

การเปรียบเทียบฤทธิ์ด้านการอักเสบและความคงตัวของตำรับ
ยาตรีผลธาตุที่มีตะไคร้หอมหรือตะไคร้บ้านเป็นส่วนประกอบ
Comparative Evaluation of Anti-Inflammatory Activities and Accelerated
Stability of Tri-Phon-That Remedies Containing *Cymbopogon nardus* (L.)
Rendle versus *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf

ณัฐกาญจน์ จิตต์กระจำจ (Natthakan Chitkrachang)* สุมาลี ปานทอง (Sumalee Panthong)^{1**}

อินทัช ศักดิ์ภักดีเจริญ (Intouch Sakpakdeejaroen)**

(Received: January 18, 2026; Revised: April 1, 2026; Accepted: April 4, 2026)

บทคัดย่อ

ตำรับยาตรีผลธาตุเป็นยาสมุนไพรที่ใช้ลดไข้ บรรเทาอาการปวด ซึ่งประกอบด้วยสมุนไพรสามชนิดคือ ตะไคร้หอม เหน้ไก่พล เหน้ไก่กระเทียม โดยเหง้าตะไคร้หอมนั้นอาจทำให้เกิดการระคายเคืองได้ การศึกษานี้ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของตะไคร้บ้านเป็นส่วนประกอบของตำรับยาตรีผลธาตุทดแทนตะไคร้หอม โดยศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบ การศึกษาความคงตัวและปริมาณสารสำคัญในตำรับ ผลการทดลองพบว่าตำรับตรีผลธาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านทดแทนมีฤทธิ์ด้านการอักเสบใกล้เคียงกับสูตรดั้งเดิมทั้งผลต่อการยับยั้งการหลั่ง nitric oxide และ interleukin – 6 และการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในตำรับทั้งสองชนิดพบว่าประกอบด้วยสาร compound D, DMPBD และ zerumbone แต่เมื่อทดสอบความคงตัวของตำรับได้สภาวะเร่งพบว่า สาร DMPBD และ zerumbone มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่วันที่ 30 และส่งผลทำให้ฤทธิ์ด้านการอักเสบของตำรับลดลง ผลการทดลองสรุปได้ว่าตะไคร้บ้านสามารถใช้เป็นสมุนไพรทดแทนตะไคร้หอมในตำรับยาตรีผลธาตุได้ แต่สารสกัดตำรับทั้งสองชนิดไม่คงตัวจึงควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเพื่อช่วยคงสภาพของสารสกัดก่อนนำไปพัฒนา

ABSTRACT

Tri-Phon-That is a traditional herbal remedy composed of three plants: *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, *Zingiber montanum* (J.Koenig) A.Dietr., and *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. It reduces fever and relieves pain. Some individuals contend that *C. nardus* may adversely affect their skin. The aim of this study was to evaluate the possibility of replacing *C. nardus* with *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf in the Tri-phon-that formulation. We investigated and compared the anti-inflammatory activity, chemical composition, and stability of the modified formulation with the original one. The findings demonstrated that the Tri-phon-that formulation with *C. citratus* exhibited anti-inflammatory properties comparable to the original recipe, as indicated by its similar effects on nitric oxide and interleukin-6

¹Corresponding author: psumalee@tu.ac.th

*นักศึกษา หลักสูตรแพทย์แผนไทยประยุกต์มหาบัณฑิต สาขาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Students, Master's Degree of Applied Thai Traditional Medicine, Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University

**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Assistant Professor, Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University

production. Chemical studies revealed that both formulations contained zerumbone, compound D, and DMPBD. Accelerated stability testing, conversely, revealed a significant decrease in the levels of DMPBD and zerumbone after day 30. At this stage, the anti-inflammatory activity of both extracts started to decrease. Our findings indicated that *C. nardus* can be substituted with *C. citratus*. Both extracts exhibited instability under accelerated conditions. They should be maintained at low temperatures for preservation purposes.

คำสำคัญ: ตำรับยาตรีผลธาตุฤทธิ์การยับยั้งการอักเสบ ความคงตัว

Keywords: Tri-phong-that formulation, Anti-inflammation, Stability testing

บทนำ

ในทางการแพทย์แผนไทยการปรุ้งยาถือเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการรักษาอาการเจ็บป่วย โดยการนำสมุนไพรมาใช้ตามสรรพคุณที่ระบุไว้ในตำราต่าง ๆ ซึ่งการใช้จะมีการจำกัดจำนวนของตัวยาไว้เป็นหมวดหมู่ โดยอาศัยหลักการพิจารณา คือ รสยาและสรรพคุณของยาต้องเสมอกันหรือคล้ายคลึงกัน เพื่อให้ง่ายต่อการจดจำและการนำไปใช้ [1] ซึ่งตำรับยาตรีผลธาตุเป็นตำรับยาสมุนไพรที่ถูกระบุไว้ในตำราสรรพคุณยา ในหนังสือตำราการแพทย์แผนไทยเดิม แพทย์ศาสตร์สงเคราะห์ ฉบับอนุรักษ์เล่มที่ 1 [2] โดยตำรับยาดังกล่าวประกอบไปด้วย สมุนไพรสามชนิดคือ เหง้ากระเทียม (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.), เหง้าไพล (*Zingiber montanum* (J.Koenig) A.Dietr) และ หัวตะไคร้หอม (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) ในอัตราส่วนที่เท่า ๆ กัน โดยมีสรรพคุณคือ แก้ไข้ตัวร้อน แก้กำเดา แก้ฟกบวมปวดเมื่อย เมื่อพิจารณาอาการดังกล่าวนี้พบที่สามารถเทียบเคียงได้กับกระบวนการอักเสบของร่างกาย ซึ่งก่อให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและเกิดการผลิตสารหลายชนิด เช่น nitric oxide , interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) และ prostaglandin E-2 (PGE-2) เป็นต้น โดยสารเหล่านี้สามารถกระตุ้นให้เกิดอาการปวดและอาการไข้ หากสามารถลดปริมาณสารดังกล่าวจะส่งผลให้อาการปวดและไข้ลดลงได้ [3-4] จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดตำรับตรีผลธาตุที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการหลั่งสารที่กระตุ้นให้เกิดการปวดและไข้ได้หลายชนิด ได้แก่ nitric oxide , IL-6 และ PGE-2 โดยสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในตำรับนี้พบว่ามีสารประกอบด้วยสาร compound D และ zerumbone เป็นองค์ประกอบหลัก [5] นอกจากนี้ยังพบว่ามีรายงานการทดสอบฤทธิ์ในสัตว์ทดลอง โดยสารสกัดเข้มข้นและเอทานอลของตำรับที่ขนาด 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีฤทธิ์ในการลดการบวมของอุ้งเท้าของหนู อีกทั้งยังสามารถลดอาการปวดในสัตว์ทดลองได้เมื่อทดสอบที่ขนาด 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมขึ้นไป และยังพบรายงานการใช้น้ำมันตรีผลธาตุในการพอกบริเวณหลังของผู้ป่วยที่มีอาการปวดหลังส่วนล่าง พบว่าสามารถลดอาการปวดและเพิ่มความยืดหยุ่นการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อได้ [6-7] อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเรื่องความเป็นพิษของสมุนไพรในตำรับ พบว่าเหง้าไพล และเหง้ากระเทียม แสดงความเป็นพิษในปริมาณ 3,000 และ 1,125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ [8-9] และในส่วนของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมพบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติที่ต่ำ แต่พบว่าสารประกอบสำคัญในตะไคร้หอม คือ citronellal และ geraniol ส่งผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อและมีผลต่อการพัฒนาของระบบหัวใจเมื่อทดสอบใน zebrafish model และยังก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและดวงตา [10-12] แต่จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าในสารสกัดเอทานอลของตำรับตรีผลธาตุไม่พบสารสำคัญที่ก่อการระคายเคืองดังกล่าว [5] อย่างไรก็ตามตะไคร้หอมเป็นพืชที่นิยมนำไปสกัดน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้ประโยชน์ในการทำสารกันบูดและแมลงซึ่งจัดเป็นวัตถุอันตรายตามข้อกำหนดของกระทรวงอุตสาหกรรม [13]

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาสมุนไพรทดแทนตะไคร้หอมเพื่อประโยชน์ในการนำตำรับตรีผลาตุไปพัฒนาเป็นยาต่อไป ซึ่งสมุนไพรที่ผู้วิจัยต้องการนำมาใช้ทดแทนคือ ตะไคร้บ้าน (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) โดยพืชดังกล่าวถูกจัดอยู่ในสกุลเดียวกับตะไคร้หอม ในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีการใช้ตะไคร้บ้านในการบริโภคและใช้เป็นเครื่องปรุงในอาหาร [14] รายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าตะไคร้บ้านไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง [15] อีกทั้งไม่พบความเสี่ยงต่อผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้เป็นระยะเวลา 90 วัน [16] จึงแสดงให้เห็นได้ว่าตะไคร้บ้านมีความปลอดภัยในการนำมาบริโภค และจากรายงานวิจัยที่ผ่านมายังไม่พบการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพและปริมาณสารสำคัญของตำรับยาตรีผลาตุที่มีการใช้ตะไคร้บ้านทดแทนตะไคร้หอมซึ่งเป็นสูตรดั้งเดิมที่ถูกระบุไว้ในตำราแพทย์แผนโบราณผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์และปริมาณสารสำคัญของตำรับยาตรีผลาตุที่มีการใช้ตะไคร้บ้านทดแทนเทียบกับตำรับที่เตรียมตามตำรายา นอกจากนั้นสารสกัดจากตำรับยาตรีผลาตุยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาความคงตัวของตำรับมาก่อน ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาความคงตัวของสารสกัดดังกล่าวร่วมด้วย เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำสารสกัดตำรับตรีผลาตุไปพัฒนาต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ด้านการอักเสบและปริมาณสารสำคัญของตำรับตรีผลาตุที่เตรียมตามตำรายาและตำรับตรีผลาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านเป็นส่วนประกอบแทนตะไคร้หอม รวมถึงการทดสอบความคงตัวของสารสกัดตำรับทั้งสองชนิดเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำตำรับยาดังกล่าวไปพัฒนาต่อไปในอนาคต

วิธีการวิจัย

การเตรียมสมุนไพรและการสกัดสารจากสมุนไพร

เหง้าไพล เหง้ากระเทียม เหง้าตะไคร้หอมและเหง้าตะไคร้บ้าน ถูกนำไปตรวจสอบเทียบสายพันธุ์และขอเลขอ้างอิงจากพิพิธภัณฑสถานพืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พิพิธภัณฑสถานพืช กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก และสวนสิริรุกขชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยมีเลขอ้างอิงดังนี้ เหง้าไพล หมายเลขอ้างอิง BK No. 085337 เหง้ากระเทียม หมายเลขอ้างอิง BK No. 085176 เหง้าตะไคร้หอม หมายเลขอ้างอิง PBM 006473 และเหง้าตะไคร้บ้าน หมายเลขอ้างอิง TTM No. 0006791 จากนั้นนำสมุนไพรมาล้างทำความสะอาดและอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำสมุนไพรมาบดให้เป็นผง โดยผงที่ได้ต้องสามารถผ่านร่อนเบอร์ 10 ได้หมด และไม่ผ่านร่อนเบอร์ 20 ซึ่งผงสมุนไพรที่ได้จะมีขนาดอยู่ที่ 0.9- 2.0 มิลลิเมตร แล้วทำการชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด ๆ กัน และนำสมุนไพรผสมกันให้ได้เป็นตำรับ ได้แก่ ตำรับยาตรีผลาตุสูตรดั้งเดิมที่ประกอบด้วยเหง้าไพล เหง้ากระเทียม เหง้าตะไคร้หอม อย่างละ 20 กรัม และ ตำรับยาตรีผลาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอม โดยมีส่วนประกอบของเหง้าไพล เหง้ากระเทียม เหง้าตะไคร้บ้าน อย่างละ 20 กรัม นำตำรับยาที่เตรียมไว้ใส่ในโหลแก้ว จากนั้นสกัดโดยใช้วิธีการแช่สกัดด้วย 95% เอทานอล ซึ่งอ้างอิงจากการศึกษาที่ผ่านมาที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ [5] โดยเอทานอล 95% นั้นเตรียมจากการนำเอทานอล 99.9% มาเจือจางด้วยน้ำบริสุทธิ์ (deionized water) เติมน้ำเอทานอลปริมาตร 200 มิลลิลิตรหรือให้ท่วมสมุนไพร ปิดฝาให้สนิท ทำการแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ทำการคนทุกวัน วันละ 1 ครั้ง จากนั้นทำการกรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำไปทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่อง Evaporator โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการหมุน 90 รอบต่อนาที ความดัน 90 มิลลิบาร์ กากที่เหลือจะนำไปแช่สกัดต่ออีกสองรอบแล้วจึงรวบรวมน้ำสารละลายที่ได้ไปทำแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนกว่าน้ำหนักรวมที่จะได้

สารสกัด 2 ส่วน คือ สารสกัดชั้นเอทานอลของตำรับตรีผลาสูตรดั้งเดิม (TPECN) และสารสกัดชั้นเอทานอลของตำรับตรีผลาสูตรที่ใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอม (TPECC) ทำการคำนวณปริมาณสารสกัดที่ได้ (%yield)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการอักเสบ

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์ [17]

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ macrophage RAW264.7 ด้วยอาหาร Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) ที่ผสม 10% fetal bovine serum และ 1% penicillin/streptomycin เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO₂ แล้วจึงทำการ trypsinize ด้วย 0.125% trypsin จากนั้นนำเซลล์ไปเพาะเลี้ยงใน 96 well plate ที่ความเข้มข้นของเซลล์ 100,000 เซลล์ต่อหลุม และนำไปบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการละลายสารสกัดด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในการทดสอบอยู่ในช่วง 3.125 – 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่ความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO มีค่าไม่เกิน 0.2% และเติมลงไปหลุมละ 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเติม 3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม และบ่มต่ออีก 2 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลาย MTT ออก แล้วเติม DMSO 100 ไมโครลิตรต่อหลุม จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific รุ่น Varioskan™ LUX Multimode แล้วทำการคำนวณค่า % Survival หากสารสกัดที่ความเข้มข้นใดมีค่า %Survival สูงกว่า 70% ขึ้นไปจะถือว่าไม่มีพิษต่อเซลล์และนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป [18]

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง nitric oxide [19]

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ใน 96 well plate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการกระตุ้นให้เซลล์เกิดการอักเสบโดยการเติม Lipopolysaccharide (LPS) ที่ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร หลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เติมลงไปอีก 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด ให้ทำการดูด supernatant เพื่อมาทำการวิเคราะห์ปริมาณ nitric oxide โดยการเติม Griess reagent ลงไป จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific รุ่น Varioskan™ LUX Multimode แล้วทำการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง nitric oxide ได้ 50% (IC₅₀) โดยมี positive control คือ ยา ibuprofen

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง IL – 6 [20]

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เช่นเดียวกันกับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง nitric oxide เติม LPS 100 ไมโครลิตรต่อหลุม จากนั้นเติมสารสกัดละลายด้วย DMSO อีก 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการดูด supernatant ไปทำการตรวจวัดปริมาณ IL – 6 โดยใช้ ELISA Kit จากบริษัท R&D Systems นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific รุ่น Varioskan™ LUX Multimode แล้วทำการคำนวณค่า IC₅₀ โดยมี positive control คือ ยา ibuprofen

การทดสอบความคงตัวของตำรับ

นำสารสกัดใส่ขวดแก้วสีชาเพื่อป้องกันแสง ปิดฝาให้สนิท และนำมาทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75±5% เป็นเวลา 6 เดือน ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับการทดลองความคงสภาพของตัวอย่าง ยี่ห้อ Termarks รุ่น KB8400F [21] โดยในระหว่างการทดสอบจะนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์

การยับยั้งการหลั่ง nitric oxide การยับยั้งการหลั่ง IL – 6 และวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ในวันที่ 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 วัน



ภาพที่ 1 ขวดแก้วสีชาสำหรับบรรจุสารสกัดในการทดสอบความคงตัวของตัวยาใต้สภาวะเร่ง

การหาปริมาณสารสำคัญในตำรับ [5]

นำตัวอย่างสารสกัดก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวมาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารโดยใช้เทคนิค HPLC [5] ซึ่งคอลัมน์ที่ใช้ในการทดสอบ คือ C18 guard column ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น 5 μ m 100 $^{\circ}$ A analytical column (150 $\times$ 4.60 mm) ทำการฉีดตัวอย่างสารสกัดที่ละลายด้วย DMSO จำนวน 10 ไมโครลิตร และมีอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ระหว่าง 0.1% phosphoric acid (A) และ acetonitrile (B) ดังนี้ นาที่ที่ 0-20, (A = 90%, B= 10%), นาที่ที่ 20-40 (A = 50%, B= 50%), นาที่ที่ 40-50 (A = 40%, B= 60%), นาที่ที่ 50-50.10 (A = 10%, B= 90%), นาที่ที่ 50.11-60 (A = 90%, B= 10%) และมีอัตราการไหลอยู่ที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยทำการวิเคราะห์การดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร คูณปริมาณสารที่พบเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยใช้โปรแกรม Agilent ChemStation software ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และนำมาคำนวณเป็น %w/w โดยสารสำคัญที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน คือ สารสำคัญจากโพลีจำนวน 2 ชนิดคือ E-4-(3',4'-dimethoxyphenyl) but-3-en-1-ol (compound D) และ (E)-1-(3',4'-dimethoxyphenyl) buta-1,3-diene (DMPBD), สารสำคัญจากกระเทียม 1 ชนิดคือ zerumbone แต่เนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมาไม่พบสารสำคัญของตะไคร้หอมเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC [5] ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงไม่ได้ทำการวิเคราะห์สารสำคัญจากพืชดังกล่าว ในการเตรียมสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด ให้ทำการละลายและเจือจางด้วยเมทานอลความเข้มข้น 99.99% โดย compound D ให้เตรียมที่ความเข้มข้น 12.5 – 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร DMPBD ให้เตรียมที่ความเข้มข้น 25 – 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร zerumbone ให้เตรียมที่ความเข้มข้น 12.5 – 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดตำรับตรีผลาตุให้เตรียมที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เมทานอลความเข้มข้น 99.99%

การคำนวณทางสถิติ

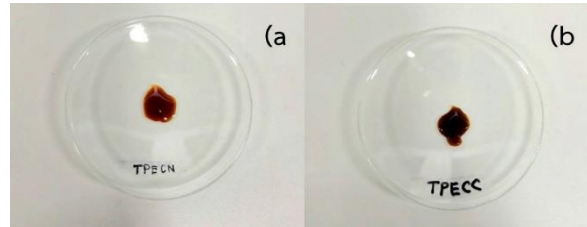
การทดลองทั้งหมดทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยนำเสนอข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SEM) ในส่วนของค่า IC₅₀ คำนวณโดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism และทำการเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สถิติ One-way ANOVA ซึ่งกำหนดค่า p -value < 0.05 หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัย

การเตรียมสมุนไพรและการสกัดสารจากสมุนไพร

สมุนไพรทั้ง 4 ชนิดได้ถูกนำไปตรวจสอบเอกลักษณ์ โดยโพลี (BK No. 085176) และกระเทียม (BK No. 085337) ได้เลขรับรองสมุนไพรจากพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร ในส่วนของตะไคร้หอม (PBM 006473) ผ่านการตรวจเอกลักษณ์จากพิพิธภัณฑ์พืชมหาวิทยาลัยมหิดล และตะไคร้บ้าน (TTM No. 0006791) ได้เลขรับรองสมุนไพรจากพิพิธภัณฑ์พืช กรมการแพทย์แผนไทย

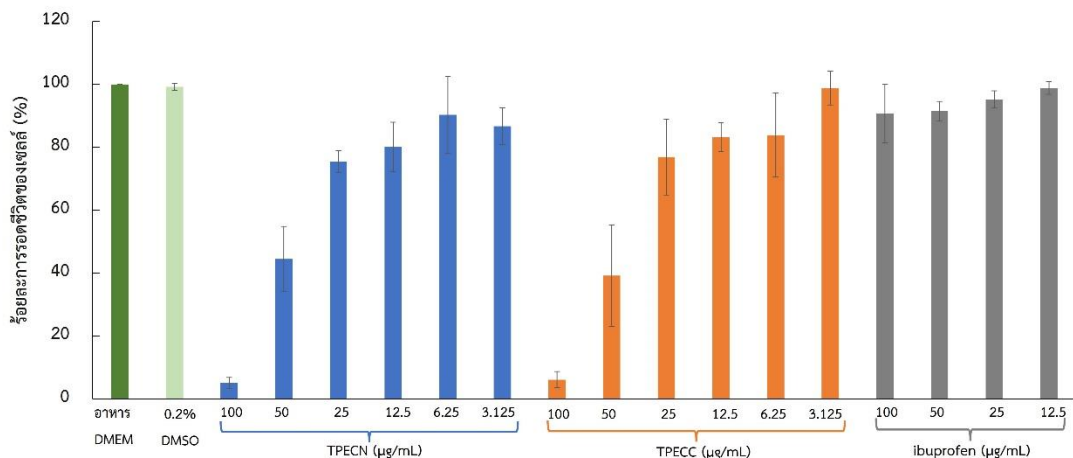
และการแพทย์ทางเลือก จากนั้นนำสมุนไพรแบ่งสกัดเป็น 2 ตำรับ (ภาพที่ 2) และทำการคำนวณร้อยละของปริมาณสารสกัดที่ได้ (%yield) พบว่า สารสกัดชั้นเอทานอลของตำรับตรีผลาตุสูตรดั้งเดิม (TPECN) และสารสกัดชั้นเอทานอลของตำรับตรีผลาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอม (TPECC) มีค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดเท่ากับ 9.06% และ 8.68% ตามลำดับ



ภาพที่ 2 สารสกัดที่ได้ (a) สารสกัดชั้นเอทานอลของตำรับตรีผลาตุสูตรดั้งเดิม (b) สารสกัดชั้นเอทานอลของตำรับตรีผลาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอม

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์

เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์ macrophage RAW264.7 โดยทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.125 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดตำรับตรีผลาตุสูตรดั้งเดิม (TPECN) และตำรับตรีผลาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอม (TPECC) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป มีผลทำให้เซลล์รอดชีวิตน้อยกว่า 70% ซึ่งถือว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ [18] (ภาพที่ 3) ดังนั้นในการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดทั้งสองชนิดจะทำการทดสอบที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3 ผลของสารสกัด TPECN, TPECC และ ibuprofen ต่อการรอดชีวิตของเซลล์ RAW264.7

ความแตกต่างของฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบของตำรับยาตรีผลาตุสูตรดั้งเดิมและตำรับที่ใช้ตะไคร้หอมทดแทน

ผลของการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ โดยทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.125 - 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดตำรับยาตรีผลาตุสูตรดั้งเดิม (TPECN) มีฤทธิ์ในการยับยั้งสารในกระบวนการอักเสบได้ดีกว่าสารสกัดตำรับยาตรีผลาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอม (TPECC) โดยการยับยั้งการหลั่ง nitric oxide มีค่า IC_{50} 5.35 ± 0.77 และ 7.02 ± 0.61 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 1) ตามลำดับ และผลการยับยั้งการหลั่ง IL-6 มีค่า IC_{50} อยู่ที่ 7.81 ± 0.31 และ 10.46 ± 0.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่เมื่อทำการทดสอบทางสถิติพบว่าผลสารสกัดทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกันในการยับยั้ง nitric oxide และ IL-6 แต่เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติเทียบกับ positive control คือยา

ibuprofen พบว่าสารสกัดตำรับตรีผลาตุสดดั้งเดิมและสารสกัดตำรับยาตรีผลาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอม มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง nitric oxide และ IL-6 ได้ดีกว่า ibuprofen อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 1 ฤทธิ์การยับยั้งการหลั่ง nitric oxide ของสารสกัด TPECN, TPECC และ ibuprofen

ตัวอย่าง	ร้อยละการยับยั้งการหลั่ง nitric oxide ของสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ (%)						IC ₅₀ (µg/mL)
	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL	12.5 µg/mL	6.25 µg/mL	3.125 µg/mL	
TPECN	เป็นพิษต่อเซลล์	เป็นพิษต่อเซลล์	97.78 ± 1.92	86.95 ± 3.99	57.67 ± 6.92	30.02 ± 2.98	5.35 ± 0.77*
TPECC	เป็นพิษต่อเซลล์	เป็นพิษต่อเซลล์	96.47 ± 1.44	80.14 ± 3.79	45.04 ± 3.99	25.25 ± 6.62	7.02 ± 0.61*
ibuprofen	57.47 ± 4.24	31.77 ± 6.57	24.01 ± 3.30	21.08 ± 3.65	Not tested	Not tested	89.63 ± 7.21

หมายเหตุ: * หมายถึง p -value < 0.05 เมื่อเทียบกับ ibuprofen

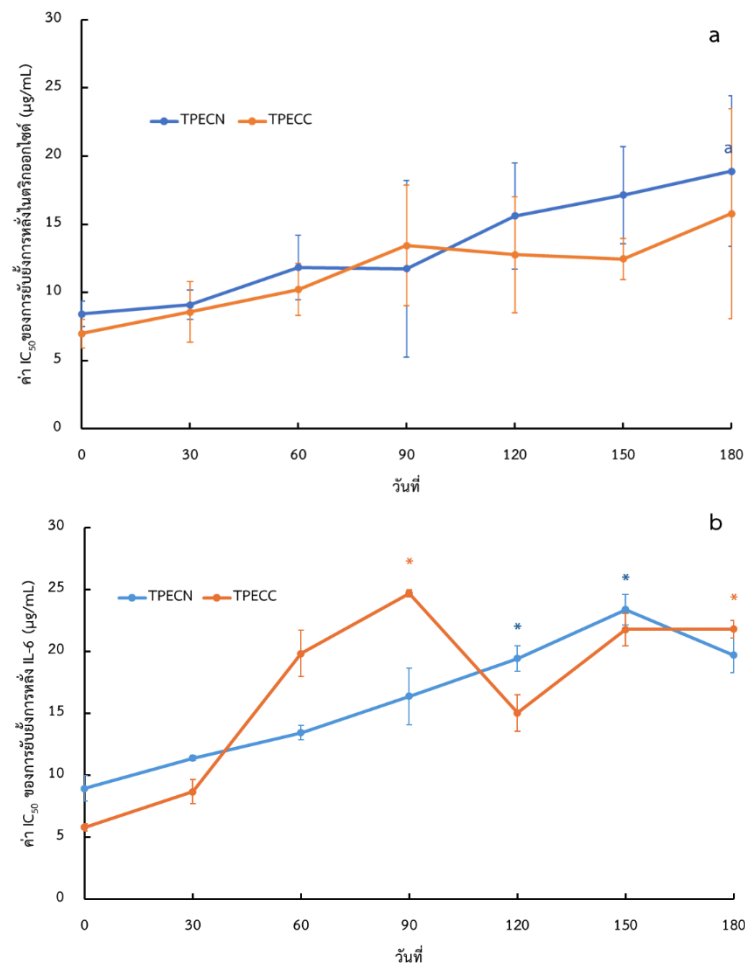
ตารางที่ 2 ฤทธิ์การยับยั้งการหลั่ง IL – 6 ของสารสกัด TPECN, TPECC และ ibuprofen

ตัวอย่าง	ร้อยละการยับยั้งการหลั่ง IL – 6 ของสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ (%)						IC ₅₀ (µg/mL)
	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL	12.5 µg/mL	6.25 µg/mL	3.125 µg/mL	
TPECN	เป็นพิษต่อเซลล์	เป็นพิษต่อเซลล์	99.287 ± 0.155	85.192 ± 1.549	38.259 ± 1.704	-8.674 ± 2.169	7.81 ± 0.31*
TPECC	เป็นพิษต่อเซลล์	เป็นพิษต่อเซลล์	98.048 ± 0.155	67.844 ± 1.239	13.166 ± 1.084	-22.305 ± 1.549	10.46 ± 0.08*
ibuprofen	66.33 ± 2.24	61.33 ± 2.83	57.48 ± 2.04	45.45 ± 0.42	Not tested	Not tested	16.63 ± 0.48

หมายเหตุ: * หมายถึง p -value < 0.05 เมื่อเทียบกับ ibuprofen

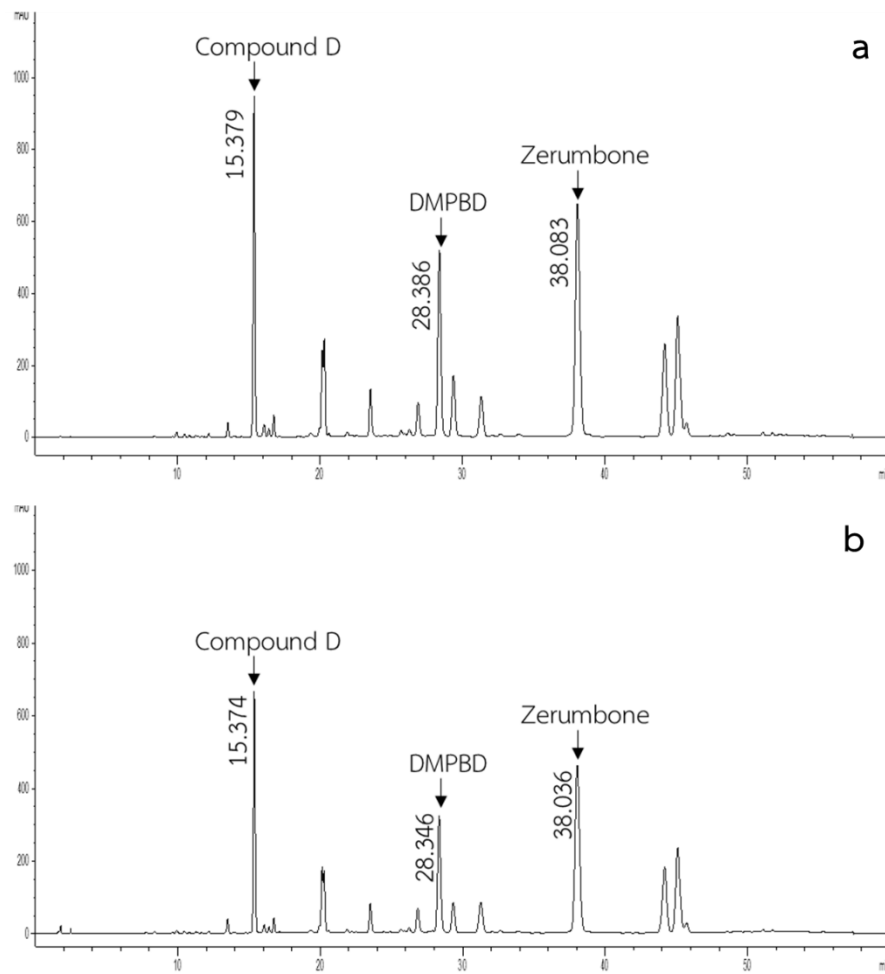
ผลของฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและปริมาณสารสำคัญของตำรับยาตรีผลาตุหลังการทดสอบความคงตัวของตำรับภายใต้สภาวะเร่ง

ภายหลังจากนำสารสกัดไปทดสอบความคงตัวของตำรับภายใต้สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75±5% เป็นเวลา 6 เดือน จากนั้นจึงทำการศึกษากิจกรรมและผลของฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง nitric oxide และ IL-6 พบว่าสารสกัดมีแนวโน้มในการยับยั้งการอักเสบลดลง เมื่อทดสอบสารสกัดที่ถูกเก็บไว้ในสภาวะเร่งเป็นเวลา 180 วัน พบว่าฤทธิ์การยับยั้งการหลั่ง nitric oxide ของสารสกัดตำรับสูตรดั้งเดิม (TPECN) และตำรับที่ใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอม (TPECC) มีค่า IC₅₀ อยู่ที่ 18.88 ± 5.52 และ 15.78 ± 7.70 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม (ภาพที่ 4a) ในขณะที่ค่า IC₅₀ สำหรับการยับยั้งการหลั่งไซโตไคน์ IL-6 อยู่ที่ 19.69 ± 1.40 และ 21.78 ± 0.70 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมตามลำดับ (ภาพที่ 4b) เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งการอักเสบของสารสกัดทั้งสองชนิดเทียบกับวันที่ 0 หรือก่อนทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งพบว่าสารสกัดทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

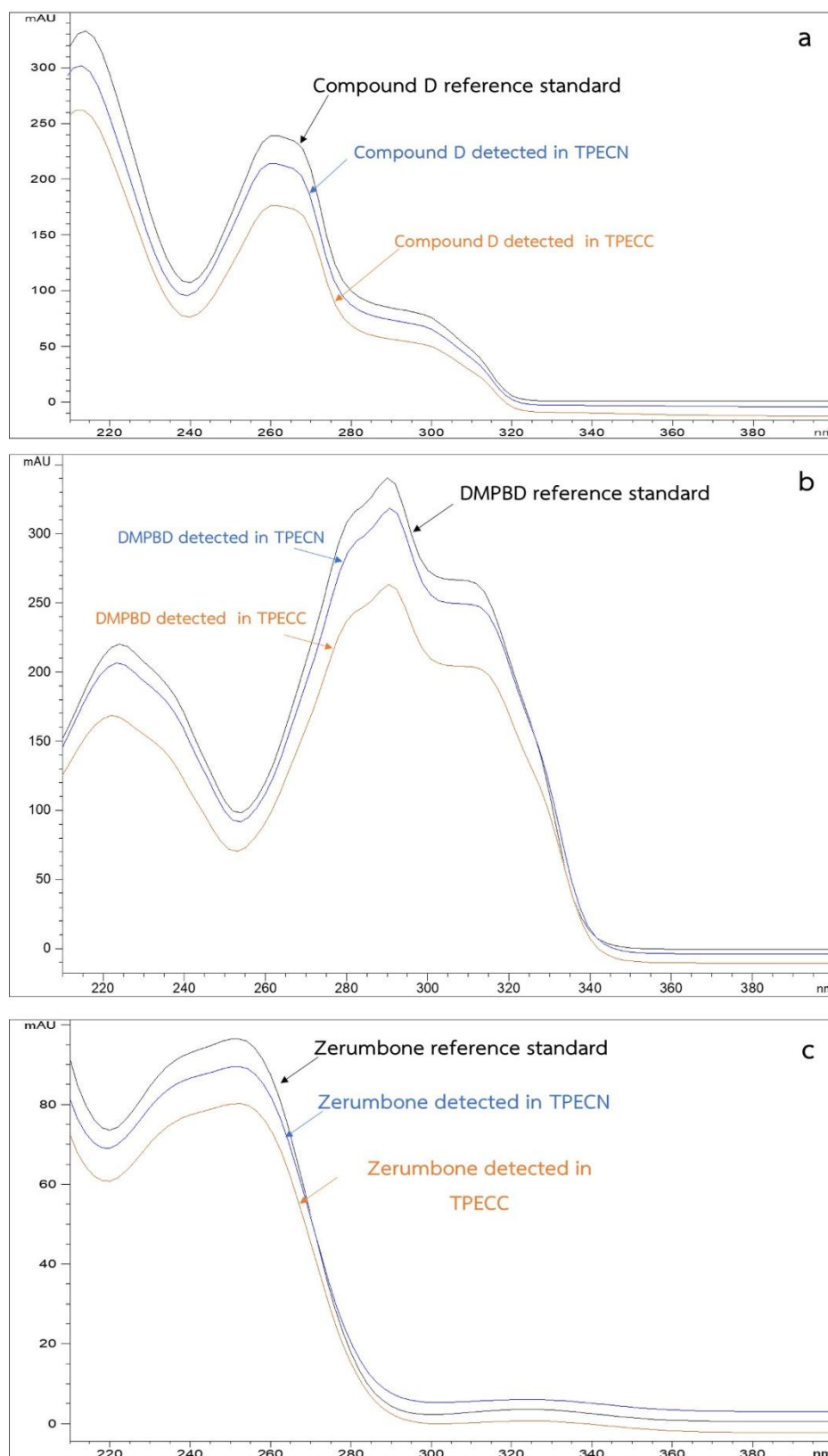


ภาพที่ 4 ผลการยับยั้งการหลั่ง (a) nitric oxide และ (b) IL-6 ของสารสกัด TPECN และ TPECC ที่ผ่านการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งที่เวลาต่าง ๆ (* p -value < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0)

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดหลังจากทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง จะทำโดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้ระบบของตัวทำละลายที่ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของระบบในงานวิจัยที่ผ่านมา [5] เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของตำรับยาตรีผลธาตุสูตรดั้งเดิมพบว่ามีสาร 3 ชนิดในปริมาณสูง สังเกตได้จาก HPLC chromatogram ในนาที่ที่ 15.379, 28.386 และ 38.083 และเมื่อทำการวิเคราะห์ตำรับยาตรีผลธาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านทดแทนตะไคร้หอมก็พบลักษณะการปรากฏของ peak เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 5) ซึ่งสารดังกล่าวมีลักษณะ UV Spectrum เหมือนกับสาร compound D, DMPBD และ zerumbone (ภาพที่ 6) โดยในตำรับยาตรีผลธาตุสูตรดั้งเดิมพบปริมาณสารอยู่ที่ 3.20, 4.60 และ 13.28 %w/w ตามลำดับ และในตำรับยาตรีผลธาตุที่ใช้ตะไคร้บ้านทดแทนตะไคร้หอมพบปริมาณสารอยู่ที่ 2.40, 3.05 และ 10.03 %w/w ตามลำดับ

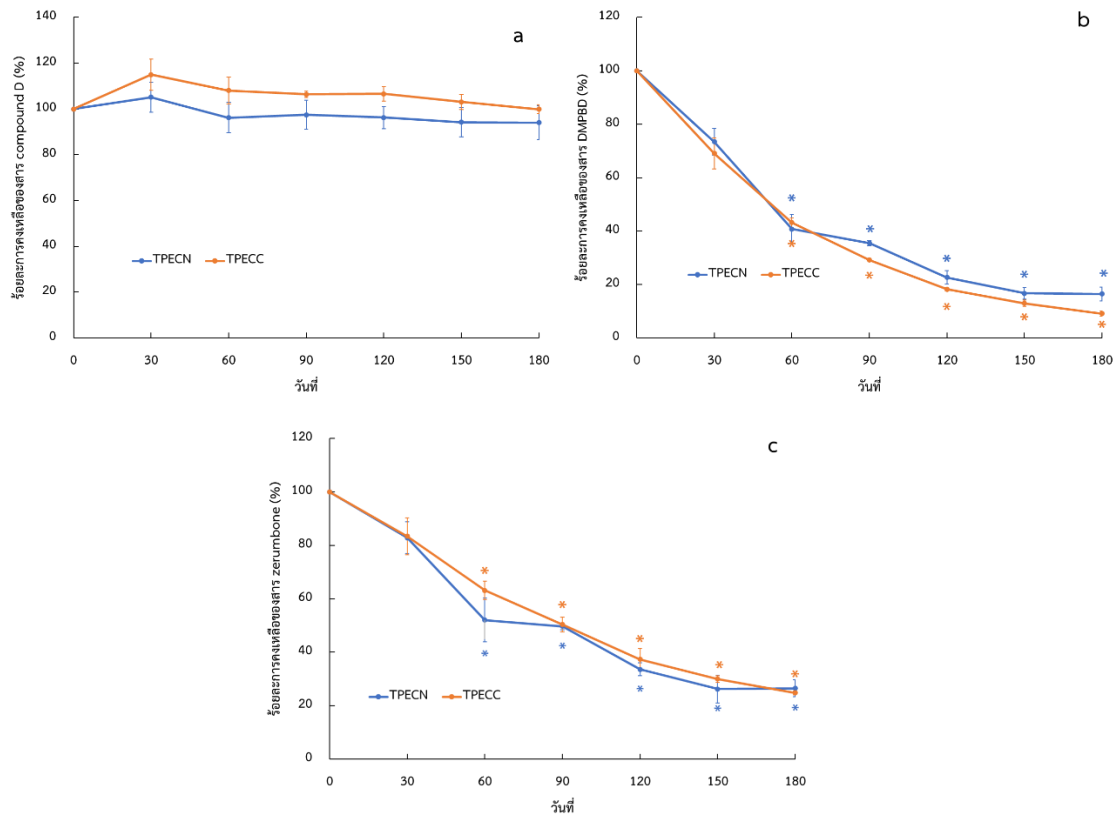


ภาพที่ 5 HPLC chromatogram (a) TPECN และ (b) TPECC



ภาพที่ 6 UV spectrum ของสารมาตรฐาน (a) compound D, (b) DMPBD และ (c) zerumbone และ UV spectrum ของสารดังกล่าวที่พบในสารสกัด TPECN และ TPECC

เมื่อทำการเก็บสารสกัดในสภาวะเร่งเป็นเวลา 180 วัน พบว่า สาร compound D มีปริมาณลดลงเล็กน้อยแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่ปริมาณสาร DMPBD และ zerumbone มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่วันที่ 60 เป็นต้นไป โดยในวันที่ 180 พบว่าปริมาณสาร DMPBD คงเหลือในตำรับสูตรดั้งเดิมและตำรับที่ใช้ตะไคร้บ้านทดแทนอยู่ที่ 16.45 และ 9.13% ส่วนปริมาณสาร zerumbone พบว่ามีปริมาณคงเหลืออยู่ที่ 26.52 และ 24.81% ตามลำดับ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ร้อยละการคงเหลือของสาร (a) compound D, (b) DMPBD, และ (c) zerumbone ที่พบในสารสกัด TPECN และ TPECC ที่ผ่านการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งที่เวลาต่าง ๆ (*p-value < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ตำรับยาตรีผลธาตุเป็นตำรับที่ใช้ในการบรรเทาอาการไข้ตัวร้อน อาการฟกบวม ปวดเมื่อย โดยอาศัยหลักการรักษาที่เน้นการใช้ รสขม เพื่อลดความร้อนจากธาตุไฟ และ รสจืด ที่มีฤทธิ์ขับปัสสาวะเพื่อระบายความร้อนผ่านธาตุน้ำ ร่วมกับการใช้สมุนไพร รสเผ็ดร้อน หรือกลิ่นหอมเพื่อกระตุ้นการไหลเวียนโลหิต ลดอาการแทรกซ้อน เช่น เวียนศีรษะ และกระจายลมเพื่อลดอาการปวดเมื่อย [22] ซึ่งสมุนไพรในตำรับยาตรีผลธาตุ ได้แก่ เหง้ากระเทียม เหง้าไพล และเหง้าตะไคร้หอม มีสรรพคุณในการแก้ไข้ และระบายความร้อน [1, 23] แม้ว่าตะไคร้หอมจะถูกระบุไว้ในตำราเภสัชกรรมไทยว่าไม่นิยมปรุงเพื่อรับประทาน [24] แต่เมื่อพิจารณาตามหลักการแพทย์แผนโบราณพบว่าตะไคร้หอมมีลักษณะเฉพาะคือรสหอมปราศและกลิ่นที่ฉุนกว่า [23-24] ด้วยเหตุนี้อาจเป็นผลให้ในตำรับยาโบราณเลือกใช้ตะไคร้หอมเพื่อวัตถุประสงค์ในการลดไข้มากกว่าการใช้ตะไคร้บ้าน แต่จากรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าตะไคร้หอมประกอบด้วยสารสำคัญคือ geraniol และ citronellal ซึ่งพบรายงานความเป็นพิษของสารดังกล่าว [12, 25] อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในตำรับยาตรีผลธาตุพบว่าประกอบด้วยสารสำคัญจำนวน 2 ชนิด คือ compound D และ zerumbone แต่ไม่พบ

สารสำคัญในตะไคร้หอม ได้แก่ geraniol, citronellal, β -citronellal, และ β -eudesmol [5] ดังนั้นการปรับเปลี่ยนสมุนไพรในตำรับโดยใช้ตะไคร้บ้านแทนตะไคร้หอมจึงอาจช่วยลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจากตะไคร้หอมและตำรับยาที่ใช้สมุนไพรทดแทนมีแนวโน้มที่จะออกฤทธิ์ได้เช่นเดิม

จากการศึกษาพบว่า ตำรับทั้ง 2 ตำรับมีฤทธิ์ที่ไม่แตกต่างกันทั้งผลต่อการยับยั้งการหลั่ง nitric oxide และการยับยั้ง IL-6 โดยอาจเป็นผลมาจากปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต่อกระบวนการยับยั้งการอักเสบ ได้แก่ สาร compound D, DMPBD และ zerumbone ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งสารทั้ง 3 ชนิดมีผลต่อการยับยั้ง nitric oxide, nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 อีกทั้งสาร DMPBD ยังออกฤทธิ์คล้ายยาบรรเทาอาการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ โดยจะไปยับยั้งกลไกการผลิตสารในกระบวนการอักเสบต่าง ๆ [26-29] นอกจากนี้สารสกัดทั้ง 2 ตำรับยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะการใช้ 95% เอทานอล ซึ่งสกัดสารกลุ่มที่มีขั้วกลางถึงสูงออกมาได้ในปริมาณมากกว่าสารที่มีขั้วต่ำ ในขณะที่สารออกฤทธิ์สำคัญในตะไคร้หอมและตะไคร้บ้านคือน้ำมันหอมระเหย ซึ่งละลายได้ดีในสารละลายขั้วต่ำ [25] การสกัดวิธีนี้จึงอาจทำให้สารที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ออกมาน้อย สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ทำการทดลองตำรับตรีผลาตุในผู้ป่วยปวดหลังส่วนล่างก็ไม่พบรายงานการระคายเคืองต่อผิวหนัง [7] อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนั้นมีการใช้น้ำมันงาในการสกัด ซึ่งเป็นสารละลายขั้วต่ำ แต่ทำการสกัดโดยการหุงน้ำมันที่ใช้ความร้อนสูงและไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ จึงอาจมีผลต่อการสลายตัวหรือการระเหยของน้ำมันหอมระเหยได้ [25]

เมื่อทำการทดสอบความคงตัวของสารสกัดในสภาวะเร่ง พบว่าสารสกัดตำรับทั้งสองชนิดมีฤทธิ์การยับยั้งการหลั่ง IL-6 และ nitric oxide ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของตำรับที่พบว่า ปริมาณสาร DMPBD และ zerumbone มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะสาร zerumbone ซึ่งมีปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อความคงตัวคืออุณหภูมิ โดยสอดคล้องกับข้อมูลของรายงานก่อนหน้านี้ที่แนะนำให้ควรเก็บสารไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และในส่วนของสาร compound D และ DMPBD มีการสลายตัวเมื่อมีการสัมผัสกับอุณหภูมิที่สูงขึ้น และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หรือโดนแสง UV จะทำให้เกิดการลดลงอย่างมีนัยสำคัญอย่างรวดเร็ว จึงควรเก็บสารที่อุณหภูมิต่ำและพ้นจากแสง [30-32] ในส่วนของสาร compound D มีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และที่น่าสังเกตคือพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารดังกล่าวในวันที่ 30 ของการทดสอบสภาวะเร่ง ปรากฏการณ์นี้อาจอธิบายได้ว่าเกิดจากการสลายตัวของ DMPBD แล้วเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องจนได้ผลิตภัณฑ์เป็น compound D [33] จากการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของสารทั้งสองชนิดในสารสกัดตำรับตรีผลาตุ เมื่อพิจารณาจากเกณฑ์ของ ICH guideline ที่ได้มีการกำหนดให้ทำการทดสอบความคงตัวแบบ intermediate ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $65 \pm 5\%$ เมื่อสารสำคัญมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญภายใต้การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง [21] ดังนั้นสารสกัดตำรับตรีผลาตุจึงควรนำไปทดสอบความคงตัวในสภาวะดังกล่าวเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการระบอบุยาและการเก็บรักษาสารสกัด

จากผลการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่า ตะไคร้บ้านสามารถใช้เป็นสมุนไพรทดแทนตะไคร้หอมในตำรับยาตรีผลาตุได้ เนื่องจากทั้ง 2 ตำรับออกฤทธิ์ด้านการอักเสบไม่แตกต่างกัน แต่สารสกัดตำรับตรีผลาตุสูตรดั้งเดิมและสูตรที่ใช้ตะไคร้หอมทดแทนตะไคร้บ้านนั้นมีความไม่คงตัวเมื่อทดสอบในสภาวะเร่งทั้งในด้านการออกฤทธิ์ด้านการอักเสบและปริมาณสารสำคัญในตำรับจึงควรเก็บรักษาสารสกัดดังกล่าวในที่เย็นเพื่อช่วยรักษาคุณสมบัติของสารสกัด ทั้งนี้ควรมีการศึกษาเรื่องความเป็นพิษของตำรับต่อเซลล์หรือสัตว์ทดลองเพิ่มเติม รวมทั้งศึกษาผลความคงตัวของสารสกัดในสภาวะอื่น ๆ เช่น สภาวะออกซิเดชัน สภาวะที่เป็นกรดหรือด่างสูง เพื่อยืนยันผลการทดลองและเป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนาสารสกัดไปสู่ผลิตภัณฑ์ต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนวิจัย (คณะแพทยศาสตร์) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปีงบประมาณ 2568 ตามสัญญาเลขที่ บศ.02/2568

เอกสารอ้างอิง

1. Foundation for the Restoration and Promotion of Traditional Thai Medicine, Ayurved Thamrong School (Jivaka Komarabhaj). *Tamra Phesatchakam Thai: Kanaphesat* [Thai Pharmacy Textbook: Kanaphesat]. Bangkok: Pimdee Printing Center; 2005. 103 p. Thai.
2. Krupunyamat L. *Thai Traditional Pharmacy Textbook*. 2nd ed. Nonthaburi: Ayurveda School (Shewakakomarat), Foundation for the Promotion of Thai Traditional and Alternative Medicine; 2016. 277 p. Thai.
3. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2018;9(6):7204-18.
4. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*. 2019;25(12):1822-32.
5. Chitkrachang N, Sakpakdeejaroen I, Kwanchian D, Lertdamrongdej T, Panthong S. Chemical composition analysis using HPLC-UV and inhibitory activity of Thai herbal formulation on proinflammatory mediators. *Trends Sci*. 2025;22(8):10135.
6. Deeoun S, Phuneerub P, Palanuvej C, Ruangrunsi N, Towiwat P. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of Tree-Phon-That remedy. *TJPS*. 2014;38(4):188-94.
7. Jarukitsakul S, Chatawatee B, Rueangsaksit C, Biakhaw P, Padthong A, Abdulloh B. The study on effectiveness of TRI-PHOL-THAT oil poultice in patients with low back pain syndrome. *Health Science, Science and Technology Reviews*. 2024;17(1):65-80. Thai.
8. Chang CJ, Tzeng TF, Liou SS, Chang YS, Liu IM. Acute and 28-day subchronic oral toxicity of an ethanol extract of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith in rodents. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012;2012:608284.
9. Koontongkaew S, Poachanukoon O, Sireeratawong S, et al. Safety evaluation of *Zingiber cassumunar* Roxb. rhizome extract: acute and chronic toxicity studies in rats. *Int Sch Res Notices*. 2014;2014:632608.
10. Kpoviessi S, Bero J, Agbani P, et al. Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *J Ethnopharmacol*. 2014;151(1):652-9.
11. Piasecki B, Biernasiuk A, Skiba A, Skalicka-Woźniak K, Ludwiczuk A. Composition, anti-MRSA activity and toxicity of essential oils from *Cymbopogon* species. *Molecules*. 2021;26(24):7542.
12. Bampidis V, Azimonti G, Bastos ML, et al. Safety and efficacy of citronella oil from *Cymbopogon nardus* for all animal species. *EFSA J*. 2024;22(5):e8790.

13. Ministry of Industry. Notification of hazardous substances (No. 8), B.E. 2555 (2012). *Royal Gazette*. 2012;129(186):20. Thai.
14. Do T. *Vietnamese medicinal plants and remedies*. Hanoi: Medicine Publisher; 2004.
15. Lulekal E, Tesfaye S, Gebrechristos S, et al. Toxicity and phytochemical analysis of *Cymbopogon citratus* essential oil. *Toxicol Rep*. 2019;6:1289-94.
16. Wongmanit P, Tungsukruthai P, Phetkate P, et al. Safety assessment of *Cymbopogon citratus* extract in CKD patients. *Phcog J*. 2023;15(6):976-86.
17. Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD. Analysis of cell viability by MTT assay. *Cold Spring Harb Protoc*. 2018;2018(6):95505.
18. International Organization for Standardization. ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices—tests for in vitro cytotoxicity. 2009.
19. Makchuchit S, Rattarom R, Itharat A. Anti-allergic and anti-inflammatory effects of Benjakul extract. *Pharmacotherapy*. 2017;89:1018-26.
20. Panthong S, Itharat A, et al. Bactericidal and anti-inflammatory activity of *Cassia garettiana* extract. *Sci World J*. 2020;2020:1653180.
21. ICH. Q1A(R2) stability testing guidelines. 2003.
22. Prommee N, Itharat A, et al. Ethnopharmacological analysis of Prasachandaeng remedy. *J Ethnopharmacol*. 2021;268:113520.
23. Thai Traditional Medicine Institute. *Pramuan Sanphakhun Samunphrai Thai*. Bangkok: War Veterans Organization Printing; 2012.
24. Wat Pho Traditional Medical School. *Pramuan Sanphakhun Ya Thai*. Bangkok; 1961.
25. Chanthai S, Prachakoll S, Ruangviriyachai C, et al. Extraction influence on volatile compounds of citronella and lemongrass. *J AOAC Int*. 2012;95(3):763-72.
26. Kaewchoothong A, Tewtrakul S, Panichayupakaranant P. Nitric oxide inhibition by *Zingiber cassumunar* extracts. *Phytother Res*. 2012;26(12):1789-92.
27. Chien TY, Huang SK, Lee CJ, et al. Zerumbone anti-inflammatory effects. *Int J Mol Sci*. 2016;17(2):249.
28. Jeenapongsa R, Yoovathaworn K, Sriwatanakul K, et al. Anti-inflammatory activity of *Zingiber cassumunar*. *J Ethnopharmacol*. 2003;87(2-3):143-8.
29. Nakamura S, Iwami J, Matsuda H, et al. Phenylbutanoids from *Zingiber cassumunar*. *Chem Pharm Bull*. 2009;57(11):1267-72.
30. Kesharwani SS, Bhat G. Nanotechnology-based approaches for zerumbone. *Medicina (Kaunas)*. 2020;56(11):557.
31. Janpim K, Nualkaew S, Priprem A. Stability testing of Plai extract. In: Proceedings of Graduate Research Conference; 2012.

32. Wisuitiprot V, Jaidee W, et al. Thermal degradation kinetics of phenylbutanoids. *Sci Asia*. 2025;51(4):1-9.
33. Tangyuenyongwatana P, Chareonsap PP, Gritsanapan W. HPTLC analysis of phenylbutanoid in *Zingiber cassumunar*. *Thai J Pharm Sci*. 2017;41(3):117-22.