

องค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
ของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาอำมฤควาที

Phytochemistry and Antioxidant activity of Herb Extract from Amrukwathee Recipes

กฤษมาศ ต้นไชย (Gusumad Tunchai)^{1*} E-mail : gusumad.tu@bsru.ac.th

ปฐมาภรณ์ ราชวัฒน์ (Patamaporn Rachawat)² E-mail : patamaporn_r@rmutt.ac.th

¹ภาควิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
(Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchopraya Rajabhat University)

² คณะการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
(Faculty of Integrative Medicine, Rajamangala University of Technology Thanyaburi)

*Corresponding Author. E-mail : gusumad.tu@bsru.ac.th

(Received: February 12, 2024; Revised: May 13, 2024; Accepted: May 14, 2024)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมี และเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาทีด้วยวิธี DPPH assay โดยนำสมุนไพรในตำรับทั้ง 6 ชนิดได้แก่ รากชะเอมเทศ โกฐฟงปลา เนื้อมะขามป้อม เทียนขาว ลูกผักชีลา และเนื้อมะขามป้อมมาทำการสกัดด้วยวิธี Maceration โดยใช้ตัวทำละลาย 95% Ethanol ในภาชนะปิดเป็นระยะเวลา 7 วัน เพื่อทำการตรวจสอบสารพฤกษเคมีและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวทั้ง 6 ชนิดในตำรับ พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ และสารกลุ่มแทนนินจำนวน 5 ชนิด พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ จำนวน 1 ชนิด แต่ไม่พบสารกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ และสารกลุ่มสเตียรอยด์ จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทุกชนิดด้วยวิธี DPPH assay โดยใช้ Ascorbic acid ที่ความเข้มข้น 80 ppm เป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดเนื้อมะขามป้อม (*Phyllanthus embica* Linn.) และสารสกัดเนื้อมะขามป้อม (*Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb.) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เมื่อใช้ความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยหากเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ผลการศึกษาที่ได้ชี้ให้เห็นว่าสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในตำรับยาอำมฤควาทีนั้น อาจมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีศักยภาพและส่งเสริมให้ตำรับยาอำมฤควาทีถูกนำไปใช้ในการรักษาโรคมามากยิ่งขึ้นในอนาคต

คำสำคัญ : องค์ประกอบทางพฤกษเคมี ; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ; ตำรับยาอำมฤควาที

Abstract

The objective were experimental designs this research were to study the phytochemistry and antioxidant activity by DPPH assay of herbal extracts in the Amrukwathee recipes, sample were 6 species of herbs. Including *Glycyrrhiza glabra* Linn., *Terminalia chebula* Retz., *Phyllanthus embica* Linn., *Cuminum cyminum* Linn., *Coriandrum sativum* Linn. and *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb., all samples were extracted by maceration method using 95% ethanol solvent for a duration of 7 days to investigate the phytochemicals and antioxidant activity.

The research found that the herbs extracts of 6 samples in the recipes, were found 5 samples of alkaloids compounds and tannins compounds. While flavonoid compounds were found 1 sample, but not found anthraquinone glycosides and steroid. In addition antioxidant activity using the DPPH assay with Ascorbic acid at 80 ppm as the standard. The results showed that extracts *Phyllanthus emblica* Linn. And *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. has the highest antioxidant activity. The findings suggested that herbal extracts in the Amrukwathee recipes might have potential chemical constituents that could be promote as therapeutic and used in the future.

Keywords : Phytochemical Screening ; Antioxidant activity ; Amrukwathee recipe

บทนำ

ปัจจุบันปัญหามลพิษทางอากาศเป็นปัญหาสุขภาพที่พบได้โดยทั่วไปโดยเฉพาะในเมืองใหญ่ๆ ทั่วโลก ลักษณะและความรุนแรงของผลเสียที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารมลพิษทางอากาศแต่ละชนิด ผลเสียที่มีต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์เป็นผลเสียที่มีความสำคัญมากที่สุด เนื่องจากเกี่ยวข้องกับชีวิตและความแข็งแรงสมบูรณ์ของมนุษย์ (ภักพงษ์ พจนารถ, 2559) เนื่องจากฝุ่นละอองที่มีขนาดเล็กสามารถเข้าสู่ทางเดินหายใจได้ง่ายและรวดเร็ว จนทำให้เกิดอาการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจ เช่น ระคายเคืองคอ ไอแห้ง ไอมีเสมหะ หรือไอเรื้อรัง จนนำไปสู่โรคแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นเมื่อร่างกายอ่อนแอลงจากการได้รับหรือสัมผัสมลพิษทางอากาศ

อาการไอเป็นกลไกการตอบสนองของร่างกายต่อสิ่งผิดปกติในระบบทางเดินหายใจ และเป็นกลไกที่สำคัญของร่างกายในการกำจัดเชื้อโรค เสมหะ หรือสิ่งแปลกปลอมในระบบทางเดินหายใจ ซึ่งเริ่มจากมีสิ่งกระตุ้นตัวรับสัญญาณการไอ หรือมีสารระคายเคืองบริเวณทางเดินหายใจ โดยจะรับการกระตุ้นผ่านทางเส้นประสาทสมองคู่ที่ 10 ไปยังศูนย์ควบคุมการไอในสมองบริเวณเมดัลลา ซึ่งจะมีการควบคุมลงมายังกล้ามเนื้อและอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ เช่น กล้ามเนื้อกระบังลม กล้ามเนื้อซี่โครง กล้ามเนื้อท้อง กล่องเสียง และส่งผลให้หลอดลมตีบแคบลง (ปารยะ อาศนะเสน, 2553) อาการไอ ระคายเคืองคอ ไอมีเสมหะ หรือไอเรื้อรัง เกิดจากการเสียสมดุลของสารอนุมูลอิสระในร่างกายส่งผลต่อการทำงานของเซลล์ กระตุ้นให้หลังสารที่ทำให้เกิดการอักเสบและอนุมูลอิสระมาก กระตุ้นกลไกการอักเสบ หากในร่างกายมีสารอนุมูลอิสระต่ำจะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรค หลอดลมอักเสบ คออักเสบ คอแห้ง เสียงแหบ แสบร้อนในลำคอ หรือภูมิแพ้ได้ง่ายขึ้น ด้วยเหตุนี้การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านการอักเสบจึงเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีในการศึกษาประสิทธิภาพของตำรับยาที่ใช้ในการรักษา กลุ่มอาการของระบบทางเดินหายใจ เช่น ตำรับยาอำมฤควาที ที่มีสรรพคุณบรรเทาอาการไอ ขับเสมหะ

จากการศึกษาข้อมูลการใช้ยาสมุนไพรในสถานพยาบาล และสถานบริการทางการแพทย์แผนไทยมีแนวโน้มลดลง ด้วยปัจจัยหลายประการ เช่น ขาดการศึกษาวิจัยทางคลินิก ขาดข้อมูลความปลอดภัย (รัชณี จันทร์เกษ, มนนิภา สังข์ศักดิ์ดา, ปรียา มิตรานนท์, 2559) เช่นเดียวกับตำรับยาอำมฤควาที ซึ่งได้ถูกประกาศกำหนดเป็นยารักษา กลุ่มอาการของระบบทางเดินหายใจ สรรพคุณบรรเทาอาการไอ ขับเสมหะ ที่บัญญัติอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ โดยในสูตรตำรับประกอบด้วยรากชะเอมเทศ หนัก 35 กรัม โกงสุปงปลา เนื้อลูกมะขามป้อม เทียนขาว ลูกผักชีลา และเนื้อลูกสมอพิเภก หนักสิ่งละ 7 กรัม ผู้ใหญ่รับประทานครั้งละ 1 กรัม เมื่อมีอาการ เด็กอายุ 6 - 12 ปี รับประทานครั้งละ 500 มิลลิกรัม เมื่อมีอาการ (กองผลิตภัณฑ์สมุนไพร สำนักคณะกรรมการอาหารและยา, 2566) ทั้งนี้สมุนไพรทั้ง 6 ชนิด

มีรายงานการศึกษาถึงองค์ประกอบทางพฤกษเคมี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที่ค่อนข้างน้อย จากข้อมูลข้างต้นผู้วิจัยจึงได้สนใจศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางเภสัชวิทยา เพื่อส่งเสริมให้เกิดการสนับสนุนการใช้ยาอำมฤควาที่ให้แพร่หลายในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจ อีกทั้งยังเป็นข้อมูลพื้นฐานในการต่อยอดและเป็นแนวทางการวิจัยและการพัฒนาตำรับยานี้ในรูปแบบของยาน้ำ ยาเม็ด และในรูปแบบยารับประทานอื่นๆ ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาและทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที่
2. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที่โดย

วิธี DPPH assay

สมมติฐานในการวิจัย

สารสกัดสมุนไพรเดี่ยว ในตำรับยาอำมฤควาที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และเป็นแหล่งพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ที่สำคัญในการต้านการอักเสบ และเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย

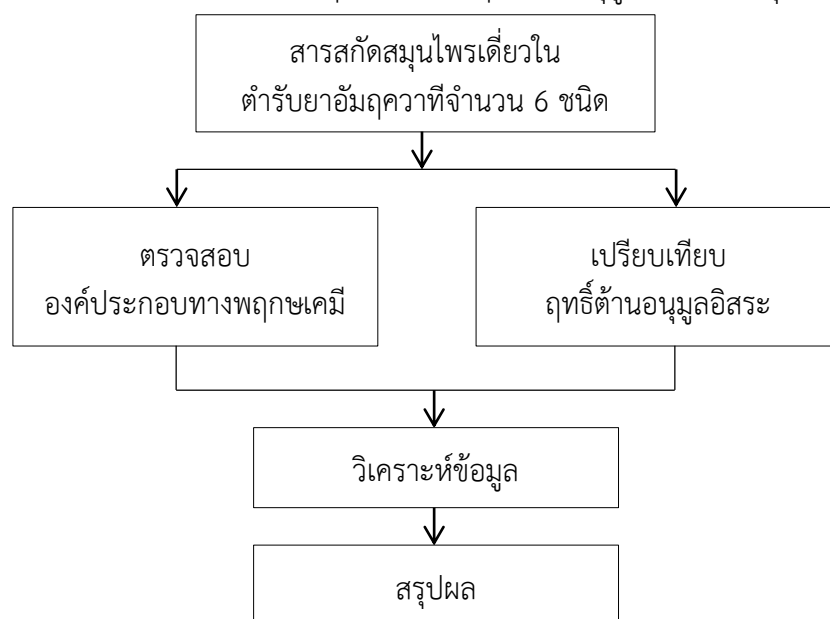
กรอบแนวคิดในการวิจัย

1. สกัดสารสำคัญจากสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ รากชะเอมเทศ โกงฐพุงปลา เนื้อลูกมะขามป้อม เทียนขาว ลูกผักชีลา และเนื้อลูกสมอพิเภก โดยวิธีแช่หมักสมุนไพร (Maceration) โดยใช้ตัวทำละลาย 95%Ethanol ในภาชนะปิดเป็นระยะเวลา 7 วัน

2. ตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที่ ด้วยวิธี DPPH assay

ตัวแปรต้น: สารสกัดสมุนไพรเดี่ยวได้แก่ รากชะเอมเทศ โกงฐพุงปลา เนื้อลูกมะขามป้อม เทียนขาว ลูกผักชีลา และเนื้อลูกสมอพิเภก

ตัวแปรตาม: องค์ประกอบทางพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรแต่ละชนิด

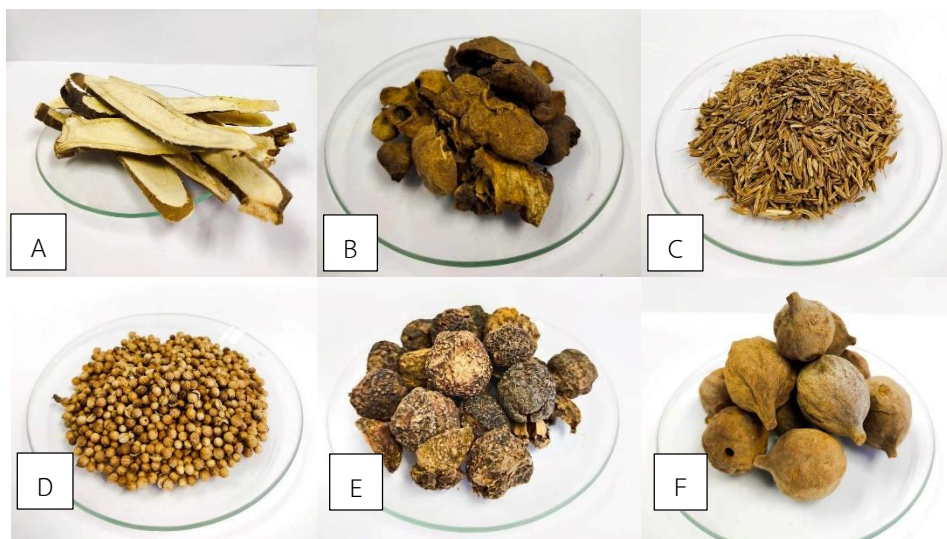


ระเบียบวิธีการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง เพื่อตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีและ เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที ได้แก่ รากชะเอมเทศ โกฐพุงปลา เนื้อลูกมะขามป้อม เทียนขาว ลูกผักชีลา และเนื้อลูกสมอพิเภก โดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลสกัดด้วยวิธี Maceration ตามวิธีของ จตุพร ประทุมเทศ และคณะ, 2564 และ Jaengklang, C at.al, 2022 จากนั้นนำมาตรวจสอบหาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นจำนวน 5 กลุ่มได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ สารกลุ่มแทนนิน สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ และสารกลุ่มสเตียรอยด์ ตามวิธีของ นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และคณะ, 2551 และนำมาตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวอำมฤควาที ตามวิธีของ ปิยวรรณ อยู่ดี, 2562 ดังนี้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่สำคัญในการศึกษา เช่น เครื่องบดสมุนไพร ขนาด 1,000 กรัม, Water bath, Hot air oven, Rotary evaporator, Precision Balance 3 digits, Analog Steel Coated Fume Hood, Microplate Reader 96-well plate เป็นต้น



รูปภาพที่ 1 แสดงสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที ได้แก่ A คือรากชะเอมเทศ B คือโกฐพุงปลา Cคือเทียนขาว D คือลูกผักชีลา E คือเนื้อลูกมะขามป้อม และ F คือเนื้อลูกสมอพิเภก
ที่มา: กุสุมาศ ต้นไชย และคณะ, 2566

2. การเตรียมตัวอย่างสารสกัด นำส่วนของรากชะเอมเทศ โกฐพุงปลา เนื้อลูกมะขามป้อม เทียนขาว ลูกผักชีลา และเนื้อลูกสมอพิเภก ล้างทำความสะอาดนำไปอบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อสมุนไพรแห้งดีแล้วให้นำมาลดขนาดด้วยเครื่องบดสมุนไพร และนำไปผ่านร่อนเบอร์ 60 จากนั้นนำสมุนไพรแต่ละชนิดไปสกัดแยกด้วยวิธีแช่หมักสมุนไพร (Maceration) ใช้ตัวทำละลาย 95% Ethanol ในภาชนะปิดเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการคนสารแช่หมักทุกวันในช่วงเวลาเดียวกัน จากนั้นนำมากรองแยกสารสกัด และกากออกจากกันส่วนที่เป็นสารสกัดนั้นนำไประเหยแยกตัวทำละลายออกด้วยเครื่องสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจะได้สารสกัดหยาบและนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาร้อยละของผลผลิต (%Yield) ของสารสกัดสมุนไพรที่ได้ (จตุพร ประทุมเทศ และคณะ, 2564) (Jaengklang, C at.al, 2022)

3. การตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญทางพฤกษเคมี จำนวน 5 กลุ่ม ได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ สารกลุ่มแทนนิน สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ และสารกลุ่มสเตียรอยด์ ตามวิธีของนพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และคณะ, 2551 ดังนี้

การตรวจสอบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ โดยการนำสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมา 0.1 กรัม เติมน้ำละลาย 5%HCL จำนวน 13.5 มิลลิลิตร ในกรณีที่สารสกัดไม่ละลายให้ละลายเอทานอล 2 มิลลิลิตร ก่อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมากรองและทิ้งไว้ให้เย็น นำส่วนที่กรองแล้วมาแบ่งใส่หลอดทดลอง โดยแบ่งสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดอย่างละ 8 หลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร และหยดสารทดสอบดังนี้

หลอดที่ 1 หลอดควบคุม

หลอดที่ 2 หยด Dragendorff's reagent จะปรากฏตะกอนสีส้ม

หลอดที่ 3 หยด Hager's reagent จะปรากฏตะกอนสีเหลือง

หลอดที่ 4 หยด Marme's reagent จะปรากฏตะกอนสีขาวขุ่น

หลอดที่ 5 หยด Mayer's reagent จะปรากฏตะกอนสีขาวขุ่น

หลอดที่ 6 หยด Tannic acid reagent จะปรากฏตะกอนสีขาวขุ่น

หลอดที่ 7 หยด Valser's จะปรากฏตะกอนสีขาวขุ่น

หลอดที่ 8 หยด Wagner's reagent จะปรากฏตะกอนสีน้ำตาล

การตรวจสอบสารกลุ่มแทนนิน โดยการนำสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมา 100 มิลลิกรัม ละลายในน้ำอุ่น 25 มิลลิลิตร และเติมน้ำละลาย 10%NaOH จำนวน 1 มิลลิลิตร เพื่อตกตะกอนสารอื่นๆ ที่ไม่ใช่แทนนิน จากนั้นทำการกรอง นำส่วนที่กรองแล้วมาแบ่งใส่หลอดทดลอง โดยแบ่งสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดลงในหลอดทดลอง จำนวน 6 หลอด หลอดละ 2 มิลลิลิตร

หลอดที่ 1 หลอดควบคุม

หลอดที่ 2 ทดสอบโดยเติม 1%Gelatin จำนวน 2-3 หยด สารจะละลายจะเกิดตะกอนขุ่นขาว

หลอดที่ 3 ทดสอบโดยเติม Gelatin salt solution จำนวน 2-3 หยด สารจะละลายจะเกิดตะกอนขุ่นขาว

หลอดที่ 4 ทดสอบ Condense tannins โดยเติม Bromine water จำนวน 5-6 หยด สารจะละลายจะเกิดตะกอนสีเหลือง

หลอดที่ 5 ทดสอบ Hydrolysable tannin โดยเติม Lime water 5 มิลลิลิตร สารจะละลายจะเกิดตะกอนสีน้ำเงินเทา

หลอดที่ 6 การทดสอบด้วย 1%FeCl₃ จำนวน 2-3 หยด สารจะละลายจะเกิดตะกอนสีเขียว หรือสีน้ำเงิน

การตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ วิธี Shinoda's โดยการนำสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมาใส่ในหลอดทดลอง 3 มิลลิลิตร นำไปต้มแล้วใส่ Magnesium ribbon ลงไป 2-3 ชิ้น และหยด HCL ลงไปจะพบฟองแก๊สหากมีสารฟลาโวนอยด์เมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดลงจะเกิดสีเหลือง ส้ม หรือแดง

การตรวจสอบสารกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ โดยการนำสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด 0.5 กรัม เติมน้ำ 0.5%KOH ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ H₂O₂ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปตั้งบนหม้ออังไอน้ำนาน 10 นาที หลังจากนั้นทำการกรองและนำสารที่กรองได้ไปปรับสภาพให้เป็นกรดด้วย Acetic acid สกัดแยกด้วยตัวทำละลาย CH₂Cl₂ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยใช้กรวยกรองแยกและนำสารสกัด CH₂Cl₂ ที่ได้เติม NH₃ ปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร เมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดลงจะเกิดสีแดงหรือสีชมพูในชั้นของ NH₃

การตรวจสอบสารกลุ่มสเตียรอยด์ โดยนำสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมา 0.02 กรัม จากนั้นทำการเติม Chloroform 0.5 มิลลิลิตร และเติม Acetic acid 0.5 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้สารเข้ากัน จากนั้นทำการเติม H₂SO₄ จำนวน 5 หยด เมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดลงจะเกิดสีน้ำเงินหรือเขียว

4. การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที่ด้วยวิธี DPPH assay เตรียมสารละลายของสารสกัดรากชะเอมเทศ โกงฐพุงปลา เนื้อลูกมะขามป้อม เทียนขาว ลูกผักชีลา และเนื้อลูกสมอพิเภก ที่ความเข้มข้น 50,000 $\mu\text{g/ml}$ โดยนำสารสกัดสมุนไพรมา 0.25 กรัม ละลายในเอทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นในช่วง 500-5,000 $\mu\text{g/ml}$ และเติมสารละลาย DPPH ลงไปในสารละลายในแต่ละความเข้มข้นที่ได้เตรียมไว้

ทำการเจือจางสารสกัดลงใน Eppendorf หลอดละ 900 μl จากนั้นเจือจางใส่ Eppendorf ในรูปแบบ 2 fold dilution ทั้งหมด 8 ความเข้มข้น โดยหยดลงใน 96-well plate เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปวัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic Acid จากนั้นทำการคำนวณ %Radicle scavenging และคำนวณหา IC_{50} จากผลการทดลองที่ได้ (Halee, A., and Rattanapun, B., 2017)

ผลการวิจัย

1. จากการศึกษาการตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญทางพฤกษเคมีจำนวน 5 กลุ่มได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ สารกลุ่มแทนนิน สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ และสารกลุ่มสเตียรอยด์ ในสมุนไพรเดี่ยวของตำรับยาอำมฤควาที่ นำไปสกัดแยกด้วยวิธีแช่หมักสมุนไพร (Maceration) โดยใช้ตัวทำละลาย 95% Ethanol ในภาชนะปิด เมื่อครบกำหนดนำมาระเหยแยกตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบและนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาร้อยละของผลผลิตของสารสกัดสมุนไพรที่ได้ (%Yield) พบว่าสารสกัดโกงฐพุงปลา มีปริมาณของสารที่สกัดแยกออกมาได้มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 23.95 รองลงมาคือสารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม สารสกัดเทียนขาว สารสกัดรากชะเอมเทศ สารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก คิดเป็นร้อยละ 12.26, 6.72, 5.52, 3.54 ตามลำดับ และสารสกัดลูกผักชีลา มีปริมาณของสารที่สกัดแยกออกมาได้น้อยที่สุดคิดเป็นร้อยละ 2.85 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลของสารสกัดหยาบสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที่

Sample	น้ำหนักก่อนการสกัด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	%Yield
รากชะเอมเทศ	300	16.58	5.52
โกงฐพุงปลา	300	71.86	23.95
เนื้อลูกมะขามป้อม	300	36.78	12.26
เทียนขาว	300	20.16	6.72
ลูกผักชีลา	300	8.56	2.85
เนื้อลูกสมอพิเภก	300	10.63	3.54

2. จากการศึกษาการตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญทางพฤกษเคมี จำนวน 5 กลุ่มได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ สารกลุ่มแทนนิน สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ และสารกลุ่มสเตียรอยด์ ของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาที่ จากผลการทดสอบสารพฤกษเคมีในกลุ่มอัลคาลอยด์ โดยสารที่ใช้ในการทดสอบคือ Dragendoff's reagent, Hager's reagent, Marme's reagent, Mayer's reagent, Tannic acid reagent, Valser's และ Wagner's reagent พบว่า สารสกัดรากชะเอมเทศ โกงฐพุงปลา และเทียนขาว เกิดปฏิกิริยาในสารทดสอบ Dragendoff's reagent และ Tannic acid reagent โดยให้ผลเป็นบวก แต่สารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม สารสกัดลูกผักชีลา และสารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก เกิดปฏิกิริยาในสารทดสอบใดเลยจึงให้ผลเป็นลบ

ดังนั้นสารสกัดของรากชะเอมเทศ โกงฐพุงปลา และเทียนขาว มีสารฟลักซ์เคมีในกลุ่มอัลคาลอยด์จากการตรวจสอบโดยการเติมสารละลาย Dragendoff's reagent และ Tannic acid reagent ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบกลุ่มสารอัลคาลอยด์ในตำรับยาอำมฤควาที

Phytochemical	Sample						
	Control	A	B	C	D	E	F
Dragendoff's reagent	ตะกอนสีส้ม	+	+	-	+	-	-
Hager's reagent	ตะกอนสีเหลือง	-	-	-	-	-	-
Marme's reagent	ตะกอนสีขาวขุ่น	-	-	-	-	-	-
Mayer's reagent	ตะกอนสีขาวขุ่น	-	-	-	-	-	-
Tannic acid reagent	ตะกอนสีขาวขุ่น	+	+	-	+	-	-
Valser's	ตะกอนสีขาวขุ่น	-	-	-	-	-	-
Wagner's reagent	ตะกอนสีน้ำตาล	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: A คือสารสกัดรากชะเอมเทศ B คือสารสกัดโกงฐพุงปลา C คือสารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม D คือสารสกัดเทียนขาว E คือสารสกัดลูกผักชีลา และ F คือสารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก และ + (ผลบวก) คือเกิดปฏิกิริยา - (ผลลบ) คือไม่เกิดปฏิกิริยา

3. จากผลการทดสอบสารฟลักซ์เคมีในกลุ่มแทนนิน พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศ สารสกัดโกงฐพุงปลา สารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม สารสกัดลูกผักชีลา และสารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก เกิดปฏิกิริยาจากการทดสอบโดยการเติมสารละลาย 1%Gelatin และ Gelatin salt solution สำหรับการทดสอบโดยการเติมสารละลาย Bromine water นั้นพบว่าไม่มีเพียงสารสกัดรากชะเอมเทศ สารสกัดโกงฐพุงปลา สารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม และ สารสกัดลูกผักชีลา ที่เกิดปฏิกิริยา ในขณะที่ทำการทดสอบโดยการเติมสารละลาย Lime water และ 1%FeCl₃ ในสารสกัดทุกตัวไม่เกิดปฏิกิริยาใดๆ ดังนั้นสารสกัดรากชะเอมเทศ สารสกัดโกงฐพุงปลา สารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม สารสกัดลูกผักชีลา และสารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก มีสารฟลักซ์เคมีในกลุ่มแทนนินจากการตรวจสอบโดยการเติมสารละลาย 1%Gelatin, Gelatin salt solution และ Bromine water ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการตรวจสอบสารกลุ่มแทนนินในตำรับอำมฤควาที

Phytochemical	Sample						
	Control	A	B	C	D	E	F
1%Gelatin	ตะกอนขุ่นขาว	+	+	+	-	+	+
Gelatin salt solution	ตะกอนขุ่นขาว	+	+	+	-	+	+
Bromine water	ตะกอนสีเหลือง	+	+	+	-	+	-
Lime water	ตะกอนสีน้ำเงินเทา	-	-	-	-	-	-
1%FeCl ₃	ตะกอนสีเขียว หรือสีน้ำเงิน	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: A คือสารสกัดรากชะเอมเทศ B คือสารสกัดโกงฐพุงปลา C คือสารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม D คือสารสกัดเทียนขาว E คือสารสกัดลูกผักชีลา และ F คือสารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก และ + (ผลบวก) คือเกิดปฏิกิริยา - (ผลลบ) คือไม่เกิดปฏิกิริยา

4. จากผลการทดสอบสารฟลักซ์เคมีในกลุ่มฟลาโวนอยด์ พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศ เกิดปฏิกิริยาจากการทดสอบโดยการนำสารสกัดไปต้มและใส่ Magnesium ribbon ลงไปจำนวน 2 ชิ้น จากนั้นทำการเติมสารละลาย HCL ลงไปเกิดฟองแก๊สเมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดลงเกิดสีเหลือง-ส้ม ส่วนสารสกัดสมุนไพรรชนิดอื่นไม่เกิดปฏิกิริยาใดๆ หลังจากทำการทดสอบเสร็จสิ้น และจากผลการทดสอบสารฟลักซ์เคมีในกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ และสารกลุ่มสเตียรอยด์ พบว่าไม่มีสารสกัดสมุนไพรรใดเกิดปฏิกิริยาเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานที่ทำการทดสอบ ดังนั้นสารสกัดรากชะเอมเทศมีสารฟลักซ์เคมีในกลุ่มฟลาโวนอยด์ และสมุนไพรรในตำรับยาอำมฤควาที่ไม่พบสารฟลักซ์เคมีในกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ และสารกลุ่มสเตียรอยด์ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการตรวจสอบสารกลุ่มแทนนินในตำรับยาอำมฤควาที่

Phytochemical	Sample						
	Control	A	B	C	D	E	F
Flavonoids	พบฟองแก๊สเมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดลงเกิดสีเหลือง	+	-	-	-	-	-
Antraquinones glycoside	ชั้นของ NH ₃ เกิดสีชมพู	-	-	-	-	-	-
Steriod	สีน้ำเงินเขียว	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: A คือสารสกัดรากชะเอมเทศ B คือสารสกัดโกฐพุงปลา C คือสารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม D คือสารสกัดเทียนขาว E คือสารสกัดลูกผักชีลา และ F คือสารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก และ + (ผลบวก) คือเกิดปฏิกิริยา - (ผลลบ) คือไม่เกิดปฏิกิริยา

5. จากการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรรเดียวในตำรับยาอำมฤควาที่โดยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดของสมุนไพรรที่อยู่ในตำรับยาอำมฤควาที่ โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.55±0.03 µg/ml รองลงมาเป็นสารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.77±0.07 µg/ml ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 5 ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรรเดียวในตำรับยาอำมฤควาที่โดยวิธี DPPH assay

Sample	IC ₅₀ of DPPH (µg/ml) ±SD
Control (Ascorbic Acid)	5.60±0.37
สารสกัดรากชะเอมเทศ	61.26±3.46
สารสกัดโกฐพุงปลา	17.50±3.23
สารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อม	1.55±0.03
สารสกัดเทียนขาว	23.46±1.70
สารสกัดลูกผักชีลา	67.39±7.32
สารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภก	1.77±0.07

อภิปรายผล

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดสมุนไพร 6 ชนิดในตำรับยาอำมฤควาที ได้แก่ รากชะเอมเทศ โกงฐพุงปลา เนื้อลูกมะขามป้อม เทียนขาว ลูกผักชีลา และเนื้อลูกสมอพิเภก พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ และสารกลุ่มแทนนิน จำนวน 5 ชนิด พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ จำนวน 1 ชนิด (ตารางที่ 2-4) การตรวจสอบสารพฤกษเคมีดังกล่าวสามารถยืนยันได้ว่าสมุนไพรในตำรับยาอำมฤควาทีนั้นมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ เนื่องจากการตรวจสอบสารพฤกษเคมีในกลุ่มสาร Alkaloid ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาทางการแพทย์ เช่น ยาในกลุ่มระงับอาการปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษากลุ่มโรคทางเดินอาหาร ยาควบคุม การเต้นของหัวใจ และยาในกลุ่มการรักษาเพื่อต้านมะเร็ง ซึ่งจากการทดลองนี้กลุ่มสาร Alkaloid พบมากใน สารสกัดรากชะเอมเทศ โกงฐพุงปลา และเทียนขาว ในส่วนของสารกลุ่ม Flavonoids พบในสารสกัดรากชะเอมเทศ โดยสารกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะพบในพืชผักที่มีสีส้ม โดยจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบซึ่งสอดคล้องกับ งานวิจัยของ Jaengklang, C at.al, 2022 สารกลุ่ม Tannins ซึ่งมีฤทธิ์สมานแผลและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบใน สารสกัดโกงฐพุงปลาและเนื้อลูกสมอพิเภก และจากการทดลองสมุนไพรในตำรับยาอำมฤควาทีไม่พบสารที่มีฤทธิ์ ช่วยระบายและฤทธิ์ต้านการอักเสบกลุ่ม Anthraquinones glycoside ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จตุพร ประทุมเทศ และคณะ, 2564

จากการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวโดยวิธี DPPH assay ยืนยัน ให้เห็นว่าสารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยวในตำรับยาอำมฤควาทีแต่ละชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเนื้อลูกมะขามป้อมและสารสกัดเนื้อลูกสมอพิเภกมีฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในตำรับยาอำมฤควาที โดยผลที่ได้ไม่แตกต่างกันกับสารละลายมาตรฐาน Ascorbic Acid ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วาสนา เนียมแสวง, 2561 และ จตุพร ประทุมเทศ และคณะ, 2564 ในการวิเคราะห์ สารพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอำมฤควาที ทำให้ทราบถึงข้อมูลที่เป็นประโยชน์ที่สามารถ นำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ เนื่องจากตำรับยามีสารสำคัญในออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและ ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค โดยอาจพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ผลิตภัณฑ์เวชสำอาง หรือเป็น แนวทางในการศึกษาต่อไปถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดในตำรับยาอำมฤควาที

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

ควรใช้เทคนิคที่มีความเฉพาะร่วมด้วย เช่น เทคนิคโครมาโทกราฟีเพื่อแยกชนิดและหาปริมาณสารเคมี องค์ประกอบในสารสกัด

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

ควรศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย และการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแบคทีเรียที่ทดสอบได้

เอกสารอ้างอิง

- กองผลิตภัณฑ์สมุนไพร สำนักคณะกรรมการอาหารและยา. (2566). *บัญชียาหลักแห่งชาติด้านสมุนไพร พ.ศ. 2566*. บริษัทมินนี่กรุ๊ป.
- จตุพร ประทุมเทศและคณะ. (2564). การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (P.acnes) ของสารสกัดเมทานอลจากสมุนไพรในพิกัดตรีผลา. *วารสารหมอไทยวิจัย*, 7(1), 1-14.

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และคณะ. (2551). *TLC วิธีอย่างง่ายในการวิเคราะห์เครื่องยา*.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปารยะ อาศนะเสน. (2553, พฤศจิกายน 24). *อาการไอ (Cough) ตอนที่ 1* [Article files]. Sirirajonline.
<https://link.bsru.ac.th/10ds>

ปิยวรรณ อยู่ดี. (2562). *การศึกษาอายุการเก็บในสภาวะเร่งของ whitening cream ที่มีส่วนผสมของสารสกัด
มะหาดและชะเอมเทศ*. [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ไม่ได้ตีพิมพ์]. มหาวิทยาลัยสวนดุสิต.

ภัคพงษ์ พจนารถ. (2559). สถานการณ์ของปัญหามลพิษทางอากาศที่เกิดในเมืองใหญ่ของประเทศไทย:
กรณีศึกษากรุงเทพมหานคร เชียงใหม่ และระยอง. *วารสารการจัดการสิ่งแวดล้อม*, 12(1), 118-133.

รัชณี จันทร์เกษ, มนนิภา สังข์ศักดิ์ดา, ปรียา มิตรานนท์. (2559). สถานการณ์การใช้บริการการแพทย์แผนไทย ปี
2552, 2554, 2556. *วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข*, 10(2), 103-116.

วาสนา เนียมแสง. (2561). พฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชที่มีสรรพคุณทางยา. *วารสารวิทยาศาสตร์แห่ง
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี*, 15(2), 51-60.

Halee, A., and Rattanapun, B., 2017., Study of Antioxidant Efficacies of 15 Local Herbs. *KMUTT
Research & Development Journal Research*, 40(2), 283-293.

Jaengklang, C., Duanyai, S. Somee, W. Thomtakob, S. and Phatsri Saengsai., 2022. Study on
Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content and Free Radical Scavenging Activity in
Herbal Extracts. *Journal of Traditional Thai Medical Research*, 8(1), 93-105.