



วันที่รับบทความ : 09/09/2567
วันแก้ไขบทความ : 01/10/2567
วันตอบรับบทความ : 04/10/2567

วารสารสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

Journal of Allied Health Sciences Suan Sunandha Rajabhat University

ผลของตัวทำละลายต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมี ของตำรับยาแก้มูกกายธาตุตุติสาร

พลพล ฉิมพาลี¹, ขวลิต โยงรัมย์², สุวดี โชคชัยสิริ², รัมภ์รดา มีบุญญา²,
อรรวรรณ วงษ์อนันต์², ภาณุพันธ์ ศรีพันธุ์^{2*}, อนุวัตร รุ่งพิสุทธิพงษ์²

นักศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา¹

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา²

E-mail: panupan.sr@ssru.ac.th*

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลายต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาแก้มูกกายธาตุตุติสาร ซึ่งเป็นตำรับยาโบราณที่ใช้รักษาอาการท้องเสียหรืออุจจาระร่วง การศึกษานี้ใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน, เอทิลอะซิเตท และเอทานอล ในการสกัดสารสำคัญจากตำรับยา และตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP ตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu และ Aluminum Chloride Colorimetric และวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเทคนิค HPLC ผลการวิจัย พบว่า เอทานอลให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด (7.08%) รองลงมาคือเอทิลอะซิเตท (4.75%) และเฮกเซน (3.18%) ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์สูงสุด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 90.01±5.55 µg/ml ขณะที่การทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดเฮกเซนมีฤทธิ์สูงสุด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 17.74±1.42 µg/ml และมีค่า FRAP อยู่ในช่วง 23.45 - 59.57 mmol/100 g extract อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทั้งหมดยังต่ำกว่าสารมาตรฐาน Trolox การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า สารสกัดเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด (33.64±2.99 mg GAE/g extract) ในขณะที่สารสกัดเฮกเซนมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด (70.19±4.79 mg QE/g extract) สำหรับการวิเคราะห์แคนนาบินอยด์ด้วยเทคนิค HPLC พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทมี Δ9-THC สูงที่สุดเท่ากับ 60.42±0.04 mg/g extract และมี CBN สูงที่สุดในสารสกัดเฮกเซนและสารสกัดเอทานอล เท่ากับ 59.17±0.07 และ 39.58±0.04 mg/g extract ตามลำดับ นอกจากนี้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS สามารถระบุสารสำคัญได้ทั้งหมด 59 ชนิด โดยพบสารสำคัญหลัก ได้แก่ THC, CBD และ (+)-2-Bornanone ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าชนิดของตัวทำละลายมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณสารสกัด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และองค์ประกอบทางเคมีของตำรับยาแก้มูกกายธาตุตุติสาร ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการสกัดที่เหมาะสม เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และอาจนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาจากตำรับยาแผนไทยนี้ในอนาคต



วารสารสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

Journal of Allied Health Sciences Suan Sunandha Rajabhat University

คำสำคัญ : ตำรับยาแก้มุศกกายธาตุดีสาร, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ตัวทำละลายอินทรีย์

* ผู้ประพันธ์บรรณกิจ



Effects of Extraction Solvents on Antioxidant Activity and Chemical Composition of Kae Mussakaya Thatu Atisan Formulation

Palapon Chimpalee¹, Chawalit Yongram², Suwadee Chokchaisiri²,
Rumrada Meeboonya², Orawan Wonganan²,
Panupan Sripan^{2*}, Anuvat Roongpisuthipong²

Bachelor's student of Cannabis Health Sciences program, College of Allied Health Sciences,
Suan Sunandha Rajabhat University¹

Division of Cannabis Health Sciences, College of Allied Health Sciences, Suan Sunandha Rajabhat University²

E-mail: panupan.sr@ssru.ac.th*

ABSTRACT

This research aimed to study the effect of solvents on the antioxidant activity of the Kae Mussakaya Thatu Atisan formulation, a traditional Thai medicine used to treat diarrhea. The study employed three solvents which are hexane, ethyl acetate (EtOAc), and ethanol (EtOH) for extracting active compounds from the formulation. Antioxidant properties were evaluated using DPPH, ABTS, and FRAP assays. Total phenolic and flavonoid contents were determined by Folin-Ciocalteu and Aluminum Chloride Colorimetric Method, respectively. Chemical analysis was performed using HPLC technique. Results showed that ethanol has the highest yielded extract (7.08%), followed by ethyl acetate (4.75%) and hexane (3.18%). The DPPH antioxidant assay revealed that the ethanol extract had the highest antioxidant activity with an IC_{50} value of 90.01 ± 5.55 $\mu\text{g/ml}$, while the ABTS assay showed that the hexane extract had the highest activity with an IC_{50} value of 17.74 ± 1.42 $\mu\text{g/ml}$ and FRAP value in rang from 23.45 - 59.57 mmol/100 g extract. However, the antioxidant activity of all extracts showed lower than that of Trolox. In the chemical composition analysis, the ethanol extract had the highest total phenolic content (33.64 ± 2.99 mg GAE/g extract), while the hexane extract had the highest total flavonoid content (70.19 ± 4.79 mg QE/g extract). For cannabinoid analysis by HPLC showed the highest Δ^9 -THC content in EtOAc extract as 60.42 ± 0.04 mg/g extract and the highest CBN content was found in both hexane and EtOH extracts, with values of 59.17 ± 0.07 and 39.58 ± 0.04 %w/w, respectively. In addition, GC-MS analysis identified



59 compounds with the main active compounds being THC, CBD and (+)-2-bornanone. This research demonstrates that the type of solvent significantly affects the extract yield, antioxidant activity, and chemical composition of the Kae Mussakaya Thatu Atisan formulation. The findings from this study can be used as a guideline for developing appropriate extraction methods to obtain extracts with maximum antioxidant activity and may lead to the development of pharmaceutical products from the traditional Thai formulation in the future.

Keywords: Kae Mussakaya Thatu Atisan formulation, Antioxidant activity, Organic solvent



บทนำ

ภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยเป็นมรดกทางวัฒนธรรมที่สืบทอดมาอย่างยาวนาน สะท้อนถึงความรู้ความเข้าใจของบรรพบุรุษไทยในการใช้ทรัพยากรธรรมชาติเพื่อการรักษาโรคและดูแลสุขภาพ¹ ตำรับยาแผนไทยจำนวนมากได้รับการบันทึกไว้ในศิลาจารึกวัดพระเชตุพนวิมลมังคลารามราชวรมหาวิหาร หรือวัดโพธิ์ ซึ่งเป็นแหล่งความรู้ทางการแพทย์แผนไทยที่สำคัญ² หนึ่งในตำรับยาที่ปรากฏในศิลาจารึกวัดพระเชตุพนฯ คือ “ยาแก้มุกศกยาธาตุอติสาร” ซึ่งเป็นตำรับยาที่ใช้รักษาอาการท้องเสียหรืออุจจาระร่วง ประกอบด้วยสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ใบกัญชา ใบสะเดา ใบทองหลางใบมน ใบคนทีสอ และใบมะตูม³

ในปัจจุบันการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรและตำรับยาแผนไทยโบราณมีความสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาองค์ความรู้ด้านการแพทย์แผนไทยและสมุนไพร ทั้งในแง่ของการพิสูจน์ประสิทธิภาพ ความปลอดภัย และกลไกการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา⁴ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรและตำรับยาแผนไทยเป็นหนึ่งในแนวทางการวิจัยที่ได้รับความสนใจ เนื่องจากอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของโรคหลายชนิด รวมถึงโรคระบบทางเดินอาหาร สมุนไพรหลายชนิดในตำรับนี้มีรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ใบสะเดา (*Azadirachta indica* A.Juss.) ที่มีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง⁵ ใบมะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Correa) ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น วิตามินซี แคโรทีนอยด์ และ

สารประกอบฟีนอลิก⁶ กัญชา (*Cannabis sativa* L.) ที่มีสารแคนนาบินอยด์ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ⁷ ทองหลางใบมน (*Erythrina suberosa* Roxb.) ที่มีสารสำคัญหลายชนิด เช่น เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก คูมาริน ซาโปนิน ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁸ และใบคนทีสอ (*Vitex trifolia* L.) ที่มีสารประกอบฟีนอลิกสูงซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase⁹

การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสมุนไพรมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด¹⁰ ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสมุนไพรมีหลายชนิด เช่น น้ำ (H₂O) เอทานอล (EtOH) เอทิลอะซิเตต (EtOAc) เมทานอล (MeOH) เฮกเซน (Hexane) ฯลฯ โดยตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการสกัดสารสำคัญที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีและความมีขั้วของสารเป้าหมาย¹¹ ดังนั้น การศึกษาผลของตัวทำละลายต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาแก้มุกศกยาธาตุอติสารจึงมีความสำคัญในการพัฒนาวิธีการสกัดที่เหมาะสม เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด นอกจากนี้ยังช่วยให้เข้าใจถึงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของตัวทำละลาย องค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยา ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญในการพัฒนาตำรับยาให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลายต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาแก้มุกศกยาธาตุอติสาร โดยจะทำการเปรียบเทียบ



ประสิทธิภาพของตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ในการสกัดสารสำคัญ ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ผลการวิจัยที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับการพัฒนาวิธีการสกัดที่เหมาะสม และอาจนำไปสู่การค้นพบสารออกฤทธิ์สำคัญที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล ในการสกัดสารสำคัญจากตำรับยาแก้

2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตำรับยาแก้

3. เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากตำรับยาแก้

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. การเตรียมตำรับยาแก้

การเตรียมตำรับยาแก้จะนำสมุนไพรจากตำรับมาบดให้เป็นผง และนำผงสมุนไพรที่ได้มาผสมเป็นตำรับยาผสมให้เข้ากัน³ โดยมีสัดส่วนแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สัดส่วนของสมุนไพรทั้งหมดในตำรับยาแก้

ลำดับ	สมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	น้ำหนัก (g)	ร้อยละ
1	ใบกัญชา	<i>Cannabis sativa</i> L.	10	20
2	ใบสะเดา	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	10	20
3	ใบทองหลางใบมน	<i>Erythrina suberosa</i> Roxb.	10	20
4	ใบคนทีสอ	<i>Vitex trifolia</i> L.	10	20
5	ใบมะตูม	<i>Aegle marmelos</i> (L.) Correa ex Roxb.	10	20
รวม			50	100

2. การเตรียมสารสกัด

การเตรียมสารสกัดจากตำรับยาแก้จะนำสมุนไพรจากตำรับมาบดให้เป็นผง และนำผงสมุนไพรที่ได้มาผสมเป็นตำรับยาผสมให้เข้ากัน³ โดยมีสัดส่วนแสดงดังตารางที่ 1

ทำการสกัดด้วยวิธีโซนิเคชัน (Ultrasound assisted extraction) เป็นเวลา 30 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง สารละลายที่ได้จะถูกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (Rotary Evaporator) โดยกระบวนการ



นี้ทำแยกกันในแต่ละตัวทำละลาย เพื่อให้ได้สารสกัดจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

นำสารสกัดตำรับยาแก้ปวดตามสูตรที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมสารละลาย DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ในสัดส่วนที่เท่ากันใน 96 well plate จากนั้นบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm และมี Trolox เป็นตัวควบคุมเชิงบวก คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)¹²

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

โดยที่ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมและ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง คำนวณหาค่า IC_{50} โดยตรวจสอบจากกราฟเส้นตรงที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับ % Inhibition

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

เตรียม ABTS ให้เป็นอนุมูลอิสระ ด้วยการเตรียมสารละลาย ABTS และ Potassium persulfate ในอัตราส่วน 1:1 แล้วเก็บไว้ในที่มืด เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นำสารสกัดตำรับยาแก้ปวดตามสูตรที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมกับสารละลายอนุมูล ABTS ด้วยอัตราส่วนที่เท่ากัน ใน 96 well plate บ่มในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว

คลื่น 735 nm และมี Trolox เป็นตัวควบคุมเชิงบวก คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)¹²

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

โดยที่ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมและ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง คำนวณหาค่า IC_{50} โดยตรวจสอบจากกราฟเส้นตรงที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับ % Inhibition

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

สารละลาย FRAP จะถูกเตรียมโดยการผสมของ 300 mM Acetate buffer pH 3.6, 10 mM TPTZ ใน 40 mM HCl และ 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ในอัตราส่วน 10:1:1 นำสารสกัดตำรับยาแก้ปวดตามสูตรมาผสมกับสารละลาย FRAP ใน 96 well plate และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 min ในที่มืดแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 595 nm โดยใช้ Trolox เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก คำนวณหาค่า FRAP ในหน่วย $mmole Fe^{2+}/100 g \text{ extract}$ (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)¹³

4. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

4.1 การหาปริมาณฟีนอลิก (TPC)

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu โดยนำสาร Folin-Ciocalteu ในน้ำกลั่นให้เจือจางเป็น 10 เท่า เตรียมสารสกัดตำรับยาที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กับสาร Folin-Ciocalteu ลงในถาด 96 well plate และบ่มเป็นเวลา 5 นาที



เติมสาร 7% sodium carbonate ลงในตัวอย่าง และนำไปบ่มต่อเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลานำไปวัดค่าการดูดกลืนของแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm คำนวณหาค่าปริมาณฟีนอลิก รวมซึ่งมีหน่วยเป็น มิลลิกรัม (mg) ของ gallic acid equivalents ต่อ 1 กรัม (g) ของน้ำหนักแห้งของ สารสกัด (mg GAE/g extract) (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)¹⁴

4.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัด ดำรับยาโดยวิธี Aluminum. Chloride Colorimetric Method ทำได้โดยการใส่ปฏิกิริยาระหว่างสารสกัด ดำรับยาที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ กับ 2% $AlCl_3$ อัตราส่วน 1:1 ในถาด 96 well plate และบ่มเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นจะนำไปวัด ค่าการดูดกลืนของแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm และคำนวณหาค่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมซึ่งมี หน่วยเป็น มิลลิกรัม ของ quercetin equivalents ใน 1 กรัม ของน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg QE/g extract) (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)¹⁴

4.3 การวิเคราะห์แคนนาบินอยด์ด้วย เทคนิค HPLC

การวิเคราะห์แคนนาบินอยด์ด้วยเทคนิค HPLC (High Performance Liquid Chromatography) จะใช้เครื่อง HPLC (Shimadzu Prominence-i LC-2050C 3D; Kyoto, Japan) ซึ่งมีคอลัมน์ ขนาด อนุภาค 2.7 μm , ขนาด 150×4.6 มม. โดยใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมระหว่างสารละลายที่เป็นส่วนผสมระหว่าง 0.085% H_3PO_4 (v/v) ในน้ำ (solvent A) และ 0.085% H_3PO_4 (v/v) ในอะซิโตน ไทโรล (solvent B) โดยใช้ ระบบ gradient

program ดังนี้: ช่วง 0-3 นาที, 70% solvent B; ช่วง 3-7 นาที, 85% solvent B; ช่วง 7-8 นาที, 95% solvent B; ช่วง 8-12 นาที, 70% solvent B ที่ อัตราการไหล 1.6 ml/min โดยอุณหภูมิของ คอลัมน์คงที่ที่ 35°C และฉีดสารตัวอย่างปริมาตร 5 μl โดยใช้ UV-diode array detector สำหรับการ ตรวจวัดที่ ความยาวคลื่น 220 nm และ HPLC chromatogram ของตัวอย่างสารจะถูกเปรียบเทียบกับ สารมาตรฐานของ cannabinoid จำนวน 11 ชนิด ในเวลาเดียวกันของสารในตัวอย่างที่ตรวจวัดได้ โดยมีสารมาตรฐานได้แก่ Cannabidiol (CBDV), Cannabidiolic acid (CBDA), Cannabigerolic acid (CBGA), Cannabigerol (CBG), Cannabidiol (CBD), Tetrahydrocannabivarin (THCV), Cannabinol (CBN), Delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), Delta-8-tetrahydrocannabinol (Δ^8 -THC), Cannabichromene (CBC) และ Tetrahydrocannabinolic acid (THCA)¹⁵

4.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย เทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

การวิเคราะห์สารประกอบทางเคมีของสาร สกัดดำรับยาโดยใช้เครื่อง GCMS (Shimadzu GCMS-QP2020) ด้วยคอลัมน์ HP-5MS ความยาว 30 m เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 mm และ ความหนา ของฟิล์ม 0.25 mm ตั้งอัตราการไหลของ Helium (He) เข้าคอลัมน์ที่ 1.0 ml ต่อนาที ฉีดสารตัวอย่าง 1 μl ในโหมด split ratio 1:20 โดยตั้งโปรแกรม เริ่มต้นอุณหภูมิคอลัมน์ที่ 70°C นาน 2 นาที แล้วจึง เพิ่มอัตราเร็วขึ้นอีก 5°C ต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 200°C นาน 10 นาที และเพิ่มอัตราเร็วขึ้นอีก 5°C



ต่อมาที่ จนถึงอุณหภูมิ 230°C นาน 10 นาที แล้วเพิ่มอัตราเร็วขึ้นอีก 5°C ต่อมาที่ จนถึงอุณหภูมิ 250°C นาน 5 นาที และเพิ่มอัตราเร็วขึ้นอีก 5°C ต่อมาที่ จนถึงอุณหภูมิ 320°C นาน 20 นาที และตั้งอุณหภูมิของ Ion source ที่ 250°C ในโหมดการเปลี่ยนแปลงของไอออนในระบบ Electron Impact Ionization (EI) โดยจะทำการเปรียบเทียบและการวิเคราะห์ห่อหุ้มประกอบทั้งหมดของสารสกัดตำรับยาเป็น Total Ion Chromatogram (TIC) ในโหมดสแกนของระบบการค้นหาคาโดยใช้ช่วงของมวล 35 ถึง 500 AMU (หน่วยมวลอะตอม) โดยการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NIST17.lib^{16,17}

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลต่าง ๆ จะถูกแสดงในรูปแบบค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยใช้เทคนิค one-way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's test

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

ผลการวิจัย

1. ปริมาณของสารสกัดตำรับยาแก้มูกคายธาตุ อดิสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

จากผลการทดลอง พบว่าเมื่อใช้ตัวอย่างผงตำรับยาแก้มูกคายธาตุอดิสารจำนวน 50 g มาสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (Hexane) เอทิลอะซิเตต (EtOAc) และ เอทานอล (EtOH) พบว่าตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุดคือ เอทานอล โดยให้ร้อยละผลผลิตสูงถึง 7.08% รองลงมาคือ เอทิลอะซิเตต ที่ให้ร้อยละผลผลิต 4.75% และ เฮกเซนให้ร้อยละผลผลิตต่ำที่สุดที่ 3.18% ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณของตำรับยาแก้มูกคายธาตุอดิสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

ตัวทำละลาย	น้ำหนักผงยา (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	ร้อยละผลผลิต (%)
Hexane	50.00	1.59	3.18
EtOAc	50.00	2.37	4.75
EtOH	50.00	3.54	7.08

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาพบว่าตำรับยาแก้มูกคายธาตุอดิสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกัน ดังตารางที่ 3 โดยสารสกัดเอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า IC_{50}

เท่ากับ $90.01 \pm 5.55 \mu\text{g/ml}$ อย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือสารสกัดเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 128.47 ± 2.58 และ $134.41 \pm 1.78 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ขณะที่การทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดเฮกเซน



มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 17.74 ± 1.42 $\mu\text{g/ml}$ อย่างมีนัยสำคัญ สารสกัดเอทิลอะซิเตท และเอทานอลมีฤทธิ์ใกล้เคียงกัน โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 31.02 ± 1.98 และ 32.05 ± 2.29 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP พบว่าสารสกัดเอทานอลมีความสามารถในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กได้สูงสุด รองลงมาได้แก่ สารสกัดเอทิลอะซิเตท และสารสกัดเฮกเซน ตามลำดับ

แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox พบว่า สารสกัดจากตำรับยาสมุนไพรต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งในการทดสอบด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP ซึ่งผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาสมุนไพรธาตุตติสาร

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาสมุนไพรธาตุตติสาร ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ		
		DPPH; IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	ABTS; IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	FRAP value (mmol/ 100 g extract)
ยาสมุนไพร ธาตุตติสาร	Hexane	128.47 ± 2.58^c	17.74 ± 1.42^b	23.45 ± 1.37^b
	EtOAc	134.41 ± 1.78^c	31.02 ± 1.98^c	52.55 ± 1.46^b
	EtOH	90.01 ± 5.55^b	32.05 ± 2.29^c	59.57 ± 1.23^b
	Trolox	7.35 ± 0.04^a	6.06 ± 0.05^a	1642.08 ± 34.39^a

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาสมุนไพรธาตุตติสารในแต่ละตัวทำละลายกับ Trolox ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม

จากการศึกษาพบว่าตำรับยาสมุนไพรธาตุตติสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ มีปริมาณสารสำคัญแตกต่างกัน ดังตารางที่ 4 โดยมีปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) ของสารสกัดเอทานอล (EtOH) มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ 33.64 ± 2.99 mg GAE/g extract อย่างมีนัยสำคัญ รองลงมา คือสาร

สกัดเอทิลอะซิเตท มีค่า 22.82 ± 0.23 mg GAE/g extract และสารสกัดเฮกเซน มีปริมาณต่ำสุด คือ 15.00 ± 1.01 mg GAE/g extract

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC) ของสารสกัดเฮกเซน มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด คือ 70.19 ± 4.79 mg QE/g extract อย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือสารสกัดเอทิลอะซิเตท มีค่า 63.73 ± 4.23 mg



QE/g extract และสารสกัดเอทานอล มีปริมาณ

ต่ำสุด คือ 57.77 ± 0.54 mg QE/g extract

ตารางที่ 4 ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของตำรับยาแก้ปวดตามธาตุอิติสาร ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารสำคัญ	
		TPC (mg GAE/g extract)	TFC (mg QE/g extract)
ยาแก้ปวดตามธาตุอิติสาร	Hexane	15.00 ± 1.01^c	70.19 ± 4.79^a
	EtOAc	22.82 ± 0.23^b	$63.73 \pm 4.23^{a,b}$
	EtOH	33.64 ± 2.99^a	57.77 ± 0.54^b

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญในแต่ละตัวทำละลายที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์หาปริมาณแคนนาบินอยด์รวมด้วยเทคนิค HPLC ของตำรับยาแก้ปวดตามธาตุอิติสาร ทั้ง 3 ตัวทำละลาย ดังตารางที่ 5 พบสารแคนนาบินอยด์ทั้งหมด 4 ชนิด คือ CBN, Δ^9 -THC, CBC และ THCA เมื่อเปรียบเทียบแต่ละตัวทำละลายพบว่าปริมาณ CBN พบมากที่สุดในตัวทำละลายเฮกเซน เท่ากับ 59.17 ± 0.07 mg/g extract รองลงมาคือตัวทำละลายเอทานอล เท่ากับ 39.58 ± 0.04 mg/g extract น้อยที่สุดคือตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท เท่ากับ 38.47 ± 0.03 mg/g extract สำหรับปริมาณ Δ^9 -THC พบมากที่สุดในตัว

ทำละลายเอทิลอะซิเตท เท่ากับ 60.42 ± 0.04 mg/g extract รองลงมาคือตัวทำละลายเอทานอล เท่ากับ 23.61 ± 0.01 mg/g extract น้อยที่สุดคือตัวทำละลายเฮกเซน เท่ากับ 23.46 ± 0.03 mg/g extract และปริมาณ CBC พบมากที่สุดในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท เท่ากับ 14.28 ± 0.03 mg/g extract รองลงมาคือตัวทำละลายเฮกเซน เท่ากับ 13.40 ± 0.00 mg/g extract น้อยที่สุดคือตัวทำละลายเอทานอล เท่ากับ 6.65 ± 0.03 mg/g extract และปริมาณ THCA พบในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทเพียงตัวทำละลายเดียวซึ่งมีปริมาณ 5.24 ± 0.01 mg/g extract



ตารางที่ 5 ปริมาณแคนนาบินอยด์ ของตำรับยาสมุนไพรธาตุตติสารที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

Cannabinoids	ปริมาณแคนนาบินอยด์ (mg/g extract)		
	Hexane	EtOAc	EtOH
CBDV	ND	ND	ND
CBDA	ND	ND	ND
CBGA	ND	ND	ND
CBG	ND	ND	ND
CBD	ND	ND	ND
THCV	ND	ND	ND
CBN	59.17±0.07 ^a	38.47±0.03 ^c	39.58±0.04 ^b
Δ9-THC	23.46±0.03 ^c	60.42±0.04 ^a	23.61±0.01 ^b
Δ8-THC	ND	ND	ND
CBC	13.40±0.00 ^b	14.28±0.03 ^a	6.65±0.03 ^c
THCA	ND ^b	5.24±0.01 ^a	ND ^b

หมายเหตุ ND คือ Not Detected หรือตรวจไม่พบ และตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแคนนาบินอยด์ในแต่ละตัวทำละลายที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ของตำรับยาสมุนไพรธาตุตติสารทั้ง 3 ตัวทำละลาย สามารถระบุสารสำคัญได้ทั้งหมด 59 ชนิด โดยเมื่อสกัดด้วย เฮกเซน สามารถระบุสารสำคัญได้ทั้งหมด 34 ชนิด เช่น THC (21.88%), CBD (21.88%) และ Card-20(22)-enolide, 3-[(2,6-dideoxy-4-O-D-glucopyranosyl-3-O-methyl-β-

D-ribo-hexopyranosyl)oxy]-5,14-dihydroxy-19-oxo-, (3β,5β) (8.78%) ตามลำดับ เมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท สามารถระบุสารสำคัญได้ทั้งหมด 21 ชนิด เช่น (+)-2-Bornanone (49.46%), THC (15.54%) และ Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)- (14.91%) ตามลำดับ และเมื่อสกัดด้วยเอทานอล สามารถระบุสารสำคัญได้ทั้งหมด 29 ชนิด เช่น THC (35.35%), CBD (21.51%) และ Trimyristin (9.02%) ตามลำดับ ดังตารางที่ 6



ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของตำรับยาสมุนไพรชาติสารที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS

ลำดับที่	MW	Formula	KI	ชื่อสารสำคัญ	%Peak area		
					Hexane	EtOAc	EtOH
1	136	C ₁₀ H ₁₆	897	Bicyclo[3.1.0]hexane,4-methylene-1-(1-methylethyl)-		0.14	
2	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1059	Eucalyptol		0.17	
3	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1041	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol,2-methyl-5-(1-methylethyl)-,(1 α ,2 α ,5 α)-		0.03	
4	152	C ₁₀ H ₁₆ O	1121	Camphor		1.76	
5	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1209	3-Cyclopentene-1-ethanol,2,2,4-trimethyl-		0.23	
6	418	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	3022	Glutaric acid, (2-methylcyclohex-1-enyl)methyl tridec-2-yn-1-yl ester		0.10	
7	152	C ₁₀ H ₁₆ O	1121	(+)-2-Bornanone	0.83	49.46	0.65
8	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1138	Isoborneol		8.44	
9	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1138	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol,1,7,7-trimethyl-,(1S-endo)-		14.91	
10	216	C ₁₀ H ₁₆ O	1331	Camphor		0.08	
11	204	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	1494	Propanoicacid,2-methyl-,3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	1.49		
12	204	C ₁₅ H ₂₄	1579	Caryophyllene	0.34	0.24	
13	220	C ₁₅ H ₂₄	1507	Humulene		0.07	
14	272	C ₁₅ H ₂₅ O	1894	Caryophyllene oxide	0.61		0.17
15	258	C ₂₀ H ₃₂	1842	7-(2,6-Dimethyl-hepta-1,5-dienyl)-3,8,8-trimethyl-bicyclo[4.2.0]oct-2-ene			0.29
16	278	C ₁₅ H ₃₀ O ₄	1774	Butolicacid,methyl ester	1.38		
17	256	C ₂₀ H ₃₈	1968	Neophytadiene	0.93		0.41
18	290	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1978	n-Hexadecanoic acid	1.60		



ลำดับที่	MW	Formula	KI	ชื่อสารสำคัญ	%Peak area		
					Hexane	EtOAc	EtOH
19	308	C ₂₀ H ₃₄ O	2161	1H-Naphtho[2,1-b]pyran,3-ethenyldecahydro-3,4a,7,7,10a-pentamethyl-,[3R-(3α,4aβ,6aα,10aβ,10bα)]-	1.03		
20	290	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	2141	1-Naphthalenepropanol, α-ethenyldecahydro-2-hydroxy-α,2,5,5,8a-pentamethyl-,[1R-[1α(R*),2β,4a629.9290.290.6680191.2(7a-Isopropenyl-4,5-dimethyloctahydroinden-4-yl)methanol			0.17
21	222	C ₂₀ H ₃₄ O	1659	5-(7a-Isopropenyl-4,5-dimethyloctahydroinden-4-yl)-3-methyl-pent-2-en-1-ol	0.47		
22	270	C ₁₅ H ₂₆ O	2004	(7a-Isopropenyl-4,5-dimethyloctahydroinden-4-yl)methanol			0.29
23	296	C ₂₀ H ₃₀	2045	7-Isopropyl-1,1,4a-trimethyl-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydrophenanthrene	0.38		
24	314	C ₂₀ H ₄₀ O	2605	Phytol	0.98		0.66
25	224	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	1638	Cannabidiol (CBD)	0.94	0.83	
26	206	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	1287	Ethanone,1-[2-(5-hydroxy-1,1-dimethylhexyl)-3-methyl-2-cyclopropen-1-yl]-			0.20
27	314	C ₁₅ H ₂₆	2486	Tricyclo[4.3.0.0(7,9)]nonane,2,2,5,5,8,8-hexamethyl-,(1α,6β,7α,9α)-			0.15
28	328	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	2490	Cannabichromene (CBC)	6.56	1.62	3.43
29	314	C ₂₁ H ₂₈ O ₃	2475	Cannabicumaronone	1.80	0.24	0.49



ลำดับที่	MW	Formula	KI	ชื่อสารสำคัญ	%Peak area		
					Hexane	EtOAc	EtOH
30	297	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	2604	Tetrahydrocannabinol (THC)	21.88	15.54	35.35
31	310	C ₂₁ H ₂₆ O ₂	2582	Oxazole,2-[1,1'-biphenyl]-4-yl-5-phenyl-	0.75		
32	244	C ₁₄ H ₂₈ O ₃	1652	Cannabinol (CBN)	21.19	4.30	21.51
33	326	C ₂₁ H ₂₆ O ₃	2824	2H-Pyran,6-heptyltetrahydro-2,2-dimethoxy-	0.83		
34	710	C ₃₆ H ₅₄ O ₁₄	5558	11-Hydroxycannabinol			0.16
35	758	C ₅₄ H ₁₁₀	5389	Card-20(22)-enolide,3-[(2,6-dideoxy-4-O-β-D-glucopyranosyl-3-O-methyl-β-D-ribo-hexopyranosyl)oxy]-5,14-dihydroxy-19-oxo-, (3β,5β)-	8.78		
36	408	C ₂₀ H ₄₁ I	2424	Tetrapentacontane	0.61		
37	416	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	3036	Eicosane,1-iodo-			0.21
38	456	C ₃₁ H ₅₂ O ₂	2871	γ-Tocopherol	0.54		0.19
39	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	3149	β-Sitosterol acetate	0.94		
40	498	C ₂₉ H ₅₄ O ₆	3342	VitaminE	0.36		
41	400	C ₂₈ H ₄₈ O	2632	2-(Decanoyloxy)propane-1,3-diyl dioctanoate	0.69		
42	448	C ₂₈ H ₄₅ ClO ₂	2813	Campesterol	0.60		
43	412	C ₂₉ H ₄₈ O	2739	Cholest-5-en-3-ol(3β)-,carbonochloride			0.37
44	414	C ₂₉ H ₅₀ O	2731	Stigmasterol	1.52		0.96
45	428	C ₃₀ H ₅₂ O	2680	γ-Sitosterol	3.25		2.42
46	426	C ₃₀ H ₅₀ O	2886	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R,5R)-5-EEthyl-6-methylheptan-2-yl)-3-methoxy-10,13-dimethyl 2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene		0.26	



ลำดับที่	MW	Formula	KI	ชื่อสารสำคัญ	%Peak area		
					Hexane	EtOAc	EtOH
47	424	C ₃₁ H ₅₂ O	2831	β-Amyrin	1.57	0.13	
48	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	2900	Lup-20(29)-en-3-one	0.49		0.43
49	426	C ₃₀ H ₅₀ O	2848	9,19-Cycloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimethyl-,acetate,(3β,4α,5α)-			0.15
50	394	C ₂₉ H ₄₆	2622	Lupeol	2.13		2.03
51	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	3025	24-Norursa-3,12-diene		0.21	
52	440	C ₃₁ H ₅₂ O	2834	Olean-12-en-3-ol,acetate,(3β)-	0.56		0.34
53	442	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	3090	9,19-Cyclolanostan-3-ol,24-methylene-,(3β)-	0.76		0.51
54	426	C ₃₀ H ₅₀ O	2873	Betulin		0.14	
55	562	C ₃₈ H ₇₄ O ₂	3759	α-Amyrin	0.33		1.41
56	722	C ₄₅ H ₈₆ O ₆	4932	Phytylstearate	0.34		0.24
57	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	468	Trimyristin			9.02
58	440	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	3036	Lup-20(29)-en-3-ol,acetate,(3β)-			5.85
59	136	C ₃₀ H ₄₈ O ²	897	Betunaldehyde			3.95
รวม					87.46	98.82	92.01

หมายเหตุ MW คือมวลโมเลกุล และ KI คือ ค่า Retention index

สรุปและอภิปรายผล

ในการศึกษานี้ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า เอทานอลมีประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดสารจากตำรับยา โดยให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุด (7.08%) ตามด้วยเอทิลอะซิเตท (4.75%) และเฮกเซน (3.18%) ตามลำดับ ผลลัพธ์นี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang และคณะ (2018) ที่พบว่าตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางถึงสูง เช่น เอทานอล มีประสิทธิภาพดีในการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์¹⁸ ความแตกต่าง

ของร้อยละผลผลิตนี้อาจสะท้อนถึงองค์ประกอบทางเคมีของตำรับยา ซึ่งอาจประกอบด้วยสารที่มีขั้วปานกลางไปจนถึงสารที่มีขั้วสูงเป็นส่วนใหญ่

ส่วนผลในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดเอทานอลมีประสิทธิภาพสูงสุด (IC₅₀ = 90.01±5.55 µg/ml) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ดี โดยพบว่าสารสกัดเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด (33.64±2.99 mg GAE/g extract) สอดคล้องกับการศึกษาของ Tanruean และคณะ



(2021) ที่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ¹⁹ อย่างไรก็ตามในการทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดเหกเซนมียุทธิต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($IC_{50} = 17.74 \pm 1.42 \mu\text{g/ml}$) ซึ่งแตกต่างจากผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH ซึ่งความแตกต่างนี้อาจเกิดจากความจำเพาะของวิธีทดสอบต่อสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ โดย ABTS สามารถวิเคราะห์สารที่ละลายในน้ำและในไขมันได้ ในขณะที่ DPPH เหมาะกับการวัดสารในกลุ่ม Hydrophobic (สารที่ไม่ละลายในน้ำหรือละลายได้น้อยมากมักจะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว) มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการอธิบายในการศึกษาของ Tanruean และคณะ (2021) การที่สารสกัดเหกเซนมียุทธิต้านอนุมูลอิสระรวมสูงสุด ($70.19 \pm 4.79 \text{ mg QE/g extract}$) อาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงในการทดสอบด้วยวิธี ABTS ความแตกต่างระหว่างปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในแต่ละวิธีทดสอบแสดงให้เห็นถึงความซับซ้อนของความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพร¹⁹

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเหกเซนมียุทธิต้านอนุมูลอิสระรวมสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Li และคณะ (2020) ที่พบว่าตัวทำละลายที่ต่างกันสามารถสกัดสารสำคัญได้แตกต่างกัน โดยเฉพาะในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์²⁰ ความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นที่น่าสนใจ โดยสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิก

รวมและฟลาโวนอยด์รวมสูงมีแนวโน้มที่จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang และคณะ (2018) ที่พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรหลายชนิด¹⁸

ผลการศึกษาปริมาณแคนนาบินอยด์ในตำรับยาสมุนไพรธาตุตีสารในครั้งนี้พบสารแคนนาบินอยด์ทั้งหมด 4 ชนิด คือ CBN, Δ^9 -THC, CBC และ THCA ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันไป โดยขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ซึ่งในสารสกัดเอทิลอะซิเตตมี Δ^9 -THC สูงที่สุดเท่ากับ $60.42 \pm 0.04 \text{ mg/g extract}$ และมี CBN สูงที่สุดในสารสกัดเหกเซน และสารสกัดเอทานอล เท่ากับ 59.17 ± 0.07 และ $39.58 \pm 0.04 \text{ mg/g extract}$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับยาที่เข้ากัญชา เช่น ตำรับยาอินทจวร ตำรับยาหาวัฒนะ และตำรับยาแก้ธาตุพิการ พบว่ามีชนิดของแคนนาบินอยด์แตกต่างกัน โดยในตำรับยาสมุนไพรธาตุตีสารมีปริมาณ Δ^9 -THC สูงกว่าตำรับยาอินทจวร และตำรับยาหาวัฒนะ แต่มีปริมาณน้อยกว่าตำรับยาแก้ธาตุพิการ และมีปริมาณ CBN สูงกว่าทั้ง 3 ตำรับ¹⁵

นอกจากนี้ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของสารสำคัญในตำรับยา โดยพบสารสำคัญทั้งหมด 59 ชนิด ซึ่งแต่ละตัวทำละลายสามารถสกัดสารสำคัญได้แตกต่างกัน สารสำคัญที่พบในปริมาณสูง ได้แก่ THC, CBD และ (+)-2-Bornanone เป็นต้น การพบสาร THC และ CBD ในปริมาณสูงในตำรับยาสมุนไพรธาตุตีสารอาจอธิบายถึงประสิทธิภาพของตำรับยานี้ในการรักษาอาการทางระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะอาการ



ท้องเสีย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sharkey และ Wiley (2016) ที่รายงานถึงบทบาทของระบบเอนโดแคนนาบินอยด์ในการควบคุมการทำงานของระบบทางเดินอาหาร สาร THC และ CBD มีรายงานว่ามียฤทธิ์ลดการอักเสบ ลดการหดเกร็งของลำไส้ และช่วยควบคุมการทำงานของระบบประสาทในทางเดินอาหาร²¹ ซึ่งน่าจะเป็นกลไกสำคัญในการบรรเทาอาการท้องเสียได้ของตำรับยานี้ที่พบสารในกลุ่มแคนนาบินอยด์ดังกล่าว

โดยสรุปการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของตำรับยาสมุนไพรธาตุตอติสารในการต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญซึ่งขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ ซึ่งอาจเป็นพื้นฐานสำคัญในการพัฒนายาจากสมุนไพรสำหรับรักษาอาการท้องเสียและปัญหาในระบบทางเดินอาหารอื่น ๆ ประสิทธิภาพและความปลอดภัยของตำรับยานี้ในการนำไปใช้ทางคลินิกต่อไป การวิจัยในอนาคตควรมุ่งเน้นการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เฉพาะเจาะจง การศึกษาในสัตว์ทดลอง และการทดลองทางคลินิกเพื่อพัฒนาตำรับยานี้ให้เป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพต่อไป

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาเพิ่มเติมควรมุ่งเน้นการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ และฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ทั้งในห้องปฏิบัติการและสัตว์ทดลอง เพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัยของตำรับยาในการรักษาอาการท้องเสียและปัญหาในระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้ ควรดำเนินการวิจัยเชิงลึกเกี่ยวกับกลไก

การออกฤทธิ์ของสารสำคัญในตำรับยา โดยเฉพาะ THC และ CBD พร้อมทั้งศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสมุนไพรและพัฒนารูปแบบการนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาสูตรตำรับที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณวิทยาลัยสหเวชศาสตร์ วิทยาเขตสมุทรสงคราม มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทาที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และบริษัท ธาธาเรธา คอร์ปอเรชั่น จำกัด ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างพืชกัญชาเพื่อใช้ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. ฉลอง ทองแผ้ว. การพัฒนานโยบายการส่งเสริมการแพทย์แผนไทยเพื่อคุณภาพชีวิตที่ดี. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก 2547; 2(3):105-17
2. กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข. แผนแม่บทแห่งชาติ ว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564. พิมพ์ครั้งที่ 1. สมุทรปราการ: โรงพิมพ์ที เอส อินเทอร์เน็ต; 2564
3. กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข. ชุดตำราภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย ฉบับอนุรักษ์: ตำรับยาแผนไทยของชาติที่เข้าด้วยกัญชา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สามเจริญพาณิชย์; 2564



4. ภัทรพล แสงเงิน, กังวล คัชชีมา. แนวทางการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับตำรายาโบราณในไทย. วารสารมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 2563; 39(4):64-80
5. Sithisarn P, Gritsanapan W. Free radical scavenging activity and total flavonoid content of Siamese neem tree leaf aqueous extract from different locations. MUJPS. 2005; 32(1-2):31-5
6. Charoensiddhi S, Anprung P. Bioactive compounds and volatile compounds of Thai bael fruit (*Aegle marmelos* (L.) Correa) as a valuable source for functional food ingredients. IFRJ. 2008; 15(3):287-95
7. Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. Antioxidants 2020; 9(1):21
8. Alamri AS, Saleem H, Irfan Pervaiz I, et al. Insight into the phytochemical, biological, and in silico studies of *Erythrina suberosa* roxb.: A source of novel therapeutic bioactive products from a medicinal plant. Food Biosci. 2023; 52(5):102429
9. Khamweera P, Jarupinthusopshon S. Total phenolic content, antioxidant, and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Vitex trifolia* L. extracts. Phranakhon Rajabhat Res. J. Sci. Technol. 2021; 16:148-60
10. Zhang QW, Lin LG, Ye WC. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. Chin Med. 2018; 13:20
11. Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med. Aromat. Plants 2015; 4:3
12. Yongram C, Panyatip P, Siriparu P, et al. Influence of maturity stage on tryptophan, phenolic, flavonoid, and anthocyanin content, and antioxidant activity of *Morus alba* L. fruit. Rasayan J. Chem. 2022; 15(3):1693-701
13. Puthongking P, Ratha J, Panyatip P, Datham S, Siriparu P, Yongram C. The effect of extraction solvent on the phytochemical contents and antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of extracts from the leaves, bark and twig of *Dipterocarpus alatus*. Trop. J. Nat. Prod. Res. 2023; 7(12):5595-600
14. Panyatip P, Padumanonda T, Yongram C, Kasikorn T, Sungthong B, Puthongking P. Impact of tea processing on tryptophan, melatonin, phenolic and flavonoid contents in mulberry (*Morus alba* L.) leaves: quantitative analysis by LC-MS/MS. Molecules 2022; 27(15):4979



15. ภาณุพันธ์ ศรีพันธุ์, ขวลิต โยงรัมย์, สุวดี โชคชัยศิริ และคณะ. การวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ การทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาสมุนไพรไทยอายุวัฒนะ. วารสารสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา, 2566; 8(2):18-34
16. รัชยาพร อโนราช, ปัญญาดา ปัญญาทิพย์, สุธิตา ดาถ้ำ, และคณะ. พฤกษเคมีวิเคราะห์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากใบส่องฟ้า. วารสารสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา 2567; 9(1):49-69
17. Burana-osot J, phattanawasin P, luangthuwapanit P, khamwut P, sotaphun U. Determination of volatile constituents from crude drugs of phikud navakot by gas chromatography-mass spectrometry. Thai Bull. Pharm. Sci. 2016; 11(2):45-60
18. Zhang YJ, Gan RY, Li S, et al. Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules* 2018; 20(12):21138-56
19. Tanruean K, Suwannarach N, Chetpattananondh P, Lumyong S. Phytochemical constituents and antioxidant activities of leaf extracts from *Clausena excavata* and *Clausena harmandiana*. *Plants* 2021; 10(2):329
20. Li S, Chen G, Zhang C, Wu M, Wu S, Liu Q. Research progress of natural antioxidants in foods for the treatment of diseases. *Food Sci. Hum. Wellness* 2020; 9(3):291-312
21. Sharkey KA, Wiley JW. The role of the endocannabinoid system in the brain-gut axis. *Gastroenterology*. 2016; 151(2):252-66