

บทความวิจัย

การเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบของส่วนผสมสารสกัด พืชไทย: การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้าน 7 ชนิด

พิชญอร ไหมสุทธิสกุล* เหมือนหมาย อภินทนาพงษ์ และ อวภาส ฉันทศาสตร์ศรีศรี

สาขาวิชาบูรณาการส่งเสริมสุขภาพและความงาม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0 2697 6505 อีเมล: pitchaon_mai@utcc.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2026.09.005

รับเมื่อ 22 มกราคม 2569 แก้ไขเมื่อ 25 มีนาคม 2569 ตอรับเมื่อ 23 เมษายน 2569 เผยแพร่ออนไลน์ 11 กันยายน 2569

© 2026 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพทางชีวภาพและกลไกการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชไทย 7 ชนิด ได้แก่ มังคุด มะขามป้อม ว่านหางจระเข้ บัวบก พลู ผักคราดหัวแหวน และผักติ้ว โดยทดสอบปริมาณฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay) และประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส ผลวิจัยพบว่าสารสกัดเดี่ยวจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (332.46 ± 6.84 mg GAE/g plant, DB) สูงที่สุด ในขณะที่สารสกัดเปลือกมังคุดมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (89.19 ± 2.45 mg QE/g plant, DB) โดยสารสกัดเปลือกมังคุดและมะขามป้อมมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน ($EC_{50} = 0.80 \pm 0.04$ และ 0.74 ± 0.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์เชิงหน้าที่ผ่านการคำนวณดัชนีการรวมกัน (Combination Index; CI) พบว่าทุกคู่สารสกัดพืชผสมมีการเสริมฤทธิ์อย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-value} \leq 0.05$) โดยเฉพาะสารสกัดพืชผสมระหว่างเปลือกมังคุดและมะขามป้อมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($EC_{50} = 0.65 \pm 0.03$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สอดคล้องกับค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น (342.92 ± 4.11 mg GAE/g plant, DB) นอกจากนี้สารสกัดพืชผสมส่วนใหญ่ยังแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสได้เหนือกว่าสารสกัดพืชเดี่ยว โดยเฉพาะสารสกัดเปลือกมังคุดและใบพลูที่สามารถยับยั้งได้เกือบสมบูรณ์ (98.03%) งานวิจัยนี้ยืนยันว่าการปฏิสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ รวมทั้งฟลักซ์เคมีอื่น ๆ ช่วยยกระดับประสิทธิภาพของการใช้สารสกัดผสม ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นวัตกรรมเพื่อสุขภาพและเวชสำอางที่มุ่งเน้นการต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: การเสริมฤทธิ์ ปริมาณฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ สมบัติด้านการอักเสบ สมบัติต้านอนุมูลอิสระ

การอ้างอิงบทความ: พิชญอร ไหมสุทธิสกุล, เหมือนหมาย อภินทนาพงษ์ และ อวภาส ฉันทศาสตร์ศรีศรี, “การเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบของส่วนผสมสารสกัดพืชไทย: การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้าน 7 ชนิด,” วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, ปีที่ 36, ฉบับที่ 4, หน้า 1-20, ต.ค.-ธ.ค. 2569. เลขที่บทความ 264-078341, doi: 10.14416/j.kmutnb.2026.09.005.



Research Article

Enhanced Antiradical and Anti-inflammatory Capacities of Thai Plant Extract Combinations: A Synergistic Study of Seven Traditional Plant Extracts

Pitchaon Maisuthisakul*, Muanmai Apintanapong and Avapa Chantasartassmee

Department of Integrated Wellness and Beauty, Faculty of Science and Technology, University of the Thai Chamber of Commerce, Bangkok, Thailand

*Corresponding Author, Tel. 0 2697 6505 E-mail: pitchaon_mai@utcc.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2026.09.005

Received 22 January 2026; Revised 25 March 2026; Accepted 23 April 2026; Published online: 11 September 2026

© 2026 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

This study aimed to evaluate the bioactivity and synergistic mechanisms of seven Thai plant extracts, namely mangosteen peel, emblic myrobalan, aloe vera, Indian pennywort, betel, paracress, and *Cratoxylum formosum*. The evaluation was conducted by determining total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity (DPPH assay), and antiproteinase activity. The results indicate that the individual extract of emblic myrobalan possessed the highest total phenolic content (332.46 ± 6.84 mg GAE/g plant, DB), whereas mangosteen peel exhibited the highest total flavonoid content (89.19 ± 2.45 mg QE/g plant, DB). Furthermore, mangosteen peel and emblic myrobalan demonstrated comparable antiradical capacities, with EC_{50} values of 0.80 ± 0.04 and 0.74 ± 0.07 μ g/mL, respectively. Functional interaction analysis using the Combination Index (CI) revealed significant synergism (p -value ≤ 0.05) across all binary formulations. Notably, the synergistic blend of mangosteen peel and emblic myrobalan exhibited the most potent antiradical activity ($EC_{50} = 0.65 \pm 0.03$ μ g/mL), correlating with an increased total phenolic content (342.92 ± 4.11 mg GAE/g plant, DB). Additionally, most herbal combinations demonstrated superior antiproteinase activity compared to their individual extracts, with the combination of mangosteen peel and betel achieving near-complete inhibition (98.03%). These findings imply that the interaction among phenolic compounds, flavonoids, and other phytochemicals significantly enhances the efficacy of combined extracts. This study supports the application of these synergistic formulations in the development of innovative health products and cosmeceuticals targeting oxidative stress and inflammation.

Keywords: Synergism, Phenolic Content, Flavonoid Content, Anti-Inflammatory Property, Antioxidant Property

Please cite this article as: P. Maisuthisakul, M. Apintanapong, and A. Chantasartassmee, "Enhanced antiradical and anti-inflammatory capacities of Thai plant extract combinations: A synergistic study of seven traditional plant extracts," *The Journal of KMUTNB*, vol. 36, no. 4, pp. 1–20, Oct.–Dec. 2026 (in Thai), Art. no. 264-078341, doi: 10.14416/j.kmutnb.2026.09.005.

1. บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยกำลังเผชิญกับอุบัติการณ์ของกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Non-communicable Diseases; NCDs) ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress) และการอักเสบเรื้อรัง (Chronic Inflammation) โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายที่เกินความสมดุลจะเข้าไปทำลายโครงสร้างระดับเซลล์ ส่งผลให้เกิดความเสื่อมและกระตุ้นการหลั่งสารก่อการอักเสบ (Pro-inflammatory Cytokines) ซึ่งเป็นปัจจัยของการเกิดโรคหลายชนิด ด้วยเหตุนี้องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) ให้การสนับสนุนและส่งเสริมการใช้สมุนไพร และการรักษาแบบดั้งเดิมในการดูแลสุขภาพตามธรรมชาติ เนื่องจากพืชเหล่านี้สามารถหาได้ง่ายในราคาประหยัด มีความปลอดภัย และเป็นสิ่งที่ประชาชนให้ความเชื่อถือ โดยอ้างถึงความจำเป็นในการประกันคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพร ด้วยการใช้เทคนิคสมัยใหม่และกระบวนการประยุกต์ใช้มาตรฐานอย่างเหมาะสม [1] องค์ความรู้ด้านการแพทย์ตะวันออกมักสนับสนุนการใช้ตำรับยาผสม เนื่องจากการใช้ประโยชน์จากการเสริมฤทธิ์ (Synergy) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารพฤกษเคมี (Interaction) ต่าง ๆ ที่อยู่ในตำรับ เพื่อให้บรรลุประสิทธิภาพในการรักษา พร้อมทั้งช่วยลดอาการข้างเคียงให้เหลือน้อยที่สุด [2] นอกจากการใช้ตำรับยาสมุนไพรที่แพร่หลายในปัจจุบันแล้ว ในช่วงเริ่มต้นของศตวรรษที่ 21 แนวคิดที่สำคัญที่สุดของอุตสาหกรรมอาหารคือ การส่งเสริมสุขภาพผ่านการบริโภคอาหาร ทั้งนี้ อนาคตของอุตสาหกรรมอาหารจะมุ่งเน้นไปที่การสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์และส่วนประกอบที่ส่งผลดีต่อสุขภาพ และสุขภาพของ

ผู้บริโภคเป็นหลัก เพื่อส่งมอบประโยชน์ทางสุขภาพเหล่านั้นอย่างเป็นรูปธรรม

ในงานวิจัยนี้ มีความสนใจฤทธิ์ชีวภาพจากสารสกัดพืชไทย 7 ชนิด ได้แก่ มังคุด มะขามป้อม ว่านหางจระเข้ บัวบก พลู ผักคราดหัวแหวน และผักต้ว เนื่องจากมีรายงานวิจัยชี้ให้เห็นว่าเป็นพืชไทยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ หาได้ง่าย จึงเหมาะสมที่จะนำมาต่อยอดเชิงพาณิชย์ มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) มีสารกลุ่มแซนโทน (Xanthonenes) โดยเฉพาะอัลฟา-แมงโกสติน (Alpha-mangostine) ที่มีรายงานการวิจัยยืนยันถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซิเจนเนส (COX-2) และลดการหลั่งไนตริกออกไซด์ ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในกระบวนการอักเสบ [3] ในขณะที่ยมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) พบปริมาณวิตามินซีและสารกลุ่มแทนนินสูง เช่น เอมบลิคานิน เอ และ บี (Emblicanin A & B) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าวิตามินซี ช่วยปกป้องเซลล์จากการถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระได้อย่างต่อเนื่อง [4] ส่วนบัวบก (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) จะพบสารกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (Triterpenoids) ได้แก่ เอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) และกรดมาเดคาสสิก (Madecassic Acid) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการลดระดับสารก่อการอักเสบ ทำให้เกิดการฟื้นฟูเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ [5] สำหรับว่านหางจระเข้ (*Aloe vera* Linn.) นั้นประกอบด้วยสารกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ โดยเฉพาะอะแมนแนน (Acemannan) ที่ช่วยลดการอักเสบของผิวหนังและกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน [6] นอกจากนี้พลู (*Piper betle* Linn.) มีสารสำคัญในกลุ่มน้ำมันหอมระเหยและฟีนอลิก เช่น ชวิคอล (Chavicol) และยูจีนอล (Eugenol) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียควบคู่ไปกับการ

ด้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง [7] ส่วนพืชท้องถิ่นอย่าง ผักคราดหัวแหวน (*Spilanthes acmella* (Linn.) Murr.) มีสารสไปแลนทอล (Spilanthal) ซึ่งเป็นสารกลุ่มอัลคิลลาไมด์ที่นอกจากจะมีฤทธิ์ระงับความเจ็บปวดแล้ว ยังสามารถยับยั้งการอักเสบได้ดี [8] และ ผักต้ว (*Cratogeomys formosum* (Jack) Dyer.) ซึ่งอุดมไปด้วยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และกรดคลอโรเจนิค (Chlorogenic Acid) ที่ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในระดับเซลล์ [9]

อย่างไรก็ตามการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากธรรมชาติโดยเฉพาะสารสกัดจากเปลือกมังคุดในรูปสมุนไพรรวม (Polyherbal Formulations) ได้รับการค้นคว้าเป็นจำนวนน้อยมาก โดย Bhaskar และคณะ [10] ได้พัฒนาเจลรักษาสิวแบบทาโดยใช้สารสกัดน้ำของเปลือกมังคุด และว่านหางจระเข้ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Propionibacterium acne* และ *Staphylococcus epidermidis* ได้ดีกว่าเจลยาปฏิชีวนะ (Clindamycin Phosphate) ในท้องตลาด นอกจากนี้ Lisyanti และคณะ [11] ได้พัฒนาสเปรย์น้ำแร่บำรุงหน้าที่ใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุดและเปลือกทับทิมเพื่อดำเนินอนุมูลอิสระ ในขณะที่ Eawsakul และ Bunluepuech [12] ค้นพบว่าส่วนผสมของเปลือกมังคุด ว่านชักมดลูก และ เหงือกปลาหมอ มีฤทธิ์เสริมกัน ในอัตราส่วน 10:15:5 ให้ผลการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดในขณะที่อัตราส่วน 5:10:15 ให้ผลการต้านการอักเสบสูงสุดถึง 98.86% นอกจากนี้การใช้ส่วนสกัดมังคุดต่อบัวบกในอัตราส่วน 1:3 แสดงการเกิดผลการเสริมฤทธิ์ (Synergism) อย่างชัดเจน โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงกว่า 1.25 เท่าเมื่อเทียบกับสารสกัดมังคุดเดี่ยว [13] นอกจากนี้ Hasan และคณะ [14] ได้รายงานผลการศึกษาประสิทธิภาพ

ของสารสกัดเปลือกทับทิมร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดในการรักษาแผลผ่าตัดในหนูทดลองพบว่าทุกกลุ่มยามีประสิทธิภาพในการสมานแผลได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมที่ใช้โพวโดน-ไฮโดรเจน โดยเฉพาะการใช้สารสกัดทั้งสองชนิดร่วมกันแสดงผลการรักษาที่ดีที่สุด ซึ่งผลการวิจัยเหล่านี้สนับสนุนสมมติฐานที่ว่าการผสมสารสกัดต่างชนิดกันในอัตราส่วนที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพผ่านการปฏิสัมพันธ์ที่ส่งเสริมกันของสารพฤกษเคมี

แม้จะมีรายงานระบุว่ามังคุด มะขามป้อม ว่านหางจระเข้ บัวบก พลู ผักคราดหัวแหวน และผักต้ว ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระมีสารกลุ่มฟีนอลิกและสารกลุ่มฟลาโวนอยด์สูง รวมถึงมีการระบุถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรรวมแต่ละชนิดไว้แล้วก็ตาม แต่ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้สมุนไพรรูปแบบผสมของพืชทั้ง 7 ชนิดนี้ ยังคงมีปรากฏอยู่น้อยมากหรือไม่ งานวิจัยนี้จึงนำเสนอข้อมูลใหม่โดยการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบของสารสกัดเชิงเดี่ยวและเชิงผสม เพื่อเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์รองรับการศึกษาวิจัยในสิ่งมีชีวิต (*In vivo*) ในอนาคต

2. วิธีการทดลอง

2.1 วัตถุดิบและสารเคมี

พืชสมุนไพรรูปแบบที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยพืชสมุนไพรรวม 7 ชนิด ได้แก่ มังคุด (จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี) มะขามป้อม (จากจังหวัดเชียงใหม่) ว่านหางจระเข้ (จากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์) บัวบก (จังหวัดอุบลราชธานี) พลู (จากจังหวัดระยอง) ผักคราดหัวแหวน (จากจังหวัดนครปฐม) และผักต้ว (จากจังหวัดระยอง) ระหว่างเดือน

เมษายน-กรกฎาคม 2568 นำมาแช่เย็นไม่เกิน 3 วัน ก่อนการสกัด โดยส่วนที่นำมาศึกษาของแต่ละพืชแสดง ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนที่นำมาศึกษาของพืช 7 ชนิด

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อท้องถิ่น	ชื่อสามัญ	ส่วนที่นำมาศึกษา
<i>Garcinia mangostana</i> Linn.	มังคุด	Mangosteen	เปลือกผล
<i>Phyllanthus emblica</i> Linn.	มะขามป้อม	Emblic Myrobalan	ผล
<i>Aloe vera</i> Linn.	ว่านหางจระเข้	Aloe	วุ้น
<i>Centella asiatica</i> (Linn.) Urban	บัวบก	Indian Pennywort	ใบและก้าน
<i>Piper betle</i> Linn.	พลู	Betel	ใบและก้าน
<i>Spilanthes acmella</i> (Linn.) Murr.	ผักคราด หัวแหวน	Para Cress	ใบและลำต้น
<i>Cratoxylum formosum</i> (Jack) Dyer.	ผักต้ว	-	ใบและก้าน

สารเคมีในการทดลองเป็นเกรดวิเคราะห์ (Analytical Reagent Grade) ชื้อมาจากบริษัท Merck (Darmstadt, Germany)

2.2 การเตรียมตัวอย่าง

นำส่วนของพืชที่ศึกษามาล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และบดให้ละเอียด โดยใช้เครื่องบด ชั่งตัวอย่างพืช 400 กรัม สกัดด้วยเอทานอล 95% ใช้อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย ในอัตราส่วน 1:3 ทำการเขย่าตลอดเวลา เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำมา

กรองด้วยผ้าขาวบาง และกระดาษกรอง เพื่อแยกเอากากออก แล้วนำสารละลายที่ได้มาทำให้เข้มข้นขึ้นโดยการระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator) จะได้ส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบออกมา เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลอง

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตที่ได้ ปริมาณแคทิเรียทั้งหมด ยีสต์ รา และ ปริมาณโลหะหนัก

นำสารสกัดเปลือกมังคุด (Mangosteen Peel; MGP) ผลมะขามป้อม (Emblic Myrobalan Fruit; EMF) วุ้นว่านหางจระเข้ (Aloe Gel; ALG) ใบและก้านบัวบก (Indian Pennywort Leaves and Stalk; ILS) ใบและก้านพลู (Betel Leaves and Stalk; BLS) ใบและลำต้นผักคราดหัวแหวน (Para Cress Leaves And Stem; PLS) ใบและก้านผักต้ว (*Cratoxylum formosum* Leaves and Stalk; CLS) มาวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตที่ได้ (%) ความชื้นของสมุนไพรและความชื้นของสารสกัด ตามวิธีของ AOAC Official Method 930.15 (Direct Oven Method) [15] ปริมาณแคทิเรียทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC official method 990.12 [16] ยีสต์ รา ตามวิธีของ AOAC official method 997.02 [17] ปริมาณโลหะหนัก ได้แก่ สารหนู โซเดียม ตะกั่ว แคดเมียม (AOAC [18] 986.15 by ICP-MS)

2.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

นำ MGP, EMF, ALG, ILS, BLS, PLS และ CLS ที่ได้มาวัดค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content; TPC) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณเป็น mM gallic acid equivalent per gram ของพืช (น้ำหนักแห้ง) ตามวิธีของ Maisuthisakul และ Gordon [19] วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid Content;



TFC) โดยวิธี Aluminum Chloride Colorimetric Method ดัดแปลงจาก Chandra และคณะ [20] โดยใช้ 10% Aluminium Chloride ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ตามด้วย 1 M Potassium Acetate 0.1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร จากนั้นนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน (Quercetin) รวมทั้งวิเคราะห์กิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Free Radical Assay ตามวิธีของ Maisuthisakul และ Changchup [21] โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างเริ่มต้น (0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการเจือจางสารละลายในความเข้มข้นที่เหมาะสม นำสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในถาดหลุม 96 หลุม (96 Well Plate) และเติมสารละลาย 0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ α -tocopherol เป็นสารมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ

2.5 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านการอักเสบ

สมบัติต้านการอักเสบของ MGP, EMF, ALG, ILS, BLS, PLS และ CLS วัดด้วยวิธี Antiprotease Activity ดัดแปลงจากวิธีของ Rawlings และ Barrett [22] โดยเตรียมสารผสมปฏิกิริยาซึ่งประกอบด้วยบัพเฟอร์ Tris-HCl 0.1 M (pH 8.0) ปริมาตร 110 ไมโครลิตร เอนไซม์ทริปซินความเข้มข้น 0.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และสารละลายไคมีนเมสตีเจสในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จึงเติมสารตั้งต้น BapNA ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ที่อยู่ใน Dimethyl Sulfoxide

(DMSO) 1.5 มิลลิโมลาร์ จากนั้นรายงานผลค่าความเข้มข้นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร เท่ากับ 0.500 ± 0.010

2.6 การประเมินการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารสกัดเปลือกมังคุดและสารสกัดพืช 6 ชนิด

นำ MGP ผสมกับ EMF ในอัตราส่วน 1:1 (ทำเช่นเดียวกันกับ ALG, ILS, BLS, PLS และ CLS) นำมาประเมินความสามารถในการเสริมฤทธิ์ด้วยการวิเคราะห์กิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านการอักเสบ (วิธี Antiprotease Activity) และวิธีการยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีน

จากนั้นนำมาวิเคราะห์ดัชนีการรวมกัน (Combination Index; CI) วิธีนี้ถูกนำมาใช้เพื่อกำหนดลักษณะปฏิสัมพันธ์ระหว่างส่วนประกอบต่าง ๆ ในสารผสม ดัดแปลงจากวิธีของ Chou [23] ได้ทำการทดสอบสิ่งนี้โดยคำนวณจากค่าฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactivity; BA) ที่วัดได้ของสารสกัดพืชเดี่ยว ค่าฤทธิ์ทางชีวภาพที่วัดได้ของสารสกัดพืชผสม และสัดส่วนการผสม ดังสมการที่ (1)

$$CI = 1 - \frac{BA_{MIX} + (BA_A \times [A] + BA_B \times [B])}{BA_{MIX}} \quad (1)$$

โดย BA_{MIX} , BA_A และ BA_B หมายถึง Bioactivity (ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านการอักเสบ) ของสารผสม สารสกัด A และ B ตามลำดับ ส่วน $[A]$ และ $[B]$ หมายถึง สัดส่วนของสารสกัด A ในสารผสม และ สัดส่วนของสารสกัด B ในสารผสม ตามลำดับ แนวทางของดัชนี จะแปรผลโดยหากเป็นการเสริมฤทธิ์ การบวกฤทธิ์ (Additive) และการต้านฤทธิ์ (Antagonism) ของความสามารถในการต้านการอักเสบจะถูกระบุด้วยค่า CI ที่น้อยกว่า 1, เท่ากับ

1 และมากกว่า 1 ตามลำดับ ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะแปรผกผัน ค่า CI ที่มากกว่า 1, เท่ากับ 1 และน้อยกว่า 1 ตามลำดับ เนื่องจากค่า EC_{50} ยิ่งมีค่าน้อยกว่าจะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่า จึงแปรผกผันกันข้ามกับค่าอื่น

2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ค่าที่ได้จากการทดลองทั้งหมดได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ จำนวนเป็นน้ำหนักแห้ง วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for Windows Version 12.0 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธีทดสอบแบบ Triangle Test ใช้วิธี Two-tailed Binomial Test

3. ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง

พืชสมุนไพรที่ศึกษาให้ผลผลิตที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p -value ≤ 0.05) ดังตารางที่ 2

สารสกัดของพลูจากส่วนใบมีปริมาณผลผลิตที่ได้สูงที่สุด ($35.23 \pm 0.84\%$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ramji และคณะ [24] ที่ทำการสกัดพลูจากส่วนใบด้วยเอทานอลให้ค่าสารสกัดที่ได้เป็น 36.0% ส่วนสารสกัดที่ได้จากมังคุด ผักคราดหัวแหวน และผักติ้ว ให้ค่าปริมาณผลผลิตที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p -value ≥ 0.05) ทั้งนี้ จากการค้นคว้ารายงานวิจัยพบว่า Anam และคณะ [13] ได้รายงานปริมาณผลผลิตที่ได้ของสารสกัดจากเปลือกของมังคุดที่ทำการสกัดโดยการแช่ตัวอย่างในเอทานอลเป็นเวลา 1 วัน มีค่าเท่ากับ 12.3% ซึ่งมีค่าต่ำกว่าผลผลิตที่ได้ของสารสกัดเปลือกมังคุดที่ศึกษาทดลอง ($13.84 \pm 0.31\%$) อาจเนื่องมาจาก

ใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ในการวิจัยนี้ได้ใช้วิธีการสกัดด้วยการแช่ 6 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำสารละลายที่ได้มาทำแห้ง ทั้งนี้ การแช่เป็นการสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าการแช่ เนื่องจากตัวทำละลายมีโอกาสมะกุ่มซึมเข้าไปในตัวอย่างพืชได้รวดเร็วกว่า ส่วนสารสกัดจากผักคราดหัวแหวนที่ได้จากการทดลองมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Chakraborty และคณะ [25] (มีค่าเท่ากับ 13.5%)

ตารางที่ 2 ปริมาณผลผลิตที่ได้ของสารสกัดพืช (%)[§]

ตัวอย่างปริมาณผลผลิต	ความชื้นสมุนไพร	ความชื้นสารสกัด	
ที่ได้ (%) (db)	(%)	(%)	
MGP	13.84 ±0.31 ^b	67.85 ±0.5 ^a	8.54 ±0.21 ^c
EMF	19.16 ±0.52 ^c	85.23 ±0.07 ^b	7.13 ±0.19 ^b
ALG	20.11 ±0.41 ^c	89.12 ±0.32 ^d	11.23 ±0.77 ^e
ILS	7.89 ±0.49 ^a	89.62 ±0.62 ^d	4.52 ±0.07 ^a
BLS	35.23 ±0.84 ^d	87.23 ±0.44 ^c	7.70 ±0.81 ^c
PLS	13.59 ±0.44 ^b	91.24 ±0.98 ^e	9.13 ±0.25 ^d
CLS	13.85 ±0.12 ^b	89.12 ±0.32 ^d	9.83 ±0.45 ^d

[§] MGP หมายถึง สารสกัดเปลือกมังคุด EMF หมายถึง ผลมะขามป้อม ALG หมายถึง รากว่านทางจระเข้ ILS หมายถึง ใบและก้านบัวบก BLS หมายถึง ใบและก้านพลู PLS หมายถึง ใบและลำต้นผักคราดหัวแหวน CLS หมายถึง ใบและก้านผักติ้ว

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย+ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value ≤ 0.05)

3.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ รา และ ปริมาณไลโซเทคของพืช 7 ชนิด

จากการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ ราของสารสกัดพืช ได้แก่ มังคุด มะขามป้อม ว่านทางจระเข้ บัวบก พลู ผักคราดหัวแหวน และผักติ้ว ได้ผลดังตารางที่ 3 ตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกในส่วน

ของข้อกำหนดสารสกัดพืชสมุนไพร กำหนดให้ในพืชสมุนไพรที่มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดไม่เกิน 10^7 CFU/g ยีสต์ และราไม่เกิน 10^4 CFU/g ซึ่งสารสกัดพืชสมุนไพรที่ใช้มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ และราไม่เกินมาตรฐาน ทั้งนี้ การควบคุมคุณภาพด้านจุลชีววิทยาเป็นการรับประกันว่าสารสกัดจากพืชธรรมชาติมีความปลอดภัยในการนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เวชสำอาง หรือผลิตภัณฑ์สุขภาพให้ผู้บริโภคต่อไป

โลหะหนักเป็นอันตรายต่อร่างกายมนุษย์ ดังนั้นปริมาณตะกั่ว สารหนูปรอท แคดเมียม ไซยาไนด์ จึงถูกนำมาศึกษาในสารสกัดพืชสมุนไพร จากตารางที่ 4 พบว่าสารสกัดผักตบชวาที่มีปริมาณตะกั่วสูงที่สุด (1.090 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) รองลงมาคือ สารสกัดของมังกุด (0.252 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และพลู (0.158 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด โดยองค์การอนามัยโลกได้กำหนดให้ปริมาณตะกั่ว สารหนู ปรอท แคดเมียม และ ไซยาไนด์ ของสารสกัดไม่เกิน 10 ppm, <5.0 ppm, <1.0 ppm, 0.3 ppm และ <10 ppm ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดทุกชนิดมีปริมาณโลหะหนักอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

ตารางที่ 3 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ รา ของสารสกัดพืช⁵

ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)	ปริมาณยีสต์ (CFU/g)	ปริมาณรา (CFU/g)
MGP	<10 (est.)	<10 (est.)	<10 (est.)
EMF	1.80×10^2	6.0×10	<10 (est.)
ALG	<10 (est.)	<10 (est.)	<10 (est.)
ILS	3.0×10	<10 (est.)	<10 (est.)
BLS	2.0×10^2	<10 (est.)	<10 (est.)

ตารางที่ 3 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ รา ของสารสกัดพืช⁵ (ต่อ)

ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)	ปริมาณยีสต์ (CFU/g)	ปริมาณรา (CFU/g)
PLS	3.99×10^2	1.2×10^2	<10 (est.)
CLS	1.2×10^2	<10 (est.)	<10 (est.)

⁵ ข้อมูลเดียวกับตารางที่ 2

ตารางที่ 4 ปริมาณโลหะหนักของสารสกัดพืช⁵

ตัวอย่าง	ตะกั่ว (mg/kg)	สารหนู (mg/kg)	ปรอท (mg/kg)	แคดเมียม (mg/kg)	ไซยาไนด์ (mg/kg)
MGP	0.252 $\pm 0.01^d$	ND	ND	ND	ND
EMF	0.121 $\pm 0.02^b$	ND	0.027 $\pm 0.01^a$	0.026 $\pm 0.01^a$	ND
ALG	0.113 $\pm 0.01^a$	ND	ND	0.124 $\pm 0.03^c$	0.29 $\pm 0.02^b$
ILS	0.126 $\pm 0.02^b$	ND	ND	0.043 $\pm 0.02^b$	1.64 $\pm 0.01^c$
BLS	0.158 $\pm 0.01^c$	ND	0.030 $\pm 0.02^a$	ND	ND
PLS	0.151 $\pm 0.03^c$	ND	ND	0.028 $\pm 0.02^a$	ND
CLS	1.090 $\pm 0.01^e$	ND	0.790 $\pm 0.00^b$	ND	0.02 $\pm 0.00^a$

⁵ ข้อมูลเดียวกับตารางที่ 2

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ ND หมายถึง Not detected

3.2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืช 7 ชนิด และการเสริมฤทธิ์

สารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นสารพฤกษเคมีหลักที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่สามารถให้โปรตอนเพื่อทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระคงตัวได้ ทั้งนี้ ค่า TPC มักมีความสัมพันธ์

โดยตรงกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity) โดยสารสกัดที่มีค่าฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงมักจะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงตามไปด้วย [26] ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดพืชและสารผสมพืช การวัดค่า TPC และ TFC ช่วยให้เข้าใจและสามารถอธิบายกลไก รวมถึงความสัมพันธ์ของสารพฤกษเคมีหลักในส่วนผสมสารสกัดพืชกับการเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดียิ่งขึ้น

DPPH Radical Scavenging Assay เป็นวิธีวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ นิยมรายงานเป็นค่า 50% Effective Concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึงปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH[•] ลดลง 50% โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการดูดกลืนแสงแล้วหาค่า EC_{50} จากกราฟแสดงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% แล้วใช้ค่า EC_{50} ในการเปรียบเทียบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างตัวอย่างที่ทดสอบกับสารมาตรฐาน

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 5) พบว่าสารสกัดพืชแต่ละชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-value} \leq 0.05$) ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าผลมะขามป้อมมีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดคือ 332.46 ± 6.84 mg GAE/g และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดโดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.74 ± 0.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดเปลือกมังคุด แม้จะมีปริมาณฟีนอลิก 175.33 ± 4.45 mg GAE/g) น้อยกว่ามะขามป้อม แต่กลับมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุดถึง 89.19 ± 2.45 mg QE/g และให้ค่า EC_{50} ในระดับที่ใกล้เคียงกันคือ 0.80

± 0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในมังคุดมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Apamarta และคณะ [27] พบว่ามังคุดมีปริมาณ Catechin สูงมาก ซึ่ง Catechin มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง นอกจากนี้ Haruenkit และคณะ [28] ได้รายงานความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดด้วย ethanol มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่า EC_{50} จากการทดลองนี้

ตารางที่ 5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืช 7 ชนิด⁵

ตัวอย่าง	TPC (mg GAE/g plant, DB)	TFC (mg QE/g plant, DB)	EC_{50} (μ g/mL)
MGP	175.33 ± 4.45^e	89.19 ± 2.45^s	0.80 ± 0.04^a
EMF	332.46 ± 6.84^f	32.08 ± 3.15^d	0.74 ± 0.07^a
ALG	25.62 ± 1.08^a	3.11 ± 0.73^a	12.67 ± 0.44^c
ILS	102.78 ± 14.16^c	62.05 ± 4.17^f	3.14 ± 0.67^b
BLS	132.55 ± 2.48^d	22.77 ± 3.22^c	4.46 ± 1.16^b
PLS	46.14 ± 2.31^b	12.14 ± 0.56^b	13.53 ± 0.08^c
CLS	177.11 ± 3.65^e	48.92 ± 3.29^e	4.76 ± 0.01^b

⁵ ข้อมูลเดียวกับตารางที่ 2

สำหรับกลุ่มพืชท้องถิ่นอื่น ๆ พบว่าใบและก้านผักต้ว และ ใบและก้านพลู มีปริมาณฟีนอลิกอยู่ในระดับสูง (177.11 ± 3.65 และ 132.55 ± 2.48 mg GAE/g ตามลำดับ) ซึ่งสนับสนุนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง ส่วนใบและก้านบัวบก แม้จะมีค่า TPC อยู่ที่ 102.78 ± 14.16 mg GAE/g แต่มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงเป็นอันดับสอง 62.05 ± 4.17 mg QAE/g) ซึ่งสอดคล้อง



กับรายงานวิจัยที่ Anand และคณะ [29] ได้รายงานความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากใบของบัวบกที่มีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยระบุว่าบัวบกมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ช่วยเสริมประสิทธิภาพการทำงานของสารอื่นได้ดี ในทางตรงกันข้ามวันวานทางจระเข้ และ ใบและลำต้นผักคราดหัวแหวน มีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อย

จากการผสมสารสกัดพืชในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้สารสกัดมังคุดเป็นหลักพบว่ามีฤทธิ์เสริมฤทธิ์กัน เนื่องจากค่า CI ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่า 1 (ตารางที่ 6) โดยเฉพาะในสารสกัดเปลือกมังคุดผสมวันวานทางจระเข้ (MGP + ALG) ที่มีค่า CI สูงถึง 6.18 รองลงมาคือ สารสกัดเปลือกมังคุดผสมผักคราดหัวแหวน (MGP + PLS) ที่มีค่า CI สูงถึง 5.88 สอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สูงขึ้น ทั้งนี้ สารฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์เป็นสารพฤษเคมีส่วนใหญ่ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดทางทฤษฎี จากการผสมสารสกัดในอัตราส่วน 1:1 เพื่อให้เห็นความสัมพันธ์ที่ชัดเจนขึ้นจากการคำนวณด้วยความสัมพันธ์เชิงคณิตศาสตร์อย่างง่ายกับค่าที่ได้จากการทดลอง เพื่อทำความเข้าใจปฏิกิริยาของสารพฤษเคมีในสารสกัดเมื่อนำมาผสมกัน โดยทำการคำนวณดังสมการที่ (2) ดังนี้

$$Bioactive\ Compounds\ (theory) = \frac{BC_A}{2} + \frac{BC_B}{2} \quad (2)$$

โดย *Bioactive Compounds* (BC) หมายถึงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด A และ B หมายถึง สารสกัด A และ B ตามลำดับ ในการ

คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านการอักเสบทางทฤษฎี จากการผสมสารสกัดในอัตราส่วน 1:1 ทำการคำนวณโดยใช้สมการที่ (3) ดังนี้

$$Bioactive\ (theory) = \frac{BA_A}{2} + \frac{BA_B}{2} \quad (3)$$

โดย *Bioactivity* (BA) หมายถึง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านการอักเสบ A และ B หมายถึง สารสกัด A และ B ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดทางทฤษฎี และผลที่ได้จากการทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากการทดลองมีค่าสูงกว่าทฤษฎี ยกเว้นสารสกัดรวมจากเปลือกมังคุดผสมบัวบก (MGP + ILS) จากงานวิจัยของ Anam และคณะ [13] พบว่าสารฟีนอลิกที่พบในสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลมี สารกลุ่มคูมาริน (Coumarins) ได้แก่ Archangelicin และ Samarcandin acetate ซึ่งเป็นสารที่มักพบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ และกลุ่มแซนโทน ได้แก่ α -Mangostin ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่โดดเด่นมากทั้งในด้านการต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบ ในขณะที่สารฟีนอลิกที่พบในสารสกัดใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอลมี สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ 5,7,2',5'-Tetrahydroxy-flavone, 5-Hydroxy-6,4'-dimethoxy-flavone-7-O- β -D-glucopyranoside, Kaempferol-3,7-diglucoside และยังมีสารสำคัญที่ไม่ใช่สารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ ได้แก่ Asiaticoside และ Madecassoside จึงเป็นไปได้ว่าเมื่อผสมสารสกัดเปลือกมังคุดกับใบบัวบก กลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์เกิดอันตรกิริยากับกลุ่มฟีนอลิก โดยโมเลกุลน้ำตาลที่เกาะอยู่บนไตรเทอร์พีนอยด์ (เช่น ตำแหน่ง C-28 หรือ C-3)

ไปจับกับโครงสร้างของกรดฟีนอลิก [30] เมื่อเกิดโมเลกุลเชิงซ้อนที่เกิดจากการสร้างพันธะเคมีระหว่างไตรเทอร์ฟีนอยด์กับสารฟีนอลิกแล้ว สารเหล่านี้จะไม่ทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ที่ใช้หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด [30] จึงทำให้ค่าลดลง

จากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดทางทฤษฎี และผลที่ได้จากการทดลองพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากการทดลองมีค่าสูงกว่าทฤษฎี ยกเว้นสารสกัดรวมจากเปลือกมังคุดผสมมะขามป้อม (MGP + EMF) จากงานวิจัยของ Li และ Xiong [31] พบว่าสารฟีนอลิกที่พบในผลมะขามป้อมเป็นกลุ่มกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิก กลุ่มแกลโลแทนนิน และอนุพันธ์ ได้แก่ Monogalloylglucose, Digalloylglucose, Mucic acid gallate และ Mucic acid lactone gallate กลุ่มเอลลาจิแทนนิน ได้แก่ Galloyl-HHDP-glucose, Putranjivain A, Elaeocarpusin และ Chebulagic acid ซึ่งสารเหล่านี้มีหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างจำนวนมาก ทำให้เป็นสารที่มีศักยภาพสูงมากในการให้อิเล็กตรอนเพื่อจับกับอนุมูลอิสระ จึงเป็นไปได้ว่าเมื่อผสมสารสกัด

เปลือกมังคุดกับสารสกัดมะขามป้อม กลุ่มแทนนินและกรดแกลลิกในมะขามป้อม สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนพันธะแบบอ่อน (Non-covalent Complexation) ร่วมกับกลุ่มคูมาริน (Archangelicin, Samarcandin acetate) และ α -Mangostin จึงทำให้ผลวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลง อย่างไรก็ตามการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวทำให้โมเลกุลเรียงตัวซ้อนทับกัน (Self-assembly) ช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับสารสกัดรวม และทำให้โครงสร้างมีหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างจำนวนมากขึ้น ทำให้เป็นสารที่มีศักยภาพสูงมากขึ้นในการให้อิเล็กตรอนเพื่อจับกับอนุมูลอิสระ [32] ดังแสดงในตารางที่ 5

การเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดพืชผสมอาจเกิดจากการที่สารฟีนอลิกเกิดปฏิกิริยารวมตัวกันเป็นไดเมอร์ (Dimers) หรือโมเลกุลใหม่ที่มีความสามารถในการทำงานสูงกว่าเดิม สะท้อนให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากพืชแต่ละชนิดไม่ได้ทำงานแยกส่วนกัน แต่เกิดปฏิสัมพันธ์ในลักษณะที่ช่วยเพิ่มความคงตัว (Stability) ซึ่งการเพิ่มความคงตัว

ตารางที่ 6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชผสม⁵

ตัวอย่าง	TPC (mg GAE/g plant, DB) from Experiment	TPC (mg GAE/g plant, DB) from Theory	TFC (mg QE/g plant, DB) from Experiment	TFC (mg QE/g plant, DB) from Theory	EC ₅₀ (μ g/mL) from Experiment	EC ₅₀ (μ g/mL) from Theory	CI	รูปแบบ ปฏิสัมพันธ์
MGP + EMF	342.92 $\pm$ 4.11 ^e	253.90	30.08 $\pm$ 2.33 ^a	60.635	0.65 $\pm$ 0.03 ^a	0.77	1.19	การเสริมฤทธิ์
MGP + ALG	119.18 $\pm$ 0.54 ^a	100.48	64.23 $\pm$ 0.14 ^b	46.15	1.09 $\pm$ 0.16 ^{bc}	6.74	6.18	การเสริมฤทธิ์
MGP + ILS	122.64 $\pm$ 2.01 ^a	139.06	92.05 $\pm$ 0.33 ^d	75.62	0.95 $\pm$ 0.17 ^b	1.97	2.08	การเสริมฤทธิ์
MGP + BLS	232.41 $\pm$ 1.09 ^c	153.94	62.41 $\pm$ 1.04 ^b	55.98	1.05 $\pm$ 0.12 ^b	2.63	2.51	การเสริมฤทธิ์
MGP + PLS	146.81 $\pm$ 4.26 ^b	110.74	72.09 $\pm$ 0.98 ^c	50.665	1.22 $\pm$ 0.09 ^c	7.16	5.88	การเสริมฤทธิ์
MGP + CLS	274.15 $\pm$ 3.12 ^d	176.22	98.11 $\pm$ 1.06 ^e	69.055	0.89 $\pm$ 0.05 ^b	2.78	3.13	การเสริมฤทธิ์

⁵ ข้อมูลเดียวกับตารางที่ 2

พิจญอร์ ไหมสุทธิสกุล และคณะ, “การเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบของส่วนผสมสารสกัดพืชไทย: การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้าน 7 ชนิด.”



และการละลาย เช่น α -Mangostin บริสุทธิ์มักมีปัญหาเรื่องการละลายน้ำและตกตะกอนง่าย แต่เมื่อได้รวมกับสารประกอบฟีนอลิกหรือแทนนินที่มีโครงสร้างใหญ่และมีขั้วสูง สารประกอบเหล่านี้จะช่วยห่อหุ้มและทำหน้าที่คล้ายตัวพา (Carrier) ช่วยประคองให้ α -Mangostin กระจายตัวได้เสถียรขึ้นเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการให้โปรตอน (Electron Donation) แก่อนุมูลอิสระ DPPH ได้อย่างรวดเร็วและต่อเนื่องมากกว่าปกติ [33]

3.3 ความสามารถในการต้านการอักเสบของพืช 7 ชนิดและการเสริมฤทธิ์

ความสามารถในการต้านการอักเสบ (Anti-inflammation Activity) มีหลายกลไกในการวิเคราะห์แบบ *in vitro* [34] เช่น 1) กลไกการต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ผ่าน iNOS pathway 2) การลดการสร้างโปรสตาแกลนดิน E_2 (PGE_2) ผ่าน COX-2 pathway และ 3) การยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสในการเปลี่ยนโปรตีนอัลบูมิน เป็นต้น ซึ่งความสามารถในการต้านการอักเสบของสารสกัดพืชในงานวิจัยนี้เลือกใช้ Antiprotease Activity เนื่องจากกลไกนี้เกี่ยวข้องกับการอักเสบของเนื้อเยื่อ ในกระบวนการอักเสบเม็ดเลือดขาวจะหลั่งเอนไซม์กลุ่มโปรตีเอสออกมาจำนวนมากเพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอม แต่ถ้าหลั่งมากเกินไปเอนไซม์เหล่านี้จะย่อยสลายโครงสร้างโปรตีนในเนื้อเยื่อปกติทำให้เกิดการบวมแดง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำสารสกัดพืชไปใช้ทั้งในอาหารและเครื่องสำอาง โดยวิธีนี้ทดสอบความสามารถในการต้านการอักเสบด้วยการประเมินการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสในการเปลี่ยนโปรตีนอัลบูมิน เอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นกระบวนการอักเสบในร่างกายโดยเฉพาะอย่างยิ่งภาวะการอักเสบเฉียบพลัน ทำให้เกิดอาการแพ้

ในการใช้เครื่องสำอางส่วนใหญ่ หากเอนไซม์โปรตีเอสถูกผลิตออกมามากเกินไปจะนำไปสู่การทำลายเนื้อเยื่ออย่างต่อเนื่อง ทำให้การอักเสบรุนแรงขึ้นและกลายเป็นการอักเสบเรื้อรัง

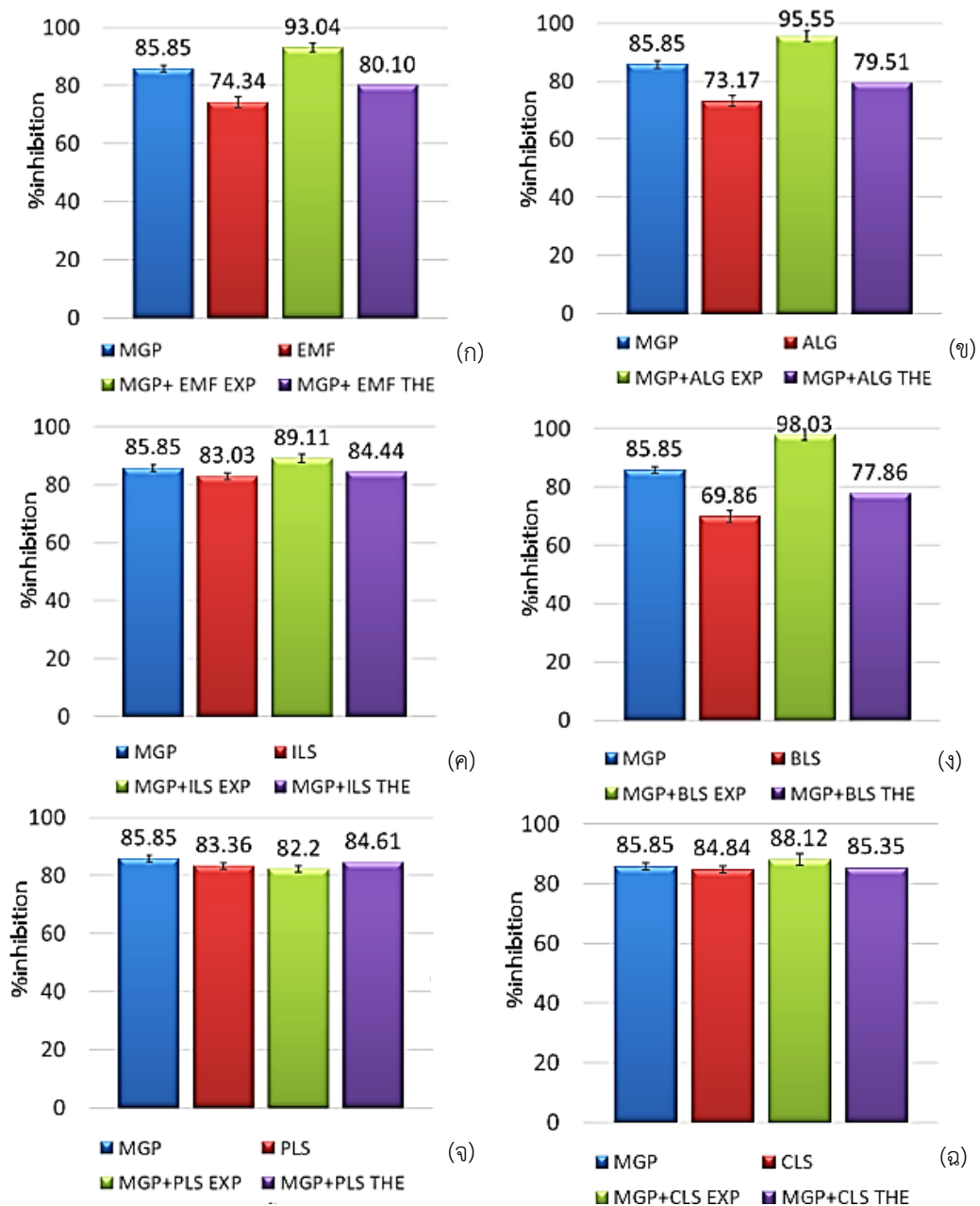
จากการทดลองพบว่ามังคุดมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์สูงที่สุดคือ 85.85% (รูปที่ 1 (ก) (ข) (ค) (ง) (จ) และ (ฉ)) ซึ่งสอดคล้องกับค่า TFC ที่สูงมากในมังคุด (ตารางที่ 5) สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีบทบาทสำคัญในการจับกับตำแหน่งกัมมันต์ (Active Site) ของเอนไซม์โปรตีเอส ทำให้ช่วยลดการทำลายเนื้อเยื่อจากการอักเสบได้ [35] โดยกลไกของกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดเปลือกมังคุด ได้แก่ Archangelicin, Samarcandin acetate และ α -Mangostin ในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสมีความแตกต่างกันดังนี้ สำหรับ α -Mangostin (รูปที่ 2 (ก)) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลและวงแหวนอะโรมาติกที่ขอบไขมันจำนวนมาก โมเลกุลนี้จะทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งแบบแข่งขัน (Competitive Inhibitor) เข้าจับกับบริเวณศูนย์กลางการออกฤทธิ์ของเอนไซม์โปรตีเอส โดยใช้หมู่ -OH สร้างพันธะไฮโดรเจนอย่างเหนียวแน่นกับกรดอะมิโนที่สำคัญในตัวเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าไปตัดสายโปรตีนในเนื้อเยื่อได้ ส่วน Archangelicin (รูปที่ 2 (ข)) มีโครงสร้างหลักเป็นวงแหวนแลคโตนอะตอมของออกซิเจนบริเวณวงแหวนแลคโตนจะทำปฏิกิริยากับกลุ่มกรดอะมิโนในตำแหน่งเร่งปฏิกิริยา (Catalytic Triad) ของเอนไซม์โปรตีเอส ทำให้เอนไซม์หมดสภาพการทำงานอย่างถาวร นอกจากนี้ Samarcandin acetate (รูปที่ 2 (ค)) มีโครงสร้างเป็นคูมารินคล้าย Archangelicin แต่มีการต่อสายยาวของกลุ่มเซสควิเทอร์เพน (Sesquiterpene Chain) ซึ่งมี

ขนาดใหญ่ทำให้เกิด ความเกะกะทางพื้นที่ (Steric Hindrance) สายนี้จะบล็อกขวางทางเข้าออกทั้งหมด ทำให้โปรตีนเป้าหมายไม่สามารถแทรกตัวเข้าไปใน เอนไซม์ได้ [36]

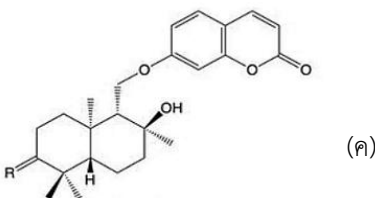
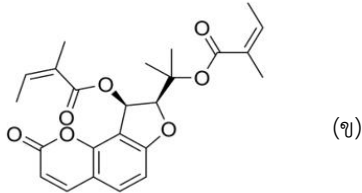
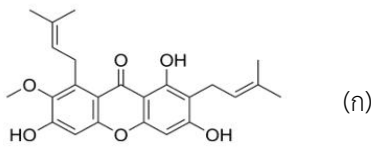
นอกจากนี้มะขามป้อมแม้จะมี TPC สูงที่สุด แต่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งโปรตีเอสอยู่ที่ 74.34% ซึ่งเห็นว่า สารกลุ่ม Hydrolyzable tannins ในมะขามป้อมเด่น ในด้านการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าการยับยั้งเอนไซม์ ชนิดนี้โดยตรง ในทางตรงข้ามพบว่าผักต้ว และ ผักคราด หัวแหวน มีฤทธิ์ยับยั้งที่สูง (84.84% และ 83.36%) แต่ว่าค่า TPC ของผักคราดหัวแหวนไม่สูง (46.14 mg GAE/g) แสดงให้เห็นว่าการมีฤทธิ์ Antiproteinase สูง ขึ้นกับสารกลุ่มอื่นอีก เช่น Alkylamides (Spilanthol) หรือ Triterpenoids ที่พบในผักคราดหัวแหวน [37] ทำงานร่วมกับสารฟีนอลิกเพื่อยับยั้งเอนไซม์อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการผสมสารสกัดพืชในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้ สารสกัดมังคุดเป็นหลัก มีผลทำให้ความสามารถในการ ยับยั้ง Proteinase เพิ่มขึ้นกว่าความสามารถของสาร สกัดมังคุดเดี่ยว ดังรูปที่ 1 (ก) (ข) (ค) และ (ง) และ พบว่ามีการเสริมฤทธิ์กัน เนื่องจากค่า *CI* ที่คำนวณได้มี ค่าน้อยกว่า 1 (ตารางที่ 7) ยกเว้นสารสกัดผสมระหว่าง สารสกัดเปลือกมังคุดกับผักคราดหัวแหวน (MGP + PLS) (รูปที่ 1 (จ)) และสารสกัดผสมระหว่างสารสกัด เปลือกมังคุดกับผักต้ว (MGP + CLS) (รูปที่ 1 (ฉ)) ซึ่ง สอดคล้องกับผลการการเปรียบเทียบความสามารถใน การยับยั้ง Proteinase จากการทดลอง (Experiment; EXP) และความสามารถในการยับยั้ง Proteinase จาก การคำนวณความสามารถในการยับยั้ง Proteinase

(Theory; THE) ดังรูปที่ 1 (จ) และ รูปที่ 1 (ฉ) หากมี การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดผสมพบว่าค่าความสามารถ ในการยับยั้ง Proteinase จากการทดลองมีค่าสูงกว่า จากการคำนวณ (EXP >THE) เป็นที่น่าเสียดายที่มีราย งานวิจัยความสามารถในการต้านการอักเสบด้วยวิธี Antiprotease Activity ของมังคุดอยู่บ้าง [38] แต่ยังไม่ พบการรายงาน Antiprotease Activity ของสารสกัด เปลือกมังคุดกับพืชอื่นเลย นอกจากนี้สารสกัดพืช ผสม จากเปลือกมังคุด และ ใบพลู (MGP + BLS) มีค่า %Inhibition สูงถึง 98.03% ซึ่งสูงกว่าการใช้สารสกัด มังคุดเดี่ยวหรือพลูเดี่ยวอย่างชัดเจน สอดคล้องกับการ เพิ่มขึ้นของ TPC และ TFC ในสารผสม (ตารางที่ 5 และ ตารางที่ 6) เนื่องจากสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ มีกลไกในการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโครงสร้างโปรตีน ของเอนไซม์โปรตีเอส ทำให้เอนไซม์สูญเสียสภาพหรือ ไม่สามารถจับกับซับสเตรตได้ [39] เป็นที่น่าประหลาด ใจที่แม้ว่าว่านหางจระเข้เดี่ยวจะมีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ (73.17%) แต่เมื่อผสมกับสารสกัดเปลือกมังคุดกลับ ช่วยยกระดับการยับยั้งการอักเสบให้สูงขึ้น (95.55%) มากกว่าสารเดี่ยวทั้งสองชนิด ทั้งยังมีค่าสูงกว่าความ สามารถในการต้านการอักเสบของสารสกัดเปลือก มังคุดและมะขามป้อม (MGP + EMF; 93.04%) อีกด้วย ดังนั้นจากข้อมูลการวิจัยนี้เป็นหลักฐานเชิงประจักษ์ที่ สำคัญซึ่งช่วยยืนยันว่าการนำสารสกัดมังคุดร่วมกับ พืชไทยอีก 4 ชนิดได้แก่ มะขามป้อม ว่านหางจระเข้ ใบบัวบก ใบพลู ช่วยส่งเสริมฤทธิ์การต้านการอักเสบ ผ่านการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสได้จริง โดยควรมี การศึกษาเพิ่มเติมในการนำสารสำคัญของพืชเหล่านี้มา ศึกษาเพื่อให้เข้าใจกลไกเชิงลึกของการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่สนใจ



รูปที่ 1 ความสามารถในการยับยั้ง Proteinase ของ (ก) MGP, EMF, MGP + EMF (ข) MGP, ALG, MGP + ALG (ค) MGP, ILS, MGP + ILS (ง) MGP, BLS, MGP + BLS (จ) MGP, PLS, MGP + PLS และ (ฉ) MGP, CLS, MGP + CLS โดย MGP คือ สารสกัดมังคุด EMF คือ ผลมะขามป้อม ALG คือ รื่นวุ้นหางจระเข้ ILS คือ ใบและก้านบัวบก BLS คือใบและก้านพลู PLS คือ ใบและลำต้นผักคราดหัวแหวน CLS คือ ใบและก้านผักต้ว THE คือ Theory เป็นค่าจากการคำนวณ และ EXP คือ Experiment เป็นค่าจากการทดลอง



รูปที่ 2 โครงสร้างของ (ก) α -Mangostin (ข) Archangelicin และ (ค) Samarcandin acetate

ตารางที่ 7 การเสริมฤทธิ์ของความสามารถในการต้านการอักเสบของสารสกัดพืชผสม⁵

ตัวอย่าง	Combination Index	รูปแบบปฏิสัมพันธ์
MGP + EMF	0.86	การเสริมฤทธิ์
MGP + ALG	0.83	การเสริมฤทธิ์
MGP + ILS	0.95	การเสริมฤทธิ์
MGP + BLS	0.79	การเสริมฤทธิ์
MGP + PLS	1.03	การบวกฤทธิ์
MGP + CLS	0.97	การบวกฤทธิ์

⁵ ข้อมูลเดียวกับตารางที่ 2

4. สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ผลการศึกษาพิษฤทธิและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดพืชไทย 6 ชนิด (มะขามป้อม วานหางจระเข้ บัวบก พลู ผักคราดหัวแหวน และผักติ้ว) ผสมกับสารสกัดมังคุดพบว่าสารสกัดเดี่ยวจากมะขามป้อม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด ในขณะที่

สารสกัดเปลือกมังคุดมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์สูงสุด เมื่อทำการประเมินปฏิสัมพันธ์เชิงหน้าที่ของสารผสมผ่านการวิเคราะห์ดัชนีการรวมกันพบการเสริมฤทธิ์ทางต่อต้านอนุมูลอิสระในทุกสารสกัดผสม โดยเฉพาะส่วนผสมสารสกัดเปลือกมังคุดและวานหางจระเข้ (MGP + ALG) ในอัตราส่วน 1:1 ที่แสดงการเสริมฤทธิ์สูงสุดด้วยค่าดัชนีการรวมกัน เท่ากับ 6.18 ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวมที่สูงถึง 342.92 mg GAE/g นอกจากนี้การผสมระหว่างมังคุดและพลู (MGP + BLS) ยังแสดงความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสได้ถึง 98.03% เป็นผลจากอันตรกิริยาอันซับซ้อนของโมเลกุลชีวภาพที่ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งแบบแข่งขัน เพื่อแย่งจับบริเวณศูนย์กลางการออกฤทธิ์ผสมกับการสร้างความเกาะทางพื้นที่ที่บล็อกขวางทางเข้าออกของเอนไซม์ ผลการศึกษานี้จึงเป็นการยืนยันสมมติฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ว่าปฏิสัมพันธ์เชิงซ้อนของพืชเคมีต่างชนิดกันสามารถช่วยข้ามขีดจำกัดของสารออกฤทธิ์เดี่ยว ซึ่งถือเป็นรากฐานข้อมูลเชิงประจักษ์ที่สำคัญยิ่งต่อการพัฒนาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์นวัตกรรมเวชสำอางและโภชนเภสัชภัณฑ์แห่งอนาคต อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในระบบจำลองการย่อยอาหาร (*In vitro* Digestion Model) และในสิ่งมีชีวิต เพื่อประเมินชีวปริมาณออกฤทธิ์ (Bioavailability) และการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางชีวภาพหลังการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย รวมถึงควรมีการศึกษาความคงตัวของสารสกัด ตลอดจนการทดสอบความปลอดภัย (Safety) และความเป็นพิษ (Toxicity) ในระดับเซลล์และสัตว์ทดลอง เพื่อเป็นหลักฐานยืนยันทั้งในด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยสูงสุด ก่อนนำไปต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและความงามในเชิงพาณิชย์ต่อไป



5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองส่งเสริมงานวิจัย มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย

เอกสารอ้างอิง

- [1] R. Shulammithi, M. Sharanya, R. Tejaswini, and M. Kiranmai, "Standardization and evaluation of herbal drugs," *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* vol. 11, no. 5, pp. 89–100, Sep.–Oct. 2016, doi: 10.9790/3008-11050189100.
- [2] H. J. Lee, E. O. Lee, Y. H. Rhee, K. S. Ahn, G. X. Li, and C. Jiang, "An oriental herbal cocktail, Ka-Mi-Kae-Kyuk-Tang, exerts anticancer activities by targeting angiogenesis, apoptosis and metastasis," *Carcinogenesis*, vol. 27, no. 12, pp. 2455–2463, Dec. 2006, doi: 10.1093/carcin/bgl104.
- [3] H. A. Jung, B. N. Su, W. J. Keller, R. G. Mehta, and A. D. Kinghorn, "Antioxidant xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen)," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, no. 6, pp. 2077–2082, Mar. 2006, doi: 10.1021/jf052649z.
- [4] X. Liu, M. Zhao, J. Wang, B. Yang, and Y. Jiang, "Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 21, no. 3, pp. 219–228, May 2008, doi: 10.1016/j.jfca.2007.10.001.
- [5] F. Pittella, R. C. Dutra, D. D. Junior, M. T. L. Lopes, and N. R. Barbosa, "Antioxidant and cytotoxic activities of *Centella asiatica* (L.) Urb," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 10, no. 9, pp. 3713–3721, Aug. 2009, doi: 10.3390/ijms10093713.
- [6] L. Langmead, R. J. Makins, and D. S. Rampton, "Anti-inflammatory effects of *Aloe vera* gel in human colorectal mucosa *in vitro*," *Alimentary pharmacology & therapeutics*, vol. 19, no. 5, pp. 521–527, Mar. 2004, doi: 10.1111/j.1365-2036.2004.01874.x.
- [7] L. Arambewela, M. Arawwawala, and D. Rajapaksa, "Piper betle: A potential natural antioxidant," *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 41, no. 1, pp. 10–14, May 2006, doi: 10.1111/j.1365-2621.2006.01227.x.
- [8] R. A. Rahim, P. A. Jayusman, N. Muhammad, N. Mohamed, V. Lim, N. H. Ahmad, and I. N. Mohamed, "Potential antioxidant and anti-inflammatory effects of *Spilanthes acmella* and its health beneficial effects: A review," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 18, no. 7, Mar. 2021, Art. no. 3532, doi: 10.3390/ijerph18073532.
- [9] P. Maisuthisakul, R. Pongsawatmanit, and

- M. H. Gordon, "Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer.)," *Food Chemistry*, vol. 100, no. 4, pp. 1620–1628, 2007, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.12.044.
- [10] G. Bhaskar, S. Arshia, and S. R. B. Priyadarshini, "Formulation and evaluation of topical polyherbal antiacne gels containing *Garcinia mangostana* and *Aloe vera*," *Pharmacognosy Magazine*, vol. 5, no. 19, pp. 93–99, 2009.
- [11] F. Lisyanti, S. Budi, and M. Zulfadhilah, "Formulation test of preparations face mist combination of pomegranate peel extract and mangosteen peel as an antioxidants," *Journal of Advances in Medicine and Pharmaceutical Sciences*, vol. 1, no. 1, pp. 15–22, 2022, doi: 10.36079/lamintang.jamaps-0101.426.
- [12] K. Eawsakul and K. Bunluepuech, "Exploring synergistic inhibition of inflammatory and antioxidant potential: Integrated *In silico* and *In vitro* analyses of *Garcinia mangostana*, *Curcuma comosa*, and *Acanthus ebracteatus*," *Advances in pharmacological and pharmaceutical sciences*, vol. 2024, 2024, Art. no. 8584015, doi: 10.1155/2024/8584015.
- [13] K. Anam, R. Munandar, O. N. Wulandari, A. B. Lestari, R. E. Farada, D. Hudiyaniti, and A. L. Aminin, "Chemical composition, antioxidant activities, and total phenolic content of combination of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) peel-kodavan (*Centella asiatica* L. Urban) fractions," *Tropical Journal of Natural Product Research*, vol. 7, no. 1, pp. 2229–2234, Jan. 2023, doi: 10.26538/tjnpr/v7i1.20.
- [14] H. Hasan, S. Oktawaty, and P. M. Kadang, "Efficacy of pomegranate peel extract, mangosteen peel extract, and combination of both extract on incision wound healing in mice," *International Journal of Applied Pharmaceutics*, vol. 11, no. 4, pp. 5–7, 2019, doi: 10.22159/ijap.2019.v11.s4.35270.
- [15] AOAC International, *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18th ed., Official Method 930.15, "Direct Oven Method." Gaithersburg, MD, USA: AOAC International, 2005.
- [16] AOAC International, *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18th ed., Official Method 990.12. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists, 2000.
- [17] M. T. Knight, M. C. Newman, M. J. Benzinger, K. L. Neufang, J. R. Agin, J. S. McAllister, and " M. Ramos, "Comparison of the petrifilm dry rehydratable film and conventional culture



- methods for enumeration of yeasts and molds in foods: Collaborative study," *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, vol. 80, no. 4, pp. 806–824, 1997, doi: 10.1093/jaoac/80.4.806.
- [18] AOAC International, *Official Method 986.15: Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods*. Gaithersburg, MD, USA, 1998.
- [19] P. Maisuthisakul and M. H. Gordon, "Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by-product," *Food Chemistry*, vol. 117, no. 2, pp. 332–341, Nov. 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.04.010.
- [20] S. Chandra, S. Khan, B. Avula, H. Lata, M. H. Yang, M. A. ElSohly, and I. A. Khan, "Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: A comparative study," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2014, Mar. 2014, Art. no. 253875, doi: 10.1155/2014/253875.
- [21] P. Maisuthisakul and L. Changchub, "Effect of extraction on phenolic antioxidant of different Thai rice (*Oryza sativa* L.) genotypes," *International Journal of Food Properties*, vol. 17, no. 4, pp. 855–865, Nov. 2013, doi: 10.1080/10942912.2012.685677.
- [22] N. D. Rawlings and A. J. Barrett, "Families of serine peptidases," *Methods in Enzymology*, vol. 244, pp. 19–61, 1994, doi: 10.1016/0076-6879(94)44004-2.
- [23] T. C. Chou, "Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method," *Cancer Research*, vol. 70, no. 2, pp. 440–446, Jan. 2010, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1947.
- [24] N. Ramji, N. Ramji R. Iyer, and S. Chandrasekaran, "Phenolic antibacterials from *Piper betle* in the prevention of halitosis," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 83, no. 1–2, pp. 149–152, Nov. 2002, doi: 10.1016/s0378-8741(02)00194-0.
- [25] A. Chakraborty, R. K. B. Devi, S. Rita, K. Sharatchandra, and T. I. Singh, "Preliminary studies on anti-inflammatory and analgesic activities of *Spilanthes acmella* in experimental animal models," *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 36, no. 3, pp. 148–150, 2004.
- [26] B. Tohidi, M. Rahimmalek, and A. Arzani, "Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran," *Food Chemistry*, vol. 220, pp. 153–161, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.203.
- [27] H. W. Aparamarta, M. R. Sanjaya, R. Azimatarrusydi,

- T. L. Nanta, A. Widjaja, and M. W. Chan, "Optimization of α -mangostin and catechins compound extraction from mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana* L.) as potential antioxidant using combination method of microwaved assisted extraction-batchwise solvent extraction," *South African Journal of Chemical Engineering*, vol. 54, pp. 191-199, Oct. 2025, doi: 10.1016/j.sajce.2025. 07.013.
- [28] R. Haruenkit, S. Poovarodom, H. Leontowicz, M. Leontowicz, M. Sajewicz, T. Kowalska, E. Delgado-Licon, N. E. Rocha-Guzmán, J. A. Gallegos-Infante, S. Trakhtenberg, and S. Gorinstein, "Comparative study of health properties and nutritional value of durian, mangosteen and snake fruit: Experiments *in vitro* and *in vivo*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, no. 14, pp. 5842-5849, Jul. 2007, doi: 10.1021/jf070475a.
- [29] T. Anand, N. Mahadeva, K. G. Phani, and K. Farhath, "Antioxidant and DNA damage preventive properties of *Centella asiatica* (L) Urb," *Pharmacognosy Journal*, vol. 2, no. 17, pp. 53-58, Dec. 2010, doi: 10.1016/S0975-3575(10)80010-0.
- [30] I. I. Dovgii, V. I. Grishkovets, V. V. Kachala, and A. S. Shashkov, "Triterpene glycosides from *Cussonia paniculata*. III. Structure of glycosides I₁, I₂, J_{1a}, J_{1b}, J₂, K, L₁, and L₂ from *C. paniculata* leaves," *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 42, no. 2, pp. 182-185, Mar. 2006, doi: 10.1007/s10600-006-0073-y.
- [31] M. Li and Y. Xiong, "The study of phenolics content in the emblica fruit wine," in *Proceedings International Conference on Mechanical Materials and Manufacturing Engineering (MMME 2016)*, Wuhan, China, Oct. 2016, pp. 195-198, doi: 10.2991/mmme-16.2016.37.
- [32] T. J. Bamigboye, O. J. Idowu, O. O. Olujide, and V. H. R. Fanie, "Structure-activity-relationship of the polyphenols inhibition of α -amylase and α -glucosidase," *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, vol. 17, no. 2, pp. 55-65, Mar. 2023, doi: 10.21010/Ajtcamv17i2.5
- [33] M. Leopoldini, T. Marino, N. Russo, and M. Toscano, "Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism," *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 108, no. 22, pp. 4916-4922, May 2004, doi: 10.1021/jp 037247d.
- [34] H. P. Kim, K. H. Son, H. W. Chang, and S. S. Kang, "Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms," *Journal of pharmacological sciences*, vol. 96, no. 3, pp. 229 -245, Nov. 2004, doi: 10.1254/jphs.



- crj04003x.
- [35] K. Sairam, C. V. Rao, and R. K. Goel, "Effect of *Centella asiatica* Linn. on physical and chemical factors induced gastric ulceration and secretion in rats," *Indian journal of experimental biology*, vol. 39, no. 2, pp. 137–142, Feb. 2001.
- [36] L. C. Wu, N. C. Fan, M. H. Lin, I. R. Chu, S. J. Huang, C. Y. Hu, and S. Y. Han, "Anti-inflammatory effect of spilanthol from *Spilanthes acmella* on murine macrophage by down-regulating LPS-induced inflammatory mediators," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 56, no. 7, pp. 2341–2349, Apr. 2008, doi: 10.1021/jf073057e.
- [37] B. L. S. do E. Santo, L. F. Santana, W. Hino K. Junior, F. de O. de Araújo, D. Bogo, K. de C. Freitas, R. de C. A. Guimarães, P. A. Hiane, A. Pott, W. F. de O. Filiú, M. A. Asato, P. de O. Figueiredo, and P. R. H. de O. Bastos, "Medicinal potential of *Garcinia* species and their compounds," *Molecules*, vol. 25, no. 19, Sep. 2020, Art. no. 4513, doi: 10.3390/molecules25194513.
- [38] W. S. Widodo, W. Widowati, C. N. Ginting, I. Lister, A. Armansyah, and E. Girsang, "Comparison of antioxidant and anti-collagenase activity of genistein and epicatechin," *Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 6, no. 2, 2019, Art. no. 6, doi: 10.7454/psr.v6i2.4510.
- [39] M. Golechha, V. Sarangal, S. Ojha, J. Bhatia, and D. S. Arya, "Anti-inflammatory effect of *Emblica officinalis* in rodent models of acute and chronic inflammation: Involvement of possible mechanisms," *International journal of inflammation*, vol. 2014, Aug. 2014, Art. no. 178408, doi: 10.1155/2014/178408.