

นิพนธ์ต้นฉบับ

**การศึกษาฤทธิ์สารสกัดตำรับห้าารากต่อเชื้อไวรัส SARS-CoV-2
สายพันธุ์เดลต้า (SARS-CoV-2 Delta variant)**

วันดี มีฉลาด^{1*} พิไลลักษณ์ อัครไพบุลย์ โอภาตะ¹ สิริชล กาละ¹

ธนัสภา ธนเดชากุล¹ พรชัย สิ้นเจริญโกโคย² และพิเชษฐ บัญญัติ³

¹สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

²สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

³กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail : wandeem@dmasc.mail.go.th

Received date: January 17, 2025; Revised date: June 16, 2025; Accepted date: June 16, 2025

บทคัดย่อ

การแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ได้ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ สังคม และเศรษฐกิจทั่วโลก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านไวรัสของสารสกัดสมุนไพรจากตำรับห้าารากประกอบด้วยสมุนไพรห้าชนิด ได้แก่ ขิง ขมิ้น ยานาง คนทา เท้ายายม่อม และมะเดื่อ ชุมพร โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ plaque reduction assay ในเซลล์เพาะเลี้ยง Vero cell line เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Delta ผลการทดลองพบว่าสารสกัดตำรับห้าารากมีฤทธิ์ยับยั้งไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Delta ได้ อย่างมีนัยสำคัญ โดยลดจำนวน plaque ได้เฉลี่ยร้อยละ 96.23 ที่ความเข้มข้นสูงสุดซึ่งไม่เป็นพิษต่อ เซลล์ (10 มก./มล.) ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสมุนไพรไทยในการต้านไวรัส SARS-CoV-2 และอาจเป็น แนวทางในการพัฒนาสมุนไพรเพื่อใช้รักษาโรคติดเชื้อไวรัสในอนาคต แม้ว่าผลการวิจัยจะเป็นที่น่าพอใจ แต่การศึกษาต่อเนื่องในระดับคลินิกเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารสกัดสมุนไพรจากตำรับห้าาราก รวมถึงการวิเคราะห์กลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุล และการทดสอบกับไวรัสสายพันธุ์อื่น ๆ ที่แพร่ระบาดในปัจจุบัน

คำสำคัญ: สารสกัดสมุนไพร ตำรับห้าาราก

The study of the effect of Ha-Rak extracts against the SARS-CoV-2 Delta variant

Wandee Meechalad^{1*}, Pilailuk Akkapaiboon Okada¹, Sirichol Kala¹, Thanutsapa
Thanadachakul¹, Pornchai Sincharoenpokai², and Phichet Banyati³

¹National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health

²Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health

³ Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi

*Corresponding author E-mail: wandee.m@dmsc.mail.go.th

Abstract

The Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) outbreak has had a profound impact on health, severely impacted and the global economic five roots remedy. This study aimed to evaluate the antiviral activity of herbal extracts from a five-root, which consists of five types of herbs: Chingchi, Ya-nang, Khonthaa, Arrowroot, and Chumphon Fig. The efficacy of the five-root remedy was tested using the plaque reduction neutralization assay in Vero cell lines to assess their effectiveness in inhibiting the Delta strain of SARS-CoV-2. The results indicated that the five-root formula extract exhibited a significant inhibitory effect on the Delta variant of SARS-CoV-2, with an average plaque reduction of 96.23% at the highest non-toxic concentration (10 mg/ml). These findings highlight the potential of Thai herbal extracts as antiviral agents against SARSCoV-2 and suggest their potential use in developing alternative herbal treatments for viral infections. Despite these promising results, further clinical studies are necessary to validate the efficacy and safety of the five-root herbal extract. Additionally, research should focus on understanding the molecular mechanisms of action and testing the efficacy of these extracts against other currently circulating viral strains.

Keywords: herbal extract, five-root remedy

บทนำ

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ยังคงเป็นภัยคุกคามที่สำคัญต่อสุขภาพของประชากรทั่วโลก แม้ว่าการฉีดวัคซีนและมาตรการควบคุมโรคจะมีบทบาทในการลดการแพร่ระบาด เชื้อไวรัส SARS-CoV-2 จัดอยู่ในตระกูล Coronaviridae และมีสารพันธุกรรมเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว ความยาว ประมาณ 30,000 คู่เบส สามารถแพร่กระจายผ่านละอองฝอย (droplet) และการสัมผัสโดยตรง (direct contact) มี ระยะฟักตัวประมาณ 14 วัน อาการของโรคประกอบด้วย ไข้ ไอ หายใจลำบาก และในกรณีรุนแรงอาจเกิดปอดอักเสบ โรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง หรือไตวาย จนอาจนำไปสู่การเสียชีวิตได้

แต่การค้นพบและพัฒนาายที่มีศักยภาพในการยับยั้งไวรัส เชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ยังคงเป็นเรื่องที่ได้รับความสนใจอย่างมาก การกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ในสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่แพร่ระบาดในประเทศไทยจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งเช่น สายพันธุ์ Delta และ Omicron เพราะจะช่วยให้สามารถวิเคราะห์ได้ว่าเชื้อไวรัสที่กลายพันธุ์มีผลต่อการแพร่กระจายของโรค ความรุนแรงของอาการ การรักษาและการตอบสนองต่อวัคซีนอย่างไร ⁽¹⁻⁶⁾

ประเทศไทยมีการใช้สมุนไพรแบบดั้งเดิมในการรักษาโรคมายาวนาน หนึ่งในตำรับสำคัญคือ ตำรับหาราก หรือเบญจโลภิกะวิชยนต์ ซึ่งประกอบด้วยสมุนไพรห้าชนิด ได้แก่ ใต้แก่ ใต้แก่ รากชิงชี (*Capparis micracantha* DC.) ราก ย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels) รากเท้าายม่อม (*Clerodendrum indicum* (L.) Kuntze) รากคนทา (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.) และรากมะเดื่อชุมพร (*Ficus racemosa* L.) ตำรับยานี้มีการใช้มาแต่ โบราณในการรักษาอาการไข้ โดยมีสรรพคุณช่วยขับพิษไข้

สำหรับฤทธิ์ทางชีวภาพกับการรักษาไข้ของตำรับหารากและบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักของประเทศไทยการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้กับสมุนไพรแบบดั้งเดิมอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการต่อสู้กับโรคติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ซึ่งยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ ⁽⁷⁻¹⁰⁾ คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการศึกษาเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรจากตำรับหารากในการยับยั้งการติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 (สายพันธุ์ Delta) ในเซลล์เพาะเลี้ยง โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ plaque reduction assay การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรจากตำรับหารากและสมุนไพรอื่นๆ ในการยับยั้งเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 (สายพันธุ์ Delta) ในหลอดทดลอง โดยใช้วิธีมาตรฐานที่นิยมใช้กันทั่วไปในการวัดการยับยั้งการติดเชื้อของไวรัส ได้แก่ วิธี plaque reduction assay นอกจากจะเป็นการยืนยันถึงศักยภาพของสมุนไพรไทยในการต่อต้านเชื้อไวรัสแล้ว ผลการศึกษานี้ยังสามารถเป็นแนวทางในการพัฒนาสมุนไพรไทยให้เป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคติดเชื้อไวรัสต่างๆ ในอนาคต ซึ่งจะช่วยลดการพึ่งพาจากต่างประเทศ และส่งเสริมการใช้ทรัพยากรธรรมชาติในท้องถิ่นอย่างยั่งยืน

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านไวรัสของสารสกัดสมุนไพรจากตำรับหาราก ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Delta โดยใช้วิธี plaque reduction assay ในการทดลองระดับหลอดทดลอง (*in vitro*)

ระเบียบวิธีศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดตำรับยาห้าราก

ตำรับห้ารากได้รับความอนุเคราะห์จากนายไกรสิทธิ์ ลิ้มประเสริฐ (พทว.13150 พท.ภ.13761 พท.ผ.2001 บป.20) โดยจัดเตรียมตามยาสามัญประจำบ้านแผนโบราณ พ.ศ. 2561 และจัดอยู่ในบัญชียาสมุนไพร (บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ. 2555) จากนั้นนำมาสกัดโดยนำผงยาตำรับห้ารากสกัดโดยวิธีการ Reflux ด้วยน้ำกลั่น (สัดส่วนสมุนไพร : ตัวทำละลาย เท่ากับ 1:10) แล้วกรอง จากนั้นทำการกลั่นระเหยสุญญากาศ และทำแห้งแบบเยือกแข็ง เก็บสารสกัดยาตำรับห้ารากในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีโดยศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ด้วยโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin-layer chromatography, TLC) ใช้สารละลายของ n-hexane : acetone : ethyl acetate ในอัตราส่วน 70:20:5 เป็นน้ำยาแยก

2. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์เพาะเลี้ยง (Cytotoxicity assay)

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์เพาะเลี้ยง (cell toxicity) เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง Vero-CCL81 ที่ได้จาก American Type Culture Collection (ATCC) ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ 1×10^5 เซลล์/มล. อายุเซลล์ 18-24 ชั่วโมง บ่มใน 6-well plate หลุมละ 3 มล. เพื่อตรวจสอบสภาพเซลล์ว่ามีรูปร่างปกติดีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เจือจางตัวอย่างสมุนไพร แบบ 2-fold dilution ในหลอดทดสอบไร้เชื้อ ให้ได้ความเข้มข้น 100% (ไม่เจือจาง), 50%, 25% และ 12.5% โดยแต่ละความเข้มข้นเตรียมให้ได้ปริมาณเพียงพอสำหรับการทดสอบไปเติม growth medium ใน 6 well plate ที่แล้วล้างเซลล์ด้วย diluent media 2 ครั้ง เตรียมการทดสอบแบบ duplicate plate แต่ละเพลท ที่ความเข้มข้น 100, 50%, 25% และ 12.5% ตามลำดับ หลุมๆละ 200 ไมโครลิตร นำไปบ่มในตู้ CO₂ incubator 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เคาะเพลทเบาๆ ทุก 15 นาที เพื่อให้น้ำยากระจายคลุมทั่วหลุมเมื่อครบเวลาให้เติม maintenance medium ทุกหลุมๆ ละ 3 มล. ตรวจสอบสภาพของเซลล์เพาะเลี้ยงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวันจนครบ 7 วัน โดยเปรียบเทียบกับ cell control และบันทึกผล เพื่อหาความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่เกิด cell toxicity

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส (Plaque Reduction Assay)

เตรียม seed ไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Delta ที่คำนวณหาปริมาณไวรัสแต่ละความเจือจางที่ใช้ในการทดสอบการเกิด plaques จำนวน 50-75 plaques/ หลุม ที่ความเจือจางของ ไวรัสที่ $10^{-3.5}$ ใช้เป็นไวรัสควบคุม (Virus control) และใช้มีเดียแทนไวรัสเป็นเซลล์ควบคุม (Cell control) เลือกตัวอย่างสมุนไพรที่มีความเข้มข้นสูงสุดซึ่งไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง Vero-CCL81 ที่ได้จาก American Type Culture Collection (ATCC) ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ 1×10^5 เซลล์/มล.อายุประมาณ 18-24 ชม. ใน 6-well plate หลุมละ 3 มล. นำตัวอย่างสมุนไพรผสมกับไวรัส นำไปบ่มในตู้ CO₂ incubator 37° C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำสารสกัดที่ผสมไวรัสไปเติมลงในแต่ละหลุม (200 ไมโครลิตร) จากนั้นเขย่าเพลทเบา ๆ ทุก 15 นาที ระหว่างช่วงไวรัสถูกดูดซึม (virus absorption) นำ Overlay medium อุ่นใน water bath อุณหภูมิ 37 °C หลังจากบ่มครบ 1 ชั่วโมง ให้นำเพลทออกจาก CO₂ incubator แล้วเติม Overlay medium ลงในแต่ละหลุม (3 มล.) นำเพลทไป incubate ใน CO₂ incubator อุณหภูมิ 37 °C นาน 7 วัน เมื่อครบกำหนด ทำการ fix เซลล์โดยใช้ 5% Formaldehyde (3 มล. ต่อหลุม) ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 30 นาที เพื่อคงสภาพเซลล์ ดูดสารละลายในเพลททิ้งและล้างด้วยน้ำประปา

และย้อมด้วย Crystal violet โดยเติม 0.5% Crystal violet หลุมละ 0.5 มล. ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำประปา อ่านผลและวิเคราะห์ผล คำนวณหา เปอร์เซ็นต์การลดลงของ plaque โดยใช้สูตร

$$\%PR = 100 - \frac{\{(\text{ค่าเฉลี่ยของจำนวน plaque}) \times 100\}}{(\text{ค่าเฉลี่ยของปริมาณไวรัสควบคุม})}$$

PR = Plaque reduction

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากตำรับห้ารากสามารถยับยั้งเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Delta ได้ โดยวิธี plaque reduction assay โดยมีค่าเฉลี่ยการลดจำนวน plaque ร้อยละ 96.23 ที่ความเข้มข้นสูงสุดซึ่งไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (10 มก./มล.) เมื่อเทียบกับไวรัสควบคุมและเซลล์ควบคุม (ตามภาพที่ 1 และตารางที่ 1) ผลการวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการประเมินฤทธิ์ต้านไวรัสของสมุนไพรในระดับหลอดทดลอง (*in vitro*) และอาจเป็นแนวทางสำหรับการศึกษาต่อในระดับคลินิก

อภิปรายผล

ผลการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดจากตำรับห้ารากมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย รวมถึงแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสามารถยับยั้งไวรัสไข้เลือดออก ไข้สมองอักเสบ และชิคุนกุนยาได้ดี⁽¹¹⁻¹⁷⁾ แม้ว่าผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะชี้ให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรจากตำรับห้ารากมีฤทธิ์ยับยั้งไวรัส SARS-CoV-2 ได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ผลการทดลองยังคงเป็นข้อมูลเบื้องต้นจากการศึกษาระดับหลอดทดลอง (*in vitro*) ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อในระดับที่สูงขึ้น การศึกษาต่อเนื่องในระดับคลินิกจึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารสกัดสมุนไพรจากตำรับห้ารากในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 นอกจากนี้ ควรมีการศึกษาต่อยอดเพื่อวิเคราะห์กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดในระดับโมเลกุล และทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสต่อสายพันธุ์อื่น ๆ ที่มีการแพร่ระบาดในปัจจุบัน การวิจัยในด้านนี้อาจนำไปสู่การพัฒนาสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย ซึ่งสามารถลดการพึ่งพายานำเข้าจากต่างประเทศ และส่งเสริมการใช้ทรัพยากรสมุนไพรในประเทศอย่างยั่งยืน นอกจากนี้ยังเป็นโอกาสในการพัฒนาอุตสาหกรรมสมุนไพรไทยให้มีมาตรฐานสูงขึ้น เพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อไวรัสในระดับสากล

ข้อสรุป

ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรจากตำรับห้ารากมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Delta อย่างมีนัยสำคัญในหลอดทดลอง โดยมีค่าเฉลี่ยในการลดจำนวน plaque ถึงร้อยละ 96.23 ที่ความเข้มข้นสูงสุดซึ่งไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (10 มก./มล.) การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยกราฟหาค่า IC50 มีค่าเท่ากับ 2.83 มก./มล. (ตามภาพที่ 2) ซึ่งยืนยันถึงศักยภาพของสมุนไพรไทยในการต้านไวรัส SARS-CoV-2

กิตติกรรมประกาศ

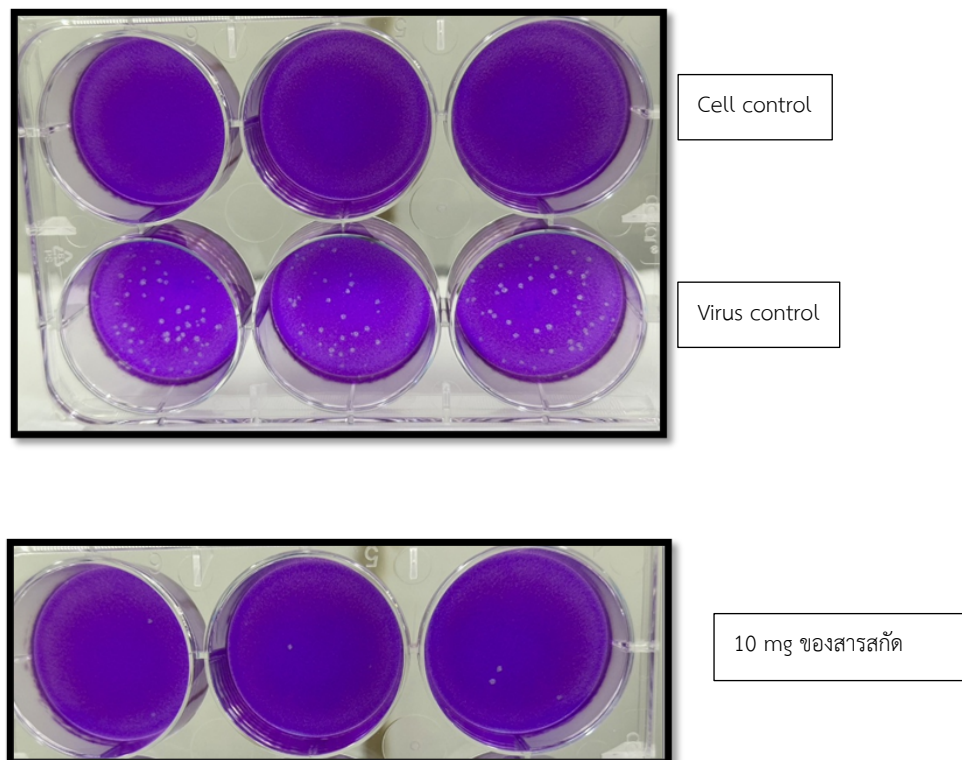
งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุน จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ขอขอบพระคุณนาย ไกรสิทธิ์ ลี้มประเสริฐ นายกสมาคมเวชกรรมไทย ใน การจัดเตรียมยาตำรับห้ารากและยาตำรับประสะ เปราะใหญ่ นายศักดิ์วิชัย อ่อนทอง ห้องปฏิบัติการ พิพิธภัณฑ์พืช สถาบันวิจัยสมุนไพร ในการเก็บ รวบรวมพันธุ์พืชสมุนไพรในการวิจัย

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

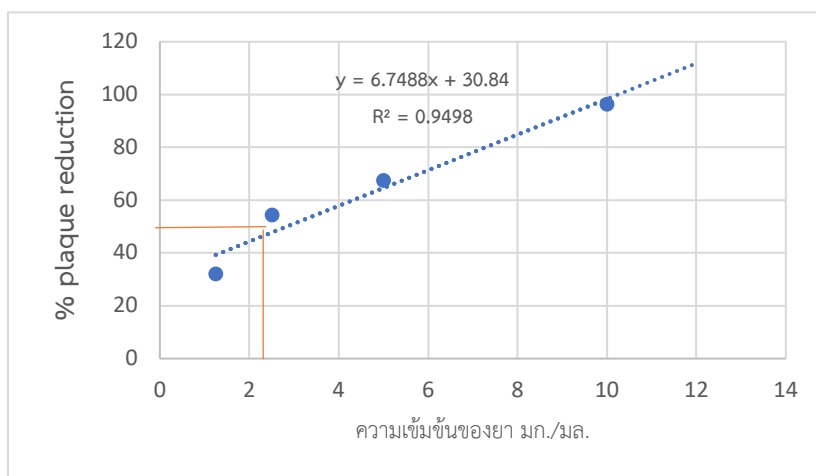
ตารางที่ 1 ตารางแสดงผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อ SARS-CoV-2 (สายพันธุ์ Delta)

ชื่อยา	ความเข้มข้นของยา mg/ml	หลุม 1	หลุม 2	หลุม 3	เฉลี่ย Mean±SD	% PR
สารสกัดหำราก	10	2	1	3	2±1	96.23
	5	25	20	21	22.00±2.64	67.26
	2.5	30	32	30	30.67±1.15	54.37
	1.25	50	48	39	45.67±5.85	32.04

ค่าเฉลี่ยของไวรัสควบคุม 53



ภาพที่ 1 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อ SARS-CoV-2 (สายพันธุ์ Delta)
เมื่อเทียบกับไวรัสควบคุมและเซลล์ควบคุม



ภาพที่ 2 กราฟแสดงการหาค่า IC50

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization, Africa Region. **WHO supports scientifically-proven traditional medicine.** สืบค้นเมื่อ 8 ตุลาคม 2567, จาก <https://www.afro.who.int/news/who-supports-scientifically-proven-traditional-medicine>.
2. Ang L, et al. (2022). Herbal medicine for COVID-19: An overview of systematic reviews and meta-analysis. **Phytomedicine.** 102,154136.
3. Department of Medical Services, Ministry of Public Health. **COVID-19CPG for healthcare workers.** สืบค้นเมื่อ 11 ตุลาคม 2567, จาก https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/eng/file/guidelines/g_CPG_22Mar22.pdf.
4. Radapong S, et al. (2022). Anti-SARS-CoV-2 activity and Inhibition of ACE2 and TMPRSS2 expression of Ya-Prasa Pro Yai, Ya-Ha-Rak and Ya-Chanthalila traditional drug formulas [In Thai]. **Bulletin of the Department of Medical Sciences.** 64(2), 93–105.
5. พิไลลักษณ์ อัครไพฑูรย์ โอภาตะ และคณะ. (2563). การศึกษาจีโนมของเชื้อ SARS-CoV-2 ที่พบ ณ สนามมวยและสถานบันเทิง ในเขตกรุงเทพมหานคร ของประเทศไทย. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.** 62(3), 133-142.
6. Jindahra P, et al. (2022). Demographic and initial outbreak patterns of COVID-19 in Thailand. **Journal of Population Research.** 39(4), 567–88.
7. Wongsawat W, et al. (2022). Traditional Thai herbal medicine for treating COVID-19. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.** 15(3), 182-188.
8. Maikhunthod B, et al. (2024). Exploring the therapeutic potential of Thai medicinal plants: in vitro screening and in silico docking of phytoconstituents for novel anti-SARS-CoV-2 agents. **BioMed Central Complementary Medicine and Therapies.** 24, 274-297.
9. Klawikkan N, et al. (2011). Effect of Thai medicinal plant extracts against Dengue virus in vitro. **Mahidol University Journal of Pharmaceutical Science.** 38 (1-2), 13-18.
10. อำภา คนเชื้อ และคณะ (2551). การศึกษาฤทธิ์ลดไข้ของยาเบญจโลกวิเชียรในสัตว์ทดลอง. **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก.** 6(2), 41.
11. Juckmeta T, et al. (2012). Anti-inflammatory and antioxidant activities of Thai traditional medicine remedy called “Ya-Ha-Rak.” **Journal of Health Research.** 26(4), 205-210.
12. Aoki-Utsubo C, et al. (2018). Virucidal and Neutralizing Activity Tests for Antiviral Substances and Antibodies. **Bio-protocol.** 8 (10), 2855.
13. Singh M, et al. (2022). Antiviral agents for the treatment of COVID-19: Progress and challenges. **Cell Reports Medicine.** 3 (11), 100549.
14. Suwannarat W, et al. (2012). A clinical study phase I on safety of Thai medicinal formula “Benjalokawichien (Ha-Rak)” and each plant component extract. **Thammasat Medical Journal.** 12(4), 767-776.

15. Nuaeissara S, et al. (2011). Antimicrobial activity of the extracts from Benchalokawichian remedy and its components. **Journal of the Medical Association of Thailand.** 94(7), 172-177.
16. สุมนา จินดาพงษ์ และคณะ. (2553). การพัฒนาเจลแต้มสิวจากสารสกัดเปลือกมังคุดและตำรับเบญจโลกวิเชียร. **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก.** 8(2), 29.
17. Jongchanapong A, et al. (2010). Antipyretic and anti-nociceptive effects of Ben-cha-lo-ka-wi-chian remedy. **Journal of Health Research.** 24(1): 15-22.