วารสารวิชาการ กัญชา กัญชง และสมุนไพร ISSN 2985-0177 (Online)
(ฉบับปีที่ 3 เดือนมกราคม – ธันวาคม 2567)

บทความวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดจากตำรับยาเบญจโกฐด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี

Antioxidant Activity and Gas Chromatography Mass Spectrometry Analysis of the Composition of Ben-Ja-Kot Recipe Extract

วิไลวรรณ ไขกะวิง[1,2] จิรัญญา พรหมเชียง[1] อารียา ช้างทอง[1] ปราณี ศรีราช[1] รัชฎาวรรณ อรรคนิมาตย์[1*]

[1]สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร อำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร 47160

[2]โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลบ้านต้อน ตำบลสร้างค้อ อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร 47180

Wilaiwan kaikawing[1,2] Jirunya promchiang[1] Areeya Changthong[1] Pranee Sriraj[1] Ratchadawan Aukkanimart[1*]

[1]Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus, Phang Khon District, Sakon Nakhon Province 47160

[2]Ban Ton Subdistrict Health Promoting Hospital, Sang Kho Subdistrict, Phu Phan District, Sakon Nakhon Province 47180

* Corresponding author. E-mail address: Ratchadawan.au@Rmuti.ac.th ; Telephone: 085 4611959

วันที่รับบทความ 10/มกราคม/2567; วันที่แก้ไขบทความ 25/มีนาคม/2567; วันที่ตอบรับบทความ 22/มิถุนายน/2567

บทคัดย่อ

ตำรับยาเบญจโกฐเป็นตำรับยาทางการแพทย์แผนไทยประกอบด้วย โกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง และโกฐจุฬาลัมพา โดยการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์หาสารสำคัญ ในสมุนไพรเดี่ยวและตำรับยาเบญจโกฐชั้นน้ำและเอทานอล ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีสเปคโตรเมทรี (GCMS) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดโกฐสอชั้นน้ำมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุดเท่ากับ 32.51±0.63 และสารสกัดโกฐเชียงชั้นเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 47.44±0.43 mg GAE/g extract และการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมพบว่าเบญจโกฐชั้นน้ำมีค่ามากที่สุดคือ 40.70±0.20 และสารสกัดโกศเชียงชั้นเอทานอลมีค่ามากที่สุดคือ 99.70±0.17 mg QAE/g extract ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย DPPH assay พบว่าสารสกัดชั้นน้ำของโกฐหัวบัวมีค่า IC50 เท่ากับ 1,149.00±41.43 µg/ml และสารสกัดชั้นเอทานอลโกฐเชียงมีค่า IC50 เท่ากับ 780.17±12.04, µg/ml และวิธี ABTS พบว่าสารสกัดโกฐหัวบัวชั้นน้ำ มีค่า IC50 เท่ากับ 64.14±3.66µg/ml สารสกัดชั้นเอทานอลพบว่าโกฐเชียง มีค่า IC50 เท่ากับ 391.37±5.29 µg/ml และการศึกษาสาระสำคัญโดย GCMS พบว่า สารสกัดโกฐสอชั้นน้ำพบ 11 ชนิด ชั้นเอทานอลพบสาร 16 ชนิด โกฐเขมาชั้นน้ำพบสาร 11 ชนิด ชั้นเอทานอลพบสาร 9 ชนิด โกฐหัวบัวชั้นน้ำ พบสาร 14 ชนิด ชั้นเอทานอลพบสาร 21 ชนิด โกฐเชียงชั้นน้ำพบสาร 8 ชนิด ชั้นเอทานอลพบ 19 ชนิด โกฐจุฬาลัมพาชั้นน้ำพบสาร 8 ชนิด ชั้นเอทานอล พบสาร 20 ชนิด และตำรับยาเบญจโกฐชั้นน้ำพบสาร 5 ชนิด ชั้นเอทานอลพบสาร 4 ชนิด ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการศึกษาต่อถึงฤทธิ์ลดไข้ของตำรับยานี้ได้

คำสำคัญ ; เบญจโกฐ ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี

Abstract

Ben-Ja-Kot (BJK) recipe of Thai Traditional Medicine contains of 5 species of herb Angelica dahurica (AD), Atractylodes lancea (AL), Ligusticum sinense (LS), Angelica sinensis (AS) and Artemisia annua (AA) have been used for fever of mucus and asthma cough. The aims of this study were 1) to study total phenolic content and flavonoid content 2) to study antioxidant activity by DPPH and ABTS assay and 3) to study compounds was determined bioactive compound by GC-MS analysis of Ben-Ja-Kot (95% ethanol and aqueous) extract. The results of the research indicated that total phenolic content was showed highest in the aqueous extracts of AD (32.51±0.63 mg GAE/g extract) and ethanolic extracts was AS (47.44±0.43 mg GAE/g extract). Total flavonoid content of aqueous extracts had the highest of BJK (40.70±0.20 mg QAE/g extracts) and for ethanolic extracts was AS (99.70±0.17 mg QAE/g extract). The ability on antioxidant scavenging by DPPH was found the highest effective of aqueous was LS by IC50 value 1,149.00±41.43 µg/ml. For ethanolic extract of AS (780.17±12.04µg/ml). For scavenging ability by ABTS had the highest effect aqueous extract of LS as IC50 values 64.14±3.66 µg/ml and for ethanolic extracts was AS IC50 values 391.37±5.29 µg/ml. GC-MS analysis of aqueous and ethanolic extract were 11 and 16 compounds of AD. AL was detected 11 aqueous compounds and of 9 compounds ethanolic extracts. Aqueous of LS was found 14 compounds and 21 compounds in ethanolic extracts. AS aqueous and ethanolic were found 8 and 19 compounds. AA aqueous and ethanolic were 8 and 20 compounds. In addition, two solvent extracts of Ben-Ja-Kot aqueous and ethanolic were 5 and 4 compounds, respectively. Further work is progress forwards understanding this recipes role as an antipyretic activity.

Keywords; Ben-Ja-Kot, Antioxidant, Total phenolic content, Total flavonoid content, Gas Chromatography-Mass Spectrometry

1. บทนำ

ในปัจจุบันร้อยละ 80 ของประชากร องค์การอนามัยโลกสำรวจพบว่า ประชากรมีความเชื่อการรักษาโรคหรือความเจ็บป่วยเบื้องต้นไปจนถึงการเจ็บป่วยเรื้อรังที่ยากแก่การรักษา โดยใช้รูปแบบภูมิปัญญาพื้นบ้าน พืชพรรณหรือยาสมุนไพรเป็นทางเลือกแรกในการดูแลสุขภาพ (Craig et al., 1999) โรคที่เจ็บป่วยได้บ่อยคือ ไข้ เช่น ไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ ไข้มีผื่นหรือตุ่มขึ้น ไข้เลือดออก มาลาเรีย ไทฟอยด์ (Sitticha et al., 2020) เป็นต้น ตามทฤษฎีการแพทย์แผนไทย อาการไข้เกิดจากธาตุไฟกำเริบ ธาตุไฟมี 4 ประการ เรียกว่า จตุกาลเตโช ได้แก่ ไฟอบอุ่นร่างกาย (สันตัปปัคคี) ไฟย่อยอาหาร (ปริณามัคคี) ไฟที่ทำให้จิตใจเร่าร้อน (ปริทัยหัคคี) และไฟที่เผาไหม้ทำให้ร่างกายแก่ชรา (ชิรณัคคี) ธาตุไฟกำเริบเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น การอยู่ในพื้นที่ที่มีอากาศร้อน การตากแดด และสาเหตุอื่น ๆ อีกมากมาย ในปัจจุบันการแพทย์และสมุนไพร การแพทย์แผนไทย ได้รับความนิยมนำมาใช้มากขึ้น ยกตัวอย่างเช่น ตำรับยาจันทลีลา (Sireeratawong et al., 2012) ตำรับยาเบญจโกฐ ที่มีฤทธิ์แก้ไข้ ต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี โกฐทั้ง 5 เป็นพิกัดยาในทางการแพทย์แผนไทย ประกอบด้วยโกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง และโกฐจุฬาลัมพา มีสรรพคุณ แก้ไข้เพื่อเสมหะ หืดไอ แก้โรคปอด โรคในปากคอ แก้ลมในกองธาตุ ชูกำลัง บำรุงโลหิต สารประกอบในโกฐทั้ง 5 มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่างเช่น

กลุ่มโพลีแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ในโกฐเชียงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Zhuang et al., 2018) สโคโปเลติน (scopoletin) ในโกศจุฬาลัมพามีฤทธิ์แก้ไข้ และต้านการอักเสบ (Shinyuy et al., 2023) สมุนไพรจัดเป็นพืชที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิต มีคุณค่าทางด้านการป้องกันและรักษาโรค ถือเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้านที่สืบทอดกันมา (วัชรพล และธนพร, 2562) สมุนไพรหลายชนิดมีบทบาทในการป้องกันโรคเรื้อรัง ชะลอความเสื่อมของร่างกายและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมายที่ยังไม่ได้รับการเผยแพร่เชิงประจักษ์ มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันของพืชสมุนไพรเพื่อเป็นแนวทางในการนำมาใช้ส่งเสริมการรักษาโรคอย่างแพร่หลาย (ยุพา และไมตรี, 2561) เช่น วิตามินซี เบต้าเคโรทีน (beta-carotene) สารกลุ่มโพลีฟีนอลิก (polyphenolics) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นต้น ซึ่งสารกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (ชมัยพรและคณะ, 2562) ดังนั้นการศึกษานี้จึงสนใจศึกษาตำรับยาเบญจโกฐ (โกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง และโกฐจุฬาลัมพา) ศึกษาสารสำคัญด้วยวิธี GC-MS ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำตำรับยาที่มีสมุนไพร 5 สิ่ง ไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์แผนไทยต่อไป

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 รูปแบบการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง (experimental research) เป็นการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และองค์ประกอบทางเคมีที่พบใน ตำรับยาเบญจโกฐ (โกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง และโกฐจุฬาลัมพา) ซึ่งมีแหล่งที่มาจากร้านสมุนไพรแห่งหนึ่ง อำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร

2.2 ขั้นตอนการทดลอง

การสกัดเบญจโกฐ ขั้นตอนการสกัดสารสำคัญ นำโกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง และโกฐจุฬาลัมพา ปริมาณชนิดละ 10 กรัม และพิกัดเบญจโกฐ 50 กรัม ผสมในน้ำกลั่น และ95% เอทานอล (1:10 w/v) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 µm และนำไปทำการระเหยโดยใช้เครื่อง evaporator นำสารสกัดเก็บไว้ที่ -20 °C (Bai et al., 2016)

2.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic content)

นำตำรับยาเบญจโกฐ (1 mg/ml) หยดลงใน 96-well plate เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 60 µl เติมสารละลาย 10% Folin-clocalteau reagent จากนั้นเติมสารละลาย Sodium carbonate ความเข้มข้น 7.5% ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm หาปริมาณฟีนอลิกรวมหาได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid (ความเข้มข้น 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 และ 640 µg /ml) ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วย mg GAE/g extract (Aryal et al., 2019)

2.4 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content)

นำตำรับยาเบญจโกฐ (1mg/ml) หยดลงใน 96-well plate และเติมสารละลาย 10% aluminium chloride ปริมาตร 50 µl ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 435 nm ใช้สาร quercetin เป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 และ 640 µg/ml)

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมหาได้จากการนำค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร (quercetin) ปริมาณที่แสดงในหน่วย mg QAE/g extract (Sembiring et al., 2018)

2.5 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง โกฐจุฬาลัมพา วิธี DPPH assay

เตรียมสารละลาย DPPH 0.4 µM (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ละลายในเอทานอล 95% นำไปเจือจางด้วยเอทานอลให้ได้ค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.6±0.02 (Dumore et al., 2020) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox (0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.015625 และ 0.0078125 mM) เตรียมสารสกัดสารสกัดโกฐทั้ง 5 (10, 20, 40 80, 160, 320 และ 640 µg/ml) จากนั้นเติมเอทานอล (blank) และ เติม Trolox (positive control) และสารสกัดลงใน 96-well plate ปริมาตร 50 µl (ทำการทดสอบอย่างละ 3 ซ้ำ) จากนั้นเติมสารละลาย DPPH 50 µl บ่มในที่มืด 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 nm และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) (Zhang et al., 2020) นำค่า % radical scavenging activity ของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟ เพื่อคำนวณหาค่า IC50 (ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลง 50%)

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS 2,2′-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

โดยดัดแปลงวิธีของ (Re et al., 2000) เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM ใน deionized water ผสมกับ K2O8S2 ความเข้มข้น 2.45 mM บ่มในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเอทานอลและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.70±0.02 และเตรียมสารสกัด ปริมาตร 50 µl ผสมกับสารละลาย ABTS ปริมาตร 100 µl ลงใน 96-well microplate บ่มในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 734 nm การทดลองที่ได้โดยคำนวณหา % radical scavenging นำค่า % free radical Inhibition ของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟ เพื่อคำนวณหาค่า IC50 (ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ค่า % ABTS free radical Inhibition ลดลง 50%)

2.7 การหาสารสำคัญในสมุนไพร โดยใช้เทคนิค Gas chromatograph mass spectrometer (GC-MS)

เตรียมสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวและตำรับให้มีความเข้มข้น 10 µg/ml และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS (ยี่ห้อ shimadzu GCMS-QP2020) สภาวะการวิเคราะห์ ฉีดที่ปริมาตร 1 µl (split ratio เท่ากับ 5:1) โดยต้องอุณหภูมิส่วนที่ฉีดสาร 250 oC ใช้คอลัมน์คือ TR-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) ตั้งอัตราการไหลของก๊าซฮีเลียมเข้าคอลัมน์เป็น 5.0 µl/นาที ส่วนอุณหภูมิคอลัมน์จะตั้งโปรแกรมโดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 100 oC นาน 1 นาที จากนั้นเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเร็ว 20 oC/นาที ถึงอุณหภูมิ 150 oC นาน 2 นาที แล้วเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเร็ว 10 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึงอุณหภูมิ 200 oC ปรับอัตราเร็วเป็น 10 oC/นาที จนถึงอุณหภูมิ 250 oC ส่วนของ MS (ยี่ห้อ agilent technology, รุ่น 5973N mass selective detector, EIMS, electron energy, 70 eV, USA) เป็น MS quadruple ที่ต่อกับ GC โดยตรง) และอุณหภูมิของ ion source เป็น 230 oC ในระบบ electron impact ionization (EI) โดยให้ผลการแยกองค์ประกอบของเป็น total ion chromatogram (TIC) ใน ระบบ scan mode ใช้ช่วงของ mass 35 ถึง 500 AMU (atomic mass unit) ประมวลผลด้วย Agilent chem station data system การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

พิสูจน์เอกลักษณ์ขององค์ประกอบทางเคมีโดยเปรียบเทียบสเปกตรัมกับสเปกตรัมมาตรฐานใน Wiley version 5 NIST 5 library แสดงผลเป็นร้อยละของพื้นที่ใต้พีคสัมพัทธ์ (% relative peak area) (จันคนา และคณะ, 2559)

2.8 การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวม รายงานผลการทดสอบเป็นค่าเฉลี่ย (means)±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยว 5 ชนิด และตำรับเบญจโกฐ โดยใช้การวิเคราะห์ One-way ANOVA จากนั้นเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยว 5 ชนิด และตำรับเบญจโกฐที่การสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกันใช้ Independent t-test กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$

3. ผลลัพธ์และการอภิปราย

3.1 ผลการวิจัย

3.1.1 ผลการศึกษาร้อยละผลผลิตของสมุนไพร พบว่า โกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง โกฐจุฬาลัมพา และตำรับยาเบญจโกฐที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่ามี %yield เท่ากับ 5.30, 10.50, 12.20, 11.20, 13.20, 28.64 ตามลำดับ และสารสกัดชั้นน้ำ พบว่ามี %yield เท่ากับ 29.50, 11.30, 30.00, 42.30, 15.20, 30.80 ตามลำดับ ซึ่งสอดคลองกับการศึกษาที่ผ่านมา (Liyana et al., 2005) ได้ศึกษาร้อยละของผลผลิตของ โกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง โกฐจุฬาลัมพา สกัดด้วยเอทานอล 95% พบว่ามี %yield เท่ากับ 5.12, 16.18, 12.19, 15.05, 9.27 ตามลำดับ และการสกัดด้วยน้ำมี %yield เท่ากับ 9.78, 19.29, 17.83, 7.94, 11.16 ตามลำดับ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีค่ามากกว่าการศึกษาที่ผ่านมา

3.1.2 ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดโกฐเชียงชั้นเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด ค่าเท่ากับ 47.44±0.43 mg GAE/g extract ซึ่งมีค่ามากกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Wang et al., (2017) คือ 30.00±0.13 mg GAE/g extract รองลงมาคือ เบญจโกฐชั้นเอทานอล และโกฐจุฬาลัมพาชั้นเอทานอล ซึ่งมีค่ามากกว่าการศึกษาก่อนหน้าของ Makchuchit et al. (2010) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณวัตถุดิบตั้งต้นและวิธีการสกัด สัดส่วนตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัดต่างกัน ส่วนสารสกัดชั้นน้ำพบว่า โกฐสอชั้นน้ำมีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุด 32.51±0.63 mg GAE/g extract extract ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Nalinratana et al. (2014) (29.54±3.09 mg GAE/g extract) รองลงมาคือโกฐจุฬาลัมพาและเบญจโกฐ แสดงในตารางที่ 1

3.1.3 ผลการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่าสารสกัดว่าโกฐเชียงชั้นเอทานอล มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 99.70±0.17 mg QAE/g extract ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการศึกษาที่ผ่านมาของ Filipiak-Szok et al. (2014) เนื่องจากแหล่งที่มาของสมุนไพรและการสกัดสารต่างกัน รองลงมาคือ พิกัดเบญจโกฐชั้นเอทานอล ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดชั้นน้ำ พบว่าสารสกัดพิกัดเบญจโกฐมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 40.70±0.20 mg QAE/g extract เนื่องจากไม่มีรายงานปริมาณฟลาโวนอยด์ของพิกัดเบญจโกฐ แต่มีรายงานของตำรับยาสมุนไพรพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ใกล้เคียงกันของ Tuekaew et al. (2014) ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในยาหอมอินทจักร เท่ากับ 8.41±0.36 mg QAE/g extract รองลงมาคือโกฐหัวบัวชั้นน้ำ (23.60±0.45 mg QAE/g extract) มีค่า

มากกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้ของ (Song et al., 2010) ดังแสดงในตารางที่ 2 สรุปได้ว่าโกฐเชียงชั้นเอทานอล มีปริมาณฟีนอลลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในหอมแดงและเปลือกหอมแดง

Sample extract	Total phenolic content (TPC) mg GAE/g extract	
	95 % ethanol	Aqueous
โกฐสอ (Angelica dahurica)	021.35±0.30^{b}	32.51±0.63^{*d}
โกฐเขมา (Atractylodes lancea)	07.51±0.29^{*a}	03.50±0.34^{a}
โกฐหัวบัว (Ligusticum sinense)	02.41±0.38^{a}	011.46±0.08^{*b}
โกฐเชียง (Angelica sinensis)	47.44±0.43^{*c}	13.55±0.27^{b}
โกฐจุฬาลัมพา (Artemisia annua)	20.76± 0.13^{b}	24.32±0.32^{*c}
เบญจโกฐ (Ben-Ja-Kot)	38.66±0.41^{c}	14.21±0.11^{b}

หมายเหตุ เปรียบเทียบสมุนไพรชนิดเดียวกันระหว่างชั้นเอทานอล กับชั้นน้ำ และa,b,c,d ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.1.4 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าโกฐหัวบัวชั้นน้ำมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดมีค่า IC50 เท่ากับ1,149.00±41.43 µg/ml แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่าการศึกษาที่ผ่านมาของของ Wang et al. (2011) สารสกัดโกฐเชียงชั้นเอทานอลมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่า IC50 เท่ากับ 780.17±12. µg/ml มีประสิทธิภาพน้อยกว่าการศึกษาที่ผ่านมาของ Nalinratana et al. (2014) ทั้งนี้เนื่องจากการเตรียมสารสกัดด้วยวิธีที่ต่างกันทั้งระยะเวลาการสกัด สัดส่วนของตัวทำละลาย ซึ่งโกฐเชียงและโกฐหัวบัว มีสาร Ethyl Oleate, Linoleic acid ethyl ester ที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้

3.1.5 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS พบว่าโกฐหัวบัวชั้นน้ำ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดมีค่า IC50 เท่ากับ 64.14±3.66 µg /ml มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดซึ่งดีกว่าการศึกษาที่ผ่านมาของ (Senizza et al., 2021) ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ในสารสกัดชั้นเอทานอล พบว่าสารสกัดโกฐเชียงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่า IC50 เท่ากับ 391.37±5.29 µg/ml ซึ่งพบว่ามีมีประสิทธิภาพดีกว่ากับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Li et al. (2009) และการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดเบญจโกฐชั้นเอทานอล มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดค่า IC50 เท่ากับ 890±32.98 µg/ml จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH พบว่าสารสกัดของโกฐเชียงชั้นเอทานอล มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าที่สุด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTS พบว่าสารสกัดของโกฐหัวบัวชั้นน้ำมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ทั้งนี้ศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรยังพบว่าน้อยกว่าสารมาตรฐาน Trolox (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2 ปริมาณปริมาณฟลาโวนอยด์สารสกัด

Sample extract	Total flavoniod content (TFC) mg QAE/g extract	
	95 % ethanol	Aqueous
โกฐสอ (Angelica dahurica)	39.93±0.31^{*a}	15.90±0.30^{b}
โกฐเขมา (Atractylodes lancea)	91.90±0.26^{*b}	4.30±0.36^{a}
โกฐหัวบัว (Ligusticum sinense)	90.67±0.47^{*b}	23.60±0.45^{c}
โกฐเชียง (Angelica sinensis)	99.70±0.17^{*c}	17.53±0.41^{b}
โกฐจุฬาลัมพา (Artemisia annua)	99.00±0.26^{*c}	22.83±0.25^{c}
เบญจโกฐ (Ben-Ja-Kot)	99.50±0.36^{*c}	40.70±0.20^{d}

หมายเหตุ * เปรียบเทียบสมุนไพรชนิดเดียวกันระหว่างชั้นเอทานอล กับชั้นน้ำ และ ^{a,b,c,d} ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3 การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเบญจโกฐ (DPPH assay)

Sample extract	DPPH assay (µg/ml) IC50	
	95 % ethanol	Aqueous
โกฐสอ (Angelica dahurica)	1,197.20±13.81^{d}	1,312.29±17.11^{*c}
โกฐเขมา (Atractylodes lancea)	1,268.28±20.55^{e}	1,503.04±22.81^{*e}
โกฐหัวบัว (Ligusticum sinense)	872.28±7.48^{c}	1,149.00±41.43^{*b}
โกฐเชียง (Angelica sinensis)	780.17±12.04^{b}	1,540.74±24.79^{*e}
โกฐจุฬาลัมพา (Artemisia annua)	1,356.43±38.81^{f}	1,490.68±34.98^{*d}
เบญจโกฐ (Ben-Ja-Kot)	1,242.02±7.16^{e}	1,308.22±17.27^{*c}
Trolox	0.06±0.00^{a}	0.06±0.00^{a}

หมายเหตุ * เปรียบเทียบสมุนไพรชนิดเดียวกันระหว่างชั้นเอทานอล กับชั้นน้ำ และ ^{a,b,c,d} ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.1.6 ผลการศึกษาองค์ประกอบของสมุนไพรโดย GC-MS โกฐสอชั้นน้ำ พบองค์ประกอบทั้งหมด 11 ชนิด พบมากที่สุด คือ Agarospirol 38.18% ชั้นเอทานอล พบ 15 ชนิด พบมากที่สุด คือ Linoleic acid ethyl ester 37.85% สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Chen et al. (2018) ได้ศึกษาองค์ประกอบของโกฐสอ พบว่ามีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ 1-Dodecanol, 1-Hexadecanol, Linoleic acid ethyl ester, Hexadecanoic acid, Agarospirol และ Linoleic acid ethyl ester เป็นต้น โกฐเขมา พบองค์ประกอบทั้งหมดชั้นน้ำ 11 ชนิด พบมากที่สุด คือ Agarospirol 21.69% ส่วนชั้นเอทานอลพบ 8 ชนิด พบมากที่สุดคือ Hinesol 43.45% ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Chen et al. (2009) พบว่ามี Hinesol, Arospirol และ Guaiol เป็นต้น โกฐหัวบัวชั้นน้ำ พบองค์ประกอบทั้งหมด 14 ชนิด พบมากที่สุด คือ Linoleic acid ethyl ester 17.85 % ชั้นเอทานอลพบ 22 ชนิด พบมากที่สุด คือ Hinesol 35.81% ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Sanghong et al. (2015) ซึ่งพบ Linoleic acid ใน

โกศหัวบัว โกฐเชียงชั้นน้ำ พบองค์ประกอบทั้งหมด 8 ชนิด สารที่พบมากที่สุด คือ Ethyl Oleate 32.08% ส่วนชั้นเอทานอล พบ 19 ชนิด สารที่พบมากที่สุด คือ (E)-3-Butylidene-4,5-dihydroisobenzofuran-1(3H)-one 48.09% ซึ่งเป็นสารกลุ่ม (Z)-ligustilide สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Wedge et al. (2009) ที่พบ (Z)-ligustilide 61-69% ในโกฐเชียง

องค์ประกอบของสารสำคัญในโกฐจุฬาลัมพา พบว่า สารสกัดชั้นน้ำมีสาร 8 ชนิด พบมากที่สุด คือ 2,4-Di-tert-butylphenol 28.14% ส่วนสารสกัดชั้นเอทานอล มีสาร 20 ชนิด พบมากที่สุด คือ 4-Epipallensin 6.22% สอดคล้องกับการศึกษาโกฐจุฬาลัมพาในปี 2016 Imad et al. (2016) พบสาร 1-Heptacotanol 17.26% เช่นเดียวกัน ซึ่งสารนี้มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง และป้องกันการเกิดเบาหวาน และในตำรับยาเบญจโกฐ พบว่า มีองประกอบดังนี้ สารสกัดชั้นน้ำ พบ 3 ชนิด สารที่มากที่สุดคือ 2-Propanol-1-methoxy 92.99% ส่วนสรสกัดชั้นเอทานอล พบ 4 ชนิด พบมากที่สุดคือ Ethane, fluoro 87.16% เป็นต้น (ดังแสดงในตารางที่ 5) ซึ่งรายงานการศึกษาตำรับยาเบญจโกฐในด้านการหาองค์ประกอบของสารสำคัญในตำรับ โดยใช้การวิเคราะห์ GC-MS ยังไม่พบการรายงาน

ตารางที่ 4 การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเบญจโกฐ (วิธี ABTS)

	DPPH assay (µg/ml) IC50	
Sample extract	95 % ethanol	Aqueous
โกฐสอ (Angelica dahurica)	1,651.89±42.99^{d}	1,666.50±51.93^{e}
โกฐเขมา (Atractylodes lancea)	1,223.96±31.91^{*g}	933.95±15.24^{f}
โกฐหัวบัว (Ligusticum sinense)	1,313.12±12.21^{*e}	64.14 ±3.66^{d}
โกฐเชียง (Angelica sinensis)	391.37±5.29^{*f}	92.39±1.94^{b}
โกฐจุฬาลัมพา (Artemisia annua)	567.89 ±6.01^{*b}	362.57±10.18^{b}
เบญจโกฐ (Ben-Ja-Kot)	890.00±32.98*c	1,064.00±11.45^{c}
Trolox	0.00 ±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}

หมายเหตุ * เปรียบเทียบสมุนไพรชนิดเดียวกันระหว่างชั้นเอทานอล กับชั้นน้ำ และ ^{a,b,c,d} ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากการแยกองค์ประกอบของสมุนไพรเดี่ยวและตำรับด้วยวิธี GC-MS ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบสารตั้งแต่ 4-21 ชนิด ที่มีความเหมือนและแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของสมุนไพร เช่น Hexadecane พบใน โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง โกฐจุฬาลัมพา และ 2,4-Di-tert-butylphenol พบใน โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง โกฐจุฬาลัมพา (ตารางที่ 5-6) Agarospirol สารกลุ่ม Beta-Eudesmol, Linoleic acid ethyl ester, Hexadecanoic acid พบในสมุนไพรเดี่ยวทั้งหมด ซึ่งแตกต่างกันที่ปริมาณร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ จากการศึกษาองค์ประกอบของสมุนไพรเดียวและตำรับโดยวิธี GC-MS พบว่าสมุนไพรเดี่ยวพบสารตั้งแต่ 4 ถึง 21 ชนิด มีการแยกองค์ประกอบของสารได้ดีกว่าตำรับ ซึ่งในตำรับพบสารสำคัญเพียง 4-5 ชนิด เนื่องจากหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการแยกองค์ประกอบของสาร ได้แก่ ขนาดตัวอย่าง (sample size) หากขนาดของตัวอย่างมากเกินพอจะทำให้การล้นของตัวอย่างภายในคอลัมน์ (overload) ทำให้ไม่สามารถแยกสารผสมออกจากกันได้ และอุณหภูมิของตู้อบคอลัมน์ (column oven temperature)

โดยอาศัยหลักการอุณหภูมิต่ำสารออกช้า และอุณหภูมิสูงสารออกเร็วแต่ในบางครั้งหากใช้อุณหภูมิต่ำตลอดช่วงการวิเคราะห์ในกรณีที่มีสารผสมหลากหลายจะยากต่อการประมวลผล ดังนั้นการปรับอุณหภูมิของตู้อบคอลัมน์จึงส่งผลต่อการแยกสารผสมอย่างเห็นได้ชัด และอัตราเร็วหรือความดันของแก๊สพา (carrier gas flow rate or pressure) แก๊สพาทำหน้าที่ในการพาไอระเหยของสารผสมผ่านเข้าสู่คอลัมน์เพื่อให้เกิดการแยกซึ่งหากความเร็วหรือความดันที่ใช้สูงมากเกินพอก็จะทำให้การแยกเกิดขึ้นได้ไม่ดีเช่นเดียวกัน อีกทั้งเมื่อเกิดการให้ความร้อนที่สูงขึ้นโดยการแยกองค์ประกอบของสารสำคัญด้วยวิธี GC-MS หากมีการใช้สมุนไพรรวมหลายชนิด อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบดังกล่าว และรวมถึงสารบางชนิดที่ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิสูงอาจสูญเสียโครงสร้างทางเคมีได้ ซึ่งวิธี GC-MS นิยมหาสารสำคัญสามารถบ่งชี้ถึงชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ใน สารตัวอย่างได้โดยกว้างเทียบกับฐานข้อมูล และวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จะเหมาะสมกว่าการศึกษาครั้งนี้หากทราบสารสำคัญที่เป็นสารมาตรฐาน เนื่องจากสามารถคำนวณปริมาณสารสำคัญที่พบในตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐานได้ อีกทั้งสามารถใช้ในการวิเคราะห์สารหลากหลายชนิด เนื่องจาก HPLC ไม่มีข้อจำกัดว่าสารสำคัญที่ต้องการตรวจวัด ต้องเป็นสารที่ระเหยได้ ทำให้สามารถใช้ HPLC วิเคราะห์สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้ (เกศินีศรี และคณะ, 2553) ในการศึกษานี้ GC-MS แยกสารสำคัญของตำรับเบญจโกฐได้เพียง 4-5 ชนิด เนื่องจากสารสกัดตำรับเบญจโกฐ เป็นการนำสมุนไพร 5 ชนิดรวมกัน ทำให้น้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น การใช้ GC-MS จึงมีข้อจำกัดในการวิเคราะห์สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ทั้งนี้การใช้เทคนิค HPLC ในการแยกตำรับยาเบญจโกฐนั้นยังไม่พบรายงานการศึกษา จึงเป็นข้อจำกัดในการศึกษานี้

องค์ประกอบของสารสำคัญในโกฐจุฬาลัมพา พบว่า สารสกัดชั้นน้ำมีสาร 8 ชนิด พบมากที่สุด คือ 2,4-Di-tert-butylphenol 28.14% ส่วนสารสกัดชั้นเอทานอล มีสาร 20 ชนิด พบมากที่สุด คือ 4-Epipallensin 6.22% สอดคล้องกับการศึกษาโกฐจุฬาลัมพาในปี 2016 Imad et al. (2016) พบสาร 1-Heptacotanol 17.26% เช่นเดียวกัน ซึ่งสารนี้มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง และป้องกันการเกิดเบาหวาน และในตำรับยาเบญจโกฐ พบว่า มีองประกอบดังนี้ สารสกัดชั้นน้ำ พบ 3 ชนิด สารที่มากที่สุดคือ 2-Propanol-1-methoxy 92.99% ส่วนสรสกัดชั้นเอทานอล พบ 4 ชนิด พบมากที่สุดคือ Ethane, fluoro 87.16% เป็นต้น (ดังแสดงในตารางที่ 5) ซึ่งรายงานการศึกษาตำรับยาเบญจโกฐในด้านการหาองค์ประกอบของสารสำคัญในตำรับ โดยใช้การวิเคราะห์ GC-MS ยังไม่พบการรายงาน

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีที่ตรวจพบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากสมุนไพรเดี่ยวและตำรับเบญจโกฐ (ชั้นน้ำ) ด้วยวิธี GC-MS

ลำดับ	สารสำคัญที่พบ	% Peak area						
		RetIndex	โกฐสอ	โกฐเขมา	โกฐหัวบัว	โกฐเชียง	โกฐจุฬาลัมพา	เบญจโกฐ
1	Ethane, fluoro	193						87.16
2	2-Propanol-1-methoxy	657						7.06
3	Bicyclo [5.2.0] nonane 2-methylene-4,8,8-trimethyl-4-vinyl	1,407	6.21					
4	Cyclohexanemethanol4-ethenyl -alpha. alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.2-(2,8R,8aS) -8,8a-Dimethyl-1,2,3,4,6,7,8,8a-octahydronaphthalen-2-yl) propan-2-ol	1,522						0.10
5	Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-	1,555	2.81					
6	2,4-Di-tert-butylphenol	1555		7.50	9.97	22.21	28.14	
7	Senkyunolide	1,587			5.52			
8	Hinesol	1,598			10.71			0.18
9	2-Naphthalenemethanol, decahydro-. alpha.,. alpha., 4a-trimethyl-8-methylene-, [2R-(2. Alpha.,7.al	1,598	34.60	19.18	8.87		6.07	
10	Naphthalene,decahydro-4a-methyl-methylene-7-(1-methylethenyl) -, [4aR-(4a.alpha.,7.al	1,598	2.99					
11	Agarospirol	1,598	38.18	21.69	5.24			
12	1,5-Cyclodecadiene,1,5-dimethyl-8 (1-methylethylidene)-, (E,E)-	1,603	4.61					
13	Hexadecane	1,612		2.35	3.71	7.16	11.93	
14	Guaiol	1,614	5.12					
15	3-Butylisobenzofuran-1(3H)-one	1,631			3.57			
16	3,7-Cyclodecadiene-1-methanol,. alpha.,.alpha.,4,8-tetramethyl-, [s-(Z,Z)]	1,694	1.72					
17	Heptadecane, 2,6,10, 15-tetramethyl-	1,852				0.96	10.64	
18	1-Hexadecanol	1,854			2.94			
19	Hexadecanoic acid, ethyl ester	1,878	1.72		10.42	7.07	10.42	5.97

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีที่ตรวจพบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากสมุนไพรเดี่ยวและตำรับเบญจโกฐ (ชั้นน้ำ) ด้วยวิธี GC-MS (ต่อ)

ลำดับ	สารสำคัญที่พบ	% Peak area						
		RetIndex	โกฐสอ	โกฐเขมา	โกฐหัวบัว	โกฐเชียง	โกฐจุฬาลัมพา	เบญจโกฐ
20	Lidocaine	1,966			3.05	7.07		
21	Pentadecanoic acid, ethyl ester	1,978				1.65		
22	Isopropyl palmitate	2,077	0.97			6.89		
23	(E)-9-Octadecenoic acid ethyl ester	2,185		0.85			16.51	
24	Ethyl Oleate	2,185		19.37		32.08		
25	Octadecanoic acid, ethyl ester	2,185	1.52		17.85			
26	9-Octadecenoic acid, ethyl ester	2,185						
27	Linoleic acid ethyl ester	2,193		4.95	2.98			
28	Docosane	2,208		9.11				

หมายเหตุ * เปรียบเทียบสมุนไพรชนิดเดียวกันระหว่างชั้นเอทานอล กับชั้นน้ำ และ ^{a,b,c,d} ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ **6** องค์ประกอบทางเคมีที่ตรวจพบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจาก สมุนไพรเดี่ยวและตำรับเบญจโกฐ (ชั้นเอทานอล) ด้วยวิธี GC-MS

ลำดับ	สารสำคัญที่พบ	% Peak area						
		RetIndex	โกฐสอ	โกฐเขมา	โกฐหัวบัว	โกฐเชียง	โกฐจุฬาลัมพา	เบญจโกฐ
1	Ethane, fluoro							
2	2-Propanol-1-methoxy							
3	Lilac alcohol D	1,251					3.98	
4	2-Methoxy-4-vinylphenol	1,293				3.35		
5	1-Dodecanol	1,457	3.35					
6	Beta. -Bisabolene	1,500				1.90		
7	Pentadecane	1,512	1.41					
8	Cyclohexanemethanol4-ethenyl-alpha..alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.2-(2,8R,8aS)-8,8a-Dimethyl-1,2,3,4,6,7,8,8a-octahydronaphthalen-2-yl) propan-2-ol	1,522						0.10
9	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1, 1,7-trimethyl-4-methylene-, [1ar-(1a. alpha.,4a. a	1,536			0.51	0.89		
10	2,4-Di-tert-butylphenol	1,555	3.80					

ตารางที่ **6** องค์ประกอบทางเคมีที่ตรวจพบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจาก สมุนไพรเดี่ยวและตำรับเบญจโกฐ (ชั้นเอทานอล) ด้วยวิธี GC-MS (ต่อ)

ลำดับ	สารสำคัญที่พบ	% Peak area						
		RetIndex	โกฐสอ	โกฐเขมา	โกฐหัวบัว	โกฐเชียง	โกฐจุฬาลัมพา	เบญจโกฐ
11	(3S,3aS)-3-Butyl-3a,4,5,6-tetrahydroisobenzofuran-1(3H)-one	1,577			0.94			
12	Senkyunolide	1,587			2.36			
13	3-Butylisobenzofuran-1(3H)-one	1,593			1.62	3.57	2.41	
14	Hinesol	1,598		43.45	35.81			1.70
15	Agarospirol	1,598	4.13		4.95	0.83	2.72	
16	2-Naphthalenemethanol,decahydro-. alpha.,. alpha.,4a-trimethyl-8-methylene-, [2R-(2. alpha	1,598	3.91	37.59	31.88	1.01	4.84	
17	(E)-3-Butylidene-4,5-dihydroisobenzofuran-1(3H)-one	1,611			4.41	48.09		
18	Guaiol	1,614		4.54				
19	Davana ether	1,620						
20	Alpha. -Bisabolol	1,625						
21	Solongifolol	1,635						
22	1(3H)-Isobenzofuranone, 3-butylidene-	1,655						
23	1,1'-Biphenyl]-4-carboxaldehyde	1,669						
24	(E)-2-(Hepta-2,4-diyn-1-ylidene)-1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-ene	1,670						
25	3,7-Cyclodecadiene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4,8-tetramethyl-, [s-(Z,Z)]	1,694						
26	Hexadecane	1,711	1.96				0.35	
27	(1R,4aR,7R,8aR)-7-(2-Hydroxypropan-2-yl)-1,4a-dimethyldecahydronaphthalen-1-ol	1,738		1.13	0.58			
28	(S,E)-6-Hydroxy-6-methyl-2-((2S,5R)-5-methyl-5-vinyltetrahydrofuran-2-yl hept-4-en-3-	1,741			0.74		13.96	
29	n-Pentadecanol	1,755				0.81		
30	Isopropyl myristate	1,814	1.72					

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีที่ตรวจพบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจาก สมุนไพรเดี่ยวและตำรับเบญจโกฐ (ชั้นเอทานอล) ด้วยวิธี GC-MS (ต่อ)

ลำดับ	สารสำคัญที่พบ	% Peak area						
		RetIndex	โกฐสอ	โกฐเขมา	โกฐหัวบัว	โกฐเชียง	โกฐจุฬาลัมพา	เบญจโกฐ
31	1-Hexadecanol	1,854	4.14					
32	Pentadecanoic acid	1,878						0.54
33	Lidocaine	1,966					0.71	
34	Phytol	2,045			0.21		4.87	
35	1-Octadecanol	2,053				0.65		
36	9-Octadecen-1-ol, (Z)-	2,061	2.15					
37	4-Epipallensin	2,088					6.22	
38	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	2,093			0.20	0.93		
39	Hexadecanoic acid, ethyl ester	2,077	21.18	0.9	2.11	6.79	3.63	
40	Cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	1,431					4.25	

หมายเหตุ * เปรียบเทียบสมุนไพรชนิดเดียวกันระหว่างชั้นเอทานอล กับชั้นน้ำ และ ^{a,b,c,d} ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4. บทสรุป

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดจากตำรับยาเบญจโกฐ ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี พบว่า โกฐเชียงชั้นเอทานอลและโกฐหัวบัวชั้นน้ำมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด การตรวจหาสารประกอบสมุนไพรเชิงคุณภาพ พบสารสำคัญในตำรับยาเบญจโกฐ เช่น Linoleic acid ethyl ester, Agarospirol, Hinesol, Ethyl Oleate พบสารกลุ่ม Ligustilide พบสารกลุ่ม Phenols และพบสารกลุ่ม Sesquiterpene lactones, 2-Propanol-1-methoxy, Ethane, fluoro ซึ่งสารบางชนิดมีรายงานออกฤทธิ์ต้านการอักเสบและสามารถลดไข้ได้ จากการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ปริมาณฟีนอลิกรวม และองค์ประกอบของสารสกัดตำรับยาเบญจโกฐครั้งนี้จะเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ที่พบสารสำคัญหลายชนิด มีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ ต้านมะเร็ง ซึ่งจะเป็นแนวทางในการศึกษาต่อไปทั้งในสัตว์ทดลอง และงานวิจัยทางคลินิก ของตำรับยาเบญจโกฐ ซึ่งสรรพคุณยาไทย แก้ไข้ แก้ไข้เพื่อเสมหะ แก้หืดไอ และ แก้ลมในกองธาตุ

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความกรุณาอย่างยิ่ง สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ที่อำนวยความสะดวกสำหรับการอนุญาตให้ใช้อาคารสถานที่ และขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาให้คำแนะนำ คำปรึกษา เพื่อแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ และเมตตาความช่วยเหลือระหว่างการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่าน ที่ให้คำชี้แนะต่าง ๆ และแนะนำการแก้ไขปัญหาในการศึกษาครั้งนี้ ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย ขอมอบคุณงามความดีและประโยชน์ที่ได้รับการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อเป็นแนวทางในการดำเนินงานวิจัยครั้งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เกศินีศรี สุภรกรกุล, ภัทรวดี พงษ์ระวีวงศ์, วีระวรรณ เรื่องยุทธการณ์. (2553). การตรวจวัดปริมาณไดอะซีแพมในซีรัมด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. เทคนิคการแพทย์เชียงใหม่. 32(3): 150.

จันคนา บูรณะโอสถ, ปนัดดา พัฒนวศิน, ภัทราวดี เหลืองธุวปราณีต, ปกรณ์ คามวุฒิ, อุทัย โสธนะพันธุ์. (2559). การวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารหอมระเหยจากเครื่องยาในพิกัดเนาวโกฐด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแก๊สแมสสเปกโทรเมทรี. วารสารไทยไภษัชยนิพนธ์. 11(2): 45-60.

ชมัยพร รอดกลิ่น, เอกรัฐ ศรีสุข, กล่าวขวัญ ศรีสุข. (2562). ผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกสารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 22(1): 211-225.

วัชรพล พรมสุด, ธนพร อัศวพัฒนากูล. (2562). การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 38(6): 81-88.

ยุพา ชาญวิกรัย, ไมตรี สุทธจิตต์. (2561). พืชผักสมุนไพรเพิ่มรสชาติคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของอาหารพื้นบ้าน. วารสารโภชนบำบัด. 26(2): 20-26.

Aryal, S., Baniya, M.K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. Plants. 8(4): 96.

Bai, Y., Li, D., Zhou, T., Qin, N., Li, Z., Yu, Z., & Hua, H. (2016). Coumarins from the roots of Angelica dahurica with antioxidant and antiproliferative activities. Journal of Functional Foods. 20: 453-462.

Chen, Q., Li, P., He, J., Zhang, Z., & Liu, J. (2008). Supercritical fluid extraction for identification and determination of volatile metabolites from Angelica dahurica by GC‐MS. Journal of separation science. 31(18): 3218-3224.

Chen, Q., Li, P., Yang, H., Li, X., Zhu, J., & Chen, F. (2009). Identification of volatile compounds of Atractylode lancea rhizoma using supercritical fluid extraction and GC–MS. Journal of separation science. 32(18): 3152-3156.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Craig, W. J. (1999). Health-promoting properties of common herbs. The American Journal of Clinical Nutrition. 70(3), 491S-499S.

Dumore, N.S., & Mukhopadhyay, M. (2020). Antioxidant properties of aqueous selenium nanoparticles (ASeNPs) and its catalysts activity for 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) reduction. Journal of Molecular Structure. 1205: 127637.

Filipiak-Szok, A., Kurzawa, M., & Szłyk, E. (2014). Evaluation of antioxidants in Dong quai (Angelica sinensis) and its dietary supplements. Chemical Papers. 68: 493-503.

Imad, H., Huda, A., Salah, I. (2016). Artemisia annua: Biochemical products analysis of methanolic aerial parts extract and anti-microbial capacity. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 7(2): 1843-1868.

Li, X., Wu, X., & Huang, L. (2009). Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of radix Angelicae sinensis (Danggui). Molecules. 14(12): 5349-5361.

Liyana-Pathirana, C.M., & Shahidi, F. (2005). Antioxidant activity of commercial soft and hard wheat (Triticum aestivum L.) as affected by gastric pH conditions. Journal of agricultural and food chemistry. 53(7): 2433-2440.

Makchuchit, S., Itharat, A., & Tewtrakul, S. (2010). Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of Thai medicinal plants. Journal of the Medical Association of Thailand Chotmaihet Thangphaet. 93: S227-235.

Nalinratana, N., Kaewprem, W., Tongumpai, S., Luechapudiporn, R., Sotanaphun, U., & Meksuriyen, D. (2014). Synergistic antioxidant action of Phikud Navakot ameliorates hydrogen peroxide-induced stress in human endothelial cells. Integrative Medicine Research. 3(2): 74-82.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and medicine. 26(9-10): 1231-1237.

Sanghong, R., Junkum, A., Chaithong, U., Jitpakdi, A., Riyong, D., Tuetun, B., & Pitasawat, B. (2015). Remarkable repellency of Ligusticum sinense (Umbelliferae), a herbal alternative against laboratory populations of Anopheles minimus and Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). Malaria Journal., 14: 1-9.

Senizza, B., Zhang, L., Rocchetti, G., Zengin, G., AK, G., Yıldıztugay, E., Lucini, L. (2021). Metabolomic profiling and biological properties of six Limonium species: Novel perspectives for nutraceutical purposes. Food & Function. 12(8): 3443-3454.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Sembiring, E. N., Elya, B., & Sauriasari, R. (2018). Phytochemical screening, total flavonoid and total phenolic content and antioxidant activity of different parts of Caesalpinia bonduc (L.) Roxb. Pharmacognosy Journal. 10(1).

Shinyuy, L.M., Loe, G.E., Jansen, O., Mamede, L., Ledoux, A., Noukimi, S.F., Frederich, M. (2023). Secondary metabolites isolated from Artemisia afra and Artemisia annua and their anti-malarial, anti-inflammatory and immunomodulating properties—pharmacokinetics and pharmacodynamics: a review. Metabolites. 13(5): 613.

Sireeratawong, S., Khonsung, P., Piyabhan, P., Nanna, U., Soonthornchareonnon, N., & Jaijoy, K. (2012). Anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of Chantaleela recipe. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 9(4): 485-494.

Sitticha T. (2020). Letter from Editor. Chonburi Hospital Journal., 45(3): 163.

Song, F.L., Gan, R.Y., Zhang,Y., Xiao, Q., Kuang, L., & Li, H.B. (2010). Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. International Journal of Molecular Sciences. 11(6): 2362-2372.

Tuekaew, J., Siriwatanametanon, N., Wongkrajang, Y., Temsiririrkkul, R., & Jantan, I. (2014). Evaluation of the antioxidant activities of Ya-hom Intajak, a Thai herbal formulation, and its component plants. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 13(9): 1477-1485.

Wang, J., Xu, L., Yang, L., Liu, Z., & Zhou, L. (2011). Composition, anti bacterial and antioxidant activities of essential oils from Ligusticum sinense and L. jeholense (Umbelliferae) from China. Records of Natural Products. 5(4): 314.

Wang, Y., Chen, X., Zhao, C., Miao, J., Mao, X., Li, X., & Gao, W. (2017). Effects of temperature during processing with wine on chemical composition, antioxidant capacity and enzyme inhibition activities of Angelica sinensis Radix. International Journal of Food Science & Technology. 52(6): 1324-1332.

Wedge, D.E., Klun, J.A., Tabanca, N., Demirci, B., Ozek, T., Baser, K.H.C., Liu Z., Zhang, J. (2009). Bioactivity-guided fractionation and GC/MS fingerprinting of Angelica sinensis and Angelica archangelica root components for antifungal and mosquito deterrent activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57(2): 464-470.

Zhuang, C., Wang, Y., Zhang, Y., & Xu, N. (2018). Oxidative stress in osteoarthritis and antioxidant effect of polysaccharide from Angelica sinensis. International Journal of Biological Macromolecules. 115: 281-286.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Zhang, X.R., Li, T.N., Ren, Y.Y., Zeng, Y. J., Lv, H.Y., Wang, J., & Huang, Q.W. (2020). The important role of volatile components from a traditional Chinese medicine Dayuan-Yin against the COVID-19 pandemic. Frontiers in Pharmacology. 11: 583651

.