

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันโลกมีการเปลี่ยนแปลงทางเทคโนโลยีที่ทันสมัยมากขึ้น ทั้งทางด้านการศึกษาค้นคว้า การวิจัย ทางด้านระบบสารสนเทศคอมพิวเตอร์ การผลิตเครื่องอุปโภค บริโภคหรือการแพทย์ การใช้เครื่องมือที่ทันสมัยและรวดเร็วกว่าในอดีต จึงส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงวัฒนธรรมและการดำรงชีวิตของ ผู้คนและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งวงจรชีวิตของสิ่งมีชีวิต ทำให้สิ่งมีชีวิตมีจำนวนลดลงเป็น อย่างมาก มนุษย์จึงให้ความสนใจสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น จากการใช้สมุนไพรตั้งแต่อดีตซึ่งเป็นภูมิปัญญาชาวบ้านในท้องถิ่นนั้นมากยิ่งขึ้น โดยสังเกตได้จากการแพทย์แผนโบราณที่ได้รับความนิยมขึ้นสูง เช่น การนวดประคบด้วยสมุนไพร และสมุนไพรบำบัด เป็นต้น มนุษย์ได้รู้จักการนำพืชมาใช้เป็นยาตั้งแต่สมัยโบราณ เดิมนำมาใช้ในรูปของพืชสด พืชแห้ง ต่อมาจึงพัฒนายาเตรียมง่าย (galenical preparation) ชนิดต่างๆขึ้น การให้ความสนใจในการศึกษาวิจัยพัฒนาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวันเริ่มมีมากขึ้นตามลำดับเช่นการนำมาทำเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง โดยเน้นในเรื่องการชะลอความแก่ ลดรอยเหี่ยวย่น การนำสมุนไพรเป็นองค์ประกอบหนึ่งเป็นยารักษาโรคของมนุษย์และสัตว์ เป็นอาหารเสริมบำรุงร่างกายคลายความเครียด วิวัฒนาการของการใช้สมุนไพร ได้มีวิวัฒนาการเพื่อให้มีรูปแบบนำใช้และให้ผลการรักษาแน่นอน นักวิจัยจึงได้มีการสกัดสารสำคัญในการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามาใช้เป็นยาในรูปสารบริสุทธิ์ เช่นการแยกสารแซนทีน จัดอยู่ในกลุ่มพวกแอลคาลอยด์ สามารถแสดงฤทธิ์กระตุ้นสมองส่วนบน หรือ β -Sitosterol สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในกลุ่มสเตียรอยด์ที่ใช้เป็นยาเกี่ยวกับหลอดเลือด เป็นต้น

จากเหตุผลที่ดาวเรืองเป็นพืชที่ปลูกได้ง่ายทั่วไป สามารถควบคุมการผลิตได้ และมีอยู่แพร่หลายในประเทศไทย ผู้วิจัยขอเสนอโครงการวิจัยการประเมินศักยภาพการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรือง (*Tagetes erecta* Linn.) โดยศึกษาเฉพาะส่วนใบ ดาวเรืองอยู่ในวงศ์ Asteraceae มีชื่อสามัญคือ African marigold เป็นต้นไม้พื้นบ้านซึ่งคนไทยคุ้นเคยกันดีโดยเฉพาะส่วนดอก นิยมนำมาปลูกประดับสถานที่ ประโยชน์และสรรพคุณทางยาของดาวเรืองได้แก่ ใบ ใช้เป็นยาเย็น ทาแผลเน่าเปื่อย ฝีต่างชนิดต่างๆ น้ำคั้นจากใบใช้หยอด แก้เจ็บหู ดอก แก้อิดสีดวงทวาร เป็นยาฟอกเลือด ขับลมละลายเสมหะ ไอ หลอดลมอักเสบ ประคบดับไ้เป็นยาบำรุงสายตา ดอกแห้งบดเป็นผงผสมกับอาหารไก่ ช่วยให้ไข่แดงสีเข้มขึ้น จากการสืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรืองพบว่ามีรายงานถึงศักยภาพด้านอัลลีโลพาตีของสารสกัดจากส่วนใบ โดยมีรายงานสารสกัดขึ้นเมทานอลของใบดาวเรืองให้ผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน เมื่อเปรียบเทียบกับ การปลูกในสารสกัดจากส่วนดอกและเมล็ด และสารสกัดหยาบจากใบดาวเรืองที่มีคุณสมบัติเป็นกรดและกลาง ให้ผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน [1] สำหรับงานวิจัยในด้านการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์จากใบดาวเรืองยังไม่มีพบรายงานการวิจัย แต่จากการทดสอบเบื้องต้นพบว่าสารสกัดหยาบขึ้นเมทานอลของใบดาวเรืองมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากได้มากกว่า 10 ชนิด จึงเป็นมูลเหตุจูงใจให้คณะผู้วิจัยมีความสนใจที่จะทำการวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรืองทางเภสัชวิทยา ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลใหม่ในการนำสารธรรมชาติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์และสามารถนำไปพัฒนาให้ใช้ได้จริงตามที่ตั้งสมมุติฐานไว้ต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาศักยภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบดาวเรือง
2. เพื่อแยกสารธรรมชาติที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบดาวเรือง
3. เพื่อวิเคราะห์ชนิดและโครงสร้างของสารธรรมชาติที่มีศักยภาพสูงในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. การสกัดแยกสารจากใบดาวเรืองที่มีศักยภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ใช้วิธีการสกัดแบบแบ่งส่วนโดยเรียงลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์
2. สกัดและแยกสารธรรมชาติที่มีศักยภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์
3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ สารสกัดหยาบส่วนย่อย และสารธรรมชาติในรูปของสารบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ
4. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ในแต่ละการทดสอบโดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน กล่าวโดยสรุปดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมสารสกัดหยาบด้วยวิธีการสกัดแบบแบ่งส่วนโดยเรียงลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ (Solvent Partition Extraction)

พืชที่ใช้ในการทดลองคือส่วนใบของดาวเรือง ที่มีระยะเวลาการปลูก 45 วัน จากแปลงเกษตรสาขาวิชาผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยคัดเลือกใบที่มีความสมบูรณ์แข็งแรง ไม่มีโรคและแมลงรบกวน และเป็นใบที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ทำความสะอาดใบพืชตัวอย่างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งลมให้แห้งในที่ร่ม และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า และนำมาสกัดด้วยวิธีการหมักด้วยเมทานอล กรองสารละลาย และระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจะได้สารสกัดหยาบเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดเมทานอลมาแยกกลุ่มสารด้วยวิธีการสกัดแบบแบ่งส่วนโดยเรียงลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิล แอซิเตต และบิวทานอล ตามลำดับ

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง

การทดลองที่ 1 สารสกัดหยาบที่เตรียมได้จากขั้นตอนที่ 1 ถูกส่งไปทดสอบทางเภสัชวินิจฉัย สาขาโษษุวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และหน่วยบริหารจัดการทรัพยากรจุลินทรีย์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยทำการทดสอบแบบ Disc Diffusion Method กับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ และเชื้อรา พิจารณาจาก zone of inhibition และค่า MIC

การทดลองที่ 2 การแยกสารส่วนย่อยและการทดสอบฤทธิ์ของสารส่วนย่อย โดยนำสารสกัดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 มาทำการทดสอบเพื่อหาตัวทำละลาย ที่เหมาะสมในการแยกสารโดยใช้วิธีทีนเลเยอร์โครมาโทกราฟี เมื่อได้ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมจึงทำการแยกสารออกฤทธิ์

ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี จากนั้นนำสารส่วนย่อยที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 การแยกสารบริสุทธิ์และการทดสอบฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์ โดยนำสารส่วนย่อยที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดจากการทดลองที่ 2 มาดำเนินการแยกสารบริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี จากนั้นนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

นักวิจัยและเภสัชกรได้ให้ความสนใจต่อพืชสมุนไพรชนิดใหม่ที่คาดว่าจะผลิตสารในกลุ่มที่แตกต่างจากเดิม และทำการสกัดสารชีวภาพจากพืชสมุนไพรธรรมชาติพร้อมกับการพัฒนาโครงสร้างของสารชีวภาพโดยมุ่งเน้นถึงการออกฤทธิ์ที่ดีขึ้นในการยับยั้งเชื้อโรคชนิดต่างๆ ทั้งนี้เพื่อลดปริมาณการใช้ยารักษาโรคซึ่งมักอยู่ในรูปของสารสังเคราะห์และเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคโดยพืชและใกล้ชีวิตธรรมชาติมากที่สุด มีรายงานถึงพืชสมุนไพรไทยที่มีผลต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ไว้หลายชนิด [2] การศึกษาหาสารชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เริ่มจากการนำสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารสกัดด้วยเอทานอลของต้นและใบสีฟันคนทาที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Plasmodium falciparum* อันเป็นสาเหตุของโรคมาลาเรีย [3] สารสกัดจากใบและกิ่งของประยงค์ด้วยเมทานอลพบสารใหม่ (-)-Odorinol ซึ่งมีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในเมล็ดเลือดขาว [4] สารสกัดด้วยปิโตรเลียม อีเทอร์ของพริกไทย (*Piper nigrum*) พบว่าสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ และเมื่อทำการแยกสารบริสุทธิ์พบว่า สารบริสุทธิ์เหล่านั้นสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดี [5] สารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ของ *Dunbaria bella* Prain พืชสมุนไพรไทยที่พบในภาคอีสานสามารถออกฤทธิ์ต้านไวรัส HSV types 1 และ 2 ได้ดี [6] จากข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบถึงศักยภาพของสารสำคัญที่มีอยู่ในพืชในแต่ละชนิดและเป็นแนวทางในการนำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคหรือนำไปใช้โดยตรง

1.6 คำสำคัญของการวิจัย

ใบดาวเรือง ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Tagetes erecta* Linn. antimicrobial

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถสกัดแยกสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์จากใบดาวเรือง
2. ทราบถึงสารธรรมชาติเป็นต้นแบบในการสังเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์
3. ได้นักวิจัยรุ่นใหม่ที่มีความรู้ความสามารถ
4. ได้ข้อมูลทางวิชาการที่สามารถตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารและการประชุมวิชาการต่างๆ