ฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสของพืชสมุนไพร

Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Medicinal Plants

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

อ้อมใจ แต้เจริญวิริยะกุล, เมที บัวสาย, อิทธิชัย รัตนาตรานุรักษ์, เพียงหทัย ศรียอด และ สุภารัตน์ จันทร์เหลือง*

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

* **ติดต่อผู้นิพนธ์:** suparatkha@hotmail.com ; โทรศัพท์: 045-353630

วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2554;6(1):1-6

Ormjai Taejarernwiriyakul, Methee Buasai, Itthichai Rattana-tranurak, Pianghatai Sriyod and Suparat Chanluang*

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University, Warin Chamrab, Ubon Ratchathani, Thailand 34190

* **Corresponding author:** suparatkha@hotmail.com; Tel: 66-045-353630

Thai Pharmaceutical and Health Science Journal 2011;6(1):1-6

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity) และฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase inhibition) เบื้องต้นของสารสกัดจากสมุนไพร 41 ชนิด **วิธีการศึกษา:** สกัดสารจากสมุนไพรด้วยเมธานอล ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1 (2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl (DPPH) assay เทียบกับวิตามินซีและกรดแกลลิก คัดเลือกสมุนไพรที่มีค่า IC_{50} ต่ำกว่า 100.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลองเทียบกับอัลโลพูรินอล (allopurinol) **ผลการศึกษา:** สารสกัดโกฐพุงปลา พลูทับทิม และฝาง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี (IC_{50} < 10.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส พบว่าว่านหมาว้อและอบเชยมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสที่ดี โดยมีค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสสมมูลกับอัลโลพูรินอล 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (allopurinol equivalent antixanthine oxidase activity) < 10.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสมุนไพรอื่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในระดับน้อย **สรุป:** พืชสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ โดยสมุนไพรบางชนิดควรได้รับการศึกษาฤทธิ์รักษาโรคเกาต์ในสัตว์ทดลองต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส, พืชสมุนไพร

Abstract

Objective: To preliminarily study radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activities of 41 select medicinal plant extracts. **Methods:** The plants were extracted by percolation with methanol. The antioxidant activity was first investigated using 2,2-diphenyl-1 (2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl (DPPH) assay, compared with gallic acid and vitamin C. The plant extracts giving IC_{50} less than 100.00 µg/ml were selected to study the anti-xanthine oxidase activity compared to allopurinol. **Results:** The extracts of *Dischidia rafflesiana*, *Piper betle*, *Punica granatum* and *Caesalpinia sappan* showed high antioxidant capacity (IC_{50} < 10.00 µg/ml). Extracts of *Curcuma comosa* and *Cinnamomum iners* strongly inhibited xanthine oxidase activity with an allopurinol equivalent antixanthine oxidase activity of < 10.00 µg/ml. Other plants also demonstrated antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities although with a less extent. **Conclusion:** Various medicinal plants, possessing antioxidant activity and xanthine oxidase inhibitor, could be a good candidate for future studies of *in vivo* models of gout.

Keywords: radical scavenging activity, xanthine oxidase inhibitor, medicinal plant

บทนำ

โรคเกาต์ (gout) เป็นโรคปวดข้อเรื้อรังที่มีสาเหตุจากผลึกยูเรตตกตะกอนในข้อและเนื้อเยื่อรอบข้อ เนื่องจากมีระดับกรดยูริกในเลือดสูง (hyperuricemia) ซึ่งหมายถึง มากกว่า 7 และ 6 มิลลิกรัม/เดซิลิตรในผู้ชายและผู้หญิง ตามลำดับ[1] นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของนิ่วในไต หากเป็นเรื้อรังและไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องอาจทำให้เกิดความพิการทางข้อ หรือเกิดไตวายเรื้อรังได้ กรดยูริกถูกสร้างจากการสลายเบสพิวรีน (purine) ซึ่งมีมากในเครื่องในสัตว์ ถั่วต่าง ๆ หน่ออ่อนหรือยอดอ่อนของพืชผัก และจากการสลายตัวของเซลล์ในร่างกาย ด้วยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase) เป็นสารไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) แซนทีน (xanthine) และกรดยูริก ตามลำดับ ซึ่งกรดยูริกที่ได้จะถูกขับออกทางปัสสาวะ ดังนั้นถ้ามีสาเหตุใดที่ทำให้มีการสร้างกรดยูริกมากเกินไป หรือทำให้ไตขับกรดยูริกได้ลดลง จะส่งผลให้ระดับกรดยูริกในเลือดสูงและก่อให้เกิดโรคเกาต์ดังกล่าว ซึ่งการรักษาโรคเกาต์แบ่งได้เป็น 2 ระยะ คือระยะที่กำลังเกิดการอักเสบ ซึ่งต้องใช้ยาแก้ปวดอักเสบ เช่น colchicines และยาในกลุ่มยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่เสตียรอยด์ (Non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs) และในระยะที่ไม่มีการอักเสบซึ่งเป็นการควบคุมระดับกรดยูริกไม่ให้สูงเกินไปโดยใช้ยาที่ลดการสร้างกรดยูริก เช่น อัลโลพูรินอล และยาที่เพิ่มการขับกรดยูริกออกทางไต เช่น โปรเบนเนซิด (probenecid) เป็นต้น อัลโลพูรินอลเป็นยายับยั้งการสร้างกรดยูริกตัวเดียวที่ใช้ในปัจจุบัน จัดเป็นยาในกลุ่ม xanthine oxidase inhibitor มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ทำให้ลดการสร้างกรดยูริกได้ แต่อัลโลพูรินอลมีผลข้างเคียงที่ค่อนข้างรุนแรง เช่น ตับอักเสบ ไตทำงานผิดปกติ

เป็นพิษต่อไต Steven-Johnson syndrome และอาการแพ้[2,3] ซึ่งเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยโรคไต

ปัจจุบัน นอกจากแซนทีนออกซิเดสทำให้เกิดกรดยูริกแล้ว ยังก่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบ (reactive oxygen species; ROS) ซึ่งสามารถทำลายเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตได้ และพบว่าสัมพันธ์กับความผิดปกติและการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น การอักเสบ หลอดเลือดแข็งตัว และมะเร็ง เป็นต้น[4]

มีการศึกษาจำนวนมากพบว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ เช่น สารกลุ่มเควอซิติน (quercetin)[5] เคมเฟอรอล (kaempferol) โพลีฟีนอล (polyphenols)[6] แทนนิน (tannins)[7] และฟลาโวนอยด์ (flavonoids)[8] เป็นต้น ดังนั้นสารเหล่านี้จึงมีฤทธิ์ลดการสร้างกรดยูริกได้[9,10] กอปรกับประเทศไทยเป็นประเทศที่มีสมุนไพรและมีการใช้สมุนไพรจำนวนมาก รวมถึงมีรายงานถึงสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ คือ เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพร รวมถึงรวบรวมสมุนไพรในจังหวัดอุบลราชธานีที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาศึกษาฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนำสมุนไพรเหล่านี้ไปศึกษาพัฒนาเป็นยารักษาโรคเกาต์และโรคอื่นที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยแซนทีนออกซิเดสต่อไป

วิธีการศึกษา

วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

พืชสมุนไพร

พืชที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้มี 41 ชนิด (ตารางที่ 1) ที่รวบรวมเก็บตัวอย่างไว้ที่หน่วยผลิตยาและผลิตภัณฑ์สมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี พิสูจน์เอกลักษณ์โดยนักพฤกษศาสตร์

อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์สำคัญที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ rotary evaporator (Buchi, ประเทศอิตาลี) เครื่อง spectrophotometer (UV–2101 PC, Shimadzu) สารเคมี ได้แก่ 2,2-diphenylpicrylhydrazine (DPPH) ได้จาก Aldrich (ประเทศเยอรมัน) allopurinol, xanthine oxidase และ xanthine ซื้อจาก Sigma-Aldrich (ประเทศสหรัฐอเมริกา) ส่วน Folin Ciocalteu reagent, sodium carbonate, methanol, ethanol, ethyl acetate, gallic acid L-ascorbic acid, dipotassium hydrogen phosphate, potassium dihydrogen phosphate และ dimethyl sulfoxide (DMSO) จาก Carlo Erba (ประเทศอิตาลี)

ตารางที่ 1 ชื่อและส่วนของพืชสมุนไพร 41 ชนิดที่ศึกษา

สมุนไพร	ส่วนที่นำมาใช้
โกฐพุงปลา (*Dischidia rafflesiana* Wall, วงศ์ Chrysobalanaceae)	ทั้งต้น
พอก (*Parinari anamense* Hance, วงศ์ Compositae	เปลือกต้น
อบเชย (*Cinnamomum iners* Reinw. ex Blume,วงศ์ Lauraceae)	เปลือกต้น
จันทร์แดง (*Draceana loureiri* Gagnep, วงศ์ Agavaceae)	แก่น
ฝาง (*Caesalpinia sappan* L., วงศ์ Leguminosae-Caesalpiniaceae)	แก่น
เสี้ยวแดง (*Bauhinia penicilliloba* Pierre ex Gagnep,วงศ์ Fabaceae)	ใบ
บัวบก (*Centelle asiatica* (L.) Urban, วงศ์ Umbelliferae)	ใบ
ติ้ว (*Gratoxylum formosum* (Jack) Dyer, วงศ์ Guttiferae)	ใบ
เอี้ยบเช่า (*Leonurus artemisia,* วงศ์ Lamiaceae)	ใบ
ย่านาง (*Tiliacor triandra* Dielsม วงศ์ Menispermaceae)	ใบ
หม่อน (*Morus alba* L., วงศ์ Morraceae)	ใบ
พลู (*Piper betle* L., วงศ์ Piperaceae)	ใบ
แพว (*Polygonum odoratum* Lour., วงศ์ Polygonaceae)	ใบ
ทับทิม (*Punica granatum* L., วงศ์ Punicaceae)	ใบ
อัญชัน (*Clitoria ternatea* L., วงศ์ Fabaceae)	ดอก
บุนนาค (*Mesua ferrea* L, วงศ์ Guttiferae)	ดอก
สารภี (*Mammea siamensis* Kosterm, วงศ์ Guttiferae)	ดอก
คำฝอย (*Carthams tinctorius* L., วงศ์ Compositae)	ดอก
กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.วงศ์ Malvaceae)	ดอก
ดีปลี (*Piper retrofractum* Vahl, วงศ์ Piperaceae)	ดอก
กุหลาบมอญ (*Rosa damascena* Mill., วงศ์ Rosaceae)	ดอก
บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn., วงศ์ Nymphaeaceae)	เกสร
สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz. var. *chebula,* วงศ์ Compositae)	ผล
มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.,วงศ์ Euphorbiaceae)	ผล
จันทน์ (*Myristica fragrans* Houtt., วงศ์ Myristicaceae)	ผล
เดือย (*Coix lacryma-jobi* L., วงศ์ Poaceae)	ผล
ยอ (*Morinda citrifolia*, วงศ์ Rubiaceae)	ผล
เทียนเยาวภานี (*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill, วงศ์ Umbelliferae)	เมล็ด
เทียนขาว (*Lawsonia inermis* L.วงศ์ Lythraceae)	เมล็ด
เทียนเกร็ดหอย (*Plantago ovata* Forsk., วงศ์ Plantaginaceae)	เมล็ด
กวาวเครือ (*Pueraria minifica* Airy Shaw and Suvatabandhu, วงศ์ Fabaceae)	เหง้า
โกฐกระดูก (*Saussurea lappa* Clark, วงศ์ Compositae)	เหง้า
โกฐเขมา (*Atractylodes lancea* (Thunb.) DC., วงศ์ Compositae)	เหง้า
โกฐจุฬาลัมภา (*Artemisia annua* L, วงศ์ Compositae)	เหง้า
โกฐเชียง (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, วงศ์ Umbelliferae)	เหง้า
โกฐสอ (*Angelica dahurica* (Fisch.ex Hoffm.) Benth. et Hook. f., วงศ์ Umbelliferae)	เหง้า
โกฐหัวบัว (*Ligusticum chuanxiong* Hort., วงศ์ Umbelliferae)	เหง้า
ว่านมหาเมฆ (*Curcuma aeruginosa* Roxb., วงศ์ Zingiberaceae)	เหง้า
ว่านชักมดลูก (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb, วงศ์ Zingiberaceae)	เหง้า
ว่านหมาว้อ (*Curcuma comosa* Roxb.วงศ์ Zingiberaceae)	เหง้า
สากเหล็ก (*Molineria latifolia* Herb. ex Kurz, วงศ์ Hypoxidaceae)	เหง้า

วิธีการทดลอง

การสกัดสมุนไพรด้วยเมธานอล

ล้างสมุนไพร ผึ่งให้แห้ง และอบที่ 45 °C แล้วบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักผงแห้ง ห่อด้วยผ้าขาวบาง และแช่ด้วยเมธานอลใน percolator พอท่วมทิ้งไว้ 2 วัน ไขเอาส่วนของเหลวจนหมด แล้วเติมเมธานอลลงไปใหม่ ทำเช่นเดียวกัน 3 ครั้ง รวมของเหลวที่ได้ทั้งหมดไปทำให้แห้งโดยใช้ rotary evaporator แล้วชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณปริมาณสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้

การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน[11]

เตรียมสารมาตรฐานวิตามินซีเข้มข้น (100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารทดสอบที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วเจือจางลงทีละ 10 เท่า (dilution factor 10x) นำสารสะลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มา 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH (100 ไมโครโมลาร์ ใน absolute methanol) จำนวน 1.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ในที่มืดนาน 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) คำนวณความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (% inhibition) จากสูตร % Inhibition = 100 x ($Ab_{control}$ - Ab_{sample}) / $Ab_{control}$ และค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (50% inhibition concentration; IC_{50}) เปรียบเทียบกับค่า IC_{50} ของวิตามินซี

การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง[12]

ทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารสกัดหยาบโดยประยุกต์วิธีของ Umamaheswari และคณะดังนี้ ผสมสารที่ต้องการทดสอบ (5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใน DMSO) ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร กับเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร [เข้มข้น 0.01 ยูนิต/มิลลิลิตร ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer pH 7.5)] ทิ้งไว้ 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25 °C หลังจากนั้นเติมสารละลายแซนทีนปริมาตร 2 มิลลิลิตร (150 ไมโครโมลาร์ ใน phosphate buffer pH 7.5) ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 °C หยุดการทำงานของเอนไซม์โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงซึ่งแสดงถึงปริมาณของกรดยูริกที่ถูกสร้างขึ้น ที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) คำนวณความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยสมการ % inhibition = 100 x ($\Delta Ab_{control}$ - ΔAb_{sample}) / $\Delta Ab_{control}$ แล้วเปรียบเทียบกับค่า % inhibition ของสารมาตรฐานอัลโลพูรินอล 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสสมมูลกับอัลโลพูรินอล 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีหน่วยเป็นไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ผลการศึกษา

ฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

จากพืชตัวอย่าง 41 ชนิด ที่ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging assay) พบว่าสารสกัดหยาบของพืชที่มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระดีที่สุด 10 อันดับแรก ได้แก่ โกฐพุงปลา พลู ทับทิม ฝาง อบเชย บัวหลวง เสี้ยวแดง พอก บุนนาค และแพว โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.13 ± 0.35, 5.91 ± 0.17, 7.99 ± 1.55, 8.29 ± 1.40, 11.16 ± 0.09, 12.38 ± 0.89, 12.91 ± 0.11, 15.14 ± 0.25, 15.14 ± 0.37 และ 26.71 ± 2.59 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษา คือ วิตามินซี กรดแกลลิก และเคอร์คูมินอยด์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.48 ± 0.09, 1.17 ± 0.04 และ 9.64 ± 0.11 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) และความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสสมมูลกับอัลโลพูรินอล 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

สาร	DPPH scavenging activity (IC_{50} µg/mL)	Allopurinol equivalent antixanthine oxidase activity (µg/mL)
กรดแกลลิก	1.17 ± 0.04	19.18 ± 9.72
วิตามินซี	3.48 ± 0.09	5.34 ± 0.43
เคอร์คูมินอยด์	9.64 ± 0.11	10.80 ± 1.03
โกฐพุงปลา	4.13 ± 0.35	-
พลู	5.91 ± 0.17	14.41 ± 2.74
ทับทิม	7.99 ± 1.55	-
ฝาง	8.29 ± 1.40	19.54 ± 4.31
อบเชย	11.16 ± 0.09	9.90 ± 1.14
บัวหลวง	12.38 ± 0.89	11.98 ± 0.08
เสี้ยวแดง	12.91 ± 0.11	35.79 ± 7.25
พอก	15.14 ± 0.25	21.01 ± 4.69
บุนนาค	15.14 ± 0.37	11.30 ± 1.60
ว่านหมาว้อ	16.51 ± 1.63	9.28 ± 0.82
ว่านชักมดลูก	16.89 ± 1.54	14.17 ± 1.34
แพว	26.71 ± 2.59	18.63 ± 7.84
ติ้ว	28.77 ± 2.57	-
สารภี	42.01 ± 0.36	13.46 ± 3.10
จันทร์แดง	44.99 ± 3.39	-
จันทน์	53.78 ± 1.99	28.09 ± 3.98
สากเหล็ก	65.98 ± 0.12	38.25 ± 10.51
ย่านาง	68.83 ± 3.97	-
มะขามป้อม	76.49 ± 1.59	-
สมอไทย	90.98 ± 1.87	13.71 ± 1.35
กระเจี๊ยบแดง	122.23 ± 4.85	15.33 ± 1.88
เทียนเกร็ดหอย	159.60 ± 1.75	-
เทียนเยาวภานี	173.46 ± 8.35	-
เอื้องปากเป็ด	196.50 ± 7.40	-
โกฐจุฬาลัมภา	228.35 ± 7.45	-
โกฐเขมา	257.14 ± 15.57	-
กวาวเครือ	260.20 ± 7.41	-
เดือย	294.39 ± 18.75	10.86 ± 1.05
เทียนขาว	307.33 ± 5.46	-
อัญชัน	381.49 ± 6.31	-
โกฐกระดูก	389.71 ± 5.74	-
หม่อน	508.21 ± 10.82	-
ดีปลี	510.54 ± 4.30	-
คำฝอย	652.60 ± 11.06	-
ยอ	830.20 ± 24.61	-

ฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

อัลโลพูรินอลเป็นสารต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส เมื่อนำมาทดสอบพบว่าอัลโลพูรินอลที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ร้อยละ 61.46 ดังนั้นจึงใช้ค่านี้เป็นค่าเปรียบเทียบสำหรับสารทดสอบอื่น ๆ และแสดงผลเป็น allopurinol equivalent antixanthine oxidase activity มีหน่วยเป็นไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับวิตามินซี และกรดแกลลิกซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน และเคอร์คูมินอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี มีค่า allopurinol equivalent antixanthine oxidase activity เท่ากับ 5.34 ± 0.43, 19.18 ± 9.72 และ 10.80 ± 1.03 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และสมุนไพรจำนวน 23 ชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีค่า IC_{50} น้อยกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อศึกษาด้วยวิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่ามีเพียง ว่านหมาว้อ อบเชย เดือย บัวหลวง บุนนาค สารภี สมอไทย ว่านชักมดลูก พลู กระเจี๊ยบแดง แพว และ ฝาง ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากที่สุด เมื่อพิจารณาจากค่า allopurinol equivalent antixanthine oxidase activity ซึ่งมีค่าเท่ากับ 9.28 ± 0.82, 9.90 ± 1.14, 10.86 ± 1.05 11.98 ± 0.08, 11.30 ± 1.60, 13.46 ± 3.10, 13.71 ± 1.35, 14.17 ± 1.34, 14.41 ± 2.74, 15.33 ± 1.88 18.63 ± 7.84, และ 19.54 ± 4.31 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ปานกลาง คือ พอก เสี้ยวแดง จันทน์ และสากเหล็ก ในขณะที่สารสกัดจันทร์แดง โกฐพุงปลา มะขามป้อม ติ้ว ย่านาง และทับทิม ไม่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (ตารางที่ 2)

สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

แซนทีนออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการสร้างกรดยูริก และมีส่วนทำให้เกิดภาวะกรดยูริกในเลือดสูง และอาจก่อให้เกิดโรคเกาต์ขึ้นได้ ในขั้นตอนของการสร้างกรดยูริกโดยการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสนั้น จัดเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสจะใช้ O_2 เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ทำให้ได้อนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet}$ และ hydrogenperoxide (H_2O_2) ซึ่งจะแตกตัวต่อให้ $OH^{\bullet}$[13] ดังนั้นผลจากการทำงานของแซนทีนออกซิเดสนอกจากได้กรดยูริกแล้วยังเกิดอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหลายชนิด ดังนั้นสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของแซนทีนออกซิเดสได้ นอกจากลดระดับกรดยูริกในเลือดแล้วยังอาจป้องกันการเกิดโรคที่เกี่ยวเนื่องกับอนุมูลอิสระด้วย แต่สารที่สามารถยับยั้งเอนไซม์และลดการสร้างกรดยูริกได้ยังมีจำนวนน้อย[14] อีกทั้งยังมีผลข้างเคียงจากการใช้ที่รุนแรงด้วย[3] ที่มีใช้ในปัจจุบันคือ อัลโลพูรินอล ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ซึ่งเป็นผลจากการที่อัลโลพูรินอลมีโครงสร้างเป็น isomer กับไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) ทำให้ลดการเปลี่ยนสารไฮโปแซนทีนเป็นแซนทีน และเปลี่ยนแซนทีนเป็นกรดยูริก อัลโลพูรินอลเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็นออกซีพูรินอล (oxypurinol) โดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสอย่างรวดเร็ว อัลโลพูรินอลจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพราะลดการสร้างอนุมูลอิสระโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสดังกล่าว นอกจากนี้ ทั้งอัลโลพูรินอลและออกซีพูรินอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยตรง[15] จัดเป็น hydroxyl radical scarvenger[16]

การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 41 ชนิด โดยทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่ง DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร และวิธีนี้เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว เหมาะสำหรับการทดสอบสารจำนวนมากเพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใน DPPH assay นี้ แสดงว่าเป็นสารที่ในโครงสร้างมีหมู่ที่สามารถให้ hydrogen atom กับอนุมูลอิสระได้ ซึ่งในที่นี้คือ $DPPH^{\bullet}$ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดโกฐพุงปลา พลู ทับทิม ฝาง มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดจาก DPPH ได้ดี โดยมีค่า IC_{50} ต่ำกว่า 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนวิตามินซี กรดแกลลิก และเคอร์คูมินอยด์ ซึ่งเป็นสารมาตรฐานสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.48 ± 0.09, 1.17 ± 0.04 และ 9.64 ± 0.11 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่อัลโลพูรินอลซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการยับยั้งการสร้างกรดยูริกเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีเดียวกันพบว่าอัลโลพูรินอลไม่มีฤทธิ์ดังกล่าว พบว่าที่ความเข้มข้นของอัลโลพูรินอล 2,500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยังไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้ แต่พบฤทธิ์ยับยั้งเพียงร้อยละ 5.45 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า อัลโลพูรินอลไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใน DPPH model ซึ่งตรงกับผลการศึกษาของ Molyneux ในปี 2004[17] ที่รายงานว่า สารจำพวกพิวรีน และไพริมิดีน จะไม่ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH เนื่องจากไม่สามารถให้ hydrogen atom แก่ $DPPH^{\bullet}$ ควรทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของอัลโลพูรินอลด้วยวิธีอื่น นอกจากนี้ Sahgal และคณะ[18] กล่าวว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร จำเป็นต้องทดสอบกับโมเดลที่หลากหลายเพราะมีสารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในบางรูปแบบการทดลองแต่ไม่แสดงฤทธิ์ในบางการทดลอง

การศึกษานี้ได้คัดเลือกสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่มีค่า IC_{50} ต่ำกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร[2] ได้จำนวน 22 ชนิด และพืชสมุนไพรที่หมอพื้นบ้านใช้เป็นยาขับปัสสาวะ รักษาโรคเกาต์ คือเดือย และกระเจี๊ยบแดง[19] เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ผลการศึกษาพบว่ามีสมุนไพร 12 ชนิดที่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยมีค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสสมมูลกับอัลโลพูรินอล 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อยู่ในช่วง 9 - 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังนี้ ว่านหมาว้อ อบเชย เดือย บัวหลวง บุนนาค สารภี สมอไทย ว่านชักมดลูก พลู กระเจี๊ยบแดง แพว และฝาง ส่วนกรดแกลลิกสามารถยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

ได้ (allopurinol equivalent antixanthine oxidase activity = 19.18 ± 9.72 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สอดคล้องกับการศึกษาของ Wu และคณะ (IC_{50} = 105.41 μM)[20] นอกจากนี้ วิตามินซีสามารถต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้เช่นเดียวกัน (allopurinol equivalent antixanthine oxidase activity = 5.34 ± 0.43 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนสารสกัดจากพอก จันทร์ เสี้ยวแดง และว่านสากเหล็กมีค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสสมมูลกับอัลโลพูรินอล 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สูงกว่า 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลจากการศึกษาพบว่ามีสารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส แต่เนื่องจากสารสกัดที่ใช้ในครั้งการศึกษาครั้งนี้เป็นสารสกัดหยาบ อาจทำให้ฤทธิ์ที่ได้ไม่แรงมากพอ

จากผลการศึกษาทำให้ทราบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสมีความสัมพันธ์กัน ทั้งนี้เนื่องจากปฏิกิริยาที่เร่งโดยแซนทีนออกซิเดสเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าวไปข้างต้น ดังนั้นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระบางชนิดจึงมีฤทธิ์ต้านการทำงานของแซนทีนออกซิเดสได้ ซึ่งเห็นได้จากผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่ามีสารมาตรฐานและสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านทั้งอนุมูลอิสระและแซนทีนออกซิเดส นอกจากนี้ ยังพบว่ามีกลุ่มสารสำคัญที่มีการศึกษาและรายงานไว้ของสมุนไพรแต่ละชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและให้ฤทธิ์ต้านการทำงานของแซนทีนออกซิเดสในการศึกษานี้ เช่น สารสำคัญในว่านหมาว้อ[21] และว่านชักมดลูก[22] คือ เคอร์คูมินอยด์ ส่วนสารสำคัญที่พบในสารภี[23] ฝาง[24] กระเจี๊ยบแดง[25] แพว[26] พลู[27] พอก[28] และเสี้ยวแดง[29] คือ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารสำคัญที่พบในบัวหลวง[30] คือ เควอซิทิน (quercetin) ส่วนในบุนนาค สมอไทย[23] และอบเชย[31] พบสารกลุ่มแทนนิน (tannin) สารสำคัญที่พบในจันทน์ที่ทำให้จันทน์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[32] และฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสคือสารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) นอกจากนี้ สารสำคัญที่พบในย่านางและทับทิม คือ สารกลุ่มแอลคาลอยด์[33] มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่ไม่พบฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส ส่วนเดือยมีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kou และคณะ[34] และ Hu และคณะ[35] ส่วนสารสกัดโกฐพุงปลาไม่มีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Sweeney และคณะ[36] นั่นคือ พืชที่อยู่ในวงศ์ Asclepiadaceae ไม่มีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส ส่วนติ้วมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่ไม่พบฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Udomchotphruet[37] แต่อย่างไรก็ตาม กลไกในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของสารต่าง ๆ นั้นมีหลายกลไก เช่น การที่สารมีโครงสร้างคล้ายกับสารตั้งต้นที่มีความจำเพาะกับเอนไซม์มากกว่าสารดั้งเดิม หรือการที่สารมีโมเลกุลใหญ่และไปจับเอนไซม์ไว้ทำให้เอนไซม์ทำงานไม่ได้ เป็นต้น ซึ่งจะเห็นได้จากสารสกัดเดือยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วย DPPH assay อ่อน แต่มีฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสที่ดี ดังนั้นเพื่อพัฒนาสารจากสมุนไพรมาใช้เป็นยาในการรักษาโรคเกาต์โดยลดการสร้างกรดยูริก ควรแยกสารสกัดให้ได้ส่วนสกัดที่บริสุทธิ์มากขึ้น ศึกษาโครงสร้างสารสำคัญ แล้วสกัด หรือสังเคราะห์สารดังกล่าว เพื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง รวมถึงศึกษากลไกในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เพื่อนำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคเกาต์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่สำหรับการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. Akram M, Mohiuddin E, Hannan A, Usmanghani K. Comparative study of herbal medicine with allopathic medicine for the treatment of hyperuricemia. *J Pharmacog Phytother* 2010;2(6):86-90.
2. Umamaheswari M, AsokKumar K, Somasundaram A, Sivashanmugam AT, Remyaraju A, Subhadradevi V, et al. In vitro xanthine oxidase inhibitory activity of the fractions of *Erythrina stricta* Roxb. *J Ethnopharmacol* 2009;124:646-648.
3. Nguyen MT, Awale S, Tezuka Y, Tran QL, Watanabe H, Kadota S. Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants. *Biol Pharm Bull* 2004;27(9):1414-1421.
4. Sweeney AP, Wyllie SG, Shalliker RA, Markham JL. Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *J Ethnopharmacol* 2001;75:273-277.
5. Iio M, Moriyama A, Matsumoto Y, Takaki N, Fukumoto, M. Inhibition of xanthine osidase by flavonoids by folate compounds and amethopterin. *J Biol Chem* 1985;259:12–15.
6. Costantino L, Albasini A, Rosetelli, Bevenutt S. Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. *Planta Medica* 1992;58:342–344.
7. Hatano T, Yasuhara T, Yoshihara R, Agata I, Noro T, Okuda T. Effects of interaction of tannins with co-existing substances. Inhibitory effects of tannins and related polyphenols on xanthine oxidase. *Chem Pharm Bull* 1990;38:1224–1229.
8. Cakir A, Mavi A, Yildirim A, Duru ME, Harmandar M, Kazaz C. Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *J Ethnopharmacol* 2003;87:73–83.
9. Cos P, Ying L, Calomme M, Hu JP, Cimanga K, Poel BV, et al. Structure- Activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J Nat Prod* 1998;61:71–76.
10. Lopez-Lazaro M. Flavonoids as anticancer agents: structure activity relationship study current medicinal chemistry. *Anti-cancer Agents* 2002;2:691–714.
11. McCUne RS, Johns T. Antioxidant activity in the medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the indigenous peoples of North American boreal forest. *J Ethnopharmacol* 2002;82:197-295.
12. Umamaheswari M, AsokKumar K, Somasundaram A, Sivashanmugam T, Subhadradevi V, Ravi TK. Xanthine oxidase inhibitory

activity of some Indian medical plants. *J Ethnopharmacol* 2007; 109(3):547-551.

13. Aitken RJ, Buckingham D, Harkiss D. Use of a xanthine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa. *J Reproduct Fertility* 1993;97:441-450.
14. Dincer HE, Dincer AP, Levinson DJ. Asymptomatic hyperuricemia: to treat or not to treat. *Cleve Clin J Med* 2002;69:594–608.
15. Augustin AJ, Boker T, Blumenroder SHH, Lutz J, Spitznas M. Free radical scavenging and antioxidant activity of allopurinol and oxypurinol in experimental lens-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35(11):3897-3904.
16. Moorhouse PC, Grootveld M, Halliwell B, Quinlan JG, Gutteridge JMC. Allopurinol and oxypurinol are hydroxyl radical scavengers. *FEBS Lett* 1987;213(1):23-28.
17. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarin J Sc Technol* 2004;26(2):211-219.
18. Sahgal G, Ramanathan S, Sasidharan S, Mordi MN, Ismail S, Mansor SM. In vitro antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic *Swietenia mahagoni* seed extracts. *Molecules* 2009;14:4476-4485.
19. Kong L, Yang C, Ge F, Wang H, Guo Y. A Chinese herbal medicine Ermiao wan reduces serum uric acid level and inhibits liver xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase in mice. *J Ethnopharmacol* 2004;93(3):325–330.
20. Wu N, Zu Y, Fu Y, et al. Antioxidant activities and xanthine oxidase inhibitory effects of extracts and main Polyphenolic compounds obtained from *Geranium sibiricum* L. *J Agric Food Chem* 2010;58: 4737–4743.
21. Nahar L, Sarker SD. Photochemistry of the Genus Curcuma. New York. Taylor & Francis Group, LLC, 2007: pp.71-106.
22. Masuda T, Isobe J, Jitoe A, Nakatani N. Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza*. *Phytochemis* 1992;31(10): 3645-3647.
23. ก่องกานดา ชยามฤต, ลีนา ผู้พัฒนพงศ์. สมุนไพรไทย ตอนที่ 6. กรุงเทพมหานคร. บริษัทประชาชนจำกัด, 2544.
24. Namikoshi M, Nakata H, Saitoh T. Homoisoflavonoids from *Caesalpinia sappan. Phytochemistry* 1987;26:1831-1833.
25. Ali BH, Wabel NA, Blunden G. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects *of Hibiscus sabdariffa* L. *Phytother Res* 2005; 19(5):369-375.
26. Lopez SN, Sierra MG, Gattuso SJ, Furlan RL, Zacchino SA. An unusual homoisoflavanone and a structurally-related dihydrochalcone from *Polygonum ferrugineum* (Polygonaceae). *Phytochemistry* 2006;67(19):2152-2158.
27. Chakraborty D, Shah B. Antimicrobial, antioxidative and antihemolytic activity of *Piper betel* leaf extracts. *Int J Pharm Pharm Sci* 2011; 3(3):192-199.
28. Montoro P, Braca A, Pizza C, De Tommasi N. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem* 2005;92(2):349-355.
29. พมมะวง ชาลีกาบแก้ว. การศึกษาฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดเสี้ยวแดงในการป้องกันการทำงานผิดปกติของไตและหลอดเลือดในหนูเบาหวาน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. อุบลราชธานี. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2551
30. Ling ZQ, Xie BJ, Yang EL. Isolation, characterization, and determination of antioxidative activity of oligomeric procyanidins from the seedpod of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *J Agric Food Chem* 2005; 53(7):2441-2445.
31. อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. การตรวจสอบแทนนินและโพลีฟีนอล. ใน: อ้อมบุญ ล้วนรัตน์ (บรรณาธิการ). การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. กรุงเทพมหานคร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2536: น.114.
32. Abdullah MIB. Physicochemical profiling and detection of phenolic constituents with antioxidant and antibacterial activities of *Myristica fragrans* Houtt. M. Sc. thesis. Malaysia. University Sains Malaysia, 2009.
33. ก่องกานดา ชยามฤต, ลีนา ผู้พัฒนพงศ์. สมุนไพรไทย ตอนที่ 7. กรุงเทพมหานคร. บริษัทประชาชน จำกัด, 2544.
34. Kuo CC, Shih MC, Kuo YH, Chiang W. Antagonism of free-radical-induced damage of adlay seed and its antiproliferative effect in human histolytic lymphoma U937 monocytic cells. *J Agric Food Chem* 2001;49(3):1564-1570.
35. Hu QH, Jiao RQ, Wang X, Lv YZ, Kong LD. Simiao pill ameliorates urate underexcretion and renal dysfunction in hyperuricemic mice. *J Ethnopharmacol* 2010;128(3):685-692.
36. Sweeney AP, Wyllie SG, Halliker RA, Markham JL. Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *J Ethnopharmacol* 2001;75(3):273-277.
37. Udomchotphruet S. Antioxidant activity of xanthones from stems of *Cratoxylum cochinchinense*. M. Sc. thesis. Bangkok. Chulalongkorn University, 2006.

Editorial note
Manuscript received in original form on April 10, 2011;
accepted in final form on July 22, 2011