



การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์สมานแผลในหลอดทดลอง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีของตำรับยาน้ำมันประสานแผล  
*In vitro* Evaluation of Antioxidant, Anti-Inflammatory, Wound Healing Activities and GC-MS Analysis of Wound Healing Oil Remedy

ชวภณ พุ่มพงษ์\*

หลักสูตรการแพทย์แผนไทยบัณฑิต มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต กรุงเทพมหานคร 10210

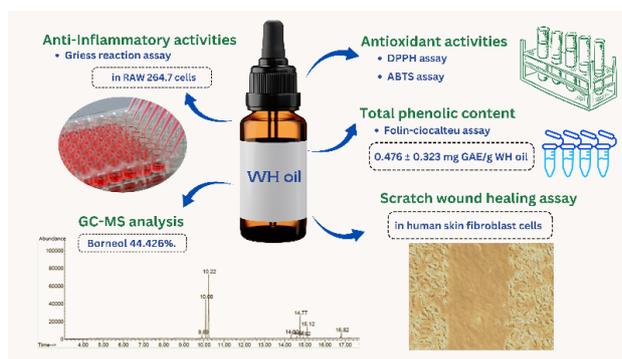
Chawapon Phoomphong\*

Thai Traditional Medicine Program, Dhurakij Pundit University, Bangkok 10210

Received 24 December 2024; Received in revised 4 July 2025; Accepted 13 July 2025

GRAPHICAL ABSTRACT

ABSTRACT



This study investigated the *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities, as well as the chemical composition, of the wound healing oil remedy (WH oil), using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. The results of the DPPH and ABTS assays indicated that WH oil exhibited low antioxidant activity in both methods. The total phenolic content was  $0.476 \pm 0.323$  mg of gallic acid equivalents (GAE) per gram of WH oil. GC-MS analysis identified nine chemical constituents, with borneol being the predominant compound at 44.426%. No anti-inflammatory activity of WH oil was observed via nitric oxide inhibition in RAW 264.7 macrophage cell cultures. However, the wound healing efficacy in human skin fibroblast

cells was 0.63 times that of vitamin C, and the oil demonstrated cellular safety. These findings suggest that the wound healing oil remedy produced via the simmering oil process exhibits stimulatory effects on human skin fibroblast cells, which are important factors influencing wound healing.

คำสำคัญ

บทคัดย่อ

ตำรับยาน้ำมันประสานแผล;  
 องค์ประกอบทางเคมี;  
 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ;  
 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ; ฤทธิ์สมานแผล

การศึกษานี้เป็นการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดลอง และองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีของตำรับยาน้ำมันประสานแผล (WH oil) ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS assay พบว่า WH oil มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำทั้งสองวิธี ส่วนปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ  $0.476 \pm 0.323$  มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของ WH oil การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด 9 ชนิด และมีสาร Borneol (44.426%) เป็นองค์ประกอบหลัก WH oil ไม่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านกลไกยับยั้งไนตริกออกไซด์ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงแมคโครฟาจ RAW 264.7 แต่พบว่าฤทธิ์สมานแผลในเซลล์ ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์เป็น 0.63 เท่าของวิตามินซีและมีความปลอดภัยต่อเซลล์ การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าตำรับยาน้ำมันประสานแผลด้วยวิธีการหุง มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการส่งเสริมการหายของบาดแผล

Keywords

Wound healing oil remedy;  
 Chemical composition;  
 Antioxidant activities;  
 Anti-inflammatory activities;  
 Wound healing activities

\*ผู้รับผิดชอบบทความ: chawapon.pho@dpu.ac.th

DOI: 10.14456/tstj.2026.7

## 1. บทนำ

บาดแผล (Wounds) หมายถึง การบาดเจ็บทุกชนิดที่ก่อให้เกิดความเสียหายมีการฉีกขาด หรือแตกสลายของผิวหนัง หรือเยื่อส่วนอื่นๆ ของร่างกาย อาจเกิดจากการได้รับแรงกระแทกจากของแข็งและของมีคม ซึ่งบาดแผลมีหลายชนิด เช่น บาดแผลถลอก บาดแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก บาดแผลฉีกขาดจากอุบัติเหตุ บาดแผลจากการผ่าตัดรักษา บาดแผลจากโรคเรื้อรัง เป็นต้น โดยปกติแล้วเมื่อร่างกายเกิดบาดแผลขึ้นไม่ว่าจะด้วยวิธีใด จะมีกระบวนการบำบัดรักษาเองตามธรรมชาติ ในการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาแทนที่ใหม่ การหายของบาดแผลนั้นแบ่งแยกขึ้นตอนที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องได้เป็น 4 ระยะคือ 1. ระยะห้ามเลือด (Haemostasis phase) 2. ระยะการอักเสบ (Inflammatory phase) 3. ระยะการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ หรือระยะงอกขยาย (Proliferative phase) 4. ระยะการสร้างความแข็งแรง ทนทาน หรือระยะเจริญเต็มที่ (Maturation phase) [1]

การอักเสบถือเป็นส่วนสำคัญของการรักษาบาดแผล และเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนเกิดจากปฏิกิริยาการตอบสนองของเซลล์ภายในร่างกาย ด้วยการหลั่งสารสื่อกลางทางเคมี เช่น ฮิสตามีน ไนตริกออกไซด์ พรอสตาแกลนดิน อี 2 และลิพิดโอโตริน ทำให้มีอาการที่ปรากฏ คือ ปวด บวม แดง ร้อน บริเวณบาดแผล [2] นอกจากสารไนตริกออกไซด์ที่เป็นอนุมูลอิสระแล้วยังมีสารอนุมูลอิสระออกซิเจน (Reactive oxygen species, ROS) ที่ถูกผลิตขึ้นจากเซลล์อักเสบต่างๆ หากอนุมูลอิสระดังกล่าวมีปริมาณมากและกระบวนการอักเสบกินเวลานานเกินไป ทำให้การทำงานของไฟโบรบลาสต์ และเซลล์เคอราติโนไซต์ บกพร่อง ส่งผลต่อกระบวนการซ่อมแซมบาดแผลให้ช้าลง [3] และนำไปสู่การเกิดแผลเรื้อรัง ดังนั้น การลดกระบวนการสร้างอนุมูลอิสระและการอักเสบจำเป็นอย่างยิ่งที่จะช่วยส่งเสริมการหายของแผลเป็นปกติตามระยะเวลาที่เหมาะสม [4]

การดูแลรักษาบาดแผล ตามองค์ความรู้การแพทย์แผนไทยและการแพทย์พื้นบ้านนั้น มีมาอย่าง

ยาวนานก่อนถึง ยุคความเจริญก้าวหน้าทางการแพทย์แผนปัจจุบัน บาดแผลที่เกิดขึ้นจะมีการวินิจฉัยถึงสมุฏฐานโรค (ที่ตั้ง, สาเหตุการเกิดโรค) ของผู้ป่วย ตามศาสตร์การแพทย์แผนไทยที่ส่งผลกระทบต่อปถวีธาตุ (ธาตุดิน) ได้แก่ ตะโจ (ผิวหนัง) และมังสัง (เนื้อ) เป็นต้น จากนั้นเข้าสู่กระบวนการรักษาบาดแผลอาจให้ยากินหรือยาใช้ภายนอก หรือใช้ร่วมกันทั้งสองอย่างในการรักษา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงและชนิดของบาดแผล การใช้ยาน้ำมันเป็นรูปแบบหนึ่งที่ยอมรับสำหรับไว้ใส่และทาแผลภายนอก โดยมีกรรมวิธีการหุงหรือเคี้ยวน้ำมันกับสมุนไพรให้ได้สารสำคัญทางยาออกมาและเป็นหนึ่งใน 28 วิธีของการปรุงยาตามแบบแผนโบราณของเภสัชกรรมไทย [5] ทั้งนี้มีหลักฐานการค้นพบในศิลาจารึก ณ วัดพระเชตุพนวิมลมังคลาราม (วัดโพธิ์) และถูกรวบรวมเก็บเป็นหนังสือที่ชื่อว่า “ตำราเภสัช” ที่กล่าวถึงตำรับยาน้ำมันประสานแผลที่เป็นรูปแบบยาทาแผลภายนอก โดยในตำรับมีสมุนไพรประกอบด้วยกัน 8 ชนิด ได้แก่ กระเทียม ขมิ้นอ้อย บอระเพ็ด สีเสียดเทศ สีเสียดไทย เบญจกานี น้ำมันงา และพิมเสน [6] ทั้งนี้สมุนไพรทั้ง 8 ชนิด มีรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการอักเสบ [7-16] อีกทั้งเป็นตำรับที่ใช้สมุนไพรที่สามารถหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาดและประชาชนส่วนใหญ่รู้จัก หรือร้านขายยาสมุนไพรมีจำหน่ายทั่วไป ตามแผนเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 13 (พ.ศ. 2566-2570) กลยุทธ์ที่ 3 ด้านพัฒนาการผลิตและสนับสนุนสมุนไพร [17] รวมถึงวิสัยทัศน์และพันธกิจของกรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ได้ส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์พื้นบ้านไทย เพื่อนำไปใช้ในระบบบริการสุขภาพอย่างมีคุณภาพ ปลอดภัยและเป็นทางเลือกให้แก่ประชาชนในการดูแลสุขภาพ

ด้วยเหตุนี้ ผู้วิจัยจึงนำองค์ความรู้ภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์พื้นบ้านไทยที่ได้จารึกไว้ในตำรามาพิสูจน์ยืนยันตามสรรพคุณของตำรับยาด้วยวิธีการดั้งเดิม เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้าน

การอักเสบ ฤทธิ์สมานแผลและองค์ประกอบทางเคมีของตำรับยาน้ำมันประสานแผลไว้เป็นฐานข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ และอาจนำไปสู่การพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรใช้ทดแทนหรือเป็นทางเลือกให้กับประชาชนได้อย่างปลอดภัย ทั้งยังส่งเสริมและสนับสนุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์พื้นบ้านไทยให้เป็นที่รู้จักแพร่หลายมากขึ้น

## 2. วิธีดำเนินการวิจัย

### 2.1 การเตรียมตำรับยาน้ำมันประสานแผล (WH oil) ด้วยกรรมวิธีการหุง

การหุง เป็นวิธีการของการปรุงยาตามแบบแผนโบราณของเภสัชกรรมไทย ทั้งนี้มีส่วนประกอบของตำรับยาน้ำมันประสานแผล 8 ชนิด (Table 1) โดยซื้อสีเสียดเทศ สีเสียดไทย เบญจกานี น้ำมันงาและพิมเสน จากร้านเวชพงศ์โอสถ จังหวัดกรุงเทพมหานคร ส่วนกระเทียม ขมิ้นอ้อย และบอระเพ็ด ซื้อจากร้านสมุนไพร ตลาดท่าฉาง จังหวัดนนทบุรี ตรวจสอบและระบุชื่อวิทยาศาสตร์ของเครื่องยา เก็บเป็นฐานข้อมูลสมุนไพรไว้ที่หลักสูตรการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยบูรพาจันทบุรี จังหวัด

กรุงเทพมหานคร จากนั้นนำกระเทียม ขมิ้นอ้อย บอระเพ็ด มาล้างทำความสะอาด ผึ่งลมให้แห้ง และหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่นให้ละเอียด เทกรองผ่านผ้าขาวบาง บีบคั้นน้ำสมุนไพรแต่ละชนิด ให้ได้ปริมาณชนิดละ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำน้ำสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มาผสมกับน้ำมันงา ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ตั้งไฟร้อน 100 องศาเซลเซียส ใช้เวลาหุง 24 ชั่วโมงติดต่อกันเป็นเวลา 2 วัน จนสังเกตได้ว่าไม่มีการแบ่งชั้นระหว่างน้ำมันกับน้ำสมุนไพร ซึ่งจะเริ่มเปลี่ยนสีของน้ำมันจากสีขุ่น เป็นสีใส เมื่อครบเวลาให้กรองน้ำมันสมุนไพรอีกครั้งและนำสีเสียดเทศ สีเสียดไทย เบญจกานี และพิมเสนที่บดเป็นผง ชนิดละ 3.75 กรัม เติลงแช่ในน้ำมันสมุนไพรทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

### 2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

#### 2.2.1 DPPH radical scavenging activity

ดัดแปลงตามวิธีการของ Marvella et al. [18]

เตรียม WH oil ความเข้มข้นสุดท้าย 1.56-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ละลายในไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เติลงไม่โครเพลท 96 หลุม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสม

Table 1 Components of wound healing oil remedy (WH oil)

Scientific names	Part of use	Amounts	No. of samples
1. <i>Allium sativum</i> L.	Bulb (fresh)	1,000 ml	DPU-TM(67)-01
2. <i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe.	Rhizome (fresh)	1,000 ml	DPU-TM(67)-02
3. <i>Tinospora crispa</i> L.	Twining stem (fresh)	1,000 ml	DPU-TM(67)-03
4. <i>Uncaria gambir</i> (Hunter) Roxb.	Gum (dried)	3.75 g	DPU-TM(67)-04
5. <i>Acacia catechu</i> (L.f.) Willd.	Gum (dried)	3.75 g	DPU-TM(67)-05
6. <i>Quercus infectoria</i> G. Olivier	Fruit (dried)	3.75 g	DPU-TM(67)-06
7. <i>Sesamum indicum</i> L.	Seed oil	500 ml	-
8. <i>Borneolum Syntheticum</i> (Borneol)	-	3.75 g	-

กับสารละลาย DPPH ในไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

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

$$A_{\text{control}} = \text{DPPH } 150 \mu\text{l} + \text{IPA } 50 \mu\text{l}$$

$$A_{\text{sample}} = \text{DPPH } 150 \mu\text{l} + \text{sample } 50 \mu\text{l}$$

$$A_{\text{blank}} = \text{IPA } 150 \mu\text{l} + \text{sample } 50 \mu\text{l}$$

นำค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟเส้นตรงหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของ WH oil เพื่อคำนวณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ DPPH<sup>•</sup> ลดลงร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>)

### 2.2.2 ABTS radical scavenging activity ดัดแปลงตามวิธีการของ Marvella et al. [18]

เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ มาทำปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้ทำการเจือจางด้วย

$$\% \text{ Inhibition} = \{ [A_{\text{control}} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})] / A_{\text{control}} \} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$A_{\text{control}} = \text{ABTS } 150 \mu\text{l} + \text{IPA } 50 \mu\text{l}$$

$$A_{\text{sample}} = \text{ABTS } 150 \mu\text{l} + \text{sample } 50 \mu\text{l}$$

$$A_{\text{blank}} = \text{IPA } 150 \mu\text{l} + \text{sample } 50 \mu\text{l}$$

นำค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟเส้นตรงหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของ WH oil เพื่อคำนวณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ABTS<sup>•+</sup> ลดลงร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>)

โดยใช้โทรลล็อกซ์เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ (1)

ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ ให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตรให้อยู่ในช่วง 0.70 ± 0.05 และเตรียม WH oil ความเข้มข้นสุดท้าย 1.56-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ละลายในไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์เติมลงไมโครเพลท 96 หลุม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร โดยใช้โทรลล็อกซ์เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ (2)

### 2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม ดัดแปลงตามวิธีการของ Penprapai et al. [19]

นำ WH oil จำนวน 10 กรัม ละลายในเฮกเซน ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เทใส่ในกรวยแยกและเติมสารละลายที่ผสม เอทานอลและน้ำกลั่นปราศจากไอออนในอัตราส่วน 80:10 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่าผสมเข้ากันเป็นเวลา 2 นาที จากนั้น ไซส่วนล่างที่เป็นชั้นเอทานอล-น้ำเก็บไว้ ทำซ้ำ 2 ครั้ง สารสกัดชั้นเอทานอล-

น้ำที่ได้นำมาผสมกันแล้วไปประเหยด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สารสกัดที่ได้ไปเจือจางด้วยเอทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ ไมโครเพลท 96 หลุม ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ สารละลายฟอสฟอรัส-ซีโอแคลเซียม (ร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อ ปริมาตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานของกรด แกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม ของ WH oil

**2.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี**

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ WH oil ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas chromatograph-Mass spectrometer, GC-MS) (ยี่ห้อ GC : Agilent technologies รุ่น 6890n, MS : Agilent technologies รุ่น 5973 inert, USA) ใช้ คอลัมน์ GC Column HP-5 ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ตั้งอัตราการไหลของก๊าซ ฮีเลียม (He) เข้าคอลัมน์เป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตร WH oil ที่ฉีด 1 ไมโครลิตร (Split ratio 50:1) โดยตั้ง อุณหภูมิส่วนที่ฉีดสาร 250 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิ คอลัมน์ตั้งโปรแกรมโดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 50 องศา เซลเซียส นาน 2 นาที จากนั้นเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเร็ว 10 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึงอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที และเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเร็ว 15 องศาเซลเซียส ต่อนาทีจนถึงอุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นบันทึกผลเป็นโครมาโทแกรมและประเมินผลโดย เทียบค่า Retention time และ Mass spectrum ของ

WH oil แต่ละพีคที่ได้กับค่า Retention time และ Mass spectrum ของค่ามาตรฐานที่บันทึกไว้ใน Library (Wiley 7n.1)

**2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ**

**2.5.1 การเหนี่ยวนำเซลล์ให้หลั่งไนตริก ออกไซด์ (NO) และทดสอบด้วย WH oil**

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ในอาหาร เลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม ที่ประกอบด้วยเซรัมลูกวัว 10% และ เพนนิซิลลิน-สเตรปโตมัยซิน 1% ปริมาณ 1 x 10<sup>4</sup> เซลล์ต่อหลุม ในไมโครเพลท 96 หลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มี ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ที่ 5% และความชื้น 95% หลังจากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เดิมออก เติมน้ำไป โพลีแซคคาไรด์ ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อยู่ที่ 5% และความชื้น 95% เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นให้เซลล์หลั่ง ไนตริกออกไซด์ และเติม WH oil ที่ละลายด้วยพีอีจี 40 (ร้อยละ 2 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ในอาหารเลี้ยงชนิด ดีเอ็มอีเอ็มเจือจาง แบบ 10 เท่า ให้ได้ทั้งหมด 4 ความ เข้มข้นลงในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตรและนำไปบ่มที่สภาวะเดิม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูด อาหารเลี้ยงเซลล์เดิมออก ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ ในไมโครเพลท 96 หลุมอันใหม่ และเติมกริสส์รีเอเจนต์ ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที วัดค่า การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร จากนั้น คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ จากสมการ (3)

$$\% \text{ NO inhibition} = \left[ \frac{(\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{test}})}{\text{OD}_{\text{control}}} \right] \times 100 \dots\dots\dots(3)$$

OD<sub>test</sub> = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจากเซลล์ RAW 264.7 ที่ได้รับสารตัวอย่าง

OD<sub>control</sub> = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจากเซลล์ RAW 264.7 ที่ไม่ได้รับสารตัวอย่าง (กลุ่มควบคุม)

## 2.5.2 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ด้วยวิธี SRB assay

นำเซลล์ที่อยู่ในไมโครเพลท จากข้อ (2.5.1) ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยการย้อมสีซัลโฟโรดามีน บีโดยทำการตรึงเซลล์ด้วย 10% ทิซีเอ ปริมาตร 70 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นล้างออกด้วยน้ำ ผึ่งให้แห้งที่

$$\% \text{ Cell viability} = \left( \frac{\text{OD}_{\text{test}}}{\text{OD}_{\text{control}}} \right) \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

OD<sub>test</sub> = ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ RAW 264.7 ที่ใส่สารตัวอย่าง

OD<sub>control</sub> = ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ RAW 264.7 ที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่าง (กลุ่มควบคุม)

## 2.6 การทดสอบฤทธิ์สมานแผล ด้วยวิธี Scratch wound healing assay

### 2.6.1 การทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี SRB assay

ทำเช่นเดียวกับข้อ (2.5.2) เปลี่ยนจากเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 เป็นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์

### 2.6.2 การทดสอบฤทธิ์สมานแผล ด้วยวิธี Scratch wound healing assay

โดยเตรียมเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ (Human skin fibroblast) จำนวน 100,000 เซลล์ต่อหลุม ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็มที่ประกอบด้วยเซรัมลูกวัว 10% และเพนนิซิลลิน-สเตรปโตมัยซิน 1% ปริมาณ  $1 \times 10^4$  เซลล์ต่อหลุมในไมโครเพลท 96 หลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ที่ 5% และความชื้น 95% หลังจากเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์เจริญเป็นโมโนเลเยอร์ แล้วจึงใช้ปิเปต ทิป ขูดเซลล์ตำแหน่งตรงกลางและล้างเซลล์ที่หลุดออกด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์ ก่อนเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ที่ผสมสารละลาย WH Oil ด้วยพีอีจี 40 (ร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำเซลล์ไปถ่ายภาพโดยใช้ Microphotograph

อุณหภูมิห้อง เมื่อแห้งแล้วนำเซลล์ที่ได้มาย้อมด้วย 0.4% เอสอาร์บีรีเอเจนต์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นาน 2 ชั่วโมง และล้างเซลล์ด้วย 1% กรดแอสติก ในขั้นตอนสุดท้ายละลายสีเอสอาร์บีโดร ด้วย 10 มิลลิโมลาร์ ทริสเบส พีเอช 8 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตอยู่ของเซลล์ จากสมการ (4)

ที่กำลังขยาย 400 เท่า (0 ชั่วโมง) จากนั้นนำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นวิเคราะห์ภาพถ่ายระยะที่เซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์เคลื่อนย้ายในชั่วโมงต่างๆ ด้วยโปรแกรมแม็กวิชั่น ซอฟต์แวร์ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการลดลงของระยะห่างของรอยขีดเทียบกับ 0 ชั่วโมงของการทดสอบและเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารมาตรฐานวิตามินซีเป็นสารที่ช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหายของบาดแผล

## 2.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

แสดงข้อมูลผลการทดลองในรูปแบบของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ One-way ANOVA และ Post hoc tests โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V. 25.0

## 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การหุงตำรับยาน้ำมันประสานแผล (WH oil) มีลักษณะเป็นของเหลว สีเหลืองใส มีกลิ่นเฉพาะ และมีปริมาณร้อยละของผลผลิต (% Yield) เท่ากับร้อยละ

10.43 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ WH oil ด้วยวิธี DPPH และ ABTS Radical scavenging activity เป็นการทดสอบความสามารถของสารตัวอย่าง ซึ่งดูจากการเปลี่ยนของสีจากสีเข้มจะจางลง โดย DPPH<sup>•</sup> มีสีม่วงเข้ม และ ABTS<sup>•+</sup> มีสีฟ้าหรือเขียว หากสารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สีของอนุมูลอิสระดังกล่าวจางลง ทั้งนี้เกิดจากความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมของสารตัวอย่างแก่อนุมูลอิสระของ DPPH<sup>•</sup> ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical scavenging activity และการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระของ ABTS<sup>•+</sup> ที่ถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Radical scavenging activity จากการทดลองพบว่า WH oil ที่ความเข้มข้นต่างๆ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน โดยมีค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถต้านอนุมูลอิสระของ DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>•+</sup> ได้ร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>) เท่ากับ 6,447 ± 0.707 และ 490 ± 0.047 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่มีฤทธิ์ที่น้อยกว่าสารมาตรฐาน Trolox นอกจากนี้ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของ WH oil พบว่าปริมาณฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 0.476 ± 0.323 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม WH oil (Table 2) ในพืชสมุนไพรที่มีสารต้านอนุมูลอิสระทั้งกลุ่มโครงสร้างมีขี้และไม่ขี้ ซึ่งมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายที่มีขี้และไม่ขี้ต่างกันตามหลักการละลายกันได้ (Like dissolves like) และสำหรับ

ปริมาณฟีนอลิกที่อยู่ในพืชทุกชั้นตัวทำละลายจะพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุดในตัวทำละลายที่มีขี้สูงสุดและจะลดลงในตัวทำละลายที่มีขี้ต่ำและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าตัวทำละลายไม่มีขี้ [20] พบได้ว่า WH oil ที่ผ่านกรรมวิธีการสกัดสารสำคัญแบบดั้งเดิมเป็นการใช้น้ำมันจากพืช ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขี้ทำให้มีปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างน้อย และเมื่อเทียบความเข้มข้นของสารตัวอย่างตามรายงาน Pigai et al. [21] ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระถือว่า WH oil มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำ

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ WH oil ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) พบว่า มีองค์ประกอบทางเคมี 9 ชนิด ใช้เวลาในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์อยู่ในช่วง 9 ถึง 17 นาที แสดงตั้งไอออนโครมา โดแกรม (Figure 1) โดยระบุชนิดของสารองค์ประกอบทางเคมี โดยเทียบค่า Retention time และ Mass spectrum ของ WH oil แต่ละพีคที่ได้กับค่า Retention time และ Mass spectrum ของค่ามาตรฐานที่บันทึกไว้ใน Library แต่มีองค์ประกอบทางเคมีเพียง 4 ชนิดที่ % Match มากกว่า 80% และสารที่พบในปริมาณมากที่สุด คือ Borneol (44.426%) (Table 3) สาร Borneol จัดเป็น Bicyclic monoterpene alcohol ของกลุ่มสารเทอร์พีนในน้ำมันหอมระเหยและมิกลิ้นเฉพาะตัว นอกจากพิมเสน (Borneolum syntheticum) แล้วยังพบว่าขมิ้นอ้อยมีสาร Borneol เป็นองค์ประกอบทางเคมีเช่นกัน [22] รายงานการศึกษา

Table 2 Antioxidant activities and total phenolic content of WH oil (n=3)

Samples	Total phenolic content (mg GAE/g WH oil)	Antioxidant activities	
		DPPH IC <sub>50</sub> (µg/mL)	ABTS IC <sub>50</sub> (µg/mL)
WH oil	0.476 ± 0.323	6,447 ± 0.707	490 ± 0.047
Trolox	-	7 ± 0.000	4 ± 0.000

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร Borneol ที่มีคุณสมบัติต้านเกล็ดชิวทยาได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต่อหัวใจและหลอดเลือด ลดความเจ็บปวดและต้านการอักเสบได้ [23, 24]

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของ WH oil ต่อการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ ส่งผลให้มีการผลิตไนตริกออกไซด์เพิ่มมากขึ้นและวัดระดับของไนโตรเจน ไดออกไซด์ด้วยวิธี Griess reaction

assay ผลการศึกษาพบว่า WH oil ที่ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เท่ากับ  $15.64 \pm 0.78\%$ ,  $16.89 \pm 2.43\%$ ,  $16.89 \pm 2.35\%$  และ  $17.35 \pm 3.54\%$  ตามลำดับ (Table 4) หลังจากวัดการยับยั้ง การหลั่งไนตริกออกไซด์แล้ว นำมาพิจารณาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ด้วยวิธี SRB assay พบว่า WH oil ไม่มีผลทำให้ความมีชีวิต

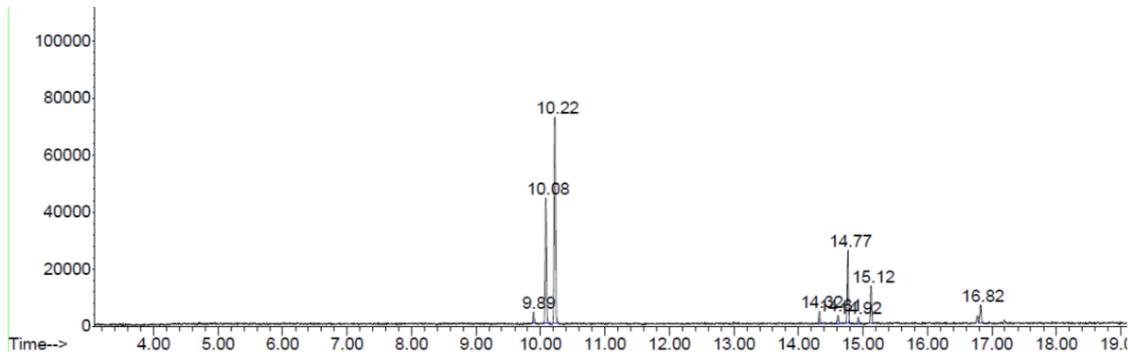


Figure 1 GC-MS chromatogram showing peaks and retention time of WH oil

Table 3 Library matches of the identified peaks from the chromatogram of WH oil by using GC-MS

Peak	RT	Compounds names	% Match	% of Total
1	9.894	Camphor	53	1.733
2	10.083	Isoborneol	83	25.439
3	10.223	Borneol	83	44.426
4	14.324	Alpha-Caryophyllene	83	2.165
5	14.610	Alpha-Curcumene	53	1.567
6	14.766	Alpha-Zingiberene	58	12.292
7	14.923	Trans-alpha-Bergamotene	47	1.054
8	15.122	Beta-Sesquiphellandrene	87	7.238
9	16.822	Ar-Turmerone	38	4.084

ของเซลล์ (Cell viability) ลดลง โดยทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบมีร้อยละของความมีชีวิตของเซลล์มากกว่าร้อยละ 90 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดพืช [25]

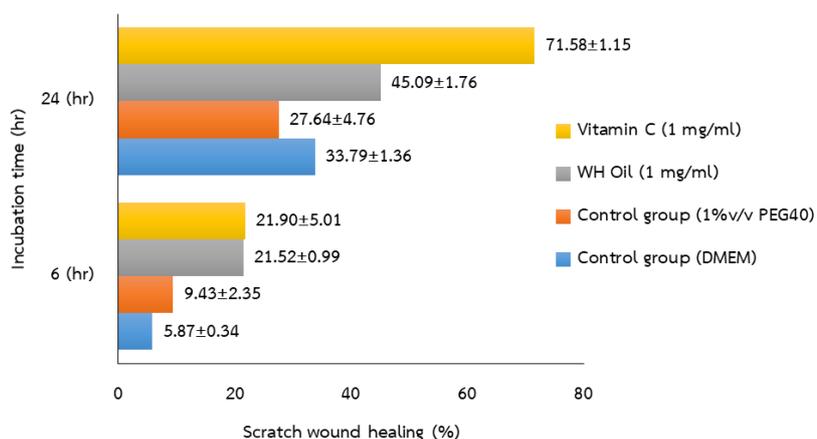
จากการศึกษาฤทธิ์สมานแผลด้วยวิธี Scratch wound healing assay โดยพิจารณาจากการเคลื่อนที่ของเซลล์เซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์บริเวณรอยขีด

เมื่อได้รับตัวอย่างทดสอบ พบว่าเซลล์ที่ได้รับ WH Oil และสารมาตรฐานวิตามินซี เริ่มมีการเคลื่อนที่เข้าหากันเมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง โดย WH Oil สามารถกระตุ้นให้เซลล์เคลื่อนที่เข้าหากันได้มากกว่ากลุ่มควบคุม และมีค่าเฉลี่ยการเคลื่อนที่เข้าหากันใกล้เคียงกับสารมาตรฐานวิตามินซี เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง พบว่า WH Oil สามารถลดระยะห่างของรอยขีดได้  $45.09 \pm 1.76 \%$

**Table 4** Inhibitory effects of WH oil with different concentrations on NO production

Sample	Time	% NO inhibition			
		0.001 (mg/mL)	0.01 (mg/mL)	0.1 (mg/mL)	1 (mg/mL)
WH Oil	1	14.62	13.71	14.17	14.62
	2	15.99	17.35	17.80	17.35
	3	16.44	19.62	19.62	22.34
	4	15.53	16.89	15.99	15.08
	Mean±SD	15.64 ± 0.78 <sup>a</sup>	16.89 ± 2.43 <sup>a</sup>	16.89 ± 2.35 <sup>a</sup>	17.35 ± 3.54 <sup>a</sup>

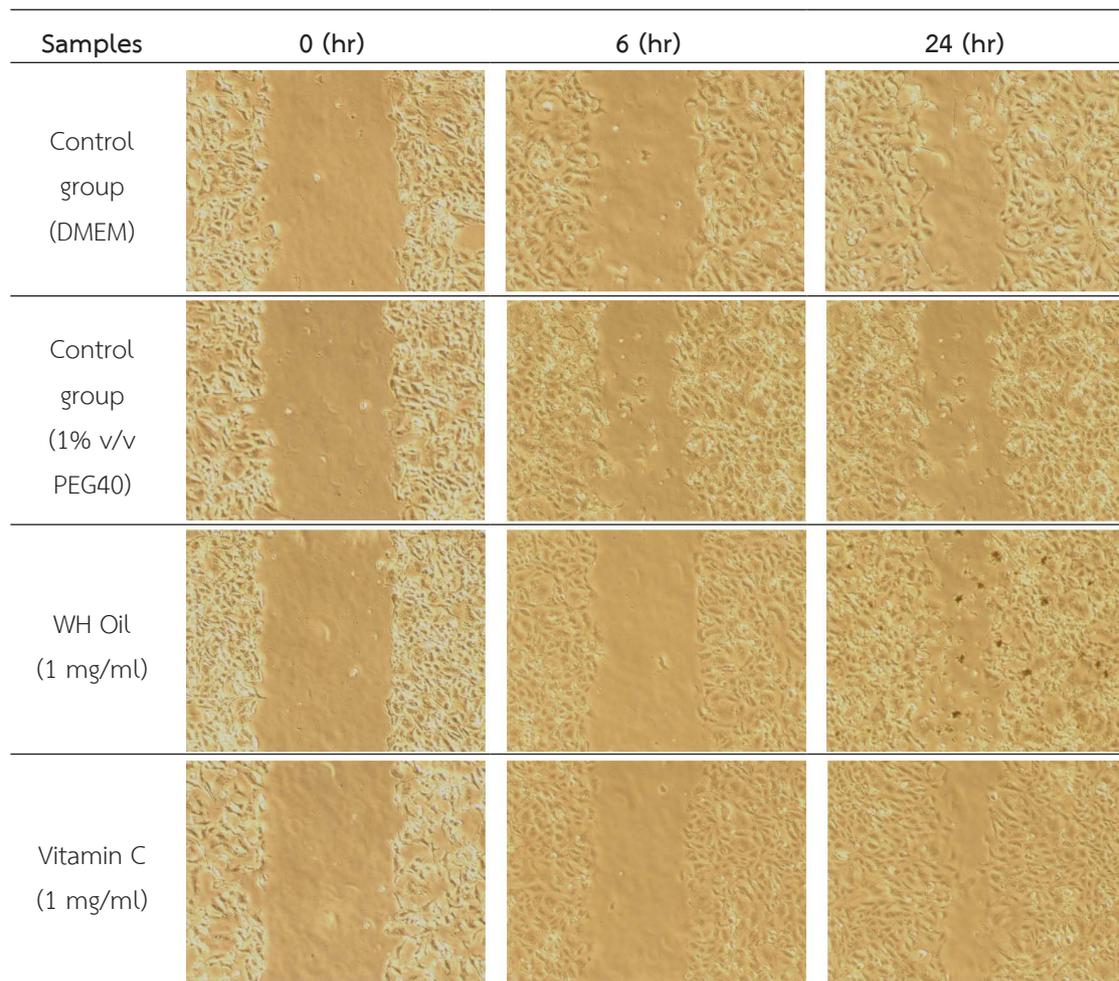
Different letters indicate a significant difference between the values (One-way ANOVA;  $p < 0.05$ ;  $n = 4$ )



**Figure 2** The percentages of wound healing activities in human skin fibroblast cells were calculated based on the remaining cell-free area at 6 and 24 hours, expressed as a percentage of the scratch area at time zero. The wound healing activities of WH oil were compared to the control group over a 24-hour period. Data were expressed as the mean ± SD ( $n = 3$ ).

ในขณะที่สารมาตรฐานวิตามินซีสามารถลดระยะห่างของรอยขีดได้  $71.58 \pm 1.15$  % (Figure 2 and Figure 3) วิตามินซีถูกใช้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบในงานวิจัยด้วยวิธี Scratch wound healing assay โดยเป็นสารช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหายของบาดแผล [26, 27] และทุกระดับความเข้มข้นของ WH Oil และสารมาตรฐานวิตามินซีที่ทดสอบมีร้อยละของควมมีชีวิต

ของเซลล์มากกว่าร้อยละ 90 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดพืช [25] จากรายงานวิจัยของ Tabatabaei et al. [28] พบว่าน้ำมันงามีส่วนช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ให้มีการหายของบาดแผลไฟไหม้ระดับ 3 ในหนูสัตว์ทดลอง รวมถึงงานวิจัยในสี่เสียดไทย [29] และสาร Borneol [30] มีส่วนช่วยส่งเสริมการหายของบาดแผลได้



**Figure 3** Representative images were captured at 0, 6, and 24 hours of wound healing activities in human skin fibroblast cells (40X magnification).

#### 4. สรุปผลการวิจัย

ตำรับยาน้ำมันประสานแผล (WH oil) ที่ได้จากการหุง ซึ่งเป็นวิธีของการปรุงยาตามแบบแผนโบราณของเภสัชกรรมไทยนั้นเมื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS assay ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมที่น้อยมาก และ WH oil เป็นสารกลุ่มน้ำมันที่ไม่มีสีและมีความหนืดเล็กน้อย ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายดีเอเอ็ม เอส โอ แอลกอฮอล์ และเอทิลอะซิเตทได้ ซึ่งเป็นการประเมินเบื้องต้นต่อการเข้ากันของตัวทำละลายชนิดต่างๆ ต้องอาศัยสารช่วยประสาน (Emulsifier) ระหว่างความเป็นส่วนของน้ำกับน้ำมันในการทดสอบฤทธิ์ต่างๆ อีกทั้งเป็นข้อจำกัดต่อการหาค่าประกอบทางเคมีด้วยโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) แต่เมื่อวิเคราะห์หาค่าประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมี 9 ชนิด โดยมีสาร Borneol เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่ง WH oil มีฤทธิ์ไม่เพียงพอต่อการต้านการอักเสบผ่านกลไกยับยั้งไนตริกออกไซด์ แต่ WH Oil มีฤทธิ์สมานแผลในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์เป็น 0.63 เท่าของวิตามินซี และมีปลอดภัยของความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างไรก็ตามรูปแบบดั้งเดิมต่อการใช้ WH oil สำหรับทาแผลภายนอกโดยตรงต่อผิวหนังที่ไม่มีการเจือจางก่อนนำมาใช้นั้น ควรได้รับการพิสูจน์วิจัยในสัตว์ทดลอง เพื่อให้เกิดความเข้าใจในการศึกษาภายในสิ่งมีชีวิต (*In Vivo*) จากการรวบรวมและศึกษาวิจัยครั้งนี้ใช้เป็นฐานข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่ยังไม่พบรายงานของการศึกษา WH oil ซึ่งผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะนำองค์ความรู้ภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์พื้นบ้านที่ได้จารึกไว้ในตำรามาพิสูจน์ยืนยันตามสรรพคุณของตำรับยาด้วยวิธีการดั้งเดิมและสู่การพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรใช้ทดแทนหรือเป็นทางเลือกให้กับประชาชนได้อย่างปลอดภัย ทั้งยังส่งเสริมและสนับสนุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์พื้นบ้านให้เป็นที่รู้จักแพร่หลายมากขึ้น

#### 5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้บริหารและวิทยาลัยเฮลท์ แอนด์ เวลเนส มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่ห้องปฏิบัติการทำวิจัย สนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ทำวิจัยในครั้งนี้

#### 6. References

- [1] Sawangjit, S. and Sriyothi, S., 2022, Basic Nursing Principles (Fundamental of Nursing), 2nd Ed., Bangkok, pp. 1-21 (in Thai)
- [2] Vechvitayaklung, P., 2013, Anti-inflammatory of Ginseng, Thai Bull Pharm Sci. 7(1): 1-16. (in Thai)
- [3] Dunnill, C., Patton, T., Brennan, J., Barrett, J., Dryden, M., Cooke, J., Leaper, D. and Georgopoulos, N. T., 2017, Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process, Int. Wound J. 14(1): 89-96.
- [4] Chaniad, P., Tewtrakul, S., Sudsai, T., Langyanai, S. and Kaewdana, K., 2020, Anti-inflammatory, wound healing and antioxidant potential of compounds from *Dioscorea Bulbifera* L. Bulbils, PLoS One. 15(12): e0243632.
- [5] Phanpheng, T., Buranasubkajorn, S. and Limsuwan, S., 2021, Herbal Medicine Preparation According to 28 Methods of Thai Traditional Medicine, Applied Thai Traditional Medicine Unit, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, 85 p. (in Thai)

- [6] Changphueak, S., 2010, Pharmacology Textbook, Bangkok, 295 p. (in Thai)
- [7] Recinella, L., Gorica, E., Chiavaroli, A., Fraschetti, C., Filippi, A., Cesa, S., Cairone, F., Martelli, A., Calderone, V., Veschi, S., Lanuti, P., Cama, A., Orlando, G., Ferrante, C., Menghini, L., Di Simone, S. C., Acquaviva, A., Libero, M. L., Nilofar, Brunetti, L. and Leone, S., 2022, Anti-Inflammatory and antioxidant effects induced by *Allium sativum* L. extracts on an *ex vivo* experimental model of ulcerative colitis, *Foods*. 11(22): 3559.
- [8] Kaewpiboon, C. and Boonnak, N., 2022, Biological activities of *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, *TSTJ*. 30(2): 1-13. (in Thai)
- [9] Adnan, A. Z., Taher, M., Afriani, T., Fauzana, A., Imelda Roesma, D. and Eka Putra, A., 2018, Anti-inflammatory activity of tinocrisposide by inhibiting nitric oxide production in lipopolysaccharides-stimulated raw 264.7 cells, *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 11(4): 149-153.
- [10] Sanpinit, S., Wetchakul, P., Chonsut, P., Prommee, N., Punsawad, C., Han, J. and Net-anong, S., 2023, Evaluation of chemical compositions and the antioxidant and cytotoxic properties of the aqueous extract of Tri-Yannarose remedy (*Areca catechu*, *Azadirachta indica*, and *Tinospora crispa*), *Antioxidants*. 12(7): 1428.
- [11] Tan, B. C., Mahyuddin, A., Sockalingam, S. N. M. P. and Zakaria, A. S. I., 2023, Preliminary *in vitro* cytotoxic evaluation of *Uncaria gambier* (Hunt) Roxb extract as a potential herbal-based pulpotomy medicament, *BMC Complement. Med. Ther.* 23(1): 331.
- [12] Stohs, S. J. and Bagchi, D., 2015, Antioxidant, anti-inflammatory, and chemoprotective properties of *Acacia catechu* heartwood extracts, *Phytother. Res.* 29(6): 818-824.
- [13] Aroonrerk, N. and Kamkaen, N., 2018, Anti-inflammatory activity of *Quercus infectoria*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Kaempferia galanga* and *Coptis chinensis*, the main components of Thai herbal remedies for aphthous ulcer, *J. Health Res.* 23(1): 17-22.
- [14] Azmaz, M., Kılıncarslan Aksoy, Ö., Katılmış, Y. and Mammadov, R., 2020, Investigation of the antioxidant activity and phenolic compounds of *Andricus quercustozae* Gall and host plant (*Quercus infectoria*), *Int. J. Second. Metab.* 7(2): 77-87.
- [15] Hsu, E. and Parthasarathy, S., 2017, Anti-inflammatory and antioxidant effects of Sesame oil on atherosclerosis: A descriptive literature review, *Cureus*. 9(7): e1438.
- [16] Tang, M., Zhong, W., Guo, L., Zeng, H. and Pang, Y., Role of Borneol as Enhancer in Drug Formulation: A Review, Available Source: <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2024.04.003>, July 4, 2025.
- [17] Office of the National Economic and Social Development Council 2023, The

- National Economic and Social Development Plan (2023-2070), Available Source: [https://www.nesdc.go.th/main.php?filename=develop\\_issue](https://www.nesdc.go.th/main.php?filename=develop_issue), December 24, 2023. (in Thai)
- [18] Marvella, J. I. and Kim, H. K., 2024, Synthesis of new multifunctional linolenic acid vanillyl ester and investigation of antioxidant and antibacterial activities, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 196(11): 7877–7895.
- [19] Penprapai, P. and Intharit, S., 2017, Total phenolic content and antioxidant activity of coconut oil enriched with some extracts of curcuma species in Thailand, *J. App. Sci.* 16 Special Issue: 48-54. (in Thai)
- [20] Phowichit, S., Ratanachamnong, P., Matsathit, U. and Ussawawongaraya, W., 2019, Anti-oxidant activity, phenolic and flavonoid constituents of crude extracts from *Piper ribesoides* and *Zanthoxylum limonella* traditional herbal medicine in Northern Thailand, *RJ-RMUTT.* 18(1): 25–39. (in Thai)
- [21] Pigai, H., Simaremare, E. S., Mangiwa, S., Rysbekova, A., Nadeak, E. S. and Dewi, K., 2024, Assesment of free radical in ethyl acetate extract of *Pandanus julianettii* fruit using the DPPH method, *Int. J. Pharm. Sci.* 2(2): 237-247.
- [22] Portella, R. O., Marques, M. O. M., Ono, E. O., Silva, P. S. S. D., Fernandes, A. M. and de Almeida, L. F. R., 2021, Kinetin establish the volatile chemical profile after rhizome dormancy is released in *Curcuma zedoaria* (Christm.), *Nat. Prod. Res.* 35(21): 4122 - 4125.
- [23] Zielińska-Błajet, M. and Feder-Kubis, J., 2020, Monoterpenes and their derivatives- recent development in biological and medical applications, *Int. J. Mol. Sci.* 21(19): 7078.
- [24] Almeida, J. R., Souza, G. R., Silva, J. C., Saraiva, S. R., Júnior, R. G., Quintans, J. de S., Barreto, R. de S., Bonjardim, L. R., Cavalcanti, S. C. and Quintans, L. J. Jr., 2013, Borneol, a bicyclic monoterpene alcohol, reduces nociceptive behavior and inflammatory response in mice, *Sci. World J.* 2013(4): 808460.
- [25] Shirazi, F., Neda, A. and Mohammad, K., 2004, Evaluation of northern Iran *Mentha pulegium* L. cytotoxicity, *Daru.* 12(3): 106-110.
- [26] Weeks, B. S., Fu, R. and Zaidi, M., Vitamin C Promotes Wound Healing: The Use of *In Vitro* Scratch Assays to Assess Re-Epithelialization, Available Source: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.111517>, July 4, 2025.
- [27] Motimath, A., Shaik, S., Udaniya, H., Choudhary, P., Shah, J., Pattnaik, N., Ghadage, M. and Patel, B. J., 2025, *In vitro* study on the effect of antioxidants on oral mucosal healing, *J. Pharm. Bioallied Sci.* 17(2): S1487-S1489.
- [28] Tabatabaei, S. M., Far, A. M., Saremi, Z., Zandi, M., Aghaei, S., Gohari, M. and Asadollahi, H., 2017, The effect of

- sesame oil and cucurbita on healing wounds caused by third-degree burn, J. Ski. Stem Cell. 4: e68333.
- [29] Tiwari, A., Tiwari A. and Sharma, S., 2023, Wound healing potential of *Acacia catechu* in excision wound model using *in vitro* and *in vivo* approach, Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 15(12): 27-36.
- [30] Mai, L. M., Lin, C. Y., Chen, C. Y. and Tsai, Y. C., 2003, Synergistic effect of bismuth subgallate and borneol, the major components of Sulbogin, on the healing of skin wound, Biomaterials. 24(18): 3005-3012.