บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิด ทฤษฎี

1. หญ้าคา

โดยปกติแล้ว วัชพืชและพืชสมุนไพรสามารถจะผลิตเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ(Metabolite Secondary) ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถยับยั้งจุลินทรีย์และพัฒนาเป็นยารักษาโรคมะเร็ง (Malignant disease)ได้ เนื่องจากพืชแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบที่หลากหลาย เช่น องค์ประกอบของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่พืชผลิตขึ้น ซึ่งน่าจะใช้เป็นแหล่งของยาต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติได้ และองค์ประกอบของพืชมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเป็นยาต้านเซลล์มะเร็งและยาเคมีบำบัดเพื่อใช้รักษาโรคมะเร็งต่อไปได้ (Victor et al., 2013: Tantipaibulvut et al., 2012)

หญ้าคา (*Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv) อยู่ในวงศ์ Gramineae (Liu R.H. et al., 2013) หญ้าคาเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวล้มลุก (Parvathy et al., 2012) มีลำต้นอยู่ใต้ดิน (Rhizome) เป็นเส้นกลม สีขาวทอดยาว มีข้อชัดเจน ผิวเรียบ หรืออาจมีขนอยู่บ้างเล็กน้อย สามารถแตกกิ่งก้านสาขาเลื้อยแผ่และงอกไปเป็นกอใหม่ๆ ได้มากมายหลายกอ โดยหญ้าคาจัดเป็นวัชพืชที่ชอบแสงแดดและมีความทนทานสูงมาก เผากำจัดหรือทำลายได้ยากยิ่งเผาทำลายก็เหมือนไปช่วยกระตุ้นให้มันงอกมากขึ้น ทำให้ออกดอกแพร่พันธุ์มากยิ่งขึ้นไปอีก จึงกลายเป็นวัชพืชที่ลุกลามไปตามท้องไร่หรือพื้นที่ต่างๆ และกำจัดได้ยากอีกทั้งยังเป็นวัชพืชที่แก่งแย่งธาตุอาหารและน้ำกับพืชที่ปลูก และยังปลดปล่อยสารธรรมชาติบางชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งสามารถพบได้ตามท้องทุ่งทั่วไป ตามพื้นที่รกร้างว่างเปล่าตามหุบเขาและตามริมทางทั่วไปซึ่งโดยทั่วไปแล้วพืชชนิดนี้จะขยายพันธุ์ด้วยวิธีการใช้เมล็ดแต่ก็ยังสามารถขยายพันธุ์ด้วยลำต้นใต้ดินได้ (มูลนิธิหมอชาวบ้าน, 2014) และแพร่พันธุ์ได้ง่ายทั้งปีในแถบประเทศอากาศร้อน ซึ่งหญ้าคาจะเป็นอาหารสัตว์ที่มีคุณภาพต่ำแต่ช่วยในการปรับปรุงคุณภาพดิน (Parkavi et al., 2012) ในประเทศจีน ถือว่าหญ้าคาเป็นพืชสมุนไพรเรียกว่า Baimaogen จะใช้เป็นยาขับปัสสาวะ และยาต้านการอักเสบ (Liu R.H. et al., 2013) นอกจากนั้นยังใช้เป็นยาแก้ปัสสาวะขัด เบาหวาน เต้นหัวใจผิดปกติ โรคเกาต์และหวัด นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์เป็นยาถ่ายพยาธิ ยาแก้ท้องเสีย ยารักษาโรคบิด ยารักษาโรคหนองใน ยารักษาโรคข้ออักเสบ ยารักษามะเร็ง และยาขับปัสสาวะ และพบว่าสารสกัดหญ้าคาด้วยน้ำมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ได้ (Parkavi et al., 2012) ส่วนในรากของหญ้าคาจะพบสารประกอบจำพวกคูมาริน (Coumarins) ฟลาโวนอย์ด (Flavonoid) โครโมน (Chromones) และสารประกอบฟีโนลิก (Liu R.H. et al., 2013) ซึ่งในหญ้าคาจะมีองค์ประกอบที่สำคัญคือคาร์โบไอเดรต (Carbohydrate) ไกลโคไซด์ (Glycoside) ฟลาโวนอย์ด (Flavonoid) และ ไตรเทอร์ปินนอย์ด (Triterpenoid)(Parvathy et al., 2012) จากคุณสมบัติของรากและใบหญ้าคาในด้านต้านเชื้อแบคทีเรีย

สารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีโนลิกคณะผู้วิจัยมีความสนใจศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหญ้าคาและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค นอกจากนั้นในสารสกัดหญ้าคามีสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งสามารถนำมาผลิตเป็นเครื่องสำอางที่ช่วยลดริ้วรอยได้เช่นกัน ซึ่งจะทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ได้

2. การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหญ้าคา ซึ่งทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ต่อไปนี้

โดยปกติจุลินทรีย์จะเป็นพวก *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus* sp. โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Staphylococcus aureus* มีแนวโน้มจะดื้อยามากขึ้น (Tilloton et al., 2008; Dowzicky and Park, 2008) และเป็นปัญหาของประเทศอยู่ในคณะนี้ เพราะ โดยปกติการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อจะต้องใช้ยาที่เป็นพวก Antibiotic ซึ่งจะส่งผลข้างเคียงที่รุนแรงกับผู้ป่วยอย่างมาก (Khotaei et al., 2008)

Candida albicans เป็นเชื้อราที่มีอยู่ทั่วไปตาม ช่องปาก ทางเดินอาหาร ผิวหนัง โดยปกติมันก็จะอยู่กับเราได้ โดยไม่เป็นอันตรายแต่หากภูมิคุ้มกันอ่อนแอหรือได้รับยาปฏิชีวนะเข้าไปเชื้ออื่นๆ ที่มีประโยชน์ในร่างกายอ่อนแอลงก็จะยอมให้เจ้าตัวนี้เพิ่มจำนวนมันจะกลายเป็นเชื้อฉวยโอกาสก่อให้เกิดโรคผิวหนังได้เช่น เป็นขาวๆ ที่ช่องปาก เล็บ (Creamy-white or bluish-white patches) หรือเป็นผื่นแดงๆ (Red rush) เป็นสากๆ (Scaly) เกิดการอักเสบตามผิวหนัง (Inflammation) หรือแม้กระทั่ง คันและอักเสบบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียรูปร่างแท่งแกรมลบอาศัยอยู่ในน้ำ ดิน ของเน่าเสีย บางครั้งพบในลำไส้ของสิ่งมีชีวิต เชื้อนี้มักจะแทรกซ้อน เช่น กรณีร่างกายได้รับอุบัติเหตุเกิดบาดแผลหรือรับการผ่าตัดร่างกายจะมีความต้านทานน้อยลงเมื่อได้รับเชื้อนี้เข้าไปอาจทำให้ถึงตายได้ ซูโดโมนาส *(Pseudomonas)* นี้ยังดื้อต่อยาฆ่าเชื้อโรคบางชนิดได้ ดังนั้นจึงเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดอาการแทรกซ้อนได้ง่ายเมื่อร่างกายอ่อนแอ ที่สำคัญในทางเครื่องสำอาง คือ หากเกิดการติดเชื้อที่ดวงตาจะก่อให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อในตาซึ่งจะทำให้ตาบอด

Staphylococcus aureus โรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญมากที่สุดตัวหนึ่ง คือ การได้รับสารพิษของเชื้อ *Staphylococcus aurues* ซึ่งสร้างสารพาชนิด Enterotoxin โดยสารพิษนี้ทำให้เกิดอาการปวดท้อง ท้องเสีย ถ่ายอุจาระเหลวและบ่อย คลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะและอาจมีไข้ร่วมด้วย

ลักษณะของจุลินทรีย์

Staphylococcus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทรงกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 - 1.5 ไมโครเมตร ชอบอยู่นิ่ง ไม่สร้างสปอร์ เมื่อแบ่งเซลล์จะติดกันเป็นพวกองุ่น เซลล์ชอบอยู่เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นกลุ่ม เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง โคโลนีมีสีทองหรือสีเหลือง แต่บางพันธุ์อาจไม่มีสี *Staphylococcus aureus* ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ Coagulase เป็นบวกไม่จำเป็นต้องเป็นพวกสร้าง Enterotoxin เสมอไป สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษมักทนเกลือได้สูง (10 - 20% NaCl) ทนต่อ nitrite ได้ดี ดังนั้นเชื้อนี้จึงสามารถเจริญได้ในเนื้อที่ใส่สารกันบูดนี้และต้านทานต่อความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 50 - 60% ได้ ทำให้เกิดการหมักและการ

ย่อยสลายโปรตีนแต่ไม่ทำให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ในอาหาร *Staphylococcus aureus* ผลิตสารพิษที่แตกต่างกันแบ่งได้ 6 ชนิด ได้แก่ type A, B, C_1, C_2, D และ E โดยจะมีความเป็นพิษต่างกันไป โดยส่วนใหญ่ของอาหารเป็นพิษมักเกิดจาก type A นอกจากนั้นสายพันธุ์ของเชื้อนี้ยังสร้างสารพิษอื่นๆ อีกหลายชนิดได้ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมเหมาะกับการเจริญและการสร้างสารพิษขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารด้วย โดยในอาหารที่เหมาะสมจะทำให้ช่วงที่เชื้อเจริญได้ที่ระดับอุณหภูมิ pH หรือ a_w มีช่วงกว้างขึ้น อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการสร้างสารพิษ อยู่ในช่วง 4 - 46 °C โดยจะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร โดยทั่วไปเชื้อจะเจริญได้ดีในช่วง 20 - 45 °C

ค่า minimal pH ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะมีค่าต่ำกว่าที่สภาวะซึ่งไม่มีออกซิเจน เช่น ในเนื้อสัตว์ minimal pH เป็น 4.8 ในภาวะที่มีออกซิเจนและมีค่าประมาณ 5.5 ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ขณะที่ pH สูงสุดที่สามารถเจริญได้คือประมาณ 8.0 โดย minimal a_w ต่ำสุดที่เจริญได้คือ 0.86 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและประมาณ 0.90 ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

Escherichia coli เป็น normal flora ที่อาศัยอยู่ในอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์หลายชนิด ในปี 1940 มีการเกิดโรคระบาดในสถานเลี้ยงเด็กหลายแห่งจากเชื้อ *E. coli* โดยทำให้เกิดโรคท้องร่วงในเด็กทารก ซึ่ง Serotype ของ *E. coli* ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคท้องร่วงในคนและการแพร่ระบาดของเชื้อในอาหาร คือ Enteropathogenic *E.coli* (EPEC) อาการป่วยที่เกิดขึ้นในคนนั้นเป็นผลจากการได้รับเชื้อ EPEC เข้าไป ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม

กลุ่มแรก เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่ผลิต Enterotoxin ออกมา มีผลให้เกิดอาการคล้ายอหิวาตกโรค และโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร โดยสามารถผลิต Enterotoxin ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่ทนความร้อน (Heat stable toxin; ST) และชนิดที่ไม่ทนความร้อน (A heat-labile toxin; LT) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงในเด็กและนักเดินทางต่างถิ่น โดยเมื่อได้รับเชื้อ EPEC เข้าไปเชื้อจะมีการสร้าง Enteroxin ที่บริเวณตอนต้นของลำไส้และเดินทางไปตามท่อของลำไส้เล็กเกิดการสะสมของเหลวสารเหลวโดยไม่สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงที่เยื่อบุผนังลำไส้เล็กเกิดการสะสมของสารเหลวโดยไม่สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงที่เยื่อบุผนังลำไส้ และไม่มีการบุกรุกของแบคทีเรียนี้ในผนังลำไส้

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยสายพันธุ์ที่แพร่กระจายบุกรุก ซึ่งจะผลิตสาร Cytotoxin ที่มีผลร้ายต่อเซลล์ร่างกาย ซึ่งจะทำให้ลำไส้จะเกิดภาวะลำไส้ใหญ่อักเสบบิดหรือท้องร่วง Serotype นี้เป็นพวก Noneterotoxigenic เจริญอยู่ในลำไส้ใหญ่และสามารถบุกรุกสู่เยื่อบุผิวและเยื่อเมือกของเซลล์ได้

ผู้ติดเชื้อ EPEC ทั้งสองกลุ่มข้างต้นนั้นจะแสดงอาการของโรคต่อเมื่อได้รับเชื้อในปริมาณที่สูงมาก ดั้งนั้นอาหารที่ก่อให้เกิดโรคจะต้องมีการปนเปื้อนสูงหรือเก็บไว้นานโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิไม่ต่ำพอจึงทำให้มีการเจริญเติบโตของเชื้อมากขึ้นได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อคือ 37°C ช่วงอุณหภูมิที่เจริญได้คือ 10 - 40 °C สำหรับ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 7.0 - 7.5 pH ที่เหมาะสำหรับการเจริญ คือ 4.0 และ pH สูงสุดที่สามารถเจริญได้คือ 8.5 จากการศึกษาพบว่าเชื้อ EPEC ไม่ทนต่อความ

ร้อน จึงสามารถทำลายที่อุณหภูมิระดับพาสเจอร์ไรซ์ หรือความร้อนที่ใช้ในการปรุงอาหารที่สุก นอกจากนี้ยังมีกลุ่ม Hemorrhagic *E. coli* ที่เป็นสาเหตุให้เกิดอาการถ่ายเป็นมูกเลือดและปวดท้องอย่างรุนแรง

วิธีการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อคือ แช่เย็นอาหารในปริมาณที่ไม่มากเกินไปเพื่อให้ความเย็นสามารถแพร่ได้อย่างทั่วถึงและรวดเร็วเวลาปรุงอาหารต้องให้ความร้อนอย่างทั่วถึงตลอดจนดูแลเรื่องสุขลักษณะส่วนบุคคลและสุขาภิบาลในการเตรียมอาหาร ใช้น้ำที่สะอาดและกำจัดขยะตามหลักสุขาภิบาลที่ดี

Bacillus cereus (B. cereus) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ต้องการออกซิเจนในการเจริญ สร้างสปอร์ ทนความร้อน รูปท่อน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30°C อุณหภูมิต่ำสุดที่เจริญได้คือ 10° C และอุณหภูมิที่เจริญได้คือ 49°C ช่วง pH ในการเจริญคือ 4.9 - 9.3 มีรายงานค่า D values ของสปอร์ของเชื้อนี้ ที่ 100°C คือ 2.7 - 3.1 นาที ใน skim milk และมีค่า D 100 °C เป็น 8 นาที ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.0) ในการตรวจสอบอาหารและส่วนผสมหลายชนิด แสดงให้เห็นเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อนี้สูงมากซึ่งไม่ต้องสงสัยเลยว่าเชื้อนี้มีการกระจายตัวสูงทั้งในธรรมชาติและในอาหารด้วย สามารถแยกได้จากดิน น้ำ ผัก และธัญพืช

เชื้อนี้สร้าง Entertoxin และเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ Lecithinase, Protease,β Lactamase, Spingomyelinase, Cereolysin และ Hemolysin B L การตรวจหาเชื้อนี้ทำได้โดยเติมไข่แดงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เอนไซม์ Lecithinase ที่เชื้อนี้ผลิตขึ้น จะย่อย Lecithin ในไข่แดงทำให้เห็นเป็นบริเวณขุ่นขาวรอบๆ โคโลนีของเชื้อจากการศึกษาพบว่าเชื้อนี้ไวต่อยา Polymyxin

ปริมาณของเชื้อที่ ทำให้เกิดอาการของโรคมีค่าสูงมากคือ10^8เซลล์ต่อกรัมในด้านอาหารสามารถจำแนกป่วยออกได้เป็น 2 ลักษณะ คือ ท้องร่วง และอาเจียน (บุญศรี จงเสรีจิตต์, 2552)

3. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

เป็นสารที่ใช้ทำลายอนุมูลอิสระ มีทั้งที่ทำปฏิกิริยากับอนุมนูลอิสระโดยตรง (Direct) กับพวกที่ส่งเสริมให้มีการสร้างเอนไซม์ที่ใช้กำจัดอนุมูลอิสระ (Indirect) ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

ไวตามิน อี (Vitamin E, α -tocopherol)

ในธรรมชาติไวตามิน อี จะมี 4 ชนิด คือ $\alpha - \beta - \gamma - \delta -$ tocopherol ชนิดที่ทำหน้าที่ได้ดีที่สุดคือ α -tocopherol โดยปกติ PUFA ที่ร่างกายได้รับจะมีผลต่อออกซิเดชันของไลปิดหรือไม่นั้นขึ้นกับปริมาณของไวตามินอีหรือLipid antioxidant ชนิดอื่น เช่น β-carotene และ Lycopene ซึ่งเป็นสารที่ละลายได้ดีในไขมัน (Lipid-solution antioxidants) ดังนั้นความต้องการไวตามินอี จึงขึ้นอยู่กับไลปิด และส่วนประกอบของกรดไขมันที่ได้รับกล่าวคือถ้าได้รับกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูงความต้องการไวตามินอี ก็จะเพิ่มตามด้วย

ซีลีเนียม (Selenium, Se)

ซีลีเนียมที่ร่างกายคนปกติที่ได้รับเข้าไปส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ Selenomethionine และ Selenocysteine ซึ่งพบมากในธัญพืช ซิลีเนียมทำหน้าที่เป็น cofactor ของเอนไซม์ Se-GPx โดยอยู่ในรูปของ Selenocysteine ซึ่งอยู่ใน active site ของหน่อยย่อยทั้งสี่ของเอนไซม์ รูปอนินทรีย์ของซีลีเนียม คือ Selenium (Na_2SeO_3) สามารถเสริมในอาหารของคนที่ต้องการซีลีเนียมได้ แต่ประสิทธิภาพจะน้อยกว่า Seleno amino acid แสดงว่าคนและสัตว์มีความสามารถในการนำรูปอินทรีย์ของซีลีเนียมเข้าไปประกอบใน Selenocysteine ของเอนไซม์ Se-GPx ได้ดีกว่ารูปอนินทรีย์

ไวตามินซี (Vitamin C, ascorbic acid)

บทบาทของไวตามินซี ในเมทาบอลิซึมของอนุมูลอิสระของออกซิเจนในสิ่งมีชีวิตยังคงไม่กระจ่าง หน้าที่ของไวตามินซี ที่รู้จักกันดีคือ การรีดิวซ์ไอออนของโลหะที่พบบ่อยคือ การรีดิวซ์เหล็กจาก ferric (Fe^{3+}) ไปเป็น ferrous (Fe^{2+}) เพื่อเพิ่มการดูดซึมเหล็กจากอาหารในทางเดินอาหาร รวมทั้งปฏิกิริยารีดักชันของ Fe^{2+} ใน Hydroxylase metalloenzymes ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฮีมและคอลลาเจน (collagen) การศึกษาเหล่านี้เป็นการอธิบายการทำงานของไวตามิน ซี ในการป้องกันโรคโลหิตจางชนิด Microcytic hypochromic anemia และโรคลักปิดลักเปิด (Antiscorbutic activity) อย่างไรก็ตาม พบว่า Physiological reductants อื่นๆ ก็สามารถเหนี่ยวนำให้มีการสร้างคอลลาเจนในหลอดทดลองได้ ซึ่งในสิ่งมีชีวิตอาจจะเกิดไม่ได้ ด้วยเหตุนี้จึงยังไม่กระจ่างว่าการสังเคราะห์ คอลลาเจนที่บกพร่องในโรคลักปิดลักเปิดนี้เกิดจากการขาดไวตามินซีหรือการขาด Hydroxylated amino acids หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน เหล็ก (Iron, Fe)

บทบาทของเหล็กต่อของอนุมูลอิสระของออกซิเจนเป็นสิ่งสำคัญ แต่ยังเป็นที่ถกเถียงกันมาก จึงขอกล่าวคร่าวๆ ดังนี้

1. เมทาบอลิซึม (Metabolism)

ประมาณ 2/3 ของเหล็กในร่างกายจะอยู่ในฮีโมโกลบิน ที่เหลือจะอยู่ใน Transferric lactoferric เอนไซม์ที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบและในโปรตีนที่เก็บสะสมเหล็ก เช่น Frrritin และ Hemosiderin ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในตับ ม้าม ไขกระดูก และพลาสมา Transferrin ทำหน้าที่ขนส่งเหล็กเข้าสู่ vacuole ของเซลล์แล้วจึงปล่อยเข้าไปในไซโตพลาสซึมโดยจับ (Chelating) แบบหลวมๆ กับส่วนประกอบต่างๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ เช่น citrate, ADP และ ATP พวก soluble iron pool เหล่านี้จะนำเหล็กไปใช้สำหรับการสังเคราะห์โปรตีนที่ต้องการเหล็ก

2. บทบาทเหล็กในการสร้าง OH• (Role of iron in hydroxyl radical generation)

ความเป็นพิษของเหล็กเกิดจากการเร่งปฏิกิริยาการสร้าง OH• ใน fenton reaction แต่การที่พลาสมาและเนื้อเยื่ออื่นๆ ไม่มีสารจับเหล็กที่ไม่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย (low molecular weight iron chelators) เช่น lipid acid (คืออาจมีน้อยกว่า 5μM) จึงมีการตั้งคำถามว่าเหล็กมีการเกี่ยวข้องกับการสร้าง OH• ภายใต้สภาวะของร่างกายได้อย่างไร จึงเป็นไปได้ว่าภายใต้ภาวะความคงตัว (steady state conditions) อัตราเมแทบอลิซึมของอนุมูลอิสระของออกซิเจนในร่างการอาจถูกกำจัดโดยเหล็กที่อยู่ในรูป

ที่ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยารีดอกซ์ได้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในหลอดทดลองที่มี microsomes พบว่าสารเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้ของเหล็ก (soluble iron complexes) สามารถปล่อย OH• ได้ แต่ความเข้มข้นของเหล็กที่ใช้ต้องเป็นสิบเท่าหรือมากกว่าระดับที่พบในสภาวะร่างกาย ดังนั้นความเข้มข้นและรูปของเหล็กที่สามารถเริ่มต้นปฏิกิริยาลูกโซ่ในสิ่งมีชีวิตจึงยังไม่ทราบกลไกที่แน่นอน

ทองแดง, สังกะสี และแมงกานีส (Copper, Zinc and manganese)

เอนไซม์ Dismutases ที่มีโลหะเป็นส่วนประกอบจัดเป็นส่วนหนึ่งของระบบป้องกันการทำลายเซลล์ที่มีสาเหตุไม่จากทางตรงก็ทางอ้อมโดย O^{-}_{2} ในยูแคริโอต dismutase จะมีทั้ง Cu และ Zn เป็นส่วนประกอบและพบมากในไซโตซอล นอกจากนี้ยังพบได้เล็กน้อยในของเหลวนอกเซลล์ (extracellular fluid) เรียกว่า extracellular (CuZn) SOD อีกชนิดจะมี Mn เป็นองค์ประกอบพบอยู่ในไมโตคอนเดรีย เรียกว่า MnSODs ส่วน FeSODs จะพบในเฉพาะโปรคารีโอตและพืชเท่านั้น SODs ทั้งหมดเร่งปฏิกิริยา Dismutation แบบเดียวกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ที่ทัดเทียมกัน

ตารางที่ 2.1 แหล่งที่พบ phenolics ในพืช

สารประกอบ	แหล่งที่พบ
Flavanols	ชาเขียว ชาดำ ไวน์แดง
Epicatechin	
Catecthin	
Epigallocatechin	
Epicatechin gallate	
Epigallocatechin gallete	
Flavanones	ผิวส้ม ผิวมะนาว
Naringin	
taxifolin	
Flavonols	
Kaempferol	Endive ต้นหอม บรอกโคลี หัวไชเท้า หัวผักกาด
Quercetin	ส้ม ชาดำ
Myricetin	หอมหัวใหญ่ ผักกาด บรอกโคลี cranberry ผิวแอปเปิ้ล berries มะกอก ชา ไวน์แดง แครนเบอรี่ องุ่น ไวน์แดง
Flavones	
Chrysin	เปลือกผลไม้
Apignin	ขึ้นฉ่าย ผักชี
Anthocyanidins	
malvidin	องุ่นแดง ไวน์แดง
cyanidin	Cherry raspberry strawberry องุ่น

สารประกอบ	แหล่งที่พบ
Anthocynidins	
apigenidin	ผลไม้และเปลือกผลไม้ที่มีสี
Phenylpropanoids	
Caffeeic acid	องุ่นขาว ไวน์ขาว น้ำมันมะกอก ผักขม กะหล่ำปลี หน่อไม้ฝรั่ง เมล็ดกาแฟ
p-coumaric acid	องุ่นขาว ไวน์ขาว มะเขือเทศ ผักขม กะหล่ำปี หน่อไม้ฝรั่ง
chorogenic acid	แอปเปิ้ล ลูกแพร์ cherry ลูกพลัม ลูกพีช แอปริคอท blueberry มะเขือเทศ anise
gallic acid	สมอ (gallnut) sumac witch hazel ใบชา เปลือกต้นโอ๊ก blueberry wallnut แอเปิ้ล สลัดน้ำ (watercress)

จากการที่พืชมีสารพวก Flavonoids มากมายหลายชนิดนี้เอง จึงได้มีการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร (Herbal medicines) ในประเทศจีนใช้สารสกัดของใบแปะก๊วย (Ginkgo biloba) ในการรักษาโรคต่าง ๆ มาเป็นเวลาหลายพันปีแล้ว เช่น ใช้เป็นยาแก้อักเสบ ยาแก้เส้นเหลือดหัวใจอุดตัน (Anti-Inflammatory, Anti-ischemic and Anti-thrombotic Agents) เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็น Antioxidants ที่ดีเพราะมีสาร Flavonoids หลายชนิด เช่น Rutin, Kaeempferol, Qurecetin และ Myricetin นอกจากนี้มีการใช้ชาเขียวและชาดำในการป้องกันมะเร็งในประเทศญี่ปุ่นมีการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคที่เรียกว่า Kampo medicines เช่น สารสกัดจากรากชะเอม (Liorice root) ที่เรียกว่า Glycyrrhizin มาใช้ในการรักษาโรคปอด และ ฝ้า กระ เพราะมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase หรือสารสกัด Propolis ที่ได้จากน้ำผึ้งเพื่อใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ (Antimicrobial agents) ในประเทศทางยุโรปและอเมริกามีการใช้สมุนไพรในการถนอมอาหารเป็นเวลานานแล้ว เพราะมีหลักฐานจากหนังสือ Exodus ใน Old testament ระบุไว้ เช่น ใช้สารสกัดจากผกากรอง (Sage), Rosemary, พริกไทย, ขิง, Thyme, Tarragons และ Oregano ในการถนอมอาหารให้สด ซึ่งในปัจจุบันพบว่าสารเหล่านี้สามารถป้องกัน Lipid peroxidation ในอาหารได้สำหรับในประเทศไทยมีการใช้สมุนไพรมานานแล้วเช่นกันทั้งในการประกอบอาหารและในทางการแพทย์แต่ในปัจจุบันสมุนไพรไทยที่ได้รับความนิยมในการศึกษาและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในฐานะของสาร antioxidant คือ ขมิ้นชัน สารที่มีฤทธิ์เป็น antioxidant ในขมิ้นชันจัดเป็นสารพวก phenol เช่นกัน มีชื่อทางเคมีว่า Curcumin พบว่าสามารถลดภาวะออกซิเดทีฟสเตรสในผู้ป่วย β thalassemia hemoglobin E ได้ นอกจากนี้สารสกัดขมิ้นชันยังใช้กันอย่างแพร่หลายในฐานะยาต้านมะเร็ง ยาแก้อักเสบ บรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ จุกเสียดแน่น และเป็นสารป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระ

สำหรับการศึกษาสมุนไพรชนิดอื่นในประเทศไทยในฐานะเป็น Antioxidant นั้นในปัจจุบันได้พบว่า นอกจากขมิ้นชันแล้ว หัวหอม กระเทียม พริกไทย ขิง ข่า ตะไคร้ก็จัดเป็นสมุนไพรไทยที่รู้จักกันดี เนื่อง

จากมีสาร Antioxidant เป็นจำนวนมากเช่นกัน โดยพบว่าสมุนไพรเหล่านี้สามารถลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดได้จากสภาวะออกซิเดทีฟสเตรส จากการศึกษาเหล่านี้ทำให้มีการสนใจที่จะศึกษาผลของสมุนไพรไทยต่อการลดระดับน้ำตาลและโคเรสเตอรอลในเลือดอย่างเป็นระบบ ซึ่งอาจเป็นแนวทางเลือกอีกทางหนึ่งในการเลือกใช้สมุนไพรไทยในการลดระดับน้ำตาลและโคเรสเตอรอลในเลือดแทนที่จะใช้ยาหรือสาร Antioxidant อื่นๆ ที่ต้องสั่งซื้อมาจากต่างประเทศ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากต้นกลึงกล่อม (Polyalthia suberosa) คือ N-trans-feruloyltyramine, พลู (Piper submultinerve) คือ N-benzylcinnamide และมังคุด (mangosteen, garcinia mangosteen) คือ Xanthone จัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็น Antioxidants ที่ดีในการป้องกันภาวะออกซิเดทีฟสเตรสและการอักเสบในเซลล์เพาะเลี้ยงสมองหนูหรือในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคอัลไซเมอร์

อย่างไรก็ตามควรระลึกไว้เสมอว่า สมุนไพรถึงแม้มีผลผลิตที่มาจากธรรมชาติ (Natural product) แต่ก็ไม่ปลอดภัยเสมอไป ถ้าได้รับในปริมาณมาก เช่น Glycyrrhizin ที่สกัดจากรากของชะเอมจะทำให้เกิดความดันโลหิตสูง หรือ Nordihydroguairetic acid ที่สกัดได้จากต้น Creosote bush ซึ่งโดยปกติจะเป็นยาถนอมอาหารเนื่องจากมีผลในการฆ่าเชื้อแต่ปัจจุบันเลิกใช้แล้วเนื่องจากมีผลในการยับยั้งเอนไซม์ Lipoxygenase ที่ใช้ในการสังเคราะห์ Leukotrienes และปฏิกิริยาออกซิเดชันอื่นๆ ของไขมันที่ไม่ใช่เอนไซม์นอกจากนี้ผลผลิตจากธรรมชาติอื่น ๆ ที่จัดเป็นสารอันตราย (Noxious agents) ได้แก่ Cyanide (Prussic acid) ซึ่งได้จาก Bitter almond และมันสำปะหลัง Aflatoxin จากเชื้อรา ดังนั้นการได้รับยาสมุนไพรหรือผลผลิตจากธรรมชาติอื่นๆ ในฐานะอาหารเสริมนั้น ควรได้รับในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายในการป้องกันโรคต่างๆที่เกิดจากอนุมูลอิสระเท่านั้นและควรศึกษาถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสมุนไพรของสมุนไพรในฐานะอาหารเสริมนั้นๆ ด้วย

สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ (Natural Antioxidant) ในปัจจุปันเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปในวงการแพทย์ว่า พยาธิสภาพ พยาธิวิทยา รวมถึงพยาธิสรีรวิทยาของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคในระบบและหลอดหัวใจและหลอดเลือด หรือ โรคมะเร็ง ซึ่งมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ดังนั้น การทำลายหรือควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระดังกล่าว จะช่วยการป้องกันหรือรักษาโรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น จากการศึกษาทางระบาดวิทยายืนยันถึงการลดอัตราเสี่ยงและเพิ่มอัตราการป้องกันการเกิดมะเร็ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงโรคอื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์กับอนุมูลอิสระ จากการบริโภคผักผลไม้ ซึ่งผลดังกล่าวมาจากมีความเกี่ยวข้องกับฤทธ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้าแคโรทีน (β carotene) แคโรทีนอย์ด (Carotenoid) รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลิก (Polyphenolics) เช่น ฟลาโวนอย์ด (Flavonoids) ฟีนิลโปรพานอย์ด (Phenylpropanoids) เป็นต้น โดยในปัจจุปัน พบว่าสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลิก เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบได้มากในธรรมชาติอันได้แก่ พืช ผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุปันพบสารประกอบฟีโนลิกมากกว่า

8,000 ชนิด ในธรรมชาตินับจากโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีโนลิกฟีนิลโปรพานอย์ดและฟลาโวนอย์ด รวมถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kalpana และคณะ (2013) พบว่า หญ้าคามีองค์ประกอบที่สำคัญได้แก่ Carbohydrate, Glycoside, Triterpenoid, Phenolic compounds/ tannin flavonoid protein และ Violatile oil และ ได้ทดสอบสารต้านอนุมูลิอิสระจากสารสกัดรากหญ้าคาด้วยเมทานอล โดย ให้ค่า IC_{50} 400.15 ±1.934 µg/ml ด้วยวิธี Nitric oxide scavenging เทียบกับสารมาตรฐานแอสคอบิก IC_{50} 269.75 ± 0.852 µg/ml, IC_{50} 185 ±1.551 µg/ml ด้วยวิธี Hydrogen peroxide scavenging capacity เทียบกับสารมาตรฐานแอสคอบิก IC_{50} 128.5 ± 0.683 µg/ml นอกจากนั้นยังพบสารประกอบเทนนินถึง 12.53 ± 0.56 mg และสารประกอบฟีนอลิก 7.09 ± 0.14 mg จะเห็นว่าการสกัดหญ้าคาด้วยเมทานอลจะให้สารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากพบสารประกอบเทนนินและสารประกอบฟีโนลิก

Kawaree และคณะ (2008) ได้ศึกษาสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจาก หูปลาช่อน (Emilia sonchifolia), สาบเสือ (Eupatorium odoratum) และ ผักคราดหัวแหวน (Spilanthes acmella) โดยวิธีกลั่นด้วยน้ำ (Hydrodistillation) ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมุลอิสระ(Antioxidant capacities) ด้วย 3 วิธี คือ 1) 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothia - zoline-6-sulfonic acid) diammonium salt; ABTSx+ assay, 2) ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay,3) lipid peroxidation assay และวัดปริมาณสารประกอบฟีโนลิก ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่าให้ค่า 40 - 276 µmol Trolox equivalent per gram, 60 - 350 µmol Fe(II) equivalent per gram, 9.1% - 61.55%และ 12 - 308 GAE (µg/g) ตามลำดับ แต่พบว่าผักคราดหัวแหวนให้ปริมาณสารต้านอนุมูลิอิสระและสารประกอบฟีโนลิกมากที่สุด นอกจากนั้นได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผักคราดหัวแหวนด้วยวิธีGC-MSพบว่ามีองค์ประกอบคือGermacrene-D(54.38%), Trans-beta-caryophyllene (14.58%), Beta-elemene (4.53%), Nor-copaanone (2.44%) and Bicyclogermacrene (2.15%) ดังนั้นผักคราดหัวแหวนเป็นแหล่งทรัพยากรทางธรรมชาติที่มีสารต้านอนุมูลิอิสระสูงมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นยาได้

Prachayasittikul และคณะ (2013) ได้ศึกษาพบว่าผักคราดหัวแหวน เป็นพืชที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ใช้แก้อาการปวดฟันได้ ในปัจจุปันนี้มีความต้องการใช้ผักคราดหัวแหวนมากขึ้นเพื่อจะนำไปพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ นอกจากนั้นมีการศึกษาสรรพคุณของผักคราดหัวแหวนมากขึ้นไม่ว่าจะเป็นประสิทธิภาพด้านเมตาบอไลต์ (Metabolites) ประสิทธิภาพด้านยาและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive) ซึ่งสารสกัดใบผักคราดหัวแหวน ด้วยเอธิลอะซิเดรต และเมทานอล มีฤทธิ์ต้าน *Klebsiella pnemoniae* เมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar dilution และให้ค่า MICเท่ากับ 256 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร เมื่อสกัดส่วนลำต้นผักคราดหัวแหวนด้วยคลอโรฟอร์ม ในการต้าน *Streptococus pyogene* ฉะนั้นผัก

คราดหัวแหวนมีฤทธิ์ทางชีวภาพและมีศักยภาพสูงสามารถนำไปพัฒนาเป็น ยา เครื่องสำอาง และอาหารได้ในอนาคต

Prachayasittikul และคณะ (2009) ได้ศึกษาพบว่าผักคราดหัวแหวนใช้เป็นยาพื้นบ้านยารักษาการปวดฟัน และไข้รูมาติก (Rheumatism and fever) และสารสกัดมีประสิทธิภาพเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation activity) ต้านแบคทีเรีย (Antimicrobial activity) และต้านเซลล์มะเร็ง (Cytotoxic activity) ผู้วิจัยพบว่าสารสกัดผักคราดหัวแหวนด้วย คลอโรฟอร์มและเมทานอล ให้ค่า MIC มีค่าระหว่าง 64 - 256 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ในการต้าน *Corynebacterium diphtheriae* NCTC 10356 และให้ MIC มีค่าระหว่าง 128 - 256 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ในการต้าน *Bacillus subtilis* ATCC นอกจากนั้นสารสกัดให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระ จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH and SOD ฉะนั้น ผักคราดหัวแหวนเหมาะที่นำไปพัฒนาทำยา เครื่องสำอางและอาหารเพื่อสุขภาพได้

Sittiwet และคณะ (2009) ได้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของสกัดเหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus* Vahl) ด้วยน้ำร้อนได้ โดยวิธี agar dilution ซึ่งทดสอบกับ *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermis* ATCC 12288, *L. plantarum* ATCC 14917, *K pneumonia* ATCC 10031 และ *P. vulgaris* ATCC 13315 ให้ค่า Inhibition zone 16.9± 1.3 nm, 17.8 ± 0.7 nm , 22.3 ±0.9 nm, 28.0 ±0.6 nm, 17.3± 0.8 nm ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 500 g/L ให้ค่า MIC และ MBC มีค่าอยู่ระหว่าง 1-2 g/L และ 2-4 g/L ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดเหงือกปลาหมอมีคุณสมบัติในการต้านการติดเชื้อโรคและเชื้อโรคทางผิวหนังที่ความเข้มข้นต่ำได้

Parkavi และคณะ (2012) ได้สกัดหญ้าคาโดยวิธีหมักด้วยอีเทอร์เอทานอลและน้ำเมื่อนำมาทดสอบด้วยฤทธิ์โดยวิธี disc diffusion พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบให้ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 20 นาโนเมตร เมื่อสกัดด้วยน้ำและให้ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อ 14 นาโนเมตรเมื่อสกัดด้วยเอทานอลเมื่อเทียบยาเจนต้าไมซิน (gentamycin) ซึ่งให้ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อ 30 นาโนเมตร นอกจากนั้นสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกให้ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 19 นาโนเมตร เมื่อสกัดด้วยน้ำและให้ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อ 14 นาโนเมตร เมื่อสกัดด้วยเอทานอลเมื่อเทียบยาแอมพิซิลิน (amplicilin) ซึ่งให้ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อ 27 นาโนเมตร แต่ สารสกัดด้วย อีเทอร์ไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ได้

Ismail และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดรากและใบของหญ้าคาด้วยตัวทำละลายเมทานอล(Methanol)คลอโรฟอร์ม(Chloroform)พอลิบิวทิลีนซักซิเนท (Polybutylene succinate) ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด คือ *C. albicans*, *S. aureus, P. aeruginosa*, *B. subtilis* และ *E. coli* ด้วยวิธี disc diffusion ให้ ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อ 6.33 ± 0.58 – 11.67 ± 8.14 มิลลิเมตร โดยสารสกัดใบหญ้าคาด้วยเมทานอล ยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* มากที่สุด ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 11.67± 8.14 มิลลิเมตรที่ความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยให้ค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) เท่ากับ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

นิธิวดี วัชรากร และกุลภิสสร์ เลิศยนต์ชีพ (1998) ได้ศึกษาและเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีในเหงือกปลาหมอชนิดดอกสีม่วงและชนิดดอกสีขาว ใช้วิธีสกัดสดโดยการปั่นส่วนใบ ต้น ดอก ผล และราก ของเหงือกปลาหมอทั้งสองชนิดกับคลอโรฟอร์ม-เมทานอลและน้ำ ซึ่งวิธีการสกัดสดวิธีนี้เป็นวิธีที่ดีเหมาะสำหรับสกัดสารประเภท ไลปิดออกจากพืชสด สามารถทำได้โดยใช้เวลารวดเร็วและสิ้นเปลืองตัวทำละลายน้อย สิ่งที่สกัดได้โดยวิธีนี้แบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนคลอโรฟอร์ม และส่วนเมทานอล-น้ำ สิ่งสกัดในส่วนคลอโรฟอร์มของเหงือกปลาหมอทั้งสองชนิดจะพบว่ามีสารพวก steroid อยู่ในทุกส่วน แต่จะพบมากในใบและผลของชนิดดอกสีม่วง Benzoxazoline-2-one เป็นสารอีกชนิดหนึ่งที่พบมากรองลงมาโดยเฉพาะในต้น ผล และรากของชนิดดอกสีม่วง พบปริมาณน้อยในรากชนิดดอกสีขาว Lupeol พบในใบ ผล ชนิดดอกสีม่วงและรากชนิดดอกสีขาว Stigmasterol-Beta-D-glucopyranoside พบในผลและราก ชนิดดอกสีม่วงรวมทั้งในผลชนิดดอกสีขาว Beta- และ alpha- Amyrin พบในใบชนิดดอกสีขาวและราก ชนิดดอกสีม่วง ส่วนสิ่งสกัดในส่วน เมทานอล-น้ำ สารมาตรฐานที่ตรวจพบมีปริมาณน้อยมาก แต่พบว่ามีสารเรืองแสงในแสงอุลตร้าไวโอเล็ตหลายจุด โดยเฉพาะที่น่าสนใจจากผลชนิดดอกสีม่วงเมื่อทำการแยกสิ่งสกัดในเมทานอลโดยวิธี Preparative TLC โดยใช้แสงอุลตร้าไวโอเล็ตเป็นตัวตรวจสอบ สามารถแยกสารได้ 3 ชนิดคือ สาร ก. จุดหลอมเหลว 217-218°C สาร ข. จุดหลอมเหลว 224 - 226°C และสาร ค. จุดสลายตัวที่ 243 - 246°C ข้อมูลจากอินฟราเรดสเปคตรัม เชื่อว่าสารทั้งสาม เป็น Glycoside ข้อมูลจากโปรตอนเอนเอมอาร์สเปคตรัมและแมสสเปคตรัมคาดว่าสาร ก. และสาร ข. เป็น Glycoside ที่มี Flavonoids เป็น Aglycone แต่สารทั้งที่แยกได้มีปริมาณน้อยไม่เพียงพอที่จะวิเคราะห์สูตรโครงสร้างได้

Somchaichana และคณะ(2012)ได้ศึกษาผลของสารสกัดเหงือกปลาหมอที่ใช้ร่วมกับคอลลาเจนสแคฟโฟด์ (Collagen scaffold) ในการหายของแผล Full thickness wound โดยนำหนูไมซ์ชนิด Balb/c mice (น้ำหนัก: 22-25 g) ทำการสลบด้วย sodium thiopental และทำให้เกิดบาดแผลชนิด Full thickness wound ด้วยการใช้กรรไกรตัดผิวหนังบริเวณด้านหลังเป็นขนาด 1.5×1.5 เซนติเมตรและลึกไปจนถึงชั้นของ Panniculus carnosus (ขนาดแผลคิดเป็น10% ของพื้นที่ผิวทั้งหมดในร่างกายจากนั้นทำการปลูกถ่าย Collagen sheet ที่บริเวณแผลแล้วทำการเย็บด้วยไหมเย็บ 6-0 nylon สัตว์ทดลองจะถูกแยกออกเป็น 4 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัดเหงือกปลาหมอ 300 mg ต่อน้ำหนักตัวเป็นกิโลกรัม กลุ่มที่ได้รับการปลูกถ่ายคอลลาเจนสแคฟโฟด์และกลุ่มที่ได้รับการปลูกถ่ายคอลลาเจนสแคฟโฟด์ร่วมกับสารสกัดเหงือกปลาหมอ หลังจากทำการทดลอง 14 วันผู้ทดลองจะทำการตรวจพื้นที่แผลและทำการตรวจหาการเกิดหลอดเลือดใหม่ด้วยการใช้กล้อง Intravital fluorescence microscopy ผลการทดลองพบว่าแผลของกลุ่มที่ทำการปลูกถ่ายคอลลาเจนสแคฟโฟด์ร่วมกับการทาสารสกัดเหงือกปลาหมอ มีการลดลงของพื้นที่แผลร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของการเกิดหลอดเลือดใหม่มากกว่ากลุ่มทุกกลุ่ม จากผลการทดลองเราจึงสามารถสรุปได้ว่า การปลูกถ่ายคอลลาเจนสแคฟโฟด์ร่วมกับการทาสารสกัดเหงือกปลาหมอ นั้นมีผลต่อการเกิดหลอดเลือดใหม่ที่ผิวหนังซึ่งส่งผลต่อการปิดของแผลที่เร็วขึ้น

Yahaufai และคณะ (2010) ได้ศึกษาสารสกัดน้ำจากเหงือกปลาหมอมีสารกลุ่มโพลีแซคาไรด์เป็นองค์ประกอบหลักซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย พบว่าสารสกัดน้ำจากรากสมุนไพรเหงือกปลาหมอที่ความเข้มข้น 31.25-500 µg/ml สามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์แมคโคฟาจ (J774A.1) ให้สร้างไนตริกออกไซด์ตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและสารสกัดชักนำให้มีการแสดงออกในระดับอาร์เอนเอของเอ็นไซม์ Inducible oxide synthase (iNOS) ซึ่งเกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างไนตริกออกไซด์ สรุปได้ว่าสารสกัดน้ำจากรากเหงือกปลาหมออาจมีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของเซลล์แมคโคฟาจที่มีบทบาทในการเกิดภูมิคุ้มกันแบบ innate และ specific immune response

กนกภรณ์ พยาฆรินทรังกูร (2548) ค้นหาสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากพืชสมุนไพรไทยจำนวน 40 ชนิดโดยทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-Diphenyl-1-(2,4,6,-trinitrophenyl) hydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร พบว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทนและสารสกัดบิวทานอลของรากต้นพีพวนน้อย (*Uvaria rufa*) แสดงฤทธิ์ที่ดี ดังนั้นจึงเลือกนำมาศึกษาต่อไป โดยการแยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีแยกสารได้ทั้งหมด 15 ชนิด ในส่วนของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนพบสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 6 ชนิด ได้แก่ 2,5-dihydroxy-7-methoxyflavanone (1) tectochrysin (2) 5-hydroxy-7-methoxy flavanone (3) 6,7-dimethylbaicalein (6) 7 -methylwogonine (7) และ 2,5-dihydroxy-6,7-dimethoxy flavanone (8) และสารในกลุ่มอะโรแมติก 2 ชนิด ได้แก่ benzyl benzoate (4) และ 2-methoxybenzyl benzoate (5) ในส่วนของสิ่งสกัดบิวทานอลพบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์7ชนิด ได้แก่ liriodenine (9), lanuginosine (10), oxoanolobine (11), roemerine (12),anonaine (13), xylopine (14) และ roemeroline (15) โดยสาร 1, 2, 6 และ 7 เคยแยกได้จากรากต้นพีพวนน้อย นอกนั้นรายงานเป็นครั้งแรกการหาสูตรโครงสร้างของสารใช้วิธีทางสเปกโทรสโคปีและเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีรายงานไว้แล้ว การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของสารที่แยกได้ใช้ 3 วิธี คือ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ xanthine oxidaseจากผลการศึกษาพบว่า สารหมายเลข 8 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ superoxide ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} = 0.16 และ 1.03 mg/ml ตามลำดับ ในส่วนของฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ xanthine oxidase ไม่มีสารใดแสดงฤทธิ์ที่ดี

Sripanidkulchai และคณะ (2002) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบและฆ่าแบคทีเรียของส่วนสกัดด้วยน้ำของพืชสมุนไพรที่ใช้รักษาอาการปัสสาวะขัด 5 ชนิดพบว่า การฉีดส่วนสกัดจากรากสับปะรด รากมะละกอ และลำต้นของมะเฟืองเข้าทางช่องท้องสามารถยับยั้งการอักเสบที่อุ้งเท้าของหนูขาว ซึ่งเกิดจากคาร์ราจีนิน ได้ใกล้เคียงกับฤทธิ์ของยาแอสไพรินที่ให้ทางปาก ส่วนการให้ส่วนสกัดสมุนไพรทางปากพบว่าเฉพาะส่วนสกัดจากรากมะละกอเท่านั้นที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ผลจากการศึกษาฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียพบว่าเชื้อ *S. aureus* มีความไวต่อส่วนสกัดจากมะเฟือง และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าที่เท่ากับหรือต่ำกว่า 15.62 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสกัดจากรากของแห้วหมูและรากหญ้าคาสามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* ได้

และให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ เท่ากันคือ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และพบว่าเฉพาะส่วนสกัดจากมะเฟืองเท่านั้นที่ฆ่าเชื้อ *Klebsiella* sp. ได้ที่ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Sittiwetและคณะ(2009)ได้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของสกัดเหงือกปลาหมอด้วยน้ำร้อนได้ โดยวิธี agar dilution ซึ่งทดสอบกับ *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermis* ATCC 12288, *L. plantarum* ATCC 14917, *K pneumonia* ATCC 10031 และ *P. vulgaris* ATCC 13315 ให้ค่าวงใสการยับยั้งเชื้อ 16.9± 1.3 nm, 17.8 ±0.7 nm , 22.3 ±0.9 nm , 28.0 ±0.6 nm, 17.3± 0.8 nm ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 500 กรัม/ลิตร ให้ค่า MIC และ MBC มีค่าอยู่ระหว่าง 1-2 กรัม/ลิตร และ 2-4 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดเหงือกปลาหมอมีคุณสมบัติในการต้านการติดเชื้อโรคและเชื้อโรคทางผิวหนังที่ความเข้มข้นต่ำได้

อรัญ หอสิริและคณะ (2009) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางจุลชีวิทยาของพืชสมุนไพรไทย 32 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก่อโรค โดยใช้ Trichophyton mentagrophytes และ *C. albicans* ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำ ให้เกิดโรคติดเชื้อที่ผิวหนังเป็นเชื้อทดสอบ สกัดสมุนไพรด้วย Ethyl alcohol นำมาทดสอบฤทธิ์โดย Agar (disc) diffusion method พบว่าจำนวนสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้าน *C. albicans* 8 ตัวอย่าง (25%) สมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้าน Trichophyton mentagrophytes 15 ตัวอย่าง (46.88%) และสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านราทั้ง 2 ชนิด 8 ตัวอย่าง (25%) และคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านราทั้งสองจำนวน 4 ตัวอย่าง คือ มะคำ ดีควาย มะหาด กานพลู และสันพร้าหอม หาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรนั้น ๆ โดยสกัดต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วจากน้อยไปมากพบว่าตัวทำ ละลายที่สามารถสกัดออกฤทธิ์ต้านราทดสอบได้ดีที่สุดของ มะคำดีควายและมะหาดคือ คลอโรฟอร์ม ส่วนกานพลูและสันพร้าหอม คือ เอกเซน จากนั้นนำสารสกัดสมุนไพรในตัวทำละลายมาแยกหาตำแหน่งสารออกฤทธิ์โดยใช้โครมาโตกราฟีผิวบางใน Solvent system ต่าง ๆ กัน มะคำดีควายใช้ คลอโรฟอร์ม : อะซิโทน 8 : 2 มะหาดใช้ คลอโรฟอร์ม : อะซิโทน 9 : 1 กานพลูใช้ เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม 8 : 2 สันพร้าหอม ใช้ เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม 7 : 3 ค่า Rf เฉลี่ยของสารออกฤทธิ์ต่อเชื้อ Trichophyton mentagrphytes ของ มะคำดีควาย มะหาด กานพลู และสันพร้าหอม คือ 0.05, 0.65, 0.4 และ 0.15 สรุปผลการทดลองได้ว่าสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราได้ดีที่สุดคือ กานพลู รองลงมา คือ มะหาด สันพร้าหอม และมะคำ ดีควาย ตามลำดับ

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย