

บทความวิจัย

การศึกษาเปรียบเทียบขององค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ของสารสกัดตำรับเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกัน

ณัฐติยา ใจจำนงค์¹ วท.ม., อนุสรณ์ สีหนา¹ วท.ด., นพวรรณ วัชรพทุธ¹ ส.ม., ปวีริศา นพเก้า¹ ส.ม.,
กิริยาภา หลายรุ่งเรือง² ปร.ด., รสรินทร์ แหม่มประเสริฐ^{1,*} ปร.ด.

Received: June 12, 2023

Revised: August 9, 2023

Accepted: September 12, 2023

บทคัดย่อ

ตำรับยาเบญจโลกวิเชียร เป็นหนึ่งในยารักษาอาการไข้ที่บรรจุอยู่ในบัญชียาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ ในการรับประทานจะมีการผสมน้ำกระสายยา เพื่อช่วยให้ยา มีรส สีส หรือกลิ่นน่ารับประทาน ช่วยให้ยานั้นออกฤทธิ์ได้เร็วและดีขึ้น หรือช่วยเสริมฤทธิ์ตำรับยาสมุนไพรนั้นๆ การศึกษาในครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำต้มสุก น้ำมะลิ น้ำขิง และน้ำรากผักชี ด้วยวิธี Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และปริมาณฟีนอลรวมด้วยวิธี Folin-ciocalteu' reagent

ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดตำรับเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาน้ำต้มสุก น้ำต้มรากผักชี น้ำต้มขิง และน้ำต้มดอกมะลิ มีองค์ประกอบทางเคมี จำนวน 16 ชนิด 14 ชนิด 17 ชนิด และ 19 ชนิด ตามลำดับ และสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำต้มดอกมะลิและน้ำต้มรากผักชี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำต้มสุก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 37.62 ± 2.08 และ 42.50 ± 5.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาในครั้งนี้ ช่วยสนับสนุนทฤษฎีทางการแพทย์แผนไทย ที่มีการใช้ตำรับยาร่วมกับน้ำกระสายยาต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของตัวยา ทั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนารูปแบบยาตำรับเบญจโลกวิเชียรให้สามารถรับประทานได้ง่ายและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: ตำรับเบญจโลกวิเชียร เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี น้ำกระสายยา ยาหาราก
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

¹ อาจารย์ สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

² อาจารย์ วิทยาลัยการแพทย์แผนไทยอภัยภูเบศร จังหวัดปราจีนบุรี คณะสาธารณสุขศาสตร์และสหเวชศาสตร์ สถาบันพระบรมราชชนก กระทรวงสาธารณสุข

* ผู้รับผิดชอบบทความ: rodsariny@nu.ac.th

Comparative study of chemical constituents and antioxidant activity of Benchalokawichian remedy in difference mixer water

Nattiya Chaichamnong¹ M.Sc., Anusara Sihanat¹ Ph.D., Nobpawan Watcharaput¹ M.P.H.,
Pawarisa Noppakao¹ M.P.H., Kriyapa Lairungruang² Ph.D., Rodsarin Yamprasert^{1,*} Ph.D.

ABSTRACT

Benchalokawichian remedy is one of the Thai traditional medicines listed in the list of Herbal Medicinal Products of Thailand for antipyretic. Difference mixer water helps the drug have a flavorful taste, pleasant color, and good smell, to work faster and better, or enhance the effect of that herbal medicine formula. This study aimed to compare the chemical constituents of the Benchalokawichian remedy in 4 different mixer water: boiled water, jasmine water, ginger water, and coriander root water, which were also analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The antioxidant activity was analyzed via DPPH radical scavenging assay and the total phenolic content was analyzed by Folin-ciocalteau' reagent.

The result found that the Benchalokawichian remedy in boiled water, coriander root water, ginger water, and jasmine water contained about 16, 14, 17, and 19 different compounds, respectively. The Benchalokawichian remedy in jasmine water and coriander root water showed significantly higher antioxidants than the Benchalokawichian remedy in water mixer with IC_{50} values of 37.62 ± 2.08 and 42.50 ± 5.68 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The results of this study according to the theory of Thai traditional medicine that has been used in conjunction with different mixer water to help increase the effectiveness of the drug. In conclusion, these results can be used as a development of the Benchalokawichian formula to be easy for intake and more effective.

Keywords: Benchalokawichian remedy, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Difference mixer water, Harak remedy, Antioxidant

¹ Lecturer, Division of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Public Health, Naresuan University

² Lecturer, Abhaibhubejhr Collage of Thai Traditional Medicine Prachinburi, Faculty of Public Health and Allied Health Sciences, Praboromarajchanok Institute, Ministry of Public Health

* Corresponding author: rodsariny@nu.ac.th

บทนำ

ตำรับยาเบญจโลกวิเชียร เป็นยารักษาอาการไข้ 1 ใน 6 ตำรับ ที่บรรจุอยู่ในบัญชียาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ ประกอบด้วยสมุนไพรห้าชนิด ได้แก่ รากชิงชี รากย่านาง รากเท้าชาย่อม รากคนทา และ รากมะเดื่อชุมพร (National Drug Policy Group, 2023) เป็นตำรับยาที่บันทึกในคัมภีร์ดึกคิลลา ซึ่งเป็นคัมภีร์แพทย์โบราณที่ถูกบันทึกในหนังสือแพทยศาสตร์สงเคราะห์ (หนังสือทางการแพทย์แผนไทยที่ได้รับการยอมรับเป็นมาตรฐาน) มีสรรพคุณ กระทุ้งพิษไข้ (การทำให้พิษไข้ถูกขับออกมาภายนอก) หรือถอนพิษต่างๆ แก้อาการไข้หวัด ไข้พิษ ไข้กาฬ ไข้หัว ไข้หวัด เพื่อดีและโลหิต (Rehabilitation Foundation for the Promotion of traditional Thai medicine, 2001) จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า ตำรับยาเบญจโลกวิเชียร มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ลดไข้ ฤทธิ์ลดปวด (Jongchanapong, Singharachai, Palanuvej, Ruangrunsi, & Towiwat, 2010) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Juckmeta & Itharat, 2012) ฤทธิ์ต้านการแพ้ (Juckmeta, Thongdeeying & Itharat, 2014) ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Itharat, Reuangnoo, Panthong, Sangrapee, Khantham, Chatsuwat et al., 2010; Nuaeissara, Kondo, & Itharat, 2011) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Juckmeta & Itharat, 2012) เป็นต้น ซึ่งฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวมีความสอดคล้องกับสรรพคุณที่บันทึกไว้ในคัมภีร์โบราณ และจากการศึกษาพบว่าตำรับยาเบญจโลกวิเชียร มีฟีนอลิก (Phenolics) อยู่หลายชนิด ซึ่งหนึ่งในนั้นคือ Gallic acid (Tripatara, Akarasereenont, Panich, & Chandranipapongse, 2013) ซึ่งสารดังกล่าว มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย โดยเฉพาะฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการรับประทานยาเบญจโลกวิเชียร แบบดั้งเดิม มักจะนำสมุนไพรทั้งห้าชนิด ในสัดส่วนที่เท่ากันมาต้มกับน้ำ แล้วดื่มเพื่อบรรเทาอาการไข้ หรือนำสมุนไพรทั้งห้ามาบดให้เป็นผงละเอียดชงดื่มกับน้ำต้มสุก หรือปั้นเป็นยาลูกกลอน รับประทาน 3 ครั้งก่อนอาหาร อย่างไรก็ตาม สมุนไพรทั้งห้าชนิดมีรสขม ซึ่งอาจทำให้ยากต่อการรับประทาน ทั้งนี้ ทางแพทย์แผนไทย

มีการใช้น้ำกระสายยา เพื่อใช้ผสมกับตำรับยาในการรับประทาน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ ช่วยแต่งให้มีรส สีส หรือกลิ่น ให้ยารับประทานได้ง่าย เพื่อช่วยให้ยานั้นแสดงฤทธิ์หรือออกฤทธิ์ได้เร็วและดีขึ้น หรือช่วยเสริมฤทธิ์ตำรับยาสมุนไพรนั้นๆ โดยน้ำกระสายยาที่มีการใช้ร่วมกับตำรับยาที่มีสรรพคุณลดไข้ ได้แก่ น้ำขิง (*Zingiber officinale Roscoe.*) ใช้กับอาการไข้ที่มีอาการคลื่นเหียน อาเจียน และจุกเสียดแน่นท้องร่วมด้วย น้ำมะลิ (*Jasminum sambac (L.) Aiton*) ใช้กับอาการไข้ ที่มีอาการวิงเวียน อ่อนเพลีย และร้อนในกระหายน้ำ และน้ำรากผักชี (*Coriandrum sativum L.*) ใช้ในอาการไข้ ที่มีอาการไอ เจ็บคอ หรือไข้พิษ เช่น ไข้เหือด ไข้หัด และไข้สวกอีไล เป็นต้น (Ayurvedic College, 2016) จากการทบทวนวรรณกรรมฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับสรรพคุณของน้ำกระสายยา พบว่า ขิงมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ บรรเทาอาการคลื่นไส้อาเจียน โดยสารสกัดจิงเจอร์อล (Gingerol) ในขิงมีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งสารซีโรโทนินที่ระบบประสาทส่วนกลางและทางเดินอาหาร (Kamdaeng, 2019) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Tephtong, Junthong-oon, Prajuabjinda, Reuangnoo, & Itharat, 2012) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Sakpakdeejaroen, Makchuchit, & Itharat, 2014) เป็นต้น มะลิ มีฤทธิ์สงบประสาท ทำให้นอนหลับ และขยายหลอดเลือด (Kunhachan, Banchonglikitkul, Kajsongkram, Khayungamnawee, & Leelamanit, 2012) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Thongmak, Janpat, Chandang, Marde & Noipha, 2021) และผักชี มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Saxena, Rathore, Maheshwari, Sharma, & Ranjan, 2016)

อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการศึกษาตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายยาที่แตกต่างกัน ว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันหรือไม่ ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้ จึงทำการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างชนิดกัน เพื่อเป็นการพิสูจน์องค์ความรู้ทางการแพทย์แผนไทย และสามารถพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์และการพัฒนายาให้ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

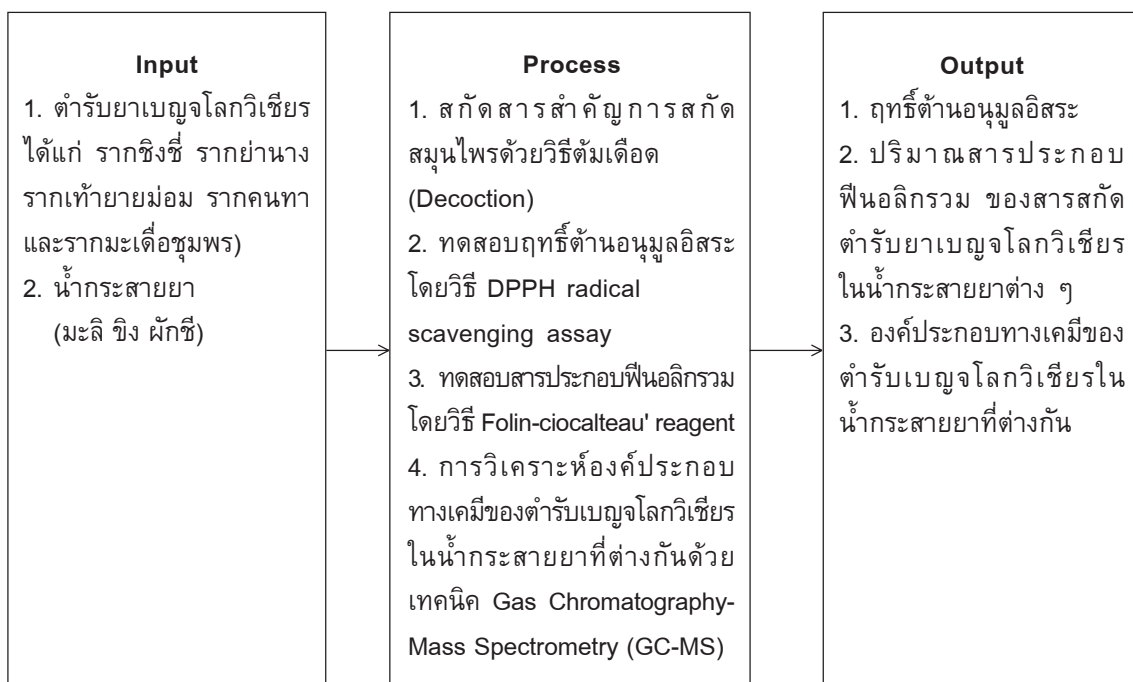
1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายต่างชนิดด้วยวิธี Gas

Chromatography-Mass Spectrometry

2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างสารสกัดตำรับเบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายต่างชนิด

3. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกรวมระหว่างสารสกัดตำรับเบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายต่างชนิด

ระเบียบวิธีวิจัย



ภาพ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกรวมและองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับเบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายยาต่างชนิด

การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

ผู้วิจัยได้ดำเนินการเก็บวัตถุดิบสมุนไพรจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ เก็บตัวอย่างรากของต้นย่านาง คนทา ชิงช้า มะเดื่อชุมพร จากอำเภอลาดยาว จังหวัดนครสวรรค์ เก็บตัวอย่างรากของต้นเท้าชายม่อม จากตำบลป่าจั่ว

อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย ชื่อตัวอย่างต้นผักชี จากตลาดศาลปู่ดำ อำเภอเมือง ตำบลในเมือง จังหวัดพิษณุโลก ชื่อตัวอย่างมะลิจากสวนมะลิ ตำบลยางสูง อำเภอขามเฒ่าลักษ์บุรี จังหวัดกำแพงเพชร และชื่อตัวอย่างชิงจากสวนชิง อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ และได้จัดทำ Herbarium พร้อมส่งตัวอย่างสมุนไพรฝากตัวอย่างที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร และได้รับเลข Specimens แสดงดังตาราง 1 และทำแห้งสมุนไพร ดังนี้

สมุนไพรประเภทราก จัดเตรียมโดยการนำไปล้าง และหั่นสับรากที่มีขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง ได้แก่ รากคนทา รากชิงชี รากย่านาง รากเท้าชายม่อม รากมะเดื่อชุมพร รากที่มีขนาดเล็ก (รากผักชี) นำมาหั่น แยกส่วนราก และส่วนต้น แล้วจึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

สมุนไพรประเภทดอก จัดเตรียมโดยทำการคัดแยก สิ่งแปลกปลอม จากนั้นนำไปล้าง แล้วนำไปอบที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

สมุนไพรประเภทเหง้า จัดเตรียมโดยทำการคัดแยก สิ่งแปลกปลอม จากนั้นนำไปล้างและนึ่ง (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นจึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตาราง 1 ชื่อสมุนไพร ส่วนที่ใช้และเลข Specimens

ชื่อท้องถิ่น	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้	No. of specimens
ชิงชี	<i>Capparis micracantha</i> DC.	Capparaceae	ราก	05793
ย่านาง	<i>Tiliacora triantha</i> Diels.	Menispermaceae	ราก	05791
เท้าชายม่อม	<i>Clerodendrum indicum</i> (L.) Kuntze.	Lamiaceae	ราก	05798
มะเดื่อชุมพร	<i>Ficus racemosa</i> L.	Moraceae	ราก	05792
คนทา	<i>Harrisonia perforata</i> (Blanco) Merr.	Simaroubaceae	ราก	05796
ผักชี	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Apiaceae	ราก	05797
มะลิ	<i>Jasminum sambac</i> (L.) Aiton	Oleaceae	ดอก	05794
ขิง	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.	Zingiberaceae	เหง้า	05795

การสกัดสารสำคัญสมุนไพรของตำรับยา เภยจโลกวิเชียรในน้ำกระสายยาที่ต่างกัน

เตรียมสมุนไพรตำรับเภยจโลกวิเชียร ได้แก่ รากชิงชี รากย่านาง รากมะเดื่อชุมพร รากคนทา และ รากเท้าชายม่อม อย่างละ 20 กรัม ไปบดพอยาบ จากนั้นนำสมุนไพรกระสายยาจำนวน 20 กรัมไปต้ม ในน้ำ 2,000 มิลลิลิตร รอน้ำเดือด (100 องศาเซลเซียส) แล้วจึงใส่สมุนไพรตำรับเภยจโลกวิเชียรที่เตรียมไว้ ต้มจนเดือดอีกครั้ง และตั้งไฟทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วทำการกรองเอากากออก นำน้ำสารสกัด ที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยกระบวนการการทำแห้งแบบ แช่เยือกแข็ง (Lyophilization) โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบ แช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) และชั่งน้ำหนักสารสกัด ที่ได้ เพื่อคำนวณหาร้อยละสารสกัด (% yield)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

เป็นการทดสอบโดยใช้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็น อนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนสี ของ DPPH ให้จางลง

วิธีการทดสอบนำสารสกัด 10 มิลลิกรัมและสารทดสอบ มาตรฐาน (Positive control) BHT 10 มิลลิกรัม แล้วละลาย ด้วย absolute ethanol 10 มิลลิลิตร และทำการเจือจาง ด้วยวิธี serial dilution ให้ได้ระดับความเข้มข้น 100 50 10 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสาร มาตรฐานและสารละลายสารสกัดที่เตรียมไว้ลงใน 96 well plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย

DPPH ลงใน 96 well plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร เช่นกัน และเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50.0 (IC_{50}) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compound)

เป็นการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วย Folin-Ciocalteu' reagent โดยใช้ Gallic acid เป็นสารทดสอบมาตรฐานสารประกอบฟีนอลรวมเมื่อทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu'reagent จะทำให้เกิดเป็นสารสีน้ำเงิน

วิธีการทดสอบเตรียมสารสกัด 10 มิลลิกรัมและสารทดสอบมาตรฐาน Gallic acid 10 มิลลิกรัม แล้วละลายด้วยแอ็บโซลูท เอทานอล (Absolute ethanol) 10 มิลลิตร จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate เติม Folin-Ciocalteu' reagent 100 ไมโครลิตร และเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate : Na_2CO_3) ลงไป 80 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) โดยคิดเป็น มิลลิกรัมของแกลลิกแอซิดต่อกรัมสารสกัด (mgGAE/g extract)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตำรับเบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายยาที่ต่างกันด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี ได้ทำการศึกษาโดยใช้เครื่อง Bruker Scion รุ่น 436-GC ที่ต่อกับเครื่อง Single quadrupole mass spectrophotometer ซึ่งประกอบด้วย เครื่องฉีดตัวอย่างอัตโนมัติ CP-8410 คอลัมน์ Scion-5MS 30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m มีก๊าซฮีเลียม (99.99%) เป็นตัวพาโดยมีอัตราการไหลคงที่ 1 มิลลิลิตร/นาที โดยความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่างที่ละลายในเมทานอล

ที่ใช้ในการทดลองเท่ากับ 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมี injection volume เท่ากับ 1 ไมโครลิตร Injection mode ที่ใช้ในการฉีดตัวอย่างคือโหมด Split/Splitless วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม MS Work station 8 ได้แก่ Mass spectrum และโครมาโตแกรม สำหรับการระบุชนิดของสารจะทำการเปรียบเทียบ Mass spectrum ของสารที่พบกับข้อมูลใน Library ของ National Institute Standards and Technology (NIST) และรายงานเป็นชื่อสาร (Compound names) สูตรโมเลกุล (Molecular formula) และน้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) และร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (%Peak Area)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการศึกษาการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการ DPPH radical scavenging assay การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตำรับเบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายยาที่ต่างกัน จะทำการทดสอบซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง เพื่อเป็นการตรวจสอบความแม่นยำของผลที่ได้ นำเสนอข้อมูลในรูปแบบค่าเฉลี่ย (Mean) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการวัด (Standard error of mean) และใช้ One-way ANOVA แบบ Dunnett's test เปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐานกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05

ผลการวิจัย

การสกัดสารสำคัญสมุนไพรของตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายยาที่ต่างกัน

จากตาราง 2 พบว่า สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำขิงที่สกัดด้วยวิธีการต้มเดือด มีร้อยละสารสกัดมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 4.1 สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มรากผักชีที่สกัดด้วยวิธีการต้มเดือด มีร้อยละสารสกัดมากเป็นอันดับ 2 โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 2.3 และตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่สกัดด้วยวิธีการต้มเดือด มีร้อยละสารสกัดน้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.7

ตาราง 2 ร้อยละสารสกัด (% yield) ของสารสกัดสมุนไพรตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกัน

ตัวอย่าง	ร้อยละสารสกัด (% yield)	รหัสสารสกัด
ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายน้ำต้มสุก	0.7	HR
ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำขิง	4.1	HR+ GG
ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำมะลิ	1.9	HR+ JM
ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มรากผักชี	2.3	HR+ CD

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกัน พบว่า สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำมะลิ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 37.62 ± 2.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม น้ำรากผักชี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากเป็นอันดับที่ 2 โดยมีค่า IC_{50}

เท่ากับ 42.50 ± 5.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำขิงที่สกัดด้วยวิธี การต้มเดือด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด โดยมีค่า IC_{50} มากกว่า 100 เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ได้แก่ BHT พบว่า สารสกัดที่สกัดทุกตัวอย่าง มี IC_{50} มากกว่าสารมาตรฐาน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) หมายถึง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ น้อยกว่าสารมาตรฐาน

ตาราง 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกัน

ตัวอย่าง	ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ (%radical scavenging)				$IC_{50} \pm S.D.$ ($\mu g/ml$)	p-value
	1	10	50	100		
HR	18.34 ± 1.41	26.84 ± 3.69	36.34 ± 1.04	72.80 ± 4.20	75.26 ± 4.94	$< 0.001^*$
HR+ GG	16.31 ± 0.93	18.49 ± 1.45	34.94 ± 1.66	45.49 ± 2.88	> 100	$< 0.001^*$
HR+ JM	26.57 ± 4.22	29.36 ± 3.40	60.31 ± 1.89	80.89 ± 5.36	37.62 ± 3.60	$< 0.001^*$
HR+ CD	30.48 ± 4.58	35.92 ± 4.12	53.90 ± 2.26	70.90 ± 4.03	42.50 ± 9.84	$< 0.001^*$
BHT	$24.86 \pm .03$	46.24 ± 0.78	79.31 ± 1.07	89.48 ± 0.69	11.88 ± 0.56	Control

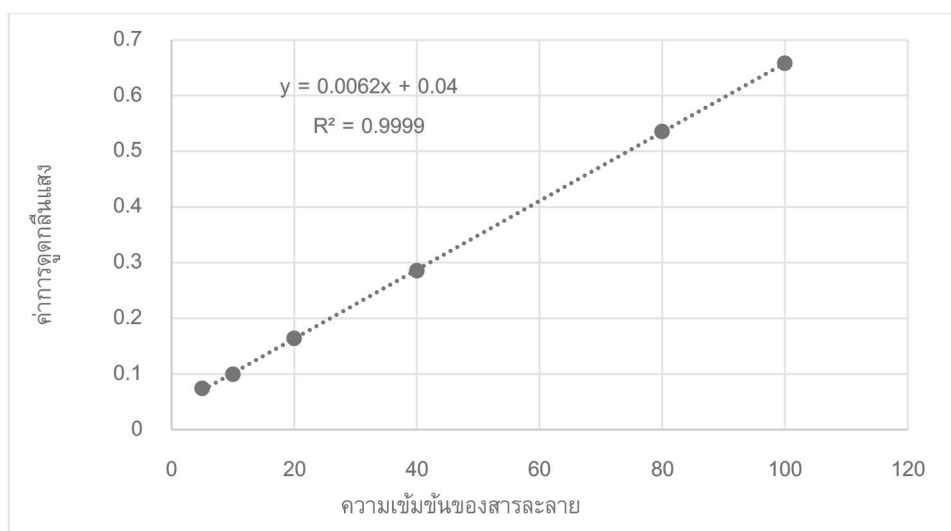
วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ One-way ANOVA และใช้การเปรียบเทียบรายคู่ของ Dunnett's Test

*p-value < 0.05

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu' reagent

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu' reagent ของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกัน เทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid โดยมีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) คือ 0.999 และสมการเส้นตรง คือ $y = 0.0062x + 0.04$ แสดงดังภาพ 2 ผลการศึกษา พบว่า สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำมะลิ มีปริมาณสาร

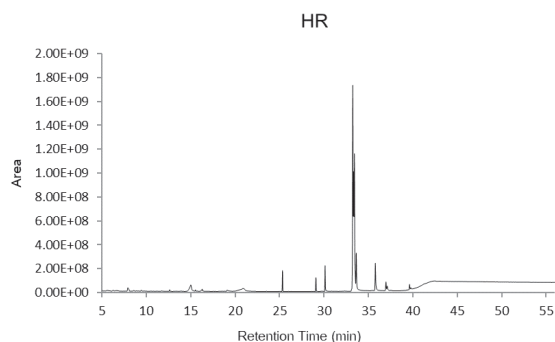
ประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 13.82 ± 0.55 mg GAE/g extract สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มสุก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากเป็นอันดับที่ 2 มีค่าเท่ากับ 11.29 ± 0.52 mg GAE/g extract และสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำขิงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 8.64 ± 0.25 mg GAE/g extract (ตาราง 4)



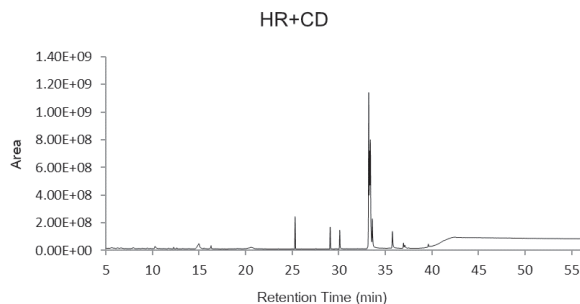
ภาพ 2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก และสมการเส้นตรง

ตาราง 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu' reagent ของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกัน

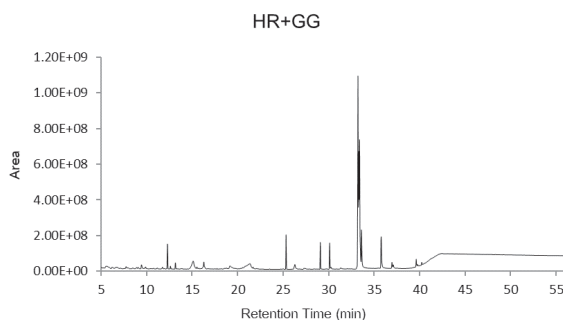
สารละลายตัวอย่าง	TPC (mg GAE/g extract)
HR	11.29 ± 0.52
HR+ GG	8.64 ± 0.25
HR+ JM	13.82 ± 0.55
HR+ CD	$9.80 \pm .88$



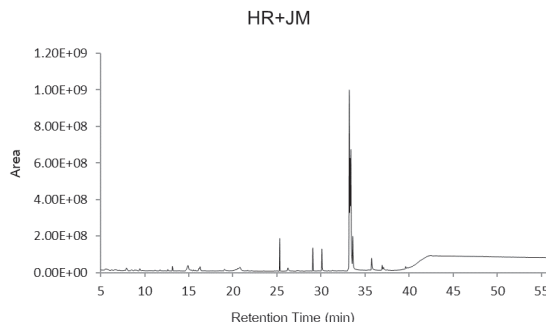
(ก) สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียร
ในกระสายยาน้ำต้มสุก



(ข) สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียร
ในกระสายยาน้ำต้มรากผักชี



(ค) สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียร
ในกระสายยาน้ำต้มขิง



(ง) สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียร
ในกระสายยาน้ำต้มดอกมะลิ

ภาพ 3 GC-MS Chromatogram ของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่มีน้ำกระสายยาต่างชนิดกัน

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตำรับ เบญจโลกวิเชียรด้วยเทคนิค Gas Chromatogra- phy-Mass Spectrometry (GC-MS)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด
ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่มีน้ำกระสายยาต่างชนิดกัน
ได้แก่ น้ำต้มสุก น้ำรากผักชี น้ำขิง และน้ำมะลิ
มีองค์ประกอบทางเคมีจำนวน 16 ชนิด 14 ชนิด 17 ชนิด
และ 19 ชนิด

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด
ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มสุก
พบองค์ประกอบทางเคมีจำนวน 16 ชนิด โดยสาร
9-Octadecenamide, (Z)- มีร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ
(Peak area) สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 43.8 รองลงมาคือ
Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)
ethyl ester และ Octadecanoic acid, 2,3-dihydroxypropyl
ester โดยมีค่าร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) เท่ากับ
12.4 และ 9.3 ตามลำดับ ผลแสดงดังตาราง 5 และ
ภาพ 2 (ก)

ตาราง 5 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มสุก

No.	R/T	Name of the compound	Molecular Formula	MW (g/mol)	Peak area (%)
1	5.60	3 (2H)-Furanone, 4-hydroxy-5-methyl	C ₅ H ₆ O ₃	114	0.7
2	6.23	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	0.7
3	7.90	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, 1, 7, 7-trimethyl-, (1S)-	C ₁₀ H ₁₆ O	152	1.5
4	8.58	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.7
5	9.41	Butyl aldoxime, 3-methyl-, syn	C ₅ H ₁₁ NO	101	0.7
6	12.61	Phenol, 2, 6-dimethoxy	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	0.9
7	14.98	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342	2.4
8	15.51	2- [2-[Dimethylamino]-1-hydroxy] ethyldibenzofuran	C ₁₆ H ₁₇ NO ₂	255	0.8
9	16.27	Butylated Hydroxytoluene	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.1
10	25.30	Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	6.9
11	29.07	Methyl stearate	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	4.7
12	30.11	Octadecanamide	C ₁₈ H ₃₇ NO	283	8.5
13	33.40	9-Octadecenamide, (Z)-	C ₁₈ H ₃₅ NO	281	43.8
14	35.76	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330	12.4
15	39.62	Octadecanoic acid, 2, 3-dihydroxypropyl ester	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	358	9.3
16	39.77	1-Tridecanamine, N, N-dimethyl-	C ₁₅ H ₃₃ N	227	3.4

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มสุกพบองค์ประกอบทางเคมีจำนวน 14 ชนิด โดยสาร Hexadecanoic acid, methyl ester มีร้อยละพื้นที่

ใต้กราฟ (Peak area) สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 26.5 รองลงมาคือ Methyl stearate และ Octadecanamide โดยมีค่าร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) เท่ากับ 18.2 และ 15.8 ตามลำดับ ผลแสดงดังตาราง 6 และภาพ 2 (ข)

ตาราง 6 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มรากผักชี

No.	R/T	Name of the compound	Molecular Formula	MW (g/mol)	Peak area (%)
1	5.66	3 (2H)-Furanone, 4-hydroxy-5-methyl	C ₅ H ₆ O ₃	114	2.0
2	6.22	D-Alanine, N-propargyloxycarbonyl-, isohexyl ester	C ₁₃ H ₂₁ NO ₄	225	1.9
3	6.58	Mequinol	C ₇ H ₈ O ₂	124	1.8
4	7.89	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, 1, 7, 7-trimethyl-, (1S)-	C ₁₀ H ₁₆ O	152	2.1
5	9.42	Cyclopropanemethanol, .alpha., .alpha.-dimethyl-2-methylene	C ₇ H ₁₂ O	112	1.8
6	10.25	5-O-Methyl-d-gluconic acid dimethylamide	C ₉ H ₁₉ NO ₆	237	3.0
7	12.26	Triacetin	C ₉ H ₁₄ O ₆	218	2.4
8	16.27	Butylated Hydroxytoluene	C ₁₅ H ₂₄ O	220	3.6
9	25.31	Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	26.5
10	29.07	Methyl stearate	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	18.2
11	30.09	Octadecanamide	C ₁₈ H ₃₇ NO	283	15.8
12	33.22	9-Octadecenamide, (Z)-	C ₁₈ H ₃₅ NO	281	1.1
13	35.76	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330	14.8
14	39.62	Octadecanoic acid, 2, 3-dihydroxypropyl ester	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	358	4.9

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มเหง้าขิง พบองค์ประกอบทางเคมีจำนวน 17 ชนิด โดยสาร 9-Octadecenamide, (Z)- มีร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 35.2 รองลงมา คือ

Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester และ Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester โดยมีค่าร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) เท่ากับ 10.7 และ 10.1 ตามลำดับ ผลแสดงดังตาราง 7 และภาพ 2 (ค)

ตาราง 7 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มเหง้าขิง

No.	R/T	Name of the compound	Molecular Formula	MW (g/mol)	Peak area (%)
1	5.51	3 (2H)-Furanone, 4-hydroxy-5-methyl	$C_5H_6O_3$	114	1.4
2	5.63	2, 3-Dioxabicyclo [2.2.1] heptane, 1-methyl	$C_6H_{10}O_2$	114	1.4
3	5.81	Tridemorph	$C_{19}H_{39}NO$	297	1.2
4	6.17	Maltol	$C_6H_6O_3$	126	1.2
5	6.68	Imidazole, 2-amin o-5- [(2-carboxy) vinyl]-	$C_6H_7N_3O_2$	153	1.2
6	7.71	4H-Pyran-4-one, 2, 3-dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl	$C_6H_8O_4$	144	1.3
7	9.42	Benzofuran, 2,3-dihydro	C_8H_8O	120	1.8
8	12.26	Triacetin	$C_9H_{14}O_6$	218	7.9
9	12.61	Phenol, 2,6-dimethoxy	$C_8H_{10}O_3$	154	1.4
10	13.14	Benzoic acid, 4-formyl-, methyl ester	$C_9H_8O_3$	164	2.4
11	16.26	Butylated Hydroxytoluene	$C_{15}H_{24}O$	220	2.7
12	25.31	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	270	10.7
13	29.07	Methyl stearate	$C_{19}H_{38}O_2$	298	8.4
14	30.10	Octadecanamide	$C_{18}H_{37}NO$	283	8.2
15	33.30	9-Octadecenamide, (Z)-	$C_{18}H_{35}NO$	281	35.2
16	35.76	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester	$C_{19}H_{38}O_4$	330	10.1
17	39.62	Octadecanoic acid, 2, 3-dihydroxypropyl ester	$C_{21}H_{42}O_4$	358	3.5

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มดอกมะลิ พบองค์ประกอบทางเคมีจำนวน 19 ชนิด โดยสาร 9-Octadecenamide, (Z)- มีร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ

(Peak area) สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 45.6 รองลงมาคือ Hexadecanoic acid, methyl ester และ Octadecanamide โดยมีค่าร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) เท่ากับ 13.7 และ 9.5 ตามลำดับ ผลแสดงดังตาราง 8 และภาพ 2 (ง)

ตาราง 8 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำตำดอกมะลิ

No.	R/T	Name of the compound	Molecular Formula	MW (g/mol)	Peak area (%)
1	5.51	N-carbobenzyloxy-L-tyrosyl-L-valine	$C_{22}H_{26}N_2O_6$	414	1.4
2	6.20	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-hydroxy	$C_7H_{10}O_2$	126	1.1
3	6.68	Imidazole, 2-amino-5-[(2-carboxy)vinyl]-	$C_6H_7N_3O_2$	153	1.2
4	7.60	Benzenepropanoic acid, .alpha.-(hydroxyimino)-	$C_9H_9NO_3$	179	0.9
5	7.73	4H-Pyran-4-one, 2, 3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl	$C_6H_8O_4$	144	1.0
6	7.89	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, 1, 7, 7-trimethyl-, (1S)-	$C_{10}H_{16}O$	152	1.9
7	8.48	2-Cyclohexen-1-one, 4-ethynyl-4-hydroxy-3, 5, 5-trimethyl	$C_{11}H_{14}O_2$	178	1.1
8	8.87	Catechol	$C_6H_6O_2$	110	1.2
9	9.04	Acetic anhydride	$C_4H_6O_3$	102	1.0
10	9.42	Benzofuran, 2, 3-dihydro	C_8H_8O	120	1.6
11	12.61	Phenol, 2, 6-dimethoxy	$C_8H_{10}O_3$	154	1.3
12	13.13	Benzoic acid, 4-formyl-, methyl ester	$C_9H_8O_3$	164	2.6
13	16.26	Butylated Hydroxytoluene	$C_{15}H_{24}O$	220	2.4
14	25.31	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	270	13.7
15	29.07	Methyl stearate	$C_{19}H_{38}O_2$	298	4.6
16	30.09	Octadecanamide	$C_{18}H_{37}NO$	283	9.5
17	33.30	9-Octadecenamide, (Z)-	$C_{18}H_{35}NO$	281	45.6
18	35.75	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester	$C_{19}H_{38}O_4$	330	5.8
19	39.62	Octadecanoic acid, 2, 3-dihydroxypropyl ester	$C_{21}H_{42}O_4$	358	2.2

สรุปและอภิปรายผล

ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรประกอบด้วย สมุนไพรร 5 ชนิด ได้แก่ รากชิงช้า รากย่านาง รากเท้าชาย่อม รากคนทา และรากมะเดื่อชุมพร เป็นตำรับยาที่บันทึกอยู่ในตำราการแพทย์แผนไทย และบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ มีสรรพคุณใช้เป็นยาแก้ไข้ กระทั้งพิษหรือถอนพิษต่างๆ วิธีการรับประทาน ทำโดยนำ สมุนไพรร ทั้งห้าชนิดในสัดส่วนที่เท่ากันมาต้มกับน้ำ แล้วดื่มเพื่อบรรเทาอาการไข้ หรือนำสมุนไพรร ทั้งห้ามาบดให้เป็นผงละเอียด ชงดื่มกับน้ำต้มสุก หรือปั้นเป็นยาลูกกลอนรับประทาน 3 ครั้งก่อนอาหาร แต่ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรประกอบด้วยสมุนไพรร ที่มีรสขมเย็น ซึ่งอาจทำให้ยาก

ต่อการรับประทาน ทั้งนี้ ทางกรมแพทย์แผนไทยมีการใช้น้ำกระสายยาเพื่อใช้ผสมกับตำรับยาในการรับประทาน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยแต่งให้มีรส สีส หรือกลิ่น ให้ยานำรับประทาน และช่วยให้น้ำนั้นแสดงฤทธิ์หรือออกฤทธิ์ได้เร็วและดีขึ้น หรือช่วยเสริมฤทธิ์ตำรับยาสมุนไพรร นั้นๆ (Ayurvedic College (Cheevakakomlapaj, 2016) โดยน้ำกระสายยาที่มีการใช้ร่วมกับตำรับยาที่มีสรรพคุณลดไข้ ได้แก่ น้ำต้มสุก น้ำต้มรากผักชี น้ำต้มเหง้าขิง และน้ำต้มดอกมะลิ

ผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้ พบว่าสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาน้ำต้มสุก

มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 75.26 ± 2.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kwanhian & Bunluepuech (2018) ซึ่งทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่สกัดด้วยน้ำโดยมีค่า SC_{50} เท่ากับ 120.17 ± 0.07 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และพบว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาดอกมะลิ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 37.62 ± 3.60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาของ Thongmak, Janpat, Chandang, Marde & Noipha (2021) พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาดดอกมะลิมีค่า IC_{50} เท่ากับ 37.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกัน ในครั้งนี้เป็นการศึกษาแรก โดยพบว่า กระสายยาน้ำดอกมะลิ และกระสายยาน้ำต้มรากผักชี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า การใช้ใช้น้ำต้มสุกเป็นกระสายยา ซึ่งถือว่าเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก โดยมีค่า IC_{50} ต่ำกว่า 65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามเกณฑ์ของ Gomes et al. (2010) (ถ้าค่า IC_{50} ต่ำกว่า 65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ามีฤทธิ์ดีมาก ค่า IC_{50} ระหว่าง 65-152 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ดี ส่วนค่า IC_{50} มากกว่า 152 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต่ำ) ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่า น้ำกระสายยาดอกมะลิและรากผักชีช่วยให้สารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีขึ้น

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่ผสมด้วยน้ำกระสายยาต่างกั นมีจำนวนสารสำคัญที่พบแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจำนวนขององค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกันไม่มีความเชื่อมโยงกับชนิดสาร เนื่องจากการเพิ่มน้ำกระสายยาเข้าไปในตำรับเบญจโลกวิเชียร อาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อกัน (Additive or synergistic effect) (Jeong et al., 2023) จนทำให้สารบางตัวหายไป หรือมีสารตัวใหม่เพิ่มเติมเข้ามา แต่ปฏิกิริยาดังกล่าวจะช่วยให้ตำรับยา

มีสรรพคุณที่ดีขึ้น จะเห็นได้จากสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มรากผักชีที่มีจำนวนสารสำคัญที่น้อยลง เมื่อเทียบกับสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มสุก และพบว่าสารที่มีร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของทั้งสองสารสกัดนั้นต่างกัน คือ Hexadecanoic acid, methyl ester และ 9-Octadecenamide และสอดคล้องกับผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบว่า กระสายยาน้ำต้มรากผักชี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า การใช้ใช้น้ำต้มสุกเป็นกระสายยา

สารสำคัญที่พบในสารสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรที่มีเหมือนกันในน้ำกระสายยาน้ำต้มสุก น้ำขิง และน้ำดอกมะลิ ได้แก่ Butylated Hydroxytoluene, Hexadecanoic acid, methyl ester, Methyl stearate, Octadecanamide, 9-Octadecenamide, (Z)-, Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester, Octadecanoic acid, 2, 3-dihydroxypropyl ester โดยสาร 9-Octadecenamide, (Z)- เป็นสารที่มีร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) สูงที่สุดในทุกน้ำกระสายยา จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า สาร 9-Octadecenamide, (Z)- มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย ได้แก่ Anti-cancer, Anti-proliferative, (Asghar, Habib-ur-Rehman, Choudahry, & Atta-ur-rahman, 2011) Anti-microbial และ Antioxidant (Abubakar & Majinda, 2016) และจากการศึกษาพบว่าสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มดอกมะลิมีร้อยละพื้นที่ใต้กราฟของสาร 9-Octadecenamide, (Z)-มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มสุกซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบว่า สกัดตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในกระสายยาน้ำต้มดอกมะลิ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด และมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด ดังนั้น อาจจะใช้สารสำคัญดังกล่าวเป็นสารควบคุมคุณภาพ สำหรับการศึกษาในอนาคต

ทั้งนี้การศึกษาในครั้งนี้ช่วยสนับสนุนทฤษฎีทางการแพทย์แผนไทย ที่มีการใช้ตำรับยาร่วมกับน้ำกระสายยาต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของตัวยารวมถึงช่วยให้สามารถรับประทานได้ง่ายมากขึ้น

เนื่องจากตำรับยาเบญจโลกวิเชียร เป็นตำรับยาที่มี รสขมจัด ทำให้รับประทานได้ค่อนข้างยาก แต่หากรับประทานยากคู่กับน้ำกระสายต่างๆ เช่น น้ำมะลิ น้ำขิง และน้ำรากผักชี ก็จะสามารถทำให้สามารถรับประทานได้ง่ายยิ่งขึ้น และช่วยเสริมประสิทธิภาพให้กับตำรับยาได้

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

การศึกษาในครั้งนี้ช่วยสนับสนุนทฤษฎีทางการ แพทย์แผนไทย ที่มีการใช้ตำรับยาร่วมกับน้ำกระสาย ยาต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของตัวยา รวมถึง สามารถนำผลการศึกษาไปใช้ในการพัฒนารูปแบบ ตำรับเบญจโลกวิเชียรให้มีรูปลักษณะที่ทันสมัยและ ง่ายต่อการรับประทาน

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

การศึกษาค้างนี้ ได้ทำการศึกษาเพียงฤทธิ์ด้าน อนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกรวมของตำรับยา เบญจโลกวิเชียรในน้ำกระสายยาที่แตกต่างกันเท่านั้น ควรทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ เพิ่มเติม ได้แก่ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ลดไข้ และฤทธิ์ในการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงการศึกษารูปแบบประกอบทางเคมีเพื่อ หาปริมาณสารสำคัญเช่น เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยทุนงบประมาณ รายได้ จากคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัย นเรศวร (ปี พ.ศ. 2565) ขอขอบพระคุณ หอปฏิบัติกร ทางเภสัชกรรมไทย สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่เอื้อเพื่อ สถานที่ในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Abubakar, M., & Majinda, R. R. (2016). GC-MS analysis and preliminary antimicrobial activity of *Albizia adianthifolia* (Schumacher) and *Pterocarpus angolensis* (DC). *Medicines (Basel)*, 3(1), 3.
- Asghar, S. F., Habib-ur-Rehman, Choudahry, M. I., & Atta-ur-rahman (2011). Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis of petroleum ether extract (oil) and bioassays of crude extract of *Iris germanica*. *Journal of Genetics and Molecular Biology*, 3(7), 95-100.
- Ayurvedic College (Cheevakakomlapaj). (2016). *Thai pharmacy textbook*. Bangkok: Pikanat Printing Center.
- Gomes de Melo, J., de Sousa Araújo, T. A., Thijana Nobre de Almeida e Castro, V., Lyra de Vasconcelos Cabral, D., do Desterro Rodrigues, M., Carneiro do Nascimento, S., et al. (2010). Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. *Molecules*, 15(12), 8534-8542.
- Itharat, A., Reuangnoo, S., Panthong, S., Sangraee, C., Khamtham, S., Chatsuwana, J., et al. (2010). Antimicrobial and cytotoxic activities of five Thai plants used as antipyretic drug. *Planta Medica*, 76(12), 106.
- Jeong J-Y, Jung I-G, Yum S-H, Hwang Y-J. In Vitro Synergistic Inhibitory Effects of Plant Extract Combinations on Bacterial Growth of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceuticals*. 2023; 16(10):1491.

- Jongchanapong, A., Singharachai, C., Palanuvej, C., Ruangrunsi, N., & Towiwat P. (2010). Antipyretic and antinociceptive effects of Ben-cha-lo-ka-wi-chian remedy. *Journal of Health Research*, 24(1), 15-22.
- Juckmeta, T., & Itharat, A. (2012). Anti-inflammatory and antioxidant activities of Thai traditional remedy called "Ya-harak". *Journal of Health Research*, 26(4), 205-210.
- Juckmeta, T., Thongdeeying, P., & Itharat, A. (2014). Inhibitory effect on β -Hexosaminidase release from RBL-2H3 cells of extracts and some pure constituents of Benchalokawichian, a Thai herbal remedy, used for allergic disorders. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-8.
- Kamdaeng, P. (2019). Ginger: Reduce nausea and vomiting. *Journal of Nursing, Siam University*, 19(37), 148-160.
- Kunhachan, P., Banchonglikitkul, C., Kajsongkram, T., Khayungarnawee, A., Leelamanit, W. (2012) Chemical composition, toxicity and vasodilatation effect of the flowers extract of *Jasminum sambac* (L.) Ait. "G. Duke of Tuscany". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012:471312. doi: 10.1155/2012/471312.
- Kwanhian, W., & Bunluepuech, K. (2018). Cytotoxicity, anti-inflammation and antioxidant activities of water extracted Ya-Ha-Rak. *Wichcha journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University*, 37(special), 27-38.
- National Drug Policy Group. (2023). *The Thai national list of essential herbal medicine*, 2023. Retrieved June12, 2023, from <https://ratchakitcha.soc.go.th/documents/140D130S0000000004500.pdf> (in Thai).
- Nuaeissara, S., Kondo, S., & Itharat, A. (2011). Antimicrobial activity of the extracts from Benchalokawichian remedy and its components. *The Journal of the Medical Association of Thailand*, 94 (Suppl 7), 172-177.
- Rehabilitation Foundation for the Promotion of traditional Thai medicine. Ayurvedic College (Cheevakakomalapaj). (2001). *Thai traditional medical texts (medical assistance)*. 2nd ed. Bangkok: Samja-reunpanich.
- Sakpakdeejaroen, I., Makchuchit, S., & Itharat, A. (2014). Nitric oxide inhibitory activity of herbal extract formulae for anti-inflammation. *Thammasat Medical Journal*, 14(1), 7-12.
- Saxena, S. N., Rathore, S. S., Maheshwari, G., Sharma, L. K., & Ranjan, J. K. (2016). Analysis of medicinally important compounds and anti-oxidant activity in solvent extracts of coriander (*Coriandrum sativum* L.) plant parts, *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 25(1), 65-69.
- Tephtong, P., Junthong-oon, J., Prajuabjinda, O., Reuangnoo, S., & Itharat, A. *Comparative study of antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extracts of ginger, black pepper and long pepper*. In Trakulwaranon, P. (ED). *Proceeding of of 1st Conference on Graduate Student Network of Thailand (GS-NETT 2012)*. (pp. 60). Bangkok: Thammasat University.
- Thongmak, K., Janpat, T., Chandang, R., Marde & Noipha K. (2021). Preliminary phytochemical study and antioxidant activity of five flowers remedy. *Journal of Traditional Thai Medical Research*, 7(2), 61-74.

Tripatara, P., Akarasereenont, P., Panich, U., & Chandranipapongse, W. (2013). *The antioxidant, antiplatelets, and anti-inflammatory effects of AyurvedSiriraj Ha-Rak recipe*. (Research report). Thailand Science Research and Innovation (TSRI).