



การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ตำรับยาผสมเพชรสังฆาตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
DEVELOPMENT OF HPLC METHOD FOR ANALYSIS OF TRADITIONAL MEDICINES
CONTAINING *CISSUS QUADRANGULARIS*



ณัษฐา อนุศิริ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2564

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ตำรับยาผสมเพชรสังฆาตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

DEVELOPMENT OF HPLC METHOD FOR ANALYSIS OF TRADITIONAL MEDICINES
CONTAINING *CISSUS QUADRANGULARIS*



NADDHA ANUSIRI

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Pharmaceutical Product Development)
Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University

2021

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ตำรับยาผสมเพชรสังฆาตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ของ

ณัษฐา อนุศิริ

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามี) (รองศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา จิตตสุโข)

..... ที่ปรึกษาร่วม กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สริน ทัดทอง) (อาจารย์ ดร.วิภาพร เสรีเด่นชัย)

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ตำรับยาผสมเพชรสังฆาตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
ผู้วิจัย	ณัษฐา อนุศิริ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2564
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. วีระศักดิ์ สามี
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. สริน ทัดทอง

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ตำรับยาผสมเพชรสังฆาตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเป็นการศึกษาการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญกลุ่ม flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตโดยเทคนิค HPLC และวิเคราะห์หาปริมาณสารเทียบ ได้แก่ quercitrin และ quercetin เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารในสูตรตำรับที่ต่างกัน ทำการซื้อสมุนไพรต่าง ๆ ของสูตรตำรับจากแหล่งร้านขายสมุนไพรจำนวน 5 ร้าน สกัดสารด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol โดยเทคนิคการใช้คลื่นความถี่สูง ตรวจสอบ chromatographic fingerprints ของสมุนไพรแต่ละชนิด และวิเคราะห์ปริมาณสาร การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ตามหลักของ ICH guidelines พบว่า การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วยสารมาตรฐาน quercitrin สมการเส้นตรง $y = 10370x + 581.04$ ค่า $R^2 = 0.9996$ ความแม่นยำมีค่า recovery อยู่ในช่วง 99.95 – 102.76% ค่า LOD และค่า LOQ มีค่าเท่ากับ 0.05 และ 0.15 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ส่วนสาร quercetin สมการเส้นตรง $y = 13343x - 1789.3$ ค่า $R^2 = 1$ ความแม่นยำมีค่า recovery อยู่ในช่วง 100.77 – 101.63% ค่า LOD และค่า LOQ มีค่าเท่ากับ 0.06 และ 0.17 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ความถูกต้องของวิธีของสารทั้ง 2 ชนิดมีค่า %RSD น้อยกว่า 2% ถือว่าวิธีวิเคราะห์มีความถูกต้องแม่นยำ มีความเหมาะสมตามเกณฑ์ของ USP37 สามารถนำมาใช้ในงานวิเคราะห์หาปริมาณสารทั้ง 2 ชนิดได้ ส่วน Chromatographic fingerprints ของสมุนไพรชนิดเดียวกัน แต่มาจากร้านขายสมุนไพรที่ต่างกัน มีลักษณะคล้ายกัน ส่วนปริมาณสารกลุ่ม flavonoids ในตำรับยาทั้ง 2 สูตร มีปริมาณไม่แตกต่างกัน

คำสำคัญ : เพชรสังฆาต, โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง, การพัฒนาวิธีวิเคราะห์, ฟลาโวนอยด์

Title	DEVELOPMENT OF HPLC METHOD FOR ANALYSIS OF TRADITIONAL MEDICINES CONTAINING <i>CISSUS</i> <i>QUADRANGULARIS</i>
Author	NADDHA ANUSIRI
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2021
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Weerasak Samee
Co Advisor	Assoc. Prof. Dr. Sarin Tadtong

The development of HPLC method for the analysis of traditional medicines containing *Cissus quadrangularis* aimed to develop a method for the analysis of flavonoids in the traditional medicines using the HPLC technique and to analyze and compared the markers such as quercitrin and quercetin in the different formulas. The herbs were purchased from different five herb stores by extracting the herbs with 95% ethanol and using sonicating extraction, compared the chromatographic fingerprint of each herbs and analyzing the contents with the HPLC technique. The method validation was based on the criteria of the ICH guidelines. The standard quercitrin concentration 4.8 – 9.6 µg/mL and quercetin concentration 4.08 - 8.16 µg/mL were used. The results of the study were as follows: the method was accurate, precise and suitable for analyzing the traditional medicines. The chromatographic fingerprint of the same herbs were the same pattern and the flavonoid content between the two formulas were not different.

Keyword : HPLC, method development, *Cissus quadrangularis*, Flavonoid

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความเมตตาและความกรุณาอย่างยิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามิ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สริน ทัดทอง ที่ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษาร่วม ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ทั้งสองท่าน สำหรับความช่วยเหลือ ข้อเสนอแนะเพื่อแก้ไขปัญหา ปรับปรุงให้ปริญญานิพนธ์มีความสมบูรณ์และถูกต้อง ตลอดจนดูแลเอาใจใส่การดำเนินงานวิจัยทุกขั้นตอน ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชุติน จิตตสุโก ที่ให้ความกรุณาเป็นผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัยในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.วิภาพร เสรีเด่นชัย ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ขอกราบขอบคุณคณาจารย์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาการเกษตรขั้นก้าวหน้า คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่านที่ถ่ายทอดความรู้ ช่วยเหลือและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย ขอขอบคุณพี่และเพื่อน ๆ ทุกคนที่เป็นแรงผลักดันและให้กำลังใจในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วง สุดท้ายผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาที่ให้การสนับสนุนด้านการศึกษาและกำลังใจในการทำงานวิจัยให้ประสบผลด้วยดี

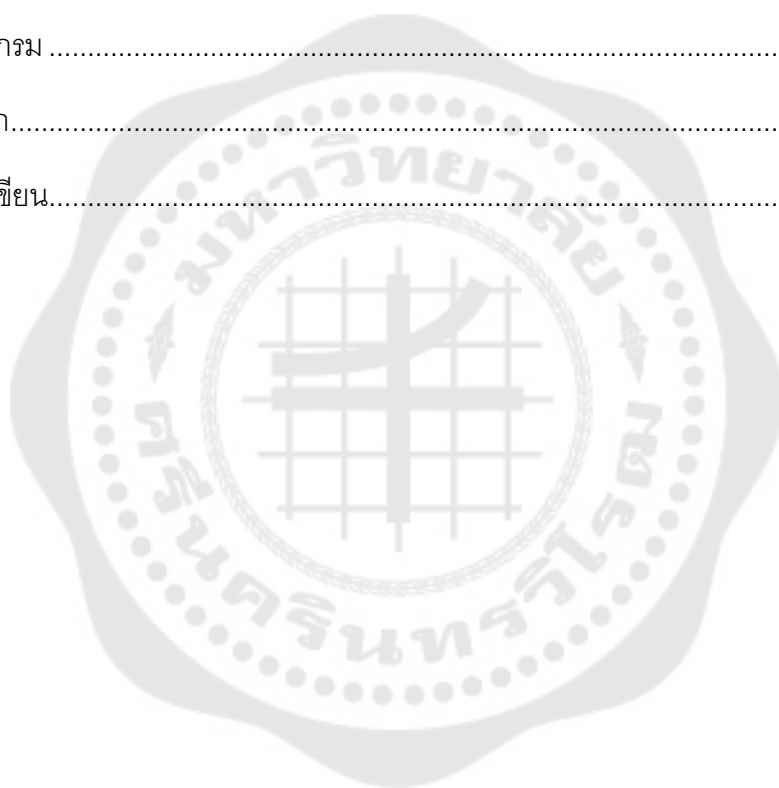
ณัษฐา อนุศิริ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
ความสำคัญของงานวิจัย	3
ขอบเขตของงานวิจัย	3
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	3
ตัวแปรที่ศึกษา	3
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
กรอบแนวคิดงานวิจัย.....	4
สมมุติฐานการวิจัย.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
โรคริตสีดวงทวารหนัก	5
ยาผสมเพชรสังฆาต	11
เพชรสังฆาต.....	11
กะเม็ง.....	15
โกฐน้ำเต้า.....	19

กระชาย	21
อัคคีทวาร	24
ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids).....	27
การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพร	32
การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)	35
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	40
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	41
อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้	41
การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร	42
ขั้นตอนการสกัดด้วย 95% เอทานอล	42
การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)	43
การตรวจสอบ Chromatographic fingerprints ของสมุนไพรด้วย HPLC	49
ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่ม flavonoids.....	49
การวิเคราะห์หาปริมาณ Total flavonoids	49
การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	51
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย	52
ลักษณะของตัวอย่างสมุนไพร	52
การเตรียมตัวอย่าง.....	52
ค่าร้อยละปริมาณของสารสกัดสมุนไพร (%yield).....	55
สภาวะที่เหมาะสมของของเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร quercitrin และ quercetin ด้วยเทคนิค HPLC.....	56
ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์.....	56
ผลการตรวจสอบ Chromatographic fingerprint ของสมุนไพร	66

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาต.....	69
ผลการหาปริมาณ Total flavonoids.....	75
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	78
สรุปผลการวิจัย.....	78
อภิปรายผล	80
ข้อเสนอแนะ	81
บรรณานุกรม	82
ภาคผนวก.....	109
ประวัติผู้เขียน.....	137



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 ฤทธิ์ทางการรักษาของเพชรสังฆาต	14
ตาราง 2 ฤทธิ์ทางการรักษาของกะเม็ง	17
ตาราง 3 ฤทธิ์ทางการรักษาของโกฐน้ำเต้า	21
ตาราง 4 ฤทธิ์ทางการรักษาของกระชาย	23
ตาราง 5 ฤทธิ์ทางการรักษาของอัคคีทวาร.....	26
ตาราง 6 การทดสอบตัวแปรต่าง ๆ ตามวิธีวิเคราะห์อ้างอิงตามแนวทางของ ICH Q2 (R1).....	36
ตาราง 7 สัดส่วนของ Mobile Phase ที่เวลาต่าง ๆ	44
ตาราง 8 เกณฑ์การยอมรับ %recovery ในการทดสอบหัวข้อ Accuracy	47
ตาราง 9 เกณฑ์การยอมรับ %RSD ในการทดสอบหัวข้อ Precision.....	48
ตาราง 10 แสดงร้อยละปริมาณของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1	55
ตาราง 11 แสดงร้อยละปริมาณของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2	55
ตาราง 12 แสดง parameter ที่ทดสอบความเหมาะสมของระบบวิธีวิเคราะห์	56
ตาราง 13 แสดงระยะเวลาของสารต่าง ๆ ในสารสกัดสมุนไพร.....	61
ตาราง 14 แสดงสมการเชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานและ coefficient of determination (R ²)	64
ตาราง 15 ผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์	64
ตาราง 16 ผลการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Intra day precision).....	65
ตาราง 17 ผลการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Inter day precision).....	66
ตาราง 18 แสดงผลการหาปริมาณ quercitrin จากยาผสมเพชรสังฆาต	70
ตาราง 19 แสดงผลการหาปริมาณ quercetin จากยาผสมเพชรสังฆาต	72
ตาราง 20 แสดงผลการหาปริมาณรวม quercitrin และ quercetin จากยาผสมเพชรสังฆาต.....	74

ตาราง 21 แสดงผลการหาปริมาณ Total flavonoids จากยาผสมเพชรสังฆาต	76
ตาราง 22 แสดงผลการทดสอบความเหมาะสมของ quercitrin ที่ความเข้มข้น 6 µg/mL	110
ตาราง 23 แสดงผลการทดสอบความเหมาะสมของ quercetin ที่ความเข้มข้น 6 µg/mL	110
ตาราง 24 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณสาร quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตแต่ละสูตร	126
ตาราง 25 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณสาร quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตแต่ละสูตร	126
ตาราง 26 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณรวมสาร quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตแต่ละสูตร	127
ตาราง 27 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณ Total flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตแต่ละสูตร	128
ตาราง 28 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตจากแต่ละร้านขายสมุนไพร	129
ตาราง 29 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตจากแต่ละร้านขายสมุนไพร	131
ตาราง 30 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตจากแต่ละร้านขายสมุนไพร	133
ตาราง 31 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณ Total flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตจากแต่ละร้านขายสมุนไพร	135

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 แสดงลักษณะของวิตีดีดวทวารภายใน และวิตีดีดวผสม	6
ภาพประกอบ 2 แสดงลักษณะของวิตีดีดวทวารระดับที่ 1 ถึงระดับที่ 4	7
ภาพประกอบ 3 (a) แสดงถึงโครงสร้างของ diosmin และ (b) แสดงถึงโครงสร้าง hesperidin ...	10
ภาพประกอบ 4 แสดงลักษณะของต้นเพชรสังฆาต	12
ภาพประกอบ 5 แสดงลักษณะของดอกเพชรสังฆาต	12
ภาพประกอบ 6 แสดงถึงลักษณะของต้นกะเม็ง	16
ภาพประกอบ 7 แสดงลักษณะของใบและดอกของต้นโกฐน้ำเต้า	20
ภาพประกอบ 8 แสดงลักษณะของต้นกระชาย	22
ภาพประกอบ 9 แสดงถึงดอกของต้นกระชาย	23
ภาพประกอบ 10 แสดงลักษณะต้นอัคคีทวาร	25
ภาพประกอบ 11 แสดงลักษณะใบและดอกอัคคีทวาร	26
ภาพประกอบ 12 แสดงโครงสร้างหลักและโครงสร้างกลุ่มย่อยของฟลาโวนอยด์	27
ภาพประกอบ 13 แสดงถึงโครงสร้างของ chalcones แบบ Trans และ Cis isomer	28
ภาพประกอบ 14 แสดงถึงโครงสร้างของสารกลุ่ม flavones.....	29
ภาพประกอบ 15 แสดงถึงโครงสร้างสารในกลุ่ม flavanones.....	30
ภาพประกอบ 16 แสดงถึงโครงสร้างสารในกลุ่ม flavonols	30
ภาพประกอบ 17 รูปบนแสดงถึงโครงสร้างสารในกลุ่ม isoflavones และน้ำตาล, รูปล่างแสดงถึง โครงสร้าง 17 β -estradiol.	31
ภาพประกอบ 18 แสดงถึงโครงสร้างพื้นฐานของสารกลุ่ม Anthocyanins.....	32
ภาพประกอบ 19 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a)เพชรสังฆาต (b)โกฐน้ำเต้า (c)กะเม็ง (d)กระชาย (e)อัคคีทวาร จากร้าน ก.	52

ภาพประกอบ 20 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a)เพชรสังฆาต (b)โกฐน้ำเต้า (c)กะเม็ง (d)กระชาย (e)อัคคีทวาร จากร้าน ข.....	53
ภาพประกอบ 21 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a)เพชรสังฆาต (b)โกฐน้ำเต้า (c)กะเม็ง (d)กระชาย (e)อัคคีทวาร จากร้าน ค.	53
ภาพประกอบ 22 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a)เพชรสังฆาต (b)โกฐน้ำเต้า (c)กะเม็ง (d)กระชาย (e)อัคคีทวาร จากร้าน ง.	54
ภาพประกอบ 23 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a)เพชรสังฆาต (b)โกฐน้ำเต้า (c)กะเม็ง (d)กระชาย (e)อัคคีทวาร จากร้าน จ.....	54
ภาพประกอบ 24 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน (สีดำ) และสารสกัดยาผสม เพชรสังฆาตสูตร 1 (สีชมพู).....	57
ภาพประกอบ 25 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน (สีดำ) และสารสกัดยาผสม เพชรสังฆาตสูตร 2 (สีชมพู).....	57
ภาพประกอบ 26 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ก. ...	58
ภาพประกอบ 27 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ข. ...	58
ภาพประกอบ 28 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ค. ...	58
ภาพประกอบ 29 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ง.	59
ภาพประกอบ 30 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน จ. ...	59
ภาพประกอบ 31 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ก. ...	59
ภาพประกอบ 32 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ข. ...	60
ภาพประกอบ 33 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ค. ...	60
ภาพประกอบ 34 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ง.	60
ภาพประกอบ 35 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน จ. ...	61
ภาพประกอบ 36 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของ quercitrin.....	63
ภาพประกอบ 37 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของ quercetin.....	63

ภาพประกอบ 38 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากเพชรสังฆาต (จากบนลงล่าง) จากร้าน จ. ง. ข. ก. และ ค. ตามลำดับ.....	67
ภาพประกอบ 39 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากโกฐน้ำเต้า (จากบนลงล่าง) จากร้าน จ. ก. ง. ค. และ ข. ตามลำดับ.....	67
ภาพประกอบ 40 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากกะเม็ง (จากบนลงล่าง) จากร้าน ค. ข. ง. จ. และ ก. ตามลำดับ	68
ภาพประกอบ 41 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากกระชาย (จากบนลงล่าง) จากร้าน จ. ก. ข. ค. และ ง. ตามลำดับ	68
ภาพประกอบ 42 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากอัคคีทวาร (จากบนลงล่าง) จากร้าน ข. ค. จ. ก. และ ง. ตามลำดับ.....	69
ภาพประกอบ 43 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 จากร้านขายสมุนไพรต่าง ๆ.....	70
ภาพประกอบ 44 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้านต่าง ๆ.....	71
ภาพประกอบ 45 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 จากร้านขายสมุนไพรต่าง ๆ.....	72
ภาพประกอบ 46 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้านต่าง ๆ.....	73
ภาพประกอบ 47 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 จากร้านขายสมุนไพรจากร้านสมุนไพรต่าง ๆ	74
ภาพประกอบ 48 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้านต่าง ๆ.....	75
ภาพประกอบ 49 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2.....	76
ภาพประกอบ 50 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ Total flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้านต่าง ๆ.....	77

ภาพประกอบ 51 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน ก.....	112
ภาพประกอบ 52 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกฐน้ำเต้าจากร้าน ก.....	112
ภาพประกอบ 53 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน ก.	112
ภาพประกอบ 54 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน ก.....	113
ภาพประกอบ 55 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัคคีทวารจากร้าน ก.	113
ภาพประกอบ 56 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน ข.....	113
ภาพประกอบ 57 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกฐน้ำเต้าจากร้าน ข.....	114
ภาพประกอบ 58 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน ข.....	114
ภาพประกอบ 59 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน ข.....	114
ภาพประกอบ 60 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัคคีทวารจากร้าน ข.	115
ภาพประกอบ 61 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน ค.	115
ภาพประกอบ 62 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกฐน้ำเต้าจากร้าน ค.	115
ภาพประกอบ 63 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน ค.	116
ภาพประกอบ 64 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน ค.....	116
ภาพประกอบ 65 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัคคีทวารจากร้าน ค.	116
ภาพประกอบ 66 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน ง.....	117
ภาพประกอบ 67 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกฐน้ำเต้าจากร้าน ง.	117
ภาพประกอบ 68 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน ง.	117
ภาพประกอบ 69 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน ง.	118
ภาพประกอบ 70 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัคคีทวารจากร้าน ง.....	118
ภาพประกอบ 71 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน จ.....	118
ภาพประกอบ 72 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกฐน้ำเต้าจากร้าน จ.....	119
ภาพประกอบ 73 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน จ.....	119

ภาพประกอบ 74 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน จ.	119
ภาพประกอบ 75 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัคคีทวารจากร้าน จ.	120
ภาพประกอบ 76 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ก.	120
ภาพประกอบ 77 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ก.	120
ภาพประกอบ 78 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ข.	121
ภาพประกอบ 79 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ข.	121
ภาพประกอบ 80 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ค.	122
ภาพประกอบ 81 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ค.	122
ภาพประกอบ 82 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ง.	123
ภาพประกอบ 83 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ง.	123
ภาพประกอบ 84 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน จ.	124
ภาพประกอบ 85 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน จ.	124

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ริดสีดวงทวารหนัก (Hemorrhoids) เป็นโรคเกี่ยวกับทวารหนักโรคหนึ่งที่สามารถพบได้ในประชากรทั่วไป มีอาการทางคลินิกที่เห็นได้ชัด คือเลือดออกทางทวารหนักขณะถ่ายอุจจาระ อาจมีอาการปวดและมีติ่งเนื้อยื่นออกมาหรือไม่ก็ได้ (Lohsiriwat, 2015) ติ่งเนื้อที่ยื่นออกมาเกิดจากการขยายใหญ่ขึ้นของเบาะรอง (anal cushion) (Lohsiriwat, 2013) เนื่องจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีหน้าที่ค้ำจุนเกิดการเสื่อมสภาพ ระบบไหลเวียนโลหิตใน anal cushion เกิดความผิดปกติ ทำให้ anal cushion ที่อยู่ล้อมรอบหลอดเลือด hemorrhoid plexus ที่คลายตัวผิดปกติ มีการยื่นขยายออกมา (Aigner และคณะ, 2009) เนื้อเยื่อรอบทวารหนักมีเซลล์บางส่วนเกิดการอักเสบ (Morgado, Suárez, Gómez และ Morgado, 1988) และเกิดการสร้างหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (Chung, Hou และ Pan, 2004) ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดริดสีดวงทวารหนักมีหลายสาเหตุ ได้แก่ ความชราภาพ อารมณ์ซึมเศร้า ภาวะท้องเสีย ภาวะอ้วน ภาวะอ้วนลงพุง และภาวะตั้งครรภ์ บางภาวะที่เพิ่มแรงดันภายในช่องท้อง เช่น เบ่งอุจจาระเป็นเวลานาน ทำให้เกิดการปริแตกของหลอดเลือด จนกลายเป็นริดสีดวงทวารหนักด้วยเช่นกัน (Loder, Kamm, Nicholls และ Phillips, 1994) การรักษาริดสีดวงทวารหนักมีหลากหลายแนวทางขึ้นอยู่กับระดับและความรุนแรงของอาการ (Acheson และ Scholefield, 2008; Kaidar-Person, Person และ Wexner, 2007) มีตั้งแต่การปรับเปลี่ยนอาหารและการดำเนินชีวิตประจำวันด้วยการรับประทานอาหารที่มีกากใยสูง การดื่มน้ำให้เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ลดการบริโภคไขมัน ออกกำลังกายสม่ำเสมอ รักษาความสะอาดของทวารหนัก หลีกเลี่ยงการใช้แรงเบ่งอุจจาระและการนั่งอ่านหนังสือในห้องน้ำ หลีกเลี่ยงการใช้ยาที่ทำให้เกิดการท้องผูกและท้องเสีย การรักษาด้วยยา ไปจนถึงการผ่าตัด

อุบัติการณ์และความชุกของการเกิดโรคริดสีดวงทวารหนักในประเทศสหรัฐอเมริกา มีการทำสำรวจพบว่า มีประชากร 10 ล้านคนพุดถึงอาการริดสีดวงทวารหนัก คิดเป็นอัตราความชุก 4.4% ความชุกในการเกิดริดสีดวงทวารหนักมีมากที่สุดในช่วงอายุ 25-45 ปี แต่อย่างไรก็ตามโรคนี้ขึ้นกับพฤติกรรมของประชากรที่แตกต่างกันไปเช่นกัน (Johanson และ Sonnenberg, 1990) ในประเทศออสเตรเลีย ในปี 2009 ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เพราะผู้ป่วยปล่อยให้หายเองมากกว่าเข้ารับการรักษาด้วยยา (Riss และคณะ, 2012) ส่วนอุบัติการณ์และความชุกในการเกิดโรคในประเทศไทยยังไม่มีสถิติที่พิมพ์ในปัจจุบัน

วิธีการรักษาโรคหลอดเลือดทวารหนักที่นิยมในประเทศไทย ได้แก่ การรับประทานยา Diosmin และ Hesperidin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม micronized purified flavonoid fraction (MPFF) ซึ่งมีกล่าวอ้างสรรพคุณว่า เพิ่มการไหลเวียนของน้ำเหลือง เพิ่มความยืดหยุ่นของเส้นเลือดดำ ปัจจุบันยา Daflon ไม่ถูกคัดเลือกให้เข้าไปในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2551 เนื่องจากยาดังกล่าวไม่มีหลักฐานอย่างชัดเจนในการรักษาโรคหลอดเลือดทวารหนักและโรคเส้นเลือดขอด การใช้ยาสมุนไพรจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคหลอดเลือดทวารหนัก ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่องบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2561 มียาสมุนไพรบรรเทาโรคหลอดเลือดทวารหนัก 2 ตำรับ ได้แก่ ยาผสมเพชรสังฆาตและยาริดสีดวงมหากาฬ ยาทั้ง 2 ตำรับนี้จัดเป็นบัญชียา ก. ซึ่งแสดงถึงมีหลักฐานสนับสนุนการใช้ที่ชัดเจน โดยตำรับที่สนใจคือ ยาผสมเพชรสังฆาต ยาดำรับดังกล่าวมี 2 สูตร ได้แก่ ยาผสมเพชรสังฆาตสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 เนื่องจากสมุนไพรในตำรับทั้ง 2 สูตรหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด อีกทั้งยังมีสารสำคัญในกลุ่ม flavonoids ได้แก่ quercitrin, quercetin เป็นต้น ซึ่งมีรายงานว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบได้

ในปัจจุบันยาสมุนไพรได้ถูกผลิตขึ้นตามหลักเกณฑ์และวิธีผลิตแผนโบราณตามกฎหมายว่าด้วยยา พ.ศ. 2557 (GMP/PICs) โดยส่วนประกอบสำคัญของตำรับต้องมีคุณภาพที่ดีและมีปริมาณที่ตรงตามระบุไว้ในทะเบียน การควบคุมคุณภาพยาสมุนไพรตั้งแต่วัตถุดิบไปจนถึงผลิตภัณฑ์ยาจึงเป็นสิ่งสำคัญ ดังนั้นการผลิตยาสูตรผสมเพชรสังฆาตให้มีคุณภาพและมีปริมาณสารออกฤทธิ์ที่เหมาะสมต่อการรักษา ควรเริ่มต้นด้วยการตรวจสอบวัตถุดิบ ในที่นี้คือการตรวจสอบตั้งแต่ชื่อสมุนไพร ส่วนที่ใช้ ลักษณะของสมุนไพร ปริมาณสารสำคัญ สารปนเปื้อน ไปจนถึงข้อมูลทางเภสัชวิทยา เทคนิคการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณสารสำคัญของสมุนไพรที่นิยมใช้ได้แก่ ลายพิมพ์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟี (Chromatographic fingerprint) เป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญได้ในเวลาเดียวกัน อีกทั้งยังแยกสารผสมออกจากกันได้ดีอีกด้วย เทคนิคการตรวจสอบที่นิยมใช้ได้แก่ Thin Layer Chromatography (TLC) และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) การพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อควบคุมคุณภาพยาสูตรผสมเพชรสังฆาตเพื่อให้มั่นใจว่า การซื้อส่วนประกอบสมุนไพรจากแหล่งต่าง ๆ มาผสมตามอัตราส่วนและรับประทานเอง ยังมีคุณภาพ ปริมาณสารสำคัญที่เหมาะสมซึ่งส่งผลต่อการรักษาโรคหลอดเลือดทวารหนัก อีกทั้งยังไม่มีวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมต่อยาสมุนไพรตำรับนี้

ความสำคัญของงานวิจัย

ทำให้ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่ม flavonoids และเปรียบเทียบคุณภาพสมุนไพรในสูตรต่าง ๆ

ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยเชิงทดลองมุ่งพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่ม flavonoids จากตำรับยาผสมพืชสมุนไพรสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ซึ่งมีพืชสมุนไพร กะเม็ง โกฐน้ำเต้า กระจ่าง และอัคคีทวาร ซึ่งเป็นส่วนประกอบ การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) ตาม The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use guidelines (ICH guidelines) ศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญของพืชสมุนไพรในสูตรต่าง ๆ

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญกลุ่ม flavonoids ในยาผสมพืชสมุนไพรโดยเทคนิค HPLC
2. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ marker และเปรียบเทียบปริมาณสารในสูตรตำรับที่ต่างกัน

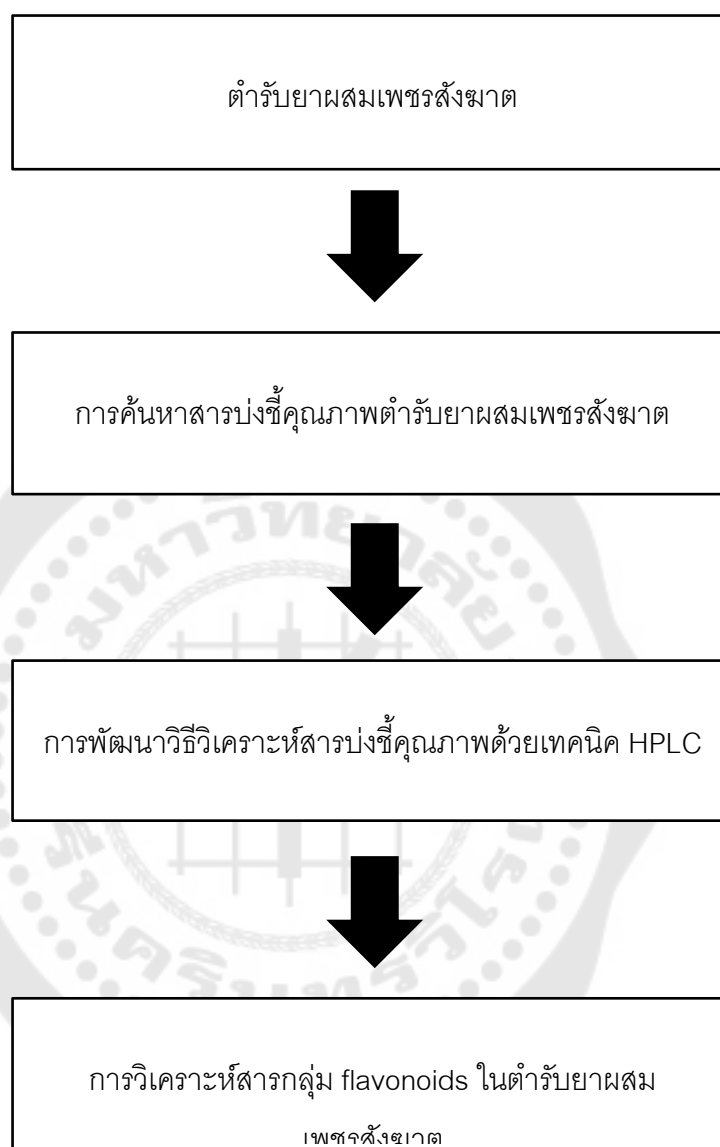
ตัวแปรที่ศึกษา

- | | |
|-------------|--|
| ตัวแปรอิสระ | ได้แก่ องค์ประกอบตำรับสมุนไพรยาผสมพืชสมุนไพร |
| ตัวแปรตาม | ได้แก่ ปริมาณ total flavonoids |

นิยามศัพท์เฉพาะ

สารสำคัญ, สารเทียบ หมายถึง สารกลุ่ม flavonoids

กรอบแนวคิดงานวิจัย



สมมุติฐานการวิจัย

1. พืชสมุนไพรทั้ง 2 ตำรับมีปริมาณ total flavonoids ไม่แตกต่างกัน
2. พืชสมุนไพรแต่ละตำรับในแต่ละแหล่งร้านขายสมุนไพรตำรับยามีปริมาณ total flavonoids ไม่แตกต่างกัน

บทที่ 2

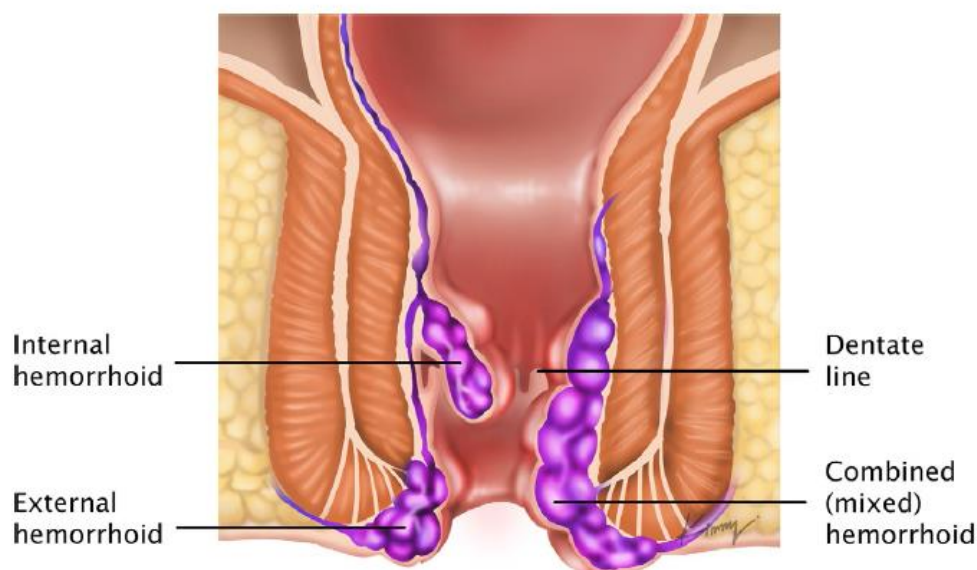
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. โรคริดสีดวงทวารหนัก
2. ยามสมเพชรสังฆาต
3. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)
4. การควบคุมคุณภาพวัตถุบิสมันไพโร
5. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)
6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคริดสีดวงทวารหนัก

โรคริดสีดวงทวารหนัก (Hemorrhoids) เป็นโรคเกี่ยวกับความผิดปกติทางทวารหนักทั่วไป พบได้บ่อย (Lohsirawat, 2012) เชื่อว่าเกิดมาจากการพัฒนาของเนื้อเยื่อเบาะรอง (anal cushion) ซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการขยายตัวของทวารหนักเวลาขับถ่ายและทำให้รูทวารหนักปิดสนิท (Aigner และคณะ, 2009) โดยทั่วไปเบาะรองมี 3 ส่วนหลัก ๆ ได้แก่ right posterior, right anterior และ left lateral เกิดความเสื่อมสภาพ หลอดเลือดดำเกิดการขยายตัวทำให้ anal cushion เกิดการงอกออกมา (Thomson, 1975) คนไข้ที่เป็นริดสีดวงทวารหนัก anal cushion จะมีพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไปดังนี้ หลอดเลือดดำขยายตัว ลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือด เนื้อเยื่อที่มีความยืดหยุ่นและเส้นใยคอลลาเจนเกิดความเสื่อม เกิดการหนาตัวขึ้น กล้ามเนื้อที่อยู่ระหว่างชั้นผิวหนังที่ทวารหนักเกิดการเสียดสีกันและแตกออก ทำให้เวลาถ่ายอุจจาระ รูทวารหนักปิดไม่สนิท (Morgado และคณะ, 1988)



ภาพประกอบ 1 แสดงลักษณะของริดสีดวงทวารภายใน และริดสีดวงผสม

ที่มา: Lohsiriwat (2019). Hemorrhoidal Disease.

ริดสีดวงทวารหนักแบ่งตามตำแหน่งและระดับการงอกของ anal cushion (Lohsiriwat, 2019) ดังภาพประกอบ 1 ดังนี้

1. ริดสีดวงภายนอก (External hemorrhoids) เกิดจากหลอดเลือดดำที่อยู่บริเวณต่ำกว่า dentate line ที่ถูกปกคลุมด้วยเนื้อเยื่อผิวหนังเกิดการขยายตัว ทำให้มีอาการปวดมาก

2. ริดสีดวงภายใน (Internal hemorrhoids) เกิดจากหลอดเลือดดำที่อยู่เหนือ dentate line ถูกปกคลุมด้วยเนื้อเยื่อผิวหนังเกิดการขยายตัว แบ่งตามระดับการงอกของติ่งเนื้อ 4 ระดับตามการแบ่งของ Goligher (Goligher's classification) (Goligher, 1980) ดังภาพประกอบ 4 ดังนี้

2.1 ระดับที่ 1: เลือดออกที่ทวารหนัก แต่ไม่มี anal cushion ยื่นออกมา

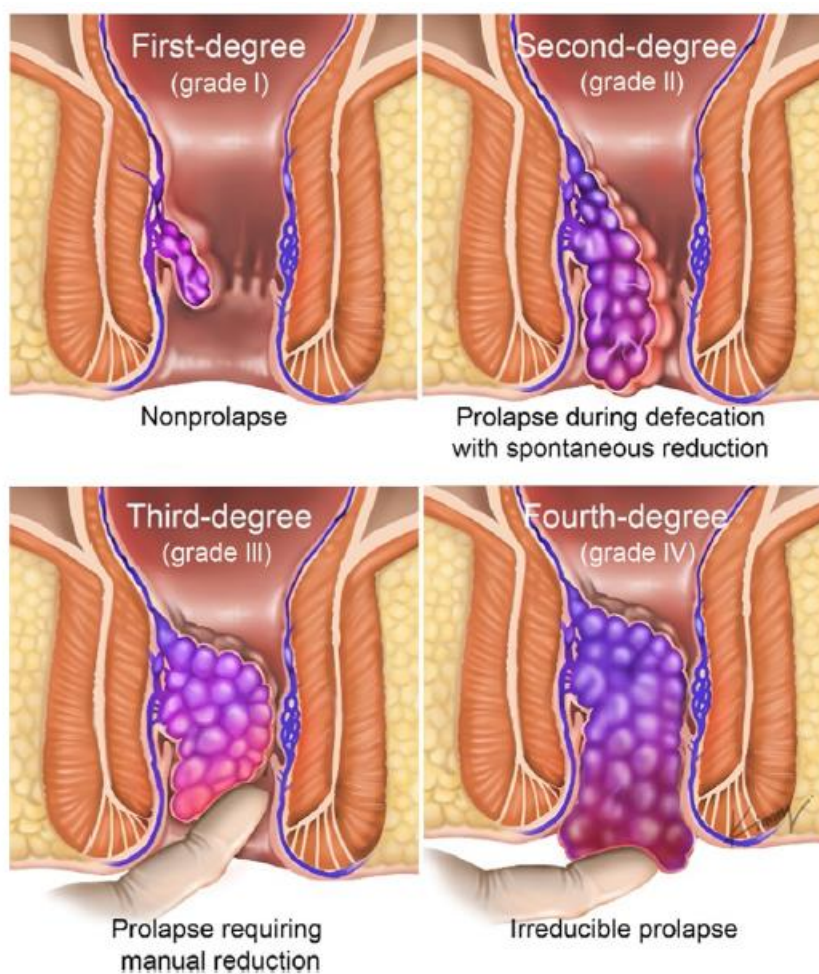
2.2 ระดับที่ 2: มี anal cushion ยื่นออกมาเวลาเบ่งแต่สามารถดันกลับเข้าไปได้

เอง

2.3 ระดับที่ 3: มี anal cushion ยื่นออกมาเวลาเบ่ง ต้องใช้นิ้วดันกลับ

2.4 ระดับที่ 4: มี anal cushion ยื่นออกมา ไม่สามารถดันกลับเข้าไปได้

3. ริดสีดวงผสม (Mixed hemorrhoids) เกิดทั้งริดสีดวงภายในและริดสีดวงภายนอก



ภาพประกอบ 2 แสดงลักษณะของริดสีดวงทวารระดับที่ 1 ถึงระดับที่ 4

ที่มา:Lohsiriwat (2019). Hemorrhoidal Disease.

อาการของริดสีดวงทวารหนักที่เห็นได้ชัดคือ ทวารหนักไม่มีอาการปวด แต่มีเลือดออก เกิดจากการเคลื่อนไหวของลำไส้ โดยเลือดมีสีแดงสดเพราะหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ เชื่อมต่อกันโดยตรง (Aigner และคณะ, 2009) ริดสีดวงที่ยื่นออกมาจะทำให้เกิดการระคายเคือง และคันจากสารคัดหลั่งอุจจาระ ชับถ่ายออกไม่สุด ไม่มีโรคโลหิตจางร่วมด้วยยกเว้นเป็นริดสีดวง ทวารหนักเรื้อรังและมีเลือดออกเป็นระยะเวลานาน (Lohsiriwat, 2019) อาการท้องเสีย ภาวะอ้วน ความชราภาพ อารมณ์ซึมเศร้า ภาวะตั้งครรภ์ ภาวะที่เพิ่มแรงดันในช่องท้อง ได้แก่ อาการท้องผูก การเบ่งอุจจาระเป็นเวลานาน นอกจากนี้การรับประทานอาหารกากใยน้อย รสเผ็ดจัด และการดื่ม แอลกอฮอล์ก็อาจเป็นสาเหตุด้วยเช่นกัน

การรักษาริดสีดวงทวารหนัก

การรักษาโรคริดสีดวงทวารหนักมีหลากหลายแนวทางขึ้นอยู่กับตำแหน่งและความรุนแรงของอาการ มีตั้งแต่การปรับเปลี่ยนอาหารและวิถีการใช้ชีวิต ไปจนถึงการผ่าตัด (Marques และคณะ, 2006) ดังนี้

การปรับเปลี่ยนอาหารและวิถีการใช้ชีวิต

การรับประทานอาหารที่มีกากใยสูงเป็นวิธีการรักษาริดสีดวงทวารที่ยังไม่มี anal cushion ยื่นออกมา เป็นการรักษาที่มีไม่แพงและมีความปลอดภัย กากใยช่วยเพิ่มมวลอุจจาระ และลดการใช้แรงเบ่งอุจจาระได้ มีการศึกษาทางคลินิกพบว่า การรับประทานอาหารที่มีกากใยสูงเป็นระยะเวลานานถึง 6 สัปดาห์จะช่วยลดการเลือดออกได้ถึง 50% แต่ไม่ช่วยในเรื่องของ anal cushion ที่ยื่นออกมา อาการปวดและอาการคัน (Alonso-Coello และคณะ, 2006)

ในคนไข้ที่เป็นริดสีดวงทวารหนักทุกระยะมักได้รับคำแนะนำจากแพทย์ในการปรับเปลี่ยนวิถีการใช้ชีวิต นอกจากการรับประทานอาหารที่มีกากใยสูงแล้ว มีการดื่มน้ำให้เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ลดการบริโภคอาหารที่มีไขมันสูง ออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ ดูแลความสะอาดของทวารหนัก หลีกเลี่ยงการเบ่งอุจจาระเป็นเวลานานและการอ่านหนังสือขณะขับถ่าย รวมทั้งหลีกเลี่ยงการรับประทานยาที่ทำให้ท้องผูกหรือท้องเสีย คำแนะนำเหล่านี้ถือว่าเป็นวิธีการรักษาและป้องกันไม่ให้เกิดริดสีดวงทวารหนักในระยะที่มากขึ้น

การรักษาด้วยยา

การรักษาด้วยยาเหมาะสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคริดสีดวงทวารหนักระดับที่ 1 และระดับที่ 2 ยาที่ใช้ในการรักษาโรคริดสีดวงทวารหนักได้แก่ ยาสำหรับใช้ภายนอกและยารับประทาน flavonoids, calcium dobesilate

ยาสำหรับใช้ภายนอก

ยาใช้ภายนอกสำหรับการรักษาโรคริดสีดวงทวารหนักมีทั้งยาครีมและยาสอดทวารหนัก สามารถซื้อได้โดยไม่ต้องมีใบสั่งยา ผู้ป่วยโรคริดสีดวงทวารหนักทุกระดับจะได้รับยาสำหรับใช้ภายนอกที่มีส่วนผสมของยาชา ยาแก้อักเสบ ยาฆ่าเชื้อ สารหล่อลื่นและสเตียรอยด์ ในบางยี่ห้อ มีส่วนผสมของยาในกลุ่ม calcium channel blocker หรือ กลุ่ม nitrates ซึ่งช่วยในการลดความเจ็บปวดของริดสีดวงทวารหนักหลังจากการทำ hemorrhoidectomy โดยช่วยในการคลายตัวของหลอดเลือดทวารหนักภายใน (Huang, Chen, Chen, Kang และ Wei, 2018; Sammour และคณะ, 2017) วัตถุประสงค์ของการให้ยานี้คือ เพื่อควบคุมอาการของริดสีดวงทวารหนักมากกว่าเพื่อการรักษา ยาใช้ภายนอกอาจมีประสิทธิภาพในการควบคุมอาการของโรคริดสีดวงทวารหนักเพียงบางระดับเท่านั้น (Lohsiriwat, 2012)

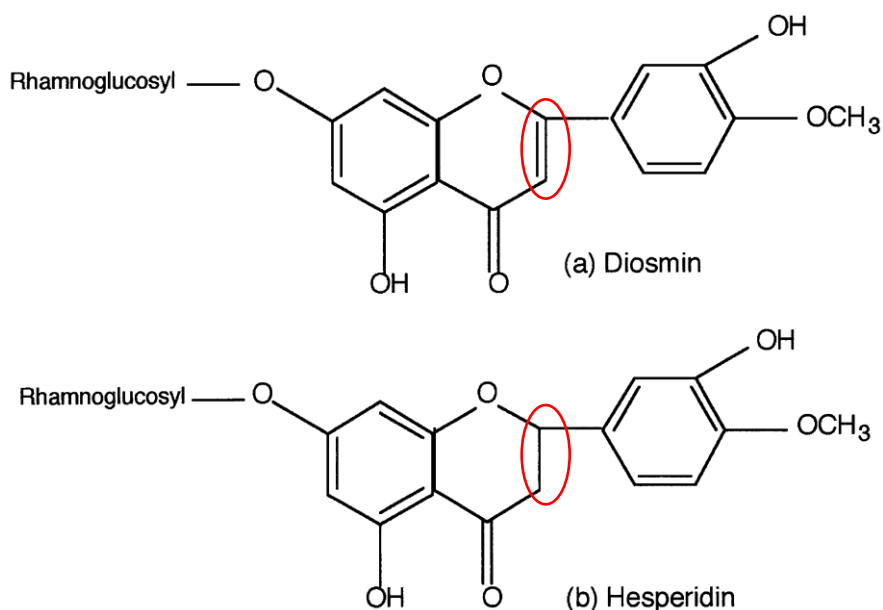
ยารับประทาน calcium dobesilate

ยารับประทาน calcium dobesilate เป็นยาที่รักษาความผิดปกติของหลอดเลือดเช่นกัน มักใช้ในคนไข้ที่เป็นโรคเบาหวานขึ้นจอประสาทตา จึงมีการนำไปใช้เพื่อรักษาโรคเรตินัลดีเจนเนอเรชัน เช่นกัน ยา calcium dobesilate เข้าไปช่วยลดการแพร่ผ่านของหลอดเลือดยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและปรับความหนืดของเลือดทำให้ลดอาการบวมได้ (Arceo, Berber และ Treviño, 2002)

ยารับประทาน flavonoids

ยารับประทาน flavonoids เป็นยาที่ใช้ในการรักษาความผิดปกติของหลอดเลือดเส้นเลือดอุดตันและอาการบวม ยานี้ออกฤทธิ์โดยการลดแรงต้านและลดการแพร่ผ่านของหลอดเลือด ช่วยในการระบายน้ำเหลืองออก และยังช่วยต้านอักเสบอีกด้วย จึงมีการนำไปใช้เพื่อรักษาโรคเรตินัลดีเจนเนอเรชันอีกด้วย flavonoids พบได้มากในเม็ดแปะก๊วยและผลไม้ซีตรัส (Lohsirawat, 2019) การรับประทานยา flavonoids ร่วมกับอาหารเสริมกากใยอาจช่วยบรรเทาอาการเลือดออกในโรคเรตินัลดีเจนเนอเรชัน (Buckshee, Takkar และ Aggarwal, 1997; Ho, Tan และ Seow-Choen, 2000) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงความสามารถป้องกันการเกิดเรตินัลดีเจนเนอเรชันซ้ำได้

ในประเทศไทยมักใช้ยาเหน็บทวารหนักควบคู่ไปกับการรับประทานยาในกลุ่ม flavonoids ยารับประทานนี้ได้แก่ Daflon[®], Heroid 500 และ Dafomin 500 mg ซึ่งเป็นยาเม็ดที่มี micronized diosmin ปริมาณ 90% และ hesperidin ปริมาณ 10% หรือเรียกว่า micronized purified flavonoid fraction (MPFF) เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญ จัดเป็นยาในกลุ่มที่ช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของหลอดเลือดดำ (phlebotropic drug) เพิ่มการไหลเวียนของน้ำเหลืองเพิ่มความยืดหยุ่นของหลอดเลือดดำและลดการซึมผ่านของหลอดเลือดฝอย สาร diosmin เป็นสารในกลุ่ม flavone glycoside ซึ่งพบได้ในผนัง (pericarps) ของผลไม้กลุ่มซีตรัส และสาร hesperidin เป็นสารในกลุ่ม flavanone glycoside พบได้ในผลไม้กลุ่มซีตรัสเช่นเดียวกัน (Frick, 2000) สาร 2 ชนิดมีโครงสร้างคล้ายกัน โดยสาร diosmin แตกต่างจากสาร hesperidin ตรงที่ในวงแหวนตรงกลางมีพันธะคู่ 1 พันธะตามภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 (a) แสดงถึงโครงสร้างของ diosmin และ (b) แสดงถึงโครงสร้าง hesperidin

ที่มา: Tanaka และคณะ (1997). Chemoprevention of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by the naturally occurring flavonoids, diosmin and hesperidin.

Daflon[®] 500 mg มีจำหน่ายในทวีปเอเชียและยุโรปถูกกล่าวอ้างว่า ใช้รักษาความผิดปกติของระบบไหลเวียนโลหิตในหลอดเลือดดำ เช่น เส้นเลือดขอด ขาเป็นตะคริว ขาบวม โดยรับประทานวันละ 2 เม็ดและใช้รักษาอาการริดสีดวงทวารหนักกำเริบ โดยรับประทาน 6 เม็ดเป็นเวลา 4 วัน จากนั้นรับประทาน 4 เม็ด เป็นเวลา 3 วัน แต่อย่างไรก็ตาม Daflon[®] ไม่ถูกจัดอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ เนื่องจากยานี้ยังไม่มีผลการพิสูจน์ประสิทธิภาพที่ชัดเจน (กลุ่มนโยบายแห่งชาติด้านยา, 2548) งานวิจัยของ Thanapongsathorn และ Vajrabukka (1992) ได้ศึกษาผลการรักษา first-degree and second degree internal hemorrhoids ด้วยยา Daflon[®] เปรียบเทียบกับยาหลอก (placebo) พบว่าผลการรักษาทั้ง 2 กลุ่มในวันที่ 14 มีผลการรักษาที่ไม่แตกต่างกัน จึงมีการแนะนำให้รักษาโดยการเพิ่มการรับประทานอาหารที่มีกากใยสูง ดื่มน้ำมากขึ้น ปรับพฤติกรรมและใช้ยาเฉพาะที่ควบคู่ไปด้วยแทนการใช้ยา (Davis, Lee-Kong, Migaly, Feingold และ Steele, 2018)

ยาผสมเพชรสังฆาต

ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่องบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2561 ระบุถึงยาแผนโบราณหรือยาแผนไทยที่มีสรรพคุณบรรเทาโรคหลอดเลือดหัวใจ มี 2 ตำรับด้วยกันได้แก่ ยาริดสีดวงมหากาฬและยาผสมเพชรสังฆาต ยาริดสีดวงมหากาฬประกอบด้วย ขอบชะนางแดงทั้งต้น ขอบชะนางขาวทั้งต้น มดยอบคั่ว เทียนดำ เทียนแดง เทียนขาว เทียนข้าวเปลือก เทียนตาตุ๊กแตน โกฐกั๊กกรว โกฐจุฬาลำพา โกฐสอ โกฐพุงปลา โกฐก้านพร้าว ดอกจันทน์ ลูกจันทน์ แก่นสนเทศ เปลือกสมุลแว้ง ดอกดีปลี เถาะสะค้าน เหง้าขิง พริกไทยล่อนและเปลือกอบเชยเทศ หนักอย่างละ 5 กรัม เตรียมในรูปแบบยาเม็ด ยาลูกกลอน และยาแคปซูล รับประทานครั้งละ 800 – 1000 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้ง ก่อนอาหาร ระวังในการรับประทานร่วมกับยาต้านการแข็งตัวของเกล็ดเลือด (antiplatelets) และยาละลายลิ่มเลือด (anticoagulants) และระวังการใช้ยาในหญิงมีครรภ์และให้นมบุตร ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตนั้น มี 2 สูตรด้วยกัน ในรูปแบบของยาเม็ดและยาแคปซูล สูตรที่ 1 ประกอบด้วย เถาเพชรสังฆาตหนัก 70 กรัม โกฐน้ำเต้าหนัก 10 กรัม และรากอัศศิทวารหนัก 20 กรัม รับประทานวันละ 3 ครั้ง ครั้งละ 1.2 กรัม หลังอาหารทันที สูตรที่ 2 ประกอบด้วย โกฐน้ำเต้าและกระชายหนักอย่างละ 10 กรัม เถาเพชรสังฆาตหนัก 50 กรัม ต้นกะเม็งหนัก 15 กรัม รับประทานครั้ง 500 - 1000 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้ง หลังอาหารทันที อาการไม่พึงประสงค์ของการใช้ยาผสมเพชรสังฆาตได้แก่ ท้องเสีย อีกทั้งระวังการใช้ยาในหญิงมีครรภ์และให้นมบุตร (คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ, 2561) ตำรับยาแผนโบราณที่สนใจได้แก่ ยาผสมเพชรสังฆาต เนื่องจากส่วนประกอบสมุนไพรต่าง ๆ ของตำรับยาแผนไทยทั้ง 2 สูตรหาได้ตามร้านขายยาสมุนไพรทั่วไป

เพชรสังฆาต

เพชรสังฆาตมีชื่อเรียกหลายอย่างได้แก่ เถาขันชะควด เถาสามร้อยต่อ หรือเถาขันช้อย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cissus quadrangularis* L. อยู่ในวงศ์ Vitaceae เป็นพืชไม้เลื้อย มีลำต้นเป็นรูปสี่เหลี่ยมเป็นครีบบและมีสีเขียว ผิวเรียบ มีรอยคอดบริเวณข้อ แต่ละข้อยาว 10-15 เซนติเมตร ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ออกข้อละ 1 ใบ แต่ละข้อออกใบตรงข้ามกัน มีรูปสามเหลี่ยมหรือรูปกลมไปจนถึงรูปไข่ยาว 4-7 เซนติเมตร กว้าง 2.5-7 เซนติเมตรดงภาพประกอบ 5 มีมือสำหรับยึดเกาะ ดงภาพประกอบ 5 ดอกมีลักษณะเป็นดอกช่อ ออกตรงข้ามกับใบ กลีบดอกมี 4 กลีบ มีความยาว 2-3 เซนติเมตร กว้าง 1-1.5 เซนติเมตร กลีบดอกด้านนอกสีเขียวแกมเหลือง โคนกลีบมีแถบสีแดง กลีบด้านในสีขาวแกมเขียว รังไข่อยู่เหนือวงกลีบมี 2 ช่อง แต่ละช่องมีไข่ (ovules) 2 อัน เกสรเพศผู้มี 4 อัน ดงภาพประกอบ 5 ผลมีลักษณะเป็นผลสด รูปกลม เมื่อสุกจะมี

สีแดง สีม่วงจนถึงสีดำ เมล็ดมีรูปกลม ยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร กว้าง 4 มิลลิเมตร ผิวเรียบ
(การฉันทนา เพื่อกหณู, 2560; เต็ม สมิตินันท์, 2557; สำนักยาและวัตถุเสพติด, 2562b)



ภาพประกอบ 4 แสดงลักษณะของต้นเพชรสังฆาต

ที่มา: สำนักยาและวัตถุเสพติด (2562b). Thai Herbal Pharmacopoeia.



ภาพประกอบ 5 แสดงลักษณะของดอกเพชรสังฆาต

ที่มา: สำนักยาและวัตถุเสพติด (2562b). Thai Herbal Pharmacopoeia.

ส่วนลำต้นและใบของต้นเพชรสังฆาตถูกนำมาใช้ทางยามากที่สุด สารสกัดเมทานอลของพืชมีสาร α - และ β -amyrins, β -sitosterol, Vitamin C, สารกลุ่ม triterpenes, tannins, ketosteroids, phenols และ carotenes (Deka, Lahon, Saikia และ Mukit, 1994; Demling, 2000; Jainu และ Devi, 2005b) นอกจากนี้ยังมี kaempferol, quercetin (Mehta, Kaur และ Bhutani, 2001; Sen, 1966) อนุพันธ์ของสารกลุ่ม stilbenes และ quadrangularin A, B และ C (Adesanya และคณะ, 1999; Attawish และคณะ, 2002; Chopra, Nayar และ Chopra, 1956) มีแคลเซียมไอออนและฟอสฟอรัสปริมาณมาก ซึ่งช่วยในการเจริญเติบโตของกระดูก (Enechi และ Odonwodo, 2003) ส่วนใบของเพชรสังฆาตมีสาร piceatanon, resveratrol, perthenocissi, pallidol และ phytosterols (Adesanya และคณะ, 1999; Gupta และ Verma, 1991)

เพชรสังฆาตมีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย ในตำรายาไทยระบุว่า เถา รสร้อนขม คั้น คั้นน้ำดื่มแก้ลักปิดลักเปิด แก้ประจำเดือนไม่ปกติ (Kitnithiprapha และ Intaravattana, 2020) รับประทานลำต้นแก้กระดูกหักแตกชั้น แก้โรคริดสีดวงทวารหนัก ขับลมในลำไส้ ทั้งเดี่ยวไก่และกลีบมะไฟ (Kitnithiprapha และ Intaravattana, 2020; เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2519) ในประเทศอินเดียใช้ลำต้นเป็นยาพอกเมื่อกระดูกหัก ป้องกันโรคกระดูกพรุน งานวิจัยของ Shirwaikar, Khan, และ Malini (2003) ศึกษาผลของสารสกัดจากเพชรสังฆาตด้วยเอทานอลต่อฤทธิ์ป้องกันกระดูกพรุนในหนูที่ทำการตัดรังไข่ออก เทียบกับกลุ่มที่ใช้ยา raloxifen พบว่าสารสกัดนี้มีฤทธิ์ป้องกันโรคกระดูกพรุนได้ (Jainu, 2004) รักษาโรคกระเพาะอักเสบ ผิวน้ำตืดเชื้อ โรคตา หอบหืด โลหิตจาง ท้องผูก ต้านอนุมูลอิสระ น้ำคั้นจากต้นทานแก้โรคลักปิดลักเปิด แก้อาการระดูผิดปกติ ผิวน้ำนม และบาดแผล ส่วนใบบดเป็นผงรักษาโรคริดสีดวงทวารหนัก

ฤทธิ์ทางการรักษา

งานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางการรักษาของเพชรสังฆาตมีดังตาราง 1

ตาราง 1 ฤทธิ์ทางการรักษาของเพชรสังฆาต

ฤทธิ์ทางการรักษา	งานวิจัย
สมานกระดูกที่แตกหัก (bone fracture healing activity) และต้านกระดูกพรุน (anti-osteoporotic activity)	Singh และ Udupa (1962), Prasad และ Udupa (1972), Chopra, Patel, และ Awadhiya (1976), Deka และคณะ (1994), Shirwaikar และคณะ (2003), Sanyal, Ahmad, และ Sastry (2005), Potu และคณะ (2009), Kumar, Sharma, Sharma, และ Gupta (2011), Aswar, Mohan, และ Bodhankar (2012),
ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)	Austin และ Jagdeesan (2002), Murthy, Vanitha, Swamy, และ Ravishankar (2003), Thiangtham (2003), Jainu, Mohan, และ Devi (2006), Chidambaram และ Venkatraman (2010), Vijayalakshmi, Kumar, Priyadarsini, และ Meenaxshi (2013), Kokilavani และคณะ (2014), Rekha และ Devika (2019)
ฤทธิ์แก้ปวด (analgesic activity) และต้านอักเสบ (anti-inflammatory activity)	Jainu และ Devi (2005a), Viswanatha, Thippeswamy, Manjula, และ Mahendra (2006), Panthong, Supraditaporn, Kanjanapothi, Taesotikul, และ Reutrakul (2007), Kumar, Sharma, Saraf, และ Gupta (2010), (Jaya, Venkatesan และ Anuradha, 2010), Vijay และ Vijayvergia (2010), Srisook, Palachot, Mongkol, Srisook, และ Sarapusit (2011), Bhujade และคณะ (2012)
ต้านการเกิดแผล (antiulcer activity)	Austin และ Jagdeesan (2002), Jainu, Vijaimohan, และ Kannan (2010), Yadav, Ganeshpurkar, และ Rai (2012), Enechi, Celestina, และ Okechukwu (2013)
ต้านริดสีดวงทวารหนัก (anti-hemorrhoidal activity)	Panpimanmas, Sithipongsri, Sukdanon, และ Manmee (2010), Lekutai และ Pirshahid (2011), Kanket, Chaiyorach, และ Lamsombuth (2012), Pirshahid และคณะ (2016)

พิษวิทยา

งานวิจัยของ Attawish และคณะ (2002) ได้ประเมินความปลอดภัยของสารสกัดของเพชรสังฆาต โดยศึกษาความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรัง โดยให้ผงเพชรสังฆาตขนาด 0.03, 0.3 และ 3.0 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวหนูพบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของหนู ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kothari และคณะ (2011) ซึ่งประเมินความปลอดภัยของสารสกัดของเพชรสังฆาต โดยศึกษาความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังและดูการกลายพันธุ์ พบว่า เมื่อให้สารสกัดขนาด 0, 100, 1000 และ 2500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนูพบว่า ไม่มีอาการเป็นพิษที่เกี่ยวข้องกับการให้สารสกัดเกิดขึ้น และไม่มีการกลายพันธุ์เกิดขึ้น จึงสรุปว่าเพชรสังฆาตไม่มีพิษต่อหนูขาว

กะเม็ง

กะเม็งมีชื่อเรียกอื่น ๆ ว่า กะเม็งตัวเมีย ส่อมเกี้ยว หญ้าสับ มีชื่อทั่วไปว่า Yerba de tajo หรือ false daisy ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eclipta prostrata* Linn. (ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) มีชื่อพ้องว่า *Eclipta alba* (L.) Hassk อยู่ในวงศ์ Asteraceae (Khan และ Khan, 2008) เป็นพืชล้มลุกที่มีความสูง 10-60 เซนติเมตร เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลแดงปนเขียว บ้างมีขนสีขาวและสั้น บ้างผิวเกลี้ยง ใบเป็นใบเดี่ยว ออกใบตรงข้ามกัน มีลักษณะเป็นรูปหอกหรือรูปรี มีขนใบทั้งสองด้าน ปลายใบเรียวแหลม โคนใบมนแคบ มีความกว้างประมาณ 0.8-2.0 เซนติเมตร ความยาวประมาณ 4-10 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งปลูก ดังภาพประกอบ 6 ดอกมีสีขาว ออกเป็นช่อเดี่ยวที่ซอกใบบริเวณยอด ดอกวงนอกเป็นดอกเพศเมีย มีดอกประมาณ 3-5 ดอก ดอกวงในมีลักษณะเป็นกลีบดอกติดกันเป็นหลอด ปลายแยกออกเป็น 4 กลีบ เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ผลมีรูปร่างเป็นลูกข่าง ความยาว 3-3.5 มิลลิเมตร ความกว้างประมาณ 1.5 มิลลิเมตร สีเหลืองปนดำ ปลายผลมีระยางเป็นเกล็ดมีความยาวประมาณ 2.5 มิลลิเมตร เมล็ดมีสีดำ ต้นกะเม็งพบได้ตามที่โล่งแจ้งที่มีความชุ่มชื้นหรือริมคูน้ำ (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2017; ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)

กะเม็งเป็นสมุนไพรที่องค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย ได้แก่

- สารกลุ่ม coumestans ได้แก่ demethylwedelolactone, wedololactone และ demethylwedelolactone-7-glucoside (Jadhav, Thorat, Kadam และ Salaskar, 2009)
- สารกลุ่ม sterols ได้แก่ daucosterol, stigmasterol และ stigmasterol-3-O-glycoside (Cherdtrakulkiat และคณะ, 2015a)
- สารกลุ่ม Flavonoids ได้แก่ luteolin, luteolin-7-glucoside, apigenin, quercetin (W. Li, Pang, Han, Zhou และ Cui, 2018)

- สารกลุ่ม Thiophenes ได้แก่ 5-(but-3-yne-1,2-diol)-5'-hydroxy-methyl-2,2'-bithiophene และ bithiophenes เป็นต้น (Xi และคณะ, 2014)

- สารกลุ่ม Saponins ได้แก่ dasyscyphin C, ecliptasaponin, eclalbasaponin I-IV และ eclalbatin (triterpene saponin) เป็นต้น (Kim และคณะ, 2015; Liu, Zhao, Zhong และ Jiang, 2012; Tewtrakul, Subhadhirasakul, Cheenpracha และ Karalai, 2007)



ภาพประกอบ 6 แสดงถึงลักษณะของต้นกะเม็ง

ที่มา : Hossain, Sultana, Debnath, และ Rahmatullah (2018). Asian Journal of Pharmacognosy Ethnopharmacological Note Use of *Eclipta prostrata* (L.) L. (Asteraceae) for treatment of leukoderma.

ในสรรพคุณยาโบราณ ส่วนของลำต้นใช้ในการแก้โลหิตทำให้ร้อน แก้จุกเสียดแน่นเคียดเพื่อ ดอกแก่น้ำดีชัน ลูกขับผายลม รากแก้อาเจียนเป็นโลหิต ขับลมในลำไส้และกระเพาะอาหาร ห้ามเลือด บำรุงโลหิต ใบและรากใช้เป็นยาถ่ายและทำให้อาเจียน เป็นยาบำรุงแก้โรคตับและม้ามพิการได้ นอกจากนี้ยังมีการนำไปผสมกับลูกมะเกลือเพื่อย้อมผ้าให้ดำเร็วขึ้นด้วย (เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2519) ตำรายาพื้นบ้านไทยใช้ต้นกะเม็งบดผสมกับน้ำผึ้ง ปั้นเป็นลูกกลอนรับประทานแก้ปวดเมื่อยทุกชนิด (กายสิทธิ์ พิศนาคะ, 2544) ในประเทศอินเดียมีการนำกะเม็งไปใช้รักษาอาการผมร่วง (Alopecia) โรคปอดบวม (pneumonia) หลอดลมอักเสบ (bronchitis) เหงือกอักเสบ (gingivitis) หอบหืด (asthma) ดีชัน (Jaundice) ริดสีดวงทวารหนัก (haemorrhoids) และโรคความดันโลหิตสูง (hypertension) ต้านแบคทีเรีย อีกทั้งยังลดความอยากอาหารและสมานแผลอีกด้วย

ด้วย (Ali และ Azhar, 2000; Dixit และ Pandey, 1984; Jain, 1991; Khanna และ Mudgal, 1994; Sharma, Mohammed, Ansari และ Jyoti, 2000)

ฤทธิ์การรักษา

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์การรักษาด้วยกะเม็งดังตาราง 2

ตาราง 2 ฤทธิ์ทางการรักษาของกะเม็ง

ฤทธิ์การรักษา	งานวิจัย
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants activity)	Karthikumar, Vigneswari, และ Jegatheesan (2007), Kim และคณะ (2008), Baranisrinivasan, Elumalai, Sivakumar, Therasa, และ David (2009), Rao, Kiran, Madhavi, Rao, และ Rao (2009), M. S. Hossain และคณะ (2011), Hemalakshmi, Sriram, และ Mathuram (2012), Chan, Huang, Guo, และ Wang (2014), Pukumpuang, Chansakaow, และ Tragoolpua (2014), Cherdtrakulkiat และคณะ (2015b), Gani (2015), Sinha และ Raghuwanshi (2016), Chung และคณะ (2017), Nahid, Neelabh, และ Kumar (2017), Singh, Antil, Kumar, และ Dahiya (2019), กรรณก เอกโยธินวงศ์ (2020)
Hepatoprotective activity	Saxena, Singh, และ Anand (1993), Lin, Yao, Lin, และ Lin (1996), Singh, Saxena, Chandan, Agarwal, และ Anand (2001), Baranisrinivasan และคณะ (2009), Lal, Kumar, Kumar, และ Singh (2010), Luo, Ding, Zhu, Chen, และ Xu (2018), Naik, Gurushanthaiah, Kavimani, Prabhu, และ Lokanadham (2018)
Antidiabetic activity	Ananthi, Prakasam, และ Pugalendi (2003), Hemalakshmi และคณะ (2012), Jaiswal, Bhatia, Srivastava, Srivastava, และ Tamrakar (2012), Kumar, Gaonkar, Ghosh, และ Pal (2012)

ตาราง 2 (ต่อ)

ฤทธิ์การรักษา	งานวิจัย
Analgesic and anti-inflammatory activity	Pandey, Upadhyay, และ Pandey (1997), Sawant, Isaac, และ Narayanan (2004), Wang และคณะ (2005), Sureshkumar, Bhama, Kumar, Chandrasekar, และ Rajesh (2007), M. S. Hossain และคณะ (2011), Kodithala, Kiranmai, Dorababu, และ Ibrahim (2012)
Neuropharmacological activity	Kim และคณะ (2008), Mansoorali, Prakash, Kotresha, Prabhu, และ Rama Rao (2012), Swati, Monalisa, และ Abhisek (2013), Jung และคณะ (2018), Li และคณะ (2018)
Antimicrobial activity	Karthikumar และคณะ (2007), khanna และ Kannabiran (2008), Raman และ Rashid (2008), (Bakht, Islam และ Shafi, 2011), Cherdtrakulkiat และคณะ (2015b), Nahid และคณะ (2017), Singh และคณะ (2019)
Antiepileptic activity	Shaikh, Sancheti, และ Sathaye (2012), (Tambe และคณะ, 2017)
Anticancer activity	Khanna และ Kannabiran (2009), Chaudhary, Dhuna, Singh, Kamboj, และ Seshadri (2011), Yadav และคณะ (2017)

พิษวิทยา

งานวิจัยของ Arakere และคณะ (2016) เกี่ยวกับการศึกษาความเป็นพิษ การระคายเคืองผิวหนัง และการระคายเคืองตาของการรับประทานสารสกัดน้ำของกะเม็งในหนูและกระต่าย พบว่า มีความปลอดภัยทั้งในหนูและกระต่ายเมื่อให้ในขนาดสูงถึง 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว ทำให้สามารถสรุปได้ว่า กะเม็งในขนาดปกติมีความปลอดภัยในหนูและกระต่าย

โกฐน้ำเต้า

โกฐน้ำเต้า (Rhubarbs) มีชื่อจีนกลางว่า ต้าหวง (Dahuang) มีชื่อจีนแต้จิ๋วว่า ตั่วอั้ง (Chonlasit, Julsrigival และ Janjom, 2015) เป็นส่วนของเหง้าหรือรากแห้งของพืชที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Rheum officinale* Baill., *R. tanguticum* หรือ *R. palmatum* วงศ์ Polygonaceae เป็นวงศ์ของผักไผ่น้ำหรือผักแพว (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553) ซึ่งเป็นไม้พุ่มขนาดใหญ่ มีความสูง 2 เมตร รากและเหง้ามีลักษณะอ้วนสั้นและมีขนาดใหญ่ มียางสีเหลือง เนื้อนุ่ม ลำต้นมีลักษณะกลวงและอ้วนสั้น แตกกิ่งก้านเป็นจำนวนมาก เปลือกลำต้นสีเขียว มีลายเล็กน้อย ใบเป็นใบเลี้ยงคู่ รูปรีแกมรูปไข่ปลายแหลม โคนใบเว้าเข้าหากันเป็นรูปหัวใจ ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อยและมีแฉกคล้ายนิ้วมือ ประมาณ 3-7 แฉก มีขนาดประมาณ 35-40 เซนติเมตร ดอกเป็นช่อแบบแยกแขนง ก้านช่อ 1 กิ่งมีประมาณ 7-10 ดอก ก้านดอกมีความยาวประมาณ 3-4 มิลลิเมตร ดอกย่อยจะแยกเป็นแฉก 6 แฉก กลีบดอกเรียงซ้อนกัน 2 ชั้น มีสีแดงอมม่วงหรือ สีเขียวถึงขาวอมเหลือง มีเกสรตัวผู้จำนวน 9 ก้าน ดังภาพประกอบ 7 ผลมีลักษณะเป็นรูปคล้ายสามเหลี่ยม มีสีน้ำตาลเข้ม มีความกว้าง 7-8 เซนติเมตร ความยาว 9-10 เซนติเมตร บริเวณเหลี่ยมมีเยื่อบาง ๆ หุ้มอยู่ ผลจะแก่ในช่วงเดือนสิงหาคม (Chonlasit และคณะ, 2015; Clementi และ Misiti, 2010; วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต, 2018)

เหง้าแห้งเป็นส่วนที่นำมาใช้ทางยา มีสารสำคัญหลักได้แก่ สารในกลุ่มอนุพันธ์ของ hydroxyanthracene หรือ anthraquinones มีปริมาณ 3-12% สารในกลุ่ม tannins คิดเป็นปริมาณ 5-10% สารกลุ่ม flavonoids คิดเป็นปริมาณ 2-3% และสารกลุ่ม stilbenes คิดเป็นปริมาณ 1% (Clementi และ Misiti, 2010)

องค์ประกอบทางเคมีของโกฐน้ำเต้ามีสารสำคัญกลุ่ม anthraquinones แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย (Kang และคณะ, 2008; Wang และคณะ, 2008) ได้แก่

1. สารกลุ่ม anthraquinone glycosides ได้แก่ chrysophanein, rheinoside A-D, palmatin และ glucoemodin
2. สารกลุ่ม free anthraquinones ได้แก่ emodin, aloe-emodin, chrysophanol, rhein และ physcion
3. สารกลุ่ม bianthrone ได้แก่ rheidin A-C และ sennoside A-F



ภาพประกอบ 7 แสดงลักษณะของใบและดอกของต้นโกฐน้ำเต้า

ที่มา: Clementi และ Misiti (2010). Potential Health Benefits of Rhubarb.

โกฐน้ำเต้ามีสรรพคุณหลากหลาย ทางเภสัชตำรับระบุว่า เมื่อเคี้ยวจะทำให้เกิดน้ำลายมาก แก้อาตุพิการ ซึ่งไม่มีกำลังย่อย ขนาดมาก ๆ โกฐน้ำเต้าเป็นยาระบาย โดยกระตุ้นให้ลำไส้ใหญ่เกิดการบีบตัว เพิ่มปริมาณน้ำ แรงการขับถ่ายกากอาหาร และสามารถหยุดถ่ายได้เอง เนื่องจากมีสาร tannins อยู่ จึงเรียกว่า ยาระบายรู้เปิดรู้ปิด แพทย์ตามชนบทใช้ผสมเป็นยารักษาโรคถ่ายท้องเสีย โรคเจ็บตา โรคริดสีดวงทวารหนัก (Chonlasit และคณะ, 2015; เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2519) เช่นเดียวกับในตำรายาของจีน ระบุว่า สารกลุ่ม anthraquinones มีฤทธิ์เป็นยาระบาย แต่มีการนำไปศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และค้นพบฤทธิ์อื่น ๆ ที่ไม่ใช่ยาระบาย เช่น emodin มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ หลอดเลือดคลายตัว ฆ่าเชื้อไวรัสและต้านมะเร็ง rhein มีฤทธิ์ต้านไวรัสและกำจัดเชื้อแบคทีเรีย aloe-emodin มีฤทธิ์ต้านเชื้อสวัต เป็นต้น (Ding และคณะ, 2008; He, Yan, Mo และ Liang, 2008; Huang, Shen และ Ong, 2004; Huei-Chen, Chai-Rong,

Chao, Ching-Chow และ Shu-Hsun, 1991; Li, Li, Sun และ Li, 2007; Lin และคณะ, 2008) นอกจากนี้ยังมีสาร sennosides และ rheinosides ที่ออกฤทธิ์เพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้ใหญ่ (Jef, 1993; Nishioka, 1985) สารกลุ่ม tannins ในโกฐน้ำเต้าช่วยลดการดูดซึมธาตุเหล็กที่มาจากพืชได้ (Hurrell, Reddy และ Cook, 1999)

ฤทธิ์การรักษา

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์การรักษาด้วยโกฐน้ำเต้าดังตาราง 3

ตาราง 3 ฤทธิ์ทางการรักษาของโกฐน้ำเต้า

ฤทธิ์การรักษา	งานวิจัย
Alzheimer's Disease	Kageura และคณะ (2001), Park, Jung, และ Lee (2005), Lu และคณะ (2015), Zhao, Gao, และ Gao (2019)
Antioxidant activity	Cai, Sun, Xing, และ Corke (2004), Shia และคณะ (2009), Takeoka, Dao, Harden, Pantoja, และ Kuhl (2013), Wang และคณะ (2016), Neyrinck และคณะ (2017), Xu และคณะ (2017)
Antimicrobial activity	Wang และคณะ (2010), Lu และคณะ (2011), Ren, Chen, Zhou, และ Pan (2014)
Wound healing	Yu, Zhu, Tang, Li, และ Zhang (2001), Tang, Yin, Yang, และ Shan (2007)
Hepatoprotective activity	Ding และคณะ (2008), Bu และคณะ (2018)

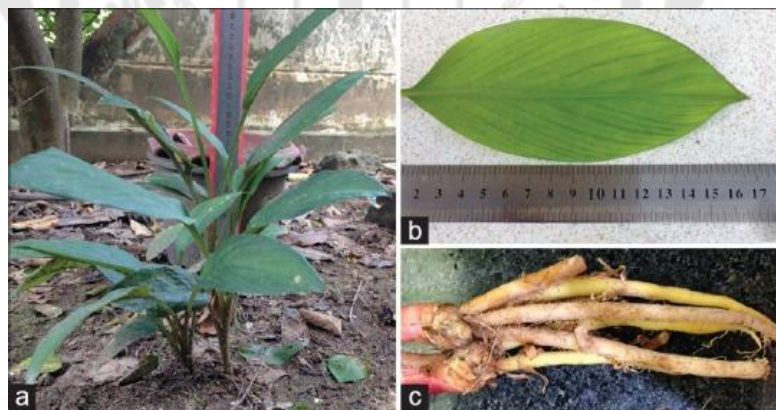
พิษวิทยา

มีงานวิจัยของ Wang และคณะ (2011) ศึกษาความเป็นพิษของโกฐน้ำเต้าในหนู พบว่าหนูตายเมื่อให้สมุนไพรขนาด 40 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ซึ่งเป็นขนาดสูง แสดงว่า โกฐน้ำเต้ามีความเป็นพิษเมื่อได้รับสมุนไพรในขนาดสูง

กระชาย

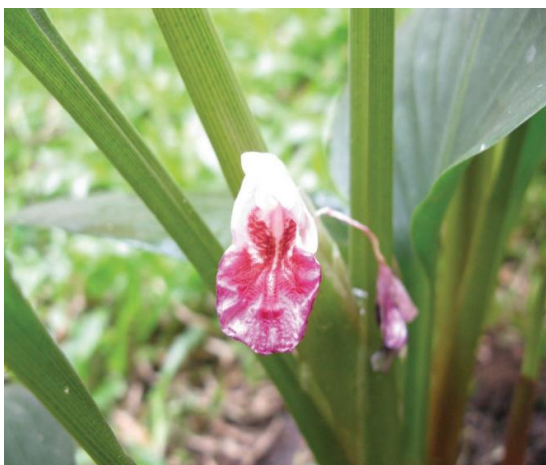
กระชาย (fingerroot) หรือ ละแอน, ว่านพระอาทิตย์, กะแอน ชิงทราย, ชิงแดง หรือชิงกระชาย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. และยังมีชื่อพ้องว่า

Boesenbergia pandurata (Roxb.) Schltr. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับพืชตระกูลขิง กระชายมีลักษณะเป็นไม้ล้มลุก ใบมีลักษณะเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว รูปขอบขนานแกมรูปไข่มีลักษณะคล้ายใบช่า เรียงสลับกันในระนาบเดียวกัน ไม่มีลำต้นบนดิน มีเหง้าใต้ดิน เหง้ามีลักษณะอวบน้ำและสั้น เรียกอีกอย่างว่า กะโปกกระชาย มีรากแตกออกจากเหง้าเป็นกระจุกจำนวนมาก ตรงกลางพองกว่าส่วนหัวและท้าย เป็นรูปทรงกระบอก ปลายแหลมเรียว เรียกว่า นมกระชาย มีความกว้าง 1-2 เซนติเมตร ความยาว 4-10 เซนติเมตร ผิวของรากมีสีน้ำตาลอ่อน เนื้อในมีสีเหลือง ดอกมีลักษณะดอกช่อ มีกลีบดอกสีขาวหรือชมพูอ่อน ดังภาพประกอบ 9 ใบประดับเป็นรูปหอก ดังภาพประกอบ 8 (Tan และคณะ, 2012; Wu และ Larsen, 2000; คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553; มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) ส่วนเหง้าของกระชายเป็นส่วนที่นำมาใช้ในการประกอบอาหารประเภทแกงและซุป มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ช่วยเพิ่มความอยากอาหาร อีกทั้งยังนำมาใช้ทางยามากที่สุด มีกลิ่นหอมฉุน มีรสชาติเผ็ดร้อนและขม แก้โรคในปาก เช่น ปากแห้ง ปากเปื่อย ปากเป็นแผล ปากแตกกระแหว่ ขับปัสสาวะ ขับระดูขาว แก้ปวดมวนในท้องและบำรุงกำลัง (เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2519) โรคหัวใจ ไตแห้ง ๆ แก้ท้องเสีย สมานแผล ผิวหนังอักเสบ (Wongsatit และ Sornthornchareonon, 2003) ต้านเชื้อราและยังกำจัดพยาธิตัวกลมในลำไส้เล็กของมนุษย์ (Tan และคณะ, 2012)



ภาพประกอบ 8 แสดงลักษณะของต้นกระชาย

ที่มา: Wu และ Larsen (2000). Zingiberaceae.



ภาพประกอบ 9 แสดงถึงดอกของต้นกระชาย

ที่มา: (Wu และ Larsen, 2000). Zingiberaceae.

องค์ประกอบทางเคมีของกระชาย มี essential oils ได้แก่ camphor, fenchene, cineole, neral, limonene และ hemanthidine (Baharudin, Hamid และ Darnis, 2015) นอกจากนี้มีสารกลุ่ม flavonoids ได้แก่ pinocembrin, krachazin, boesenbegin A, panduratin, pinostrobin, cardamonin, geraniol, alpinetin, quercetin, kaempferol เป็นต้น (Jantan และคณะ, 2001; Jing, Mohamed, Rahmat และ Bakar, 2010)

ฤทธิ์การรักษา

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์การรักษาด้วยกระชายดังตาราง 4

ตาราง 4 ฤทธิ์ทางการรักษาของกระชาย

ฤทธิ์การรักษา	งานวิจัย
Antimicrobial activity	Bhamarapravati, Juthapruth, Mahachai, และ Mahady (2006), Jitvaropas และคณะ (2012), Zainin และคณะ (2013), Mazlan, Zakaria, และ Rukayadi (2016), Taechowisan, Chaisaeng, และ Phutdhawong (2017), Atun, Handayani, และ Rakhmawati (2018), Teethaisong, Pimchan, Srisawat, Hobbs, และ Eumkeb (2018), Widyarman, Cynthia, Theodorea, และ Amtha (2019)

ตาราง 4 (ต่อ)

ฤทธิ์การรักษา	งานวิจัย
Anticancer activity	Jing และคณะ (2010), Ng และคณะ (2013), Mohd และคณะ (2013), Break และคณะ (2020)
Anti-inflammatory activity	Tuchinda และคณะ (2002), Isa และคณะ (2012), (Syam และคณะ, 2020)
Antioxidant activity	Jing และคณะ (2010), (Abdelwahab และคณะ, 2011), Isa และคณะ (2012), Jitvaropas และคณะ (2012), Atun, Handayani, และ Frindryani (2017), Shireen, Muraleedharan, และ Mujeeb (2017), Syam และคณะ (2020)

พิษวิทยา

งานวิจัยของ Saraithong, Saenphet, และ Saenphet (2010) ศึกษาถึงความปลอดภัยในสารสกัดของกระชายด้วยเอทานอล ที่ความเข้มข้น 60, 120 และ 240 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักของหนูทดลองค่าปริมาณเม็ดเลือดขาว (White Blood cell counts) รวมทั้งเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของตับและไต อยู่ในช่วงปกติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Charoensin, Punvittayagul, Pompimon, Mevatee, และ Wongpoomchai (2020) ซึ่งศึกษาการให้ pinocembrin และ pinostrobin ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวหนูพบว่าไม่มีหนูตาย จึงสรุปได้ว่า การได้รับกระชายในขนาดปกติมีความปลอดภัย

อค์คิฑวกร

อค์คิฑวกร มีชื่ออื่นว่า ตรีชวา กริฑวกร แข็งม้่า แคว้งค้่า หลั้วสามเกี้ยน ผ้่าห้่ายห่อค้่า หมักก้่านต้อ ชะร้ักป้่า หมอกนางต๊ะ หนูแวง ฮังตอ มั๊กค้่างข้่า มีชื่อวิฑวกรศาสตร้่า *Clerodendrum serratum* (L.) Moon var. *wallichii* C.B. Clarke อยู่ในวงศ้่า Lamiaceae มีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูง 3-4 เมตร ดัังภาพประกอบ 10 ใบเด็ยว เร็ยงแบบตรงข้่าม มีลักษณะเป็นใบหอกแกมไข รูปใบค้่ายใบระย้อมหรือเซ็ม ดอกมีลักษณะเป็นดอกช่อ ออกที่ปลายก้ิง กลีบดอกมี 5 กลีบ กลีบ

กลางมีสีม่วง กลีบ 4 กลีบมีสีฟ้า ดังภาพประกอบ 11 ผลมีรูปกลม เมื่อสุกมีสีม่วงหรือดำ (เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2519; อุทยานธรรมชาติวิทยาสิริรุกขชาติ, 2019)

องค์ประกอบทางเคมีของอัคคีทวาร ในส่วนของรากมีสาร stigmasterol, sitosterol, serratagenic acid, serratin, baicalein, ursolic acid, β -sitosterol, queretaroic acid, ferulic acid และ lupeol (Kumar และ Nishteswar, 2013) ส่วนของใบมีสาร luteolin, hisprudin, α -spinosterol, cruteuarein, oleanolic acid และ catechin (Kumar และ Nishteswar, 2013; Patel, Acharya และ Acharya, 2014)



ภาพประกอบ 10 แสดงลักษณะต้นอัคคีทวาร

ที่มา: อุทยานธรรมชาติวิทยาสิริรุกขชาติ (2019). อัคคีทวาร.

ในทางยา ใบใช้ทำผงรับประทานแก้ริดสีดวงทวาร ต้นและรากใช้ฝนกับน้ำปูนใสจนข้นเพื่อทาหัวริดสีดวงทวาร บางที่ใช้ใบแห้งป่นเป็นผง นำไปโรยถ่านไฟ ครันรมหัวริดสีดวงทวารให้ฝ่อและยุบ ต้นและใบตำพอกรักษากลากเกลื้อน และพอกศีรษะเพื่อแก้ปวด แก้ข้อขัดและดูดหนองออก รากผสมกับขิงและลูกผักชีแก้อาเจียน ผลสำหรับรับประทานแก้ไอ ลำต้นใช้เป็นยาขับปัสสาวะ (เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2519)



ภาพประกอบ 11 แสดงลักษณะใบและดอกอัคคีทวาร

ที่มา: คู่มือยานธรรมชาติวิทยาสิริรุกษชาติ (2019). อัคคีทวาร.

ฤทธิ์การรักษา

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์การรักษาด้วยอัคคีทวารดังตาราง 5

ตาราง 5 ฤทธิ์ทางการรักษาของอัคคีทวาร

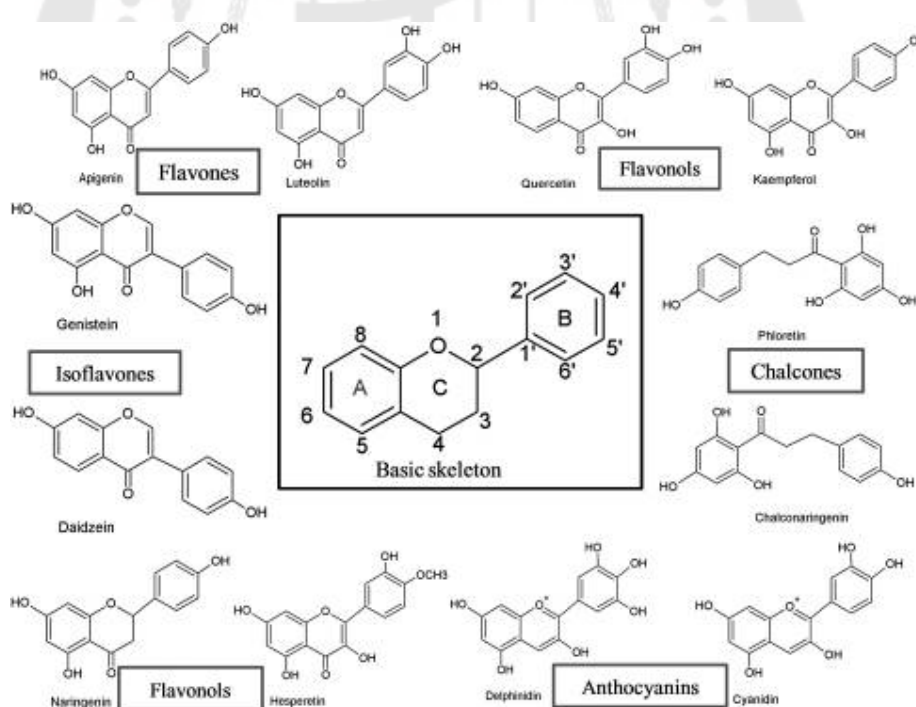
ฤทธิ์การรักษา	งานวิจัย
Antioxidant activity	Bhujbal, Kewatkar, More, และ Patil (2009), Vazhayil และคณะ (2016), Vazhayil, Rajagopal, Thangavelu, Swaminathan, และ Rajagounder (2017)
Antibacterial activity	Noreen และคณะ (2018), Mahajan และคณะ (2019)
Anti-inflammatory activity	Bhangare, Pansare, Ghongane, และ Nesari (2012), Solapure, Pradeep, และ Hegde (2016)

พิษวิทยา

ยังไม่มีงานวิจัยกล่าวถึงความปลอดภัยถึงอัคคีทวาร

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารสำคัญที่ได้จากพืชในธรรมชาติ พบได้มากในพืชชั้นสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสีและกลิ่นของดอกไม้ แต่อย่างไรก็ตามทุกส่วนของพืชสามารถผลิตฟลาโวนอยด์ได้เช่นกัน (Dewick, 2002) นอกจากนี้พบได้ในอาหารและเครื่องดื่มจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ ไวน์ เป็นต้น สารชนิดนี้สามารถป้องกันพืชจากจุลชีพและแสงยูวีได้ นอกจากนี้ยังเป็นโมเลกุลนำส่งสัญญาณและกำจัดสารพิษได้อีกด้วย เป็นสารที่มีโพลีฟีนอล (polyphenols) อยู่ในโครงสร้าง ซึ่งมีวงแหวนอะโรมาติก (aromatic rings) จำนวน 2 วง ซึ่งแต่ละวงมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) อย่างน้อย 1 ตำแหน่ง วงแหวนอะโรมาติกทั้ง 2 วงเชื่อมต่อกันด้วยอะตอมคาร์บอนจำนวน 3 อะตอม ดังภาพประกอบ 12 สารในกลุ่มนี้เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวเคมีและต้านอนุมูลอิสระที่ผลต่อโรคที่หลากหลาย เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) ภาวะไขมันอุดตันในเส้นเลือด (Artherosclerosis) โรคมะเร็ง เป็นต้น (Lee และคณะ, 2009; Ovando, Hernández, Hernández, Rodríguez และ Vidal, 2009) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์เสริมสร้างสุขภาพที่กว้าง ทั้งในด้านเภสัชภัณฑ์ โภชนาการ ยา และเครื่องสำอาง



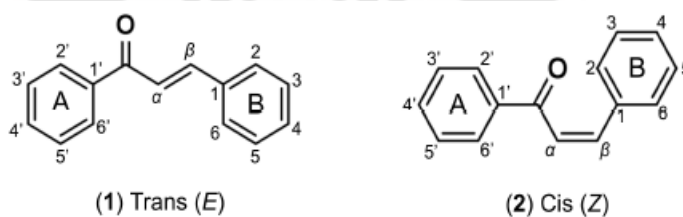
ภาพประกอบ 12 แสดงโครงสร้างหลักและโครงสร้างกลุ่มย่อยของฟลาโวนอยด์

ที่มา: Panche, Diwan, และ Chandra (2016). Flavonoids: an overview.

ฟลาโวนอยด์มีโครงสร้างย่อยหลายกลุ่ม ได้แก่ chalcones, flavones, flavonols flavanones, isoflavones และ anthocyanidins ซึ่งสารแต่ละกลุ่มย่อยแตกต่างกันที่ตำแหน่งของวงแหวน B ที่เชื่อมต่อกับคาร์บอนที่อยู่บนวงแหวน C จำนวนพันธะที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated bond) และการเกิด oxidation ของวงแหวน C

Chalcones

Chalcones เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า chalconoids หรือ 1,3-diphenyl-2-propen-1-ones เป็นกลุ่มย่อยของฟลาโวนอยด์ที่ในพืช อยู่ในรูป *cis* และ *trans* isomers ดังภาพประกอบ 13 ซึ่งในรูป *trans* isomers มีความคงตัวมากกว่า (Ni, Meng และ Sikorski, 2004; Sahu, Balbhadra, Choudhary และ Kohli, 2012; Sebti, Solhy, Smahi, Kossir และ Oumimoun, 2002; Zhuang และคณะ, 2017) ส่วนรูป *cis* isomers ไม่คงตัวเนื่องจาก กลุ่ม carbonyl เกิด steric effect กับวงแหวน A ได้ง่าย (Aksöz และ Ertan, 2011) สารกลุ่มนี้มีความสำคัญมาก เนื่องจากถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการสร้างสารในกลุ่ม flavonoids และ isoflavonoids ซึ่งมีโครงสร้าง polyphenols โดยสีของสารกลุ่มนี้คือสีเหลือง ถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นสีส้ม (Wong, 1968) สารกลุ่ม chalcones ไม่มีวงแหวน C ได้แก่ butein (Sung, Prasad, Gupta, Patchva และ Aggarwal, 2012), chalconaringenin (Abe และ Morita, 2010; Abe, Watanabe, Morita, Kohno และ Noguchi, 2006; M. B. Austin และ Noel, 2003) และ phloridzin (Kulkarni, Garud, Oza, Barve และ Gaikwad, 2016) เป็นต้น พบได้ในผลิตภัณฑ์จากแป้งสาตี, ลูกแพร์ และมะเขือเทศ เป็นต้น (Panche และคณะ, 2016)

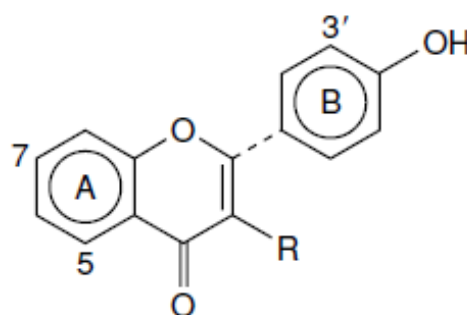


ภาพประกอบ 13 แสดงถึงโครงสร้างของ chalcones แบบ Trans และ Cis isomer

ที่มา: Gomes และคณะ (2017). Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design.

Flavones

Flavones เป็นฟลาโวนอยด์ที่มีพันธะคู่อยู่ที่ตำแหน่งที่ 2,3 และมีหมู่ ketones อยู่ที่วงแหวน C ดังภาพประกอบ 14 สารในกลุ่มที่พบในผัก ผลไม้ตามธรรมชาติ มักมีหมู่ไฮดรอกซี (hydroxyl group) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 บนวงแหวน A เป็นกลุ่มย่อยที่สำคัญที่พบได้ในส่วนของใบ ผล และดอกในรูปของกลูโคไซด์ (glucosides) แหล่งของสารกลุ่ม flavone นี้ได้แก่ แปะก๊วย พาสลีย์ คาโมมายล์ เซเลอริ เป็นต้น ตัวอย่างของสารในกลุ่มนี้ ได้แก่ Apigenin, Rutin และ Luteolin เป็นต้น (Manach, Scalbert, Morand, Rémésy และ Jiménez, 2004; Murkovic, 2003; Panche และคณะ, 2016)

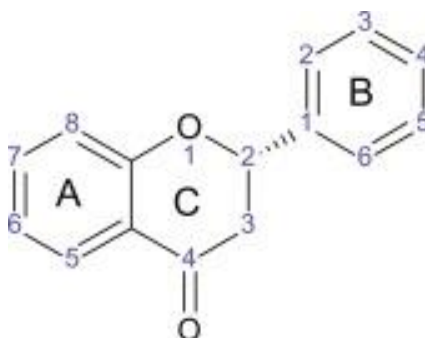


ภาพประกอบ 14 แสดงถึงโครงสร้างของสารกลุ่ม flavones

ที่มา: Murkovic (2003). PHENOLIC COMPOUNDS.

Flavanones

Flavanones หรือ dihydroflavones แตกต่างจากกลุ่ม flavones ตรงที่วงแหวน C มีพันธะอิ่มตัว (saturated bond) ดังภาพประกอบ 15 ในขณะที่ flavones มีพันธะไม่อิ่มตัว (unsaturated bond) บริเวณตำแหน่งที่ 2,3 เป็นฟลาโวนอยด์ที่สำคัญพบได้จากรสขมของเปลือกผลไม้กลุ่มซิตรัส (Citrus fruits) ได้แก่ เลมอน (lemons) ส้ม และองุ่น มีสารในกลุ่ม flavanone glycosides (Vincente, Manganaris, Ortiz, Sozzi และ Crisosto, 2014) ตัวอย่างของสารในกลุ่มย่อยนี้ ได้แก่ naringenin, hesperidin และ eriodictyol สารกลุ่ม Flavanones มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดไขมันในเลือด ด้านการอักเสบและลดคอเลสเตอรอล (Iwashina, 2015; Vincente และคณะ, 2014)

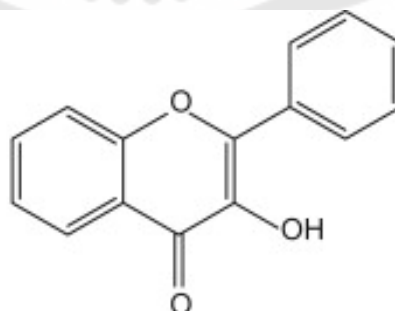


ภาพประกอบ 15 แสดงถึงโครงสร้างสารในกลุ่ม flavanones

ที่มา : Das, Goud, และ Das (2019). 9 - Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages.

Flavonols

Flavonols เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีหมู่คีโตน มีโครงสร้างคล้ายกลุ่ม Flavones แต่แตกต่างกันที่มีหมู่ไฮดรอกซิลบนตำแหน่งที่ 3 ของวงแหวน C ดังภาพประกอบ 16 พบได้ในผักและผลไม้ที่หลากหลาย พบได้มากใน หัวหอมใหญ่ กะหล่ำปลี มะเขือเทศ องุ่น และผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบได้ในไวน์แดงและชา สารในกลุ่มที่นำมาใช้ในการศึกษามากได้แก่ quercetin, fisetin, kaempferol และ myricetin สารในกลุ่ม flavonols มีฤทธิ์ที่หลากหลาย สามารถต้านอนุมูลอิสระและลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้ (Manach และคณะ, 2004; Vincente และคณะ, 2014)

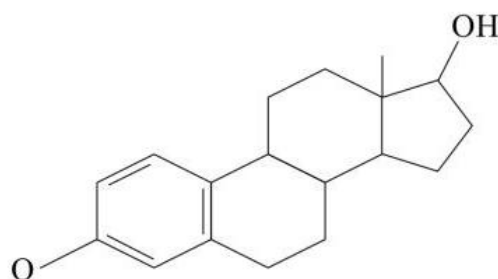
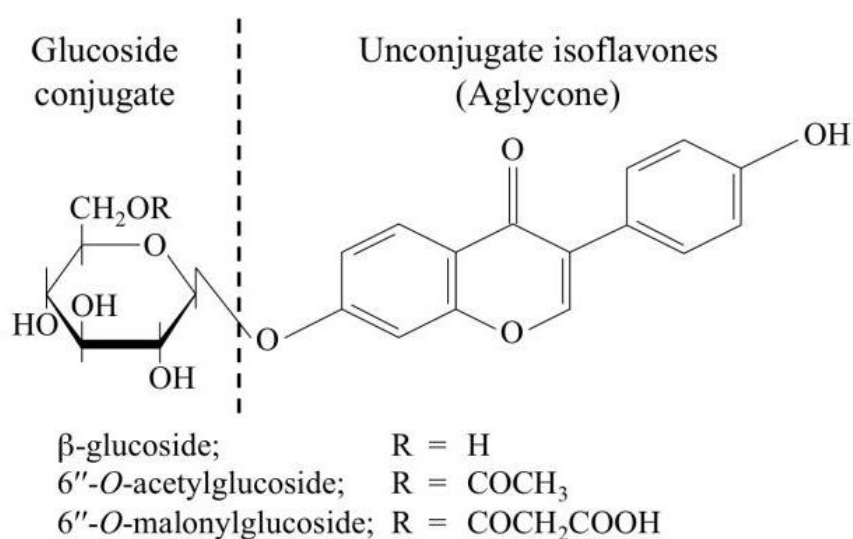


ภาพประกอบ 16 แสดงถึงโครงสร้างสารในกลุ่ม flavonols

ที่มา: Manach และคณะ (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability.

Isoflavones

Isoflavones เป็นสารที่พบได้เฉพาะพืชตระกูลถั่ว สารบางตัวพบได้ในจุลชีพ สารในกลุ่มนี้เช่น genistein, glycitein และ daidzein สารเหล่านี้เป็น phytoestrogen มีโครงสร้างเหมือน 17β -estradiol ดังภาพประกอบ 17 มีความสามารถในการเสริมสร้างกระดูกและช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งเต้านมได้ (Thawornkuno, 2014)

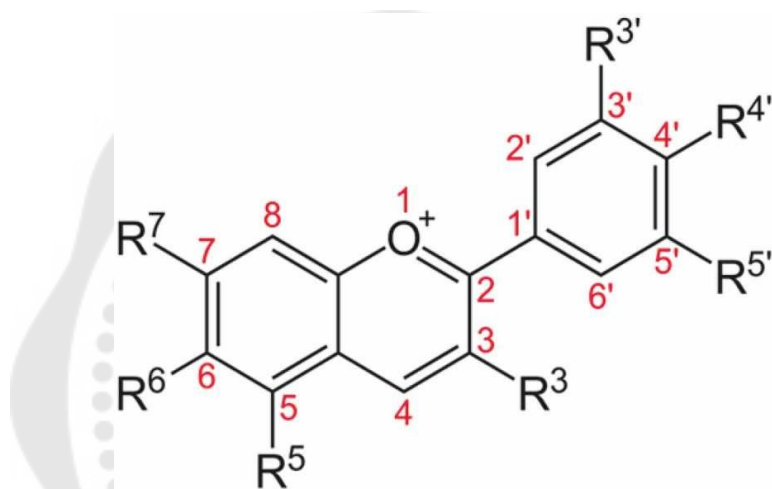


ภาพประกอบ 17 รูปบนแสดงถึงโครงสร้างสารในกลุ่ม isoflavones และน้ำตาล, รูปล่างแสดงถึงโครงสร้าง 17β -estradiol.

ที่มา: Thawornkuno (2014). ไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง: ชีวเคมี กลไกการออกฤทธิ์และความเกี่ยวข้องในการป้องกันมะเร็งเต้านม (Soy isoflavones: Biochemistry, mechanism of action and implication for breast cancer preventions).

Anthocyanins

Anthocyanins มีโครงสร้างดังภาพประกอบ 18 เป็นเม็ดสีที่อยู่ในพืช ดอกและผล สารกลุ่มนี้อยู่ในชั้นของเซลล์ชั้นนอกของผลไม้ เช่น ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ สารที่ใช้ในการศึกษามากที่สุดได้แก่ peonidin, cyanidin และ malvidin มักนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากมีประโยชน์ต่อสุขภาพที่หลากหลาย สีของสารในกลุ่มนี้แตกต่างกันตามค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) การเติมหมู่เมทิล (methylation) และหมู่เอซิล (acylation) ที่หมู่ไฮดรอกซีบนวงแหวน A และ B (Khoo, Azlan, Tang และ Lim, 2017)



ภาพประกอบ 18 แสดงถึงโครงสร้างพื้นฐานของสารกลุ่ม Anthocyanins

ที่มา: Khoo และคณะ (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits.

การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพร

การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรต้องมีการกำหนดมาตรฐานสมุนไพรทุกชนิด กรณีสมุนไพรนั้นเป็นวัตถุดิบสมุนไพรตามข้อกำหนด (monographs) ของตำรายาที่รัฐมนตรีประกาศให้อ้างอิงตามข้อกำหนดนั้น ส่วนในกรณีที่วัตถุดิบนั้นไม่เป็นไปตาม monographs ให้อ้างอิงตามข้อกำหนดมาตรฐานของบริษัทผู้ผลิตนั้น โดยคู่มือการผลิตและประกันคุณภาพเภสัชตำรับโรงพยาบาลจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติพุทธศักราช 2555 ซึ่งเป็นไปตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต (Good Manufacture Procedure; GMP) ของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2555) ดังนี้

1. ชื่อสมุนไพร
2. แหล่งกำเนิด ระบุแหล่งที่มา วิธีการเพาะปลูก วิธีการเก็บเกี่ยว
3. ส่วนที่ใช้ ระบุส่วนของสมุนไพรที่นำมาใช้
4. ลักษณะตัวอย่าง ใช้ในการตรวจสอบการปลอมปนในสมุนไพร ดังนี้

4.1 การตรวจสอบเอกลักษณ์เภสัชเวท ได้แก่

4.1.1 ลักษณะทางมหภาค หมายถึง ลักษณะภายนอกของสมุนไพร ซึ่งเป็นลักษณะที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า การใช้แว่นขยาย หรือการใช้สัมผัสทั้งห้า

4.1.2 ลักษณะทางจุลภาค หมายถึง ลักษณะของสมุนไพรที่เห็นผ่านกล้องจุลทรรศน์ ในที่นี้หมายถึง เนื้อเยื่อต่าง ๆ เซลล์ และส่วนประกอบภายในเซลล์ของสมุนไพร ในสมุนไพรบางชนิดที่ถูกบดเป็นผงแล้ว ยังคงลักษณะของเซลล์ ทำให้สามารถคุณลักษณะจำเพาะ

4.2 การตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีของวัตถุสมุนไพร

การควบคุมคุณภาพวัตถุธรรมชาติและผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้องสามารถทดสอบสารสำคัญได้หลายชนิดเดียวในเวลาเดียวกัน การทดสอบลายพิมพ์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี (Chromatographic fingerprints) เป็นวิธีการทดสอบที่อาศัยเทคนิคการแยกสารที่ผสมกันอยู่ ให้แยกออกจากกัน โดยนำผลของสารที่เรียกว่า Chromatogram มาเปรียบเทียบกับ Chromatogram ของสารมาตรฐานหรือสารเทียบ เทคนิคโครมาโทกราฟีที่นิยมใช้มีดังนี้

4.2.1 Thin Layer Chromatography (TLC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมแบบแนวราบ (planar chromatography) สารสกัดที่ไม่เกิดการระเหยละลายในตัวทำละลาย มีสารละลายที่ทำหน้าที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) พาสารเคลื่อนที่และเกิดการแยกบนวัฏภาคคงที่ (stationary phase) โดย stationary phase เป็น plate ที่ทำจากแผ่นแก้วอลูมิเนียม หรือพลาสติกที่เคลือบด้วยตัวดูดซับ (adsorbent) เช่น silica gel, magnesium silicate และ aluminium oxide เป็นต้น ความสามารถในการแยกสารผสมออกขึ้นอยู่กับ การดูดซับ สัดส่วนของสารละลาย สปอตสารละลายผสมลงบน stationary phase ปล่อยให้ mobile phase เป็นตัวพาสารเคลื่อนที่ เกิดการแยกสารขึ้น ค่า Retardation Factor (R_f) เป็นสัดส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่ mobile phase เคลื่อนที่ นำค่า R_f ของสารเปรียบเทียบกับค่า R_f ของสารมาตรฐานที่อยู่บน plate ได้ (Getz และ Wheeler, 1968; Morgan และ Wilson, 1999; The United States of Pharmacopoeia, 2020)

4.2.2 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นเทคนิคการแยกสารผสมในคอลัมน์ (column chromatography) มีของเหลวเป็น mobile phase พาสารเคลื่อนที่ ส่วนของ stationary phase เป็น adsorbent ได้แก่ modified silica หรือเม็ดปิดโพลีเมอร์ที่มีสาย hydrocarbon สายยาวเคลือบอยู่ บรรจุอยู่ในคอลัมน์ที่เป็นโลหะสแตนเลสหรือคอลัมน์พอลิเมอร์ (The United States of Pharmacopoeia, 2020)

4.2.3 Gas Chromatography (GC) เป็นเทคนิคการแยกสารผสมในคอลัมน์ เช่นเดียวกับ HPLC แต่สามารถแยกสารผสมที่ระเหยได้ GC ต่างจาก HPLC ที่คอลัมน์ของ GC มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเพียง 2-4 มิลลิเมตรและมีความยาวประมาณ 1-3 เมตร คอลัมน์แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ packed column ซึ่งภายในมี stationary phase ที่เป็นของแข็งและ capillary column ซึ่งมีของเหลวเป็น stationary phase (The United States of Pharmacopoeia, 2020)

โดยทั่วไป chromatographic fingerprints เป็นสิ่งที่สำคัญมากที่ใช้ในการประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ทั่วไปยอมรับกัน (Xie และคณะ, 2006; Xie และ Leung, 2009) เป็นเทคนิคพิสูจน์สารสำคัญที่อยู่ในแมทริกซ์ที่ซับซ้อนและสามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (Yang และคณะ, 2011) สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (USFDA) องค์การอนามัยโลก (WHO) สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (Wang และคณะ, 2012; Xie, 2000) และ The German Society of Medicinal Plants (Bauer, 1998) ยอมรับการใช้แยกสารในสมุนไพรด้วยวิธีนี้

5. ปริมาณสารสำคัญหรือสารเทียบ ในกรณีที่ทราบสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์สามารถใช้วิธีเฉพาะสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารเหล่านี้ ใช้ในการประเมินคุณภาพของสมุนไพรได้อีกด้วย

6. สิ่งแปลกปลอม ทำการสุ่มตัวอย่างมาเกลี่ยเพื่อคัดแยกสิ่งแปลกปลอม เป็นการตรวจหาส่วนวัตถุที่เกสซ์ตำรับไม่ได้ระบุไว้ เช่น กววด ดิน แมลง ทราาย เป็นต้น โดยทั่วไปไม่ควร มีสิ่งแปลกปลอมมากกว่าร้อยละ 2

7. ปริมาณเถ้า เป็นการดูคุณภาพและความสะอาดของวัตถุดิบสมุนไพร โดยหาสิ่งหลงเหลือจากการเผาสมุนไพร มักเป็นสารอนินทรีย์ รวมถึงสารอินทรีย์ที่ใส่ปลอมปน การหาปริมาณเถ้า มีทั้งการหาปริมาณเถ้าทั้งหมดและการหาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ทั้ง 2 วิธี เป็นการหาปริมาณดินและทราาย เป็นต้น

8. ปริมาณความชื้น โดยทั่วไปกำหนดให้มีปริมาณความชื้นได้ไม่เกิน 8% เนื่องจากน้ำและความชื้นในปริมาณมากอาจทำให้ผงสมุนไพรเกิดความเปลี่ยนแปลงในด้านกายภาพ ด้านเคมี หรือเกิดการเสื่อมสลายได้

9. ปริมาณสารสกัด

10. การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

11. การปนเปื้อนโลหะหนัก โลหะหนักต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบสมุนไพรที่มีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับคุณภาพของดิน แหล่งเพาะปลูก หรือมลภาวะของสิ่งแวดล้อมนั้น ๆ ทางตำรายาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) ได้ระบุปริมาณโลหะหนักอ้างอิงตามค่าความปลอดภัยประจำวัน (Acceptable Daily Intake; ADI) (สำนักยาและวัตถุเสพติด, 2562a) ดังนี้

Arsenic	มีปริมาณไม่เกิน	4	ppm
Cadmium	มีปริมาณไม่เกิน	0.3	ppm
Lead	มีปริมาณไม่เกิน	10	ppm
Mercury	มีปริมาณไม่เกิน	0.5	ppm

12. การปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืช

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation) เป็นการทดสอบและประเมินวิธีวิเคราะห์ว่า วิธีมีความเหมาะสม สามารถนำไปวิเคราะห์ตัวอย่างถูกต้องและแม่นยำ อีกทั้งยังเชื่อถือได้และเป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่กำหนด วิธีวิเคราะห์ที่อยู่ในเภสัชตำรับประเทศต่าง ๆ ถือเป็นวิธีที่ผ่านการตรวจสอบแล้ว ไม่ต้องทำ method validation แต่ในกรณีวิธีที่อยู่นอกเหนือเภสัชตำรับ วิธีวิเคราะห์ที่ถูกพัฒนาขึ้นมา และวิธีที่ผ่านการตรวจสอบแล้วแต่มีการปรับเปลี่ยนวิธีใช้นอกขอบข่ายที่ระบุ ต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีก่อนนำไปวิเคราะห์

ประเทศไทยกำหนดให้ขึ้นทะเบียนตำรับยาให้เป็นไปตาม ASEAN Harmonization (ASEAN) ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2550 เป็นต้นมา โดย ASEAN ได้รับแนวปฏิบัติจาก International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) guideline Q2(R1) เรื่อง Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology ซึ่งเป็นแนวทางในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สำหรับยาที่เป็นเคมี

Method validation ถูกแบ่งออกเป็น 4 ประเภท ได้แก่

1. การพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identification)

2. การหาปริมาณสารปนเปื้อน (Quantitative tests of impurities' contents)
3. การหาขีดความสามารถในการวิเคราะห์ปริมาณสารปนเปื้อน (Limit Tests)
4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ (Quantitative tests of the active moiety:

Assay)

ในการทำ method validation จะต้องเข้าใจวัตถุประสงค์ของวิธีวิเคราะห์อย่างชัดเจน และต้องประเมินว่าควรตรวจสอบตัวแปร (parameters) ใดบ้าง ไม่จำเป็นต้องทำทุกตัวแปร ขึ้นอยู่กับประเภทของวิธีวิเคราะห์นั้น ๆ การทดสอบตัวแปรต่าง ๆ ตามวิธีวิเคราะห์อ้างอิงตามแนวทางของ ICH Q2 (R1) ตามตาราง 6 โดยมี parameters มีดังนี้

1. ความเที่ยงตรง (Accuracy)
2. ความแม่นยำ (Precision) ได้แก่
 - 2.1 Repeatability
 - 2.2 Intermediate precision
 - 2.3 Reproducibility
3. ความเป็นเส้นตรง (Linearity)
4. พิสัย (Range)
5. ความจำเพาะ (Specificity)
6. ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Detection Limit)
7. ขีดจำกัดของการหาปริมาณ (Quantitation Limit)
8. ความทนของวิธี (Robustness)

ตาราง 6 การทดสอบตัวแปรต่าง ๆ ตามวิธีวิเคราะห์อ้างอิงตามแนวทางของ ICH Q2 (R1)

Parameters ต่าง ๆ	Identification	ประเภทของการวิเคราะห์		Assay
		Quantitative	Limit	
Accuracy	-	+	-	+
Precision				
-Repeatability	-	+	-	+
-Intermediate	-	+(1)	-	+(1)
Specificity	+	+	+	+
Detection Limit	-	-(2)	+	-

ตาราง 6 (ต่อ)

Parameters ต่าง ๆ	Identification	ประเภทของการวิเคราะห์		Assay
		Quantitative	Limit	
Quantitative Limit	-	+	-	-
Linearity	-	+	-	+
Range	-	+	-	+

หมายเหตุ + หมายถึง ต้องทำการตรวจสอบ
- หมายถึง ไม่ต้องทำการตรวจสอบ

ตรวจสอบ (1) หมายถึง หากทำการตรวจสอบหัวข้อ Reproducibility หัวข้อนี้ไม่จำเป็นต้อง
(2) หมายถึง อาจจำเป็นต้องตรวจสอบในบางกรณี

Specificity
เป็น parameter ที่ต้องมีการตรวจสอบทั้งหัวข้อ Assay และ Impurities เป็นการ
จำแนกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากตัวอื่นเช่น สารละลายตัว (degraded products) แมทริกซ์
(matrix) หากไม่มีวิธีวิเคราะห์ตรวจสอบความจำเพาะ ให้ใช้วิธีอื่นมาตรวจสอบ

Linearity
เป็น parameter เป็นการแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยประเมินผลการ
ตรวจสอบผ่าน range สำหรับการวิเคราะห์นั้น สารละลายที่ใช้ตรวจสอบ อาจเตรียมมาจากสาร
มาตรฐานหรือ synthetic mixtures ของผลิตภัณฑ์ยา การตรวจสอบหัวข้อนี้เป็นการพลอตกราฟ
ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายและสัญญาณการตอบสนองของเครื่องมือ แสดงค่าสมการ ค่า
ความชัน จุดตัดแกน y และค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) การตรวจสอบ parameter
นี้ต้องเตรียมความเข้มข้นของสารละลายอย่างน้อย 5 ความเข้มข้น

Range
เป็น parameter ที่แสดงช่วงของความเข้มข้นต่ำสุดและความเข้มข้นสูงสุดที่มีการ
พิสูจน์ว่า การตรวจสอบหัวข้อ Linearity, Accuracy และ Precision อยู่ในช่วงเกณฑ์ที่ยอมรับได้

Accuracy

เป็น parameter ที่แสดงถึงความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ว่า โดยผลแต่ละครั้งที่ได้มีความใกล้เคียงกับค่าจริงหรือค่าที่ยอมรับ ค่าความเที่ยงต้องประเมินให้ครอบคลุม range โดยต้องเตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ผลที่ได้แสดงเป็นค่า %recovery

Precision

เป็น parameter ที่แสดงถึงความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ โดยผลแต่ละครั้งที่ได้มีความใกล้เคียงกันจากการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันซ้ำ ๆ หลายครั้ง การรายงานค่าการตรวจสอบ precision ใช้ค่า standard deviation (SD), relative standard deviation (RSD)

Precision แบ่งเป็น 3 หัวข้อ ได้แก่

Repeatability คือความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์เมื่อวิเคราะห์สารละลายชุดเดียวกันซ้ำ ๆ ในระยะเวลาใกล้ ๆ กัน

Intermediate precision คือความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ที่ทำซ้ำ ภายในห้องปฏิบัติการห้องเดียวกัน แต่เปลี่ยนแปลงสภาวะเล็กน้อย เช่น เปลี่ยนนักวิเคราะห์ เปลี่ยนวันวิเคราะห์ เปลี่ยนเครื่องมือวิเคราะห์ เป็นต้น

Reproducibility คือความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ที่ทำซ้ำ ในห้องปฏิบัติการที่แตกต่างกัน

Detection Limit (LOD)

เป็น parameter ที่แสดงถึงความสามารถในการวิเคราะห์สารละลายที่ทราบความเข้มข้น และมีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจพบได้ กรณีที่วิธีวิเคราะห์มีการแสดงค่า baseline noise กำหนดให้ใช้ค่า signal-to-noise ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบสัญญาณ (signal) ของสารที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดกับ signal ของสารละลายเปล่า (blank) โดยค่า LOD ที่ยอมรับได้ คือ 3 หรือ 2 ต่อ 1 ในกรณีที่ใช้ค่า SD และ slope ค่า LOD คำนวณตามสูตรดังนี้

$$LOD = 3.3\sigma/S$$

โดยที่ σ คือค่า standard deviation ของค่าสัญญาณ

S คือค่า slope ของสมการเชิงเส้นตรง

Quantitative Limit (LOQ)

เป็น parameter ที่แสดงถึงความสามารถในการวิเคราะห์สารละลายที่ทราบความเข้มข้น และมีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ กรณีที่วิธีวิเคราะห์มีการแสดงค่า baseline noise กำหนดให้ใช้ค่า signal-to-noise ซึ่งเป็น

การเปรียบเทียบสัญญาณ (signal) ของสารที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดกับ signal ของสารละลายเปล่า (blank) โดยค่า LOD ที่ยอมรับได้ คือ 10 ต่อ 1 ในกรณีที่ใช้ค่า SD และ slope ค่า LOD คำนวณตามสูตรดังนี้

$$\text{LOD} = 10\sigma/S$$

โดยที่ σ คือค่า standard deviation ของค่าสัญญาณ
 S คือค่า slope ของสมการเชิงเส้นตรง

Robustness

เป็น parameter ที่แสดงถึงความคงทนของวิธีวิเคราะห์ โดยเมื่อเปลี่ยนแปลงตัวแปรเพียงเล็กน้อยเช่น การเปลี่ยนสัดส่วน mobile phase การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ทำการวิเคราะห์ การเปลี่ยน pH ของสารละลาย เป็นต้น วิธีวิเคราะห์ก็ยังสามารถวิเคราะห์สารได้อย่างถูกต้องแม่นยำ

System suitability

การทดสอบความเหมาะสมของระบบ (system suitability) ขึ้นอยู่กับเครื่องมือวิเคราะห์ เป็นสิ่งที่ต้องทดสอบทุกครั้งก่อนทำการวิเคราะห์จริง เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีวิเคราะห์และระบบมีความเหมาะสมต่อการวิเคราะห์ สามารถแยกและทำให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำเหมือนเดิมทุกครั้ง ใน USP42-NF37 ระบุ parameter ที่ใช้ในการตรวจสอบ system suitability ได้แก่ Number of Theoretical plate (N), Resolution (R_s), Relative Standard Deviation (RSD), Retention factor (k), Symmetry factor (Tailing factor, A_s) (The United States of Pharmacopoeia, 2020; เสาวภาคย์ ธีราทรง, 2014)

Number of Theoretical plate (N) เป็น parameter ที่บ่งบอกประสิทธิภาพของคอลัมน์ ซึ่งคอลัมน์ที่ดี พีคของสารต้องแคบและแยกออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ โดยค่า N ต้องมีค่ามากกว่า 2000

Resolution เป็น parameter ที่บ่งบอกถึงความสามารถของคอลัมน์ในการแยกพีคของสาร 2 ชนิดออกจากกัน

Relative Standard Deviation (RSD) เป็น parameter ที่บ่งบอกความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน การกำหนดจำนวนเข็มของสารละลายมาตรฐานขึ้นกับค่า RSD กรณีค่า RSD มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ฉีดสารละลายมาตรฐาน 5 เข็ม กรณีค่า RSD มีค่ามากกว่า 2 ฉีดสารละลายมาตรฐาน 6 เข็ม

Retention factor (Capacity factor, k) เป็น parameter ที่บ่งบอกว่าสารถูกหน่วงอยู่ในคอลัมน์ขณะทำการแยกได้ดีแค่ไหน

Symmetry factor (Tailing factor, A_s) เป็น parameter ที่บ่งบอกถึงความสมมาตรของพีค พีคที่สมมาตรมีค่า Symmetry factor เท่ากับ 1

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยของ การณ์นภา เผือกหนู (2560) ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม flavonoids ในเพชรสังฆาต โดยใช้ quercetin, isoquercetin และ quercitrin เป็นสารเทียบด้วยเทคนิค TLC และ HPLC พบว่า องค์ประกอบทางเคมีที่พบในเพชรสังฆาตที่มีมากที่สุดได้แก่ quercitrin ซึ่งเหมาะแก่การนำไปเป็นสารเทียบ (marker) และวิธีวิเคราะห์เพชรสังฆาตด้วยวิธี HPLC ตามเกณฑ์มาตรฐาน USP37 มีความถูกต้องแม่นยำ

งานวิจัยของ Kumar และ Dhanani (2013) ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ Wedelolactone ในสารสกัดของกะเม็งโดยใช้เทคนิค HPLC โดยมี Photo Diode Array (PDA) เป็นเครื่องตรวจจับสัญญาณ (Detector) ใช้คอลัมน์ C-18 ตรวจสัญญาณที่ความยาวคลื่น 352 นาโนเมตร วิธีวิเคราะห์นี้ถูกพัฒนาขึ้นโดยอ้างอิงตามแนวทางของ the International Conference on Harmonization (ICH guidelines) พบว่า วิธีวิเคราะห์ที่ได้สามารถนำไปวิเคราะห์สารสกัดของกะเม็งได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ

งานวิจัยของ Jin, Xiong, Li, Yang, และ Li (2009) ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ สารสกัดของ โกงู้น้ำเต้าโดยใช้เทคนิค HPLC วิธีวิเคราะห์ที่ได้สามารถนำไปวิเคราะห์สารสกัดของโกงู้น้ำเต้าได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ

งานวิจัยของ Rajagopal, Vazhayil, Varghese, และ Nanjaian (2017) ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ Apigenin และ Luteolin ในสารสกัดของใบอัคคีทวารด้วยเอทานอลโดยใช้เทคนิค HPLC โดยอ้างอิงตามแนวทางของ the International Conference on Harmonization (ICH guidelines) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1) วิธีวิเคราะห์ที่ได้สามารถนำไปวิเคราะห์สารสกัดของใบอัคคีทวารได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ

ดังที่นำเสนอในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมคุณภาพในเชิงปริมาณของสมุนไพรนั้น ยังไม่มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อควบคุมคุณภาพตำรับยาผสมเพชรสังฆาต

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้
2. การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร
3. การสกัดด้วย 95% เอทานอล
4. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)
5. การตรวจสอบ chromatographic fingerprints ของสมุนไพรด้วย HPLC
6. การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่ม flavonoids
7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง | Mettler Toledo, MS-1602TS
Models, Switzerland |
| 2. เครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง | Mettler Toledo, MS Semi-Micro
Models, Switzerland |
| 3. เครื่องบดสมุนไพร (Blender) | |
| 4. เครื่อง HPLC | Waters [®] , Alliance e2695, USA |
| 5. ชุดกรอง | |
| 6. Centrifuge | Thermo Scientific, USA |
| 7. Column C18 (250 x 4.6 mm, 5 µm) | ACE [®] generix, USA |
| 8. Guard HPLC | Phenomenex, USA |
| 9. PDA Detector | Waters [®] , 2996 PDA Detector, USA |
| 10. Rotary evaporator | BUCHI, R114 A29, B-480,
Switzerland |
| 11. Syringe | SCHOTT, USA |
| 12. Syringe filter 0.45 µm | Vertical [®] , Thailand |
| 13. Ultrasonic bath | Crest Ultrasonic, USA |

14. UV-Spectrophotometer Lambda 25 Perkin Elmer, USA

สารเคมี

1. กะเม็งอบแห้ง
2. โกลูโน้เต้าอบแห้ง
3. กระจายอบแห้ง
4. เพชรสังฆาตอบแห้ง
5. อัคคีทวารอบแห้ง
6. Acetonitrile HPLC grade MACRON[®], USA
7. Aluminium chloride (AlCl₃.6H₂O) ARCROS Organics, USA
8. Ethyl alcohol AR grade lab-scan[®], Ireland
9. Methyl alcohol for LC-MS MACRON[®], USA
10. Orthophosphoric acid 85% Merck[®], USA
11. Quercetin CARLO ERBA, USA
12. Quercitrin Fluka, USA
13. Sodium acetate (CH₃COONa.3H₂O) Merck[®], USA
14. Ultra pure water Milli-Q, USA

การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างสมุนไพรอบแห้งที่ได้มาจากร้านขายสมุนไพร 5 แห่ง

ขั้นตอนการสกัดด้วย 95% เอทานอล

สำหรับตำรับยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1

1. ชั่งผงเพชรสังฆาตแห้ง 7 กรัม ผงรากอัคคีทวาร 2 กรัม ผงโกลูโน้เต้า 1 กรัมลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ตวง 95% เอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตรและเติมลงไป flask
3. นำไป sonicate นาน 1 ชั่วโมง
4. นำสารสกัดไป centrifuge นาน 10 นาที
5. กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองให้ได้สารละลายและนำกากสมุนไพรไปสกัดซ้ำด้วยเมทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 6 ครั้ง

6. นำสารละลายที่ได้จากการสกัด 6 ครั้งมารวมกันและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

7. คำนวณ %Yield จากสูตร

$$\%Yield = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดสมุนไพร}}{\text{น้ำหนักแห้งของสมุนไพร}} \times 100$$

สำหรับตำรับยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2

1. ชั่งผงเพชรสังฆาตแห้ง 5 กรัม ผงกะเม็ง 1.5 กรัม ผงโกฐน้ำเต้าและผงกระชายอย่างละ 1 กรัมลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. ตวง 95% เอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตรและเติมลงไป flask

3. นำไป sonicate นาน 1 ชั่วโมง

4. นำสารสกัดไป centrifuge นาน 10 นาที

5. กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองให้ได้สารละลายและนำกากสมุนไพรไปสกัดซ้ำด้วยเมทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 6 ครั้ง

6. นำสารละลายที่ได้จากการสกัด 6 ครั้งมารวมกันและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

7. คำนวณ %Yield จากสูตร

$$\%Yield = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดสมุนไพร}}{\text{น้ำหนักแห้งของสมุนไพร}} \times 100$$

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

การเตรียม mobile phase (acetonitrile และ 0.1% phosphoric acid)

ตวง phosphoric acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำ (ultra pure water) จนครบ 1000 มิลลิลิตร และกรอง acetonitrile และ 0.1% phosphoric acid ผ่าน nylon membrane 0.45 μm แล้วนำไป sonicate นาน 60 นาที

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ quercitrin และ quercetin ด้วยเครื่อง HPLC วิธีการทดลองดัดแปลงมาจากวิธีของ Han และคณะ (2015) และ การณินภา เพือกหนู (2560)

Stationary phase	: ACE [®] generix, C18 column (4.6 mm x 250 mm); 5 μm
Flow rate	: 1 mL/min
Injection volume	: 10 μL
Diluent	: 0.1% phosphoric acid and Acetonitrile (1:1)

Temperature	: 25 °C
Time	: 30 นาที
Mobile Phase	: (A) Acetonitrile: (B) 0.1% phosphoric acid (Gradient)

ตาราง 7 สัดส่วนของ Mobile Phase ที่เวลาต่าง ๆ

เวลา (นาที)	Acetonitrile (%)	0.1% phosphoric acid (%)
0	10	90
10	100	0
15	100	0
20	10	90
45	10	90

การเตรียม stock standard solution

ซึ่งสารมาตรฐาน quercitrin และ quercetin ปริมาณ 5 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล (ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

การเตรียม standard solution

ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 2 มิลลิลิตรลงไปใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent (ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ละลายสารสกัดสมุนไพรด้วยเมทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเจือจางและปรับปริมาตรด้วย diluent และทำการวิเคราะห์

การศึกษาหาความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (System suitability)

การหาความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์

ทำการสแกนความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์สารสกัดด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ UV Detector ในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร

จากนั้นนำ standard solution มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยมี Injection volume ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จำนวน 6 ครั้ง บันทึกค่า column efficiency (N),

symmetry factor (T), RSD และ resolution (Rs) นำค่าที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย โดยค่าที่ยอมรับได้ของ column efficiency (N) ควรมีค่ามากกว่า 2000, tailing factor (T) ควรมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 และ resolution (Rs) ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 2 ค่า RSD ของ การวิเคราะห์ 6 เข้มมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2% โดยใช้เกณฑ์จาก USP37

การศึกษาความจำเพาะของวิธี (Specificity)

นำ standard solution วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ดูค่า retention time ของสารมาตรฐานแต่ละตัวและต้องแยกจากกันได้ โดยไม่มี peak มาซ้อนทับ

การศึกษาความเป็นเส้นตรงและช่วงที่ทำการวิเคราะห์ (Linearity and Range)

เตรียมสารละลายมาตรฐานจาก stock standard solution ให้มีความเข้มข้น 4,5,6,7,8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

1. ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3. ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

4. ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 175 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

5. ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

6. วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้วิธีและสภาวะที่ผ่านการทดสอบ system suitability แล้ว

7. นำพื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ยมาสร้างสมการเส้นตรงเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นของสารละลาย

8. พิจารณาค่า correlation coefficient (r) ต้องมากกว่า 0.995

การศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy)

เตรียมสารละลายมาตรฐานจาก stock standard solution ความเข้มข้น 4.2, 5.6 และ 7.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

1. ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 105 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 4.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 140 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 5.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3. ปิเปต stock standard solution ปริมาตร 195 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 7.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

4. เตรียมสารละลายความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

5. วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้วิธีและสภาวะที่ผ่านการทดสอบ system suitability แล้ว

6. นำพื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ยแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากการวิเคราะห์

7. คำนวณหา %recovery จากสูตร

$$\%recovery = \frac{\text{ปริมาณที่วิเคราะห์ได้} \times 100}{\text{ปริมาณที่มีอยู่จริง}}$$

โดยเกณฑ์ที่ยอมรับได้อ้างอิงตาม AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals 2002 (AOAC, 2002) ดังตาราง 8

ตาราง 8 เกณฑ์การยอมรับ %recovery ในการทดสอบหิวข้อ Accuracy

Concentration	Recovery limits
100%	98 - 101%
10%	95 - 102%
1%	92 - 105%
0.1%	90 - 108%
0.01%	85 - 110%
10 µg/g (ppm)	80 - 110%
1 µg/g	75 - 120%
10 µg/kg (ppb)	70 - 125%

การศึกษาคความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

1. Repeatability precision

เตรียมสารละลายมาตรฐานจาก standard solution ความเข้มข้น 4.8, 6.2 และ 7.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

1.1 ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 120 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 4.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

1.2 ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 155 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 6.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

1.3 ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 7.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

1.4 เตรียมสารละลายความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

1.5 วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้วิธีและสภาวะที่ผ่านการทดสอบ system suitability แล้ว

1.6 นำพื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ยแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากการวิเคราะห์

1.7 คำนวณค่า %recovery พร้อมทั้งหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (RSD) โดยอ้างอิงตามเกณฑ์ของ AOAC Guidelines 2002 ดังตาราง 9

Intermediate precision

ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับ Repeatability precision เป็นเวลา 3 วันที่แตกต่างกันและคำนวณค่า %recovery พร้อมทั้งหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (RSD) โดยอ้างอิงตามเกณฑ์ของ AOAC Guidelines 2002 (AOAC, 2002) ดังตาราง 9

ตาราง 9 เกณฑ์การยอมรับ %RSD ในการทดสอบหิวข้อ Precision

Concentration	Repeatability (RSD _r)
100%	1%
10%	1.5%
1%	2%
0.1%	3%
0.01%	4%
10 µg/g (ppm)	6%
1 µg/g	8%
10 µg/kg (ppb)	15%

ความเข้มข้นต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (limit of Detection, LOD)

เตรียมสารละลายมาตรฐานจาก stock standard solution ให้มีความเข้มข้น 4,5,6,7,8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้วิธีและสภาวะที่ผ่านการทดสอบ system suitability แล้วนำพื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ยมาสร้างสมการเส้นตรงเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นของสารละลาย 3 ครั้ง นำจุดตัดแกน y มาหาค่า Standard Deviation (SD) และคำนวณค่า LOD จากสูตร $LOD = 3.3\sigma/S$ โดยค่า σ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณ และ S คือ slope ของกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (limit of Quantitation, LOQ)

เตรียมสารละลายมาตรฐานจาก stock standard solution ให้มีความเข้มข้น 4,5,6,7,8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้วิธีและสภาวะที่ผ่านการทดสอบ system suitability แล้วนำพื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ยมาสร้างสมการเส้นตรงเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นของสารละลาย 3 ครั้ง นำจุดตัดแกน y มาหาค่า Standard Deviation (SD) และคำนวณค่า LOQ จากสูตร $LOQ = 10\sigma/S$ โดยค่า σ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณ และ S คือ slope ของกราฟมาตรฐาน

การตรวจสอบ Chromatographic fingerprints ของสมุนไพรด้วย HPLC

ละลายสารสกัดสมุนไพรรพชรสังฆาต กะเม็ง โกงูน้ำเต้า กระชาย และรากอัคคีทวารด้วยเมทานอล จากนั้นนำไปเจือจางและปรับปริมาตรด้วย diluent นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC นำ chromatogram ที่ได้มาเปรียบเทียบเพื่อตรวจสอบความปนเปื้อนของสมุนไพรร

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่ม flavonoids

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative analysis)

ตรวจสอบค่า retention time ของ quercitrin ที่มีในสารสกัดพชรสังฆาต กะเม็ง โกงูน้ำเต้า กระชาย และรากอัคคีทวาร

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis)

วิเคราะห์ปริมาณสาร quercitrin ที่มีในสารสกัดพชรสังฆาต กะเม็ง โกงูน้ำเต้า กระชาย และรากอัคคีทวารที่ทำการเจือจางและปรับปริมาตรด้วย diluent ด้วยเครื่อง HPLC และคำนวณหาปริมาณสารสำคัญกลุ่ม flavonoids ในสมุนไพรรจากแหล่งต่าง ๆ โดยใช้พื้นที่ใต้พีค (peak area) ในการคำนวณแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นและปริมาณของสารสำคัญ

การวิเคราะห์หาปริมาณ Total flavonoids

การวิเคราะห์หาปริมาณ Total flavonoids ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric assay ดัดแปลงจากวิธีของ Vijayalakshmi และคณะ (2013) และ Chang, Yang, Wen, และ Chern (2002) โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน ดังนี้

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน quercetin ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ชั่งสารมาตรฐาน 20 มิลลิกรัมลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล จากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเตรียมที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรดังนี้

1. ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
2. ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
3. ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
4. ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
5. ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย diluent ได้สารละลายความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
6. ทำการทดสอบด้วยวิธีทดสอบด้านล่าง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาสร้างสมการเส้นตรงเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่และความเข้มข้นของสารละลาย

การเตรียมสารละลาย 10% Aluminium chloride

ชั่ง Aluminium chloride.6H₂O ปริมาณ 18.10 กรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำ

การเตรียมสารละลาย 1M Sodium acetate

ชั่ง Sodium acetate.3H₂O ปริมาณ 13.61 กรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำ

วิธีทดสอบ

ผสมสารละลาย 10% Aluminium และ 1M Sodium acetate ปริมาตรอย่างละ 10 ไมโครลิตรกับสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยมี Blank เป็นตัวควบคุม จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาแทนค่าในสมการเพื่อหาค่า total flavonoids content ซึ่งแสดงเป็นค่า mg of quercetin equivalents (QE) per g of extract (mg QE/g extract)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลอง โดยทำการวิเคราะห์ห้อย่างน้อย 3 ครั้ง วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณ marker และ total flavonoids ของยาผสมเพชรสังฆาต 2 ตำรับ และความแตกต่างของปริมาณ total flavonoids ของแต่ละตำรับจำนวน 5 ร้านขายสมุนไพร แสดงข้อมูลในรูปแบบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean \pm SD) โดยใช้สถิติ One-way ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS



บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย

ลักษณะของตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างสมุนไพรอบแห้งมาจากร้านสมุนไพร 5 แห่ง ดังภาพประกอบ 19-23

การเตรียมตัวอย่าง

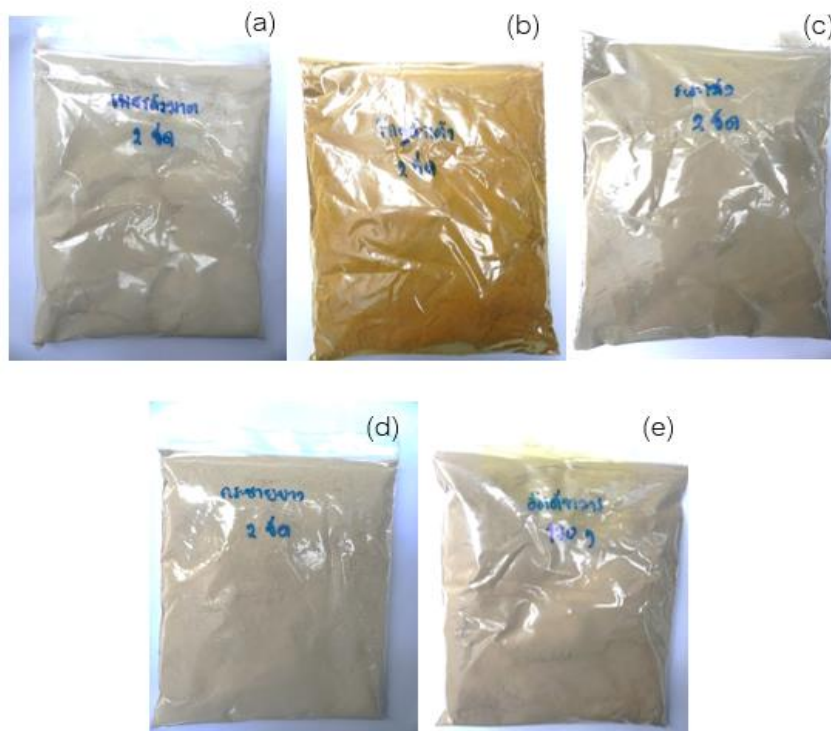
นำสมุนไพรอบแห้งมาผสมเป็นสัดส่วนต่าง ๆ ตามตำรับ จากนั้นนำไปบดเป็นผง เก็บผงสมุนไพรในขวด ปิดฉลาก เก็บในที่แห้ง



ภาพประกอบ 19 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a)เพชรสังฆาต (b)โกฐน้ำเต้า (c)กะเม็ง (d)กระชาย (e)อัคคีทวาร จากร้าน ก.



ภาพประกอบ 20 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a) เพชรสังฆาต (b) โกงฐน้ำเต้า (c) กะเม็ง (d) กระจाय (e) อัดคืทวาร จากร้าน ข.



ภาพประกอบ 21 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a) เพชรสังฆาต (b) โกงฐน้ำเต้า (c) กะเม็ง (d) กระจाय (e) อัดคืทวาร จากร้าน ค.



ภาพประกอบ 22 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a)เพชรสังฆาต (b)โกฐน้ำเต้า (c)กะเม็ง (d)กระชาย (e)อัคคีทวาร จากร้าน ง.



ภาพประกอบ 23 แสดงตัวอย่างสมุนไพร ได้แก่ (a)เพชรสังฆาต (b)โกฐน้ำเต้า (c)กะเม็ง (d)กระชาย (e)อัคคีทวาร จากร้าน จ.

ค่าร้อยละปริมาณของสารสกัดสมุนไพร (%yield)

ผลการสกัดสมุนไพรยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ก. มี %yield มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 15.25 ± 1.93 ในขณะที่สมุนไพรยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน จ. มี %yield น้อยที่สุด คิดเป็นร้อยละ 9.47 ± 0.41 ดังตาราง 10 ส่วนสารสกัดสมุนไพรยามสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ค. มี %yield มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 15.93 ± 3.94 ในขณะที่สมุนไพรยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ง. มี %yield น้อยที่สุด คิดเป็นร้อยละ 12.34 ± 1.90 ดังตาราง 11

ตาราง 10 แสดงร้อยละปริมาณของสารสกัดยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1

ร้านขายสมุนไพร	ยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1		
	น้ำหนักสมุนไพร (กรัม)	น้ำหนักสาร (กรัม)	%yield
ร้าน ก.	10.03 ± 0.01	1.53 ± 0.19	15.25 ± 1.93
ร้าน ข.	10.05 ± 0.04	1.21 ± 0.16	12.00 ± 1.53
ร้าน ค.	10.03 ± 0.02	1.33 ± 0.19	13.30 ± 1.93
ร้าน ง.	10.05 ± 0.00	0.97 ± 0.07	9.65 ± 0.70
ร้าน จ.	10.06 ± 0.04	0.95 ± 0.04	9.47 ± 0.41

ตาราง 11 แสดงร้อยละปริมาณของสารสกัดยามสมเพชรสังฆาตสูตร 2

ร้านขายสมุนไพร	ยามสมเพชรสังฆาตสูตร 2		
	น้ำหนักสมุนไพร (กรัม)	น้ำหนักสาร (กรัม)	%yield
ร้าน ก.	8.53 ± 0.01	1.09 ± 0.12	12.77 ± 1.35
ร้าน ข.	8.55 ± 0.02	1.12 ± 0.28	13.13 ± 3.28
ร้าน ค.	8.57 ± 0.05	1.36 ± 0.33	15.93 ± 3.94
ร้าน ง.	8.56 ± 0.00	1.06 ± 0.16	12.34 ± 1.90
ร้าน จ.	8.57 ± 0.01	1.08 ± 0.04	12.64 ± 0.47

สภาวะที่เหมาะสมของของเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร quercitrin และ quercetin ด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์สารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีวิเคราะห์ข้างต้น พบว่า สามารถแยก quercitrin และ quercetin ออกจากกันได้ มีค่า retention time ประมาณ 6.75 และ 8.09 นาทีตามลำดับ มีค่า resolution เท่ากับ 11.7 นอกจากนี้ไม่มีผลรบกวนของสาร ethanol ดังภาพประกอบ

ความเหมาะสมของระบบวิธีวิเคราะห์ (System suitability)

การนำ standard solution มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC สแกนความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์สารสกัดด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ UV Detector ในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร จากนั้นวิเคราะห์ system suitability โดย Injection volume ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จำนวน 6 ครั้ง บันทึกค่า column efficiency (N), symmetry factor (T), RSD และ resolution (Rs) นำค่าที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย โดยค่าที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์จาก USP37 ได้แก่ column efficiency (N) > 2000, tailing factor (T) ≤ 2 และ resolution (Rs) ≥ 2 ค่า RSD ของ การวิเคราะห์ 6 เข็มมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2% ดังตาราง 12

ตาราง 12 แสดง parameter ที่ทดสอบความเหมาะสมของระบบวิธีวิเคราะห์

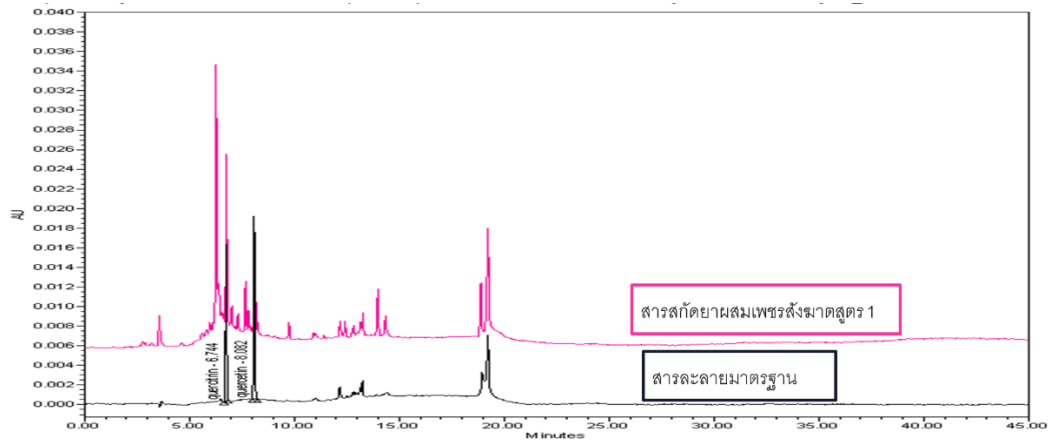
Parameters	Quercitrin (±RSD)	Quercetin (±RSD)
Peak area	55967.7 ± 0.9	57522.3 ± 1.1
Retention time (Rs)	6.71 ± 0.05	8.06 ± 0.06
Symmetry factor	1.2	1.1
Column efficiency (N)	65072.7 ± 1.1	78164.3 ± 1.0
Resolution (Rs)	-	12.1
RSD	0.9	1.1

ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

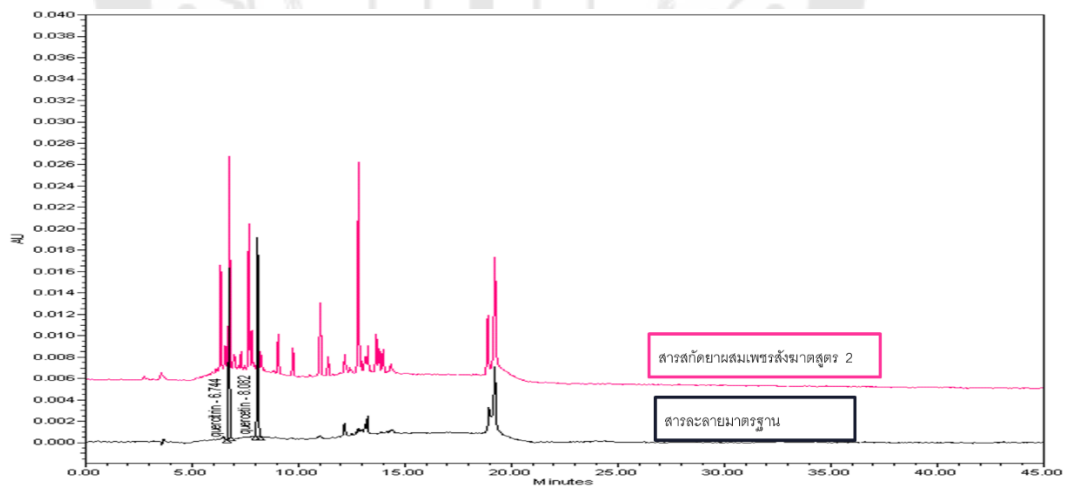
1. ความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Specificity)

เป็นการทดสอบความจำเพาะของวิธี โดยนำ retention time ของสารละลายมาตรฐานเปรียบเทียบกับสารสกัดตัวอย่างสมุนไพร โดยวิธีวิเคราะห์ต้องสามารถแยกพีค (peak) ของสารมาตรฐานออกจากกันได้ โดยไม่มีพีคอื่นมาซ้อนทับ ดังภาพประกอบ 24 และ 25

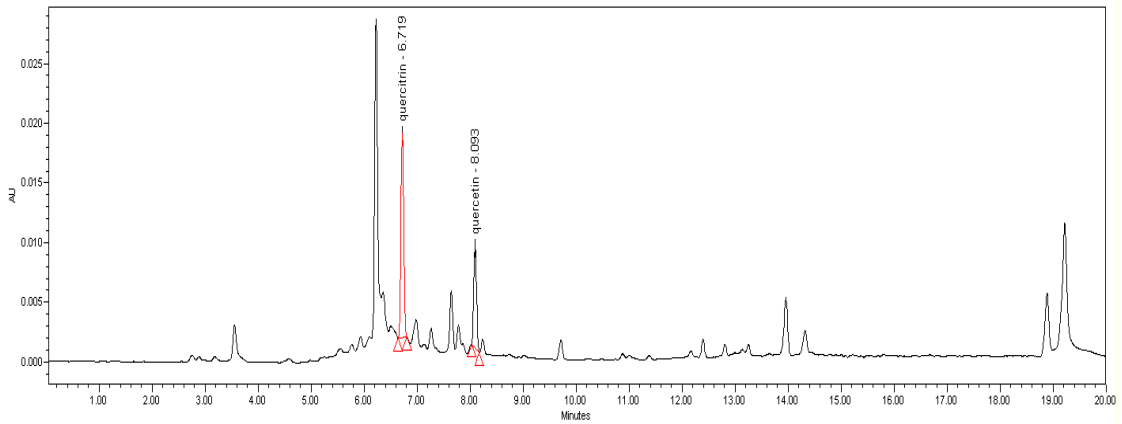
Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 ดังภาพประกอบ 26-30 และ Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 ดังภาพประกอบ 31-35 จากนั้นนำมาเปรียบเทียบกับสารสกัดจากสมุนไพรต่าง ๆ ดังตาราง 13



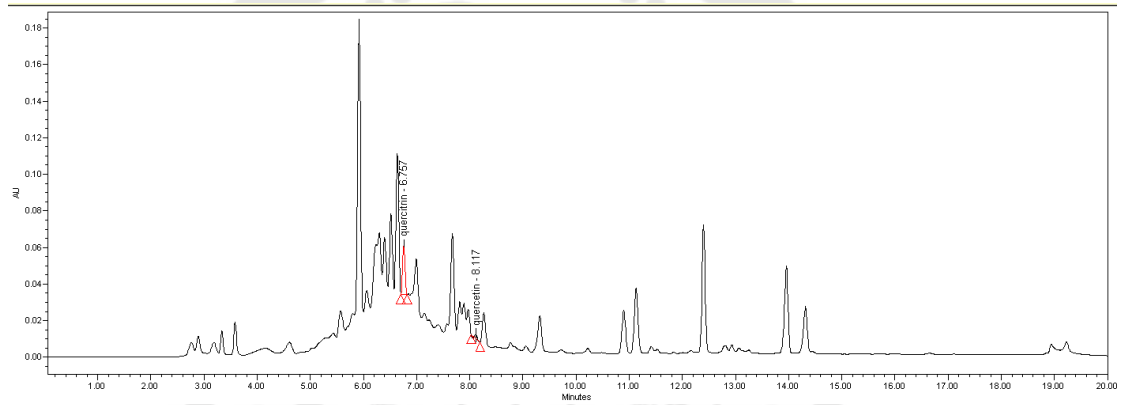
ภาพประกอบ 24 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน (สีดำ) และสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 (สีชมพู)



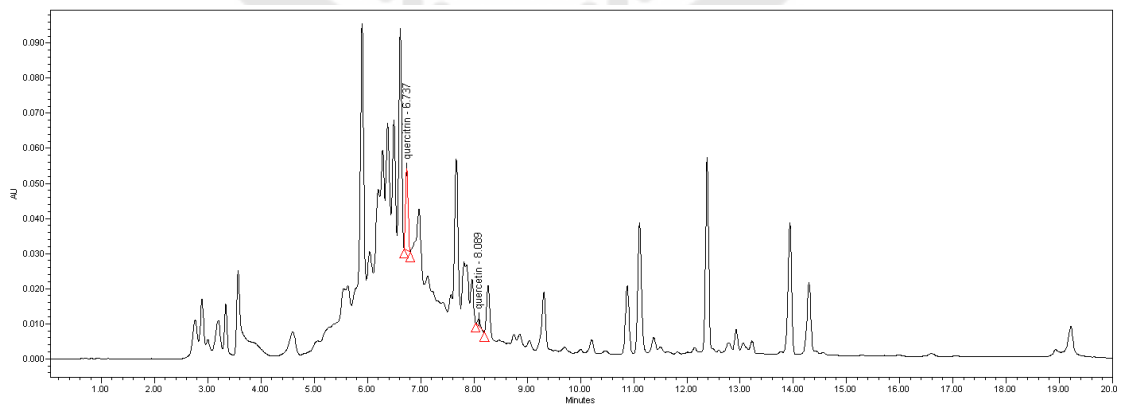
ภาพประกอบ 25 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน (สีดำ) และสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 (สีชมพู)



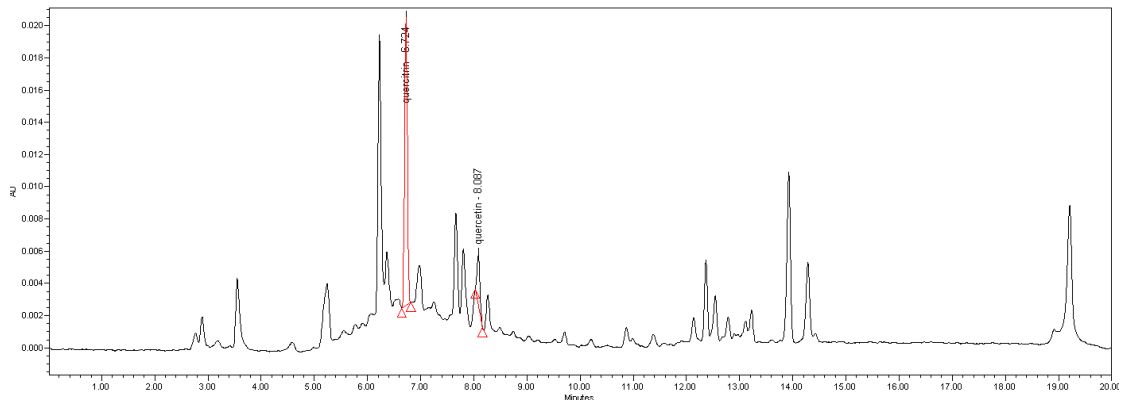
ภาพประกอบ 26 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ก.



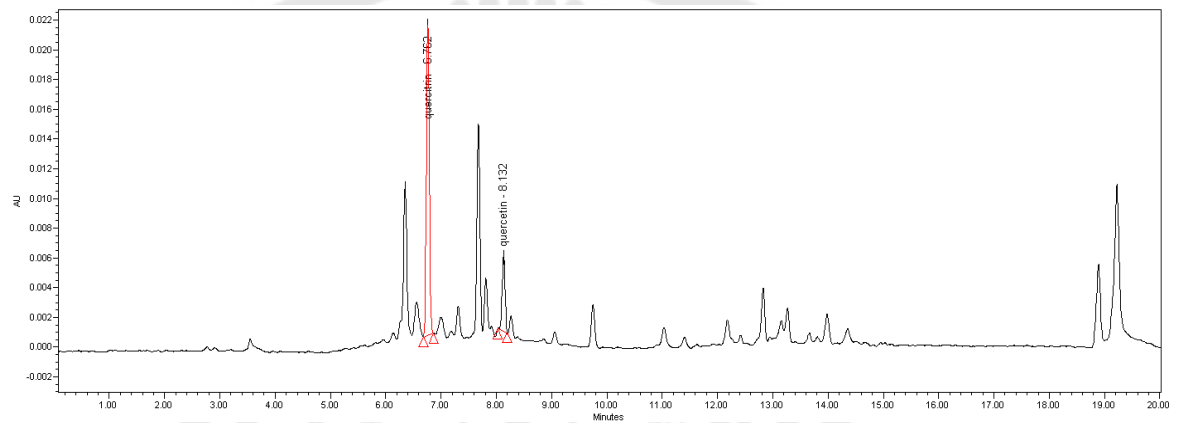
ภาพประกอบ 27 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ข.



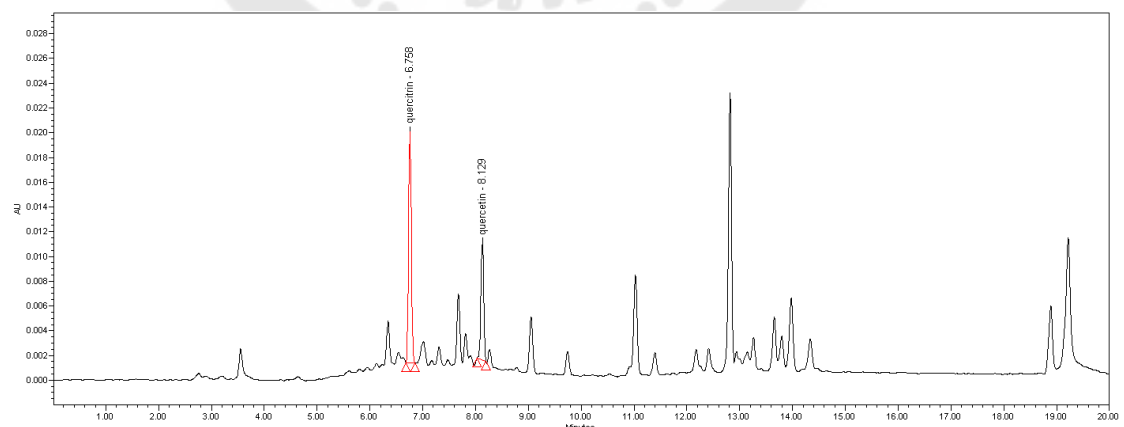
ภาพประกอบ 28 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ค.



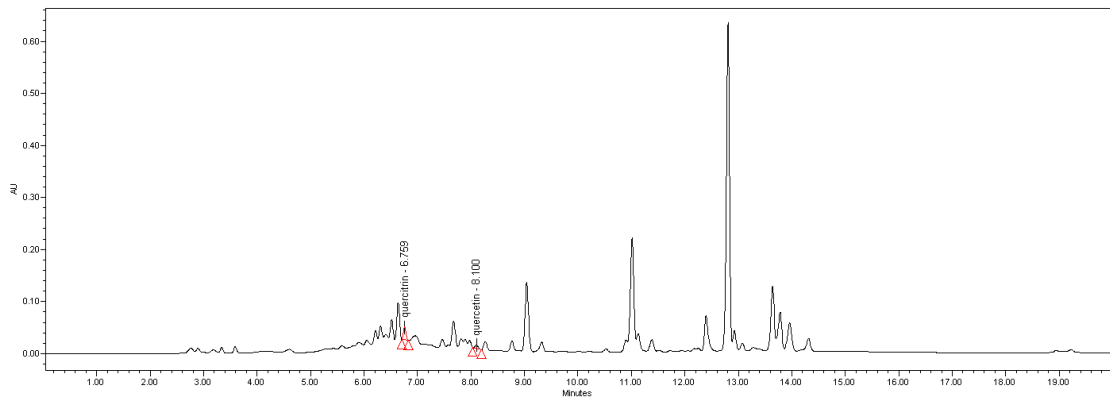
ภาพประกอบ 29 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ก.



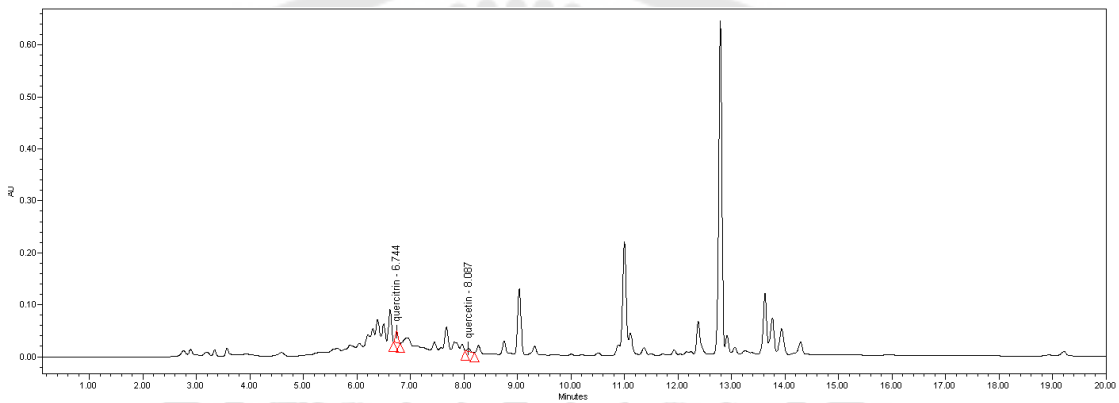
ภาพประกอบ 30 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน จ.



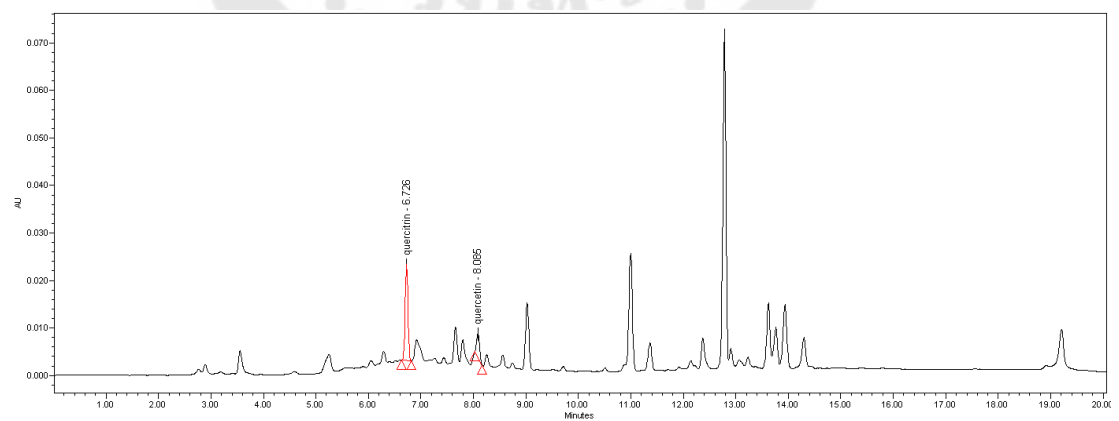
ภาพประกอบ 31 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยามสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ก.



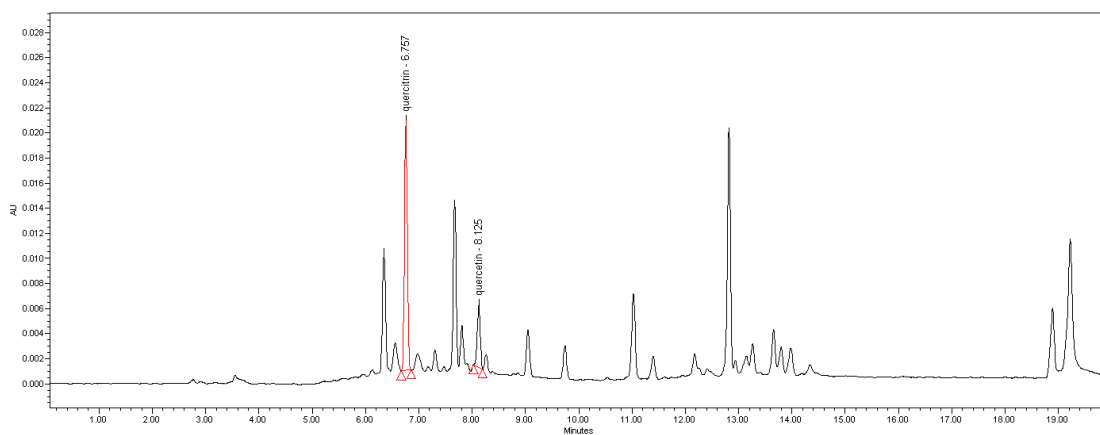
ภาพประกอบ 32 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยามสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ข.



ภาพประกอบ 33 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยามสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ค.



ภาพประกอบ 34 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยามสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ง.



ภาพประกอบ 35 แสดง Chromatogram ของสารสกัดยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน จ.

ตาราง 13 แสดงระยะเวลาของสารต่าง ๆ ในสารสกัดสมุนไพร

ร้านขายสมุนไพร	สมุนไพร	Retention time (minutes)	
		Quercitrin	Quercetin
สารมาตรฐาน		6.744	8.082
ร้าน ก.	เพชรสังฆาต	6.745	8.100
	โกฐน้ำเต้า	6.752	8.112
	กะเม็ง	6.682	8.086
	กระชาย	6.751	8.111
	รากอัคคีทวาร	N/A	N/A
	ร้าน ข.	เพชรสังฆาต	6.738
	โกฐน้ำเต้า	6.769	8.127
	กะเม็ง	6.748	8.093
	กระชาย	N/A	N/A
	รากอัคคีทวาร	N/A	N/A

ตาราง 13 (ต่อ)

ร้านขายสมุนไพร	สมุนไพร	Retention time (minutes)	
		Quercitrin	Quercetin
ร้าน ค.	เพชรสังฆาต	6.751	8.087
	โกฐน้ำเต้า	6.757	8.112
	กะเม็ง	6.757	8.074
	กระชาย	N/A	N/A
	รากอัคคีทวาร	N/A	N/A
ร้าน ง.	เพชรสังฆาต	6.742	8.085
	โกฐน้ำเต้า	6.756	8.126
	กะเม็ง	6.678	8.082
	กระชาย	6.745	N/A
	รากอัคคีทวาร	N/A	N/A
ร้าน จ.	เพชรสังฆาต	6.748	8.094
	โกฐน้ำเต้า	6.750	8.110
	กะเม็ง	6.757	8.074
	กระชาย	N/A	N/A
	รากอัคคีทวาร	6.731	N/A

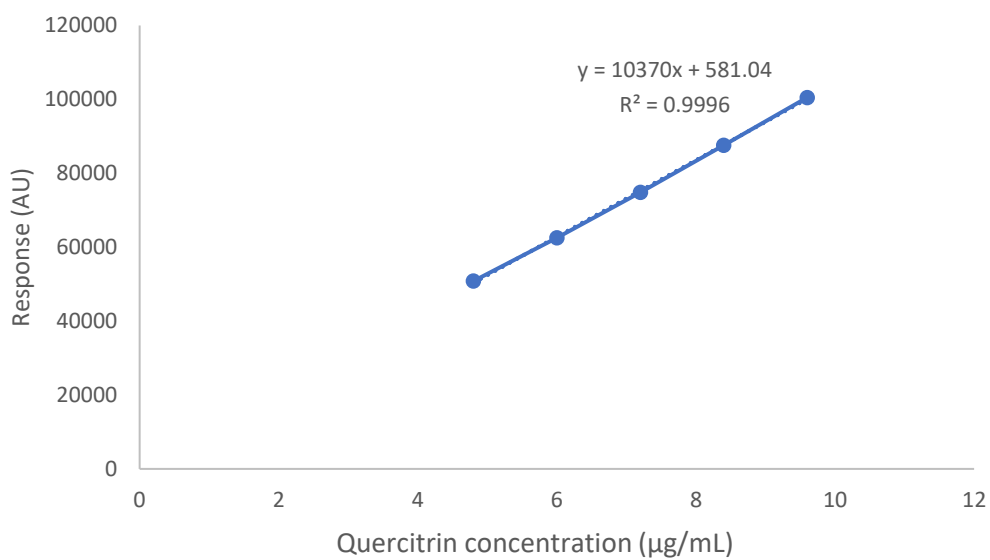
หมายเหตุ N/A (not available) หมายถึง ไม่พบสารสำคัญ

จากตารางที่ 13 จะเห็นว่าไม่พบสาร quercitrin และ quercetin ในกระชายจากร้าน ข. ค. และ จ. นอกจากนี้ยังไม่พบสารสำคัญในอัคคีทวารจากร้าน ก. ข. ค. และ ง. มีสมุนไพรบางชนิดที่พบสารสำคัญเพียงตัวเดียว ได้แก่ เพชรสังฆาตจากร้าน ข. กระชายจากร้าน ง. และอัคคีทวารจากร้าน จ. พบ quercitrin เพียงสารเดียว

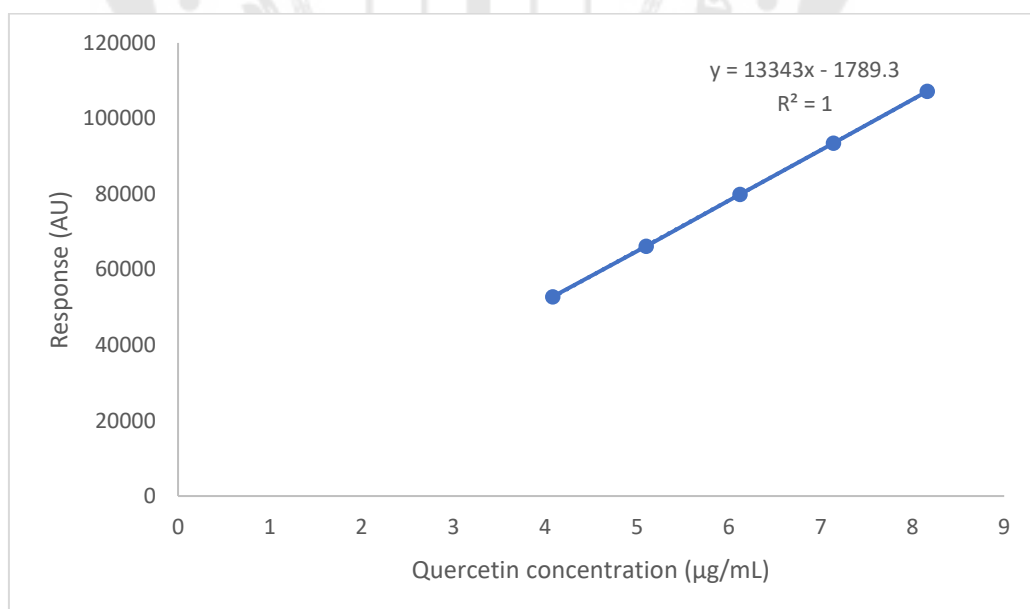
2. ความเป็นเส้นตรงและช่วงที่ทำกรวิเคราะห์ (Range and Linearity)

การวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน quercitrin และ quercetin เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) พบว่า สมการของแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของ quercitrin คือ $y = 10370x + 581.04$ ส่วนสมการแสดงความสัมพันธ์ของ quercetin

คือ $y = 13343x - 1789.3$ โดยมีค่า coefficient of determination (R^2) ได้แก่ 0.9996 และ 1 ตามลำดับ ดังภาพประกอบ 36-37 และตาราง 14



ภาพประกอบ 36 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของ quercitrin



ภาพประกอบ 37 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของ quercetin

ตาราง 14 แสดงสมการเชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานและ coefficient of determination (R^2)

สารมาตรฐาน	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	สมการ	R^2
quercitrin	4.8 – 9.6	$y = 10370x + 581.04$	0.9996
quercetin	4.08 – 8.16	$y = 13343x - 1789.3$	1

3. ความถูกต้อง (Accuracy)

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐาน quercitrin ความเข้มข้น 5.28, 6.72 และ 9.36 $\mu\text{g/mL}$ และ quercetin ความเข้มข้น 4.49, 5.71 และ 7.96 $\mu\text{g/mL}$ วิเคราะห์ที่ 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ พบว่ามีค่า %recovery ของ quercitrin อยู่ในช่วง 99.95 – 102.76% และ quercetin อยู่ในช่วง 100.77 – 101.63% ซึ่งเกณฑ์ของ AOAC ระบุว่าควรอยู่ในช่วง 80-110% ดังนั้นสารทั้ง 2 ชนิดมีค่า %recovery อยู่ในเกณฑ์ที่ระบุไว้ ดังตาราง 15

ตาราง 15 ผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

สาร	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	ร้อยละการคืนกลับ (%recovery)				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย (\pm SD)	%RSD
quercitrin	5.28	102.43	102.20	102.66	102.43 \pm 0.23	0.23
	6.72	99.27	100.24	100.34	99.95 \pm 0.59	0.59
	9.36	102.19	103.39	102.71	102.76 \pm 0.60	0.58
quercetin	4.49	102.01	100.41	101.53	101.32 \pm 0.82	0.81
	5.71	99.39	101.82	101.09	100.77 \pm 1.25	1.24
	7.96	100.94	101.29	102.67	101.63 \pm 0.92	0.90

4. ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Intra day และ Inter day Precision)

การทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐาน quercitrin ความเข้มข้น 5.76, 7.44 และ 8.64 $\mu\text{g/mL}$ และ quercetin ความเข้มข้น 4.90, 6.32 และ 7.34 $\mu\text{g/mL}$ วิเคราะห์ที่ 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เป็นเวลา 3 วัน ผลการทดสอบความแม่นยำ Intra day precision พบว่า สาร quercitrin มีค่า RSD อยู่ในช่วง 0.43 – 1.80 ส่วนสาร quercetin มีค่า RSD อยู่ในช่วง 0.56 – 1.69 ดังตาราง 16 ส่วนผลการทดสอบความแม่นยำ Inter day precision พบว่า ผลการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ของสาร quercitrin มีค่า RSD อยู่ในช่วง 0.17 – 1.43 ส่วนสาร quercetin มีค่า RSD อยู่ในช่วง 0.21 – 1.78 ตามเกณฑ์ของ AOAC ระบุว่าค่า RSD มีค่าน้อยกว่า 2% ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดมีค่า RSD อยู่ในเกณฑ์ที่ระบุ ดังตาราง 17

ตาราง 16 ผลการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Intra day precision)

สาร	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	ร้อยละการคืนกลับ (%recovery)			ค่าเฉลี่ย ($\pm\text{SD}$)	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
quercitrin	5.76	103.85	107.49	106.68	106.01 \pm 1.91	1.80
	7.44	99.85	102.70	101.32	101.29 \pm 1.43	1.41
	8.64	103.06	102.21	102.48	102.58 \pm 0.44	0.43
quercetin	4.90	102.14	105.44	102.78	103.45 \pm 1.75	1.69
	6.32	98.54	100.98	100.44	99.99 \pm 1.28	1.28
	7.34	100.42	101.07	99.94	100.48 \pm 0.57	0.56

ตาราง 17 ผลการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Inter day precision)

สาร	ความเข้มข้น (µg/mL)	ร้อยละการคืนกลับ (%recovery)			ค่าเฉลี่ย (±SD)	%RSD
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3		
quercitrin	5.76	103.98	106.91	105.88	105.59 ± 1.49	1.41
	7.44	100.65	103.56	102.03	102.08 ± 1.46	1.43
	8.64	102.46	102.14	102.45	102.35 ± 0.18	0.17
quercetin	4.90	102.38	105.58	102.43	103.46 ± 1.84	1.78
	6.32	101.14	100.89	100.72	100.92 ± 0.21	0.21
	7.34	100.66	101.29	99.90	100.62 ± 0.70	0.69

5. ความเข้มข้นต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (limit of Detection, LOD)

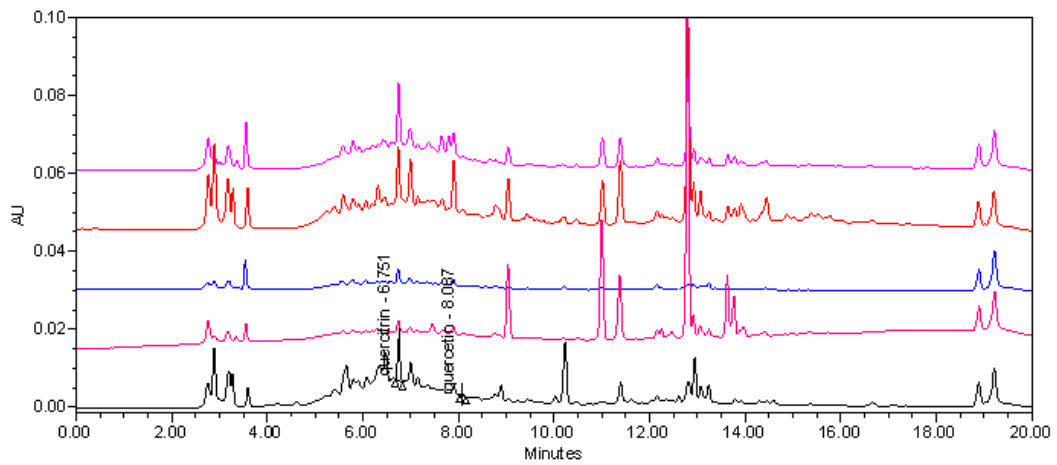
ความเข้มข้นต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (LOD) สามารถหาได้จากการแทนค่าในสูตร $LOD = 3.3\sigma/S$ โดย σ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจุดตัดแกน y และ S คือ slope ของกราฟมาตรฐาน ค่า LOD ของ quercitrin มีค่าเท่ากับ 0.3 µg/mL และค่า LOD ของ quercetin มีค่าเท่ากับ 0.5 µg/mL

6. ความเข้มข้นต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (limit of Quantitation, LOQ)

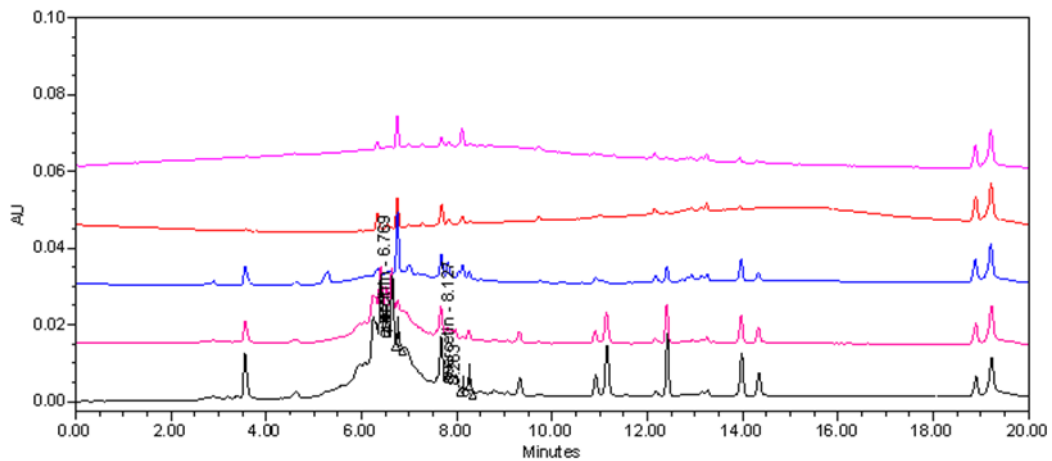
ความเข้มข้นต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) สามารถหาได้จากการแทนค่าในสูตร $LOQ = 10\sigma/S$ โดย σ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของของจุดตัดแกน y และ S คือ slope ของกราฟมาตรฐาน ค่า LOQ ของ quercitrin มีค่าเท่ากับ 0.8 µg/mL และค่า LOQ ของ quercetin มีค่าเท่ากับ 1.4 µg/mL

ผลการตรวจสอบ Chromatographic fingerprint ของสมุนไพร

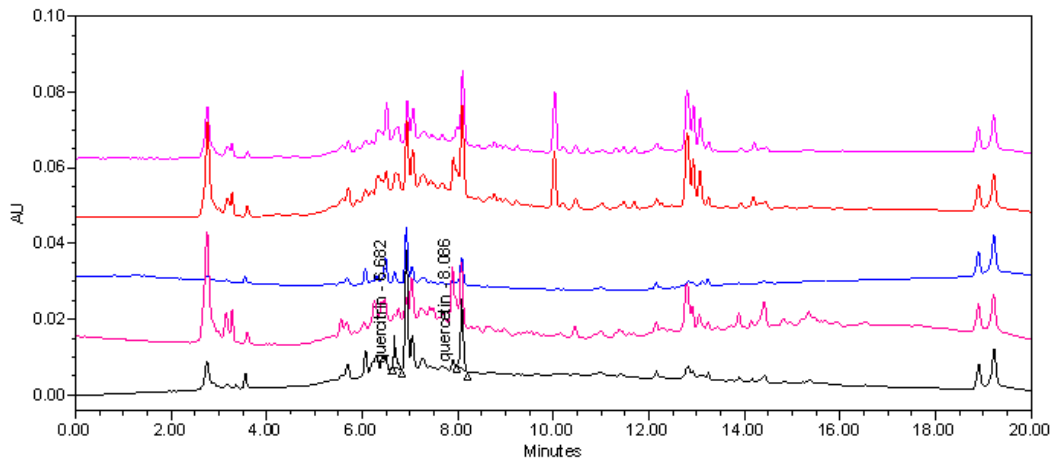
จากผลการตรวจสอบ fingerprint ของสมุนไพรต่าง ๆ ในสูตรตำรับพบว่า Chromatogram ของสมุนไพรชนิดเดียวกันแต่ละร้าน มีความแตกต่างกันเล็กน้อย สังเกตได้ว่าพบสาร quercitrin และ quercetin ได้ในเพชรสังฆาตและโกฐน้ำเต้าและกะเม็ง ไม่พบสาร quercitrin และ quercetin ในกระชายและอัคคีทวารดังภาพประกอบ 27-31



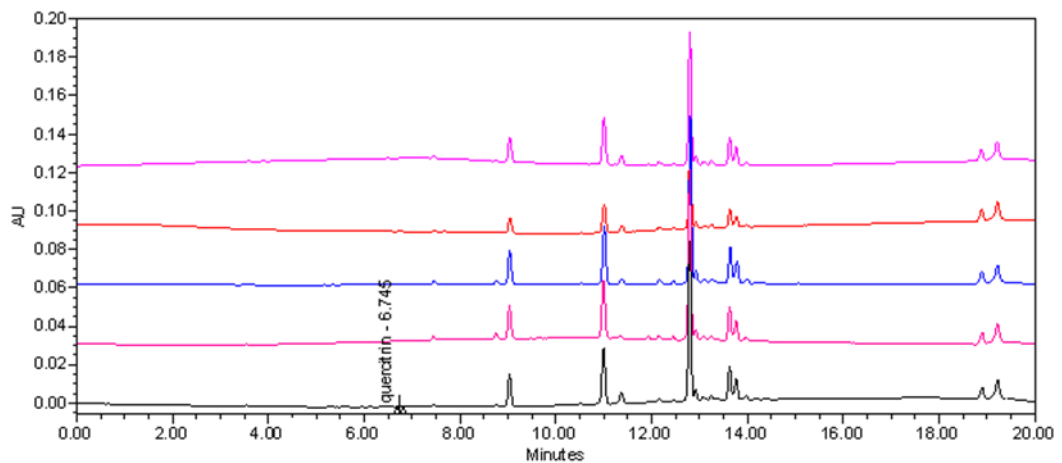
ภาพประกอบ 38 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากเพชรสังฆาต
(จากบนลงล่าง) จากร้าน จ. ง. ข. ก. และ ค. ตามลำดับ



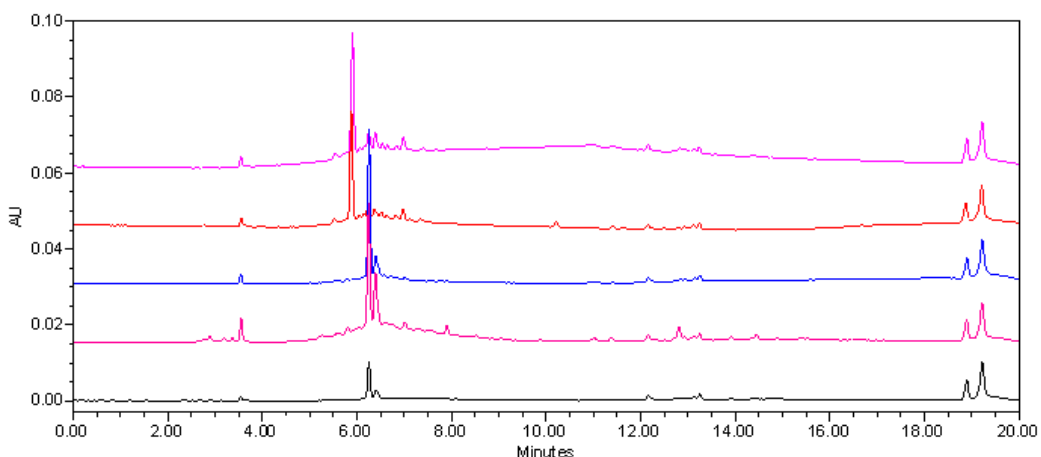
ภาพประกอบ 39 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากโกฐน้ำเต้า
(จากบนลงล่าง) จากร้าน จ. ก. ง. ค. และ ข. ตามลำดับ



ภาพประกอบ 40 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากกะเม็ง (จาก
บนลงล่าง) จากร้าน ค. ข. ง. จ. และ ก. ตามลำดับ



ภาพประกอบ 41 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากกระชาย (จาก
บนลงล่าง) จากร้าน จ. ก. ข. ค. และ ง. ตามลำดับ



ภาพประกอบ 42 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานและสารสกัดจากอค์คีทวาร (จากบนลงล่าง) จากร้าน ข. ค. จ. ก. และ ง. ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาต

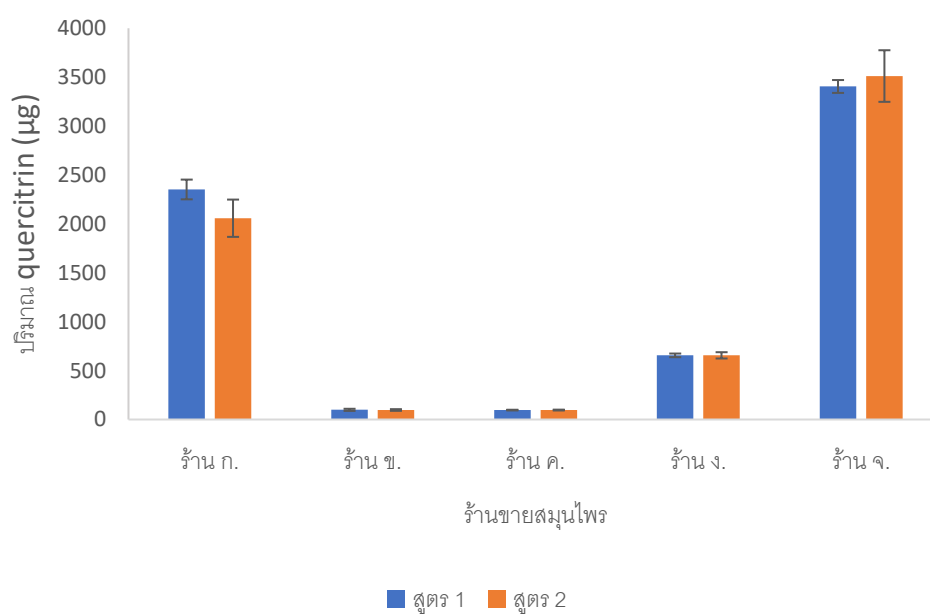
จากผลการหาปริมาณ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 พบว่า ยาผสมเพชรสังฆาตจากร้าน จ. มีปริมาณ quercitrin สูงที่สุด ได้แก่ 3404.93 ± 65.72 μg รองลงมาคือตำรับจากร้าน ก. ง. และ ข. มีปริมาณ quercitrin 2351.73 ± 100.96 , 655.77 ± 18.79 และ 98.68 ± 10.95 μg ตามลำดับ ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตจากร้าน ค. มีปริมาณ quercitrin น้อยที่สุด ได้แก่ 96.09 ± 3.77 μg

ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน จ. มีปริมาณ quercitrin สูงที่สุด ได้แก่ 3511.54 ± 263.74 μg รองลงมาคือตำรับจากร้าน ก. ง. และ ข. มีปริมาณ quercitrin 2057.67 ± 190.67 , 655.88 ± 32.27 และ 97.11 ± 8.63 μg ตามลำดับ ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ค. มีปริมาณ quercitrin น้อยที่สุด ได้แก่ 96.48 ± 4.43 μg ดังตาราง 18 และภาพประกอบ 43

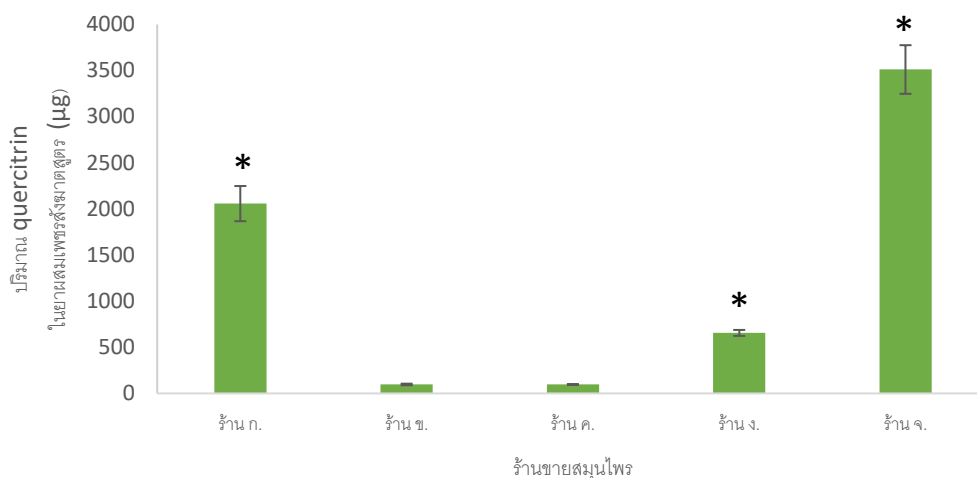
เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณ quercitrin ด้วยสถิติ one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า ค่า P-value เท่ากับ 0.941 ถือว่าปริมาณ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรไม่แตกต่างกัน และเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณ quercitrin จากร้านต่าง ๆ พบว่า ยาผสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรจากร้าน ก. ง. และจ. มีปริมาณ quercitrin แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพประกอบ 44 และ 45

ตาราง 18 แสดงผลการหาปริมาณ quercitrin จากยาผสมเพชรสังฆาต

	ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 (μg)	ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 (μg)
ร้าน ก.	2351.73 \pm 100.96	2057.67 \pm 190.67
ร้าน ข.	98.68 \pm 10.95	97.11 \pm 8.63
ร้าน ค.	96.09 \pm 3.77	96.48 \pm 4.43
ร้าน ง.	655.77 \pm 18.79	655.88 \pm 32.27
ร้าน จ.	3404.93 \pm 65.72	3511.54 \pm 263.74



ภาพประกอบ 43 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 จากร้านขายสมุนไพรต่าง ๆ



หมายเหตุ * หมายถึง ตำรับยาสมุนไพรจากร้านมีปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพประกอบ 44 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้านต่าง ๆ

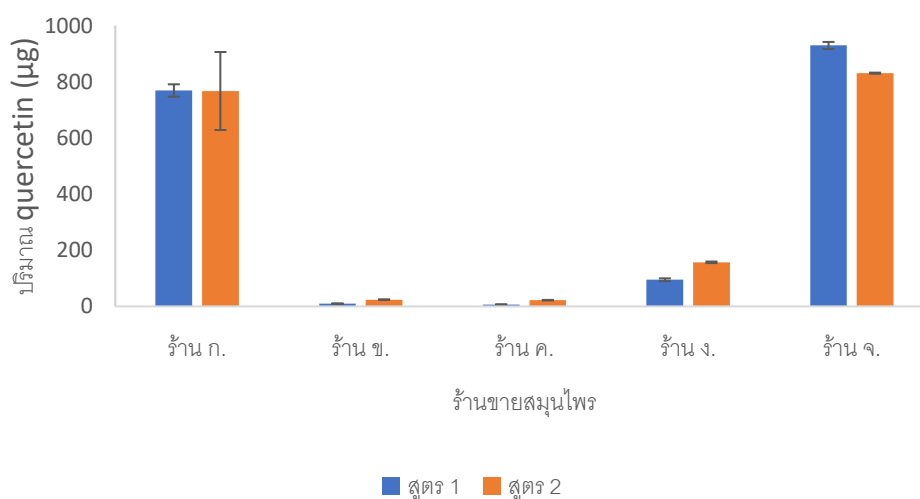
จากผลการหาปริมาณ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 พบว่า ยาผสมเพชรสังฆาตจากร้าน ก. มีปริมาณ quercetin สูงที่สุด ได้แก่ 929.24 ± 12.61 µg รองลงมาคือตำรับจากร้าน จ. ง. และ ข. มีปริมาณ quercetin 768.76 ± 22.15 , 94.79 ± 5.06 และ 9.68 ± 0.62 µg ตามลำดับ ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตจากร้าน ค. มีปริมาณ quercetin น้อยที่สุด ได้แก่ 6.35 ± 0.22 µg

ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน จ. มีปริมาณ quercetin สูงที่สุด ได้แก่ 830.56 ± 1.98 µg รองลงมาคือตำรับจากร้าน ก. ง. และ ข. มีปริมาณ quercetin 767.02 ± 138.92 , 156.99 ± 2.76 และ 23.93 ± 1.31 µg ตามลำดับส่วนยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ค. มีปริมาณ quercetin น้อยที่สุด ได้แก่ 22.05 ± 1.02 µg ดังตาราง 19 และภาพประกอบ 44

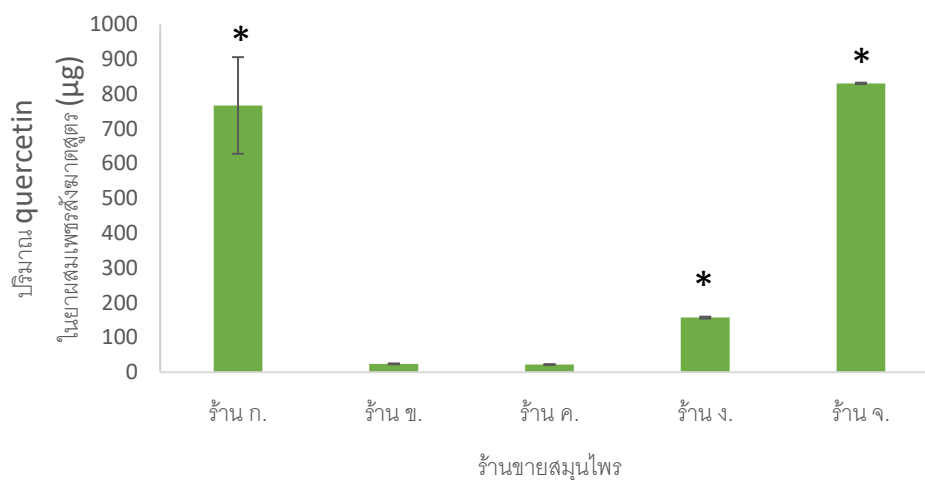
เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณ quercetin ด้วยสถิติ one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า ค่า P-value เท่ากับ 0.991 ถือว่าปริมาณ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรไม่แตกต่างกัน และเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณ quercetin จากร้านต่าง ๆ พบว่า ยาผสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรจากร้าน ก. ง. และจ. มีปริมาณ quercitrin แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพประกอบ 47 และ 48

ตาราง 19 แสดงผลการหาปริมาณ quercetin จากยาผสมเพชรสังฆาต

	ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 (μg)	ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 (μg)
ร้าน ก.	929.24 \pm 12.61	767.02 \pm 138.92
ร้าน ข.	9.68 \pm 0.62	23.93 \pm 1.31
ร้าน ค.	6.35 \pm 0.22	22.05 \pm 1.02
ร้าน ง.	94.79 \pm 5.06	156.99 \pm 2.76
ร้าน จ.	768.76 \pm 22.15	830.56 \pm 1.98



ภาพประกอบ 45 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 จากร้านขายสมุนไพรต่าง ๆ



หมายเหตุ * หมายถึง ตำรับยาสมุนไพรจากร้านมีปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพประกอบ 46 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้านต่าง ๆ

จากผลการหาปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 พบว่า ตำรับยาจากร้าน จ. มีปริมาณรวมสูงที่สุด ได้แก่ 4173.69 ± 68.48 µg รองลงมาคือตำรับจากร้าน ก. ง. และ ข. มีปริมาณรวม quercitrin และ quercetin 3280.97 ± 95.92 , 750.55 ± 23.80 และ 108.36 ± 11.55 µg ตามลำดับ ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตจากร้าน ค. มีปริมาณรวม quercitrin และ quercetin น้อยที่สุด ได้แก่ 102.44 ± 3.96 µg

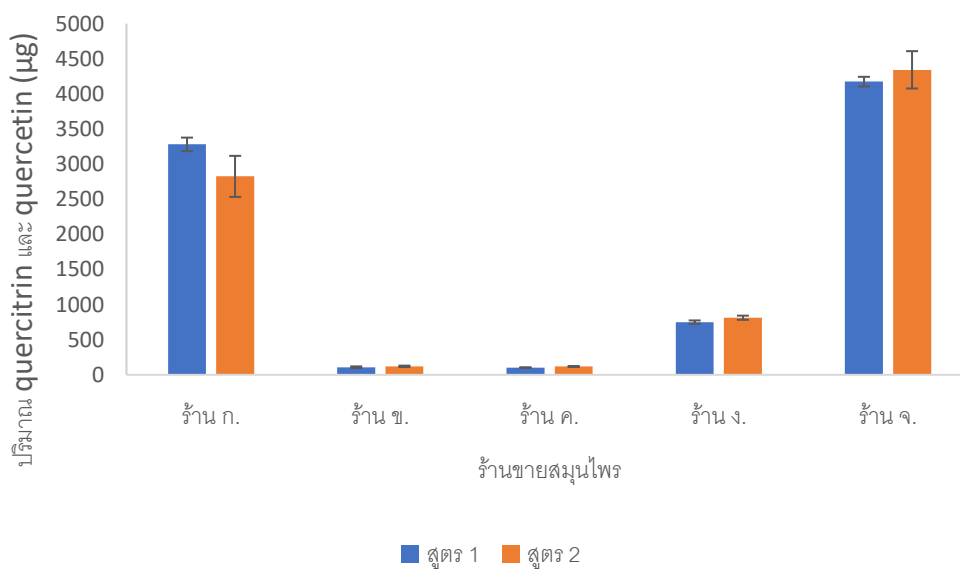
ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน จ. มีปริมาณรวมสูงที่สุด ได้แก่ 4342.10 ± 265.72 µg รองลงมาคือตำรับจากร้าน ก. ง. และ ข. มีปริมาณรวม quercitrin และ quercetin 2824.69 ± 292.30 , 812.87 ± 29.87 และ 121.04 ± 9.94 µg ตามลำดับ ส่วนตำรับยาจากร้าน ค. มีปริมาณรวม quercitrin และ quercetin น้อยที่สุด ได้แก่ 118.53 ± 5.19 µg ดังตาราง 20 และภาพประกอบ 45

เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ด้วยสถิติ one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า ค่า P-value เท่ากับ 0.951 ถือว่าปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรไม่แตกต่างกัน และเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณรวมจากร้านต่าง ๆ พบว่า ยาผสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรจาก

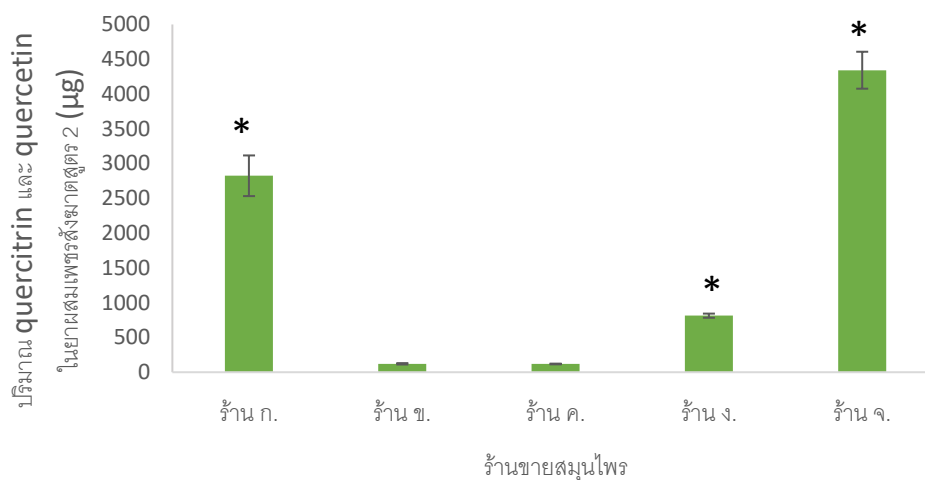
ร้าน ก. ง. และจ. มีปริมาณ quercitrin แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพประกอบ 50 และ 51

ตาราง 20 แสดงผลการหาปริมาณรวม quercitrin และ quercetin จากยาผสมเพชรสังฆาต

	ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 (μg)	ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 (μg)
ร้าน ก.	3280.97 \pm 95.92	2824.69 \pm 292.30
ร้าน ข.	108.36 \pm 11.55	121.04 \pm 9.94
ร้าน ค.	102.44 \pm 3.96	118.53 \pm 5.19
ร้าน ง.	750.55 \pm 23.80	812.87 \pm 29.87
ร้าน จ.	4173.69 \pm 68.48	4342.10 \pm 265.72



ภาพประกอบ 47 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 จากร้านขายสมุนไพรจากร้านสมุนไพรต่าง ๆ



หมายเหตุ * หมายถึง ตำรับยาสมุนไพรจากร้านมีปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพประกอบ 48 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้านต่าง ๆ

ผลการหาปริมาณ Total flavonoids

จากผลการหาปริมาณ Total flavonoids ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric method พบว่า ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ก. มีปริมาณ total flavonoids มากที่สุด คือ 22.90 ± 2.33 mg QE/g extract รองลงมาคือ ตำรับยาจากร้าน ง., จ. และ ข. มีปริมาณ total flavonoids 21.58 ± 1.60 , 18.29 ± 0.93 และ 16.57 ± 0.42 mg QE/g extract ตามลำดับ ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ค. มีปริมาณ total flavonoids น้อยที่สุด คือ 16.07 ± 1.67 mg QE/g extract

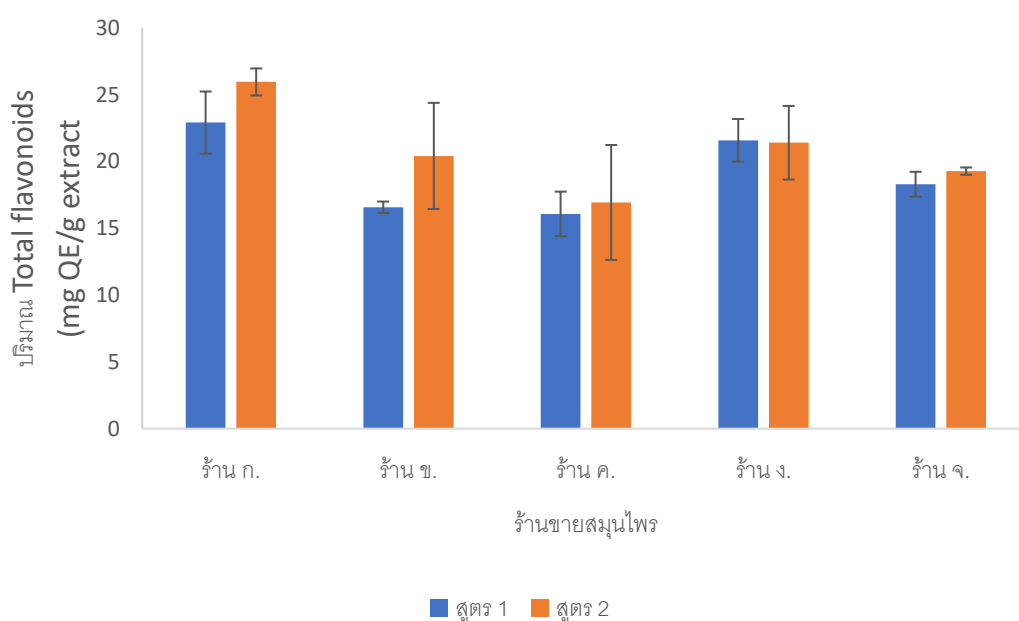
ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ก. มีปริมาณ total flavonoids มากที่สุด คือ 25.95 ± 1.01 mg QE/g extract รองลงมาคือ ตำรับยาจากร้าน ง., จ. และ ข. มีปริมาณ total flavonoids 21.39 ± 2.76 , 19.27 ± 0.27 และ 19.08 ± 3.97 mg QE/g extract ตามลำดับ ส่วนยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ค. มีปริมาณ total flavonoids น้อยที่สุด คือ 16.93 ± 4.30 mg QE/g extract ดังตาราง 21 และภาพประกอบ 46

เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณ quercetin ด้วยสถิติ one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า ค่า P-value เท่ากับ 0.281 ถือว่าปริมาณ total flavonoids ในยาผสม

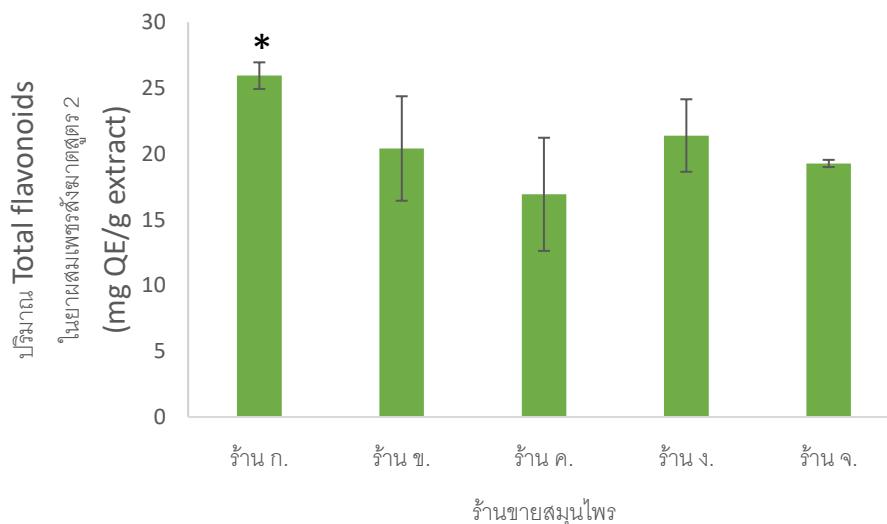
เพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรไม่แตกต่างกัน และเมื่อทำการวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างของปริมาณรวมจากร้านต่าง ๆ พบว่า ยามสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรจากร้าน ก. ง. และจ. มีปริมาณ quercitrin แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพประกอบ 53 และ 54

ตาราง 21 แสดงผลการหาปริมาณ Total flavonoids จากยามสมเพชรสังฆาต

	ยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1 (mg QE/g extract)	ยามสมเพชรสังฆาตสูตร 2 (mg QE/g extract)
ร้าน ก.	22.90 ± 2.33	25.95 ± 1.01
ร้าน ข.	16.57 ± 0.42	19.08 ± 3.97
ร้าน ค.	16.07 ± 1.67	16.93 ± 4.30
ร้าน ง.	21.58 ± 1.60	21.39 ± 2.76
ร้าน จ.	18.29 ± 0.93	19.27 ± 0.27



ภาพประกอบ 49 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ flavonoids ในยามสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2



หมายเหตุ * หมายถึง ตำรับยาสมุนไพรจากร้านมีปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพประกอบ 50 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ Total flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้านต่าง ๆ

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณ quercitrin quercetin และ Total flavonoids พบว่าปริมาณสาร quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และ 2 จากร้าน ข. และร้าน ค. มีปริมาณน้อย แต่มีปริมาณ Total flavonoids ไม่แตกต่างจากร้านขายสมุนไพรอื่น แสดงให้เห็นว่า ในยาผสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตร นอกจากจะมี quercitrin และ quercetin เป็นสารกลุ่ม flavonoids แล้ว นี้ ยังมีสาร flavonoids ตัวอื่น ๆ อีกด้วย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สำหรับยาผสมเพศรสสังฆาตด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่ม flavonoids สำหรับยาผสมเพศรสสังฆาตด้วยเทคนิค HPLC ที่ผ่านการทวนสอบวิธีวิเคราะห์อ้างอิงตามเกณฑ์ ICH guideline และผลการทวนสอบวิธีอ้างอิงตามเกณฑ์ AOAC guideline ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารเทียบ (marker) เปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญในสูตรตำรับ โดยใช้สมุนไพรจากแหล่งร้านขายสมุนไพรต่าง ๆ จำนวน 5 ร้าน

สารเทียบที่ใช้ในการพัฒนาวิธีได้แก่ quercitrin และ quercetin เนื่องจากมีงานวิจัยพบว่า สามารถต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระได้ โดยสารทั้ง 2 ชนิดนี้มีรายงานว่า พบได้ในเพศรสสังฆาต โกงสุ่น้ำเต้า กระจ่างและกะเม็ง

ความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (system suitability) ที่ใช้ในงานนี้อ้างอิงตามเกณฑ์ USP37 โดยวิธีอ้างอิงจากงานวิจัยของ Han และคณะ (2015) และ การถนอมรักษา ผีอกหนู (2560) ใช้ 0.1% phosphoric acid และ acetonitrile เป็น mobile phase ที่มีสัดส่วนเปลี่ยนแปลงที่เวลาต่าง ๆ (gradient) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร พบว่าระยะเวลา (retention time) ที่สาร quercitrin และ quercetin ถูกตรวจพบที่เวลา 6.751 และ 8.087 นาทีตามลำดับ มีค่า resolution เท่ากับ 11.7 สารทั้ง 2 ชนิดมีค่า symmetry factor เท่ากับ 1.1 และค่า column efficiency ของสาร quercitrin และ quercetin เท่ากับ 64868.47 และ 74416.17 ตามลำดับ ค่า RSD ของสาร quercitrin มีค่าเท่ากับ 1.0% และสาร quercetin มีค่าเท่ากับ 0.9% พิจารณาข้อกำหนดถือว่าผ่านเกณฑ์ของ USP37 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สาร quercitrin และ quercetin มีความเหมาะสมต่อระบบเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation) สาร quercitrin และ quercetin ในหัวข้อความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสาร quercitrin ในช่วงความเข้มข้น 4.8-9.6 µg/mL ได้สมการของแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง คือ $y = 10370x + 581.04$ ค่า coefficient of determination (R^2) เท่ากับ 0.9996 ส่วน Linearity ของสาร quercetin ในช่วงความเข้มข้น 4.08-8.16 µg/mL ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ของ quercetin คือ $y = 13343x - 1789.3$ โดยมีค่า coefficient of determination (R^2) เท่ากับ 1 หัวข้อความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (precision) เป็นการทดสอบความแม่นยำของเครื่องมือ พบว่าค่า %RSD ของหัวข้อ Intra-day precision ของสาร

quercitrin มีค่า %RSD อยู่ในช่วง 0.43 – 1.80 ส่วนสาร quercetin มีค่า RSD อยู่ในช่วง 0.56 – 1.69 ส่วนความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (accuracy) มีค่า %recovery ของ quercitrin อยู่ในช่วง 99.95 – 102.76% และ quercetin อยู่ในช่วง 100.77 – 101.63% ซึ่งถือว่าผ่านเกณฑ์ของ AOAC ค่า LOD ของสาร quercitrin และ quercetin เท่ากับ 0.05 และ 0.06 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ส่วนค่า LOQ ของ quercitrin และ quercetin มีค่าเท่ากับ 0.15 และ 0.17 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ

การตรวจสอบ Chromatographic fingerprint ของสมุนไพรแต่ละชนิดที่มาจากแหล่งร้านขายสมุนไพรที่ต่างกัน พบว่า Chromatographic fingerprint ของสมุนไพรชนิดเดียวกัน ส่วนที่นำมาใช้ทางยาส่วนเดียวกัน มักมีลายพิมพ์ที่ลักษณะใกล้เคียงกัน ส่วนสารสำคัญ พบว่าสาร quercitrin พบได้ในเพชรสังฆาต โกฐน้ำเต้า เป็นหลัก ส่วนสาร quercetin พบได้ในกะเม็งเป็นหลัก ส่วนกระชายและอัคคีทวารไม่พบทั้ง 2 สาร

การหาปริมาณสาร quercitrin และ quercetin จากยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 โดยการสกัดด้วย 95% ethanol พบว่า สูตร 1 มีปริมาณ quercitrin อยู่ในช่วง 96.09 - 3404.93 ไมโครกรัม และสูตร 2 อยู่ในช่วง 96.48 - 3511.54 ไมโครกรัม ส่วนปริมาณสาร quercetin ในสูตร 1 มีปริมาณ quercetin อยู่ในช่วง 6.35 - 929.24 ไมโครกรัม และสูตร 2 อยู่ในช่วง 22.05 - 830.56 ไมโครกรัม ปริมาณรวมของสาร quercitrin และ quercetin จากยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 โดยการสกัดด้วย 95% ethanol พบว่า สูตร 1 มีปริมาณสารอยู่ในช่วง 102.44 - 4173.69 ไมโครกรัม และสูตร 2 อยู่ในช่วง 118.53 - 4342.10 ไมโครกรัม

การหาปริมาณ Total flavonoids จากยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 พบว่า สูตร 1 มีปริมาณ Total flavonoids อยู่ในช่วง 16.07 – 19.22 mg QE/g extract ส่วนสูตร 2 มีปริมาณ Total flavonoids อยู่ในช่วง 16.93 – 25.95 mg QE/g extract

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสาร quercitrin quercetin และ Total flavonoids เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) พบว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งสูตร 1 และสูตร 2 มีปริมาณสาร quercitrin quercetin และ Total flavonoids ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างร้านค้า พบว่า ปริมาณสาร quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 จากร้าน ก. ง. และจ. มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาณ Total flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 และสูตร 2 จากร้าน ก. มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อภิปรายผล

การเลือกซื้อสมุนไพรจากร้านขายสมุนไพร ก่อนนำสมุนไพรมาประกอบเป็นตำรับยาต้องมีความมั่นใจว่า สมุนไพรที่ซื้อมานั้นเป็นชนิดและส่วนของสมุนไพรที่ถูกต้องตามส่วนประกอบในตำรับ โดยการนำสมุนไพรไปตรวจสอบตั้งแต่แหล่งที่มา ระยะเวลาเก็บเกี่ยวสมุนไพร ส่วนที่ใช้ ลักษณะทางภายนอก องค์ประกอบทางเคมี ไปจนถึงการปนเปื้อนของโลหะหนักและสารเคมีกำจัดศัตรูพืช การพิสูจน์เอกลักษณ์ของพืชเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพร โดยพิสูจน์ด้วยเทคนิคต่าง ๆ ได้แก่ TLC, HPLC หรือ GC เนื่องจากสามารถวิเคราะห์หาปริมาณและพิสูจน์สารที่อยู่ในเมทริกซ์ที่ซับซ้อนได้ เป็นการนำ chromatogram ของสารสกัดที่สกัดได้ไปเปรียบเทียบกับสารเทียบ (marker) และวิเคราะห์หาปริมาณสารที่สนใจ สมุนไพรชนิดเดียวกันและส่วนที่นำมาใช้เป็นส่วนเดียวกัน มักมีลักษณะลายพิมพ์องค์ประกอบ (Chromatographic fingerprint) ที่ใกล้เคียงกัน ส่วนปริมาณสารสำคัญของพืชอาจแตกต่างกัน ตามสภาวะแวดล้อมที่ทำการเพาะปลูกสมุนไพรได้แก่ ความชื้น ดิน แร่ธาตุและอาหาร และอายุของสมุนไพร เป็นต้น ตำรับยาสมุนไพรที่มีคุณภาพควรมีปริมาณสารสำคัญมากเพียงพอที่จะออกฤทธิ์ที่สนใจได้

จาก chromatogram ของอัคคีทวารจากร้านขายสมุนไพรต่าง ๆ พบว่า chromatographic fingerprint ของส่วนใบและลำต้นมีลักษณะไม่แตกต่างกัน เป็นการพิสูจน์ได้ว่าสามารถใช้อัคคีทวารส่วนอื่นทดแทนส่วนของรากเป็นส่วนประกอบในตำรับยาผสมเพชรสังฆาตได้ และจากผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร quercitrin และ quercetin และปริมาณ Total flavonoids จะเห็นได้ว่ายาผสมเพชรสังฆาตทั้ง 2 สูตรมีปริมาณสารสำคัญดังกล่าวที่ไม่แตกต่างกัน สามารถนำมาใช้ทดแทนกันได้

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร quercitrin และ quercetin ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) และการวิเคราะห์หาปริมาณ Total flavonoids ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric assay พบว่า สาร quercitrin และ quercetin มีปริมาณน้อยกว่าปริมาณ Total flavonoids มาก เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยเทคนิค HPLC เป็นการวิเคราะห์ปริมาณสารแบบจำเพาะเจาะจง โดยมีสาร quercitrin และ quercetin เป็นสารเทียบ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณ total flavonoids ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric assay เป็นการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่ม flavonoids ทั้งหมด โดยการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง aluminium ion กับหมู่ keto และหมู่ hydroxyl หรือทำปฏิกิริยากับหมู่ dihydroxyl บนโครงสร้างของสาร flavonoids เป็นการแสดงให้เห็นว่า ยาผสมเพชรสังฆาต

นอกจากมีสาร quercitrin และ quercetin เป็นสารสำคัญกลุ่ม flavonoids แล้ว ยังมีสารกลุ่ม flavonoids สารอื่นอีกด้วย

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่ม flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตทั้งสูตร 1 และสูตร 2 พบว่า ทุกร้านขายสมุนไพร ในแต่ละสูตรมีปริมาณสารกลุ่ม flavonoids ของยาผสมเพชรสังฆาตไม่แตกต่างกัน ดังนั้นหากผู้บริโภคต้องการเลือกซื้อสมุนไพรเพื่อนำมารักษาโรค ริดสีดวงทวารหนัก สามารถเลือกซื้อสมุนไพรตำรับใดตำรับหนึ่ง และตำรับยาทั้ง 2 สูตรสามารถใช้ทดแทนกันได้ เมื่อซื้อสมุนไพรแล้ว ก่อนนำไปใช้ควรมีการตรวจสอบสมุนไพรว่ามีความถูกต้องของชนิดและส่วนของพืช ประชาชนทั่วไปสามารถนำสมุนไพรไปตรวจสอบได้ที่พิพิธภัณฑ์พืช (herbarium) ส่วนผู้ประกอบการสามารถนำวิธีวิเคราะห์สารสกัดสมุนไพรตำรับยาผสมเพชรสังฆาตไปใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์และหาปริมาณสารสำคัญกลุ่ม flavonoids เพื่อเป็นการตรวจสอบคุณภาพตำรับยา

บรรณานุกรม

- Abdelwahab, S. I. Syam, S. Abdulla, M. A. Aspollah, S. M. Abdul, A. B. Taha, M. M. E. และคณะ. (2011). The methanolic extract of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. and its major compound pinostrobin induces anti-ulcerogenic property in vivo: Possible involvement of indirect antioxidant action. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(2), 963-970. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.010>
- Abe, I. และ Morita, H. (2010). Structure and function of the chalcone synthase superfamily of plant type III polyketide synthases. *Natural Product Reports*, 27(6), 809-838. doi:10.1039/B909988N
- Abe, I. Watanabe, T. Morita, H. Kohno, T. และ Noguchi, H. (2006). Engineered Biosynthesis of Plant Polyketides: Manipulation of Chalcone Synthase. *Organic Letters*, 8(3), 499-502. doi:10.1021/ol052912h
- Acheson, A. G. และ Scholefield, J. H. (2008). Management of haemorrhoids. *BMJ*, 336(7640), 380-383. doi:10.1136/bmj.39465.674745.80
- Adesanya, S. A. Nia, R. Martin, M. Boukamcha, N. Montagnac, A. และ Païs, M. (1999). Stilbene derivatives from *Cissus quadrangularis*. *Journal of Natural Products*, 62(12), 1694-1695.
- Aigner, F. Gruber, H. Conrad, F. Eder, J. Wedel, T. Zelger, B. และคณะ. (2009). Revised morphology and hemodynamics of the anorectal vascular plexus: impact on the course of hemorrhoidal disease. *Int J Colorectal Dis*, 24(1), 105-113. doi:10.1007/s00384-008-0572-3
- Aksöz, B. Evranos และ Ertan, Rahmiye. (2011). Chemical and structural properties of chalcones I. *FABAD J Pharm Sci*, 36, 223-242.
- Ali, M. S. และ Azhar, I. (2000). Treatment by natural drugs. *Hamdard Medicus*, 43(2), 72-78.
- Alonso-Coello, P. Mills, E. Heels-Ansdell, D. López-Yarto, M. Zhou, Q. Johanson, J. F. และคณะ. (2006). Fiber for the Treatment of Hemorrhoids Complications: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American Journal of Gastroenterology*, 101(1), 181-

188.

Ananthi, J. Prakasam, A. และ Pugalendi, K. V. (2003). Antihyperglycemic activity of *Eclipta alba* leaf on alloxan-induced diabetic rats. *The Yale journal of biology and medicine*, 76(3), 97.

AOAC. (2002). Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals (Publication no. สืบค้นจาก https://members.aoac.org/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf). Retrieved 19/10/2563

Arakere, U. Sollepura, R. Murali, N. Suhas, Y. Siddapura, N. Lund, O. S. และคณะ. (2016). Acute oral toxicity, dermal irritation and eye irritation study of *Eclipta alba* aqueous extract in Sprague Dawley rats and Newzealand white rabbits. *International Research Journal of Pharmacy*, 7, 103-109. doi:10.7897/2230-8407.07674

Arceo, A. Berber, A. และ Treviño, C. (2002). Clinical Evaluation of the Efficacy and Safety of Calcium Dobesilate in Patients with Chronic Venous Insufficiency of the Lower Limbs. *Angiology*, 53(5), 539-544. doi:10.1177/000331970205300506

Aswar, Urmila M. Mohan, V. และ Bodhankar, Subhash L. (2012). Antiosteoporotic activity of phytoestrogen-rich fraction separated from ethanol extract of aerial parts of *Cissus quadrangularis* in ovariectomized rats. *Indian journal of pharmacology*, 44(3), 345.

Attawish, A. Chavalittumrong, P. Chivapat, S. Chuthaputti, A. Rattanajarasroj, S. และ Punyamong, S. (2002). Subchronic toxicity of *Cissus quadrangularis* Linn. *Songklanakarin J Sci Technol*, 24, 39-51.

Atun, S. Handayani, S. และ Frindryani, L. F. (2017). Identification and antioxidant activity test of bioactive compound produced from ethanol extract of temukunci (*Boesenbergia rotunda*). *AIP Conference Proceedings*, 1868(1), 020007. doi:10.1063/1.4995093

Atun, S. Handayani, S. และ Rakhmawati, A. (2018). Potential Bioactive Compounds Isolated from *Boesenbergia rotunda* as Antioxidant and Antimicrobial Agents. *Pharmacognosy Journal*, 10(3).

- Austin และ Jagdeesan, M. (2002). GASTRIC AND DUODENAL ANTIULCER AND CYTOPROTECTIVE EFFECTS OF *CISSUS QUADRANGULARIS* L. VARIAN II IN RATS. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine*, 6, 10-14.
- Austin, Michael B. และ Noel, Joseph P. (2003). The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Natural Product Reports*, 20(1), 79-110.
doi:10.1039/B100917F
- Baharudin, M. Hamid, S. A. และ Darnis, D. S. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from three aromatic plants of the Zingiberaceae family in Malaysia. *Journal of Physical Science*, 26(1), 71-81.
- Bakht, J. Islam, A. และ Shafi, M. (2011). Antimicrobial potential of *Eclipta alba* by well diffusion method. *Pak. J. Bot*, 43, 161-166.
- Baranisrinivasan, P. Elumalai, E. K. Sivakumar, C. Therasa, S. Viviyani และ David, E. (2009). Hepatoprotective effect of *Enicostemma littorale* blume and *Eclipta alba* during ethanol induced oxidative stress in albino rats. *IJP-International Journal of Pharmacology*, 5(4), 268-272.
- Bauer, R. (1998). Quality criteria and standardization of phytopharmaceuticals: Can acceptable drug standards be achieved? *Drug information journal: DIJ/Drug Information Association*, 32(1), 101-110.
- Bhamarapavati, S. Juthapruth, S. Mahachai, W. และ Mahady, G. (2006). Antibacterial activity of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. and *Myristica fragrans* Houtt. against *Helicobacter pylori*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 28(1), 157-163.
- Bhangare, N. K. Pansare, T. A. Ghongane, B. B. และ Nesari, T. M. . (2012). Screening for anti-inflammatory and anti-allergic activity of Bharangi {*Clerodendrum serratum* (Linn.) moon} in animals. *Int J Pharma Bio Sci*, 3(4), 245-254.
- Bhujade, A. M. Talmale, S. Kumar, N. Gupta, G. Reddanna, P. Das, S. K. และคณะ. (2012). Evaluation of *Cissus quadrangularis* extracts as an inhibitor of COX, 5-LOX, and proinflammatory mediators. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 989-996.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.044>

- Bhujbal, S Kewatkar, S.M.K More, L และ Patil, M. (2009). Antioxidant Effects of Roots of *Clerodendrum serratum* Linn. *Pharmacognosy research*, 1(5), 294-298.
- Break, M. K. B. Chiang, M. Wiart, C. Chin, C. Khoo, A. S. B. และ Khoo, T. (2020). Cytotoxic Activity of *Boesenbergia rotunda* Extracts against Nasopharyngeal Carcinoma Cells (HK1). Cardamonin, a *Boesenbergia rotunda* Constituent, Inhibits Growth and Migration of HK1 Cells by Inducing Caspase-Dependent Apoptosis and G2/M-Phase Arrest. *Nutrition and Cancer*, 1-11.
doi:10.1080/01635581.2020.1751217
- Bu, T. Wang, C. Meng, Q. Huo, X. Sun, H. Sun, P. และคณะ. (2018). Hepatoprotective effect of rhein against methotrexate-induced liver toxicity. *European journal of pharmacology*, 834, 266-273. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.07.031>
- Buckshee, K. Takkar, D. และ Aggarwal, N. (1997). Micronized flavonoid therapy in internal hemorrhoids of pregnancy. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 57(2), 145-151. doi:[https://doi.org/10.1016/S0020-7292\(97\)02889-0](https://doi.org/10.1016/S0020-7292(97)02889-0)
- Cai, Y. Sun, M. Xing, J. และ Corke, H. (2004). Antioxidant phenolic constituents in roots of *Rheum officinale* and *Rubia cordifolia*: Structure-radical scavenging activity relationships. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7884-7890.
- Chan, C. Huang, W. Guo, H. และ Wang, B. R. (2014). Potent Antioxidative and UVB Protective Effect of Water Extract of *Eclipta prostrata* L. *The Scientific World Journal*, 2014, 759039. doi:10.1155/2014/759039
- Chang, C.C. Yang, M.H. Wen, H.M. และ Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Charoensin, S. Punvittayagul, C. Pompimon, W. Mevatee, U. และ Wongpoomchai, R. (2020). Toxicological and clastogenic evaluation of pinocembrin and pinostrobin isolated from *Boesenbergia pandurata* in Wistar rats. *Thai Journal of Toxicology*, 25(1), 29.
- Chaudhary, H. Dhuna, V. Singh, J. Kamboj, S. S. และ Seshadri, S. (2011). Evaluation of hydro-alcoholic extract of *Eclipta alba* for its anticancer potential: an in vitro study.

Journal of Ethnopharmacology, 136(2), 363-367.

- Cherdtrakulkiat, R. Boonpangrak, S. Ruchirawat, S. Pingaew, R. Prachayasittikul, V. และ Prachayasittikul, S. (2015a). Bioactive triterpenoids, antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of *Eclipta prostrata* Linn.
- Cherdtrakulkiat, R. Boonpangrak, S. Ruchirawat, S. Pingaew, R. Prachayasittikul, V. และ Prachayasittikul, S. (2015b). Bioactive triterpenoids, antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of *Eclipta prostrata* Linn. 46-50.
- Chidambaram, J. และ Venkatraman, A. C. (2010). *Cissus quadrangularis* stem alleviates insulin resistance, oxidative injury and fatty liver disease in rats fed high fat plus fructose diet. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8), 2021-2029.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.04.044>
- Chonlasit, K. Julsrigival, S. และ Janjom, S. (2015). ข้อกำหนดทางเคมี และ กายภาพ ของ โกลูน้ำเต้า. *BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES*, 57(4), 352-363.
- Chopra Nayar, S. L. และ Chopra, I. C. (1956). *Glossary of Indian medicinal plants* (Vol. 1): Council of Scientific & Industrial Research New Delhi.
- Chopra Patel, M. R. และ Awadhiya, R. P. (1976). Studies of *Cissus quadrangularis* in experimental fracture repair: a histopathological study. *The Indian journal of medical research*, 64(9), 1365.
- Chung Hou, Y. C. และ Pan, A. C. H. (2004). Endoglin (CD105) expression in the development of haemorrhoids. *European Journal of Clinical Investigation*, 34(2), 107-112. doi:10.1111/j.1365-2362.2004.01305.x
- Chung Rahuman, A. Marimuthu, S. Kirthi, A. V. Anbarasan, K. Padmini, P. และคณะ. (2017). Green synthesis of copper nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities. *Exp Ther Med*, 14(1), 18-24.
doi:10.3892/etm.2017.4466
- Clementi, E. M. และ Misiti, F. (2010). Chapter 27 - Potential Health Benefits of Rhubarb. In Ronald Ross Watson & Victor R. Preedy (Eds.), *Bioactive Foods in Promoting Health* (pp. 407-423). San Diego: Academic Press.

- Das, A. B. Goud, V. V. และ Das, C. (2019). 9 - Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages. In Alexandru Mihai Grumezescu & Alina Maria Holban (Eds.), *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages* (pp. 285-323): Academic Press.
- Davis, B. R. Lee-Kong, S. A. Migaly, J. Feingold, D. L. และ Steele, S. R. (2018). The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the Management of Hemorrhoids. *Diseases of the Colon & Rectum*, 61(3).
- Deka, D. K. Lahon, L. C. Saikia, J. และ Mukit, A. (1994). Effect of *Cissus quadrangularis* in accelerating healing process of experimentally fractured radius-ulna of dog: a preliminary study. *Indian J Pharmacol*, 26(1), 44-45.
- Demling, Robert H. (2000). Oxandrolone, an anabolic steroid, enhances the healing of a cutaneous wound in the rat. *Wound Repair and Regeneration*, 8(2), 97-102.
- Dewick, P. M. (2002). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*: John Wiley & Sons.
- Ding, Y. Zhao, L. Mei, H. Zhang, S. L. Huang, Z. H. Duan, Y. Y. และคณะ. (2008). Exploration of Emodin to treat alpha-naphthylisothiocyanate-induced cholestatic hepatitis via anti-inflammatory pathway. *European journal of pharmacology*, 590(1-3), 377-386.
- Dixit, R. S. และ Pandey, H. C. (1984). Plants used as folk-medicine in Jhansi and Lalitpur sections of Bundelkhand, Uttar Pradesh. *International Journal of Crude Drug Research*, 22(1), 47-51.
- Enechi, O. C. Celestina, N. I. และ Okechukwu, P. C. U. (2013). Effects of ethanol extract of *Cissus quadrangularis* on induced gastric ulcer in rats. *African Journal of Biotechnology*, 12(43), 6197-6202.
- Enechi, O. C. และ Odonwodo, I. (2003). An assessment of the phytochemical and nutrient composition of the pulverized root of *Cissus quadrangularis*. *Bio-research*, 1(1), 63-68.
- Frick, R. W. (2000). Three treatments for chronic venous insufficiency: escin, hydroxyethylrutoside, and Daflon. *Angiology*, 51(3), 197-205.

- Gani, A. M. S. (2015). Antioxidant Activity of Methanolic extract of *Eclipta Prostrata* (L.) L.
- Getz, Melvix E. และ Wheeler, Helen G. (1968). Thin layer chromatography of organophosphorus insecticides with several adsorbents and ternary solvent systems. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 51(5), 1101-1107.
- Goligher, J. C. (1980). Surgery of the anus, rectum and colon. *Bailliere Tindall*, 924-925.
- Gomes, M. N. Muratov, E. N. Pereira, M. Peixoto, J. C. Rosseto, L. P. Cravo, P. V. L. และคณะ. (2017). Chalcone derivatives: promising starting points for drug design. *Molecules*, 22(8), 1210.
- Gupta, M. M. และ Verma, R. K. (1991). Lipid constituents of *Cissus quadrangularis*. *Phytochemistry*, 30(3), 875-878.
- Han, L. Liu, E. Kojo, A. Zhao, J. Li, W. Zhang, Y. และคณะ. (2015). Qualitative and Quantitative Analysis of *Eclipta prostrata* L. by LC/MS. *The Scientific World Journal*, 2015, 980890. doi:10.1155/2015/980890
- He, T. P. Yan, W. H. Mo, L. E. และ Liang, N. C. (2008). Inhibitory effect of aloe-emodin on metastasis potential in HO-8910PM cell line. *Journal of Asian natural products research*, 10(5), 383-390.
- Hemalakhshmi, P. T. V. Sriram, P. และ Mathuram, L. N. (2012). Hypoglycemic and antioxidant activities of methanolic extract of *Eclipta alba* in experimentally induced diabetes mellitus in rats. *Tamil Nadu Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 8(4), 215-226.
- Ho, Y. H. Tan, M. และ Seow-Choen, F. (2000). Micronized purified flavonoidic fraction compared favorably with rubber band ligation and fiber alone in the management of bleeding hemorrhoids. *Diseases of the Colon & Rectum*, 43(1), 66-69. doi:10.1007/BF02237246
- Hossain Sultana, R. Debnath, K. และ Rahmatullah, M. (2018). Asian Journal of Pharmacognosy Ethnopharmacological Note Use of *Eclipta prostrata* (L.) L. (Asteraceae) for treatment of leucoderma.
- Hossain, M. S. Alam, M. B. Chowdhury, N. S. Asadujjaman, M. Zahan, R. Islam, M. M. และ

- คณะ. (2011). Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of the herb *Eclipta prostrata*. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 6(5), 468-480.
- Huang Chen, C. Y. Chen, R. J. Kang, Y. N. และ Wei, P. L. (2018). Topical diltiazem ointment in post-hemorrhoidectomy pain relief: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Asian Journal of Surgery*, 41(5), 431-437.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2017.06.002>
- Huang Shen, H. M. และ Ong, C. N. (2004). Inhibitory effect of emodin on tumor invasion through suppression of activator protein-1 and nuclear factor-KB. *Biochemical pharmacology*, 68(2), 361-371.
- Huei-Chen, H. Chai-Rong, L. Chao, P. L. Ching-Chow, C. และ Shu-Hsun, C. (1991). Vasorelaxant effect of emodin, an anthraquinone from a Chinese herb. *European journal of pharmacology*, 205(3), 289-294.
- Hurrell, R. F. Reddy, M. และ Cook, J. D. (1999). Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British Journal of Nutrition*, 81(4), 289-295.
- Isa, N. M. Abdelwahab, S. I. Mohan, S. Abdul, A. B. Sukari, M. A. Taha, M. M. E. และคณะ. (2012). In vitro anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of boesenbergin A, a chalcone isolated from *Boesenbergia rotunda* (L.) (fingerroot). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45, 524-530.
- Iwashina, T. (2015). Flavonoid Properties in Plant Families Synthesizing Betalain Pigments (Review). *Natural Product Communications*, 10(6), 1103-1114.
doi:10.1177/1934578X1501000675
- Jadhav, V. M. Thorat, R. M. Kadam, V. J. และ Salaskar, K. P. (2009). Chemical composition, pharmacological activities of *Eclipta alba*. *Journal of Pharmacy Research*, 2(8), 1129-1231.
- Jain, S.K. (1991). *Dictionary of Indian Folk Medicine and Ethnobotany*. New Delhi: Deep Publicatoins.
- Jainu, M. (2004). Potent antiulcerogenic activity of methanol extract of *Cissus quadrangularis* by antioxidative mechanism. *Journal of Clinical Biochemistry and*

Nutrition, 34(2), 43-47.

- Jainu, M. และ Devi, C. S. S. (2005a). Attenuation of neutrophil infiltration and proinflammatory cytokines by *Cissus quadrangularis*: a possible prevention against gastric ulcerogenesis. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 5(3), 33-42.
- Jainu, M. และ Devi, C. S. S. (2005b). *In Vitro. and In Vivo*. Evaluation of Free-Radical Scavenging Potential of *Cissus quadrangularis*. *Pharmaceutical Biology*, 43(9), 773-779.
- Jainu, M. Mohan, K. V. และ Devi, C. S. S. (2006). Protective effect of *Cissus quadrangularis* on neutrophil mediated tissue injury induced by aspirin in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(3), 302-305.
- Jainu, M. Vijaimohan, K. และ Kannan, K. (2010). *Cissus quadrangularis* L. extract attenuates chronic ulcer by possible involvement of polyamines and proliferating cell nuclear antigen. *Pharmacognosy magazine*, 6(23), 225.
- Jaiswal, N. Bhatia, V. Srivastava, S. P. Srivastava, A. K. และ Tamrakar, A. K. (2012). Antidiabetic effect of *Eclipta alba* associated with the inhibition of alpha-glucosidase and aldose reductase. *Natural Product Research*, 26(24), 2363-2367. doi:10.1080/14786419.2012.662648
- Jantan, I. Basni, I. Ahmad, A. S. Ali, N. A. M. Ahmad, A. R. และ Ibrahim, H. (2001). Constituents of the rhizome oils of *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecht from Malaysia, Indonesia and Thailand. *Flavour and fragrance journal*, 16(2), 110-112.
- Jaya, C. Venkatesan, V. และ Anuradha, C. V. . (2010). Inflammatory responses in liver induced by high fat plus fructose diet: therapeutic potential of *cissus quadrangularis* stem. *Int J Biol Med Res*, 1(4), 120-124.
- Jef, R. (1993). Martindale: Martindale-the Extra Pharmacopoeia. 30th. In *Pennsylvania, Pa, USA: Rittenhouse Book Distributors* (pp. 903).
- Jin, L. S. Xiong, Z. L. Li, X. H. Yang, C. J. และ Li, F. M. (2009). RP-HPLC study on contents of chemical constituents of *Rheum palmatum* L. being compatible with *Aconitum carmichaeli* Debx. de [J]. *Central South Pharmacy*, 4.
- Jing, L. J. Mohamed, M. Rahmat, A. และ Bakar, M. F. A. (2010). Phytochemicals,

- antioxidant properties and anticancer investigations of the different parts of several gingers species (*Boesenbergia rotunda*, *Boesenbergia pulchella* var *attenuata* and *Boesenbergia armeniaca*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(1), 027-032.
- Jitvaropas, R. Saenthaweesuk, S. Somporn, N. Thuppia, A. Sireeratawong, S. และ Phoolcharoen, W. (2012). Antioxidant, Antimicrobial and Wound Healing Activities of *Boesenbergia rotunda*. *Natural Product Communications*, 7(7), 1934578X1200700727. doi:10.1177/1934578X1200700727
- Johanson, J. F. และ Sonnenberg, A. (1990). The prevalence of hemorrhoids and chronic constipation. An epidemiologic study. *Gastroenterology*, 98(2), 380-386. doi:10.1016/0016-5085(90)90828-o
- Jung, W. Y. Kim, H. Jeon, S. J. Park, H. J. Choi, H. J. Kim, N. J. และคณะ. (2018). Eclalbasaponin II Ameliorates the Cognitive Impairment Induced by Cholinergic Blockade in Mice. *Neurochemical Research*, 43(2), 351-362. doi:10.1007/s11064-017-2430-6
- Kageura, T. Matsuda, H. Morikawa, T. Toguchida, I. Harima, S. Oda, M. และคณะ. (2001). Inhibitors from rhubarb on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in macrophages: structural requirements of stilbenes for the activity. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 9(7), 1887-1893.
- Kaidar-Person, O. Person, B. และ Wexner, S. D. (2007). Hemorrhoidal disease: a comprehensive review. *Journal of the American College of Surgeons*, 204(1), 102-117.
- Kang, S. C. Lee, C. M. Choung, E. S. Bak, J. P. Bae, J. J. Yoo, H. S. และคณะ. (2008). Anti-proliferative effects of estrogen receptor-modulating compounds isolated from *Rheum palmatum*. *Archives of pharmacal research*, 31(6), 722-726.
- Kanket, S. Chaiyorch, N. และ Lamsombuth, S. (2012). Formulation and efficacy of *Cissus quadrangularis* Extracts capsules for treatment of stage 1 and 2 acute internal hemorrhoids patients. *PharmD thesis Mahasarakham university, Thailand*.
- Karthikumar, S. Vigneswari, K. และ Jegatheesan, K. (2007). Screening of antibacterial and antioxidant activities of leaves of *Eclipta prostrata* (L). *Sci. Res. Essay*, 2(4), 101-

104.

Khan, A. V. and Khan, A. A. (2008). Ethnomedicinal uses of *Eclipta prostrata* Linn. 316-320.

Khanna and Kannabiran, K. (2008). Antimicrobial activity of saponin fractions of the leaves of *Gymnema sylvestre* and *Eclipta prostrata*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(11), 2737. doi:10.1007/s11274-008-9758-7

Khanna and Kannabiran, K. (2009). Anticancer-cytotoxic activity of saponins isolated from the leaves of *Gymnema sylvestre* and *Eclipta prostrata* on HeLa cells. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 3(3).

Khanna and Mudgal, V. (1994). Ethnobotany of Uttar Pradesh Plains. *4th Int Cong Ethnobiol, NBRI Lucknow*, 340.

Khoo, H. E. Azlan, A. Tang, S. T. and Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & nutrition research*, 61(1), 1361779-1361779. doi:10.1080/16546628.2017.1361779

Kim Kim, H. Ryu, B. Lee, J. Choi, J. and Jang, D. (2015). Constituents of the aerial parts of *Eclipta prostrata* and their cytotoxicity on human ovarian cancer cells *in vitro*. *Archives of pharmacal research*, 38(11), 1963-1969.

Kim Lee, S. Y. Choi, J. H. Lillehoj, H. S. Yu, M. H. and Lee, G. S. (2008). The butanol fraction of *Eclipta prostrata* (Linn) effectively reduces serum lipid levels and improves antioxidant activities in CD rats. *Nutrition research*, 28(8), 550-554.

Kitnithiprapha, T. and Intaravattana, V. (2020). *Cissus quadrangularis* L. *The Journal of Prapokkiao Hospital Clinical Medical Education Center*, 37(1), 76-78.

Kodithala, S. Kiranmai, M. Dorababu, N. and Ibrahim, M. (2012). Pharmacognostical, phytochemical and analgesic activity of *eclipta prostrata*. I (Asteraceae). *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 740-746.

Kokilavani, P. Suriyakalaa, U. Elumalai, P. Abirami, B. Ramachandran, R. Sankarganesh, A. and Chandrasekaran. (2014). Antioxidant mediated ameliorative steroidogenesis by *Commelina benghalensis* L. and *Cissus quadrangularis* L. against quinalphos induced male reproductive toxicity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 109, 18-33.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.01.002>

- Kothari, S. C. Shivarudraiah, P. Venkataramaiah, S. B. Koppolu, K. P. Gavara, S. Jairam, R. และคณะ. (2011). Safety assessment of *Cissus quadrangularis* extract (CQR-300): Subchronic toxicity and mutagenicity studies. *Food and Chemical Toxicology*, 49(12), 3343-3357. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.09.029>
- Kulkarni, Yogesh A. Garud, Mayuresh S. Oza, Manisha J. Barve, Kalyani H. และ Gaikwad, Anil B. (2016). Chapter 5 - Diabetes, diabetic complications, and flavonoids. In Ronald Ross Watson & Victor R. Preedy (Eds.), *Fruits, Vegetables, and Herbs* (pp. 77-104): Academic Press.
- Kumar และ Dhanani, T. (2013). Development and validation of a rapid high performance liquid chromatography - photodiode array detection method for estimation of a bioactive compound wedelolactone in extracts of *Eclipta alba*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49, 57-63.
- Kumar Gaonkar, R. H. Ghosh, R. และ Pal, B. C. (2012). Bio-assay Guided Isolation of α -Glucosidase Inhibitory Constituents from *Eclipta alba*. *Natural Product Communications*, 7(8), 1934578X1200700807. doi:10.1177/1934578X1200700807
- Kumar และ Nishteswar, K. (2013). Phytochemical and pharmacological profiles of *Clerodendrum Serratum* Linn.(Bharngi): A review. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 4(2), 276-278.
- Kumar Sharma, A. K. Saraf, S. A. และ Gupta, R. (2010). CNS activity of aqueous extract of root of *Cissus quadrangularis* Linn.(Vitaceae). *Journal of dietary supplements*, 7(1), 1-8.
- Kumar Sharma, S. Sharma, S. และ Gupta, V. K. (2011). Effect of Asthishrinkhla Kanda Swarasa (*Cissus Quadrangularis* Linn) as Fracture Healing Herb in Experimental Rat Model. *The Journal of Research and Education in Indian Medicine*, 75-81.
- Lal, V. K. Kumar, A. Kumar, P. และ Singh, Y. K. (2010). Screening of leaves and roots of *Eclipta alba* for hepatoprotective activity. *Archives of Applied Science Research*, 2(1), 86-94.
- Lee, Y. K. Yuk, D. Y. Lee, J. W. Lee, S. Y. Ha, T. Y. Oh, K. W. และคณะ. (2009). (—)-

- Epigallocatechin-3-gallate prevents lipopolysaccharide-induced elevation of beta-amyloid generation and memory deficiency. *Brain research*, 1250, 164-174.
- Lekutai, S. และ Pirshahid, P. A. (2011). The Effect of Treatment of Hemorrhoids Patients from *Cissus Quadrangularis* Linn Extracts. *Journal of Health Science*, 20, 848-856.
- Li Li, L. Sun, Y. และ Li, J. (2007). Identification of natural compounds with anti-hepatitis B virus activity from *Rheum palmatum* L. ethanol extract. *Chemotherapy*, 53(5), 320-326.
- Li Shi, S. Yang, F. Wang, H. Su, J. Huang, F. และคณะ. (2018). A polysaccharide from *Eclipta prostrata* alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis through inhibiting Th17 cells. *Carbohydrate Polymers*, 201, 608-614.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.113>
- Li, W. Pang, X. Han, L. Zhou, Y. และ Cui, Y. (2018). Chemical constituents of *Eclipta prostrata*. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, 43(17), 3498.
- Lin Wu, C. F. Hsiao, N. W. Chang, C. Y. Li, S. W. Wan, L. และคณะ. (2008). Aloe-emodin is an interferon-inducing agent with antiviral activity against Japanese encephalitis virus and enterovirus 71. *International journal of antimicrobial agents*, 32(4), 355-359.
- Lin Yao, C. Lin, C. และ Lin, Y. (1996). Hepatoprotective activity of Taiwan folk medicine: *Eclipta prostrata* Linn. against various hepatotoxins induced acute hepatotoxicity. *Phytotherapy research*, 10(6), 483-490.
- Liu, Q. Zhao, H. Zhong, X. และ Jiang, J. (2012). *Eclipta prostrata* L. phytochemicals: isolation, structure elucidation, and their antitumor activity. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11), 4016-4022.
- Loder, P. B. Kamm, M. A. Nicholls, R. J. และ Phillips, R. K. S. (1994). Haemorrhoids: Pathology, pathophysiology and aetiology. *BJS (British Journal of Surgery)*, 81(7), 946-954. doi:10.1002/bjs.1800810707
- Lohsiriwat, V. (2012). Hemorrhoids: from basic pathophysiology to clinical management. *World journal of gastroenterology*, 18(17), 2009-2017.

doi:10.3748/wjg.v18.i17.2009

Lohsiriwat, V. (2013). Approach to Hemorrhoids. *Current Gastroenterology Reports*, 15(7).

doi:10.1007/s11894-013-0332-6

Lohsiriwat, V. (2015). Treatment of hemorrhoids: A coloproctologist's view. *World journal of gastroenterology*, 21(31), 9245-9252. doi:10.3748/wjg.v21.i31.9245

Lohsiriwat, V. (2019). 5 - Hemorrhoidal Disease. In Enrique Coss-Adame & Jose M.

Remes-Troche (Eds.), *Anorectal Disorders* (pp. 51-63): Academic Press.

Lu Wang, H. Lv, W. Xu, P. Zhu, J. Xie, J. และคณะ. (2011). Antibacterial properties of

anthraquinones extracted from rhubarb against *Aeromonas hydrophila*. *Fisheries Science*, 77(3), 375.

Lu Zhang, C. Wu, W. Zhou, M. Tang, Y. และ Peng, Y. (2015). Rhubarb extract has a protective role against radiation-induced brain injury and neuronal cell apoptosis.

Molecular medicine reports, 12(2), 2689-2694.

Luo, Q. Ding, J. Zhu, L. Chen, F. และ Xu, L. (2018). Hepatoprotective effect of

wedelolactone against concanavalin A-induced liver injury in mice. *The American journal of Chinese medicine*, 46(04), 819-833.

Mahajan, H. Singh, D. A. Singh, H. Jain, S. K. Namarta, K. และ Singh, J. (2019). Scientific

validation of the antimicrobial and antiproliferative potential of *Clerodendrum serratum* (L.) Moon, its phytoconstituents and their biosafety by acute oral toxicity study. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-11.

Manach, C. Scalbert, A. Morand, C. Rémésy, C. และ Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food

sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.

Mansoorali, K. P. Prakash, T. Kotresha, D. Prabhu, K. และ Rama Rao, N. (2012).

Cerebroprotective effect of *Eclipta alba* against global model of cerebral ischemia induced oxidative stress in rats. *Phytomedicine*, 19(12), 1108-1116.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.07.004>

Marques, C. F. S. Nahas, S. C. Nahas, C. S. R. Sobrado, C. W. Habr-Gama, A. และ Kiss,

D. R. (2006). Early results of the treatment of internal hemorrhoid disease by

- infraredcoagulation and elastic banding: a prospective randomized cross-overtrial. *Techniques in Coloproctology*, 10(4), 312-317. doi:10.1007/s10151-006-0299-5
- Mazlan, R. N. A. R. Zakaria, M. P. M. และ Rukayadi, Y. (2016). Antimicrobial activity of fingerroot [*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. A.] Extract against *Streptococcus mutans* and *streptococcus sobrinus*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 10, 1755.
- Mehta, M. Kaur, N. และ Bhutani, K. K. (2001). Determination of marker constituents from *Cissus quadrangularis* Linn. and their quantitation by HPTLC and HPLC. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 12(2), 91-95.
- Mohd, I. N. Bustamam, A. A. Ibrahim, A. S. Rasedee, A. Aspollah, S. M. Behnam, K. และ ศณษ. (2013). Boesenbergin A, a chalcone from *Boesenbergia rotunda* induces apoptosis via mitochondrial dysregulation and cytochrome c release in A549 cells in vitro: Involvement of HSP70 and Bcl2/Bax signalling pathways. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 87-97. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.08.008>
- Morgado, Pedro J. Suárez, José A. Gómez, Luis G. และ Morgado, Pedro J. (1988). Histoclinical basis for a new classification of hemorrhoidal disease. *Diseases of the Colon & Rectum*, 31(6), 474-480. doi:10.1007/BF02552621
- Morgan, E. David และ Wilson, Ian D. (1999). 8.05 - Insect Hormones and Insect Chemical Ecology. In Sir Derek Barton, Koji Nakanishi, & Otto Meth-Cohn (Eds.), *Comprehensive Natural Products Chemistry* (pp. 263-375). Oxford: Pergamon.
- Murkovic, M. (2003). PHENOLIC COMPOUNDS. In Benjamin Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)* (pp. 4507-4514). Oxford: Academic Press.
- Murthy, K. N. C. Vanitha, A. Swamy, M. M. และ Ravishankar, G. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of *Cissus quadrangularis* L. *J Med Food*, 6(3), 99-105.
- Nahid, A Neelabh, C. และ Kumar, N. (2017). Evaluation of antioxidant and antimicrobial potentials of *Eclipta prostrata* collected from the Nepal region. *The Pharma Innovation*, 6(11, Part A), 4.

- Naik, K. S. Gurushanthaiah, M. Kavimani, M. Prabhu, K. และ Lokanadham, S. (2018). Hepatoprotective Role of *Eclipta alba* against High Fatty Diet Treated Experimental Models - A Histopathological Study. *Maedica*, 13(3), 217-222. doi:10.26574/maedica.2018.13.3.217
- Neyrinck, A. M. Etxeberria, U. Taminiau, B. Daube, G. Hul, M. V. Everard, A. และคณะ. (2017). Rhubarb extract prevents hepatic inflammation induced by acute alcohol intake, an effect related to the modulation of the gut microbiota. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(1), 1500899. doi:10.1002/mnfr.201500899
- Ng, K. Bustamam, A. Sukari, M. A. Abdelwahab, S. I. Syam, M. Christopher, B. M. J. และคณะ. (2013). Induction of selective cytotoxicity and apoptosis in human T4-lymphoblastoid cell line (CEMss) by boesenbergin a isolated from boesenbergia rotunda rhizomes involves mitochondrial pathway, activation of caspase 3 and G2/M phase cell cycle arrest. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 41. doi:10.1186/1472-6882-13-41
- Ni, L. Meng, C. Q. และ Sikorski, J. A. (2004). Recent advances in therapeutic chalcones. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 14(12), 1669-1691. doi:10.1517/13543776.14.12.1669
- Nishioka, I. (1985). Biological activities and their active components of Rhubarb. *Kampo Medicine*, 35(3), 167-184.
- Noreen, R. Intisar, A. Ghaffar, A. Jabeen, F. Abid, M. A. Din, M. I. และคณะ. (2018). Constituents of Volatile Oil from Bark of *Clerodendrum serratum* (L.) and its Antibacterial Activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(1), 198-205. doi:10.1080/0972060X.2018.1449669
- Ovando, A. C. Hernández, M. d. L. P. Hernández, M. E. P. Rodríguez, J. A. และ Vidal, C. A. G. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, 113(4), 859-871.
- Panche, A. N. Diwan, A. D. และ Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47-e47. doi:10.1017/jns.2016.41
- Pandey, P. S. Upadhyay, K. K. และ Pandey, D. N. (1997). Experimental evaluation of the

- analgesic property of *eclipta alba* (L) hassk. *Ancient science of life*, 17(1), 36-40.
- Panpimanmas, S. Sithipongsri, S. Sukdanon, C. และ Manmee, C. (2010). Experimental comparative study of the efficacy and side effects of *Cissus quadrangularis* L.(Vitaceae) to Daflon (Servier) and placebo in the treatment of acute hemorrhoids. *Medical journal of the Medical Association of Thailand*, 93(12), 1360.
- Panthong, A. Supraditaporn, W. Kanjanapothi, D. Taesotikul, T. และ Reutrakul, V. (2007). Analgesic, anti-inflammatory and venotonic effects of *Cissus quadrangularis* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(2), 264-270.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.018>
- Park, C. Jung, I. และ Lee, S. (2005). The Effects of *Rheum palmatum* (RHP) Extract on the the Alzheimer's Disease Model. *Journal of Oriental Neuropsychiatry*, 16(1), 67-80.
- Patel, J. J. Acharya, S. R. และ Acharya, N. S. (2014). *Clerodendrum serratum* (L.) Moon. – A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(2), 268-285.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.071>
- Pirshahid, P. A. Thisayakorn, C. Hemthanon, T. Suntornatanasat, T. Banchonglikitkul, C. Eiamwat, J. และคณะ. (2016). *Anti-hemorrhoid activities from Cissus quadrangularis L.*
- Potu, B. Kumar Bhat, K. M. R. Rao, M. S. Nampurath, G. K. Chamallamudi, M. R. Nayak, S. R. และคณะ. (2009). Petroleum ether extract of *Cissus quadrangularis* (Linn.) enhances bone marrow mesenchymal stem cell proliferation and facilitates osteoblastogenesis. *Clinics*, 64(10), 993-998.
- Prasad, G. C. และ Udupa, K. N. (1972). Pathways and site of action of a phytogetic steroid from *Cissus quadrangularis*. *Journal of Research in Indian Medicine*, 4, 132.
- Pukumpuang, W. Chansakaow, S. และ Tragoolpua, Y. (2014). Antioxidant activity, phenolic compound content and phytochemical constituents of *Eclipta prostrata* (Linn.) Linn. *Chiang Mai J Sci*, 41(3), 568-576.
- Rajagopal, S. S. Vazhayil, B. K. Varghese, L. และ Nanjaian, M. (2017). Development and

- Validation of RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Apigenin and Luteolin in Ethanol Extract of *Clerodendrum serratum* (Linn.) Leaves. *Asian Journal of Applied Sciences*, 5(01), 53-60.
- Raman, M. S. และ Rashid, M. A. (2008). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Eclipta prostrata*. *Oriental Pharm Exp Med*, 8, 47-52.
- Rao, D. Bhaskar Kiran, Ch Ravi Madhavi, Y. Rao, P. Koteswara และ Rao, T. Raghava. (2009). Evaluation of antioxidant potential of *Clitoria ternata* L. and *Eclipta prostrata* L.
- Rekha, G.V.S. และ Devika, P.T. (2019). Antioxidant activities and GC-MS analysis of ethanol extract of creeper stems of *Cissus quadrangularis* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 760-765.
- Ren, M. Chen, R. Zhou, Q. และ Pan, L. (2014). Comparative study of antibacterial properties of emodin and enrofloxacin against *Aeromonas hydrophila*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*.
- Riss, S. Weiser, F. A. Schwameis, K. Riss, T. Mittlbock, M. Steiner, G. และคณะ. (2012). The prevalence of hemorrhoids in adults. *Int J Colorectal Dis*, 27(2), 215-220. doi:10.1007/s00384-011-1316-3
- Sahu, N. K. Balbhadra, S. S. Choudhary, J. และ Kohli, D. V. (2012). Exploring Pharmacological Significance of Chalcone Scaffold: A Review. *Current Medicinal Chemistry*, 19(2), 209-225. doi:<http://dx.doi.org/10.2174/092986712803414132>
- Sammour, T. Barazanhi, A. W. H. Hill, A. G. Bonnet, F. Fischer, B. Joshi, G. และคณะ. (2017). Evidence-Based Management of Pain After Excisional Haemorrhoidectomy Surgery: A PROSPECT Review Update. *World Journal of Surgery*, 41(2), 603-614. doi:10.1007/s00268-016-3737-1
- Sanyal, Ambarish Ahmad, Absar และ Sastry, Murali. (2005). Calcite growth in *Cissus quadrangularis* plant extract, a traditional Indian bonehealing aid. *CURRENT SCIENCE-BANGALORE*-, 89(10), 1742.
- Saraithong, P. Saenphet, S. และ Saenphet, K. (2010). Safety evaluation of ethanol extracts from *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. in male rats. *Trends Research in Science*

and Technology, 2(1), 19-22.

Sawant, M. Isaac, J. C. และ Narayanan, S. (2004). Analgesic studies on total alkaloids and alcohol extracts of *Eclipta alba* (Linn.) Hassk. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(2), 111-113.

Saxena, A. K. Singh, B. และ Anand, K. K. (1993). Hepatoprotective effects of *Eclipta alba* on subcellular levels in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 40(3), 155-161.

Sebti, S. Solhy, A. Smahi, A. Kossir, A. และ Oumimoun, H. (2002). Dramatic activity enhancement of natural phosphate catalyst by lithium nitrate. An efficient synthesis of chalcones. *Catalysis Communications*, 3, 335-339. doi:10.1016/S1566-7367(02)00137-1

Sen, S. P. (1966). STUDIES ON THE ACTIVE CONSTITUENTS OF *CISSUS QUADRANGULARIS*—II. *Current science*, 35(12), 317.

Shaikh, M. F. Sancheti, J. และ Sathaye, S. (2012). Phytochemical and pharmacological investigations of *Eclipta alba* (Linn.) Hassak leaves for antiepileptic activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 319-323.

Sharma, S. K. Mohammed, A. Ansari, S. H. และ Jyoti, G. (2000). Evaluation of Indian herbal hepatoprotective drugs. *Hamdard Medicus*, 43(2), 39-58.

Shia, C. Juang, S. Tsai, S. Chang, P. Kuo, S. Hou, Y. และคณะ. (2009). Metabolism and pharmacokinetics of anthraquinones in *Rheum palmatum* in rats and ex vivo antioxidant activity. *Planta medica*, 75(13), 1386-1392.

Shireen, A. P. Muraleedharan, K. และ Mujeeb, A. V. M. (2017). Identification of flavanones from *Boesenbergia rotunda* as potential antioxidants and monoamine oxidase B inhibitors. *Chemical Papers*, 71(12), 2473-2483. doi:10.1007/s11696-017-0241-5

Shirwaikar, A. Khan, S. และ Malini, S. (2003). Antiosteoporotic effect of ethanol extract of *Cissus quadrangularis* Linn. on ovariectomized rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(2), 245-250. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.08.004>

Singh Antil, R. Kumar, D. และ Dahiya, P. (2019). Phytochemical analysis and In-vitro assays for antimicrobial and antioxidant activity of Bhringraj herb *Eclipta prostrata*

- (L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 4527-4533.
- Singh Saxena, A. K. Chandan, B. K. Agarwal, S. G. และ Anand, K. K. (2001). In vivo hepatoprotective activity of active fraction from ethanolic extract of *Eclipta alba* leaves. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 45(4), 435-441.
- Singh และ Udupa, K. N. (1962). Studies on "Cissus Quadrangularis" in fracture by using phosphorus 32. III. *Indian journal of medical sciences*, 16, 926.
- Sinha, S. และ Raghuwanshi, R. (2016). Phytochemical screening and antioxidant potential of *Eclipta prostrata* (L) la valuable herb. *Int J Pharm Pharm Sci*, 8(3), 255-260.
- Solapure, P. Pradeep, R. M. และ Hegde, P. L. (2016). Comparative antiinflammatory activity of *Clerodendrum serratum* (Linn) Moon and *Solanum xanthocarpum* Schrad and Wendl in wistar ablino rats. *The Journal of Phytopharmacology*, 5(2), 38-44.
- Srisook, K. Palachot, M. Mongkol, N. Srisook, E. และ Sarapusit, S. (2011). Anti-inflammatory effect of ethyl acetate extract from *Cissus quadrangularis* Linn may be involved with induction of heme oxygenase-1 and suppression of NF- κ B activation. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(3), 1008-1014.
- Sung, B. Prasad, S. Gupta, S. C. Patchva, S. และ Aggarwal, B. B. (2012). Chapter 3 - Regulation of Inflammation-Mediated Chronic Diseases by Botanicals. In Lie-Fen Shyur & Allan S. Y. Lau (Eds.), *Advances in Botanical Research* (Vol. 62, pp. 57-132): Academic Press.
- Sureshkumar, S. Bhama, S. Kumar, T. Siva Chandrasekar, M. J. N. และ Rajesh, R. (2007). Analgesic activities of the medicinal plants of *Wedelia trilobata*, *Wedelia biflora* and *Eclipta alba* in standard experimental animal models. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 4(1), 201-206.
- Swati, M. Monalisa, J. และ Abhisek, P. A. L. (2013). Evaluation of antidepressant activity of *Eclipta alba* using animal models. *Asian J Pharm Clin Res*, 6(3), 118-120.
- Syam, M. Hasan, H. Y. Emad, S. Sayed, A. A. Aymen, A. Hassan, A. A. และคณะ. (2020). Ameliorative effect of Boesenbergin A, a chalcone isolated from *Boesenbergia rotunda* (Fingerroot) on oxidative stress and inflammation in ethanol-induced

gastric ulcer in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 261, 113104.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113104>

- Taechowisan, T. Chaisaeng, S. และ Phutdhawong, W. S. (2017). Antibacterial, antioxidant and anticancer activities of biphenyls from *Streptomyces* sp. BO-07: an endophyte in *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf A. *Food and Agricultural Immunology*, 28(6), 1330-1346. doi:10.1080/09540105.2017.1339669
- Takeoka, G. R. Dao, L. Harden, L. Pantoja, A. และ Kuhl, J. C. (2013). Antioxidant activity, phenolic and anthocyanin contents of various rhubarb (*Rheum* spp.) varieties. *International journal of food science & technology*, 48(1), 172-178.
- Tambe, R. Patil, A. Jain, P. Sancheti, J. Somani, G. และ Sathaye, S. (2017). Assessment of luteolin isolated from *Eclipta alba* leaves in animal models of epilepsy. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 264-268.
- Tan, E. C. Lee, Y. K. Chee, C. F. Heh, C. H. Wong, S. M. Christina, L. P. T. และคณะ. (2012). *Boesenbergia rotunda*: From Ethnomedicine to Drug Discovery. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1-25. doi:10.1155/2012/473637
- Tanaka, T. Makita, H. Kawabata, K. Mori, H. Kakumoto, M. Satoh, K. และคณะ. (1997). Chemoprevention of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis By the naturally occurring flavonoids, diosmin and hesperidin. *Carcinogenesis*, 18, 957-965.
- Tang, T. Yin, L. Yang, J. และ Shan, G. (2007). Emodin, an anthraquinone derivative from *Rheum officinale* Baill, enhances cutaneous wound healing in rats. *European journal of pharmacology*, 567(3), 177-185.
- Teethaisong, Y. Pimchan, T. Srisawat, R. Hobbs, G. และ Eumkeb, G. (2018). *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. extract potentiates the antibacterial activity of some β -lactams against β -lactam-resistant staphylococci. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12, 207-213. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.10.019>
- Tewtrakul, S. Subhadhirasakul, S. Cheenpracha, S. และ Karalai, C. (2007). HIV-1 protease and HIV-1 integrase inhibitory substances from *Eclipta prostrata*. *Phytotherapy*

Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 21(11), 1092-1095.

Thanapongsathorn, W. และ Vajrabukka, T. (1992). Clinical trial of oral diosmin (Daflon®) in the treatment of hemorrhoids. *Diseases of the Colon & Rectum*, 35(11), 1085-1088. doi:10.1007/BF02253000

Thawornkuno, C. (2014). ไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง: ชีวเคมี กลไกการออกฤทธิ์และความเกี่ยวข้องในการป้องกันมะเร็งเต้านม (Soy isoflavones: Biochemistry, mechanism of action and implication for breast cancer preventions). *Genomics and Genetics*, 7(1), 7-15.

The United States of Pharmacopoeia. (2020). <621> Chromatography. Retrieved from สืบค้นจาก https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-6C3DF8B8-D12E-4253-A0E7-6855670CDB7B_1_en-US?source=TOC

Thiangtham, J. (2003). *Determination of antioxidant constituents in the medicinal plant Cissus quadrangularis Linn*: Chulalongkorn University.

Thomson, W. H. (1975). The nature of haemorrhoids. *Br J Surg*, 62(7), 542-552. doi:10.1002/bjs.1800620710

Tuchinda, P. Reutrakul, V. Claeson, P. Pongprayoon, U. Sematong, T. Santisuk, T. และคณะ. (2002). Anti-inflammatory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. *Phytochemistry*, 59(2), 169-173. doi:[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00451-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00451-4)

Vazhayil, B. K. Rajagopal, S. S. Thangavelu, T. Swaminathan, G. และ Rajagounder, E. (2017). Neuroprotective effect of *Clerodendrum serratum* Linn. leaves extract against acute restraint stress-induced depressive-like behavioral symptoms in adult mice. *Indian journal of pharmacology*, 49(1), 34-41. doi:10.4103/0253-7613.201028

Vazhayil, B. K. Sundaram, R. S. Patel, D. Alex, A. R. Gomathi, S. Roy, P. และคณะ. (2016). In vitro Antioxidant Potential of Standardized Ethanol Extract of *Clerodendron serratum* Linn. Leaves. *Asian Journal of Chemistry*, 28(6), 1288-1292.

Vijay, P. และ Vijayvergia, R. (2010). Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activity of

- Cissus quadrangularis*. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2(1), 111-118.
- Vijayalakshmi, A. Kumar, P. R. Priyadarsini, S. S. และ Meenaxshi, C. (2013). In vitro antioxidant and anticancer activity of flavonoid fraction from the aerial parts of *Cissus quadrangularis* Linn. against human breast carcinoma cell lines. *Journal of Chemistry*, 2013.
- Vincente, A. R. Manganaris, G. A. Ortiz, C. M. Sozzi, G. O. และ Crisosto, C. H. (2014). Chapter 5 - Nutritional Quality of Fruits and Vegetables. In Wojciech J. Florkowski, Robert L. Shewfelt, Bernhard Brueckner, & Stanley E. Prussia (Eds.), *Postharvest Handling (Third Edition)* (pp. 69-122). San Diego: Academic Press.
- Viswanatha, S. A. H. M. Thippeswamy, A. H. M. Manjula, D. V. และ Mahendra, K. C. B. (2006). Some neuropharmacological effects of the methanolic root extract of *Cissus quadrangularis* in mice. *African Journal of Biomedical Research*, 9(2).
- Wang Fan, X. Tang, T. Fan, R. Zhang, C. Huang, Z. และคณะ. (2016). Rhein and rhubarb similarly protect the blood-brain barrier after experimental traumatic brain injury via gp91 phox subunit of NADPH oxidase/ROS/ERK/MMP-9 signaling pathway. *Scientific reports*, 6(1), 1-13.
- Wang Kong, W. Wang, H. Zhao, H. Xiao, H. Dai, C. และคณะ. (2011). Toxic effects caused by rhubarb (*Rheum palmatum* L.) are reversed on immature and aged rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(2), 216-220.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.12.008>
- Wang Li, D. Bao, C. You, J. Wang, Z. Shi, Y. และคณะ. (2008). Ultrasonic extraction and separation of anthraquinones from *Rheum palmatum* L. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(5), 738-746. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2007.12.008>
- Wang Li, L. Yang, H. Cheng, S. Zeng, Y. Nie, L. และคณะ. (2012). Chromatographic fingerprinting and quantitative analysis for the quality evaluation of Xinkeshu tablet. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2(6), 422-430.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2012.05.006>
- Wang Shi, G. Xin, X. Cao, M. Zhu, Y. และ Gao, Y. (2005). Anti-inflammatory and analgesic

- effects of *Herba eclipta prostrata* aqueous extract on mice [J]. *Journal of Taishan Medical College*, 6.
- Wang Zhao, H. Kong, W. Jin, C. Zhao, Y. Qu, Y. และคณะ. (2010). Microcalorimetric assay on the antimicrobial property of five hydroxyanthraquinone derivatives in rhubarb (*Rheum palmatum* L.) to *Bifidobacterium adolescentis*. *Phytomedicine*, 17(8), 684-689. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.10.009>
- Widyarman, A. S. Cynthia, E. Theodora, C. F. และ Amtha, R. (2019). Antibiofilm activity of temu kunci (*Boesenbergia rotunda*), an Indonesian medicinal plant extract, against root canal pathogens. *Drug Invention Today*, 12(11), 2486-2492.
- Wong, E. (1968). The role of chalcones and flavanones in flavonoid biosynthesis. *Phytochemistry*, 7(10), 1751-1758. doi:[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86646-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86646-7)
- Wongsatit, C. และ Sornthornchareonon, N. (2003). Ethnomedical uses of Thai Annonaceous plant (1). 25-32.
- Wu, D. และ Larsen, K. (2000). Zingiberaceae. *Fl. China*, 24, 322-377.
- Xi, F. Li, C. Han, J. Yu, S. Wu, Z. และ Chen, W. (2014). Thiophenes, polyacetylenes and terpenes from the aerial parts of *Eclipta prostrata*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 22(22), 6515-6522.
- Xie. (2000). On the feasibility of application of chromatographic fingerprint identification to herbal medication. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 22(6), 391-395.
- Xie Chen, S. Liang, Y. Wang, X. Tian, R. และ Upton, R. (2006). Chromatographic fingerprint analysis—a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine. *Journal of chromatography A*, 1112(1-2), 171-180.
- Xie และ Leung, A. Y. (2009). Understanding the traditional aspect of Chinese medicine in order to achieve meaningful quality control of Chinese materia medica. *Journal of chromatography A*, 1216(11), 1933-1940. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.08.045>
- Xu, X. Lu, H. Xia, Z. Fan, R. Zhang, C. Wang, Y. และคณะ. (2017). Rhein exhibits antioxidative effects similar to Rhubarb in a rat model of traumatic brain injury.

BMC complementary and alternative medicine, 17(1), 1-9.

- Yadav Arya, R. K. Dev, K. Sharma, C. Hossain, Z. Meena, S. และคณะ. (2017). Alcoholic extract of *Eclipta alba* shows in vitro antioxidant and anticancer activity without exhibiting toxicological effects. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.
- Yadav Ganeshpurkar, A. และ Rai, G. (2012). In vitro H⁺-K⁺ ATPase inhibitory potential of methanolic extract of *Cissus quadrangularis* Linn. *Pharmacognosy research*, 4(2), 123.
- Yang, D. An, Y. Jiang, X. Tang, D. Gao, Y. Zhao, H. และคณะ. (2011). Development of a novel method combining HPLC fingerprint and multi-ingredients quantitative analysis for quality evaluation of traditional chinese medicine preparation. *Talanta*, 85(2), 885-890. doi:<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.04.059>
- Yu, M. Zhu, J. Tang, H. Li, B. และ Zhang, X. (2001). The Preparation of Compound Rhubarb Granulation-Promoting and Wound-Healing Oil and Effect in the Treatment of Ulcer of Lower extremity Varix. *China Pharmacist*(2), 39.
- Zainin, N. S. Lau, K. Y. Zakaria, M. Son, R. Razis, A. F. A. และ Rukayadi, Y. (2013). Antibacterial activity of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. A. extract against *Escherichia coli*. *International Food Research Journal*, 20(6), 3319.
- Zhao, H. Gao, D. และ Gao, X. (2019). Rhubarb ameliorates cognitive dysfunction in a rat model of Alzheimer's disease through regulation of the intestinal microbiome. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, 6(3), 234-243. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jtcms.2019.08.004>
- Zhuang, C. Zhang, W. Sheng, C. Zhang, W. Xing, C. และ Miao, Z. (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical Reviews*, 117(12), 7762-7810. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00020
- กรกนก เอกโยธินวงศ์. (2020).ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกะเม็ง. *Thai Journal of Science and Technology*, 9(1), 45-57.
- กลุ่มนโยบายแห่งชาติด้านยา. (2548). ทำไมยาโรคริตส์ดวงทวารหนักชนิดรับประทานที่นิยมกัน เช่น ยา Daflon จึงไม่อยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2551
- กยสสิทธิ์ พิศนาคะ. (2544). ตำรายาพื้นบ้านและวิธีการรักษาโรคต่างๆ. กรุงเทพฯ: ไพลินบุ๊กเน็ต.

- การณินภา เพื่อกหนู. (2560). การศึกษาลายพิมพ์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของ *quercetin*, *isoquercetin* และ *quercitrin* จากเพชรสังฆาต. (ปริญญาานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต), มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, Retrieved from สืบค้นจาก http://thesis.swu.ac.th/swuthesis/Phar_Pro_Dev/Kannapa_P.pdf
- คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. (2561). ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่องบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2561. Retrieved from สืบค้นจาก <http://www.fda.moph.go.th/sites/drug/Shared%20Documents/New/nlem2561.PDF>.
- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (2017). กะเม็ง (ตัวเมีย). Retrieved from สืบค้นจาก https://pharmacy.mahidol.ac.th/newspdf/sirimedinfo/490_th.pdf
- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2553). กะเม็ง. Retrieved from สืบค้นจาก <http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=239>
- เต็ม สมิตินันท์. (2557). กรุงเทพฯ: สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักงานวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. กระจาย. Retrieved from สืบค้นจาก <http://clgc.agri.kps.ku.ac.th/resources/herb/boesenbergia.html>
- วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต. (2018). โกงน้ำเต้า. Retrieved from สืบค้นจาก <http://www.rsusite.com/thaipharmacy/?m=20181128>
- ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กะเม็ง. Retrieved from สืบค้นจาก <http://clgc.agri.kps.ku.ac.th/resources/herb/eclipta.html>
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2555). คู่มือการผลิตและประกันคุณภาพเภสัชตำรับ โรงพยาบาลจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติพุทธศักราช 2555 สืบค้นจาก http://ndi.fda.moph.go.th/uploads/original_file/คู่มือการผลิตและประกันคุณภาพเภสัชตำรับโรงพยาบาลสมุนไพร.pdf
- สำนักยาและวัตถุเสพติด. (2562a). GENERAL NOTICES. In *Thai Herbal Pharmacopoeia (THP) 2019* (pp. 3-8). Nonthaburi: Bureau of Drug and Narcotic.
- สำนักยาและวัตถุเสพติด. (2562b). เพชรสังฆาต (PHET SANGKHAT). In *Thai Herbal Pharmacopoeia (THP) 2019* (pp. 454-462). Nonthaburi: Department of Medical Sciences.
- เสี่ยม พงษ์บุญรอด. (2519). ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณของยาเทศและยาไทย. กรุงเทพฯ: เกษม

บรรณกิจ.

เสาวภาคย์ ธีราทง. (2014). วิธีวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของยา. *Journal of Science Ladkrabang*, 23(1), 120-137.

อุทยานธรรมชาติวิทยาสิรินธร. (2019). อัปเดตข่าวสาร. Retrieved from สืบค้นจาก https://pharmacy.mahidol.ac.th/newspdf/sirimedinfo/132_th.pdf





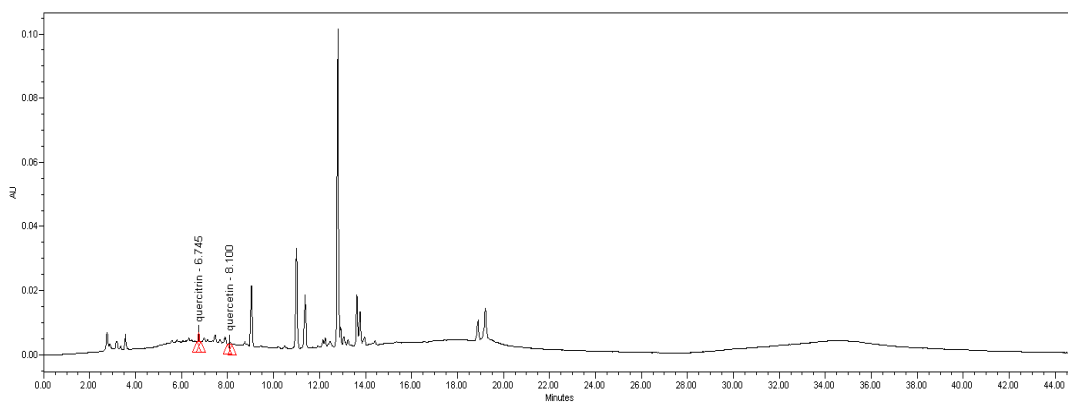
ตาราง 22 แสดงผลการทดสอบความเหมาะสมของ quercitrin ที่ความเข้มข้น 6 µg/mL

	Peak area	RT (min)	Symmetry factor	Column efficiency	Resolution
1	55235	6.703	1.2	64883	-
2	55741	6.709	1.2	66209	-
3	56768	6.714	1.2	65350	-
4	55803	6.711	1.2	64420	-
5	56138	6.710	1.2	65336	-
6	56121	6.710	1.2	64238	-
Average	55967.7	6.709	1.2	65072.7	-
SD	551.5	0.004	0.0	720.6	-
RSD	0.9	0.05	0.0	1.1	-

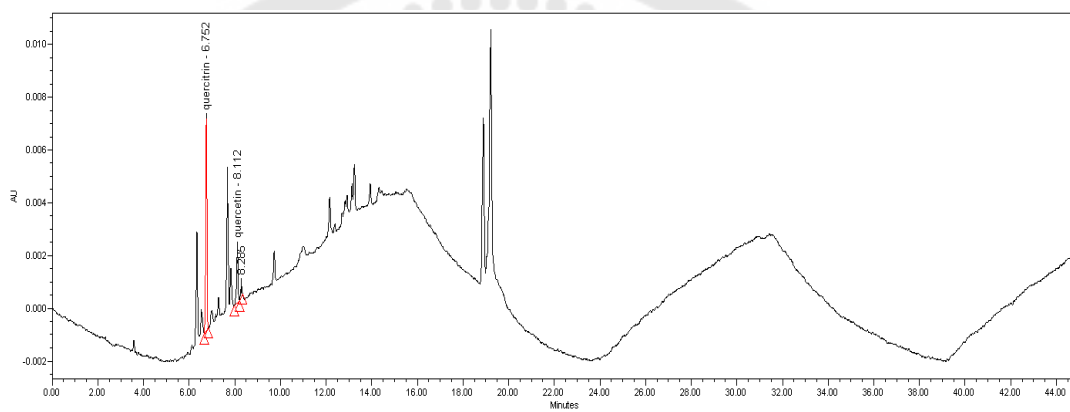
ตาราง 23 แสดงผลการทดสอบความเหมาะสมของ quercetin ที่ความเข้มข้น 6 µg/mL

	Peak area	RT (min)	Symmetry factor	Column efficiency	Resolution
1	56832	8.051	1.1	78411	12.1
2	57605	8.059	1.1	79504	12.2
3	58669	8.066	1.1	77902	12.1
4	57679	8.060	1.1	77248	12.0
5	57237	8.060	1.1	78416	12.1
6	57112	8.061	1.1	77505	12.0
Average	57522.33	8.060	1.1	78164.3	12.1
SD	643.8	0.004	0.0	807.7	0.08
RSD	1.1	0.06	0.0	1.0	0.6

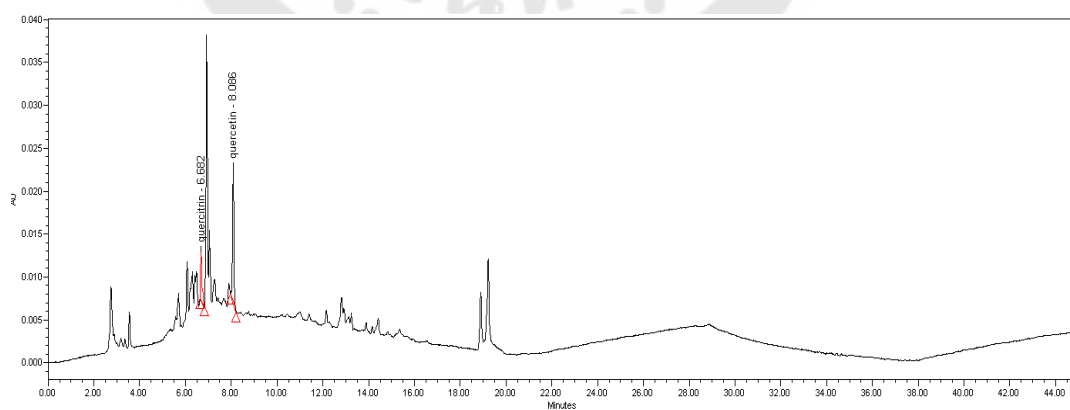




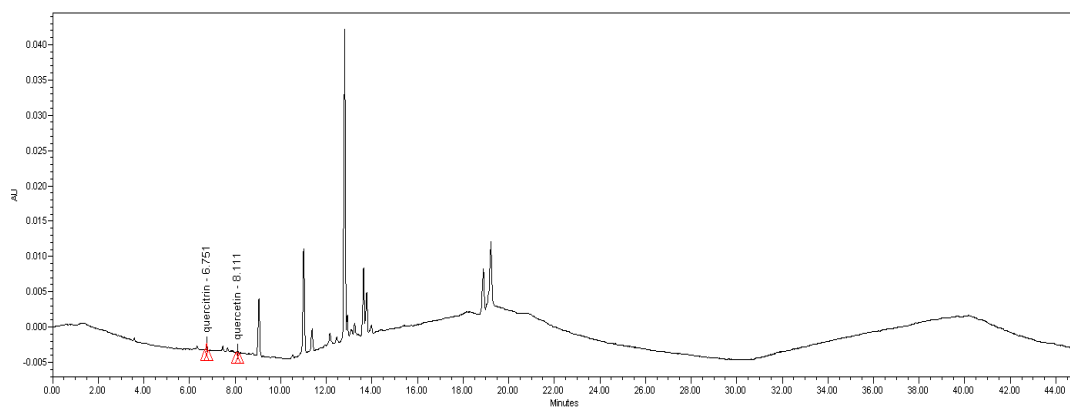
ภาพประกอบ 51 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรดั้งฆาตจากร้าน ก.



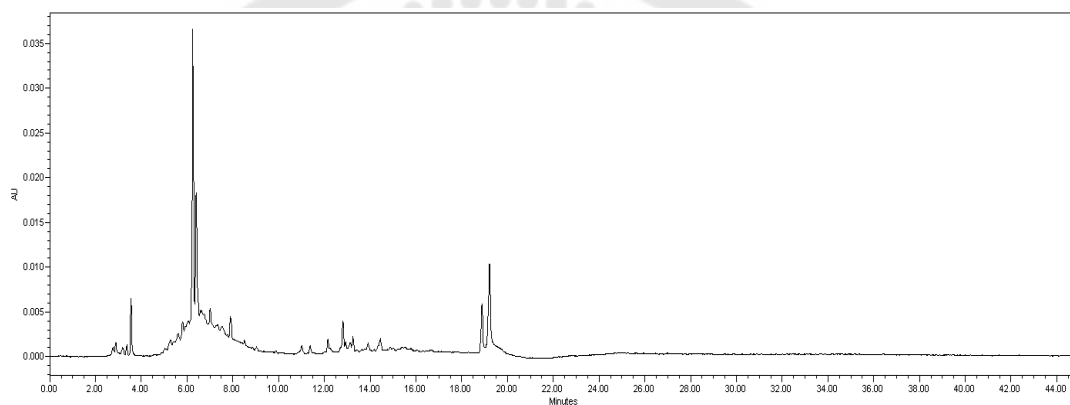
ภาพประกอบ 52 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกลูโน้เต้าจากร้าน ก.



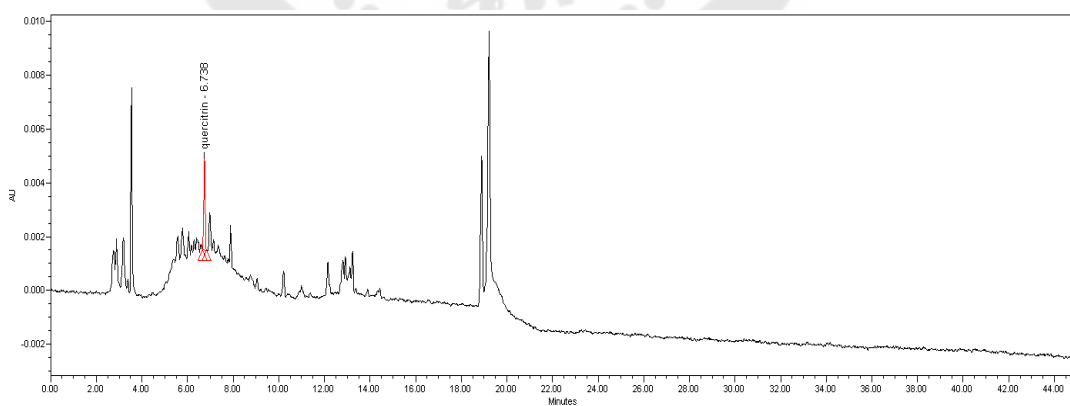
ภาพประกอบ 53 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน ก.



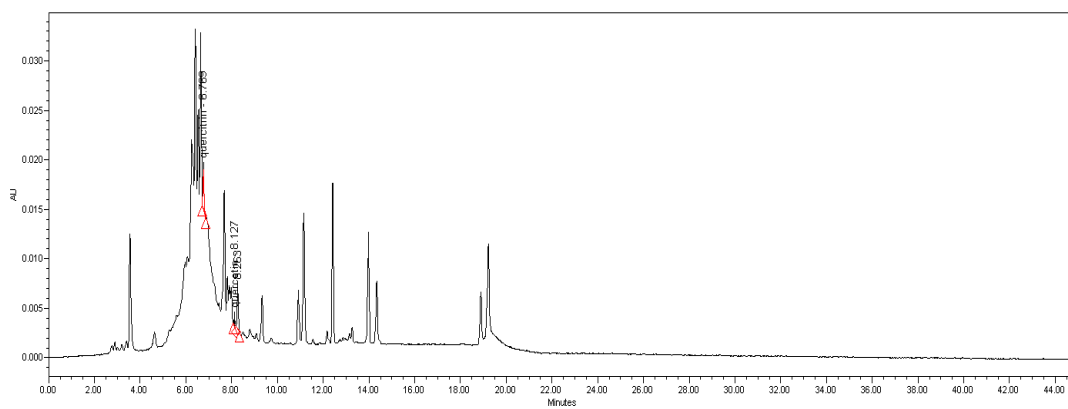
ภาพประกอบ 54 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน ก.



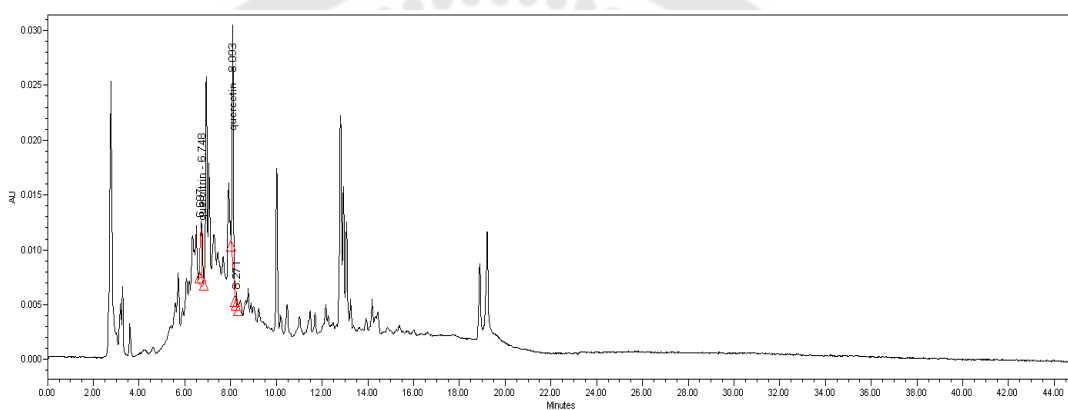
ภาพประกอบ 55 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัครคีทวารจากร้าน ก.



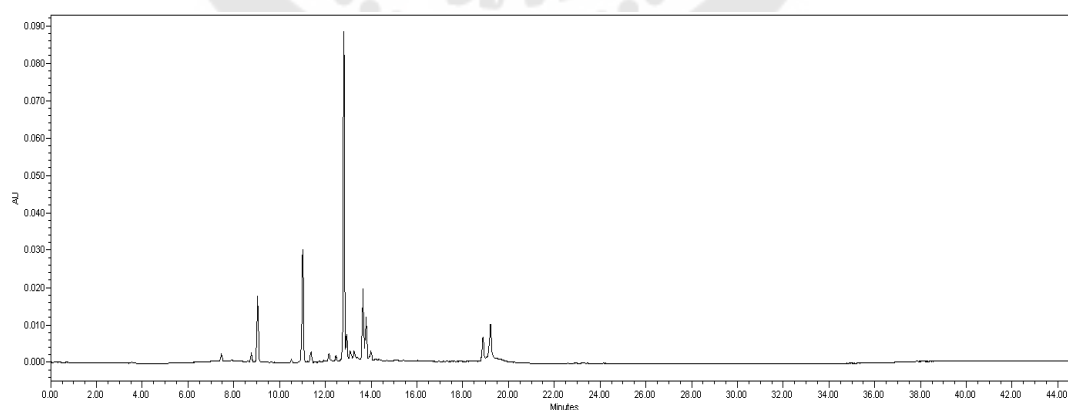
ภาพประกอบ 56 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน ข.



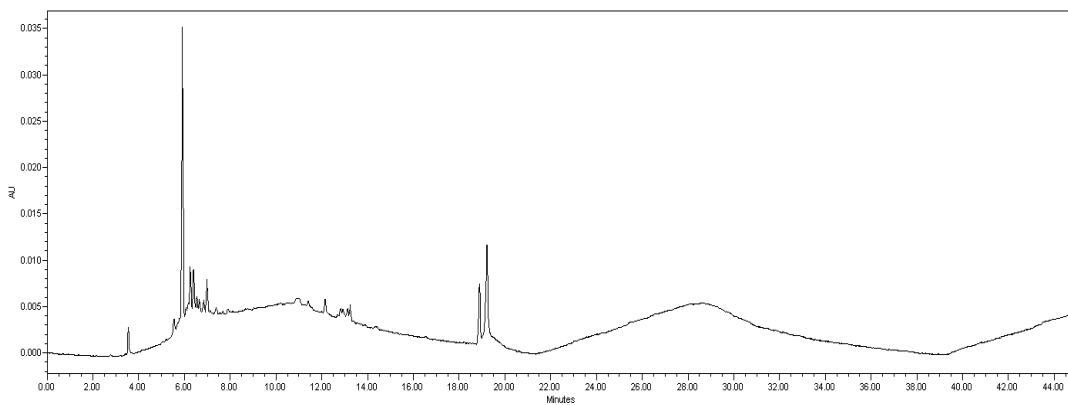
ภาพประกอบ 57 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกลู่น้ำเต้าจากร้าน ข.



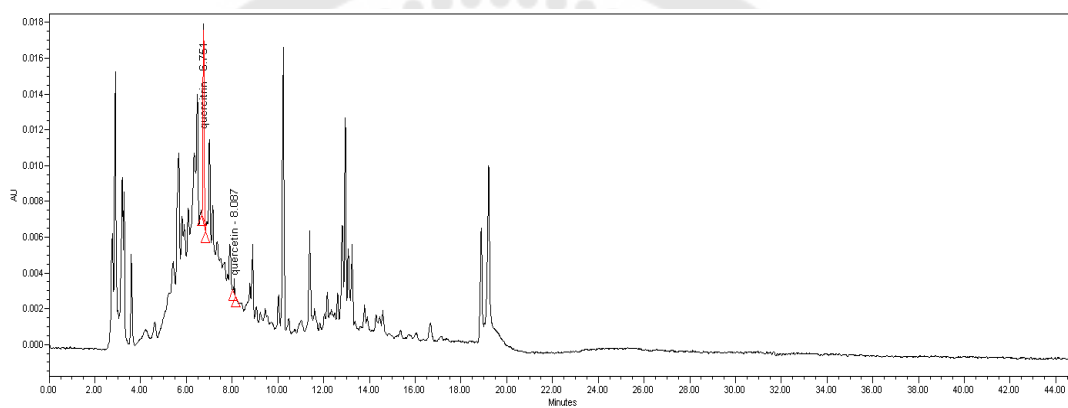
ภาพประกอบ 58 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน ข.



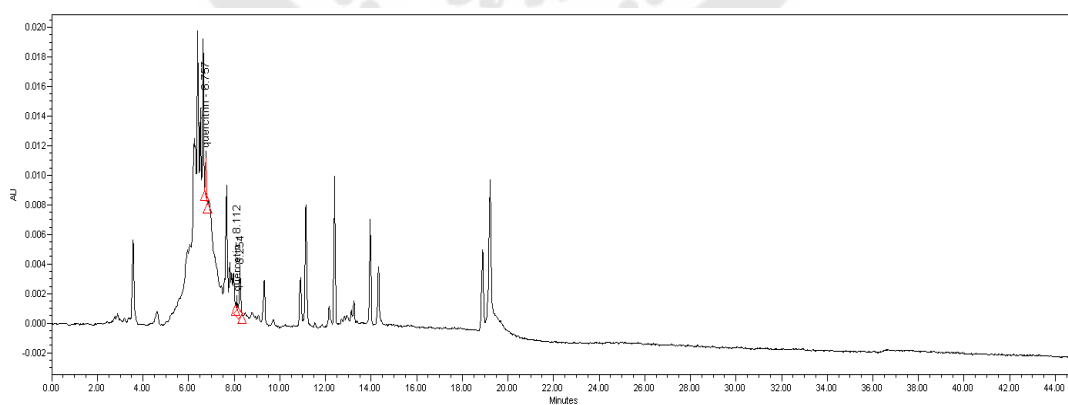
ภาพประกอบ 59 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน ข.



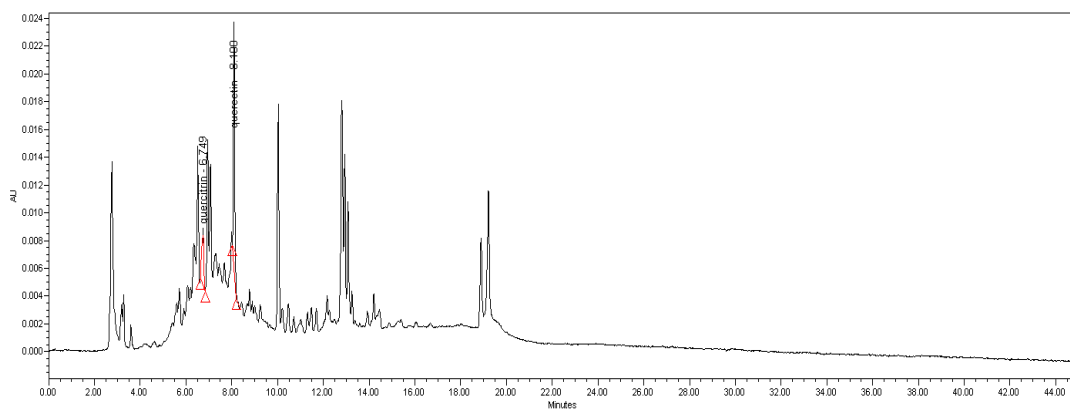
ภาพประกอบ 60 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัคคีทวารจากร้าน ข.



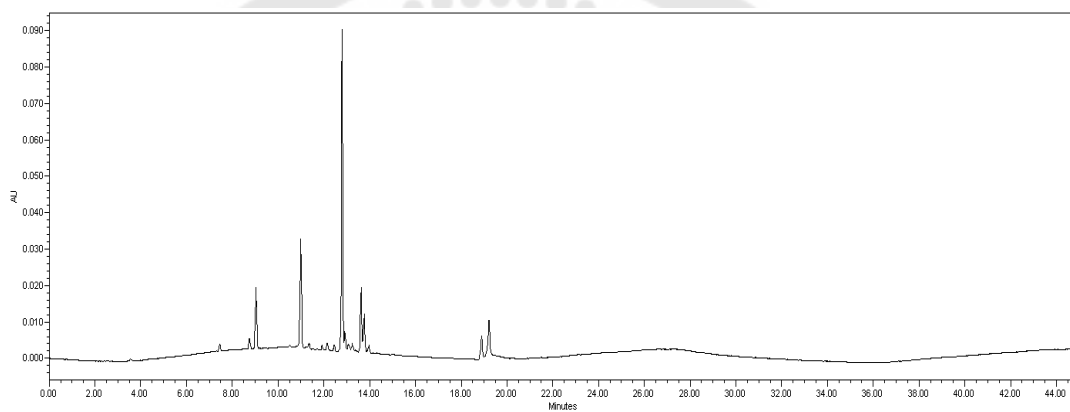
ภาพประกอบ 61 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน ค.



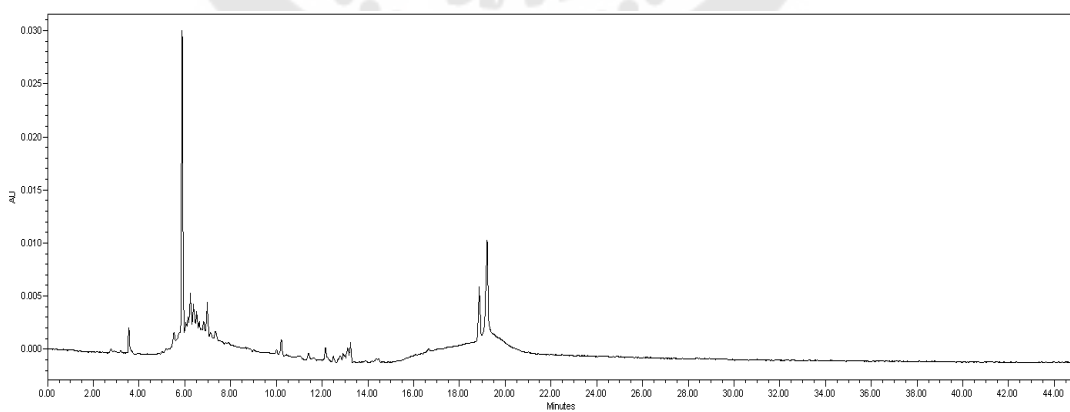
ภาพประกอบ 62 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกฐน้ำเต้าจากร้าน ค.



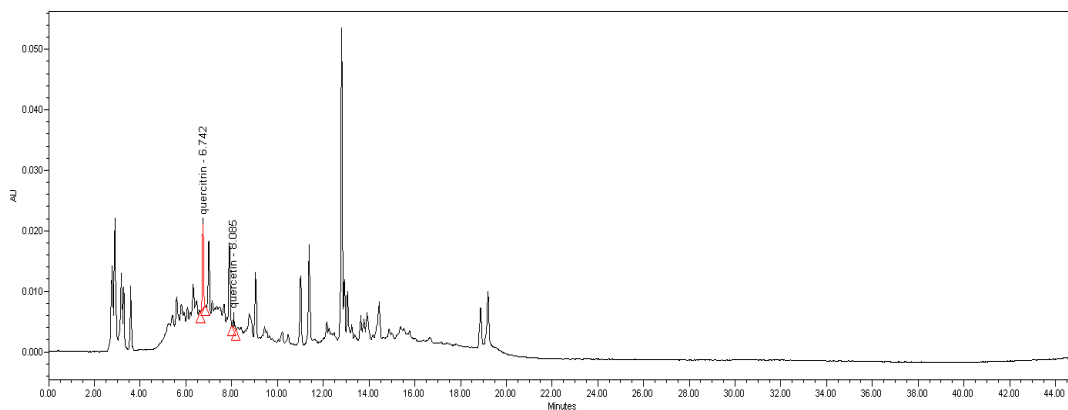
ภาพประกอบ 63 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน ค.



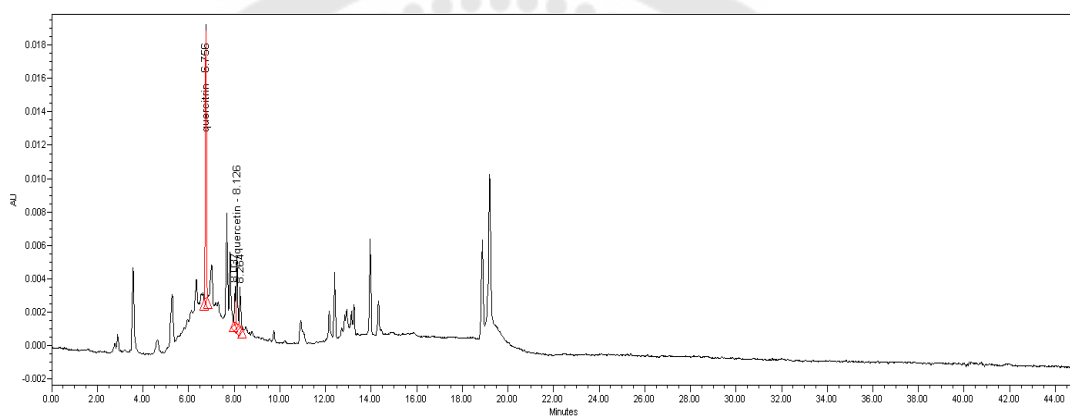
ภาพประกอบ 64 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน ค.



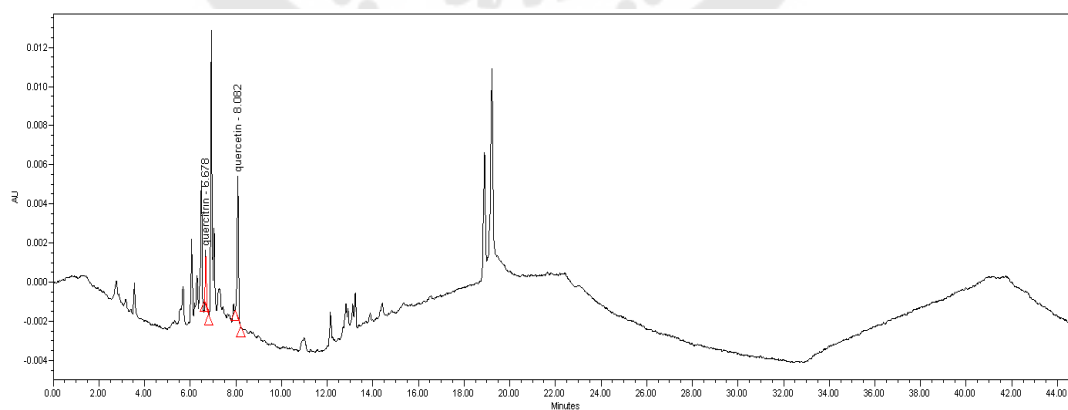
ภาพประกอบ 65 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัคคีทวารจากร้าน ค.



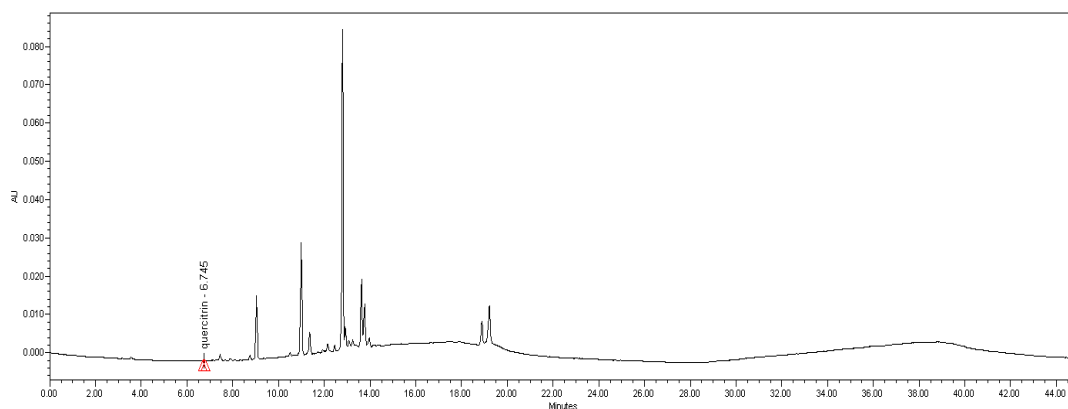
ภาพประกอบ 66 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน ง.



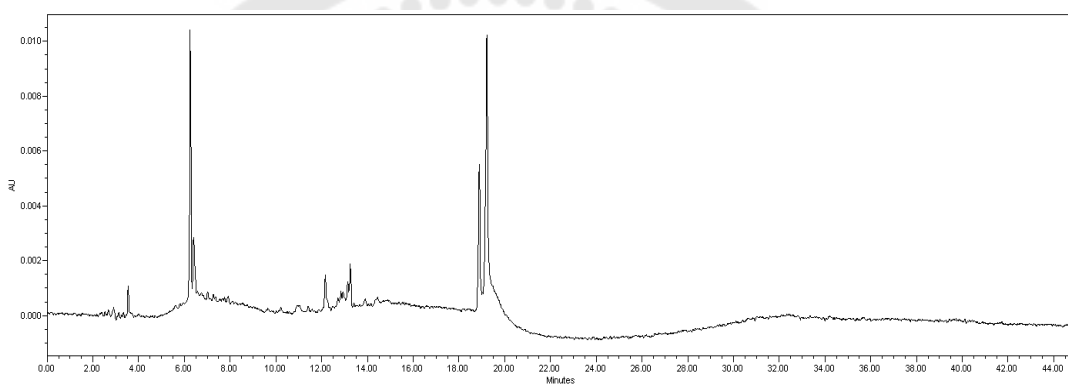
ภาพประกอบ 67 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกฐน้ำเต้าจากร้าน ง.



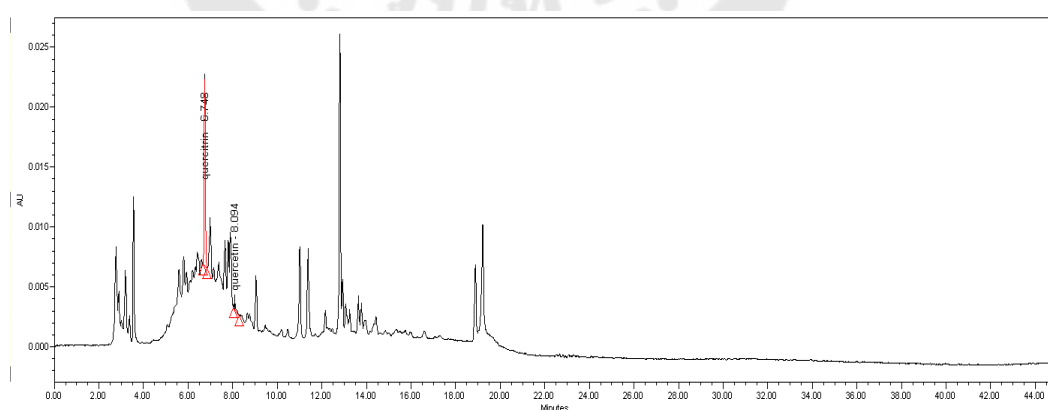
ภาพประกอบ 68 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน ง.



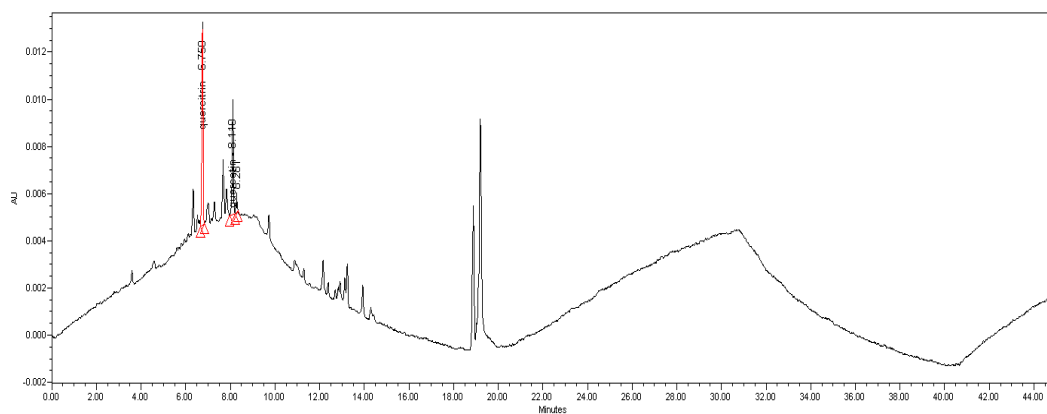
ภาพประกอบ 69 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน ง.



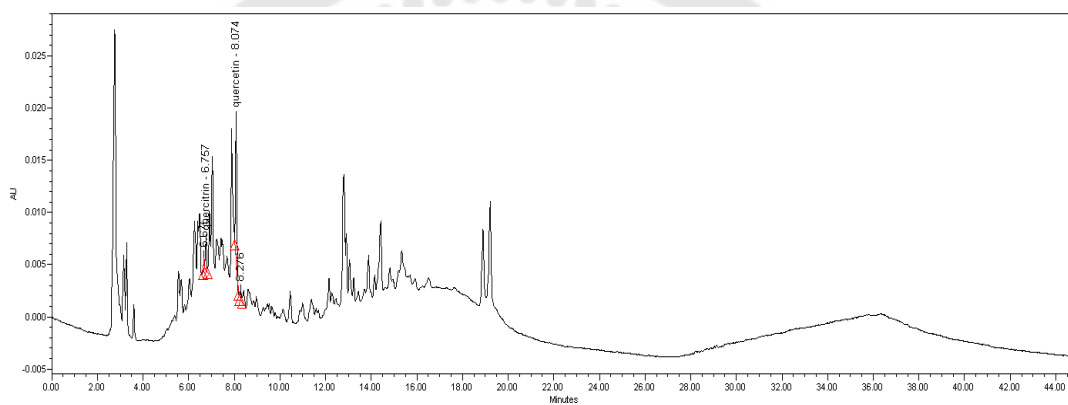
ภาพประกอบ 70 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัคคีทวารจากร้าน ง.



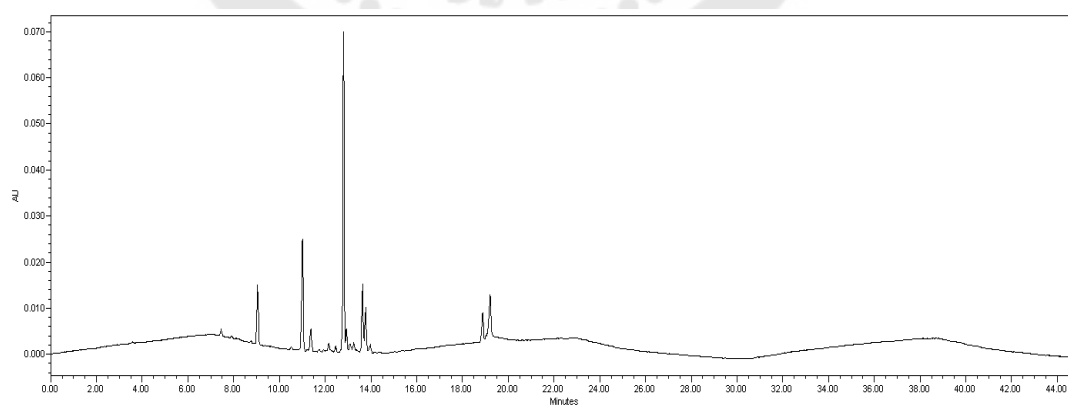
ภาพประกอบ 71 แสดง Chromatogram fingerprint ของเพชรสังฆาตจากร้าน จ.



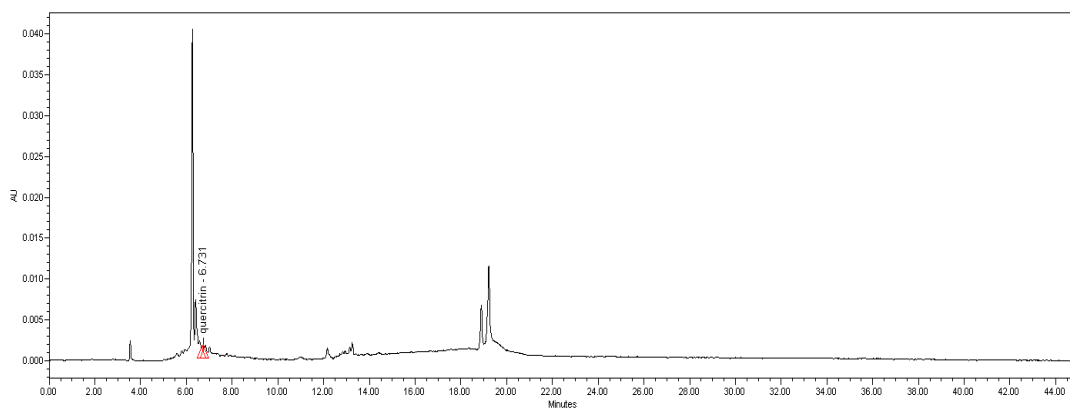
ภาพประกอบ 72 แสดง Chromatogram fingerprint ของโกลูโน้เต้าจากร้าน จ.



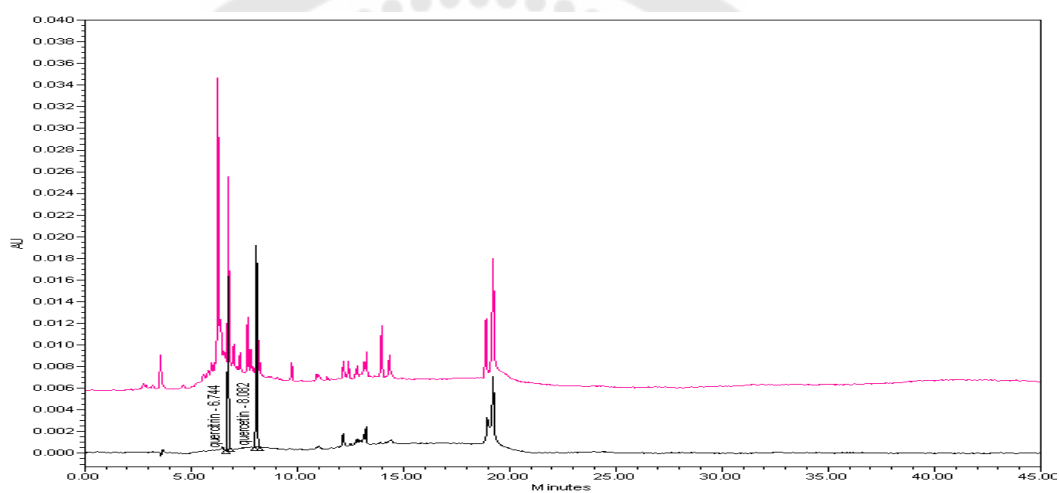
ภาพประกอบ 73 แสดง Chromatogram fingerprint ของกะเม็งจากร้าน จ.



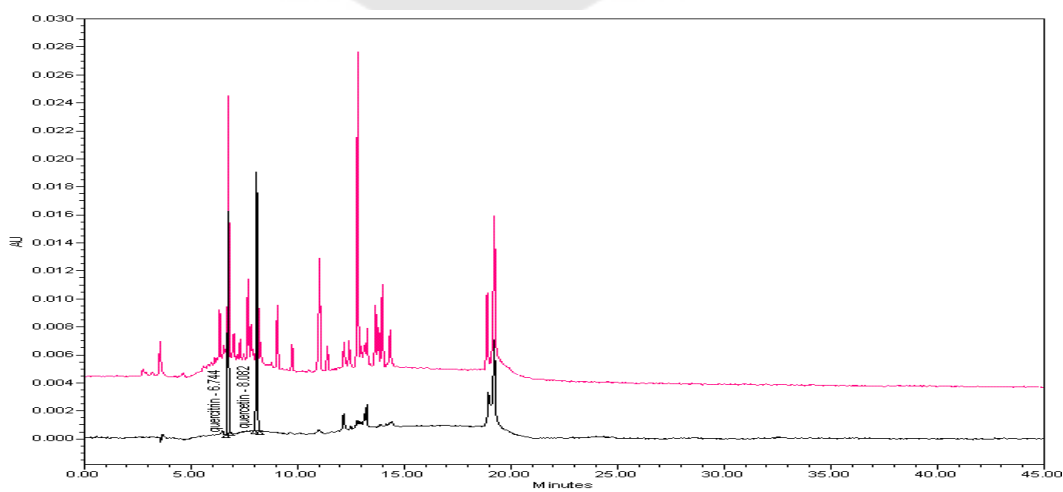
ภาพประกอบ 74 แสดง Chromatogram fingerprint ของกระชายจากร้าน จ.



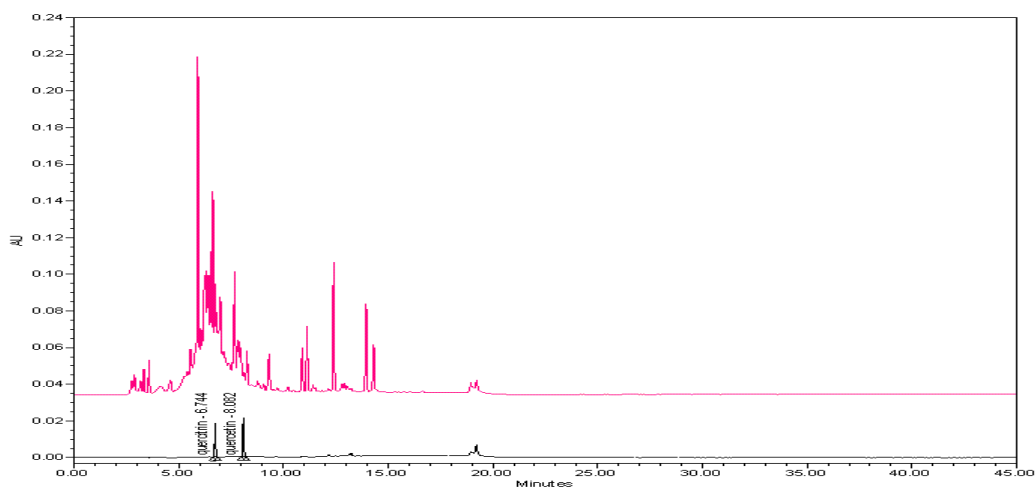
ภาพประกอบ 75 แสดง Chromatogram fingerprint ของอัครคีทวารจากร้าน จ.



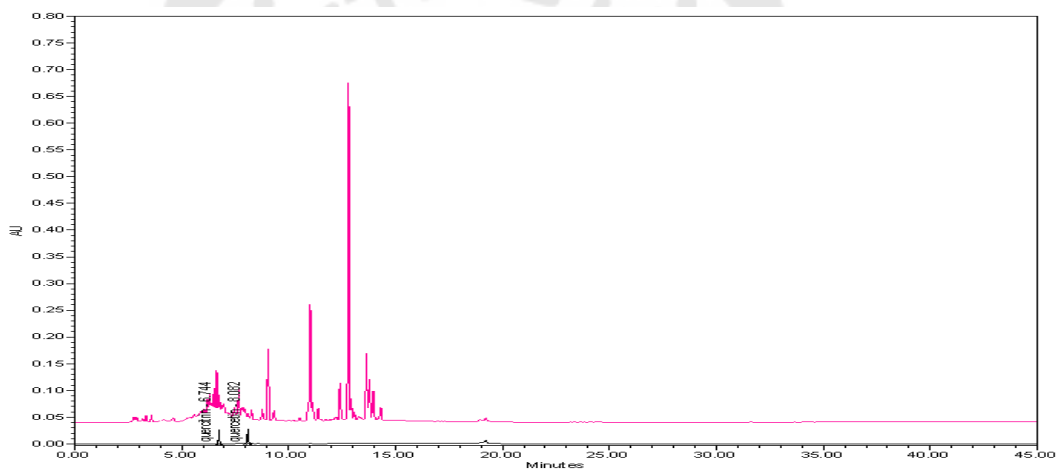
ภาพประกอบ 76 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ก.



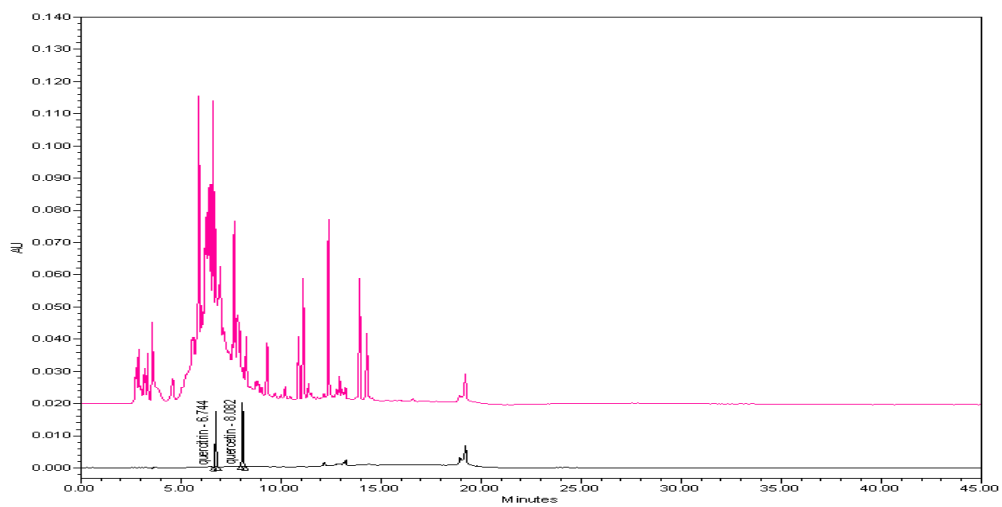
ภาพประกอบ 77 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ก.



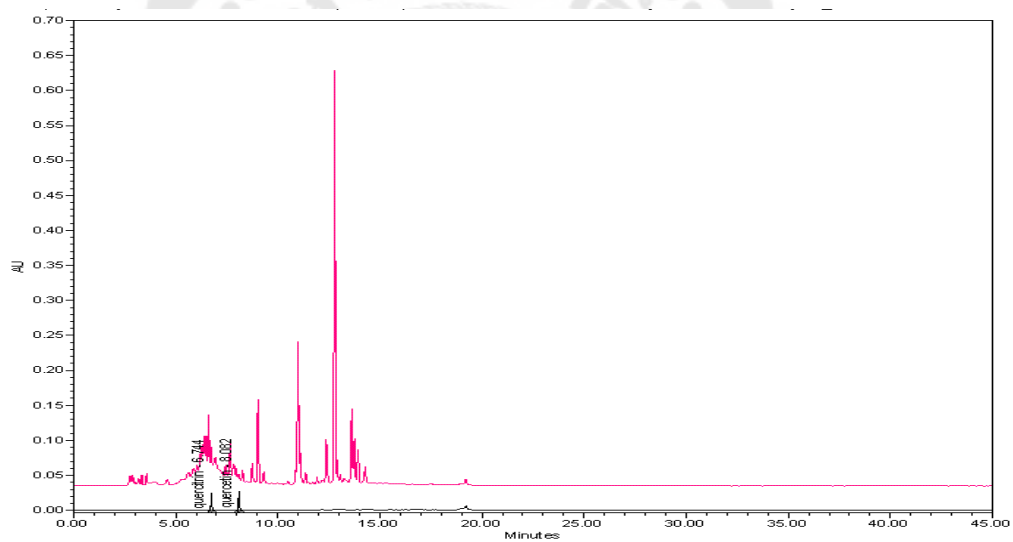
ภาพประกอบ 78 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ข.



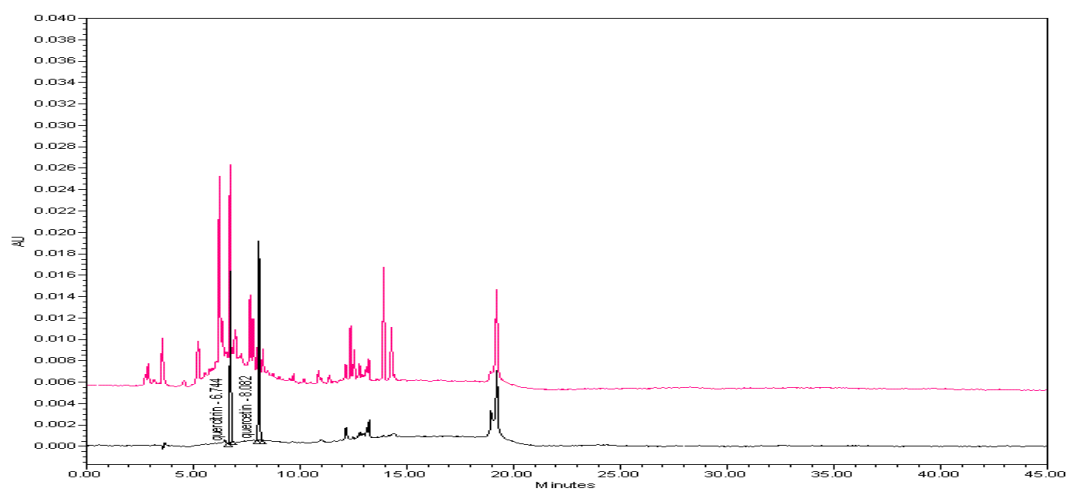
ภาพประกอบ 79 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ข.



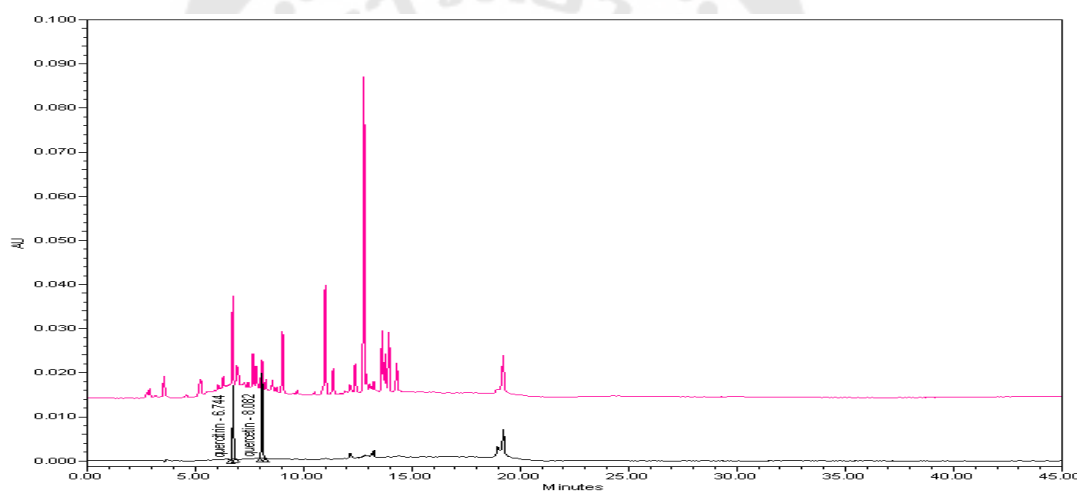
ภาพประกอบ 80 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ค.



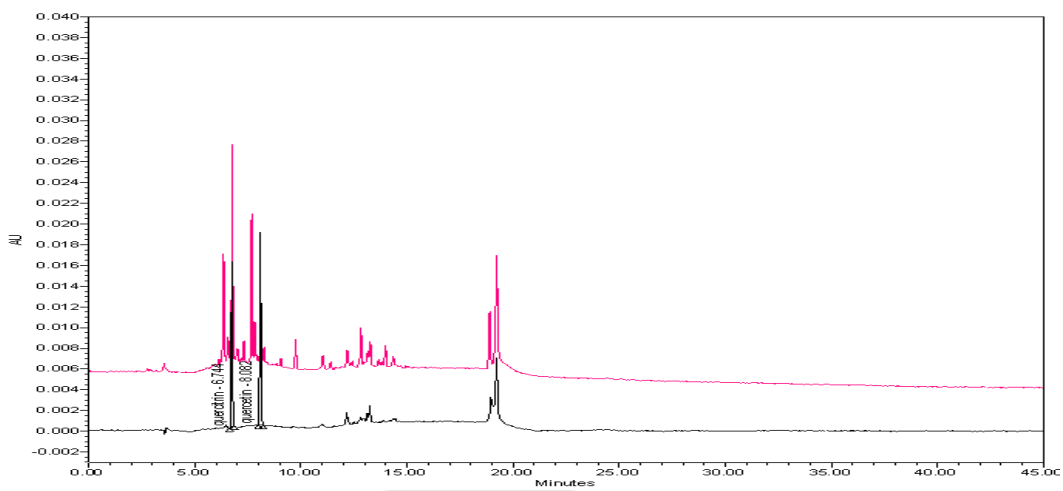
ภาพประกอบ 81 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ค.



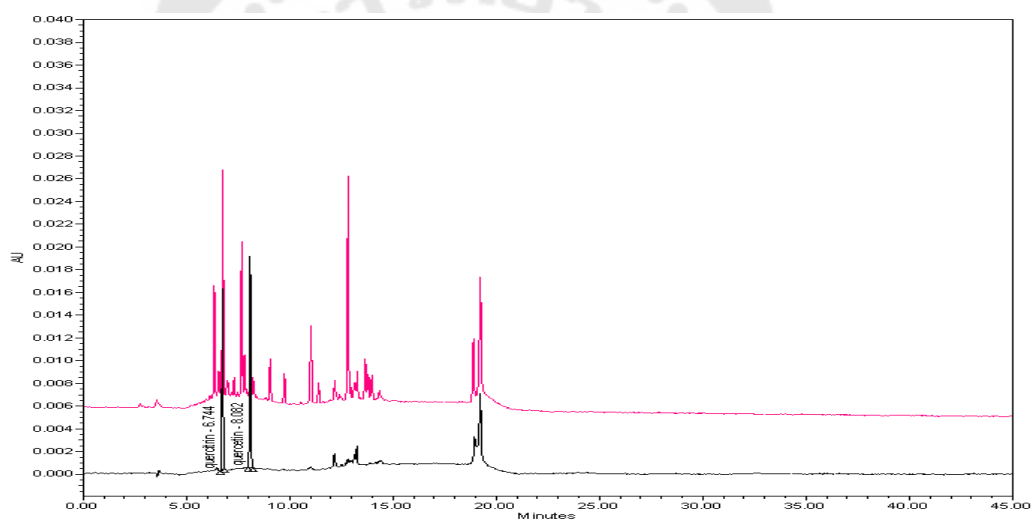
ภาพประกอบ 82 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน ง.



ภาพประกอบ 83 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน ง.



ภาพประกอบ 84 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 1 จากร้าน จ.



ภาพประกอบ 85 แสดง chromatogram ยาผสมเพชรสังฆาตสูตร 2 จากร้าน จ.



ภาคผนวก ข

ตาราง 24 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณสาร quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตแต่ละสูตร

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
สูตร 1	15	1321.4393	1377.2783	355.6117	558.7280	2084.1506	88.7489	3478.9355
สูตร 2	15	1283.7361	1376.7423	355.4733	521.3216	2046.1506	91.5797	3718.7587
Total	30	1302.5877	1353.1963	247.0587	797.2959	1807.8795	88.7489	3718.7587

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.051	1	28	.822

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10661.471	1	10661.471	.006	.941
Within Groups	53092407.830	28	1896157.422		
Total	53103069.300	29			

ตาราง 25 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณสาร quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตแต่ละสูตร

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
สูตร 1	15	361.7648	416.5392	107.5500	131.0931	592.4365	6.0902	943.3711
สูตร 2	15	360.1098	378.4377	97.7122	150.5380	569.6817	21.4185	914.3178
Total	30	360.9373	391.0243	71.3909	214.9264	506.9482	6.0902	943.3711

ตาราง 25 (ต่อ)

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.030	1	28	.319

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.541	1	20.541	.000	.991
Within Groups	4434080.295	28	158360.011		
Total	4434100.836	29			

ตาราง 26 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณรวมสาร quercitrin และ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตแต่ละสูตร

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
สูตร 1	15	1683.2041	1769.6199	456.9139	703.2212	2663.1869	97.7527	4241.0062
สูตร 2	15	1643.8459	1739.1931	449.0577	680.7129	2606.9790	113.0920	4550.8456
Total	30	1663.5250	1724.0737	314.7714	1019.7453	2307.3047	97.7527	4550.8456

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.148	1	28	.704

ตาราง 26 (ต่อ)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11617.964	1	11617.964	.004	.951
Within Groups	86188859.560	28	3078173.556		
Total	86200477.520	29			

ตาราง 27 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณ Total flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตแต่ละสูตร

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
สูตร1	15	19.0822	3.0950	.7991	17.3682	20.7961	15.0192	25.4556
สูตร2	15	20.5233	4.0194	1.0378	18.2974	22.7491	13.7007	27.0810
Total	30	19.8027	3.6001	.6573	18.4584	21.1470	13.7007	27.0810

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.933	1	28	.342

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.576	1	15.576	1.210	.281
Within Groups	360.289	28	12.867		
Total	375.864	29			

ตาราง 28 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณ quercitrin ในยาผสมเพชรสังฆาตจากแต่ละร้านขายสมุนไพร

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ร้าน ก.	6	2204.6961	211.0937	86.1786	1983.1668	2426.2253	1862.4473	2466.1871
ร้าน ข.	6	97.8965	8.8618	3.6178	88.5967	107.1964	88.7489	110.4304
ร้าน ค.	6	96.2854	3.6845	1.5042	92.4187	100.1520	91.5797	100.2017
ร้าน ง.	6	655.8243	23.6155	9.6410	631.0413	680.6073	629.4733	691.8484
ร้าน จ.	6	3458.2361	181.5516	74.1181	3267.7094	3648.7629	3214.6544	3718.7587
Total	30	1302.5876	1353.1963	247.0587	797.2959	1807.8795	88.7489	3718.7587

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.883	4	25	.000

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	52712212.570	4	13178053.140	842.895	.000
Within Groups	390856.726	25	15634.269		
Total	53103069.300	29			

ตาราง 28 (ต่อ)

Multiple Comparisons

LSD

(I) ร้านค้า	(J) ร้านค้า	Mean		Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
ร้าน ก.	ร้าน ข.	2106.7995*	72.1902	.000	1958.1211	2255.4780
	ร้าน ค.	2108.4107*	72.1902	.000	1959.7322	2257.0892
	ร้าน ง.	1548.8718*	72.1902	.000	1400.1933	1697.5502
	ร้าน จ.	-1253.5401*	72.1902	.000	-1402.2185	-1104.8616
ร้าน ข.	ร้าน ก.	-2106.7995*	72.1902	.000	-2255.4780	-1958.1211
	ร้าน ค.	1.6112	72.1902	.982	-147.0673	150.2896
	ร้าน ง.	-557.9278*	72.1902	.000	-706.6062	-409.2493
	ร้าน จ.	-3360.3396*	72.1902	.000	-3509.0181	-3211.6611
ร้าน ค.	ร้าน ก.	-2108.4107*	72.1902	.000	-2257.0892	-1959.7322
	ร้าน ข.	-1.6112	72.1902	.982	-150.2896	147.0673
	ร้าน ง.	-559.5389*	72.1902	.000	-708.2174	-410.8605
	ร้าน จ.	-3361.9508*	72.1902	.000	-3510.6293	-3213.2723
ร้าน ง.	ร้าน ก.	-1548.8718*	72.1902	.000	-1697.5502	-1400.1933
	ร้าน ข.	557.9278*	72.1902	.000	409.2493	706.6062
	ร้าน ค.	559.5389*	72.1902	.000	410.8605	708.2174
	ร้าน จ.	-2802.4118*	72.1902	.000	-2951.0903	-2653.7334
ร้าน จ.	ร้าน ก.	1253.5401*	72.1902	.000	1104.8615	1402.2185
	ร้าน ข.	3360.3396*	72.1902	.000	3211.6611	3509.0181
	ร้าน ค.	3361.9508*	72.1902	.000	3213.2723	3510.6293
	ร้าน ง.	2802.4118*	72.1902	.000	2653.7334	2951.0903

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตาราง 29 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตจากแต่ละร้านขายสมุนไพร

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ร้าน ก.	6	848.1345	125.2117	51.1174	716.7329	979.5361	638.3522	943.3711
ร้าน ข.	6	16.8055	7.8571	3.2077	8.5599	25.0510	9.0038	25.4382
ร้าน ค.	6	14.1991	8.6263	3.5217	5.1463	23.2519	6.0902	23.2222
ร้าน ง.	6	125.8879	34.2610	13.9870	89.9332	161.8426	88.9628	159.1589
ร้าน จ.	6	799.6595	36.6538	14.9639	761.1937	838.1254	750.7263	832.0869
Total	30	360.9373	391.0243	71.3909	214.9264	506.9482	6.0902	943.3711

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
14.889	4	25	.000

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4342443.692	4	1085610.923	296.106	.000
Within Groups	91657.145	25	3666.286		
Total	4434100.836	29			

ตาราง (29) ต่อ

Multiple Comparisons

LSD

(I) ร้อยค่า	(J) ร้อยค่า	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ร้อย ก.	ร้อย ข.	831.3290*	34.9585	.000	759.3307	903.3273
	ร้อย ค.	833.9354*	34.9585	.000	761.9371	905.9337
	ร้อย ง.	722.2466*	34.9585	.000	650.2483	794.2450
	ร้อย จ.	48.4750	34.9585	.178	-23.5233	120.4733
ร้อย ข.	ร้อย ก.	-831.3290*	34.9585	.000	-903.3274	-759.3307
	ร้อย ค.	2.6064	34.9585	.941	-69.3920	74.6047
	ร้อย ง.	-109.0824*	34.9585	.005	-181.0808	-37.0841
	ร้อย จ.	-782.8541*	34.9585	.000	-854.8524	-710.8557155
ร้อย ค.	ร้อย ก.	-833.9354*	34.9585	.000	-905.9337	-761.9370526
	ร้อย ข.	2.6064	34.9585	.941	-74.6047	69.3919852
	ร้อย ง.	-111.6888*	34.9585	.004	-183.6871	-39.6904310
	ร้อย จ.	-785.4604*	34.9585	.000	-857.4587	-713.4620657
ร้อย ง.	ร้อย ก.	-722.2466*	34.9585	.000	-794.2450	-650.2482861
	ร้อย ข.	109.0824*	34.9585	.005	37.0841	181.0807517
	ร้อย ค.	111.6888*	34.9585	.004	39.6904	183.6871019
	ร้อย จ.	-673.7716*	34.9585	.000	-745.7700	-601.7732992
ร้อย จ.	ร้อย ก.	48.4750	34.9585	.178	-120.4733	23.5233485
	ร้อย ข.	782.8541*	34.9585	.000	710.8557	854.8523863
	ร้อย ค.	785.4604*	34.9585	.000	713.4621	857.4587365
	ร้อย ง.	673.7716*	34.9585	.000	601.7733	745.7699700

* The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตาราง 30 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณรวม quercitrin และ quercetin ในยาผสมเพชรสังฆาตจากแต่ละร้านขายสมุนไพร

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ร้าน ก.	6	3052.8306	316.7216	129.3011	2720.4517	3385.2095	2610.8505	3391.4288
ร้าน ข.	6	114.7020	11.8772	4.8489	102.2376	127.1664	97.7527	132.5116
ร้าน ค.	6	110.4845	9.7330	3.9735	100.2703	120.6987	98.3630	123.4239
ร้าน ง.	6	781.7122	41.8142	17.0706	737.8309	825.5935	723.5613	845.7349
ร้าน จ.	6	4257.8957	196.5352	80.2352	4051.6446	4464.1467	4042.9807	4550.8456
Total	30	1663.5250	1724.0737	314.7714	1019.7453	2307.3047	97.7527	4550.8456

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
13.998	4	25	.000

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	85495863.030	4	21373965.760	758.357	.000
Within Groups	704614.491	25	28184.580		
Total	86200477.520	29			

ตาราง 30 (ต่อ)

Multiple Comparisons

LSD

(I) ร้อยค่า	(J) ร้อยค่า	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ร้อย ก.	ร้อย ข.	2938.1286*	96.9271	.000	2738.5035	3137.7537
	ร้อย ค.	2942.3461*	96.9271	.000	2742.7210	3141.9712
	ร้อย ง.	2271.1184*	96.9271	.000	2071.4933	2470.7435
	ร้อย จ.	-1205.0651*	96.9271	.000	-1404.6902	-1005.4400
ร้อย ข.	ร้อย ก.	-2938.1286*	96.9271	.000	-3137.7537	-2738.5035
	ร้อย ค.	4.2175	96.9271	.966	-195.4076	203.8426
	ร้อย ง.	-667.0102*	96.9271	.000	-866.6353	-467.3851
	ร้อย จ.	4143.1937*	96.9271	.000	4342.8187	3943.5686
ร้อย ค.	ร้อย ก.	-2942.3461*	96.9271	.000	-3141.9712	-2742.7210
	ร้อย ข.	4.2175	96.9271	.966	-203.8426	195.4076
	ร้อย ง.	-671.2277*	96.9271	.000	-870.8528	-471.6026
	ร้อย จ.	-4147.4112*	96.9271	.000	-4347.0362	-3947.7861
ร้อย ง.	ร้อย ก.	-2271.1184*	96.9271	.000	-2470.7435	-2071.4933
	ร้อย ข.	667.0102*	96.9271	.000	467.3851	866.6353
	ร้อย ค.	671.2277*	96.9271	.000	471.6026	870.8528
	ร้อย จ.	-3476.1835*	96.9271	.000	-3675.8085	-3276.5584
ร้อย จ.	ร้อย ก.	1205.0651*	96.9271	.000	1005.4400	1404.6902
	ร้อย ข.	4143.1937*	96.9271	.000	3943.5686	4342.8187
	ร้อย ค.	4147.4112*	96.9271	.000	3947.7861	4347.0362
	ร้อย ง.	3476.1835*	96.9271	.000	3276.5584	3675.8085

* The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตาราง 31 แสดงผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เปรียบเทียบปริมาณ Total flavonoids ในยาผสมเพชรสังฆาตจากแต่ละร้านขายสมุนไพร

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ร้าน ก.	6	24.4243	2.3147	.9450	21.9952	26.8534	20.8941	27.0810
ร้าน ข.	6	17.8240	2.8753	1.1738	14.8066	20.8414	14.6573	22.3426
ร้าน ค.	6	16.4986	2.9542	1.2060	13.3984	19.5988	13.7007	21.8079
ร้าน ง.	6	21.4861	2.0174	.8236	19.3690	23.6032	18.3441	23.7097
ร้าน จ.	6	18.7805	.81639	.3333	17.9238	19.6373	17.2311	19.5017
Total	30	19.8027	3.6001	.6573	18.4584	21.1470	13.7007	27.0810

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.210	4	25	.097

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	240.423	4	60.106	11.094	.000
Within Groups	135.441	25	5.418		
Total	375.864	29			

ตาราง 31 (ต่อ)

Multiple Comparisons

LSD

(I) ร้อยค่า	(J) ร้อยค่า	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ร้อย ก.	ร้อย ข.	6.6003*	1.3438	.000	3.8326	9.3680
	ร้อย ค.	7.9257*	1.3438	.000	5.1581	10.6934
	ร้อย ง.	2.9382*	1.3438	.038	.1705	5.7059
	ร้อย จ.	5.6438*	1.3438	.000	2.8761	8.4115
ร้อย ข.	ร้อย ก.	-6.6003*	1.3438	.000	-9.3680	-3.8326
	ร้อย ค.	1.3255	1.3438	.333	-1.4422	4.0931
	ร้อย ง.	-3.6621*	1.3438	.012	-6.4298	-.8944
	ร้อย จ.	-.9565	1.3438	.483	-3.7242	1.8111
ร้อย ค.	ร้อย ก.	-7.9257*	1.3438	.000	-10.6934	-5.1581
	ร้อย ข.	-1.3255	1.3438	.333	-4.0931	1.4422
	ร้อย ง.	-4.9876*	1.3438	.001	-7.7552	-2.2199
	ร้อย จ.	-2.2819	1.3438	.102	-5.0496	.4857
ร้อย ง.	ร้อย ก.	-2.9382*	1.3438	.038	-5.7059	-.1705
	ร้อย ข.	3.6621*	1.3438	.012	.8944	6.4298
	ร้อย ค.	4.9876*	1.3438	.001	2.2199	7.7552
	ร้อย จ.	2.7056	1.3438	.055	-.0621	5.4733
ร้อย จ.	ร้อย ก.	-5.6438*	1.3438	.000	-8.4114	-2.8761
	ร้อย ข.	.9565	1.3438	.483	-1.8112	3.7242
	ร้อย ค.	2.2819	1.3438	.102	-.4857	5.0496
	ร้อย ง.	-2.7056	1.3438	.055	-5.4733	.0621

* The mean difference is significant at the 0.05 level.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ณัษฐา อนุศิริ
วัน เดือน ปี เกิด	21 กุมภาพันธ์ 2533
สถานที่เกิด	ชลบุรี
วุฒิการศึกษา	พศ. 2556 เกษตรศาสตรบัณฑิต จาก มหาวิทยาลัยศิลปากร

