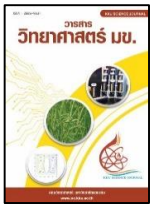
KKU SCIENCE JOURNAL

Journal Home Page : https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/KKUSciJ

Published by the Faculty of Science, Khon Kaen University, Thailand



ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลตำรับยาหอมทิพโอสถและพืชวัตถุในตำรับ

Acetylcholinesterase Inhibition and Antioxidant Activities of the Ethanolic Extract of Ya Hom Thip Osot Polyherbal Formula and Its Constituents

สุพัตร์ หลังยาหน่าย[1*] ประภาพร จันทร์เอียด[2] และ คันธมาทน์ กาญจนภูมิ[3]

Supat Langyanai[1*], Prapaporn Chaniad[2] and Kantamaht Kanchanapoom[3]

[1]ภาควิชาสาธารณสุขศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50300

[2]สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160

[3]สาขาวิชาสุขภาพและความงาม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จังหวัดสงขลา 90000

[1]Department of Public Health, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai, 50300, Thailand.

[2]School of Medicine, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80160, Thailand.

[3]Program in Health and Aesthetics, Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University, Songkhla, 90000, Thailand.

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาหอมทิพโอสถ ทั้งที่ผสมขึ้นเองและที่จำหน่ายในท้องตลาด รวมถึงการทดสอบพืชวัตถุในตำรับจำนวน 46 ชนิด ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอลของตำรับยาหอมที่ผสมเองและที่จำหน่ายในท้องตลาดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ใกล้เคียงกัน (37.63 ± 1.93% และ 35.87 ± 1.56% ตามลำดับ) โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่าสารมาตรฐาน Galantamine อย่างมีนัยสำคัญ (94.48 ± 0.26%) ขณะเดียวกันจากการทดสอบสมุนไพรสารสกัดเอทานอลของพืชวัตถุในตำรับยาหอมทิพโอสถพบว่า โกฐพุงปลา (*Terminalia chebula* Retz) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE สูงที่สุด (85.99 ± 1.16%) สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดเอทานอลของตำรับยาหอมทั้งสองตัวอย่างมีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.55 ± 0.55 และ 3.93 ± 1.73 µg/mL ซึ่งไม่แตกต่างกัน แต่มีฤทธิ์น้อยกว่าสารมาตรฐาน L-ascorbic acid และ quercetin อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่โกฐพุงปลามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.78 ± 0.73 µg/mL ซึ่งดีกว่าสารมาตรฐานทั้งสองชนิดอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ยาหอมทิพโอสถมีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ AChE และอนุมูลอิสระ แม้ประสิทธิภาพจะน้อยกว่าสารมาตรฐาน แต่สมุนไพรเดี่ยวบางชนิดโดยเฉพาะโกฐพุงปลา มีฤทธิ์สูงและมีศักยภาพต่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพในอนาคต

*Corresponding Author, E-mail: supat_lan@g.cmru.ac.th

Received date: 29 August 2025 | Revised date: 25 October 2025 | Accepted date: 4 November 2025

doi:

ABSTRACT

This study aimed to investigate the acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activity and antioxidant properties of the Ya Hom Thip Osot formulation, both in self-prepared samples and those commercially available, as well as ethanol extracts from 46 individual medicinal plants contained in the formula. The results showed that ethanol extracts of both the self-prepared and the commercial Ya Hom exhibited comparable AChE inhibitory activity (37.63 ± 1.93% and 35.87 ± 1.56%, respectively), with no statistically significant difference ($p > 0.05$). However, their activities were significantly lower than the standard compound Galantamine (94.48 ± 0.26%). Among the individual plant extracts tested, *Terminalia chebula* Retz (known in Thai as "Kot Phung Pla") demonstrated the strongest AChE inhibitory effect (85.99 ± 1.16%). For antioxidant activity evaluated using the DPPH assay, ethanol extracts of the two Ya Hom samples showed EC_{50} values of 3.55 ± 0.55 and 3.93 ± 1.73 µg/mL, respectively, with no significant difference between them. However, both exhibited significantly lower activity compared to the standard antioxidants L-ascorbic acid and quercetin ($p > 0.05$). In contrast, Terminalia chebula exhibited remarkably strong antioxidant activity, with an EC_{50} value of 0.78 ± 0.73 µg/mL, which was significantly more potent than both reference standards. In conclusion, Ya Hom Thip Osot possessed potential AChE inhibitory and antioxidant activities, although its efficacy was lower than standard compounds. Notably, certain individual herbs, particularly Terminalia chebula, demonstrated high activity and showed promise for further development into future health products.

คำสำคัญ: ยาหอมทิพโอสถ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
Keywords: Thip Osot Ya Hom, Acetylcholinesterase Inhibitory Activity, Antioxidant Activity

บทนำ

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) เป็นภาวะเสื่อมของระบบประสาทที่พบบ่อยที่สุดในกลุ่มโรคสมองเสื่อมโดยมีลักษณะสำคัญคือการถดถอยของการทำงานด้านความจำ การเรียนรู้ และการรับรู้ ซึ่งเกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิดกับการลดลงของสารสื่อประสาท อะซิติลโคลีน (Acetylcholine; ACh) ในสมอง โดยเฉพาะบริเวณ ฮิปโปแคมปัส (hippocampus) และ สมองส่วนคอร์เทกซ์ (cerebral cortex) ซึ่งเป็นศูนย์กลางด้านความจำและการรับรู้ (Francis *et al.,* 1999; Hampel *et al.,* 2018) ACh ถูกสังเคราะห์จากโคลีนและอะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl-CoA) โดยมีเอนไซม์ choline acetyltransferase (ChAT) เป็นตัวเร่ง และเมื่อหลั่งออกจากปลายประสาท ACh จะถูกย่อยอย่างรวดเร็วโดยเอนไซม์ acetylcholinesterase (AChE) เพื่อควบคุมสมดุลของการส่งสัญญาณประสาท (Chen *et al.,* 2022) ในผู้ป่วยอัลไซเมอร์พบว่ามีการเสื่อมของระบบ cholinergic system ส่งผลให้ระดับ ACh ในสมองลดลงอย่างมาก ซึ่งอาจลดลงถึง 90% (Ferreira-Vieira *et al.,* 2016; Stanciu *et al.,* 2019) ส่งผลให้แนวทางการรักษาที่ใช้ในปัจจุบันเน้นการยับยั้งเอนไซม์ AChE ด้วยการใช้ยากลุ่ม cholinesterase inhibitors ได้แก่ donepezil rivastigmine galantamine และ tacrine เพื่อคงระดับ ACh ในไซแนปส์และชะลอความเสื่อมของเซลล์ประสาท (Francis *et al*., 1999; Olazarán and García, 2002) แม้ยากลุ่มนี้จะช่วยชะลออาการได้ แต่ก็มีข้อจำกัดจากผลข้างเคียง เช่น คลื่นไส้ เบื่ออาหาร หรือการทำงานของตับผิดปกติ อีกทั้งมีราคาสูงและต้องใช้ต่อเนื่องจึงจะเห็นผลอย่างชัดเจน (Kumar *et al*., 2015) ส่งผลให้มีความพยายามในการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรที่อาจมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากขึ้น เช่น สารจากพืชสกุล *Salvia Galanthus* และพืชสมุนไพรพื้นบ้านอื่น ๆ ที่แสดงศักยภาพในห้องปฏิบัติการ (Orhan *et al.,* 2007; Perry *et al.,* 1999)

ยาหอม เป็นตำรับยาช่วยปรับสมดุลร่างกาย จากตำรับสูตรยาสามัญประจำบ้านมี 4 สูตรตำรับ ได้แก่ (1) ยาหอมนวโกฐ ใช้ป้องกันก่อนเป็นไข้ (2) ยาหอมเทพจิตรช่วยบรรเทาอาการอารมณ์เศร้าหมอง ทำให้รู้สึกสดชื่นและอารมณ์ดีขึ้น (3) ยาหอมอินทจักร ช่วยลดอาการอ่อนเพลียจากความเครียดกลับมาสดชื่นแจ่มใส เหมาะสำหรับวัยรุ่นและวัยทำงาน และ (4) ยาหอมทิพโอสถ ช่วยร่างกายฟื้นตัวหลังเป็นไข้ได้อย่างรวดเร็ว (กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, 2562) ตำรับยาหอมเป็นตำรับยาสมุนไพรแผนไทยที่มีประวัติการใช้มาอย่างยาวนานในสังคมไทย โดยมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมและฟื้นฟูสุขภาพร่างกายตามหลักแพทย์แผนไทย ตำรับยานี้ได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัยสูงและมีผลข้างเคียงต่ำ เนื่องจากประกอบด้วยสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมจากธรรมชาติและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย แม้จะเป็นที่รู้จักกันโดยทั่วไปในด้านการบรรเทาอาการทางระบบลม เช่น อาการวิงเวียน หน้ามืด และใจสั่น แต่จากองค์ประกอบของสมุนไพรที่อยู่ในตำรับยาหอม ยังแสดงศักยภาพในการออกฤทธิ์ต่อระบบร่างกายอื่น ๆ เช่น ระบบทางเดินหายใจและหลอดเลือด ระบบทางเดินอาหาร รวมถึงมีส่วนช่วยในการป้องกันภาวะไข้ และสนับสนุนการฟื้นตัวของร่างกายหลังเจ็บป่วย โดยเฉพาะในกรณีของอาการอ่อนเพลียเรื้อรัง จากแนวทางดังกล่าว สมุนไพรไทยจึงได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะ “ตำรับยาหอมทิพโอสถ” ซึ่งเป็นตำรับยาสมุนไพรที่ใช้ในแพทย์แผนไทยมาอย่างยาวนาน เพื่อบำรุงธาตุลม บรรเทาอาการวิงเวียน หน้ามืด คลายความเครียด และฟื้นฟูสมดุลของร่างกาย พืชสมุนไพรในตำรับนี้มีจำนวน 48 ชนิด แบ่งเป็นพืชวัตถุ 46 ชนิด และธาตุวัตถุ 2 ชนิด สำหรับพืชวัตถุ ประกอบด้วย ดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกสารภี เกสรบัวหลวง ดอกกระดังงา ดอกจำปา ดอกบัวจงกลณี หัวแห้วไทย กระจับ ฝาง จันทน์แดง จันทน์ขาว จันทน์เทศ กฤษณา ชะลูด อบเชย สมุลแว้ง สนเทศ ว่านน้ำ กระชาย เปราะหอม ดอกคำไทย ชะเอมเทศ สุรามฤต ข่าต้น ลูกจันทน์ ดอกจันทน์ หนักสิ่งละ 4 ส่วน โกฐสอ โกฐเขมา โกฐหัวบัว โกฐเชียง โกฐจุฬาลัมพา โกฐกระดูก โกฐก้านพร้าว โกฐพุงปลา โกฐชฎามังสี หนักสิ่งละ 2 ส่วน เทียนดำ เทียนแดง เทียนขาว เทียนข้าวเปลือก เทียนน้ำตาต๊กแตน เทียนเยาวพาณี เทียนสัตตบุษย์ เทียนเกล็ดหอย เทียนตากบ หนักสิ่งละ 1 ส่วน ส่วนธาตุวัตถุ มี การบูร หนัก 2 ส่วน และพิมเสน หนัก 1 ส่วน (มูลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์แผนไทยเดิมฯ, 2559) ซึ่งหลายชนิดได้รับการรายงานว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การต้านการอักเสบ และการยับยั้งเอนไซม์ AChE (Orhan *et al.,* 2007) สมุนไพรเด่นในตำรับ เช่น ดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกสารภี เปราะหอม กฤษณา ว่านน้ำ และโกฐทั้ง 9 มีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สอดคล้องกับการป้องกันโรคอัลไซเมอร์

ปัจจุบันยังมีงานวิจัยไม่มากนักที่ศึกษาฤทธิ์ของตำรับ “ยาหอมทิพโอสถ” โดยตรงต่อการยับยั้งเอนไซม์ AChE ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของโรคอัลไซเมอร์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นฤทธิ์ส่งเสริมเพื่อช่วยชะลอให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ประสาทที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากเครื่องยาสมุนไพรในตำรับยาหอมทิพโอสถที่เป็นพืชวัตถุจำนวน 46 ชนิด ในขณะเดียวกันมีการประเมินฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาหอมทิพโอสถที่ผสมเองในการทดลองครั้งนี้เปรียบเทียบกับยาหอมทิพโอสถที่จำหน่ายในท้องตลาด ผลการศึกษานี้คาดว่าจะสามารถเป็นแนวทางสำหรับข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากตำรับสมุนไพรไทยที่มีส่วนผสมของสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อใช้ในการป้องกันหรือชะลอความเสื่อมของสมอง โดยเฉพาะกลุ่มเสี่ยงโรคอัลไซเมอร์ในผู้สูงอายุ ซึ่งเป็นปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญของประเทศไทยและทั่วโลก ผลลัพธ์ของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ไม่เพียงสนับสนุนคุณค่าทางวิทยาศาสตร์ของตำรับยาไทย แต่ยังชี้ให้เห็นโอกาสในการต่อยอดสู่การพัฒนายาสมุนไพร อาหารเสริม และผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อการบำรุงและชะลอการเสื่อมของสมอง ตลอดจนเป็นข้อมูลตั้งต้นสำหรับการวิจัยเชิงลึกด้านสารออกฤทธิ์ กลไกการทำงาน ความปลอดภัย และการพัฒนาสู่การใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์และเศรษฐกิจสมุนไพรในอนาคต

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบสมุนไพร

พืชสมุนไพรไทยในตำรับยาหอมทิพโอสถ โดยมีองค์ประกอบสมุนไพร พืชวัตถุจำนวน 46 ชนิด (ตารางที่ 1) และธาตุวัตถุจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ พิมเสน และการบูร ซึ่งสมุนไพรทุกรายการที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้จากร้านไทรบุรี อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา (ร้านขายยาสมุนไพร) นำพืชสมุนไพรไทยแห้งที่ได้จากร้านค้าล้างทำความสะอาดแล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นแบ่งสมุนไพรเป็น 2 ส่วน ได้แก่

(1) สมุนไพรเพื่อเตรียมผสมยาหอมตำรับทิพโอสถ ใช้พืชวัตถุจำนวน 46 ชนิด และธาตุวัตถุจำนวน 2 ชนิด เพื่อใช้สำหรับทดสอบฤทธิ์ชีวภาพเปรียบเทียบกับยาหอมทิพโอสถในท้องตลาด นำสมุนไพรที่ได้ลดขนาดด้วยเครื่องบดสมุนไพรบดสมุนไพรให้ละเอียด สมุนไพรที่บดได้นำไปผ่านแร่งเบอร์ 100 (wire diameter = 0.1 mm)

(2) สมุนไพรเพื่อเตรียมสกัด ทำการลดขนาดด้วยเครื่องบดไฟฟ้าให้มีขนาดเล็กโดยประมาณ 0.5 ตารางเซนติเมตร ในขั้นตอนนี้จะใช้เฉพาะพืชวัตถุจำนวน 46 ชนิดเท่านั้น เพื่อใช้สำหรับการสกัดในครั้งต่อไป

ตารางที่ 1 ข้อมูลของพืชวัตถุจำนวน 46 ชนิดในตำรับยาหอมทิพโอสถ

ลำดับ	พืชวัตถุ	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้
1	กระจับ	*Trapa natans* L. var. *bispinosa* (Roxb.) Makino	Trapaceae	ฝัก
2	กระชาย	*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.	Zingiberaceae	เหง้า
3	กระดังงา	*Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson.	Annonaceae	ดอก
4	กฤษณา	*Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte	Thymelaeaceae	เนื้อไม้
5	ข่าต้น	*Cinnamomum ilicioides* A.Chev.	Lauraceae	แก่น
6	คำไทย	*Bixa orellana* L.	Bixaceae	ดอก
7	จันทร์ขาว	*Tarenna hoaensis* Pit.	Rubiaceae	แก่น
8	จันทร์แดง	*Dracaena loureiroi* Gagnep.	Dracaenaceae	แก่น
9	จันทน์เทศ	*Myristica fragrans* Houtt.	Myristicaceae	แก่น
10	จำปา	*Magnolia champaca (L.)* Baill ex Pierre.	Magnoliaceae	ดอก
11	ชะลูด	*Alyxia reinwardtii Blume* var. *lucida* (Wall.) Markgr.	Apocynaceae	เปลือกเถา
12	ชะเอมเทศ	*Glycyrrhiza glabra* L.	Leguminosae	ราก
13	ดอกจันทน์ (รกหุ้มเมล็ดจันทน์เทศ)	*Myristica fragrans* Houtt.	Myristicaceae	เยื่อหุ้มเมล็ด
14	บัวจงกลนี	*Nymphaea pubescens* Willd.	Nymphaeaceae	ดอก
15	บัวหลวง	*Nelumbo nucifera* Gaertn.	Nelumbonaceae	เกสรเพศผู้
16	บุนนาค	*Mesua ferrea* L.	Guttiferae	ดอก
17	เปราะหอม	*Kaempferia galanga* L.	Zingiberaceae	เหง้า
18	ฝาง	*Caesalpinia sappan* L.	Leguminosae	แก่น
19	พิกุล	*Mimusops elengi* L.	Sapotaceae	ดอก

ตารางที่ 1 ข้อมูลของพืชวัตถุจำนวน 46 ชนิดในตำรับยาหอมทิพโอสถ (ต่อ)

ลำดับ	พืชวัตถุ	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้
20	มะลิ	*Jasminum sambac* (L.) Aiton	Oleaceae	ดอก
21	ลูกจันทน์ (จันทน์เทศ)	*Myristica fragrans* Houtt.	Myristicaceae	เมล็ด
22	ว่านน้ำ	*Acorus calamus* L.	Acoraceae	เหง้า
23	สนเทศ	*Biota orientalis* (L.) Endl.	Cupressaceae	แก่น
24	สมุลแว้ง	*Cinnamomum bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet	Lauraceae	เปลือกต้น
25	สารภี	*Mammea* siamensis (Miq.) T.Anderson	Calophyllaceae	ดอก
26	สุรามฤต	*Cinnamomum burmannii* (Nees. & T.Nees.) Blume	Lauraceae	เถา
27	แห้ว	*Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex Hensch.	Cyperaceae	หัว
28	อบเชยญวน	*Cinnamomum loureiroi* Nees	Lauraceae	เปลือกต้น
29	โกฐเชียง	*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels	Umbelliferae	ราก
30	โกฐสอ	*Angelica dahurica* (Hoffin.) Benth. & Hook.f. ex Franch. & Sav.	Umbelliferae	ราก
31	โกฐหัวบัว	*Ligusticum sinense Oliv cv. Chaxiong*	Umbelliferae	ราก
32	โกฐเขมา	*Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.	Compositae	เหง้า
33	โกฐจุฬาลำพา	*Artemisia annua* L.	Compositae	ทุกส่วน
34	โกฐก้านพร้าว	*Picrorhiza kurroa Royle ex Benth.*	Plantaginaceae	เหง้า
35	โกฐกระดูก	*Saussurea lappa* (Decne.) C.B.Clarke	Compositae	ราก
36	โกฐพุงปลา	*Terminalia chebula* Retz.	Combretaceae	ปุ่มหูด (gall)
37	โกฐชฎามังสี	*Nardostachys jatamansi* (D.Don) DC.	Caprifoliaceae	รากและเหง้า
38	เทียนตาตั๊กแตน	*Anethum graveolens* L.	Umbelliferae	ผล
39	เทียนขาว	*Cuminum cyminum* L.	Umbelliferae	ผล
40	เทียนข้าวเปลือก	*Foeniculum vulgare* Mill.	Umbelliferae	ผล
41	เทียนแดง	*Lepidium sativum* L.	Cruciferae	เมล็ด
42	เทียนดำ	*Nigella sativa* L.	Ranunculaceae	เมล็ด
43	เทียนเยาวพานี	*Petroselinum crispum* (Mill.) Nyman ex A.W.Hill	Umbelliferae	ผล
44	เทียนสัตตบุตย์	*Pimpinella anisum* L.	Umbelliferae	เมล็ด
45	เทียนตากบ	*Carum carvi* L.	Umbelliferae	ผล
46	เทียนเกล็ดหอย	*Plantago ovata* Forssk.	Plantaginaceae	เมล็ด

2. ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างทดสอบ

2.1 การผสมสมุนไพรตำรับยาหอมทิพโอสถ อ้างอิงน้ำหนักส่วนประกอบยาหอมทิพโอสถจากตำราเภสัชกรรมไทย (มูลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์แผนไทยเดิมฯ, 2559) โดยนำพืชวัตถุจำนวน 46 ชนิดและธาตุวัตถุจำนวน 2 ชนิดที่ผ่านการบดละเอียดผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแบบรูปตัววี (V Blender) จากนั้นเตรียมสกัดตำรับยาหอมทิพโอสถที่ผสมเองและยาหอมทิพโอสถที่จำหน่ายในท้องตลาดสกัดด้วยเอทานอล 95% (Food grade) สกัดด้วยวิธีการหมักแช่ (maceration) ที่อุณหภูมิห้อง กำหนดอัตราส่วนสมุนไพรต่อเอทานอลเท่ากับ 1:10 (w/v) ทำการสกัดต่อ 1 ตัวอย่างจำนวน 2 ครั้ง โดยหมักแช่เป็นเวลา 3 วันแล้วกรองเอาแต่สารละลายด้วยกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร แยกเก็บไว้ในอุณหภูมิปกติ โดยเก็บในพ้นแสง จากนั้นเติมสารละลายเอทานอล 95% ลงไปในตัวอย่างเดิมแล้วหมักต่ออีก 7 วัน เพื่อให้เนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่มและสารละลายที่นำมาสกัดสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้ จากนั้นนำไปกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร นำสารละลายที่ได้เทรวมกับสารสกัด 3 วัน และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้สุญญากาศ (Evaporated) (Ingkaninan *et al.,* 2003) เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ (Crude extract)

2.2 นำผงพืชวัตถุในตำรับยาหอมทิพโอสถที่บดละเอียดจำนวน 46 ชนิด สกัดด้วยเอทานอล 95% (Food grade) และใช้วิธีการสกัดรวมถึงอัตราส่วนของสมุนไพรต่อสารละลายเช่นเดียวกับการสกัดตำรับยาหอมทิพโอสถ

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ดำเนินการตามวิธีของ Ellman *et al.* ที่ได้รับการดัดแปลงโดย Ingkaninan *et al*. (2003) โดยใช้เอนไซม์ AChE ชนิด type VI-S จากปลาไหลไฟฟ้า (Electrophorus electricus) ในรูปผงแห้ง (480 U/mg solid, 530 U/mg protein) เตรียมเป็นสารละลายตั้งต้น (stock solution) ความเข้มข้น 1,130 U/mL ในบัฟเฟอร์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20ºC ก่อนใช้งานเอนไซม์ถูกเจือจางในบัฟเฟอร์ที่มี BSA 0.1% เพื่อคงความเสถียรของเอนไซม์ สารละลาย DTNB (5,5′-dithiobis-[2-nitrobenzoic acid]) (Sigma-Aldrich) เตรียมในบัฟเฟอร์ที่มี NaCl 0.1 M และ $MgCl_2$ 0.02 M ส่วนสารตั้งต้น ATCI (acetylthiocholine iodide) ละลายในน้ำกลั่น สำหรับสารมาตรฐานใช้ Galantamine (Sigma-Aldrich) โดยชั่งสาร 1 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 100 µL แล้วเติมบัฟเฟอร์ 900 µL จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องวอร์เทกซ์มิกเซอร์ (Vortex mixer) สารสกัดสมุนไพรเตรียมในลักษณะเดียวกันแล้วนำไปทดสอบในแผ่นไมโครเพลตขนาด 96 หลุม (96-well plate) โดยเติมสารละลายตามลำดับ ได้แก่ สารสกัดหรือสารมาตรฐาน เอนไซม์ AChE สารตั้งต้น ATCI และสาร DTNB หลังจากเติมครบทุกหลุม นำแผ่นไมโครเพลตใส่เครื่องอ่านค่าการดูดกลืนแสง (microplate reader; CERES UV 900C, Bio-Tek Instrument, USA) เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ทุก 10 วินาที เป็นเวลา 2 นาที เมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับ ATCI จะเกิดไทโอคอลีน (Thiocholine) ซึ่งทำปฏิกิริยากับ DTNB ได้สารสีเหลืองที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่องดังกล่าว ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ถูกนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์กิจกรรมของเอนไซม์ (% Enzyme activity) โดยเปรียบเทียบค่าจากตัวอย่างกับค่าของ Blank (บัฟเฟอร์แทนตัวอย่าง) เพื่อประเมินเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ AChE ของสารสกัดและสารมาตรฐาน โดยการทดลองแต่ละตัวอย่างทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง ทั้งนี้สรุปผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2 และคำนวณตามสมการที่ 1

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลของสารเคมีที่เติมใน 96-well plate เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE

Chemical	Blank (µl)	Test sample (µl)	Positive control (µl)	Negative control (µl)
50 mMTris/HCl buffer pH 8	75	50	50	50
15 mM ATCI	25	25	25	25
3 mM DTNB	125	125	125	125
1/5000 AChE	25	25	25	25
Sample	-	25	-	-
Galantamine	-	-	25	-
Ethanol	-	-	-	25
Total volume (µl)	250	250	250	250

การคำนวณค่า Percent inhibition

$$\frac{\text{Mean velocity of blank} - \text{mean velocity of sample}}{\text{Mean velocity of blank}} \times 100 \quad (1)$$

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดำเนินการโดยดัดแปลงวิธีของ Gulcin และ Alwasel (2023) โดยใช้สาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Sigma-Aldrich) เป็นสารตรวจวัดอิเล็กตรอน สารละลาย DPPH เตรียมให้มีความเข้มข้น 6×10^{-5} M โดยชั่ง DPPH ปริมาณ 2.4 มิลลิกรัม (น้ำหนักโมเลกุล 394.32 g/mol) ละลายในเอทานอล และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดแก้วสีชาและแช่ที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะใช้ โดยควรเตรียมสารละลายสดใหม่ก่อนการทดสอบทุกครั้ง สารมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบ ได้แก่ L-ascorbic acid (Sigma-Aldrich) และ Quercetin (Sigma-Aldrich) เตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นระหว่าง 0.5 - 200 µg/mL (ความเข้มข้นสุดท้าย 0.25 - 100 µg/mL) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรเตรียมในช่วงความเข้มข้น 1 - 200 µg/mL ด้วยตัวทำละลายเดียวกัน ในการทดสอบ นำสารละลายตัวอย่าง 100 µL เติมลงในแผ่นไมโครเพลตขนาด 96 หลุม จากนั้นเติมสารละลาย DPPH 100 µL เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ (microplate reader) สำหรับสารควบคุม (control) ใช้สารละลาย DPPH 100 µL ผสมกับเอทานอล 100 µL ส่วนสารควบคุมเปล่า (control blank) ใช้เอทานอล 200 µL ขณะที่สารตัวอย่างเปล่า (sample blank) ใช้สารละลายตัวอย่าง 100 µL ผสมกับเอทานอล 100 µL เพื่อหักค่าการดูดกลืนแสงพื้นฐาน การทดลองทุกความเข้มข้นทำซ้ำ 3 ครั้ง (n = 3) ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ถูกนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% Inhibition) โดยเปรียบเทียบระหว่างค่าของตัวอย่างและสารควบคุมตามสมการที่ 2 ซึ่งผลลัพธ์สะท้อนถึงความสามารถของสารสกัดในการบริจาคอิเล็กตรอนเพื่อต้านอนุมูลอิสระ

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ DPPH (% Inhibition)

$$\left[(A_{control} - A_{sample})/A_{control}\right] \times 100 \quad (2)$$

โดย $A_{control}$ = The absorbance of DPPH solution ที่ไม่มีสารตัวอย่าง

A_{sample} = The absorbance of DPPH solution ที่มีสารตัวอย่าง

5. การวิเคราะห์ข้อมูลครั้งนี้ใช้สถิติพรรณนา

ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลด้วยสถิติ Paired t-test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ของตำรับยาหอมทิพโอสถ ซึ่งประกอบด้วยพืชวัตถุ 46 ชนิด และธาตุวัตถุ 2 ชนิด โดยเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่เตรียมตำรับขึ้นใหม่ด้วยตนเองและตัวอย่างยาหอมทิพโอสถที่จำหน่ายในท้องตลาด พบว่าสารสกัดเอทานอลจากตำรับที่ผสมเองมีค่าการยับยั้งเอนไซม์ AChE เท่ากับ 37.63 ± 1.93% ขณะที่สารสกัดจากผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในท้องตลาดมีค่าการยับยั้งเอนไซม์ AChE เท่ากับ 35.87 ± 1.56% ผลการเปรียบเทียบระหว่างสองกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่ายาหอมทิพโอสถที่จำหน่ายในท้องตลาดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ AChE ใกล้เคียงกับตำรับที่ผสมขึ้นเอง ซึ่งสะท้อนถึงความคงที่ของคุณภาพและองค์ประกอบของตำรับยา

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ AChE ของยาหอมทิพโอสถทั้งสองตัวอย่างกับสารมาตรฐาน Galantamine พบว่าค่าการยับยั้งเอนไซม์ของทั้งสองตัวอย่างต่ำกว่าสารมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 3) ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่ายาหอมทิพโอสถมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ในระดับปานกลาง ซึ่งอาจสัมพันธ์กับองค์ประกอบของพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีรายงานว่ามีสารกลุ่มอัลคาลอยด์และฟีนอลิกที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ได้ ทั้งนี้ ตำรับยาหอมทิพโอสถจึงอาจมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพหรือยาสมุนไพรที่ช่วยเสริมการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางต่อไปได้

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ของตำรับยาหอมทิพโอสถและสารมาตรฐาน Galantamine

ตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/mL)	% AChE Inhibition
ยาหอมทิพโอสถ (สูตรที่ผสมเอง)	0.1	37.63 ± 1.93
ยาหอมทิพโอสถ (สูตรที่จำหน่ายในท้องตลาด)	0.1	35.87 ± 1.56
Galantamine (positive control)	0.1	96.87 ± 0.23

เมื่อนำพืชวัตถุในตำรับยาหอมทิพโอสถจำนวน 46 ชนิดทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE พบว่า สารสกัดเอทานอลสมุนไพรทั้ง 46 ชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE โดยมีเปอร์เซ็นต์การฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE (% AChE inhibition) ที่แตกต่างต่างกันอยู่ในช่วง 85.99 - 1.42 (ตารางที่ 4) จากสารสกัดหยาบของตัวอย่างพืชทุกชนิดที่ปริมาณ 0.1 mg/mL สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ที่สุดเมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างสารสกัดทั้ง 46 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) มีจำนวน 1 ชนิด คือ โกฐพุงปลา มีค่าการยับยั้งเอนไซม์ AChE เท่ากับ 85.99 ± 1.16% ในขณะเดียวกันสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ต่ำที่สุด คือ ชะเอมเทศ ค่ายับยั้งเอนไซม์ AChE เท่ากับ 1.42 ± 1.40% ในขณะที่สารมาตรฐาน Galantamine มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE 94.48 ± 0.26% ขณะที่สารสกัดจาก โกฐพุงปลา ซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์สูงที่สุดใน

ตำรับยาหอมทิพโอสถ พบว่ามีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน แต่ยังต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จึงเป็นที่น่าสังเกตว่า โกฐพุงปลาอาจมีสารประกอบที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง AChE ในระดับสูง โดยงาน Noridayu *et al.* (2011) ได้รายงานว่า โกฐพุงปลามีฤทธิ์ต้าน AChE ในสารสกัดเฮกเซนของใบและก้าน และมีสารฟีนอลิกรวมสูง (573.52 mg GAE/100 g crude) ซึ่งชี้ว่าอาจมีสารไม่ขั้ว (non-polar) เช่น sesquiterpene lactones หรือ terpene glycosides เป็นสารสำคัญที่น่าจะมีบทบาทต่อกิจกรรมดังกล่าว (Noridayu *et al.,* 2011) ในขณะที่ชะเอมเทศมีรายงานว่ารากและสารประกอบบางตัว เช่น glycyrol (IC_{50} = 14.77 µM) ยับยั้ง AChE ได้ (Jeong *et al.,* 2020) แต่โดยรวมสารสกัดของชะเอมเทศมีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ (Dhingra *et al.,* 2006) ซึ่งสอดคล้องกับค่าค่ายับยั้งเอนไซม์ AChE เท่ากับ 1.42 ± 1.40% ที่ทดลองพบในครั้งนี้ สาเหตุอาจมาจากความเข้มข้นของสารยับยั้งในสารสกัดต่ำ โครงสร้างของสารไม่เหมาะกับเอนไซม์ AChE หรือมีสารอื่นรบกวนทำให้ matrix effect ลดฤทธิ์ ดังนั้น ในบทอภิปรายควรชี้ให้เห็นว่า โกฐพุงปลาอาจเป็นแหล่งสารนำในการพัฒนา AChE inhibitor ในขณะที่ชะเอมเทศอาจเหมาะเป็นฐานข้อมูลก่อนเพื่อปรับสู่สารบริสุทธิ์หรือปรับวิธีการสกัดต่อไป

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ของตำรับยาหอมทิพโอสถทั้งที่ผสมขึ้นเองและที่จำหน่ายในท้องตลาดพบว่ามีค่าการยับยั้ง AChE ใกล้เคียงกัน (37.63 ± 1.93% และ 35.87 ± 1.56% ตามลำดับ) แต่ยังมีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารมาตรฐาน Galantamine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้สามารถอธิบายได้จากหลายปัจจัย ดังนี้ ประการแรก Galantamine เป็นสารบริสุทธิ์ที่มีโครงสร้างจำเพาะและมีความสามารถในการจับกับตำแหน่งออกฤทธิ์ของ AChE ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง จึงมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่แรงกว่าสารสกัดจากพืชที่มีองค์ประกอบซับซ้อนและมีปริมาณสารออกฤทธิ์ต่ำกว่า (Dos Santos *et al.*, 2018) ประการที่สอง ตัวทำละลายมีผลโดยตรงต่อชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่ถูกสกัดออกมา งานวิจัยหลายชิ้นพบว่า สารกลุ่มอัลคาลอยด์และฟีนอลิก ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ได้ดี มักจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล หรือเมทานอล มากกว่าน้ำ (Puthongking *et al*., 2023) ดังนั้น เมื่อใช้ เอทานอล 95% ในการสกัดตำรับยาหอมทิพโอสถโดยไม่ได้แยกสารออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจง อาจได้สารที่ละลายในเอทานอลบางส่วน เช่น แทนนิน หรือโพลีแซ็กคาไรด์ แต่ได้สารกลุ่มอัลคาลอยด์ในปริมาณน้อย ส่งผลให้ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ AChE ต่ำกว่า สารมาตรฐานอย่าง Galantamine ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์บริสุทธิ์และมีฤทธิ์เฉพาะต่อเอนไซม์ดังกล่าว ประการที่สาม ตำรับยาที่มีส่วนผสมของสมุนไพรจำนวนมากอาจทำให้สารออกฤทธิ์เจือจางหรือเกิดผลต้านฤทธิ์ร่วม (antagonistic effect) งานวิจัยด้านเภสัชพฤกษศาสตร์ระบุว่าสารผสมที่มีความซับซ้อนอาจมีการเสริมฤทธิ์ (synergy) หรือหักล้างฤทธิ์ (antagonism) ระหว่างสารออกฤทธิ์ ส่งผลให้ฤทธิ์รวมของตำรับต่ำกว่าที่คาดหมายเมื่อเปรียบเทียบกับสารบริสุทธิ์ (de Sousa *et al.,* 2020) ประการที่สี่ กระบวนการสกัดด้วยน้ำร้อนอาจทำให้สารออกฤทธิ์บางชนิดไม่คงตัวและเสื่อมสภาพ ส่งผลให้ปริมาณสารที่ยังคงคุณสมบัติยับยั้ง AChE ลดลง งานวิจัยหลายชิ้นชี้ว่าความร้อนและสภาวะการสกัดมีผลต่อเสถียรภาพของสารพฤกษเคมีและประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ (Gali and Bedjou, 2019) ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า ตำรับยาหอมทิพโอสถและสมุนไพรเดี่ยว แม้จะแสดงฤทธิ์ยับยั้ง AChE ได้แต่ประสิทธิภาพยังน้อยกว่า Galantamine อันเนื่องมาจากความแตกต่างด้านความบริสุทธิ์ของสารออกฤทธิ์ ชนิดของตัวทำละลาย การผสมสมุนไพรจำนวนมากที่ทำให้สารออกฤทธิ์เจือจาง รวมถึงผลจากสภาวะการสกัดและกลไกการออกฤทธิ์ที่ต่างกัน

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ของสมุนไพรในตำรับยาหอมทิพโอสถและสารมาตรฐาน Galantamine

ลำดับ	ตัวอย่างทดสอบ	% AChE inhibition
1	โกฐพุงปลา*	85.99 ± 1.16
2	สนเทศ	64.54 ± 1.32
3	โกฐเชียง	64.35 ± 1.49
4	โกฐหัวบัว	58.34 ± 1.21
5	กระชาย	54.19 ± 2.97
6	สมุลแว้ง	50.52 ± 1.96
7	โกฐสอ	50.92 ± 1.60
8	จันทร์แดง	51.23 ± 2.20
9	ข่าต้น	50.40 ± 1.32
10	กระดังงา	50.40 ± 1.32
11	ฝาง	49.09 ± 1.99
12	สุรามฤต	47.75 ± 0.96
13	มะลิ	47.14 ± 3.81
14	จันทร์ขาว	44.87 ± 1.67
15	คำไทย	42.88 ± 0.56
16	โกฐชฎามังสี	41.54 ± 1.01
17	เทียนตากบ	40.06 ± 1.21
18	กฤษณา	39.24 ± 1.55
19	โกฐก้านพร้าว	39.11 ± 1.66
20	โกฐกระดูก	35.65 ± 1.31
21	จำปา	34.57 ± 1.77
22	โกฐจุฬาลำพา	31.59 ± 1.21
23	เปราะหอม	30.55 ± 2.01
24	บุนนาค	30.45 ± 2.75
25	ลูกจันทน์	29.82 ± 1.64
26	โกฐเขมา	29.02 ± 2.71
27	ชะลูด	26.44 ± 3.25
28	ว่านน้ำ	24.26 ± 2.12
29	จันทน์เทศ	23.03 ± 0.60
30	ดอกจันทน์	22.86 ± 0.38
31	เทียนเยาวพานี	20.28 ± 1.37
32	บัวหลวง	19.64 ± 2.82
33	อบเชยญวน	19.22 ± 1.01
34	กระจับ	19.20 ± 1.02
35	พิกุล	19.17 ± 2.00

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ของสมุนไพรในตำรับยาหอมทิพโอสถและสารมาตรฐาน Galantamine (ต่อ)

ลำดับ	ตัวอย่างทดสอบ	% AChE inhibition
36	แห้ว	18.77 ± 1.44
37	สารภี	17.98 ± 2.23
38	บัวจงกลนี	21.40 ± 2.28
39	เทียนข้าวเปลือก	9.42 ± 2.11
40	เทียนเกล็ดหอย	9.30 ± 1.11
41	เทียนขาว	7.35 ± 2.27
42	เทียนดำ	7.01 ± 0.55
43	เทียนตาตั๊กแตน	6.14 ± 1.92
44	เทียนสัตตบุตย์	5.36 ± 2.55
45	เทียนแดง	2.48 ± 1.88
46	ชะเอมเทศ	1.42 ± 1.40
47	Galantamine (positive control)	94.48 ± 0.26

หมายเหตุ: * ตัวอย่างทดสอบที่ดีที่สุดอันดับที่ 1/ ค่าที่แสดงเป็นผลจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย ± S.D.)

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

เมื่อนำตำรับยาหอมทิพโอสถมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดเอทานอลตำรับยาหอมทิพโอสถที่ผสมเองและตำรับยาหอมที่จำหน่ายในท้องตลาด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีเมื่อเปรียบกับสารมาตรฐาน L-Ascorbic acid และ Quercetin ซึ่งตัวอย่างตำรับยาหอมทิพโอสถที่ผสมเองและตำรับยาหอมที่จำหน่ายในท้องตลาด มีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.55 ± 0.55 และ 3.93 ± 1.73 µg/mL ตามลำดับ โดย L-Ascorbic acid และ Quercetin มีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.56 ± 0.68 และ 1.64 ± 0.47 µg/mL ตามลำดับ (ตารางที่ 5) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ายาหอมทิพโอสถทั้ง 2 ตัวอย่างมีค่า EC_{50} ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน L-Ascorbic acid และ Quercetin พบว่ามีฤทธิ์น้อยกว่าสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตำรับยาหอมทิพโอสถ และสารมาตรฐาน L-Ascorbic acid และ Quercetin

ตัวอย่างทดสอบ	EC_{50} (µg/mL)
ยาหอมทิพโอสถ (สูตรที่ผสมเอง)	3.55 ± 0.55
ยาหอมทิพโอสถ (สูตรที่จำหน่ายในท้องตลาด)	3.93 ± 1.73
L-Ascorbic acid (positive control)	1.56 ± 0.68
Quercetin (positive control)	1.64 ± 0.47

เมื่อนำพืชวัตถุในตำรับยาหอมทิพโอสถจำนวน 46 ชนิดทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดเอทานอลสมุนไพรทั้ง 46 ชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 6) ซึ่งมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ 50% (EC_{50}) ที่แตกต่างกัน โดยมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 0.78 - 55.38 µg/mL และสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด คือ โกฐพุงปลา มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.78 ± 0.73 µg/mL สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด คือ มะลิ มีค่า EC_{50} เท่ากับ 55.38 ± 0.67 µg/mL ในขณะเดียวกันสารมาตรฐาน L-Ascorbic acid และ Quercetin มีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.52 ± 0.21 และ 1.58 ± 0.53 µg/mL ตามลำดับ จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าสารสกัดโกฐพุงปลา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารมาตรฐาน L-Ascorbic acid และ Quercetin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลของ โกฐพุงปลา (*Pluchea indica* (Less.)) มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.78 ± 0.73 µg/mL ซึ่งต่ำกว่าสารมาตรฐาน L-ascorbic acid (1.52 ± 0.21 µg/mL) และ Quercetin (1.58 ± 0.53 µg/mL) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดโกฐพุงปลามีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนหรือตรึงอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าสารมาตรฐาน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าที่ระบุว่าโกฐพุงปลามีสารออกฤทธิ์ในกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เช่น caffeoylquinic acid quercetin luteolin และ sesquiterpene lactones ที่มีบทบาทสำคัญในการกำจัดอนุมูลอิสระ (Noridayu *et al*., 2011) กลไกการออกฤทธิ์ของสารเหล่านี้สามารถอธิบายได้ว่า สารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีหมู่ –OH ซึ่งสามารถบริจาคอิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนเพื่อทำให้อนุมูลอิสระมีเสถียรภาพ และยังสามารถเกิดปฏิกิริยา chelating กับไอออนของโลหะที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่งผลให้กระบวนการเกิดอนุมูลอิสระในระบบชีวภาพลดลง (Lobo *et al.,* 2010; Rice-Evans *et al.,* 1997) นอกจากนี้ยังพบว่าการมีอยู่ของสารในกลุ่ม caffeoylquinic acid และ terpene glycosides ในโกฐพุงปลาอาจช่วยเสริมฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์จากความเสียหายของออกซิเดชันผ่านกลไก radical-scavenging และ chain-breaking (Thoobbucha *et al.,* 2015) เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้า Noridayu *et al.* (2011) รายงานว่าสารสกัดเมทานอลจากใบโกฐพุงปลามีค่า EC_{50} ของ DPPH อยู่ที่ 24.45 µg/mL ซึ่งแม้จะสูงกว่าค่าที่พบในการศึกษานี้ แต่ยังคงยืนยันศักยภาพของพืชชนิดนี้ในฐานะแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ ความแตกต่างของค่าฤทธิ์อาจเกิดจากวิธีการสกัด ชนิดของตัวทำละลาย หรือส่วนของพืชที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณของสารออกฤทธิ์ ผลการศึกษานี้จึงสะท้อนว่า สารสกัดเอทานอลของโกฐพุงปลามีศักยภาพสูงในการเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ และอาจมีคุณค่าทางชีวภาพที่มากกว่าที่รายงานไว้ในอดีต (Noridayu *et al.,* 2011)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาหอมทิพโอสถด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐาน L-ascorbic acid และ Quercetin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสามารถอธิบายได้จากหลายปัจจัย ได้แก่ ความซับซ้อนของสารออกฤทธิ์ในตำรับที่ประกอบด้วยสมุนไพรจำนวนมาก ทำให้ความเข้มข้นของสารสำคัญแต่ละชนิดถูกเจือจางลง อีกทั้งอาจเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารที่มีฤทธิ์ตรงข้ามกัน ส่งผลให้ศักยภาพรวมลดลง นอกจากนี้ วิธีการทดสอบแบบ DPPH มีข้อจำกัดบางประการ เพราะเป็นวิธีที่ เหมาะกับการประเมินสารบริสุทธิ์ ที่มีคุณสมบัติการละลายและการถ่ายอิเล็กตรอนได้ชัดเจน มากกว่าการใช้กับ สารผสมที่มีองค์ประกอบซับซ้อนหลายชนิด ซึ่งอาจทำให้ผลการทดสอบไม่สะท้อนศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระที่แท้จริงของตัวอย่างได้อย่างแม่นยำ (Premkaisorn, 2010; Gulcin and Alwasel, 2023) ดังนั้น ผลการวิจัยสะท้อนให้เห็นว่าแม้ตำรับยาหอมทิพโอสถจะมีสมุนไพรหลากหลายชนิด แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้ไม่สามารถเทียบเท่ากับสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นและคุณสมบัติทางเคมีที่ชัดเจนกว่าได้ ในทางกลับกันผลการทดสอบพืชวัตถุในตำรับยาหอมทิพโอสถจำนวน 46 ชนิด พบว่า โกฐพุงปลา มีค่า EC_{50} ดีที่สุด (0.78 ± 0.73 µg/mL) ซึ่งมีค่า EC_{50} ที่ดีกว่าสารมาตรฐาน L-ascorbic acid และ Quercetin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า สารสกัดเอทานอลจากโกฐพุงปลา มีปริมาณ แทนนินและสารกลุ่มฟีนอลิกสูง โดยเฉพาะสารสำคัญอย่าง chebulinic acid และ chebulagic acid ซึ่งมีโครงสร้างที่มี หมู่ไฮดรอกซิลหลายตำแหน่งทำให้สามารถถ่ายโปรตอนและจับกับอนุมูลอิสระได้อย่างมี

ประสิทธิภาพ ส่งผลให้สารสกัดชนิดนี้มี ศักยภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระ (Ghosh *et al.,* 2023) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่เปรียบเทียบการสกัดด้วยน้ำและเอทานอลที่สามารถยืนยันว่าเอทานอลสามารถสกัดสารฟีนอลิกและแทนนินได้มากกว่า ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า (Apel and Hirt, 2004; Boonyuenyong *et al.,* 2023) กล่าวโดยสรุป สารสกัดเอทานอลของตำรับยาหอมทิพโอสถมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐาน เนื่องจากข้อจำกัดของตัวทำละลายและองค์ประกอบร่วมในตำรับ ในขณะที่สารสกัดเอทานอลของโกฐพุงปลามีฤทธิ์สูงมาก เนื่องจากอุดมด้วยแทนนินที่มีฤทธิ์แรงและการสกัดด้วยเอทานอลสามารถดึงสารสำคัญออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตำรับยาหอมทิพโอสถ และสารมาตรฐาน L-Ascorbic acid และ Quercetin

ลำดับ	ตัวอย่างทดสอบ	EC_{50} (µg/mL)
1	โกฐพุงปลา*	0.78 ± 0.73
2	สมุลแว้ง	0.96 ± 0.89
3	เทียนตากบ	3.22 ± 0.39
4	จันทร์แดง	4.19 ± 1.12
5	จันทน์เทศ	4.96 ± 1.15
6	บุนนาค	5.85 ± 0.43
7	จันทร์ขาว	6.11 ± 0.50
8	โกฐชฎามังสี	6.23 ± 0.19
9	ลูกจันทน์	7.51 ± 0.99
10	ดอกจันทน์	7.95 ± 0.50
11	ชะเอมเทศ	8.54 ± 0.80
12	โกฐเชียง	8.99 ± 0.23
13	โกฐหัวบัว	9.25 ± 0.43
14	โกฐกระดูก	9.44 ± 1.11
15	โกฐก้านพร้าว	9.64 ± 0.89
16	กระจับ	10.59 ± 0.15
17	เทียนขาว	12.02 ± 0.18
18	กฤษณา	12.27 ± 0.97
19	กระดังงา	14.72 ± 0.32
20	สารภี	14.73 ± 1.24
21	สนเทศ	15.39 ± 0.34
22	เทียนแดง	15.77 ± 0.19
23	จำปา	16.82 ± 1.03
24	โกฐจุฬาลำพา	17.29 ± 0.25
25	พิกุล	18.15 ± 0.41
26	เทียนเยาวพานี	19.09 ± 0.26
27	กระชาย	19.55 ± 1.28

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตำรับยาหอมทิพโอสถ และสารมาตรฐาน L-Ascorbic acid และ Quercetin (ต่อ)

ลำดับ	ตัวอย่างทดสอบ	EC_{50} (µg/mL)
28	คำไทย	21.37 ± 0.44
29	เทียนเกล็ดหอย	25.31 ± 0.40
30	ฝาง	25.39 ± 0.38
31	โกฐเขมา	27.16 ± 0.77
32	เทียนดำ	28.25 ± 0.92
33	เทียนสัตตบุตย์	29.55 ± 0.88
34	ชะลูด	31.57 ± 0.18
35	ข่าต้น	32.46 ± 0.83
36	อบเชยญวน	32.61 ± 0.10
37	แห้ว	35.59 ± 0.21
38	เทียนตาตั๊กแตน	37.27 ± 0.55
39	เทียนข้าวเปลือก	39.32 ± 1.43
40	ว่านน้ำ	42.53 ± 0.26
41	โกฐสอ	44.19 ± 0.59
42	บัวหลวง	44.74 ± 0.22
43	สุรามฤต	47.57 ± 0.90
44	บัวจงกลนี	48.59 ± 1.01
45	เปราะหอม	53.48 ± 0.35
46	มะลิ	55.38 ± 0.67
47	Ascorbic acid (positive control)	1.52 ± 0.21
48	Quercetin (positive control)	1.58 ± 0.53

หมายเหตุ : *ตัวอย่างทดสอบที่ดีที่สุดอันดับที่ 1/ ค่าที่แสดงเป็นผลจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย ± S.D.)

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ของตำรับยาหอมทิพโอสถทั้งที่ผสมขึ้นเองและที่จำหน่ายในท้องตลาด พบว่ามีค่าการยับยั้ง AChE ใกล้เคียงกัน (37.63 ± 1.93% และ 35.87 ± 1.56% ตามลำดับ) โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ยังมีฤทธิ์ต่ำกว่าสารมาตรฐาน Galantamine อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้จากการทดสอบพืชวัตถุเดี่ยวจำนวน 46 ชนิด พบว่า โกฐพุงปลา มีฤทธิ์ยับยั้ง AChE สูงที่สุด (85.99 ± 1.16%) ซึ่งใกล้เคียงกับ Galantamine (94.48 ± 0.26%) ในส่วนของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดเอทานอลของตำรับยาหอมทิพโอสถทั้งสองตัวอย่างมีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.55 ± 0.55 และ 3.93 ± 1.73 µg/mL ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่าสารมาตรฐาน L-ascorbic acid (1.56 ± 0.68 µg/mL) และ quercetin (1.64 ± 0.47 µg/mL) อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในทางกลับกัน จากการทดสอบพืชวัตถุเดี่ยว พบว่าโกฐพุงปลามีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด (0.78 ± 0.73 µg/mL) ซึ่งมีฤทธิ์ดีกว่าสารมาตรฐานทั้งสองชนิดอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารอ้างอิง

กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. (2562). รายชื่อยาสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2562 (บัญชียา ก). นนทบุรี: กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, กระทรวงสาธารณสุข.

มูลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์แผนไทยเดิมฯ. (2559). ตำราเภสัชกรรมไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์พิมพลักษณ์ กรุงเทพฯ : โรงเรียนอายุรเวท (ชีวโกมารภัจจ์) มูลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์แผนไทยเดิมฯ.

Apel, K. and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology 55(1): 373 - 399. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701.

Boonyuenyong, K., Chaiyawatthananthn, P., Intarawan, T., Houngiam, K. and Ngankogsoong, Y. (2023). Effects of ethanol and aqueous extracts of *Terminalia chebula, Cyperus rotundus, Tinospora crispa* and the combined remedy on anti-oxidant activities and capacities. Asian Medical Journal and Alternative Medicine 23(2): 102 - 109.

Chen, Z.R., Huang, J.B., Yang, S.L. and Hong, F.F. (2022). Role of cholinergic signaling in Alzheimer's disease. Molecules 27(6): 1816. doi: 10.3390/molecules27061816.

Dhingra, D., Parle, M. and Kulkarni, S.K. (2006). Comparative Brain Cholinesterase-Inhibiting Activity of Glycyrrhiza glabra, Myristica fragrans, Ascorbic Acid, and Metrifonate in Mice. Journal of Medicinal Food 9: 281 - 283.

Dos Santos, T.C., Gomes, T.M., Pinto, B.A.S., Camara, A.L. and Paes, A.M.A. (2018). Naturally occurring acetylcholinesterase inhibitors and their potential use for Alzheimer's disease therapy. Frontiers in Pharmacology 9: 1192. doi: 10.3389/fphar.2018.01192

Ferreira-Vieira, T.H., Guimaraes, I.M., Silva, F.R. and Ribeiro, F.M. (2016). Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. Current Neuropharmacology 14(1): 101 - 115. doi: 10.2174/1570159X13666150716165726.

Francis, P.T., Palmer, A.M., Snape, M. and Wilcock, G.K. (1999). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. Journal of Neurology. Neurosurgery & Psychiatry 66(2): 137 - 147. doi: 10.1136/jnnp.66.2.137.

Gali, L. and Bedjou, F. (2019). Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanol extract fractions and total alkaloids from the cultivated Ruta chalepensis. South African Journal of Botany 120: 163 - 169. doi: 10.1016/j.sajb.2018.04.011.

Ghosh, R., Banerjee, S. and Chatterjee, A. (2023). Pharmacological properties and bioactive constituents of *Terminalia chebula*: A comprehensive review. Frontiers in Pharmacology 14: 1134572. doi: 10.3389/fphar.2023.1134572.

Gulcin, İ. and Alwasel, S.H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. Processes 11(8): 2248. doi: 10.3390/pr11082248

Hampel, H., Mesulam, M.M., Cuello, A.C., Farlow, M.R., Giacobini, E. and Grossberg, G.T. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. Brain 141(7): 1917 - 1933. doi: 10.1093/brain/awy132.

Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., Chuenchom, K., Yuyaem, T. and Thongnoi, W. (2003). Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. Journal of Ethnopharmacology 89(2–3): 261 - 264. doi: 10.1016/j.jep.2003.08.008.

Jeong, G.S., Kang, M.G., Lee, J.Y., Lee, S.R., Park, D., Cho, M. and Kim, H. (2020). Inhibition of butyrylcholinesterase and human monoamine oxidase-B by the coumarin glycyrol and liquiritigenin isolated from Glycyrrhiza uralensis. Molecules 25(17): 3896. doi: 10.3390/molecules25173896.

Kumar, A., Singh, A. and Ekavali. (2015). A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. Pharmacological Reports 67(2): 195 - 203. doi: 10.1016/j.pharep.2014.09.004

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy Reviews 4(8): 118 - 126. doi: 10.4103/0973-7847.70902

Olazarán, J. and García, G. (2002). Galantamine: A novel cholinergic agent for Alzheimer's disease. Neurologia 17(8): 429 - 436.

Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G., Kan, Y. and Choudhary, M.I. (2007). Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. Food Chemistry 103: 1247 - 1254. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.10.030.

Noridayu, A.R., Hii, Y.F., Faridah, A., Khozirah, S. and Lajis, N. (2011). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of *Pluchea indica* (Less). International Food Research Journal 18(3): 925 - 929.

Perry, E.K., Pickering, A.T., Wang, W.W., Houghton, P.J. and Perry, N.S. (1999). Medicinal plants and Alzheimer's disease: from ethnobotany to phytotherapy. Journal of Pharmacy and Pharmacology 51(5): 527 - 534. doi: 10.1211/0022357991772808.

Premkaisorn, P. (2010). Evaluation of Antioxidant Activity of Eleven Thai Medicinal Herbs. SWU Science Journal 26(1): 30 - 37.

Puthongking, P., Ratha, J., Panyatip, P., Datham, S., Siriparu, P. and Yongram, C. (2023). The effect of extraction solvent on the phytochemical contents and antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of extracts from the leaves, bark and twig of Dipterocarpus alatus. Tropical Journal of Natural Product Research 7(12): 5595 - 5604. doi: 10.26538/tjnpr/v7i12.32.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science 2(4): 152 - 159. doi: 10.1016/S1360-1385(97)01018-2.

Stanciu, G.D., Luca, A., Rusu, R.N., Bild, V., Beschea Chiriac, S.I., Solcan, C., Bild, W. and Ababei, D.C. (2020). Alzheimer's Disease Pharmacotherapy in Relation to Cholinergic System Involvement. Biomolecules 10(1): 40. doi: 10.3390/biom10010040.

Thoobbucha, N. and Petchler, C. (2015). Free radical scavenging capacity and modulative effect on antioxidant enzyme activity of *Pluchea indica* Less. tea leaf extract. Health Science and Technology Review 8(2): 74 - 79.

❑❑❑❑❑