materials were collected and the shelf-life of herbal medicine. Furthermore, the microbial contamination and the quantities of calcium oxalate in the raw materials of *C. quadrangularis* are also causes of concern to patients. In this study, the extract formulation of *C. quadrangularis* remedy was developed. Crude extract of the stem of *C. quadrangularis* was prepared by extraction with 95% ethanol. The hexane extract and the ethanol extract were obtained from subsequent liquid/liquid extraction of the crude extract. The anti-inflammatory activities of these extracts were investigated employing the ethylphenyl propiolate (EPP)-induced ear edema in mouse model at various concentrations of 0.1, 1 and 5% in EPP solutions and using indomethacin as positive control. The hexane extract (1% concentration) elicited the significant ($p < 0.05$) inhibitory effect on the ear edema formation at 30, 60 and 120 minutes after hexane extract-EPP-treatment. The crude extract (5% concentration) also significantly inhibited ear edema over the period 30 minutes, while the ethanol extract did not produce the inhibition. The potent hexane extract was further isolated and a purified compound was obtained. The structure elucidation of this compound led to lupeol. The hemorrhoid remedy formulation was developed by using 1% hexane extract in fatty base. The stability of the remedy was evaluated after being stored at 8-15°C for 3 months.

Key words: *Cissus quadrangularis* L., hemorrhoid remedy, anti-inflammatory activity, lupeol