ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบผักเม็ก

Antioxidant and Antimutagenic Activities of *Syzygium antisepticum* (Blume) Merr.& L.M. Perry Leaf Extracts

เมธิน ผดุงกิจ[1*], สุรพงษ์สุข ศิริพัฒนพงศ์[2], กรีพล แม่นวิวัฒนกุล[3]

Methin Phadungkit[1*], Surapong Suksiripattanapong[2], Kreepol Manwiwattanakun[3]

Received: 25 November 2016 ; Accepted: 7 March 2017

บทคัดย่อ

ผักเม็กมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Syzygium antisepticum* (Blume) Merr.& L.M. Perryวงศ์ Myrtaceae เป็นพืชที่ใช้ประโยชน์ด้านอาหารคือเป็นผักพื้นบ้าน ในการแพทย์แผนไทยใช้ใบเป็นยาขับลม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบผักเม็กในการศึกษาครั้งนี้สกัดใบผักเม็กด้วยวิธีหมักกับตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่การหมักด้วยเอทานอล ระเหยตัวทำละลายให้แห้งด้วย Rotary evaporator จนได้สารสกัดหยาบ นำสารสกัดหยาบไปละลายด้วยน้ำบริสุทธิ์ แล้วสกัดต่อโดยใช้กรวยแยกด้วยเฮกเซน นำส่วนของน้ำที่เหลือไปสกัดต่อด้วยเอทิลอะซิเตทนำตัวทะลายอินทรีย์ไประเหยให้แห้งด้วย Rotary evaporator ได้ส่วนสกัดเฮกเซน และส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทตามลำดับ ส่วนสารสกัดน้ำเตรียมโดยการต้มใบผักเม็กกับน้ำบริสุทธิ์แล้วนำไปทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay และทดสอบการก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames testในเชื้อ *Salmonella typhimurium*สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ผลการศึกษาพบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท สารสกัดหยาบและสารสกัดน้ำ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แรงโดยให้ค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 17.28 ± 0.12-15.96 ± 0.16µg/mLสารสกัดทุกชนิดที่ความเข้มข้น 200 mg/plate มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ที่แรงในเชื้อทั้งสายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสารสกัดจากใบผักเม็กมีศักยภาพสูงที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระและการก่อกลายพันธุ์

คำสำคัญ :ผักเม็ก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์

Abstract

Syzygium antisepticum (Blume) Merr.& L.M. Perry (Myrtaceae) is used in Thai traditional cousin as a local vegetable. Leaves of the plant are used as an antiflatulence in Thai traditional medicine. The objectives of this study were to test the antioxidant activity and the antimutagenic activity. The leaf extracts in various solvents were prepared by the maceration method in ethanol. The solvent was evaporated to dryness by a rotary evaporator to obtain the crude extract. The crude extract was partitioned between purified water and hexane. The water portion was then partitioned with ethyl acetate. The organic solvents were evaporated to dryness by a rotary evaporator to obtain the hexane and the ethyl acetate fractions. The water extract was prepared by boiling with purified water and dried by using lyophilization. The antioxidant activity was tested by the DPPH assay. The antimutagenic activity was determined by the Ames test in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100 strains. The results showed that the ethyl acetate fraction, the crude

[1] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์,* [3]*อาจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ. มหาสารคาม 44150*

[2] *ผู้จัดการร้านสุรพงษ์เภสัชกร อำเภอเอราวัณ จังหวัดเลย 42220*

[1] *Assist. Prof.,* [3]*Lecturers, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantharawichai District, MahaSarakham 44150, Thailand.*

[2] *Manager, Surapong Pharmacy, Erawan District, Loei, 42220, Thailand.*

[*] *Corresponding author: Methin Phadungkit, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantarawichai, Mahasarakham, 44150 Tel. 043-754360 E-mail: Methin.p@msu.ac.th*

extract and the water extract exhibited strong DPPH scavenging activities with IC_{50} value ranged from 17.28 ± 0.12 - 15.96 ± 0.16 µg/mL. All of herbal extracts at the concentration of 200 µg/plate exhibited strong antimutagenic activity both in TA 98 and TA 100 strains. The present study suggested that *S. antisepticum* extracts have high potential to develop as functional foods for prevention of diseases caused by free radicals or mutation.

Keywords :*Syzygium antisepticum* (Blume) Merr.& L.M. Perry, Antioxidant, Antimutagenic

บทนำ

ปัจจุบันคนส่วนใหญ่หันมาใส่ใจในการดูแลสุขภาพตนเองมากขึ้น โดยเฉพาะในเรื่องอาหารที่รับประทาน ซึ่งมีการแนะนำให้รับประทานพืชผักสมุนไพรและผลไม้ให้มากขึ้นแทนการบริโภคเนื้อสัตว์ วิทยาการใหม่ๆ ค้นพบว่าโรคเกิดขึ้นเนื่องจากกระบวนการเสื่อมสลายของเซลล์และอวัยวะต่างๆ อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาของ อนุมูลอิสระ[1] ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา ความสนใจเรื่องผลของอนุมูลอิสระต่อการเกิดพยาธิสภาพชนิดต่างๆ ได้รับความสนใจอย่างมากเนื่องจากอนุมูลอิสระ เป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเลคตรอนเดี่ยวที่โคจรอยู่วงนอกสุดทำให้อะตอมหรือโมเลกุลนั้นไม่เสถียร มีความไวที่จะทำปฏิกิริยาหรือดึงอิเลคตรอนจากสารอื่น ทำให้เกิดเป็นปฏิกิริยาเป็นลูกโซ่ต่อไปเรื่อยๆ หากเกิดภาวะที่ร่างกายมีปริมาณอนุมูลอิสระมากจนร่างกายไม่สามารถที่จะควบคุมหรือป้องกันได้ จะเกิดภาวะเครียดออกซิเจน (oxidative stress) ซึ่งจะส่งผลให้เกิดความเสียหายต่างๆ ของเซลล์ตามมา เช่น การเปลี่ยนแปลงสภาพของโครงสร้างโปรตีน ไขมัน ทำลายโครงสร้าง DNA ส่งผลทำให้เกิดโรคต่างๆ ตามมาเช่น โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคไต และโรคอัลไซเมอร์เป็นต้น[2] การยับยั้งอนุมูลอิสระโดยสารต้านอนุมูลอิสระจะมีส่วนช่วยป้องกันโรคต่างๆ ดังกล่าวได้

การกลายพันธุ์ (Mutation) คือการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเซลล์ ซึ่งการกลายพันธุ์จะก่อให้เกิดความผิดปกติของกระบวนการเมตาโบลิซึมของสิ่งมีชีวิต ส่งผลทำให้เกิดโรคต่างๆ ตามมา เช่น โรคมะเร็งเป็นต้น[3] การกลายพันธุ์สามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติหรือเกิดจากสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ที่เรียกว่า สารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) นอกจากนี้ยังพบว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ด้วย[4] จากการศึกษาพบว่าสารก่อกลายพันธุ์มีโอกาสทำให้เกิดโรคมะเร็งมากขึ้น[5]และปัจจุบันพบว่ามีสารพฤกษเคมีหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการก่อกลายพันธุ์[6]

ผักเม็กจัดว่าเป็นผักพื้นบ้านชนิดหนึ่ง เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Myrtaceae ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Syzygium antisepticum* (Blume) Merr.& L.M. Perry ผักเม็กเป็นผักที่มีรสเปรี้ยวฝาดใบอ่อนและยอดอ่อนรับประทานเป็นผักสด ประโยชน์ทางยาใช้ใบสด แก้ท้องขึ้น ท้องอืด ท้องเฟ้อแก้ปวดท้องในเด็กได้[7]การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดใบผักเม็กมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารชนิด Kato-III และ NUGC-4 ที่ดี[8] อย่างไรก็ตามงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการก่อกลายพันธุ์ของพืชชนิดยังมีค่อนข้างจำกัด หากงานวิจัยนี้พบว่าผักเม็กมีฤทธิ์ต้านการอนุมูลอิสระที่ดีและมีฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ที่ดี ผักพื้นบ้านชนิดนี้จะนับได้ว่าเป็นพืชมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพจากธรรมชาติที่ใช้ป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระหรือการกลายพันธุ์ได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบผักเม็กที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดต่างกัน
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ ของสารสกัดใบผักเม็กที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดต่างกันในระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่างกัน

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. กลุ่มตัวอย่าง

เก็บใบผักเม็กจากต้นที่ปลูกขึ้นในจังหวัดมหาสารคามตรวจเอกลักษณ์ตัวอย่างพืชโดยผู้วิจัย และตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงถูกเก็บรักษาไว้ที่หน่วยวิจัยเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (No.MSU.PH-Myr-Z01)นำใบมาล้างให้สะอาด อบแห้งด้วย hot air oven ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปบดจนเป็นผง

2. การสกัดสาร

การสกัดใบผักเม็กโดยการหมัก (maceration) ด้วย 95% เอทานอล (95% ethanol) เป็นเวลา 7 วัน ในสภาวะทึบแสงที่อุณหภูมิห้องเมื่อครบกำหนดนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วทำให้สารสกัดเข้มข้นโดยใช้ เครื่องระเหยตัวทำละลายให้แห้งด้วย (rotary evaporator) จนได้สารสกัดหยาบ (crude extract) นำสารสกัดหยาบไปละลายน้ำบริสุทธิ์

นำไปสกัดต่อด้วยใช้กรวยแยก (partitioning) ด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทตามลำดับ ระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ให้แห้งด้วย rotary evaporator จะได้ส่วนสกัดเฮกเซน (hexane fraction) และส่วนสกัดเอทิลอะซีเตท (ethyl acetate fraction) ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วยน้ำโดยการนำผงใบผักเม็กไปต้มกับน้ำบริสุทธิ์จนเดือดด้วยอุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง นำไปทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งด้วยเครื่อง Lyophilizer ได้เป็นสารสกัดน้ำ (water extract)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย DPPH assay[9]

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomize design) มี 4 ทรีตเมนท์ (Treatment) ได้แก่ ชนิดของสารสกัด มี 4 ชนิด คือ Hexane fraction, ethyl acetate fraction, water extract และ crude extract ในแต่ละทรีตเมนท์ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ สารมาตรฐานที่ใช้คือ Ascorbic acid วิธีการทดสอบทำตามขั้นตอนดังนี้

3.1 เตรียมสารสกัดโดยเริ่มที่ความเข้มข้น 500 µg/mL ด้วยเมทานอลจากนั้นเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดลงทีละครึ่งด้วยเมทานอลในหลอดทดลอง จำนวน 19 ความเข้มข้น

3.2 เตรียม DPPH ความเข้มข้น 60µg/mLด้วยเมทานอล

3.3 นำสารสกัดในข้อ 3.1 จำนวน 1000 µL และ DPPH จำนวน 1000 µL มาผสมให้เข้ากัน

3.4 เก็บสารทดสอบทั้งหมดไว้ที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่า การดูดกลืนแสงทุกชุดทดสอบ รวมทั้งชุดควบคุม(มีเฉพาะ DPPH)ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm คำนวณค่า percentage of radical scavenging ตามสูตร % radical scavenging

$$= (A_{control} - A_{sample})/A_{control} \times 100$$

เมื่อ $A_{control}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของสารชุดควบคุม

A_{sample} คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด/สารมาตรฐาน

3.5 พล็อตกราฟ ระหว่าง percentage of radical scavenging กับ ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร แล้วคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำลาย DPPH ได้ครึ่งหนึ่งหรือค่า 50% inhibition concentration (IC_{50})

4. การทดสอบฤทธิ์การต้านการก่อกลายพันธุ์โดย Ames test[10]

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ ได้ทดสอบสารสกัดทั้ง 4 ชนิดคือ Hexane fraction, ethyl acetate fraction, water extract และ crude extract แต่ละชนิดของสารสกัดใช้ความเข้มข้น 25, 50, 100 และ 200 µg/plate ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ (% modification) วิธีการทดสอบทำตามขั้นตอนดังนี้

4.1 การเตรียมเชื้อสำหรับทดสอบ

นำเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 และ TA 98 มาเลี้ยงในอาหาร oxiod nutrient broth (12 mL) นำมา incubate ที่อุณหภูมิ 37 °Cนาน 16 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด เจือจางเชื้อลง 8 เท่า ด้วย 0.9% NaCl เพื่อวัดค่า OD อ่านค่าที่ความยาวคลื่น 620 nm จนได้ประมาณ 0.3-0.4

4.2 การเตรียม nitrosated products

4.2.1 เตรียม nitrosated products โดยเตรียมหลอดทดลอง 2 หลอดสำหรับ TA 100 และ TA 98 โดยการเติม 0.2 N HCl 740µL, 1-aminopyrine 10µL และ 2M $NaNO_3$ 250 µL ตามลำดับ สำหรับ TA 98 และ 0.2 N HCl 710µL, 1-AP 40µL และ 2M $NaNO_3$ 250µL ตามลำดับสำหรับ TA 100

4.2.2 นำสารที่เตรียมได้ทั้ง 2 หลอดไป Incubate บน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด หยุดปฏิกิริยาด้วยการแช่ในน้ำแข็งนาน 1 นาที

4.2.3 เติม 2 M $NH_4SO_3NH_2$ จำนวน 250µLลงในทั้งสองหลอด และแช่ในน้ำแข็งนาน 10 นาที

4.3 ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์

4.3.1 นำหลอดทดลองหลอดใหม่เติม nitrosated products 100µL และ Na_3PO_4KCl buffer 500 µLและเติมสารสกัดผักเม็กจำนวน 25, 50, 100 และ 200µg/plate (เตรียมโดยละลายสารสกัดผักเม็กด้วยตัวทำละลายเดิม) และเชื้อ *S.typhimurium* TA 100 หรือ TA 98 100 µL Incubate บน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 20 นาที

4.3.2 เมื่อครบกำหนด เติม Topagar ที่เติม histidine ผสม biotin แล้ว 2 mL

4.3.3 นำมาเทบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนับจำนวนเชื้อที่มีการเจริญโดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือให้เชื้อเกิดเองตามธรรมชาติ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการก่อกลายพันธุ์จากสูตร

$$\% \text{ modification} = (A-B) / (A-C) \times 100$$

เมื่อ A คือ revertants colonies ของ positive control คือ จำนวนโคโลนีของเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเติมสารก่อกลายพันธุ์ B คือ revertants colonies คือ จำนวนโคโลนีของเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเติมสารสกัดผักเม็กและสารก่อกลายพันธุ์ C คือ revertants colonies ของ negative control คือ จำนวนโคโลนีของเชื้อที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ

4.3.4 ประเมินความสามารถยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ ตาม % modification ดังนี้: ค่าร้อยละการยับยั้งมากกว่า 60 % คือ สารสกัดยับยั้งได้ในระดับมาก (strong) ค่าร้อยละการยับยั้ง 40-60 %คือ สารสกัดยับยั้งได้ในระดับปานกลาง (moderate) ค่าร้อยละการยับยั้ง 20-40 % คือ สารสกัดยับยั้งได้ในระดับน้อย (weak) และ ค่าร้อยละการยับยั้งน้อยกว่า 20 %คือ สารสกัดไม่มีความสามารถในการยับยั้ง

7. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของค่าเฉลี่ย IC_{50} ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษาวิจัย

1. ผลการสกัดใบผักเม็ก

จากการสกัดใบผักเม็กพบว่าร้อยละของสารสกัดของสารสกัดทั้ง 4 ชนิดได้แก่ ส่วนสกัดเฮกเซน (hexane fraction) ส่วนสกัดเอทิลอะซีเตท (ethyl acetate fraction) สารสกัดน้ำ (water extract) และ สารสกัดหยาบ (crude extract) มีค่าเท่ากับ 0.32, 0.61, 4.19 และ 1.38 ตามลำดับ โดยคำนวณจากสูตรร้อยละของสารสกัด = (น้ำหนักของสารสกัด/น้ำหนักผงแห้งของใบผักเม็ก) x 100

2. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเม็ก จำนวน 4 ชนิดและสารมาตรฐาน ascorbic acid รายงานเป็นค่า 50% inhibition concentration (IC_{50}) จากผลการทดสอบพบว่า ascorbic acid มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมา คือ ส่วนสกัดเอทิลอะซีเตท สารสกัดหยาบ สารสกัดน้ำ และ ส่วนสกัดเฮกเซนตามลำดับจากการทดสอบทางสถิติพบว่า ascorbic acid กำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดที่กำจัดอนุมูลอิสระได้เท่ากัน คือ ส่วนสกัดเอทิลอะซีเตท สารสกัดหยาบ และสารสกัดน้ำ ในขณะที่ส่วนสกัดเฮกเซน กำจัดอนุมูลอิสระได้น้อยที่สุด ($p<0.05$) ดังแสดงในTable 1

Table 1 DPPH scavenging activity of the herbal extracts

Samples	50% DPPH scavenging activity (IC_{50} µg/mL)
Hexane fraction	365.42 ± 1.29*[c]
Ethyl acetate fraction	15.96 ± 0.16*[b]
Water extract	17.28 ± 0.12*[b]
Crude extract	16.64 ± 0.03*[b]
Ascorbic acid	5.34 ± 0.00*[a]

* Means with different letters in the same column indicate significant difference ($p < 0.05$)

3. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านการก่อกลายพันธุ์

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ที่ปริมาณสารสกัด 25-200 µg/plate พบว่าที่ปริมาณสารสกัด 200 µg/plate ให้ผลการยับยั้งการยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ในระดับมาก (strong) ทั้งในสายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในสารสกัดทุกชนิดที่ใช้ทดสอบ เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ที่ปริมาณสารสกัด 100 200µg/plateพบว่า ส่วนสกัดเฮ็กเซน มีค่าร้อยละการยับยั้งมากที่สุดในสายพันธุ์ใน TA 98 และ TA 100 และพบว่าสารสกัดทั้ง 4 ชนิดสามารถยับยั้งสายพันธุ์ TA 100 ได้ในระดับมากในเกือบทุกปริมาณสารสกัด ยกเว้น สารสกัดหยาบ ที่ปริมาณสารสกัด 25 µg/plate

สามารถยับยั้งได้ในระดับปานกลาง (moderate) รายละเอียดดังแสดงใน Table 2

Table 2 Antimutagenic activity of the herbal extracts

Samples	Concentration (µg/plate)	% modification	
		TA 98 *	TA 100 *
Hexane fraction	25	59.78±11.90	69.22±0.92
	50	82.01±3.63	80.33±1.83
	100	88.42±3.90	83.41±2.13
	200	91.74±1.92	86.55±2.90
Ethyl acetate fraction	25	32.16±4.18	69.77±2.62
	50	50.39±13.38	76.76±1.52
	100	67.50±14.82	78.11±1.97
	200	88.17±0.83	89.68±3.09
Crude extract	25	19.06±4.67	55.90±1.09
	50	24.88±11.25	62.48±4.31
	100	50.68±2.74	78.88±1.76
	200	68.82±3.50	91.55±3.0
Water extract	25	66.62±8.68	60.93±5.68
	50	54.99±13.34	82.20±3.18
	100	76.15±10.17	83.15±1.95
	200	75.71±8.59	91.23±3.72

* TA98 and TA100 are *Salmonella typhimurium* strains TA98 and TA100, respectively

วิจารณ์และสรุปผล

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบทางสถิติพบว่าสารสกัดใบผักเม็ก3 ชนิด คือ ส่วนสกัดเอทิลอะซีเตท สารสกัดหยาบ และสารสกัดน้ำ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี เท่ากัน อาจเนื่องมาจากตัวทำละลายที่ใช้สกัดเหล่านี้เป็นตัวทำละลายที่ค่อนข้างมีขั้ว จึงสามารถสกัดสารที่มีขั้วที่มักจะพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี เช่นเดียวกับการศึกษาของ Settharaksa S[11]ที่พบว่าสารสกัดผักเม็กด้วยเอทานอลและน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และสามารถตรวจพบสาร phenolic และ flavonoid compounds ได้ในสารสกัดดังกล่าว และจากการศึกษาพบว่าสารจำพวก phenolic และ flavonoid compounds เป็นสารที่ช่วยในการจับอนุมูลอิสระที่ดี เนื่องจากสารกลุ่มนี้ประกอบด้วยหมู่ phenolic hydroxyl ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวส์ที่ดี[10]

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์

การศึกษาฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบผักเม็ก 4 ชนิด ในเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 โดยสายพันธุ์ TA 98 ที่ใช้ในการศึกษาจะเป็นการตรวจสอบการกลายพันธุ์โดยกลไกการเลื่อนของเบส (frame-ship substitution) และ ในสายพันธุ์ TA 100เป็นการตรวจสอบการกลายพันธุ์โดยกลไกการแทนที่ของเบส (base-pair substitution)[12] โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้สาร 1-aminopyrene เป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ผลจากการทดสอบครั้งนี้พบว่าสารสกัดใบผักเม็กในขนาด 200µg/plate พบผลการยับยั้งการยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ในระดับมาก (Strong) ทั้งสองสายพันธุ์แต่โดยรวมแล้วสารสกัดที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดในทุกความเข้มข้น คือ ส่วนสกัดเฮกเซน การศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำลายที่มีขั้วน้อยสามารถยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ที่เกิดจากสารก่อกลายพันธุ์ 1-aminopyrene ได้ดีกว่าสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วมากในการสกัด สอดคล้องกับการศึกษาของธิดารัตน์และคณะ[13] ที่พบว่าตัวทำละลาย เฮกเซน ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยใช้สกัดสารจากอาหารผักพื้นบ้านที่ปรุงสำเร็จมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ในระดับมาก จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสารจำพวก terpenoidsซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่มีขั้วน้อยที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ในระดับมาก[14] อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาถึงสารออกฤทธิ์ที่แท้จริงจากใบผักเม็กและกลไกการออกฤทธิ์ของสารดังกล่าวในระดับโมเลกุลต่อไป

การศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดใบมักเม็กที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ดีคือสารสกัดที่มีขั้วปานกลางถึงมาก และฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์โดยวิธี Ames test พบว่าสารสกัดผักเม็กที่มีฤทธิ์ดีที่สุดพบในสารสกัดที่มีขั้วน้อย

คือ ส่วนสกัดเฮกเซน อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธีอื่น ผลของการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดผักเม็กมีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อใช้ป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระและการกลายพันธุ์ได้ โดยจะต้องมีการศึกษาปริมาณสารสกัดที่เหมาะสมที่จะเติมลงในตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่สนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนและสถานที่ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. นวลศรี รักอริยธรรมและอัญชนา เจนวิถีสุข. แอนติออกซิแดนท์: สารต้านมะเร็งในผัก-สมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ : นพบุรีการพิมพ์; 2545.
2. UmaSankar A, Odhav B. *In vitro* 5-Lipoxygenase inhibition of polyphenolic antioxidants from undomesticated plants of South Africa. J Med Plant Res 2008;2(9) : 207-212.
3. Shon MY, Choi SD, Kahng GG, Nam SH, Sung NJ. Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. Food ChemToxicol 2004; 42 :659-666.
4. Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. Nat Rev cancer 2003; 3 (4): 276-285.
5. Zaveri M, Patel P, Dhru B, Patel S. Screening of in- vitro anti-mutagenic activity of selected plants. Am J Pharmtech Res 2011;1: 232-243.
6. แก้ว กังสดาลอำไพ. พิษวิทยาทางอาหาร และโภชนาการ. กรุงเทพฯ : มาฉลองคุณ-ซีเอส บี, 2546.
7. พงษ์ศักดิ์ พลเสนา. พืชสมุนไพรในสวนป่าสมุนไพรเขาหินซ้อนฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: เจตนารมณ์ภัณฑ์, 2550.
8. Stewart P, Boonsiri P, Puthong S, Rojpibulsti P Antioxidant activity and ultrastructural changes in gastric cancer cell lines induced by Northeastern Thai edible folk plant extracts. BMC Complement Alter Med 2013; 13: 1-12.
9. พวงรัตน์ ภักดีโชติ.การตรวจกรองฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในต้นตำลึงและบัวบก. รายงานการวิจัย. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2543.
10. Kalyarat K, Kangsadalampai K.Antioxidant activity, phenolic contents and antimutagenic activity of some water extract of herbs.Thai J Pharm Sci 2006; 30:28-35.
11. Settharaksa S, Madaka F, Sueree L, Kittiwisut S, Sakunpak, Moton C, Charoenchai L. Effect of solvent types on phenolic, flavonoid contents and antioxidant activities of *Syzygiumgratum* (Wight) S.N. Int Pharm PharmSci 2014; 6 (2):114-116.
12. Higashimoto M. Mutagenicity and antimutagenicity of extracts of three spices and a medicinal plant in Thailand. Muta Res 1993; 303 (3) : 135-142.
13. ชิดารัตน์ สมดี, จินดาวัลย์ วิบูลย์อุทัย,จิรภา เพชร์สม, อุดมศักดิ์ มหาวีรวัฒน์. การศึกษาการก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้านที่ปรุงสำเร็จด้วยวิธีเอมส์. วารสารวิจัย มข 2553;15 (11): 1015-1022.
14. Haldar PK. Kar B, Bala A. Antitumor activity of *Sansevieriaroxburghiana* rhizome against Ehrlich ascites carcinoma in mice. Pharm Biol2010;48:1337–1343.