

การประเมินเบื้องต้นในหลอดทดลองถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านม MCF7 ในตำรับยาบำรุงกำลังของหมอฟันบ้าน

ปริยาภัทร สิงห์ทอง^{*,§}, พรประภา ชุนถนอม[†], ศศิธร ชูศรี[‡]

*คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34000

[†]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตคลองหลวง จังหวัดสระบุรี 47160

[‡]คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

[§]ผู้รับผิดชอบบทความ: pariyapat.bs@gmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการประเมินตำรับยา จำนวน 15 ตำรับ ที่มีสรรพคุณบำรุงกำลังของหมอฟันบ้านในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยสกลนคร หลวงปู่แป้น สุภโท โดยทำการประเมินเบื้องต้นในระดับหลอดทดลองถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณสารแทนนิน ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (vero cell) และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7) ของสารสกัดจากเอทานอล ผลการศึกษา ตำรับยาที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH คือ ตำรับ THS013, THS007 และ THS006 มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 81.6 ± 0.9 , 71.7 ± 3.9 และ 69.9 ± 2.0 ตามลำดับ ตำรับที่มีฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงสุด คือ THS008, THS015 และ THS013 มีค่าเท่ากับ 3.2 ± 0.0 , 3.1 ± 0.1 และ 3.0 ± 0.0 mg of ferrous sulphate equivalence/g of extract สารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงสุด คือ THS015, THS005 และ THS009 พบในปริมาณ 3.4-3.0 mg GAE/ml สารสกัดที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด คือ ตำรับที่ THS014, THS011 และ THS005 พบในปริมาณ 4.4-3.3 mg CE/ml และ สารสกัดที่มีปริมาณแทนนินสูงสุด คือ ตำรับที่ THS003, THS004 และ THS001 พบในปริมาณ 2.3-2.2 mg TAE/ml นอกจากนี้ตำรับยาที่มีความสามารถในการลดความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ มากที่สุด คือ THS001 มีค่า IC_{50} เท่ากับ $18.73 \mu\text{g/ml}$ และฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมของทุกตำรับมีค่า $IC_{50} > 50 \mu\text{g/ml}$ นั้นจึงน่าจะมีการศึกษาโดยละเอียดถึงประสิทธิผลและความปลอดภัย เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านมะเร็ง, บำรุงกำลัง, หมอฟันบ้าน

Preliminary *in Vitro* Screening for Antioxidant and Anti-MCF7-Breast Cancer Cell Line Activities of Folk Healers' Tonic Remedies

Pariyapat Singthong^{*,§}, Pornprapha Chunthanom[†], Sasitorn Chusri[‡]

^{*}Faculty of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ubonratchathani Rajabhat University, Amphoe Mueang, Ubon Ratchathani 34000, Thailand

[†]Department of Food Science and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon campus, Sakon Nakhon 47160, Thailand

[‡]Faculty of Traditional Thai Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand

[§]Corresponding author: pariyapat.bs@gmail.com

Abstract

This study aimed to assess the antioxidant and anticancer activities of ethanol extracts of 15 herbal recipes from Thai indigenous healers at Sakon Nakhon Thai Traditional Medicine Hospital, using the DPPH radical scavenging and the ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assays. In this effort, total phenolic, flavonoid and tannin contents were quantified; and their anti-cancer as well as cytotoxic properties were evaluated *in vitro* against Vero cell and MCF7-breast cancer cell line. Results showed that the percentages of maximum anti-oxidant activities, using the DPPH assay, of herbal recipe numbers THS013, THS007 and THS006 were 181.6 ± 0.9 , 71.7 ± 3.9 and 69.9 ± 2.0 , respectively. The ferric-reducing activities for recipe numbers THS008, THS015 and THS013 were 3.2 ± 0.0 , 3.1 ± 0.1 and 3.0 ± 0.0 mg of ferrous sulphate equivalence/g of extract, respectively. The highest total phenolic contents of 3.0-3.4 mg GAE/ml were found in THS015, THS005 and THS009 extracts; the highest flavonoid contents of 3.3-4.1 mg CE/ml in THS014, THS011 and THS005 extracts; and the highest tannin contents of 2.2-2.3 mg TAE/ml in THS003, THS004 and THS001 extracts. Moreover, the THS001 extract was found to have the highest anti-Vero cell capacity with an IC_{50} of $18.73 \mu\text{g/ml}$; and for all herbal extracts, their IC_{50} values for anti-MCF 7-breast cancer cell activities were $> 50 \mu\text{g/ml}$. Thus, further studies should be conducted on such recipes' efficacies and safety in detail prior to developing them as health products.

Key words: antioxidant, anticancer, tonic remedies, folk healers

บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงนอกสุด ทำให้โมเลกุลดังกล่าวเกิดความไม่เสถียร (unstable) และมีความว่องไว (reactive) ในการเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารอื่น โดยอนุมูลอิสระจะมีการแย่งหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลของสารข้างเคียงเพื่อให้ตัวเองเกิดความเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงเมื่อสูญเสียหรือรับอิเล็กตรอน

จะกลายเป็นสารอนุมูลอิสระใหม่ ถ้าไม่มีการยับยั้งหรือต้านอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่น เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปเรื่อย ๆ^[1] อนุมูลอิสระเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในร่างกาย^[2] และมีผลมาจากปัจจัยภายนอก เช่น รังสี แสงแดด ควันบุหรี่ มลพิษทางอากาศ และยาฆ่าแมลง^[3]

อนุมูลอิสระทำให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ในร่างกาย เช่น การทำลายโครงสร้าง DNA โปรตีน และไขมัน

ร่างกายมีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ให้อยู่ในภาวะที่สมดุลระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น แต่ถ้ามีปริมาณอนุมูลอิสระมากเกินไปที่ร่างกายจะยับยั้งหรือต้านได้ จะเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้น ทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ นำไปสู่การเกิดโรคต่าง ๆ^[4] เช่น โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคตับ โรคไขข้ออักเสบ ความชรา โรคเบาหวาน ภาวะหลอดเลือดตีบหรือตัน และภาวะน้ำหนักเกิน^[5-6] สารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกในร่างกายจึงน่าจะจำเป็นในการช่วยป้องกันโรค จากรายงานการวิจัย พบว่า พืช ผัก ผลไม้ และสมุนไพร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีสารจำพวก วิตามินซี วิตามินอี แอลฟาโทโกฟีรอล แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และฟีนอลิก^[5,7]

ในทางการแพทย์แผนไทยมีการนำตำรับยาหรือสมุนไพรบำรุงกำลัง มาใช้ปรับสมดุลในร่างกาย และเพื่อป้องกันการเกิดโรค ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงทำการประเมินเบื้องต้นในหลอดทดลองถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตำรับยาหรือสมุนไพรบำรุงกำลังจากหมอพื้นบ้านที่ทำงานในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทย สกลนคร หลวงปู่แป๊ะ สุภัทโท ซึ่งเป็นภูมิปัญญาที่หมอพื้นบ้านได้สั่งสมมานาน และเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับใช้ในสถานบริการสุขภาพต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ Hot air oven (Venticell), Micropipette ขนาด 2-20 μL , 20-200 μL และ 100-1000 μL (Select BioProducts), Mul-

tichannel micropipette ขนาด 20-200 μL (Finnpipette), Rotary evaporator (Heidolph), UV-Vis Spectrophotometer รุ่น Genesys 10 UV-Vis (Spectronic), เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น TB-2002 (Denver Instrument), เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น ab204-s 2/fact (mettler toledo)

สารเคมี เช่น Aluminium chloride (AlCl_3) (Ajax Finechem), Catechin (Sigma-Aldrich Chemie), DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) (Merck), Ethanol (Merck), Methanol (QReC), Folin-Ciocalteu's reagent (Merck), Gallic acid (Sigma-Aldrich Chemie), Sodium hydroxide (NaOH) (Merck), Sodium nitrite (NaNO_2) (Ajax Finechem), Sodium acetate buffer ($3\text{H}_2\text{O}$), acetic acid, Hydrochloric (HCl), Ferrous sulphate

วิธีการศึกษา

1. การเก็บรวบรวมข้อมูล

เกณฑ์การคัดเลือกตำรับยาหรือสมุนไพร คือ เป็นพืชวัตถุ มีสรรพคุณบำรุงกำลัง ของหมอพื้นบ้านที่ทำงานในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทย สกลนคร หลวงปู่แป๊ะ สุภัทโท โดยส่วนประกอบของสมุนไพรในแต่ละตำรับได้แสดงในตารางที่ 1

2. การเตรียมสมุนไพรและการสกัด

นำส่วนประกอบของตำรับยาหรือสมุนไพร มาล้างทำความสะอาด แล้วทำการย่อยขนาด (บดหยาบ) จากนั้นแบ่งมาตำรับละ 100 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วฝาเกลียว แล้วเติม 95% เอทานอลลงไปจนท่วมผงยา หมักเป็นเวลา 7 วัน ทำซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

แล้วนำไปประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary Evaporator หลังจากนั้นนำสารสกัดมาคำนวณหาร้อยละของสารสกัดหยาบ (%yield)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay^[8]

การเตรียมสารสกัด ซึ่งสารสกัด 0.1 g ละลายในเอทานอล 95% ปริมาณ 10 ml เก็บไว้ในขวดปรับปริมาตร เตรียมสารละลาย DPPH โดยชั่งสาร DPPH น้ำหนัก 0.188 g ละลายด้วยเอทานอล 40% ปริมาณ 100 ml เก็บไว้ในขวดสีชา

การวิเคราะห์ ปิเปตสารสกัดปริมาณ 0.1 ml เอทานอล 95% ปริมาณ 5.9 ml และสาร DPPH ปริมาณ 0.1 ml ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%inhibition) อนุมูลอิสระ DPPH

3.2 การทดสอบด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)^[9]

การเตรียมสารสกัด ซึ่งสารสกัด 0.1 g ละลายด้วยเอทานอล 95% ปริมาณ 10 ml การเตรียมสารละลาย FRAP ซึ่งโซเดียมอะซีเตตบัฟเฟอร์ 3.1 g แล้วเติมกรดอะซีติก 16 ml ปรับปริมาตร 1 L ด้วยน้ำกลั่น เตรียมไฮโดรคลอริก 40 mM ซึ่งสาร TPBZ 0.031 g ปรับปริมาตร 10 ml ด้วยไฮโดรคลอริก ละลายใน Hot plate 50 °C การเตรียมสารมาตรฐาน ซึ่งสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต 0.1 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 100 ml จากนั้นเจือจางสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 mg/ml

การวิเคราะห์ ปิเปตสารสกัด 0.5 ml ปิเปต

สารละลาย FRAP 1 ml บ่มไว้ 30 นาที Blank ของสารสกัด คือ เอทานอล 95% วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer โดยใช้เฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulphate) เป็นสารมาตรฐาน คำนวณปริมาณสาร FRAP ทั้งหมดของสารสกัด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต รายงานค่าในรูปแบบมิลลิกรัมของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด (mg of Ferrous Sulphate equivalence/g of extract)

4. การหาปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิก โดยวิธี

Folin-Ciocalteu Colorimetric Method^[10]

การเตรียมสารสกัด ซึ่งสารสกัด 0.1 g ละลายด้วยเอทานอล 95% ปริมาณ 10 ml เตรียมสารละลาย ซึ่งโซเดียมคาร์บอเนต 6 g ละลายและปรับปริมาตร 100 ml ด้วยน้ำกลั่น เตรียมสารมาตรฐาน ซึ่งกรดแกลลิก 0.1 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 100 ml เจือจางสารมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 mg/ml

การวิเคราะห์ ปิเปตสารตัวอย่าง 200 μ l ลงในหลอดทดลอง เติม Folin-Ciocalteu's reagent solution 150 μ l เติมเอทานอล 95% ปริมาณ 11.35 ml ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติมโซเดียมคาร์บอเนต 0.5 ml ทิ้งไว้ 90 นาที Blank ของสารสกัด คือ เอทานอล 95% วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer รายงานในรูปแบบมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of Gallic acid equivalence (GAE)/g of extract)

5. การหาปริมาณกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ โดยวิธี

Aluminium Chloride Colorimetry hexahydrate^[11]

การเตรียมสารสกัด ซึ่งสารสกัด 0.1 g ละลายด้วยเอทานอล 95% ปริมาณ 10 ml เตรียมสารละลาย

ซึ่งโซเดียมไนไตรต์ 5 g ละลายด้วยน้ำกลั่น 100 ml ซึ่งอะลูมิเนียมคลอไรด์ 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 100 ml และซึ่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 100 ml เตรียมสารมาตรฐาน ซึ่งคาเทชิน 0.1 g ละลายด้วยน้ำกลั่น 100 ml เจือจางสารมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 mg/ml

การวิเคราะห์ ปิเปตสารตัวอย่าง 250 μ l ลงในหลอดทดลอง เติมนีออนอล 95% 10 ml เติมนีออนไนไตรต์ 75 μ l ทิ้งไว้ 6 นาที เติมนีออนอะลูมิเนียมคลอไรด์ 150 μ l ทิ้งไว้ 5 นาที เติมนีออนไฮดรอกไซด์ 0.5 ml เขย่าให้เข้ากัน Blank ของสารสกัด คือ นีออนอล 95% วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer รายงานในรูปแบบมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด (mg of Catechin equivalence (CE)/g of extract)

6. การหาปริมาณกลุ่มสารแทนนิน^[12]

นำสารสกัดที่มีความเข้มข้น 1 g/ml ปิเปตสารสกัด 0.05 ml เติมนีออน Folin-Ciocalteu's reagent 0.05 ml เติมนีออนคาร์บอเนต (Sodium carbonate) 3 ml ใส่ลงในหลอดทดลอง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer โดยใช้กรดแทนนิก (tannic acid) เป็นสารมาตรฐาน รายงานในรูปแบบมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of Tannic acid equivalence (TAE)/g of extract)

7. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ และการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง

ส่งสารสกัดตำรายาหรือสมุนไพรไปทดสอบที่ห้องปฏิบัติการตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เพื่อ

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เชื้อสายปกติ (cytotoxicity against vero cell) ของเซลล์ African green monkey kidney ด้วยวิธี Green fluorescent protein (GFP)-based assay ใช้ Ellipticine เป็น positive control และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7-breast cancer) ด้วยวิธี Resazurin microplate assay (REMA) โดยใช้ DMSO เป็น negative control และใช้ Tamoxifen และ Doxorubicine เป็น positive control รายงานผลเป็นค่า IC_{50} เนื่องจากมะเร็งเต้านมพบมากเป็นอันดับหนึ่งในประเทศไทย^[13] การเกิดมะเร็งมีสาเหตุหนึ่งมาจากการมีอนุมูลอิสระมากเกินไป อนุมูลอิสระจะจับกับดีเอ็นเอทำให้โครงสร้างเกิดการกลายพันธุ์ ส่งผลให้เซลล์แบ่งตัวมากขึ้น กลายเป็นมะเร็ง

ผลการศึกษา

จากการคัดเลือกตำรายาหรือสมุนไพรบำรุงกำลัง จากหมอพื้นบ้าน 11 คน มีตำรายาหรือสมุนไพร 15 ตำรับ ประกอบด้วยสมุนไพร 34 ชนิด (species) สามารถจำแนกเป็นวงศ์ (families) สมุนไพรส่วนมากอยู่ในวงศ์ Strychnaceae และ Moraceae จำนวน 6 ชนิด รองลงมาคือวงศ์ Gnetaceae และ Rhamnaceae จำนวน 4 ชนิด ดังตารางที่ 5 ซึ่งทั้ง 15 ตำรับ มีวิธีการปรุงยาเป็นการต้มโดยการใส่น้ำให้ท่วมตัวยา (ประมาณ 1 ถึง 2 ลิตร) ต้มจนน้ำเดือด 10 ถึง 15 นาที

ส่วนของพืชที่นำมาใช้ประโยชน์ พบว่าประกอบด้วย 6 ส่วน ได้แก่ เนื้อไม้ หัวหรือเหง้า แก่น ใบ ราก ผล เมื่อนำวิเคราะห์ยา 9 รส ในการศึกษาครั้งนี้พบสมุนไพรที่มีรสขม รสเผ็ดร้อน รสหอมเย็น รสเมาเบื่อ รสมัน รสฝาด และรสหวาน แต่ไม่พบ

ตารางที่ 1 รายชื่อสมุนไพรในตำรับยาบำรุงกำลังของหมอพื้นบ้านในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยสกลนคร หลวงปู่แป็บ สุภัทโท

ตำรับ/สมุนไพร (ชื่อหมอพื้นบ้าน)	ชื่อท้องถิ่น	ชื่อวิทยาศาสตร์ (วงศ์)	ส่วนที่ใช้	รส*	ร้อยละของ สารสกัดหยาบ
THS001 (ไสว อุปพงษ์)	กำลังเสือโคร่ง	<i>Ziziphus attopoensis</i> Pierre. (Rhamnaceae)	เนื้อไม้	เผ็ดร้อน	5.1 ± 0.2
	ม้ากระทืบโรง	<i>Ficus foveolata</i> Wall. (Moraceae)	เนื้อไม้	ขม	
	เถาว์ลิ้นเปรี้ยว	<i>Derris scandens</i> (Roxb.) Benth (Leguminosae-Papilionoideae)	เถา	เมาเบื่อ	
	กำลังช้างसार	<i>Beaumontia murtonii</i> Craib (Apocynaceae)	เนื้อไม้	ขม	
	เมื่อย	<i>Gnetum macrostachyum</i> Hook.f. (Gnetaceae)	เนื้อไม้	ขม	
THS002 (วร ไชยเทพ)	ฝางแดง	<i>Caesalpinia sappan</i> L. (Leguminosae-Caesalpinoideae)	เนื้อไม้	ขม	5.2 ± 0.1
	ข้าวเย็นเหนือ	<i>Smilax china</i> L. (Smilacaceae)	เหง้า	มัน	
	ข้าวเย็นใต้	<i>Smilax glabra</i> Wall. (Smilacaceae)	หัว	มัน	
	กำแพงเจ็ดชั้น	<i>Salacia chinensis</i> L. (Celastraceae)	เถา	เมาเบื่อ	
	กำแพงเก้าชั้น	<i>Salacia verrucosa</i> Wight. (Celastraceae)	เถา	เมาเบื่อ	
	แดง	<i>Xylia xylocarpa</i> Roxb. Taub. (Leguminosae-Mimosoideae)	เนื้อไม้	ฝาด	
	เถาว์ลิ้นเปรี้ยว	<i>Derris scandens</i> (Roxb.) Benth (Leguminosae-Papilionoideae)	เถา	เมาเบื่อ	
	คัตเค้า	<i>Oxyceros horridus</i> Lour. (Rubiaceae)	เถา	ฝาด	
	ม้ากระทืบโรง	<i>Ficus foveolata</i> Wall. (Moraceae)	เนื้อไม้	ขม	
	รางแดง	<i>Ventilago denticulatea</i> (Rhamnaceae)	เถา	หอมเย็น	
	ย่านางแดง	<i>Lysiphyllum strychnifolium</i> (Craib) A. Schmitz (Fabaceae)	เถา	หอมเย็น	
THS003 (อาน อุทโท)	โคคลาน	<i>Mallotus repandus</i> (Willd.) Mull. Arg. (Euphorbiaceae)	เถา	ขม	3.8 ± 0.1
	กำลังวัวเถลิง	<i>Anaxagorea luzonensis</i> A.Gray (Annonaceae)	เปลือกต้น	ขม	
	กำลังเสือโคร่ง	<i>Ziziphus attopoensis</i> Pierre. (Rhamnaceae)	เปลือกต้น	เผ็ดร้อน	
	ม้ากระทืบโรง	<i>Ficus foveolata</i> Wall. (Moraceae)	เนื้อไม้	ขม	
	เมื่อย	<i>Gnetum macrostachyum</i> Hook.f. (Gnetaceae)	เนื้อไม้	ขม	
THS004 (วิชัย ศรีระวรรณ)	รางแดง	<i>Ventilago Calyculata</i> (Rhamnaceae)	เถา	หอมเย็น	2.2 ± 0.1
	นมวัว	<i>Scleropyrum pentandrum</i> (Dennst.) Mabb. (Santalaceae)	เนื้อไม้	-	

ตารางที่ 1 รายชื่อสมุนไพรในตำรับยาบำรุงกำลังของหมอพื้นบ้านในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยสกลนคร หลวงปู่แปบ สุภัทโ

ตำรับ/สมุนไพร (ชื่อหมอพื้นบ้าน)	ชื่อท้องถิ่น	ชื่อวิทยาศาสตร์ (วงศ์)	ส่วนที่ใช้	รส*	ร้อยละของ สารสกัดหยาบ
THS005 (เมธา จันทะแสง)	นมสาว	<i>Xantolis cambodiana</i> (Pierre ex Dubarb) P.Royen. (Sapotaceae)	เนื้อไม้	หอมเย็น	2.0 ± 0.2
	นมเทวดา	-	เนื้อไม้	-	
	มักกระต๊อบโรง	<i>Ficus foveolata</i> Wall. (Moraceae)	เนื้อไม้	ขม	
	ชะเอมไทย	<i>Albizia myriophylla</i> Benth. (Fabaceae)	เนื้อไม้	เผ็ดร้อน	
THS006 (เฉลิมศักดิ์ งามงอน)	รางแดง	<i>Ventilago Calyculata</i> (Rhamnaceae)	เถา	หอมเย็น	1.3 ± 0.2
	ปลาไหลเผือก	<i>Eurycoma longifolia</i> Jack. (Simaroubaceae)	ราก	ขม	
THS007 (สินวล ทุนแรง)	เปล้าใหญ่	<i>Croton persimilis</i> Mull. Arg. (Euphorbiaceae)	ใบ	เผ็ดร้อน	2.5 ± 0.1
THS008 (สินวล ทุนแรง)	กำลังเสือโคร่ง	<i>Ziziphus attopensis</i> Pierre. (Rhamnaceae)	เปลือกต้น	เผ็ดร้อน	4.2 ± 0.3
THS009 (พรมา จันทะแสง)	มักกระต๊อบโรง	<i>Ficus foveolata</i> Wall. (Moraceae)	เนื้อไม้	ขม	3.3 ± 0.2
	กำลังช้างสาร	<i>Beaumontia murtonii</i> Craib (Apocynaceae)	เนื้อไม้	ขม	
	กำลังวัวเถลิง	<i>Anaxagorea luzonensis</i> A.Gray (Annonaceae)	เปลือกต้น	ขม	
	โคคลาน	<i>Mallotus repandus</i> (Willd.) Mull. Arg. (Euphorbiaceae)	เถา	ขม	
	ฝางแดง	<i>Caesalpinia sappan</i> L. (Leguminosae-Caesalpinoideae)	แก่น	ขม	
	มะคังแดง	<i>Gardenia erythroclada</i> Kurz. (Rubiaceae)	เนื้อไม้	หอมเย็น	
	หวายตะมอย	<i>Dendrobium crumenatum</i> Sw. (Orchidaceae)	เนื้อไม้	ขม	
	กำลังเสือโคร่ง	<i>Ziziphus attopensis</i> Pierre. (Rhamnaceae)	เปลือกต้น	เผ็ดร้อน	
	โตไม้รูปลัม	<i>Elephantopus scaber</i> var. <i>scaber</i> L. (Asteraceae)	ใบ	ขม	
	เมื่อย	<i>Gnetum montanum</i> Markgr. (Gnetaceae)	เนื้อไม้	ขม	
THS010 (พรมา จันทะแสง)	กำลังวัวเถลิง	<i>Anaxagorea luzonensis</i> A.Gray (Annonaceae)	เปลือกต้น	ขม	3.3 ± 0.2
	ข้าวเย็นเหนือ	<i>Smilax china</i> L. (Smilacaceae)	เหง้า	มัน	
	ข้าวเย็นใต้	<i>Smilax glabra</i> Roxb. (Smilacaceae)	เหง้า	มัน	

ตารางที่ 1 รายชื่อสมุนไพรในตำรับยาบำรุงกำลังของหมอพื้นบ้านในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยสกลนคร หลวงปู่แป็บ สุภัทโท

ตำรับ/สมุนไพร (ชื่อหมอพื้นบ้าน)	ชื่อท้องถิ่น	ชื่อวิทยาศาสตร์ (วงศ์)	ส่วนที่ใช้	รส*	ร้อยละของ สารสกัดหยาบ
THS010 (ทองแรด ยางอีสาร)	รางแดง	<i>Ventilago Calyculata</i> (Rhamnaceae)	เถา	หอมเย็น	4.5 ± 0.0
	กระโดงแดง	<i>Ochna integerrima</i> (Lour.) Merr. (Ochnaceae)	เนื้อไม้	ขม	
	กำลังเสือโคร่ง	<i>Ziziphus attopoensis</i> Pierre. (Rhamnaceae)	เปลือกต้น	เผ็ดร้อน	
	เขยตาย	<i>Glycosmis pentaphylla</i> (Retz.) DC. (Rutaceae)	เนื้อไม้	หวาน	
	ตานกกด	<i>Ellipanthus tomentosus</i> Kurz (Connaraceae)	แก่น	ฝาด	
THS011 (สีนวล พุนแรง)	กระชาย	<i>Boesenbergia rotunda</i> (L.) Mansf. (Zingiberaceae)	เหง้า	เผ็ดร้อน	2.9 ± 0.0
	กะเพราแดง	<i>Ocimum tenuiflorum</i> L. (Labiatae)	ใบ	เผ็ดร้อน	
	ข่า	<i>Alpinia galanga</i> (L.) Willd. (Zingiberaceae)	เหง้า	เผ็ดร้อน	
THS012 (สีนวล พุนแรง)	กระชาย	<i>Boesenbergia rotunda</i> (L.) Mansf. (Zingiberaceae)	เหง้า	เผ็ดร้อน	1.7 ± 0.1
	หญ้าปากคาวาย	<i>Dactyloctenium aegyptium</i> (L.) Willd. (Poaceae)	ใบ	หอมเย็น	
	หญ้าขัดมอน	<i>Sida acuta</i> Burm.f (Malvaceae)	ใบ	หอมเย็น	
THS013 (สีนวล พุนแรง)	เพกา	<i>Oroxylum indicum</i> (L.) Benth. (Bignoniaceae)	เมล็ด	ขม	3.9 ± 0.0
THS014 (พรมมา จันตะแสน)	กำแพงเจ็ดชั้น	<i>Salacia chinensis</i> L. (Celastraceae)	เถา	เมาเบื่อ	2.9 ± 0.1
	กำแพงเก้าชั้น	<i>Salacia verrucosa</i> Wight. (Celastraceae)	เถา	เมาเบื่อ	
	กระโดงแดง	<i>Ochna integerrima</i> (Lour.) Merr. (Ochnaceae)	เนื้อไม้	หอมเย็น	
THS015 (ไสว อูปพงษ์)	ม้ากระทืบโรง	<i>Ficus foveolata</i> Wall. (Moraceae)	เนื้อไม้	ขม	3.1 ± 0.2
	กำลังเสือโคร่ง	<i>Ziziphus attopoensis</i> Pierre. (Rhamnaceae)	เปลือกต้น	เผ็ดร้อน	
	โตไม้รูปล่ม	<i>Elephantopus scaber</i> var. <i>scaber</i> L. (Asteraceae)	ใบ	ขม	
	เมื่อย	<i>Gnetum montanum</i> Markgr. (Gnetaceae)	เนื้อไม้	ขม	

*จำแนกเป็นยา 9 รส^[14-15]

สมุนไพรเสริมและรสเปรี้ยว สมุนไพรที่ไม่ทราบรสยา 2 ชนิด คือ นมวัว และนมเห็ดตา ส่วนการคำนวณหาร้อยละของปริมาณสารสกัดหยาบ (%yield) ของตำรับยาหรือสมุนไพร พบว่า อยู่ในช่วงระหว่าง 1.3 ถึง 5.2 ดังตารางที่ 1

จากผลการทดลอง พบว่า มีการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด คือ THS013 รองลงมา THS007 และ THS006 มีค่าเท่ากับ 81.6 ± 0.9 , 71.7 ± 3.9 และ 69.9 ± 2.0 ตามลำดับ ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงสุด คือ THS008 รองลงมา THS015 และ THS013 มีค่าเท่ากับ 3.2 ± 0.0 , 3.1 ± 0.1 และ 3.0 ± 0.0 mg of ferrous sulphate

equivalence/g of extract ตามลำดับ

ปริมาณสารฟีนอลิกมากที่สุด คือ THS015 รองลงมา THS005 และ THS009 มีค่าเท่ากับ 3.4 ± 0.1 , 3.3 ± 0.2 และ 3.0 ± 0.2 mg GAE/g of extract ตามลำดับ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด คือ THS014 รองลงมา THS011 และ THS005 มีค่าเท่ากับ 4.1 ± 0.1 , 4.0 ± 0.0 และ 3.3 ± 0.0 mg CE/g of extract ตามลำดับ ปริมาณสารแทนนินมีมากที่สุด คือ THS003 รองลงมา THS004 และตำรับ THS001 มีค่าเท่ากับ 2.3 ± 0.1 , 2.3 ± 0.1 และ 2.2 ± 0.0 mg TAE/g of extract ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

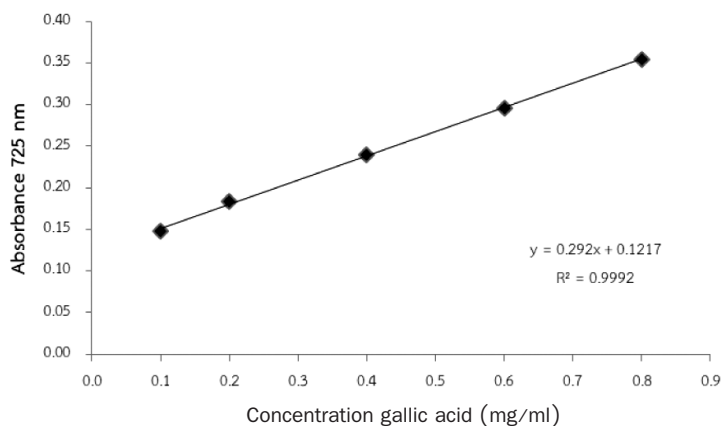
ตารางที่ 2ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนินของสารสกัดในตำรับยาของหมอฟันบ้านในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยสกลนคร หลวงปู่แป็บ สุภัทโท

ตำรับยา/สมุนไพร	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ*		ปริมาณสาร (mg/g extract) [†]		
	ดีพีพีเอช	FRAP	ฟีนอลิก	ฟลาโวนอยด์	แทนนิน
THS001	$60.7^{fg} \pm 1.1$	$2.8^{cde} \pm 0.1$	$2.5^{de} \pm 0.2$	$2.1^{cde} \pm 1.2$	$2.2^{ab} \pm 0.0$
THS002	$69.5^{bcd} \pm 1.2$	$2.3^e \pm 0.2$	$1.8^h \pm 0.1$	$1.8^{de} \pm 0.6$	$1.4^c \pm 0.0$
THS003	$57.0^{gh} \pm 5.0$	$2.9^{bcd} \pm 0.3$	$2.1^{fg} \pm 0.1$	$1.7^e \pm 0.6$	$2.3^a \pm 0.1$
THS004	$65.8^{cde} \pm 0.5$	$2.7^{def} \pm 0.0$	$2.1^{fg} \pm 0.1$	$2.9^{bc} \pm 0.7$	$2.3^a \pm 0.1$
THS005	$59.8^{gh} \pm 2.8$	$2.5^{fg} \pm 0.1$	$3.3^a \pm 0.2$	$3.3^{ab} \pm 0.0$	$1.4^c \pm 0.2$
THS006	$69.9^{bc} \pm 2.0$	$0.8^i \pm 0.1$	$2.7^{cd} \pm 0.0$	$2.2^{cde} \pm 0.0$	$1.3^c \pm 0.2$
THS007	$71.7^b \pm 3.9$	$0.4^j \pm 0.0$	$2.8^{bc} \pm 0.6$	$2.3^{cde} \pm 0.3$	$2.2^b \pm 0.2$
THS008	$65.1^{de} \pm 1.6$	$3.2^a \pm 0.0$	$2.1^{gh} \pm 0.1$	$3.2^{ab} \pm 0.0$	$1.3^{cd} \pm 0.1$
THS009	$64.4^{ef} \pm 1.7$	$2.6^{ef} \pm 0.2$	$3.0^b \pm 0.2$	$1.5^e \pm 0.5$	$2.0^b \pm 0.2$
THS010	$65.8^{cde} \pm 3.4$	$2.9^{bc} \pm 0.1$	$1.9^{gh} \pm 0.0$	$2.7^{bcd} \pm 0.4$	$1.1^{de} \pm 0.0$
THS011	$66.9^{cde} \pm 2.6$	$0.7^i \pm 0.1$	$2.6^{cd} \pm 0.0$	$4.0^a \pm 0.0$	$0.8^f \pm 0.0$
THS012	$22.2^i \pm 4.5$	$0.3^j \pm 0.0$	$1.0^i \pm 0.0$	$2.7^{bcd} \pm 1.2$	$0.6^g \pm 0.1$
THS013	$81.6^a \pm 0.9$	$3.0^{ab} \pm 0.0$	$2.3^{ef} \pm 0.1$	$2.2^{cde} \pm 0.0$	$0.8^f \pm 0.1$
THS014	$64.5^{ef} \pm 0.8$	$1.3^h \pm 0.2$	$2.1^{fg} \pm 0.1$	$4.1^a \pm 0.1$	$1.0^e \pm 0.1$
THS015	$56.2^h \pm 4.2$	$3.1^a \pm 0.1$	$3.4^a \pm 0.1$	$2.2^{cde} \pm 0.2$	$0.5^g \pm 0.0$

หมายเหตุ: อักษรต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

*ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (FRAP) มีหน่วยเป็น %inhibition และ mg of Ferrous Sulphate equivalence/ g of extract

[†]ปริมาณสารฟีนอลิก ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ และปริมาณสารแทนนิน มีหน่วยเป็น mg GAE/g of extract, mg CE/g of extract และ mg TAE/g of extract



รูปที่ 1 มาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid)

จากการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดตำรับยาหรือสมุนไพร โดยเปรียบเทียบกับค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) ดังรูปที่ 1

ตำรับยาหรือสมุนไพรที่มีความสามารถในการลดความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติมากที่สุด ได้แก่ THS001, THS011 และ THS006 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 18.73, 18.80 และ 37.55 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ตำรับยาหรือสมุนไพรทั้งหมดไม่สามารถลดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม ได้ มีค่า IC_{50} เท่ากับ มากกว่า 50 ดังตารางที่ 3

อภิปรายผล

การคัดเลือกตำรับยาหรือสมุนไพรบำรุงกำลังจากหมอพื้นบ้าน ในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทย สกลนคร หลวงปู่แป๊ะ สุภัทโท พบว่ามีตำรับยาหรือสมุนไพรบำรุงกำลัง 15 ตำรับ สมุนไพรส่วนใหญ่สามารถหาได้ในท้องถิ่น และร้านจำหน่ายสมุนไพร โดยมีสมุนไพรที่มีรสหวาน ได้แก่ เชยตาย สมุนไพรที่มีรสมัน ได้แก่ ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้ และสมุนไพรที่มีรสหอมเย็น ได้แก่ เถารางแดง ย่านางแดง

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม และความเป็นพิษในเซลล์ปกติ

ตำรับ/สมุนไพร	ความเป็นพิษต่อเซลล์ (IC_{50} ; $\mu\text{g/mL}$)	
	Vero cells	MCF-7 cells
THS001	18.73	> 50
THS002	> 50	> 50
THS003	> 50	> 50
THS004	> 50	> 50
THS005	> 50	> 50
THS006	37.55	> 50
THS007	> 50	> 50
THS008	42.54	> 50
THS009	> 50	> 50
THS010	> 50	> 50
THS011	18.80	> 50
THS012	49.21	> 50
THS013	43.58	> 50
THS014	> 50	> 50
THS015	> 50	> 50
Ellipticine	1.74	NA [†]
Tamoxifen	NA	8.30
Doxorubicin	NA	8.89

[†]NA = Not applicable

นมสาว มะคังแดง หญ้าปากควาย หญ้าขัดมอน และข้าน้ำ สอดคล้องกับการหลักการตั้งตำรับยาของแพทย์แผนไทย ที่มีการใช้สมุนไพรสหวาน รสมัน และรสหอมเย็นในการบำรุงกำลัง^[14-15] ตำรับยาบำรุงร่างกายมีสมุนไพร เช่น ชะเอม โศภิต รสขม และเมื่อ สอดคล้องกับงานวิจัยของอรทัย เนียมสุวรรณ และคณะ^[16] ทำการสำรวจป้าชุมชนบ้านทุ่งสูง อำเภอ อ่าวลึก จังหวัดกระบี่ พบว่าสมุนไพรดังกล่าวหมอย พันธ์บ้านนิยมในการใช้บำรุงกำลัง

ค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงสุด คือ THS013 มีเพียงเมล็ดเพกาเป็นส่วน ประกอบ สอดคล้องกับกองประกอบโรคศิลปะ^[14] และ Mishra SL *et al.*^[17] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสรรพคุณทางเภสัชกรรมไทยของเมล็ดเพกา พบว่า สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางยาและบำรุงร่างกายได้ และแหล่งที่มาของเพกาก็มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ที่แตกต่างกัน^[18]

ตำรับยาหรือสมุนไพรที่มีความสามารถในการ รั้วตัวของสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณ สารฟีนอลิกมากที่สุด คือ THS015 ที่ประกอบด้วย ม้ากระทืบโรง กำลังเสือโคร่ง โศภิต รสขม และเมื่อย งานวิจัยของ Pathom Somwong *et al.*^[19] ได้ ทำการแยกสารบริสุทธิ์จากสมุนไพรม้ากระทืบโรง พบสารดังนี้ foveolide A, foveoeudesmenone, one new sesquiterpenoid dimer, foveolide B, a new phenolic compound, foveospirolide, including 4(15)-eudesmene-1 β , 6 α -diol, 4(15)- eudesmene-1 β , 5 α -diol, friedelin, taraxerol, betulin และ ethyl rosmarinate ส่วน Itoh A *et al.*^[20] ได้ทำการแยกสารบริสุทธิ์จากสมุนไพรสาร phenolic glycosides 1-5 และ an iridoid gluco- side 6 ร่วมกับสารประกอบ 22 ชนิดและในสาร

สกัดกำลังเสือโคร่ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ^[21]

ส่วนตำรับที่มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงสุด คือ THS014 ประกอบด้วย กำลังเสือโคร่ง กำลังเก้งขั้ว และข้าน้ำ การศึกษาของ Dhanaji M *et al.*^[22] พบ ว่ากำลังเก้งขั้วของกำลังเสือโคร่งที่มีปริมาณ ฟลาโวนอยด์สูง ซึ่งการรวมสมุนไพรดังกล่าวเป็น ตำรับอาจเป็นการเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพของตำรับยา

จากตารางที่ 2 แสดงค่าการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน ไม่มีความสัมพันธ์กัน เช่น THS015 จากการทดลอง พบว่า ปริมาณสารฟีนอลิกมีปริมาณสูงสุด แต่ในทางกลับ กัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ และแทนนิน กลับไม่ได้มีปริมาณที่สูงสุด เพราะ สารประกอบฟีนอลิก ไม่สามารถแปรสภาพเป็นสาร ต้านอนุมูลอิสระเสมอไป^[23-25]

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการลดความ เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ พบว่า สารสกัดตำรับยาหรือ สมุนไพรที่มีความสามารถในการลดความเป็นพิษต่อ เซลล์ปกติ ในขณะที่การทดสอบในเซลล์มะเร็งเต้านม ไม่สามารถลดความเป็นพิษต่อเซลล์ได้ ดังตารางที่ 3 จากการศึกษาของ Suphattra Sangmalee *et al.*^[26] และ Wang Z *et al.*^[27] ได้ทำการแยกสารบริสุทธิ์จาก เถาวัลย์เปรียงพบสาร 5,7,4'-trihydroxy-6,8- diprenylisoflavone และผงพบสาร Caesappin A และ B พบว่ามีความสามารถในการลดความเป็นพิษ ต่อเซลล์ปกติ และเซลล์มะเร็งเต้านมได้^[28] นั้นแสดง ให้เห็นว่าหากต้องการศึกษาสมุนไพรในตำรับยา บำรุงกำลังควรแยกสารบริสุทธิ์ก่อนทำการทดสอบ ความเป็นพิษต่อเซลล์

ข้อสรุป

การรวบรวมตำรับยาหรือสมุนไพรบำรุงของหมอ

พื้นบ้าน ณ โรงพยาบาลแพทย์แผนไทยสกลนคร หลวงปู่แป๊ะ สุภัทโท และนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า ในตำรับยาบำรุงกำลังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน ในปริมาณที่แตกต่างกัน การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลเบื้องต้น และสมุนไพรในตำรับบางชนิดยังไม่ได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น จึงทำให้ขาดข้อมูลในการอธิบายผลการทดลองในบางประเด็น และข้อจำกัดของการวิจัยในครั้งนี้คือยังไม่ได้นำตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองไปเทียบกับตัวอย่างสมุนไพรที่หอพรรณไม้

ดังนั้นเพื่อพัฒนาตำรับยาหรือสมุนไพรมาใช้จึงต้องมีการนำตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองไปเทียบกับตัวอย่างสมุนไพรที่หอพรรณไม้เพื่อตรวจสอบความถูกต้องให้ครบถ้วน และควรศึกษาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาความปลอดภัยในการใช้ตำรับยาหรือสมุนไพรทั้งในระดับหลอดทดลองและสัตว์ทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลหลักฐานทางวิทยาศาสตร์นำไปสู่การส่งเสริมการใช้สมุนไพร และการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณกองทุนสนับสนุนภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยที่สนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณหมอพื้นบ้าน 11 คน ที่ยินดีให้ข้อมูลในการศึกษา และขอขอบคุณ คุณศิริลักษณ์ ฤทธิธรรม คุณจันทิพย์ ธรรมพร คุณวิทยา นนดารา คุณอรนุช สุภาพันธุ์ และอาจารย์ศรัณย์ ฉวีรักษ์ สำหรับการช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้

References

- Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochemical Journal*. 1984;222(1):1-15.
- Meghashri S, Chauhan J.B, Zameer F. Contribution of herbal principles towards cytoprotective, antioxidant and anti-Rhizopus activities. *South African Journal of Botany*. 2012;81:29-33.
- Limón-Pacheco J, Gonsebatt ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research*. 2009;674:137-47.
- Karadag A, Ozcelik B, Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*. 2009;2:41-60.
- Moon J, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009;57:1655-66.
- Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González A, Esquivel-Chirino C, Durante-Montiel I, Sánchez-Rivera G, Valadez-Vega C, Morales-González JA. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(5):3117-32.
- Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006;19:669-75.
- Samarakoon SM, Chandola HM, Shukla VJ. Evaluation of antioxidant potential of Amalakayas Rasayana: A polyherbal Ayurvedic formulation. *International Journal of Ayurveda Research*. 2011;2:23-8.
- Benzie IFF and Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. The FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996;239(1):70-6.
- Kaisoon O, Siriamornpun S, Weerapreeyakul N, Meeso N. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *Journal of functional food*. 2011;2:88-99.
- Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*. 2003;81:321-6.
- Hou WC, Lin RD, Cheng KT, Hung YT, Cho CH, Chen CH, Hwang SY, Lee MH. Free radical-scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine*. 2003;10(2-3):170-5.
- Information Technology Division National Cancer Institute Thailand, Hospital-Based Cancer Registry 2015. Pornsup Printing Co., LTD; 2017.
- Art of healing. Remedies. In *Textbook of Thai*

- pharmaceutical. Office of the Permanent Secretary, Ministry of Public Health; n.d. p. 156-73. (in Thai)
15. Wuttummavat W. Encyclopedia of herbs: Thai major pharmaceutical. Bangkok: Odeon Store; 1997. (in Thai)
 16. Neamsuvan O, Jaisamut P, Maneenoon K, Subhateerasakul S. A survey of medicinal plants for tonic from Ban Toong Soong community forest, Auluk District, Krabi Province. Burapha Science Journal. 2012;2:160-6.
 17. Mishra SL, Sinhamahapatra PK, Nayak A, Das R, Sannigrahi S. *In vitro* antioxidant potential of different parts of *Oroxylum indicum*: A Comparative Study. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2010;72(2):267-9.
 18. Sithisarn P, Nantateerapong P, Rojsanga P, Sithisarn P. Screening for antibacterial and antioxidant activities and phytochemical analysis of *Oroxylum indicum* fruit extracts. Molecules. 2016;21(4):1-8.
 19. Somwonga P, Suttisria R, Buakeawb A. New sesquiterpenes and phenolic compound from *Ficus foveolata*. Elsevier. 2013;85:1-7.
 20. Itoh A, Tanaka Y, Nagakura N, Akita T, Nishi T, Tanahashi T. Phenolic and iridoid glycosides from *Strychnos axillaris*. Phytochemistry. 2008;69:1208-14.
 21. Kharat SN, Mendhulkar VD. "Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Elephantopus scaber* leaf extract". Materials Science and Engineering: C Materials for Biological Applications. 2016;62:719-24.
 22. Dhanaji M, Ghadagea, Parthraj R, Kshirsagarb, Sandeep R. Paic, Jaykumar J. Chavan. Department. Extraction efficiency, phytochemical profiles and antioxidative properties of different parts of Saptarangi (*Salacia chinensis* L.)-An important underutilized plant. Biochemistry and Biophysics Reports. 2017;12:79-90.
 23. Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. International Research Conference on Food, Nutrition, and Cancer. 2004; 134(12):3479S-85S.
 24. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry. 2002;13:572-84.
 25. Cai YZ, Sun M, Xing J, Luo Q, Corke H. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life Sciences. 2006;78:2872-88.
 26. Sangmalee S, Laorpaksa A, Sritularak B, Sukrong S. Bioassay-guided Isolation of two flavonoids from *Derris scandens* with Topoisomerase II Poison activity. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2016;39:631-5.
 27. Wang Z, Sun JB, Qu W, Guan FQ, Li LZ, Liang JY. Caesappin A and B, two novel protosappanins from *Caesalpinia sappan* L. Fitoterapia. 2014;92:280-4
 28. Tao LY, Li JY, Zhang JY. Brazilein, a compound isolated from *Caesalpinia sappan* Linn., induced growth inhibition in breast cancer cells via involvement of GSK-3 β / β -Catenin/cyclin D1 pathway. Chem Biol Interact. 2013;206(1):1-5.