วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ผสมผสาน
Thai Traditional and Integrative Medicine Journal

TTIMJ
Thai Traditional and Integrative Medicine Journal

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาแก้ไอแผนไทยอำมฤควาที

Phytochemical Analysis and Evaluation of Antioxidant Capacity of Thai herbal Antitussive Formula

ศรัณย์ ฉวีรักษ์[1*], สุภัทรา กลางประพันธ์[1], ประธาน ฦๅชา[2], ธนิสร์ ปทุมานนท์[2]

Saran Chaweerak[1*], Supattra klangprapun[1], Prathan Luecha[2], Tanit Padumanonda[2]

[1]คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

[2]คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

[1]Faculty of Thai traditional and alternative medicine, Ubon Ratchathani Rajabhat University

[2]Faculty of pharmaceutical sciences, Khon Kaen University

*Corresponding author: saran.c@ubru.ac.th

Received date: 29 May 2026 *Accepted date: 26 August 2026*

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาสมุนไพร “อำมฤควาที”(UM) ซึ่งใช้บรรเทาอาการไอและขับเสมหะ โดยส่วนประกอบในตำรับ ได้แก่ สมอไทย สมอพิเภก มีรายงานว่ามีสารประกอบฟีนอลิกสูง ซึ่งอาจมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ การวิเคราะห์สารพฤกษเคมีดำเนินการโดยใช้วิธีมาตรฐาน ได้แก่ การเกิดสีและการตกตะกอน ตัวอย่างที่ใช้ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ “Um-Ma-Ruek-Ka-Va-Tee” UM จากผู้ผลิต 7 แหล่ง และสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี DPPH และรายงานผลเป็นค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อม (*Phyllanthus* emblica) ให้ผลดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 254.76 ± 0.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การทดสอบด้วยวิธี FRAP วัดค่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก โดยรายงานเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่า Trolox ต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg TE/g crude extract) พบว่าตัวอย่างที่ 3, 7 และ 5 ให้ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดที่ 242 ± 0.14, 237 ± 0.32 และ 216 ± 0.08 ตามลำดับ สำหรับปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด วิเคราะห์โดยใช้กรดแกลลิกเป็นมาตรฐาน พบว่าตัวอย่างที่ 6 มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุด คือ 166 ± 0.06 mg GA/g crude extract การทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้น พบว่า 6 ตัวอย่างมีสารกลุ่มแอนทราควิโนน ไตรเทอร์พีนอยด์ และแทนนิน ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาตำรับยาสมุนไพรอำมฤควาทีในอนาคต

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สมุนไพรตำรับ, แพทย์แผนไทย

Abstract

This study aimed to investigate the phytochemical constituents and antioxidant activity of the traditional Thai herbal formula “Um-Ma-Ruek-Ka-Va-Tee” (UM), commonly used as an antitussive and expectorant. Key ingredients such as *Terminalia chebula* and *T. bellirica* have been reported to contain high levels of phenolic compounds, which may contribute to natural antioxidant properties. Phytochemical screening was conducted using standard methods, including color and precipitation reactions. The study used eight UM products from various manufacturers and extracts of individual herbal components. Antioxidant activity was assessed using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging assay. The results were expressed as IC_{50} values. Among all samples, *Phyllanthus emblica* extract showed the strongest antioxidant activity with an IC_{50} of 254.76 ± 0.08 µg/mL The ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay was also applied, with results expressed as milligrams of Trolox equivalents per gram of crude extract (mg TE/g crude extract). Samples 3, 7, and 5 exhibited the highest antioxidant capacities, with FRAP values of 242 ± 0.14, 237 ± 0.32, and 216 ± 0.08 mg TE/g crude extract, respectively. Total phenolic content was determined using gallic acid as a standard. Sample 6 had the highest phenolic content at 166 ± 0.06 mg GA/g of crude extract. Basic phytochemical screening indicated that six of the samples contained anthraquinones, triterpenoids, and tannins. In conclusion, the findings demonstrate the potential of the UM herbal formula as a natural source of antioxidants. These results support further research and development to optimize the formulation and ensure its efficacy and quality in traditional medicine.

Keywords: antioxidant activity, herbal formula, Thai traditional medicine

บทนำ

ตำรับยาสมุนไพรไทยซึ่งประกอบด้วยพืชสมุนไพรหลากหลายชนิด ถือเป็นแนวทางการรักษาที่มีความสำคัญในการบรรเทาอาการเจ็บป่วยของมนุษย์ และได้รับการนำมาใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ ตั้งแต่สมัยโบราณ แม้ว่าวิธีการสังเคราะห์สารเคมีในห้องปฏิบัติการจะพัฒนาอย่างรวดเร็ว แต่พืชสมุนไพรก็ยังคงมีบทบาทสำคัญในฐานะทางเลือกในการรักษาเสริมจากการแพทย์แผนปัจจุบัน เนื่องจากคุณลักษณะทางฤทธิ์ชีวภาพที่หลากหลายของพืชเหล่านี้ (Ngo et al., 2013)

“อำมฤควาที” (UM MA RUE KA VA TEE; UM) เป็นตำรับยาสมุนไพรแผนไทยที่ประกอบด้วยสมุนไพรหลายชนิด (ตำรับพหุสมุนไพร) ซึ่งได้ขึ้นทะเบียนในบัญชียาหลักแห่งชาติของประเทศไทย ในหมวดยาบรรเทาอาการไอและขับเสมหะ สมุนไพรหลักในตำรับคือชะเอมเทศ ร้อยละ 54.55 และสมุนไพรอีก 6 ชนิดในปริมาณเท่ากัน คือ สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.) สมอพิเภก (*Terminalia bellirica* Roxb.) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) เทียนขาว (*Cuminum cyminum* L.) ลูกผักชี (*Coriandrum sativum* L.) และดีปลีลิง (โครงสร้างเนื้องอกบนใบและยอดอ่อนของ *Terminalia chebula* Retz.) โดยสมุนไพรแต่ละชนิดในกลุ่มนี้คิดเป็นร้อยละ 10 ของตำรับ ชะเอมเทศที่ใช้ในตำรับสามารถสกัดได้จากพืชในสกุล *Glycyrrhiza* สามชนิด ได้แก่ *Glycyrrhiza uralensis*, *G. glabra* และ *G. inflata* ทั้งนี้ ตำรับอำมฤควาทีในบัญชียาหลักแห่งชาติของไทยเป็นตำรับที่มีการปรับปรุงจากตำรับดั้งเดิม โดยตัดสมุนไพรหนึ่งชนิดออกจากสูตรเดิม เนื่องจากมีการตรวจพบสารอะริสโตโลชิกแอซิด (aristolochic acid) ซึ่งมีความเป็นพิษต่อไตและก่อมะเร็ง (Debelle et al., 2008) ผลิตภัณฑ์ตำรับอำมฤควาทีมีจำหน่ายในรูปแบบยา 2 ชนิด ได้แก่ ยาผง และยาก้อนน้ำผึ้ง ซึ่งเตรียมโดยการผสมผงละเอียดของสมุนไพรทั้งหมดเข้ากับน้ำผึ้ง

สมุนไพร 3 ชนิดในตำรับอำมฤควาที ได้แก่ สมอไทย สมอพิเภก และมะขามป้อม เป็นที่รู้จักในชื่อ “ตรีผลา” ซึ่งเป็นตำรับยาสมุนไพรที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอินเดียและประเทศไทย โดยนำมาใช้รักษาโรคต่าง ๆ เช่น ดีซ่าน ท้องผูก หอบหืด ไข้ และแผลเรื้อรัง (Deepa, 2013; Jagetia et al., 2002) มีรายงานการศึกษามากมายเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับตรีผลา ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระ (Parveen et al., 2018) นอกจากสมอทั้งสามแล้ว ตำรับอำมฤควาทียังมีส่วนประกอบของชะเอมเทศในสัดส่วนสูงถึงร้อยละ 50 รวมทั้งมีน้ำมันหอมระเหยจากเทียนขาวและลูกผักชี และมีแทนนินในปริมาณมากจากดีปลีลิง รากชะเอมเทศ ซึ่งเป็นสมุนไพรหลักของตำรับ UM มีสารสำคัญคือกลัยซีร์ริซิน (glycyrrhizin) ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ที่มีโครงสร้างและฤทธิ์คล้ายกับสเตียรอยด์จากต่อมหมวกไต โดยชะเอมเทศมีฤทธิ์ต้านการอักเสบคล้ายกับคอร์ติโซน และมีการนำมาใช้รักษาโรคข้ออักเสบและภูมิแพ้ (Jatav et al., 2011) จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่ายังไม่มีรายงานการศึกษาทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับอำมฤควาที (UM) มาก่อน การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีพื้นฐานและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวัตถุดิบสมุนไพรเป็นขั้นตอนเบื้องต้นที่สำคัญในการประเมินศักยภาพของพืชสมุนไพรตามองค์ประกอบทางเคมี เนื่องจากตำรับอำมฤควาทีมีองค์ประกอบเฉพาะ โดยผสมผสานสมุนไพรที่มีรสฝาด (ตรีผลา) กับสมุนไพรรสหวาน (ชะเอมเทศ) และรสร้อน (ลูกผักชีและเทียนขาว) จึงอาจมีแนวโน้มในการใช้เป็นยาป้องกันโรคที่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกการต้านอนุมูลอิสระ การศึกษานี้เลือกใช้การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) และ FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ซึ่งเป็นวิธีการทางสเปกโตรโฟโตเมตรีที่นิยมใช้ในการประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในระดับหลอดทดลอง (in vitro) ของอาหารและตัวอย่างชีวภาพต่าง ๆ ทั้งสองวิธีอาศัยกลไกการถ่ายโอนอิเล็กตรอน ที่ทำให้สารออกซิแดนต์ เช่น DPPH หรือเฟอร์ริกไอออน ถูกรีดิวซ์

จนเกิดการเปลี่ยนสี ซึ่งสามารถวัดผลได้ทางสายตาและเครื่องมือ โดยทั่วไปผลที่ได้จากทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กันอย่างดี วัตถุประสงค์หลักของการศึกษานี้ คือ การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของตำรับอำมฤควาทีกับสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิด เพื่อประเมินศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ การคัดกรองดังกล่าวจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร ซึ่งมีความสำคัญในการทำความเข้าใจบทบาทของพืชแต่ละชนิดในการลดความเครียดออกซิเดชัน ซึ่งเกี่ยวข้องกับพยาธิสรีรวิทยาของโรคต่าง ๆ (Aruoma, 1994)

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างตำรับยาอำมฤควาทีกับสมุนไพรเดี่ยว 4 ชนิดที่เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ ชะเอมเทศ ลูกผักชี สมอพิเภก และมะขามป้อม

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

วัตถุดิบสมุนไพรทั้งหมดได้รับการตรวจสอบและยืนยันชนิดพืชอย่างถูกต้องโดยภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์และพิษวิทยาคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในการศึกษานี้ ได้สุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ตำรับยาสมุนไพร “อำมฤควาที” (UM) เชิงพาณิชย์ จำนวน 7 ตัวอย่าง จากร้านขายยาในจังหวัดอุบลราชธานี ประเทศไทย และจัดเตรียมตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ (in-house sample) ขึ้น 1 ตัวอย่าง โดยใช้ผงสมุนไพร 6 ชนิดผสมกันตามสูตรตำรับยาแผนไทย โดยใช้ชะเอมเทศ 6 ส่วน และสมุนไพรอื่น ๆ อีก 5 ชนิดอย่างละ 1 ส่วน ผลิตภัณฑ์ที่จัดเตรียมในห้องปฏิบัติการนี้ถูกกำหนดให้เป็นตัวอย่างหมายเลข 8 ส่วนผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์อื่น ๆ ถูกกำหนดให้เป็นหมายเลข 1 ถึง 7

2. การเตรียมตัวอย่างและการสกัด

ชั่งตัวอย่างตำรับอำมฤควาที (UM) แต่ละชนิดในปริมาณ 0.001 กรัม แล้วละลายในน้ำต้มร้อนอุณหภูมิระหว่าง 40–50 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 15–20 นาทีจนตัวยาละลายหมด จากนั้นกรองด้วยกระบอกกรองแบบใช้แล้วทิ้ง (syringe filter) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยแต่ละตัวอย่างจะเตรียมใหม่สดสำหรับการทดลองแต่ละครั้งสำหรับสมุนไพรหลัก 4 ชนิดในตำรับ ได้แก่ *G. glabra* Linn. (ชะเอมเทศ), *C. sativum* L. (ลูกผักชี), *T. bellirica* Roxb. (สมอพิเภก) และ *P. emblica* Linn. (มะขามป้อม) ได้รับการเตรียมสารสกัดโดยใช้วิธีเดียวกันกับการเตรียมตัวอย่าง UM สารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิดถูกนำมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างตำรับ UM เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH Radical Scavenging Assay)

เตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ และชั่งตัวอย่างสารสกัดแห้งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ให้มีน้ำหนักในช่วง 2-5 มิลลิกรัม บันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้ทำละลายด้วยเมทานอล ให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารสกัดตัวอย่างเข้มข้น 10,000 ppm ในเมทานอล จากนั้นทำการเจือจางสารสกัดให้ได้ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 10–1,000 ppm แต่ละหลุมเติมสารละลาย DPPH ในเมทานอล 100 ไมโครลิตร ลงในสารสกัด 100 ไมโครลิตร แล้วปล่อยให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง

(absorbance) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox และใช้กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) การทดลองในแต่ละความเข้มข้นดำเนินการในรูปแบบสามซ้ำ (n = 3) แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ และค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) โดยใช้สมการต่อไปนี้

$$\% \text{ radical scavenging} = [1 - (A_{sample} / A_{control})] \times 100 \quad (1)$$

สร้างกราฟ ระหว่าง % radical scavenging (แกน Y) กับความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดในปฏิกิริยา (แกน X) ถ้าช่วงที่เป็นเส้นตรงของกราฟผ่าน 50% สามารถแทนค่า Y = 50 เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 50% (ค่า IC_{50}) จากกราฟได้

4. การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ได้เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสมบัฟเฟอร์อะซิเตต ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์, สารละลาย 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์ และเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10 : 1 : 1 ที่อุณหภูมิ 37 °C นำสารละลาย FRAP ที่เตรียมใหม่ (3.995 มิลลิลิตร) ดูดด้วยไมโครปิเปตแบบปรับปริมาตรได้ (1–5 มิลลิลิตร) แล้วเติมสารตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอย่างสมบูรณ์ จะเกิดสารประกอบสีน้ำเงินเข้มเมื่อเฟอร์ริกไตรไพริดิลไตร-อะซีน (Fe^{3+}–TPTZ complex) ถูกรีดิวซ์เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร หลังจากตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที โดยเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นเปล่า (blank) ซึ่งประกอบด้วย FRAP reagent 3.995 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 5 ไมโครลิตร การทดลองดำเนินการในรูปแบบสามซ้ำ (n = 3) สร้างกราฟมาตรฐานโดยพล็อตค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับความเข้มข้นของสารละลาย $FeSO_4$ และแปลงผลลัพธ์ให้เป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน Trolox แสดงผลเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่า Trolox ต่อกรัมของตัวอย่าง (mg TE/g crude extract)

5. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content, TPC)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดดำเนินการโดยใช้วิธีการวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยอาศัยปฏิกิริยากับสารละลาย Folin–Ciocalteu ซึ่งมีการปรับเปลี่ยนวิธีเล็กน้อยในการทดลองนี้ตัวอย่างสารสกัดหยาบแต่ละชนิดในปริมาณ 10 มิลลิกรัม ถูกละลายในตัวทำละลายชนิดเดียวกับที่ใช้ในการสกัดในปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมสารละลาย stock ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm จากนั้นนำมาละลายต่อให้ได้ความเข้มข้นต่ำลงที่ 500 ppm และ 1,000 ppm นำสารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองและเติมสารละลาย Folin–Ciocalteu ความเข้มข้น 10% ที่เตรียมใหม่จำนวน 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดบ่มที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากการบ่ม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน และรายงานผลในรูปของมิลลิกรัมเทียบเท่าแกลลิกแอซิดต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง (mg GAE/g crude extract) การทดลองแต่ละตัวอย่างดำเนินการในรูปแบบสามซ้ำ (n = 3) และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D.)

6. การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)

ในการศึกษานี้ ได้ทำการตรวจสอบสารพฤกษเคมีที่สำคัญในวัตถุดิบสมุนไพร ได้แก่ อัลคาลอยด์ (alkaloids), แทนนิน (tannins), แอนทราควิโนน (anthraquinones), คาร์ดิโอไกลโคไซด์ (cardiac glycosides), ซาโปนิน (saponins) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) โดยใช้สารสกัดที่เตรียมจากตัวทำละลายต่าง ๆ เช่น น้ำและเมทานอล และใช้ปฏิกิริยาการตกตะกอนและการเกิดสีในการตรวจสอบการเตรียมสารสกัดน้ำและเมทานอลทำโดยการชั่งผงสมุนไพรแห้ง 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปกรวยที่บรรจุตัวทำละลาย (น้ำหรือเมทานอล) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยสำลี แล้วนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าแบบหมุน (rotary shaker) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากครบเวลา 24 ชั่วโมง กรองแยกของเหลวออก รวบรวมสารกรอง (filtrate) แล้วนำไประเหยจนแห้ง และเก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในขวดที่ปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4 °C ตัวอย่างในรูปของผงหรือสารสกัดแต่ละชนิดจะถูกนำไปทดสอบด้วยปฏิกิริยาเฉพาะทางของแต่ละกลุ่มสาร โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีหรือการเกิดตะกอนเพื่อใช้ในการระบุชนิดของสารพฤกษเคมี (Jirum et al., 2013; Nawwar et al., 1985; Sorsavanh et al., 2019)

6.1 การทดสอบสารแอนทราควิโนน (Anthraquinones)

เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในสารสกัด 0.2 กรัมในขวดรูปกรวย แล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองสารละลายที่ได้ สารกรองจะถูกสกัดด้วยคลอโรฟอร์มในปริมาณเท่า ๆ กัน 2–3 ครั้ง หลังจากนั้น เติมสารละลายแอมโมเนีย 10 มิลลิลิตร ลงในชั้นคลอโรฟอร์ม แล้วเขย่าแรง ๆ เป็นเวลา 30 วินาที หากเกิดสีชมพู ม่วง หรือแดงในชั้นแอมโมเนีย แสดงว่ามีสารแอนทราควิโนน

6.2 การทดสอบสารเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids)

ใช้สารสกัดแห้งประมาณ 2 มิลลิกรัม ละลายกับคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นจำนวนเล็กน้อยทางด้านข้างของหลอดทดลอง หากปรากฏแถบสีน้ำตาลแดงที่บริเวณรอยต่อของชั้นน้ำและกรด ถือว่าผลการทดสอบเป็นบวกสำหรับไตรเทอร์พีนอยด์

6.3 การทดสอบสารซาโปนิน (Saponins)

นำสารสกัดหยาบ 0.2 กรัม เขย่าแรง ๆ กับน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง หากเกิดฟองที่คงตัวแสดงว่ามีสารซาโปนินอยู่

6.4 การทดสอบแทนนิน (Tannins)

นำผงตัวอย่าง 1 กรัม ต้มกับน้ำ 20 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำเป็นเวลา 5 นาที แล้วกรองขณะร้อน จากนั้นนำสารกรองที่เย็นแล้ว 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) ความเข้มข้น 10% จำนวน 3 หยด หากเกิดตะกอนสีน้ำตาลอมเขียว แสดงว่ามีแทนนิน

6.5 การทดสอบอัลคาลอยด์ (Alkaloids)

ละลายสารสกัดแห้ง 0.2 กรัม ด้วยกรดซัลฟิวริก 2% ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2–3 นาที แล้วกรอง จากนั้นเติมสารละลาย Dragendorff (สารละลายโพแทสเซียมบิสมัทไอโอไดด์) ลงในสารกรอง 2–3 มิลลิลิตร หากเกิดตะกอนสีส้มแดง แสดงว่ามีอัลคาลอยด์

6.6 การทดสอบสารคาร์ดิโอไกลโคไซด์ (Cardiac Glycosides)

นำสารสกัด 5 มิลลิลิตร เติมกรดแอซิติกบริสุทธิ์ (glacial acetic acid) 2 มิลลิลิตร ที่ผสมกับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 หยด จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตรทางด้านข้างของหลอดทดลองอย่างระมัดระวังเพื่อให้เกิดชั้นแยก หากมีวงแหวนสีน้ำตาลปรากฏที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้น แสดงถึงลักษณะของน้ำตาลดีออกซี (deoxy sugar) ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารในกลุ่มคาร์เดียโนไลด์ (cardenolides) นอกจากนี้อาจพบวงแหวนสีม่วงอยู่ด้านล่างของวงแหวนสีน้ำตาล และวงแหวนสีเขียวอมฟ้าในชั้นกรดแอซิติกด้านบน

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทำการทดสอบซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n = 3) ละแสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย (±) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± S.D.) สำหรับกราฟ dose-response จะใช้การวิเคราะห์การถดถอย (Regression analysis) เพื่อคำนวณค่า R^2 นอกจากนี้จะวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Tukey's post-hoc test

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH Radical Scavenging Assay)

จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดแต่ละชนิด พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดมีค่าตั้งแต่ 84.46 ถึง 846.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพ 1) ลำดับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตำรับอำมฤควาทีและสมุนไพรแต่ละชนิด เรียงตามประสิทธิภาพจากมากไปน้อยได้ดังนี้ สารสกัดจากมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) > ตัวอย่างที่ 1 > ตัวอย่างที่ 3 > ตัวอย่างที่ 2 > ตัวอย่างที่ 6 > สารสกัดจากสมอพิเภก (*Terminalia bellirica*) > ตัวอย่างที่ 8 > ตัวอย่างที่ 7 > ตัวอย่างที่ 4 > สารสกัดจากลูกผักชี (*Coriandrum sativum*) > สารสกัดจากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) อย่างไรก็ตาม สารควบคุมเชิงบวกคือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 84.46 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านความเครียดออกซิเดชันของสารสกัดโดยวิธี FRAP พบว่าค่าความสามารถในการรีดิวซ์ของแต่ละตัวอย่างอยู่ในช่วง 34 ± 0.02 ถึง 242 ± 0.14 มิลลิกรัมเทียบเท่า Trolox ต่อกรัมของสารสกัด (mg TE/g crude extract) (ภาพ 2) ตัวอย่างหมายเลข 3 มีค่า FRAP สูงที่สุด คือ 242 ± 0.14 mg TE/g รองลงมาคือหมายเลข 7 (237 ± 0.32 mg TE/g crude extract) และหมายเลข 5 (216 ± 0.08 mg TE/g crude extract) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรตำรับอำมฤควาที (UM) และสมุนไพรเดี่ยว พบว่าทุกตัวอย่างในกลุ่มสูตรตำรับ UM แสดงค่า FRAP สูงกว่าสารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยว โดยที่สารสกัดจากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด โดยให้ค่า FRAP เท่ากับ 34 ± 0.02 mg TE/g crude extract (Cheeseman, K.H. and Slater, T.F., 1996)

3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมด (Total Phenolic Content)

ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) คำนวณจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) โดยใช้สมการ $Y = 0.0296x + 0.2519$ ($R^2 = 0.9896$) ผลการวิเคราะห์พบว่า สูตรตำรับ UM ทั้งหมดมีปริมาณสารฟีนอลิก

รวมสูงกว่าสมุนไพรเดี่ยว โดยอยู่ในช่วง 60 ถึง 166 มิลลิกรัม เทียบเท่าแกลลิกแอซิดต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg GAE/g crude extract) (ตาราง 1) ตัวอย่างที่มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงสุดคือหมายเลข 6 (166 ± 0.06 mg GAE/g) รองลงมาคือหมายเลข 4 (146 ± 0.03 mg GAE/g) ส่วนสารสกัดจากชะเอมเทศมีค่าต่ำสุด (27 ± 0.03 mg GAE/g) ในกลุ่มสมุนไพรเดี่ยว พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (57 ± 0.0 mg GAE/g crude extract) ซึ่งค่าค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content) จากสารสกัดน้ำของมะขามป้อม โดยทั่วไปจะอยู่ในช่วงประมาณ 30 ถึง 300 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดแห้ง (mg GAE/g dry extract) และจากผลการศึกษา พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยวทั้ง 4 ชนิด มีลำดับของค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมสอดคล้องกับค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วยวิธี FRAP (Singleton et al., 1999)

ตาราง 1

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมดของสารสกัด (mg GAE/g crude extract)

Samples	Total phenolic content (mg GAE/g crude extract)
No 1	75 ± 0.05
No 2	68 ± 0.10
No 3	72 ± 0.02
No 4	146 ± 0.03
No 5	60 ± 0.07
No 6	166 ± 0.06
No 7	86 ± 0.07
In house sample	94 ± 0.09
G. glabra Linn.	27 ± 0.03
C. sativum L.	36 ± 0.05
T. bellirca Roxb.	31 ± 0.04
P. emblica Linn.	57 ± 0.02

4. การตรวจสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)

ผลการตรวจคัดกรองสารพฤกษเคมีของตำรับอำมฤควาที (Um-Ma-Ruek-Ka-Va-Tee) พบว่าทุกตัวอย่างให้ผลบวกในการทดสอบสารกลุ่มแอนทราควิโนน (anthraquinones), เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) และแทนนิน (tannins) ส่วนใหญ่ของตัวอย่าง UM ยังให้ผลบวกต่อการทดสอบสารกลุ่มซาโปนิน (saponins) ยกเว้นตัวอย่างหมายเลข 2 และ 4 ที่ไม่แสดงผลบวกในการทดสอบดังกล่าว ขณะเดียวกัน ไม่พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloids) และคาร์ดิโอไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) ในทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 2) การให้ผลบวกของสารแอนทราควิโนนและแทนนินสอดคล้องกับองค์ประกอบของสมุนไพรดิบสามชนิด ได้แก่ สมอไทย สมอพิเภก และมะขามป้อม ซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ฝาดสมานและระบายอ่อนส่วนการให้ผลบวกของการทดสอบไตรเทอร์พีนอยด์อาจสอดคล้องกับการมี

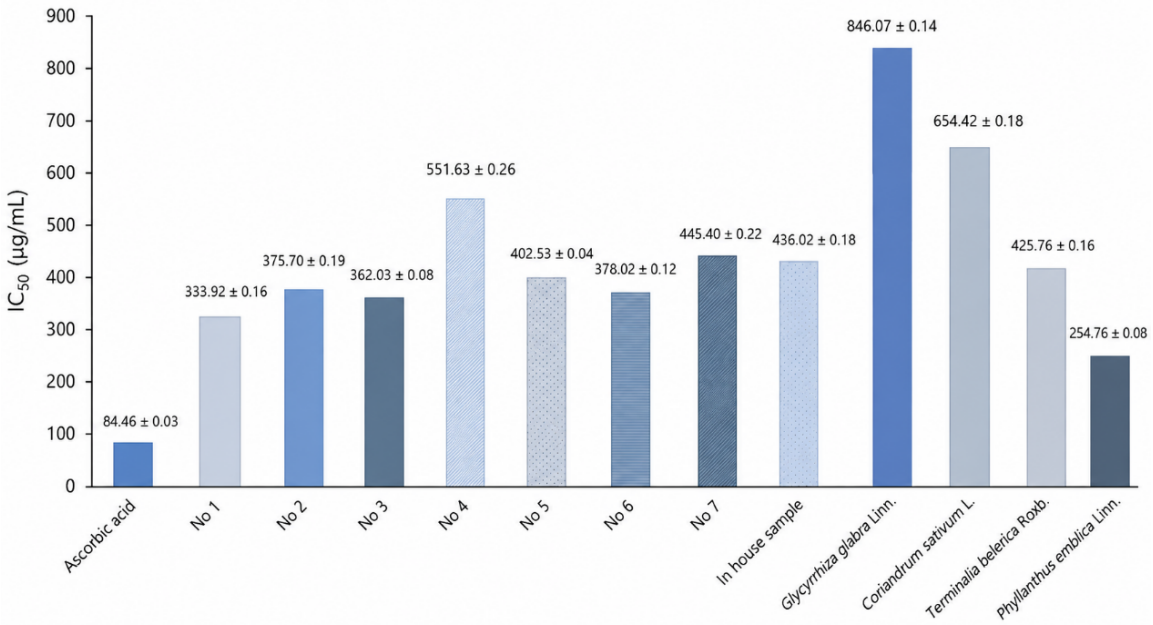
สารกลุ่ม triterpenoid saponins ซึ่งพบในชะเอมเทศ เช่น glycyrrhizin ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มไกลโคไซด์และเป็นซาโปนินประเภทไตรเทอร์พีนอยด์ เนื่องจากโครงสร้างของสารนี้เกิดจากโพลิเมอร์ที่มีคาร์บอน 30 อะตอมที่ผ่านการออกซิไดซ์ ผลการทดสอบที่ให้ผลบวกทั้งในการทดสอบซาโปนินและไตรเทอร์พีนอยด์ สามารถสนับสนุนการมีอยู่ของกลัยซีร์ริซินในตำรับอำมฤควาที อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องมีการศึกษาด้วยเทคนิค HPLC เพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลอย่างชัดเจน

ตาราง 2

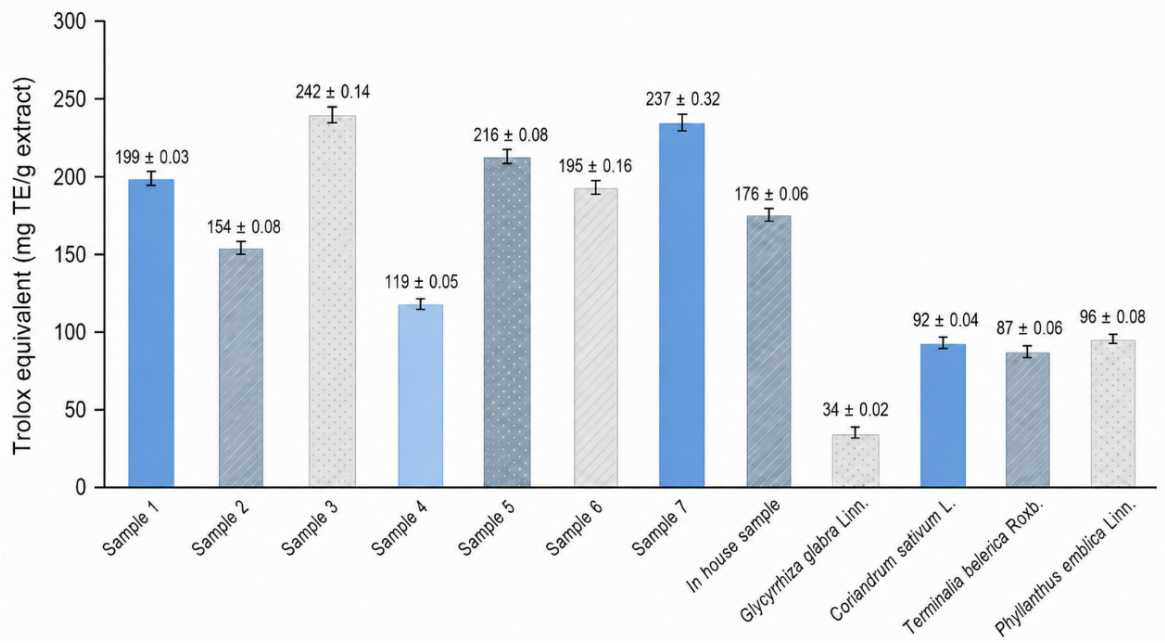
ผลการการตรวจสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

samples	Anthraquinones	Terpenoids	Saponins	Tannin	Alkaloids	Cardiac Glycoside
No 1	+	+	+	+	-	-
No 2	+	+	-	+	-	-
No 3	+	+	+	+	-	-
No 4	+	+	-	+	-	-
No 5	+	+	+	+	-	-
No 6	+	+	+	+	-	-
No 7	+	+	+	+	-	-
In house	+	+	+	+	-	-

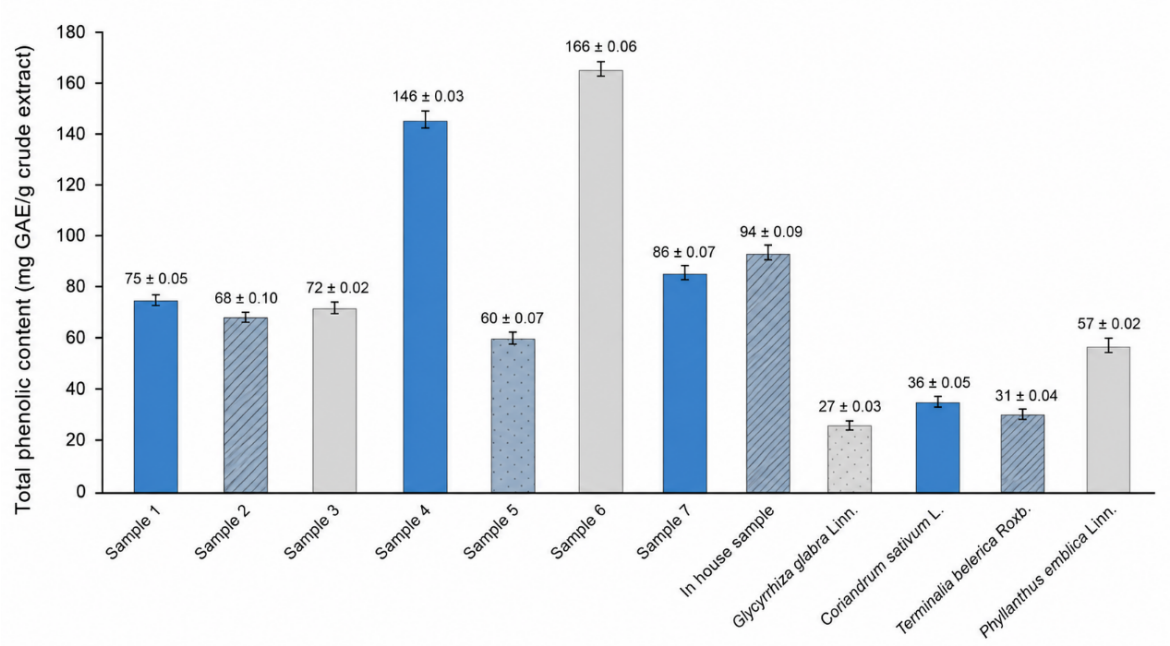
หมายเหตุ: + หมายถึง ผลการทดลองเป็น Positive, - หมายถึง ผลการทดลองเป็น Negative



ภาพ 1 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวและสมุนไพรตำรับ (n = 3)



ภาพ 2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP แสดงผลเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่า Trolox ต่อกรัมของสารสกัดหยาบจากตำรับอำมฤควาที (UM) ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพ 3 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมเทียบเท่าแกลลิกแอซิดต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg GAE/g)

สรุปผลการวิจัย

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ เพื่อตรวจสอบว่าตำรับอำมฤควาที (Um-Ma-Ruek-Ka-Va-Tee) ซึ่งใช้ในเวชกรรมแผนไทยนั้นสามารถเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่มีศักยภาพได้หรือไม่ โดยเป็นครั้งแรกที่มีการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของตำรับ UM ในเชิงคุณภาพเพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น การพบสารกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) และแทนนิน (tannins) สะท้อนถึงคุณค่าทางยาที่สำคัญของตำรับนี้ โดยมีฤทธิ์ต้านจุลชีพและแก้อาการท้องเสีย ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติของผลไม้ทั้งสามชนิดในกลุ่มตรีผลา (Triphala) ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในตำรับ (Biradar et al., 2007) ผลการทดสอบที่ให้ผลบวกสำหรับสารแอนทราควิโนนและแทนนิน ยังสนับสนุนลักษณะจำเพาะของตรีผลาในด้านการออกฤทธิ์เป็นยาระบาย (Peterson et al., 2017) การพบสารไตรเทอร์พีนอยด์ยังแสดงถึงคุณลักษณะทางเคมีของชะเอมเทศ ซึ่งเป็นสมุนไพรหลักในตำรับ UM โดยมีสารสำคัญคือกลัยซีร์ริซิน (glycyrrhizin) ที่จัดเป็นไกลโคไซด์ชนิดไตรเทอร์พีนอยด์ (Pastorino et al., 2018) ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการพบสารไตรเทอร์พีนอยด์ในการคัดกรองครั้งนี้ เนื่องจากชะเอมเทศเป็นส่วนประกอบหลักถึงร้อยละ 50 ของตำรับอำมฤควาที

จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์ที่ดีต่อผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งในวิธี DPPH และ FRAP อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างตำรับอำมฤควาที (UM) ส่วนใหญ่แสดงลำดับผลการออกฤทธิ์ที่ไม่สอดคล้องกันระหว่างสองวิธีดังกล่าวโดยภาพรวม ตำรับ UM แสดงค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมและค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงกว่าสารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยวทุกชนิด แต่พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อม (*P. emblica*) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในการทดสอบ DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 254.76 ± 0.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นสารสกัดจากมะขามป้อม ตัวอย่างตำรับ UM ทั้งหมดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสมุนไพรเดี่ยวในการทดสอบ DPPH ส่วนกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ซึ่งใช้เป็นสารควบคุมเชิงบวกในการทดสอบ DPPH แสดงฤทธิ์ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 84.46 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตัวอย่างหมายเลข 3 มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในวิธี FRAP และอยู่ในอันดับที่ 3 ของการทดสอบ DPPH ในขณะเดียวกัน สารสกัดจากชะเอมเทศ (*G. glabra*) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในตำรับ UM แสดงค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่ำที่สุด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุดทั้งในวิธี DPPH และ FRAP จากผลการทดลองดังกล่าว ชี้ให้เห็นว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับอำมฤควาทีอาจเกิดจากการเสริมฤทธิ์ร่วมกันของสมุนไพรทั้งหมดในสูตร โดยเฉพาะมะขามป้อม มากกว่าผลจากสมุนไพรหลักเพียงชนิดเดียว นอกจากนี้ ยังพบว่าค่า FRAP ของตัวอย่างตำรับ UM สูงกว่าสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามงานนี้ยังไม่ได้พิสูจน์ synergistic effect เพราะการที่สูตรตำรับมีฤทธิ์สูงกว่าสมุนไพรเดี่ยวไม่ได้หมายความว่าเกิด synergy โดยตรง หรืออาจปรับ ผลดังกล่าวอาจสะท้อนถึงผลร่วมขององค์ประกอบสมุนไพรหลายชนิดในตำรับ จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันกลไกและความสัมพันธ์เชิงเสริมฤทธิ์ขององค์ประกอบแต่ละชนิด เพื่อเพิ่มหลักฐานเชิงประจักษ์เพื่อสนับสนุนตำรับ UM ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกเหนือจากสรรพคุณในการบรรเทาอาการไอและขับเสมหะตามตำรับยาแผนไทยดั้งเดิม

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาต่อเนื่องเกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพตำรับอำมฤควาที โดยการกำหนดสารบ่งชี้ทางเคมีที่เหมาะสม การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีอย่างละเอียด รวมถึงการศึกษาประสิทธิภาพในสิ่งมีชีวิต (in vivo) เป็นสิ่งจำเป็น

เพื่อสนับสนุนการพัฒนาตำรับ UM ให้มีศักยภาพในการเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อส่งเสริมสุขภาพในเชิงป้องกันได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทย คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ได้ให้การสนับสนุนสถานที่และสิ่งอำนวยความสะดวกในการวิจัย ตลอดจนขอขอบคุณคุณธิรนันท์ สุขพิพัฒน์ คุณจิตตินันท์ บุญโสม และคุณสุดารัตน์ จิตจริง สำหรับความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

References

Aruoma, O. I. (1994). Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, *32*(7), 671–683. https://doi.org/10.1016/0278-6915(94)90011-6

Biradar, Y. S., Singh, R., Sharma, K., Dhalwal, K., Bodhankar, S. L., & Khandelwal, K. R. (2007). Evaluation of antidiarrhoeal property and acute toxicity of Triphala Mashi, an Ayurvedic formulation. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, *7*(3–4), 203–212. https://doi.org/10.1080/15228940802152869

Charoenteeraboon, J., Ngamkitidechakul, C., Soonthornchareonnon, N., Jaijoy, K., & Sireeratawong, S. (2010). Antioxidant activities of the standardized water extract from fruit of *Phyllanthus emblica* Linn. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, *32*(6), 599–604.

Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, *49*(3), 481–493. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625

Debelle, F. D., Vanherweghem, J. L., & Nortier, J. L. (2008). Aristolochic acid nephropathy: A worldwide problem. *Kidney International*, *74*(2), 158–169. https://doi.org/10.1038/ki.2008.129

Deepa, B., Prema, G., Sai, K. B., & Cherian, K. M. (2013). Antioxidant and free radical scavenging activity of triphala determined by using different in vitro models. *Journal of Medicinal Plants Research*, *7*(39), 2898–2905. https://doi.org/10.5897/JMPR2013.5124

Jagetia, G. C., Baliga, M. S., Malagi, K. J., & Sethukumar, K. M. (2002). The evaluation of the radioprotective effect of Triphala (an ayurvedic rejuvenating drug) in the mice exposed to gamma-radiation. *Phytomedicine*, *9*(2), 99–108. https://doi.org/10.1078/0944-7113-00095

Jatav, V. S., Singh, S. K., & Sharma, A. K. (2011). Recent pharmacological trends in *Glycyrrhiza glabra* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Frontier Research*, *1*(1), 170–185. https://doi.org/10.5530/ur.2.2011.3

Jirum, J., Sangdee, A., & Srihanam, P. (2013). Phytochemical and biological activities in fresh juice extracts of wild grape (*Ampelocissus martini* Planch.) fruits. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, *4*(3), 337–341. https://doi.org/10.7897/2277-4343.04306

Nawwar, M. A. M., Barakat, H. H., Buddrus, J., & Linscheid, M. (1985). Alkaloidal, lignan and phenolic constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, *24*(4), 878–879. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84920-1

Ngo, L. T., Okogun, J. I., & Folk, W. R. (2013). 21st Century natural product research and drug development and traditional medicines. *Natural Product Reports*, *30*(4), 584–592. https://doi.org/10.1039/c3np20120a

Parveen, R., Shamsi, T. N., Singh, G., Athar, T., & Fatima, S. (2018). Phytochemical analysis and in-vitro biochemical characterization of aqueous and methanolic extract of Triphala, a conventional herbal remedy. *Biotechnology Reports*, *17*, 126–136. https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.02.003

Pastorino, G., Cornara, L., Soares, S., Rodrigues, F., & Oliveira, M. B. P. P. (2018). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A phytochemical and pharmacological review. *Phytotherapy Research*, *32*(12), 2323–2339. https://doi.org/10.1002/ptr.6178

Peterson, C. T., Denniston, K., & Chopra, D. (2017). Therapeutic uses of Triphala in Ayurvedic medicine. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, *23*(8), 607–614. https://doi.org/10.1089/acm.2017.0083

Qu, Q., Wang, H., Chang, X., Zhang, Y., An, K., Wei, Y., Hao, J., Chen, X., Dong, N., Zhang, Z., & Li, Y. (2025). *Phyllanthus emblica* L. fruit as potential functional ingredient: From optimized extraction to biological activities evaluation. *Food Chemistry: X*, *29*, Article 102840. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102840

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152–178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Sorsavanh, S., Ruengsitagoon, W., & Padumanonda, T. (2019). Phytochemical screening, total phenolic contents and antioxidant capacities of selected blood tonic formula from Vientiane province, Lao PDR. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *15*(1), 181–194. https://doi.org/10.14456/ijps.2019.14

Syahputra, H. (2024). Phytochemical screening and determination of phenolic and flavonoid contents in ethanol extract of *Phyllanthus emblica* L. fruit. *Indonesian Journal of*

Pharmaceutical and Clinical Research, *7*(2), 70–77.
https://doi.org/10.32734/idjpcr.v7i2.18235