



ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก ของสมุนไพรไทยบางชนิด

Antioxidant and Iron-Chelating Activity of Some Thai Medicinal Plants

ธวัชชัย นาใจคง¹ อาชิต หวันยาวา¹ กฤตพงษ์ เก้าเอี้ยน¹ จตุพร คงสุขนิรันดร์¹
สนั่น ศุภธีรสกุล^{1*} มาลีณี วงศ์นาวา² และ นิลิตา บำรุงวงศ์²

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสมุนไพรไทยบางชนิดที่แพทย์แผนไทยใช้รักษาโรคเลือด รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสารสกัดเอธานอลของสมุนไพร 9 ชนิด คือ แก่นขนุน ผลคัตเค้า แก่นจันทน์ขาว รากเจตมูลเพลิงแดง ต้นผักเป็ดแดง แก่นมะขาง ผลมะตูม แก่นลั่นทม และเปลือกสมุลแว้ง พบว่าสารสกัดจากเปลือกสมุลแว้งยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} 0.06 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงสุดเทียบเท่า catechin 270.05 ± 15.84 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัด สารสกัดจากผลคัตเค้าเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} 0.39 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดจากแก่นขนุนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงสุดเทียบเท่า gallic acid 457.00 ± 49.06 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม แต่ความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสารสกัดสมุนไพรไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพร ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ผลการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนการใช้สมุนไพรดังกล่าวในการรักษาโรคเลือดตามทฤษฎีแพทย์แผนไทย

¹ คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา 90112

² ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา 90112

*Corresponding Author, E-mail: sanan.s@psu.ac.th

ABSTRACT

This study aims to investigate the antioxidant and iron-chelating activity of the ethanolic extract from some Thai herbs used to treat patients with blood disorders; *Artocarpus heterophyllus* Lam, *Randia siamensis* Craib., *Tarenna hoensis* Pit., *Plumbago indica* L., *Alternanthera bettzickiana* Standl., *Madhuca pierrei* H.J.Lam, *Aegle marmelos* Correa, *Plumeria obtusa* Woodson and *Cinnamomum bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet. It was found that *C. bejolghota* shows the highest DPPH scavenging activity with the IC_{50} of 0.06 mg/mL and total flavonoid content of 270.05 ± 15.84 mg catechin equivalence/g extract. *R. siamensis* shows the highest iron chelating activity with IC_{50} 0.39 mg/mL. The highest total phenolic content was found in *A. heterophyllus* at 457.00 ± 49.06 mg gallic acid equivalence/g extract. It is noted that the radical scavenging capacity of the extracts correlate with total phenolic content and flavonoid content. However, iron-chelating activity does not correlate with the antioxidant activity, total phenolic content or flavonoid content. The results from this study support the use of these medicinal plants for the treatment of blood disorders in Thai Traditional Medicine.

คำสำคัญ: สมุนไพร การต้านอนุมูลอิสระ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก

Keywords: Medicinal plants, Antioxidant, Iron chelating activity

บทนำ

โรคธาลัสซีเมียเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากมีผู้ป่วยด้วยโรคนี้เป็นจำนวนมาก (ประเวศ, 2554) ผู้ป่วยมักมีอาการโลหิตจางมาตั้งแต่กำเนิด ตาเหลือง ตับม้ามโต เติบโตไม่สมอายุ ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงจำเป็นต้องรับการรักษาด้วยการให้เลือดเป็นประจำ ซึ่งมักทำให้เกิดพยาธิสภาพที่สำคัญเช่น ตับแข็ง เบาหวาน เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ หัวใจวาย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลมาจากภาวะเหล็กเกิน (ถนอมศรีและแสงสุรีย์, 2537) ในปัจจุบันมีการรักษาโดยให้ยา desferoxamine ฉีดเข้าใต้ผิวหนังหรือหลอดเลือดดำ แต่มีผลข้างเคียงคือ คันและบวมบริเวณที่ฉีด อาเจียน ปวดศีรษะ เบื่ออาหาร เป็นต้น (Mourad et al., 2003) และยา deferiprone ซึ่งให้

ชาวตำ และมีภาวะติดเชื้อร่วมด้วย (วิปร, 2552) ซึ่งการแสวงหายาอื่นที่มีประสิทธิผลในการขับเหล็กออกจากร่างกายและมีผลข้างเคียงน้อยจะมีประโยชน์กับผู้ป่วยมาก

สมุนไพรเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะมีการใช้มาอย่างยาวนานและมีผลข้างเคียงน้อยจากการศึกษาแนวทางการรักษาของหมอพื้นบ้าน รวมถึงการทบทวนวรรณกรรม (นาก, 2471; ประกอบ, 2555; ประวิทย์, 2555) พบว่าตำรับยาที่ใช้รักษาโรคเลือดที่มีอาการซีด หรือโรคเลือดที่เป็นมาแต่กำเนิดที่มีอาการคล้ายคลึงกับโรคดังกล่าว ส่วนใหญ่มีสรรพคุณบำรุงโลหิต ปรับธาตุ ล้างพิษโลหิต แก้โลหิตพิการ คาดว่าสรรพคุณดังกล่าวอาจจะมีผลมาจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การขัดขวางการดูดซึมเหล็ก และเพิ่มการขับออกของเหล็กโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก

เนื่องจากสารกลุ่มฟีนอลและฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบมากชนิดหนึ่งตามธรรมชาติในพืชมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (อัญชญา, 2544; Buhler and Miranda, 2000 อ้างถึงใน ฐิติกานต์, 2551) มีความสัมพันธ์กับการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก (Alam, et al., 2012) แต่เนื่องจากยังขาดรายงานการศึกษา คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสมุนไพรที่เป็นองค์ประกอบในตำรับยาดังกล่าว รวมถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก

วิธีการดำเนินการวิจัย

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาทุกชนิดเป็น Analytical grade ได้แก่ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Catechin, Ferrozine (Sigma-Aldrich Pte Ltd, Singapore); Folin-Ciocalteu Reagent, Gallic acid, Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), Ascorbic acid (Merck KGaA, Germany); Sodium carbonate (Na_2CO_3), Sodium nitrite (NaNO_2), Aluminium chloride (AlCl_3), Iron(II) sulphate (FeSO_4) (Ajax Finechem Pty Ltd, Australia); Sodium hydroxide (NaOH) (LOBA CHEMIE PVT.LTD., India)

การคัดเลือกสมุนไพร

เลือกสมุนไพรที่จะศึกษาจากตำรับยารักษาโรคเลือดของหมอพื้นบ้านในจังหวัดสงขลาและในตำรายาประจำบ้าน (นาก, 2471) โดยใช้เกณฑ์คือ

1. เป็นสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณบำรุงโลหิต ล้างพิษโลหิต แก้โลหิตพิการ หรือปรับธาตุ

2. ส่วนของสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษายังไม่มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก

จากเกณฑ์การคัดเลือกได้สมุนไพรที่นำมาศึกษา 9 ชนิด คือ แก่นขนุน (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) ผลคัตเค้า (*Randia siamensis* Craib.) แก่นจันทน์ขาว (*Tarenna hoensis* Pit.) รากเจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.) ต้นผักเป็ดแดง (*Alternanthera bettzickiana* Standl.) แก่นมะขาง (*Madhuca pierrei* H.J.Lam) ผลมะตูม (*Aegle marmelos* Correa) แก่นลั่นทม (*Plumeria obtusa* Woodson) และเปลือกสมุลแว้ง (*Cinnamomum bejolghota* (Buch.-Ham.) Sweet)

การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

สมุนไพรทั้ง 9 ชนิดซื้อจากร้านยาไทยในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา เมื่อวันที่ 21 กรกฎาคม 2555 ตรวจสอบเอกลักษณ์สมุนไพรจากการดูลักษณะภายนอก สอบถามหมอพื้นบ้านที่เชี่ยวชาญ และเทียบกับตัวอย่างสมุนไพรมาตรฐานของคณะกรรมการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ นำสมุนไพรมาล้างให้สะอาด อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง บดหยาบ นำผงสมุนไพรจำนวน 250 กรัม แขนใน 95% เอทานอล เป็นเวลา 7 วัน กรองและระเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำสารสกัดสมุนไพรที่ได้ใส่ขวดสีชา เก็บใน dessicator เพื่อป้องกันความชื้น (สุภาพร, 2550)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ตามวิธีของ Nagai et al. (2005) อ้างถึงใน กล่าวขวัญและคณะ (2010) ปีเปตสารสกัดสมุนไพรที่ละลายใน 95%

เอธานอลช่วงความเข้มข้น 0.0625-1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 0.4 มิลลิลิตร และสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรโดยใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน คำนวณร้อยละการต้านอนุมูล DPPH ดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition DPPH} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดสอบ

คำนวณหาค่า IC₅₀ (ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่ต้านอนุมูล DPPH ได้ร้อยละ 50) จากสมการเชิงเส้นของกราฟระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH กับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร ทำซ้ำ 3 ครั้ง

การทดสอบฤทธิ์การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก

การทดสอบฤทธิ์การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กประยุกต์จากวิธีของ Giokas et al. (2002) ปีเปตสารสกัดสมุนไพรที่ละลายใน 50% เอธานอลช่วงความเข้มข้น 0.625-10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 0.75 มิลลิลิตร และ FeSO₄ เข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ จำนวน 0.75 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เติม ferrozine เข้มข้น 0.9 มิลลิโมลาร์ จำนวน 0.75 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย 50% เอธานอลให้เป็น 5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร โดยใช้ EDTA เป็นสารมาตรฐาน คำนวณร้อยละการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กดังสมการ

$$\% \text{ Chelating activity} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดสอบ

คำนวณหาค่า IC₅₀ (ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ร้อยละ 50) จากสมการเชิงเส้นของกราฟระหว่างความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก กับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร ทำซ้ำ 3 ครั้ง

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด โดยใช้ Folin-Ciocalteu Reagent ตามวิธีของ Chang et al. (2005) อ้างถึงใน ธนศักดิ์และคณะ (2551) ปีเปตสารสกัดสมุนไพรที่ละลายใน 95% เอธานอลความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ยกเว้นสารสกัดจากเปลือกสมุลแว้งและแก่นขนุนใช้ที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จำนวน 0.13 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu Reagent จำนวน 0.13 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม 7% Na₂CO₃ จำนวน 1.25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้เป็น 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid (gallic acid equivalence: GAE) ทำซ้ำ 3 ครั้ง

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ตามวิธีของ Sultana et al. (2009) ปีเปตสารสกัดสมุนไพรที่ละลายใน 95% เอธานอลความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ยกเว้นสารสกัดจากเปลือกสมุลแว้งและแก่นขนุนใช้ที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร เติม 5% NaNO₂ จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติม 10% AlCl₃ จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม NaOH เข้มข้น 1.0 โมลาร์จำนวน 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 8 มิลลิลิตร วัดค่าการ

ดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร
คำนวณหาปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
เทียบกับกราฟมาตรฐานของ catechin (catechin
equivalence: CE) ทำซ้ำ 3 ครั้ง

การประเมินผลทางสถิติ

ใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation
coefficient) ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร
โดยมีเกณฑ์ยอมรับความสัมพันธ์ที่ค่า correlation
coefficient > 0.5 หากค่า correlation coefficient
< 0.5 แสดงว่าตัวแปรคู่นั้นมีความสัมพันธ์กันน้อย
หรือไม่มีความสัมพันธ์กัน

ผลการวิจัยและวิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าความสามารถใน
การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 9
ชนิดมีค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 0.06–4.07 มิลลิกรัม/
มิลลิลิตร ความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน
กับเหล็กมีค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 0.391–84.508 มิลลิกรัม/
มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบ

ฟีนอลรวมเทียบเท่า gallic acid ในช่วง 18.78±1.98 –
457±49.06 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัด มีปริมาณ
สารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเทียบเท่า catechin
ในช่วง 13.31±0.33 – 270.05±15.84 มิลลิกรัม/กรัม
ของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 2

สารสกัดจากเปลือกสมุลแว้งสามารถต้าน
อนุมูล DPPH ได้ดีที่สุดในค่า IC₅₀ 0.057 มิลลิกรัม/
มิลลิลิตร และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม
สูงสุดเทียบเท่า catechin 270.05±15.843 มิลลิกรัม/
กรัมของสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาทางวิทยา
เปรียบเทียบของพืชสกุลอบเชยบางชนิดในประเทศไทย
ของภัทรินทร์ (2549) ซึ่งพบว่าเปลือกสมุลแว้งสะสม
สารแทนนิน และมีเซลล์สะสมน้ำมันหอมระเหยแทรก
อยู่ทั่วไป นอกจากนี้ยังพบรายงานปริมาณ
สารประกอบฟลาโวนอยด์ในเปลือกสมุลแว้งที่ศึกษา
โดย Adisakwattana et al. (2011) พบปริมาณ
สารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเทียบเท่า quercetin
65.52±0.20 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัด

ตารางที่ 1 ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH และการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสารสกัดสมุนไพร

สมุนไพร	IC ₅₀ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	
	ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH	ความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก
เปลือกสมุลแว้ง	0.06	32.15
แก่นขนุน	0.27	3.42
แก่นมะขาง	1.17	57.50
รากเจตมูลเพลิงแดง	1.18	18.60
แก่นจันทน์ขาว	1.41	21.10
ต้นฝักเปิดแดง	1.54	5.73
ผลมะตูม	2.08	20.45
แก่นลิ้นทม	2.97	84.51
ผลคัตเค้า	4.07	0.39
Ascorbic acid	0.04	-
EDTA	-	0.04

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอล และสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสมุนไพร

สมุนไพร	% yield ของสารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม		ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม	
		ในสารสกัด (มิลลิกรัม gallic acid ต่อกรัมของสารสกัด)	ร้อยละ ในสมุนไพรแห้ง	ในสารสกัด (มิลลิกรัม catechin ต่อกรัมของสารสกัด)	ร้อยละ ในสมุนไพรแห้ง
แก่นขนุน	10.81	457.00±49.06	4.94±0.53	63.21±9.10	0.68±0.10
เปลือกสมุลแว้ง	13.89	331.58±48.87	4.61±0.68	270.05±15.84	3.75±0.22
แก่นจันทน์ขาว	2.64	39.99±1.47	0.11±0.00	21.33±1.04	0.06±0.00
รากเจตมูลเพลิงแดง	8.54	37.89±3.02	0.32±0.03	60.95±0.93	0.52±0.01
ผลมะตูม	6.53	36.89±1.84	0.24±0.01	95.22±5.48	0.62±0.04
ต้นผักเป็ดแดง	3.29	30.49±2.03	0.10±0.01	53.71±3.01	0.18±0.01
แก่นมะขาง	2.99	27.26±1.41	0.08±0.00	25.62±0.25	0.08±0.00
ผลคัตเค้า	5.24	19.06±2.53	0.10±0.01	23.11±2.37	0.12±0.01
แก่นลั่นทม	9.84	18.78±1.98	0.18±0.02	13.31±0.33	0.13±0.00

สารสกัดจากผลคัตเค้าเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ดีที่สุดโดยมีค่า IC₅₀ 0.39 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สอดคล้องกับรายงานของ Chaweewan et al. (1999) ที่พบสารสำคัญในผลคัตเค้า คือ ursolic acid และรายงานของ Khwanchuea (2006) ที่พบสาร pseudoginsenoside -RP₁, -RT₂, -RT₃, -RT₄ และ -RT₅ ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของ ursolic acid และพบสาร 5-O-[Z] caffeoylquinic acid เป็นกรดธรรมชาติในพืช จากรายงานของ Paleologos et al. (2002) พบว่าสารที่เป็นกรดธรรมชาติจากพืชสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ นอกจากนี้รายงานของ Khwanchuea (2006) ยังพบสาร kaempferol ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอล ทำให้สารสกัดจากผลคัตเค้ามีความสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ดี เนื่องจากมีสารในกลุ่ม ursolic acid ที่สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ แม้ว่าจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมต่ำ ดังแสดงในตารางที่ 1 และสอดคล้องกับรายงานของ Palasuwan et al. (2005) ที่ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งฮีโมโกลบินที่เสียหาย

และรวมตัวกันเป็นก้อนในเม็ดเลือดแดง (Heinz Body) และปริมาณรวมของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลคัตเค้า เนื่องจากฮีโมโกลบินที่เสียหายเกิดจากภาวะ oxidative stress และภาวะดังกล่าวมีเหล็กเป็นตัวเหนี่ยวนำ เมื่อสารสกัดคัตเค้าเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กจึงทำให้ภาวะ oxidative stress ลดลงและยับยั้งการเสียหายของฮีโมโกลบิน

สารสกัดแก่นขนุนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงสุดเทียบเท่า gallic acid 457.00±49.058 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัด นอกจากนี้ยังพบรายงานการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลในเนื้อผล (เทียบเท่า gallic acid 0.46±0.014 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัด) (Jagtap et al., 2010) เมล็ด (เทียบเท่า gallic acid 27.7±3.4 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัด) (Soong et al., 2004) และใบ (เทียบเท่า catechin 294.5±0.6 มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัด) (Lizzo et al., 2010) และรายงานการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH และความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กในใบขนุน (0.2-0.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) (Omar

et al.,2011) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ศึกษาโดย Prakash et al. (2009) ที่พบว่าสารสำคัญส่วนใหญ่ในแก่นขนุนเป็นสารกลุ่มฟีนอล เช่น ฟลาโวนแทนนิน เป็นต้น

เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสารสกัดสมุนไพรรวมแล้ว โดยภาพรวมพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลกับปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ มีความสัมพันธ์กัน (correlation coefficient = 0.56) และปริมาณสารประกอบฟีนอล ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรมีความสัมพันธ์กัน (correlation coefficient = 0.67 และ 0.56 ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Miliauskas (2004) และ Maisuthiasakul (2007) ที่พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอล ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารกลุ่มฟีนอลมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีคุณสมบัติในการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอล ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ กับความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสารสกัดสมุนไพรมีความสัมพันธ์กัน (correlation coefficient = 0.09 และ 0.25 ตามลำดับ) ทั้งนี้อาจจะเกิดจากสารประกอบฟีนอลที่มีโครงสร้างจำเพาะบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้เช่น สารฟลาโวนอยด์ที่มี 3',4' dihydroxy (catechol) group บน ring B จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ดี แต่ในทางตรงกันข้ามถ้ามี 3',4',5'-trihydroxy (galloyl) group

บน ring B เช่น epigallocatechin หรือ ring C เช่น epicatechin gallate ความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กจะต่ำ (Khokhar, 2003) นอกจากนี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสารสกัดสมุนไพรมีความสัมพันธ์กัน (correlation coefficient = 0.093) ทั้งนี้อาจเนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลของสารแต่ละชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาสมุนไพรร่วมกันพบว่า สารสกัดเปลือกสมุนไ้วมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูง สารประกอบฟลาโวนอยด์สูง และมีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH ได้ดี แต่มีความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กน้อย แสดงว่าเปลือกสมุนไ้วน่าจะมีส่วนประกอบฟีนอลเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่อาจจะมีความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กต่ำ และสารสกัดจากผลคัดเค้าเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ดี แต่ปริมาณของสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH น้อย เนื่องจากอาจจะมีส่วนประกอบสำคัญกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบในกลุ่มสารฟีนอลหรือฟลาโวนอยด์ที่สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดแก่นขนุนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูง สารประกอบฟลาโวนอยด์ปานกลาง ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH และความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กดี (ตารางที่ 1-2) แสดงว่า ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กน่าจะมาจากฤทธิ์ของสารกลุ่มฟีนอลที่มีปริมาณสูง

จากการทบทวนวรรณกรรม ไม่พบรายงานการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอล สารฟลาโวนอยด์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และ

ความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของส่วนของสมุนไพรมะเขือเทศที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ ดังนั้นรายงานนี้จึงเป็นรายงานแรกที่รายงานปริมาณและฤทธิ์ของสารสกัดดังกล่าวข้างต้น

หากพิจารณาถึงความสอดคล้องในด้านการใช้สมุนไพรมะเขือเทศของหมอพื้นบ้าน และตำราการแพทย์แผนไทย (นาก, 2471; ประกอบ, 2555; ประวิทย์, 2555) กับผลการวิจัย พบว่ามีความสอดคล้องกันคือ หมอพื้นบ้านมีการใช้ผลคัดเคี้ยวและแก่นขนุนในการรักษาโรคเลือด เช่น ฟอกเลือด โรคเลือดที่เป็นมาตั้งแต่กำเนิดซึ่งมีอาการคล้ายโรคธาลัสซีเมีย (ประวิทย์, 2555) นอกจากนี้ตำราเภสัชกรรมไทยได้กล่าวถึงสรรพคุณของผลคัดเคี้ยวและแก่นขนุนในการบำรุงโลหิต (วุฒิ, 2537)

นอกจากนี้ความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสมุนไพรมะเขือเทศยังช่วยลดภาวะ oxidative stress เนื่องจากเหล็กอิสระที่มีอยู่ทั่วร่างกายสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระคืออนุมูลไฮดรอกซิล (OH^\cdot) จากซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^\cdot) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ในปฏิกิริยา Fenton ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะ oxidative stress ตามมา (ปณัฏฐา, 2546)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสมุนไพรมะเขือเทศทั้ง 9 ชนิดสรุปได้ว่าเปลือกสมุนไพรมะเขือเทศมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดและมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด คัดเคี้ยวมีความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก ดีที่สุด และแก่นขนุนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลกับปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรมะเขือเทศมีความสัมพันธ์กัน ปริมาณสารประกอบฟีนอล ปริมาณ

ประกอบสารฟลาโวนอยด์กับความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสารสกัดสมุนไพรมะเขือเทศมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กของสารสกัดสมุนไพรมะเขือเทศมีความสัมพันธ์กัน ซึ่งผลการวิจัยที่ได้สอดคล้องกับการใช้สมุนไพรมะเขือเทศของหมอพื้นบ้านและแพทย์แผนไทย ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลสนับสนุนสรรพคุณของสมุนไพรมะเขือเทศที่ใช้ในการรักษาโรคเลือดที่เป็นมาแต่กำเนิดตามทฤษฎีแพทย์แผนไทยซึ่งมีอาการคล้ายโรคธาลัสซีเมีย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และกองทุนวิจัยคณะกรรมการแพทย์แผนไทย

เอกสารอ้างอิง

- กล่าวขวัญ ศรีสุข ปรีดาพรรณ สาลี เขียวลักษณ์ เจริญสุข และ เอกรัฐ ศรีสุข. (2553). ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของส่วนสกัดจากเหง้าของว่านสาวหลง. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย 2 (ฉบับพิเศษ): 143-150.
- นาก วิชัยดิฐ. (2471). ตำรายาประจำบ้าน. พิมพ์ครั้งที่ 1. พระนคร: โรงพิมพ์บุญช่วยเจริญ.
- ถนอมศรี ศรีชัยกุล และ แสงสุรีย์ จุฑา. (2537). ตำราโลหิตวิทยา: การวินิจฉัยและการรักษาโรคเลือดที่พบบ่อยในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ที.พี.พรินท์.
- ฐิติกานต์ ปัญญาใหญ่. (2551). กิจกรรมต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kutzing. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 134.
- ชนศักดิ์ แซ่เลี้ยว, ศศิธร จันทนวางกูร และวรรณิ จิรภาคย์กุล. (2551). ผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้าน

- ออกซิเดชันของกรรชขายเหลือง (*Boesenbergia pandurata*). เรื่องได้การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ. 538-545
- ปณัฎฐา ไชยมณี. (2547). การทดสอบฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชสวน. มหาวิทยาลัยสุโขทัยศรีนครินทร์. 67.
- ประกอบ อุบลขาว. 21 มิถุนายน 2555. สัมภาษณ์.
- ประวิทย์ แก้วทอง. 21 มิถุนายน 2555. สัมภาษณ์.
- ประเวศ วะสี. ความชุกชุมของธาลัสซีเมียในประเทศไทย: ธาลัสซีเมีย (Thalassemia). แหล่งข้อมูล: http://webdb.dmsc.moph.go.th/afc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=403 ค้นเมื่อวันที่ 10 พฤศจิกายน 2554.
- ภัทรินทร์ นันทมนตรี. (2549). กายวิภาคเปรียบเทียบของพืชสกุลอบเชยบางชนิดในประเทศไทย Comparative Anatomy of Some *Cinnamomum* Species in Thailand. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 113 หน้า
- วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2537). เกสัชกรรมไทยรวมสมุนไพร. กรุงเทพฯ: โอ เอส พรีนติ้ง เฮาส์.
- วิพร วิประกษิต. (2552). Clinical Practice Guideline for Deferiprone in Patients with Iron Overload. กรุงเทพฯ: องค์การเภสัชกรรม. 13-15.
- สุภาพร พงษ์มณี และ กัญญาณภัก สนามพล. (2550). การสกัดสารจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 38(6): 54-57.
- อัญญา เจนวิถีสุข. (2544). การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 153.
- Adisakwattana, S., Lerdsuwankij, O., Poputtachai, U., Minipun, A. and Suparpprom, C. (2011). Inhibitory activity of cinnamon bark species and their combination effect with acarbose against Intestinal α -glucosidase and Pancreatic α -amylase. *Plant Foods for Human Nutrition* 66: 143-148.
- Alam, Md.N. et al., (2012). Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal* 21: 143-152.
- Baruah, A. and Nath, S. C. (2009). Foliar epidermal characters of some chemical races of aromatic plants with emphasis to their taxonomy. *Journal of Economic and Taxonomic Botany* 33(3): 557-573.
- Chaweewan, J. et al., (1999). Biological activity of crude extract and saponin pseudo ginsenoside-RT1 derived from the fruit of *Randia siamensis*. *Pharmaceutical Biology* 37(1): 45-45
- Giokas, D. L., Paleologos, E. K. and Karayannis, M. L. (2002). Speciation of Fe(II) and Fe(III) by the modified ferrozine method, FIA-spectrophotometry, and flame AAS after cloud-point extraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 373: 237-243.
- Jagtap, U. B., Panaskar, S. N. and Bapat, V. A. (2010). Evaluation of antioxidant capacity and phenol content in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) fruit pulp. *Plant Foods for Human Nutrition* 65: 99-104.
- Khokhar, S. and Apenten, R. K.O. (2003). Iron binding characteristics of phenolic compounds: some tentative structure-activity relations. *Food Chemistry* 81(1): 133-140.
- Khwancheua, R. (2006). Cardiovascular effects of crude extract and substance (s) isolated from fresh fruits of *Randia siamensis*. Thesis (Ph.D., Biomedical Sciences), Prince of Songkla University. Songkhla 138.
- Loizzo, M. R., Tundis, R., Chandrika, U. G., Abeysekera, A. M., Menichini F. and Frega, N. G. (2010). Antioxidant and antibacterial activities on foodborne pathogens of *Artocarpus*

- heterophyllus* Lam. (Moraceae) leaves extracts. *Journal of Food Science* 75(5): 291-295.
- Maisuthisakula, P., Suttajitb, M. and Pongsawatmanita, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry* 100(4): 1409-1418.
- Miliauskasa, G., Venskutonisa, P. R. and Beekb, T. A. V. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 85(2): 231-237.
- Mourad, F.H., Hoffbrand, A. V., Sheikh-Taha, M., Koussa, S., Khoriaty, A. I. and Taher, A. (2003), Comparison between desferrioxamine and combined therapy with desferrioxamine and deferiprone in iron overloaded thalassaemia patients. *British Journal of Haematology* 121: 187-189
- Omar, H. S., El-Beshbishy, H. A., Moussa, Z., Taha K. F., and Singab, A. N. B. (2011). Antioxidant activity of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jack Fruit) leaf extracts: remarkable attenuations of hyperglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin-diabetic rats. *The Scientific World Journal* 11: 788-800
- Palasuwan, A., Soogarun, S., Lertlum, T., Pradnivat, P. and Wiwanitkit, V. (2005). Inhibition of heinz body Induction in an *in vitro* model and total antioxidant activity of medicinal Thai plants. *Asian Pacific Journal Cancer Prevention* 6: 458-463.
- Paleologos, E.K., Giokas D.L., Tzouwara-Karayanni S.M., and Karayannis M.I. (2002). Micelle mediated methodology for the determination of free and bound iron in wines by flame atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 485(1): 241-248
- Prakash, O., Kumar, R., Mishra, A., and Gupta, A. (2009). *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit): an overview. *Pharmacognosy Review*. 3(6): 353-358. แหล่งข้อมูล: <http://www.phcogrev.com/article.asp?issn=09737847;year=2009;volume=3;issue=6;spage=353;epage=358;aulast=Prakash> ค้นเมื่อวันที่ 24 กุมภาพันธ์ 2556.
- Soong, Y. and Barlow, P. J. (2004). Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry* 88: 411-417.
- Sultana, B., Anwar, F. and Ashraf, M. (2009). effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules* 14: 2167-2180.

