



การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาแก้ฝัรวงผึ่ง

Evaluation of Antioxidant Activity of Ya-Kae-Phee-Ruang-Phueng Recipe

หัตถยา บุญญวงษ์* จุลาลักษณ์ โชคไพศาล และ สุรศักดิ์ ลิ้มสุวรรณ

Hattaya Boonyawong* Julalak Chokpaisarn and Surasak Limsuwan

คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา ประเทศไทย

Faculty of Traditional Thai Medicine, Prince of Songkla University, Songkla, Thailand

*Corresponding author, E-mail: 6111420010@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ตำรับยาแก้ฝัรวงผึ่ง เป็นตำรับยาที่อยู่ในคัมภีร์ทิพยมาลา ใช้รักษาโรคฝัรวงผึ่ง ซึ่งเป็นโรคที่มีความผิดปกติเกิดขึ้นบริเวณตับ ยาแก้ฝัรวงผึ่งประกอบไปด้วยสมุนไพรทั้งหมด ๗ ชนิด ได้แก่ ทนดิ (*Baliospermum montanum* (Willd.) Muell. Arg.) หนามแดง (*Carissa carandas* Linn.) ก้างปลาแดง (*Phyllanthus reticulatus* Poir.) ลงคาเดียด (*Arfeuillea arborescens* Pierre.) คนทา (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.) เปล้าใหญ่ (*Croton oblongifolius* Roxb.) และย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels.) โดยงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาแก้ฝัรวงผึ่งที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลโดยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2'-Azino-bis (3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) (ABTS) radical scavenging activity ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดน้ำของตำรับยาแก้ฝัรวงผึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 69.68 ± 0.53 และ 12.43 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเอทานอลของตำรับยาแก้ฝัรวงผึ่ง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 71.07 ± 0.30 และ 13.79 ± 1.13 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้พบว่า สารสกัดน้ำและเอทานอลของยาแก้ฝัรวงผึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนการใช้ตำรับยาแก้ฝัรวงผึ่งทางการแพทย์

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สมุนไพรไทย ยาแก้ฝัรวงผึ่ง

Abstract

Ya-Kae-Phee-Ruang-Phueng (Y-PRP) is a traditional Thai medicine recipe in the Thippayamala scripture, used for the treatment of liver diseases. Y-PRP is composed of seven medicinal plants, including *Baliospermum montanum* (Willd.) Muell. Arg., *Carissa carandas* Linn., *Phyllanthus reticulatus* Poir., *Arfeuillea arborescens* Pierre.,



Harrisonia perforata (Blanco) Merr., *Croton oblongifolius* Roxb., and *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels. The purpose of this study was to investigate the antioxidant activity of aqueous and ethanol extracts of Y-PRP. The crude extracts were evaluated by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-Azino-bis (3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) (ABTS) radical scavenging activities. The results of the antioxidant properties of Y-PRP extracts demonstrated that the aqueous extract of Y-PRP (Y-PRP1) had IC_{50} values against DPPH and ABTS of 69.68 ± 0.53 and 12.43 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The ethanolic extract of Y-PRP displayed IC_{50} values of 71.07 ± 0.30 and 13.79 ± 1.13 $\mu\text{g/mL}$ against DPPH and ABTS assay, respectively. In conclusion, the aqueous and ethanol extract of Y-PRP could exhibit a potent antioxidant activity. The results provided preliminary scientific data related to the use of the herbal recipe in traditional Thai medicine.

Keywords: Antioxidant, Thai herb, Ya-Kae-Phee-Ruang-Phueng

1. บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวในวงนอกสุด ทำให้เป็นโมเลกุลที่ไม่คงตัว และสามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโมเลกุลอื่น ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (ไมตรี สุทนต์, 2555) ซึ่งอนุมูลอิสระเกิดได้จากปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอกในร่างกาย หากมีอนุมูลอิสระปริมาณมาก จะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ส่งผลให้โมเลกุลภายในร่างกายเกิดความเสียหาย ผลของความเสียหายที่ร้ายแรง คือ การทำลายโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA damage) จนทำให้ดีเอ็นเอเกิดการกลายพันธุ์ นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจนเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคทางสมอง โรคมะเร็ง และภาวะต้อเบา เป็นต้น (รัตนา บรรณกิจพิชญ, 2555) โดยปกติร่างกายจะมีการผลิต สารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายผลิตขึ้น ได้แก่ แคตาเลส (catalase) ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) และกลูตาไธโอน เปอร็อกซิเดส (glutathione peroxidase) เป็นต้น แต่เนื่องด้วยปัจจุบัน ร่างกายได้รับปัจจัยกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นผลจากการใช้ชีวิตประจำวันที่เปลี่ยนแปลงไป ความเครียด การรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสม การได้รับสารพิษ ฝุ่นควัน และการสูบบุหรี่ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลให้อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระไม่สมดุลกัน นำไปสู่การเกิดโรคมามากมาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอก เพื่อสร้างความสมดุลให้กับร่างกาย ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมีอยู่ในผักผลไม้ ธัญพืช และสมุนไพร ปัจจุบันสมุนไพรได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ประชาชนเริ่มหันมาใช้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อการดูแลสุขภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งตามแนวทางการรักษาด้วยศาสตร์การแพทย์แผนไทยนิยมใช้ตำรับยาเพื่อการรักษาโรคโดยมีการใช้สมุนไพรในการดูแลสุขภาพและรักษาโรคต่างๆ จะมีการใช้ในรูปแบบของสมุนไพรเดี่ยวและสมุนไพรตำรับ โดยพบว่าตำรับยาแก้ฟัรวังซึ่งเป็นตำรับยาที่น่าสนใจในการศึกษาครั้งนี้



ยาแก้ฝัรวงฝั้ง (Ya-Kae-Phee-Ruang-Phueng; Y-PRP) เป็นยาที่ใช้รักษาโรคฝัรวงฝั้งในคัมภีร์ทิพยมาลาซึ่งเป็นคัมภีร์ที่กล่าวถึงลักษณะไข้ (วันโรค) อันพืงเกิดขึ้นภายในนั้น เกิดเพราะจตุธาตุและตรีสมุฐานอันใดอันหนึ่ง ซึ่งจะวิปริตเป็นชาติ จะละนะ โดยหย่อนพิการระคนกันเข้า แล้วตั้งค้อมขึ้น ทำให้มีอาการแน่นชายตบเบื่องขวา ให้ยอกตลอดสันหลัง ให้ตัวเหลือง หน้าเหลือง ตาเหลือง ปัสสาวะเหลือง สะบัดร้อนสะท้านหนาว ทำให้มีนตึง เมื่อยทุกข้อกระดูก อ้อมไปด้วยลม บริโภคอาหารไม่ได้ ยาแก้ฝัรวงฝั้ง ประกอบด้วยสมุนไพร 7 ชนิด ได้แก่ หนตึ (*Baliospermum montanum* (Willd.) Muell. Arg.), หนามแดง (*Carissa carandas* Linn.), ก้างปลาแดง (*Phyllanthus reticulatus* Poir.), คองคาเดือ (*Arfeuillea arborescens* Pierre.), คนทา (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.), เปล้าใหญ่ (*Croton oblongifolius* Roxb.) และย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels.) เสมอภาค คัมภีร์ จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดน้ำของรากหนตึ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 26.22 mg/mL (Prajakta *et al*, 2008) และสารสกัดเมทานอลของต้นก้างปลาแดง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.8 μ g/mL (Eldeen *et al*, 2011) นอกจากนี้ยังพบการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า สารสกัดเฮกเซนของย่านาง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 190 ± 8.59 μ g/mL (Makinde *et al*, 2019) อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของยาแก้ฝัรวงฝั้ง ดังนั้น ควรมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาแก้ฝัรวงฝั้ง เพื่อแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นและส่งเสริมให้มีการใช้สมุนไพรในทางการแพทย์มากขึ้น

2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาแก้ฝัรวงฝั้ง

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและสารเคมี

เครื่องมือ ได้แก่ Rotary evaporator (Heidolph Co, Germany), Freeze dryer (Scan Vac Co, Denmark), เครื่อง UV-Visible spectro photometer (BMG labtech Co, Germany) สารเคมี ได้แก่ gallic acid (Sigma-Aldrich Co, Germany), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) (Sigma-Aldrich Co, Germany), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich Co, Germany), 2,2'-Azino-bis (3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) (ABTS) (Sigma-Aldrich Co, Germany), potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) (Merck Co., Germany), Phosphate buffered saline (PBS) (Sigma-Aldrich Co, Germany) และ Dimethyl sulfoxide (DMSO) (fisher chemical Co, UK)

3.2 การเตรียมสารสกัด

สมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ หนตึ หนามแดง ก้างปลาแดง คองคาเดือ คนทา เปล้าใหญ่ และย่านาง ได้มาจากร้านฟ้าเซ็นโอสถ จังหวัดสงขลา จากนั้นนำสมุนไพรมาตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และจัดเก็บไว้ ณ คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับการเตรียมสารสกัดน้ำของยาแก้ฝัรวงฝั้ง (Y-PRP1) นำสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด อย่างละ 1 ส่วน มาห่อด้วยผ้าขาวบางและ ใส่ลงในหม้อสแตนเลส เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 ต้มเดือดเป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองเอาแต่น้ำ จากนั้นนำสารสกัด ที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Freeze dry บันทึก



น้ำหนัก และคำนวณ % yield ส่วนสารสกัดเอทานอลของยาแก้ฟรุ้งผึ่ง (Y-PRP2) นำสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด อย่างละ 1 ส่วน ห่อผ้า ขาวบาง ใส่ลงในโหลแก้ว เดิมเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 1:4 ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน กรองเอาแต่น้ำ ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator บันทึกน้ำหนักที่ได้และคำนวณ % yield เก็บสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity (Parthiban *et al*, 2019)

เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งมีสีม่วง เมื่อได้รับไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ทำการทดสอบโดยการเตรียมสารละลาย DPPH (0.3 mM) ในเมทานอล และเตรียมสารสกัด Y-PRP1 และ Y-PRP2 ที่ความเข้มข้น 12.5-200 µg/mL ละลายด้วย DMSO เดิมสารสกัด Y-PRP1 และ Y-PRP2 แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.5 mL และเติมสารละลาย DPPH 1 mL บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 nm โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition DPPH) โดยคำนวณจากสูตร $\% \text{ Inhibition} = [(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{sample}}) \times 100] / Abs_{\text{control}}$

3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2'-Azino-bis (3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) (ABTS) radical scavenging activity (Makinde *et al*, 2019)

เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ซึ่งมีสีเขียว เมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนเป็นสีใสหรือไม่มีสี ทำการเตรียมสารละลาย ABTS ด้วยการเปลี่ยน ABST ให้เป็นอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ด้วยการเติมสารละลาย K₂S₂O₈ (2.45 mM) จากนั้นนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วเจือจางสารละลาย ABTS^{•+} ด้วย PBS นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS^{•+} อยู่ในช่วง ที่ 0.70±0.02 ทำการเตรียมสารสกัด Y-PRP1 และ Y-PRP2 ที่ความเข้มข้น 1.25-40 µg/mL ละลายด้วย DMSO เดิมสารสกัด Y-PRP1 และ Y-PRP2 แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 20 µL ใน 96 well microtiterplate และเติมสารละลาย ABTS^{•+} ปริมาตร 200 µL บ่มในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader โดยใช้ trolox เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS (% Inhibition ABTS) โดยคำนวณจากสูตร $\% \text{ Inhibition} = [(Abs_{\text{Control}} - Abs_{\text{sample}}) \times 100] / Abs_{\text{Control}}$

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมไมโครซอฟต์เอ็กเซล (Microsoft excel) เวอร์ชัน 2010 สำหรับการคำนวณค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SE)

4. ผลการวิจัย

4.1 สารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฟรุ้งผึ่ง



สารสกัดน้ำของยาแก้ฟรุ้งฟ้าง (Y-PRP1) มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน มี % yield เท่ากับ 1.28 และสารสกัดเอทานอลของยาแก้ฟรุ้งฟ้าง (Y-PRP2) มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลเข้ม และมี % yield เท่ากับ 1.50

4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฟรุ้งฟ้างที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่า สารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฟรุ้งฟ้างมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition) เพิ่มขึ้น ตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น โดยสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลของตำรับยาแก้ฟรุ้งฟ้างมีค่า IC_{50} เท่ากับ 69.68 ± 0.53 และ 71.07 ± 0.30 $\mu\text{g/mL}$ ส่วน gallic acid ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน พบว่า gallic acid มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.45 ± 0.01 $\mu\text{g/mL}$ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ของสารสกัดตำรับยาแก้ฟรุ้งฟ้าง (สารสกัดน้ำของตำรับยาแก้ฟรุ้งฟ้าง = Y-PRP1; สารสกัดเอทานอลของตำรับยาแก้ฟรุ้งฟ้าง = Y-PRP2)

Sample	Concentrations ($\mu\text{g/mL}$)	Percentage inhibition radical scavenging (mean $\pm$ SE)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Gallic acid	0.625	9.76 ± 0.06	2.45 ± 0.01
	1.25	22.84 ± 0.69	
	2.5	45.95 ± 1.39	
	5	78.48 ± 1.99	
	10	96.34 ± 0.69	
Y-PRP1	12.5	7.61 ± 0.90	69.68 ± 0.53
	25	16.18 ± 1.10	
	50	30.85 ± 0.44	
	100	56.35 ± 0.63	
	200	89.93 ± 0.63	
Y-PRP2	12.5	4.21 ± 1.17	71.07 ± 0.30
	25	13.49 ± 1.14	
	50	29.92 ± 0.59	
	100	57.29 ± 0.81	
	200	90.31 ± 1.08	



4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical scavenging activity

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฟัรวงฝั้งที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS radical scavenging activity พบว่าสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลของตำรับยาแก้ฟัรวงฝั้ง มีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS (% inhibition ABTS) เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น โดยสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลของตำรับยาแก้ฟัรวงฝั้งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.43 ± 0.05 และ 13.79 ± 1.13 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฟัรวงฝั้งมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานคือ trolox ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.23 ± 0.29 $\mu\text{g/mL}$ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical scavenging activity ของสารสกัดตำรับยาแก้ฟัรวงฝั้ง (สารสกัดน้ำของตำรับยาแก้ฟัรวงฝั้ง = Y-PRP1; สารสกัดเอทานอลของตำรับยาแก้ฟัรวงฝั้ง = Y-PRP2)

Sample	Concentrations ($\mu\text{g/mL}$)	Percentage inhibition radical scavenging (mean $\pm$ SE)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Trolox	0.625	6.87 ± 1.85	10.23 ± 0.29
	1.25	7.54 ± 1.80	
	2.5	12.15 ± 2.37	
	5	23.34 ± 2.44	
	10	50.48 ± 1.39	
	20	95.76 ± 2.30	
Y-PRP1	0.938	12.43 ± 0.68	12.43 ± 0.05
	1.875	16.65 ± 0.51	
	3.75	24.72 ± 1.43	
	7.5	39.32 ± 0.41	
	15	64.73 ± 0.44	
	30	96.92 ± 1.42	
Y-PRP2	0.938	13.70 ± 0.63	13.79 ± 1.13
	1.875	17.73 ± 0.26	
	3.75	24.42 ± 0.75	
	7.5	37.76 ± 2.26	
	15	58.94 ± 4.07	
	30	89.10 ± 5.58	



5. การอภิปรายผล

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (สุชาดา มานอก และ ปวีณา ลิ้มเจริญ, 2558) ซึ่งทั้ง 2 วิธีเป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ทำให้ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของแต่ละวิธีให้ผลการทดลองที่แตกต่างกัน โดยการทดสอบด้วยวิธี DPPH เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ ส่วนการทดสอบด้วยวิธี ABTS เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ และมีความไวต่อปฏิกิริยา จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า สารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้งมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีกว่า DPPH แสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้งมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้อนุมูลอิสระ DPPH มีความคงตัวสูงไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือน ABTS เนื่องจากอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของ DPPH มีวงแหวนเบนซีนและหมู่ไนโตรเจนขัดขวางอยู่ จึงทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่เข้าไปทำปฏิกิริยาได้หรือทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ซึ่งจากการศึกษาสารสำคัญของสมุนไพรในตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้ง พบว่า หน่อดินมีสารสำคัญ คือ Baliospermin (Johnson *et al*, 2010) และเปลือกใหญ่ มีสารสำคัญ คือ Diterpenoids (Youngsa-ad *et al*, 2007) ซึ่งเป็นที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ จึงส่งผลให้ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ช้ากว่า ABTS

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้ง ซึ่งประกอบด้วยสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ หน่อดิน หนามแดง ก้างปลาแดง คงคาเดือด คนทา เปลือกใหญ่ และย่านาง พบว่า สารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้ง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 69.68 ± 0.53 และ 71.07 ± 0.30 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดน้ำของรากหน่อดิน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 26.22 mg/mL (Prajakta *et al*, 2008) และสารสกัดเมทานอลของใบคงคาเดือดมีค่า EC_{50} เท่ากับ 2,010.24 $\mu\text{g/mL}$ (วันเพ็ญ วสุพงษ์พันธ์ และ พรชัย เปรมไกรสร, 2553) และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้ง พบว่า สารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้ง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.43 ± 0.05 และ 13.79 ± 1.13 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า สารสกัดเฮกเซนของย่านาง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 190 ± 8.59 $\mu\text{g/mL}$ (Makinde *et al*, 2019) จากผลการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธีแสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดสมุนไพรเดี่ยว ดังนั้น ควรจะมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้งเพิ่มเติม

6. บทสรุป

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้งด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging activity พบว่า สารสกัดน้ำและเอทานอลของตำรับยาแก้ฝีรวงผึ้งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้



7. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุรศักดิ์ ลิ้มสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ ดร.จุฬาลักษณ์ โชคไพศาล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และช่วยเหลือ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขบทความวิจัยครั้งนี้ จนสำเร็จ ลุล่วง ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจมาโดยตลอด ขอขอบพระคุณ คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อำนวยความสะดวกในเรื่องสถานที่ ห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบพระคุณแหล่งทุนสนับสนุนการดำเนินการวิจัยจากทุนวิจัยทั่วไป มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปีงบประมาณ 2562

8. เอกสารอ้างอิง

- ไมตรี สุทธจิตต์. (2555). ความรู้พื้นฐานของออกซิเดชัน. ใน วรพล เองพานิช. *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*, หน้า 1-14. เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพสำนักพิมพ์.
- รัตนา บรรณเจตพงศ์ชัย. (2555). อนุมูลอิสระกับการเกิดโรค. ใน วรพล เองพานิช. *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*, หน้า 89-123. เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพสำนักพิมพ์.
- วันเพ็ญ วสุพงษ์พันธ์ และ พรชัย เปรมไกรสร. (2553). การประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยสิบเอ็ดชนิด. *วารสารวิทยาศาสตร์ มศว.* 26(1), 29-36.
- สุชาดา มานอก และ ปวีณา ลิ้มเจริญ. (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. *ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์.* 15(1), 106-117.
- Eldeen, I.M.S., Seow, E.M., Abdullah, R., Sulaiman, S.F. (2011). In vitro antibacterial, antioxidant, total phenolic contents and anti-HIV-1 reverse transcriptase activities of extracts of seven *Phyllanthus* sp. *S Afr J Bot.* 77(1), 75-79. doi: 10.1016/j.sajb.2010.05.009.
- Johnson, M., Wesley, E. G., Hussain, M. I. Z., & Selvan, N. (2010). In vivo and in vitro phytochemical and antibacterial efficacy of *Baliospermum montanum*(Willd.) Muell. Mg. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(11), 894-897. doi: 10.1016/S1995-7645(10)60215-5.
- Makinde, E. A., Ovatlamporn, C., Adekoya, A. E., Nwabor, O. F., & Olatunji, O. J. (2019). Antidiabetic, antioxidant and antimicrobial activity of the aerial part of *Tiliacora triandra*. *South African Journal of Botany.* 125, 337-343. doi: 10.1016/j.sajb.2019.08.012.
- Parthiban, C., Saranya, C., Girija, K., Hemalatha, A., Suresh, M. & Anantharaman, P. (2013). Evaluation of in vitro antioxidant properties of some selected seaweeds from Tuticorin coast. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 2(9): 64-73.



- Prajakta, V., Desai, Raju R., Wadekar, G. H., Kedar, K., & Patil, S. (2008). Free radical scavenging activity of aqueous extract of roots of *Baliospermum montanum* Muell-Arg. *International Journal of Green Pharmacy*. 2(1), 31-33.
- Youngsa-ad, W., Ngamrojanavanich, N., Mahidol, C., Ruchirawat, S., Prawat, H., & Kittakoop, P. (2007). Diterpenoids from the roots of *Croton oblongifolius*. *Planta Med*, 73(14), 1491-1494. doi: 10.1055/s-2007-990247