

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันและป้องกันการทำลาย
ดีเอ็นเอของพืชผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยบางชนิด

(Antioxidative Capacity and DNA Damage Protection
Capacity of Some Thai Indigenous and Medicinal Plants)

โดย

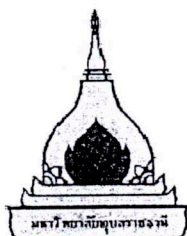
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไชยวัฒน์ ไชยสุต และคณะ

600256173

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



250776



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันและป้องกันการทำลาย
ดีเอ็นเอของพืชผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยบางชนิด

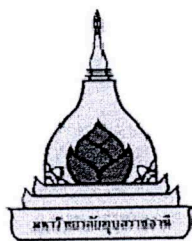
(Antioxidative Capacity and DNA Damage Protection
Capacity of Some Thai Indigenous and Medicinal Plants)

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไชยวัฒน์ ไชยสุต และคณะ



2555



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันและป้องกันการทำลาย
ดีเอ็นเอของพืชผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยบางชนิด

(Antioxidative Capacity and DNA Damage Protection
Capacity of Some Thai Indigenous and Medicinal Plants)

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผศ.ดร.ไชยวัฒน์ ไชยสุด

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ.ดร.สุนีย์	จันทร์สากว	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
นายเจริญพงษ์	แตรผ่องแผ้ว	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
นายประสิทธิ์	สุวรรณเลิศ	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
นายเฉลิมพงษ์	แสนจุ่ม	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
นายสารทจิน	ภีระจันทร์	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผศ.ดร.ชุตินันท์	ประสิทธิ์ภูริปรีชา	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2549 – 2550

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง ความสามารถในการต้านออกซิเดชันและป้องกันการทำลายดีเอ็นเอของพืชผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยบางชนิด

ผู้วิจัย ผศ.ดร. ไชยวัฒน์ ไชยสุด
ผศ.ดร. สุนีย์ จันทร์สกา
นายเจริญพงษ์ แตรผ่องแผ้ว
นายประสิทธิ์ สุวรรณเลิศ
นายเฉลิมพงษ์ แสนจุ่ม
นายสารทจีน ภีระจันทร์
ผศ.ดร. ชูตินันท์ ประสิทธิ์ภูมิรักษา
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก

รายได้มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีเพื่อการพัฒนาและสนับสนุนงานวิจัย
งานส่งเสริมการวิจัย สำนักงานอธิการบดี ปีงบประมาณ 2549
จำนวนเงิน 400,000 บาท

ระยะเวลาทำวิจัย 24 เดือน

ศัพท์สำคัญ ด้านออกซิเดชัน, อนุมูลอิสระ, ทำลายดีเอ็นเอ, อิเล็กโทรโฟริซิส

250776

.....

ความไม่สมดุลระหว่างภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (Oxidative stress) กับสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เป็นสาเหตุสำคัญต่อการเกิด และการดำเนินของโรคเรื้อรัง โดยเฉพาะมะเร็ง และโรคหัวใจ ผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยซึ่งถือว่าเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ด้านการอักเสบที่พบได้ตามธรรมชาติ อาจช่วยในการทำหน้าที่ป้องกันโรคเรื้อรังสำคัญดังกล่าว ในการศึกษานี้จะทำการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Anti-oxidation activity) ในตัวอย่างผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยจำนวน 44 ชนิด โดยทุกตัวอย่างถูกนำมาสกัดโดยน้ำกลั่น และเอทานอล จากนั้นนำไปศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) free radical, Reducing power (FRAP Assay) และ chelating effect on ferrous จากการศึกษาพบว่าตัวอย่างผักพื้นบ้านและตัวอย่างสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากที่สุด คือ ข่าเลือดและสมอเทศ ตามลำดับจากการคัดเลือกตัวอย่างผักพื้นบ้านจำนวน 5 ชนิดคือ ข่าเลือด แพงพวย เม็ก ผักไผ่น้ำและติ้ว ส่วน

250776

สมุนไพรอีก 5 ชนิดคือ สมอเทศ มะขามป้อม สมอพิเภก จตุผลริกะ และสมอไทย ซึ่งมีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระได้ดี มาศึกษาความสามารถในการป้องกันการทำลายดีเอ็นเอที่เหนียวนาโดยอนุมูลอิสระ โดยพบว่าสารสกัดผักพื้นบ้านและสารสกัดสมุนไพรที่มีความสามารถในการป้องกันการทำลายดีเอ็นเอจากอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สารสกัดเม็ก และสารสกัดสมอเทศ ตามลำดับ สำหรับการศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames test พบว่า สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ของผักไผ่ น้ำ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ด้านเชื้อ *Salmonella typhimurium* TA 98 (เส้นผ่าศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 10 มิลลิเมตร) การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* TA98 พบว่าสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ของพืชที่นำมาทดสอบ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium* TA 98 ในภาวะที่มี S9-mix โดยมีค่า Mutagenicity Index (MI) ของสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ของชำเลียด แพงพวย สมอเทศ สมอพิเภก สมอไทย ดี้ว เม็ก และมะขามป้อม เท่ากับ 0.11, 0.83, 0.87, 0.28, 0.63, 1.66, 1.24 และ 0.70 ตามลำดับ ส่วนการทดสอบฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ของสารก่อกลายคือ 2-aminoanthracene (2-AA) และ 2-aminofluorene (AF2) ไม่สามารถวิเคราะห์ผลได้ เนื่องจากเชื้อไม่สร้างโคโลนี

Abstract

Research title Antioxidative Capacity and DNA Damage Protection Capacity of Some Thai Indigenous and Medicinal Plants

Researcher Chaivavat Chaiyasut, Ph.D.

Sunee Chansakaow, Ph.D.

Jaroenpong Traepongpaew

Prasit Suwannalert, M.Sc.

Chutinun Prasitpuriprecha, Ph.D.

Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University

Faculty of Pharmacy, Ubonratchatani University

This research was financially supported by

Ubonratchathani University

Fiscal year 2005

400,000 Baht

Research duration 24 months

Key words Antioxidants, Free radicals, DNA Damage, Electrophoresis

250776

.....

An imbalance between oxidative stress and antioxidant capacity has been proposed to play an important role in the development and progression of chronic diseases, especially, cancers and coronary heart disease. Some Thai Indigenous and Medicinal Plants, natural source of antioxidant and anti-inflammation compounds, may play role for preventing these diseases. This study was carried out to investigate anti-oxidation activity 44 some Thai Indigenous and Medicinal Plants. All samples were extracted by distilled water and ethanol and assayed anti-oxidation activity by ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) free radical, Reducing power (FRAP Assay) and chelating effect on ferrous. Thai Indigenous and Medicinal Plants with highest anti-oxidation activity are *Caesalpinia momosoides* Lamk and *Terminalla* sp., respectively. Anti-oxidation activity of some Thai Indigenous and Medicinal Plants may be a crucial role in preventing chronic diseases which related to oxidative stress from free radicals. The high anti-oxidant

250776

activity of 5 Thai Indigenous (*Caesalpinia momosoides* Lamk., *Jussiaea repens* Linn., *Eugenia grata* Wight. Var. *Collinae* Craib, *Polygonum flaccidum* Meissn. and *Cratoxylum Formosum* Dyer) and 5 Medicinal Plants (*Terminalia* sp., *Phyllanthus emblica* Linn., *Terminalia belerica* Roxb., Cha tu phala thi ka and *Terminalia chebula* Retz.) were selected for free radical-induced DNA damage prevention. It was found that the highest DNA damage prevention of Thai Indigenous and Medicinal Plants were *Eugenia grata* Wight. Var. *Collinae* Craib and *Terminalia* sp., respectively. This research was also investigated for the mutagenic activity and antimutagenic activity by Ames test. The powdered plants were extracted with ethanol. The antimutagenicity on *Salmonella typhimurium* TA 98 was found in the extracts from 100 mg/ml of *Polygonum flaccidum* Meissn. (Clear zone 10 mm.). All extracts have no mutagenic activity on *Salmonella typhimurium* TA98 in the presence of S9-mix with Mutagenicity index (MI) of *Caesalpinia momosoides* Lamk., *Jussiaea repens* Linn., *Terminalia* sp., *Terminalia belerica* Roxb., *Terminalia chebula* Retz., *Cratoxylum Formosum* Dyer, *Eugenia grata* Wight. Var. *Collinae* Craib and *Phyllanthus emblica* Linn. were 0.11, 0.83, 0.87, 0.28, 0.63, 1.66, 1.24 and 0.70, respectively. The antimutagenic activity of those extracts on 2-aminoanthracene (2AA) and 2-aminofluorene (AF2) cannot be interpreted because *Salmonella typhimurium* TA 98 was not form any colony.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ได้ช่วยสนับสนุนในด้านสถานที่ และเครื่องมืออุปกรณ์ในการดำเนินการวิจัย และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ผู้ซึ่งให้การสนับสนุนทุนวิจัย

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	i
Abstract	iii
กิตติกรรมประกาศ	v
สารบัญ	vi
สารบัญตาราง	vii
สารบัญรูป	viii
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	4
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	42
บทที่ 4 ผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย	53
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	90
เอกสารอ้างอิง	95

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 3.1 ตารางการแปลผล Anti mutagenic activity	52
ตารางที่ 3.2 ตารางแปลผลฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์	53
ตารางที่ 4.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างสารสกัดผักพื้นบ้าน โดยวิธี ABTS	55
ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างสมุนไพร โดยวิธี ABTS	58
ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างผักพื้นบ้าน โดยวิธี FRAP assay	63
ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างสมุนไพร โดยวิธี FRAP assay	66
ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างผักพื้นบ้าน โดยวิธี Chelating	70
ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างสมุนไพร โดยวิธี Chelating	76
ตารางที่ 4.7 ความสามารถในการป้องกันการทำลายดีเอ็นเอจากอนุมูลอิสระ	86
ตารางที่ 4.8 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Salmonella typhimurium</i> TA98	87
ตารางที่ 4.9 จำนวนโคโลนีของเชื้อ <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 ที่ทดสอบ	88
ตารางที่ 4.10 ค่า Mutagenicity index (MI) ของฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ใน สภาวะ+S9	89
ตารางที่ 4.11 จำนวนโคโลนีของเชื้อ <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 ในฤทธิ์ ก่อกลายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	89

สารบัญรูป

รูป	หน้า
รูปที่ 2.1 การทำงานของ antioxidant defense system ในร่างกาย	9
รูปที่ 4.1 แสดงกราฟมาตรฐานของ Trolox โดยวิธี ABTS free radical decolorizing assay	54
รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของ Ferrous sulfate โดยวิธี Reducing power of ferric	62
รูปที่ 4.3 แสดงกราฟมาตรฐานของ EDTA โดยวิธี Chelating effect on ferrous	69
รูปที่ 4.4 แสดงแผนภาพอิเล็กทรอนิกส์ของ plasmid DNA pUC18 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดสมอเทศ : (A) control; (B) 1 µg/ml; (C) 5 µg/ml; (D) 25 µg/ml; และ (E) 50 µg/ml	83
รูปที่ 4.5 แสดงแผนภาพอิเล็กทรอนิกส์ของ plasmid DNA pUC18 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐาน quercetin (A) control; (B) 1 µg/ml; (C) 5 µg/ml; (D) 25 µg/ml; และ (E) 50 µg/ml	83
รูปที่ 4.6 แสดงแผนภาพอิเล็กทรอนิกส์ของ plasmid DNA pUC18 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดมะขามป้อม: (A) control; (B) 1 µg/ml; (C) 5 µg/ml; (D) 25 µg/ml; และ (E) 50 µg/ml	84
รูปที่ 4.7 แสดงแผนภาพอิเล็กทรอนิกส์ของ plasmid DNA pUC18 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดผักไผ่น้ำ: (A) control; (B) 1 µg/ml; (C) 5 µg/ml; (D) 25 µg/ml; และ (E) 50 µg/ml	84
รูปที่ 4.8 แสดงแผนภาพอิเล็กทรอนิกส์ของ plasmid DNA pUC18 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดขี้เหล็ก: (A) control; (B) 1 µg/ml; (C) 5 µg/ml; (D) 25 µg/ml; และ (E) 50 µg/ml	84
รูปที่ 4.9 แสดงแผนภาพอิเล็กทรอนิกส์ของ plasmid DNA pUC18 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดเม็ก: (A) control; (B) 1 µg/ml; (C) 5 µg/ml; (D) 25 µg/ml; และ (E) 50 µg/ml	84
รูปที่ 4.10 dose-response relationshipของจุดผลลิกะ	90