การประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอำมฤตย์

Assessment of Antioxidant Activity of Thai Herbal Aum-Ma-Rit Remedy

ธนีกา สกุลชิต* จุฬาลักษณ์ โชคไพศาล และ สุรศักดิ์ ลิ้มสุวรรณ

Thaneeka Sakulchit* Julalak Chokpaisarn and Surasak Limsuwan

คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา ประเทศไทย

Faculty of traditional Thai medicine, Prince of Songkhla university, Songkhla, Thailand

**Corresponding author, E-mail: thaneeka.p@hotmail.com*

บทคัดย่อ

อนุมูลอิสระ คือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวอย่างน้อย 1 อิเล็กตรอน สามารถเกิดขึ้นได้ผ่านกระบวนต่าง ๆ ทั้งจากภายในร่างกาย เช่น กระบวนการสร้าง ATP ซึ่งเป็นพลังงานหลักของเซลล์ และจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ในสภาวะปกติร่างกายมีระบบในการกำจัดอนุมูลอิสระส่วนเกินให้กลับมาเป็นปกติ เมื่อเกิดความผิดปกติในการรักษาสมดุลดังกล่าวส่งผลให้ร่างกายเข้าสู่ภาวะ Oxidative stress หรือภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งเป็นภาวะที่มีบทบาทอย่างมากต่อการเกิดโรคหลายชนิดโดยเฉพาะหากเกิดขึ้นเป็นระยะเวลานาน เช่น โรคหลอดเลือดในสมอง โรคหัวใจ โรคเบาหวาน และโรคมะเร็ง เป็นต้น จึงเป็นที่มาในการศึกษาครั้งนี้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดตำรับยาอำมฤตย์ในรูปแบบสารสกัดน้ำต่อการต้านอนุมูลอิสระ ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธี ได้แก่ การศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging assay) และ ABTS (ABTS radical scavenging assay) ผลการทดสอบสารสกัดตำรับยาอำมฤตย์ และ Trolox ซึ่งเป็นสารมาตรฐานรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) จากการทดสอบพบว่าสารสกัดตำรับยาอำมฤตย์มีค่า IC_{50} คือ 72.15 ± 2.51 และ 14.53 ± 0.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำตำรับยาอำมฤตย์สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ และสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดการศึกษาหาสารสำคัญในตำรับยา ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ รวมไปถึงการนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้เป็นยาในการรักษาต่อไป

คำสำคัญ: *ตำรับยาอำมฤตย์, ภาวะเครียดออกซิเดชัน, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ*

Abstract

A free radical is indicated as a molecule containing one or more unpaired electron in its shell and a natural byproduct from both endogenous and exogenous factors in many ways, including metabolic process which produces

เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต

an ATP in human cell and most of radiation or pollution, etc. Generally, antioxidant network is a major process to remain a natural free radical and antioxidant substrates, resulting in oxidative stress protection. When a crucial imbalance between free radical generation and antioxidant process are taken in human, oxidative stress plays a major role in a number of diseases, such as stroke, cardiovascular disease, diabetes mellitus, or cancer. Therefore, the present study was aimed to evaluate an antioxidant activity of Aum-Ma-Rit waterextract by applying two definitive methods, including DPPH radical scavenging assay and ABTS radical scavenging assay. The scavenging ability of Aum-Ma-Rit extract and Trolox, a standard agent, were reported to contain 50 percent inhibition concentration of DPPH and ABTS (IC_{50}). The result demonstrated that the extract could inhibit DPPH and ABTS radicals at concentrations of 72.15 ± 2.51 and 14.53 ± 0.68 µg/mL, respectively. This study indicated that Aum-Ma-Rit extract exhibited a potent capability as a natural antioxidant agent. Even though it was a profound antioxidation against DPPH and ABTS radicals, further studies should be conducted in other different methods to discover antioxidant activity and other biological activities to confirm the potential use for clinical treatment.

Keywords: *Aum-Ma-Rit remedy, Oxidative stress, Anti-oxidant*

1. บทนำ

อนุมูลอิสระคือ สารที่สามารถถูกสร้างขึ้นภายในร่างกายได้ เป็นโมเลกุลชนิดหนึ่งที่มีอิเล็กตอนคู่โดดเดี่ยว ซึ่งมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ ภายในร่างกาย และจะเกิดขึ้นเป็นลูกโซ่ไปอย่างต่อเนื่อง อนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ โดยชนิดที่พบได้บ่อยที่สุด คือ อนุมูลอิสระในกลุ่มออกซิเจน (reactive oxygen species) ซึ่งประกอบด้วยอนุมูลอิสระด้วยกันหลายชนิดได้แก่ ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical ; $O_2^{\cdot -}$ ไฮดรอกซิล (hydroxyl radical ; $OH^{\cdot}$) ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide ; H_2O_2) เป็นต้น และอีก 2 กลุ่มได้แก่ อนุมูลอิสระในกลุ่มไนโตรเจน (reactive nitrogen species) และอนุมูลอิสระในกลุ่มคลอรีน (reactive chlorine species) โดยส่วนใหญ่อนุมูลอิสระจะถูกสร้างขึ้นผ่านกระบวนต่าง ๆ ภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เช่น การสร้างพลังงานภายในไมโทคอนเดรียที่เรียกว่า ATP หรือการสร้างอนุมูลอิสระภายในระบบภูมิคุ้มกัน เป็นต้น อีกทั้งสิ่งมีชีวิตยังสามารถได้รับอนุมูลอิสระจากปัจจัยภายนอก ได้แก่ การได้รับรังสีต่าง ๆ สารพิษ เช่น แอลกอฮอล์ สารเคมี ความเครียด เป็นต้น (รัตนา, 2555) ในสภาวะปกติแล้วร่างกายของมนุษย์มีระบบและสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งสามารถสร้างขึ้นได้ภายในร่างกาย เพื่อช่วยรักษาสมดุลระหว่างปริมาณการสร้างและการทำลายอนุมูลอิสระในร่างกาย แต่หากเมื่อร่างกายมีพยาธิสภาพเกิดขึ้นจนไม่สามารถรักษาสมดุลของอนุมูลอิสระ หรือได้รับปัจจัยกระตุ้นจากภายนอกเป็นระยะเวลานาน ร่างกายจะเข้าสู่สภาวะที่ไม่สามารถรักษาสมดุลปริมาณอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระได้ หรือที่เรียกภาวะนั้นว่า ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) (Halliwell, 2007) เมื่อเกิดสภาวะดังกล่าวจะส่งผลอย่างมากต่อร่างกายในระดับเซลล์ เช่น การทำปฏิกิริยากับไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และการเหนี่ยวนำให้โปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบหนึ่งของ

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2563
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต

เยื่อหุ้มเซลล์เกิดความเสียหาย หรือแม้กระทั่งสร้างความเสียหายแก่สารพันธุกรรม (DNA) ซึ่งเป็นองค์ประกอบพื้นฐานของสิ่งมีชีวิต ความเสียหายที่เกิดขึ้นอาจลุกลามไปจนกระทั่งก่อให้เกิดพยาธิสภาพหรือโรคต่าง ๆ เช่น การอักเสบ การก่อให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่มีความผิดปกติมากขึ้นซึ่งเหนี่ยวนำกลายเป็นมะเร็ง โรคหัวใจ หรือโรคในระบบประสาท เป็นต้น (วรพล, 2555) ดังจะเห็นว่าภาวะเครียดออกซิเดชันมีผลอย่างมากต่อร่างกาย การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกจึงมีส่วนช่วยในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และฟื้นคืนสมดุลระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ หรือ anti-oxidant สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติโดยเฉพาะพืชสมุนไพร สารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถพบได้ในธรรมชาติและพบได้บ่อย เช่น วิตามินซี วิตามินอี หรือสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นต้น (ปวีณา, 2559) ในปัจจุบันมีการศึกษาและใช้ประโยชน์จากสมุนไพรและตำรับยาซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากขึ้น โดยหนึ่งในตำรับยาทางแผนไทยที่ถูกบันทึกอยู่ในตำรามาเป็นเวลานาน คือ ตำรับยาอำมฤตย์ ซึ่งเป็นตำรับยาในคัมภีร์ธาตุบรรจบของการแพทย์แผนไทย มีวิธีการใช้ดั้งเดิม คือ การปั้นเป็นแท่งด้วยน้ำมะขามเปียก และละลายน้ำผลสมอไทยต้มรับประทาน ตำรับยาอำมฤตย์ประกอบด้วยสมุนไพรจำนวน 18 ชนิด ดังนี้ มะขามเปียก (*Tamarindus indica* Linn.) โกฐน้ำเต้า (*Rheum palmatum* L.) ยาดำ (*Aloe vera* (L.) Burm.f.) มหาหิงคุ์ (*Ferula assa-foetida* L) มะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Correa) ว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.) ทนดี (*Baliospermum montanum* Muell.A) มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) สมอพิเภก (*Terminalia bellirica* Gaertn. Roxb.) สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.) พริกไทย (*Piper nigrum* Linn.) ดีปลี (*Piper retrofractum* Vahl) ขิง(*Zingiber officinale* Roscoe.) เทียนดำ (*Nigella sativa* L.) เทียนแดง (*Lepidium sativum* L.) เทียนขาว (*Cuminum cyminum* L) เทียนข้าวเปลือก (*Foeniculum vulgare* Miller) และเทียนตาตั๊กแตน (*Anethum graveolens* L) ซึ่งตามตำราระบุสรรพคุณของตำรับยาเพื่อการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับทางเดินอาหารและอุจจาระ จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่า สมุนไพรเดี่ยวในตำรับมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และABTS ของมะขามเปียก มีค่าเท่ากับ 0.08 ± 0.01 และ 0.07 ± 0.04 มิลลิโมลสารมาตรฐานต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ (Lim et al, 2013) อีกทั้งสาร emodin ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบได้ในโกฐน้ำเต้าสามารถเพิ่มปริมาณสารอนุมูลอิสระกลูต้าไธโอนภายในร่างกายได้ (Cui et al, 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานทางวิทยาศาสตร์ยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของตำรับ เช่น มะตูม (Hasitha, 2018) ทนดี (Kakatum et al, 2012) สมอไทย (Lee et al, 2015) และดีปลี (Vijayakumar et al, 2004) ซึ่งพบค่า IC50 อยู่ในช่วงระหว่าง 1.1 – 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ รวมไปถึงการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอำมฤตย์ จึงเป็นที่มาของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของตำรับยาอำมฤตย์

2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความสามารถในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอำมฤตย์

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2563
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1. แหล่งที่มาของสมุนไพร อุปกรณ์ และสารเคมี

แหล่งที่มาของสมุนไพรแห้งทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองจากร้านยาฝาเซ็น อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ freeze dryer (Scanvac), rotary evaporator (Buchi, ประเทศเยอรมัน), เครื่องบดยา วิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง microplate reader จากบริษัท scientific production สารเคมีได้แก่ DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) จาก Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมัน, ABTS(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonicacid) จาก Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมัน, สารมาตรฐาน Trolox จาก , potassium persulphate ($K_2S_2O_8$) , PBS (Phosphate-buffered saline) จาก Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมัน ตัวทำละลายเกรดสำหรับการวิเคราะห์ได้แก่ DMSO (dimethyl sulfoxide) จาก Fisher chemical, 99% ethanol และ methanol

3.2. การเตรียมสารสกัด

สมุนไพรทั้งหมดในตำรับจะมีการตรวจสอบเอกลักษณ์และเก็บตัวอย่างไว้ ณ โรงพยาบาลการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับการศึกษาทดลอง นำสมุนไพรแห้งในตำรับทั้งหมดที่ได้จากร้านยาฝาเซ็น ล้างด้วยน้ำให้สะอาด และนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำสมุนไพรบดเป็นผง และนำผงตัวอย่างที่ได้มาต้มในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งเป็นวิธีการดั้งเดิมในการเตรียมยาอำมฤตย์ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้กรองหยาบด้วยผ้าขาวบางและกรองละเอียดด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำไปประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เก็บสารสกัดที่ได้ในภาชนะที่ปิดสนิทในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.3. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.3.1. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ดัดแปลงวิธีจาก Chanthasri และคณะ (2018) เป็นการวัดความสามารถของสารสกัดต่อการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีสีม่วง สารมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) ทำการเตรียมสารละลาย DPPH โดยชั่ง 3.15 มิลลิกรัมละลายใน methanol 100 มิลลิลิตร ทำการทดสอบสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นสุดท้ายซึ่งเจือจางแบบ 2-fold dilution ตั้งแต่ 7.81-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ใน 96-well plate จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณหาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระซึ่งคำนวณได้จากสมการดังนี้

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

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2563
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต

และรายงานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ หรือค่า IC_{50}

3.3.2. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical scavenging assay

ดัดแปลงวิธีจาก Chanthasri และคณะ (2018) เป็นการวัดความสามารถของสารสกัดต่อการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonicacid) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีสีเขียวและมีความไวต่อปฏิกิริยา สารมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) ทำการเตรียมสารละลาย ABTS โดยชั่งสารอนุมูลอิสระ ABTS ปริมาณ 9.6 มิลลิกรัมละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย potassium persulphate ($K_2S_2O_8$) ปริมาณ 1.7 มิลลิกรัมละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ทำการทดสอบสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นสุดท้ายตั้งแต่ 1.56-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย ABTS ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใน 96-well plate ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader จากนั้นคำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ซึ่งคำนวณได้จากสมการดังนี้

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

และรายงานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ หรือค่า IC_{50}

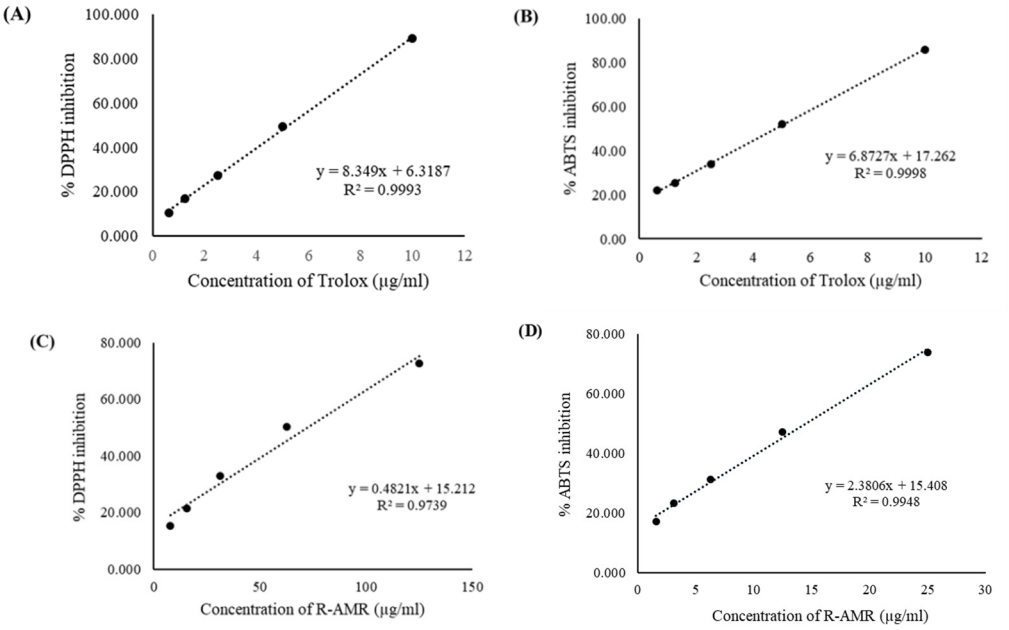
3.4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จะทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้งและนำมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± S.D.)

4. ผลการวิจัย

จากการสกัดตำรับยาอำมฤตย์ด้วยวิธีต้มในน้ำอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ลักษณะของสารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาล เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งใช้วิธี DPPH radical scavenging assay และ ABTS radical scavenging assay โดยอาศัยหลักการในการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีจากสีม่วงของอนุมูลอิสระ DPPH กลายเป็นสีเหลือง ส่วนอนุมูลอิสระ ABTS เปลี่ยนจากสีเขียวอมน้ำเงินกลายเป็นไม่มีสี ซึ่งเกิดจากการให้อิเล็กตรอนจากสารตัวอย่างแก่อนุมูลอิสระ (เกสรี และคณะ, 2559) จากผลการทดสอบที่ได้ นำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ดังแสดงในรูปที่ 1

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2563
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ประกอบด้วยความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ Trolox(1A) ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และสารสกัดตำรับยาอำมฤตย์ (1C) ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS และ Trolox(1B) และความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS และสารสกัดตำรับยาอำมฤตย์(1D)

แล้วจึงคำนวนและรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดน้ำตำรับยาอำมฤตย์ที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50})

สารที่ใช้ในการทดสอบ	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	
	DPPH (IC_{50} ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ABTS (IC_{50} ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
Trolox	5.23 ± 0.19	4.76 ± 0.35
สารสกัดตำรับยาอำมฤตย์	72.15 ± 2.51	14.53 ± 0.68

จากตารางที่ 1 พบว่า Trolox ซึ่งเป็นสารมาตรฐานในการทดสอบมีค่า IC_{50} ต่ออนุมูลิสระ DPPH และ ABTS เท่ากับ 5.23 ± 0.19 และ 4.76 ± 0.35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดน้ำตำรับยาอำมฤตย์มีค่า IC_{50} ของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เท่ากับ 72.15 ± 2.51 และ14.53 ± 0.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2563
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต

5. การอภิปรายผล

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกถึงประสิทธิภาพของสารสกัดตำรับยาอำมฤตย์ ซึ่งพบว่าสารสกัดน้ำของตำรับยาอำมฤตย์มีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ดี แต่พบว่าสารสกัดออกฤทธิ์จำเพาะต่ออนุมูลอิสระ ABTS ซึ่งอนุมูลอิสระทั้งสองชนิดมีกลไกการทำงานแตกต่างกัน กล่าวคือ ABTS มีกลไกการทำงานในการยับยั้งอนุมูลอิสระผ่านการให้อิเล็กตรอน ในขณะที่อนุมูลอิสระ DPPH มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระผ่านกลไกการให้ไฮโดรเจนอะตอม (เอนก, 2560) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดน้ำตำรับยาอำมฤตย์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระผ่านกลไกการให้อิเล็กตรอนได้ดีกว่า ในขณะเดียวกัน Trolox ซึ่งเป็นสารมาตรฐานในการทดสอบมีค่า IC_{50} ต่อการศึกษาอนุมูลอิสระทั้ง 2 ชนิดใกล้เคียงกัน เนื่องจาก Trolox มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS โดยสามารถให้ไฮโดรเจนอะตอม และอิเล็กตรอนได้ ดังจะเห็นจากการทดสอบก่อนหน้านี้ซึ่งมีการใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐานทั้งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS (Chanthasri et al, 2018; Lim et al, 2013) แม้ด้วยวิธีการทดสอบอนุมูลอิสระ DPPH radical scavenging assay และ ABTS radical scavenging assay เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว แต่เนื่องด้วยอนุมูลอิสระทั้ง 2 ชนิดมีความเสถียร และเป็นเพียงอนุมูลอิสระที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น ซึ่งมีคุณสมบัติที่ต่างออกไปจากอนุมูลอิสระในร่างกายซึ่งมีความไวสูง และไม่คงตัว อีกทั้งอนุมูลอิสระในการทดลองทำปฏิกิริยาในตัวทำละลายอินทรีย์ แตกต่างออกไปจากอนุมูลอิสระในร่างกายซึ่งอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำ รวมไปถึงวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอาศัยหลายกลไกด้วยกันทั้งการทดสอบความสามารถในการให้อิเล็กตรอน ไฮโดรเจนอะตอม หรือการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระผ่านตัวกลางต่าง ๆ (Apak et al, 2007) เพราะฉะนั้นควรมีการทดสอบเพิ่มเติมถึงกลไกการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบอื่น ๆ เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของสารสกัดตำรับยาอำมฤตย์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

6. สรุปผล

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกที่แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอำมฤตย์ซึ่งเป็นตำรับยาทางแผนไทย พบว่า สารสกัดตำรับยาอำมฤตย์ที่สกัดด้วยน้ำตามแนวทางการใช้ทางแผนไทยดั้งเดิมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ สามารถนำไปศึกษาต่อยอดถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยกลไกอื่น ๆ รวมไปถึงการศึกษาหาลักษณะสารองค์ประกอบทางพฤกษเคมีรวมทั้งปริมาณสารสำคัญของสารสกัดน้ำตำรับยาอำมฤตย์เพื่อเป็นข้อมูลถึงกลไกของสารสกัดตำรับยาอำมฤตย์ที่มีต่ออนุมูลอิสระเพิ่มเติม

7. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุรศักดิ์ ลิ้มสุวรรณ และดร.จุฬาลักษณ์ โชคไพศาล สำหรับคำปรึกษาและแนะนำตลอดการศึกษาในครั้งนี้ทำให้งานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณคณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต

8. เอกสารอ้างอิง

ปวีณา พันทอง. (2559). การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี CUPRAC โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย. (2555). เรื่องราวของอนุมูลอิสระ. ใน วรพล เองวานิช (บ.ก.). *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*. หน้า 17-18. เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพสำนักพิมพ์.

วรพล เองวานิช. (2555). ภาวะเครียดออกซิเดชัน. ใน วรพล เองวานิช (บ.ก.). *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*. หน้า 46-54. เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพสำนักพิมพ์.

เกสรี กลิ่นสุคนธ์ อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ ประภัสสร รักถาวร และลลิตา คชารัตน์. (2559). การศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิด. ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54*. (หน้า 849). 2-5 กุมภาพันธ์ 2559 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

เอนก หาลี และ บุณยกฤต รัตนพันธุ์. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. *วารสารวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี*. 40(2). 283-293

Apak, R., Guclu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Celik, E.S., Bektasoglu, B., Berker, I.K., Ozyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assays. *Molecules*. 12, 1496-47.

Chanthasri, W., Puangkeaw, N., Kunworarath, N., Jaisamut, P., Limsuwan, S., Maneenoon, K., . . . Chusri, S. (2018). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 20 polyherbal remedies used as tonics by folk healers in Phatthalung and Songkhla provinces, Thailand. *Bmc Complementary and Alternative Medicine*, 18. doi: ARTN 7310.1186/s12906-018-2131-y

Cui, Y. T., Liu, B., Xie, J., Xu, P., Habte-Tsion, H. M., & Zhang, Y. Y. (2014). The effect of emodin on cytotoxicity, apoptosis and antioxidant capacity in the hepatic cells of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Fish Shellfish Immunology*. 38(1), 74-79. doi: 10.1016/j.fsi.2014.02.018

Halliwell, B. (2007). Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochemical Journal*. 401, 1-11. doi: 10.1042/Bj20061131

Hasitha, P., & Dharmesh, S. M. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory properties of marmelosin from Bael (*Aegle marmelos* L.); Inhibition of TNF-alpha mediated inflammatory/tumor markers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 106, 98-108. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.053

Kakatum, N., Jaiarree, N., Makchucit, S., & Itharat, A. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of Thai medicinal plants in Sahasthara remedy for muscle pain treatment. Journal of the Medical Association of Thailand, *95 Supplementary.* 1, S120-126.

เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต

Lee, H. H., Paudel, K. R., & Kim, D. W. (2015). *Terminalia chebula* Fructus Inhibits Migration and Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells and Production of Inflammatory Mediators in RAW 264.7. *Evidence Based Complement Alternative Medicine*, 502182.

Lim, C. Y., Mat Junit, S., Abdulla, M. A., & Abdul Aziz, A. (2013). *In vivo* biochemical and gene expression analyses of the antioxidant activities and hypocholesterolaemic properties of *Tamarindus indica* fruit pulp extract. *PLoS One*. 8(7). doi: ARTN e7005810.1371/journal.pone.0070058

Vijayakumar, R. S., Surya, D., & Nalini, N. (2004). Antioxidant efficacy of black pepper (Piper nigrum L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. *Redox Report* 9, 105-110. doi: 10.1179/135100004225004742

เอกสารสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2563
เผยแพร่ออนไลน์: ลิขสิทธิ์ © 2559-2563 มหาวิทยาลัยรังสิต