



## แบบสรุปย่อการวิจัย

การศึกษาศักยภาพการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ต ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของพืชผักสมุนไพรไทย เพื่อป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ต

Studies on ultraviolet-absorbing potential, antioxidant efficiency and cytotoxicity on keratinocyte cells of Thai medicinal herbs for prevention of ultraviolet

โดย

ผศ. ดร. เทวิน เทนคำเนา และคณะ

ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

2554

## แบบสรุปย่อการวิจัย

### 1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

#### 1.1 ชื่อเรื่อง

(ภาษาไทย) การศึกษาศักยภาพการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลต ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของพืชผักสมุนไพรไทย เพื่อป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต

(ภาษาอังกฤษ) Studies on ultraviolet-absorbing potential, antioxidant efficiency and cytotoxicity on keratinocyte cells of Thai medicinal herbs for prevention of ultraviolet

#### 1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

##### 1.2.1 หัวหน้าโครงการ

ชื่อ - นามสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เทวิน เทนคำเนา  
หน่วยงาน ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
สถานที่ติดต่อ ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
154 ถ.พระราม 1 แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330  
โทรศัพท์ 02-218-1081 ต่อ 313, 087-6962277 โทรสาร 02-218-1082  
E-mail tewin.t@chula.ac.th

##### 1.2.2 ผู้ร่วมงานวิจัย

ชื่อ - นามสกุล นางสาววิสาข์ ทองระภาศ  
ตำแหน่ง นิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมีคลินิกและอนุทางการแพทย์  
หน่วยงาน ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
สถานที่ติดต่อ 154 ถ.พระราม 1 แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330  
โทรศัพท์ 02-218-1089, 087-541-6325 โทรสาร 02-218-1082  
E-mail ployvisa@gmail.com

##### 1.2.3 ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

ชื่อ - นามสกุล รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี  
ตำแหน่ง ที่ปรึกษาวิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
หน่วยงาน ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
สถานที่ติดต่อ ถ.พญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330  
โทรศัพท์ 081-9179541 โทรสาร 02-2532395 และ 02-2552177  
E-mail nijisiri.r@chula.ac.th

### 1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 งบประมาณที่ได้รับ 447,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัยตั้งแต่วันที่ 10 เดือน สิงหาคม ปี 2554 ถึง วันที่ 10 เดือน สิงหาคม ปี 2555

## 2. ความสำคัญ และที่มาของปัญหา

เป็นที่ทราบกันดีว่าพืชผักสมุนไพรไทยมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ทั้งในด้านการป้องกันการเกิดโรค และการใช้รักษาโรค แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูล หรือหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ ที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพ ของพืชผักสมุนไพรไทยที่ส่งผลต่อการป้องกันการเกิดโรค และการใช้รักษาโรค ยังไม่ค่อยเป็นที่ปรากฏเท่าใดนัก เนื่องจากในปัจจุบันชั้นโอโซนในบรรยากาศบางลงมาก ส่งผลให้รังสีอัลตราไวโอเล็ต โดยเฉพาะรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี ส่งถึงบริเวณพื้นผิวโลกเพิ่มขึ้น และก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์มากขึ้น ดังนั้นเมื่อเซลล์ผิวหนังสัมผัสกับรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี จะส่งผลให้เกิดอันตรายต่าง ๆ ขึ้นได้ เนื่องจากเป็นรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี สามารถกระตุ้นให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอ (DNA damage) กระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะ reactive oxygen species (ROS) รวมถึงกระตุ้นให้อัตราการตายของเซลล์เพิ่มมากขึ้น (induced apoptosis) และอาจส่งผลให้เกิดมะเร็งผิวหนังขึ้นในที่สุด ซึ่งในช่วงหลายปีมานี้มีการศึกษาวิจัยว่า สารประกอบโพลีฟีนอลที่พบได้ในพืชผัก ผลไม้หลากหลายชนิด สามารถปกป้องและส่งเสริมกระบวนการซ่อมแซมเซลล์ผิวหนังให้กลับคืนสู่สภาวะปกติหลังจากถูกทำลายด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัย จึงมีความประสงค์จะศึกษาฤทธิ์ของสารประกอบโพลีฟีนอลจากสารสกัดของพืชผักสมุนไพรไทยต่อการป้องกัน และหรือซ่อมแซมเซลล์ผิวหนังมนุษย์ที่ถูกทำลายด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี ผลของการศึกษาในโครงการวิจัยนี้ สามารถนำไปสู่การสร้างองค์ความรู้ใหม่ และเพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นยาเพื่อป้องกัน และรักษาโรคมะเร็งผิวหนัง และการชะลอการเหี่ยวแก่ของเซลล์ผิวหนัง โดยใช้สารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทย รวมถึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชผักสมุนไพรไทยได้อีกทางหนึ่ง

## 3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของพืชผักสมุนไพรในการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ต
2. เพื่อให้ได้ข้อมูลปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ส่งผลต่อสุขภาพของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพร

## 4. ระเบียบวิธีการวิจัย

เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ การวิจัยจะถูกแบ่งเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

**ขั้นตอนที่ 1** เตรียมสารสกัดพืชผักสมุนไพรไทย ด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous หรือ successive extraction) โดยใช้ Soxhlet extractor เพื่อให้ได้สารองค์ประกอบสำคัญภายในพืชผักสมุนไพร

**วิธีการวิจัย** วิธีการสกัดพืชผักสมุนไพรด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง เป็นการสกัดโดยให้ความร้อนเพื่อให้ตัวทำละลายระเหยขึ้นไปแล้วควบแน่นกลับลงมาซ้ำใน Thimble ที่บรรจุพืชผักสมุนไพรตัวอย่างไว้ ตัวทำละลายจะสกัดเอาสารสำคัญให้หลุดออกมา เมื่อตัวทำละลายมีปริมาณมากพอก็จะเกิดแรงดันทำให้ไหล

กลับสู่ขบวนการ การสกัดจึงหมุนเวียนอย่างต่อเนื่อง วิธีนี้ทำให้ประหยัดตัวทำละลาย และได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นสูง โดยจะเริ่มจากการสกัดพืชผักสมุนไพรด้วยตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วไปถึงตัวทำละลายที่มีขั้ว ดังนี้ ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และเอทานอล (ethanol) ตามลำดับ จากนั้นทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นโดย นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยวิธี evaporation ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ออกมา นำไปเก็บที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อจะทำการทดลองจะทำการละลายสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทานอล หรือ dimethyl sulfoxide (DMSO) ขึ้นกับความสามารถของการละลายของสารสกัดกับตัวทำละลาย

**ขั้นตอนที่ 2** ประเมินความสามารถในการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตเอ และบี

**วิธีการวิจัย** นำพืชผักสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์จากรังสีอัลตราไวโอเลตบี มาวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตเอ และบี ด้วยเทคนิค Spectrophotometric analysis ที่ความยาวคลื่น 315-400 นาโนเมตร สำหรับรังสีอัลตราไวโอเลตเอ และความยาวคลื่น 280-315 นาโนเมตร

**ขั้นตอนที่ 3** การประเมินค่า SPF (Sun Protection Factor)

**วิธีการวิจัย** คณะผู้วิจัยได้ส่งสารสกัดสมุนไพรไปวิเคราะห์หาค่า SPF ที่บริษัท เอสแอนด์เจ อินเตอร์เนชั่นแนล เอนเตอร์ไพรส์ จำกัด (มหาชน) โดยคณะผู้วิจัยส่งวิเคราะห์สารสกัดสมุนไพรเฉพาะสารสกัดจากขมิ้นและขิง ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

**ขั้นตอนที่ 4** ประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยต่อเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยง (HaCaT) โดยวิธี 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ไม่แสดงความเป็นพิษ และเหมาะสมสำหรับการวิจัยกับเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยง (HaCaT)

**วิธีการวิจัย** ใช้เซลล์ผิวหนังมนุษย์ที่ถูกเพาะเลี้ยง (HaCaT) เป็น in vitro model สำหรับการทดลอง โดยนำมาทดสอบกับสารสกัดพืชผักสมุนไพรชนิดต่าง ๆ จากนั้นประเมินการต้านการแบ่งเซลล์โดยใช้เทคนิค คือ MTT assay คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของเซลล์ (% cell viability) และค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่ทำให้เซลล์ตายไป 50 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้

คำนวณ % cell viability ดังนี้

$$\% \text{ cell viability} = \frac{(\text{treated cell} - \text{blank}) \times 100}{(\text{untreated cell} - \text{blank})}$$

คำนวณ IC<sub>50</sub> จาก Logarithmic graph

**ขั้นตอนที่ 5** วัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยชนิดต่าง ๆ โดยใช้เทคนิค Folin Ciocalteu Phenol assay (FCP) และ Total flavonoid of determination และวัด

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้เทคนิค DPPH radical scavenging assay และ ABTS free radical decolorization assay

**วิธีการวิจัย** นำสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ตามเทคนิค Folin Ciocalteu Phenol assay (FCP) และ Total flavonoid of determination และวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ตามเทคนิค DPPH radical scavenging assay และ ABTS free radical decolorization assay

## 5. ผลการวิจัย

คณะผู้วิจัยได้รวบรวมพืชผักสมุนไพรจำนวน 15 ชนิด ที่นิยมบริโภค จากตำบลบางพระ อำเภอสรีราชา จังหวัดชลบุรี ผลจากการสกัดพืชผักสมุนไพรพบว่าปริมาณสารสกัดหยาบของพืชผักสมุนไพรที่ได้มีปริมาณตั้งแต่ 0.04 - 3.28 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของพืชผักสมุนไพรสด และพบว่าตัวทำละลายเอทานอลสามารถสกัดสารสำคัญออกจากพืชผักสมุนไพรได้มากกว่าตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ และไดคลอโรมีเทน ส่วนสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยที่สามารถดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ดีที่สุดคือ สารสกัดจากขมิ้นชันจากตัวทำละลายเอทานอล และสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรไทยที่สามารถดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ดีที่สุดคือ สารสกัดจากขิงจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรอยู่ในช่วงระหว่าง  $85.66 \pm 2.75$  ถึง  $3.23 \pm 0.09$  มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่างสด 1 กรัม และ  $1092.71 \pm 117.49$  ถึง  $0.75 \pm 0.38$  มิลลิกรัมสมมูลของแควอซิทินต่อน้ำหนักสด 1 กรัม ตามลำดับ โดยสารสกัดของขมิ้นชันจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดของขมิ้นชันจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด สำหรับการประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรต่อเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยง พบว่าสารสกัดพืชผักสมุนไพรไทยที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยงโดยทำให้ร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีดังนี้ สารสกัดแตงกวา มะกรูด มะเขือพวง และโหระพาจากตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ และสารสกัดมะเขือเปราะจากตัวทำละลายเอทานอล

## 6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรบางชนิดที่คณะผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกมาอาจมีฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์ผิวหนังจากการทำลายโดยรังสีอัลตราไวโอเล็ต โดยเฉพาะสารสกัดของพืชผักสมุนไพรในกลุ่มที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง และมีความสามารถในการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตสูง อย่างไรก็ตามในอนาคตควรมีการศึกษาถึงระดับกลไกของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรต่อการปกป้องเซลล์ผิวหนังจากการทำลายโดยรังสีอัลตราไวโอเล็ต เพื่อให้ทราบกลไกการออกฤทธิ์ของพืชผักสมุนไพรเหล่านี้ที่แน่ชัด และอาจนำไปสู่การเพิ่มมูลค่าของพืชผักสมุนไพรของไทยได้อีกทางหนึ่ง

## 7. การนำไปใช้ประโยชน์

### 1. สร้างองค์ความรู้ใหม่ และนำไปสู่การตีพิมพ์

ผลงานวิจัยจะนำไปสู่การตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติที่มีค่า Impact factor และนำไปสู่การวิจัยต่อยอด เพื่อพัฒนาแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยอย่างถูกต้อง และมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นต่อไป ทั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้ตีพิมพ์ผลงานวิจัยชิ้นนี้แล้ว ดังรายละเอียดใน Thongrakard V, Ruangrunsi N, Ekkapongpisit M, Isidoro C, Tencomnao T. Protection from UVB Toxicity in Human Keratinocytes by Thailand Native Herbs Extracts. Photochemistry and Photobiology. 2014; 90: 214-224.

### 2. นำไปสู่การใช้ประโยชน์แก่ภาคประชาชน / ชุมชน / ธุรกิจ

ภาคประชาชน จะมีความรู้ และเข้าใจเกี่ยวกับสรรพคุณของพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ ที่ใช้อยู่ในชีวิตประจำวันเพิ่มมากขึ้น

ภาคชุมชน จะเห็นคุณค่าของพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น และปลูกพืชผักสมุนไพรไทยเหล่านี้เพื่อนำมาจำหน่าย ซึ่งเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับชุมชน

ภาคธุรกิจ จะได้รับความรู้เกี่ยวกับสรรพคุณของพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ มากขึ้น และเล็งเห็นถึงความสำคัญของพืชผักสมุนไพรไทยเหล่านี้เพิ่มขึ้น นำไปสู่การเพิ่มการผลิต และการเพิ่มการส่งออกพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ ซึ่งเป็นการเพิ่มรายได้ให้ประเทศมากยิ่งขึ้น

### 3. นำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต และใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์

การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตจะทำได้โดยการสังเคราะห์สารดังกล่าวในห้องปฏิบัติการ และ/หรือ การเร่งผลิตพืชผักสมุนไพรไทยต่าง ๆ นอกจากนี้พืชผักสมุนไพรไทยเหล่านี้จะถูกนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์เพื่อเป็นยารักษาต่อไป รวมทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชผักสมุนไพรไทย ซึ่งมุ่งเน้นไปที่หน่วยงานด้านเภสัชกรรม ที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนา และผลิตยา หรือครีมกันแดดจากพืชผักสมุนไพรไทย เช่น องค์การเภสัชกรรม และบริษัทเอกชนผู้ผลิตยา เป็นต้น ซึ่งในการศึกษานี้ พบว่า สารสกัดที่มีการรายงานค่า SPF ได้แก่ขมิ้นชัน และขิง น่าจะพัฒนาเป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางค์ ประเภทผลิตภัณฑ์กันแดดได้