

การพัฒนาตำรับยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกาย

กรกนก โอภาสตระกูล¹, ชวิกันต์ ทับบุญ¹, พรณวดี อุปนันท์¹, เมธิน ผดุงกิจ¹, พรพรรณ เหล่าวัชรสุวรรณ¹

บทคัดย่อ

การพัฒนาตำรับยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกาย

กรกนก โอภาสตระกูล¹, ชวิกันต์ ทับบุญ¹, พรณวดี อุปนันท์¹, เมธิน ผดุงกิจ¹, พรพรรณ เหล่าวัชรสุวรรณ¹

บทนำ: ปัจจุบันคนส่วนใหญ่หันมาดูแลสุขภาพกันมากขึ้น และสนใจการใช้สมุนไพรเพื่อบำรุงร่างกาย **วิธีดำเนินงานวิจัย:** เตรียมยาน้ำทั้ง 4 ตำรับ โดยการต้ม คั้นยาสมุนไพรด้านออกซิเจน ด้วยวิธี DPPH และ FRAP รวมทั้งศึกษาคุณสมบัติด้านกายภาพ เคมีของตำรับคือ ลักษณะสี กลิ่น ตะกอน รสชาติ และความเป็นกรดต่าง และด้านจุลชีววิทยา **ผลการศึกษาวิจัย:** ฤทธิ์ด้านออกซิเดชันในการทดสอบทั้ง 2 วิธีของตำรับ A ตำรับ B ตำรับ C และตำรับ D ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้ ความคงตัวของด้านกายภาพและเคมี พบว่าตำรับ C มีความเหมาะสมมากที่สุด และการควบคุมคุณภาพทางจุลชีววิทยาพบว่าทุกตำรับผ่านเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์สมุนไพร **สรุปผลการวิจัย:** ยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกายตำรับ C มีความเหมาะสมที่สุดเพื่อพัฒนาตำรับต่อไป

คำสำคัญ: ยาน้ำ บำรุงร่างกาย ด้านออกซิเดชัน

Abstract

Development of Herbal Body Tonic Mixtures

Kornkanok Opastrakool¹, Chavikan tubboon¹, Punnavadee Upanan¹, Methin Phadungkit¹, Pornpun Laovachirasuwan¹

Introduction: Nowadays, people are more attentive to their health. Herbal medicines are getting significant attention in body tonic. **Materials and Method:** The four herbal formulas were prepared by decoction. The antioxidant activity assays were performed using the DPPH and FRAP assay. The physical and chemical stability were tested including color, odor, sedimentation, taste and pH. The microbiological limit test was conducted using the total aerobic bacteria. **Results:** There is no significant difference between the four formulated mixtures in antioxidant assays ($p>0.05$) whereas the formulated mixtures showed significantly higher antioxidant activities when compared to the control formulas ($p<0.05$). Total aerobic bacteria of all formulas were reached the standard criterion. **Conclusion:** The formula C of the herbal mixtures was selected for further investigation as herbal tonic preparation.

Keywords: Mixtures, Body tonic, Antioxidant

¹ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

*Corresponding author: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150. e-mail Chavikan4@hotmail.com

บทนำ

ในปัจจุบันสมุนไพรถือเป็นทรัพยากรทางธรรมชาติที่ถูกนำมาใช้กันแพร่หลาย ทั้งในด้านการบำบัดรักษาโรค การบำรุงร่างกาย เครื่องสำอาง รวมทั้งผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร สมุนไพรมีคุณสมบัติในการบำรุงร่างกายสามารถรักษาสสมดุลของร่างกายโดยการไปเพิ่มการไหลเวียนเลือดในร่างกาย ให้พลังงานแก่ร่างกาย เพิ่มการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ช่วยให้ระบบย่อยอาหารเป็นปกติและนอกจากนี้สมุนไพรยังมีสารต้านออกซิเดชัน โดยจะปกป้องร่างกายจากการทำลายของสารออกซิเดชัน (Mathew and Kuttanu, 1999) สมุนไพรในตำรับที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีทั้งหมด 6 ชนิด ประกอบด้วย ทั้งก่อน (*Albizia procera* (Roxb.) Benth.) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น เบาหวาน โรคหัวใจ และมะเร็ง (Tunsaringkarn, et al., 2012) ตะโกนา (*Diospyros rhodocalyx* Kurz.) มีฤทธิ์ฟีนฟู และบำรุงระบบประสาท (Ingkaninan, et al., 2003) บอระเพ็ด (*Tinospora crispa* (L. Miers ex Hook. f. & Thomson.) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Amom, et al., 2009) แห้วหนู (*Cyperus rotundus* L.) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Jaziri, et al., 2009) ข่อย (*Streblus asper* Lour.) มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง และฤทธิ์ต้านการแพ้ (Rastogi, et al., 2006) พริกไทย (*Piper nigrum* L.) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Pathak and Khandelwal, 2009) จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่า สมุนไพรในสูตรตำรับนั้นมีประโยชน์ต่อร่างกายหลากหลาย ซึ่งเป็นที่น่าสนใจที่จะนำมาพัฒนาต่อยอดเป็นอย่างมาก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและพัฒนาตำรับยาน้ำสมุนไพรที่ประกอบด้วยสมุนไพรที่เป็นตัวหลัก 6 ชนิด และเลือกใช้สมุนไพรที่เป็นตัวยาช่วยแตกต่างกัน 4 ตำรับ

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การทำยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกาย

สูตรตำรับในน้ำ 1,000 มิลลิลิตรดังแสดงในตารางที่ 1

2. วิธีการทำยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกาย

- นำพืชสมุนไพรแห้ง ได้แก่ ทั้งก่อน ตะโกนา บอระเพ็ด แห้วหนู ข่อย พริกไทย ชะเอม มะตูม และใบเตย

ต้มในน้ำเดือด ปริมาณ 1,200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที กรองเอากากออกด้วยผ้าขาวบาง

2. ร้อนอุณหภูมิลดลงเหลือ 50-60 °C แล้วเติมน้ำผึ้ง และสารกันเสียลงตามลำดับ

3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำต้มสุกจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในแต่ละสูตรตำรับ

ส่วนประกอบ	สูตร A (กรัม)	สูตร B (กรัม)	สูตร C (กรัม)	สูตร D (กรัม)
ทั้งก่อน	25	25	25	25
ตะโกนา	25	25	25	25
บอระเพ็ด	6.25	6.25	6.25	6.25
แห้วหนู	25	25	25	25
ข่อย	25	25	25	25
พริกไทย	25	25	25	25
ชะเอม	12.5	12.5	12.5	12.5
ใบเตย	6.25	12.5	-	-
มะตูม	-	-	6.25	12.5
น้ำผึ้ง	50	50	50	50
Methylparaben	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
Propylparaben	0.02%	0.02%	0.02%	0.02%

3. การทำแห้งยาน้ำสมุนไพร โดยวิธี freeze dry

1. นำตำรับยาน้ำสมุนไพรที่เตรียมปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ round button flask ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใส่ยาน้ำสมุนไพร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ในแต่ละ flask

2. นำ round button flask ที่ผ่านการ freeze แล้วมาเข้าเครื่อง freeze dryer ร้อนสารตัวอย่างแห้งดีจึงนำสารตัวอย่างออกจาก freeze dryer

4. การทดสอบความคงตัวทางกายภาพ (Tangsuksant, 2007)

บันทึกค่า sedimentation volume (F) ของตำรับ โดยบรรจุยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกายในกระบอกตวงขนาด 25 มิลลิลิตร โดยให้มีความสูง 10 เซนติเมตร เขย่าให้กระจายตัวแล้วตั้งทิ้งไว้ 2 สัปดาห์ แล้วอ่านปริมาณตะกอนในเวลาที่กำหนด คำนวณหาค่า F ดังสูตร

$$F = \frac{\text{ปริมาตรของตะกอนที่เวลา } t}{\text{ปริมาตรของยาน้ำแขวนตะกอนที่เวลาเริ่มต้น}}$$

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดย DPPH assay (Pakdeechote *et al.*, 2003)

เตรียมสารสกัดสมุนไพร ให้มีความเข้มข้น 1.5-50 กรัม/1,000 มิลลิกรัม โดยละลายผงยาน้ำสมุนไพรที่ผ่านกระบวนการ Lyophilization ด้วย 95% ethanol ใน microplate และเตรียม DPPH ความเข้มข้น 0.015 กรัม/350 มิลลิกรัม ด้วย 95% methanol ที่ความเข้มข้นต่างๆ อย่างละ 100 ไมโครลิตร ที่วัดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร กับเปอร์เซ็นต์ radical scavenging แล้วหาค่า EC_{50} หรือความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำลาย DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดย FRAP assay (Taepongsorath, 2544)

เตรียมสารสกัดสมุนไพร ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิกรัม จำนวน 100 ไมโครลิตร ผสมกับ FRAP reagent โดยมีส่วนประกอบของ acetate buffer: TPTZ (2,4,6-tripyridyl-striazine): $FeCl_3$ (Ferric chloride) ในอัตราส่วน 30:1:1 จำนวน 3,000 ไมโครลิตร ใน microplate หลุมเดียวกันนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ที่เวลา 10 นาที นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของ ascorbic acid รายงานผลเป็นค่าเทียบเท่า ascorbic acid

7. การควบคุมคุณภาพตำรับยาน้ำสมุนไพรหลังตั้งทิ้งไว้ 90 วัน

7.1 คุณสมบัติทางเคมี ความเป็นกรด-ด่าง ของตำรับวัดค่าโดยใช้เครื่อง pH meter

7.2 คุณสมบัติทางกายภาพ สี กลิ่น ตะกอน

7.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลาย soybean casein digest agar (tryptone soya agar) 40 กรัมใน purified water 1,000 มิลลิกรัม นำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที นับจุลินทรีย์ด้วยวิธี pour plate (Maturin and Peeler, 2001) ดูปดน้ำสมุนไพรจากขวดที่เจือจาง $1:10^3$ $1:10^4$ และ $1:10^5$ ใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว จาน

ละ 1 มิลลิกรัม นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้เทลงในจานทุกจาน ปริมาตร 21 มิลลิกรัม หมุนจานไปมาให้ส่วนผสมเข้ากัน ดีกับอาหารนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35-37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ) แล้วจึงนำไปนับจำนวนโคโลนี

7.4 การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผลการศึกษาวิจัย

1. ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันโดย DPPH assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งรายงานเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ascorbic acid มีค่า EC_{50} น้อยที่สุด รองลงมาคือ ตำรับ A ตำรับ B ตำรับ C และตำรับ D โดยมีค่า EC_{50} น้อยกว่าตำรับควบคุม ($p < 0.05$)

2. ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน โดย FRAP assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งรายงานผลการทดลองเป็นค่า FRAP value เทียบเท่ากับ ascorbic acid ดังแสดงในตารางที่ 2 จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ตำรับ A ตำรับ B ตำรับ C และตำรับ D ได้ FRAP value ที่เท่ากัน และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. การควบคุมคุณภาพทางจุลชีววิทยา

จากผลการทดลองพบว่า ตำรับ A ตำรับ B ตำรับ C และตำรับ D มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิด aerobic bacteria ที่ไม่เกิน 5×10^5 CFU/มิลลิกรัม ส่วนในตำรับควบคุมมีค่าเกินเกณฑ์ที่กำหนด

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH assay ได้รายงานผลออกมาเป็นค่า EC_{50} ซึ่งค่าที่น้อยแสดงถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่มาก (Molyneux, 2004) ในการศึกษาได้ใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์โดยวัดได้ 5.34 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร และจากการศึกษาพบว่า ตำรับ A ตำรับ B ตำรับ C และตำรับ D มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีฤทธิ์ที่ดีกว่าสารสกัดตำรับควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยค่าที่ได้เป็นไปในแนวทางเดียวกันกับผลการทดลองศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย FRAP assay โดยรายงานผลออกมาเป็นค่า FRAP value ค่ามากแสดงถึงฤทธิ์

ตารางที่ 2 น้ำหนักของสารสกัด, ค่า 50% effective concentration และค่า FRAP value ในแต่ละตำรับ

สารสกัดตำรับ	น้ำหนัก (กรัม)	EC ₅₀ (กรัม/1,000 มิลลิลิตร)	ascorbic equivalent (มิลลิโมล ascorbic/มิลลิกรัมสารสกัด)
ตำรับ A	58.56	3.68 ± 0.11 ^b	0.9632 ± 0.20451 ^a
ตำรับ B	58.82	3.32 ± 0.13 ^b	0.8071 ± 0.21272 ^{a,b}
ตำรับ C	57.05	3.05 ± 0.17 ^b	1.0678 ± 0.39534 ^a
ตำรับ D	58.47	3.27 ± 0.12 ^b	0.9294 ± 0.5618 ^a
ตำรับควบคุม A*	51.85	31.84 ± 1.52 ^e	0.5930 ± 0.15579 ^b
ตำรับควบคุม B*	56.57	29.24 ± 1.91 ^d	0.1953 ± 0.10022 ^c
ตำรับควบคุม C*	53.39	33.01 ± 0.99 ^e	0.3047 ± 0.07284 ^c
ตำรับควบคุม D*	50.02	18.72 ± 1.24 ^c	0.3055 ± 0.04464 ^c
ascorbic acid	-	0.004 ± 0.000 ^a	-

* ตำรับควบคุม คือตำรับที่มีส่วนประกอบในตำรับเหมือนตำรับทดลองทุกประการ ยกเว้นสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาที่ไม่ได้ใส่ลงในตำรับควบคุม

* ตัวอักษร ^{a b c d e} แสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ต้านออกซิเดชันที่มาก (Watcharakupt, 2006) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดในตำรับ A ตำรับ B ตำรับ C และตำรับ D มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีฤทธิ์ที่ต่ำกว่าสารสกัดตำรับควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แม้ว่าเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ ascorbic acid ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของตำรับน้อยกว่าสารมาตรฐานมาก ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดสมุนไพรที่ละลายในน้ำยาจากการต้มแล้วกรองเอากากออกมีปริมาณที่น้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งที่เติมภายหลัง จึงพบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตำรับซึ่งส่วนใหญ่จะมาจากสมุนไพรจึงมีฤทธิ์น้อยกว่าสารมาตรฐานมาก อย่างไรก็ตามมีรายงานฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบของตำรับในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีฤทธิ์ดี เช่นการศึกษาของ Pongpiriyadacha *et al.* (2009) ซึ่งได้ศึกษาโดย DPPH assay ของสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์จาก ทั้งต้น ตะโกนา หัวหมู และข่อย พบว่าสารสกัดจากเปลือกทั้งต้นมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงที่สุด (EC₅₀=2.9 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนสมุนไพรอื่นๆ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดี ให้ค่า EC₅₀ ระหว่าง 9.7-ชัดเจน ตำรับ C มีรสชาติหอม ไม่หวาน ขมเล็กน้อย มีกลิ่นตัวยาสำคัญเล็กน้อย ตำรับ D มีรสชาติไม่หวาน ขม มีกลิ่นตัวยาสำคัญชัดเจน และจากการศึกษาเปรียบเทียบค่า F ของยารักษาสมุนไพรแต่ละตำรับ พบว่ามีค่าแตกต่างกันไปใน

49.3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยกเว้นเมล็ดข่อย และสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Luanchoy and Tiangkul (2008) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ พบว่าสารสกัดจากเปลือกทั้งต้นมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากที่สุด รองลงมาคือหัวหมู พริกไทย เปลือกตะโกนา บอระเพ็ด เมล็ดข่อย โดยมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 44.34 187.62 235.91 1111.39 1285.09 1324.25 8603.57 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาเหล่านี้สนับสนุนฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของตำรับยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกายได้เป็นอย่างดีจากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพพบว่า ลักษณะของตะกอนมีความคล้ายคลึงกันทั้ง 4 ตำรับ โดยพบตะกอนสีน้ำตาลอ่อน มีลักษณะจับกันเป็นแพ ไม่แตกกระจาย และเมื่อเขย่าด้วยแรงปานกลางพบว่าการกระจายตัวสม่ำเสมอ ในส่วนของสีสันมีสีที่ใกล้เคียงกันทุกตำรับ ส่วนในด้านของกลิ่นตำรับ A และตำรับ B จะมีกลิ่นหอมเย็น ตำรับ C จะมีกลิ่นหอม ฉุนเล็กน้อย ส่วนตำรับ D จะมีกลิ่นฉุนแรง และในด้านของรสชาติ ตำรับ A มีรสชาติ หวาน หอมเย็น ตำรับ B มี ร ส ข า ดิ ห อ ม มี ก ลิ่น ตั ว ย า ส ำ ค ัญ ที่แต่ละตำรับ โดยตำรับ D เป็นตำรับที่มีค่า F ที่ดีที่สุด (โดยมีค่า F เท่ากับ 0.05) การทดสอบด้านคุณสมบัติทางเคมีโดยวัดความเป็นกรดต่างพบความเป็นกรดที่ใกล้เคียงกันโดยค่าอยู่ระหว่าง 3.8- 4.7 และการทดสอบทางจุลชีววิทยาพบว่า

ทุกตำรับมีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิด aerobic bacteria ไม่เกิน 5×10^5 CFU/กรัม ซึ่งถือว่าเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์สมุนไพร (Sittichai, 2004)จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าตำรับยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกายทั้ง 4 ตำรับ ได้คัดเลือกตำรับ C เป็นตำรับที่ดีที่สุด แม้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเมื่อทดสอบทางสถิติจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับอื่น แต่มีแนวโน้มดีกว่า อีกทั้งผลการศึกษาคูณสมบัติทางกายภาพ เคมี และทางจุลชีววิทยาดีกว่าตำรับอื่น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการวิจัยเพื่อส่งเสริมงานชุมชนและแหล่งฝึกภายใต้โครงการส่งเสริมสุขภาพในคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปี 2555

References

- Amom Z, Bahari H, Isemaail S, Ismail NA, Shah ZM, Arsyad MS. Nutritional composition, antioxidant ability and flavonoid content of *Tinospora crispa* stem. Adv. in Nat. Appl. Sci 2009; 3(1): 88-94.
- Ingkaninan K, Temkithawon P, Chuenchom K, Yuyaem T, Thongnoi W. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. J Ethnopharmacol 2003; 89(1): 261- 4.
- Jaziri SK, Neffati A, Limem I, Boubaker J, Skandrani I, Sghair MB, et al. Relationship correlation of antioxidant and antiproliferative capacity of *Cyperus rotundus* product towards K562 erythroleukemia cell. Chem Biol Interact 2009; 181: 85-94.5
- Luanchoy S, Tiangkul S. Study of antioxidant of a thai traditional formula for longevity. [PhD thesis]. Bangkok: Mahidol University; 2008. [in Thai]
- Mathew S, Kuttanu G. Immunomodulatory and antitumour activities of *Tinospora cordifolia*. Fitoterapia 1999; 70: 35-43.
- Maturin LJ, Peeler JT. Aerobic plate count. In: Maturin LJ, Peeler JT, editors. Food and drug administration bacteriological analytical manual. 8th ed. Gaithersburg (MD): AOAC International; 2001.
- Pakdeechote P, Kukongviriyapan U, Kukongviriyapan V. Screening for free radical scavenging activities of extracts from *Coccinia grandis* and *Centella asiatica*. Srinagarind Med J 2003; 18(2): 78-84.
- Pongpiriyadacha Y, Nuansrithong P, Sirintharawech N. Antioxidant activity and xanthine oxidase inhibitor from Thai medicinal plants used for tonic and longevity. [Sci Tech thesis]. Nakhon Si Thammarat: Rajamangala University of Technology Srivijaya; 2009. [in Thai]
- Rastogi S, Kulshreshtha DK, Rawat KS. *Sterblus asper* Lour.(Shakhotaka): A review of its chemical pharmacological and ethnomedicine properties. evid Based Complement Alternat Med 2006; 3(2): 217-22.
- Sittichai N. Thai Journal of Phytopharmacy Vol. 11(1) Jun. 2004. [in Thai]
- Taeponsorath L. Antioxidant activity of some local vegetables in Mahasarakham province. mahasarakham: mahasarakham university; 2544. [in Thai]
- Tangsaksant T. Development of extemporaneous oral rifampin suspensions for pediatric at Mahasarakham Hospital. [BSc thesis]. Mahasarakham University; 2007. [in Thai]

- Tunsaringkarn T, Soogarun S, Rungsiyothin A, Palasuwan A. Inhibitory activity of Heinz body induction in vitro antioxidant model and tannin concentration of Thai mimosaceous plant extracts. [AHS thesis]. Bangkok: Chulalongkorn University; 2012. [in Thai]
- Watcharakupt O. Radical scavenging agent. Nonthaburi: PS printing; 2006. [in Thai]