รายงานการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากพืชสมุนไพรจังหวัดอุบลราชธานี

The screening of free radical scavenging, antioxidative and tyrosinase inhibitory activities of Ubonratchathani medicinal plants

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

นางสาวระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์

คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ผู้ร่วมวิจัย

นายทรงพร จึงมั่นคง

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

หมวดเงินอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณเงินรายได้ 2546

กิตติกรรมประกาศ

ในโครงการวิจัยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากพืชสมุนไพรจังหวัดอุบลราชธานี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ สำหรับทำวิจัย

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการที่อำนวยความสะดวกด้านในการใช้ห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกฝ่ายที่มีส่วนเกี่ยวข้องทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอบขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่ให้ทุนในการดำเนินงานในโครงการวิจัยจนเสร็จสิ้น

รายงานการวิจัยเรื่อง	การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากพืชสมุนไพรจังหวัดอุบลราชธานี
หัวหน้าโครงการวิจัย	นางสาวระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์
ผู้ร่วมโครงการวิจัย	นายทรงพร จึงมั่นคง
คณะเภสัชศาสตร์	มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปีงบประมาณเงินรายได้	2546
งบประมาณที่ได้รับ	40,000 บาท
คำสำคัญ	Free radical scavenging activity, antioxidants, tyrosinase inhibitory activity, screening assay, medicinal plants

บทคัดย่อ

จากการศึกษาสิ่งสกัด ethyl acetate และ ethanol 22 ชนิดจากพืชที่พบทั่วไปในจังหวัดอุบลราชธานี 11 ต้น โดยนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้าน oxidation และฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase พบว่าสิ่งสกัด ethanol ของใบพอกแสดงฤทธิ์ปานกลางในการต้านอนุมูลอิสระ และสิ่งสกัด ethanol จากใบการเวกแสดงฤทธิ์แรงในการยับยั้ง tyrosinase จากนั้นนำสิ่งสกัด ethanol จากใบการเวกไปแยกเป็น fraction โดยใช้ gel column chromatography ได้ 7 fraction และนำแต่ละ fraction ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase พบว่า fraction 2 เป็น fraction แสดงฤทธิ์นี้ดีที่สุด

Research report name	The screening of free radical scavenging, antioxidative and tyrosinase inhibitory activities of Ubonratchathani medicinal plants
Head of project	Miss rawiwun Kaewamatawong
Co-researcher	Mr. Zongporn Joungmunkong
Institute	Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University
In Finance Year	2546 for 40,000.- Baht
Keyword	Free radical scavenging activity, antioxidants, tyrosinase inhibitory activity, screening assay, medicinal plants

Abstract

Twenty two ethyl acetate and ethanol extracts from eleven plants, found throughout Ubonratchathani were investigated in free radical scavenging, antioxidative and tyrosinase inhibiting activities. The ethanol extract of *Parinari anamense* showed moderate free radical scavenging activity. The ethanol extract of *Artabotrys hexapetalus* exhibited promising tyrosinase inhibiting activity. This extract were fractionated to 7 fractions by gel column chromatography. Each fraction were performed tyrosinase inhibiting activity. Fraction 2 of the extract showed a good result in this activity.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวน	
2.1 อนุมูลอิสระ (Free radicals) และ Reactive oxygen species	3
2.2 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ (Free radicals) และ Reactive oxygen species.	3
2.3 สารที่มีฤทธิ์ต้าน Oxidation (Antioxidants)	4
2.4 Tyrosinase	5
2.5 Tyrosinase inhibitors	6
2.6 พืชที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย	7
บทที่ 3 วิธีวิจัย	
3.1 แหล่งที่มาของตัวอย่าง	13
3.2 สารเคมีและเครื่องมือ	13
3.3 เทคนิคทั่วไป	14
3.4 วิธีเตรียมสารสกัดจากพืช	14
3.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	15
3.6 การแยกสิ่งสกัดเพื่อหา Fraction ที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ	15
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผล	
4.1 ผลการเตรียมสิ่งสกัด	17
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	
4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	17
4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidation	17

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 (ต่อ)	
4.2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง Tyrosinase	27
4.3 การแยก Fraction ของสิ่งสกัด ethanol ของใบการเวกและการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase ของ fraction ต่าง ๆที่แยกได้	28
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	30
บรรณานุกรม	31
ภาคผนวก	34
ประวัตินักวิจัย	36

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของอนุมูลอิสระและ Reactive oxygen species 3
ตารางที่ 2 แสดงน้ำหนักแห้งของพืชและน้ำหนักของสิ่งสกัดชั้น Ethyl acetate และชั้น ethanol..... 18
ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสิ่งสกัดชั้น Ethyl acetate และ ethanol 19
ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 1 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol..... 20
ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 2 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol 21
ตารางที่ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 3 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol 22
ตารางที่ 7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 4 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol 23
ตารางที่ 8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 5 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol 24
ตารางที่ 9 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 6 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol 25
ตารางที่ 10 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 7 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol 26
ตารางที่ 11 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง Tyrosinase ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol..... 27
ตารางที่ 12 Fraction ของสิ่งสกัด ethanol ของใบการเวก..... 28
ตารางที่ 13 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง Tyrosinase ของ fraction ที่แยกจากสิ่งสกัด ethanol ของใบการเวก..... 29

คำอธิบายสัญลักษณ์

ซม.	=	เซนติเมตร
ม.	=	เมตร
g	=	กรัม
l	=	ลิตร
mg	=	มิลลิกรัม
ml	=	มิลลิลิตร
µg	=	Microgram
µl	=	Microliter
TLC	=	Thin layer chromatography
UV	=	Ultraviolet

บทที่ 1
บทนำ

อนุมูลอิสระ (Free radicals) ได้แก่ superoxide ($O^{\bullet -}_2$), peroxyl (ROO•), alkoxyl (RO•), hydroxyl (HO•) และ nitric oxide (NO•) เกี่ยวข้องกับหน้าที่หลายอย่างในร่างกายมนุษย์ เช่น การสร้างพลังงานของ cell การควบคุมการเจริญของ cell และทำหน้าที่กำจัดเชื้อโรค เป็นต้น

ในภาวะปัจจุบัน มีปัจจัยต่างๆทั้งจากภายนอกและภายใน เช่น มลภาวะต่างๆ การได้รับรังสีจากดวงอาทิตย์เป็นปริมาณมาก การสูบบุหรี่ การบริโภคอาหารไขมันสูง หรือ ความตึงเครียดทางอารมณ์ ทำให้ร่างกายสร้างอนุมูลอิสระในจำนวนสูงขึ้นกว่าปกติเกินกว่าร่างกายจะนำไปใช้ประโยชน์ และกำจัดทิ้งได้ อนุมูลอิสระที่เกินพอจะสามารถออกซิไดซ์องค์ประกอบต่างๆของร่างกายอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) เช่น กับ polyunsaturated fatty acid ที่เป็นส่วนประกอบพื้นฐานของ cell membrane กับ protein หรือ กับ DNA ทำให้สารเหล่านี้เสียคุณสมบัติไป ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพต่างๆ ได้แก่ ในระบบผิวหนังทำให้เกิดภาวะ aging เช่น เกิดรอยเหี่ยวย่น (wrinkle) เกิดเป็นจุดสี (lipofusin spot) หรือเป็นมะเร็งผิวหนังบางชนิด ในระบบหัวใจและหลอดเลือด ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว ส่วนในระบบสมองพบว่าเป็นสาเหตุร่วมในการเกิดโรค parkinson ดังนั้นสารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระและต้านการเกิด oxidation จึงมีบทบาทในการป้องกันหรือยับยั้งความรุนแรงของอาการหรือโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ นอกจากนั้นอนุมูลอิสระยังเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ เช่น อาหาร หรือเครื่องสำอาง เกิดกลิ่นหืน (rancidity) ได้ (Papus, 1999)

ไทโรซิเนส (Tyrosinase) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสร้างเมลานิน (melanin) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดสีที่ผิวหนัง ดังนั้นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงมีผลยับยั้งการสร้างเมลานินได้ สารเหล่านี้จะมีประโยชน์ในการรักษาโรคผิวหนังบางชนิด เช่น ฝ้า กระ และ melasnoma นอกจากนี้ยังอาจพัฒนาเป็นสารที่ช่วยให้ผิวขาว (whitening agent) ที่ใช้ในเครื่องสำอางได้อีกด้วย (Masuda *et al*, 1996)

พืชเป็นแหล่งสำคัญในการให้สารที่มีฤทธิ์เหล่านี้ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้าน oxidation เช่น catechin derivatives จากชา *Thea sianensis* (Vinson *et al*, 1995), silymarin จาก *Silybum marianum* (Dewick, 1998) ส่วนสารที่มีฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase ได้แก่ arbutin จาก *Turnera diffusa* (Piacente *et al*, 2002)

บทที่ 2
ทบทวน

2.1 อนุมูลอิสระ (Free radicals) และ Reactive oxygen species

หมายถึง Atom ของสาร หรือโมเลกุลของสารประกอบเคมีใดๆ ก็ตามที่มี electron ไม่ครบคู่ หรือโมเลกุลของสารบางชนิดที่มีพฤติกรรมเหมือนอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระมักเกิดกับโมเลกุลที่มี oxygen เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นอาจจะเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า reactive oxygen species (ROS) ตัวอย่างของอนุมูลอิสระดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของอนุมูลอิสระและ reactive oxygen species

Radicals		Non-radicals	
$O^{\bullet -}_2$	superoxide	H_2O_2	hydrogen peroxide
HO•	hydroxyl radical	$^1O_2$	singlet oxygen
HO_2•	hydroperoxyl radical	LOOH	lipid hydroperoxide
L•	lipid radical	Fe=O	iron-oxygen complex
LO_2•	lipidperoxyl radical	HOCl	hypochlorite
LO•	lipid alkoxy radical		
NO_2•	nitrogen dioxide		
•NO	nitric oxide		
RS•	thiyl radical		
P•	protein radical		

2.2 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ (Free radicals) และ Reactive oxygen species

อนุมูลอิสระ (Free radicals) และ Reactive oxygen species สามารถเกิดปฏิกิริยาได้หลายแบบ ดังนี้

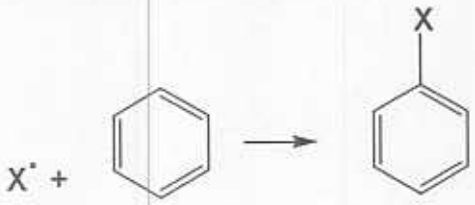
1. Hydrogen atom transfer reaction

$$X^{\bullet} + RH \longrightarrow XH + R^{\bullet}$$

$$X^{\bullet} + RH \longrightarrow X^{\bullet -} + RH^{\bullet +} \longrightarrow XH + R^{\bullet}$$

2. Addition reaction

3. Aromatic substitution reaction



4. β-scission reaction

5. Coupling reactions

อนุมูลอิสระ (Free radicals) และ Reactive oxygen speciesจะเป็นสารที่ไม่เสถียร ดังนั้น จึงเกิดปฏิกิริยาได้ว่องไว และสามารถเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆในร่างกาย เช่น lipid, protein, carbohydrate หรือ DNA ภาวะที่อนุมูลอิสระ (Free radicals) และ Reactive oxygen species มากเกินไปจะทำให้เกิดแล้วก่ออันตรายแก่ร่างกาย เรียกภาวะนี้ว่า oxidative stress

Oxidative stress ที่เกิดขึ้นจะเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (arterosclerosis) ทำให้เกิดภาวะ aging เช่น เกิดรอยเหี่ยวย่น (wrinkle) เกิดเป็นจุดสี (lipofusin spot) เป็นสาเหตุร่วมในการเกิดโรคมะเร็ง และการเกิดโรค Parkinson

2.3 สารที่มีฤทธิ์ต้าน Oxidation (Antioxidants)

สิ่งมีชีวิตที่ใช้ oxygen จะใช้กลไกหลายอย่างเพื่อยับยั้งภาวะ oxidative เช่น

2.3.1 ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ

2.3.1.1 ยับยั้งขั้นตอนการสลายตัวให้อนุมูลอิสระของสาร เช่น catalase ยับยั้ง hydrogen peroxide ไม่ให้สลายตัวต่อให้ $^{\bullet}OH$ radical

2.3.1.2 จับโลหะบางชนิดที่กระตุ้นการเกิด oxidation เช่น ร่างกายใช้ transferrin ในการจับเหล็ก ซึ่งเหล็กสามารถกระตุ้นให้เกิดการ oxidation ได้

2.3.1.3 ทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นหมดฤทธิ์ไปไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่อง เช่น β-carotene, vitamin E, SOD

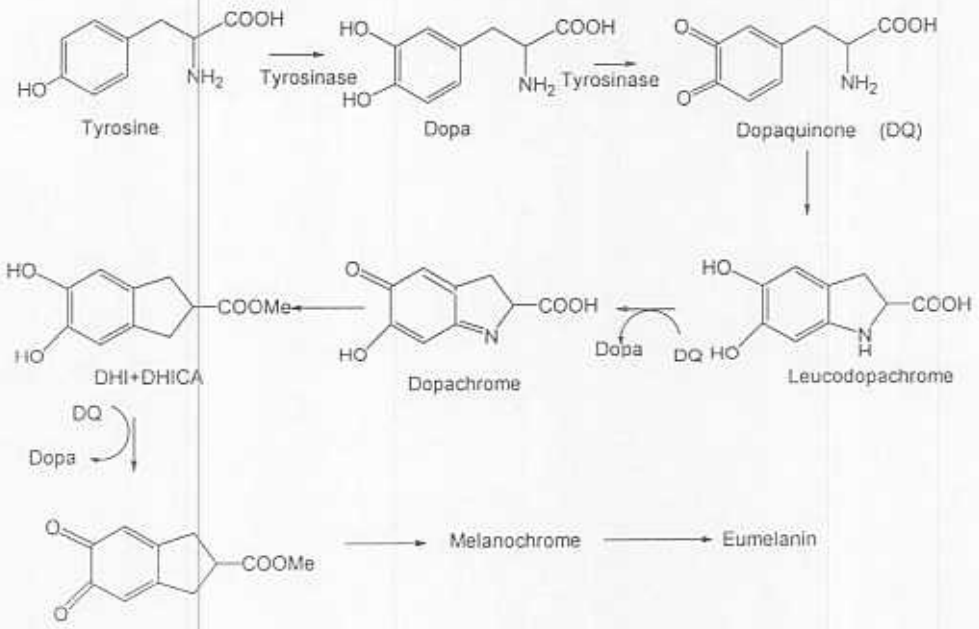
2.3.2 ใช้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น vitamin C, ubiquinone, carotenoid, flavonoids, uric acid

2.3.3 ซ่อมแซมส่วนที่เกิดปฏิกิริยา oxidation แล้ว เช่น lipase, protease, DNA repair enzyme, transferase

2.3.4 เพิ่มการสร้างและหลั่ง antioxiadtive enzyme เมื่อเกิดภาวะ oxidative stress ขึ้น (Papas, 1999)

2.4 Tyrosinase

Tyrosinase เป็น copper containing polyphenol oxidase enzyme (Whitaker,1995) มีหน้าที่สำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนชีวสังเคราะห์ของ melanin ในจุลชีพ พืช สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดย enzyme นี้จะ catalyze ปฏิกิริยา hydroxylation ของ monophenol ให้เป็น *O*-diphenol และ oxidize *O*-diphenol ให้เป็น *O*-quinone ซึ่งจะกลายเป็น melanin ต่อไป ดังรูปที่ 1 (Lee and Kim, 1995)

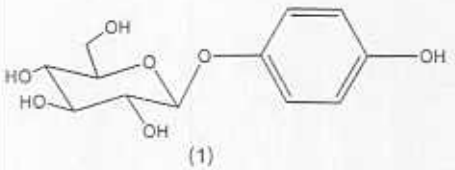


รูปที่ 1 Melanin synthesis pathway

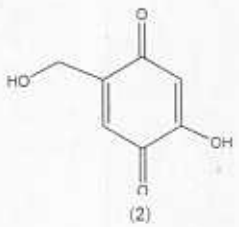
ในมนุษย์ melanin จะพบมากที่ผิวหนัง ทำหน้าที่ป้องกันผิวหนังจากแสงแดด melanin จะถูกสร้างขึ้นมาจำนวนมากจากสิ่งเร้าต่างๆ เช่น การได้รับแสงอาทิตย์ การได้รับสารบางชนิด เป็นต้น การมี melanin มาสะสมที่ผิวหนังมากจะทำให้ผิวหนังส่วนนั้นมีสีคล้ำ เรียก hyperpigmentation ภาวะผิวหนังผิดปกติจาก hyperpigmentation เช่น melasma, freckles เป็นต้น (Matsuda *et al*, 1996) นอกจากมีบทบาทในมนุษย์แล้ว ในพืช melanin เป็นเม็ดสีชนิดหนึ่งและการถูกกระตุ้นให้สร้าง melanin จำนวนมากเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผัก ผลไม้เปลี่ยนเป็นสีคล้ำ และในส่วนของแมลง tyrosinase มีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการลอกคราบของแมลง (Kubo and Kinst-Hori, 1998)

2.5 Tyrosinase inhibitors

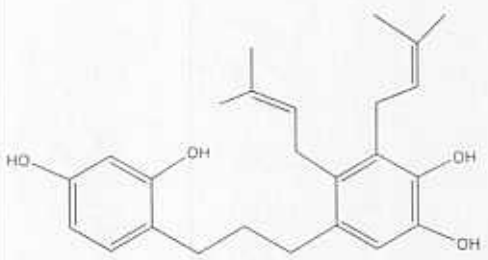
เป็นสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของ tyrosinase ปัจจุบันมีการ tyrosinase inhibitor อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ตัวอย่างของ tyrosinase inhitor ได้แก่ arbutin (1), kojic acid (2), paper mulberry compound (3) เป็นต้น นอกจากนั้น tyrosinase inhibitor ยังได้รับความสนใจในแง่ของสารควบคุมแมลง (Shimizu *et al*, 2003)



(1)



(2)



(3)

2.6 พืชที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

2.6.1 เมื่อย *Gnetum latifolium* Blume var. *funiculare* (Bl.) Markgr.

วงศ์ Gnetaceae

ลักษณะทั่วไป

เป็นไม้เถาเนื้อแข็ง กิ่งเป็นข้อต่อกันและตามข้อจะบวมพอง ใบ เดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปขอบขนานแกมรูปใบหอก กว้าง 5 – 6 ซม. ยาว 13 – 16 ซม. เนื้อใบบางเหนียว ดอกช่อ แยกเพศอยู่บนต้นเดียวกัน ช่อดอกตัวผู้ออกที่ปลายยอดหรือตามลำต้น ดอกย่อย 30-50 ดอก ช่อดอกตัวเมียคล้ายช่อดอกตัวผู้ ผลสดรูปไข่กลับ เมื่อสุกสีส้ม

สรรพคุณ

ยาพื้นบ้านอีสานใช้ลำต้นผสมสมุนไพรอื่นต้มน้ำดื่มแก้ปวดเมื่อย (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2543)

2.6.2 การเวก *Artabotrys hexapetalus* (L.f.) Bhandari

วงศ์ Annonaceae

ลักษณะทั่วไป

เป็นไม้เถาเนื้อแข็ง เลื้อยได้ไกล 10 – 15 ม. พันขุ้มให้ร่มเงาได้ดี ยอดอ่อนสีเขียว เรียบ ไม่มีขนหรือมีน้อยมาก ใบ รูปไข่กลับ กว้าง 4 – 7 ซม. ยาว 8 – 16 ซม. ปลายใบแหลมโคนใบสอบ ขอบใบเรียบ ผิวใบเรียบ สีเขียวเข้มเป็นมัน ไม่มีขน ใบหนา ก้านใบยาว 1 ซม. ดอก ออกเป็นช่อดอกตรงข้ามใบ ก้านแบนและโค้งงอเป็นตะขอ ดอกอ่อนสีเขียว เมื่อบานแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มีกลิ่นหอม ก้านดอกยาว 1.5 – 2 ซม. กลีบเลี้ยงรูปไข่ สีเขียว ปลายกระดกขึ้น กลีบดอกเรียงเป็น 2 ชั้น แต่ละกลีบหนา รูปรี ปลายแหลม กลีบชั้นนอกกว้าง 1 – 1.5 ซม. ยาว 2.5 – 4.5 ซม. กลีบชั้นในมีขนาดเล็กกว่า กลีบดอกบานลู่ลง ผล ผลกลุ่ม ก้านช่อผลยาว 1.5 – 2 ซม. มีผลย่อย 7 – 15 ผล รูปกลมรีกว้าง 1.5 ซม. ยาว 2 ซม. ปลายผลเป็นติ่ง ผลอ่อนสีเขียว เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีเหลือง แต่ละผลมี 1 – 2 เมล็ด (ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 2544)

2.6.3 **สะแกแสง** *Cananga latifolia* Finet & Gagnep.

วงศ์ Annonaceae

ลักษณะทั่วไป

ไม้ต้น สูง 20 – 30 ม. ใบ เดี่ยวเรียงสลับ รูปไข่ป้อมกว้าง 7.5 – 16 ซม. ยาว 14 – 28 ซม. ปลายใบแหลม โคนใบกลมหรือเว้ารูปหัวใจเล็กน้อย แผ่นใบมีขนหนาแน่น ดอกช่อออกเป็นกระจุกที่ใกล้ซอกใบ ดอกย่อย 2 ดอก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 8.5 ซม. กลีบดอกสีเหลือง ก้านดอกช่อยาวประมาณ 3 มม. ใบประดับรูปวงรี กว้างประมาณ 7 มม. ยาวประมาณ 15 มม. กลีบเลี้ยงรูปสามเหลี่ยม มีขนหนาแน่น กว้างและยาว 1 ซม. กลีบดอกรูปใบหอกกลับ กว้างประมาณ 1.5 ซม. ยาวประมาณ 4 มม. เกสรตัวผู้จำนวนมาก ผลกลุ่มมีผลย่อย 20-30 ผล เมล็ด 1-5 เมล็ด

สรรพคุณ

รากและเนื้อไม้ มีรสเบื่อเมาแก้พิษไข้และพิษกาฬทั้งปวง (นันทวัน บุณยะประภัศร, 2539)

2.6.4 *Dipterocarpus intricatus* Dyer

วงศ์ Dipterocarpaceae

ลักษณะทั่วไป

ไม้ต้น สูง 20 – 30 ม. ผลัดใบ ลำต้นตรง เปลือกสีน้ำตาลเทา หนา 2 – 3 ซม. แตกเป็นสะเก็ด และเป็นร่องตามยาวลำต้น เรือนยอดทึบ กลม กะพี้สีขาวนวล แก่นสีน้ำตาลแก่ ใบรูปไข่ กว้าง 10 – 20 ซม. ยาว 15 – 25 ซม ปลายใบมน โคนใบหยักลึกเป็นรูปหัวใจ และค่อย ๆ สอบไปทางปลายใบ เนื้อใบหนา มีขนเป็นกระจุก ๆ สีเทา ทั่วไป โดยเฉพาะทางด้านล่าง เส้นแขนงใบมี 9 – 21 คู่ ก้านใบยาว 3 – 4 ซม. ดอก สีชมพูเข้ม ออกเป็นช่อเดี่ยวตามง่ามใบตอนปลายกิ่ง โคนของกลีบรองดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด และมีครีบขยุกขยิกไปตามยาว 5 ครีบ ตอนปลายแยกเป็น 5 แฉก มีแฉกยาว 2 แฉก กลีบดอกมี 5 กลีบ โคนประสานเหลื่อมกัน ปลายแยกและบิดเวียนตามกันเป็นรูปกังหัน เกสรผู้มี 30 อัน ผล แข็ง มีครีบสีแดง หัก พับเป็นชั้น ๆ ลงมาตามยาวของผล ปีกคู่ยาวกว้าง 1.5 – 2 ซม. ยาว 8 – 10 ซม. ขอบเรียบขนานกัน โคนจีบ ปลายทู่ มีเส้นกลางเส้นเดียว ปีกสั้น ๆ 3 ปีก

สรรพคุณ

ต้น มีน้ำมันยางใช้ใส่แผลได้ น้ำต้มเปลือก (ขณะร้อนๆ) ใช้ทาถูนวดแก้ปวดตามข้อ (ลีนา ผู้พัฒนพงศ์, 2530)

2.6.5 กระบก *Irvingia malayana* Oliver ex Bennett

วงศ์ Irvingniaceae

ลักษณะทั่วไป

เป็นไม้ต้น สูง 10 – 30 ม. เรือนยอดเป็นพุ่มทรงสูง ถึงค่อนข้างกลม ลำต้นเปลาตรง โคนต้นมักเป็นพูพอน เปลือกสีเทาแกมน้ำตาล ถึงน้ำตาลแดง ค่อนข้างเรียบ หรือแตกเป็นละเก็ด ใบ เดี่ยว เรียงสลับ แผ่นใบรูปรี หรือรูปรีแกมรูปขอบขนาน กว้าง 3 – 7 ซม. ยาว 5 – 10 ซม. ปลายใบแหลมเป็นติ่ง โคนใบแหลมหรือมนกลม ผิวใบเกลี้ยง เส้นแขนงใบ 8 – 10 คู่ ก้านใบยาว 0.8 – 1.5 ซม. หูใบเรียวแหลมโค้งรูปดาบม้วนหุ้มยอดอ่อน ยาว 1.5 – 3 ซม. ดอก เล็ก สีขาวนวล ออกเป็นช่อตามง่ามใบและปลายกิ่งยาว 5 – 15 ซม. ผล รูปกลม หรือรูปไข่ขนาดเล็ก กว้าง 2 – 3 ซม. ยาว 3.5 – 5 ซม. แก่สุกสีเหลือง มี 1 เมล็ด

ประโยชน์

เนื้อในเมล็ด รสมันกินได้ น้ำมันที่ได้จากเนื้อในเมล็ดใช้ทำอาหาร สบู่และเทียนไข (กรมป่าไม้, 2542)

2.6.6 แมงลักคา *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.

วงศ์ Lamiaceae

ลักษณะทั่วไป

ไม้ล้มลุก ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยม มีขน มีกลิ่นหอมแรง ใบ เดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปไข่ มักจะเบี้ยวเล็กน้อย ขอบจักเป็นฟันเลื่อยเล็ก ๆ ไม่เป็นระเบียบ ผิวใบมีขนทั้ง 2 ด้าน กว้าง 2.5 ซม. ยาว 2.5 – 6 ซม. ดอก ช่อออกตามง่ามใบ ช่อหนึ่งมี 2 – 5 ดอก ก้านช่อดอกยาว 0.5 – 1 ซม. มีขน ริ้วประดับเล็ก มีขนแข็ง ๆ กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นรูประฆัง ยาว 5 – 5.5 ซม. กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดเล็ก ๆ ปลายแยกเป็นปาก ปากบนมี 2 หยัก ปากล่างมี 3 หยัก เกสรเพศผู้มี 4 อัน ก้านเกสรไม่ติดกัน ผล แห้งไม่แตก รูปรี สีดำ

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ฆ่าหอย ป้องกันแมลง (นันทวัน บุณยะประภัศร, 2539)

2.6.7 หูเสือ *Coleus amboinicus* (Lour.) Spreng.

วงศ์ Lamiaceae

ลักษณะทั่วไป

พืชล้มลุก ต้นและใบฉ่ำน้ำ ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยม ใบเดี่ยว ออกตรงข้าม ใบรูปไข่กว้าง โคนใบทู่ หรือเกือบเป็นรูปหัวใจ ปลายใบมน ใบด้านบนสีเขียว เส้นใบลึกเป็นร่อง ดอกออกเป็นช่อ ยาวประมาณ 10 – 20 ซม. ดอกติดหนาแน่นเป็นวง ๆ รอบแกนกลาง เป็นระยะ ๆ มีขนใบประดับรูปไข่กว้างยาว 3 – 4 ซม. ปลายแหลม ก้านสั้น กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นหลอดรูประฆัง ยาว 2 – 4 มม. กลีบบนรูปไข่ปลายแหลม กลีบล่างปลายสอบแหลม ดอกขนาดเล็กสีม่วงอ่อน กลีบดอกเป็นท่อสั้น ปลายบานออก ผล เปลือกแข็ง เล็ก สีน้ำตาลอ่อน ผิวเรียบ กลมแป้น กว้างประมาณ 0.5 มม. ยาวประมาณ 0.7 มม.

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งเชื้อรา ยับยั้งยีสต์ ฆ่าแมลง ยับยั้งการงอกของพืชอื่น (นันทวัน บุณยะประภัศร, 2539)

2.6.8 เอนอ้า *Melastoma sanguineum* Sims.

วงศ์ Melastomataceae

ลักษณะทั่วไป

ไม้พุ่ม สูง 1 – 3 ม. บางครั้งพบสูงถึง 5 ม. กิ่งเป็นเหลี่ยม ปกคลุมด้วยขนแข็งยาวได้ถึง 8 มม. ใบ เดี่ยว เรียงตรงข้าม ใบรูปหอก กว้าง 2.5 – 4.5 ซม. ยาว 8 – 20 ซม. โคนกลม หรือแหลม ปลายเรียวแหลม มีขนแข็งเอน มีเส้นใบออกจากโคนใบไปจรดปลายใบ 5 – 7 เส้น ก้านใบยาว 0.8 – 2 ซม. ดอก สีม่วง ออกเป็นช่อ ดอกมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกอย่างละ 5 กลีบ บางครั้งพบมี 4 หรือ 6 กลีบ ใบประดับยาวถึง 10 มม. ด้านนอกคลุมด้วยเกล็ด ถ้วยรองดอกรูประฆัง ยาว 9 – 15 มม. ปกคลุมด้วยขนแข็งสีแดงยาว 6 – 10 มม. กลีบเลี้ยงเชื่อมกัน ปลายแยกเป็นพูรูปสามเหลี่ยมแคบ หรือรูปแถบยาว 6 – 10 มม. กลีบดอกรูปไข่กลับ ยาว 20 – 45 มม. มีขน เกสรเพศผู้มี 10 อัน บางครั้งพบ 8 หรือ 12 อัน มีรูปร่าง 2 แบบ เกสรเพศผู้ที่ติดบนกลีบเลี้ยง มีแกนอับเรณูยาวกว่าเกสรเพศผู้ที่ติดบนกลีบดอก แกนโค้ง มีรยางค์ซึ่งแบ่งเป็นสองพู แกนนี้ยาว 16 – 18 มม. อับเรณูสีม่วงยาว 12 – 15 มม. ส่วนอับเรณูด้านในแกนสั้น สีม่วง หรือสีเหลือง ยาวประมาณ 11 มม. รังไข่ติดแน่นกับฐานดอกที่ปลายปกคลุมด้วยขนสีทอง มี 5 ช่อง ผล แห้งแตก รูประฆัง ยาว 15 – 25 มม. เมื่อแก่แตกที่ปลาย และมีรอยปริบนผลตามยาว เนื้อแข็ง สีเหลือง เมล็ด เล็ก จำนวนมาก รูปก้นหอย ฝังอยู่ในเนื้อ

สรรพคุณ

แก้โรคท้องร่วง โรคระดูขาว และโรคบิด ใบ ช่อดอก ราก เป็นยาฝาดสมาน ราก ในเขมร ใช้เป็นยากระตุ้น และยาบำรุง ปรุงในยาชงดื่มแก้อาการรู้สึกไม่สบายกายและอาการมึนงง ใช้เป็นส่วนผสมในยารักษาตับ (ก่องกานดา ชยามฤต, 2544)

2.6.9 **มะพอก** *Parinari anamense* Hance.

วงศ์ Rosaceae

ลักษณะทั่วไป

เป็นไม้ต้น สูง 10 – 30 ม. ใบ เดี่ยว เรียงสลับ แผ่นใบรูปไข่ หรือรูปรี กว้าง 4 – 6 ซม. ยาว 6 – 15 ซม. ปลายใบเป็นติ่งสั้น ๆ โคนใบมน ขอบใบเรียบ เนื้อใบหนา ผิวใบมีขนสีขาวแกมน้ำตาล ท้องใบมีสีขาวเด่นชัด ดอก เล็ก สีขาว กลิ่นหอมอ่อน ๆ ออกเป็นช่อแยกแขนงที่ปลายกิ่ง ผล กลมรี กว้างประมาณ 3 ซม. ยาว 3 – 4 ซม. ผิวขรุขระคล้ายมีตุ่ม หรือสะเก็ดสีน้ำตาลเทาคลุม

สรรพคุณ

แก่นต้มน้ำดื่มและอาบแก้ประดง แก้ผื่นคันแดง ปวดแสบปวดร้อน และแก้น้ำเหลืองเสีย (กรมป่าไม้, 2542)

2.6.10 **มะสัง** *Feroniella lucida* Swing.

วงศ์ Rutaceae

ลักษณะทั่วไป

ไม้ต้น มีหนามตามลำต้น กิ่งอ่อนมีขนปกคลุม ใบ เป็นใบประกอบขนนก ชั้นเดียว หรือ 2 ชั้น ยาว 4.5 – 5.5 ซม. ออกเวียนเป็นเกลียว ตามกิ่งใบอ่อนออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน และตรงปลายจะมีใบยอดเพียงใดเดียว ใบรูปไข่ หรือรูปไข่กลับ ฐานใบแหลม มน หรือกลม ตามผิวใบมีต่อมน้ำมัน ดอกอ่อนสีเขียวแก่หรือเหลือง ออกเป็นช่อแบบช่อแยกแขนง (panicle) ตรงซอกใบ กลีบเลี้ยงและกลีบดอกมี 5 – 6 กลีบ เกสรเพศผู้ 10 – 12 อัน แยกกัน เกสรเพศเมีย 1 อัน ผลกลมเป็นสีเขียว เมื่อแก่จัดสีน้ำตาล เปลือกแข็งและหนา มีเมล็ดจำนวนมาก

ประโยชน์

ยอดอ่อน ใบอ่อน และช่อดอกอ่อน รับประทานสดเป็นผักจิ้ม (กมลทิพย์ กสิภาร์, 2543)

2.6.11 ตูมกาขาว *Strychnos nux-blanda* A.W. Hill.

วงศ์ Strychnaceae

ลักษณะทั่วไป

ไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปไข่ ดอกช่อออกที่ซอกใบ กลีบดอกสีเหลืองแกมเขียว ผลสดรูปทรงกลม ขนาดใหญ่กว่าพญามูลเหล็ก เมื่อสุกผลสีส้ม เมล็ดกลมแบนคล้ายกระดุม

สรรพคุณ

ราก แก้ปวดตามข้อ แก้เท้าบวม มือบวม แก้ไข้ แก้กระษัย แก้ไข้ตัวเหลือง แก้ดีซ่าน แก้กระเพาะปัสสาวะพิการ เปลือก แก้ไข้ แก้กระษัย แก้ไข้ตัวเหลือง แก้ดีซ่าน แก้กระเพาะปัสสาวะพิการ เถา แก้ไข้เพื่อเสมหะ บำรุงธาตุไฟ ขับผายลม ทำให้อุจจาระงวด แก้ริดสีดวงเนื้อไม้ แก้ไข้ แก้พิษร้อน ทำให้เจริญอาหาร บำรุงประสาท แก้ไข้เซื่องซึม ผล แก้ไข้ แก้กระษัย แก้ไข้ตัวเหลือง แก้ดีซ่าน แก้กระเพาะปัสสาวะพิการ (นันทวัน บุณยะประภัศร, 2539)

บทที่ 3
วิธีวิจัย

3.1 แหล่งที่มาของตัวอย่าง

เก็บพืชตัวอย่างทั้ง 11 ชนิดใน จ. อุบลราชธานี และ จ.มุกดาหาร นำมาตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ให้ถูกต้อง

พืช	จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง
เมื่อย	อุบลราชธานี
การเวก	อุบลราชธานี
สะแกแสง	มุกดาหาร
กระบก	อุบลราชธานี
แมงลักคา	อุบลราชธานี
หูเสือ	อุบลราชธานี
เอนอ้า	อุบลราชธานี
พอก	อุบลราชธานี
มะสัง	อุบลราชธานี
ดูมกาขาว	อุบลราชธานี

3.2 สารเคมีและเครื่องมือ

3.2.1 สารเคมี

Ammonium thiocyanate (Carlo Erba), L-ascorbic acid (Carlo Erba), 2,2 Diphenylpicrylhydrazine (Aldrich), L-DOPA (Acros), Ferrous chloride (BDH), Kojic acid (Acros), Linoleic acid (Acros), dl-Tocopherol (Sigma)

3.2.2 UV spectrophotometer

UV–2101 PC Shimadzu ที่ห้องปฏิบัติการชั้น 4 คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

3.2.3. ELISA

ELIZA reader ELX 808 Bio-Tek Instrument INC. ที่ห้องปฏิบัติการชั้น 4 คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

3.3 เทคนิคทั่วไป

3.3.1 Gel column chromatography

กระจาย Sephadex LH gel 50 g ใน methanol จากนั้นเทลงใน column ขนาด 2.5 X 100 cm ทิ้งไว้ค้างคืนให้ gel เกาะตัวกัน เมื่อจะใช้แยกสารให้นำสารตัวอย่างละลายใน methanol จากนั้นใช้ pipette หยดลงใน column จากนั้นเติม eluent สารจะค่อยๆถูกพาลงมาตาม column เก็บสารที่แยกเป็นส่วนๆ (fraction)

3.3.2 Analytical thin-layer chromatography (TLC)

Technique	: One dimension, ascending
Adsorbent	: Silica gel 60 F_{254} (E. Merck) precoated plate (Aluminium sheet)
Layer thickness	: 0.2 mm
Distance	: 7 cm
Temperature	: room temperature (25-35 ^{o}C)
Detection	: Ultraviolet light at 254 and 365 nm

3.4 วิธีเตรียมสารสกัดจากพืช

นำส่วนต่างๆที่เก็บได้ของพืชทั้ง 11 ชนิด นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 50^{o}C จากนั้นย่อยให้มีขนาดที่เหมาะสม สกัดด้วย hexane เพื่อกำจัดส่วนที่เป็นไขมันออก จากนั้นหมักต่อด้วย ethyl acetate เก็บสารสกัดไประเหยให้แห้งโดยใช้ rotary evaporator หมักพืชต่อด้วย ethanol เก็บสารสกัดไประเหยให้แห้งโดยใช้ rotary evaporator จะได้สิ่งสกัดขั้น ethyl acetate และ ethanol

รท 611A

ข้อมูลท้องถิ่น

3.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.5.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เตรียมสิ่งสกัดที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้น 500 μg/ml ส่วน positive control คือ L-ascorbic acid เตรียมให้มีความเข้มข้น 100 μg/ml จากนั้น pipette ตัวอย่าง 20 μl เติมสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical 0.025 g/l ใน methanol จำนวน 180 μl วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm โดยใช้ ELISA reader หลังจากปฏิกิริยาดำเนินไปจนถึงภาวะคงที่ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate) หา % DPPH remaining หลังจากปฏิกิริยาดำเนินไปจนถึงภาวะคงที่ (Bonina *et al*, 2000).

3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxiadtion

เตรียมสิ่งสกัดที่ต้องการทดสอบจำนวน 500 μg/ml ส่วน positive control คือ dl-Tocopherol เตรียมให้มีความเข้มข้น 100 μg/ml ทำการทดสอบโดย pipette สิ่งสกัด 2 ml เติม 2.53% linoleic acid จำนวน 2 ml แล้วเติม 0.05 M phosphate buffer pH 7 จำนวน 4 ml และน้ำกลั่น 2 ml บ่มไว้ที่ 40 ^{o}C ป้องกันแสง หลังจากนั้นดูดออกมา 2 μl เติม 75 % ethanol 194 μl จากนั้นเติม 30% ammonium thiocyanate 2 μl และ 0.02 M ferrous chloride ใน 3.5% HCl 2 μl ทิ้งไว้ 3 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน โดยใช้ ELISA reader ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate) (Masuda and Jitoe, 1994)

3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง Tyrosinase

เตรียมสิ่งสกัดที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้น 500 μg/ml ส่วน positive control คือ Kojic acid เตรียมให้มีความเข้มข้น 100 μg/ml จากนั้นดูดออกมา 2 μl เติมสารละลายของ tyrosinase ใน phosphate buffer จำนวน 20 μl ผสมให้เข้ากัน บ่มที่ 25 ^{o}C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลาย 0.85 mM L-Dopa จำนวน 30 μl แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 515 nm โดยใช้ ELISA reader ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate) คำนวณ % tyrosinase inhibition (Lida *et al*, 1995)

ใช้เฉพาะใน
ศูนย์ข้อมูลท้องถิ่นเท่านั้น

3.6 การแยกสิ่งสกัดเพื่อหา Fraction ที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำสิ่งสกัดที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่แรง มาแยกเป็นส่วน (Fraction) โดยใช้ gel column chromatography ซึ่งมีน้ำ methanol และ acetone เป็น solvent system จากนั้นรวม fraction ที่เหมือนกันเข้าด้วยกันโดยใช้วิธีทาง TLC แล้วนำ fraction ที่ได้ทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพนั้น เพื่อหา fraction ที่แสดงฤทธิ์ดี

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผล

4.1 ผลการเตรียมสิ่งสกัด

จากการหมักส่วนต่างๆของพืชทั้ง 11 ชนิดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และ ethanol จะได้สิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol ดังแสดงในตารางที่ 2

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำตัวอย่างพืชที่สกัดได้มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 3 ชนิด ดังนี้

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบฤทธิ์อนุมูลอิสระโดยดูความสามารถในการจับ DPPH ซึ่งจะทำให้เกิดการฟอกจางสีของ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ (Chen *et al*, 1999) พบว่าสิ่งสกัดชั้น ethanol จากเปลือกพอกจะแสดงฤทธิ์ดีที่สุดในการทดสอบนี้ (51.40 $\pm$ 0.002 %) รองลงมาจะเป็นสารสกัด ethanol ของใบเอนอ้า (47.72 $\pm$ 0.002 %) ใบกระบก (46.84 $\pm$ 0.002 %) แต่ไม่มีสิ่งสกัดใดแสดงฤทธิ์นี้ได้แรงเท่ากับ L-ascorbic acid ซึ่งเป็น positive control ส่วนสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate แสดงฤทธิ์อ่อนในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดสอบทั้งหมดแสดงในตารางที่ 3

4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidation

จากการทดสอบฤทธิ์ต้าน oxidation โดยสังเกตจากความสามารถในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ของ linoleic acid เป็นเวลา 7 วัน พบว่าสิ่งสกัดในชั้น ethyl acetate และ ethanol ของพืช ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเกิด lipid peroxidation

เนื่องจากกลไกหนึ่งในการต้าน oxidation เกิดจากการจับอนุมูลอิสระ (Papas, 1999) แต่ในการทดสอบครั้งนี้จะเห็นว่าผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะไม่สัมพันธ์กับผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิด oxidation ดังนั้นกลไกการต้าน oxidation ของสิ่งสกัดพืชในการทดสอบนี้ไม่ได้เกิดจากการจับอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 2 แสดงน้ำหนักแห้งของพืชและน้ำหนักของสิ่งสกัดชั้น Ethyl acetate และชั้น ethanol

พืช	ส่วนของพืช	น้ำหนักแห้ง (g)	น้ำหนักสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate (g)	น้ำหนักสิ่งสกัดชั้น ethanol (g)
เมื่อย	ลำต้น	107.90	0.11	7.32
การเวก	ใบ	500.0	9.52	15.12
	ลำต้น	800.0	0.81	5.58
สะแกแสง	ลำต้น	109.92	0.34	1.44
เหียง	ใบ	47.72	3.01	2.36
	ลำต้น	100.14	2.47	1.26
กระบก	ใบ	224.0	0.28	8.58
	ลำต้น	290.0	0.33	9.19
แมงลักคา	ใบ	108.42	3.05	6.96
	ลำต้น	30.12	0.64	2.29
	ราก	15.24	0.51	4.47
หูเสือ	ใบ	74.68	0.50	6.93
	ลำต้น	50.12	0.39	4.97
เอนอ้า	ใบ	112.41	1.73	6.77
	ลำต้น	144.46	0.42	3.71
	ราก	154.11	0.49	6.91
พอก	ใบ	111.0	0.42	11.97
	ลำต้น	121.49	0.36	5.24
	เปลือกต้น	196.66	0.33	4.85
มะสัง	ใบ	30.72	0.24	0.93
ตูมกาขาว	ใบ	101.28	0.59	12.10
	ลำต้น	209.29	0.30	4.05

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสิ่งสกัดชั้น Ethyl acetate และ ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% DPPH scavenging activity	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมื่อย	ลำต้น	29.40 ± 0.002	42.88 ± 0.001
การเวก	ใบ	0.31 ± 0.001	16.30 ± 0.003
	ลำต้น	-1.42 ± 0.004	5.87 ± 0.001
สะแกแสง	ลำต้น	-1.26 ± 0.002	17.62 ± 0.004
เหียง	ใบ	22.64 ± 0.002	34.07 ± 0.001
	ลำต้น	18.24 ± 0.001	39.06 ± 0.001
กระบก	ใบ	37.42 ± 0.007	46.84 ± 0.002
	ลำต้น	23.27 ± 0.002	43.32 ± 0.001
แมงลักคา	ใบ	23.74 ± 0.002	38.47 ± 0.003
	ลำต้น	3.62 ± 0.003	34.80 ± 0.002
	ราก	12.26 ± 0.003	37.44 ± 0.001
หูเสือ	ใบ	26.42 ± 0.006	39.50 ± 0.001
	ลำต้น	18.24 ± 0.001	28.63 ± 0.006
เอนอ้า	ใบ	32.55 ± 0.001	47.72 ± 0.002
	ลำต้น	29.72 ± 0.003	44.79 ± 0.006
	ราก	27.04 ± 0.001	44.49 ± 0.001
พอก	ใบ	26.42 ± 0.001	41.85 ± 0.001
	ลำต้น	16.35 ± 0.003	36.56 ± 0.002
	เปลือกต้น	16.04 ± 0.001	51.40 ± 0.002
มะสัง	ใบ	6.60 ± 0.008	21.0 ± 0.001
ตูมกาขาว	ใบ	-7.86 ± 0.002	19.82 ± 0.003
	ลำต้น	1.73 ± 0.002	20.56 ± 0.001
L-ascorbic acid		74.53 ± 0.002	70.93 ± 0.001

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 1 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% Inhibition of Lipid peroxidation	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมื่อย	ลำต้น	53.58 ±0.019	51.79±0.004
การเวก	ใบ	60.28 ±0.005	58.22±0.004
	ลำต้น	58.15 ±0.006	49.80±0.008
สะแกแสง	ลำต้น	45.28 ±0.010	38.61±0.013
เหียง	ใบ	61.89 ±0.016	57.99±0.006
	ลำต้น	62.48 ±0.007	50.95±0.006
กระบก	ใบ	61.38 ±0.010	58.48±0.012
	ลำต้น	65.67 ±0.013	60.15±0.014
แมงลักคา	ใบ	64.84 ± 0.006	59.42±0.015
	ลำต้น	48.84 ± 0.012	-140.07±0.301
	ราก	54.67 ± 0.022	-142.53±0.045
หูเสือ	ใบ	62.64 ±0.014	61.46±0.004
	ลำต้น	63.82 ±0.007	20.76±0.031
เอนอ้า	ใบ	62.62 ±0.003	58.50±0.010
	ลำต้น	59.67 ±0.027	56.81±0.010
พอก	ราก	64.57 ±0.014	57.40±0.013
	ใบ	64.61 ±0.011	59.07±0.005
	ลำต้น	63.41 ±0.005	49.14±0.012
	เปลือกต้น	60.65 ±0.013	5.68±0.008
มะสัง	ใบ	63.60 ±0.015	58.76±0.006
ตูมกาขาว	ใบ	58.21 ± 0.009	60.73±0.017
	ลำต้น	62.74 ±0.006	60.43±0.012
dl-Tocopherol		57.68 ±0.011	73.33±0.010

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 2 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% Inhibition of Lipid peroxidation	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมื่อย	ลำต้น	30.07 ±0.038	10.83 ±0.007
การเวก	ใบ	35.38 ±0.086	12.75 ±0.046
	ลำต้น	31.69 ±0.041	7.25 ±0.045
สะแกแสง	ลำต้น	19.57 ±0.065	5.80 ±0.034
เหียง	ใบ	38.29 ± 0.040	13.09 ±0.007
	ลำต้น	37.52 ±0.062	11.73 ±0.056
กระบก	ใบ	27.76 ± 0.019	5.09 ±0.014
	ลำต้น	32.54 ±0.036	10.23 ±0.056
แมงลักคา	ใบ	29.63 ±0.063	15.44 ±0.064
	ลำต้น	10.89 ±0.101	-100.32 ±0.295
	ราก	23.47 ±0.122	-104.12 ±0.034
หูเสือ	ใบ	32.39 ± 0.011	10.83 ±0.010
	ลำต้น	27.16 ±0.107	-4.23 ±0.035
เอนอ้า	ใบ	28.30 ±0.062	18.45 ±0.027
	ลำต้น	32.87 ±0.019	15.29 ±0.047
	ราก	33.29 ±0.040	13.20 ±0.055
พอก	ใบ	31.63 ±0.011	4.09 ±0.146
	ลำต้น	32.45 ± 0.050	10.12 ±0.027
	เปลือกต้น	35.40 ±0.116	-17.96 ±0.006
มะสัง	ใบ	43.66 ± 0.069	11.52 ±0.018
ตูมกาขาว	ใบ	26.93 ±0.075	13.99 ±0.053
	ลำต้น	27.56 ± 0.016	16.21 ±0.053
dl -Tocopherol		34.16 ±0.000	13.29 ±0.055

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 3 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% Inhibition of Lipid peroxidation	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมื่อย	ลำต้น	7.48 ±0.063	3.02±0.018
การเวก	ใบ	9.37 ±0.221	2.20±0.133
	ลำต้น	6.48 ±0.078	-0.49±0.081
สะแกแสง	ลำต้น	-0.41 ±0.157	1.20±0.108
เหียง	ใบ	12.23 ±0.072	3.06±0.013
	ลำต้น	2.61 ±0.142	3.46±0.140
กระบก	ใบ	1.43 ±0.023	-3.42±0.113
	ลำต้น	0.87 ±0.071	-3.77±0.067
แมงลักคา	ใบ	1.88 ±0.129	5.83±0.130
	ลำต้น	-12.74 ±0.267	-51.87±0.290
	ราก	2.34 ±0.230	-56.86±0.028
หูเสือ	ใบ	6.46 ±0.016	0.00±0.017
	ลำต้น	3.20 ±0.158	-3.68±0.112
เอนอ้า	ใบ	0.36 ±0.170	7.89±0.005
	ลำต้น	8.01 ±0.006	6.45±0.089
	ราก	4.86 ±0.125	2.01±0.141
พอก	ใบ	4.30 ±0.010	-7.56±0.263
	ลำต้น	5.18 ±0.139	2.81±0.096
	เปลือกต้น	8.83 ±0.218	-12.87±0.019
มะสัง	ใบ	14.41 ±0.102	1.54±0.028
ตูมกาขาว	ใบ	2.28 ±0.183	1.61±0.146
	ลำต้น	1.31 ±0.033	6.48±0.101
dl -Tocopherol		10.20±0.000	5.55±0.000

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 4 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% Inhibition of Lipid peroxidation	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมี่อย	ลำต้น	1.45± 0.086	-1.87±0.025
การเวก	ใบ	3.41±0.324	-2.71±0.211
	ลำต้น	-0.53±0.095	-7.28±0.108
สะแกแสง	ลำต้น	-5.88±0.240	-2.11±0.176
เหียง	ใบ	5.12±0.084	-2.67±0.023
	ลำต้น	2.16±0.260	-1.15±0.213
กระบก	ใบ	-6.43±0.022	-9.50±0.128
	ลำต้น	-7.18±0.074	-8.35±0.093
แมงลักคา	ใบ	-6.20±0.180	0.59±0.186
	ลำต้น	-19.27± 0.317	-31.97±0.292
	ราก	-2.20± 0.306	-37.96±0.030
หูเสือ	ใบ	0.82±0.022	-5.18±0.031
	ลำต้น	-4.08±0.238	-4.58±0.176
เอนอ้า	ใบ	-7.47± 0.248	1.44±0.036
	ลำต้น	1.27±0.008	1.42±0.128
	ราก	-3.14±0.196	-3.65±0.210
พอก	ใบ	-2.50±0.003	-11.74±0.321
	ลำต้น	1.48±0.253	-0.82±0.163
	เปลือกต้น	2.91±0.266	-11.65±0.014
มะสัง	ใบ	6.66±0.108	-3.77±0.033
ตูมกาขาว	ใบ	-4.40±0.277	-4.45±0.229
	ลำต้น	-6.07 ±0.037	1.03±0.142
dl -Tocopherol		4.94 ±0.000	1.01±0. 00

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 5 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% Inhibition of Lipid peroxidation	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมื่อย	ลำต้น	1.28±0.104	-4.04 ±0.301
การเวก	ใบ	4.80±0.342	-1.64 ±0.201
	ลำต้น	2.83±0.259	-8.25 ±0.124
สะแกแสง	ลำต้น	-4.64±0.263	-2.64 ±0.192
เหียง	ใบ	3.74±0.074	-5.43 ±0.047
	ลำต้น	-6.64±0.244	-2.21 ±0.229
กระบก	ใบ	-4.06±0.043	-11.15 ±0.105
	ลำต้น	-0.76±0.093	-4.57 ±0.153
แมงลักคา	ใบ	-2.11±0.201	0.45 ±0.218
	ลำต้น	-9.85±0.177	-13.82 ±0.107
	ราก	0.21±0.339	-25.79 ±0.054
หูเสือ	ใบ	-0.15±0.051	-6.53 ±0.047
	ลำต้น	-2.53±0.252	-2.71 ±0.183
เอนอ้า	ใบ	-6.71±0.261	0.12 ±0.013
	ลำต้น	0.74±0.022	-0.91 ±0.158
	ราก	-3.04±0.215	-5.11 ±0.222
พอก	ใบ	-2.03±0.028	-10.98 ±0.314
	ลำต้น	5.58±0.081	0.35 ±0.162
	เปลือกต้น	0.25±0.128	-7.20 ±0.035
มะลิง	ใบ	8.74±0.118	-5.28 ±0.031
ดูมกาขาว	ใบ	-1.84±0.279	-5.49 ±0.251
	ลำต้น	-6.27±0.036	-1.42 ±0.169
dl -Tocopherol		6.54±0.000	6.02 ±0.056

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 6 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% Inhibition of Lipid peroxidation	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมื่อย	ลำต้น	2.10±0.127	-6.57±0.048
การเวก	ใบ	8.95±0.288	1.57±0.147
	ลำต้น	-0.15±0.092	-7.66±0.129
สะแกแสง	ลำต้น	-0.46±0.232	-1.85±0.167
เหียง	ใบ	3.99±0.062	-7.93±0.063
	ลำต้น	4.99±0.241	-0.97±0.175
กระบก	ใบ	2.98±0.087	-9.80±0.067
	ลำต้น	10.13±0.219	5.05±0.371
แมงลักคา	ใบ	5.23±0.222	3.22±0.244
	ลำต้น	1.27±0.011	-0.16±0.049
	ราก	12.39±0.340	-11.57±0.111
หูเสือ	ใบ	2.64±0.075	-7.42±0.081
	ลำต้น	2.74±0.205	-0.44±0.127
เอนอ้า	ใบ	2.91±0.363	-2.07±0.037
	ลำต้น	11.47±0.059	5.82±0.197
	ราก	5.50±0.315	-4.73±0.177
พอก	ใบ	10.05±0.057	-5.19±0.371
	ลำต้น	14.50±0.100	3.64±0.121
	เปลือกต้น	6.44±0.203	-2.46±0.078
มะสัง	ใบ	7.88±0.144	-5.75±0.036
ตูมกาขาว	ใบ	5.31±0.305	-4.76±0.173
	ลำต้น	4.82±0.064	4.51±0.186
dl -Tocopherol		12.70±0.000	35.92±0.508

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน Oxidationในวันที่ 7 ของสิ่งสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% Inhibition of Lipid peroxidation	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมื่อย	ลำต้น	-9.7 2±0.158	-14.72±0.077
การเวก	ใบ	2.69±0.171	-1.50±0.079
	ลำต้น	-3.27±0.136	-4.81±0.149
ละแกแลง	ลำต้น	-9.37±0.179	-5.35±0.088
เหียง	ใบ	-8.60±0.055	-16.14±0.097
	ลำต้น	-3.32±0.166	-3.76±0.095
กระบก	ใบ	13.40±0.346	-13.34±0.070
	ลำต้น	12.17±0.093	-1.56±0.158
แมงลักคา	ใบ	-0.62±0.231	2.15±0.257
	ลำต้น	-0.61±0.141	6.45±0.205
	ราก	3.31±0.305	-12.75±0.136
หูเสือ	ใบ	-6.44±0.101	-13.49±0.114
	ลำต้น	7.29±0.367	-3.40±0.044
เอนอ้า	ใบ	-5.18±0.283	-7.45±0.058
	ลำต้น	1.82±0.109	-0.37±0.229
	ราก	-2.18±0.232	-9.13±0.106
พอก	ใบ	3.13±0.113	-7.35±0.357
	ลำต้น	1.67±0.151	3.69±0.113
	เปลือกต้น	4.21±0.144	4.18±0.123
มะส้ง	ใบ	1.95±0.241	-11.06±0.073
ตูมกาขาว	ใบ	-1.95±0.241	-9.26±0.075
	ลำต้น	-1.10±0.045	-2.37±0.213
dl -Tocopherol		21.68±0.328	34.40±0.651

4.2.3 **ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง** Tyrosinase

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง Tyrosinase พบว่าสิ่งสกัดชั้น ethanol ของใบการเวก แสดงฤทธิ์แรงที่สุดในการทดสอบนี้ (89.37 ± 0.011%) นอกจากนั้นยังพบว่าสิ่งสกัด ethyl acetate ของเมื่อย สิ่งสกัด ethanol ของเปลือกและต้นพอกก็สามารถยับยั้ง enzyme นี้ได้ (79.52 ± 0.001%), (75.85 ± 0.011%) และ (76.49 ± 0.001%) ตามลำดับ ตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบทั้งหมด

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง Tyrosinase **ของสิ่งสกัดชั้น** ethyl acetate **และ** ethanol

พืช	ส่วนของพืช	% Tyrosinase inhibitor	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
เมื่อย	ลำต้น	79.52 ± 0.001	-8.21 ± 0.005
การเวก	ใบ	52.38 ± 0.001	89.37 ± 0.011
	ลำต้น	44.76 ± 0.001	69.73 ± 0.001
สะแกแสง	ลำต้น	46.67 ± 0.001	54.59 ± 0.001
เหียง	ใบ	45.24 ± 0.001	31.72 ± 0.003
	ลำต้น	48.81 ± 0.003	-20.77 ± 0.008
กระบก	ใบ	-13.33 ± 0.001	61.03 ± 0.001
	ลำต้น	43.81 ± 0.003	61.03 ± 0.001
แมงลักคา	ใบ	33.33 ± 0.001	1.77 ± 0.004
	ลำต้น	46.19 ± 0.001	65.80 ± 0.011
	ราก	47.14 ± 0.001	3.06 ± 0.011
หูเสือ	ใบ	-24.29 ± 0.00	-47.83 ± 0.005
	ลำต้น	29.05 ± 0.002	37.20 ± 0.006
เอนอ้า	ใบ	54.76 ± 0.002	42.03 ± 0.021
	ลำต้น	49.52 ± 0.001	-100.32 ± 0.012
	ราก	48.1 ± 0.001	-155.07 ± 0.027
พอก	ใบ	49.52 ± 0.001	-78.74 ± 0.006
	ลำต้น	50.48 ± 0.001	75.85 ± 0.011
	เปลือกต้น	45.71 ± 0.001	76.49 ± 0.001

ตารางที่ 11 (ต่อ)

พืช	ส่วนของพืช	% Tyrosinase inhibitor	
		Ethyl acetate extract	Ethanol extract
มะสัง	ใบ	41.90 ± 0.001	42.67 ± 0.002
ตูมกาขาว	ใบ	54.29 ± 0.002	50.72 ± 0.012
	ลำต้น	42.86 ± 0.002	-22.71 ± 0.012
Kojic acid		81.43 ± 0.002	82.61 ± 0.0

4.3 การแยก Fraction ของสิ่งสกัด ethanol ของใบการเวกและการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง Tyrosinase ของ fraction ต่าง ๆที่แยกได้

เนื่องจากสิ่งสกัด ethanol ของใบการเวกแสดงฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase ได้แรง ส่วนฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ด้าน oxidation ไม่มีสิ่งสกัดใดแสดงฤทธิ์แรง จึงนำสิ่งสกัด ethanol ของใบการเวก มาแยกให้เป็น fraction เพื่อหา fraction ที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase โดยใช้ gel column chromatography และมีน้ำ methanol และ acetone เป็น eluent หลังจากรวม fraction ที่เหมือนกันแล้วจะได้ fraction ต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 Fraction ของสิ่งสกัด ethanol ของใบการเวก

Fraction	Eluent	น้ำหนัก (g)
1	H_2O:MeOH (1:1)	0.75
2	H_2O:MeOH (1:1)	0.14
3	H_2O:MeOH (1:1)	0.22
4	MeOH	0.07
5	MeOH	0.15
6	Acetone	0.07
7	Acetone	0.02

จากนั้นนำ fraction ที่ 1-7 (500 μg) ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase พบว่า fraction ที่ถูก elute ด้วย น้ำและ methanol จะแสดงฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase ได้ดีกว่า fraction ที่ถูก elute ด้วย acetone สำหรับ fraction ที่แสดงฤทธิ์ ได้แก่ fraction ที่ 1-5 โดย fraction ที่ 2 เป็น fraction ที่แสดงฤทธิ์ดีที่สุด แต่ฤทธิ์ต่ำกว่าฤทธิ์ของสารสกัด สันนิษฐานว่าในแต่ละ fraction อาจจะมีสารออกฤทธิ์ต่างชนิดเสริมฤทธิ์กัน หรือสารออกฤทธิ์มีเพียงชนิดเดียวแต่มีปริมาณต่างกัน กระจายอยู่ในแต่ละ fraction ทำให้ฤทธิ์ของ fraction ไม่ดีเท่าสารสกัด อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้เป็นเพียงการทดสอบเบื้องต้น ยังจะต้องมีการศึกษาต่อไปในการแยกสารจาก fraction ที่มีฤทธิ์ให้เป็นสารบริสุทธิ์ จากนั้นทดสอบฤทธิ์เปรียบเทียบกับ positive control จึงจะได้ผลสรุปที่แน่ชัด ส่วนผลการทดสอบของ fraction ทั้งหมดแสดงไว้ในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง Tyrosinase ของ fractionที่แยกจากสิ่งสกัด ethanol ของใบการเวก

Fraction	% Tyrosinase inhibition
1	62.18±0.001
2	72.48±0.001
3	68.12±0.004
4	69.31±0.009
5	65.94±0.011
6	49.50±0.008
7	58.81±0.011
Kojic acid	82.57±0.003

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการนำพืช 11 ได้แก่เมื่อย การะเวก สะแกแสง เหียง มะสัง กระบก แมงลักคา หูเสือเอนอ้า มะพอก และดูมกาขาว มาสกัดโดยใช้ ethyl acetate และ ethanol จะได้สิ่งสกัด 22 ชนิด นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้าน oxidation และฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase พบว่าสิ่งสกัด ethanol ของใบพอกแสดงฤทธิ์ปานกลางในการต้านอนุมูลอิสระ (51.40 $\pm$ 0.002%) สำหรับฤทธิ์ต้านการเกิด oxidation นั้นไม่มีสิ่งสกัดใดที่แสดงฤทธิ์ และสิ่งสกัด ethanol จากใบการเวกแสดงฤทธิ์แรงในการยับยั้ง tyrosinase (89.37 $\pm$ 0.011%) จากนั้นนำสิ่งสกัด ethanol จากใบการเวกไปแยก fraction และนำแต่ละ fraction ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase พบว่า fraction 2 เป็น fraction ที่แสดงฤทธิ์ดีที่สุด

การทดสอบนี้เป็นการทดสอบเบื้องต้นและสามารถใช้เป็นแนวทางเพื่อศึกษาหาสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase ต่อไปได้

บรรณานุกรม

Bonina, F., Puglia, C., Tomaina, A., Mulinacci, N., Romani, A. and Vincier, F. F. *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effect of three lyophilized extracts of *Sedum telephium* L. leaves (2000) J. Pharm. Pharmacol. 52, 1279-1285.

Chen, Y., Wang, M. F., Rosen, R. T. and Ho, C. T. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging active components from *Polygonum multiforum* Thunb. (1999) J. Nat. Prod. 47, 2226-2228.

Dewick, P. M. Medinal natural products (1998) John Wiley and sons LTD, Great Britain, pp 139.

Kubo, I and Kinst-Hori, I. Tyrosinase inhibitors from anise oil. (1998) J. Agic. Food Chem. 46, 1268-1271

Lee, O-S. and Kim, E-J. Skin Lightening. (1995) Cos & Toilet. 110, 51-56.

Lida, K., Hase, K., Shimomura, S., Sudo, S., Kadota, S. and Namba, T. Potent inhibitors of tyrosinase activity and melanin biosynthesis from *Rheum officinale* (1995) Planta Med 61, 425-428.

Masuda, M., tejima, T., Suzuki, T. and Imokawa, G. Skin lighteners. (1996) Cos & Toilet. 111, 65-75.

Masuda, T. and Jitoe, A. Antioxidative and antiinflammatory compounds from tropical gingers: Isolation, structure determination, and activities of cassumunins A, B, and C, new complex curcuminoids from *Zingiber cassumunar* (1994) J. Agric. Food Chem. 42, 1850-1856.

Oomah, B. D. and Mazza, G. Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat (1996) J. Agric. Food Chem. 44, 1746-1750.

Papus, M. A. Antioxidants status, diet, nutrition and health (1998) CRC Press, U. S. A., pp 463-591.

Piacente, S., Camarga, E. E. S., Zampelli, A., Gracioso, J. S., Brito, A. R. S., Pizza, C and Vilegas, W. Flavonoids and arbutin from *Turnera diffusa* (2002) Z. Naturforch. 57 (c), 983-985.

Pietta, P. G. Flavonoids as antioxidants (2000) J. Nat. Prod. 63, 1035-1042.

Shimizu, K., Kondo, R. and Sakai, K. Inhibition of tyrosinase by flavonoids, stilbenes and related 4-substitued resocinols: structure-activity investigation (1999) **Planta Med** 66, 11-15.

Shimizu, K., Yasutake, S. and Kondo, R. A new stilbene with tyrosinase inhibitory activity from *Chlorophora excelsa* (2003) **Chem. Pharm. Bull.** 51, 318-319.

Tan, G. T., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D. and Hughes, S. H. Evaluation of natural products as inhibitors of human immunodefficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase (1991) **J. Nat Prod.** 54, 143-145.

Vinson, J. A., Dabbagh, Y. A., Serry, M. M. and Jang, J. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an *in vitro* oxidation model for heart disease (1995) **J. Agric. Food Chem.** 43, 2800-2802.

Waffo, T.P., fauconneau, B., Decendit, A., Huguet, F., Deffieux, G. and Merillon, J. M. Inhibition of the lipid peroxidation of human LDL by stilbenes newly extracted from *Vitis vinifera*. 2nd International electronic conference on synthetic organic chemistry (ECSOC-2), September, 1998.

Whitaker, J. R. Polyphenol oxidase : **Food Enzymes, Structures and Mechanism** (1995) Chapman & Hill. New York

กมลทิพย์ กสิภา. 2543. **พืชผักพรรณไม้พื้นบ้านอีสาน**. สำนักพิมพ์มติชน. กรุงเทพฯ

ก่องกานดา ชยามฤตและลีนา ผู้พัฒนพงศ์. 2544. **สมุนไพรไทย ตอนที่** 7. บริษัทประชาชน จำกัด. กรุงเทพฯ

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. **กกยาอีสาน**. อมรินทร์พรินติงแอนด์พับลิชชิง. กรุงเทพฯ

นันทวัน บุณยะประภัศรและอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2539. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม** 2. บริษัทประชาชน จำกัด. กรุงเทพฯ

นันทวัน บุณยะประภัศรและอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2539. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม** 3. บริษัทประชาชน จำกัด. กรุงเทพฯ

นันทวัน บุณยะประภัศรและอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2539. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม** 4. บริษัทประชาชน จำกัด. กรุงเทพฯ

ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2544. **พรรณไม้วงศ์กระดังงา**. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. กรุงเทพฯ

ลีนา ผู้พัฒนพงศ์. 2530. **สมุนไพรไทย ตอนที่** 5. ชุติมาการพิมพ์. กรุงเทพฯ

สวนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กรมป่าไม้. 2542. **พรรณไม้ต้นของประเทศไทย.** สำนักวิชาการป่าไม้. กรุงเทพฯ

ภาคผนวก

1. การเตรียม 20 mM Phosphate buffer pH 6.8

สารเคมี

$NaH_2PO_4.2H_2O$ (Carlo Erba)

$NaHPO_4$ (Carlo Erba)

วิธีการ

1. เตรียม $NaH_2PO_4.2H_2O$ 312 mg ในน้ำ 100 ml
2. เตรียม $NaHPO_4$ 284 mg ในน้ำ 100 ml
3. นำสารทั้ง 2 ชนิดมาผสมกัน และวัด pH ให้ได้ 6.8

2. การเตรียม 50 mM Phosphate buffer pH 7.0

สารเคมี

$NaH_2PO_4.2H_2O$ (Carlo Erba)

$NaHPO_4$ (Carlo Erba)

วิธีการ

1. เตรียม $NaH_2PO_4.2H_2O$ 780 mg ในน้ำ 100 ml
2. เตรียม $NaHPO_4$ 710 mg ในน้ำ 100 ml
3. นำสารทั้ง 2 ชนิดมาผสมกัน และวัด pH ให้ได้ 7.0

3. การเตรียม 3.5% HCl V/V ใน MeOH

สารเคมี

conc. HCl (Carlo Erba)

Methanol (Carlo Erba)

วิธีการ

ชั่ง conc. HCl 3.5 ml เจือจางให้ครบ 100 ml ด้วย methanol

4. การเตรียม 75% V/V ethanol 400 ml

สารเคมี

Ethanol (Carlo Erba)

Distilled water

วิธีการ

ตวง ethanol analytical grade 303 ml เจือจางให้ครบ 100 ml ด้วย distilled water

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติหัวหน้าโครงการ

ชื่อ น.ส. ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์

Ms Rawiwun Kaewamatawong

คุณวุฒิ

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2545	เอก	วท.ด.	เภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2540	โท	ภ.ม.	เภสัชเวท	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2537	ตรี	ภ.บ.	เภสัชศาสตร์	มหาวิทยาลัยรังสิต	ไทย

ตำแหน่งทางวิชาการ -

ที่อยู่/โทรศัพท์ที่สามารถติดต่อได้สะดวก

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ถนนวารินฯ-เดชอุดม กม. ที่ 10
อ. เมือง จ. อุบลราชธานี 34190
โทรศัพท์ 045-288382-3 โทรสาร 045-288384

ประสบการณ์ในงานวิจัย หรือมีความชำนาญงานด้านใด

ศึกษาทางโครงสร้างทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารจากธรรมชาติ

ผลงานทางวิชาการที่พิมพ์ออกเผยแพร่

1. Likhitwitayawuid, K., Ruangrungsi, N and Kaewamatawong, R. (1995) Thai J. Pharm Sci. 19, 217-224.

2. Likhitwitayawuid, K., Kaewamatawong, R., Ruangrungsi, N and Krungkrai, J. (1998) Planta Med 64, 1-5.

3. Kaewamatawong, R., Likhitwitayawuid, K., Ruangrungsi, N., Takayama, H., Kitajima, M. and Aimi, N. (2002) J. Nat. Prod. 65, 1027-1029.

ฝ่ายหอสมุด สำนักวิทยบริการ มหาวิทยาลัยฯ

ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

ชื่อ นายทรงพร จึงมั่นคง

Mr. Zongporn Joungmunkong

คุณวุฒิ

เภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตำแหน่งทางวิชาการ –

ที่อยู่/โทรศัพท์ที่สามารถติดต่อได้สะดวก

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ถนนวารินฯ-เดชอุดม กม. ที่ 10

อ. เมือง จ. อุบลราชธานี 34190

โทรศัพท์ 045-288382-3 โทรสาร 045-288384

ประสบการณ์ในงานวิจัย หรือมีความชำนาญงานด้านใด –

ผลงานทางวิชาการที่พิมพ์ออกเผยแพร่ –