



วันที่รับบทความ : 17/03/2569

วันแก้ไขบทความ : 07/04/2569

วันที่ตอบรับบทความ : 08/04/2569

วารสารสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

Journal of Allied Health Sciences Suan Sunandha Rajabhat University

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอโศก

เรณู ผ่องใส¹, นงนุช บุญแจ้ง², สุวดี โชคชัยศิริ^{3*}

บัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา¹

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ วิทยาเขตสมุทรสงคราม มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา²

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ วิทยาเขตสมุทรสงคราม มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา³

E-mail: suwadee.ch@ssru.ac.th*

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาอโศก โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) และการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS ด้วยยาสมุนไพรในตำรับจำนวน 20 ชนิด ถูกสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยใช้เทคนิค ultrasonic-assisted extraction จากนั้นนำสารสกัดหยาบไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ trolox เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง ผลการศึกษาพบว่าสามารถสกัดสารสกัดหยาบได้ 85.98 กรัม คิดเป็นร้อยละ 24.05 และตรวจพบสารประกอบทางเคมีอย่างน้อย 40 ชนิด สารสำคัญที่พบในปริมาณสูง ได้แก่ piperine (46.85%), trimyristin (17.81%), caryophyllene (7.31%) และ lup-20(29)-en-3-ol acetate (3.53%) รวมถึงสารในกลุ่ม phytosterols และ triterpenoids อีกหลายชนิด ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดตำรับยาอโศกมีค่า IC_{50} เท่ากับ $321.12 \pm 0.43 \mu\text{g/mL}$ สำหรับวิธี DPPH และ $289.22 \pm 3.51 \mu\text{g/mL}$ สำหรับวิธี ABTS ซึ่งแสดงฤทธิ์ต่ำกว่าสารมาตรฐาน trolox โดยสรุปตำรับยาอโศกประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายกลุ่ม และแม้จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำกว่าสารมาตรฐาน แต่ข้อมูลที่ได้มีความสำคัญในฐานะข้อมูลพื้นฐานทางพิษวิทยาของตำรับสมุนไพรไทย ซึ่งยังมีรายงานจำกัด และอาจนำไปใช้ในการกำหนดสารบ่งชี้ทางเคมีเพื่อการควบคุมคุณภาพในอนาคต

คำสำคัญ: ยาอโศก, GC-MS, องค์ประกอบทางเคมี, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ตำรับสมุนไพรไทย

* ผู้ประพันธ์บรรณกิจ



Chemical composition and antioxidant activity of the Thai traditional Ya-Apaisalee herbal formulation

Renu Pongsaree¹, Nongnuch Boonjang², Suwadee Chokchaisiri^{3*}

Graduate School, Department of Thai Traditional Medicine, Suan Sunandha Rajabhat University¹

Department of Applied Thai Traditional Medicine, College of Allied Health Sciences,

Suan Sunandha Rajabhat University, Samut Songkhram²

Department of Cannabis Health Science, College of Allied Health Sciences,

Suan Sunandha Rajabhat University, Samut Songkhram^{3*}

E-mail: suwadee.ch@ssru.ac.th*

ABSTRACT

This study aimed to investigate the chemical composition of the ethanolic extract of the Abhaiphisali herbal formulation using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and to evaluate its antioxidant activity. The formulation, consisting of 20 herbal ingredients, was extracted with 95% ethanol using ultrasonic-assisted extraction. The crude extract obtained was subsequently analyzed for its chemical constituents by GC-MS and evaluated for antioxidant activity using DPPH and ABTS radical scavenging assays, with Trolox used as the reference standard. The results showed that 85.98 g of crude extract was obtained, corresponding to a percentage yield of 24.05%. GC-MS analysis revealed the presence of at least 40 chemical constituents. The major compounds detected were piperine (46.85%), trimyristin (17.81%), caryophyllene (7.31%), and lup-20(29)-en-3-ol acetate (3.53%). In addition, several compounds belonging to the phytosterol and triterpenoid groups were also identified. The antioxidant activity assay showed that the Abhaiphisali extract exhibited IC_{50} values of 321.12 ± 0.43 $\mu\text{g/mL}$ for the DPPH assay and 289.22 ± 3.51 $\mu\text{g/mL}$ for the ABTS assay, indicating lower antioxidant activity than the Trolox standard. These findings demonstrate that the Abhaiphisali herbal formulation contains a variety of bioactive compounds. Although its antioxidant activity was lower than that of the reference standard, the obtained data provide important preliminary phytochemical information for this traditional Thai herbal formulation,



for which scientific reports remain limited. The findings may also be useful for the identification of chemical markers for future quality control of Thai herbal formulations.

Keywords: Ya-Apaisalee, Chemical composition, Antioxidant activity, GC-MS,
Thai herbal formulation



บทนำ

การแพทย์แผนไทยเป็นระบบการแพทย์ดั้งเดิมที่มีพื้นฐานมาจากภูมิปัญญาท้องถิ่นและคัมภีร์การแพทย์โบราณ โดยมีแนวคิดสำคัญเกี่ยวกับการรักษาสมดุลของธาตุทั้งสี่และลมภายในร่างกาย ซึ่งเชื่อว่าการเกิดโรค ตำรับยาแผนไทยจึงมักประกอบด้วยสมุนไพรหลายชนิดที่ทำงานร่วมกันเพื่อเสริมฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรค ตำรับยาไทยสาธิตี (หรืออภัยสาธิตี) เป็นตำรับยาแผนไทยที่ปรากฏในตำราเวชศึกษาแพทยศาสตร์สังเขป เล่ม 1 ของพระยาพิศณุประสาทเวช (ร.ศ. 127)¹ จัดอยู่ในกลุ่มตำรับยาที่ใช้บำบัดอาการในระบบทางเดินอาหาร โดยมีสรรพคุณสำคัญในการแก้จุดเสียด แน่นท้อง และช่วยกระจายลม ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิดของการแพทย์แผนไทยที่มองว่าความผิดปกติของ “ลม” เป็นสาเหตุสำคัญของอาการเจ็บป่วยหลายประการ²

ตำรับยาไทยสาธิตีประกอบด้วยสมุนไพรหลายชนิด ได้แก่ ลูกจันทน์ ดอกจันทน์ กระวาน กานพลู พริกาสา ว่านน้ำ โกงสุล โกงสุมา เทียนข้าวเปลือก เทียนแดง เทียนขาว เทียนตาตึกแตน เจตมูลเพลิง สมอไทย สมอเทศ หัวบุก สหสคุณเทศ จันทน์เทศ กัญชา และพริกไทยอ่อน รูปแบบยาอยู่ในรูปยาผงหรือแคปซูล ซึ่งรับประทานครั้งละ 2 กรัม วันละ 2 ครั้ง ก่อนอาหาร เข้าและเย็น ควรระวังการรับประทานร่วมกับยาในกลุ่มสารกันเลือดเป็นลิ่ม (anticoagulant) และยาต้านการจับตัวของเกล็ดเลือด (antiplatelets) ควรระวังการใช้ร่วมกับยา

phenytoin, propranolol, theophylline และ rifampicin เนื่องจากตำรับนี้มีพริกไทยในปริมาณสูง¹ สมุนไพรหลายชนิดในตำรับดังกล่าวมีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ขับลม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ³⁻⁵ แม้ว่าตำรับยาไทยสาธิตีจะมีการใช้อย่างยาวนานตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยยังมีรายงานว่าตำรับนี้อาจใช้บรรเทาอาการในกลุ่มโรคทางเดินหายใจ เช่น บำรุงปอด รักษาโรคปอดบวม แก้อาการโรคปอดอักเสบและเรื้อรัง อาการไอมีเสมหะ โรคถุงลมปอดโป่งพอง โรคไอเรื้อรัง และโรคปอดอุดกั้นเรื้อรังได้ด้วยเช่นกัน แต่ข้อมูลเชิงประจักษ์ทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและกลไกการออกฤทธิ์ยังมีจำกัด ดังนั้นการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ของตำรับยาดังกล่าวจึงมีความสำคัญในการสนับสนุนการใช้ตำรับยาอย่างมีหลักฐานเชิงประจักษ์ และช่วยส่งเสริมการพัฒนาสมุนไพรไทยให้มีมาตรฐานสากล เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (gas chromatography-mass spectrometry; GC-MS) เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพในการแยกและระบุชนิดของสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้และกึ่งระเหยได้ในสารสกัดจากสมุนไพร ช่วยให้สามารถระบุสารสำคัญที่อาจมีบทบาทต่อฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของตำรับยาได้อย่างแม่นยำ⁶ ในขณะเดียวกัน อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นโมเลกุลที่มีความไม่เสถียรและสามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรื้อรังหลายชนิด รวมถึงความเสื่อมของเซลล์และกระบวนการชรา⁷ การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระ



จากพืชสมุนไพรจึงมีบทบาทสำคัญในการช่วยลดความเสียหายของเซลล์และส่งเสริมสุขภาพโดยรวม โดยมีรายงานว่าสมุนไพรหลายชนิดที่เป็นองค์ประกอบของตำรับยาไทยสาธิตีมีสารสำคัญ เช่น สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ⁸⁻¹⁰ การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนิยมใช้วิธี DPPH และ ABTS radical scavenging assay ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความสะดวก แม่นยำ และสามารถสะท้อนศักยภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระผ่านกลไกที่แตกต่างกัน การใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันจึงช่วยเพิ่มความน่าเชื่อถือของผลการศึกษา¹¹⁻¹³

แม้ว่าตำรับยาไทยสาธิตีจะมีการใช้ในทางคลินิกมายาวนาน แต่ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของตำรับทั้งระบบยังมีจำกัด โดยเฉพาะการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดด้วยเทคนิค GC-MS ร่วมกับการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาไทยสาธิตีด้วยเทคนิค GC-MS และประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงประจักษ์ทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนสรรพคุณของตำรับยาแผนไทยดังกล่าว และเป็นพื้นฐานสำหรับการพัฒนาและการใช้ประโยชน์ตำรับยาไทยสาธิตีในอนาคตอย่างเหมาะสมและยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาไทยสาธิตีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)
2. เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาไทยสาธิตีด้วยวิธีมาตรฐานที่เหมาะสม

ระเบียบวิธีการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างและการสกัดตำรับยาไทยสาธิตี

ตำรับยาไทยสาธิตีประกอบด้วยผงสมุนไพรหลายชนิด ได้แก่ ลูกจันทน์ (3.75 กรัม) ดอกจันทน์ (7.50 กรัม) กระวาน (11.25 กรัม) กานพลู (15.00 กรัม) ลูกพลิงกลาสา (22.50 กรัม) ว่านน้ำ (26.25 กรัม) โกฐสอ (30.00 กรัม) โกฐเขมา (37.75 กรัม) เทียนขาวเปลือก (37.50 กรัม) เทียนแดง (41.25 กรัม) เทียนขาว (30.00 กรัม) เทียนตาดักแด้น (33.75 กรัม) เจตมูลเพลิง (45.00 กรัม) สมอไทย (48.75 กรัม) สมอเทศ (48.75 กรัม) หัวบุก (56.25 กรัม) สหสคุณเทศ (90.00 กรัม) จันทน์เทศ (60.00 กรัม) กัญชา (56.25 กรัม) และพริกไทยอ่อน (60.00 กรัม) รวมเป็นน้ำหนักทั้งหมด 357.50 กรัม ผงสมุนไพรทั้งหมดถูกผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำตำรับยาที่เตรียมไว้สกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 1 ลิตร โดยใช้เทคนิค ultrasonic-assisted extraction (GT SONIC-D27, Shenzhen, China) ที่ 40 kHz และ 500 W อุณหภูมิ 40–50 °C เป็นเวลา 25 นาที และทำการสกัดซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง สารสกัดที่ได้ถูกกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ



(rotary evaporator, ROTEVA 66 Series 8766.V0. BBH.001392.40.50.AX, Mumbai, India) จนได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ที่แห้งของตำรับยาไทยสาส์ เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาไทยสาส์ดำเนินการโดยใช้เครื่อง gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS; Shimadzu GCMS-QP2020) ติดตั้งคอลัมน์ชนิด HP-5MS (30 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm) โดยใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นก๊าซพา (carrier gas) ที่อัตราการไหลคงที่ 1.0 mL/min ตามวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์สารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ^{14,11} ตัวอย่างถูกฉีดเข้าสู่ระบบปริมาตร 1 µL ภายใต้โหมด split injection (split ratio 1:20) โปรแกรมอุณหภูมิของเตาอบ (oven temperature program) เริ่มต้นที่ 70 °C คงที่ 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 5 °C/min จนถึง 200 °C และคงที่ 10 นาที ก่อนเพิ่มอุณหภูมิถึง 230 °C คงที่ 10 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 250 °C คงที่ 5 นาที และเพิ่มอุณหภูมิสูงสุดถึง 320 °C โดยคงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 20 นาที อุณหภูมิของแหล่งกำเนิดไอออน (ion source temperature) ตั้งไว้ที่ 250 °C การแตกตัวของสารใช้เทคนิค electron impact ionization (EI) และบันทึกข้อมูลในรูปแบบ total ion chromatogram (TIC) ภายใต้โหมดสแกน

ในช่วงมวล 35–500 amu การระบุชนิดของสารประกอบทำโดยเปรียบเทียบกับสเปกตรัมมวลที่ได้กับฐานข้อมูลมาตรฐาน NIST 17 Mass Spectral Library¹⁵ เพื่อยืนยันชนิดของสารประกอบที่ตรวจพบในสารสกัดตำรับยาไทยสาส์

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1) วิธี DPPH (DPPH radical scavenging assay)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ดำเนินการตามวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995)¹² และ Chokchaisiri (2025)¹⁶ โดยเตรียมสารสกัดตำรับยาไทยสาส์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายอยู่ในช่วง 5–1000 µg/mL และเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้เมทานอลในการละลาย นำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 100 µL ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 µL ในหลอดหลุมชนิด 96 หลุม จากนั้นบ่มส่วนผสมในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่อง microplate reader (SPECTROstar Nano S/N 601-1829, Ortenberg, Germany) โดยใช้สาร trolox เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก ผลการทดลองแสดงเป็นร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งคำนวณจากสมการ (1) และนำไปคำนวณค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC₅₀)



$$\text{DPPH inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มตัวอย่าง

2) วิธี ABTS (ABTS radical scavenging assay)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical scavenging assay ดำเนินการตามวิธีของ Re และคณะ (1999)¹³ โดยเตรียมอนุมูลอิสระ ABTS^+ จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) ความเข้มข้น 7 mM กับ potassium persulfate ความเข้มข้น 2.45 mM ในน้ำกลั่น และบ่มในที่มืดเป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากบ่มแล้ว ให้เจือจางสารละลาย ABTS^+ ด้วย Methanol จนกระทั่งค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 734 nm อยู่ระหว่าง 0.70 ± 0.02 แล้วนำไปทดสอบ

$$\text{ABTS inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100 \quad (2)$$

โดยที่ A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มตัวอย่าง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดลองทุกการทดลองทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง ($n = 3$) และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

ผลการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างและผลผลิตสารสกัด

ตำรับยาไทยสาส์นประกอบด้วยสมุนไพรจำนวน 20 ชนิด น้ำหนักรวม 357.50 กรัม โดยสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 1 ลิตร ด้วยเทคนิคคลื่นเสียง

กับสารสกัดตัวอย่างตำรับยาไทยสาส์นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ความเข้มข้น 5-1000 $\mu\text{g/mL}$) ปริมาตร 100 μL กับสารละลาย ABTS^+ ปริมาตร 100 μL ในภาตหลุมชนิด 96 หลุม บ่มส่วนผสมในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (SPECTROstar Nano S/N 601-1829, Ortenberg, Germany) โดยใช้สาร trolox เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก ผลการทดลองคำนวณเป็นร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ตามสมการ (2) และนำไปคำนวณค่า IC_{50}

ความถี่สูง (ultrasonic-assisted extraction) เป็นเวลา 25 นาที และทำการสกัดซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง สารละลายที่ได้ถูกกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ผลการสกัดได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) มีลักษณะเป็นของแข็งอสัณฐาน (amorphous) สีน้ำตาลเข้ม น้ำหนัก 85.98 กรัม คิดเป็นร้อยละ 24.05 ของน้ำหนักวัตถุดิบเริ่มต้น



องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากการ

วิเคราะห์ GC-MS

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาไทยสาลีด้วยเทคนิค GC-MS ตรวจพบสารประกอบจำนวน 40 ชนิด ดังแสดงใน ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 1 โดยสามารถจำแนกสารออกเป็นกลุ่มสารสำคัญ ได้แก่ sesquiterpenes, terpenoids, alkaloids, fatty acid esters, phenylpropanoids, phytosterols และ triterpenoids สารที่พบใน

ปริมาณสูง ได้แก่ piperine (รวมประมาณ 46.85% จากสองพืช) ซึ่งเป็นสารสำคัญในกลุ่ม alkaloids รองลงมา ได้แก่ trimyristin (17.81%), caryophyllene (7.31%) และ lup-20(29)-en-3-ol acetate (3.53%) นอกจากนี้ยังตรวจพบสารในกลุ่ม phytosterols เช่น γ -sitosterol (1.67%) และ stigmasterol (0.43%) รวมถึงสารในกลุ่ม triterpenoids เช่น lupeol (1.94%) และอนุพันธ์ของ β -amyrin ในปริมาณรองลงมา

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาไทยสาลีจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)

Peak No.	RT (min)	Identified compound	Molecular formula	Area (%)	Similarity (%)	Chemical class
1	14.926	α -Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	0.34	96	Sesquiterpene
2	15.699	Copaene	C ₁₅ H ₂₄	0.31	95	Sesquiterpene
3	16.045	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-	C ₁₅ H ₂₄	0.40	94	Terpenoid
4	16.850	Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	7.31	96	Sesquiterpene
5	17.209	α -Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	0.18	96	Sesquiterpene
6	17.749	Humulene	C ₁₅ H ₂₄	0.64	96	Sesquiterpene
7	18.597	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	C ₁₅ H ₂₄	1.04	97	Terpenoid derivative



Peak No.	RT (min)	Identified compound	Molecular formula	Area (%)	Similarity (%)	Chemical class
8	18.770	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-, [2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.)]-	C ₁₅ H ₂₄	0.86	92	Terpenoid derivative
9	19.005	1-Penten-3-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	C ₁₅ H ₂₄ O	0.55	78	Ketone
10	19.38	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	C ₁₅ H ₂₂	0.90	95	Terpenoid
11	20.28	(3S,3aR,3bR,4S,7R,7aR)-4-Isopropyl-3,7-dimethyloctahydro-1H-cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzen-3-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.24	79	Terpenoid alcohol
12	20.85	Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	1.48	95	Oxygenated sesquiterpene
13	21.00	1-Pentadecene	C ₁₅ H ₃₀	0.25	97	Alkene
14	21.92	Isospathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	0.36	90	Sesquiterpene alcohol
15	22.56	Silphiperfol-5-ene	C ₁₅ H ₂₄	0.38	71	Sesquiterpene
16	25.47	9-Eicosene, (E)-	C ₂₀ H ₄₀	0.22	96	Alkene
17	27.07	(-)-Globulol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.22	84	Sesquiterpene alcohol
18	28.49	2,4-Decadienamide, N-isobutyl-, (E,E)-	C ₁₄ H ₂₅ NO	0.88	91	Amide
19	29.68	Docosanoic acid, ethyl ester	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	0.83	86	Fatty acid ester



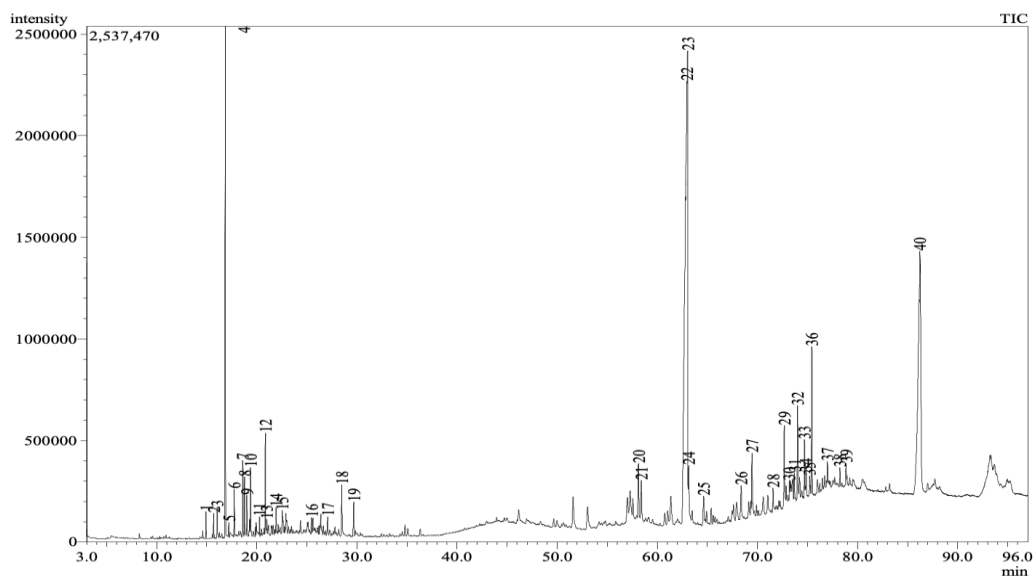
Peak No.	RT (min)	Identified compound	Molecular formula	Area (%)	Similarity (%)	Chemical class
20	58.12	(2E,4E,10E)-N-Isobutylhexadeca-2,4,10-trienamide	C ₂₀ H ₃₅ NO	1.41	86	Alkaloid amide
21	58.40	(2E,4E,10E)-N-Isobutylhexadeca-2,4,10-trienamide	C ₂₀ H ₃₅ NO	0.94	89	Alkaloid amide
22	62.96	Piperine	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	35.43	78	Alkaloid
23	63.02	Piperine	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	11.42	96	Alkaloid
24	63.13	(E)-7-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-1-(piperidin-1-yl)hept-6-en-1-one	C ₁₉ H ₂₅ NO ₃	1.40	93	Alkaloid
25	64.62	(2E,6E)-7-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-1-(piperidin-1-yl)hepta-2,6-dien-1-one	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	0.75	89	Alkaloid
26	68.37	(3R,4R)-3-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)methyl-4-(3,4-dimethoxybenzyl)dihydrofuran-2(3H)-one	C ₂₁ H ₂₂ O ₆	0.80	88	Phenyl-propanoid
27	69.46	(E)-9-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-1-(piperidin-1-yl)non-8-en-1-one	C ₂₁ H ₂₉ NO ₃	1.22	90	Alkaloid
28	71.56	Stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	0.43	91	Phytosterol
29	72.68	γ -Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	1.67	93	Phytosterol
30	73.20	β -Amyrin	C ₃₀ H ₅₀ O	0.22	91	Triterpenoid
31	73.68	9,19-Cyclolanostan-3-ol, 24-methylene-, (3 β)-	C ₃₁ H ₅₂ O	0.48	83	Triterpenoid
32	74.01	Lupeol	C ₃₀ H ₅₀ O	1.94	92	Triterpenoid
33	74.70	Olean-12-en-3-ol, acetate, (3 β)-	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	1.14	92	Triterpenoid



Peak No.	RT (min)	Identified compound	Molecular formula	Area (%)	Similarity (%)	Chemical class
34	74.87	Lanosta-8,24-dien-3-ol, acetate, (3 β)-	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	0.74	79	Triterpenoid
35	75.22	Glutinol	C ₃₀ H ₅₀ O	0.21	80	Triterpenoid
36	75.44	Lup-20(29)-en-3-ol, acetate, (3 β)-	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	3.53	94	Triterpenoid
37	77.00	Betulinaldehyde	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	0.37	90	Triterpenoid
38	78.24	11-Oxo- β -amyrin acetate	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	0.35	86	Triterpenoid
39	78.85	3 β -Acetoxy-11-oxoursan-12-ene	C ₃₂ H ₅₀ O ₃	0.36	87	Triterpenoid
40	86.24	Trimyristin	C ₄₅ H ₈₆ O ₆	17.81	88	Fatty acid ester

RT = retention time; area (%) = ร้อยละพื้นที่พีค; similarity (%) = ค่าความคล้ายคลึงของสเปกตรัมมวลจากฐานข้อมูล NIST; chemical

class = กลุ่มสารประกอบทางเคมี โดยการระบุชนิดของสารอาศัยการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NIST 17 mass spectral library



ภาพที่ 1 โครมาโทแกรม GC-MS ของสารสกัดตำรับยาอโกลิสาที่สกัดด้วยเอทานอล 95%



ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาอโศกสกัดถูกประเมินด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging assays ผลการทดลองพบว่า สารสกัดมีค่า IC_{50} เท่ากับ $321.12 \pm 0.43 \mu\text{g/mL}$ ในการทดสอบ DPPH และ $289.22 \pm 3.51 \mu\text{g/mL}$ ในการทดสอบ ABTS ในขณะที่ สารมาตรฐาน Trolox มีค่า IC_{50} เท่ากับ $6.47 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$ สำหรับการทดสอบ DPPH และ $12.92 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$ สำหรับการทดสอบ ABTS อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน trolox ซึ่งมีค่า IC_{50} ต่ำกว่ามาก แสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับสมุนไพรนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับค่อนข้างอ่อน ตามเกณฑ์การจำแนกที่ใช้กันทั่วไปซึ่งระบุว่า สารสกัดที่มีค่า IC_{50} สูงกว่า $200 \mu\text{g/mL}$ จัดว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำถึงปานกลาง¹⁰ ดังแสดงในตารางที่ 2 แม้ว่าค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้ไม่สูงมาก แต่ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าสารสกัดตำรับยาอโศกสกัดประกอบด้วยสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะ piperine, trimyristin และ caryophyllene ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในปริมาณสูง Piperine ซึ่งเป็นสารอัลคาลอยด์หลักจาก *Piper nigrum* ได้รับรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้านการออกซิเดชัน และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมของสารออกฤทธิ์อื่นในตำรับสมุนไพรได้¹⁹ นอกจากนี้ β -caryophyllene ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม sesquiterpenoid ยังมีรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและด้านการออกซิเดชันผ่านกลไกการลดการเกิด

อนุมูลอิสระและการยับยั้งกระบวนการ oxidative stress ในเซลล์²⁰ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับสมุนไพรแบบ polyherbal อาจไม่ได้เกิดจากสารชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว แต่เกิดจากการทำงานร่วมกันของสารประกอบหลายกลุ่ม เช่น ฟีนอลิก เทอร์ปีนอยด์ และอัลคาลอยด์ ซึ่งสามารถทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อลดอนุมูลอิสระได้³⁰ แนวคิดของการเกิด synergistic effect ระหว่างสารออกฤทธิ์หลายชนิดถือเป็นลักษณะสำคัญของตำรับยาแผนไทยและตำรับสมุนไพรแบบผสม ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างจากสารเดี่ยว²³ เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่น พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดตำรับยาอโศกสกัดอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับสารสกัดจากตำรับสมุนไพรหลายชนิดที่มีองค์ประกอบซับซ้อน ซึ่งมักแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารหลายกลุ่มที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกัน³¹ นอกจากนี้ ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระยังอาจขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลาย วิธีการสกัด และองค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพรในตำรับ ซึ่งสามารถส่งผลต่อชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่ถูกสกัดออกมาได้³² โดยสรุป แม้ว่าสารสกัดตำรับยาอโศกสกัดจะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับค่อนข้างอ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน แต่การตรวจพบสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพสนับสนุนว่าตำรับสมุนไพรดังกล่าวอาจมีศักยภาพในการเสริมฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาผ่านการทำงานร่วมกันของสารหลายชนิด ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิด



ของตำรับยาแผนไทยที่เน้นการใช้สมุนไพรหลายชนิด
ร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพทางการรักษา

ตารางที่ 2ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาไทยสาส์จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ วิธี ABTS

ตัวอย่าง	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	ABTS IC ₅₀ (µg/mL)
ตำรับยาไทยสาส์	321.12 ± 0.43	289.22 ± 3.51
Trolox	6.47 ± 0.12	12.92 ± 0.09

ค่า IC₅₀ (µg/mL) แสดงความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± SD (n = 3) จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS โดยใช้ trolox เป็นสารมาตรฐาน

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษานี้ได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาไทยสาส์ ซึ่งเป็นตำรับสมุนไพรไทยแบบ polyherbal formulation การสกัดด้วยเอทานอล 95% ร่วมกับเทคนิค ultrasonic-assisted extraction²⁴ ให้ผลผลิตสารสกัดประมาณ 24.05% ซึ่งสะท้อนถึงประสิทธิภาพของเอทานอลในการสกัดสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรหลายชนิด โดยเฉพาะสารที่มีขั้วถึงไม่มีขั้ว เช่น terpenoids, alkaloids และ lipid derivatives ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการสกัดสารจากพืชสมุนไพรด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ในงานวิเคราะห์ GC-MS ก่อนหน้านี้^{13,16} ผลการวิเคราะห์ GC-MS ตรวจพบสารประกอบอย่างน้อย 40 ชนิด โดยสารที่พบในปริมาณสูง ได้แก่ piperine, trimyristin และ caryophyllene รวมถึงสารในกลุ่ม triterpenoids และ phytosterols เช่น lupeol และ γ -sitosterol การพบสารในกลุ่ม terpenoids และ sesquiterpenes สอดคล้องกับองค์ประกอบของสมุนไพรไทยหลายชนิด ซึ่งมักมีสารระเหยที่

สามารถตรวจพบได้ดีด้วยเทคนิค GC-MS และมีบทบาททางชีวภาพ เช่น antioxidant และ anti-inflammatory activities¹⁷⁻¹⁸ Piperine ซึ่งเป็น alkaloid สำคัญในพริกไทย มีรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และมีบทบาทเป็น bioenhancer ที่ช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารสำคัญอื่นในร่างกาย¹⁹ ขณะที่สารในกลุ่ม sesquiterpenes เช่น caryophyllene และอนุพันธ์ของ terpenoids มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการลด oxidative stress และการอักเสบ²⁰ นอกจากนี้การพบสารในกลุ่ม triterpenoids และ phytosterols เช่น lupeol และ sitosterol ยังสอดคล้องกับรายงานองค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพรเขตร้อน ซึ่งมีบทบาทด้าน antioxidant, anti-inflammatory และ immunomodulatory effects²⁰ ตำรับยาไทยสาส์ยังมีส่วนประกอบของ กัญชา ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีสารสำคัญหลายกลุ่ม เช่น cannabinoids, terpenes และ phenolic compounds ที่มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน รวมถึง antioxidant และ neuroprotective effects²¹⁻²²



อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาที่ไม่พบ cannabinoids ที่โดดเด่นจากการวิเคราะห์ GC-MS ซึ่งอาจเกิดจากข้อจำกัดของเทคนิคการวิเคราะห์หรือสถานะการเตรียมตัวอย่าง แต่การมีองค์ประกอบของกัญชาในตำรับอาจมีบทบาทเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพร่วมกับสมุนไพรอื่นในตำรับ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging assays พบว่าสารสกัดตำรับยาไทยสาละมีค่า IC_{50} เท่ากับ $321.12 \pm 0.43 \mu\text{g/mL}$ และ $289.22 \pm 3.51 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่า IC_{50} สูงกว่าสารมาตรฐาน Trolox อย่างชัดเจน (6.47 ± 0.12 และ $12.92 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ) แสดงว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสารสำคัญที่ตรวจพบในสารสกัด เช่น piperine และ caryophyllene จะเคยมีรายงานว่ามีความสัมพันธ์ด้านการต้านอนุมูลอิสระ แต่การที่สารเหล่านี้พบในปริมาณสูงในสารสกัดรวม ไม่ได้หมายความว่าสารสกัดจะต้องแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงโดยตรงเสมอไป ทั้งนี้ เนื่องจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยร่วมกัน ได้แก่ ปริมาณจริงของสารออกฤทธิ์ในระบบทดสอบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจน ชนิดของหมู่ฟังก์ชันทางเคมี และอิทธิพลขององค์ประกอบอื่นภายในสารสกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS เป็นการประเมินความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระแบบโดยตรง ซึ่งมักตอบสนองได้ดีกับสารในกลุ่ม phenolics และ flavonoids ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลหลายตำแหน่ง ขณะที่ piperine และ caryophyllene

แม้จะมีบทบาทด้าน antioxidant ในเชิงชีวภาพ แต่กลไกดังกล่าวอาจเกี่ยวข้องกับ การลด oxidative stress ทางอ้อม^{10,18,21} การปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการควบคุมเส้นทาง redox-related signaling มากกว่าการแสดงฤทธิ์ radical scavenging อย่างแรงในระบบเคมีอย่าง DPPH หรือ ABTS โดยตรง

นอกจากนี้ ตำรับยาไทยสาละเป็น polyherbal formulation ที่ประกอบด้วยสารพฤกษเคมีหลายกลุ่ม ซึ่งอาจเกิดได้ทั้ง ผลเสริมฤทธิ์ (synergistic effects) และ ผลลดทอนฤทธิ์ (antagonistic or matrix effects) ต่อกัน²⁵ ดังนั้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจวัดได้จึงสะท้อน ผลรวมขององค์ประกอบทั้งหมดในสารสกัด มากกว่าผลของสารเดี่ยวเพียงไม่กี่ชนิด ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิดสำคัญของการแพทย์แผนไทยและการใช้สมุนไพรในรูปแบบตำรับ^{23,26} อีกทั้ง การสกัดด้วย เอทานอล 95% มีแนวโน้มดึงสารกึ่งมีขั้วถึงไม่มีขั้ว เช่น alkaloids, terpenoids, lipid-like compounds และ sesquiterpenes ได้ดี ขณะที่สารในกลุ่ม polar phenolic antioxidants ซึ่งมักให้ค่าการกำจัดอนุมูลอิสระสูง อาจถูกสกัดออกมาในระดับที่ไม่เด่นมากนัก จึงอาจเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้สารสกัดนี้แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพียงระดับต่ำถึงปานกลาง

โดยสรุป แม้ว่าสารสกัดตำรับยาไทยสาละจะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับไม่สูงเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน แต่การพบสารออกฤทธิ์หลายกลุ่มทางเคมีสนับสนุนศักยภาพของตำรับสมุนไพรนี้ ในฐานะแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และอาจมีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์สุขภาพ ในอนาคต อย่างไร



ก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ การแยกสารออกฤทธิ์สำคัญ การทำ fractionation การศึกษา กลไกการออกฤทธิ์ และการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพ ในระดับ in vitro และ in vivo รวมถึงการใช้เทคนิควิเคราะห์ที่มีความละเอียดสูง เช่น HPLC หรือ LC-MS/MS เพื่อยืนยันองค์ประกอบทางเคมีและทำความเข้าใจศักยภาพเชิงเภสัชวิทยาของตำรับยาอโณสาลีได้อย่างครบถ้วนยิ่งขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ แนวทางการศึกษาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและตำรับสมุนไพรในงานวิจัยสมัยใหม่²⁷⁻²⁹

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาค้างต่อไปควรมุ่งเน้นการแยกส่วนสารสกัด (fractionation) และระบุสารออกฤทธิ์สำคัญที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอโณสาลีอย่างชัดเจน เนื่องจากฤทธิ์ของสารสกัดหายาอาจได้รับอิทธิพลจากองค์ประกอบหลายชนิดในตำรับ ทั้งในลักษณะของผลเสริมฤทธิ์และผลลดทอนฤทธิ์ระหว่างสารพฤกษเคมีต่าง ๆ นอกจากนี้ ควรใช้เทคนิควิเคราะห์ที่มีความละเอียดและความจำเพาะสูงขึ้น เช่น HPLC หรือ LC-MS/MS เพื่อยืนยันและขยายผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจาก GC-MS โดยเฉพาะสารในกลุ่มที่ไม่สามารถตรวจวัดได้ชัดเจนด้วยวิธีเดิม รวมถึงควรมีการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มเติมในระดับเซลล์ และสิ่งมีชีวิตทดลอง เพื่อยืนยันกลไกการออกฤทธิ์และศักยภาพเชิงเภสัชวิทยาของตำรับยาอโณสาลีในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. พระยาพิศณุประสาทเวช. เวชศึกษา แพทย์ศาสตร์สังเขป เล่ม 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ไทย สะพานยศเส; ร.ศ. 127.
2. กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. คัมภีร์แพทย์แผนไทย. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงสาธารณสุข; 2558.
3. วิบูลย์ จงวัฒนกิจ. หลักการแพทย์แผนไทย. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยมหิดล; 2556.
4. Jantan I, Ahmad W, Bukhari S. Plant-derived immunomodulators: An insight on their preclinical evaluation and clinical trials. *Front Plant Sci* 2015;6:655.
5. Chanda S, Dave R. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *Afr J Microbiol Res* 2009;3(13):981-996.
6. Miguel MG. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules* 2010;15(12): 9252-9287.
7. Mueller M, Janneon K, Puttipan R, Unger FM, Viernstein H, Okonogi S. Anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant activities of Thai medicinal plants. *Int J Pharm Pharm Sci* 2015; 7(11):123-128.



8. Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine. 5th ed. Oxford: Oxford University Press; 2015.
9. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev* 2000;52(4):673-751.
10. Prior R, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 2005;53(10):4290-4302.
11. Sparkman O, Penton Z, Kitson F. Gas chromatography and mass spectrometry: A practical guide. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 2011.
12. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci Technol*. 1995;28(1):25-30.
13. 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(9-10):1231-1237.
14. Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Carol Stream (IL): Allured Publishing; 2017.
15. National Institute of Standards and Technology. NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library: NIST Standard Reference Database No. 69 (NIST 17). Gaithersburg (MD): National Institute of Standards and Technology; 2017.
16. Chokchaisiri S, Sripan P, Yongram C, Wongsonthom S, Chimpalee P, Thomprasert P, Chaiphongpachara T. Chemical composition and antioxidant activity of the Kae Lom Kae Sen Thai herbal medicinal formula. *Trop J Nat Prod Res* 2025;9(6):2632-2644.
17. Pandey A, Tripathi S. Concept of standardization, extraction and pre-phytochemical screening strategies for herbal drug. *J Pharmacogn Phytochem* 2014;2(5):115-119.
18. Edris A. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother Res* 2007;21(4):308-323.
19. Srinivasan K. Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007;47(8):735-748.
20. Gertsch J, Leonti M, Raduner S, Racz I, Chen J, Xie X, et al. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(26):9099-9104.



21. Siddique HR, Saleem M. Beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies. *Life Sci* 2011;88(7-8): 285-293.
22. Aizpurua-Olaizola O, Soydaner U, Ozturk E, Schibano D, Simsir Y, Navarro P, et al. Evolution of the cannabinoid and terpene content during the growth of *Cannabis sativa* plants from different chemotypes. *J Nat Prod* 2016;79(2):324-331.
23. Williamson E. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine* 2001; 8(5):401-409.
24. Zhang Q, Lin L, Ye W. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med* 2018;13(1):20.
25. Nwozo O, Effiong E, Aja P, Awuchi C. Antioxidant, phytochemical, and therapeutic properties of medicinal plants: a review. *Int J Food Prop* 2023;26(1):359-388.
26. Atanasov A, Zotchev S, Dirsch V, Supuran C. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2021;20(3):200-216.
27. Dias D, Urban S, Roessner U. A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites* 2012;2(2):303-336.
28. Kaushik B, Sharma J, Kumar P, Shourie A. Phytochemical properties and pharmacological role of plants: secondary metabolites. *Biosci Biotechnol Res Asia* 2021;18(1):23-35.
29. Usman M, Nakagawa M, Cheng S. Emerging trends in green extraction techniques for bioactive natural products. *Processes* 2023;11(12):3444.
30. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects-A review. *J Funct Foods* 2015;18:820-897.
31. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compos Anal* 2006;19(6-7):669-675.
32. Azmir J, Zaidul I, Rahman M, Sharif K, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *J Food Eng* 2013;117(4):426-436.