

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ของสารสกัดกะเม็ง

Antioxidant Activity and Bioactive Compounds of Kameng (*Eclipta prostrata* Linn.) Extracts

กรกนก เอกโยธินวงศ์, นีรมล ศากยวงศ์* และสมจิต จำรีห์อนันต์
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

วรนนต์ นาคบรรพต

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

Kornkanok Akeyothinwong, Niramol Sakayawong* and Somchit Damrianant

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Woranan Nakbanpote

Department of Biology, Faculty of science, Mahasarakham University,
Khamriang, Kantarawichai, Maha Sarakham 44150

Received: June 26, 2019; Accepted: June 28, 2019

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบชีวภาพของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกะเม็ง (*Eclipta prostrata* Linn.) ได้แก่ ลำต้น ใบ และดอก โดยการสกัดแบบแช่ (maceration) ด้วยน้ำกลั่น 30 % (v/v) เอทานอล 70 % (v/v) เอทานอล 99 % (v/v) เอทานอล และเอทิลอะซิเตต พบว่าสารสกัดด้วย 30 % (v/v) เอทานอลมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ประสิทธิภาพที่ดีในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.61 ± 0.2 , 0.63 ± 0.2 และ 0.65 ± 0.3 mg/mL ในสารสกัดหยาบจากลำต้น ใบ และดอก ตามลำดับ และมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents, TPC) และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid contents, TFC) สูงในทุกส่วน (168.8 ± 47.7 , 227.8 ± 34.9 และ 198.1 ± 13.2 mg GAE/g crude extract ตามลำดับของปริมาณ TPC และ 38.1 ± 11.9 , 56.4 ± 14.8 และ 45.0 ± 11.5 mg EPE/g crude extract ตามลำดับของปริมาณ TFC) การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (thin layer chromatography, TLC) และเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) พบสารประกอบสำคัญ ได้แก่ gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, vanillin, p-cumalic, rutin, narigenin, myricetin, epicatechin และ wedelolactone

คำสำคัญ : กะเม็ง; ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด; ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด; ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ; TLC; HPLC

Abstract

The extracts of medicinal Thai herb Kameng (*Eclipta prostrata* Linn.) were subjected to study antioxidant activity and bioactive compounds. The maceration extractions of the branches, leaves, and flowers of Kameng plants by distilled water, 30 % (v/v) ethanol, 70 % (v/v) ethanol, 99 % (v/v) ethanol, and ethyl acetate, were performed. The crude 30 % (v/v) ethanol extracts showed more total polyphenol contents (TPC) (168.8 ± 47.7 , 227.8 ± 34.9 and 198.1 ± 13.2 mg GAE/g crude extract from branches, leaves and flowers, respectively), total flavonoid contents (TFC) (38.1 ± 11.9 , 56.4 ± 14.8 and 45.0 ± 11.5 mg EPE/g crude extract in branches, leaves and flowers, respectively), and antioxidant activity by DPPH method (0.61 ± 0.2 , 0.63 ± 0.2 and 0.65 ± 0.3 mg/mL of IC_{50} values for the extracts from branches, leaves and flowers extracts, respectively), compared to those of other solvents. Bioactive compounds in the extracts were analyzed by thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC), and major compounds i.e. gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, vanillin, p-cumalic, rutin, narigenin, myricetin, epicatechin and wedelolactone were reported.

Keywords: *Eclipta prostrata*; polyphenol; flavonoid; antioxidant activity; TLC; HPLC

1. คำนำ

กะเม็งหรือกะเม็งตัวเมีย (false daisy หรือ white eclipta) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Eclipta prostrata* Linn. จัดเป็นพืชในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) กะเม็งเป็นพืชล้มลุก ช่วงอายุสั้น จัดว่าเป็นวัชพืชชนิดหนึ่ง (ดวงพร, 2554) กะเม็งพบได้ทั่วไปในเขตร้อนและเขตเส้นศูนย์สูตร มีการกระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางในประเทศไทย มาเลเซีย จีน และอินเดีย จากภูมิปัญญาหมอชาวบ้านและตำรารักษาแผนโบราณ กะเม็งสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรค เช่น โรคผิวหนัง โรคเกี่ยวกับระบบประสาท บำรุงตับ ไต ระบบเลือด ภูมิคุ้มกัน ชะลอวัย (งานสำรวจและวิเคราะห์ข้อมูล, 2528)

กะเม็งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็ง อากาศดับอักเสบ ดีซ่าน ตับแข็ง บรรเทาอาการปวดข้อและเข่า ลดระดับไขมันในเลือดจากภาวะไขมันในเลือดสูง (Prachayasittikul

et al., 2010) นอกจากนี้กะเม็งยังมีฤทธิ์ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ขยายหลอดเลือด (Jayathirtha and Mishra, 2004; Liu et al., 2012) ด้านการอักเสบ (Tewtrakul et al., 2007; Arunachalam et al., 2009) รักษาอาการปวด (Sawant et al., 2004) อีกทั้งยังสามารถต้านพิษบางชนิดด้วย (Mors et al., 1989) กะเม็งยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albica*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhi* (Wiert et al., 2004; Karthi kumar et al., 2007; Nagabhushan et al., 2013) นอกจากนี้ยังมีการรายงานอีกว่ากะเม็งมีความสามารถป้องกันรังสียูวีเอ (UVA) และยูวีบี (UVB) เมื่อสกัดกะเม็งด้วยตัวทำละลายน้ำร้อน (Chan et al., 2014)

งานวิจัยในปี ค.ศ. 2004 ของ Cai และคณะ ที่ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกะเม็ง พบว่ากะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและน้ำ โดยระบบการสกัดแบบแช่ พบสารสำคัญ คือ wedelolactone จัดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนในกลุ่มคูมาลิน (coumarin) และแทนนิน (tannin) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Hua และคณะ ในปี ค.ศ. 2010 ที่สกัดกะเม็งแห้งด้วยตัวทำละลาย 80 % (v/v) เอทานอล บิวทานอล และเอทิลอะซิเตท ในระบบการสกัดแบบชอกห์เลต พบสารประกอบเชิงซ้อน 8 ชนิด ได้แก่ (1) ethyl 2, 6- dihydroxy- 4- methoxybenzoate (2) merulinic acid C (3) β -amyrone (4) oleanolic acid (5) ecliptasaponin A (6) wedelolactone (7) demethylwedelolactone และ (8) actonequeretin นอกจากนี้ พจมาน และคณะ (2554) ได้ศึกษาการสกัดกะเม็งแห้งด้วยตัวทำละลายเมทานอล โดยระบบการสกัดแบบแช่ พบสารสำคัญในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) คูมาลิน วงแล็กโตน (lactone ring) สเตอรอยด์ (steroid) และไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoid) เมื่อนำสารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทมาแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (column chromatography) และวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (thin layer chromatography, TLC) และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) พบสารสำคัญ คือ wedelolactone ดังนั้นจึงถือได้ว่ากะเม็งเป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านทานอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการป้องกันและรักษาโรค จึงมีความน่าสนใจในการศึกษา

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการสกัดส่วนต่าง ๆ ของกะเม็ง ได้แก่ ลำต้น ใบ และดอกกะเม็ง ด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วที่แตกต่างกัน (น้ำกลั่น เอทิลอะซิเตท 99 % (v/v) เอทานอล 70 % (v/v)

เอทานอล และ 30 % (v/v) เอทานอล) โดยใช้วิธีการสกัดแบบแช่ (maceration) วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช วิเคราะห์องค์ประกอบในสารสกัดกะเม็งด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เพื่อหาสารสำคัญที่สามารถนำไปต่อยอดในการวิจัยหรือการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างกะเม็ง

ตัวอย่างต้นกะเม็งสด ล้างให้สะอาด ชับน้ำออก แยกส่วนออกเป็นสามส่วน ได้แก่ ลำต้น ใบ และดอก อบแห้งในตู้อบพลังงานแสงอาทิตย์ จนกระทั่งมีน้ำหนักแห้งคงที่ บดตัวอย่างด้วยเครื่องปั่น (Sharp, EM-ICE) เป็นระยะเวลา 3 นาที เพื่อให้มีขนาดชิ้นส่วนเล็ก เก็บตัวอย่างในถุงซิปล็อกที่มีซิลิกาเจลดูดความชื้น เพื่อป้องกันการสัมผัสอากาศและแสงแดด

2.2 การสกัดกะเม็งด้วยวิธีการแบบแช่

ซึ่งตัวอย่างลำต้น ใบ และดอกของตัวอย่างกะเม็ง ในอัตราส่วน 1 g ต่อตัวทำละลาย 75 mL คือ น้ำกลั่น 30 % (v/v) เอทานอล 70 % (v/v) เอทานอล 99 % (v/v) เอทานอล และเอทิลอะซิเตท ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL ปิดภาชนะให้สนิท เขย่าตัวอย่างบนเครื่องเขย่า (Innova, 2300) ที่ความเร็วรอบ 150 rpm ในอุณหภูมิห้อง เปลี่ยนถ่ายสารละลายที่สกัดได้ออกทุก 24 ชั่วโมง โดยกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman® No. 1 แล้วนำกากตัวอย่างใส่กลับในภาชนะเดิม จากนั้นเติมตัวทำละลายชนิดเดิมเข้าไปอีกครั้ง ในปริมาตรเท่าเดิม ทำซ้ำ 3 รอบ จนได้สารละลายรวมประมาณ 225 mL นำสารละลายสารสกัดหยาบไประเหยตัวทำละลายออกจนแห้งมีน้ำหนักคงที่ บดสารสกัดหยาบให้ละเอียด เก็บตัวอย่างสารสกัดหยาบในหลอดสีชา

ที่อุณหภูมิ -20 °C โดยทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากกะเม็งโดยวิธี Folin-Ciocalteu method

การทดสอบสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในกะเม็งใช้วิธีฟอลินซิโอแคลท์ ดัดแปลงตาม Liu และคณะ (2008) โดยการเตรียมสารสกัดหยาบจากข้อ 2.2 ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเดิมเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 100 μ L ใส่ลงในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 mL ที่มีสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10 % (v/v) ปริมาตร 500 μ L เขย่าเล็กน้อยให้เข้ากัน เติมสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 7.5 % (w/v) ปริมาตร 100 μ L และน้ำกลั่นปริมาตร 300 μ L ผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้ว วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 731 nm ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer (Spectro scientific, SC) แล้วคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 0-1.0 mg/mL รายงานผลเป็นมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ (mg GAE/g crude extract)

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากกะเม็งโดยวิธีของ Down

การทดสอบสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสมุนไพวกะเม็งด้วยวิธีของ Down ดัดแปลงตาม Yoo และคณะ (2008) โดยการเตรียมสารสกัดหยาบจากข้อ 2.2 ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเดิมเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 0.25 mL ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 1.25 mL เติมสารละลาย 5 % (w/v) โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ปริมาตร 0.075 mL เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้ง

ไว้ 5 นาที จากนั้นเติม 10 % (w/v) อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3) ปริมาตร 0.150 mL เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที เติมสารละลาย 1.0 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปริมาตร 0.5 mL เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 0.275 mL เขย่าให้เข้ากัน ก่อนตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer (Spectro scientific, SC) คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งเตรียมจากสารละลายอพิคาคาซินเข้มข้น 0-0.3 mg/mL รายงานผลเป็นมิลลิกรัมของอพิคาคาซินต่อกรัมสารสกัดหยาบ (mg EP g / g crude extract)

2.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยดีพีพีเอช

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกะเม็งด้วยวิธีดีพีพีเอช (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, DPPH) ดัดแปลงตามวิธีของ Cotelle และคณะ (1996) โดยการเตรียมสารสกัดหยาบจากข้อ 2.2 ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเดิมเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 100 μ L เติมลงในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 mL ที่มีสารละลายอนุมูล DPPH เข้มข้น 0.08 mM ปริมาตร 900 μ L ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer (Spectro scientific, SC) คำนวณร้อยละของความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระจาก DPPH (% free radical scavenging activity) จากสมการที่ (2.1) และศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดกะเม็งที่ใช้ในการยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (inhibitory concentration, IC_{50})

$\% \text{FRSA} = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) \div A_{\text{blank}}] \times 100$ (2.1)
โดย A_{blank} แทนค่าการดูดกลืนแสงของดีพีพีเอชใน

เอทานอล; A_{sample} แทนค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm ของตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับ DPPH

2.6 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นจากสารสกัดกะเม็งด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง

เตรียมสารสกัดหยาบจากข้อ 2.2 ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเดิม เข้มข้น 1 mg/mL ใช้หลอด capillary จุ่มลงในสารละลายสารสกัดหยาบก่อนนำไปแตะลงบนแผ่น TLC (Silica gel 60 F254, หนา 0.25 mm) ขนาด 4×10 cm ก่อนนำลงไปในบีกเกอร์ขนาด 250 mL ที่มีตัวทำละลาย toluene : acetone : formic acid ในอัตราส่วน 11:6:1 mL ตัดแปลงตามวิธีของ Sadik และคณะ (2013) ปิดฝาบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟรอยด์ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ขึ้นไปบนแผ่น TLC จากนั้นนำแผ่น TLC ที่ได้มาเป่าให้แห้ง แล้วตรวจวัดบนที่กแถบสีที่ปรากฏบนแผ่น TLC ที่แสดงภายใต้แสงขาว แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 nm คำนวณค่า R_f (retardation factor) ตามสมการที่ 2.2 เทียบกับค่า R_f ของสารมาตรฐาน ได้แก่ catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, rutin, quercetin, wedelolactone, gallic acid, epicatechin, vanillin, p-cumalic acid, myricetin, narigenin และ kaempferol

R_f = ระยะความสูงของแถบสารประกอบที่แสดง (cm) ÷ ระยะความสูงของตัวทำละลาย (cm) (2.2)

2.7 การวิเคราะห์สารสกัดกะเม็งด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

การแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบสำคัญจากสารสกัดกะเม็งด้วยเทคนิค HPLC โดยสภาวะที่ใช้ตัดแปลงตามวิธีของ Zuo และคณะ (2002) เตรียมสารสกัดหยาบจากข้อ 2.2 ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเดิม เข้มข้น 1 mg/mL คอลัมน์ที่ใช้ คือ inertsil ODS-3 ความยาว 25 mm

(Cat no. 5020-01732) เฟสเคลื่อนที่ใช้เกรเดียนท์ (gradient) ระหว่าง solvent A คือ กรดอะซิติก 3 เปอร์เซ็นต์ (3 % (v/v) acetic acid) และ solvent B คือ เมทานอล 99.5 เปอร์เซ็นต์ (99.5 % (v/v) methanol) โดยเริ่มที่ 100 % solvent A เป็นเวลา 5 นาที และเพิ่มสัดส่วน solvent B ต่อ solvent A เป็น gradient จนถึง 60 % ที่เวลา 60 นาที ควบคุมอัตราการไหลที่ 1 mL/min ปริมาณในการฉีด 20 μ L และวิเคราะห์ผลที่ความยาวคลื่น 254, 280 และ 360 nm การวิเคราะห์เชิงปริมาณทำโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานกลุ่มสารประกอบฟีนอล

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากกะเม็งโดยวิธี Folin-Ciocalteu method

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents, TPC) ในสารสกัดหยาบจากกะเม็งด้วยวิธีโพลินซีโอแคลท์ ดัดแปลงตาม Liu และคณะ (2008) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแกลลิก ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1 พบว่าปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างกะเม็งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ ตัวอย่างใบกะเม็งในทุกตัวทำละลายให้ค่าปริมาณโพลีฟีนอลสูงสุด เมื่อพิจารณาสารสกัดหยาบใบกะเม็งด้วยตัวทำละลาย 70 และ 99 % (v/v) เอทานอล ให้ค่าสูงไม่แตกต่างกัน (355.95 ± 94.9 และ 346.89 ± 36.7 mg GAE/g crude extract) ขณะที่สารสกัดหยาบจากใบกะเม็งจากตัวทำละลาย 30 % (v/v) เอทานอล น้ำกลั่น และเอทิลอะซิเตต ให้ผลรองลงมา ตามลำดับ สำหรับสารสกัดหยาบจากลำต้นและดอกกะเม็งในตัวทำละลาย 99 และ 70 % (v/v) เอทานอลให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดไม่แตกต่างกัน (174.74 ± 94.6 และ 213.79 ± 61.2

mg GAE/g crude extract จากลำต้นและดอก) และ (163.71±44.3 และ 222.98±67.2 mg GAE/g crude extract จากลำต้นและดอก) ในขณะที่สารสกัดหยาบจากลำต้นและดอกกะเม็งจากตัวทำละลาย 30 % (v/v) เอทานอล น้ำกลั่น และเอทิลอะซิเตต ให้ผลรองลงมา ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงสุดในตัวอย่างใบกะเม็ง รองลงมา คือ ดอกและลำต้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mithun และคณะ (2011) ที่ศึกษาสมบัติทางชีวเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชของ *Eclipta alba* (L.) และ Neeraja และ Elizabeth (2012) ศึกษาสมบัติทางยาของพืชสมุนไพร *Eclipta alba* (L.) พบว่าในใบของ *E. alba* มีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดในทุก ๆ ส่วนของพืชเมื่อเทียบกับส่วน เมล็ด ลำต้น ราก และทุกส่วนรวมกัน นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายสกัดสารโพลีฟีนอลได้ดีที่สุด คือ 70 % (v/v) เอทานอล รองลงมา คือ 99 (v/v) เอทานอล 30 (v/v) เอทานอล น้ำกลั่น และเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hua และคณะ (2007) ที่ได้ศึกษาผลของวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน เทียบกับตัวทำละลาย 50 % (v/v) เอทานอลในระบบการสกัดแบบแช่ และงานวิจัยของ Pukumpuang และคณะ (2014) ที่สกัดกะเม็งด้วยน้ำกลั่น เปรียบเทียบกับตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์ ซึ่งรายงานว่าการสกัดพืชสมุนไพรด้วยตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์ หรือตัวทำละลาย 50 % (v/v) เอทานอลในวิธีการแช่สกัด สามารถให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมากกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน หรือน้ำกลั่นในอุณหภูมิปกติ

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากกะเม็งโดยวิธีของ Down

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid contents, TFC) ในสารสกัดจากกะเม็งด้วยวิธีของ Down

ดัดแปลงตามวิธีของ Yoo และคณะ (2008) แสดงผลดังตารางที่ 1 พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในตัวอย่างกะเม็งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ ตัวอย่างใบกะเม็งในทุกตัวทำละลายให้ค่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด เมื่อพิจารณาสารสกัดหยาบใบกะเม็งด้วยตัวละสาย 99 % (v/v) และ 70 % (v/v) เอทานอล ให้ค่าสูงไม่แตกต่างกัน (136.37±63.6 และ 94.66±27.0 mg EPE/g crude extract) ในขณะที่สารสกัดหยาบจากใบกะเม็งจากตัวทำละลาย 30 % (v/v) เอทานอลและน้ำกลั่นให้ผลรองลงมา ตามลำดับ สำหรับสารสกัดหยาบจากลำต้นและดอกกะเม็งในตัวทำละลาย 99 % (v/v) เอทานอลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด (78.82±97.0 และ 104.05±74.9 mg EPE/g crude extract จากลำต้นและดอก) ในขณะที่สารสกัดหยาบจากลำต้นและดอกกะเม็งจากตัวทำละลาย 70 % (v/v), 30 % (v/v) เอทานอล และน้ำกลั่นให้ผลรองลงมา ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุดในตัวอย่างใบกะเม็ง รองลงมา คือ ดอก และลำต้น เมื่อพิจารณาตัวทำละลายที่สามารถสกัดปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด คือ 99 % (v/v) เอทานอล รองลงมา คือ 70 % (v/v) เอทานอล 30 % (v/v) เอทานอล และน้ำกลั่น ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างลำต้น ใบ และดอกกะเม็งที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตไม่สามารถหาค่าผลการทดลอง เนื่องจากสารละลายสารสกัดหยาบที่สกัดและละลายในเอทิลอะซิเตตซึ่งเป็นตัวทำละลายไม่มีขั้ว ทำให้เกิดการแยกชั้นและเกิดตะกอนขึ้นในการวิเคราะห์หาค่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด จึงทำให้การดูดกลืนแสงที่ได้มีค่าสูง ส่งผลให้ค่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่คำนวณได้สูงตามไปด้วย ดังนั้นจึงไม่สามารถคำนวณได้ จะเห็นได้ว่าตัวทำละลายเอทานอลไม่ว่าจะเป็น 99 % (v/v) เอทานอล 70 % (v/v) เอทานอล หรือ 30 % (v/v) เอทานอล ให้

ปริมาณปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูง (น้ำกลั่น) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลข้างต้น นอกจากนี้ยังพบว่างานวิจัยของ Mithun และคณะ (2011) และ Neeraja และ Elizabeth (2012) สามารถระบุสารสำคัญที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ เช่น wedelolactone, demethylwedelolactone, isodemethylwedelolactone, sterycholactone, apigenin, luteolin และ luteolin-7-glucoside อยู่ในสารสกัดหยาบ

3.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (DPPH)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกะเม็งด้วยวิธีดีพีพีเอช ดัดแปลงตามวิธีของ Cotelle และคณะ (1996) โดยใช้สารสกัดจากกะเม็งผสมกับสารละลายอนุมูลดีพีพีเอช ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ในแต่ละชุดการทดลองไปคำนวณร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ที่ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดหยาบในตัวทำละลายแต่ละชนิด 1 mg/mL แล้วคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีความสามารถในการลดอนุมูลดีพีพีเอชครึ่งหนึ่ง (inhibitory concentration, IC_{50} DPPH) แสดงผลดังตารางที่ 1 โดยตัวอย่างที่มีค่า IC_{50} DPPH ต่ำแสดงถึงความสามารถในการต้านอนุมูลดีพีพีเอชอย่างมีประสิทธิภาพ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากใบกะเม็งในตัวทำละลาย 70 % (v/v) เอทานอล ให้ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอชครึ่งหนึ่งเท่ากับ 0.31 ± 0.2 mg/mL สูงขึ้นมา คือ ใบกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 99 % (v/v) เอทานอลให้ค่าเท่ากับ 0.35 ± 0.1 mg/mL และ 30 % (v/v) เอทานอลให้ค่าเท่ากับ 0.63 ± 0.2 mg/mL ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากลำต้นและดอกให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งอนุมูล

อิสระดีพีพีเอชครึ่งหนึ่งสูงขึ้น

เจนจิรา และประสงค์ (2554) กล่าวว่า สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากธรรมชาติ เช่น พืชผักผลไม้และสมุนไพรส่วนใหญ่ คือ สารในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) ประกอบด้วยกรดฟีนอลิก (phenolic acid) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ซึ่งจากการวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดกะเม็ง พบว่าสอดคล้องกับผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช แสดงผลตัวทำละลายสกัดที่มีเอทานอลเป็นส่วนประกอบอย่าง 70 % (v/v) เอทานอล และ 30 % (v/v) เอทานอล มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชดี ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hua และคณะ (2007) และ Pukumpuang และคณะ (2014) พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีเอทานอลเป็นส่วนประกอบจะให้ผลของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าตัวทำละลายน้ำ แต่ผลของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 99 % (v/v) เอทานอลมีค่าต่ำกว่าตัวทำละลายเอทานอลที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสามารถอธิบายว่าตัวทำละลายน้ำอาจสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระบางชนิดออกมาเช่นกัน

3.4 องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบกะเม็งจากการสกัดแบบแช่ ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ toluene : acetone : formic acid ในอัตราส่วน 11 : 6 : 1 mL ส่องภายใต้แสงขาว (รูปที่ 1ก) และแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 (รูปที่ 1ข) และ 366 nm (รูปที่ 1ค) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน 11 ชนิด

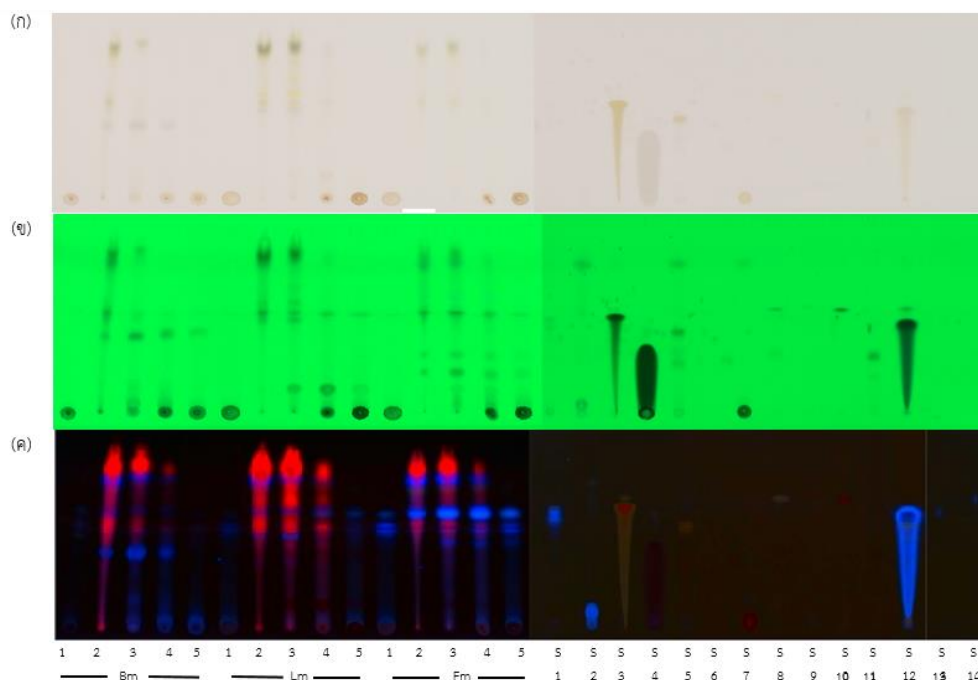
ได้แก่ catechin, chlorogenin acid, caffeic acid, rutin, quercetin, wedelolactone, gallic acid, epicatechin, vanillin, p-cumalic acid, myricetin, narigenin และ kaempferol แสดงผลดังรูปที่ 1 พบว่าองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดกะเม็งด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบางมีสารประกอบหลายชนิด สามารถระบุสารที่พบด้วยการเปรียบเทียบกับค่า R_f ของสารมาตรฐาน ได้แก่

kaempferol, p-cumarin, apigenin, caffeic acid, catechin, wedelolactone และ quercetin ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ พจมาน และคณะ (2554) ที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดหยาบกะเม็ง วิเคราะห์องค์ประกอบเบื้องต้นด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง พบ wedelolactone ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยผู้วิจัยรายงานว่า

ตารางที่ 1 ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และความเข้มข้นของตัวอย่างที่สามารถลดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชได้ครึ่งหนึ่ง ในสารสกัดหยาบกะเม็งที่ผ่านการแช่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ตัวทำละลาย	ส่วนกะเม็ง	ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (mg GAE/g crude extract)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg EPE/g crude extract)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%)	ความเข้มข้นของตัวอย่างที่สามารถลดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชได้ครึ่งหนึ่ง (mg/mL)
น้ำกลั่น	ลำต้น	94.67±19.8 ^d	29.97±15.4 ^b	1.82±2.5 ^e	N/D
	ใบ	186.13±65.3 ^{b,c,d}	44.85±19.2 ^b	6.45±1.9 ^e	N/D
	ดอก	151.75±16.0 ^{b,c,d}	36.59±2.9 ^b	11.36±16.1 ^{d,e}	N/D
เอทิลอะซิเตต	ลำต้น	109.36±45.7 ^d	N/D	19.92±6.8 ^{d,e}	N/D
	ใบ	120.88±22.9 ^{c,d}	N/D	36.34±19.9 ^{c,d}	N/D
	ดอก	98.10±51.1 ^d	N/D	15.65±20.2 ^{d,e}	N/D
99 % (v/v) เอทานอล	ลำต้น	174.74±94.6 ^{b,c,d}	78.82±97.0 ^{a,b}	46.85±15.9 ^{b,c}	N/D
	ใบ	346.89±36.7 ^a	136.37±63.6 ^a	71.37±2.4 ^{a,b}	0.35±0.1
	ดอก	213.79±61.2 ^{b,c}	104.05±74.9 ^{a,b}	52.63±23.4 ^{a,b,c}	0.95±0.5
70 % (v/v) เอทานอล	ลำต้น	163.71±44.3 ^{b,c,d}	32.59±2.7 ^b	68.65±12.0 ^{a,b}	0.73±0.1
	ใบ	355.95±94.9 ^a	94.66±27.0 ^{a,b}	74.40±4.8 ^a	0.31±0.2
	ดอก	222.98±67.2 ^{b,c}	53.49±29.2 ^b	64.80±21.7 ^{a,b}	0.49±0.3
30 % (v/v) เอทานอล	ลำต้น	168.81±47.7 ^{b,c,d}	38.13±11.9 ^b	74.67±11.5 ^a	0.61±0.2
	ใบ	227.82±34.9 ^b	56.37±14.8 ^b	66.23±9.0 ^{a,b}	0.63±0.2
	ดอก	198.09±13.2 ^{b,c,d}	44.96±11.5 ^b	66.77±17.4 ^{a,b}	0.65±0.3

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (จำนวนตัวอย่าง = 3) และทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธีของ Duncan ($p < 0.05$); a-e ในแนวนั่ง คือ ลำดับการจัดกลุ่มความแตกต่างกันแบบค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธีการของ Duncan; N/D คือ ไม่สามารถระบุ เนื่องจากสารสกัดหยาบไม่สามารถทดสอบ หรือความเข้มข้นไม่เพียงพอที่จะสามารถระบุค่า



ตัวอย่างส่วนกะเม็งที่สกัดในระบบการสกัดแบบแช่ : ลำต้น (Bm) ใบ (Lm) และดอก (Fm); ตัวทำละลายสกัด : (1) น้ำกลั่น (2) เอทิลอะซิเตต (3) 99 % (v/v) เอทานอล (4) 70 % (v/v) เอทานอล และ (5) 30 % (v/v) เอทานอล; สารมาตรฐาน : S1 = wedelolactone ($R_f = 0.56$), S2 = chlorogenic acid ($R_f = 0.06$), S3 = quercetin ($R_f = 0.54$), S4 = gallic acid ($R_f = 0.29$), S5 = myricetin ($R_f = 0.45$), S6 = p-cumarin ($R_f = 0.52$), S7 = rutin ($R_f = 0.03$), S8 = kaempferol ($R_f = 0.59$), S9 = narigenin ($R_f = 0.61$), S10 = apigenin ($R_f = 0.53$), S11 = epicatechin ($R_f = 0.33$), S12 = caffeic acid ($R_f = 0.50$), S13 = vanillin ($R_f = 0.48$) และ S14 = catechin ($R_f = 0.55$)

รูปที่ 1 โครมาโทแกรมเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบางในสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของกะเม็งที่สกัดด้วยการแช่สกัดจากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ภายใต้ (ก) แสงขาว (ข) แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 nm และ (ค) แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 366 nm

พบมากในส่วนของใบและดอกกะเม็ง อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบางนี้ยังสามารถแยกสารอีกหลายชนิด แต่เนื่องจากไม่สามารถระบุเพราะไม่ตรงกับสารมาตรฐานที่นำมาเปรียบเทียบ นอกจากนี้พบว่าค่า R_f ของ wedelolactone และ quercetin มีค่าใกล้เคียงกับจนไม่สามารถระบุให้ชัดเจนด้วยตาเปล่า ควรมีการศึกษาวิธีการแยกสารให้บริสุทธิ์เพื่อการระบุชนิดของสารต่อไป

3.5 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

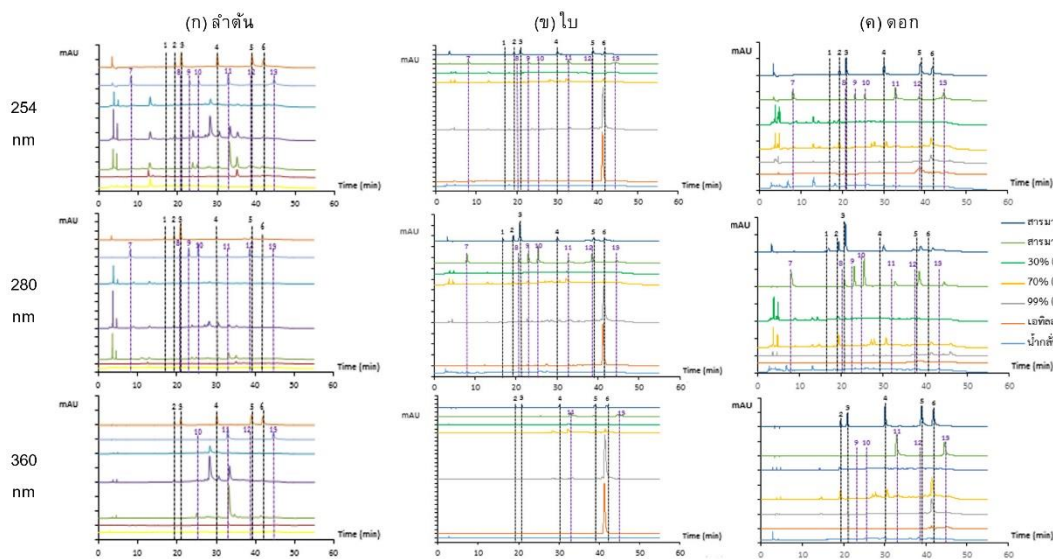
การแยกและวิเคราะห์สารสกัดกะเม็งด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยเปรียบเทียบค่า retention time (RT) ของตัวอย่างสารสกัดหยาบจากลำต้น (รูปที่ 2ก) สารสกัดหยาบจากใบ (รูปที่ 2ข) และสารสกัดหยาบจากดอก (รูปที่ 2ค) ในทุกตัวทำละลาย เทียบกับสาร

มาตรฐาน 11 ชนิด ได้แก่ catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, rutin, quercetin, wedelolactone, gallic acid, epicatechin, vanillin, p-cumalic acid, myricetin, narigenin และ kaempferol วิเคราะห์ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254, 280 และ 360 nm การทดลองพบว่าในลำต้นพบสารสำคัญที่ระบุได้คือ wedelolactone, rutin, gallic acid, chlorogenic acid, narigenin, kaempferol, caffeic acid, vanillin, catechin และ epicatechin ส่วนของใบพบสารสำคัญที่ระบุได้ คือ chlorogenic acid, caffeic acid, p-cumalic, rutin, wedelolactone, kaempferol และ narigenin และส่วนของดอกพบสารสำคัญที่ระบุได้ คือ gallic acid, chlorogenic acid, catechin, caffeic acid, vanillin, p-cumalic, rutin, narigenin, wedelolactone และ myricetin ซึ่งจะเห็นได้ว่า wedelolactone และ chlorogenic acid พบอยู่ในสารสกัดทุกส่วนของกะเม็ง สอดคล้องกับ

งานวิจัยของ Cai และคณะ (2004) และ Hua และคณะ (2010) พบว่า wedelolactone เป็นสารสำคัญที่พบในทุกส่วนของกะเม็ง เช่นเดียวกับ Chan และคณะ (2014) ที่ศึกษาสารสกัดกะเม็งที่สกัดด้วยน้ำในระบบการสกัดแบบซอกซ์เลต พบว่ามีสารประกอบ chlorogenic acid ชัดเจน นอกจากนี้ พงมาน และคณะ (2554) ยังพบสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก คูมาลิน วงแลกโตน สเตอรอยด์ และไตรเทอร์ปีนอยด์ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยยังไม่สามารถระบุสารสำคัญครบถ้วนเนื่องจากมีบางสารที่ไม่ตรงกับสารมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบ

4. สรุป

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการสกัดส่วนต่าง ๆ ของกะเม็ง (*Eclipta prostrata* Linn.) ได้แก่ ลำต้น ใบ และดอกกะเม็ง ด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็น



รูปที่ 2 โครมาโทแกรมเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงของส่วนต่าง ๆ (ก) ลำต้น (ข) ใบ (ค) ดอกกะเม็งที่สกัดแบบแช่ด้วยตัวทำละลายสกัดชนิดต่าง ๆ [สารมาตรฐานผสม 1 ได้แก่ (1) catechin, (2) chlorogenic acid, (3) caffeic acid, (4) rutin, (5) quercetin และ (6) wedelolactone สารมาตรฐานผสม 2 ได้แก่ (7) gallic acid, (8) epicatechin, (9) vanillin, (10) p-cumalic acid, (11) myricetin, (12) narigenin และ (13) kaempferol]

ข้าวที่แตกต่างกัน (น้ำกลั่น เอทิลอะซิเตท 99 % (v/v) เอทานอล 70 % (v/v) เอทานอล และ 30 % (v/v) เอทานอล) โดยใช้วิธีการสกัดแบบแช่ (maceration) วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชพบว่าส่วนใบกะเม็งมีค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชสูงที่สุดในทุก ๆ ส่วนที่นำมาทดสอบ เมื่อพิจารณาจากตัวทำละลายสกัดพบว่าตัวทำละลายสกัดที่ให้ผลปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และการฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชสูง สามารถถูกสกัดออกมาได้ดีในเอทานอลมากกว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูงอย่างน้ำกลั่น แต่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 99 % (v/v) เอทานอลมีค่าต่ำกว่าตัวทำละลายเอทานอลที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นในสารสกัดหยาบกะเม็งในใบ ลำต้น และดอกด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง และเทคนิคโครมาโทแกรมเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่ามีสารประกอบสำคัญหลายชนิดที่สามารถระบุได้ ได้แก่ gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, vanillin, p- cumalic, rutin, narigenin, myricetin, epicatechin และ wedelolactone ซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก คูมาลิน และวงแลกโตน สารสำคัญที่พบในกะเม็งสามารถนำไปต่อยอดในการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยประเภทวิจัยทั่วไป สำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา กองทุนมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2561 เลขที่สัญญา ทน 63/2561 และทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2558-2559 เลขที่สัญญา

008/2558 ขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์เพื่อการวิจัยขั้นสูง สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

6. รายการอ้างอิง

- งานสำรวจและวิเคราะห์ข้อมูล, 2528, พีชสมุนไพโร, ศูนย์สนเทศการเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเกษตรภาคกลางกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554, อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ : แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา, ว.วิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี 1: 59-70.
- พจมาน พิศเพียงจันทร์, สรัญญา วัชรโรทัย, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์ และอุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, 2554, พฤกษเคมีและการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในเบื้องต้นของกะเม็ง, น. 432-441, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Arunachalam, G., Subramanian, N., Pazhani, G.P. and Ravichandran, V., 2009, Anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Eclipta prostrata* L. (Asteraceae), Afr. J. Pharm. Pharmacol. 3: 97-100.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Cork, H., 2004, Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer, Life Sci. 74: 2157-2184.

- Chan, C.F., Huang, W.Y., Gui, H.Y. and Wang, B.R., 2014, Potent antioxidative and UVB protective effect of water extract of *eclipta prostrata* L., Sci. World J. 2014: 1-8.
- Cotelle, N., Bernier, J., Catteau, J., Pommery, J., Wallet, J. and Gaydou, E., 1996, Antioxidant properties of hydroxyl flavones, Free Radic. Biol. Med. 20: 35-43.
- Hua, B.L., Yue, J., Chi, C.W., Ka, W.C. and Feng, C., 2007, Evaluation of two methods for the extraction of antioxidant from medicinal plants, Anal. Bioanal. Chem. 388: 483-488.
- Hua, S.Z., Feng, Z.C. and Mian, Z., 2010, A new benzoic acid derivative from *Eclipta prostrata*, Chin. J. Nat. Med. 8: 244-246.
- Jayathirtha, M. G. and Mishra, S. H., 2004, Preliminary immunomodulatory activities of methanol extracts of *Eclipta alba* and *Centella asiatica*, Phytomedicine 11: 361-65.
- Karthikumar, S., Vigneswari, K. and Jegatheesan, K., 2007, Screening of antibacterial and antioxidant activities of leaves of *Eclipta prostrate*, Sci. Res. Essays 4: 101-104.
- Liu, H., Qiu, N., Ding, H. and Yao, R., 2008, Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifloral honey, Food Chem. 110: 187-192.
- Liu, Q.M., Zhao, H.Y., Zhong, X.K. and Jiang, J.G., 2012, *Eclipta prostrata* L. phytochemicals: Isolation, structure elucidation, and their antitumor activity, Food Chem. Toxicol. 50: 4016-4022.
- Mithum, N.M., Shashidhara, S. and Vivek, K.R., 2011, *Eclipta alba* (L.): A review on its phytochemical and pharmacological profile, Pharmacologyonline 1: 345-357.
- Mors, W.B., Nascimento, M.C.D., Parente, J.P., Silva, M.H.D., Melo, P.A. and Suarez-Kurtz G., 1989, Neutralization of lethal and myotoxic activities of southamerican rattlesnake venom by extracts and constituents of the plant *Eclipta prostrata* (Asteraceae), Toxicon 27: 1003-1009.
- Nagabhushan, Koteswara, A. R. and Dyamavanahalli, L. S., 2013, Antidermatophytic activity of *Eclipta prostrata* L. against human infective *Trichophyton* and *Microsporum* spp., Int. J. Anal. Chem. 4: 136-138.
- Neeraja, P.V. and Elizabeth, M., 2012, *Eclipta alba* (L.) Hassk: A valuable medicinal herb, Int. J. Curr. Pharm. Res. 2(4): 188-197.
- Prachayasittikul, S., Wongsawatkul, O., Suksrichavalit, T. and Ruchirawat, S., 2010, Bioactivity evaluation of *Eclipta prostrata* Linn., Eur. J. Sci. Res. 44: 167-176.
- Pukumpuang, W., Chansakaow, S. and Tragoolpua, Y., 2014, Antioxidant activity phenolic compound content and phytochemical constituents of *Eclipta prostrata* Linn., Chiang Mai J. Sci., 41: 568-576.
- Sadik, A., Zainab, A.I. and Mouruj, A.A., 2013, The extraction and partial purification of wedelolactone from local *Eclipta alba* Plant, Iraqi. J. Sci. 54: 1084-1089.

- Sawant, M., Isaac, J. C. and Narayanan, S., 2004, Analgesic studies on total alkaloids and alcoholextracts of *Eclipta alba* (Linn.), Hassk Phytochem. 18: 97-189
- Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Cheenpracha, S. and Karalai, C., 2007, HIV- 1 protease and HIV- 1 integrase inhibitory substances from *Eclipta prostrate*, Phytother. Res. 21: 1092-1095.
- Wiat, C., Mogana, S., Khalifah, S., Mahan, M., Ismail, S., Buckle, M., Narayana, A.K. and Sulaiman, M., 2004, Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia, Fitoterapia 75: 68-73.
- Yoo, S., Cho, Y., Tena, G., Xiong, Y. and Sheen, J., 2008, Dual control of nuclear EIN₃ by bifurcate MAPK cascades in C₂H₄ signaling, Nature 451: 789-795.
- Zuo, J., Niu, Q., Frugis, G. and Chua, N., 2002, The WUSCHEL gene promotes vegetative-to- embryonic transition in Arabidopsis, Plant J. 3: 349-359.