

ความสามารถต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน
Antioxidant capacity and active compound of extracts from medicinal plants use
for the treatment of diabetes

สุรศักดิ์ ใจเขียนดี^{1*} และ นิตรา บุญเกิด²

Surasak Chaikhiandee^{1*} and Nitsara Boonkerd²

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์การศึกษานี้เพื่อตรวจสอบความสามารถต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ บอระเพ็ด มะระขี้นก มะเขือพวง และตำลึง ตัวอย่างสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอลร้อยละ 70 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระประเมินค่าด้วยวิธี 2, 2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) และ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) แสดงว่า สารสกัดมะเขือพวงด้วยน้ำกลั่นได้มาซึ่งความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ด้วยสารสกัดไทโรลิกซ์ 0.9 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัม และ สารสกัดกรดแอสคอร์บิก 11.9 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมจากทั้งสองวิธี ขณะที่สารสกัดตำลึงด้วยเอทานอลร้อยละ 70 มีคุณค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงสุดด้วยสารสกัด ไทโรลิกซ์ 1.4 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัม และ กรดแอสคอร์บิก 13.5 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมจากทั้งสองวิธีเช่นกัน การวัดสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ได้สารสกัดสารฟีนอลิกในสารสกัดตำลึงสูงสุด (สารสกัด 452.3 มิลลิกรัมต่อกรัม) สารออกฤทธิ์ในสารสกัดตรวจวัดได้จากสารสกัดตำลึงด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสารประกอบคาเทชินส์

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิก, พืชสมุนไพร, เบาหวาน

Abstract

The aim of this study was to investigate antioxidant capacity and active compound of extracts from four medicine plants use for the treatment of diabetes: Wormwood; Bitter gourd; Turkey berry; and Ivy gourd. The samples extracts were prepared in distilled water and 70% ethanol. The antioxidant capacity as evaluated by the 2, 2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay showed that Turkey berry extracted with distilled water obtained highest antioxidant capacities 0.9 μ mole Trolox/mg extracts, and 11.9 μ mole ascorbic acid/mg extracts from both methods while Ivy gourd

^{1*} สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

² สาขาวิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

^{1*} Department of Biochemistry, School of Medical Science, University of Phayao, Phayao Province 56000

² Department of Microbiology and Parasitology, School of Medical Science, University of Phayao, Phayao Province 56000

* Corresponding author, E-mail: surasak_bio@hotmail.com, Received: 13 January 2012; Accepted: 30 November 2013

(บทความวิจัยเรื่องนี้ได้นำเสนอการประชุมวิชาการพะเยาวิจัย ครั้งที่ 1 ในวันที่ 12-13 มกราคม 2555 ณ มหาวิทยาลัยพะเยา)

extracted with 70% ethanol had maximum values of antioxidant capacities 1.4 $\mu\text{mole Trolox/mg}$ extracts, and 13.5 $\mu\text{mole ascorbic acid/mg}$ extracts, from both methods as well. The total phenolic content measured by Folin-Ciocalteu method had the highest phenolics content in the Ivy gourd extract (452.3 mg/g extracts). The active compound in the extracts which was detected in the Ivy gourd extract by high performance liquid chromatography (HPLC) technique showed that the extracts from medicinal plants, each with catechin components.

Keywords: Antioxidant, phenolic compounds, medicinal plant, diabetes

บทนำ

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเกิดขึ้นในกระบวนการเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต โดยมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในระบบขนส่งอิเล็กตรอนเพื่อสร้างสารพลังงานสูง (ATP) ในกระบวนการดังกล่าวมักพบว่า มีการปลดปล่อยอนุมูลของออกซิเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเรียกว่า reactive oxygen species (ROS) ออกมา อนุมูลอิสระของออกซิเจนที่เกิดขึ้นในร่างกายไม่ว่าจะเป็นกระบวนการสร้างพลังงานการเกิดฟาโกไซโตซิส การเจริญเติบโตของเซลล์และการควบคุมการส่งสัญญาณระหว่างเซลล์มีบทบาทต่อสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันไป โดยอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเหล่านี้อาจทำให้เกิดความเสียหายขึ้นได้เนื่องจากสามารถเข้าไปทำลายสารมหโมเลกุลชีวภาพ ได้แก่ ลิพิดโปรตีน และดีเอ็นเอ [5, 17] ภาวะปกติสิ่งมีชีวิตสามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ปริมาณหนึ่งซึ่งเป็นสารให้ผลยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ [1] สารเหล่านี้ได้แก่ เอนไซม์และโปรตีน ในร่างกายมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น superoxide dismutase (SOD) catalase (CAT) glutathione peroxidase (GPx) และ glutathione (GSH) อย่างไรก็ตาม ในบางสภาวะระบบป้องกันภายในเซลล์มีประสิทธิภาพไม่เพียงพอ เพราะได้รับภาวะทางกายภาพ ได้แก่ การสูบบุหรี่ มลภาวะเป็นพิษ ภาวะอักเสบ ภาวะขาดเลือด (ischemia/ repulsion) และปัจจัยอื่น ทำให้เกิดอนุมูลอิสระมากเกินไปเกินความสามารถในการต้านออกซิเดชันของเซลล์ ส่งผลให้สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ภายในเซลล์เปลี่ยนแปลงไปเกิดภาวะเรียกว่า oxidative stress [4] และเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเช่น โรคผนังหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) โรค

ระบบหลอดเลือดและหัวใจ (cardiovascular disease) โรคมะเร็ง (cancer) รวมถึงภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน (diabetes) [3, 6, 15] ดังนั้น ร่างกายจำเป็นต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกเพื่อช่วยลดอันตรายอันมีผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นตลอดช่วงชีวิตของแต่ละบุคคล แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติส่วนหนึ่งได้จากการบริโภคอาหาร ผัก ผลไม้ และจากพืชสมุนไพร [16]

รายงานการวิจัยหลายชิ้นเกี่ยวกับการนำพืชสมุนไพรทดลองใช้กับสัตว์ทดลองและผู้ป่วยโรคเบาหวานพบว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ เช่น มะระขี้นก บอระเพ็ด มะเขือพวง เป็นต้น นอกจากนี้มีรายงานว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยลดภาวะ oxidative stress ของหนูเป็นเบาหวานได้ [8] แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพรรักษาเบาหวานยังไม่ชัดเจน ดังนั้นในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชสมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด เช่น สารฟีนอลิก เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารมีฤทธิ์รักษาโรคเบาหวาน และนำไปสู่การประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด ทั้งทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพรกระทำโดย

นำตัวอย่างพืชสมุนไพรแต่ละชนิด ได้แก่ บอระเพ็ด มะระขี้นก มะเขือพวง และตำลึง ล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาดและผึ่งลมให้แห้ง นำมาตัดและบดให้เป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย หลังจากนั้นสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent) ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอลร้อยละ 70 ตั้ง

ทั้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง และแยกส่วนสกัดออกจากตัวทำละลายด้วยเครื่อง vacuum evaporator ระเหยแห้งด้วยเครื่อง lyophilizer บันทึกน้ำหนักสารสกัดที่ได้ เก็บส่วนสกัดได้ในภาชนะปิดสนิทและเก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อศึกษา

การทดสอบความสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) และ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [10]

การทดสอบความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS โดยเตรียมสารละลาย 2.45 มิลลิโมลาร์ potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ใน 7 มิลลิโมลาร์ ABTS เก็บไว้ในความมืด ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ถึง 16 ชั่วโมง ได้สารละลาย ABTS radical นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปราศจากอ็อกซิเจน จนมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร = 0.70 ± 0.02 จากนั้นนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดละลายในเอทานอลร้อยละ 70 และเติมสารละลาย ABTS radical นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยการคำนวณหาความสามารถต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอคซ์ (trolox) แสดงค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity)

การทดสอบความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH [17] โดยนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่ต่างความเข้มข้นเติมลงในสารละลายร้อยละ 0.004% DPPH ในเมทานอล เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยการคำนวณหาความสามารถต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก แสดงค่าเป็น AEAC (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity)

การตรวจหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compound) หาปริมาณสารฟีนอลิกในสารสกัดโดยวิธี Folin-Ciocalteu นำสารสกัดมาละลายในเอทานอลร้อยละ 70 ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu และสารละลาย sodium carbonate ตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid)

การศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดจากพืชสมุนไพรโดยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) วิธีการตรวจสอบองค์ประกอบของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการศึกษา คือ HPLC โดยทำการเตรียมสารสกัดในสารละลายตัวพา (mobile phase) คือ methanol: acetonitrile: water ในอัตราส่วน 40: 15: 50 (v/v/v) ที่มีกรออาเซติคร้อยละ 1 และมีเฟสคงที่ (column) คือ LichocART® Superspher 100 RP-18 (4.0 ไมโครเมตร, 250 x 4.0 มิลลิเมตร) [9]

ผลการศึกษา

การสกัดพืชสมุนไพรต่างชนิดในการศึกษา คือ บอระเพ็ด มะระขี้นก มะเขือพวง และตำลึง สกัดด้วยน้ำกลั่นระยะเวลา 6 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมงพบว่า มะเขือพวงได้น้ำหนักของสารสกัดมากที่สุดคือ 0.9191 และ 0.7616 กรัม ตามลำดับ รองลงมาคือ ตำลึง บอระเพ็ด และมะระขี้นก ที่ระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมง ได้น้ำหนักสารสกัด 0.5743, 0.3421 และ 0.2213 กรัม ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงได้น้ำหนักสารสกัด 0.5264, 0.3572 และ 0.2938 กรัม ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 พบว่า มะเขือพวงได้น้ำหนักของสารสกัดมากที่สุด 0.8653 และ 0.7654 กรัม ที่ระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ รองลงมา คือ ตำลึง บอระเพ็ด และมะระขี้นก ที่ระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมง ได้น้ำหนักสารสกัด 0.3872, 0.3314 และ 0.2399 กรัม ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงได้น้ำหนักสารสกัด 0.2857, 0.3352 และ 0.3062 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

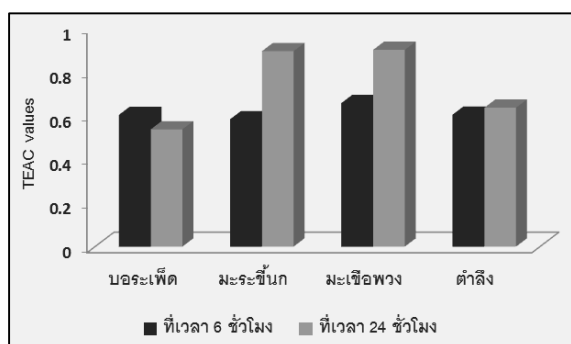
ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักแห้งของสารสกัดจากพืชสมุนไพรสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอลร้อยละ 70

พืชตัวอย่าง	น้ำหนักแห้งของสารสกัด (กรัม)*			
	สกัดด้วยน้ำกลั่น		สกัดด้วยร้อยละ 70 เอทานอล	
	ที่เวลา 6 ชั่วโมง	ที่เวลา 24 ชั่วโมง	ที่เวลา 6 ชั่วโมง	ที่เวลา 24 ชั่วโมง
บอระเพ็ด	0.3421 ± 0.028	0.3572 ± 0.025	0.3314 ± 0.060	0.3352 ± 0.004
มะระขี้นก	0.2213 ± 0.277	0.2938 ± 0.284	0.2399 ± 0.090	0.3062 ± 0.012
มะเขือพวง	0.9191 ± 0.083	0.7616 ± 0.061	0.8653 ± 0.122	0.7654 ± 0.106
ตำลึง	0.5743 ± 0.002	0.5264 ± 0.070	0.3872 ± 0.159	0.2857 ± 0.059

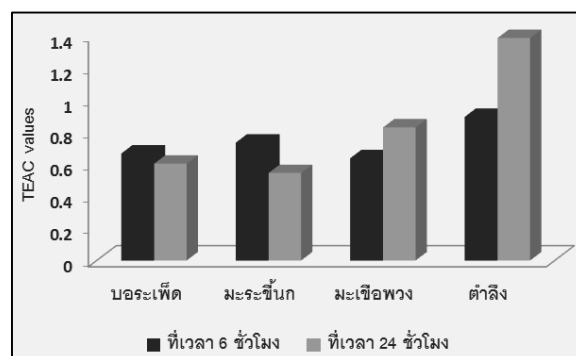
* mean ± SD, n = 2 (mean = ค่าเฉลี่ย, SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n = จำนวนครั้งที่ทดลอง)

การทดสอบความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS และ DPPH

การตรวจหาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดด้วยวิธี ABTS เป็นการศึกษาศักยภาพในการจับอนุมูล ABTS ที่เกิดขึ้นจาก ABTS ถูกออกซิไดซ์โดย oxidizing agent โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ซึ่งแสดงค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็นไมโครโมลของต่อมิลลิกรัมของสารสกัด Trolox พบว่า สารสกัดแต่ละชนิดมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ดังภาพที่ 1 และ 2

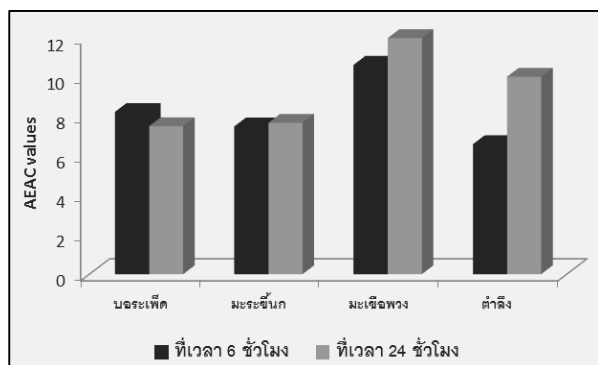


ภาพที่ 1 แสดงความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชสมุนไพรสกัดด้วยน้ำกลั่นโดยวิธี ABTS

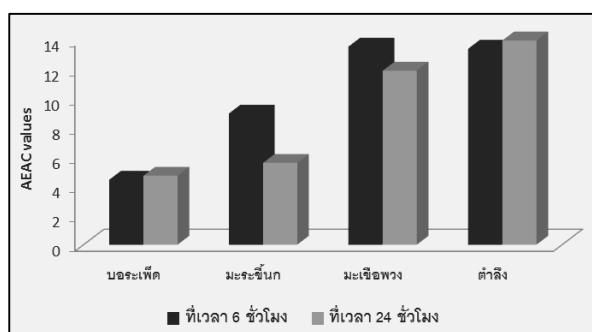


ภาพที่ 2 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชสมุนไพรสกัดด้วยร้อยละ 70 เอทานอล โดยวิธี ABTS

การตรวจหาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรแต่ละชนิดด้วยวิธี DPPH เป็นการวัดความสามารถของสารในการจับอนุมูล DPPH[•] อันเป็นอนุมูลอิสระเสถียรและมีสี ถ้ามีสารสามารถจับกับอนุมูล DPPH[•] ได้จะทำให้สีของ DPPH[•] ลดลงพบว่า สารสกัดแต่ละชนิดมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ดังภาพที่ 3 และ 4



ภาพที่ 3 แสดงความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชสมุนไพรสกัดด้วยน้ำกลั่นโดยวิธี DPPH



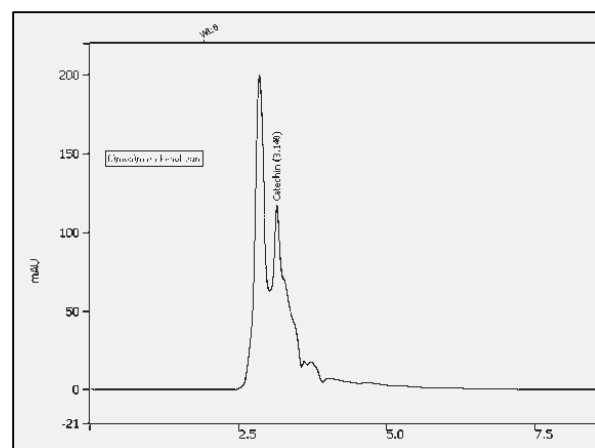
ภาพที่ 4 แสดงความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชสมุนไพรสกัดด้วยร้อยละ 70 เอทานอลโดยวิธี DPPH

การตรวจหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

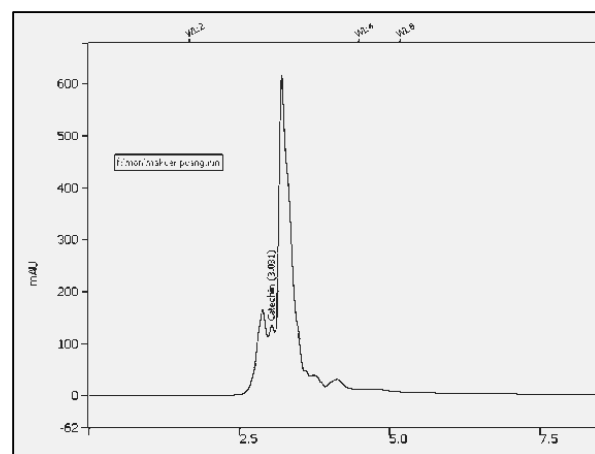
การตรวจหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu ในสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ มะระขี้นก มะเขือพวง และตำลึง ที่ระยะเวลาสกัด 24 ชั่วโมง โดยคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก และแสดงค่าหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก (gallic acid equivalents - GAE) ต่อกรัมของสารสกัด พบว่าสารสกัดแต่ละส่วนมีปริมาณสารฟีนอลิกแตกต่างกัน สารสกัดจากตำลึงมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุดคือ 452.33 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือ มะเขือพวง และมะระขี้นกมีค่าเท่ากับ 310.00 และ 160.67 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

การตรวจสอบองค์ประกอบของสารสกัดจากพืชสมุนไพรโดยวิธี HPLC

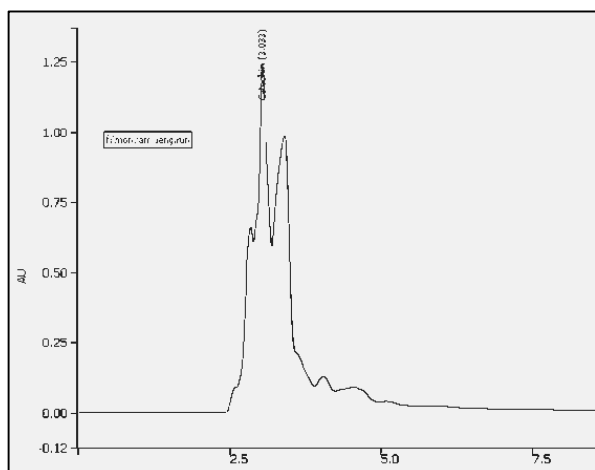
การศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงทั้ง 3 ชนิด คือ มะระขี้นก มะเขือพวง และตำลึง โดยวิธี HPLC ด้วยการเตรียมสารสกัดในสารละลายตัวพา (mobile phase) คือ methanol:acetonitrile:water ในอัตราส่วน 40: 15: 50 (v/v/v) ที่มีกรดอะซิติกร้อยละ 1 ทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 297 นาโนเมตร เมื่อเปรียบเทียบค่าเวลากักไว้ (retention time) ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดกับสารมาตรฐานพบว่า มีสารคาเทชิน (catechin) เป็นองค์ประกอบ ดังภาพที่ 5, 6 และ 7



ภาพที่ 5 แสดงภาพโครมาโทแกรมของสารสกัดจากมะระขี้นกที่ความยาวคลื่น 297 นาโนเมตร



ภาพที่ 6 แสดงภาพโครมาโทแกรมของสารสกัดจากมะเขือพวงที่ความยาวคลื่น 297 นาโนเมตร



ภาพที่ 7 แสดงภาพโครมาโทแกรมของสารสกัดจากตำลึงที่ความยาวคลื่น 297 นาโนเมตร

วิจารณ์และสรุปผล

การวิจัยนี้ศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากพืชสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ บอระเพ็ด (*Tinospora cordifolia*) ส่วนลำต้น มะระขี้นก (*Momordica charantia*) ส่วนผล มะเขือพวง (*Solanum torvum*) ส่วนผล และตำลึง (*Coccinia grandis*) ส่วนใบ การสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ น้ำกลั่นและร้อยละ 70 เอทานอล ที่ระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง พบว่า น้ำหนักของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีค่าแตกต่างกัน สารสกัดจากมะเขือพวงมีน้ำหนักของสารสกัดมากที่สุด รองลงมาคือ ตำลึง บอระเพ็ด และมะระขี้นก ตามลำดับ สำหรับระยะเวลาใช้สกัดและตัวทำละลายไม่มีผลต่อน้ำหนักของสารสกัดจากพืชสมุนไพร อย่างไรก็ตาม สารสกัดด้วยร้อยละ 70 เอทานอล สามารถสกัดได้ทั้งสารมีขั้วและไม่มีขั้ว ขณะที่น้ำกลั่นสกัดได้เฉพาะสารมีขั้ว

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดโดยวิธี ABTS และ DPPH เป็นการวัดความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (total antioxidant capacity) โดยอาศัยกลไกในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น จากการทดสอบโดยเทคนิค ABTS เป็นการวัดความสามารถขจัดอนุมูล $ABTS^{+}$ (2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) อันมีสีเขียวปนน้ำเงิน โดยสารสกัดจาก

พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันในแต่ละตัวทำละลายและระยะเวลาใช้สกัด สำหรับสารสกัดด้วยน้ำกลั่น ที่ระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมง สารสกัดจากมะเขือพวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือ ตำลึง บอระเพ็ด และมะระขี้นก ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลาสกัด 24 ชั่วโมง สารสกัดจากมะเขือพวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือ มะระขี้นก ตำลึง และบอระเพ็ด ตามลำดับ สำหรับสารสกัดด้วยร้อยละ 70 เอทานอล พบว่าที่ระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมง สารสกัดตำลึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมา คือ มะระขี้นก บอระเพ็ด และมะเขือพวง ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาสกัด 24 ชั่วโมง สารสกัดจากตำลึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมา คือ มะเขือพวง บอระเพ็ด และมะระขี้นก ตามลำดับ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยเทคนิค DPPH เป็นการวัดความสามารถของสารในการจับอนุมูล $DPPH^{\cdot}$ (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) อันเป็นอนุมูลอิสระเสถียรและมีสี ถ้ามีสารสามารถจับกับอนุมูล $DPPH^{\cdot}$ ได้จะทำให้สีของ $DPPH^{\cdot}$ ลดลง ทั้งนี้สารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน สารสกัดมะเขือพวงสกัดด้วยน้ำกลั่นมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงสุดทั้งระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง รองลงมาคือ ตำลึง มะระขี้นก และมะเขือพวง ตามลำดับ สำหรับสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 70% ethanol นั้นพบว่า ที่ระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมง สารสกัดจากมะเขือพวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมา คือ ตำลึง มะระขี้นก และบอระเพ็ด ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลาสกัด 24 ชั่วโมง สารสกัดจากตำลึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือ มะเขือพวง มะระขี้นก และบอระเพ็ด ตามลำดับ เมื่อหาความสัมพันธ์ของผลการศึกษาพบว่า มีความสัมพันธ์ค่อนข้างน้อย ($R^2 = 0.384$) จึงเป็นไปได้ว่า สารทำหน้าที่ในการต้านออกซิเดชันของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างกัน [12]

สารต้านอนุมูลอิสระจากพืชส่วนใหญ่เป็นสารฟีนอลิก ทำหน้าที่เป็นสารคีเลตและยับยั้ง/ขจัดอนุมูลอิสระ [11, 14] ตัวอย่างเช่น ฟลาโวนอยด์เป็นสารสำคัญของกลุ่มโพลีฟีนอล พบทั่วไปในพืชสีเขียวและพบในทุกส่วนของพืชมีความสามารถต้านอนุมูล

อิสระ เช่น lipid alkoxyl และ peroxy radicals [2] การหาปริมาณสารฟีนอลิกในสารสกัดจากพืชสมุนไพรสามารถต้านอนุมูลอิสระสูง 3 ชนิดคือ มะระขี้นก มะเขือพวง และตำลึงโดยวิธี Folin-Ciocalteu [13] อาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่างสารฟีนอลิกในสารสกัดกับโซเดียมคาร์บอเนต และสารละลาย Folin พบว่า สารสกัดจากตำลึงมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุด รองลงมาคือ มะเขือพวง และมะระขี้นก ตามลำดับ สารฟีนอลิกพบมากในส่วนช่อดอก เป็นตัวบ่งชี้ว่ากระบวนการเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์เกิดมากที่ใบ ด้วยใบทำหน้าที่สังเคราะห์แสงและเป็นกลไกป้องกันการถูกทำลายจากรังสีอัลตราไวโอเลต บี [7]

การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดในพืชสมุนไพร โดยเทคนิค HPLC พบว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดมี สารคาเทชินส์เป็นองค์ประกอบ สารนี้เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์อันได้ทั่วไปในผักพื้นบ้านหลายชนิดและมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เมื่อสารฟลาโวนอยด์ถูกออกซิไดซ์ ผลได้เป็นฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิลที่มีความเสถียรมากกว่าเนื่องจากโครงสร้างของฟลาโวนอยด์มีการเคลื่อนย้าย (delocalize) ของอิเล็กตรอนตลอดเวลา ผลการศึกษานี้สามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อไป เช่น การทดสอบในสิ่งมีชีวิต (in vivo) และ ประยุกต์ใช้ในรูปของผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยพะเยา และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. วัลลภ วีชะรังสรรค์ และ ประณีต โอปนะโสภิต. ภาพรวมของอนุมูลอิสระและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพืชในหลอดทดลอง. ศรีนครินทร์วารสาร 2004;9(1):73-80.
2. โอภา วัชรคุปต์. สารต้านอนุมูลอิสระ (Radical scavenging agents). กรุงเทพฯ: พี.เอส.พรินท์; 2549.

3. Gutteridge JMC. Free radicals in diseases processes: a compilation of cause and consequence. Free Radic Res Commun 1993;19:141-158.
4. Halliwell B. Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end. Free Radic Res 1999;31:261-272.
5. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: Clarendon Press; 1999. Chapter 4.
6. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 2000;55:481-504.
7. Kehr J. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. Crit Rev Toxicol 1993;23:21-48.
8. Madhu CG, Devi DB. Protective antioxidant effect of vitamins C and E in streptozotocin induced diabetic rats. Ind J Exp Biol 2000;38:101-104.
9. Nanasombat S, Teckchuen N. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. J Med Plants Res 2009;3(5):443-449.
10. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 1999;26(9/10):1231-1237.
11. Oszmianski J, Wojdylo A, Lamer-Zarawska E, Swiader K. Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. Food Chem 2007; 100:579-583.
12. Ronald LP, Xianli W, Karen S. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. J Agr Food Chem 2005;53:4290-4302.

13. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J EnolViti* 1965;16:144–158.14. Soobrattee MA, Neergheen VS, Luximon-Ramma A, Aruomo OI, Bahhorum Y Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutat Res* 2005;579(1-2):200-213.
15. Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci* 2005;10:1881–1896.
16. Sun AY, Simonyi A, Sun GY. The “French Paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radic Biol Med* 2002;32(4):314-318.
17. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004;266(1-2):37–56.