อภินันทนาการ

สำนักหอสมุด

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาผลของสารองค์ประกอบทางเคมีจากสมุนไพรที่มีต่อพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กระยะติดต่อในหลอดทดลอง

A Study of Chemical constituents from Thai herb intestinal fluke in vitro

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 17 ส.ค. 2559
เลขทะเบียน 1699832X
เลขเรียกหนังสือ ว QL 251 .P7 ว๗๑๙ 2557

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. ดาวัลย์ ฉิมภู่

มหาวิทยาลัยนเรศวร

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ 2557

การศึกษาผลของสารองค์ประกอบทางเคมีจากสมุนไพรที่มีต่อพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กระยะติดต่อในหลอดทดลอง

A Study of Chemical constituents from Thai herb intestinal fluke in vitro

ชื่อโครงการวิจัย(ภาษาไทย) การศึกษาผลของสารองค์ประกอบทางเคมีจากสมุนไพร ที่มีต่อพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก ระยะติดต่อ ในหลอดทดลอง

(ภาษาอังกฤษ) A Study of Chemical constituents from Thai herb intestinal fluke in vitro

คณะผู้รับผิดชอบ

หัวหน้าโครงการวิจัย / ผู้วางแผน

รองศาสตราจารย์ ดร. ดาวัลย์ ฉิมภู่

Ph.D (Biochemistry)

โทรศัพท์ +66 5596 4789 โทรสาร +66-5596-4770

มือถือ +668 1740 3411

E-mail dawans@nu.ac.th

ผู้ร่วมงานวิจัย

(1) **นายอัศวชัย ช่วยพรหม**

หมายเลขบัตรประชาชน 3-1016-00691-56-4

ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการสถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ถ. ติวานนท์ จ. นนทบุรี

โทรศัพท์: 02 9510000-9 ต่อ 98023 โทรสาร: (02) 5899866

E-mail: Aussavashai.s@dmsc.mail.go.th

สถานภาพปัจจุบัน : นิสิตปริญญาเอก หลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก

ความรับผิดชอบต่อโครงการวิจัยที่เสนอขอ : ร่วมออกแบบงานวิจัย ทำการวิจัย ร่วมวิเคราะห์และสรุปงานวิจัย

(2) **ผศ. ดร.ชูศักดิ์ นิธิเกตุกุล**

เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 459900318 49 9

คุณวุฒิ : B.sc, M.Sc , Ph.D [Biodiversity and Ethnobiology]

ตำแหน่ง : ผู้ช่วยศาสตราจารย์

คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

โทรศัพท์ : 0814038562

ความรับผิดชอบต่อโครงการวิจัยที่เสนอขอ : ร่วมออกแบบงานวิจัย /ร่วมวิเคราะห์และสรุป งานวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปี 2557 การทำงานได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยความอนุเคราะห์ จากภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และ กระทรวงสาธารณสุข จ. นนทบุรี ที่ได้เอื้อเฟื้อเรื่องการใช้ห้องปฏิบัติการ และการใช้เครื่องมือต่างๆ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณในความอนุเคราะห์ของภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ทำให้การดำเนินการวิจัย สำเร็จออกมาดังจุดประสงค์

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	
บทคัดย่อ	
บทที่ 1 บทนำ	3
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	3
1.2 จุดมุ่งหมายของการวิจัย.....	6
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	6
1.4 สมมติฐานของการวิจัย.....	6
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	7
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	
2.1 พยาธิใบไม้ในลำไส้ *Haplorchis taichui*.....	8
2.2 การควบคุมคุณภาพสมุนไพร.....	9
2.3 สมุนไพรที่คัดเลือกมาศึกษาวิจัย.....	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	22
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 ผลการศึกษา TLC chromatographic fingerprints.....	24
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	
5.1 สรุปผลการศึกษาวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสมุนไพรที่คัดเลือก มาศึกษาด้วยวิธี TLC.....	53
เอกสารอ้างอิง/บรรณานุกรม.....	55
ภาคผนวก.....	58

บทคัดย่อ

การทดลองนี้รายงานถึงวิธีการตรวจสอบปริมาณสาร Vitexin ในสารสกัดใบกระทกรกด้วยวิธี HPTLC และวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้ เดนสิโตเมตรี สารสกัดใบกระทกรกด้วย 40 % เมธานอล จุดลงบนแผ่น HPTLC (silica gel 60 F_{254}) ใช้ระบบตัวทำละลาย ethyl acetate: methanol: distilled water: formic acid (50: 2: 3: 6 v/v) เป็นตัวพา วัดปริมาณสาร Vitexin ด้วยเครื่อง เดนสิโตเมตรี ที่ความยาวคลื่น (λ) 340 นาโนเมตร การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์พบว่า มีความสัมพันธ์อย่างเป็นเส้นตรง ช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 2.5–17.5 µg mL^{-1} มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) 0.997 ค่า Intraday และ interday precision ของวิธีที่ใช้ในการทดลองมีค่าน้อยกว่า 3 % การทดสอบความถูกต้องของวิธี มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 102.34 % ขีดจำกัดการตรวจวัด และ ขีดจำกัดการหาปริมาณ เท่ากับ 0.209 และ 0.698 µg mL^{-1} ตามลำดับ พบปริมาณสาร Vitexin ในสารสกัดใบกระทกรกเท่ากับ 0.993 % (w/w) สรุปได้ว่าวิธีการหาปริมาณ Vitexin ในสารสกัดใบสาบเสือด้วยวิธี HPTLC และวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้ เดนสิโตเมตรี ในการทดลองนี้ เป็นวิธีที่มีความถูกต้อง แม่นยำ วิธีการนี้สามารถนำไปใช้เป็นวิธีควบคุมคุณภาพของสารสกัดใบกระทกรกและผลิตภัณฑ์ได้

Abstract

A high-performance thin-layer chromatographic (HPTLC) method with densitometric has been established for the determination of vitexin in *Passiflora foetida* Linn. A 40 % ethanol extract of the leave of plant powder was used for the experimental work. Separation was performed on silica gel 60 F_{254} HPTLC plates with ethyl acetate: methanol: distilled water: formic acid in the proportion 50:2:3:6 (v/v), as mobile phase. The determination was carried out using the densitometric absorbance mode at 340 nm. Vitexin response was linear over the range 2.5–17.5 µg mL^{-1}, with a correlation coefficient of 0.997. Intraday and interday precision studies showed the relative standard deviation was <3 %. Accuracy of the method was determined by a recovery study conducted at 3 different levels, and the average recovery was 102.34 %. The limit of quantitation and limit of detection were 0.698 and 0.209 µg mL^{-1} respectively The concentration of vitexin in *P. foetida* extract was found to be 0.993 %.. The HPTLC method was evaluated in terms of sensitivity, accuracy, precision and reproducibility. This method can be used for routine quality control of raw material of the leave of *P. foetida* extract and its products.

คำสำคัญ: HPTLC, Vitexin, กระทกรก

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของปัญหา

โรคปรสิตที่ติดต่อทางอาหาร (Foodborne Trematodiasis) ยังคงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศกำลังพัฒนา เช่นประเทศในแถบ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในปี 2005 ประมาณการว่าทั่วโลกมีประชาการที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคปรสิตที่ติดต่อทางอาหารกว่า 1,066 ล้านคน [1-3] และมีประชากรกว่า 56.2 ล้านคน ติดเชื้อโรคปรสิตที่ติดต่อทางอาหาร[2] รวมทั้งมีการประมาณการว่ามีประชากรมากกว่า 18 ล้านคน ติดเชื้อโรคปรสิตที่ติดต่อจากการบริโภคปลา (Fishborne Zoonotic Trematodes) [4] การติดต่อสู่คนของปรสิตที่ติดต่อจากปลามีสาเหตุหลักมาจากการบริโภคปลาที่ติดเชื้อพยาธิระยะติดต่อ (metacercaria) แบบสุกๆดิบๆเข้าไป ทำให้ได้รับพยาธิระยะติดต่อเข้าสู่ร่างกาย แม้ว่าในระยะแรกของการเกิดโรคอาจมีอาการไม่รุนแรงนักขึ้นอยู่กับจำนวนและชนิดของการติดเชื้อพยาธิ แต่สามารถส่งผลให้ร่างกายอ่อนแอ มีการดูดซึมอาหารผิดปกติ ความสามารถในการทำงานลดลง ส่งผลกระทบต่อผลผลิตจากการประกอบอาชีพต่างๆโดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ใช้แรงงานเพื่อการผลิตในรูปแบบต่างๆ เป็นอุปสรรคต่อการดำรงชีวิต และยังส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของประชาชน ทำให้ประเทศขาดประชากรที่มีคุณภาพ และศักยภาพในการทำงาน เป็นอุปสรรคที่สำคัญต่อการพัฒนาประเทศ

การประเมินผลกระทบที่เกิดขึ้นกับสังคมของปัญหาทางสาธารณสุข องค์การอนามัยโรคและธนาคารโลกได้ร่วมกันพัฒนาเครื่องชี้วัดภาระโรค (Burden of disease) โดยวัดการสูญเสียสุขภาวะ เป็นจำนวนปีชีวิตที่ปรับด้วยความพิการมีหน่วยเป็น จำนวน DALYs เรียกหน่วยวัดนี้ว่าการสูญเสียปีสุขภาวะ DALYs (Disability Adjusted Life Years) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อจะเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคทั้งที่ทำให้ตาย และทำให้ต้องทุกข์ทรมานจากความเจ็บป่วย หรือพิการอยู่ในดัชนีชี้วัดตัวเดียวกัน ซึ่งเดิมปัญหาบางอย่างที่มีอัตราการตายค่อนข้างต่ำจะไม่ถูกจัดลำดับความสำคัญในปัญหาสาธารณสุข โดยค่า DALYs หาได้จากการนำปีที่สูญเสียจากการตายก่อนวัยอันควร (Year Life Loss, YLL) รวมกับปีที่อยู่กับความพิการหรือการเจ็บป่วย (Year Liver with Disability, YLD) โดยวิธีดังกล่าวพบว่า ปี 2005 (พ.ศ. 2548) ประมาณการว่าประชากรทั่วโลกกว่า 6.7 ล้านคน ติดเชื้อพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก โดยมีประชากรที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ลำไส้มากกว่า 3.3 ล้านคน เป็นคนไทยและคนฟิลิปปินส์ คิดเป็นจำนวนปีที่อยู่กับความพิการ หรือการเจ็บป่วย (Year Liver with Disability, YLD) เท่ากับ 56434 ปี และการสูญเสียปีสุขภาวะ DALYs

(Disability Adjusted Life Years) เท่ากับ 56434 DALYs ซึ่งเทียบเท่ากับความสูญเสียปีสุขภาวะจากโรคหลอดเลือดสมอง, HIV/AIDS และอุบัติเหตุ จราจรซึ่งเป็นโรคที่มีค่าการสูญเสียปีสุขภาวะสูงเป็นอันดับต้นๆ ของประเทศไทย [2, 5-6]

โรคปรสิตที่ติดต่อทางอาหารจากการบริโภคปลาที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุข ที่สำคัญในเอเชียได้แก่ โรคพยาธิใบไม้ลำไส้ Family Heterophyidae Genus *Haplorchis* Species *H. taichui*[7-8] ผลการศึกษาความชุกของพยาธิระยะติดต่อจากปลาน้ำจืด ลำน้ำแม่สา จังหวัดเชียงใหม่ ตรวจพบพยาธิใบไม้ทั้งหมดคิดเป็นค่า prevalence เท่ากับ 31.09%[9] ผลการศึกษาความชุกของ metacercaria พยาธิใบไม้ *H. taichui* ในอำเภอจอมทองและแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีค่า prevalence เป็น 91.7 % และ 83.80%[10] ผลการศึกษาความชุกของระยะติดต่อของ *H. taichui* ในอ่างเก็บน้ำหนองหลวงและอ่างเก็บน้ำแม่ต๋าก จังหวัดเชียงราย อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่งัด และอ่างเก็บน้ำ เขื่อนแม่กวงอุดมธารา จังหวัดเชียงใหม่ มีค่า prevalence เท่ากับ 3.96 %, 57.89%, 55.66% และ 64.70% ตามลำดับ [11] ผลการสำรวจหาอัตราการติดเชื้อพยาธิระยะติดต่อ ในกลุ่มปลาตะเพียนที่เก็บรวบรวมจากแหล่งน้ำที่แตกต่างกันทางนิเวศวิทยาในเขตจังหวัดเชียงใหม่พบอัตราการติดเชื้อพยาธิระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กสูงมาก โดยมี อัตราการติดเชื้อในปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ 98.1% และในปลาจากบ่อเลี้ยง 68.7% [12] และผลการสำรวจชนิดของปลาที่ติดพยาธิใบไม้ ระยะติดต่อจากบางท้องที่ในภาคตะวันออก เฉียงเหนือของประเทศไทย พบระยะติดต่อของ *H. taichui* สูงสุด prevalence เท่ากับ 33.31 % [13] ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้ได้ว่าสัดส่วนของประชากรส่วนมากในพื้นที่ที่ศึกษามีความเสี่ยงในการติดเชื้อพยาธิใบไม้ลำไส้เป็นจำนวนมากได้

ถึงแม้ว่าตัวยารักษาโรคที่เกิดจากหนอนพยาธิที่มีอยู่ในปัจจุบันจะมีประสิทธิภาพสูง และมีความนิยมใช้อย่างแพร่หลาย เช่น ยากลุ่มมีเบนดาโซล (Mebendazole) กลุ่มแอลเบนดาโซล (Albendazole) กลุ่ม Praziquantel แต่การใช้ยาเหล่านี้อาจมีผลกระทบ หรือเกิดอาการข้างเคียงต่างๆ เช่น เวียนศีรษะ ปวดศีรษะ อาเจียน ท้องเสีย ปวดท้อง มีไข้ ผื่นคัน ซึ่งถ้าผู้ป่วยรายใดมีโรคที่มีอาการรุนแรง เช่น โรคหัวใจ โรคความดันเลือด การใช้ยาถ่ายพยาธิเหล่านี้อาจทำให้อาการของโรคเพิ่มหรืออาจอันตรายถึงขั้นเสียชีวิตได้ รวมทั้งยังมีหนอนพยาธิอีกหลายชนิดที่ยังไม่มียาที่มีประสิทธิภาพ และปลอดภัยพอที่จะ สามารถนำมาใช้ในการกำจัดได้ [14-18] รวมถึงยาที่ใช้บางชนิดก็มีราคาค่อนข้างสูง เพราะเป็นผลิตภัณฑ์ยาที่สารออกฤทธิ์ผลิตจากสารสังเคราะห์ และต้องนำเข้าจากต่างประเทศ นอกจากนี้ในปัจจุบันยังพบว่าหนอนพยาธิเริ่มมีภูมิต้านทานต่อยาที่ใช้มากขึ้น ในขณะที่การพัฒนายาเพื่อรักษาโรคพยาธิมักไม่ได้รับความสนใจ หรืออาจไม่เหมาะสมในเชิงธุรกิจ เพราะโรคพยาธิเป็นโรคของประชากรที่ยากจน ดังนั้นเพื่อให้มีตัวเลือกในการใช้ยารักษาโรคพยาธิได้มากขึ้น จึงน่าจะมีการศึกษาหายา หรือสารชนิดอื่นที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนพยาธิ

เพิ่มขึ้น เพื่อเพิ่มทางเลือก และการเข้าถึงยาของประชากรให้มากขึ้น รวมทั้งยังเป็นการยกระดับการพึ่งพาตนเองในด้านยาของประเทศอีกด้วย

สมุนไพรเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สำคัญซึ่งถูกนำมาใช้เพื่อเป็นวัตถุดิบทั้งในด้านผลิตภัณฑ์ยา ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมาตั้งแต่อดีตกาล ซึ่งความรู้เรื่องสรรพคุณ และวิธีการใช้ ได้ผ่านการเรียนรู้สืบต่อกันมาจากรุ่นสู่รุ่น จนกระทั่งเมื่อการแพทย์แผนตะวันตก และเทคโนโลยีสมัยใหม่ได้กำเนิดขึ้นมา ทำให้คนส่วนใหญ่นิยมเลือกใช้ยาแผนปัจจุบันซึ่งเป็นตัวยาที่สารออกฤทธิ์ผลิตจากสารสังเคราะห์ รวมถึงผลิตภัณฑ์ต่างๆจากสารสังเคราะห์มากกว่าการใช้สมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร เนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวให้ฤทธิ์เร็ว มีการควบคุมคุณภาพและผ่านการใช้จากแพทย์ รวมถึงบุคลากรทางการแพทย์ ที่มีการใช้ และผ่านการเรียนรู้อย่างเป็นระบบ

ในประเทศไทยการให้ความสำคัญ และตระหนักในคุณค่าของสมุนไพรมีอย่างต่อเนื่องและยาวนานตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันโดยนอกจากจะมีการนำสมุนไพรมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าต่อสุขภาพแล้ว ด้วยความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีเภสัชกรรม ส่งผลให้มีการพัฒนาคุณภาพ ประสิทธิภาพ และรูปแบบของผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรมากขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีคุณภาพ และประสิทธิภาพที่สม่ำเสมอ มีรูปแบบบรรจุภัณฑ์ และผลิตภัณฑ์ที่ทันสมัย ส่งผลให้ผู้บริโภคเกิดความเชื่อมั่นในผลิตภัณฑ์ ทั้งทางด้านประสิทธิภาพ และคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรเพิ่มขึ้น ซึ่งในท้ายที่สุดก็จะส่งผลถึงปริมาณการใช้สมุนไพรที่จะเพิ่มสูงขึ้นต่อไป

จากภูมิปัญญาของการแพทย์แผนไทยในอดีตได้มีการค้นพบ และได้มีการใช้พืชสมุนไพรเป็นจำนวนมากในการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อพยาธิมานานแล้ว แต่สมุนไพรส่วนมากยังมีรายงานเพียงแค่สรรพคุณเท่านั้น ยังไม่มีการนำมาศึกษา และทดลองถึงฤทธิ์ในการต่อต้านพยาธิ ทั้งนี้มีสมุนไพรเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่ได้ถูกนำไปศึกษา ทดสอบอย่างเป็นระบบ จนทราบถึงชนิดและโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ฆ่าหนอนพยาธิ (anthelminthic molecule) ด้วยเหตุ และปัจจัยดังกล่าว ในการศึกษาตรวจสอบหาสารต้านหนอนพยาธิจากสมุนไพรครั้งนี้ จะใช้สารบริสุทธิ์หรือส่วนสารสกัดของสมุนไพรที่ได้ทำการตรวจสอบเอกลักษณ์องค์ประกอบทางเคมีด้วยการหา TLC โครมาโทแกรมแทนการใช้สารสกัดหยาบที่ไม่มีข้อมูลองค์ประกอบหรือข้อมูลปริมาณสารสำคัญ และไม่ทราบสารออกฤทธิ์ที่แท้จริง มาใช้ในการศึกษาทดลอง

1.2 จุดมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบของสมุนไพรที่คัดเลือกมาศึกษาด้วยเทคนิค TLC

2. เพื่อศึกษาผลขององค์ประกอบของสมุนไพร ที่มีต่อการการเคลื่อนไหวของพยาธิใบไม้ในลำไส้ ขนาดเล็กระยะติดต่อ ในหลอดทดลอง

3. เพื่อศึกษาผลขององค์ประกอบของสมุนไพร ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กระยะติดต่อ ในหลอดทดลอง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. จำกัดขอบเขตการศึกษาสมุนไพรเฉพาะที่สามารถหาระบบ TLC ในการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรได้รวมจำนวน 10 ชนิด

2. การศึกษานี้จะยึดหลักของ Bioassay-Guided Approach คือเฉพาะส่วนสกัดหยาบของสมุนไพรที่แสดงฤทธิ์ในการฆ่าพยาธิระยะติดต่อเท่านั้น ที่จะถูกนำไปศึกษาในขั้นต่อไป

3. การแยกสารเป็นสารบริสุทธิ์ หรือส่วนสารสกัดจะทำเฉพาะส่วนสกัดหยาบ ที่สามารถตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี และสามารถแยกเป็นส่วนสารสกัด (fraction) ด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟฟีได้เท่านั้น

4. เนื่องจากสารสกัด หรือ ส่วนสารสกัดของพืชสมุนไพรที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ มีสารองค์ประกอบทางเคมีอยู่เป็นจำนวนมาก การระบุชนิดสารออกฤทธิ์จึงสามารถกระทำได้กับสารที่สามารถแยก หรือสามารถระบุชนิดได้เท่านั้น

5. การหาโครงสร้างของสารที่แยกได้จะเน้นสารที่สามารถหาโครงสร้างได้ด้วยวิธี Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) เท่านั้น

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

การศึกษาวิจัยหาสารต้านพยาธิจากสมุนไพร โดยมีข้อมูลการตรวจสอบเอกลักษณ์ของสมุนไพรด้วยวิธี TLC โครมาโทแกรม ซึ่งจะได้รูปแบบของโครมาโทแกรมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของสมุนไพรนั้นๆ หรือที่เรียกว่า TLC fingerprint มีประโยชน์อย่างยิ่ง เนื่องจากจะทำให้ได้ข้อมูลในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบทั้งสมุนไพรและสารสกัดสมุนไพร มีผลให้การศึกษาในขั้นต่อไปหรือเพื่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สามารถทำได้ง่าย โดยเฉพราะเมื่อมีการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยา จะทำให้สามารถควบคุมคุณภาพได้ เป็นการยกระดับการใช้สมุนไพรไทยเข้าสู่มาตรฐานในระดับสากล ส่งผลถึงคุณภาพและประสิทธิผลของผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรที่แน่นอนและเชื่อถือได้ ส่งผลให้ผู้บริโภค และบุคลากรทางการแพทย์เกิดความเชื่อมั่นในผลิตภัณฑ์ ซึ่งในท้ายที่สุดก็จะส่งผลถึงปริมาณการใช้สมุนไพรที่เพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งเป็นการอนุรักษ์สมุนไพรของประเทศ โดยแนวทางการศึกษาดังกล่าวเป็นการสร้างระบบกลไกทางการวิจัยด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่เหมาะสมของประเทศ ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็น และท้าทายเป็นอย่างยิ่ง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการสกัด การเตรียมส่วนสารสกัด การเตรียมสารบริสุทธิ์ และการตรวจสอบสารองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี TLC Scanner ของสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนพยาธิ สำหรับหน่วยงานภาครัฐ หรือเอกชนที่สนใจนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป

2. ได้ผลงานวิจัยที่จะถูกรวบรวมเพื่อจัดทำเป็นผลงานวิชาการเผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับสากลอย่างน้อย 1 เรื่อง รายชื่อวารสารที่จะลงเผยแพร่ เช่น Asian Biomedicine หรือ Korean. J. Parasito, Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health หรือวารสารอื่นที่มี peer review

3. ก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ ด้านสารออกฤทธิ์ฆ่าพยาธิระยะติดต่อจากสมุนไพร

4. ผู้ร่วมวิจัยของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจะได้รับการพัฒนาด้านความรู้และประสบการณ์ด้าน การทดสอบฤทธิ์สมุนไพรต่อพยาธิ และการแยกสารองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเป็นกำลังสำคัญในการพัฒนาการวิจัยของประเทศให้ก้าวหน้าต่อไป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. พยาธิใบไม้ในลำไส้ *Haplorchis taichui* [19-22]

H. taichui จัดเป็นพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก อยู่ใน Phylum Platyhelminthes, Class Trematoda ซึ่งมีการจัดจำแนกไว้ดังนี้

Phylum Platyhelminthes

Class Trematoda

Subclass Digenea

Order Prosostomata

Superfamily Opisthochioidae

Family Heterophyidae

Genus Haplorchis

Species Haplorchis taichui

วงชีวิต (Life cycle)

สำหรับวงจรชีวิตของพยาธิ *H. taichui* คล้ายกับวงชีวิตทั่วไปของพยาธิใบไม้ลำไส้ในวงศ์ Heterophyidae ซึ่งตัวเต็มวัยของพยาธิในวงศ์ Heterophyidae นี้ส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่ในลำไส้เล็ก โดยแทรกตัวอยู่ระหว่าง microvilli ดูดกินอาหารในลำไส้จนเจริญจนมีไข่ ซึ่งไข่จะถูกขับออกจากร่างกายของโฮสต์พร้อมกับอุจจาระ ไข่ที่ออกมาส่วนใหญ่จะเจริญเต็มที่คือมีตัวอ่อนระยะ miracidium อยู่ภายในซึ่ง miracidium นี้จะไม่ออกจากไข่จนกว่าจะถูกหอยซึ่งเป็นโฮสต์ กึ่งกลางตัวที่ 1 กินเข้าไป โฮสต์กึ่งกลางตัวที่ 1 ของพยาธิชนิดนี้ได้แก่หอย Melanoides tuberculatus Melania obliqueganosa เป็นต้น หลังจากนั้นพยาธิระยะ miracidium ก็จะออกจากไข่ภายในลำไส้ของหอยแล้วไชทะลุผ่านผนังลำไส้ออกไปเจริญเป็นระยะ sporocyst ที่บริเวณต่อมย่อยอาหาร ของหอยแล้วเจริญไปเป็นระยะ redia และระยะ cercariae เมื่อระยะ cercaria เจริญเต็มที่ก็จะไชออกจากหอยว่ายอยู่ในน้ำเมื่อพบปลา ชนิดที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่ 2 จะไชเข้าสู่ปลาโดยสลัดส่วนหางทิ้ง ต่อจากนั้นก็จะสร้างผนัง (cyst) หุ้มรอบตัวเป็นระยะ metacercariae ซึ่งจะเจริญเต็มที่เวลาประมาณ 3-6 สัปดาห์ โฮสต์กึ่งกลางตัวที่ 2 เป็นปลาน้ำจืด และปลาน้ำกร่อย เช่น *Gambusia affinis*, *Tilapia nilotica*, *Chela laubuca* เป็นต้น และเมื่อโฮสต์ตัวสุดท้ายกินปลาที่มี

พยาธิระยะ metacercariae เข้าไปผนัง cyst จะถูกย่อยแตก ออกในลำไส้เล็กตัวอ่อนของพยาธิจะออกมาและเจริญเป็นตัวเต็มวัยต่อไป ซึ่งโฮสต์ตัวสุดท้ายของพยาธิกลุ่มนี้มีรายงานไว้หลายชนิดทั้งสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและ สัตว์ปีก เช่น ลิง สุนัข แมว หนู ค้างคาว นกกินปลา รวมถึงมนุษย์ด้วย

การติดต่อและพยาธิสภาพ

การติดเชื้อพยาธิ *H. taichui* ติดต่อได้โดยการรับประทานอาหารจำพวกปลาที่มีพยาธิระยะติดต่อแบบสุกๆดิบๆ เข้าไป

การป้องกันและรักษา

เนื่องจาก *H. taichui* ติดต่อได้โดยการรับประทานอาหารจำพวกปลาแบบสุกๆดิบๆในการปรุงอาหารจึงควรทำอาหารให้สุกเสียก่อน ส่วนการรักษาสามารถขับถ่ายพยาธิชนิดนี้ออกได้ด้วยยาถ่ายพยาธิในกลุ่ม praziquantel ขนาด 20-40 mg ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

2.2 การควบคุมคุณภาพสมุนไพร

สมุนไพรที่มีอยู่ตามธรรมชาติ และโดยการเพาะปลูก รวมถึงสมุนไพรที่มาจากแหล่งต่างๆกัน อาจแตกต่างกันทั้งในด้านลักษณะภายนอก ได้แก่ความสมบูรณ์ของต้น ใบ การเจริญเติบโต รวมทั้งอาจมีสารองค์ประกอบแตกต่างกันด้วย ซึ่งอาจเป็นผลมาจากลักษณะของดิน ปริมาณน้ำฝน ความสูง วิธีการเก็บเกี่ยว และภูมิประเทศที่แวดล้อมที่แตกต่างกัน ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้จะส่งผลต่อการสร้างสารองค์ประกอบเคมีที่มากน้อย หรือที่เหมือนกันหรือต่างกันอย่างไร รวมทั้งมีสารสำคัญที่ต้องการอยู่หรือไม่ ปริมาณเท่าใด การจะนำสมุนไพรมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ยาให้มีประสิทธิผลในการรักษา บำบัดที่ดี และมีความปลอดภัยในการใช้ จำเป็นต้องทราบรายละเอียดต่าง ๆ ได้แก่ ความรู้เกี่ยวกับพืชสมุนไพร ลักษณะของพืช แหล่งกระจายพันธ์ ถิ่นที่อยู่ ส่วนที่จะนำมาใช้ การเตรียมวัตถุดิบ และสารองค์ประกอบของสมุนไพร ดังนั้นการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพและความปลอดภัย ควรจะต้องทราบรายละเอียดเกี่ยวกับสมุนไพรตามหัวข้อต่างๆดังนี้

1. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพืชสมุนไพร

1.1 ชื่อท้องถิ่น

1.2 ชื่ออังกฤษ

1.3 ชื่อวิทยาศาสตร์

1.4 ชื่อพ้อง

1.5 ลักษณะทั่วไปของพืชสมุนไพร

1.6 แหล่งกระจายพันธ์

1.7 ถิ่นที่อยู่

1.8 ส่วนที่ใช้เป็นยา

1.9 องค์ประกอบทางเคมี

1.10 การเตรียมวัตถุดิบสมุนไพร

2. ข้อกำหนดคุณภาพ

2.1 บทนิยาม

2.2 ลักษณะจำเพาะของสมุนไพร

2.3 การตรวจสอบเอกลักษณ์ แบ่งเป็น

2.3.1 การตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเภสัชเวท

2.3.2 การตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมี

2.4 สิ่งแปลกปลอม

2.5 ความชื้น

2.6 เถ้ารวม

2.7 เถ้าที่ไม่ละลายในกรด

2.8 สารสกัดด้วยตัวทำละลาย

2.9 สารสำคัญ/สารออกฤทธิ์

2.10 การปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์

2.11 การปนเปื้อนด้วยสารพิษตกค้าง

2.12 การปนเปื้อนด้วยสารหนูและโลหะหนัก

2.13 การปนเปื้อนด้วยสารกัมมันตรังสี

3. ข้อบ่งใช้

4. ความเป็นพิษ

5. ข้อห้ามใช้

6. ข้อควรระวัง

7. รูปแบบและขนาดที่ใช้

ในการควบคุมคุณภาพสมุนไพร ข้อมูลเอกลักษณ์ทางเคมี และปริมาณสารสำคัญ/สารออกฤทธิ์ในสมุนไพรเป็นข้อมูลที่สำคัญยิ่ง เนื่องจากบ่งบอกถึงคุณภาพและประสิทธิภาพของสมุนไพร ซึ่งในเชิงพาณิชย์ปริมาณสารคัญหมายถึงการกำหนดมูลค่าของสมุนไพรชนิดนั้นๆอีกด้วย ทั้งนี้กลุ่มสารองค์ประกอบสำคัญ ๆ ที่พบในพืช อาจแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ได้ มีดังนี้

1. น้ำมันหอมระเหย เป็นของเหลวที่มีกลิ่นจำเพาะ ส่วนมากจะมีกลิ่นหอม ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง

2. แอลคาลอยด์ เป็นสารที่มีรสขม มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ มีคุณสมบัติเป็นด่าง และมักจะมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

3. กลัยโคไซด์ เป็นสารประกอบที่มี 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล และส่วนที่ไม่เป็นน้ำตาล

4. ฟลาโวนอยด์ เป็นสารที่มักจะมีสี และมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

5. เทอร์ปีนอยด์ เป็นสารกลุ่มประกอบที่มักพบในพืช และเป็นองค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหย

6. สารอื่นๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต, โปรตีน, ไขมัน, วิตามัน และเอมไซม์ เป็นต้น

ทั้งนี้ตามตำรามาตรฐานสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia, THP) ได้กำหนดวิธีการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีไว้ 2 วิธี ดังนี้

1. การตรวจสอบเบื้องต้น (Preliminary Test) เป็นการตรวจสอบหากลุ่มสารสำคัญโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี (Color reaction) การตกตะกอน (Precipitation) หรือปฏิกิริยาอื่น ๆ

2. การตรวจสอบเพื่อยืนยันผล (Confirmatory Test) เป็นการตรวจสอบหาองค์ประกอบของกลุ่มสารสำคัญที่ตรวจพบในเบื้องต้น มีวิธีตรวจหลายวิธี นิยมใช้เทคนิคทางโครมาโตกราฟฟี่ เช่น โครมาโตกราฟฟีชนิดผิวบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) โครมาโต

กราฟฟีสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) แก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas Chromatography,GC) เป็นต้น สำหรับการเลือกวิธีการตรวจสอบเพื่อยืนยันผลนั้น ควรเลือกให้เหมาะสมกับกลุ่มหรือชนิดของสารสำคัญที่จะตรวจสอบ ทั้งนี้วิธีที่ใช้ตรวจยืนยัน ส่วนใหญ่ที่นิยมใช้กันมาก คือวิธีโครมาโตแกรมชนิดผิวบาง เนื่องจากสามารถบอกองค์ประกอบทางเคมีได้ผลรวดเร็ว และประหยัดค่าใช้จ่าย เมื่อเทียบกับวิธีอื่น

โครมาโตกราฟฟีเป็นวิธีการตรวจยืนยันองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร หรือเป็นวิธีเพื่อการแยกสารองค์ประกอบ โดยอาศัยหลักการกระจายตัวของสารในระหว่าง phase 2 ชนิด คือ stationary phase และ mobile phase หลักการคือ สารจะเคลื่อนที่ไปบน stationary phase โดยการพาของ mobile phase อัตราการเคลื่อนที่ของสารไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับกระบวนการดูดซับที่ผิว (adsorption) และกระบวนการดูดซึมเข้าไปในช่องว่างของรูของ stationary phase (absorption) รวมทั้งการกระจายตัวเข้าไปในของเหลวที่เคลือบอยู่ที่ผิว particle ของ sationary phase และการระเหยของ mobile phase

วิธีโครมาโตแกรมชนิดผิวบาง มีขั้นตอน ดังนี้

1. การเตรียมสารตัวอย่างสมุนไพร : ทำโดยการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งโดยส่วนมากจะใช้ตัวทำละลายแอลกอฮอร์

2. การเตรียมสารมาตรฐาน : สารมาตรฐานที่จะนำมาใช้ในการเปรียบเทียบอ้างอิงและหรือยืนยันว่าในสมุนไพรชนิดนั้นมีกลุ่มสารสำคัญดังกล่าวจริง ควรเป็นสารที่บริสุทธิ์ ส่วนใหญ่มีจำหน่าย บางชนิดสามารถแยกเองได้

3. การเตรียมอุปกรณ์และ mobile phase :

แผ่นทีแอลซี (TLC Plate) มีหลายขนาด ในการเลือกใช้แผ่นทีแอลซี ต้องเลือกให้เหมาะสมกับงาน ได้แก่

-microscopic slide TLC ขนาดเล็ก ใช้แยกสารโดยใช้เวลาสั้น ส่วนใหญ่จะใช้ตรวจ fraction ของ column chromatography ที่มีสารไม่มากชนิด

-macro-layer TLC ที่นิยมใช้มีหลายขนาดและมีสำเร็จรูปจำหน่าย ที่ใช้กันมีขนาด 5x20,10x20,20x20 เซนติเมตร และความหนาของสารดูดซับ (adsorbent) เท่ากับ 025 มิลลิเมตร

-preparative TLC เป็นแผ่น TLC ที่มีสารดูดซับหนา 2 มิลลิเมตรขึ้นไป นิยมใช้แยกสารที่ปริมาณมากขึ้น

ถังทำโครมาโตกราฟฟี (Chromatographic Tank) มักทำด้วยแก้ว เป็นทรงกลม สี่เหลี่ยมผืนผ้า ก้นตัดตรงหรือเป็นตัววี ทุกแบบจะมีฝาปิด ทำด้วยแก้ว เนื่องจากทนต่อการ

กัดกร่อนของน้ำยาแยก และทุกครั้งก่อนใช้งาน ต้องทำให้ถังทำโครมาโตกราฟฟีอิ่มตัว ถ้าบรรยากาศในถังทำโครมาโตกราฟฟีไม่อิ่มตัว จะทำให้จุดแต้ม/แถบสารของโครมาโตแกรมบนแผ่นทีแอลซี เคลื่อนที่ได้แต่ละจุดแต้ม/แถบไม่เท่ากัน อาจทำได้โดยตัดกระดาษกรองให้มีขนาดเล็กกว่าถังเล็กน้อย ใส่ในถังทั้ง 4 ด้านเทน้ำยาแยกลงไปในถัง ทิ้งถังไว้นานอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

Mobile phase (น้ำยาแยก) การเลือกน้ำยาแยกที่เหมาะสม ขึ้นอยู่กับประเภทกลุ่มสารที่ต้องการแยก หลักการง่ายคือถ้าเลือกสารที่มีขั้วมากใช้น้ำยาแยกที่มีส่วนผสมของตัวทำละลายที่มีขั้วมาก และถ้าเลือกสารที่มีขั้วน้อยหรือไม่มีขั้ว ใช้น้ำยาแยกที่มีส่วนผสมของตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย ทั้งนี้ส่วนใหญ่น้ำยาแยกจะเตรียมให้มีความเข้มข้นระหว่าง 0.1-10% และให้อัตราส่วนที่รวมกันแล้วเป็น 100 ซึ่งควรจะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้ ดังนั้นควรเตรียมให้พอดีกับขนาดของถังทำโครมาโตกราฟฟีที่จะใช้

4. การพัฒนาแผ่นทีแอลซี : ทำโดยใช้หลอดรูเล็กบรรจุน้ำยาตัวอย่างและน้ำยามาตรฐาน ชนิดละ 1 และ 5 ไมโครลิตรตามลำดับ แต้มบนแผ่นทีแอลซี ในระดับเดียวกัน (อาจใช้การแต้มเป็นจุดกลมหรือใช้วิธีขีด ยาวประมาณ 0.5 มิลลิเมตร พบว่าใช้แบบขีด ทำให้แถบสารที่ได้แยกได้ชัดเจนกว่า) ให้ห่างจากขอบล่าง 1-1.5 เซนติเมตร ขอบด้านข้าง ๆ ละ 1-1.5 เซนติเมตร ให้มีระยะห่างระหว่างจุดหรือแถบตัวอย่าง ประมาณ 1 เซนติเมตร หลังจากแต้มเสร็จ ผึ่งให้แห้ง ขั้นตอนนี้อาจทำด้วยมือ หรืออาจใช้เครื่องมืออัตโนมัติเช่น เครื่อง Camag Automatic TLC SAMPLER เป็นต้น จากนั้นนำไปใส่ในถังทำโครมาโตกราฟฟีที่เตรียมไว้ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้น้ำยาแยก ซึมขึ้นไปตามผิวที่ฉาบสูง 15 เซนติเมตร นำแผ่นกระจกฉาบสารดูดซับออกจากถัง ทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ดูดควัน (เนื่องจากน้ำยาแยกบางชนิดเป็นอันตรายต่อสุขภาพ) นำไปตรวจสอบสารต่อไป

5. **การตรวจสอบสาร**: หลังจากแผ่นกระจกฉาบสารดูดซับแห้งสนิทแล้ว นำไปตรวจสอบ ดังนี้

5.1 ตรวจสอบภายใต้แสงธรรมชาติ เพื่อตรวจสอบสารที่มีสี

5.2 ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต

ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยใช้ UV cabinet จะเห็นจุดหรือแถบสีดำบนพื้นเรืองแสงสีเขียว (quenching) เฉพาะแผ่นทีแอลซีที่มีสารเรืองแสงสีเขียวที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ใช้ตรวจสอบกลุ่มสารที่มี aromatic ring เป็นต้น

ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร โดยใช้ UV cabinet จะเห็นพื้นของแผ่นกระจกฉาบสารดูดซับมืด และจะเห็นกลุ่มสารต่าง ๆที่เรืองแสงต่างกันเช่น สารกลุ่มฟลาโวนอยด์เรืองแสงสีฟ้า เหลือง เหลืองอมน้ำตาล เป็นต้น

พ่นน้ำยาตรวจสอบ ซึ่งน้ำยาที่ใช้ตรวจสอบขึ้นอยู่กับประเภทกลุ่มสาร เช่น Modified Dragendorff reagent ใช้ตรวจสอบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และแลคโตนบางชนิด

ให้ผลสีส้ม , Anisaldehyde/sulfuric acid ใช้ตรวจสอบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ให้ผลสีม่วง และ Kedd's reagent ใช้ตรวจสอบสารกลุ่มแลคโตนให้ผลสีม่วง เป็นต้น

ตำแหน่งของจุดสีต่าง ๆบนแผ่นกระจกฉาบสารดูดซับ จะแสดงด้วยค่า hRf หรือ 100Rf โดยที่ Rf (retardation factor หรือ relative) ซึ่งค่านี้เป็นค่าเฉพาะของสารหนึ่งในสภาวะหนึ่งๆ หากเปลี่ยนสภาวะไปค่า Rf จะเปลี่ยนไป โดยการเปรียบเทียบสารตัวอย่างและสารมาตรฐานหรือสารเปรียบเทียบอื่นว่าเป็นสารตัวอย่างเดียวกันหรือไม่ จะประเมินจากค่า Rf นี้ โดยถ้าสารทั้งสองตัวเป็นตัวเดียวกันค่า Rf จะเท่ากัน ทั้งนี้จำนวนชนิดของสารในตัวอย่างจะแสดงโดยจำนวนแถบสารที่เคลื่อนที่แยกกัน ดังนั้นบางครั้งในหนึ่งแถบอาจมีสารมากกว่าหนึ่งชนิดได้ เนื่องจากมีขั้วใกล้เคียงกันทำให้ซ้อนทับกันได้ ดังนั้นจึงควรใช้น้ำยาแยกทำการตรวจสอบมากกว่าหนึ่งระบบ

2.3 สมุนไพรที่คัดเลือกมาศึกษาวิจัย

คณะผู้วิจัยได้ศึกษาและรวบรวมตัวอย่างพืชสมุนไพรไทย เพื่อนำมาศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมี โดยรายละเอียดและข้อมูลสำคัญของสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด มีดังนี้

1 สาบเสือ

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Chromolaena odorata* (L.) King et Robins

ชื่อพ้อง: *Eupatorium conyzoides* Vahl., *E. odoratum* Linn.

ชื่อวงศ์: ASTERACEAE (COMPOSITAE)

ชื่ออื่นๆ: ช้าผักคราด ไช้ปูกอ ซิโพกวย เซโพกวย บ่อโส่ บ้านร้าง เบญจมาศ ผักคราด ฝรั่งรุกที่ ฝรั่งเหาะ มุ้งกระต่าย ยี่สุนเถื่อน รำเคย หญ้าค่าพั้ง หญ้าดงร้าง หญ้าดอกขาว หญ้าฝรั่งเศส หญ้าหระศิริไอยสวรรค์ หญ้าเมืองวาย หญ้าเมืองร้าง หญ้าลืมเมือง หญ้าเลาฮ้าง หญ้าเหม็น หนองเส้งเปรง หมาหลง หญ้าเสือหมอบ

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ใบ

สถานที่เก็บตัวอย่าง : อำเภอบ่อเกลือ จังหวัดน่าน

กลุ่มสารสำคัญที่พบ: สารกลุ่ม Alkaloids, สารกลุ่ม Flavonoids , สารกลุ่ม Triterpene และสารกลุ่ม Saponin glycosides

สรรพคุณทางการแพทย์แผนไทย

ต้น : แก้ปวดท้อง ท้องขึ้น ท้องเฟ้อ แก้นมดัด แก้บวม ดูดหนอง

ใบ : รักษาแผลสด สมานแผล ถอนพิษแก้อักเสบ ห้ามเลือด แก้ริดสีดวงทวารหนัก รักษาแผลเปื่อย

ดอก : แก้ร้อนในกระหายน้ำ ชูกำลัง แก้อ่อนเพลีย บำรุงหัวใจ แก้ไข้

ทั้งต้น : แก้บาดทะยัก รสฝาดร้อน เป็นยาฆ่าแมลง

2. ลำโพงขาว

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : *Datura metel* Linn.

ชื่อวงศ์ : SOLANACEAE

ชื่ออื่นๆ : มะเขืออบ้า (ภาคเหนือ, อีสาน), ละอังกะ (ส่วย-สุรินทร์), เลี้ยก (เขมร-สุรินทร์), มั่วโต๊ะโละ, เล่าเอี้ยงฮวย (จีน)

ชื่ออังกฤษ : Thorn Apple, Green thorn apple, Apple of peru, Jimson weed, Hindu datura

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ใบ

สถานที่เก็บตัวอย่าง : จังหวัดระยอง

กลุ่มสารสำคัญที่พบ: ดอก ใบ รากและเมล็ดพบสารแอลคาลอยด์กลุ่ม Tropane alkaloids หลายชนิด ได้แก่ Scopolamine, Hyoscine, Hyoscyamine

สรรพคุณทางการแพทย์แผนไทย

ใบ : เป็นยาพอกแก้กลากเกลื้อน แผลเรื้อรัง ฝีและช่วยให้ผู้ที่เป็นหืดหายใจได้สะดวก ใช้ทาเต้านมของหญิงลูกอ่อนที่ให้นมบุตร ซึ่งจะแก้อาการอักเสบของเต้านม

ใบและดอกแห้ง : สูบเป็นยาเสพติด, ทำให้ความคิดสับสน, อ่อนเพลีย, ง่วงนอน และอาจทำให้เกิดอาการประสาทหลอนได้

ดอกส่วนใน : ใช้สูบโดยจะมีผลต่อปอด, ช่วยการไหลเวียนของโลหิต, แก้หืดหอบ, ขยายหลอดลมและถุงลมปอด, แก้ปวด แก้ปวดข้อ, สงบประสาท

ทั้งต้น : ทุกส่วนของลำต้นมีฤทธิ์เป็นยาเสพติด เป็นยาระงับความเจ็บปวด แก้อาการเกร็ง

น้ำต้มจากใบ, ราก และเมล็ด : กินเป็นยาแก้อาการคุ้มคลั่ง, ลดไข้ ถ้าใช้มากก็จะทำให้เกิดการเสพติด น้ำคั้นจากต้น : เมื่อหยอดตาจะทำให้ม่านตาขยายเช่นเดียวกับการหยอดตา

3. พิลังกาสา

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Ardisia elliptica* Thunb

ชื่อวงศ์ : MYRSINACEAE

ชื่อพ้อง : *Ardisia polycephala* Wall., *Ardisia solanacea* Roxb.

ชื่ออังกฤษ : Shoebutton ardisia

ชื่ออื่นๆ : รามใหญ่ มะจ้ำ ผักจ้ำ ตาไก่ ทุรังกาสา รังพิสา

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ใบ

สถานที่เก็บตัวอย่าง : นครปฐม

กลุ่มสารสำคัญที่พบ: สารกลุ่ม Flavonoids , สารกลุ่ม Triterpene

สรรพคุณตามตำราแพทย์แผนไทย

ราก : แก้พิษงู แก้ไอ แก้ท้องเสีย แก้โรคสำหรับบุรุษ แก้พยาธิผิวหนัง รักษากามโรค

ต้น : โรคเรื้อน แก้กุฏฐัง แก้โรคสำหรับบุรุษ

ใบ : แก้ลม แก้ท้องเสีย รักษาตับพิการ แก้ไอ บำรุงธาตุ

ดอก : แก้พยาธิ ฆ่าเชื้อโรค แก้ลม

ผล : แก้ไข้ แก้ท้องเสีย แก้ไข้ใน แก้ลมพิษ แก้ธาตุพิการ แก้ซางตานขโมย แก้ลม

เปลือกต้น : แก้ไข้ แก้ท้องเสีย

ไม่ระบุส่วนที่ใช้ : แก้ไข้เลือดกำเดา แก้ท้องเสีย แก้ลมพิษ

4. ขัดมอนใบป้อม

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : *Sida rhombifolia* L.

ชื่อพ้อง : -

ชื่อวงศ์ : MALVACEAE

ชื่อพื้นเมือง : หญ้าขัด (เชียงใหม่) ขัดมอน คัดมอน (ภาคกลาง) หญ้ายุ่งปัดแม่ม่าย (กรุงเทพฯ)

ชื่อสามัญ : Common sida, Cuba jute, Arrow leaf

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ส่วนเหนือดิน

สถานที่เก็บตัวอย่าง : นครปฐม

กลุ่มสารสำคัญที่พบ: สารกลุ่ม Alkaloidsสารกลุ่ม Flavonoids , สารกลุ่ม Triterpene และสารกลุ่ม Saponin glycosides

สรรพคุณตามตำราแพทย์แผนไทย

ใบ: ใบต้มใส่เกลือเป็นยาบ้วนปาก ต้มน้ำดื่มแก้ปวดท้องและท้องเสีย เป็นยาขับปัสสาวะ แก้ไข้ หญิงมีครรภ์ไม่ควรดื่ม และใช้ตำพอกแก้บวม

วิธีและปริมาณที่ใช้: ทั้งต้น แห้งหนัก 15-30 กรัม ต้มน้ำกิน ใช้ภายนอก ใช้ต้นสดตำ พอก หรือต้นแห้งบดเป็นผงโรย

การเก็บมาใช้: เก็บทั้งต้นมีรากด้วย ในฤดูร้อนและฤดูใบไม้ร่วงตัดทั้งต้น ล้างสะอาด หั่นเป็นท่อนตากแห้งเก็บเอาไว้ใช้

5. ขัดมอนใบยาว

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : Sida acuta Burm.f.

ชื่อพ้อง : S. scoparia Lour.

ชื่อวงศ์ : MALVACEAE

ชื่อพื้นเมือง : หญ้าข้อ (เหนือ) นาคุ้ยหมี่ เนาะคุ้ยเหม่ เน่าะเค้ะ หน่อคี้ยแหม่ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) หญ้าขัดใบยาว ยุงกวาด ยุงปัด (ภาคกลาง) อีกิม, อีกิมขาว, ตังเป็งกิวจู (จีน)

ชื่อสามัญ : Spiny headed sida, Southern sida

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ส่วนเหนือดิน

สถานที่เก็บตัวอย่าง : นครปฐม

กลุ่มสารสำคัญที่พบ: สารกลุ่ม Alkaloidsสารกลุ่ม Flavonoids , สารกลุ่ม Triterpene และสารกลุ่ม Saponin glycosides

สรรพคุณตามตำราแพทย์แผนไทย

ใบ: ตำคั้นน้ำทาแก้สิว ฝี หรือ ตุ่มหนอง หรือ นำใบมาอังไฟพอสุก แล้วทาน้ำมันนำมาปิดที่ฝี ทำให้ฝีหัวแก่เร็วขึ้น

ทั้งต้น: รสเย็น ฉุนเล็กน้อย ใช้ดับร้อน แก้พิษ แก้บวม แก้ปวด สมานเนื้อ แก้กวัด เต้านมอักเสบ บิด ลำไส้อักเสบ หกล้มกระดูกหัก แผลบวมเป็นพิษ เลือดออก

ต้นแห้ง: ที่ใบร่วงแล้วใช้ทำไม้กวาดได้ จึงเรียก หญ้าไม้กวาด

วิธีและปริมาณที่ใช้: ทั้งต้น แห้งหนัก 15-30 กรัม ต้มน้ำกิน ใช้ภายนอก ใช้ต้นสดตำ พอก หรือต้นแห้งบดเป็นผงโรย

การเก็บมาใช้: เก็บทั้งต้นมีรากด้วย ในฤดูร้อนและฤดูใบไม้ร่วงตัดทั้งต้น ล้างสะอาด หั่นเป็นท่อนตากแห้งเก็บเอาไว้ใช้

6. กะเม็ง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Eclipta Prostrata* Linn.

ชื่อวงศ์ : ASTERACEAE (COMPOSITAE)

ชื่อพ้อง : E. alba L., E. erecta

ชื่ออื่นๆ : กะเม็งตัวเมีย กะเม็ง (ภาคกลาง), ฮ่อมเกี่ยว (ภาคเหนือ), บั้งก็เช้า (จีน)

ชื่อสามัญ : False Daisy, White Head Eclipta, bhringaraj, false daisy, bringraj, han lian cao, takasaburou, yerba de tago, congo lanna.

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ทั้งต้น

สถานที่เก็บตัวอย่าง : กาญจนบุรี

สรรพคุณตามตำราแพทย์แผนไทย:

ลำต้น : ใช้เป็นยาฝาดสมาน บำรุงอวัยวะเพศ แก้ตกขาว โรคมะเร็ง คอตีบ ปัสสาวะเป็นโลหิต ไอเป็นโลหิต อุจจาระเป็นโลหิต อาเจียนเป็นโลหิต โรคลำไส้อักเสบ บำรุงไต วิธีใช้ด้วยการนำมาต้มเอาน้ำดื่ม หรือนำลำต้นมาตำให้ละเอียดคั้นเอาน้ำผสมกับน้ำหอม ใช้สูดดม แก้โรคดีซ่านและแก้ไข้หวัด

ใบ : นำใบสดมาตำให้ละเอียดแล้วคั้นเอาน้ำมาผสมกับน้ำมันมะพร้าว ใช้ใส่ผมดก ดำเป็นมัน และยังแก้ผมหงอกก่อนวัย เมื่อนำมาผสมกับน้ำผึ้งกิน แก้โรคหวัด น้ำมูกไหลใช้กับทารก ตำเอากากมาพอกแผล แผลห้ามโลหิต แก้โรคหนังกลากเกลื้อน จากเชื้อรา

ดอกและใบ : ใช้ต้มและนำมาทา บริเวณเหงือก หรือฟันที่ปวด

ราก : ใช้ต้มเอาน้ำกิน แก้โรคเลือดจาง ท้องร่วง โรคบิด หอบหืด หลอดลมอักเสบ ตับอักเสบ อาการแน่นหน้าอก รักษาโรคเกี่ยวกับตา

ทั้งต้น : ใช้เป็นยาบำรุงเลือด ใบและรากใช้เป็นยาถ่ายและทำให้อาเจียน รากใช้เป็นยาขับลม ใอินเดียใช้น้ำคั้ จากต้นสดมาสักเพื่อให้รอยสักเป็นสีเขียวคราม ใช้ย้อมผมให้ดำ ใบใช้โขลกพอกแผลสดห้ามเลือด ในอินโดนีเซียใช้น้ำคั้นจากลำต้นทาแก้ขี้กลาก

การเก็บ: เก็บมาใช้ทั้งต้นในขณะที่ต้นเจริญเต็มที่ กำลังออกดอก เมื่อเก็บมาแล้ว ควรล้างดินออกให้สะอาด หั่นเป็นท่อนหรือชิ้นเล็ก ๆ ตากหรือผึ่งให้แห้ง เก็บไว้ในที่แห้งและเย็น เพื่อใช้เป็นยา ลักษณะของยาแห้งที่ดี ควรมีสีเขียว ไม่มีเชื้อรา และสิ่งอื่นเจือปน

7. กรดน้ำ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Scoparia Dulcis* Linn.

ชื่อวงศ์ : SCROPHULARIACEAE

ชื่อพ้อง : *Scoparia grandiflora*, *Scoparia ternata*, *Capraria dulcis*, *Gratiola micrantha*

ชื่อสามัญ : Sweet Broomweed, Macao Tea

ชื่ออื่นๆ : หนวดแมว (ภาคกลาง), กัญชาป่า, กระต่ายจามใหญ่, มะไฟเดือนห้า (กรุงเทพฯ), หญ้าหัวแมงฮุน หญ้าจ้าดตู้ด (ภาคเหนือ), ช้างไลดุ, (กะเหรี่ยง-แม่ฮอ่

งสอน), หญ้าพ่ำสามวัน (ฉาน-แม่ฮ่องสอน) เทียนนา (จันทบุรี) ตานซาน (ปัตตานี), หูปลาช่อนตัวผู้ (ตราด), ขัดมอนเทศ (ตรัง), แหย่กานฉ่าน (จีนกลาง), เอี่ยกำเช่า (แต้จิ๋ว)

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ทั้งต้น

สถานที่เก็บตัวอย่าง : กาญจนบุรี

กลุ่มสารสำคัญที่พบ: สารกลุ่ม Alkaloidsสารกลุ่ม Flavonoids, สารกลุ่ม Triterpene และสารกลุ่ม Saponin glycosides

สรรพคุณตามตำราแพทย์แผนไทย:

ราก: รสฝาด ขับปัสสาวะ แก้ไข้ แก้ปวดศีรษะ แก้โรคเบาหวาน แก้ผื่นคัน สมานลำไส้ แก้บิด แก้ท้องร่วง แก้จุกเสียด แก้หัวใจอ่อน แก้เลือดทำพิษ แก้จุกเสียด ขับลมในลำไส้ แก้พิษฝี แก้ฟกช้ำ

ต้น: รสฝาด แก้ไอ แก้ไข้ แก้ท้องเสีย แก้ปวดท้อง แก้ลำไส้อักเสบ แก้ผื่นคัน แก้ขัดเบา ลดอาการบวมน้ำ แก้เหงือกบวม แก้ปากเปื่อย แก้พิษไข้ ขับระดูแก้เลือด แก้ไข้ตรีโทษ เจริญอาหาร เจริญไฟธาตุ ลดน้ำตาลในเลือด

ใบ: รสฝาด ขับระดูขาว แก้ไอ แก้หลอดลมอักเสบ บำรุงธาตุ แก้ปวดฟัน แก้โรคเรื้อน กลากเกลื้อน ขับพยาธิไส้เดือน ขับประจำเดือน แก้ตับ-ทรุด ตับพิการ ลดน้ำตาลในเลือด

ดอก: แก้พิษฝี แก้ไข้ตรีโทษ เจริญไฟธาตุ

ผล: รสฝาดเมา ขับพยาธิไส้เดือน แก้เหงือกบวม แก้ปวดเมื่อย กระทำโลหิตที่เสียในท้องให้ตก ขับโลหิตระดู

8. ตำลึง

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : *Coccinia grandis (L.) Voigt.*

ชื่อวงศ์ : Cucurbitaceae

ชื่อพื้นเมือง : ผักแคบ (ภาคเหนือ), แคเด๊าะ (กระเหรี่ยง-แม่ฮองสอน),ตำลึง,สี่บาท (ภาคกลาง) ผักตำนิน (ภาคอีสาน)

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ใบ

สถานที่เก็บตัวอย่าง : นครปฐม

กลุ่มสารสำคัญที่พบ: สารกลุ่ม terpenoid และสารกลุ่ม Flavonoid

สรรพคุณตามตำราแพทย์แผนไทย

ใบ: มีรสเย็นปรุงเป็นยาดับพิษร้อน เช่นยาเขียว ใบสดตำให้ละเอียด ใช้น้ำทาถอนพิษที่ถูกตำแย หรือสิ่งมีพิษที่ทำให้แสบร้อนคัน ขับลม ขับระดู บีบมดลูก รักษากลากเกลื้อน ขับน้ำเหลือง แก้ปวดศีรษะ

9. กระเจี๊ยบแดง

ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Hibiscus sabdariffa* Linn.

ชื่อวงศ์: MALVACEAE

ชื่ออื่นๆ: กระเจี๊ยบ กระเจี๊ยบเปรี้ยว (ภาคกลาง), ผักเกงเขง ส้มเก๋งเคง ส้มพอเหมาะ (ภาคเหนือ), ส้ม ตะเลงเครง (ตาก), ส้มปู่ (แม่ฮ่องสอน), ส้มพอดี (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)

ชื่ออังกฤษ: Jamaica Sorrel, Red Sorrel, Roselle, Rosella

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ: ใบ

สถานที่เก็บตัวอย่าง: นครปฐม

กลุ่มสารสำคัญที่พบ: สารกล่ม Flavonoids , สารกลุ่ม triterpene , วิตามินเอ แคลเซียม และฟอสฟอรัส

สรรพคุณตามตำราแพทย์แผนไทย

ใบ : มีรสเปรี้ยวช่วยในการละลายเสมหะ แก้ไอ ขับเมือกมันในลำไส้ ให้ลงสู่ทวารหนัก ทำให้โลหิตไหลเวียนดี และช่วยย่อยอาหาร หล่อลื่นลำไส้ รวมทั้งช่วยในการขับปัสสาวะ เป็นยาระบาย บำรุงธาตุ ต้มชะล้างแผลหรือตำฟอกฝี แก้โรคพยาธิตัวจี๊ด

10. รางจืด

ชื่อพฤกษศาสตร์ : *Thumbergia laurifolia* Lindl.

ชื่ออังกฤษ : Blue Thunbergia (Laurel Clock Vine

ชื่อวงศ์ : THUNBERGIACEAE (ACANTHACEAE)

ชื่ออื่นๆ : กำลังช้างเผือก ขอบชะนาง เครือเขาเขียว ยาเขียว (ภาคกลาง) คายรางเย็น (ยะลา) จอลอดิเออ ซั้งกะ ปั้งกะล่ะ พอหน่อเตอ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) ดุเหว่า (ปัตตานี) ทิดน้ำนอง (สระบุรี) พุด (นครศรีธรรมราช) ย่ำแย้ แอดแอ (เพชรบูรณ์)

ส่วนที่ใช้ในการตรวจสอบ : ใบ

สถานที่เก็บตัวอย่าง : ระยอง

กลุ่มสารสำคัญที่พบ : สารกลุ่ม Triterpenoid และสารกลุ่ม Flavonoid

สรรพคุณตามตำราแพทย์แผนไทย :

ใบ : ใช้น้ำคั้นใบสดแก้ไข้ถอนพิษของยาพิษ, พืชพิษ, เห็ดพิษ พิษจากสัตว์และสิ่ง มีนเมาต่างๆ ใช้แก้อักเสบ,ตำพอกแก้ปวด ลดบวม และรับประทานแก้ร้อนในกระหายน้ำ

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 การสกัดสารจากสมุนไพร

1 เครื่องชั่งน้ำหนัก (Analytical balance) (Mettler PM 6000-F)

2 Rotary Evaporator (EYELA NE)

3 Lyophilizer (Telstar Lyobeta 35)

4 Spray Drier (Spray drier SD-04)

3.1.2 การตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีของสารสกัด

1.2.1 UV lamp (254 nm, 365 nm)

1.2.2 TLC Scanner (CAMAG)

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 เตรียมสารสกัดสมุนไพรที่จะใช้ในการทดสอบ โดยคัดเลือกจากพืชสมุนไพรที่มีรายงานการใช้, การศึกษาถึงฤทธิ์ในการฆ่าพยาธิหรือสมุนไพรที่มีรายงาน TLC chromatographic fingerprints ดังนี้

1 รวบรวมวัตถุดิบสมุนไพร จำนวน 10 ชนิด จากแหล่งต่างๆ ให้เพียงพอ

2 ทำการเตรียมสารสกัดสมุนไพร โดยสกัดด้วยเครื่องสกัดแบบ reflux extraction ด้วยน้ำ และ/หรือ Soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

3.2.2 ศึกษาลักษณะทางโครมาโทกราฟิคของสารสกัดจากตัวอย่างสมุนไพรไทย ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin layer chromatography, TLC) เพื่อวิธีวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดสมุนไพรไทยที่เตรียมได้

3.2.3 ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรที่เตรียมได้ ต่อพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กระยะติดต่อ ในหลอดทดลอง ดังนี้

1 รวบรวมพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กระยะติดต่อจากปลาเกร็ดขาว

I นำปลาเกล็ดขาว เช่น ปลาแม่สะแด้ง (Cyclocheilichthys apagon) ปลาตะเพียนทราย (Puntius leicecantus) ปลาแก้มช้ำ (Puntius orphoides) ปลากระสูบ (Hampala dispar) ทำการผ่าปลาเอาอวัยวะภายในและลำไส้ทิ้ง มาปั่นให้ละเอียด

II ใส่สารละลาย 1% pepsin ให้สารละลายพอท่วมเนื้อปลา จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง Shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง เพื่อให้

สารละลาย pepsin ย่อยเนื้อปลาที่มีพยาธิ H. taichui ระยะติดต่อที่ฝังอยู่ในบริเวณกล้ามเนื้อต่างๆ ของปลาออกมา

III นำเนื้อปลาที่ถูกย่อยแล้วล้างด้วย 0.85% NaCl solution กรองด้วยตะแกรงขนาด 60, 80 และ 100 μm ตามลำดับ เพื่อแยกจากตะกอนขนาดใหญ่ออกไปก่อนจนสารละลายใส จากนั้นคัดแยกพยาธิ H. taichui ระยะติดต่อ ออกจากเศษเนื้อปลาอีกครั้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เพื่อรวบรวมพยาธิ H. taichui ระยะติดต่อ ทดสอบยืนยันชนิดพยาธิ H. taichui ระยะติดต่อ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ

IV ทดสอบความมีชีวิต (การเคลื่อนไหว และ การเปลี่ยนแปลงพื้นผิว) ของพยาธิ H. taichui ระยะติดต่อ เมื่อทดสอบกับสารสกัดสมุนไพรที่เตรียมได้ โดยทำการแยกพยาธิ H. taichui ระยะติดต่อ จำนวนกลุ่มละ 10 ตัว เลี้ยงใน Petri dish ที่บรรจุ Tyrod's solution กำหนดให้เป็นกลุ่มควบคุม และในกลุ่มทดลองทำการเลี้ยง พยาธิ H. taichui ระยะติดต่อ ที่ผสมสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด ตามความเข้มข้นที่กำหนด จากนั้นนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการตรวจสอบและบันทึกผลความมีชีวิตของ พยาธิ H. taichui ระยะติดต่อ เมื่อเวลา 1, 6 , 12, 24 ชั่วโมง โดยนำมานับจำนวนพยาธิมีชีวิต (เคลื่อนไหว) และพยาธิตาย (ไม่เคลื่อนไหว) หากพบว่าพยาธิไม่ตายเลย ก็ทำการทดลองซ้ำใหม่เช่นเดิม แต่เพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดให้มากขึ้น หรือถ้าพบว่าพยาธิตายทุกความเข้มข้น ก็ทำซ้ำเช่นกัน แต่ลดความเข้มข้นของสารสกัดให้ลดลง-หากพบว่าค่าร้อยละของพยาธิที่ตายแตกต่างกันมาก ก็เพิ่มจำนวนกลุ่มพยาธิให้มากขึ้นและเพิ่มความเข้มข้นที่เหมาะสมกับจำนวนกลุ่มของพยาธิ

เมื่อทราบความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของ สารสกัด จาก สมุนไพร ในการฆ่าพยาธิ แล้ว ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง เพื่อยืนยันผลการศึกษา คำนวณหาระดับความเข้มข้นที่ทำให้พยาธิจำนวน 50 เปอร์เซ็นต์ตาย (LD 50) โดยวิธี probit analysis (29)

3.2.4 ทำการแยกสารสกัดที่มีฤทธิ์ฆ่าพยาธิเป็นส่วนสารสกัด และสารบริสุทธิ์ ด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟฟีควบคู่กับการทดสอบฤทธิ์ (Bioassay guided fraction) ในข้อ 3.2

3.2.5 ทำการพิสูจน์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้โดยอาศัยเทคนิค Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR)

3.2.6 รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล/ สรุป

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการศึกษา TLC chromatographic fingerprints

ผลการศึกษาลักษณะทางโครมาโทกราฟิคของสารสกัดจากตัวอย่างสมุนไพรไทย ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin layer chromatography, TLC) เพื่อหาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดสมุนไพรไทยที่เตรียมได้ การศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดสมุนไพร เป็นการศึกษาเพื่อนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพของสารสกัด และสามารถใช้เป็นวิธีในการตรวจหากลุ่มสารเบื้องต้น (โดยใช้น้ำยาพ่นที่แตกต่างกัน) และใช้สามารถใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญได้ โดยการเปรียบเทียบลักษณะของโครมาโตแกรมโดยการสังเกตรูปแบบของโครมาโตแกรมที่เกิดขึ้นตลอดจน ตำแหน่ง และสีของแต่ละแถบที่ปรากฏจะสามารถแสดงเอกลักษณ์ของสารสกัดแต่ละชนิดได้

1.1 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดสาบเสือ

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดสาบเสือ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Chlorogenic acid, Quercitrin, Quercitin, และ β-sitosterol โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Chlorofrom : Ethyl acetate : Methanol (8 : 1 : 1)

2 Ethyl acetate : Methanol : Water : Formic acid (50 : 2 : 3 : 6)

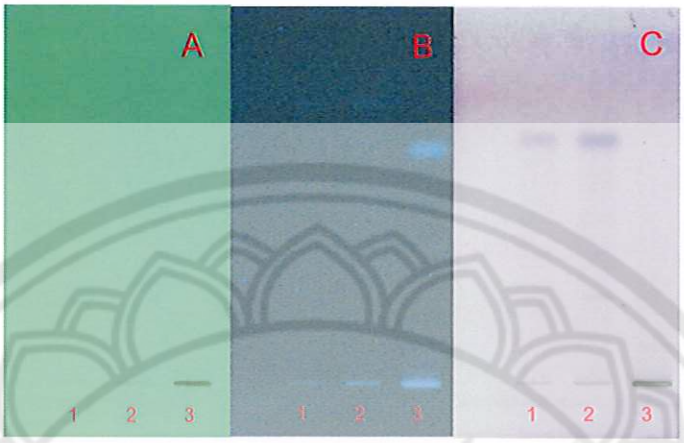
ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

1 สังเกตภายใต้แสง UV 254 และ UV 366 nm.

2. สังเกตการเรืองแสงหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา Natural products-polyethylene glycol reagent ภายใต้แสง UV 366 nm. (โดยการพ่นด้วยน้ำยา Natural products / polyethylene glycol reagent (NP/PEG 4000) แล้วตรวจวัดภายใต้แสง UV 366 นาโนเมตรสังเกตการเรืองแสงของแถบสีต่างในแผ่น TLC ถ้าพบแถบการเรืองแสงสีเขียว สีเหลือง สีส้มเพิ่มมากขึ้น แสดงว่ามี สารกลุ่ม flavonoids)

สำนักหอสมุด
25
17 ส.ค. 2559
1699832X
วิ QL
ว91
.P7
ณ153
2557

ระบบนำพาสาร ระบบที่1:



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Chlorofrom : Ethyl acetate : Methanol (8 : 1 : 1)

สารตัวอย่าง :1. β-sitosterol standard 2. β-sitosterol standard

3. สารสกัดสาบเสือ

การตรวจสอบ:

A: สังเกตการดูดกลืนแสงภายใต้แสง UV 254 nm.

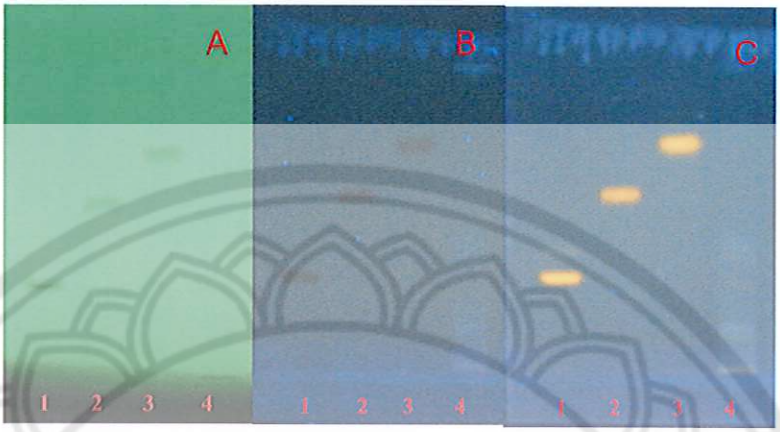
B: สังเกตการเรืองแสงภายใต้แสง UV 366 nm.

C: พ่นด้วยน้ำยา Anisaldehyde $-H_2SO_4$ reagent อบที่อุณหภูมิ 110 °C นาน 10 นาที สังเกตสีที่เกิดขึ้น

ผลการวิเคราะห์:

ผลจากการสังเกต TLC fingerprints ของสารสกัดสาบเสือเมื่อเทียบโครมาโตแกรม กับสารมาตรฐานแล้ว พบว่ามีไม่มีสารที่มีค่าRf เท่ากับสาร β-sitosterol และβ-sitosterol standard ดังนั้นแสดงว่าสารสกัดสาบเสือน่าจะไม่มีสาร β-sitosterol และβ-sitosterol standard เป็นองค์ประกอบทางเคมี

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2:



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : EtOAc : Methanol : Water : Formic acid (50 : 2 : 3 : 6)

สารตัวอย่าง :1. Chlorogenic acid standard 2. Quercitrin standard

3. Quercetin standard

4. สารสกัดใบสาบเสือ

การตรวจสอบ:

A: สังเกตการดูดกลืนแสงภายใต้แสง UV 254 nm

B: สังเกตการเรืองแสงภายใต้แสง UV 366 nm

C: พ่นด้วยน้ำยา NP reagent / PEG 4000 reagent สังเกตการเรืองแสงภายใต้แสง UV 366 nm

ผลการวิเคราะห์:

ผลจากการสังเกต TLC fingerprints ของสารสกัดสาบเสือเมื่อเทียบโครมาโตแกรม กับสารมาตรฐานแล้ว พบว่ามีไม่มีสารที่มีค่าRf เท่ากับสาร Chlorogenic acid, Quercitrin และ Quercetin ดังนั้นแสดงว่าสารสกัดสาบเสือน่าจะไม่มีสาร Chlorogenic acid, Quercitrin และ Quercetin เป็นองค์ประกอบทางเคมี

1.2 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดลำโพงขาว

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดลำโพงขาว โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate Rutin, Chlorogenic acid และ Quercetin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1)

2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (100:11:11:27)

ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

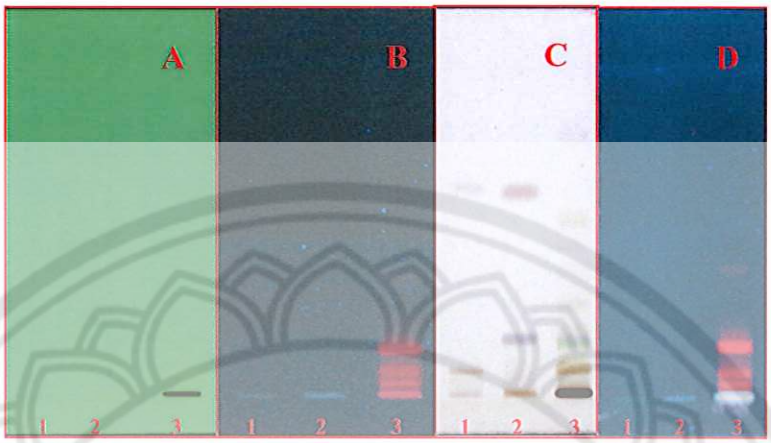
สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254 nm

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366 nm

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ระบบนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1)

สารตัวอย่าง : 1. Betulinic acid (R_f =0.07), α-amyrin acetate (R_f = 0.57)

2. β-sitosterol (R_f = 0.16), β-lupeol acetate (R_f = 0.57)

3. สารสกัดลำโพงขาว

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

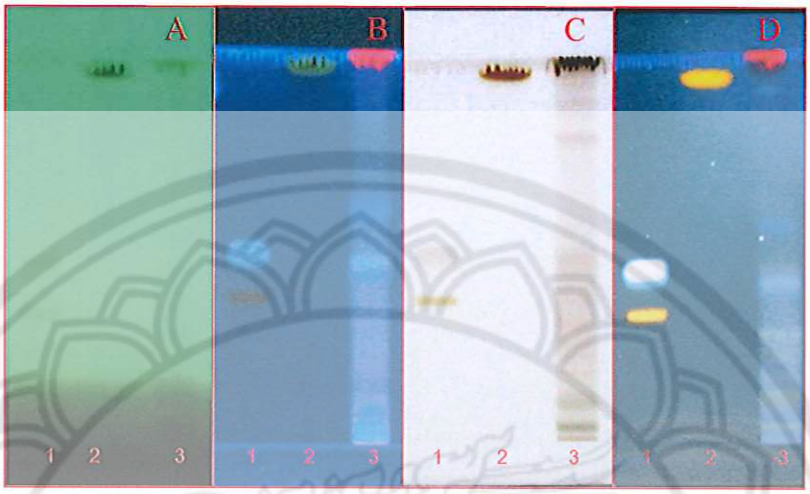
C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบใดๆของสารสกัดที่มีค่า Rf ตรงการสารมาตรฐาน

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Ethyl acetate : acetic acid :formic acid : water (100:11:11:27)

สารตัวอย่าง :1. Rutin (R_f = 0.33), Chlorogenic acid (R_f = 0.46)

2. Quercetin (R_f = 0.94)

3. สารสกัดลำโพงขาว

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า Rf ตรงกับสารมาตรฐาน

1.3 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดพิลังกาสา

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดพิลังกาสา โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate Rutin, Chlorogenic acid และ Quercetin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1)

2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (100:11:11:27)

ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

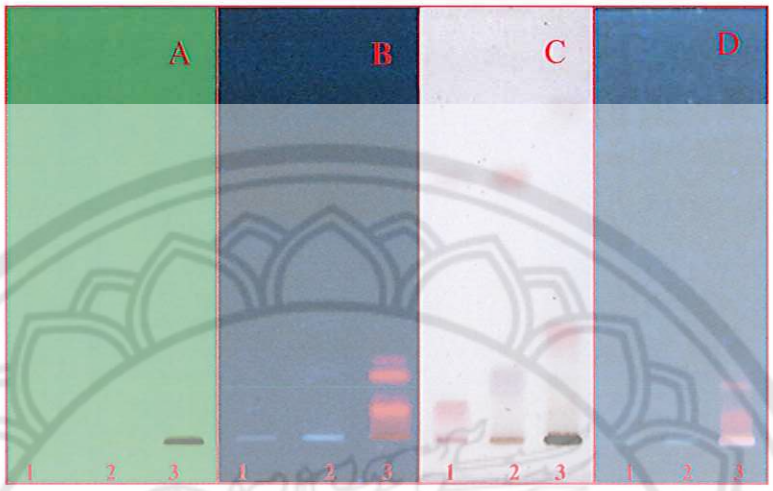
สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254 nm

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366 nm

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1)

สารตัวอย่าง : 1. Betulinic acid (R_f =0.16), α-amyrin acetate (R_f = 0.72)

2. β-sitosterol (R_f = 0.27), β-lupeol acetate (R_f = 0.71)

3. สารสกัดพิลังการสา

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

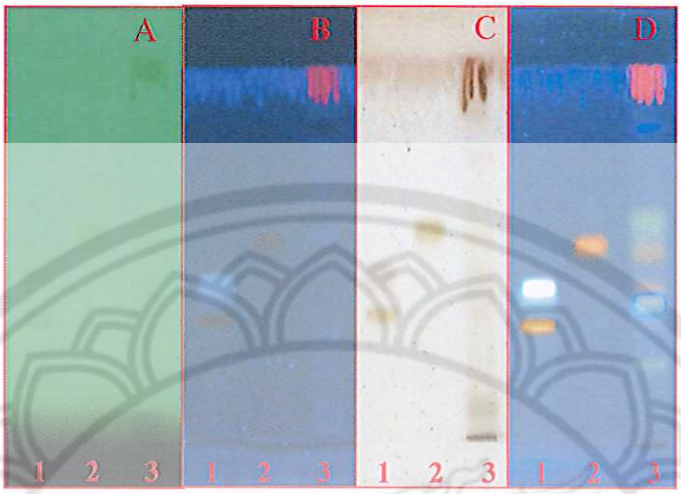
C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า Rf ตรงกับสารมาตรฐาน

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Ethyl acetate : acetic acid :formic acid : water (100:11:11:27)

สารตัวอย่าง :1. Rutin (R_f = 0.4), Chlorogenic acid (R_f = 0.47)

2. Quercetin (R_f = 0.59)

3. สารสกัดพิลังกาสา

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า Rf ตรงกับสารมาตรฐาน rutin และ Quercetin

1.4 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดขัดมอนใบป้อม

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดขัดมอนใบป้อม โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, β-sitosterol, Rutin, Chlorogenic acid และ Quercetin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Hexane: Ethyl acetate (8 : 2)

2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (134:15:15:36)

ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

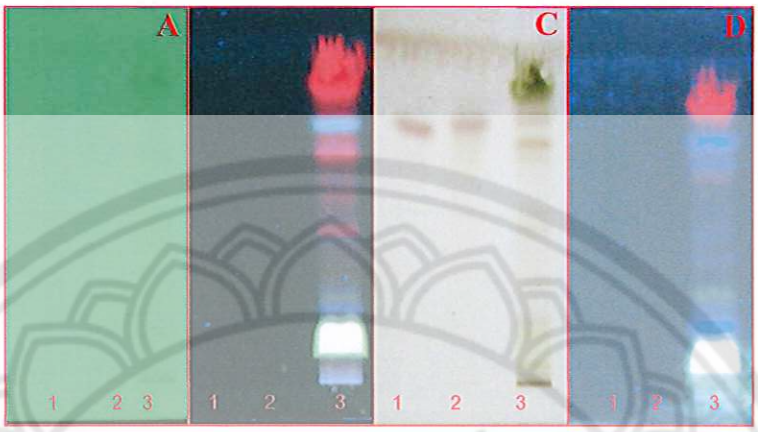
สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Hexane: Ethyl acetate (8 : 2)

สารตัวอย่าง : 1. Betulinic acid (R_f =0.76)

2. β-sitosterol (R_f = 0.76)

3. สารสกัดขัดมอนใบป้อม

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

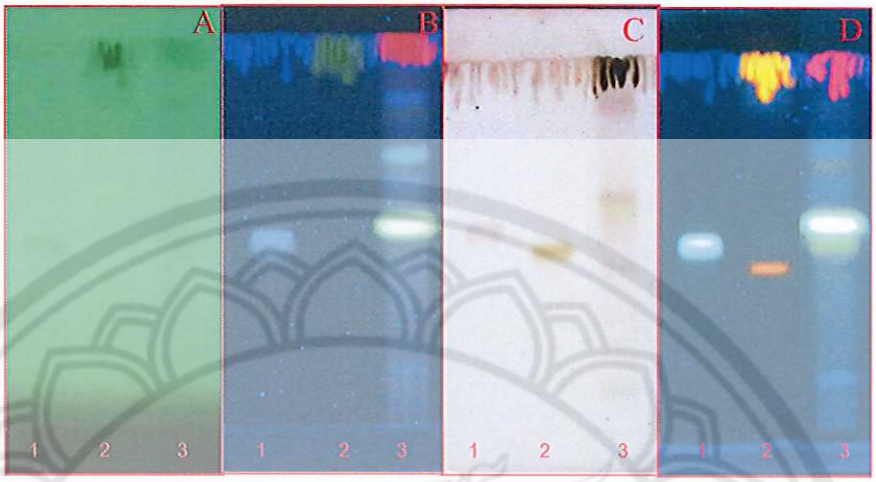
C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Ethyl acetate : acetic acid :formic acid : water (134:15:15:36)

สารตัวอย่าง : 1. Chlorogenic acid (R_f = 0.52)

2. Rutin (R_f = 0.45), Quercetin (R_f = 0.95)

3. สารสกัดขัดมอนใบป้อม

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

1.5 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดขัดมอนใบยาว

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดขัดมอนใบยาว โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, β-sitosterol, Rutin, Chlorogenic acid และ Quercetin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Hexane: Ethyl acetate (8 : 2)

2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (134:15:15:36)

ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

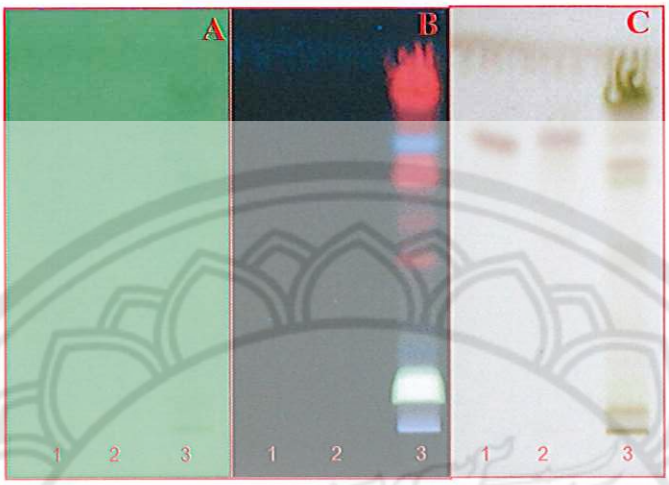
สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254 nm

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366 nm

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Hexane: Ethyl acetate (8 : 2)

สารตัวอย่าง :1. Betulinic acid (R_f =0.76) 2. β-sitosterol (R_f = 0.78)

3. สารสกัดขัดมอนใบยาว

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

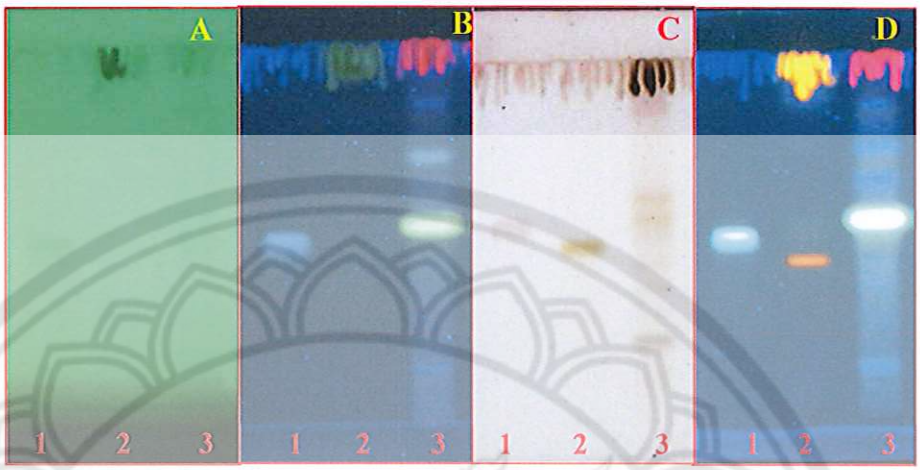
B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Ethyl acetate : acetic acid :formic acid : water (134:15:15:36)

สารตัวอย่าง : 1. Chlorogenic acid (R_f = 0.52)

2. Rutin (R_f = 0.45), Quercetin (R_f = 0.95)

3. สารสกัดขัดมอนใบยาว

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสง UV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

1.6 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดกระเม็ง

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดกระเม็ง โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Lutiolin, Chlorogenic acid, Apigenin และ Quercetin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1)

2 Toluene: Ethyl acetate: Formic acid : Methanol (5:4:4:1)

ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

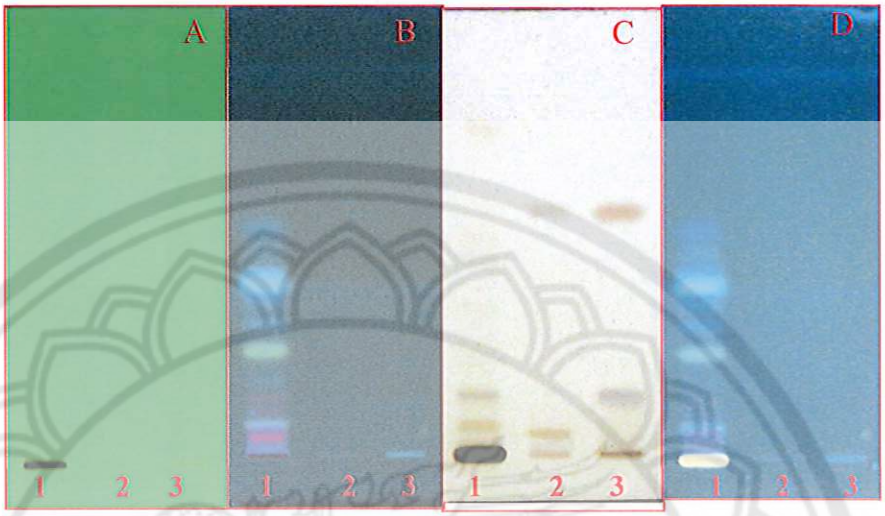
สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254 nm

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366 nm

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1)

สารตัวอย่าง : 1. สารสกัดกระเม็ง

2. Chlorogenic acid (R_f = 0.10), Lutiolin (R_f = 0.54)

3. Quercetin (R_f =0.56), Apigenin (R_f = 0.59)

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

1.7 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดกรดน้ำ

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดกรดน้ำ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Lutiolin, Chlorogenic acid, Apigenin และ Quercetin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1)

2 Toluene: Ethyl acetate: Formic acid : Methanol (5:4:4:1)

ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

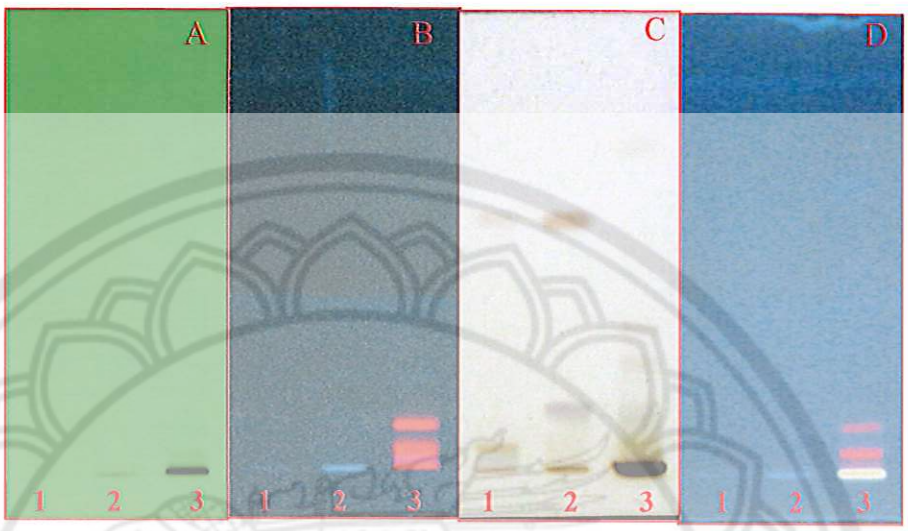
สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254 nm

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366 nm

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Toluene: Ethyl acetate: Formic acid : Methanol (5:4:4:1)

สารตัวอย่าง :1. Betulinic acid (R_f =0.08), α-amyrin acetate (R_f = 0.65)

2. β-sitosterol (R_f = 0.16), β-lupeol acetate (R_f = 0.65)

3. สารสกัดกรดน้ำ

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

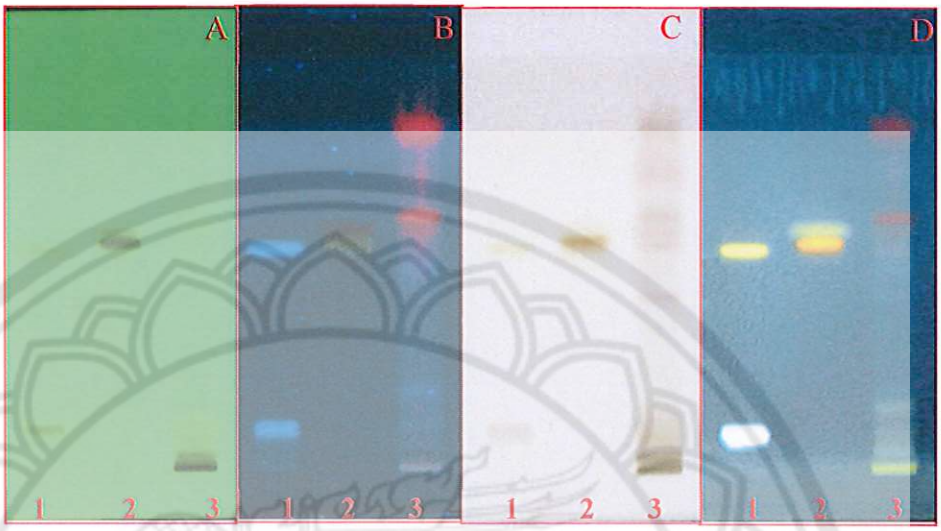
C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสง UV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1)

สารตัวอย่าง :1. Chlorogenic acid (R_f = 0.10), Lutiolin (R_f = 0.54)

2. Quercetin (R_f =0.56), Apigenin (R_f = 0.59)

3. สารสกัดกรดน้ำ

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา 10% H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

D. ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

1.8 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดตำลึง

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดตำลึง โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, Ursolic acid, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Rutin, Chlorogenic acid, Quercetin และ Isoquercitrin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Toluene : Ethyl acetate : Formic acid (18.0:7.0:2.5)

2 Ethyl acetate : Methanol : Formic acid : water (100 :4 :12 :6)

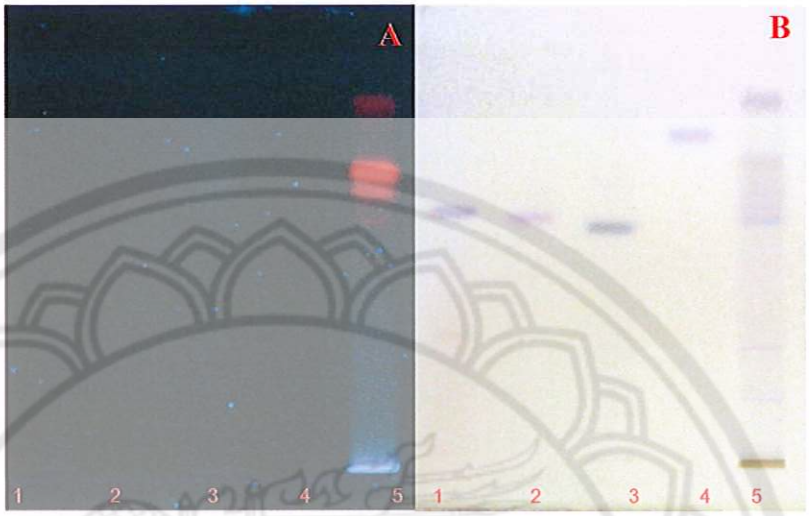
ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254 nm

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366 nm

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา Anisaldehyde - H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Toluene : Ethyl acetate : Formic acid (18.0:7.0:2.5)

สารตัวอย่าง :1. β – sitosterol 2. Betulinic acid

3. Ursolic acid 4. β – lupeol acetate

5. สารสกัดตำลึง

การตรวจสอบ

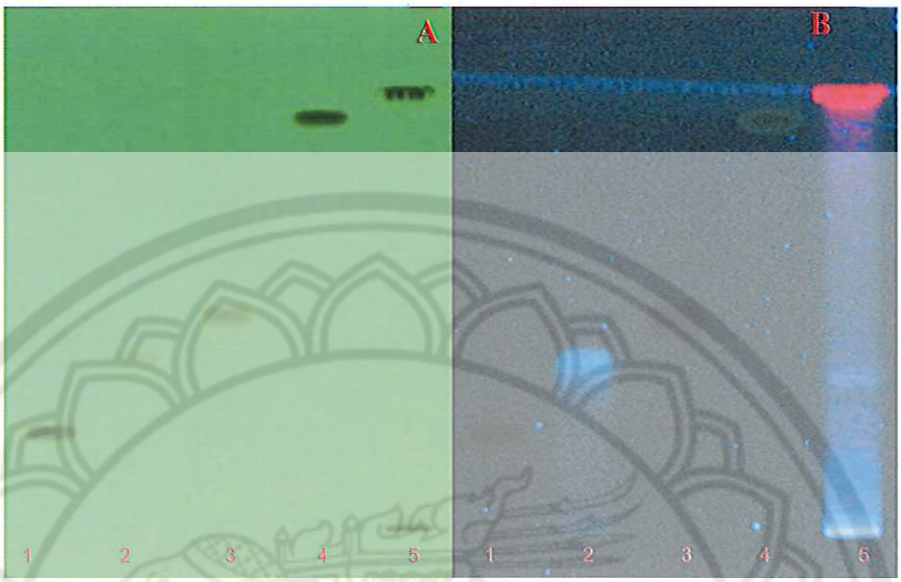
A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

B: ตรวจสอบด้วยน้ำยา Anisaldehyde - H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF $_{254}$

ระบบตัวนำพาสาร : Ethyl acetate : Methanol : Formic acid : water (100 :4 :12 :6)

สารตัวอย่าง : 1. Rutin 2. Chlogenic acid

3. Isoquercitrin 4. Quercitrin

5. สารสกัดตำลึง

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน Rutin และ Isoquercitrin

1.9 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Rutin, Chlorogenic acid, Quercitrin และ Isoquercitrin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1 Hexane: Ethyl acetate (8 : 2)

2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (100:11:11:27)

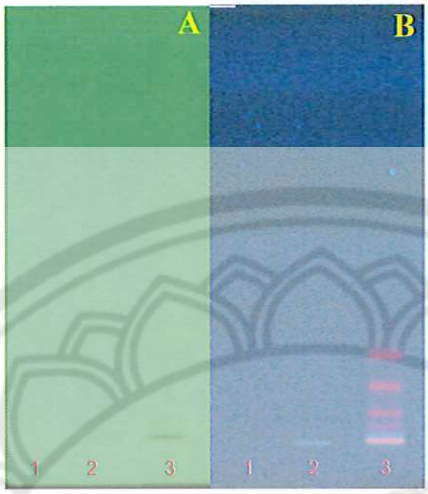
ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254 nm

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366 nm

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Hexane: Ethyl acetate (8 : 2)

สารตัวอย่าง : 1. α-amyrin acetate 2. Betulinic acid

3. สารสกัดกระเจี๊ยบแดง

การตรวจสอบ

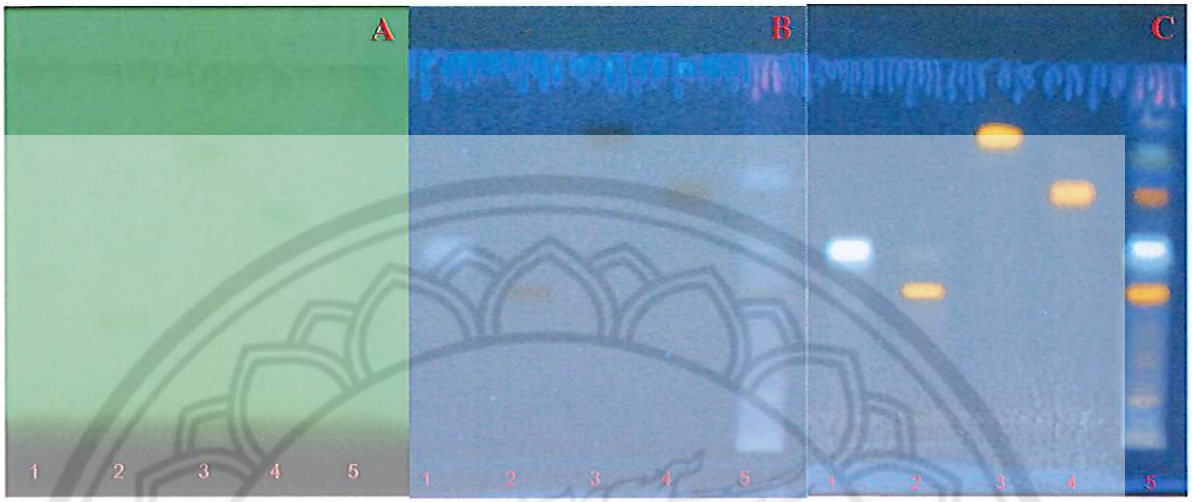
A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (100:11:11:27)

สารตัวอย่าง : 1. Chlogenic acid 2. Rutin

3. Quercitrin 4. Isoquercitrin

5. สารสกัดกระเจี๊ยบแดง

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm

B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: ตรวจสอบด้วยน้ำยา น้ำยา NP และ PEG 4000 ภายใต้แสงUV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน Rutin และIsoquercitrin

1.10 การศึกษา thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดรางจืด

ทำการศึกษา Thin layer chromatogram fingerprints ของสารสกัดรางจืด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Betulinic acid, Ursolic acid, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Rutin, Chlorogenic acid, Quercitrin และ Isoquercitrin โดยกำหนดน้ำแยกหรือระบบนำพาสาร (solvent system) จำนวน 2 ระบบ โดยเรียงตามความมีขั้ว (Polarity) ของระบบนำพาสาร

1. Toluene : Ethyl acetate : Formic acid (18.0:7.0:2.5)
2. Ethyl acetate : MeOH : Formic acid : H_2O (100 :4 :12 :6)

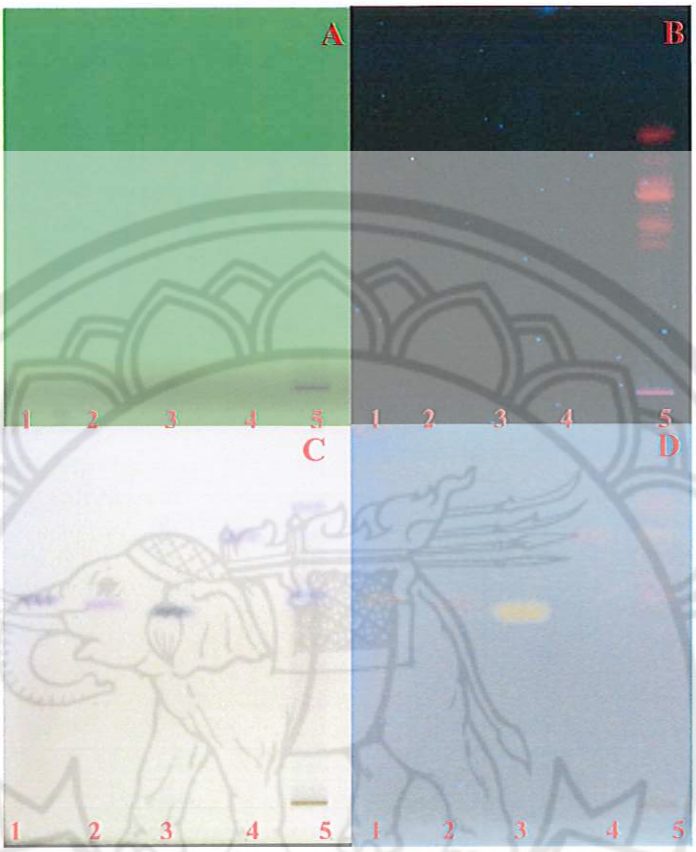
ตรวจสอบโดยใช้วิธีดังนี้:

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 254 nm

สังเกตสีของแถบสาร ภายใต้แสง UV 366 nm

สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา Anisaldehyde –H_2SO_4 ภายใต้แสงปกติ และ แสง UV 366 nm

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 1



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Toluene : Ethyl acetate : Formic acid (18.0:7.0:2.5)

สารตัวอย่าง : 1. β-sitosterol 2. Betulinic acid

3. Ursolic acid 4. β-lupeol acetate

5. สารสกัดรางจืด

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา Anisaldehyde $-H_2SO_4$

ภายใต้แสงปกติ

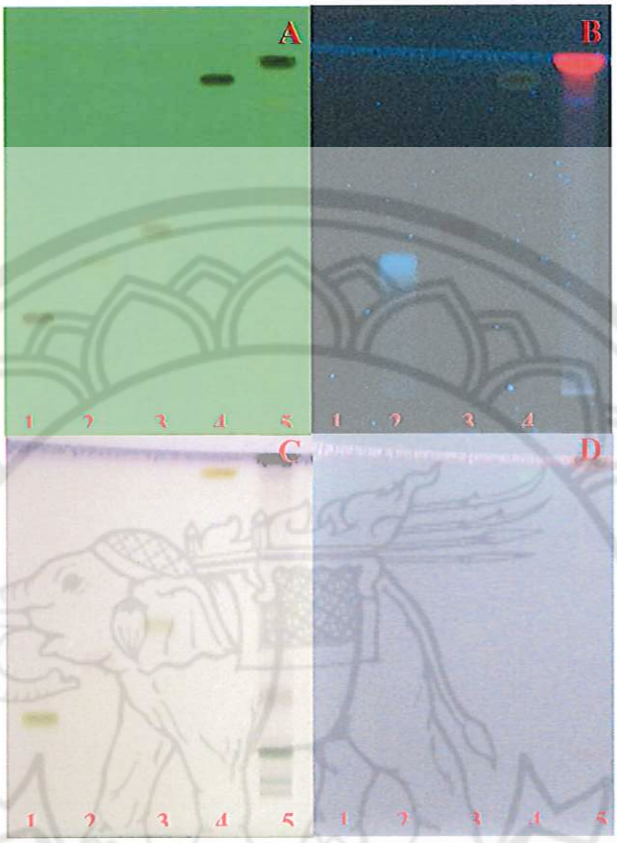
D : สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา Anisaldehyde $-H_2SO_4$

ภายใต้แสง UV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

ระบบตัวนำพาสาร ระบบที่ 2



Stationary Phase : TLC Aluminium sheet 10 x 10 cm. Silica gel GF_{254}

ระบบตัวนำพาสาร : Ethyl acetate : MeOH : Formic acid : H_2O (100 :4 :12 :6)

สารตัวอย่าง : 1. Rutin 2. Chlorogenic acid

3. Isoquercitrin 4. Quercitrin

5. สารสกัดรางจืด

การตรวจสอบ

A: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 nm B: ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm

C: สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา Anisaldehyde $-H_2SO_4$ ภายใต้แสงปกติ

D : สังเกตสีของแถบสารหลังจากการพ่นด้วยน้ำยา Anisaldehyde $-H_2SO_4$ ภายใต้แสง UV 366 nm

ผลการวิเคราะห์

ไม่พบสารองค์ประกอบในสารสกัดที่มีค่า R_f ตรงกับสารมาตรฐาน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการศึกษาวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสมุนไพรที่คัดเลือกมาศึกษาด้วยวิธี TLC

สมุนไพร	ระบบนำพา	สารเปรียบเทียบ
สาบเสือ	ระบบที่ 1 Chlorofrom : Ethyl acetate : Methanol (8 : 1 : 1) ระบบที่ 2 Ethyl acetate : Methanol : Water : Formic acid (50 : 2 : 3 : 6)	Chlorogenic acid, Quercitrin, Quercitin, และ β-sitosterol
ลำโพงขาว	ระบบที่ 1 Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1) ระบบที่ 2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (100:11:11:27)	Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate Rutin, Chlorogenic acid และ Quercetin
พิลังกาสา	ระบบที่ 1 Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1 , v/v) ระบบที่ 2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (100:11:11:27)	Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate Rutin, Chlorogenic acid และ Quercetin
ขัดมอนใบป้อม	ระบบที่ 1 Hexane: Ethyl acetate (8 : 2) ระบบที่ 2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (134:15:15:36)	Betulinic acid, β-sitosterol, Rutin, Chlorogenic acid และ Quercetin
ขัดมอนใบยาว	ระบบที่ 1 Hexane: Ethyl acetate (8 : 2) ระบบที่ 2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (134:15:15:36)	Betulinic acid, β-sitosterol, Rutin, Chlorogenic acid และ Quercetin

สมุนไพร	ระบบนำพา	สารเปรียบเทียบ
กระเม็ง	ระบบที่ 1 Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1) ระบบที่ 2 Toluene: Ethyl acetate: Formic acid : Methanol (5:4:4:1)	Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Lutiolin, Chlorogenic acid, Apigenin และ Quercetin
กรดน้ำ	ระบบที่ 1 Hexane: Chloroform : Ethyl acetate (8 : 1 :1 , v/v) ระบบที่ 2 Toluene: Ethyl acetate: Formic acid : Methanol (5:4:4:1, v/v)	Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Lutiolin, Chlorogenic acid, Apigenin และ Quercetin
ตำลึง	ระบบที่ 1 Toluene : Ethyl acetate : Formic acid (18.0:7.0:2.5) ระบบที่ 2 Ethyl acetate : Methanol : Formic acid : water (100 :4 :12 :6)	Betulinic acid, Ursolic acid, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Rutin, Chlorogenic acid, Quercetin และ Isoquercitrin
กระเจี๊ยบแดง	1 Hexane: Ethyl acetate (8 : 2) 2 Ethyl acetate : Acetic acid : Formic acid : Water (100:11:11:27)	Betulinic acid, α-amyrin acetate, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Rutin, Chlorogenic acid, Quercitrin และ Isoquercitrin
รางจืด	ระบบที่ 1. Toluene : Ethyl acetate : Formic acid (18.0:7.0:2.5) ระบบที่ 2. Ethyl acetate : MeOH : Formic acid : H_2O (100 :4 :12 :6)	Betulinic acid, Ursolic acid, β-sitosterol, β-lupeol acetate, Rutin, Chlorogenic acid, Quercitrin และ Isoquercitrin

5.2 สรุปผลการศึกษาผลขององค์ประกอบของสมุนไพร ที่มีต่อระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก

ไม่สามารถทำการศึกษาได้เนื่องจากความจำกัด จากจำนวนพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กระยะติดต่อที่ได้จากการเก็บตัวอย่างปลาเกร็ดขาวในช่วงเวลาตั้งแต่ เดือนมกราคม 2557 ถึง เดือน มกราคม 2558 โดยไม่พบพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กระยะติดต่อจากปลาเกร็ดขาวจากตัวอย่างปลาที่จับได้

เอกสารอ้างอิง/บรรณานุกรม

1. Keiser, J and Utzinger, J. (2005). Emerging Foodborne Trematodiasis. **Emerging infectious Diseases.** 11(10). 1507-1514.

2. Fürst, T., Keiser, J. and Utzinger, J. (2012). Global burden of human food-borne trematodiasis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infectious Diseases. 12(3). 210-221.

3. WHO. Research Priorities for Helminth Infections. Retrieved January 5, 2012, from http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75922/1/WHO_TRS_972_eng.pdf

4. Dung, D. T., De, N. V., Waikagul, J., Dalsgaard A., Cahi, J. Y., Sohn, W. M. and Murrell, D. (2007). Fishborne Zoonotic Intestinal Trematodes, Vietnam. Emerging Infectious Diseases. 13(12). 1828-1833.

5. กระทรวงสาธารณสุข. **ความไม่เท่าเทียมทางภาระสุขภาพ: การศึกษาภาระโรคระดับเขตของประเทศไทย พ.ศ. 2547**. สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2556, จาก http://www.thaibod.net/documents/Subnational%20BOD.pdf.

6. ปิยะลักษณ ภักดีสมัย และ อรุณ จิรวัฒน์กุล. **DALYs ดัชนีวัดความสูญเสียทางสุขภาพ**. สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2556, จาก http://dmbj.ejnal.com/e-journal/showdetail/?show_detail=T&art_id=1217.

7. WHO. Joint WHO/FAO Workshop on Foodborne Trematode Infections in Asia. Retrieved January 5, 2012, from http://whqlibdoc.who.int/wpro/2004/RS_2002_GE_40(VTN).pdf.

8. Sripa, B. Major Foodborne Trematodieases in Southeast Asia. Retrieved January 5, 2012, from http://www.rnas.org.cn/upload/inFile/2008-9-25160405-Major.pdf

9. อดิเทพพรชัย ภาชนะวรรณ. (2542). **ความหลากหลายและการศึกษาพื้นผิวของพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดจากลำน้ำแม่สา**. วิทยานิพนธ์ วทม.มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

10. Kumchoo, K.(2005). **Epidemiology and Life History of The Intestinal Trematode, *Haplochis Taichui* WitenberG, 1930**. Doctor of Philosophy. Ph.D., Chiang Mai University, Chiang Mai

11. Nithikathkul, C. (2008). **A Survey of The Metacercarial Trematodes, *Haplochis Taichui* and *Stellantchasmus Falcatus* Freshwater fish in Some Reservoirs in Chiang Mai and Chiang Rai Provinces and Co-Infection in Vivo**. Doctor of Philosophy. Ph.D., Chiang Mai University, Chiang Mai

12. Poolphol, P. (1995). A Survey of The Occurrence of *Opisthorchis Viverrini* Metacercariae in Fresh-Water Fish and Raw-Fish Products in Chiang Mai Province. Master thesis., Chiang Mai University, Chiang Mai

13. วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล. (2554). การสำรวจชนิดของปลาที่ติดพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรีย จากบางท้องที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 5(2). 75-86.

14. ภัสสร์พัณณ์ หลวงไผ่. (2549). ผลในสภาพทดลองของสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด (*Artocarpus lakoocha* Roxb) ราชพฤกษ์ (*Cassia fistula* Linn.) และแก้ว (*Murraya paniculata* Jack.) ที่มีต่อพื้นผิวพยาธิใบไม้ *Haplochis taichui*. วิทยานิพนธ์ วทม., มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

15. ธนพล อยู่เย็น. (2550). ผลของสารสกัดด้วยน้ำของมะหาด *Artocarpus lakoocha* (Roxb) และขี้เหล็ก *Cassia* Siamea (LamK.) ต่อพยาธิใบไม้ในลำไส้ *Stellantchasmus falcatus* ในหนูขาว *(Rattus norvegicus)*. วิทยานิพนธ์ วทม.,มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

16. Anti Helminthics. สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2556, จาก http://www.thailabonline.com/drug/drug16.htm.

17. มูลนิธิหมอชาวบ้าน. (31 พฤษภาคม 2544). ยาถ่ายพยาธิ. สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2556, จาก http://www.doctor.or.th/article/detail/3078.

18. พลาซิควอนเทล (praziquantel). สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2556, จาก http://www.ideaforlife.net/health/drug/0073.htm.

19 ประยงค์ ระดมยศ, ชูเกียรติ ศิริวิชยกุล, อัญชลี ตั้งตรงจิตร, พลรัตน์ วิไลรัตน์, ศรชัย หลูอารีย์ สุวรรณ, ฐิติมา วงศาโรจน์, ประภาศรี จงสุขสันติกุล, เชาวลิตร จีระดิษฐ์, วราห์ มีสมบูรณ์ และดัชนี มานะตระกูล. (2541). หนังสือโรคหนอนพยาธิประกอบภาพ. (1).

20. วิน เชยชมศรี, เชาวลิตร จีระประดิษฐ์ และ พรเพ็ญ เตชะมนตรี. (2541). คู่มือการตรวจโรคหนอนพยาธิ. (2). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์การศาสนา กรมการศาสนา.

21. ประยงค์ ระดมยศ, ฐิติมา วงศาโรจน์, วิโรจน์ กิติคุณ, วราห์ มีสมบูรณ์, เชาวลิตร จีระดิษฐ์, ไพศาล อิ่มพันธ์, วันชัย มาลีวงษ์, อัญชลี ตั้งตรงจิตร, ชูเกียรติ ศิริวิชยกุล, ประภาศรี จงสุขสันติกุล, พลรัตน์ วิไลรัตน์ และ ปัทมาวดี กฤษณามระ. (2541). ปรสิตหนอนพยาธิทางการแพทย์ ทฤษฎี และ ปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์การศาสนา กรมการศาสนา.

22. ประยงค์ ระดมยศ, ฐิติมา วงศาโรจน์, วิโรจน์ กิติคุณ, วราห์ มีสมบูรณ์, ไพศาล อิ่มพันธ์, วันชัย มาลีวงษ์, อัญชลี ตั้งตรงจิตร, ชูเกียรติ ศิริวิชยกุล, ประภาศรี จงสุขสันติกุล และ จิตรา ไวคกุล. (2545). ปรสิตหนอนพยาธิทางการแพทย์ ทฤษฎี และ ปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

23. นันทวัน บุณยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2539. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. เล่ม 1. กรุงเทพฯ, ประชาชน, 895 หน้า.

24. นันทวัน บุณยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2542. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. เล่ม 3. กรุงเทพฯ,ประชาชน, 823 หน้า.

25. สุนทรี สิงหบุตรา. 2540. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. กรุงเทพฯ, ดอกเบี้ย, 260 หน้า.

26. กัลยา อนลักขณาปกรณ์, จารีย์ บันสิทธิ์, ประไพ วงศ์สินคงมั่น, ธนวัฒน์ ทองจีน, ธิดารัตน์ บุญรอด, เย็นจิตร เตชะดำรงสิน และ จิรานุช มิ่งเมือง. (2550). สมุนไพรน่ารู้ (3) บัวบก. (1). กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.

27. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2547). รายงานการศึกษาวิจัย โครงการสมุนไพรต้านเอดส์ 2 (สบู่ดำ).

38. ปราณี ชวลิตธำรง, จารีย์ บันสิทธิ์, เย็นจิตร เตชะดำรงสิน , อัญชลี จูฑะพุทธิ, ประนอม เดชวิศิษฏ์กุล, สุธิดา ไชยราช, ศรัณยา ธาราแสวง, เอมมนัส อัตตวิชญ์, ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก และ วีรนุช ไชยบุญเรือง. (2545). มาตรฐานสมุนไพรไทย ชุมเห็ดเทศ. (1). กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์บ้านสวนศิลป์.

29. สมบูรณ์ แสงมณีเดช, ขวัญเกศ กนิษฐานนท์, วารุธ สกุลตาล, สมจิตร บุษดี, วัฒน์วิทย์ นาคต้อย, ศักดา กาบคำ และสายัญ อันภูวงศ์. การใช้สารสกัดจากรากหางไหลแห้งในการควบคุมลูกน้ำยุง. วารสารวิจัย มข. 9(1), 10-15.

ภาคผนวก : ประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติผู้รับผิดชอบโครงการวิจัย

(1) หัวหน้าโครงการวิจัย

1. **ชื่อ-นามสกุล** **นาง ดาวัลย์ ฉิมภู่** (Mrs Dawan Shimbhu)
2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 4099 00527 65 9
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์
มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก
โทรศัพท์ 66-55-96 4789 โทรสาร 66-55-964770
มือถือ 081-7403411
Email dawans@nu.ac.th

ประวัติการศึกษาโดยสังเขป

คุณวุฒ	ตั้งแต่-ถึง(เดือน-ปี)	ชื่อสถานศึกษา	แหล่งทุนที่ได้รับ
Post-Doctoral Degree in Molecular biology	2538-39	Oxford University, England	EEC-Foundation
USAID Diploma in Biochem.	2530-31	Isarel Institute of Teachnology, Isarel.	USAID
Ph.D(Biochem.)	2527-2530	University College,Ireland	U-Foundation
UNESCO Diploma in Biochem.	2524-2525	Tokyo Institute of Technology, Japan.	UNESCO
มหาวิทยาลัยมหิดล ไทย	2517-19	วท.ม (ชีวเคม)	WHO
มหาวิทยาลัยมหิดล ไทย	2512-16	วท.บ (เทคนิคการแพทย์)	-

ประวัติการรับราชการ

ปี พ.ศ.ที่ทำงาน	ตำแหน่งที่ได้รับ	ชื่อสถานที่ทำงาน
2520-2522	อาจารย์	มหาวิทยาลัยมหิดล
2522-2523	อาจารย์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2523-2535	ผู้ช่วยศาสตราจารย์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2535-2536	ผู้ช่วยศาสตราจารย์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
2536-ปัจจุบัน	รองศาสตราจารย์	มหาวิทยาลัยนเรศวร

6. **สาขาวิชาการที่ชำนาญพิเศษ** การพัฒนาชนบทอย่างยั่งยืน การพัฒนาอาชีพชุมชน

7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

7.1 ประสบการณ์การเป็นผู้อำนวยการชุดโครงการวิจัย

(1) เรื่อง การศึกษาและพัฒนาเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์โรคเบต้าธาลัสซีเมีย (โครงการต่อ เนื่อง 2 ปี) ปีงบประมาณ 2547-48 แหล่งทุน : งบประมาณแผ่นดิน

(2) เรื่องการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์และบรรจุภัณฑ์น้ำตาลกะทิ เพื่อการอุตสาหกรรมในครัวเรือนที่ยั่งยืน ปีงบประมาณ 2547 แหล่งทุน : สกอ.

(3) การใช้ทรัพยากรท้องถิ่นอย่างยั่งยืน:ตาล ปีงบประมาณ 2549 แหล่งทุน : สกอ.

(4) แผนพัฒนาผลิตภัณฑ์พื้นบ้านเข้าสู่หนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์: ปีงบประมาณ 2547 แหล่งทุน : สกอ.

7.2 ประสบการณ์การเป็นหัวหน้าโครงการวิจัย :

(1) โครงการถ่ายทอดความรู้เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมีย (โครงการต่อเนื่อง 2 ปี) ปีงบประมาณ 2547-48 แหล่งทุน : งบประมาณแผ่นดิน

(2) พัฒนากระบวนการผลิตน้ำตาลกะทิให้มีคุณภาพ รสชาดและรูปลักษณ์เป็นที่ต้องการของตลาดอย่างแพร่หลาย ปีงบประมาณ 2547 แหล่งทุน : สกอ.

(3) การพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์มะม่วงม้วนเพื่อการอุตสาหกรรมในครัวเรือนที่ยั่งยืน ปีงบประมาณ 2547 แหล่งทุน : สกอ.

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ :

(1) การผลิตชีวมวลของ *Candida tropicalis* จากน้ำเสียเพื่อใช้เป็นแหล่งของเบตากลูแคน ปีงบประมาณ 2550 แหล่งทุน : สกว-สสว. สถานภาพ : หัวหน้าโครงการวิจัย

(2) เรื่อง การคัดแยกจุลินทรีย์ดินผลิตเอนไซม์ไลเปสเพื่อการอุตสาหกรรม ปีงบประมาณ 2550 แหล่งทุน : งบประมาณมหาวิทยาลัยนเรศวร สถานภาพ : หัวหน้าโครงการวิจัย

7.4 ผลงานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว (ตีพิมพ์ย้อนหลัง 5 ปี)

1. A sensitive assay for non-specific N-methltransferase Acticity in rat tissue by HPLC with electrochemical detection. Asean Journal on Science &Technology for Development.2003: 19(1)63-68.
2. Spontaneous mutation of the hemoglobin Leiden (β 6 or 7 Glu$\rightarrow$0) in a Thai girl. Haematologica.2003: 88(12) ECR35
3. Associations of common β- thalassemia mutations with β- globin gene frameworks in_Northern Thailand. ASEAN Journal on Science and Technology for Development ,2004: 21(1)
4. Homogrneity of β- thalassemia Codon 17 (A-T) Alleles in Northern Thailand Using a Direct DNA Sequencing Method. J. Med Assoc Thai ,2004:87(8):883-6

5. The Spectrum of β-thalassemia mutations in Phitsanulok Province: Development of multiplex ARMS for mutation detection. Naresuan University Journal 2007;15(1):43-53
6. Rapid detection and prenatal diagnosis of β-thalassemia. Naresuan University Journal ,Issn0858-7418,2007: Vol.7 No.2 July-Dec
7. The Spectrum of β-thalassemia mutations in Phitsanulok Province: Development of multiplex ARMS for mutation detection.Naresuan University Journal 2007;15(1):43-53
8. Detection of β-thalassemia mutations using multiplex ARMS assay. Hemoglobin32(3) 2008
9. Rapid Detection of β-Thalassemia Mutations in Thailand using Multiplex ARMS" ASEAN Journal on Science and Technology for Development_ XX(X).

7.5 ผลงานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว(นำเสนอในการสัมมนาวิชาการระดับนานาชาติ)

1. Apontaneous mutation of haemoglobin Leiden on maternal inherited chromosome, FAOB Meeting 2004,Bankok,THailand
2. Noninvasive prenatal exclusion of β- thalassemia/HbE by analysis of fetal HbE gene in maternal plasma, 2nd International Forensic Science Conference 2007,Thailand
3. Detection of β-thalassemia mutations using multiplex ARMS assay. FAOB-Meeting, 2008 Aten, Greeze

ประวัติร่วมโครงการวิจัย

(1) ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นายอัศวชัย ช่วยพรหม

ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr.Aussavashai Shuayprom

2. หมายเลขบัตรประชาชน 3-1016-00691-56-4

3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
ถ. ติวานนท์ อ. เมือง จ. นนทบุรี 11000
โทรศัพท์: 02 9510000-9 ต่อ 98023
โทรสาร: 5899866
e-mail: Aussavashai.s@dmsc.mail.go.th

5. ประวัติการศึกษา

ระดับการศึกษา	ปีที่สำเร็จการศึกษา	สถาบัน
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี)	2539	มหาวิทยาลัยรามคำแหง
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เคมี)	2547	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

การแยกสารองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร การวิเคราะห์ และการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร ด้วยเครื่อง TLC-densitometer

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอโครงการ

7.1 ผู้อำนวยการแผนการวิจัย :

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีศักยภาพและการควบคุมคุณภาพ (Development of medicinal plant and quality control)

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย :

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญแอลฟ่าแมงโกสตินในผลิตภัณฑ์ (Quantitation and method validation of alpha-mangostin from healthy products

7.3 งานวิจัยที่ดำเนินการเสร็จแล้ว

ผู้วิจัยหลัก

ผลงาน/วิจัย	ปีที่พิพม์/การเผยแพร่
1. การเตรียมสารอ้างอิง Andrographolide และสารอนุพันธ์จาก สมุนไพรฟ้าทะลายโจร 2. คุณภาพทางเคมีของสารสกัดใบสาบเสือ 3. การพัฒนาตำรับเวชสำอางบำรุงผิวผสม embelin 4. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซีรั่ม oxyresveratrol เพื่อลดความเข้มของสีผิว จากมะหาด	1.1 เสนอผลงานโปสเตอร์ในการประชุมสัมมนาและนิทรรศการวิชาการนานาชาติเรื่อง " ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อสุขภาพและความงาม" ณ. โรงแรมตักศิลา 17-21 ตุลาคม 2548 1.2 วารสารชมรมวิชาชีพครูเคมี, ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน 2548 2 วารสารชมรมวิชาชีพครูเคมี, ปีที่ 3 ฉบับที่ 1 วารสารประจำปี 2551 3.วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ปีที่2 ฉบับที่2 ประจำเดือน กรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2553 4. วารสารวิทยาศาสตร์ "อันดามัน" ฉบับเนื่องในงานสัปดาห์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ ประจำปี 2553 (ปีที่ 23) หน้าที่ 22-28

ผู้ร่วมวิจัย

ผลงาน/วิจัย	ปีที่พิพม์/การเผยแพร่
1. Chemical Constituents from the Leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau. 2. Chemical Constituents of the Leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau. 3. Bioactive constituents from the leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau. 4. The constituents of the Leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau Part II 5. Chemical composition investigation of the *Clinacanthus nutans* Lindau part II 6. Bioactive constituents from the leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau 7. Molecular evalution of extraccellular activity of medicinal herb *Clinacanthus nutants* against herpes simplex virus type-2 8. Determination of rutin in *Eupatorium*	1. Abstract of the 27th Congress on Science and Technology of Thailand, at Songkhla, 2001, 16-03p-05, 156. 2. Thai Journal of Phytopharmacy. 2001, 8 (1): 1-8. 3. The 5th National Symposium on Graduate Research, 2005, p66 4. โครงการหนึ่งอาจารย์หนึ่งผลงาน ประจำปี 2549 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 5. เสนอผลงานโปสเตอร์ในการประชุมสัมมนาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพเภสัชกรรม ครั้งที่ 7 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 9-11 สิงหาคม 2006 6. Bioorganic & medicinal chemistry 2009; 17(5):1857-60. 7. Natural Product Research Vol 24, No 3, 15 February 2010, 236-245 8. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีที่ 30 ฉบับที่ 4 พ.ศ. 2554

ผลงาน/วิจัย	ปีที่พิพม์/การเผยแพร่
odoratum L leaves by HPTLC 9. Acute and Chronic Toxicity of *Moringa oleifera* Linn Leaves Extracts 10. Chronic toxicity of *Passiflora foetida* L. extract	9. Thai J Vet Med. 2011. 41(4): 414-424 10. International Journal of Applied Research in Natural Products. 2011. Vol. 4(2), pp. 24-31.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ

1. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญแอลฟาแมงโกสตินในผลิตภัณฑ์ (Quantitation and method validation of alpha-mangostin from healthy products การวิจัยแล้วเสร็จ 70 %

2. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญแอนโดกราโฟไลด์ในผลิตภัณฑ์ (Quantitation and method validation of andrographolide from healthy products การวิจัยแล้วเสร็จ 70 %

3. การพัฒนาสารสกัดจากสมุนไพรโดยใช้เทคนิคระบบลมลอยตัว (Development of herbal extract by fluidized bed technique) การวิจัยแล้วเสร็จ 50 %

(2) ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชูศักดิ์ นิธิเกตุกุล
2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 459900318 49 9
3. ตำแหน่งปัจจุบัน Assistant Professor, Graduate Studies Division, Faculty of Medicine, Mahasarakham University Mahasarakham, Thailand
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก Graduate Studies Division, Faculty of Medicine, Mahasarakham University Mahasarakham, Thailand
5. ประวัติการศึกษา

B.sc, M.Sc and Ph.D [Biodiversity and Ethnobiology

Academic activity

2005- Present Acknowledgeable code 44020304 (Biomedical Science) of The National Research Council of Thailand

Outside Professor members

2012 – Present at Khon Kaen University
External committee for M.Sc. Sport Science
Khon Kaen University

2009- Present at King Mongkut's University of Technology Thonburi
[Co-adiviser of two M.Sc. (Environmental Management)]

2009- Present at Prince of Songkha University

[Co-adiviser of one M.Sc. (Environmental Management)]

2011-Present at Naresuan University

[Co-adiviser of one Ph.D. (Biochemistry)]

2011-Present at Faculty of Public Health, MSU

[Adiviser of three M.Sc, (Public Health)]

2011-Presentv Member of Ph.D. in Health Science Program Curriculum Committee and Adviser of one Ph.D. [Health Science]

2006 Evaluator poster presentation award Royal Golden Jubilee (Ph.D. program's) Seminar Series XLI : Trends and Research in Parasitology. 2nd February 2006

2010 Chairman of Keynote Panel Session [Health GIS, Chiang Mai, Thailand]

2011 Chairman and Evaluator of Technical Session [Health GIS, New Dehli, India]

2012 Guest Speaker and Lecturer for International training course of Health GIS [Mahidol University, Thailand]

2012 Visiting Professor by invited by from Chung-Ang University and National Institute of Health, Seoul, Korea

2012 Chairman of Technical Session [International conference in nursing public health, Chiang Mai, Thailand]

Awards

Co-author Third Prize Poster Presentation Award

Joint International Tropical Medicine 2010, Bangkok

Co-author Best Paper Award Health GIS 2011, New Dehli, India

Publication from Pub med 14 Paper

Co-infection with Opisthorchis viverrini and Haplorchis taichui detected by human fecal examination in Chomtong district, Chiang Mai Province, Thailand.

Wongsawad C, Phalee A, Noikong W, Chuboon S, Nithikathkul C.

Parasitol Int. 2011 Oct 25

Prevalence and risk factors for pinworm infection in the kindergarten of Thammasat University, Thailand.

Pethleart A, Saichua P, Rhongbutsri P, Leelawongtawon R, Aree K, Tiengtip R, Nithikathkul C, Nateeworanart S, Taylor WR.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2010 Mar;41(2):306-10.

Prevalence of Haplorchis taichui and Haplorchoides sp. metacercariae in freshwater fish from water reservoirs, Chiang Mai, Thailand.

Nithikathkul C, Wongsawad C.

Korean J Parasitol. 2008 Jun;46(2):109-12.

Human intestinal capillariasis in Thailand.

Saichua P, Nithikathkul C, Kaewpitoon N.

World J Gastroenterol. 2008 Jan 28;14(4):506-10. Review.

Early stage biliary and intrahepatic migration of Opisthorchis viverrini in the golden hamster.

Nithikathkul C, Tesana S, Sithithaworn P, Balakanich S.

J Helminthol. 2007 Mar;81(1):39-41.

A study of ectoparasites of Canis lupus familiaris in Mueang district, Khon Kaen, Thailand.

Nithikathkul C, Polseela R, Iamsa-ard J, Wongsawad C, Jittapalapong S.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2005;36 Suppl 4:149-51.

Survival of Haplorchis taichui metacercariae in Lab-Pla, Thai traditional food preparation.

Chuboon S, Wongsawad C, Ruamsuk A, Nithikathkul C.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2005;36 Suppl 4:110-1.

Impact of health educational programmes on the prevalence of enterobiasis in schoolchildren in Thailand.

Nithikathkul C, Akarachantachote N, Wannapinyosheep S, Pumdonming W, Brodsky M, Sukthana Y.

J Helminthol. 2005 Mar;79(1):61-5.

Enterobiasis in primary schools in Bang Khun Thian District, Bangkok, Thailand.

Changsap B, Nithikathkul C, Boontan P, Wannapinyosheep S, Vongvanich N, Poister C.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2002;33 Suppl 3:72-5.

Ixodid ticks on domestic animals in Samut Prakan Province, Thailand.

Nithikathkul C, Polseela P, Changsap B, Leemingsawat S.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2002;33 Suppl 3:41-4.

Parasitic infections among Karen in Kanchanaburi Province, western Thailand.

Nithikathkul C, Changsap B, Wannapinyosheep S, Arnat N, Kongkham S, Benchawattananon R, Leemingsawat S.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2003;34 Suppl 2:86-9.

Malaria and enterobiasis among Karen Long-neck tribe in Mae Hong Son Province.

Nithikathkul C, Polseela P, Poodendan W, Brodsky M, Rakprapapant D, Chadchatreechan S, Phethleart A, Sukthana Y, Leemingsawat S.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2003;34 Suppl 2:25-8.

The prevalence of enterobiasis in children attending mobile health clinic of Huachiew Chalermprakiet University.

Nithikathkul C, Changsap B, Wannapinyosheep S, Poister C, Boontan P.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2001;32 Suppl 2:138-42.

The prevalence of Enterobius vermicularis among primary school students in Samut Prakan Province, Thailand.

Nithikathkul C, Changsap B, Wannapinyosheep S, Poister C, Boontan P.

Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2001;32 Suppl 2:133-7.

Publication from IOS Press, Amsterdam 5 Paper

Choosak Nithikathkul, Marc Brodsky, Ruxina Polseela, Wilawan Poodendan, Aree Taylor, Yaowalark Sukthana., 2007. Worm treatment program in "Long Neck" hill tribes **Asian Biomedicine** Vol. 1 No. 4 December ;425-428

Choosak Nithikathkul, Chalobol Wongsawad., 2008. The occurrence of heterophyid metacercariae in freshwater fish from reservoirs. Asian Biomedicine Vol. 2 No. 3 June ;229-232

Choosak Nithikathkul,, Yaowalark Sukthana, Chalobol Wongsawad, Athika Nithikathkul, Benjawan Nithikethkul, Ole Wichmann, Jean-Paul Gonzalez, Jean-Pierre Hugot, Vincent Herbreteau., 2008. Enterobiasis infections among Thai school children:spatial analysis using a geographic information system, Asian Biomedicine Vol. 2 No. 4 August ;283-288

Choosak Nithikathkul, Wilawan Pumidonming, Supaporn Wannapinyosheep, Smarn Tesana, Surachet Chaiprapathong, Chalobol Wongsawad, 2009. *Opisthorchis viverrini* infection in minute intestinal fluke endemic areas of Chiang Mai Province, Thailand Asian Biomedicine Vol. 3 No. 2 April ;187-191

Suwannachai Wattanayingcharoenchai, Choosak Nithikathkul, Thitima Wongsaroj, Louis Royal, Pipat Reungsang. 2010. Geographic information system of *Opisthorchis viverrini* in northeast Thailand. Asian Biomedicine . Vol. 5 No. 5 : 687-691

Textbook Chapter

Choosak Nithikathkul, Praser Saichui, Louis Royal, John Cross. Capillariosis chapter, Zoonoses book 2011, published by Oxford University Press

Editor

Trends Research in Science and Technology (Journal) published by Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University

Reviewer

2007- Present	Medical Science Monitor (Journal)
2011 -	International Journal of Biodiversity and Conservation

เลขทะเบียน.....

หนังสือยินยอมการเผยแพร่ผลงานทางวิชาการบนเว็บไซต์ ฐานข้อมูล NU Digital Repository (http://nuir.lib.nu.ac.th/dspace/) สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร

ตามที่ข้าพเจ้า รศ.ดร.ดาวัลย์ ฉิมภู่ (ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์) ได้ส่งผลงานทางวิชาการการรายงานการวิจัย (เรื่อง) รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์การศึกษาผลของสารองค์ประกอบทางเคมีจากสมุนไพรที่มีต่อพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กระยะติดต่อในหลอดทดลอง

ปีที่พิมพ์ 2557

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานทางวิชาการเป็นลิขสิทธิ์ของข้าพเจ้า รศ.ดร.ดาวัลย์ ฉิมภู่ เป็นเจ้าของลิขสิทธิ์ และเพื่อให้ผลงานทางวิชาการของข้าพเจ้าเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและสาธารณชน จึงอนุญาตให้เผยแพร่ผลงาน ดังนี้

☑ อนุญาตให้เผยแพร่

☐ ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ เนื่องจาก.....

.....

.....

ลงชื่อ .....

(รศ. ดร. ดาวัลย์ ฉิมภู่)

วันที่.....

หมายเหตุ ลิขสิทธิ์ใดๆ ที่ปรากฏอยู่ในผลงานนี้เป็นความรับผิดชอบของเจ้าของผลงาน ไม่ใช่ของสำนักหอสมุด