ว.วิทย. มข. 48(1) 095 - 107 (2563) KKU Sci. J. 48(1) 095 - 107 (2020)

ปริมาณรวมของสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำจากยาตำรับโคคลาน

Total Phenolic Content and Antioxidant Activities of Aqueous Extract from Ko klan Remedy

ขวัญชนก เหมียดนอก[1] สายทอง สมบัติภูธร[1] พิชิต โนนตูม[1] อดิศักดิ์ สุมาลี[2] และ อำภา คนซื่อ[3*]

[1]สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

[2]หลักสูตรการแพทย์แผนไทย สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี 11120

[3]หน่วยวิจัยการแพทย์แผนเดิม คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

Khwanchanok Maitnork[1] Saithong Sombutphoothorn[1] Pichit Noontum[1] Adisak Sumalee[2] and Ampa Konsue[3*]

[1]Department of Health science, Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Muang, Maha Sarakham, 44000 Thailand.

[2]Program in Thai traditional medicine, School of Health science, Sukhothai Thammathirat Open University, Pakkret, Nonthaburi, 11120 Thailand.

[3]Thai Traditional Medicine Research Unit, Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Maha sarakham, 44000, Thailand.

[*]Corresponding Author, E-mail: ampa_ice@hotmail.com

Received: 5 July 2019 | Revised: 30 September 2019 | Accepted: 26 December 2019

บทคัดย่อ

ยาตำรับโคคลานเป็นยาซึ่งมีการใช้ในการรักษาโรคมาตั้งแต่โบราณกาล มีสรรพคุณในการรักษาอาการปวดเมื่อยตามร่างกาย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำจากยาตำรับโคคลาน จำนวน 3 ตำรับ ได้แก่ ตำรับที่ 1 (โคคลาน:ทองพันชั่ง:โด่ไม่รู้ล้ม:มะตูม; 1:1:1:1) ตำรับที่ 2 (โคคลาน:ทองพันชั่ง:โด่ไม่รู้ล้ม:มะตูม; 5:2.5:1.5:1.5) และ ตำรับที่ 3 (โคคลาน:ทองพันชั่ง:โด่ไม่รู้ล้ม:ฝาง:เถาเอ็นอ่อน:สะค้าน; 2:1:1:2:2:2) ทดสอบการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP, DPPH และ ABTS assay ผลการศึกษา พบว่า ตำรับที่ 1 มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (13.75±0.09 mgGEA/gEtx) ตำรับที่ 3 สามารถรีดิวซ์สูงที่สุด (29.1053±0.2362 mgTE/gEtx) ทดสอบด้วยวิธี FRAP assay และสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay (IC_{50} = 0.011±0.00004 mg/mL) ส่วนตำรับที่ 2 สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS assay (IC_{50} = 0.002±0.00001 mg/mL) อีกทั้งยังพบว่า ยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่า Ascorbic acid และ Trolox จากผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของยาตำรับโคคลาน อนึ่งควรมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเพิ่มเติม เพื่อสร้างความเชื่อมั่นและส่งเสริมการใช้ยาจากสมุนไพร

ABSTRACT

Ko klan remedy is folklore medicine inherit from Thai ancestor which have been used to healing since the past until now. The drugs have been locally used in an herbal remedy for the relief of muscle pain. Aims of this study were evaluated to total phenolic content and antioxidant activities of aqueous extract from Ko klan Remedy. The antioxidations were tested using by Ferric reducing antioxidant power (FRAP), 2,2-diphenyl-1-

picrylhydrazy (DPPH) radical scavenging and 2,2 -azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) ($ABTS^+$) assay. The ko klan recipe will be consist of 3 formulas. The study showed that 1st formula was higher content of total phenolic compounds which drugs composed with *Mallotus repandus*: *Rhinacanthus nasutus*: *Elephantopus scaber*: *Aegle marmelos*: 1: 1:1:1 (w:w:w:w). 2nd formula which composes with *Mallotus repandus*: *Rhinacanthus nasutus*: *Elephantopus scaber*: *Aegle marmelos;* 5:2.5:1.5:1.5 (w:w:w:w) was highest antioxidant activity by ABTS assay (IC_{50} = 0.002±0.00001 mg/mL). 3rd formula were highest reducing by FRAP assay (29.1053±0.2362 mgTE/gEtx) and free radical scavenging by DPPH assay (IC_{50} = 0.011±0.00004 mg/mL) which drugs contained with *Mallotus repandus*: *Rhinacanthus nasutus*: *Elephantopus scabe*: *Ceasalpinia sappan*: *Cryptolepis buchanani: Piper interruptum;* 2:1:1:2:2:2 (w:w:w:w). Moreover, the results found that the three formulas were antioxidation higher than Ascorbic acid and Trolox as standard substances. Further study, chemical composition(s) and pharmaceutical activity were clarified to develop medicinal plant usage.

คำสำคัญ: ปริมาณฟีนอลลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยาตำรับโคคลาน

Keywords: Total phenolic content, Antioxidantion, Ko klan Remedy

บทนำ

ตำรับยาผสมโคคลาน เป็นตำรับยาไทยที่มีการใช้กันมานาน เป็นหนึ่งในตำรับยาสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2555 ที่ได้ระบุสรรพคุณ ใช้เป็นตำรับที่ใช้รักษาอาการปวดเมื่อยตามร่างกาย มีทั้งหมด 3 สูตรตำรับ ได้แก่ ตำรับที่ 1 ในผงยา 100 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน โด่ไม่รู้ล้มทั้งต้น ผลมะตูมอ่อน ทองพันชั่งส่วนเหนือดิน หนักสิ่งละ 25 กรัม ตำรับที่ 2 ในผงยา 105 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน หนัก 50 กรัม ทองพันชั่งทั้งต้น 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 ดังแสดงในตารางที่ 1 (คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ, 2556; Hasan et al., 2014) จากการศึกษาข้อมูลของสมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบทั้ง 3 ตำรับ พบว่าสมุนไพรมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้ โคคลาน เป็นสมุนไพรหลักในตำรับยาผสมโคคลาน (*Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg.) เป็นไม้พุ่มรอเลื้อย เนื้อแข็ง ประกอบด้วยสารพฤกษเคมีหลายชนิด อาทิ เช่น โพลีฟีนอล เทอร์พินอยด์ เบนโซพายรันส์ คูมาริน และสเตียรอยด์ (นพมาศและนงลักษณ์, 2551) เมื่อนำไปศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนลำต้นของโคคลานด้วยวิธีซอกห์เลตและการหมักพบว่า มีปริมาณเบอจีนินสูง ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของสารโพลีฟีนอล เป็นสารสำคัญของต้นเท่ากับ 12.67±0.26% และ 19.38±0.63% ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ยลดา และคณะ, 2561) สารประกอบฟีนอลเป็นสารที่มีโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยฟีนอล (Phenolic Group) ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน คูมาริน ลิกแนน ควิโนน สติวเบนและเคอคูมินอยด์ เป็นต้น (Feng et al., 2019) นอกจากนี้ยังพบว่าเถาโคคลานที่สกัดด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 24.45 μg/mL และค่า FRAP เท่ากับ 99.01±4.56 GEAC/g ตามลำดับ (เพ็ญนภา และคณะ, 2559) ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz.) เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ประกอบด้วยสารพฤกษเคมีกลุ่ม แนปโทควิโนน ลิกแนน ฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์ปีน สเตียร์รอยด์ จากการทดสอบสารสกัดเอทานอลของทองพันชั่งด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบค่า IC_{50} = 55.56±7.71 μg/mL และ IC_{50}= 215.19±20.69 μg/mL ตามลำดับ (นวฉัตรและคณะ, 2558) โด่ไม่รู้ล้ม (*Elephantopus scaber* L.) เป็นพืชล้มลุกหรือพืชจำพวกหญ้า (นันทวันและอรนุช, 2541; วุฒิ, 2540) ทั้งต้น พบองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน (Chatterjee and Mukherjee, 2015) เทอร์ปินอยด์ สเตรียรอยด์ (Kabeer and Prathapan, 2014) ไตรเทอร์ปีน ฟลาโวน (Wang et al., 2014) สารสกัดจากใบด้วยเอทานอล 70 % แล้วนำมาสกัดแยกโดยใช้เอทิลอะซิเตท (ESEAF) ด้วยวิธี DPPH พบว่า ESEAF 1,000 μg/mL มีค่า IC_{50} 69.70±0.01 μg/mL และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ด้วยวิธี Superoxide Anion Radical Scavenging Activity (SOD) มีค่า IC_{50} 3.79±0.16 μg/mL (Chan et al., 2014) สารสกัดจากรากด้วยเมทานอล มีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ โดยมีค่า IC_{50}= 48±5 μg/mL มีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล มีค่า IC_{50}=72±12 μg/mL และมีฤทธิ์ยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันมีค่า IC_{50}=103±18 μg/mL (Sheeba et al., 2012) สารสกัดจากทั้งต้นด้วยเอทานอลด้วยการรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงพบว่าสารสกัดโต่ไม่รู้ล้มมีค่า SC_{50}= 12.4 μg/mL เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และยังพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนธีน-ออกซิเดส มีค่า IC_{50}= 93.1 μg/mL (Pongpiriyadacha et al., 2009) มะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Correa ex Roxb.) อยู่ในวงศ์ RUTACEAE เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ใช้ผลในการทำยารักษาโรค มีองค์ประกอบทางพฤษเคมีได้แก่ สารกลุ่มคูมารินยูจีนอล แทนนินส์และมิวซิเลจ (นพมาศและนงลักษณ์, 2551) จากการศึกษาผลมะตูมอ่อนที่ถูกนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95% และสกัดด้วยน้ำ ด้วยวิธีการ FRAP พบค่า FRAP value เท่ากับ 111.61 ± 0.59 Fe^{2+}/gDW และ TEAC value เท่ากับ 39.04 ± 0.23 mgTE/gExt ส่วนสารสกัดชั้นเอทานอล 95% มีค่าเท่ากับ 27.35 ± 2.54 mgTE/gExt เมื่อศึกษาด้วยวิธีการแบบ ABTS พบว่าสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเอทานอลมีค่า EC_{50} เท่ากับ 36.40 ± 1.23 μg/mL และ 68.07 ± 5.23 μg/mL ตามลำดับ (ปฐมพงษ์ และคณะ, 2561) ทั้งยังมีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกสูงถึง 83.8± 37.6 mgGAE /100 mL (Abdullakasim et al., 2007) ฝาง (*Ceasalpinia sappan* L.) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ใช้เนื้อไม้ในการทำยา มีองค์ประกอบทางพฤษเคมีได้แก่ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และ สารกลุ่มสเตอร์โรล สารสกัดจากฝางที่สกัดด้วยน้ำด้วยวิธีการชง พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 147.02 ± 0.63 mgGAE/g และร้อยละเท่ากับ 33.91 ± 1.50 % เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH (ราชันย์และสมราน, 2560) สะค้าน (*Piper interruptum* Opiz.) เป็นไม้เถา ลักษณะเถากลมเลื้อยพาดพันต้นไม้อื่น (ราชันย์และสมราน, 2557) สารสกัดเถาสะค้านด้วยเอทานอล 80% มีปริมาณฟีนอลิกรวม 7.3 ± 0.8 mg GAE/g มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50}=138.7 ± 2.2 μg/mL และยังสามารถยับยั้งปฏิกิริยาลิปิด-เปอร์ออกซิเดชันมีค่า IC_{50}=38.7 ± 0.1 μg/mL (Klinthong et al., 2015) เถาเอ็นอ่อน *Cryptolepis buchanani* Roem.& Schult. ใช้เถาเป็นยาต้มแก้อาการปวดเมื่อย ในส่วนเถามีสารประกอบทางเคมี มีบูคานาไนน์ สารกลุ่มคาร์ดีโนไลด และคาร์ดีโนไลด์ไกลโคไซด์ เป็นสารที่มีโครงสร้างแบบสเตียรอยด์ไกล-โคไซด์ เถาเอ็นอ่อนไม่พบการรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่พบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย อาทิเช่น ฤทธิ์ปกป้องกระดูกอ่อน ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ปกป้องตับ เป็นต้น (ยลดา และคณะ, 2560)

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวภายในอะตอมหรือโมเลกุล มีความไม่คงตัว และทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วกับสารชีวโมเลกุล อนุมูลอิสระในรูปของ ROS และ RNS เช่น super oxide anion, hydroxyl radicals nitric oxide, nitrogen dioxide ซึ่งเกิดจากกระบวนการใช้ออกซิเจนของสิ่งมีชีวิต โดยที่ปริมาณของอนุมูลอิสระที่เกิดมากจนเกินไปไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดภาวะ oxidative stress นำไปสู่การเกิดโรค เช่น มะเร็ง โรคหัวใจขาดเลือด โรคความจำเสื่อม โรคเบาหวาน ระบบประสาทผิดปกติ เป็นต้น โดยธรรมชาติสิ่งมีชีวิตมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่หลากหลาย เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ การจับ กับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสร้างอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่ใช่เอนไซม์ ทั้งนี้เพื่อช่วยลดปริมาณของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นไม่ให้ส่งผลกระทบหรือลดระดับของการทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของสารชีวโมเลกุลไม่ว่าจะเป็นไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ ซึ่งจะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค ทั้งนี้การป้องกันสารอนุมูลอิสระอาจต้องรับประทานอาหารที่มีสารต้านออกซิเดชัน เช่น ผัก ผลไม้ สมุนไพร เข้าไปช่วยเพิ่มปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ ที่อาจไม่มากพอที่ร่างกายสร้าง ช่วยทำลายอนุมูลอิสระ (อนงนาฎ, 2017)

แม้จะมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรบางชนิดในตำรับยาผสมโคคลานอย่างแพร่หลาย แต่ยังไม่พบการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ การวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาปริมาณ ฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยน้ำจากยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ โดยทำการสกัดสารวิธีการต้ม ตามข้อบ่งใช้ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2555 เพื่อเป็นการสนับสนุนยาสมุนไพรไทยให้มีข้อมูลทางวิชาการและเป็นที่ยอมรับอย่างแพร่หลายมากขึ้น อีกทั้ง

ยังเพิ่มคุณค่าและความน่าเชื่อถือให้แก่ตำรับยาสมุนไพรไทยอีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างสมุนไพรในตำรับ

สมุนไพรแต่ละชนิดในยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ โด่ไม่รู้ล้ม (ใช้ทั้งต้น) และทองพันชั่ง (ใช้ส่วนเหนือดิน) เก็บจากตำบลแวงน่าง อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ผลมะตูม แก่นฝาง เถาโคคลาน เถาเอ็นอ่อน และเถาสะค้าน ซื้อมาจากร้านหมอทองอินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ทำการตรวจเอกลักษณ์พืชโดยผู้เชี่ยวชาญ จากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (code; R. nasutus: MSU. MED-RN0001/KM and E. scaber: MSU.MED-ES0001/KM) นำพืชทั้ง 7 ชนิด มาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (°C) อบจนแห้ง แล้วบดเป็นผงละเอียด ชั่งและผสมกันตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ในแต่ละตำรับ (ตารางที่ 1) เก็บใส่ภาชนะปิดสนิทแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมความชื้น

ตารางที่ 1 สมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ และขนาดที่ใช้ในแต่ละตำรับ

สูตรตำรับ	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

การเตรียมสารสกัดน้ำ

นำผงสมุนไพรทั้งหมดมาผสมโคคลานตามตำรับยาผสมโคคลานจำนวน 3 สูตรตำรับ โดยผงยาผสมโคคลานแต่ละตำรับนำมาสกัดด้วยการต้มด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:200 ที่อุณหภูมิ 100 °C ใช้วิธีการต้มเคี่ยวจาก 3 ส่วน ให้เหลือ 1 ส่วน จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อแยกเอากากออก นำสารละลายที่ได้จากการกรองไปทำแห้ง โดยใช้เครื่อง Freeze dryer ชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัดเก็บในภาชนะปิดสนิท ทึบแสง เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C และคำนวณหาค่า % Yield ของสารสกัดโดยใช้สูตรดังนี้

$$\%Yield\ (dry\ weight\ basis) = (W_1 \times 100)/W_2$$

W_1 = น้ำหนัก (กรัม) ของสารสกัดหลังจากระเหยตัวทำละลายด้วยวิธี Freeze drying

W_2 = น้ำหนักแห้ง (กรัม) ของตัวอย่าง

การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลลิกรวม

เตรียมสารสกัดน้ำของแต่ละตำรับที่ความเข้มข้น 0.0017 mg/mL จำนวน 100 µL เติมสารละลาย Folin–Ciocalteu ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 500 µL เขย่าและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียม-คาบอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7.5 % w/v ปริมาตร 400 µL เขย่าและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับ

กราฟมาตรฐาน Gallic acid และคำนวณให้อยู่ในหน่วยของ mgGEA/gEt (Singleton et al., 1999)

การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระ ด้วยวิธี 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 300 mM: สารละลาย 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 mM: $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 mM ในอัตราส่วน 10:1:1) ทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร นำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Trolox และคำนวณให้อยู่ในหน่วยของ mgTE/gEt (Benzie et al., 1999)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

นำสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 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 เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาร้อยละในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (% Inhibition) และสร้างกราฟระหว่าง % Inhibition และความเข้มข้น รายงานเป็นค่า IC_{50} (50% inhibitory concentration) นำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Trolox และ Ascorbic acid (mg/mL) (Williams et al., 1995)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS assay

เตรียมสารละลาย ABTS ด้วยการเปลี่ยน ABTS ให้เป็นอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยการเติมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) จากนั้นนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วทำการเจือจางสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยน้ำกลั่น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละ $ABTS^{\bullet+}$ ประมาณ 0.7-0.8 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 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (% Inhibition) และสร้างกราฟระหว่าง % Inhibition และความเข้มข้น แล้วรายงานเป็นค่า IC_{50} (50% inhibitory concentration) นำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Trolox และ Ascorbic acid (mg/mL) (Re et al., 1999)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแตกต่างด้วยสถิติ F-test (One-way ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับ $p<0.05$ คำนวณค่าสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 23

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

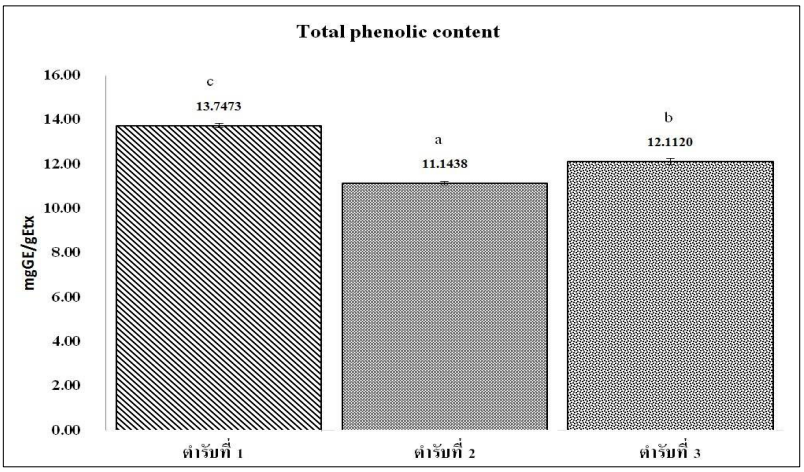
การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม

จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดยาผสมโคคลาน พบว่าตำรับที่ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด (13.7473±0.0949 mgGE/gEtx) รองลงมาคือตำรับที่ 3 และตำรับที่ 2 (12.1120±0.1441 และ 11.1438± 0.0875 mgGE/gEtx) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ สอดคล้องกับการศึกษาของ ปฐมพงษ์ และคณะ (2561) ทำการศึกษาสารสกัดผลมะตูมอ่อนด้วยเอทานอล 95% และสกัดด้วยน้ำ พบว่า มีปริมาณสารกลุ่ม ฟีนอลิกสูงถึง 83.8± 37.6 mgGAE/100 mL และยังสอดคล้องกับการวิจัยของนรินทร์ และคณะ (2560) พบว่าสารสกัดจากฝางด้วยน้ำโดยวิธีการชง มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 147.02 ± 0.63 mgGAE/g นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการวิจัยของ Klinthong et al. (2015) สารสกัดเถาสะค้านด้วยเอทานอล 80% มีปริมาณฟีนอลิกรวม 7.3 ± 0.8 mgGAE/g อย่างไรก็ตามการการศึกษาครั้งนี้เป็นเตรียมสารสกัดด้วยน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูง จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดของตัวทำละลายชนิดอื่น ตลอดจน

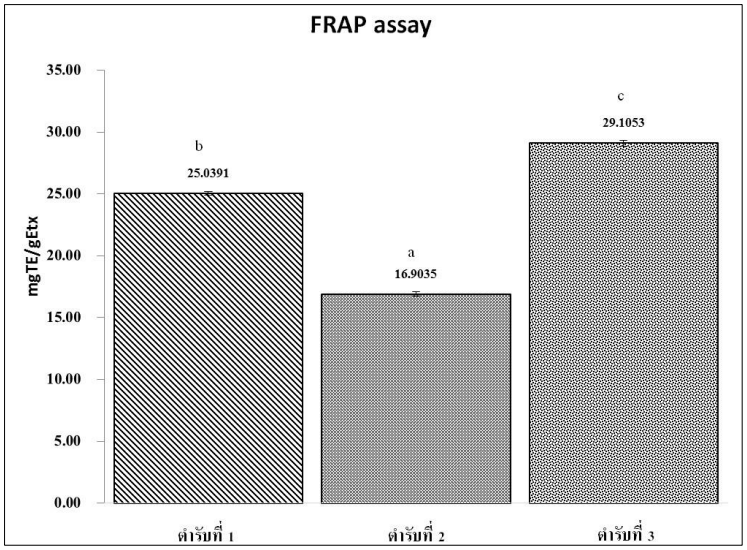
ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่พบในยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ (รูปที่ 1 และรูปที่ 4)

การวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระ ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

เมื่อนำสารสกัดตำรับยาโคคลานทั้ง 3 ตำรับมาทำการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระ ด้วยวิธี FRAP พบว่า ตำรับที่ 3 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สามารถให้อิเล็กตรอนในการรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ได้ดีที่สุด (29.1053±0.2362 mgTE/gExt) รองลงมาคือตำรับที่ 1 และตำรับที่ 2 (25.0391±0.1537 และ 16.9035±0.1856 mgTE/gExt) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ สอดคล้องกับเพ็ญนภา และคณะ (2559) ศึกษาผลของสารสกัดเถาโคคลานด้วยเมทานอล มีค่า FRAP เท่ากับ 99.01±4.56 GEAC/g และสอดคล้องกับการศึกษาของนวฉัตร และคณะ (2558) ศึกษาสารสกัดเอทานอลของทองพันชั่ง พบว่ามีค่า FRAP พบค่า IC_{50}= 215.19±20.69 µg/mL และยังสอดคล้องกับการศึกษาของปฐมพงษ์ และคณะ (2561) ทำการศึกษาสารสกัดผลมะตูมอ่อนด้วยเอทานอล 95% และสกัดด้วยน้ำ มีค่า FRAP value เท่ากับ 111.61 ± 0.59 Fe2+/gExt และ TEAC value เท่ากับ 39.04 ± 0.23 mg/TEA/gExt (รูปที่ 2 และรูปที่ 5)



รูปที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ อักษรแตกต่างกัน a, b, c แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



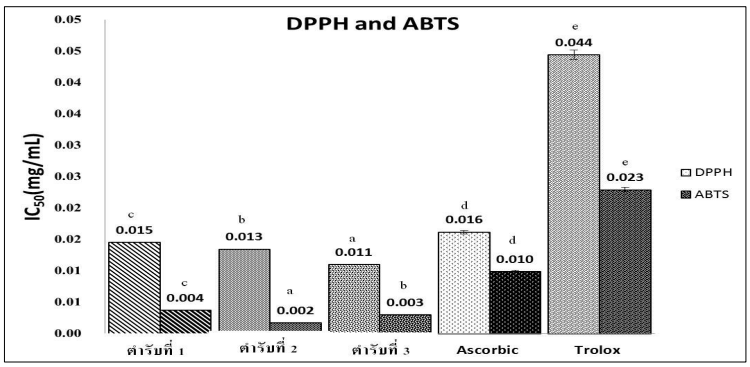
รูปที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำ เมื่อทดสอบด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay อักษรแตกต่างกัน a, b, c, แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

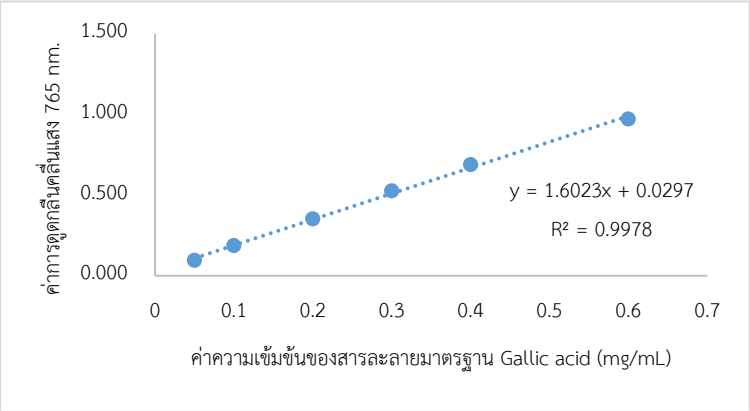
เมื่อนำสารสกัดตำรับยาโคคลานทั้ง 3 ตำรับมาทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH พบว่า ยาผสมโคคลานตำรับที่ 3 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (IC_{50}=0.011±0.00004 mg/mL) รองลงมาคือ ตำรับที่ 2 และตำรับที่ 1 (IC_{50}=0.014±0.00004 และ 0.015±0.00002 mg/mL) ตามลำดับ อีกทั้งยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid และ Trolox (IC_{50}=0.016±0.00029 และ 0.044±0.00075 mg/mL) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ สอดคล้องกับ เพ็ญนภา และคณะ (2559) ศึกษาผลของสารสกัดจากเถาโคคลานด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 24.45 μg/mL และการศึกษาของนวฉัตร และคณะ (2558) ศึกษาผลของสารสกัดทองพันชั่งด้วยเอทานอล มีค่า IC_{50}= 55.56±7.71 μg/mL เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Chan et al. (2017) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบโด่ไม่รู้ล้มด้วยเอทานอล 70 % แล้วนำมาสกัดแยกโดยใช้เอทิลอะซิเตท (ESEAF) พบว่า ESEAF ที่ความเข้มข้น 1,000 μg/mL มีค่า IC_{50} เท่ากับ 69.70±0.01 μg/mL เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Superoxide Anion Radical Scavenging Activity (SOD) มีค่า IC_{50} 3.79±0.16 μg/mL และสอดคล้องการการศึกษาของ Pongpiriyadacha et al. (2009) ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากทั้งต้นด้วยเอทานอลด้วยการรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่ามีค่า SC_{50}= 12.4 μg/ml-1 เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และยังพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนธีนออกซิเดส มีค่า IC_{50}= 93.1 μg/ml-1 และสอดคล้องการการศึกษาของนรินทร์ และคณะ (2549) พบว่าสารสกัดฝางด้วยน้ำโดยการชง มีร้อยละเท่ากับ 33.91±1.50 % เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH นอกจากนี้ Klinthong et al. (2015) ได้ศึกษาผลของสารสกัดเถาสะค้านด้วยเอทานอล 80% มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50}=138.7±2.2 μg/mL และยังสามารถยับยั้งปฏิกิริยาลิปิดเปอร์-ออกซิเดชันมีค่า IC_{50}=38.7 ± 0.1 μg/mL (รูปที่ 3 และรูปที่ 6-10)

การทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS assay

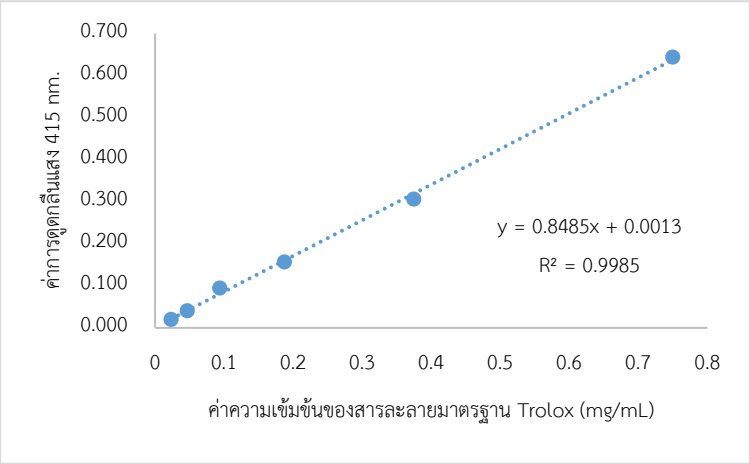
เมื่อนำสารสกัดตำรับยาโคคลานทั้ง 3 ตำรับมาทำการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS พบว่า ยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 สามารถต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (IC_{50} 0.002±0.00001 mg/mL) รองลงมาคือ ตำรับที่ 3 และตำรับที่ 1 (IC_{50} 0.003±0.00003 และ 0.004±0.00002 mg/mL) ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่ายาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารมาตรฐานคือ Ascorbic acid และ Trolox (IC_{50} 0.010±0.00022 และ 0.023±0.00035 mg/mL) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ สอดคล้องกับ Abdullakasim et al. (2007) ได้ทำการศึกษาสารสกัดผลมะตูมอ่อนด้วยเอทานอล 95% และสกัดด้วยน้ำ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชัน มีค่า EC_{50} เท่ากับ 36.40±1.23 μg/mL เมื่อศึกษาด้วยวิธี ABTS (รูปที่ 3 และรูปที่ 11-15)



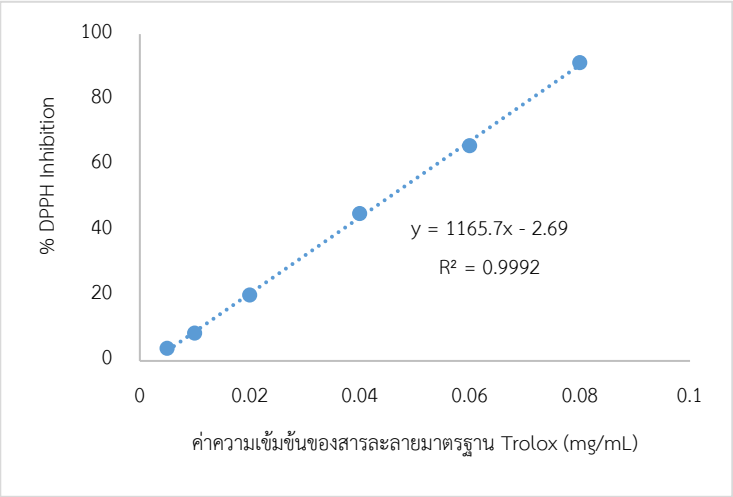
รูปที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำ เมื่อทดสอบด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay อักษรแตกต่างกัน a, b, c, d, e แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



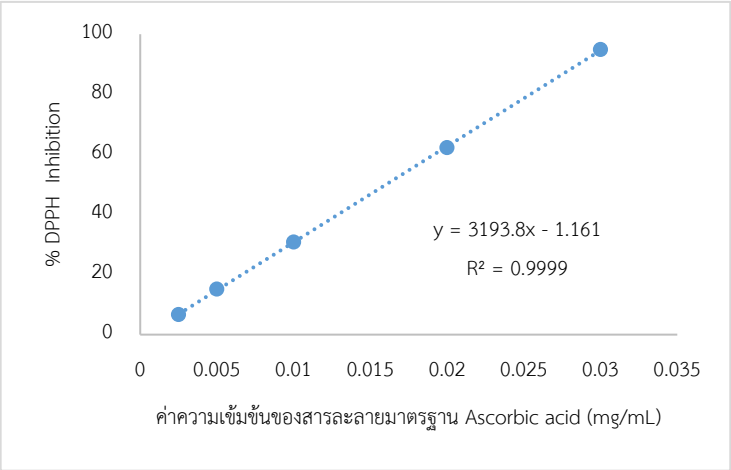
รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี Total Phenolic content



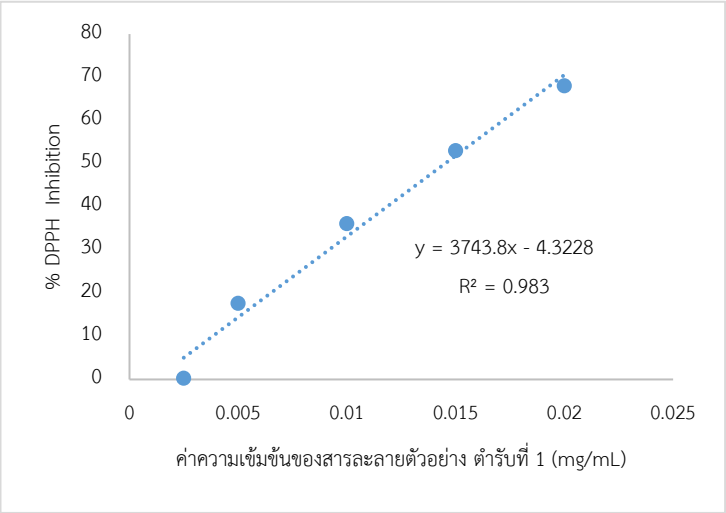
รูปที่ 5 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP



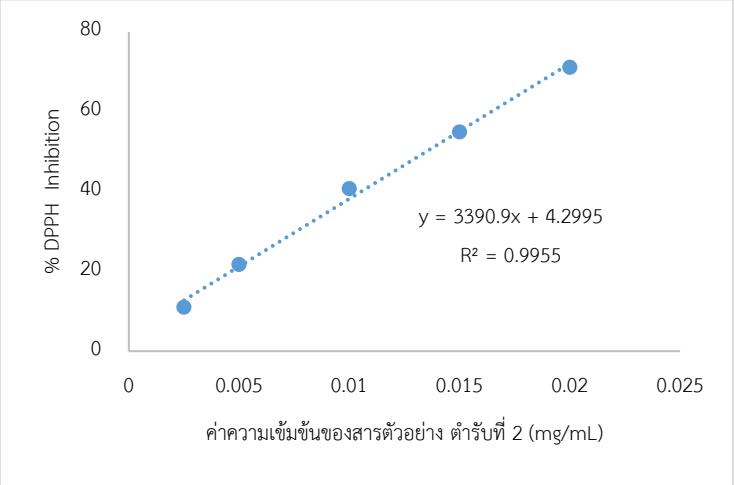
รูปที่ 6 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH



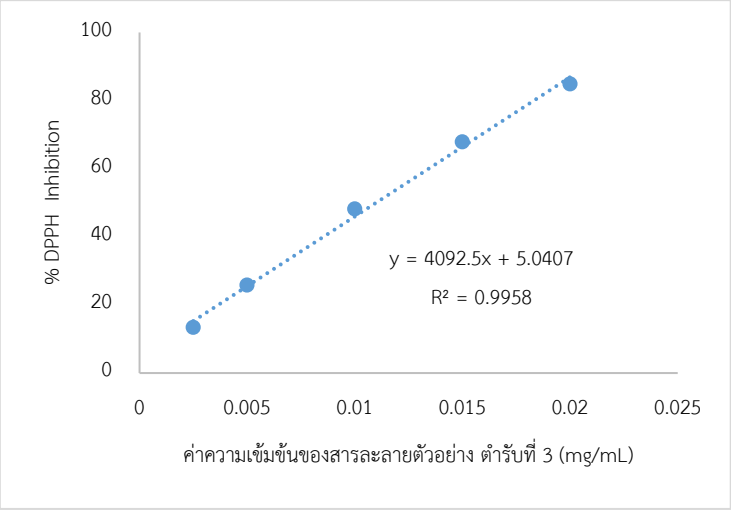
รูปที่ 7 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH



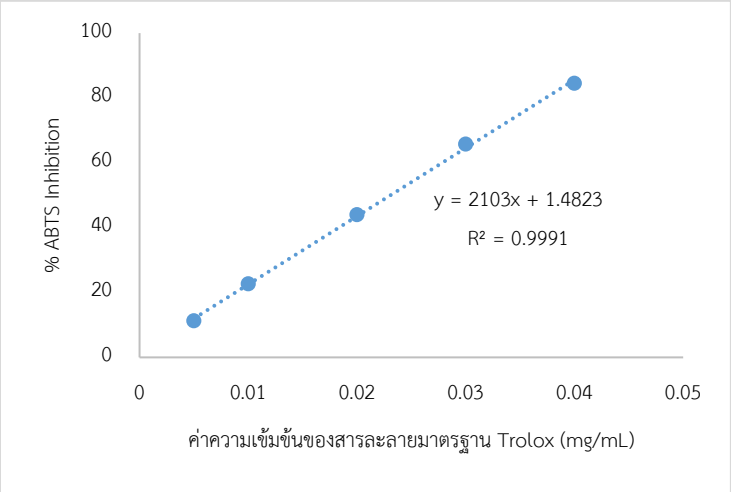
รูปที่ 8 กราฟมาตรฐานของสารละลายตัวอย่าง ตำรับที่ 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH



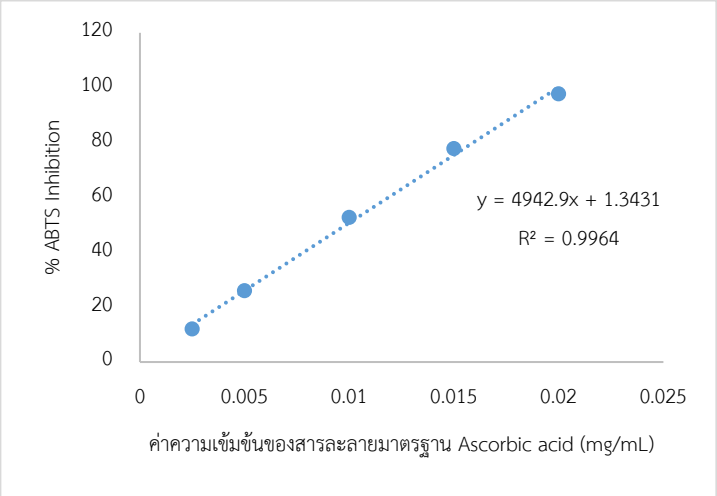
รูปที่ 9 กราฟมาตรฐานของสารละลายตัวอย่าง ตำรับที่ 2 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH



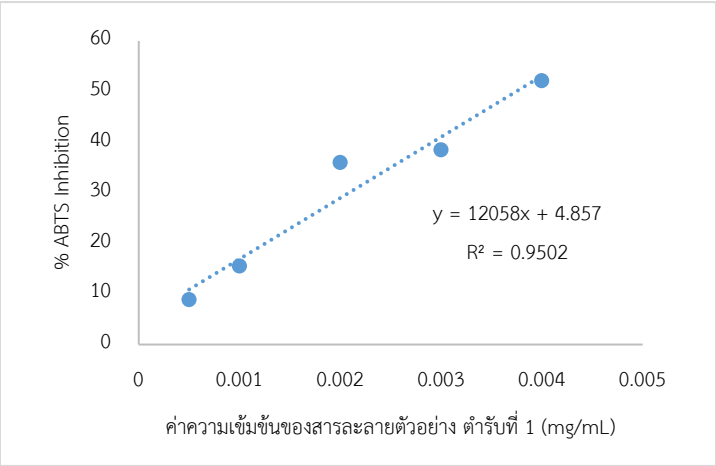
รูปที่ 10 กราฟมาตรฐานของสารละลายตัวอย่าง ตำรับที่ 3 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH



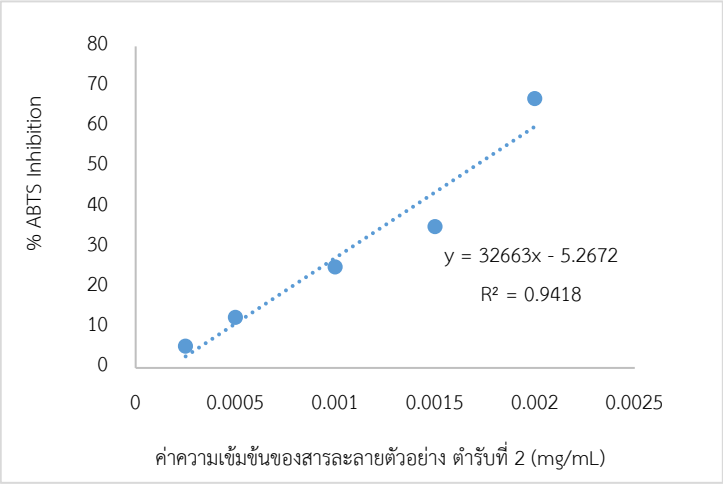
รูปที่ 11 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS



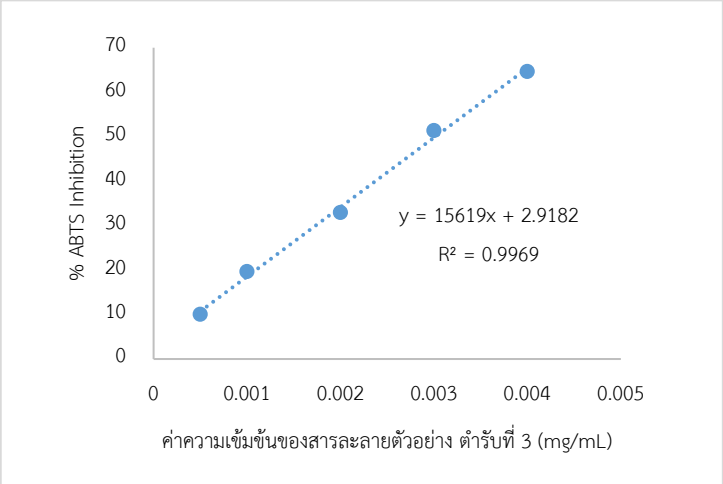
รูปที่ 12 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS



รูปที่ 13 กราฟมาตรฐานของสารละลายตัวอย่าง ตำรับที่ 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS



รูปที่ 14 กราฟมาตรฐานของสารละลายตัวอย่าง ตำรับที่ 2 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS



รูปที่ 15 กราฟมาตรฐานของสารละลายตัวอย่าง ตำรับที่ 3 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS

สรุปผลการวิจัย

ตำรับยาผสมโคคลานมีปริมาณรวมของสารฟีนอลิกและสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ตำรับที่ 1 มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ส่วนตำรับที่ 3 มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH ส่วนสารสกัด

ยาผสมโคคลานตำรับที่ 2 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS นอกจากสารสกัดยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่า Ascorbic acid และ Trolox จากผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของยาผสมโคคลานทั้ง 3 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำด้วยวิธีการต้ม ดังนั้นควรมีการศึกษาหาองค์ประกอบของสารสำคัญและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้อง เพื่อสร้างความเชื่อมั่นและส่งเสริมการใช้ยาสมุนไพรต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากทุนส่งเสริมและพัฒนาการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประเภทบัณฑิตศึกษา (ปริญญาโท) ประจำปีงบประมาณ 2562

เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ.บัญชียาจาก สมุนไพร พ.ศ. 2555 (List of herbal medicinal products A.D. 2012): ตามประกาศ คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติเรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติพ.ศ. 2555. (2556). นนทบุรี: กลุ่มงานพัฒนาวิชาการแพทย์ แผนไทยและสมุนไพร สถาบันการแพทย์แผนไทย กรม พัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข.

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, นงลักษณ์ เรื่องวิเศษ. (2551). คุณภาพเครื่องยาไทย จากงานวิจัยสู่การพัฒนาอย่างยั่งยืน. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

นวฉัตร เทียนสุวรรณ, บังอร ศรีพานิชกุลชัย, นภภัค ใจภักดี. (2558). ผลของสารสกัดสมุนไพรไทยสี่ชนิดต่อการสังเคราะห์เมลานิน. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 11: 33-42.

นันทวัน บุณยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. (2541). สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 2. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. บริษัทประชาชน จำกัด.

ปฐมพงษ์ เผือกลี, ภาณัฐ เดชะยนต์, จิตพิสุทธิ์ จันทร์ทองอ่อน, อรุณพร อิฐรัตน. (2561). ฤทธิ์ต้านการแพ้ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลมะตูมอ่อน. ธรรมศาสตร์เวชสาร 18: 349-357.

เพ็ญนภา วงศ์ล้อม, กนกวรรณ พุทธบุญ, นริศรา สารภาค. (2559). สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดสมุนไพร เถาโคคลาน เถาบอระเพ็ดและใบสะเดา. ภาคนิพนธ์ปริญญาแพทย์แผนไทยบัณฑิต, มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี. อุบลราชธานี.

ยลดา ศรีเศรษฐ์, กนกวรรณ จารุกำจร และวรญัญา จตุพรประเสริฐ. (2560). ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเถาเอ็นอ่อน. วารเภสัชศาสตร์อีสาน 13(1): 1-10.

ยลดา ศรีเศรษฐ์, กนกวรรณ จารุกำจร, วรัญญา จตุพรประเสริฐ. (2561). การวิเคราะห์ปริมาณเบอจีนินในสารสกัดลำต้น Mallotus repandus โดยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงวัฏภาคย้อนกลับ. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 14: 67-74.

ราชันย์ ภู่มา, สมราน สุดดี. (2557). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์ ฉบับ แก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557. กรุงเทพฯ: สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

อนงนาฎ ไพนุพงศ. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. (2017). PKRU SciTech Journal 1(12): 20-27.

Abdullakasim, P., Songchitsomboon, S., Techagumpuch, M., Balee, N., Swatsitang, P. and Sungpuag, P. (2007). Antioxidant capacity, total phenolics and sugar content of selected Thai health beverages. Int Journal of Food Science and Nutrition 58: 77-85.

Brand-Williams, W., Cuvelier, ME., Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT-Food Science and Technology 28(1): 25-30.

Chan, C.K., Tan, L.T., Andy, S.N., Kamarudin, M.N.A., Goh B.H., and Kadir, H.A. (2017). 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 8: 1-14.

Chatterjee, M. and Mukherjee, A. (2015). Preliminary phytochemical analysis of Elephantopus scaber L. - A wild medicinal plant. International Journal of Pharma and Bio Sciences 6(4): 455-461.

Feng, H., Nemzer, B. and DeVries, J.W. (2019). Sprouted Grains Nutritional Value, Production, and Applications. Kidlington: Elsevier Inc. 191-246.

Hasan, M.M., Uddin, N., Hasan, M.R., Islam, A.F., Hossain, M.M., Rahman, A.B., Hossain, M.S., Chowdhury, I.A. and Rana, M.S. (2014). Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Leaf Extract of Mallotus repandus (Willd.) Muell. Arg. BioMed Research International 1-7.

Kabeer, F.A. and Prathapan, R. (2014). Phytopharmacological Profile of Elephantopus scaber. Pharmacologia 5(8): 272-285.

Klinthong, S., Khammanit, R., Phornchirasilp, S., Temsiririrkkul, R. and Siriwatanametanon, N. (. 2015). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of a Thai traditional formula, Rid-si-duang-ma-ha-kan, for hemorrhoid treatment. Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences 42(3): 144-152.

Pongpiriyadacha, Y., Nuansrithong, P. and Sirintharawech, N. (2009). Antioxidant activity and xanthine oxidase inhibitor from thai medicinal plants used for tonic and longevity, Proceedings of the 47th Kasetsart University Annual Conference; 17-20 March 2009; Kasetsart University, Bangkok Thailand. 1-9.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Evans, R. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 26: 1231-1237.

Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods Enzymol 299: 152-178.

Wang, J.J., Li, P., Li, B., Guo, Z., Kennelly, E.J. and Long, C. (2014). Bioactivities of Compounds from Elephantopus scaber, an Ethnomedicinal Plant from Southwest China. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 1-7.

❑❑❑❑❑