ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน

วิทยานิพนธ์

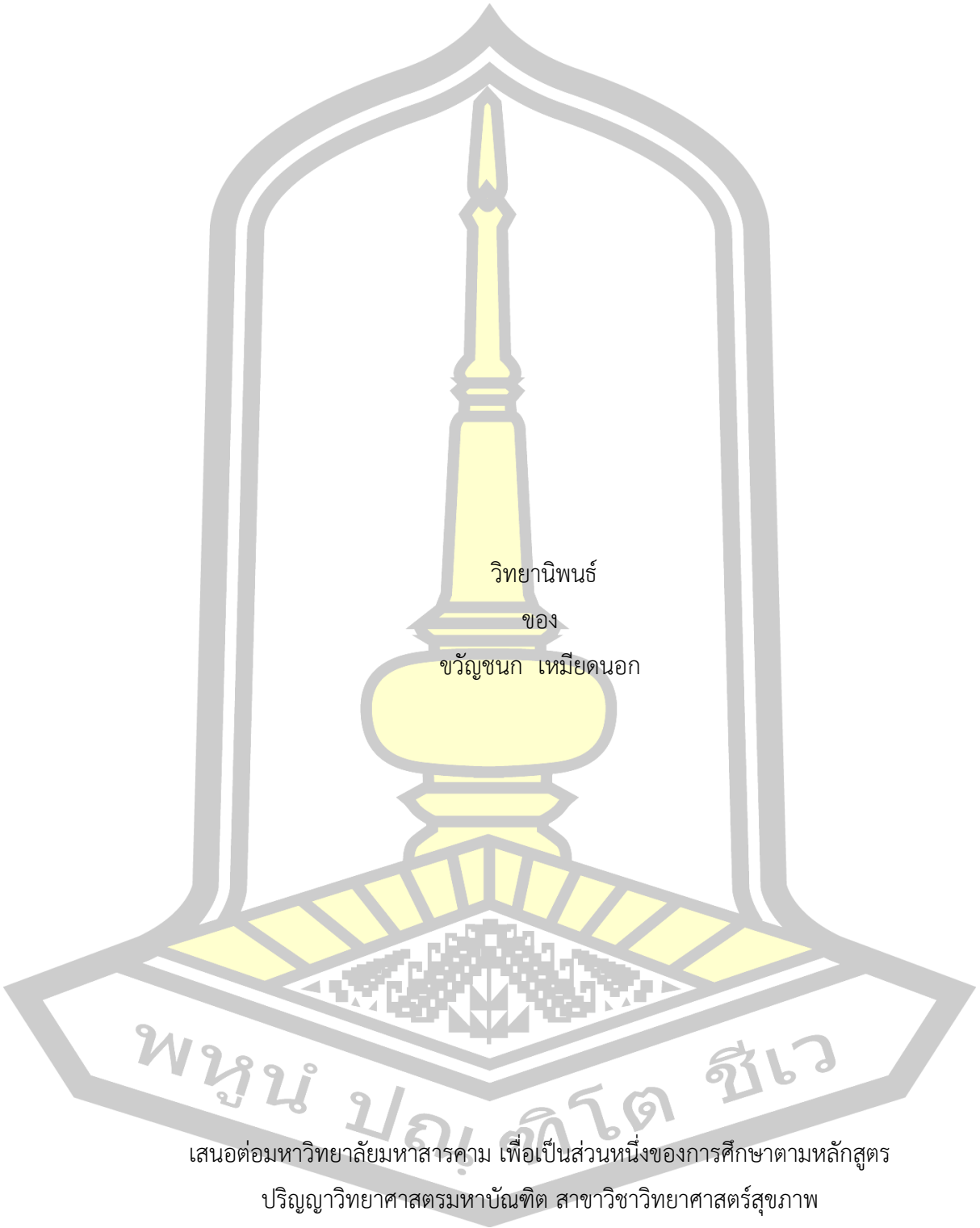
ของ

ขวัญชนก เหมียดนอก

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ
สิงหาคม 2562

สงวนลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน



วิทยานิพนธ์

ของ

ขวัญชนก เหมียดนอก

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

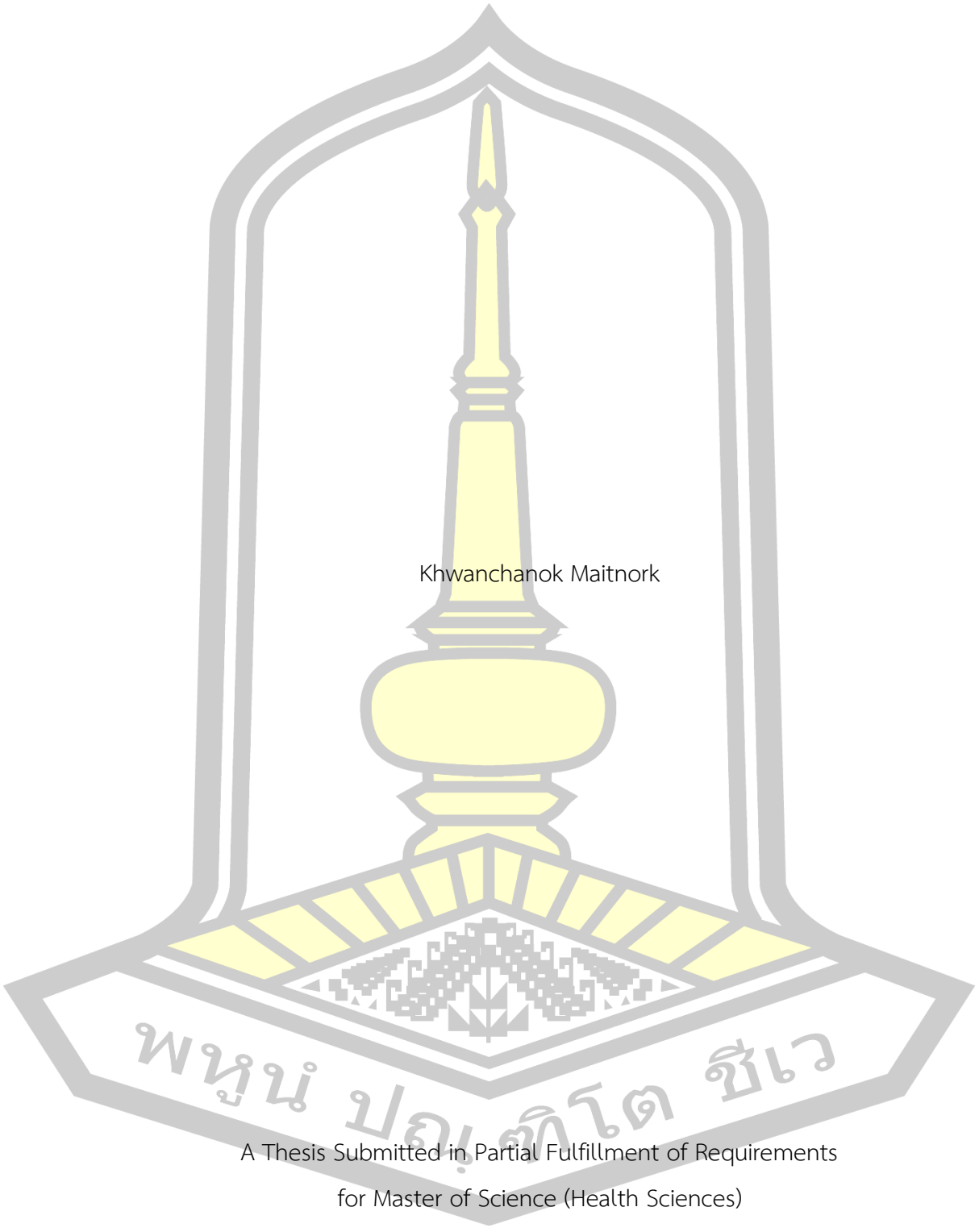
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ

สิงหาคม 2562

สงวนลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Antioxidant Activities of Koklan Medicinal Remedy Extracts

Khwanchanok Maitnork



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements

for Master of Science (Health Sciences)

August 2019

Copyright of Mahasarakham University

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวขวัญชนก เหมียดนอก แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รศ. ดร. ปราโมทย์ ทองกระจาย)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ดร. อำภา คนซื่อ)

.....กรรมการ
(ผศ. ดร. ธีรพร กทิศาสตร์)

.....กรรมการ
(รศ. ดร. ชูศรี ตลับมุข)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....
(ผศ. นพ. เทพลักษ์ ศิริธนะวุฒิชัย)
คณบดีคณะแพทยศาสตร์

.....
(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน
ผู้วิจัย ขวัญชนก เหมียดนอก
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. อำภา คนซื่อ
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** วิทยาศาสตร์สุขภาพ
มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม **ปีที่พิมพ์** 2562

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำจากยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ซึ่งสกัดด้วยวิธีการต้มและชง โดยใช้วิธี total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), Ferric reducing antioxidant power (FRAP), scavenging of 2,2-diphenyl-1-pycrylhydrazyl (DPPH) และ $ABTS^{+}$ radical scavenging ตามลำดับ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดเท่ากับ 13.75±0.09 mgGEA/gET ในขณะที่ตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 40.79±0.54 mgQE/gEt เมื่อทดสอบด้วยวิธีการ FRAP พบว่าตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง มีศักยภาพในการรีดิวซ์สูงที่สุดเท่ากับ 38.48±0.38 mgTE/gEt เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ $ABTS^{+}$ แสดงให้เห็นว่า ตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม และ 2 ด้วยวิธีการต้ม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ IC_{50}=0.0011±0.0004 mg/ml และ IC_{50}=0.0017±0.00001 mg/ml ตามลำดับ ทั้งยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid และ Trolox อีกด้วยผลที่ได้รับเผยให้เห็นศักยภาพที่สูงในการต้านอนุมูลอิสระของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ควรค่าแก่การศึกษาวิจัยในส่วนของกลไกการออกฤทธิ์ให้ลึกยิ่งขึ้น เพื่อเป็นการเพิ่มความน่าเชื่อถือและสนับสนุนการแพทย์แผนไทยให้เป็นที่ยอมรับมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ยาผสมโคคลาน, โคคลาน, สารสกัดด้วยน้ำ

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

TITLE Antioxidant Activities of Koklan Medicinal Remedy Extracts

AUTHOR Khwanchanok Maitnork

ADVISORS Ampa Konsue , Ph.D.

DEGREE Master of Science **MAJOR** Health Sciences

UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2019

ABSTRACT

The purpose of this study is investigating the antioxidant activities of 3 Koklan medicinal remedy aqueous extract by using decoction and infusion method. By The total flavonoid contents (TFC), total phenolic (TPC), ferric reducing antioxidant power by Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay, scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and $ABTS^{+}$ radical scavenging assay respectively. The results of study demonstrate that the 1^{st} decoction remedy had the highest total phenolic contents of 13.75±0.09 mgGEA/gEt while 1^{st} infusion remedy had the highest total flavonoid contents of 40.79±0.54 mgQE/gEt. 3^{rd} infusion remedy had the highest reducing potency of 38.48±0.38 mgGEA/gEt by FRAP assay. By conducting DPPH assay and ABTS assay reveal that 3^{rd} decoction remedy and 2^{nd} decoction remedy had the highest antioxidant property of IC_{50}=0.011±0.00004 mg/ml และ IC_{50}=0.0017± 0.00001 mg/ml respectively, so there is higher antioxidant property than Ascorbic acid and Trolox. The results of this study reveal high potencials of antioxidant in 3 Koklan medicinal remedy, so they are worth for more profound research of mechanism of action to increase credibility and support Thai traditional medicine to be more acknowledge.

Keyword : Antioxidant Activities Koklan Medicinal Remedy Mallotus repandus Aquoes Extract

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้รับทุนส่งเสริมและพัฒนาการวิจัย สำหรับนิสิตปริญญาโท คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปีงบประมาณ 2562

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาอย่างสูงยิ่งจากรองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ ทองกระจาย ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.อำภา คนซื่อ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ชูศรี ตลับมุข และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรพร กทิศาสตร์ กรรมการสอบ ที่ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และตรวจแก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่องต่าง ๆ ของวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณมิตรสหาย ร่วมหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ และเจ้าหน้าที่คณะแพทยศาสตร์ทุกท่านที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือในการวิจัยด้วยดีตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การอบรมสั่งสอน สนับสนุนโอกาสทางการศึกษาและเป็นกำลังใจให้ผู้วิจัยเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณบิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน ตลอดจนบูรพาจารย์ผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ในการทาวิทยานิพนธ์นี้ จนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขวัญชนก เหมียดนอก

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพประกอบ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ภูมิหลัง 1

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย 3

1.3 ความสำคัญของงานวิจัย 3

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย 3

1.5 สถานที่ทำการวิจัย 4

บทที่ 2 ปริทัศน์เอกสารข้อมูล 5

2.1 อนุมูลอิสระ 5

2.2 ภาวะเครียดออกซิเดชัน 7

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ 7

2.4 การวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ 12

2.5 การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 13

2.6 สารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 14

2.7 ข้อมูลของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่อยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2555 15

2.8 โครงสร้างของตำรับยาไทย 16

2.9 ข้อมูลเบื้องต้นของสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในยาผสมโคคลาน 19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 40
3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช 40
3.2 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำโดยวิธีการต้ม 41
3.3 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำโดยวิธีการชง 42
3.4 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน 42
3.5 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล 44
บทที่ 4 ผลการวิจัย 45
4.1 ปริมาณ (%Yield) ของสารสกัดยาผสมโคคลาน 45
4.2 ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม 46
4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน 47
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 51
5.1 สรุปผล 51
5.2 อภิปรายผล 53
5.3 ข้อเสนอแนะ 56
บรรณานุกรม 57
ประวัติผู้เขียน 72

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ และขนาดที่ใช้ในแต่ละตำรับ 41

ตารางที่ 2 ปริมาณ (% yield) ของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่ได้จากวิธีการต้มและการชง 46

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชง ในการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ที่ศึกษาโดยวิธี FRAP assay DPPH assay และ ABTS assay 48

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

สารบัญภาพประกอบ

หน้า

ภาพที่ 1 แหล่งต่างๆของการเกิดอนุมูลอิสระและการทำลายดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระ 6

ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี หรือ ascorbic acid 8

ภาพที่ 3 โครงสร้างเคมีของ α-tocopherol 9

ภาพที่ 4 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ 10

ภาพที่ 5 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) ผลอ่อน (จ) และผลสุก (ง) โคคลาน 19

ภาพที่ 6 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) โด่ไม่รู้ล้ม 22

ภาพที่ 7 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค, ง) ทองพันชั่ง 25

ภาพที่ 8 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) มะตูม 28

ภาพที่ 9 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) ฝาง 32

ภาพที่ 10 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) เถาเอ็นอ่อน (ที่มา https://medthai.com/เถาเอ็นอ่อน) 35

ภาพที่ 11 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) สะค้าน 38

ภาพที่ 12 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชงสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีต้มและชง ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม (1 ต้ม) ตำรับที่ 2 ต้ม (2 ต้ม) และ ตำรับที่ 3 ต้ม (3 ต้ม) ตำรับที่ 1 ชง (1 ชง) ตำรับที่ 2 ชง (2 ชง) และตำรับที่ 3 ชง (3 ชง) รายงานผลปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) ในหน่วย mgGE/gExt โดย a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$ 49

ภาพที่ 13 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชงสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีต้ม ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม (1 ต้ม) ตำรับที่ 2 ต้ม (2 ต้ม) และ ตำรับที่ 3 ต้ม (3 ต้ม) ตำรับที่ 1 ชง (1 ชง) ตำรับที่ 2 ชง (2 ชง) และตำรับที่ 3 ชง (3 ชง) รายงานผลปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC) ในหน่วย mgQE/gExt โดย a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$ 49

ภาพที่ 14 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามวิธี FRAP assay ของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชง สารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีต้ม ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม (1 ต้ม) ตำรับที่ 2 ต้ม (2 ต้ม) และ ตำรับที่ 3 ต้ม (3 ต้ม) ตำรับที่ 1 ชง (1 ชง) ตำรับที่ 2 ชง (2 ชง)และตำรับที่ 3 ชง (3 ชง) รายงานผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในวิธี FRAP ในหน่วย mgTE/gExt โดยa,b,c, d, e และ f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05..... 50

ภาพที่ 15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามวิธี DPPH assay และ ABTS assay ของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชง สารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีต้ม ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม (1 ต้ม) ตำรับที่ 2 ต้ม(2 ต้ม) และ ตำรับที่ 3 ต้ม (3 ต้ม) ตำรับที่ 1 ชง (1 ชง) ตำรับที่ 2 ชง (2 ชง) และตำรับที่ 3 ชง (3 ชง) รายงานผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในวิธี DPPH และ ABTS เป็นค่า IC_{50} ในหน่วย µg/ml เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic และ Trolox โดย a, b, c, d, e, f และ h แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05..... 50

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ภูมิหลัง

ในยุคปัจจุบันผู้คนส่วนใหญ่ล้วนแต่มีความเสี่ยงที่จะเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) อันเนื่องมาจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกาย เช่น กระบวนการหายใจของเซลล์ อันเป็นปัจจัยภายในร่างกายหรือมลภาวะต่าง ๆ รอบตัว เช่น ควันบุหรี่ ไอเสียรถยนต์ ซึ่งเป็นปัจจัยภายนอก โดยภาวะเครียดออกซิเดชันนั้น เกิดจากความไม่สมดุลของการเกิดและการยับยั้งอนุมูลอิสระในร่างกาย การเกิดอนุมูลอิสระมากเกินไป จะก่อให้เกิดความเสียหายที่แสดงออกมาในรูปแบบของโรคภัยไข้เจ็บและโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ ต้อกระจก และโรคพาร์กินสัน นอกจากนี้ภาวะเครียดออกซิเดชันยังทำให้เนื้อเยื่อเกิดความเสียหาย เกิดภาวะเม็ดเลือดขาวสูง (leukocytes) มีการหลั่งโพรสตาแกลนดิน (prostaglandins) เพิ่มขึ้น ทำให้ไวต่อความเจ็บปวดมากยิ่งขึ้น[1] ทั้งยังเข้าไปทำลายหรือลดปริมาณไนตริกออกไซด์ (Nitric Oxide) ลง ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อได้รับปริมาณสารอาหารและออกซิเจนลดลง ส่งผลให้เกิดอาการปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อ ร่างกายจึงหาทางหลีกเลี่ยงและป้องกันมิให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยลดปริมาณอนุมูลอิสระและการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มาช่วยยับยั้งกระบวนการการเกิดอนุมูลอิสระที่ส่งผลต่อการทำลายเซลล์ภายในร่างกาย[2] การค้นหาสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพรต่าง ๆ จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน

สมุนไพรไทยเป็นสิ่งที่อยู่คู่กับวิถีชีวิตผู้คนและวัฒนธรรมการรักษาอาการเจ็บป่วยในประเทศไทยมาอย่างยาวนาน ประเทศไทยมีความได้เปรียบในด้านสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศที่ค่อนข้างร้อนและชื้น ที่ทำให้เกิดการกระจายตัวของพันธุ์สมุนไพรที่หลากหลายและกระจายตัวไปตามพื้นที่ต่าง ๆ ในประเทศ ผู้คนนิยมเพาะปลูกสมุนไพรไว้ตามครัวเรือน เพราะปลูกง่าย โตง่าย และสะดวกแก่การเก็บมาใช้งาน นอกจากจะใช้ในการประกอบอาหารแล้ว สมุนไพรเหล่านี้ยังได้รับการพัฒนาให้เป็นตำรับยาต่าง ๆ จนเกิดเป็นภูมิปัญญาที่ตกทอดสู่รุ่นลูกรุ่นหลาน ปัจจุบันคนไทยสมัยใหม่เริ่มตื่นตัวและเกิดความนิยมในการใช้ยาสมุนไพร จะเห็นได้จากการที่มีงานวิจัยในเชิงลึกของพืชสมุนไพรที่น่าเชื่อถือตีพิมพ์มากยิ่งขึ้น ทำให้เกิดการพัฒนาในด้านการสกัด การจัดเตรียม การทำให้บริสุทธิ์ การวิเคราะห์หรือดัดแปลงโครงสร้างทางเคมี เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในทางยามากยิ่งขึ้น และคุณสมบัติของสารในสมุนไพรไทยที่กำลังเป็นที่สนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน คงหนีไม่พ้นอนุมูลอิสระ เพราะเป็นต้นเหตุนำมาซึ่งโรคอันร้ายแรงมากมาย ดังนั้นการศึกษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ

ในสมุนไพรไทย เพื่อสร้างให้เกิดการพัฒนาไปสู่การรักษาให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจและจำเป็นอย่างมากในปัจจุบันและอนาคต[3]

ยาผสมโคคลานเป็นตำรับยาพื้นบ้านของอำเภอกุดชุม จังหวัดยโสธร ที่ได้รับความนิยมในการใช้ทั่วประเทศในการรักษาอาการปวดข้อ และปวดกระดูก บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2555 ในหมวดบัญชียาจากสมุนไพร ได้บรรจุยาผสมโคคลานเป็นยารักษากลุ่มอาการกล้ามเนื้อและกระดูก ใช้สำหรับรับประทาน บรรเทาอาการปวดเมื่อยตามร่างกาย มีทั้งหมด 3 ตำรับ โดยในตำรับที่ 1 และ 2 ประกอบไปด้วยสมุนไพรได้แก่ เถาโคคลาน โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ผลมะตูมอ่อน ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน โดยจะแตกต่างกันที่ปริมาณสัดส่วนของตัวยาสมุนไพรในแต่ละชนิด และตำรับที่ 3 ประกอบด้วยเถาโคคลาน เถาเอ็นอ่อน โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน แก่นฝาง เถาสะค้าน[4]

จากการศึกษาข้อมูลของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ พบว่า เถาโคคลาน มีสารสำคัญกลุ่ม triterpenes, bergenin และ mallorepine[4] ซึ่งสารสกัดเถาโคคลานมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[5] ฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ต้านการอักเสบ[6] และฤทธิ์ต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ในหลอดเลือดและเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี[7] โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น มีสารสำคัญกลุ่ม sesquiterpene, lactones และกลุ่ม guaianolide glucosides[3] สารสกัดรากโด่ไม่รู้ล้มมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[8,9] และฤทธิ์ต้านการอักเสบ[10] ทองพันชั่ง มีสารสำคัญกลุ่ม naphthoquinones และสารกลุ่ม lignans[4] สารสกัดใบทองพันชั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[11] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ลดไข้[12] และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย[13] ผลมะตูม มีสารสำคัญกลุ่ม coumarins[4] สารสกัดผลมะตูมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[14,15,16,17,18,19,20] ฤทธิ์ต้านการปวด ฤทธิ์ต้านการอักเสบ[17,21,22] และฤทธิ์ต้านการแพ้[17] แก่นฝาง มีสารสำคัญกลุ่ม flavonoid และสารกลุ่ม sterols[23] แก่นฝางมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[24,25,26] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ[27] ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย[28,29] ฤทธิ์ขยายหลอดเลือด[30] และฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์[31] เถาเอ็นอ่อน มีสารสำคัญกลุ่ม alkaloids และสารกลุ่ม cardenolides[32] สารสกัดเถาเอ็นอ่อนมีฤทธิ์ระงับปวด[33] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ[33,34] ฤทธิ์ปกป้องกระดูกอ่อน[33] ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย[35] และฤทธิ์ปกป้องตับ[36] เถาสะค้าน มีสารสำคัญกลุ่ม sesquiterpene lactones และสารกลุ่ม guaianolide glucosides[37] สารสกัดเถาสะค้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[24] ฤทธิ์ระงับปวด[38] และฤทธิ์ต้านการอักเสบ[38]

ถึงแม้จะมีข้อมูลสนับสนุนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรแต่ละชนิดในยาผสมโคคลาน แต่ยังไม่พบการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดโดยการต้มและการชง เพื่อเป็นการสนับสนุนภูมิปัญญาทางด้านการใช้สมุนไพรไทยและการแพทย์แผนไทยที่สืบทอดกันมาอย่างยาวนานและเพื่อแสดงให้เห็นว่าตำรับยาผสมโคคลานนั้นไม่ได้มีประโยชน์เพียงแค่แก้อาการปวดเมื่อยเท่านั้น แต่ยังมีฤทธิ์ที่โดดเด่นในด้านการต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย จึงเป็นการสนับสนุนยาสมุนไพรไทย

ให้มีมาตรฐานและความเป็นสากลเป็นที่ยอมรับอย่างแพร่หลายมากขึ้น อีกทั้งยังช่วยเพิ่มคุณค่าและความน่าเชื่อถือในการรักษาโรคของยาผสมโคคลานอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยการต้มและการชง

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยการต้มและการชง

1.3 ความสำคัญของงานวิจัย

1.3.1 เป็นข้อมูลสนับสนุนในเลือกการใช้ยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ และเพื่อเผยแพร่ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ให้กับประชาชน หน่วยงาน และบุคลากรที่เกี่ยวข้อง

1.3.2 เป็นการสร้างความเชื่อมั่น เป็นที่ยอมรับ และส่งเสริมการใช้ยาไทยในการรักษาโรค

1.3.3 นำข้อมูลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของยาผสมโคคลาน ไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การพัฒนาตำรับยา เครื่องสำอาง และอาหารเสริม

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1.4.1 พืชสมุนไพรที่ใช้สำหรับในการวิจัยครั้งนี้ ได้แก่ ยาผสมโคคลาน 3 ตำรับ ตำรับที่ 1 ในผงยา 100 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ผลมะตูมอ่อน ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน หนักสิ่งละ 25 กรัม ตำรับที่ 2 ในผงยา 105 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน หนัก 50 กรัม ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน หนัก 25 กรัม โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ผลมะตูมอ่อน หนักสิ่งละ 15 กรัม ตำรับที่ 3 ในผงยา 100 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน เถาเอ็นอ่อน แก่นฝาง เถาสะค้าน หนักสิ่งละ 20 กรัม โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน หนักสิ่งละ 10 กรัม เก็บพืชในอำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

1.4.2 ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง นำมาหาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี 2,2-

dipnenyl-1 picrylhdrazyl (DPPH) radical scavenging assay และทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS assay

1.5 สถานที่ทำการวิจัย

1.5.1 เตรียมสมุนไพรและสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง ที่อาคารผลิตยาและยาสมุนไพร คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามและห้องปฏิบัติการ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.5.2 ทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง ที่ห้องปฏิบัติการ ME 407 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

บทที่ 2
ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน ผู้วิจัยได้แบ่งหัวข้อในการค้นคว้ารวบรวมเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

2.1 อนุมูลอิสระ

2.2 ภาวะเครียดออกซิเดชัน

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

2.4 การวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

2.5 การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

2.6 สารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

2.7 โครงสร้างของตำรับยาไทย

2.8 ข้อมูลของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่อยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2555

2.9 สมุนไพรที่เป็นส่วนผสมของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

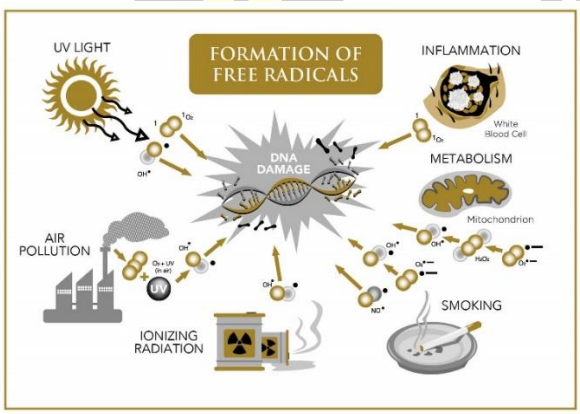
2.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวในวงจรรอบนอกสุดที่ไม่มีคู่ (unpaired electron) ทำให้อะตอมดังกล่าวมีความไม่เสถียร (unstable) และว่องไว (reactive) อะตอมหรือโมเลกุลของอนุมูลอิสระ จึงแย่งรับอิเล็กตรอนเดี่ยวหรืออิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่จากโมเลกุลหรืออะตอมอื่นเข้ามาไว้ในตัวมันเอง เพื่อให้มีความเสถียรและหมดสภาพความเป็นอนุมูลอิสระ โดยปกติแล้ว อะตอมของธาตุต่าง ๆ ที่มารวมกันเป็นโมเลกุลใหญ่นั้น จะต้องมีจำนวนโปรตอนและอิเล็กตรอนที่สมดุลกัน อิเล็กตรอนในแต่ละวงรอบวงโคจรหรือรอบวงออร์บิทัลของอะตอมจะอยู่ในสภาพจับคู่กันเสมอ จึงทำให้โมเลกุลดังกล่าวคงสภาพอยู่ได้เป็นปกติ แต่ถ้ามีเหตุและปัจจัยที่ทำให้รอบวงโคจรของอะตอมเกิดการสูญเสียอิเล็กตรอน จะทำให้โมเลกุลนั้นอยู่ในสภาพไม่คงตัว กลายเป็นอนุมูลอิสระ มีภาวะไม่อยู่นิ่ง โดยจะแย่งเอาอิเล็กตรอนของโมเลกุลข้างเคียงมาเติมให้กับตำแหน่งอิเล็กตรอนที่ขาดหายไปในวงโคจร ผลลัพธ์ที่ได้ โมเลกุลข้างเคียงนั้นจะดำเนินไปเป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ เป็นผลให้เกิดความเสื่อมสลายของโมเลกุลของสารอื่น ๆ ในเซลล์เป็นบริเวณกว้าง อนุมูลอิสระที่ไม่เสถียรและว่องไวทำให้เกิดปฏิกิริยากับอะตอมหรือโมเลกุลอื่นได้ง่าย อนุมูลอิสระจะมีอายุสั้นมาก

และเป็นสาเหตุของการทำลายหรือภาวะบาดเจ็บของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ เช่น ไขมัน ดีเอ็นเอ และโปรตีนในเซลล์ของร่างกาย

ตัวอย่างความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ เช่น ถ้าโมเลกุลที่เสียหายเป็นโปรตีนซึ่งเป็นโครงสร้างของเซลล์ เช่น คลอลาเจน ก็จะเป็นผลให้คลอลาเจนเสื่อมสภาพ เนื้อเยื่อเกิดความผิดปกติ ผิวหนังเหี่ยวย่น หลอดเลือดแข็งตัว เลนส์ตามีต้อกระจก การมองเห็นฝ้าฟาง ถ้ามีการทำลายโมเลกุลโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ สารสื่อประสาท รับผิดชอบต่อกระบวนการทางเคมี ก็จะเป็นสาเหตุให้เซลล์และเนื้อเยื่อไม่สามารถทำหน้าที่ปกติได้ เซลล์อาจมีความบกพร่องในการทำงาน ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ และอวัยวะต่าง ๆ มีความเสื่อมหรือชราภาพตามมา ผลเสียหายที่มีความรุนแรงมากกว่านั้นคือการทำลายโมเลกุลดีเอ็นเอจะเกิดผลร้ายต่อโครงสร้างและการแปลรหัสทางพันธุกรรม โครงสร้างดีเอ็นเอในเซลล์ผิดเพี้ยนไปจากเดิม มีการกลายพันธุ์ เซลล์จะเสียหน้าที่เดิมไป เซลล์ที่เกิดจากการแบ่งตัวของดีเอ็นเอที่ชำรุดนั้นก็จะเกิดความผิดปกติ เซลล์อาจตายหรือกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด อนุมูลอิสระสามารถทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อ เป็นสาเหตุทำให้เป็นโรคหลายอย่าง เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคข้ออักเสบ ต้อกระจก อวัยวะภายในเสื่อม โรคอื่นที่เกี่ยวข้องกับภาวะความเสื่อมและความชรา

แหล่งการเกิดอนุมูลอิสระมาจากทั้งภายในและภายนอกร่างกาย สำหรับแหล่งกำเนิดภายในร่างกาย ได้แก่ กระบวนการเมทาบอลิซึมในเซลล์ทั่วไป กระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนในไมโตคอนเดรีย กระบวนการทำลายเชื้อโรคในเซลล์เม็ดเลือดขาวพวกแมคโครฟาจและในเนื้อเยื่อที่มีการอักเสบ ส่วนแหล่งกำเนิดภายนอกร่างกาย ได้แก่ รังสียูวีในแสงแดด ควันไฟจากบุหรี่ การเผาไหม้และมลพิษจากโรงงาน[39]



ภาพที่ 1 แหล่งต่างๆของการเกิดอนุมูลอิสระและการทำลายดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระ

(ที่มา http://orogoldingredients.com/what-are-free-radicals/)

2.2 ภาวะเครียดออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากอนุมูลอิสระเกิดในกระบวนการเมทาบอลิซึมตลอดเวลา อาจก่อความเสียหายต่อส่วนประกอบของเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ ไขมัน และโปรตีน ในภาวะที่มีปริมาณอนุมูลอิสระมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว จะทำให้เกิดผลร้ายที่เรียกว่า ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ตามมา นั่นคือ มีภาวะที่ไม่มีความสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ ภาวะเครียดออกซิเดชันสามารถเกิดในเซลล์ทุกชนิด มีผลต่อการทำงานของเนื้อเยื่อและอวัยวะ เป็นสาเหตุของความชราและโรคต่าง ๆ นอกจากนี้ภาวะเครียดออกซิเดชันยังทำให้เนื้อเยื่อเกิดความเสียหาย เกิดภาวะเม็ดเลือดขาว (leukocytes) สูงทำให้มีการสร้างโพรสตาแกลนดิน (prostaglandins) ทำให้ไวต่อความเจ็บปวดมากยิ่งขึ้น ร่างกายจึงมีความจำเป็นที่จะหาหนทางหลีกเลี่ยงและป้องกันมิให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันขึ้น โดยการลดปริมาณอนุมูลอิสระและการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ[39]

Nitric oxide (NO) คือ โมเลกุลชนิดหนึ่งที่ร่างกายเราสามารถผลิตขึ้นเองได้ มีความสำคัญต่อสุขภาพที่ดีและสมรรถในการออกกำลังกายด้วย ถูกสร้างจากเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยเอนไซม์ inducible nitric oxidesynthase (iNOS) จัดเป็น inducible enzyme มีผลทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดขยายตัว เพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของสารอาหารและออกซิเจนทางผนังหลอดเลือด ซึ่งการขนส่งออกซิเจน (Oxygen) และ สารอาหาร (Nutrients) ไปยังเซลล์ต่าง ๆ ได้มากและเร็วขึ้น เมื่อเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน จะส่งผลต่อปริมาณไนตริกออกไซด์ ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อได้รับปริมาณสารอาหารและออกซิเจนลดลง ทำให้เกิดอาการปวดเมื่อยได้ ดังนั้น การรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง ๆ จะช่วยเพิ่มปริมาณไนตริกออกไซด์ เพื่อที่จะเข้าไปจัดการหรือลดปริมาณอนุมูลอิสระลง[2,40]

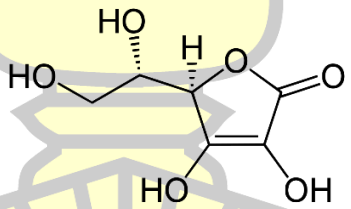
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

ในเซลล์ของคนและสัตว์มีเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ได้แก่ คาตาเลส (catalase) ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) และกลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) นอกจากนี้ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ เช่น กลูตาไธโอน และกรดยูริก นอกจากนี้ในพืชยังมีสารวิตามินซี วิตามินอี เบต้า-คาโรทีน คาโรทีนอยด์ สารโพลีฟีนอล และสารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ สารเหล่านี้สามารถป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือกำจัดอนุมูลอิสระลดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ก่อนที่จะเกิดความเสียหายต่อเซลล์ อย่างไรก็ตาม ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระยังมีประโยชน์ต่อเซลล์ ในสภาพปกติร่างกายพยายามจะควบคุมปฏิกิริยาการเกิด

ออกซิเดชันและการต้านออกซิเดชันให้อยู่ในระดับที่สมดุล มีความพอเหมาะและพอดีเสมอ แต่สภาพส่วนใหญ่ในปัจจุบันนี้ โดยเฉพาะเมื่อร่างกายได้รับสารมลพิษ จะทำให้สารต้านอนุมูลอิสระจากอาหารและสิ่งแวดล้อม รวมทั้งสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายจะไม่สามารถทำลายอนุมูลอิสระได้ทั้งหมด เราจำเป็นต้องรับประทานอาหารพวกพืชผัก ผลไม้ ถั่ว งาและธัญพืช ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระที่เข้มข้นให้มากขึ้น เพื่อลดภาวะเครียดออกซิเดชัน เป็นการป้องกันโรคและลดความเสี่ยงต่อการเจ็บป่วย รวมทั้งเป็นการชะลอความชราด้วย ตัวอย่างต่อไปนี้เป็นแหล่งของสารในกลุ่มวิตามินหรือสารพฤกษเคมีอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 กลุ่มวิตามิน

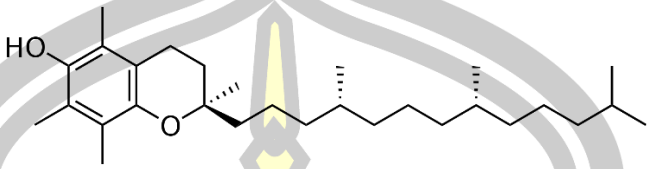
วิตามินซี หรือ ascorbic acid (ascorbate) เป็นสารประกอบแลคโตนที่มีคาร์บอน 6 อะตอม สังเคราะห์มาจากสารตั้งต้นคือ GDP-mannose จากโครงสร้างที่มีหมู่ไฮดรอกซิลด้วยกัน 4 หมู่ จึงทำให้วิตามินซีมีความสามารถในการละลายในน้ำได้ดี และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในส่วนที่เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ Cu^{+-}dependent monooxygenase และ Fe^{+-} dependent dioxygenase โดยเป็นตัวให้อิเล็กตรอนขณะที่เอนไซม์เกิดการทำงาน (one-electron reaction) พบมากในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น ส้ม ฝรั่ง มะขามป้อม นอกจากทำลายอนุมูลอิสระแล้ว ยังช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้แก่หลอดเลือด และมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างคอลลาเจนของร่างกาย



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี หรือ ascorbic acid
(ที่มา https://th.wikipedia.org/wiki/วิตามินซี)

วิตามินอี เป็นชื่อเรียกกลุ่มสารโทโคเฟอรอล (tocopherol) และโทโคไตรอีนอล (tocotrienol) พืชสังเคราะห์วิตามินอีมาจาก homogentistic acid วิตามินอีมีคุณสมบัติละลายในไขมัน และในธรรมชาติพบว่ามี โทโคเฟอรอลและโทโคไตรอีนอลที่มีโครงสร้างแตกต่างกันถึง 8 ชนิด อย่างไรก็ตาม พบว่าวิตามินอีที่อยู่ในรูป α-tocopherol แสดงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวเคมีของร่างกาย โดยเฉพาะการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเซลล์และป้องกันการออกซิไดซ์ไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein (LDL) oxidation) พบมากในธัญพืช เช่น ถั่วต่าง ๆ น้ำมันจากเมล็ดพืช เช่น ดอกทานตะวัน ข้าวโพด

ถั่วเหลือง และยังพบในมะม่วงสุก ฟักทอง แตงกวา และอะโวคาโด ทำหน้าที่สำคัญในการต่อต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ ตลอดจนเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน



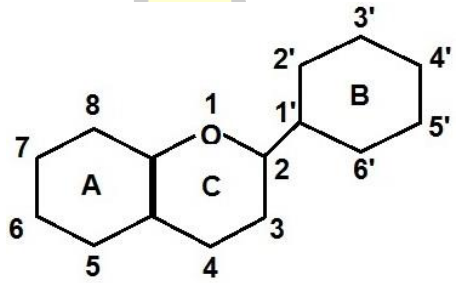
ภาพที่ 3 โครงสร้างเคมีของ α-tocopherol
(ที่มา https://th.wikipedia.org/wiki/โทโคฟีรอล)

2.3.2 กลุ่มสารพฤกษเคมีอื่นๆ

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (Aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดร็อกซิลอย่างน้อยหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งหมู่ในโมเลกุล สามารถละลายน้ำได้ ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิก มักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) สารประกอบฟีนอลิก ที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่ม และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน กลุ่มใหญ่ที่พบจะเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น phenol, phenyl, propanoid, phenolic, quinine และ polyphenolic ซึ่งได้แก่ lignin, melanin และtannin เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอลรวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน alkaloid และ terpenoid เป็นต้น[37] หน้าที่ของสารประกอบฟีนอลิกเหล่านี้ บางชนิดก็ทราบแน่ชัด เช่น lignin ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช สารในกลุ่มแอนโธไซยานิน เป็นสารที่ให้สีในผลไม้และดอกไม้ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญของพืชจำพวกถั่ว เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น flavonoid, phenolic acids และtannin เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิก ทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระ โดยมีกลไก 2 แบบ คือเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำ เมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะหน่วงเหนี่ยว หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอนออกซิเดชันได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็น chelating agent ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น quercetin โดยโครงสร้างมีตำแหน่ง (binding site) ที่สามารถดักจับไอออนของโลหะ เช่น ทองแดง ได้ 3 บริเวณ คือบริเวณ 3', 4'-dihydroxy ของวงแหวน B บริเวณ 3–hydroxyl, 4–keto ของวงแหวน C และบริเวณระหว่างตำแหน่ง 5–hydroxyl ของวงแหวน A กับตำแหน่ง

4–keto ของวงแหวน C สารประกอบ ฟีนอลิกยังทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ เป็นตัวให้ไฮโดรเจนและกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ด้วยหน้าที่ต่างๆ ดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืช[39,41]

กลุ่มฟลาโวนอยด์ จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบโพลีฟีนอลิก (polyphenolic compounds) ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่พืชสร้างขึ้นมาเพื่อใช้ประโยชน์ในกระบวนการป้องกันตัว มีรากศัพท์มาจากคำว่า flavus (ภาษาละติน) แปลว่าสีเหลือง เนื่องจากสารกลุ่มนี้มักเป็นสารที่มีสีซึ่งนอกจากสีเหลืองแล้ว ฟลาโวนอยด์ยังมีสีอื่น ๆ เช่น สีส้ม น้ำเงินแดง รวมถึงไม่มีสีอีกด้วย พบกระจายอยู่ทั่วไปทุกส่วน เช่น ใบ ดอก ผล เมล็ด เปลือกต้น เนื้อไม้ เป็นต้น ปัจจุบันมีโครงสร้างของสารแบบโพลีฟีนอลที่รู้จักกันกว่า 8,000 ชนิด ในบรรดาสารทั้งหมดนั้น ฟลาโวนอยด์จัดเป็นกลุ่มใหญ่ที่สุดในบรรดาสารโพลีฟีนอลทั้งหมด มีโครงสร้างทั่วไปเป็นแบบ diphenylpropanes (C6-C3-C6) ประกอบด้วยโครงสร้างวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) ที่มีธาตุคาร์บอนจำนวน 15 ตัว เรียงตัวกันในรูปวงแหวนเบนซีนจำนวน 2 วง เชื่อมต่อกันด้วยธาตุคาร์บอน 3 อะตอม



ภาพที่ 4 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

(ที่มา http://web2.mfu.ac.th/other/teainstitute/?p=295&lang=th)

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย (subgroups) ตามความแตกต่างกันของโครงสร้างวงแหวน C (heterocyclic C-ring) ได้เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ flavones, flavonols, flavanones, catechins, anthocyanidines และ isoflavones ทั้งนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารฟลาโวนอยด์ในแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างและองค์ประกอบ โดยเมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการออกฤทธิ์ (structure activity relationship) แล้วพบว่าความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารฟลาโวนอยด์ขึ้นอยู่กับความยากง่ายของการปลดปล่อยไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen atom donation) จากกลุ่มไฮดร็อกซิลที่อยู่บนโครงสร้างวงแหวนแอโรมาติก (aromatic hydroxyl group) ให้แก่อนุมูลอิสระ และความสามารถของสารโครงสร้างวงแหวนแอโรมาติกในการให้อิเล็กตรอนไร้คู่ (unpaired electron) อันเป็นผลมา

จากการเกิดการเวียนของอิเล็กตรอน (electron delocalization) นอกจากนี้ส่วนโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ก็นับว่ามีความสำคัญต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะส่วนของกลุ่ม 4’-OH และ 3’-OH โดยที่การเติมหมู่ไฮดร็อกซิลที่คาร์บอนอะตอมที่ตำแหน่ง ortho ของ C-4 พบว่าทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นได้อย่างมาก ทั้งนี้จำนวนหมู่ไฮดร็อกซิลที่มีอยู่บนวงแหวนก็นับว่ามีส่วนสำคัญต่อฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระโดยที่การมีจำนวนหมู่ไฮดร็อกซิล เช่น กลุ่มย่อย flavanol ที่มีจำนวนหมู่ไฮดร็อกซิลระหว่าง 5-8 หมู่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเปรียบเทียบค่า trolox equivalent antioxidant capaticy (TEAC) สูงกว่ากลุ่มย่อย isoflavone ที่มีหมู่ไฮดร็อกซิลบนวงแหวนระหว่าง 1-3 หมู่ โดยเฉพาะ ononin ซึ่งไม่มีหมู่ไฮดร็อกซิลจึงแสดงค่า TEAC ต่ำสุด

พืชผักผลไม้หลายชนิดที่ถูกนำมาบริโภคกันในชีวิตประจำวันมีสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะ flavonol, flavan-3-ol และ anthocyanidin ที่มีปริมาณมากในธรรมชาติ อีกทั้งมีความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารตัวอื่นๆในกลุ่ม สาร flavonol ที่สำคัญ ได้แก่ quercetin และ kaempferol พบมากในหัวหอมแดง แอปเปิ้ล องุ่นแดง บร็อกโคลี่ และผักใบเขียว สารในกลุ่ม flavan-3-ol ที่สำคัญได้แก่ catechins, epicatechins และ theaflavins ที่พบมากในชาเขียว และสารในกลุ่ม anthocyanin ที่มีหลายสีสัน ได้แก่ cyanide, delphinidin และ malvidin ซึ่งพบได้มากในข้าวก่ำหลายสายพันธุ์ มะเม่า ลูกหว้า และองุ่นแดง[39]

กลไกต้านการเกิดออกซิเดชันของฟลาโวนอยด์

1) การต้านอนุมูลอิสระโดยตรง ฟลาโวนอยด์เป็นสารที่ถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียร จากนั้นโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ที่ถูกออกซิไดซ์แล้วจะเกิดการไหลเวียนของอิเล็กตรอนที่เหลืออยู่ในโครงสร้าง ทำให้ฟลาโวนอยด์ที่เสียอิเล็กตรอนไปไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ เป็นการทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันสิ้นสุด เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของฟลาโวนอยด์กลุ่มต่างๆ ในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์เทียบกับอนุพันธ์วิตามินอี (trolox equivalent antioxidation capacity, TEAC) พบว่าส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์อยู่ที่การแทนที่ของหมู่ไฮดร็อกซิลที่ตำแหน่ง 3’ และ 4’ ของวงลี หรืออาจจะกล่าวได้ว่ามีโครงสร้าง catechol อยู่ในโมเลกุลสารกลุ่มฟลาโวนอลและฟลาโวนอยด์ นอกจากมีโครงสร้างแบบ catechol แล้ว การมีคอนจูเกตของพันธะคู่ตำแหน่ง 2, 3 กับคาร์บอนิลที่ตำแหน่ง 4 มีส่วนยุติปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ การที่ฟลาโวนอลมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ C-3 ของวงซีจะช่วยเสริมฤทธิ์สารกลุ่มนี้ให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าฟลาโวนอยด์ ส่วนกลุ่มฟลาวาโนนและ ไดไฮโดรฟลาโวนอลที่ไม่มีทั้ง catechol และระบบคอนจูเกตในวงซี จึงทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่ดี

2) ความสามารถในการคีเลตโลหะ ทั้งหมู่ไฮดร็อกซิลและระบบคอนจูเกตของฟลาโวนอยด์จะมีผลต่อการคีเลตโลหะ เช่น ทองแดง เหล็ก หรือแมงกานีส ซึ่งเป็นสารโปรออกซิเดนกลุ่มหนึ่ง จึงทำให้ลดปฏิกิริยาลงได้

3) การยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันการยับยั้งไนตริกออกไซด์ (NO) เป็นสารที่เซลล์บางชนิดในร่างกายสร้างขึ้น

2.4 การวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

มีรายงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติ และความน่าสนใจของสารกลุ่มนี้เกี่ยวกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จะเห็นได้ว่าในการศึกษา และวิจัยเรื่องสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดสมุนไพร ก็มักจะมีการรายงานปริมาณของสารในกลุ่มโพลีฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ร่วมด้วย โดยวิธีการที่นิยมใช้หาปริมาณสารทั้งสองกลุ่มนี้ ได้แก่

2.4.1 การหาปริมาณรวมของสารฟีนอลิก (total phenolic contents)

การทดสอบหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในตัวอย่าง ทดสอบด้วยการใช้สารละลาย folin-ciocalteu (F-C reagent) มีส่วนประกอบสำคัญคือ phosphomolybdate และ phosphotungstate ทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานของฟีนอลิก (นิยมใช้ garlic acid เป็นสารมาตรฐานของสารฟีนอลิก) หรือสารทดสอบที่ต้องการหาปริมาณรวมของฟีนอลิก จากนั้นจึงเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) บ่มปฏิกิริยาในที่มืด สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจากผลของฟีนอลิกที่มีต่อ F-C reagent จะมีสีน้ำเงินเข้ม และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นจะใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น การรายงานค่าของปริมาณทั้งหมดของสารโพลีฟีนอลิก จะแสดงในหน่วยน้ำหนักสมมูลมิลลิกรัมของ garlic acid (mgGEA/gEt)

2.4.2 การหาปริมาณรวมของสารฟลาโวนอยด์ (total flavonoids contents)

ทำการทดสอบด้วยการเติมสารละลายโซเดียมไนไตรต์ ($NaNO_2$) เพื่อทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานของฟลาโวนอยด์ (นิยมใช้ catechin หรือ quercetin เป็นสารมาตรฐานของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์) หรือสารทดสอบที่ต้องการหาปริมาณรวมของฟลาโวนอยด์ แล้วบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงเติมสารละลาย อะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารประกอบเชิงซ้อนที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นจะใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ในการรายงานค่าของปริมาณรวมของสารฟลาโวนอยด์ จะแสดงในหน่วยน้ำหนัก

สมมูลมิลลิกรัมของ catechin (mg catechin equivalent) หรือมิลลิกรัมของ quercetin (mgQE/gEt)

2.5 การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 ความสามารถในกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

DPPH คือ อนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (stable free radical) เป็นสารที่นิยมนำไปใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สนใจ ใช้หลักการของ $DPPH^{\bullet}$ ในรูปของอนุมูลอิสระ ที่อยู่ในสารละลายจะมีสีม่วงเข้ม และดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร การสูญเสียอิเล็กตรอนอิสระให้กับโมเลกุลอื่น โดยมีตัวรับอิเล็กตรอนคือสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารสกัดจากสมุนไพร จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์ (DPPH) ซึ่งการลดลงของอนุมูลอิสระดังกล่าวจะสังเกตได้จากการจางลงของสีม่วงจนจางลงเป็นสีเหลืองในสารละลาย ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สามารถวัดการค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ลดลงที่ความยาวคลื่นที่ 515 นาโนเมตร เป็นตัวชี้วัดของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น หรือก็คือการลดลงของ DPPH ที่มีผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ[3] ข้อดีของวิธีนี้คือ ง่าย สะดวกและรวดเร็ว สวนข้อเสียคือ $DPPH^{\bullet}$ ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาไดชา ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซแล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลงได้เช่นกัน[42]

2.5.2 ความสามารถในกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS 2,2'-azinobis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid)

ใช้หลักการเหมือนกับการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH แต่ในกรณี $ABTS^{\bullet+}$ เป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุเป็นบวก ในสารละลายจะมีสีเขียวปนน้ำเงินและมีค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่นสูงสุด (lmax) หลายค่าได้แก่ 415, 645, 734 และ 815 นาโนเมตร แต่ทั่วไปแล้วจะนิยมใช้ความยาวคลื่นที่ 415 และ 743 นาโนเมตร ในการติดตามปฏิกิริยา ในการลดลงของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าว จะใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (สีเขียวของสารละลายจางลง) ในการเตรียมอนุมูลอิสระของ ABTS เพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะมีขั้นตอนที่ยุ่งยากกว่าในกรณีของ DPPH นั่นคือ ต้องนำเอา ABTS ไปบ่มกับโพแทสเซียมเพอร์ซันเฟต ($K_2S_2O_8$) ด้วยอัตราส่วน 1:0.5 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เพื่อให้ได้อนุมูลอิสระที่เป็นประจุบวกของ $ABTS^{\bullet+}$ จึง

สามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งวิธีการคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน trolox กระทำเช่นเดียวกับวิธี DPPH ข้อดีของวิธีการนี้คือ $ABTS^{\bullet+}$ ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสียคือ $ABTS^{\bullet+}$ ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ[42]

2.5.3 การวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducingantioxidant power (FRAP)

หลักการของวิธีนี้จะวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ (คุณสมบัติเป็น reductant) จะใช้หลักการที่แตกต่างจากวิธี DPPH และ ABTS โดยในสารละลาย FRAP ประกอบด้วย Fe^{3+} และ 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) โดยในสภาวะที่เป็นกรด Fe^{3+} ใน FRAP reagent จะรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน หรือในสารสกัดจากสมุนไพรแล้วเปลี่ยนเป็น Fe^{2+} จากนั้นเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ TPTZ เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ จะวัดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Fe^{2+} และ TPTZ โดยค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่นดังกล่าวนี้จะใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น[2] วิธีการนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพงและสามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม แต่ข้อเสียคือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกายและสารละลายที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำปราศจากไอออนปราศจากไอออน (deionized water)

2.6 สารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ของสารสกัดสมุนไพรที่สนใจนั้น จะใช้การคำนวณเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่รู้ปริมาณของเนื้อสารหรือความเข้มข้นที่แน่นอน โดยการใช้วิธีการติดตามสารดังกล่าวด้วยปฏิกิริยาเคมีที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น ใช้การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบ ทั้งนี้สารมาตรฐานที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

2.6.1 วิตามินซี (ascorbic acid) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติที่มีกลไกการต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยให้อิเล็กตรอนอิสระบนโครงสร้างไปยังโมเลกุลของอนุมูลอิสระ เพื่อทำลายและลดความเป็นพิษของอนุมูลอิสระที่จะไปทำลายองค์ประกอบของเซลล์ วิตามินซีเป็นสารอีกตัวหนึ่งที่นิยมใช้เป็นสารมาตรฐานในการวัดปริมาณสารอนุมูลอิสระในสารสกัดสมุนไพร

2.6.2 วิตามินอี (α-tocopherol) และ trolox ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของวิตามินอี (vitamin E derivative) และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกตัวที่พบในธรรมชาติ จัดอยู่ในกลุ่มวิตามินที่ละลายในไขมัน ในอุตสาหกรรมอาหารจะเติมวิตามินอีลงไปเพื่อป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง คือ ช่วยป้องกันการเหม็นหืนของน้ำมัน ด้วยโครงสร้างทางเคมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ จึงได้มีการสังเคราะห์เป็นอนุพันธ์คือ 6-hydroxy-2,5,7,8-tertamethylchroman-2-carboxylic acid ชื่อทั่วไปคือ trolox ทำให้ละลายน้ำได้ดีขึ้น และใช้เป็นสารมาตรฐานในการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ โดยในรายงานวิจัยที่ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ นิยมใช้เป็นสารมาตรฐาน ในการวิเคราะห์หาปริมาณจะรายงานเป็นค่าน้ำหนักสมมูลกับ trolox (trolox equivalentantioxidant capacity, TEAC)

2.6.3 กรดแกลลิก (Gallic acid) คือ สารที่จัดอยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอลิก ด้วยโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยหมู่ไฮดร็อกซิล ภายในโมเลกุลสามารถให้อิเล็กตรอนกับโมเลกุลอื่นได้ดี ด้วยกลไกที่เหมือนกับวิตามินซี สารตัวนี้พบมากในลำต้นของกระเทียม (garlic bulbils) ซึ่งมีกลิ่นเฉพาะตัว สารตัวนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี ด้วยโครงสร้างทางเคมีทำให้ละลายได้ง่าย นิยมใช้เตรียมเป็นสารมาตรฐานในการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับ trolox และยังใช้เป็นสารมาตรฐานสำหรับการคำนวณหาปริมาณรวมของสารโพลีฟีนอลิกด้วย ในการวิเคราะห์จะรายงานค่าเป็นน้ำหนักสมมูลมิลลิกรัมของ gallic acid ต่อน้ำหนักแห้งของสารทดสอบ (mg gallic equivalent per gram dry matter, มีหน่วยเป็น mg GAE g-1 DM)

2.6.4 quercetin เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารนี้ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเสริมสุขภาพ โครงสร้างทางเคมีมีลักษณะเป็นอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ ที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี จึงเหมาะสำหรับการเตรียม และนำไปใช้เป็นสารมาตรฐานสำหรับการหาปริมาณรวมของฟลาโวนอยด์ในตัวอย่างทดสอบหรือสารสกัดจากสมุนไพร[3]

2.7 ข้อมูลของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่อยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2555

ในบัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2555 ได้บรรจุยาผสมโคคลานเป็นยารักษากลุ่มอาการกล้ามเนื้อและกระดูก ใช้รับประทาน เพื่อบรรเทาอาการปวดเมื่อยตามร่างกาย มีทั้งหมด 3 ตำรับ ได้แก่

ตำรับที่ 1 ในผงยา 100 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ผลมะตูมอ่อน ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน หนักสิ่งละ 25 กรัม

ตำรับที่ 2 ในผงยา 105 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน หนัก 50 กรัม ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน หนัก 25 กรัม โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ผลมะตูมอ่อน หนักสิ่งละ 15 กรัม

ตำรับที่ 3 ในผงยา 100 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน เถาเอ็นอ่อน แก่นฝาง เถาสะค้าน หนักสิ่งละ 20 กรัม โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน หนักสิ่งละ 10 กรัม

ขนาดและวิธีใช้ คือ ชนิดชง รับประทานครั้งละ 1 กรัม ชงกับน้ำร้อนประมาณ 120 – 200 มิลลิลิตร รับประทานวันละ 3 ครั้ง ก่อนอาหาร และชนิดต้ม โดยนำตัวยาทั้งหมดมาเติมน้ำให้ท่วมตัวยา ต้มน้ำเคี่ยวสามส่วนเหลือหนึ่งส่วน ดื่มครั้งละ 120 – 200 มิลลิลิตร รับประทานวันละ 3 ครั้ง ก่อนอาหาร[3]

ในตำรับยาไทย ประกอบด้วยองค์ประกอบสำคัญ ดังนี้

1. ตัวยาหลัก คือ แก้โรคและอาการของโรคโดยตรง
2. ตัวยาเสริมฤทธิ์ คือ ช่วยเสริมฤทธิ์ให้มีสรรพคุณดีและแรงยิ่งขึ้น
3. ตัวยาคุมฤทธิ์ คือ ทำให้ยาตัวหลักออกฤทธิ์ให้เป็นไปตามต้องการ สม่ำเสมอ หรือต้านฤทธิ์ที่ไม่ต้องการ
4. ตัวยาบำรุงธาตุ คือ กระตุ้นน้ำย่อย ทำให้อยากรับประทานอาหาร
5. ตัวยาระบาย คือ เพื่อขับถ่ายของเสียมิให้คั่งค้าง
6. ตัวยาแต่งกลิ่นรส คือ ช่วยให้รับประทานง่าย เช่น ฝาง พิมเสน คำฝอย

2.8 โครงสร้างของตำรับยาไทย

1. ตัวยาตรงหรือยาหลัก เป็นตัวยาที่มีสรรพคุณตรงต่อโรค และสมุฏฐานโรค หรือโรคหลักที่เป็นอาการสำคัญ หรือโรคที่มีอาการรุนแรงกว่าโรคอื่น ตัวยาตรงอาจเป็นเครื่องยาตัวเดียวหรือเป็นพิกัด เช่น

1.1 ผู้ป่วยเป็นไข้ท้องเสีย อาการสำคัญที่นำมาพิจารณาจัดตัวยาหลัก คือ อาการไข้ ส่วนอาการ ท้องเสีย เป็นโรคแทรกโรคตาม

ตัวยาตรง คือ ตัวยาที่มีสรรพคุณแก้ไข้ เช่น เบญจโลกวิเชียร รากมะกรูด รากมะนาว รากมะปรางหวาน บอระเพ็ด ปลาไหลเผือก เป็นต้น เลือกใช้ 1-5 ชนิด ให้เหมาะสมกับความหนักเบาของโรค และกำลังของคนไข้

1.2 ผู้ป่วยท้องเสียแล้วมีไข้ อาการหลัก คือ ท้องเสีย อาการแทรก คือ อาการไข้

ตัวยาตรง คือ ตัวยาที่มีสรรพคุณแก้ท้องเสีย ซึ่งเป็นตัวยาที่มีรสฝาด นิยมใช้ยารสฝาดเย็นหรือฝาดสุขุม เช่น เปลือกเฉียงพร้านางแอ ขมิ้นอ้อย เปลือกต้นแคแดง รากก้างปลาทั้งสอง เป็นต้น

1.3 ผู้ป่วยเป็นไข้ทับระดูหรือระดูทับไข้ ส่วนมากจะมีอาการเป็นไข้และปวดศีรษะรุนแรงอาการหลัก คือ อาการไข้ จึงต้องจัดยาแก้ไข้เป็นยาหลัก เพื่อรักษาอาการไข้ให้ทุเลาก่อน

ตัวยาตรง สามารถใช้ได้หลายตัว เช่น เบญจโลกวิเชียร

การให้ส่วนของตัวยาตรง นิยมให้ 1 ส่วน (ให้มากกว่าตัวยาช่วย หรือตัวยาคุมประมาณ 1 เท่า เว้นแต่ในกรณีที่ผู้ป่วยมีอาการของโรคหลัก และโรคแทรกโรคตามรุนแรงใกล้เคียงกัน จนจำเป็นต้องทำการตั้งยารักษาไปพร้อมๆกัน มิฉะนั้นอาการของโรคอาจไม่สามารถบรรเทาได้ น้ำหนักยาต่อ 1 ส่วน ถ้าตัวยามากอย่างให้ส่วนละหนัก 1 บาท (15 กรัม) ถ้าตัวยาน้อยอย่างให้ส่วนละหนัก 2-4 บาท

2. ตัวยาช่วย เป็นตัวยาที่มีสรรพคุณแก้โรคแทรกโรคตาม หรือโรคอื่นที่เป็นอาการรองในขณะนั้น เช่น

2.1 ผู้ป่วยเป็นไข้ท้องเสีย ตัวยาช่วยที่จะต้องนำมาใช้ คือ ตัวยาที่มีสรรพคุณเป็นยาแก้ท้องเสีย มักมีรสฝาดและจะต้องมีฤทธิ์ไม่ขัดกับตัวยาตรง มีฤทธิ์ไม่แรงเกินไป นิยมใช้ตัวยาที่มีรสฝาดสุขุม หรือ ฝาดเย็น เช่น เปลือกต้นแคทั้ง 2 รากก้างปลาแดง รากกล้วยตีบ โกฐพุงปลา เปลือกเฉียงพร้านางแอ เป็นต้น ใช้ 3-5 ชนิดตามความหนักเบาของโรค และกำลังคนไข้

2.2 ผู้ป่วยท้องเสียแล้วมีอาการไข้แทรก ตัวยาที่จะนำมาใช้ คือ ตัวยาที่มีสรรพคุณแก้ไข้ เช่น เบญจโลกวิเชียร รากมะกรูด รากมะนาว เป็นต้น

2.3 ผู้ป่วยเป็นไข้ทับระดูหรือระดูทับไข้ ตัวยาที่จะนำมาใช้ คือ ตัวยาแก้ไข้ทางโลหิตระดู เช่น ดอกคำไทย ดอกคำฝอย ฝางเสน แกแล ไพล ขมิ้นอ้อย เป็นต้น

การให้ส่วนของตัวยาช่วย นิยมให้เป็นครึ่งส่วน คือ ให้ครึ่งหนึ่งของตัวยาหลัก

3. ตัวยาคุมหรือยาประกอบ เป็นตัวยาที่จัดเสริมให้ยามีสรรพคุณดีขึ้น สามารถรักษาอาการโรคได้เร็ว ออกฤทธิ์เร็วหรือป้องกันโรคที่อาจมีตามมา หรือคุมฤทธิ์ของตัวยาอื่น อีกทั้งยังช่วยให้คนไข้มีร่างกายที่แข็งแรงขึ้น สามารถต่อต้านโรคได้ดี จะต้องมีสรรพคุณไม่ขัดกับยาตรงและยาช่วย เช่น

3.1 ผู้ป่วยเป็นไข้ท้องเสีย มักมีอาการอ่อนเพลีย ตัวยาประกอบควรมีสรรพคุณบำรุงกำลังบำรุงหัวใจ ทำให้ผู้ป่วยมีความชุ่มชื่น ต้องไม่มีฤทธิ์ที่แรงจนเป็นยาตรงหรือยาหลัก เช่น เกสรทั้ง 5 โกฐทั้ง 5 เทียนทั้ง 5

3.2 ผู้ป่วยท้องเสียแล้วมีอาการไข้แทรก ตัวยาที่ใช้เช่นเดียวกับข้อ 3.1

3.3 ผู้ป่วยเป็นไข้ทับระดูหรือระดูทับไข้ อาการแทรกซ้อนอื่น ๆ ที่อาจตามมา อาจมีได้หลายอาการ เช่น ชักตาเหลือก กำมือ มือเย็น-เท้าเย็น สลบหรือหมดสติ หัวใจอ่อน อ่อนเพลีย ตัวยาคุมที่ใช้ควรมีสรรพคุณแก้อ่อนเพลีย บำรุงหัวใจ แก้โลหิตระดูทำพิษ เช่น เหง้าไพล ขมิ้นอ้อย ว่านชักมดลูก โกฐทั้ง 5 เทียนทั้ง 5 ลูกคัดเค้า

การให้ส่วนของตัวยาคุมหรือยาประกอบ นิยมให้ครึ่งส่วน หรือ 1/4 ส่วน ตามความหนักเบาของโรค

ยาประกอบและยาช่วย สามารถใช้ในลักษณะของน้ำกระสายยาได้อีกทางหนึ่ง ซึ่งเป็นวิธีที่ดี สะดวกและนิยมใช้กันมาก

4. ตัวยาชูรสชูกลิ่น เป็นตัวยาที่ผสมเข้าไปเพื่อให้ง่ายต่อการใช้ยา มีกลิ่น สี และรสน่าใช้ ต้องมี สรรพคุณ ไม่ขัดกับโรคและตัวยาอื่น ๆ และไม่ทำให้เกิดพิษหรือโทษแก่ผู้ใช้ยา เช่น ผู้ป่วยเป็นไข้ท้องเสีย ใช้เกสรทั้ง 5 เป็นตัวยาประกอบซึ่งมีสรรพคุณกลิ่นและรสดีอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องเพิ่มตัวยาชูรสชูกลิ่นอีก

การให้ส่วนของตัวยาชูกลิ่นชูรส นิยมให้ 1/4 ส่วน หรือครึ่งหนึ่งของตัวยาประกอบ

หลักในการปรุงยาให้มีสรรพคุณดี จะต้องพิจารณาถึงตัวยา สรรพคุณของตัวยา น้ำหนักของตัวยา ความสะอาด ละเอียดรอบคอบ ประณีต จะต้องมีความรู้เกี่ยวกับการประสะ สะตุ หรือฆ่าฤทธิ์ตัวยา และจะต้องพิจารณาถึงวิธีการปรุงยาให้เหมาะสมว่าทำเป็นยาต้ม ยาบดเป็นผง ยาดอง เป็นต้น จึงจะได้สรรพคุณและฤทธิ์ยาเต็มที่ เหมาะสมกับโรคและคนไข้ รวมถึงการพิจารณาถึงขนาดและวิธีใช้ยาให้เหมาะสมกับคนไข้ อายุ กำลังของคนไข้ กำลังของโรค วิธีใช้ยา ความถี่การให้ยา ปริมาณยา เวลาที่ได้รับยาของคนไข้ หรือจะต้องให้ยาตามกาลสมุฏฐาน จะต้องพินิจพิเคราะห์ด้วยความรอบคอบ ละเอียดถี่ถ้วน ไม่ประมาทมักง่าย[41]

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

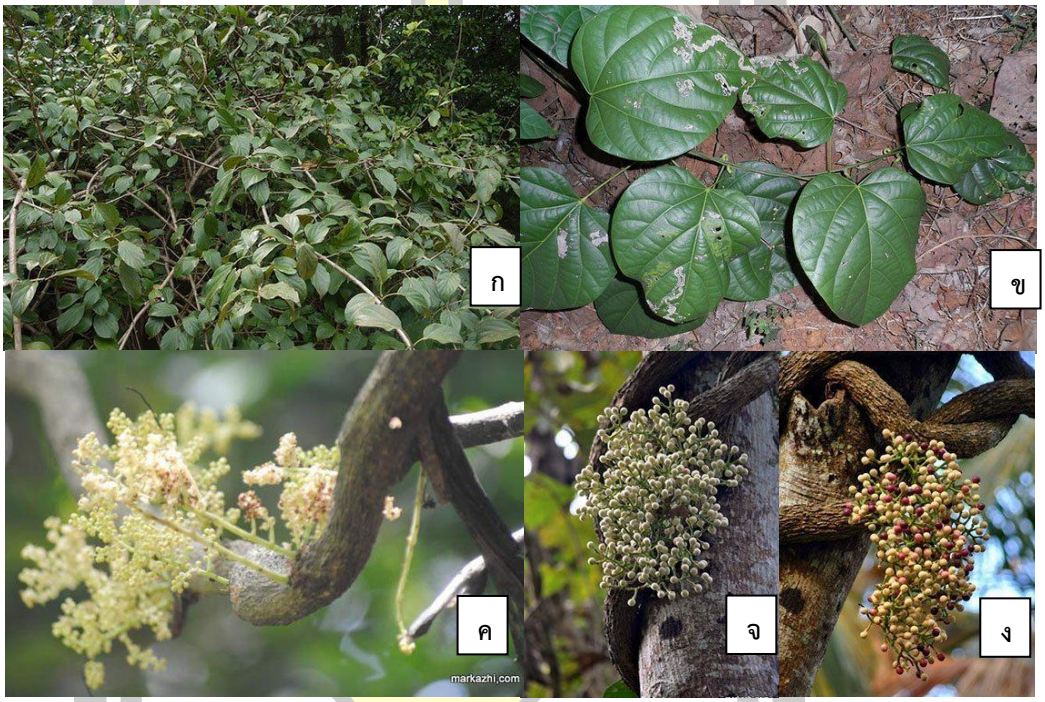
2.9 ข้อมูลเบื้องต้นของสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในยาผสมโคคลาน

2.9.1 โคคลาน

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg.

วงศ์: Euphorbiaceae

ชื่ออื่น: มะกายเครือ แนวน้ำ โพคาน มะปอบเครือ เยี่ยวแมว เยี่ยวแมวเถา



ภาพที่ 5 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) ผลอ่อน (จ) และผลสุก (ง) โคคลาน
(ที่มา https://medthai.com/ต้นโคคลาน)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

โคคลานเป็นไม้พุ่มรอเลื้อย เนื้อแข็ง สูง 3-6 เมตร ตามกิ่งก้านและช่อดอกมีขนนุ่มรูปดาว ใบเดี่ยว เรียงสลับ แผ่นใบรูปไข่แกมรูปสามเหลี่ยม รูปไข่แกมขอบขนาน หรือรูปไข่กว้าง กว้าง 5-8 เซนติเมตร ยาว 6-10 เซนติเมตร ฐานใบกว้างกลมปิด ขอบใบเรียบ หรือเป็นคลื่นเล็กน้อย ปลายใบแหลมหรือเรียวแหลม แผ่นใบบางคล้ายกระดาษ หลังใบเรียบเกลี้ยง ท้องใบมีขนสั้นนุ่มสีเหลืองรูปดาว หนาแน่น หูใบรูปสามเหลี่ยม ขนาด 1 มิลลิเมตร ก้านใบยาว 1.5-6 เซนติเมตร มองเห็นเส้นใบชัดเจน 3 เส้น ที่ฐานใบ ดอกช่อกระจุก ออกที่ซอกใบและปลายกิ่ง ดอกย่อยหลายดอก สีขาวแกมเหลือง แยกเพศอยู่คนละต้น ช่อดอกเพศผู้ออกที่ปลายยอด ยาว 5-15 เซนติเมตร มักแตกแขนง ใบประดับรูปลิ่มแคบ ขนาดประมาณ 1.5 มิลลิเมตร ดอกเพศผู้ออกรวมเป็นกระจุก 2-5 ดอก ก้านชู

ดอกย่อยขนาด 2-4 มิลลิเมตร วงกลีบเลี้ยงแยกเป็น 3-4 พู รูปขอบขนาน ขนาดประมาณ 3 มิลลิเมตร มีขนนุ่ม เกสรเพศผู้ 40-75 อัน ช่อดอกเพศเมียยาว 5-8 เซนติเมตร ใบประดับรูปหอก ขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร ก้านดอกย่อยยาว 2-3 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยง 4-5 อัน รูปหอก ขนาด 2-3 มิลลิเมตร มีขนนุ่ม รังไข่มี 2 ห้อง สีเหลืองเข้ม มีขนนุ่ม ก้านชูยาว 3-5 มิลลิเมตร มีขนยาวนุ่ม ผลแห้งแตกแบบแคปซูลมี 2 ห้อง รูปทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเหลือง มีขนนุ่ม ก้านผลยาว 8-12 มิลลิเมตร เมื่อแก่แตกตรงกลางพู เมล็ดกึ่งทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร สีดำ พบตามป่าที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 100-1,000 เมตร ออกดอกราวเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม ติดผลราวเดือนมิถุนายนถึงกันยายน[43]

การใช้ประโยชน์ทางยา

ตำรายาไทย เถา รสขมเบื่อเย็น ปรุงเป็นยารับประทาน แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย แก้เส้นเอ็นตึงแข็ง ปวดหลัง ปวดเอว แก้ไตพิการ ปัสสาวะพิการ บำรุงโลหิต ประชาชนจังหวัดยโสธรใช้ตำรับยาโคคลานแก้ปวดและแก้อาการอักเสบกล้ามของเนื้อ ในประเทศไต้หวันใช้สูตรตำรับ Thang-kau-tin ซึ่งประกอบด้วยลำต้นโคคลาน แก้ปวด แก้อาการอักเสบของกล้ามเนื้อ และป้องกันตับอักเสบ[42]

องค์ประกอบทางเคมี

สารกลุ่ม terpenoids, สารกลุ่ม benzopyrans, สารกลุ่ม coumarinolignoids, สารกลุ่ม steroids, สารกลุ่ม polyphenols ได้แก่ bergenin[44]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[5] ฤทธิ์ระงับปวดและฤทธิ์ต้านการอักเสบ[6] และฤทธิ์ต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ในหลอดเลือดและเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี[7]

การศึกษาทางพิษวิทยา

พบว่าสารสกัดเถาโคคลานด้วยแอลกอฮอล์ไม่ก่อให้เกิดพิษทั้งในการศึกษาพิษเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรัง[44]

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเถาโคคลาน ด้วยตัวทำละลายเมทานอล โดยใช้วิธีการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH assay , FRAP assay และการวัดสารประกอบฟีนอลิก โดยใช้วิธีการวัดแบบ Folin-Ciocalteu colorimetric ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่า สารสกัดหยาบเถาโคคลานมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 24.45 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่สารมาตรฐาน Ascorbic acid มีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.09 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสำหรับการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay พบว่า สารสกัดจากเถา โคลาน มีค่า FRAP เท่ากับ 99.01±4.56 GEAC/g การวิเคราะห์ปริมานสารประกอบ

ฟีนอลิกรวมพบว่า สารสกัดหยาบเถาโคคลานมีปริมานสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุดเท่ากับ 191.42 mg GAE/g of extract จากงานวิจัยนี้สรุปได้ว่าเถาโคคลานเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี[5]

จากการศึกษาปริมาณเบอจีนินซึ่งเป็นสารสำคัญของต้นโคคลาน ด้วยเทคนิค RP-HPLC พบว่า สารสกัดส่วนน้ำของลำต้นโคคลาน จากการสกัดด้วยวิธีซอกห์เลตและการหมัก มีปริมาณเบอจีนินสูงที่สุดเท่ากับ 12.67±0.26% และ 19.38±0.63% ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดส่วน เมทานอล (9.28±0.49% และ 8.73±0.72%) และส่วนเอทานอล (2.16±0.10% และ 1.73±0.05%) ตามลำดับ[45]

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดผลและเปลือกต้นคำแสด ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับต้นโคคลาน ด้วยตัวทำละลายเมทานอล โดยใช้วิธีการวัดแบบ DPPH assay และการวัดสารประกอบฟีนอลิก พบว่า สารสกัดเปลือกคำแสดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 5.27 mmol Trolox equivalents/g. และจากการวิเคราะห์ปริมานสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่า สารสกัดจากเปลือกต้นคำแสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุดเท่ากับ 541 mg/g จากการวิจัยนี้สรุปได้ว่าคำแสดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี

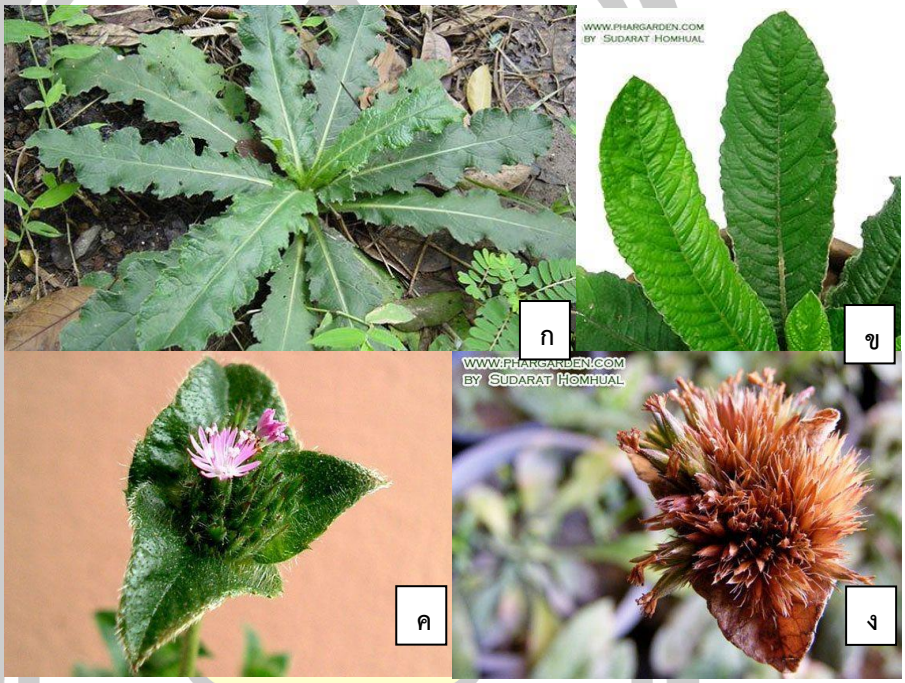
พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

2.9.2 โด่ไม่รู้ล้ม

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Elephantopus scaber* L.

วงศ์: Compositae

ชื่ออื่น: ไฟนกคุ่ม คิงไฟนกคุ่ม เคยโป้ หญ้าไก่นกคุ่ม หญ้าปราบ หญ้าสามสิบสองหาบ หนาดผา



ภาพที่ 6 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) โด่ไม่รู้ล้ม

(ที่มา https://medthai.com/โด่ไม่รู้ล้ม/)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

โด่ไม่รู้ล้มมีลำต้นสั้น กลม ชี้ตรง สูง 10-30 เซนติเมตร ตามผิวลำต้น และใบมีขนสีขาวตรงละเอียด ห่าง สาก ทอดขนานกับผิวใบ ใบเป็นชนิดใบเดี่ยว อยู่บริเวณเหนือเหง้า ติดเป็นวงกลมเรียงสลับชิดกัน คล้ายแบบกระจุกกุหลาบซ้อนที่โคนต้น ใบรูปหอกกลับ หรือรูปไข่แกมใบหอกกลับ แผ่นใบยาว 8-20 เซนติเมตร กว้าง 3-5 เซนติเมตร ส่วนที่ค่อนไปทางปลายใบ ผายกว้าง แล้วสอบแหลมทู่ๆ ส่วนโคนใบสอบแคบจนถึงก้านใบ ผิวใบมีขนสากทั้งสองด้าน ท้องใบมีขนมากกว่าหลังใบ ขนตรงห่างสีขาว และขนต่อม ห่าง ขอบใบหยักมน หรือจักฟันเลื่อยห่างๆ เส้นแขนงใบมี 12-15 คู่ ใบมักแผ่ราบไปกับพื้นดิน เนื้อใบหนาสาก ก้านใบยาว 0.5-2 เซนติเมตร หรือไม่มีก้านใบ ดอกช่อแทง ออกจากกลางต้น ช่อดอกรูปขอบขนาน มี 4 ดอกย่อย ยาว 8-10 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร ดอกย่อยขนาดเล็ก ดอกรูปหลอดสีม่วง หลอดกลีบดอกยาว 3-3.5 มิลลิเมตร เกลี้ยง ปลาย

กลีบดอกยาว 1.5-2 มิลลิเมตร ไม่มีขน เกสรเพศผู้สีเหลือง มีอับเรณูยาว 2.2-2.3 มิลลิเมตร ปลายแหลม ฐานเป็นติ่งแหลม ก้านชูอับเรณูยาว 1.5-1.7 มิลลิเมตร เกสรเพศเมียมีก้านเกสรยาว 7-8 มิลลิเมตร ยอดเกสรยาว 0.5-0.6 มิลลิเมตร มีขนที่ปลายยอดและสิ้นสุดที่รอยแยก แต่ละช่อย่อยมาอยู่รวมกันเป็นช่อกระจุกกลมที่ปลายก้านดอก บริเวณโคนกระจุกดอกมีใบประดับแข็งรูปสามเหลี่ยมแนบอยู่ 3 ใบ ยาว 1-2 เซนติเมตร กว้าง 0.5-1.5 เซนติเมตร ขอบเรียบ ปลายเรียวแหลม ผิวใบทั้งสองด้านมีขนตรงสีขาว ออกที่ปลายยอดแบบช่อแยกแขนง ก้านช่อดอกยาวถึง 8 เซนติเมตรมีขนสากๆทั่วไป ฐานรองดอก แบน เกลี้ยง เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.7 มิลลิเมตร วงใบประดับรูปขอบขนาน มี 2 ชั้น สูง 7-10 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร ใบประดับรูปใบหอก ผิวด้านนอกมีขนตรง และที่ขอบมีขนครุย ชั้นนอกรูปใบหอก ยาว 4-6 มิลลิเมตร กว้าง 0.5-1.5 มิลลิเมตร ปลายแหลม ชั้นที่ 2 รูปขอบขนานยาว 8-10 มิลลิเมตร กว้าง 1-2 มิลลิเมตร ปลายแหลม แพปพัสสีขาวเป็นเส้นตรงแข็งมี 5 เส้น เรียง 1 ชั้น ยาว 5-6 มิลลิเมตร ผลเป็นผลแห้ง ไม่แตก ผลเล็กเรียว รูปกรวยแคบ ผิวด้านนอกมีขนหนาแน่น ยาว 2.5-3 มิลลิเมตร กว้าง 0.4-0.5มิลลิเมตร ไม่มีสัน พบขึ้นตามป่าโปร่งที่ดินค่อนข้างเป็นทรายทั่ว ๆ ไปในป่าเต็งรัง ป่าดิบ และป่าสนเขาทุกภาคของประเทศไทย และประเทศเขตร้อนทั่วโลก ขยายพันธุ์โดยการใช้เมล็ด ออกดอกช่วงเดือนสิงหาคมถึงมกราคม[43]

การใช้ประโยชน์ทางยา

หมอยาพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานี ใช้ราก ต้มน้ำดื่ม แก้ไอ บำรุงกำลัง บำรุงสมรรถภาพทางเพศ ร้อนใน กระหายน้ำ แก้ไข้ ราก ต้มน้ำดื่ม หรือดองเหล้าดื่ม เข้ากับยากำลังเสือโคร่ง ม้ากระทืบโรงบำรุงร่างกายแก้ปวดเมื่อย ราก ลำต้น ใบ และผล ต้มน้ำดื่ม แก้โรคกระเพาะอาหาร แก้ไอ

หมอยาพื้นบ้าน ใช้ทั้งต้น รสกร่อยขื่น เป็นยาขับปัสสาวะ แก้ไข้ แก้ไข้จับสั่น ขับน้ำเหลืองเสีย แก้บิด แก้ท้องเสีย แก้ไอ แก้วัณโรค บำรุงหัวใจ ขับเหงื่อ ขับระดู ขับพยาธิตัวกลม แก้ปัสสาวะพิการ บำรุงความกำหนัด แก้กระษัย ขับไส้เดือน แก้กามโรค แก้บวมน้ำ แก้นิ่ว แก้ไข้หวัด แก้เจ็บคอ แก้ตาแดง แก้ดีซ่าน แก้เลือดกำเดาออกง่าย แก้ฝี แก้แผลมีหนอง แก้แผลงู แก้แมลงมีพิษกัดต่อย แก้อักเสบ แก้แผลในกระเพาะอาหาร แก้แผลเปื่อยในปาก แก้เหน็บชา ราก รสกร่อยขื่น ขับปัสสาวะ แก้ไข้ตัวร้อน แก้ไข้หวัด แก้ไอเรื้อรัง แก้ท้องเสีย แก้บิด ขับพยาธิ ขับระดู บีบมดลูก ต้มเอาน้ำอมแก้ปวดฟัน แก้ฝี แผลมีหนอง บวมอักเสบทั้งหลาย เป็นยาคุมสำหรับหญิงที่คลอดบุตรใหม่ เป็นยาบำรุง เป็นยาขับไส้เดือน รักษาโรคบุรุษ ต้มดื่มแก้อาเจียน ใบ รสกร่อยขื่น รักษาบาดแผล แก้โรคผิวหนัง (ใช้ใบสดประมาณ 2 กำมือ เคี่ยวกับน้ำมันมะพร้าว ทาแผล แก้โรคผิวหนังผื่นคัน) แก้ไข้ ขับปัสสาวะ แก้อ่อนเพลีย รักษากามโรค รักษาโรคบุรุษ เป็นยาคุมสำหรับหญิงที่คลอดบุตรใหม่ เป็นยาบำรุง เป็นยาขับไส้เดือน แก้ไอ ทำให้เกิดความกำหนัด รากและใบ รสกร่อยขื่น ขับปัสสาวะ แก้ท้องร่วง แก้โรคแผลในกระเพาะอาหาร แก้บิด แก้กามโรคในสตรี ใช้สดหรือแห้งประมาณ 2 กำมือ

ต้มดื่ม ขับปัสสาวะ แก้ท้องร่วง แก้กระเพาะอาหารเป็นแผล ต้มอาบหลังคลอด ไม่ระบุส่วนที่ใช้ บำรุงกำลัง ชูกำลัง ตัดกษัย บำรุงกษัยไม่ให้เกิด แก้ปัสสาวะพิการ บำรุงความกำหนัด ขับปัสสาวะ แก้ไข้จับสั่น แก้ไอ แก้ไข้ ขับพยาธิไส้เดือน แก้กามโรค แก้โรคหลอดลมอักเสบ แก้ปวดบวม แก้ตับอักเสบ แก้บิด รักษาตัวบวม รักษาไตอักเสบ[42]

องค์ประกอบทางเคมี

Crepiside E, cynaropicrin deacyl; cyanaropicrin--β-D-glucopyranoside deacyl; dotriacontan-1-ol; elephantopin, 11-13-dihydro-deoxy; elephantopin, 11-13-dihydro; elephantopin deoxy; elephantopin, iso-deoxy; friedelanol, epi; friedelinol, epi; lupeol; stigmasterol; stigmasterol 3-O- β-D-glucoside; triacontan-1-ol; zaluzanin C, gluco; scabertopin[43]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[8,9] และฤทธิ์ต้านการอักเสบ[10]

การศึกษาทางพิษวิทยา

พบว่าสารสกัดต้นโด่ไม่รู้ล้มด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ 50% ไม่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลัน (LD_{50}=6.0 กรัม/กิโลกรัม)[46]

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดรากโด่ไม่รู้ล้มที่สกัดด้วยเมทานอลต่อความเป็นพิษต่อตับในหนูทดลอง โดยการประเมินค่า TBARS, CD, SOD, CAT และ GSH ในตับหนู ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเมทานอลของรากโด่ไม่รู้ล้มในปริมาณ 75 มิลลิกรัม และ 150 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีผลทำให้ระดับ AST, ALT, ALP และ GGT ลดลงอย่างมีนัยสำคัญและเพิ่มระดับของ TP และ Albumin ระดับ TBARS และ CD ลดลง และระดับ GSH เพิ่มขึ้น ระดับของ SOD และ CAT ลดลง โดยสารสกัดสารสกัดรากโด่ไม่รู้ล้มด้วยเมทานอลผลที่ได้สามารถเปรียบเทียบได้กับ curcumin ซึ่งเป็นยาอ้างอิง จากงานวิจัยนี้สรุปได้ว่ารากโด่ไม่รู้ล้มมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ[8]

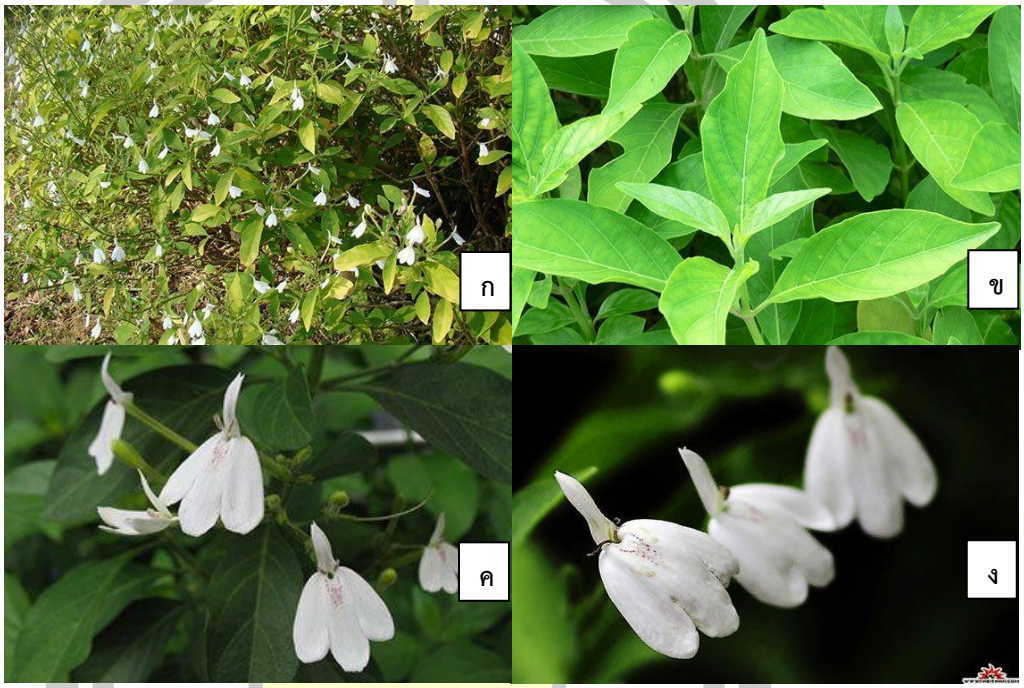
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษตับของสารสกัดรากโด่ไม่รู้ล้มด้วยเมทานอล โดยหนูทดลองถูกเหนี่ยวนำด้วย CCl_4 ให้เกิดแผลในตับ นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี superoxide scavenging, hydroxyl scavenging และ Fe^{2+} ascorbate ใช้การประมาณค่าระดับ AST, ALT, ALP, GGT, total protein, albumin และ การทดสอบทางจุลพยาธิวิทยาในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำความเป็นพิษด้วย CCl_4 เพื่อศึกษาปฏิกิริยาความเสียหายต่อตับโดยการประเมินผลค่า TBARS, CD, SOD, CAT and GSH ในตับ ซึ่งสรุปได้ว่าโด่ไม่รู้ล้มมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และไม่ก่อให้เกิดพิษต่อตับ[9]

2.9.3 ทองพันชั่ง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz

วงศ์: Acanthaceae

ชื่ออื่น: ทองคันชั่ง หญ้ามันไก่



ภาพที่ 7 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค, ง) ทองพันชั่ง

(ที่มา https://medthai.com/ทองพันชั่ง)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ทองพันชั่งไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1-2 เมตร กิ่งอ่อนและลำต้น มักเป็นสันสี่เหลี่ยม ส่วนที่ยังอ่อนมักมีขนปกคลุม โคนลำต้นเนื้อเป็นแกนแข็ง ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปไข่หรือรูปวงรี โคนใบและปลายใบแหลม กว้าง 2-4 เซนติเมตร ยาว 4-8 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.5-1 เซนติเมตร ดอกช่อ ออกที่ซอกใบ ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาว โคนกลีบ ติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 2 ปาก ปากล่างมีจุดประสีม่วงแดง ผลเป็นผลแห้งแตกได้ ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร มักมีขน[43]

การใช้ประโยชน์ทางยา

ใบ รสเบื่อเมา ดับพิษไข้ รักษาโรคผิวหนัง แก้ริดสีดวงทวาร แก้ไอเป็นเลือด ฆ่าพยาธิ กลากเกลื้อน แก้มะเร็ง

ราก รสเมาเบื่อ ต้มรับประทานแก้พิษไข้ แก้โรคมะเร็ง เรื้อน วัณโรค โรคผิวหนัง แก้ผมหงอกเนื่องจากเชื้อรา แก้กลากเกลื้อน รักษาโรคมะเร็ง รักษาโรคผิวหนัง ดับพิษไข้ แก้พิษงู แก้พยาธิวงแหวนตามผิวหนัง

ทั้งต้น รักษาโรคผิวหนัง แก้น้ำเหลืองเสีย แก้กลากเกลื้อน ผื่นคัน รักษามะเร็ง คุดทะราด ขับพยาธิตามผิวหนัง ตามบาดแผล แก้ไส้เลื่อน ไส้ลาม แก้ปัสสาวะผิดปกติ

ต้น บำรุงร่างกาย แก้โรค 108 ประการ รักษาโรคผมร่วง

ใบ ดับพิษไข้ แก้กลากเกลื้อน ผื่นคัน แก้โรคไขข้ออักเสบ รักษาโรคผิวหนัง รักษาโรคมะเร็ง รักษาโรคความดันโลหิตสูง แก้ผมร่วง บำรุงร่างกาย แก้โรค 108 ประการ แก้ปวดฝี แก้พิษงู ถอนพิษ แก้อักเสบ แก้โรคมุตกิต รักษาโรคพยาธิวงแหวนตามผิวหนัง

นอกจากนี้ยังใช้ผสมในตำรับยาร่วมกับสมุนไพรอื่น ๆ รักษาโรคต่อไปนี้คือ ราก รักษามะเร็งเนื้องอก รักษามะเร็งปอด กระเพาะลำไส้ มะเร็งตามร่างกาย ทำให้ผมดกดำ แก้ไอเป็นเลือด อาเจียนเป็นเลือด แก้ริดสีดวงทวาร ดับพิษไข้ รักษาโรคผิวหนัง แก้กระษัย แก้ผมหงอก ผมร่วง รักษาโรคตับพิการ รักษาโรครูมาติซึม รักษาโรคไขข้อพิการ แก้ลมเข้าข้อทำให้ปวดบวมต่าง ๆ ขับปัสสาวะ แก้แมงเคียนกินรากผม แก้เหา แก้รังแค ทั้งต้น รักษาโรคผิวหนัง คุดทะราด แก้เม็ดผื่นคัน ต้น รักษามะเร็งเนื้องอก รักษามะเร็งปอด มะเร็งกระเพาะ มะเร็งตามร่างกาย มะเร็งลำไส้ แก้แมงเคียนกินรากผม แก้เหา แก้รังแค รักษาโรคผิวหนัง ใบ แก้แมงเคียนกินรากผม แก้เหา แก้รังแค รักษาโรคผิวหนัง แก้ไข้ แก้ปวดหัวตัวร้อน แก้มะเร็งไช แก้หิดมะตอย รักษาโรคมะเร็ง รักษาวัณโรค แก้ใจระส่ำระสาย แก้คลุ้มคลั่ง แก้สารพัดพิษ

ในตำราบางเล่ม ยังได้กล่าวถึงสรรพคุณทองพันชั่ง โดยไม่ได้ระบุว่าใช้ส่วนใดของพืช หรือส่วนใดในตำรายาร่วมกับสมุนไพรอื่น ๆ ในการบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ ดังต่อไปนี้คือ รักษาโรคความดันโลหิตสูง รักษาโรคมะเร็ง แก้มุตกิตระดูขาว เป็นยาอายุวัฒนะ แก้ผมร่วง รักษาโรคนิ่ว แก้เคล็ดขัดยอกชายโครง มือเคล็ด คอเคล็ด แก้มะเร็งในกระเพาะ แก้ฝีประคำร้อย แก้มะเร็งในคอ แก้มะเร็งในปาก แก้ไข้เหนือ แก้จุกเสียด เป็นยาหยอดตา แก้ไอเป็นเลือด แก้ช้ำใน แก้นิ่ว แก้โรคผิวหนัง แก้ลมสาร แก้มะเร็งในปอด แก้มะเร็งภายในและภายนอก[47]

องค์ประกอบทางเคมี

สารกลุ่ม naphthoquinones ได้แก่ 4-dimethydropyrano-1,4-naphthoquinones (rhi- nacanthin A, B, O และ P), 2-hydroxyl-1, 4- naphthoquinones (rhinacanthin C, D, G-Q)

สารกลุ่ม lignans ได้แก่ rhinacanthin E และ rhinacanthin F สารกลุ่ม naphthopyran ได้แก่ 3,4-dihydro-3,3-dimethyl-2H-naphtho[2,3-b]pyran-5, 10-dione

สารกลุ่มอื่นๆ ได้แก่ flavonoids, anthraquinones, triterpenes, sterols[43]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[11] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ลดไข้[12] และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย[13]

การศึกษาทางพิษวิทยา

พบว่าสารสกัดใบทองพันชั่งด้วยแอลกอฮอล์ 50% ไม่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลัน (LD_{50}=10.0 กรัม/กิโลกรัม)[48]

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาผลของสารสกัดเอทานอล 50% ของสมุนไพรไทย 4 ชนิด ได้แก่ กะเม็ง (*Eclipta prostrata* L.) ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe.) เทียนกิ่ง (*Lawsonia inermis* L.) และทองพันชั่ง(*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz.) ต่อการสร้างเมลานิน โดยศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay และ Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) พบว่าสารสกัดเทียนกิ่งมีสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด (170.21±14.69 mgTAE/g) รองลงมาคือ ทองพันชั่ง (125.25±9.69 mgTAE/g) ขิง (76.8±3.14 mgTAE/g) และกะเม็ง (68.86±5.61 mgTAE/g) ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH พบว่า สารสกัดเทียนกิ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (IC_{50}= 9.93±2.38 µg/ml) ทองพันชั่ง (IC_{50}= 55.56±7.71 µg/ml) ขิง (IC_{50}= 69.57±4.55 µg/ml) และกระเม็ง (IC_{50}= 96.31±6.51 µg/ml) ตามลำดับ เทียบกับวิตามิซี (IC_{50}= 2.92±0.16 µg/ml) และ FRAP พบว่าสารสกัดเทียนกิ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (IC_{50}= 733.13±154.62 µg/ml) ทองพันชั่ง (IC_{50}= 215.19±20.69 µg/ml) ขิง (IC_{50}= 205.68±20.02 µg/ml) และกระเม็ง (IC_{50}= 72.45±9.4 µg/ml) ตามลำดับ[11]

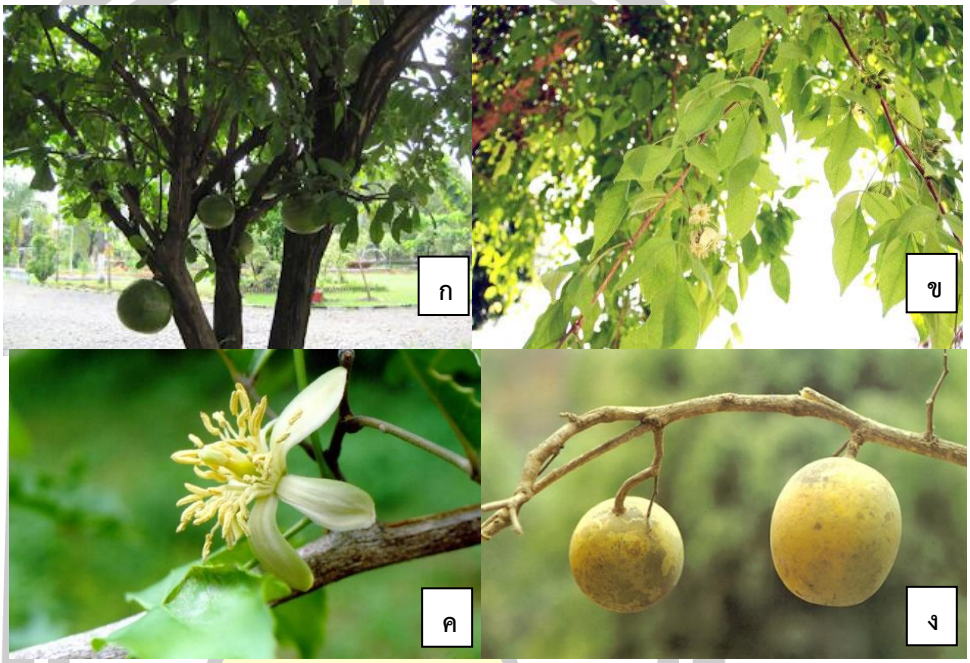
พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

2.9.4 มะตูม

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Aegle marmelos* (L.) Correa ex Roxb.

วงศ์: Rutaceae

ชื่ออื่น: กะทันตาเถร, ตุ่มตัง, ตูม, มะปิน



ภาพที่ 8 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) มะตูม

(ที่มา http://www.qsbg.org/Database/Botanic_Book%20full%20option/)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง ผลัดใบ สูง 10-15 เมตร เรือนยอดรูปไข่ เปลือกต้นสีเทาเรียบหรือแตกเป็นร่องตื้นๆตามยาว เนื้อไม้แข็ง มีสีขาวแกมเหลือง และมีกลิ่นหอม โคนต้นและกิ่งก้านมีหนามแหลม ยาว แข็ง ออกเดี่ยวหรือเป็นคู่ตามกิ่ง ใบ เป็นใบประกอบแบบมีใบย่อย 3 ใบ ออกเรียงสลับ ใบรูปไข่ กว้าง 1-7 เซนติเมตร ยาว 4-13 เซนติเมตร สองใบล่างมีขนาดเล็กและติดตรงข้ามกัน ใบปลายมีขนาดใหญ่ ปลายใบสอบ โคนใบแหลม ขอบใบเรียบหรือมีหยักมนๆ แผ่นใบเรียบเกลี้ยงเป็นมัน ใบอ่อนสีเขียวอ่อนหรือสีชมพู มีขนละเอียด ใบแก่สีเขียวเข้ม เรียบเกลี้ยง เส้นใบข้าง 4-12 คู่ จรดกันที่ขอบใบ นูนขึ้นด้านบน ก้านใบย่อยที่ปลายยาว 0.5-3 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อตามซอกใบและปลายกิ่ง ออกรวมกันเป็นช่อสั้นๆ ดอกสีขาวอมเขียวหรือสีเหลืองอ่อน ขนาด 1.5-2 เซนติเมตร ดอกมักออกพร้อมกับใบอ่อน มีกลิ่นหอม กลีบดอกมี 5 กลีบ กลีบดอกขนาด 6-8 มิลลิเมตร รูปไข่กลับ โคนติดกัน ดอกสมบูรณ์เพศ เกสรตัวผู้มี 65-70 อัน อับเรณูสีน้ำตาลอ่อน ก้านเกสรตัวเมียสั้น

รังไข่สีเขียวสด หมอนรองดอกเห็นไม่ชัดเจน กลีบฐานดอกกางแผ่เป็นรูปดาวมี 4-5 แฉกแหลมๆ กลีบเลี้ยงแบนมี 4-5 พู ก้านดอกมีขนอ่อนปกคลุม ผล รูปรีกลมหรือรียาว ขนาดกว้าง 8-10 เซนติเมตร ยาวประมาณ 12-18 เซนติเมตร ผิวเรียบเกลี้ยง เปลือกหนา แข็งมาก ไม่แตก ผลอ่อนมีสีเขียวพอสุกมีสีเหลือง เนื้อผลมีสีเหลือง นิ่ม มีกลิ่นหอม และมีเนื้อเยื่อสีส้มที่มียางเหนียวๆ ภายในมี 8-15 ช่อง เมล็ดสีน้ำตาลอ่อน จำนวนมาก มียางใสเหนียวหุ้มเมล็ดอยู่ เมล็ดรูปรีๆ และแบน มีเส้นขนหนาแน่นปกคลุม พบขึ้นทั่วไปตามป่าเบญจพรรณ และป่าแล้งทั่วไป ที่สูงจากระดับน้ำทะเล 50-700 เมตร ออกดอกระหว่างเดือนมีนาคมถึงเดือนพฤษภาคม และติดผลระหว่างเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์[43]

ประโยชน์ทางยา

ตำรายาไทย ผล รสฝาด หวานชุ่ม เป็นยาเย็น ออกฤทธิ์ต่อกระเพาะและลำไส้ ใช้เป็นยาแก้ท้องเดิน ท้องเสียเรื้อรัง แก้บิดมูกเลือด บิดเรื้อรัง บำรุงธาตุ เจริญอาหาร แก้เจ็บคอ คออักเสบ ร้อนใน ปากเปื่อย ขับเสมหะ ขับลม ผลมะตูมยังมีสรรพคุณพิเศษคือมีฤทธิ์ลดความกำหนัด คลายกังวล และช่วยให้สมาธิดีขึ้น ชาวพุทธจึงนิยมใช้ทำเป็น น้ำปานะ ถวายพระสงฆ์ ผลดิบแห้ง ชงน้ำดื่ม แก้ท้องเสีย แก้บิด ผลสุก รสหวานเย็น เป็นยาระบาย ช่วยย่อยอาหาร บำรุงไฟธาตุ แก้ลมในท้อง แก้มูกเลือด ผลอ่อน รสฝาดร้อนปร่าขื่น บดเป็นผง ต้มกินแก้ธาตุพิการ แก้ท้องเสีย แก้บิด แก้โรคกระเพาะอาหาร ทำให้เจริญอาหาร ขับลม บำรุงกำลัง ผลแก่ รสฝาดหวาน ต้มดื่มแก้เสมหะและลม บำรุงไฟธาตุ ช่วยย่อยอาหาร ใบสด รสฝาดมัน คั้นน้ำกินแก้หลอดลมอักเสบ แก้บวม แก้หวัด แก้ผดผื่นคัน แก้ตาบวม แก้ตาอักเสบ เปลือกรากและต้น รักษาไข้มาลาเรีย ขับลมในลำไส้ ราก รสฝาด ซ่า ใช้เป็นยาแก้ปากเปื่อย ขับเสมหะ แก้พิษฝี พิษไข้ แก้สติเผลอ ขับน้ำดี ขับลม เปลือกรากและลำต้น แก้ไข้จับสั่น ขับลมในลำไส้ ใบใช้ในพิธีมงคลต่าง ๆ ยอดอ่อนใบอ่อน นำมารับประทานสดเป็นผัก เนื้อจากผลสุก รับประทานได้มีรสหวาน ยางจากผลใช้ติดกระดาษแทนกาว[47]

องค์ประกอบทางเคมี

สารกลุ่ม coumarins: furanocoumarin (marmesinin, marmelosin), umbelliferone, psoralen, pyranocoumarin (luvangetin), marmelide

สารกลุ่มอื่น ๆ: eugenol, tannins, mucilage, กรดไขมัน และน้ำตาล[43]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[14,15,16,17,18,19,20] ฤทธิ์ต้านการปวด[15] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ[16,21,22] และฤทธิ์ต้านการแพ้[16]

การศึกษาทางพิษวิทยา

พบว่าสารสกัดผลมะตูมด้วยแอลกอฮอล์และน้ำไม่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลัน (LD_{50} มีค่าเท่ากับ 2,250 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และสารสกัดน้ำไม่มีผลทำให้ระบบสืบพันธุ์ของหนูเพศเมียเกิดการเปลี่ยนแปลง[22]

เมื่อฉีดสารสกัดผลหรือรากด้วย 50% เอทานอล เข้าช่องท้องหนูถีบจักร ขนาดสูงสุดที่สัตว์ทด ลองทนได้คือ 1 กรัม/กิโลกรัม สารสกัดใบด้วย 50% เอทานอล เมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังหรือให้กินขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม ไม่พบพิษ ให้หนูขาวรับประทานสารสกัดผลด้วยน้ำ ขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 มีค่ามากกว่า 10 กรัม/กิโลกรัม และเมื่อผสมผลมะตูมในอาหารร้อยละ 25 ให้หนูขาวรับประทานเป็นเวลา 10 วัน พบว่าเกิดพิษต่อตับและไต[46]

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาผลมะตูมที่ถูกนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ปริมาณของสารสกัดขนาด 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทดสอบในหนู พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสาร GSH CAT และ SOD เพิ่มขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ LPO NO มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากการศึกษาผลมะตูมอ่อนที่สกัดด้วยน้ำที่ปริมาณของสารสกัดขนาด 50, 100, 400, 500 และ 1,000 ไมโครกรัม ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Superoxide Nitric oxide Hydroxyl และ $ABTS^{+}$ radical scavenging ในหลอดทดลอง พบว่า ทุกปริมาณของสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ทุกวิธี โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณของสารสกัด[15]

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลและใบมะตูม ด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่าสารสกัดใบมะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล และสารสกัดผลมะตูมที่สกัดด้วยเฮกเซน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ ขณะที่สารสกัดด้วยน้ำและฟอสเฟตบัฟเฟอร์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพียงเล็กน้อย[15]

จากการศึกษาผลมะตูมอ่อนที่ถูกนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95% และสกัดด้วยน้ำ จากนั้นนำสารสกัดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และ NBT dye reduction พบว่า สารสกัดน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ด้วยวิธี ABTS (EC_{50} เท่ากับ 36.40±1023 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ FRAP (FRAP value เท่ากับ 111.61±0.59 Fe^{2+} ต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด และ TEAC value เท่ากับ 39.04±0.23 มิลลิกรัม trolox equivalent ต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ในเซลล์พบว่าสารสกัดทั้งสองไม่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ[16]

จากการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่าง ๆ ระหว่างสารสกัดผลมะตูมสุกกับผลมะตูมอ่อนด้วยที่สกัดเอทานอล พบว่าสารสกัดทั้งสองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่สารสกัดผลมะตูมอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีว่าสารสกัดผลมะตูมสุก[17]

จากการทดสอบโดยให้สารสกัดผลมะตูมด้วยน้ำแก่หนูขนาด 125 และ 250 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวของหนู 1 กิโลกรัม โดยให้หนูกินวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 30 วันพบว่า สารสกัดขนาด

250 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวของหนู 1 กิโลกรัม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการยับยั้ง lipid peroxidation ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดยการฉีด Streptozotocin[18]

สารสกัดใบมะตูมอ่อนที่สกัดด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 18.6[19]

จากการศึกษาเครื่องดื่มน้ำมะตูมพบว่ามีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในปริมาณที่สูง (83.8±37.6 มิลลิกรัม GAE/100 มิลลิลิตร) และพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH (มีค่าเท่ากับ 68.4±8.7 ไมโครโมล ต่อ 100 มิลลิลิตร trolox equivalents และ 60.0±3.1 ไมโครโมล ต่อ 100 มิลลิลิตร ascorbic acid equivalents) และ Photochemiluminescence assay (มีค่า the integral antioxidant capacity of lipid-soluble substance values เท่ากับ 165.4±20.9 ไมโครโมล ต่อ 100 มิลลิลิตร trolox equivalents และค่า the integral antioxidant capacity of water-soluble substance values เท่ากับ 298.7±71.2 ไมโครโมล ต่อ 100 มิลลิลิตร ascorbic acid equivalents)[20]

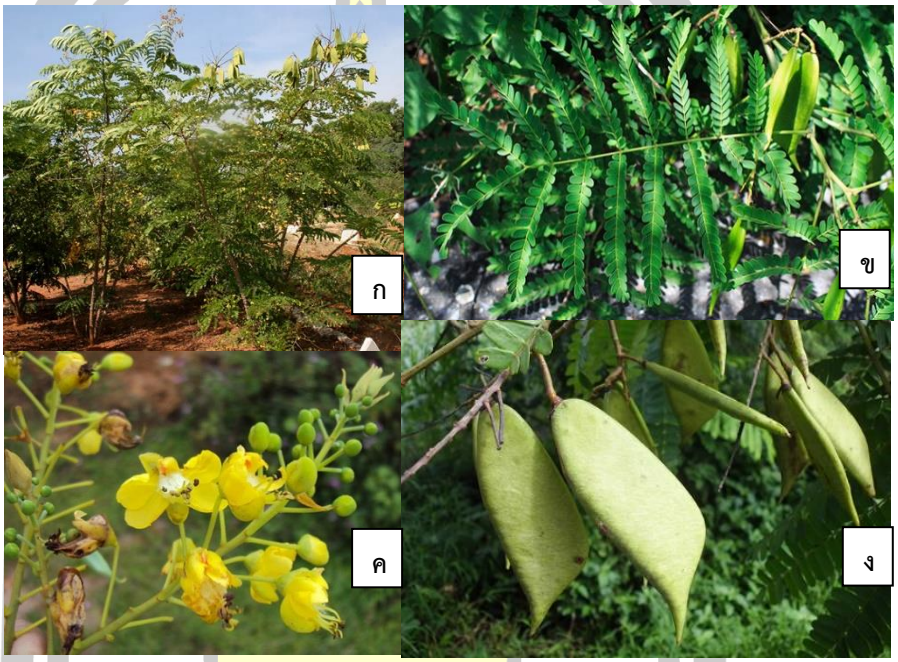
พหุน ปณฺฑิโต ชีเว

2.9.5 ฝาง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Ceasalpinia sappan* L.

วงศ์: Ceasalpiniaceae

ชื่ออื่น: ฝาง ฝางเสน ง้าย ฝางส้ม หนามโค้ง โซบั๊ก แบ่งฝางออกเป็น 2 ชนิด ตามสีของเนื้อแก่น คือ แก่นสีเหลือง เรียกว่า ฝางส้ม และแก่นสีแดง เรียกว่า ฝางเสน



ภาพที่ 9 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) ฝาง

(ที่มา https://medthai.com/ฝาง)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ฝางเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ไม้พุ่มหรือไม้พุ่มกึ่งไม้เถา ผลัดใบ สูง 5-13 เมตร ลำต้นและกิ่งมีหนามแข็งและโค้งสั้น ๆ ทั่วไป ถ้าแก่นและเนื้อไม้มีสีแดงเข้ม รสขมหวาน เรียกว่าฝางเสน ถ้าแก่นมีสีเหลืองส้ม รสฝาดขื่น จะเรียกว่าฝางส้ม ใบประกอบแบบขนนกสองชั้น เรียงสลับ แกนช่อใบยาว 20-40 ซม. มีช่อใบย่อย 8-15 คู่ แต่ละช่อใบ มีใบย่อย 5-18 คู่ เรียงตรงข้าม ใบย่อยรูปขอบขนาน กว้าง 5-10 มิลลิเมตร ยาว 8-20 มิลลิเมตร ปลายใบกลมถึงเว้าตื้น โคนตัดและเบี้ยว ขอบเรียบ แผ่นใบบางคล้ายกระดาษ เกลี้ยงหรือมีขนประปรายทั้งสองด้าน ก้านใบสั้นมาก หรือไม่มีก้าน หูใบยาว 3-4 มิลลิเมตร ร่วงง่าย ช่อดอกแบบช่อแยกแขนง ออกที่ปลายกิ่งและซอกใบใกล้ปลายกิ่ง ออกรวมกันเป็นช่อ ช่อยาวได้ถึง 40 เซนติเมตร ใบประดับรูปใบหอก ร่วงง่าย ยาว 5-8 มิลลิเมตร ปลายเรียวแหลมมีขน ก้านดอกย่อย ยาว 1.2-1.8 เซนติเมตร มีขนสั้นนุ่ม มีข้อต่อหรือเป็นข้อที่ใกล้ปลาย

ก้าน กลีบเลี้ยง 5 กลีบ เกลี้ยง ขอบมีขนครุย ขอบกลีบเกยซ้อนทับกัน กลีบเลี้ยงกลีบล่างสุด ขนาดใหญ่สุด และเว้ามากกว่ากลีบอื่น กลีบดอก 5 กลีบ สีเหลือง รูปไข่กลับ กว้าง 6-10 มิลลิเมตร ยาว 9-12 มิลลิเมตร ผิวและขอบกลีบย่น กลีบกลางขนาดเล็กกว่า มีก้าน กลีบด้านในมีขนจากโคนไปถึงกลางกลีบ เกสรเพศผู้ 10 อัน แยกเป็นอิสระ ก้านชูอับเรณูมีขน รังไข่อยู่เหนือวงกลีบ มีขนสั้นนุ่ม มี 1 ช่อง มี ออวุล 3-6 เม็ด ผลเป็นฝักรูปขอบขนาน แกมรูปไข่กลับ แบนแข็งเป็นจะงอยแหลม มีสีน้ำตาลเข้ม กว้าง 3-4 เซนติเมตร ยาว 5-8.5 เซนติเมตร ส่วนที่ค่อนมาทางโคนฝักจะสอบเอียงเล็กน้อย ด้านปลายฝักจะผายกว้างและมีจะงอยแหลมที่ปลายด้านหนึ่ง เมล็ด 2-4 อัน รูปรี กว้าง 0.8-1 เซนติเมตร ยาว 1.5-1.8 เซนติเมตร พบตามป่าละเมาะ เขาหินปูน ป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง ออกดอกระหว่างเดือนมิถุนายน-ธันวาคม และเป็นผลระหว่างเดือนสิงหาคมถึงพฤษภาคม[23]

ประโยชน์ทางยา

ในตำรายาไทยใช้เนื้อไม้ เป็นส่วนผสมหลักในยาบำรุงหลังคลอดบุตร ผสมกับปูนขาว บดทาหน้าผาก หลังคลอดบุตร ช่วยให้เย็นศีรษะ และลดอาการเจ็บปวด เป็นยาขับระดูอย่างแรง แก้ท้องร่วง แก้ธาตุพิการ แก้ร้อนใน แก้โลหิตออกทางทวารหนักและทวารเบา แก้โลหิตตกหนัก แก้เสมหะ ดี และโลหิต แก่น รสฝาด เค็ม ชุ่ม เป็นยาสุขุม ออกฤทธิ์ต่อหัวใจและตับ เป็นยาบำรุงโลหิตสตรี ใช้เป็นยาแก้ปวด แก้บวม แก้เลือดอุดตัน ทำให้เลือดไหลเวียนสะดวก รักษาประจำเดือนมาไม่ปกติ ขับระดู แก้อาการหัวใจขาดเลือด (จุกเสียดแน่นและเจ็บหน้าอก) กระจายเลือดที่อุดตัน ลดอาการปวดมดลูกในสตรีหลังคลอด เป็นยาสมานลำไส้ แก้บิด ฟกช้ำดำเขียว ปวดบวม ขับหนองในฝีอักเสบ แก้ไข้ตัวร้อน แก้ปวดเมื่อยร่างกาย แก้เสมหะ แก้โลหิต แก้ไข้กำเดา แก้ปอดพิการ ขับหนอง ทำให้โลหิตเย็น แก้ท้องร่วง แก้ธาตุพิการ แก้ร้อนในกระหายน้ำ แก้โลหิตออกทางทวารหนักและทวารเบา แก้กำเดา แก่นฝางฝนกับน้ำเป็นยาทาภายนอกในโรคผิวหนังบางชนิด เพื่อฆ่าเชื้อโรค น้ำต้มแก่นฝางให้สีแดง ใช้เป็นหลักในการทำน้ำยาอุทัย ใช้แก้ร้อนใน แก้กระหายน้ำได้ดี ราก ให้สีเหลือง ใช้ทำสีย้อมผ้า และไหม ใช้เป็นสีผสมอาหาร และเครื่องดื่ม[42]

องค์ประกอบทางเคมี

สารกลุ่ม flavonoid: 7-hydroxy-3-(4′-hydroxybenzylidene)-chroman-4-one, 3 ,7 -dihydroxy-3 -(4 ′-hydroxybenzyl)-chroman-4 -one, 3 ,4 ,7 -trihydroxy-3 -(4 ′-hydroxybenzyl)-chroman, 4,4′-dihydroxy-2-methoxychalcone, 7,30,40-trihydroxy-3-benzyl-2 -h-chromene, 8 -methoxy bouducellin, quereetin, rhamnetin, ombuin, 4 -Omethylepisappanol, 3 -O-deoxy-4 -O-methylsappanol, intricatinol, caesalpin J, protosappanin A, 4 -O-methylepisappanol, 4 -O-Methylsappanol, 4 -(7 -Hydroxy-2 ,2 -dimethyl-9-**β**-H-1,3,5-trioxa-cyclopenta[**α**]naphthalen 3-**α**-ylmethyl)-benzene-1,2-diol

สารกลุ่ม sterols: beta-sitosterol, campesterol, stigmasterol, brazilin, brazilein, protosappanin E, taraxerol, β-sitostero[23]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[24,25,26] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ[27] ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย[28,29] ฤทธิ์ขยายหลอดเลือด[30] และฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์[31]

การศึกษาทางพิษวิทยา

ทำการศึกษาเพื่อหาความเป็นพิษของสารสกัดน้ำจากสีย้อมของต้นฝางในหนูขาว ไม่แสดงความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและไม่มีการตายแม้จะให้สารในขนาดปริมาณ 100–2000 mg / kg ในระยะเวลา 14 วัน และเมื่อให้สารในระดับสูงกว่า 2,500 mg / kg จนถึงระดับยา 5,000 mg / kg ของน้ำหนักตัว เป็นเวลา 28 วันก็ยังไม่มีการตายแต่อย่างใด น้ำหนักของหนูขาวไม่ได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อัตราส่วนน้ำหนักของไต ตับ และช่องท้อง ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทำให้พบว่าสีย้อมของต้นฝางมีความเป็นพิษน้อย[48]

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสารต้านอนุมลอิสระในสมุนไพรและยาดองเหล้าจากสมุนไพร โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพร 22 ชนิด และยาดองเหล้าจากสมุนไพร 4 สูตร ใน การแปรรูปสมุนไพรด้วยการต้ม และดองตามระยะเวลา 0 วัน 3 วัน 7 วัน 14 วัน 30 วัน และ 60 วัน และศึกษาผลการดองเหล้าจากสมุนไพร 4 สูตร ในระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 7 วัน 14 วัน 30 วัน และ 60 วัน จากการศึกษาพบว่า สมุนไพรฝางเสนที่ทำการการดองเป็นเวลา 3 วัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด ส่วนแนวโน้มของความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นภายหลังการดอง 7 วัน ดังนั้นถ้าจะบริโภคควรบริโภค ในระยะการดองที่มากกวา 7 วัน[27]

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการอบ (60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส) ต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH) และคุณค่าทางโภชนาการ (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และพลัง) ของชาแก่นฝาง จากผลการทดลองพบว่า ชาแก่นฝางที่ผ่านการอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จะมีปริมาณสารสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 147.02 ± 0.63 mgGAE/ g และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 33.91±1.50 % ในขณะที่อุณหภูมิที่ใช้ในการอบชาแก่นฝางไม่มีผลอย่างแตกต่างทางด้านสถิติ ($P > 0.05$) ต่อคุณค่าทางโภชนาการ[25]

จากการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิเคราะห์จากสูตรของจังหวัดน่าน นอกจากนี้ยังได้ศึกษา สารสำคัญดังกล่าวในพืชประกอบ

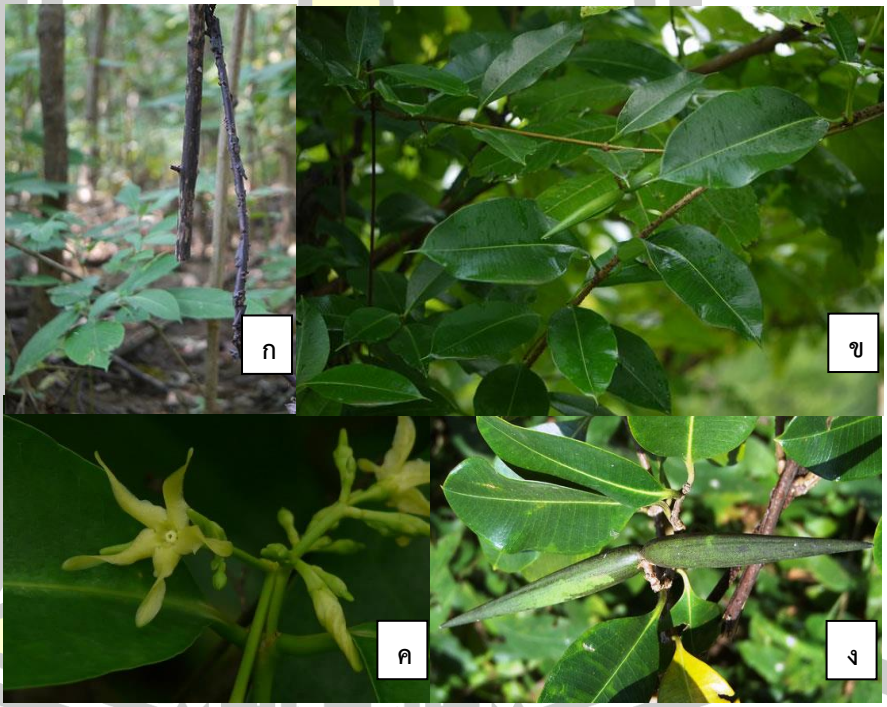
ยาดองแต่ละชนิดจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ม้ากระทืบโรง ม้าแม่กล่ำ พญาเสือโคร่ง กาจับหลัก ฮ่อสะพายควาย อบเชย ชะเอม สะค้านหน้าผา ฝางเสน และ โด่ไม่รู้ล้ม โดยพืชสมุนไพรจะถูกหมักกับสุราขาว เอทานอล และต้มน้ำ ผลการศึกษาพบว่า พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 แตกต่างกัน โดยเอทานอลจะสกัดสาระสำคัญออกมาได้ดีที่สุด ซึ่งฝางเสนจะมีสารฟีนอลิกรวมที่สกัดด้วยเอทานอลมากที่สุด[26]

2.9.6 เถาเอ็นอ่อน

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Cryptolepis buchanani* Roem.& Schult.

วงศ์: Apocynaceae

ชื่ออื่น: กวน เครือเถาเอ็น ตีนเป็ดเครือ เมื่อย หญ้าลิเลน หมอนตีนเป็ด



ภาพที่ 10 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) เถาเอ็นอ่อน

(ที่มา https://medthai.com/เถาเอ็นอ่อน)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ต้นเถาเอ็นอ่อนเป็นไม้เถาเลื้อยพาดพันกับต้นไม้อื่น เป็นไม้เลื้อยจำพวกเถาเนื้อแข็ง เถาลำต้นกลม เปลือกเถาเรียบหนาเป็นสีน้ำตาลอมสีดำหรือเป็นสีแดงเข้มและมีลายประตลอดเถา ยาวประมาณ 4-5 เมตร ก้านเล็ก มีสีเทาอมเขียวและไม่มีขนปกคลุม เมื่อเถาแก่เปลือกจะหลุดลอกออกเป็นแผ่น ๆ มียางสีขาวข้นทั้งต้น พรรณไม้ชนิดนี้ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ด มักพบขึ้นตามป่าราบหรือตามที่รกร้างทางจังหวัดหวัดสระบุรี ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้ามกัน ลักษณะของใบเป็นรูปรีหรือรูปไข่ ปลายใบมนมีหางสั้น โคนใบสอบ ส่วนขอบใบเรียบ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 3-8 เซนติเมตรและยาวประมาณ 5-18 เซนติเมตร แผ่นใบค่อนข้างหนา หลังใบเรียบเป็นมันและลื่น ท้องใบเรียบเป็นสีเขียวนวล ใบอ่อนมีขนปกคลุม ส่วนใบแก่ไม่มีขน เส้นใบตามขวางจะเป็นเส้นตรงไม่โค้ง ใบหนึ่งจะมีประมาณ 30 คู่ ส่วนก้านใบสั้น ยาวได้ประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบ ดอกย่อยเป็นสีเหลืองอ่อนหรือสีเป็นสีขาวอมเหลือง ดอกมีกลีบดอก 5 กลีบ โคนกลีบดอกเชื่อมติดกัน ส่วนกลีบเลี้ยงดอกเป็นสีเขียวมี 5 กลีบ ออกผลเป็นฝัก ลักษณะของฝักเป็นรูปทรงกระสวย กลมยาว ยาวประมาณ 6.5-10 เซนติเมตร และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางฝักประมาณ 1-2 เซนติเมตร ฝักมีเนื้อแข็ง โคนผลติดกัน ปลายผลแหลม ผิวผลเป็นมันลื่น พอแก่แล้วจะแตกอ้าออก ภายในผลมีเมล็ดสีน้ำตาลมีขนปุยสีขาวติดอยู่และปลิวไปตามลมได้ ลักษณะของเมล็ดเป็นรูปรีหรือรูปกลมยาวแบน มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร[32]

ประโยชน์ทางยา

การใช้ตามภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยใช้ลำต้นนำมาต้มดื่มบำรุงกำลัง แก้ขัดยอก แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย ส่วนใบนำมาประคบแก้ปวดเมื่อย แก้ปวดเส้นเอ็น ช่วยคลายเส้นเอ็นและกล้ามเนื้อ รากนำมาต้มดื่มเป็นยาฟอกเลือด และเมล็ดนำมาต้มดื่มแก้อาการจุกเสียด แน่นท้อง ช่วยขับลม ส่วนในประเทศจีนใช้รากและฝักของเถาเอ็นอ่อนในการรักษาภาวะบวมน้ำและลดไข้[42]

องค์ประกอบทางเคมี

สารกลุ่ม alkaloids: buchananine, 1, 3, 6-O-trinicotinoyl-α-D-glucopyranose

สารกลุ่ม Cardenolides: cryptosin, sarmentogenin, sarmentocymarin, cardenolide glycosides (cryptanoside A, B, C, และD)[32]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ระงับปวด[33] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ[33,34] ฤทธิ์ปกป้องกระดูกอ่อน[33] ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย[35] และฤทธิ์ปกป้องตับ[36]

การศึกษาทางพิษวิทยา

ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อนในหลอดทดลองโดยวัดการทำงานของเอนไซม์แลคเตตดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase หรือ LDH) ซึ่งเป็นเอนไซม์

ที่บ่งชี้การได้รับบาดเจ็บหรือถูกทำลายของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนจากฝ่าเท้าหมู พบว่าสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 6.25, 12.50, 25.00, 50.00 และ 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรไม่มีผลเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ LDH ในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนจากฝ่าเท้าหมู[33]

ความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวในหนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley (rat leukocytes) เซลล์โมโนไซต์ชนิด THP-1 (human monocytes THP-1 cell line) และเซลล์บุผนังหลอดเลือดจากรก (human umbilical vein endothelial cells) ในหลอดทดลอง โดยวิธี methyl tetrazolium 3-[4, 5-Dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenylte trazolium bromide (MTT) ของสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โมโนไซต์ชนิด THP-1 และเซลล์บุผนังหลอดเลือดจากรก และสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 400 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว พบว่าสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนทุกขนาดไม่มีผลทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารใด ๆ อีกทั้งการศึกษาเดียวกันนี้ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) ของเถาเอ็นอ่อนในหนูถีบจักรเพศผู้และเพศเมีย สายพันธุ์ ICR โดยการให้สารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยการป้อนทางปาก ต่อเนื่องกันนาน 7 วัน และให้สารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนขนาด 200, 400, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยการฉีดเข้าทางช่องท้อง ต่อเนื่องกันนาน 7 วัน ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว สังเกตอาการและพฤติกรรมของหนูถีบจักรหลังจากได้รับสารสกัดที่ 1, 2, 3 และ24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนทุกขนาดที่ให้ในหนูถีบจักรโดยการป้อนทางปากและการฉีดเข้าช่องท้องไม่มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อหนูถีบจักรทั้งเพศผู้และเพศเมีย ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว ไม่มีอาการซึม หนูถีบจักรสามารถเคลื่อนไหวและทำกิจกรรมต่าง ๆ ได้ปกติ อีกทั้งขนาดของสารสกัดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 (lethal dose 50% หรือ LD_{50}) ในหนูถีบจักรทั้งสองเพศที่ได้รับสารสกัดโดยการป้อนทางปากและการฉีดเข้าช่องท้อง คือ ขนาด 900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อพิจารณาจาก LD_{50} ที่มีค่าสูง จึงแสดงให้เห็นถึงความมีพิษต่ำของสารสกัดหยาบส่วนเอทานอลของเถาเอ็นอ่อน[34]

2.9.7 สะค้าน

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Piper Interrubtum Opiz*.

วงศ์: Piperaceae

ชื่ออื่น: ตะค้านเล็ก, ตะค้านหยวก

ภาพที่ 11 ลักษณะต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และผล (ง) สะค้าน

(ที่มา https://medthai.com/ตะค้านเล็ก)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

สะค้านเป็นไม้เถาขนาดกลาง มีข้อปล้อง เนื้อไม้เป็นเส้นยาว หน้าตัดตามขวางมีลายเส้นเป็นรัศมี เปลือกค่อนข้างอ่อน เนื้อสีขาว ใบเดี่ยวรูปใบหอกกว้างคล้ายใบพริกไทย แต่แคบกว่า ปลายใบแหลม ใบสีเขียวเข้ม เกิดตามป่าดิบชื้นทั่วไป[37]

ประโยชน์ทางยา

โบราณว่าเถาสะค้านมีรสเผ็ดร้อน แก้ลมที่บังเกิดในกองธาตุ กองสมุฏฐาน ขับลมในลำไส้ แก้จุกเสียด แก้ธาตุพิการ บำรุงธาตุ ทำให้ผายเรอ ว่าใบมีรสเผ็ดร้อน แก้ลมในกองเสมหะและโลหิต ขับลมในลำไส้ แก้ธาตุพิการ แน่น จุกเสียด และยังว่ารากมีรสเผ็ดร้อน มีสรรพคุณแก้ไข้ แก้หืด แก้จุกเสียด บำรุงธาตุ[42]

องค์ประกอบทางเคมี

สารกลุ่ม sesquiterpene lactones: scabertopin, isoscabertopin, dexoyele phantopin, isodexoyelephantopin

สารกลุ่ม guaianolide glucosides[37]

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[24] ฤทธิ์ระงับปวด และฤทธิ์ต้านการอักเสบ[38]

การศึกษาทางพิษวิทยา

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดส่วนเหนือดินของสะค้านด้วยแอลกอฮอล์และน้ำ 1:1 พบว่า การให้สารสกัด โดยผ่านท่อลงสู่กระเพาะอาหาร (gastric intubation) หรือฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ในขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม ไม่พบพิษในหนูขาว

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและ สารต้านอนุมลอิสระในสมุนไพร และยาดองเหล้าจากสมุนไพร โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถต้านอนุมูลอิสระของในสมุนไพร 22 ชนิด และยาดองเหล้าจากสมุนไพร 4 สูตร ใน การแปรรูปสมุนไพรด้วยการต้ม และดองตามระยะเวลา 0 วัน 3 วัน 7 วัน 14 วัน 30 วัน และ 60 วัน และศึกษาผลการดองเหล้าจากสมุนไพร 4 สูตร ในระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 7 วัน 14 วัน 30 วัน และ 60 วัน จากการศึกษาพบว่า สมุนไพรสะค้านและยาดองสูตรที่ 3 ที่ดองด้วยเหล้าเป็นเวลา 60 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ เท่ากบ 92.04 % และ 76.92 % ตามลำดับ[24]

พหุน ปณฺฑิโต ชีเว

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research) เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของยาผสมโคคลาน ซึ่งผู้วิจัยได้แบ่งหัวข้อในการดำเนินการวิจัยดังต่อไปนี้

3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

3.2 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำโดยวิธีการต้ม (Decoction of Koklan)

3.3 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำโดยวิธีการชง (Infusion of Koklan)

3.4 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน

3.5 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

นำสมุนไพรแต่ละชนิดในยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ โดยโด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น และทองพันชั่งส่วนเหนือดิน เก็บจากตำบลแวงน่าง อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ผลมะตูม แก่นฝาง เถาโคคลาน เถาเอ็นอ่อน และเถาสะค้าน ซื้อมาจากร้านหมอทองอินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ทำการตรวจเอกลักษณ์พืชโดยผู้เชี่ยวชาญ จากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบที่อุณหภูมิ 50-60 °C อบจนแห้ง แล้วบดหยาบ นำสมุนไพรเดี่ยวของทั้ง 3 ตำรับมาชั่งและผสมกันตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ในตำรับ (ตารางที่ 1) จากนั้นนำสมุนไพรมาสกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและชง

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

ตารางที่ 1 *สมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ และขนาดที่ใช้ในแต่ละตำรับ*

ตำรับ	ชื่อสมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์	ส่วนที่ใช้	ขนาดที่ใช้ (กรัม)
ตำรับที่ 1	โคคลาน	*Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg.	EUPHORBIACEAE	เถา	25
	ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz.	ACANTHACEAE	ทั้งต้น	25
	โด่ไม่รู้ล้ม	*Elephantopus scaber* L.	ASTERACEAE	ทั้งต้น	25
	มะตูม	*Aegle marmelos* (L.) Correa ex Roxb.	RUTACEAE	ผลอ่อน	25
ตำรับที่ 2	โคคลาน	*Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg.	EUPHORBIACEAE	เถา	50
	ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz.	ACANTHACEAE	ทั้งต้น	25
	โด่ไม่รู้ล้ม	*Elephantopus scaber* L.	ASTERACEAE	ทั้งต้น	15
	มะตูม	*Aegle marmelos* (L.) Correa ex Roxb.	RUTACEAE	ผลอ่อน	15
ตำรับที่ 3	โคคลาน	*Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg.	EUPHORBIACEAE	เถา	20
	ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz.	ACANTHACEAE	ทั้งต้น	10
	โด่ไม่รู้ล้ม	*Elephantopus scaber* L.	ASTERACEAE	ทั้งต้น	10
	ฝาง	*Ceasalpinia sappan* L.	CEASALPINIACEAE	แก่น	20
	เถาเอ็นอ่อน	*Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult.	APOCYNACEAE	เถา	20
	สะค้าน	*Piper Interruptum Opiz.*	PIPERACEAE	เถา	20

3.2 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำโดยวิธีการต้ม (Decoction of Koklan)

นำผงยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ โดยผงยาผสมโคคลานแต่ละตำรับ ต้มด้วยน้ำกลั่นอุณหภูมิ 120 °C (1:200) ใช้วิธีการต้มเคี่ยว 3 ส่วน เหลือ 1 ส่วน จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อแยกเอากากออก นำสารละลายที่ได้จากการกรองไปทำแห้ง โดยใช้เครื่อง Freeze dryer ชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัด เก็บในภาชนะปิดสนิท ทึบแสง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

การคำนวณหาค่า % Yield ของสารสกัดโดยใช้สูตรดังนี้

% Yield (dry weight basis) = (W1×100)/W2

W_1= น้ำหนัก (กรัม) ของสารสกัดหลังจากระเหยตัวทำละลายด้วยวิธี Freeze drying

W_2= น้ำหนักแห้ง (กรัม) ของตัวอย่าง

3.3 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำโดยวิธีการชง (Infusion of Koklan)

นำผงยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ โดยผงยาผสมโคคลานแต่ละตำรับ ชงกับน้ำร้อน อุณหภูมิ 80 °C (1:200) แช่ไว้ 20 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อแยกเอากากออก นำสารละลายที่ได้จากการกรองไปทำแห้ง โดยใช้เครื่อง Freeze dryer ชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัดและจดบันทึก เก็บในภาชนะปิดสนิท ทึบแสง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

การคำนวณหาค่า % Yield ของสารสกัดโดยใช้สูตรดังนี้

% Yield (dry weight basis) = (W1 × 100) / W2

W_1= น้ำหนัก (กรัม) ของสารสกัดหลังจากระเหยตัวทำละลายด้วยวิธี Freeze drying

W_2= น้ำหนักแห้ง (กรัม) ของตัวอย่าง

3.4 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำ ได้แก่ วิธีต้มเคี่ยว 3 เอา 1 และวิธีชงน้ำร้อน โดยใช้การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม, การหาปริมาณฟีนอลิกรวม, การวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ ในการให้อิเล็กตรอนอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay, การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชั่นโดยวิธี 2,2-dipnenyl-1picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging assay และการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชั่นด้วยวิธี ABTS radical cationdecolorization assay

3.4.1 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic contents)

นำสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ความเข้มข้น 0.0017 mg/ml ปริมาตร 100 µl เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 500 µl จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 400 µl เก็บไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 nm นำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Gallic acid (mgGEA/gEt)[48]

3.4.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoids contents)

โดยนำสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ความเข้มข้น 0.0017 mg/ml ปริมาตร 100 µl เติมสารละลายโซเดียมไนไตรต์ ($NaNO_2$) ปริมาตร 500 µl ทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 500 µl ทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็น

เวลา 10 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 2,000 µl แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 415 nm นำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Quercetin (mgQE/gEt)[44]

3.4.3 การวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

นำสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ความเข้มข้น 0.0025 mg/ml ปริมาตร 100 µL จากนั้นเติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 900 µL (โดยผสมสารละลาย acetate buffer (pH 3.6) ความเข้มข้น 300mM: สารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 mM: $FeCl_3 6H_2O$ ความเข้มข้น 20 mM ในอัตราส่วน 10: 1: 1) ทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 nm. นำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Trolox (mgTE/gEt)[45]

3.4.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชั่นโดยวิธี 2,2-dipnenyl-1 picrylhdrazyl (DPPH) radical scavenging assay

นำสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.1, 0.15 และ 0.2 mg/ml ปริมาตร 100 µl เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 mM ในเอทานอล ปริมาตร 900 µL เก็บไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 515 nm นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (% Inhibition)

โดยใช้สูตร % Inhibition = $[(Abs_{DPPH}-Abs_{DPPH+test}) \times 100] / Abs_{DPPH}]$

สร้างกราฟระหว่าง % Inhibition และความเข้มข้น แล้วรายงานเป็นค่า IC_{50} (50% inhibitory concentration) นำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Trolox และ Ascorbic acid (mg/ml)

3.4.5 การทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชั่นด้วยวิธี ABTS radical cationde- colorization assay

เตรียมสารละลาย ABTS ด้วยการเปลี่ยน ABTS ให้เป็นอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยการเติมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) จากนั้นนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วทำการเจือจางสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยน้ำกลั่น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยนำสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.1, 0.15 และ 0.2 mg/ml ปริมาตร 100 µl เติมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 900 µl ทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 734 nm นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (% Inhibition)

โดยใช้สูตร % Inhibition = $[(Abs_{DPPH}-Abs_{DPPH+test}) \times 100] / Abs_{DPPH}]$

สร้างกราฟระหว่าง % Inhibition และความเข้มข้น แล้วรายงานเป็นค่า IC_{50} (50% inhibitory concentration) นำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Trolox และ Ascorbic acid (mg/ml)[49]

3.5 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของการทดลองละ 5 ซ้ำ (mean ± standard derivation) ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way analysis of variance; One-way ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง และแต่ละความเข้มข้นด้วยวิธี Scheffe's test ที่ p-value <0.05 คำนวณค่าสถิติและหาความสัมพันธ์ของข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS Version 23.0

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง ซึ่งผู้วิจัยได้นำเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

4.1 ปริมาณ (%Yield) ของสารสกัดยาผสมโคคลาน

4.2 ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดยาผสมโคคลาน

4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน

4.1 ปริมาณ (%Yield) ของสารสกัดยาผสมโคคลาน

4.1.1 การเตรียมสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้ม

นำผงยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ โดยผงยาผสมโคคลานแต่ละตำรับ ต้มด้วยน้ำกลั่น (1:200) อุณหภูมิ 120 °C ใช้วิธีการต้มเคี่ยว 3 ส่วน เหลือ 1 ส่วน จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อแยกเอากากออก นำสารละลายที่ได้จากการกรองไปทำแห้ง โดยใช้เครื่อง Freeze dryer ชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัด เก็บในภาชนะปิดสนิท ทึบแสง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C และจดบันทึก โดยผลการคำนวณหา %Yield ของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ได้แก่ น้ำหนักสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 มีปริมาณ 14.16 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 28.32 ของน้ำหนักผงแห้ง น้ำหนักสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 มีปริมาณ 9.41 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 17.92 และน้ำหนักสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 มีปริมาณ 12.45 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 24.9 ของน้ำหนักผงแห้ง สารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ดังกล่าวถูกนำไปใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 2)

4.1.2 การเตรียมสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการชง

นำผงยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ โดยผงยาผสมโคคลานแต่ละตำรับ ชงกับน้ำร้อน (1:200) อุณหภูมิ 80 °C แช่ไว้ 20 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อแยกเอากากออก นำสารละลายที่ได้จากการกรองไปทำแห้ง โดยใช้เครื่อง Freeze dryer ชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัดและจดบันทึก เก็บในภาชนะปิดสนิท ทึบแสง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C และจดบันทึก โดยผลการคำนวณหา %Yield ของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ได้แก่ น้ำหนักสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 มีปริมาณ 15.87 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 31.74 ของน้ำหนักผงแห้ง น้ำหนักสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 มีปริมาณ 7.55 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 14.38 และน้ำหนักสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 มีปริมาณ 8.63 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 17.26

ของน้ำหนักผงแห้ง สารสกัดตำรับยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ดังกล่าวถูกนำไปใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณ (% yield) ของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่ได้จากวิธีการต้มและการชง

ยาผสมโคคลาน	% yield
ตำรับที่ 1 ต้ม	28.32
ตำรับที่ 1 ชง	31.74
ตำรับที่ 2 ต้ม	17.92
ตำรับที่ 2 ชง	14.38
ตำรับที่ 3 ต้ม	24.90
ตำรับที่ 3 ชง	17.26

4.2 ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic contents; TPC) และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoid contents; TFC) ของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง ผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.2.1 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่า สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้มมีปริมาณฟีนอลิครวมสูงที่สุด เท่ากับ 13.75±0.09 mgGE/gExt รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง เท่ากับ 12.79±0.08 mgGE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม เท่ากับ 12.11±0.14 mgGE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม เท่ากับ 11.14±0.09 mgGE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง เท่ากับ 8.37±0.08 mgGE/gExt และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง เท่ากับ 7.68±0.08 mgGE/gExt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ (ตาราง 3) (ภาพประกอบที่ 12)

4.2.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่า สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง มีปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด เท่ากับ 40.79±0.54 mgQE/gExt รองลงมา คือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม เท่ากับ 36.88±0.61 mgQE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับ 3 ด้วยวิธีการต้ม เท่ากับ 26.74±0.27 mgQE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม เท่ากับ 22.63±0.39 mgQE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง

เท่ากับ 20.54±0.41 mgQE/gExt และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง เท่ากับ 17.95±0.30 mgQE/gExt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ (ตาราง 3) (ภาพประกอบที่ 13)

4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลาน

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง โดยการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay, การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay และการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS assay ผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.3.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP assay พบว่าความสามารถในการรีดิวซ์สารอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด คือสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง เท่ากับ 38.48±0.38 mgTE/gExt รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม เท่ากับ 29.11±0.24 mgTE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม เท่ากับ 25.04±0.15 mgTE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง เท่ากับ 23.11±0.14 mgTE/gExt สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม เท่ากับ 16.90±0.19 mgTE/gExt และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง เท่ากับ 15.69±0.19 mgTE/gExt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ (ตาราง 3) (ภาพประกอบที่ 14)

4.3.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay พบว่า สารสกัดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม มีความสามารถการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีค่า IC_{50} = 11.01±0.04 µg/mL รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง มีค่า IC_{50} = 12.17±0.05 µg/mL สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม มีค่า IC_{50} = 13.45±0.04 µg/mL สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม มีค่า IC_{50} = 14.51±0.02 µg/mL สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง มีค่า IC_{50} = 15.34±0.09 µg/mL Ascorbic มีค่า IC_{50} = 16.18±0.29 µg/mL สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง มีค่า IC_{50} = 20.45±0.18 µg/mL และ Trolox มีค่า IC_{50} = 44.42±0.75 µg/mL ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$ (ตาราง 3) (ภาพประกอบที่ 13)

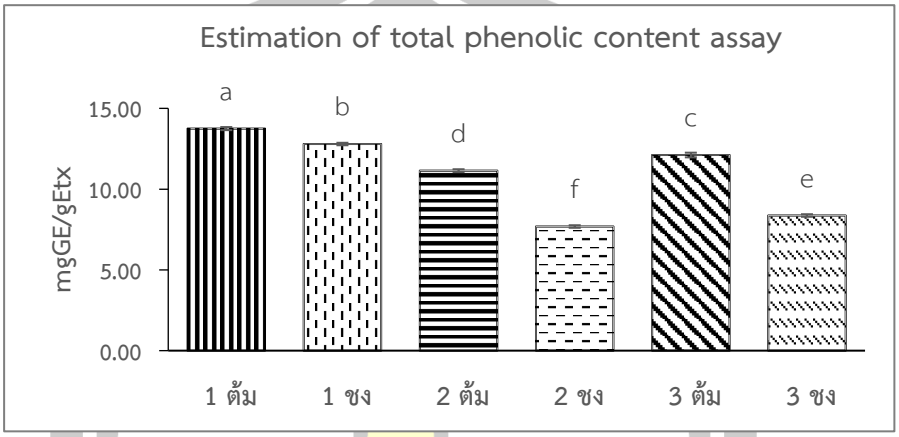
4.3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay พบว่า สารสกัดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม มีค่า IC_{50} = 1.71±0.01 µg/mL รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง มีค่า IC_{50} = 2.16±0.02 µg/mL สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม มีค่า IC_{50}

=3.01±0.03 µg/mL สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม มีค่า IC_{50} = 3.72±0.02 mg/ml สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง มีค่า IC_{50} = 3.73±0.03 µg/mL สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง มีค่า IC_{50} = 4.04±0.03 µg/mL Ascorbic มีค่า IC_{50} = 9.88±0.22 µg/mL และ Trolox มีค่า IC_{50} = 22.96±0.35 µg/mL ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05 (ตาราง 3) (ภาพประกอบที่ 15)

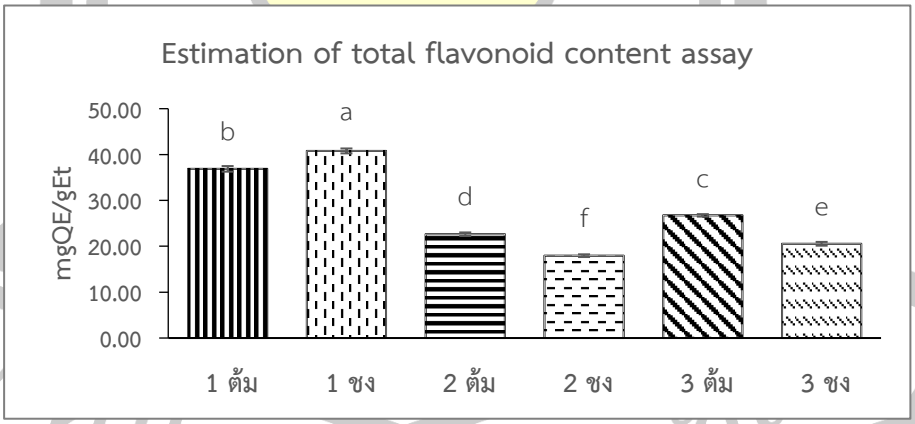
ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชง ในการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ที่ศึกษาโดยวิธี FRAP assay DPPH assay และ ABTS assay

ตัวอย่าง	TPC	TFC	FRAP	DPPH	ABTS
	mgGE/gExt	mgQE/gExt	mgTE/gExt	IC_{50} (µg/mL)	IC_{50} (µg/mL)
ตำรับที่ 1 ต้ม	13.75±0.09^{a}	36.88±0.61^{b}	25.04±0.15^{c}	14.51±0.02^{d}	3.72±0.02^{d}
ตำรับที่ 1 ชง	12.79±0.08^{b}	40.79±0.54^{a}	23.11±0.14^{d}	20.45±0.18^{g}	4.04±0.03^{d}
ตำรับที่ 2 ต้ม	11.14±0.09^{d}	22.63±0.39^{d}	16.90±0.19^{e}	13.45±0.04^{c}	1.71±0.01^{a}
ตำรับที่ 2 ชง	7.68±0.08^{f}	17.95±0.30^{f}	15.69±0.19^{f}	15.34±0.09^{e}	2.16±0.02^{b}
ตำรับที่ 3 ต้ม	12.11±0.14^{c}	26.74±0.27^{c}	29.11±0.24^{b}	11.01±0.04^{a}	3.01±0.03^{c}
ตำรับที่ 3 ชง	8.37±0.08^{e}	20.54±0.41^{e}	38.48±0.38^{a}	12.17±0.05^{b}	3.73±0.03^{d}
Ascorbic	-	-	-	16.18±0.29^{f}	9.88±0.22^{e}
Trolox	-	-	-	44.42±0.75^{h}	22.96±0.35^{f}

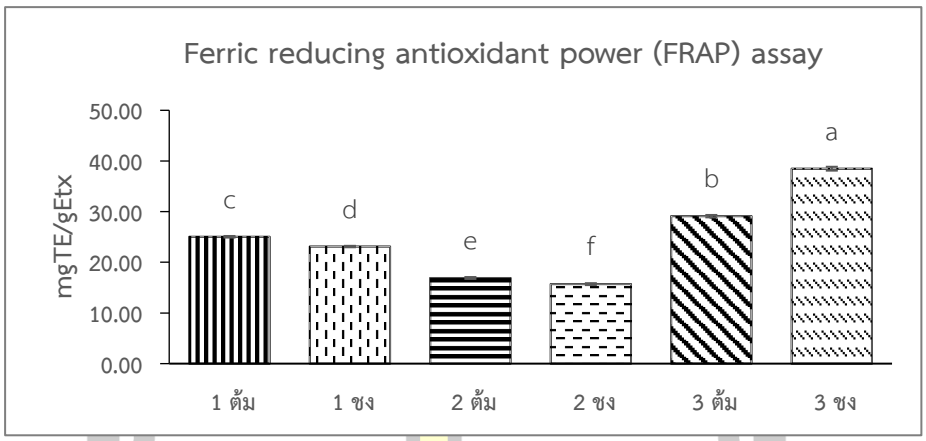
ตัวอย่างสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำสกัดด้วยวิธีต้ม ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม ตำรับที่ 2 ต้ม และตำรับที่ 3 ต้ม สกัดด้วยวิธีชง ได้แก่ ตำรับที่ 1 ชง ตำรับที่ 2 ชง และตำรับที่ 3 ชง รายงานผลปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) ในหน่วย mgGE/gExt ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC) ในหน่วย mgQE/gExt ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในวิธี FRAP ในหน่วย mgTE/gExt วิธี DPPH และ ABTS รายงานผลเป็นค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic และ Trolox โดย $^{a, b, c, d, e, f, g, h}$ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$



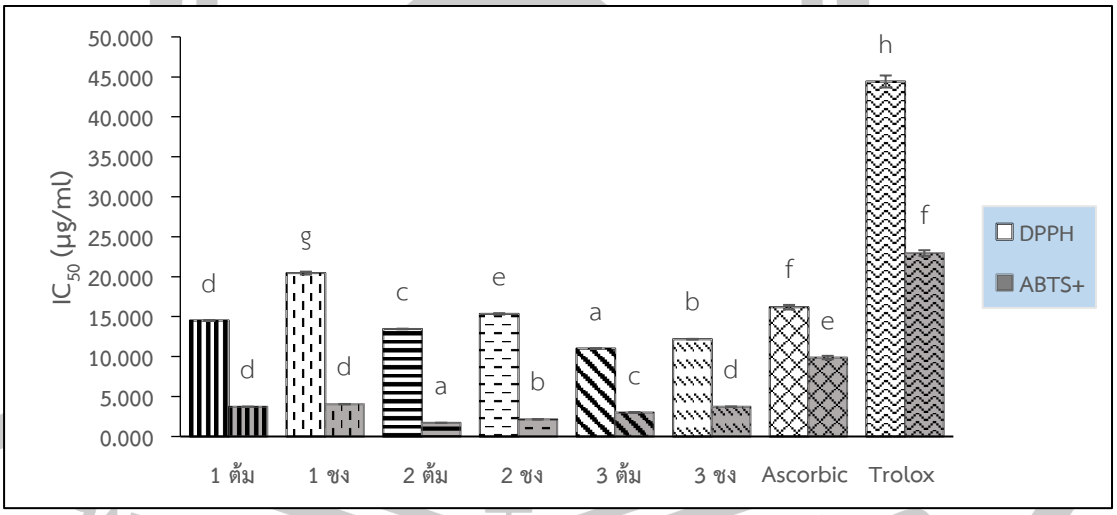
ภาพที่ 12 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชงสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีต้มและชง ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม (1 ต้ม) ตำรับที่ 2 ต้ม (2 ต้ม) และ ตำรับที่ 3 ต้ม (3 ต้ม) ตำรับที่ 1 ชง (1 ชง) ตำรับที่ 2 ชง (2 ชง) และตำรับที่ 3 ชง (3 ชง) รายงานผลปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) ในหน่วย mgGE/gExt โดย a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$



ภาพที่ 13 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชงสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีต้ม ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม (1 ต้ม) ตำรับที่ 2 ต้ม (2 ต้ม) และ ตำรับที่ 3 ต้ม (3 ต้ม) ตำรับที่ 1 ชง (1 ชง) ตำรับที่ 2 ชง (2 ชง) และตำรับที่ 3 ชง (3 ชง) รายงานผลปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC) ในหน่วย mgQE/gExt โดย a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$



ภาพที่ 14 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามวิธี FRAP assay ของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชง สารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีต้ม ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม (1 ต้ม) ตำรับที่ 2 ต้ม (2 ต้ม) และ ตำรับที่ 3 ต้ม (3 ต้ม) ตำรับที่ 1 ชง (1 ชง) ตำรับที่ 2 ชง (2 ชง) และตำรับที่ 3 ชง (3 ชง) รายงานผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในวิธี FRAP ในหน่วย mgTE/gExt โดยa,b,c, d, e และ f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05



ภาพที่ 15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามวิธี DPPH assay และ ABTS assay ของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ด้วยวิธีการต้มและการชง สารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีต้ม ได้แก่ ตำรับที่ 1 ต้ม (1 ต้ม) ตำรับที่ 2 ต้ม(2 ต้ม) และ ตำรับที่ 3 ต้ม (3 ต้ม) ตำรับที่ 1 ชง (1 ชง) ตำรับที่ 2 ชง (2 ชง) และตำรับที่ 3 ชง (3 ชง) รายงานผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในวิธี DPPH และ ABTS เป็นค่า IC_{50} ในหน่วย µg/ml เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic และ Trolox โดย a, b, c, d, e, f และ h แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง ซึ่งผู้วิจัยได้นำเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

5.1 สรุปผล

5.2 อภิปรายผล

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

การเตรียมสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง พบว่า ตำรับที่ 1 ด้วยการชง มีปริมาณสารสกัด (% yield) มากที่สุด (31.74) รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยการต้ม (28.32) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยการต้ม (24.90) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยการต้ม (17.92) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยการชง (17.26) และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยการชง (14.38) ตามลำดับ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง โดยการหาปริมาณฟีนอลิกรวม, การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม, การวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay, การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay และการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS assay ตามลำดับ

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่า สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม มีปริมาณฟีนอลิครวมสูงที่สุด (13.75±0.09 mgGE/gExt) รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง (12.79±0.08 mgGE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม (12.11±0.14 mgGE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม (11.14±0.09 mgGE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง (8.37±0.08 mgGE/gExt) และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง (7.68±0.08 mgGE/gExt) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่า สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง มีปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด (40.79±0.54 mgQE/gExt) รองลงมา คือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม (36.88±0.61 mgQE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับ 3 ด้วยวิธีการต้ม (26.74±0.27 mgQE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม (22.63±0.39 mgQE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง (20.54±0.41 mgQE/gExt) และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง (17.95±0.30 mgQE/gExt) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP assay พบว่า ความสามารถในการรีดิวซ์สารอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด คือสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง (38.48±0.38 mgTE/gExt) รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม (29.11±0.24 mgTE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม (25.04±0.15 mgTE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง (23.11±0.14 mgTE/gExt) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม (16.90±0.19 mgTE/gExt) และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง (15.69±0.19 mgTE/gExt) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay พบว่า สารสกัดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม มีความสามารถการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (IC_{50} = 11.01±0.04 µg/mL) รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง (IC_{50} = 12.17±0.05 µg/mL) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม (IC_{50} = 13.45±0.04 µg/mL) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม (IC_{50} = 14.51±0.02 µg/mL) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง (IC_{50} = 15.34±0.09 µg/mL) Ascorbic (IC_{50} = 16.18±0.29 µg/mL) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง (IC_{50} = 20.45±0.18 µg/mL) และ Trolox (IC_{50} = 44.42±0.75 µg/mL) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay พบว่า สารสกัดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม (IC_{50} = 1.71±0.01 µg/mL) รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง (IC_{50} = 2.16±0.02 µg/mL) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม (IC_{50} =3.01±0.03 µg/mL) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม (IC_{50} = 3.72±0.02 mg/ml) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง (IC_{50} = 3.73±0.03 µg/mL) สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง (IC_{50} = 4.04±0.03 µg/mL) Ascorbic (IC_{50} = 9.88±0.22 µg/mL) และ Trolox (IC_{50} = 22.96±0.35 µg/mL) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$

5.2 อภิปรายผล

การศึกษาการเตรียมสารสกัดจากยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง พบว่า ตำรับที่ 1 ที่สกัดด้วยการชง มีปริมาณสารสกัด (%yield) มากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยการชง และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยการชง ตามลำดับ เมื่อพิจารณาแล้วจะเห็นได้ว่าวิธีการชงจะให้ปริมาณสารสกัด (% yield) สูงที่สุด แต่ลำดับถัดมาพบว่าสารสกัดยาผสมโคคลานวิธีการต้มทั้ง 3 ตำรับ มีค่าปริมาณสารสกัดที่สูงมากกว่าวิธีการชงอีก 2 ตำรับที่เหลือ ซึ่งสอดคล้องกับสารสกัดเอทานอลของฝาง มีปริมาณสารสกัดเท่ากับ 16.75±6.25%[50] และการศึกษาปริมาณสารสกัดต้นทองพันชั่งด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ petroleum ether, chloroform, ethyl acetate และ methanol พบว่า มีปริมาณสารสกัด 5.4%, 2.6%, 1.2% และ 5.6% ตามลำดับ[51] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาปริมาณสารสกัดในกระเจี๊ยบแดง พบว่าวิธีการต้มให้ปริมาณสารสกัด (% yield) ได้มากที่สุด[52]

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกในยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มและการชง พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากตำรับยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับต่อปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน พบว่า สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม มีปริมาณฟีนอลิครวมสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดผลมะตูมอ่อนด้วยเอทานอล 95% และสกัดด้วยน้ำ พบว่ามีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงถึง 83.8± 37.6 mg/GAE ต่อ 100 มิลลิลิตร[16] และยังสอดคล้องกับการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากฝางด้วยน้ำโดยวิธีการชง มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 147.02 ± 0.63 mgGAE/g[25] ทั้งยังสอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดเถาสะค้านด้วยเอทานอล 80% มีปริมาณฟีนอลลิกรวม 7.3 ± 0.8 mg GAE/g[53] การศึกษาสารสกัดต้นโด่ไม่รู้ล้มด้วยเอทานอลพบว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 193.05±1.17 mg GAE/gExt[54] และการศึกษาสารสกัดใบทองพันชั่งด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ hexane, Ethyl acetate, methanol และน้ำ มีปริมาณฟีนอลลิกรวมเท่ากับ 19.6±1.9, 26.6±1.0, 31.0±1.7 และ 24.5±1.4 mgGAEs/gExt ตามลำดับ[55] นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาเปรียบเทียบการสกัดสารด้วยการต้มและการชงในต้นสเปียร์มิ้นท์ซึ่งพบว่าการต้มเป็นเวลา 15 นาทีขึ้นไปสามารถดึงเอาสารฟีนอลิกออกมาได้ดีกว่าวิธีการชง[52]

การศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่า สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชงมีปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม

สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับ 3 ด้วยวิธีการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง สอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดต้นโด่ไม่รู้ล้มด้วยเอทานอลพบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 120.87±0.61 mg CE/gExt[54] นอกจากนี้การศึกษาปริมาณสารสกัดด้วยการต้มและการชงของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง พบว่าการสกัดด้วยน้ำมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมใกล้เคียงกันทั้งวิธีการต้มและชง[56]

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP assay พบว่าความสามารถในการรีดิวซ์ สารอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด คือสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการชง รองลงมาคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการต้ม สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 1 ด้วยวิธีการชง สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม และสารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการชง เมื่อพิจารณาจากผลที่ได้รับพบว่า สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ทั้งวิธีการต้มและการชง มีค่ารีดิวซ์สารอนุมูลอิสระสูงกว่าตำรับที่ 1 และ 2 อย่างเห็นได้ชัด โดยตำรับที่ 3 มีความแตกต่างกับตำรับที่ 1 และ 2 โดยมีการตัดผลมะตูมอ่อนออกไป และเพิ่มเอาแก่นฝาง เถาเอ็นอ่อน และสะค้าน เข้ามา ด้วยตัวแปรที่แตกต่างนี้ ทำให้ผลที่ได้รับจากการทดสอบสารสกัดยาผสมโคคลานด้วยวิธี FRAP assay มีฤทธิ์ที่โดดเด่นกว่าตำรับอื่น สอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดเถาโคคลานด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่ามีค่ารีดิวซ์สารอนุมูลอิสระในวิธี FRAP เท่ากับ 99.01±4.56 GEAC/g[5] ทั้งสอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดเอทานอลของต้นทองพันชั่งพบว่ามีค่ารีดิวซ์สารอนุมูลอิสระในวิธี FRAP พบค่า IC_{50}= 215.19±20.69 µg/mL[43] และยังสอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดผลมะตูมอ่อนด้วยเอทานอล 95% และสกัดด้วยน้ำมีค่ารีดิวซ์สารอนุมูลอิสระในวิธี FRAP เท่ากับ 111.61 ± 0.59 $Fe2^{+}$/gExt[16] ซึ่งการที่ตำรับยาผสมโคคลานมีค่าการรีดิวซ์สารอนุมูลอิสระที่สูงในวิธี FRAP เนื่องมาจากมีพืชสมุนไพรดังกล่าวเป็นส่วนประกอบในตำรับ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในครั้งนี้ เลือกการทดสอบคุณสมบัติในการเป็นตัวขจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavenger) ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว เนื่องจาก DPPH และ ABTS เป็นอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างเสถียรเป็นอนุมูลอิสระไนโตรเจนที่คงตัว ที่จะเปลี่ยนเป็น diphenylpicrylhydrazine เมื่อมีสารต้านอนุมูลอิสระให้อิเล็กตรอน ผลที่ได้จากการทดลองทั้งสองวิธีนี้ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดด้วยน้ำจากตำรับยาสมุนไพรโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยวิธีการต้มและชง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid และ Trolox โดยเมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 ด้วยวิธีการต้ม มีปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมสูง และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดยาผสมโคคลานด้วยวิธีชง อย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ในการวิธีทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดยาผสมโคคลานที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ สารสกัดยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 ด้วยวิธีการต้ม เมื่อพิจารณาแล้วสารสกัดยาผสมโคคลานมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีด้วยวิธีการต้ม ซึ่งการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วมากและการสกัดด้วยการต้มมักใช้ระยะเวลามากกว่าการชง ทำให้มีความสามารถในการทำละลายสารกลุ่มที่มีขั้ว เช่น สารกลุ่มฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์ได้ในปริมาณสูง[57] ทั้งยังมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระสูง เมื่อทดสอบคุณสมบัติในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่า พืชจะมีสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ที่แสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยกลไกการกำจัดอนุมูลอิสระของสารกลุ่มฟีนอลิกได้แก่ การกำจัด reactive species การหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่การเกิดลิพิดออกซิเดชันหรืออาจมีการคีเลทกับโลหะ ซึ่งเป็นตัวเร่งการสร้างอนุมูลอิสระตัวอื่นตามมา โดยมีการศึกษาสารสกัดเถาโคคลานที่เป็นส่วนผสมหลักในตำรับยาผสมโคคลาน ที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} = 24.45 µg/mL และวิธี FRAP มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 99.01±4.56 GEAC/g ซึ่งสารสกัดโคคลานมีค่าการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid และ Trolox[5] นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดผลมะตูมอ่อนด้วยเอทานอล 95% และสกัดด้วยน้ำ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชัน มีค่า EC_{50} เท่ากับ 36.40±1.23 µg/ml เมื่อศึกษาด้วยวิธี ABTS[20] มีการศึกษาสารสกัดทองพันชั่งด้วยเอทานอล มีค่า IC_{50} = 55.56±7.71 µg/mL เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH[5] ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบโด่ไม่รู้ล้มด้วยเอทานอล 70% แล้วนำมาสกัดแยกสารโดยใช้เอทิลอะซิเตท (ESEAF) พบว่า ESEAF ที่ความเข้มข้น 1,000 µg/mL มีค่า IC_{50} 69.70±0.01 µg/mL เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Superoxide Anion Radical Scavenging Activity (SOD) มีค่า IC_{50} 3.79±0.16 µg/mL[58] สอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดฝางที่สกัดด้วยน้ำ โดยการชง พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 33.91 ± 1.50% เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH[25] และสอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดเถาสะค้านด้วยเอทานอล 80% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีค่า IC_{50}=138.7 ± 2.2 µg/ml เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และยังสามารถยับยั้งปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชันมีค่า IC_{50}=38.7 ± 0.1 µg/ml[53]

เนื่องจากสารสกัดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นสารสกัดหยาบ ซึ่งประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของสารสกัดจากยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ คือ สารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่พบได้ในพืชสมุนไพรทั่วไป มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งหมู่ในโมเลกุล สามารถละลายน้ำได้ สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิค แทนนิน แคทีชิน แคโรทีนอยด์ และแอนโทไซยานิน เป็นต้น ซึ่งสารประกอบฟีนอลิก ทำหน้าที่เป็นตัวกำจัดหรือขับไล่อนุมูลอิสระ โดยการหน่วง

เหนียวหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ส่งผลให้สามารถป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ ในร่างกายได้ จากผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำด้วยวิธีการต้มและการชง ดังนั้น เพื่อพัฒนายาจากตำรับยายาผสมโคคลาน จึงควรศึกษาสารสำคัญและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้อง เพื่อสร้างความเชื่อมั่นและส่งเสริมการใช้ตำรับยาผสมโคคลาน และควรมีการศึกษาต่อยอด เพื่อทราบถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ เป็นผลมาจากสารสำคัญชนิดใด และศึกษากลไกการออกฤทธิ์ รวมถึงการศึกษาความปลอดภัยในการใช้ตำรับยาสมุนไพรนี้ทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ข้อเสนอแนะจากการศึกษาครั้งนี้

การศึกษานี้นับว่าเป็นการให้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการสนับสนุนการใช้ยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ เพื่อมุ่งเน้นไปยังการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารสกัดน้ำของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่สกัดด้วยวิธีการต้มและชง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองที่ดี อย่างไรก็ตามข้อมูลที่มีนั้นยังไม่มากพอที่จะยืนยันได้แน่ชัดว่าสารสกัดจากสารสกัดน้ำของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสัตว์ทดลองหรือแม้กระทั่งในมนุษย์ ทั้งยังมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องศึกษาความปลอดภัยในการใช้ เช่นการทดสอบความเป็นพิษหรืออาการไม่พึงประสงค์ ทั้งในสัตว์ทดลองและมนุษย์

5.3.2 ข้อเสนอแนะในการทาวิจัยครั้งต่อไป

5.3.2.1 ควรมีศึกษาชนิดของสารสำคัญของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

5.3.2.2 ควรศึกษากลไกในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับในสัตว์ทดลอง

5.3.2.3 ควรศึกษารูปแบบ และขนาดที่เหมาะสมในการยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ เพื่อให้เป็นยา และการทดสอบประสิทธิภาพรวมถึงประสิทธิผลความปลอดภัยของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ

บรรณานุกรม

1. ปริยานุช อินทร์รอด. *ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นเร่วหอมและว่านสาวหลง*. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา; 2551.
2. Nitiwuttidecha P, Sudsai T. Study on Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Dracaena Loureiri Gagnep Stem Woods. In: *National Conference RSU National Research Conference 2016*. Bangkok, Thailand: Rangsit University; 2016. p. 58–65.
3. กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ, ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*. 2560;3(1):86–94.
4. Bureau of drug control: Food and drug administration Thailand. *National list of essen- tial medicines*. [online]. 2015. [cited 2018 Sep 18]. Available from: http://www. drug.fda.moph.go.th: 81/nlem.in.th.
5. เพ็ญนภา วงศ์ล้อม, กนกวรรณ พุทธบุญ, นริศรา สารภาค. *สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดสมุนไพร เถาโคคลาน เถาบอระเพ็ด และใบสะเดา*. ปริญญานิพนธ์แพทย์แผนไทยบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี; 2559.
6. Hasan M, Uddin N, Hasan R, Islam M, Islam A, Hossain M, *et al*. Anagesic and anti-inflammatory activities of leaf of *Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg. *Biomed Res Int*. 2014;2014:1–7.
7. พิศมัย เหล่าภัทรเกษม, บรรจบ ศรีภา, จริยา หาญวจนวงศ์. ฤทธิ์ของโคคลานต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์หลอดเลือดและเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี. *ศรีนครินทร์เวชสาร*. 2553;25(3):201–207.
8. Sheeba KO, Wills PJ, Latha BK, Rajalekshmy R, Latha MR. Antioxidant and antihepatotoxic efficacy of methanolic extract of *Elephantopus scaber* Linn in Wistar rats. *Asian Pacific J Trop Dis*. 2012;2(2):904–908.
9. Rout JR, Sahoo SL. *In vitro* propagation and antioxidant enzymes activities of

Elephantopus scaber L. *Asia-Pacific J Mol Biol Biotechnol*. 2013;21(2):59–66.

10. Tsai CC, Lin CC. Anti-inflammatory effects of Taiwan folk medicine “Teng-Khia-U” on carrageenan- and adjuvant-induced pauu edema in rats. *J Ethnopharmacol*. 1999;64(1):85–89.
11. นวฉัตร เทียนสุวรรณ, บังอร ศรีพานิชกุลชัย, นภภัค ใจภักดี. ผลของสารสกัดสมุนไพรไทยสี่ชนิดต่อการสังเคราะห์เมลานิน. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*. 2558;11(5):33–42.
12. วันทนา เหรียญมงคล. *การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ ระงับปวด ลดไข้ และทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสาร rhinacanthin-C และสารสกัดมาตรฐานใบทองพันชั่งในสัตว์ทดลอง*. กรุงเทพฯ: กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี; 2554.
13. ทัศนีย์ พาณิชย์กุล, ณัฐพร บุ๊ฮวด, กัลยาภรณ์ จันตรี, ทิวัตถ์ กุลชนะภควัต, พิสุทธิ์ ปทุมาสูตร, ฤทธิพันธ์ รุ่งเรือง, นาถลดา อ่อนวิมล. ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดทองพันชั่งต่อเชื้อแบคทีเรียที่พบบนผิวหนัง. *SDU Res J*. 2560;10(3):17–32.
14. Krushna GSS, Kareem MA, Reddy VD, Padmavathi P, Hussain SA, Kodidhela LD. *Aegle marmelos* fruit extract attenuates isoproterenol-induced oxidative stress in rats. *J Clin Biochem Nutr*. 2012;50(3):199–204.
15. Kejariwal M. Evaluation of Antioxidant Potential and Phytochemical investigations on *Aegle marmelos* (L.) Corr. Bull. Env. *Pharmacol Life Sci*. 2015;5(2):42–52.
16. ปฐมพงษ์ เผือกลี, ภาณัฐ เดชะยนต์, จิตพิสุทธิ์ จันทร์ทองอ่อน, อรุณพร อิฐรัตน. ฤทธิ์ต้านการแพ้ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลมะตูมอ่อน. *ธรรมศาสตร์เวชสาร*. 2561;18(3):349–57.
17. Sharmila S, Devi PAV. Comparison of *in vitro* antioxidant activity of the ethanolic extract of ripe and unripe fruit of *Aegle marmelos*. *J Pharm Res*. 2011;4(3):720–722.
18. Kamalakkannan N, Prince SM. Effect of *Aegle marmelos* Correa. (Bael) fruit

extract on tissue antioxidants in streptozotocin diabetic rats. *Indian J Exp Biol*. 2003;41(11):1285–8.

19. Kantha DA, Subhashini S, Kumar A. Wound healing and Antigenotoxic activities of *Aegle marmelos* with relation to its antioxidant properties. *J Pharm Res*. 2012;5(3):1492–1502.

20. Abdullakasim P, Songchitsomboon S, Techagumpuch M, Balee N, Swatsitang P, Sungpuag P. Antioxidant capacity, total phenolics and sugar content of selected Thai health beverages. *Int J Food Sci Nutr*. 2007;58(1):77–85.

21. Ghangale GR, Surve VS, Anbarasan K, Gatne MM. Evaluation of *Aegle marmelos* (Bael) for antiinflammatory activity in rats. *J Bombay Vet Coll*. 2008;16(1):15–16.

22. Kumaria KDKP, Weerakoona TCS, Handunnettib SM, Samarasinghec K, Suresha TS. Anti-inflammatory activity of dried flower extracts of *Aegle marmelos* in Wistar Rats. *J Ethnopharmacol*. 2014;151(3):1202–1208.

23. วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: รวมสาสน์; 2542.

24. ปรานอม ธรรมศิริ. การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในยาดองเหล้าและสมุนไพรประกอบยาดอง. ปริญญานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ; 2554.

25. นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์, ภาวิณี อารีศรีสม, ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล, วาที คงบรรทัด, เยาวนิตย์ ธาราฉาย, รุ่งทิพย์ กาวารี. ผลของอุณหภูมิการอบแห้งต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและคุณค่าทางโภชนาการของชาแก่นฝาง. ใน: *การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 8 ทรัพยากรไทย ศักยภาพมากล้นมีให้เห็น*. สระบุรี: โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ 29 พฤศจิกายน-1 ธันวาคม 2560; 2560. หน้า 165–70.

26. พรพิมล ม่วงไทย. *การศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรประกอบยาดองและยาดองตามสูตรภูมิปัญญาไทย*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ; 2556.

27. Shengqian W, Miguel O, Frank U, Mary G, Ampai P, Catharina C, *et al*. Anti-

inflammatory activity of an ethanolic *Caesalpinia sappan* extract in human chondrocytes and macrophages. *J Ethnopharmacol*. 2011;138(2):385–388.

28. Gritsanapan, Chulasiri. A preliminary study of antidiarrheal plants I. Antibacterial activity. *MAHIDOL J Pharm Sci*. 1983;10(4):119–123.
29. Avirutnant W, Pongoan A. The Antimicrobial Activity of Some Thai Flowers and Plants. MAHIDOL J Pharm Sci. 1983;10(3):81–6.
30. Xie YW, Ming DS, Xu HX, Dong H, But PP. Vasorelaxing effects of *Caesalpinia sappan*: Involvement of endogenous nitric oxide. *Life Sci*. 2000;67(15):1913–1918.
31. Ueda JY, Tezuka Y, Banskota AH, Tran QL, Tran QK, Harimaya Y, *et al*. Antiproliferative Activity of Vietnamese Medicinal Plants. *Biol Pharm Bull*. 2002;25(6):753–760.
32. นิจศิริ เรืองรังสี, ธวัชชัย มังคละคุปต์. *สมุนไพรไทย เล่ม 1*. กรุงเทพฯ: บี เฮลท์ตี้; 2547.
33. Hanprasertpong N, Teekachunhatean S, Chaiwongsa R, Ongchai S, Kunanusorn P, Sangdee C, *et al*. Analgesic, anti-inflammatory, and chondro protective activities of *Cryptolepis buchanani* extract: *in vitro* and in vivo studies. *Biomed Res Int*. 2014;2014(5):1–8.
34. Laupattarakasem P, Wangsrimongkol T, Surarit R, Hahnvajanawong C. *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory potential of *Cryptolepis buchanani*. *Ethnopharmacol*. 2006;108:349–354.
35. Sittiwet C, Puangpronpitag D. Anti-bacterial Activity of *Cryptolepis buchanani* aqueous extract. *Int J Biol Chem*. 2009;3(2):90–94.
36. Padmalochana K, Rajan MS, Lalitha R, Sivasankari H. Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective activity of *Cryptolepis buchanani*. *J Appl Pharm Sci*. 2013;3(2):99–104.
37. อรุณรัตน์ ฉวีราช, รุ่งลาวัลย์ สุดมูล, ธวัตชัย ธานี, ปิยะ โมคมุล. *พืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย*.

ขอนแก่น: ขอนแก่นการพิมพ์; 2552.

38. Sireeratawong S, Itharat A, Lerdvuthisopon N, Piyabhan P, Khonsung P, Boonraeng S, *et al*. Anti-Inflammatory, Analgesic, and Antipyretic Activities of the Ethanol Extract of *Piper interruptum* Opiz. and *Piper chaba* Linn. *ISRN Pharmacol*. 2012;2012:1–6.

39. ไมตรี สุทธจิตต์, รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย, วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, ศิริธร ศิริอมรพรรณ, ไชยวัฒน์ ไชยสุต, สุพัตรา ปรศุพัฒนา, และคณะ. *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*. เชียงใหม่: สมาร์ท โคตรติ้ง แอนด์ เซอร์วิส; 2555.

40. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*. 2001;57:593–615.

41. สมพร ภูติยานันต์. *ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทยว่าด้วยสมุนไพรกับการแพทย์แผนไทย*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2546.

42. บุหรัน พันธุ์สวรรค์. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 2013;21(3):275–286.

43. นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, นงลักษณ์ เรื่องวิเศษ. *คุณภาพเครื่องยาไทยจากงานวิจัยสู่การพัฒนาอย่างยั่งยืน*. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ; 2551.

44. ยลดา ศรีเศรษฐ์, กนกวรรณ จารุกำจร, วรัญญา จตุพรประเสริฐ. การวิเคราะห์ปริมาณเบอจีนินในสารสกัดลำต้น *Mallotus repandus* โดยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงวัฏภาคย้อนกลับ. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*. 2561;14:67–74.

45. Gautam MK, Purohit V, Agarwal M, Singh A, Goel RK. *In Vivo* Healing Potential of *Aegle marmelos* in Excision, Incision, and Dead Space Wound Models. *Sci World J*. 2014;2014:1–9.

46. นันทวัน บุณยะประภัศร, อรนุช โชคชัยเจริญพร. สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน เล่ม 2. กรุงเทพฯ: ประชาชน; 2541.

47. ปราณี ชวลิตธำรง, ทรงพล ชีวพัฒน์, เอมมนัส อัตตวิชญ์. *รายงานวิจัยความเป็นพิษเฉียบพลัน*

และกิ่งเรื้อรังของสารสกัดแอลกอฮอล์โคคลาน. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ; 2547.

48. Hasan MM, Uddin N, Hasan MR, Islam AF, Hossain MM, Rahman AB, *et al*. Analgesic and anti-inflammatory activities of leaf extract of *Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg. *Biomed Res Int*. 2014;2014:1–7.

49. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol*. 1999;299:152–178.

50. พรชนก ชโลปกรณ์, พงศธร กล่อมสกุล. ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก. *วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 2560;12(1):63–73.

51. Jayapriya G, Shoba F. Phytochemical analysis and antimicrobial efficacy of *Rhinacanthus nasutus* (l) Linn. *J Pharmacogn Phytochem*. 2015;3(6):83–86.

52. สุดวงมาลย์ อิณปุรณ, ลักษณา มุสิกชาติ, วนิดา บุญมาก. *การศึกษาวิธีการสกัดการตรวจสอบเอกลักษณ์ และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของหญ้าดอกขาว*. ปริญญานิพนธ์แพทย์แผนไทยบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชมงคลธัญบุรี; 2555.

53. Klinthong S, Khammanit R, Phornchirasilp S, Temsiririrkkul R, Siriwatanametanon N. *In vivo* anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of a Thai traditional formula, Rid-si-duang-ma-ha-kan, for hemorrhoid treatment. *Mahidol Univ J Pharm Sci*. 2015;42(3):144–152.

54. Ho YW, Yeap SK, Ho CL, Rahim RA, Alitheen NB. Hepatoprotective Activity of *Elephantopus scaber* on Alcohol-Induced Liver Damage in Mice. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2012;2012:1–8.

55. Bukke S, Mallepogu V, Kedam T. Phytochemical Analysis, *In-Vitro* Antioxidant Activity and Proximate Analysis on *Rhinacanthus Nasutus* (L) Kurz Leaf.

Biochemistry. 2013;3(5):32–35.

56. Elom SA, Daniel A, Abass G, Adaboro MR, Linda P. Evaluation of total flavonoid, and total Phenolic contents of dried calyx preparations of Bissap (*Hibiscus sabdariffa*). *Elixir Pharm*. 2012;2012(45):7660–7663.

57. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999;26:1231–1237.

58. Chan CK, Tan LT, Andy SN, Kamarudin MNA, Goh BH, Kadir HA. Anti-neuroinflammatory Activity of *Elephantopus scaber* L. via Activation of Nrf2/HO-1 Signaling and Inhibition of p38 MAPK Pathway in LPS-Induced Microglia BV-2 Cells. *Front Pharmacol*. 2017;2017(8):1–14.

ภาคผนวก

ข้อมูลทางสถิติ

1. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (mean ± standard derivation)
การทดลองละ 5 ซ้ำ (n=5)

Descriptive Statistics

Dependent Variable: TPC

group	Mean	Std. Deviation	N
สูตรตำรับ 1 ต้ม	13.747298	.0948518	5
สูตรตำรับ 2 ต้ม	11.143793	.0875109	5
สูตรตำรับ 3 ต้ม	12.112002	.1441135	5
สูตรตำรับ 1 ชง	12.792668	.0762068	5
สูตรตำรับ 2 ชง	7.684561	.0788592	5
สูตรตำรับ 3 ชง	8.365547	.0800325	5
Total	10.974311	2.2739809	30

วิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ด้วยวิธี Scheffe's test ที่ *p*-value <0.05

TPC

Scheffe[a,b]

group	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
สูตรตำรับ 2 ชง	5	7.684561					
สูตรตำรับ 3 ชง	5		8.365547				
สูตรตำรับ 2 ต้ม	5			11.143793			
สูตรตำรับ 3 ต้ม	5				12.112002		
สูตรตำรับ 1 ชง	5					12.792668	
สูตรตำรับ 1 ต้ม	5						13.747298
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .009.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000. b. Alpha = .05.

2. การหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (mean ± standard derivation)

การทดลองละ 5 ซ้ำ (n=5)

Descriptive Statistics

Dependent Variable: TFC

group	Mean	Std. Deviation	N
สูตรตำรับ 1 ต้ม	36.878800	.6121807	5
สูตรตำรับ 2 ต้ม	22.629233	.3916226	5
สูตรตำรับ 3 ต้ม	26.741612	.2676941	5
สูตรตำรับ 1 ชง	40.792500	.5371801	5
สูตรตำรับ 2 ชง	17.952403	.2972164	5
สูตรตำรับ 3 ชง	20.543152	.4094731	5
Total	27.589617	8.6040648	30

วิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ด้วยวิธี Scheffe's test ที่ *p*-value <0.05

TFC

Scheffe[a,b]

group	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
สูตรตำรับ 2 ชง	5	17.952403					
สูตรตำรับ 3 ชง	5		20.543152				
สูตรตำรับ 2 ต้ม	5			22.629233			
สูตรตำรับ 3 ต้ม	5				26.741612		
สูตรตำรับ 1 ต้ม	5					36.878800	
สูตรตำรับ 1 ชง	5						40.792500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .019.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

3. การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (mean ± standard derivation)
การทดลองละ 5 ซ้ำ (n=5)

Descriptive Statistics

Dependent Variable: FRAP

group	Mean	Std. Deviation	N
สูตรตำรับ 1 ต้ม	25.039085	.1536772	5
สูตรตำรับ 2 ต้ม	16.903515	.1856039	5
สูตรตำรับ 3 ต้ม	29.105268	.2362300	5
สูตรตำรับ 1 ชง	23.110161	.1439083	5
สูตรตำรับ 2 ชง	15.691085	.1878170	5
สูตรตำรับ 3 ชง	38.476384	.3808026	5
Total	24.720917	7.8128178	30

วิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ด้วยวิธี Scheffe's test ที่ *p*-value <0.05

FRAP

Scheffe[a,b]

group	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
สูตรตำรับ 2 ชง	5	15.691085					
สูตรตำรับ 2 ต้ม	5		16.903515				
สูตรตำรับ 1 ชง	5			23.110161			
สูตรตำรับ 1 ต้ม	5				25.039085		
สูตรตำรับ 3 ต้ม	5					29.105268	
สูตรตำรับ 3 ชง	5						38.476384
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .025.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

4. การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-dipnenyl-1 picrylhdrazyl (DPPH) radical scavenging assay

การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (mean ± standard derivation)
การทดลองละ 5 ซ้ำ **(n=5)**

Descriptive Statistics

Dependent Variable: DPPH

group	Mean	Std. Deviation	N
สูตรตำรับ 1 ต้ม	.014514	.0000190	5
สูตรตำรับ 2 ต้ม	.013453	.0000406	5
สูตรตำรับ 3 ต้ม	.011006	.0000358	5
สูตรตำรับ 1 ชง	.020447	.0001807	5
สูตรตำรับ 2 ชง	.015344	.0000877	5
สูตรตำรับ 3 ชง	.012171	.0000484	5
Ascorbic	.016179	.0002859	5
Trolox	.044419	.0007536	5
Total	.018442	.0103095	40

วิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ด้วยวิธี Scheffe's test ที่ *p*-value <0.05

DPPH

Scheffe[a,b]

		Subset							
group	N	1	2	3	4	5	6	7	8
สูตรตำรับ 3 ต้ม	5	.011006							
สูตรตำรับ 3 ชง	5		.012171						
สูตรตำรับ 2 ต้ม	5			.013453					
สูตรตำรับ 1 ต้ม	5				.014514				
สูตรตำรับ 2 ชง	5					.015344			
Ascorbic	5						.016179		
สูตรตำรับ 1 ชง	5							.020447	
Trolox	5								.044419
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 8.696E-8.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

5. การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical cationde-colorization assay

การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (mean ± standard derivation)

การทดลองละ 5 ซ้ำ **(n=5)**

Descriptive Statistics

Dependent Variable: ABTS

group	Mean	Std. Deviation	N
สูตรตำรับ 1 ต้ม	.003719	.0000154	5
สูตรตำรับ 2 ต้ม	.001710	.0000128	5
สูตรตำรับ 3 ต้ม	.003006	.0000273	5
สูตรตำรับ 1 ชง	.004042	.0000305	5
สูตรตำรับ 2 ชง	.002160	.0000186	5
สูตรตำรับ 3 ชง	.003727	.0000325	5
Ascorbic	.009879	.0002156	5
Trolox	.022957	.0003517	5
Total	.006400	.0067723	40

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

วิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ด้วยวิธี Scheffe's test ที่ *p*-value <0.05

ABTS

Scheffe[a,b]

group	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
สูตรตำรับ 2 ต้ม	5	.001710					
สูตรตำรับ 2 ชง	5		.002160				
สูตรตำรับ 3 ต้ม	5			.003006			
สูตรตำรับ 1 ต้ม	5				.003719		
สูตรตำรับ 3 ชง	5				.003727		
สูตรตำรับ 1 ชง	5				.004042		
Ascorbic	5					.009879	
Trolox	5						.022957
Sig.		1.000	1.000	1.000	.141	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2.170E-8.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

6. การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way analysis of variance; One-way ANOVA)

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
TFC	1.388	5	24	.026
TPC	.937	5	24	.047
FRAP	.894	5	24	.050
DPPH	15.624	7	32	.000
ABTS	7.559	7	32	.000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TFC	Between Groups	2142.291	5	428.458	2246.447	.000
	Within Groups	4.577	24	.191		
	Total	2146.868	29			
TPC	Between Groups	149.735	5	29.947	3216.931	.000
	Within Groups	.223	24	.009		
	Total	149.959	29			
FRAP	Between Groups	1768.904	5	353.781	6741.559	.000
	Within Groups	1.259	24	.052		
	Total	1770.164	29			
DPPH	Between Groups	.004	7	.001	6805.282	.000
	Within Groups	.000	32	.000		
	Total	.004	39			
ABTS	Between Groups	.002	7	.000	11769.885	.000
	Within Groups	.000	32	.000		
	Total	.002	39			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวขวัญชนก เหมียดนอก
วันเกิด	วันที่ 12 กรกฎาคม พ.ศ. 2533
สถานที่เกิด	อำเภอบรบือ จังหวัดมหาสารคาม
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 593 หมู่ที่ 1 ตำบลบรบือ อำเภอบรบือ จังหวัดมหาสารคาม รหัสไปรษณีย์ 44130
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2555 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาแพทย์แผนไทยประยุกต์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ.2562 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว