การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำลังวัวเถลิง

Phytochemical Screening, Total Phenolic and Flavonoid contents and Free radical Scavenging Activity of *Anaxagorea luzonensis* Extracts

เมธิน ผดุงกิจ[1*], พรพรรณ เหล่าวชิระสุวรรณ[2], เนตรชนก จอมคำสิงห์[3], วรัท จันทะศรี [3]
Methin Phadungkit[1*], Pornpun Laowachirasuwan[2], Netchanok Chomkhamsing[3], Varat Jantasri[4]

บทคัดย่อ

กำลังวัวเถลิง (*Anaxagorea luzonensis* A. Gray) เป็นพืชสมุนไพรไทยอยู่ในวงศ์ Annonaceae การแพทย์พื้นบ้านไทยใช้เป็นยาอายุวัฒนะ วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้คือ เพื่อตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นหาปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากลำต้นของกำลังวัวเถลิงที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดต่างกัน ได้แก่ เมธานอล ไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นทดสอบตามวิธีมาตรฐาน การหาปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดใช้วิธี aluminium Chloride colorimetric และ folin-Ciocalteuตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี DPPH Scavenging ผลการศึกษาพบว่าจากการตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นพบสารจำพวกฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ สารสกัดเมธานอลให้ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอื่นโดยมีค่าเท่ากับ 520.26 ± 21.08 mg GAE/1g extract และ 395.61 ± 30.18 mg QE/1g extract ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดเมธานอลยังให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 14.46 ± 1.10 µg/mL ซึ่งจากการเปรียบเทียบทางสถิติแล้วพบว่าไม่แตกต่างกันกับสารมาตรฐาน ascorbic acid ที่ให้ค่า IC_{50}เท่ากับ 9.26 ± 1.14 µg/mLจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสารสกัดเมธานอลจากกำลังวัวเถลิงมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากซึ่งอาจช่วยในการป้องกันภาวะลุกลามของโรคหลายชนิดที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้

คำสำคัญ: กำลังวัวเถลิง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

---

[1] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ , [2]อาจารย์, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ. มหาสารคาม 44150

[3,4] นิสิตระดับปริญญาตรี, หลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ. มหาสารคาม 44150

[1] Assist. Prof., [2] Lecturers, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantharawichai District, MahaSarakham 44150, Thailand.

[3,4] Undergraduate students, Doctor of Pharmacy Program, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantharawichai District, MahaSarakham 44150, Thailand.

* Corresponding author: MethinPhadungkit, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantharawichai District, MahaSarakham 44150, Thailand.

Abstract

Anaxagorea luzonensis A. Gray is a Thai medicinal plant in the Annoaceae family. The plant is used in Thai traditional formula for longevity. The aims of this study were to investigate phytochemical screening,determine the total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) and determine free radical activity of the herbal extracts which were extracted by different solvents including methanol, dichloromethane and hexane. Phytochemical screening was investigated using the standard procedure. TPC and TFC were determined using theFolin-Ciocalteu method and the aluminum chloride colorimetric method, respectively. The free radical scavenging activity was determined using the DPPH assay. The results showed that the methanol extract showed the presence of flavonoids and phenolics in the phytochemical screening assay. The methanol extract possessed the highest values of TPC and TFC with 520.26 ± 21.08mg GAE/1 g extract and 395.61 ± 39.18 QE/1g extract, respectively.The methanol extract demonstrated the highest free radical scavenging activitywith IC_{50} value of14.46 ± 1.10 µg/mL which was not statically different with ascorbic acid (IC_{50}=9.26 ± 1.14 µg/mL). In conclusion, the methanol extract of *A. luzonensis* exhibits high TPC, TFC and strong free radical scavenging activity which could help to prevent the progression of various diseases caused by free radicals.

Keywords: *Anaxagorea luzonensis*, total flavonoid content, total phenolic content, free radical scavenging activity

บทนำ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวโคจรอยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุดทำให้ไม่เสถียรและมีความไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยาเคมีกับสารอื่นโดยการแย่งจับหรือดึงอิเล็คตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้โมเลกุลของตัวเองเสถียรขึ้น ทำให้เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปเรื่อยๆ หากมีอนุมูลอิสระในร่างกายมาก จนร่างกายไม่สามารถที่จะควบคุมและป้องกันปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้จะเกิดภาวะความเครียดของออกซิเจน (Oxidative stress) ซึ่งจะส่งผลให้เกิดความเสียหายต่างๆต่อเซลล์ในร่างกาย เช่นทำลายโครงสร้าง DNA การเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ และส่งผลทำให้เกิดโรคต่างๆ ตามมาเช่น โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคไต และโรคอัลไซเมอร์เป็นต้น [1]

อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถลดความรุนแรงหรือถูกยับยั้งได้ด้วยสารที่เรียกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้จะไปหยุดวงจรลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระใหม่ได้ [2]และจากรายงานวิจัยพบว่าสารจำพวกฟีนอลลิก (phenolics) สารจำพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และสารพฤกษเคมีต่างๆ (phytochemicals) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารดังกล่าวมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ เช่น ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ต้านการอักเสบ และเพิ่มภูมิคุ้มกัน[3]

กำลังวัวเถลิงเป็นพืชสมุนไทยที่พบได้ตามป่าเบญจพรรณของประเทศไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Anaxagorea luzonensis* A.Gray จัดอยู่ในวงศ์ Annonaceaeลักษณะทั่วไปเป็นไม้เถายืนต้นขนาดย่อม ใบเดี่ยวรูปหอกปลายแหลม เปลือกต้นมีสีแดงคล้ายสีน้ำตาลไหม้และหนา เนื้อไม้มีสำน้ำตาลอ่อน มีสรรพคุณทางยาตามการแพทย์พื้นบ้านของไทย คือ บำรุงเส้นเอ็น แก้ปวดเมื่อยตามตัว บำรุงกำลัง บำรุงโลหิต บำรุงกระดูกให้แข็งแรง และเป็นยาอายุวัฒนะ[4]

แม้ว่ากำลังวัวเถลิงจะถูกนำมาใช้ในการแพทย์พื้นบ้านเพื่อเป็นยาบำรุงกำลังหรือใช้เป็นยาอายุวัฒนะกันอย่างแพร่หลาย แต่การศึกษาด้านพฤกษ

เคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรชนิดนี้ยังมีน้อยมาก ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาเกี่ยวกับพฤกษเคมีเบื้องต้น รวมทั้งหาปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดรวมทั้งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำลังวัวเถลิงที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดต่างกัน โดยใช้ เมธานอล (methanol) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และเฮกเซน (hexane) ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วมาก (high polarityขั้วปานกลาง (medium polarity) และไม่มีขั้ว (non polarity) ตามลำดับเพื่อที่จะสามารถสกัดสารพฤกษเคมีในกำลังวัวเถลิงได้ครอบคลุมทุกกลุ่มสารที่จำแนกตามความมีขั้วของสารออกฤทธิ์ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นข้อมูลที่สำคัญในการพัฒนาต่อยอดในการเป็นยารักษาโรคหรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพอื่นเพื่อป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระ ซึ่งนำไปสู่คุณภาพชีวิตที่ดีและอายุยืนยาวต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมีของสารสกัดกำลังวัวเถลิง

2. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดกำลังวัวเถลิงในตัวทำละลายต่างชนิดกัน

3. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย DPPH assay ของสารสกัดกำลังวัวเถลิงในตัวทำละลายต่างชนิดกัน

วิธีดำเนินการวิจัย

1. กลุ่มตัวอย่าง

ซื้อตัวอย่างเครื่องยากำลังวัวเถลิง (ลำต้น) จากร้านขายยาสมุนไพรแห่งหนึ่งในจังหวัดมหาสารคามตรวจเอกลักษณ์โดยผู้วิจัย (ผศ.ดร. เมธิน ผดุงกิจ) และตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงถูกเก็บรักษาไว้ที่หน่วยวิจัยเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (No.MSU.PH-ANN-A01) นำสมุนไพรมาล้างให้สะอาดอบแห้งด้วย hot air oven ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. การสกัดสาร

บดกำลังวัวเถลิงให้เป็นผงจำนวน 3 X500 กรัมนำมาสกัดไขมันออกด้วย petroleum กรองเอาเฉพาะกาก สกัดสารต่อด้วยวิธีการหมัก (marceration) ตามวิธีที่อธิบายโดย Handaและคณะ[6]ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เมธานอลไดคลอโรมีเทน และเฮกเซนชนิดละ 1500 mL หมักผงยา ชนิดละ 500 กรัม เป็นเวลา 7 วัน นำสารสกัดที่ได้ไปกรอง และระเหยตัวทำละลายให้แห้งด้วย rotary evaporator นำสารสกัดที่ได้ไปเก็บในภาชนะที่ปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4°C

3. การตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี

การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของกำลังวัวเถลิง ผู้วิจัยได้นำเฉพาะสารสกัดเมธานอลมาตรวจสอบ (เนื่องจากสารสกัดไดคลอโรมีเทนและสารสกัดเฮกเซนมีปริมาณน้อยไม่เพียงพอสำหรับการตรวจสอบ) ตรวจสอบสารจำนวน 7 กลุ่ม ได้แก่แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ฟลาโวนอยด์ ซาโปนินฟีนอลิกแอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ตามวิธีมาตรฐานของ Trease and Evans[7]

4. การหาปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด (Total phenolic)

ทำตามวิธีของ Kulkarni และคณะ[8] โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

2) เตรียมสารสกัดสมุนไพรให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

3) เตรียม 7.5% Sodium carbonate ในน้ำกลั่น

4) ดูดสารละลาย Gallic acid ที่เตรียมไว้และสารละลายตัวอย่างสมุนไพรมา 20 ไมโครลิตร และหลอดควบคุมใช้น้ำกลั่นผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที

5) เติม 7.5% Sodium carbonate 80 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที

6) นำสารละลายที่ได้มาวัดการดูดกลืนแสง ที่ค่าความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เทียบกับหลอดควบคุม ทำการทดลองซ้ำรวม 3 ครั้ง

7) คำนวณหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด เปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid จากสมการ

$$C = c * V/m$$

โดย C = ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด (mg/g extract)

c = ความเข้มข้นของ Gallic acid ที่ได้จากกราฟของสารสกัด (µg/mL)

V = ปริมาตรของสารสกัด (mL)

m = น้ำหนักของสารสกัด (กรัม)

5. การหาฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid)

ทำตามวิธีของ Jia*et al*[9]โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) ใช้ Quercetin เป็นสารละลายมาตรฐาน เตรียมที่ความเข้มข้น20, 40, 60, 80, และ100µg/mL ด้วย Ethanol

2) เตรียมสารสกัดสมุนไพรให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วย Ethanol

3) เตรียม 2% $AlCl_3$• $6H_2O$ ด้วย Ethanol

4) ดูดสารละลายจาก Quercetin ที่เตรียมไว้และสารละลายตัวอย่างสมุนไพรมา 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 2% $AlCl_3$• $6H_2O$ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที

5) นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เทียบกับหลอดควบคุม ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

6) คำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Quercetin

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging

ทำตามวิธีของ Chu[10] โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) เตรียมสารสกัดกำลังวัวเถลิงให้มีความเข้มข้น 7 ระดับ (3.9,7.8,15.6,31.2,62.5,125,500 µg/mL) ในตัวทำละลายเมธานอล

2) เตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น 60 µg/mL ในตัวทำละลายเมธานอล

3)ดูดสารสกัดในข้อ 1) จำนวน 125 µL และ DPPH จำนวน 125 µL ผสมกันใน 96 well plate ด้วย micropipette

4) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm

5) คำนวณค่า % radical scavenging จากสูตร % radical scavenging = (A ctrl – A sample x100)/A ctrl เมื่อ A ctrl คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ของสารละลาย DPPH และ A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดผสมกับ DPPH

6) สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % radical scavenging และความเข้มข้นของสารสกัด คำนวณหา ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำลาย DPPH ไปครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ

7. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของค่าเฉลี่ย ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ค่าIC_{50}ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดกำลังวัวเถลิง

จากการสกัดกำลังวัวเถลิงพบว่า ร้อยละของสารสกัดที่ได้ของสารสกัดด้วยเมธานอล ไดคลอโรมีเทน และ เฮกเซน เท่ากับ 8.70 %, 0.38 % และ 0.21 % ตามลำดับ โดยคำนวณจากสูตรร้อยละของสารสกัด = (น้ำหนักของสารสกัด/น้ำหนักผงแห้งของกำลังวัวเถลิง) x 100

2. ผลการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี

จากการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นพบเฉพาะสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกโดยไม่พบสารกลุ่ม แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ ซาโปนินแอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

3. ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากการหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดกำลังวัวเถลิงด้วยตัวทำละลายทั้งสามชนิดพบว่าให้ผลสอดคล้องกัน โดยพบว่าสารสกัดเมธานอลให้ปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 520.26 ± 21.08 mg GAE/1g extract และ 395.61 ± 30.18 mg QE/1g extract ตามลำดับ และปริมาณสารดังกล่าวมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารสกัดไดคลอโรมีเทนและสารสกัดเฮกเซน ($p < 0.05$) ดังแสดงใน Figure 1 และ Figure 2

4. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPHเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดเมธานอล สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเฮกเซน และสารมาตรฐาน ascorbic acid โดยการเปรียบเทียบค่า IC_{50} ทางสถิติ พบว่าผลที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทดสอบรายคู่พบว่า สารสกัดเมธานอลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอื่น (IC_{50} มีค่าน้อยที่สุด) แต่ค่า IC_{50}มากกว่าสารมาตรฐาน ascorbic acid แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติแล้วพบว่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.5$) ดังแสดงใน Table 1

วิจารณ์และสรุปผล

เนื่องจากสมุนไพรกำลังวัวเถลิงเป็นสมุนไพรที่ใช้เข้ายาอายุวัฒนะตามการแพทย์พื้นบ้านของไทย จากการตรวจสอบเบื้องต้นพบสารจำพวกฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์สอดคล้องกับการศึกษาของ Tep-Areenan[11] ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นของกำลังวัวเถลิงพบสารจำพวกฟลาโวนอยด์ เช่น biochanin A และ chrysin เป็นต้น จากรายงานพบว่าสารจำพวกฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง เช่น ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ต้านการอักเสบ เพิ่มภูมิต้านทาน[3] และมีรายงานว่า พบว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทนของกำลังวัวเถลิง ซึ่งพบสารจำพวกฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดเอออร์ตา (aorta) ในหนูขาว ซึ่งมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นสารที่ช่วยป้องกันโรคหัวใจตีบ[11]

จากการหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดกำลังวัวเถลิงพบว่าสารสารสกัดเมธานอลให้สารทั้งสองชนิดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอื่น ซึ่งอธิบายได้ว่าสารจำพวกฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบที่มีหมู่ hydroxyl ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่ทำให้ความมีขั้วของโมเลกุลของสารมากขึ้น จึงสามารถละลายออกมากับตัวทำละลายที่มีขั้วมากอย่างเช่น เมธานอล[12] สอดคล้องกับงานวิจัยของ Marvibaigi และคณะ[13] ที่พบว่าสารสกัดด้วยเมธานอลจาก *Scurrula ferruginea* ให้ค่าปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณที่สูง

อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาแรกที่รายงานปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากต้นกำลังวัวเถลิงซึ่งพบว่ามีปริมาณสูงมาก เช่น ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดเมธานอลของกำลังวัวเถลิงมีค่าเท่ากับ คือมีค่าเท่ากับ 520.26 ± 21.08 mg GAE/1g extract ในขณะที่มีรายงานของสารสกัดจากมะขามป้อมซึ่งเป็นสมุนไพรที่การแพทย์พื้นบ้านไทยใช้เป็นยาอายุวัฒนะเช่นเดียวกัน โดยให้ค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 37.03 ± 12.44 mg GAE/ g extract [14]

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging พบว่าสารสกัดเมธานอลให้ฤทธิ์ดีที่สุด เนื่องจากพบสารจำพวกฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จำนวนมากนั่นเอง ซึ่งจากรายงานพบว่าสารจำพวกดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แรงมาก [3] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีส่วนช่วยในการป้องกันโรคเรื้อรังหลายชนิด เช่น โรคหัวใจหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์เป็นต้น [15]

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสารสกัดเมธานอลจากกำลังวัวเถลิงมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงมากและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แรง ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับการป้องกันโรคเรื้อรังหลายชนิด และข้อมูลดังกล่าวเป็นการยืนยันสรรพคุณของการแพทย์พื้นบ้านที่ใช้กำลังวัวเถลิงเป็นยาอายุวัฒนะ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกำลังวัวเถลิงมีศักยภาพสูงที่จะพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์สุขภาพอื่นๆ เพื่อใช้รักษาหรือป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

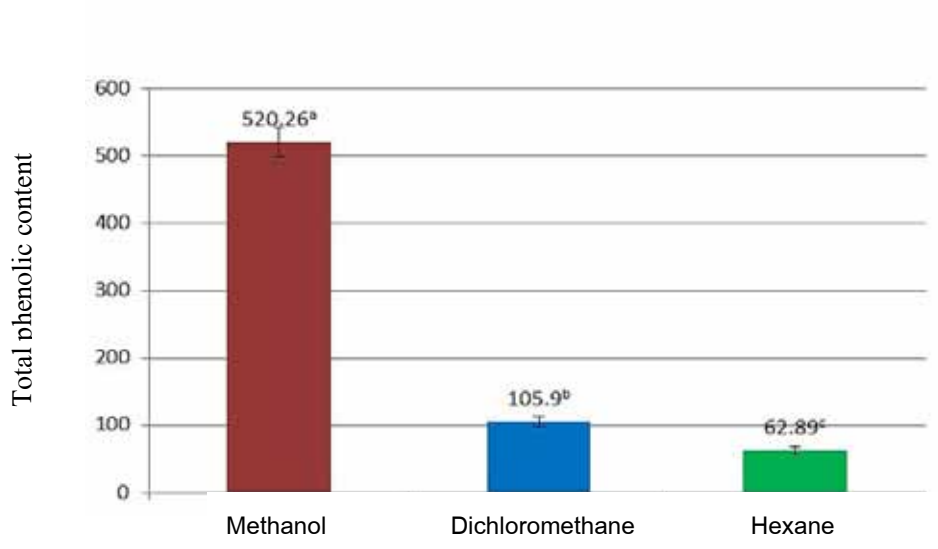
เอกสารอ้างอิง

1. Sarma AD, Mallic AR, Ghosh AK. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. Int J Pharm Sci Rev Res 2010; 1: 185-192.
2. Denisov ET, Denisova TG, PokidovaTs. Handbook of free radical initiators. Moscow: Institute of Problems of Chemical Physics, 2005.
3. Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. J Med Plant Res 2011; 5(31) : 6697-6703
4. ปิยะ เฉลิมกลิ่น และจิรายุพินจันทรประสงค์. กำลังวัวเถลิง. ใน: ราชบัณฑิตยสถาน, รรณาธิการ. อนุกรมวิธานพืชอักษร ก. กรุงเทพฯ: อรุณการพิมพ์, 2546.
5. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Sciencia 2011. 1(1): 98-106.
6. Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Troeste: International centre for science and high technology, 2008.
7. Trease GE, Evans. Pharmacognosy. 15th ed. Edinburgh: Saunders Publishers, 2002.
8. Kulkarni M, Singhal R, Bhise K, Tambe R. Total flavonoid, total phenolic content in-vitro anti inflammatory and antioxidant activity of extracts of two medicinal plants. J Pharm Res 2014; 8(4): 584-588.
9. Jia Z, Tang M, Wu J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals 1999. Food Chem. 64: 555-559.
10. Chu YH, Chang CL, Hsu HF, Flavonoids content of several vegetables and their antioxidant activity. Sci Food Agric 2000; 80 :561-566.
11. Tep-Areenan P, SawasdeeP.TheVasorelaxant Effects of *Anaxagorealuzonensis*A. Grey in the Rat Aorta. Int J Pharmacol 2011, 7 (1), 119-124.
12. Medini F, Fellah H, Ksouri R, Abdelly C. Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. J TaibahUnivSci 2014; 8: 216–224
13. Marvibaigi M,Amini N,Supriyanto E, AdibahF,Majid A, Kumar S *& et al*. Antioxidant Activity and ROS-Dependent Apoptotic Effect of *Scurrulaferruginea*(Jack) Danser Methanol

Extract in Human Breast Cancer Cell MDA-MB-231. Plos One 2016; 11(7): 1-36.

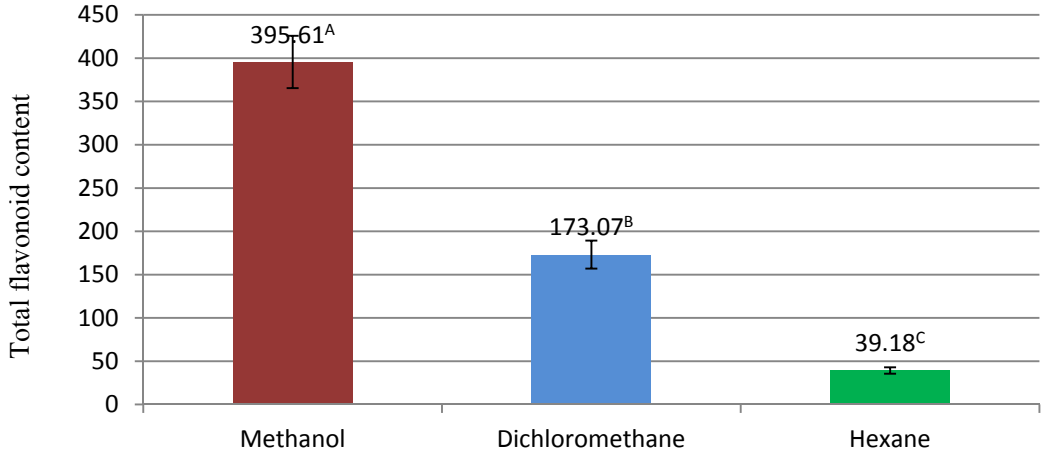
14. Judprasong K, Charoenkiatkul S, Thiyajai P, Sukprasansap M. Nutrients and bioactive compounds of Thai indigenous fruits. *Food Chem* 2013. 140: 507-512.

15. Sarma AD, Mallic AR, Ghosh AK. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. Int J Pharm Sci Rev Res 2010; 1: 185-192.



*Difference letters above each bar shows statistically significant differences(p<0.05)

Figure 1 Total phenolic content of the herbal extracts (n=3)



* Difference letters above each bar shows statistically significant differences(p<0.05)

Figure 2 Total flavonoid content of the herbal extracts (n=3)

Table 1 DPPH scavenging activity of the herbal extracts and the isolated compound

Samples	50% DPPH scavenging activity (IC_{50} µg/mL)
Ascorbic acid	$9.26\pm0.14^{A*}$
Methanol	14.46 ± 1.10^{A}
Dichloromethane	369.73 ± 13.17^{B}
Hexane	577.57 ± 23.46^{C}

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