

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของอบเชยเถาและเถาประสงค์
Determination of Antioxidant Activity of *Atherolepis pierrei* and
Streptocaulon juvenus

สุวรรณา จันคณา¹

Suwanna Jankana¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากอบเชยเถาและเถาประสงค์ โดยนำลำต้นของอบเชยเถา และใบของเถาประสงค์ มาสกัดด้วยเครื่องสกัดชอกเลต (soxhlet extraction) ตัวทำละลายที่ใช้คือ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) และเอทานอล (ethanol) ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบเอทานอล โดยอบเชยเถามีเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งคือ 7.79, 0.71, 2.13 และ 33.56% ตามลำดับ ในขณะที่เถาประสงค์มีเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งคือ 5.70, 2.32, 1.74 และ 9.13% ตามลำดับ นำสารสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพวิเคราะห์โดยวิธี TLC (Thin Layer Chromatography) และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณวิเคราะห์ใช้วิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของอบเชยเถาและเถาประสงค์ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.64 และ 4.35 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ในขณะที่วิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.61 $\mu\text{g/ml}$

คำสำคัญ : การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อบเชยเถา เถาประสงค์ วิธี DPPH radical scavenging assay

¹อาจารย์ประจำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

¹Lecturer. Faculty of Sciences. Buriram Rajabhat University.

The purpose of this research is to determine the antioxidant activity of *Atherolepis pierrei* and *Streptocaulon juvenus* by taking the trunk of *Atherolepis pierrei* to extract with Soxhlet extraction. The solvents were hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and ethanol. In doing so, the rough hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and ethanol extraction were obtained which *Atherolepis pierrei* obtained rough extraction percentage per plant dry weight were 7.79, 0.71, 2.13 and 33.56 %, respectively; whereas, the *Streptocaulon juvenus* was 5.70, 2.32, 1.74, and 9.13%, respectively. All of rough extractions were determined with two techniques: qualitative analysis by using TLC (Thin Layer Chromatography), and quantitative analysis by using DPPH radical scavenging assay. The findings revealed that the rough extractions of ethanol of *Atherolepis pierrei* and *Streptocaulon juvenus* acted to determine the antioxidant activity with IC_{50} values equalled 2.64 and 4.35 $\mu\text{g/ml}$, respectively; whereas, IC_{50} value of vitamin C equalled 2.61 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords : determine of antioxidant activity, *Atherolepis pierrei*, *Streptocaulon juvenus*

อบเชยเถา มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Atherolepis pierrei* Cost.var.glabra อยู่ในวงศ์ ASCLEPIADACEAE มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นต่างๆ ดังนี้ กำหยาน กูติน เครือเขาใหม่ เชือกเถา อบเชยป่า มีลักษณะเป็นไม้เถาเนื้อแข็งเลื้อยพันต้นไม้อื่น ใบเหม็นเขียว มีเส้นใบและลายใบเป็นสีขาว รากมีกลิ่นหอม (ฐานข้อมูลสมุนไพรไทย, 2010) ขึ้นตามป่าราบทั่วไปเกือบทุกภาค ใช้เป็นอาหารโดยผลอ่อนกินดิบหรือต้มกินกับน้ำพริกต่างๆ หรือนำมาต้มน้ำมันให้รสหวานอบเชยเถามีสรรพคุณเป็นยาหอม เป็นยาขับลมในลำไส้ แก้ปวดมวนท้อง แก้ลมวิงเวียน บำรุงหัวใจ (มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต, ม.ป.ป) แก้โรคผิวหนัง ผื่นคัน หน่วยปฏิบัติการวิจัยเคมีสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2010.) ได้มีการศึกษาทางเคมีของรากอบเชยเถาพบสาร 5 ชนิด ซึ่งเป็น สารไฮโดรคาร์บอน อะโรมาติกอัลดีไฮด์ และไตรเทอร์พีนอยด์ (Chansakaow S., et al, 1993) เถาประสงค์มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Streptocaulon juvenus* Merr. อยู่ในวงศ์ APOCYNACEAE มีชื่ออื่นๆที่ใช้เรียกตามท้องถิ่น ดังนี้ ประสงค์ เครือโทสง พระสงฆ์ จุกโรหิณี นวยนัง นอยนัง ตำยานฮากหอม หยั่งสมุทรน้อย ลักษณะเป็นไม้เลื้อย ลำต้นและกิ่งมีสีน้ำตาลแดง (กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2549) มีสรรพคุณนำทั้งต้นมาต้มแก้ท้องเสีย แก้อ่อนเพลียบำรุงกำลัง (อุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, 2006) รากเป็นยาแก้ไอ (กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2549) ได้มีการศึกษาทางเคมีของรากเถาประสงค์โดยการแยกสารบริสุทธิ์ พบสารประเภทคาร์ดีโนไลด์ (cardenolides)

เฮมิเทอร์พีนอยด์ (hemiterpenoids) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) และ ฟีนิลเอทานอยด์ (phenylethanoids) และพบว่ามีสารดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง โดยเฉพาะสารคาร์ดีโนไลด์ (Ueda Junya, et al, 2003) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือสารที่ป้องกันหรือชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radical) อันเป็นสาเหตุทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลของสารในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ (DNA) มิงงานวิจัยมากมายบ่งชี้ว่าแม้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถแก้ไขความเสียหายที่เกิดขึ้นแล้ว แต่สามารถชะลอให้ความเสียหายเกิดช้าลงได้ โดยเฉพาะโรคเรื้อรังซึ่งเป็นผลลัพธ์สะสมที่เกิดจากเซลล์และเนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำอันตรายและเสียหายเป็นเป็นเวลานานหลายสิบปี ดังนั้นบุคคลทุกเพศทุกวัยจึงควรได้รับสารต้านอนุมูลอิสระให้พอเพียง (มูลนิธิหมอชาวบ้าน, 2548) สารต้านอนุมูลอิสระมีความสำคัญต่อร่างกายทำให้มีสุขภาพแข็งแรงปลอดภัยจากโรค การมีสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นโดยมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ยืนยัน (โรงเรียนนาโพธิ์พิทยาคม จังหวัดบุรีรัมย์, ม.ป.ป) โดยเฉพาะการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชทั้งสองยังไม่มีรายงานการวิจัย ดังนั้นการวิจัยในด้านการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของอบเชยเถาและเถาประสงค์ จะก่อให้เกิดองค์ความรู้ที่มีประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการ ด้านสุขภาพ และด้านการรักษาพรรณพืช ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของอบเชยเถาและเถาประสงค์

วิธีการทดลอง

พืชที่ใช้ในการวิจัย คือ ลำต้นของอบเชยเถา และใบของเถาประสงค์ โดยเก็บอบเชยป่าจากจังหวัดบุรีรัมย์ ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนมีนาคมพ.ศ.2553 และเก็บเถาประสงค์จากจังหวัดบุรีรัมย์ในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2553 การเตรียมสารสกัดพืชอบเชยเถาและเถาประสงค์ นำพืชตากในที่ร่มให้แห้งบดให้ละเอียด ทำการสกัดด้วยเฮกเซน (hexane) โดยใช้เครื่องสกัดซอกเล็ต (soxhlet extractor) นำสารละลายที่ได้จากการสกัดมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหย (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเฮกเซน (crude hexane extract) นำกากที่ได้จากการสกัดด้วยเฮกเซนมาสกัดต่อด้วยไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) จะได้สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน (crude dichloromethane extract) นำกากที่ได้จากการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมาสกัดต่อด้วยเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) จะได้สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท (crude ethyl acetate extract) นำกากที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทมาสกัดต่อด้วยเอทานอล (ethanol) จะได้สารสกัดหยาบเอทานอล (crude ethanol extract) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอบเชยเถา และเถาประสงค์เชิงคุณภาพวิเคราะห์ โดยวิธี TLC (Thin Layer Chromatography) นำสารสกัดมาทำการวิเคราะห์โดย TLC จากนั้นนำ TLC chromatogram ที่ได้มาป้ายด้วยสารละลาย DPPH (0.2% 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ในเอทานอล) ถ้าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนสีม่วงของ DPPH ให้จางลง

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอบเชยเถาและเถาประสงค์เชิงปริมาณวิเคราะห์ โดยวิธี DPPH radical scavenging assay ทำการทดสอบตามวิธีของ Yen และ Hsieh (1997) นำสารสกัดมาเตรียมเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นต่างๆ กันในเอทานอล ปริมาตร 0.5 ml เติมสารละลาย 0.2 ml DPPH ในเอทานอล ปริมาตร 1 ml ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้เอทานอลแทนสารสกัด นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูล DPPH. (%scavenging) จากสมการ

$$\% \text{scavenging} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

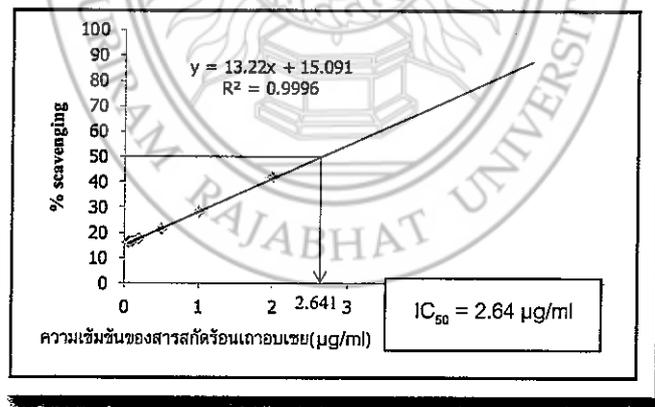
A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

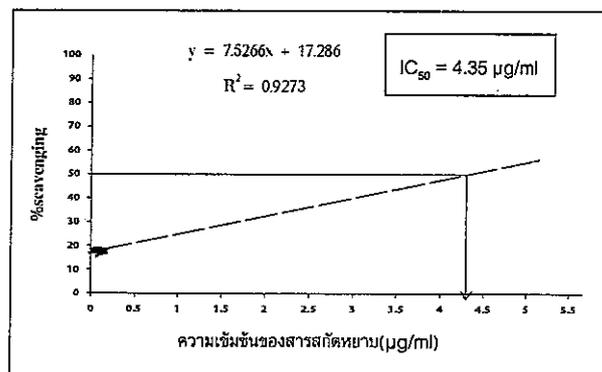
จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูล DPPH. ได้ 50%) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัด

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

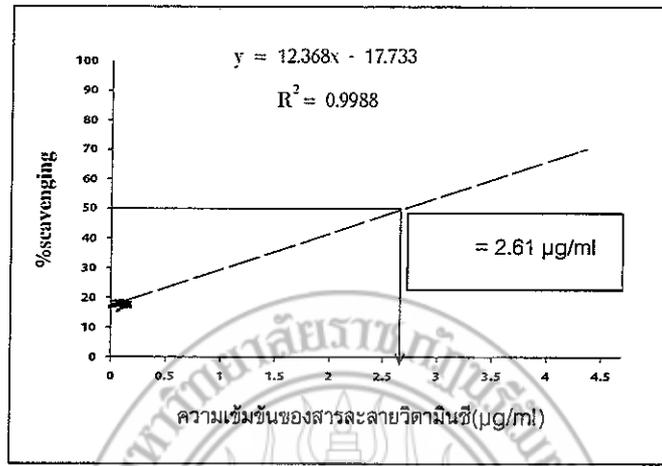
ทำการสกัดอบเชยเถาและเถาประสงค์ด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล โดยใช้เครื่องสกัดซอกเลต ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบเอทานอล โดยอบเชยเถามีเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งคือ 7.79, 0.71, 2.13 และ 33.56% ตามลำดับ ในขณะที่เถาประสงค์มีเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งคือ 5.70, 2.32, 1.74 และ 9.13% ตามลำดับ นำสารสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพวิเคราะห์ใช้วิธี TLC และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณวิเคราะห์ใช้วิธี DPPH radical scavenging assay แล้วหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานวิตามินซี พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของอบเชยเถาและเถาประสงค์ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.64 และ 4.35 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ในขณะที่วิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.61 $\mu\text{g/ml}$ ดังรูปที่ 1 2 และ 3



รูปที่ 1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบอบเชยเถาด้วยเอทานอล



รูปที่ 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเถาประสงค์ด้วยเอทานอล



รูปที่ 3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %scavenging กับความเข้มข้นของวิตามินซี

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอบเชยเถาและเถาประสงค์ พบว่าอบเชยเถาและเถาประสงค์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยเฉพาะอบเชยเถามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีมาก โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับวิตามินซี

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ที่ให้การสนับสนุนด้านสถานที่ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2549. **เถาประสงค์** (ออนไลน์). แหล่งเข้าถึง : <http://localbio.mnre.go.th>. 20 มีนาคม 2554.
- ฐานข้อมูลสมุนไพรไทย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (2010). **อบเชยเถา** (ออนไลน์). แหล่งเข้าถึง : <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th>. 20 กุมภาพันธ์ 2554.
- มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.ม.ป.ป. **ผักพื้นบ้าน** (ออนไลน์). แหล่งเข้าถึง : <http://www.suandusitcuisine.com>. **มูลนิธิหมอชาวบ้าน**. 2548. **สารต้านอนุมูลอิสระจำเป็นต่อร่างกายอย่างไร** (ออนไลน์). แหล่งเข้าถึง : <http://www.doctor.or.th>. 346, 1 มิถุนายน 2554.
- โรงเรียนนาโพธิ์พิทยาคม จังหวัดบุรีรัมย์. ม.ป.ป. **ทะเบียนพรรณไม้** (ออนไลน์). แหล่งเข้าถึง : <http://school.obec.go.th>. 20 มีนาคม 2554.
- หน่วยปฏิบัติการวิจัยเคมีสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2010. **อบเชยเถา** (ออนไลน์). แหล่งเข้าถึง : <http://thrai.sci.ku.ac.th>. (1663). 20 กรกฎาคม 2554.
- อุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. (2006). **เถาประสงค์** (ออนไลน์). แหล่งเข้าถึง : <http://kanchanapisek.or.th>. 20 มีนาคม 2554.
- Chansakaow S., Phadungcharoen T., Ruangrunsi N., Toshikazu Sekine. and Isamu Murakoshi. (1993). **Constituents of *Atherolepis pierrei***. ไทยเภสัชสาร. 17(4) : 195-199.
- Ueda Jun-ya, Tezuka Yasuhiro, Banskota Arjun Hari, Tram Quan Le, Tram Qui Kim, Saiki Ikuo and Kadota Shigetoshi. (2003). **Antiproliferative activity of cardenolides isolated from *Streptocaulon junventas***. Biological & pharmaceutical bulletin. 26 : 1431-1435.
- Yen GC. and Hsieh CL (1997). **Antioxidant effects of dopamine and related compounds**. J. Biotechnol. Biochem. 61(10) : 1646-1649.