บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับต้นตานหม่อน
2. ความรู้เกี่ยวกับการสกัดสารจากพืช
3. อนุมูลอิสระ
4. โครมาโทกราฟี
5. สารสำคัญในพืช
6. โรคเอดส์หรือโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง
7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับต้นตานหม่อน

ภาพที่ 2.1 ต้นตานหม่อน
ที่มา: อำเภอหันคา จังหวัดชัยนาท

1. ชื่อวิทยาศาสตร์ *Vernonia elliptica* DC.

2. ชื่อวงศ์ Compositae

3. ชื่ออื่นๆ ซ้าหมักหลอด ตานค้อน ตานหม่น ลีกวนยู

4. ลักษณะ ไม้พุ่มเลื้อยที่มีความสูง 2-3 เมตร กิ่งก้านเล็กเรียวเป็นสันตามยาว ลำต้นมีขนสั้นๆ เป็นสีขาวนวลหรือสีเงิน ปกคลุมคล้ายเส้นไหม แตกลำต้นใหม่จากลำต้นที่ทอดไปตามพื้นดิน ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ ทรงรูปไข่กลับ หรือรูปขอบขนาน กว้าง 3-5 เซนติเมตร ยาว 6-10 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ หรือหยักห่างๆ แผ่นใบด้านล่างมีขนสีเงินปกคลุม ดอกออกเป็นช่อกระจุกแน่นที่ปลายยอดหรือตามซอกใบใกล้ปลายยอดกลีบดอกสีขาวหรือสีชมพูเชื่อมติดเป็นรูปกรวยปลายแยกเป็น 5 แฉก ผลเป็นผลแห้งไม่แตก เมล็ดล่อน สีดำ รูปกระสวย

5. สรรพคุณ แก้พิษตานซาง คุมธาตุ ขับพยาธิไส้เดือน บำรุงผิวพรรณ

6. นิเวศวิทยา พบทั่วไปตามพื้นที่รกร้างริมถนน

7. แหล่งที่พบ ป่าในเขตตำบลน้ำแพร่ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่

ความรู้เกี่ยวกับการสกัดสารจากพืช

1. การเตรียมตัวอย่างพืช

การเตรียมตัวอย่างพืชเพื่อสกัดสาร ต้องคำนึงถึงสิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญในพืช ได้แก่

1.1 ต้องมีการตรวจเอกลักษณ์ของพืชที่นำมาสกัดให้ถูกต้อง

1.2 บริเวณที่เก็บต้องไม่มีพืชอื่นปะปน

1.3 ตัวอย่างที่เก็บต้องไม่มีโรคพืช ถ้าตัวอย่างพืชที่เก็บมีจุลินทรีย์ปนมากับพืช อาจจะมีจุลินทรีย์ถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารสกัดที่ต้องการ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืชได้สารที่ต่างออกไปจากธรรมชาติ

1.4 ความแตกต่างของสารที่สำคัญในพืช (variation of plant constituents) ในการเก็บพืชแต่ละครั้ง อาจให้สารสำคัญในพืชแตกต่างกันทั้งปริมาณและชนิด ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความแตกต่างเนื่องจากแหล่งที่ปลูกหรือสายพันธุ์

1.5 ผลของการเก็บรักษาและการเตรียมพืช (effect of preserving and processing process) ในการทำให้พืชแห้ง บางครั้งจะทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรเสีย

2. การทำตัวอย่างให้แห้ง

ในการนำพืชสดที่เก็บมา ต้องอบหรือตากแห้งเพื่อลดการทำงานของเอนไซม์ เพราะเอนไซม์จะมีปฏิกิริยาในสภาพที่มีน้ำ อีกทั้งยังช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และช่วยลดปริมาตรของพืชลงเพื่อความสะดวกในการเก็บรักษา ดังนั้นวิธีทำให้แห้งโดยการคงคุณภาพของพืชสมุนไพรควรจะทำให้แห้งโดยวิธีที่เร็วและใช้อุณหภูมิต่ำ เพราะอุณหภูมิสูงจะทำให้สารสำคัญสลายตัวหรืออาจเปลี่ยนแปลงไปได้ การทำให้แห้งอาจทำได้ดังนี้

2.1 Air drying เป็นการทำให้แห้งในอากาศ อาจเป็นการทำให้แห้งในที่ร่ม (shade drying) หรือตากแดด (sun drying)

2.2 Artificial heat เป็นการทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากพลังงานอื่นๆเช่นไฟฟ้าได้แก่การทำให้แห้งในตู้อบ ซึ่งจะมีการควบคุมอากาศที่ผ่านเข้าออกและอุณหภูมิ วิธีนี้จะดีกว่าวิธีแรกที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้แน่นอน

3. การสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืช อาจทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ แต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัด เช่น

3.1 Maceration เป็นกระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืช โดยวิธีหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่หรือโถ ทิ้งไว้ประมาณ 7 วันหมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดเวลารินเอาสารสกัดออกพยายามบีบเอาสารสกัดออกจากกากให้มากที่สุด จากนั้นรวมสารสกัดที่ได้ นำสารสกัดไปกรอง ถ้าต้องการสกัดให้หมดอาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลายๆครั้ง วิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

3.2 Percolation เป็นกระบวนการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือ percolator นำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้นทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เมื่อสมุนไพรพองตัวเต็มที่แล้วค่อยๆ บรรจุสมุนไพรทีละชิ้นลงใน percolator เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพรประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออก คอยเติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดบีบกากเอาสารสกัดออกให้มากที่สุดนำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันแล้วกรอง

3.3 Soxhlet extraction เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ การสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในขวดก้นกลมระเหยขึ้นไป ตัวทำละลายจะกระทบกับเครื่องควบแน่น แล้วหยดลงมาที่สมุนไพรที่ใส่ไว้ใน soxhlet เมื่อตัวทำละลายสูงถึงจุดหนึ่งตัวทำ

ละลายที่มีสารสกัดอยู่จะไหลกลับลงไปในขวดก้นกลม ตัวทำละลายและสารสกัดจะไหลเวียนอย่างนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อน จึงอาจทำให้สารเคมีบางชนิดสลายตัว

3.4 Liquid-liquid extraction เป็นการสกัดสารจากสารละลายซึ่งเป็นของเหลวลงในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่ผสมกับตัวทำละลายชนิดแรก แบ่งออกเป็น2 ชนิด คือ

3.4.1 Extractant lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดเบากว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร

3.4.2 Raffinate lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดหนักกว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร

4. การเลือกใช้ตัวทำละลาย

การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ ขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติดังนี้

4.1 เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดีและละลายสารที่ไม่ต้องการได้น้อยหรือไม่ละลายเลย

4.2 จุดเดือดต่ำ สามารถระเหยแยกออกจากสารที่ต้องการได้ง่าย

4.3 ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด

4.4 ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

4.5 มีความคงตัวดีและราคาถูกตามสมควร

ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่

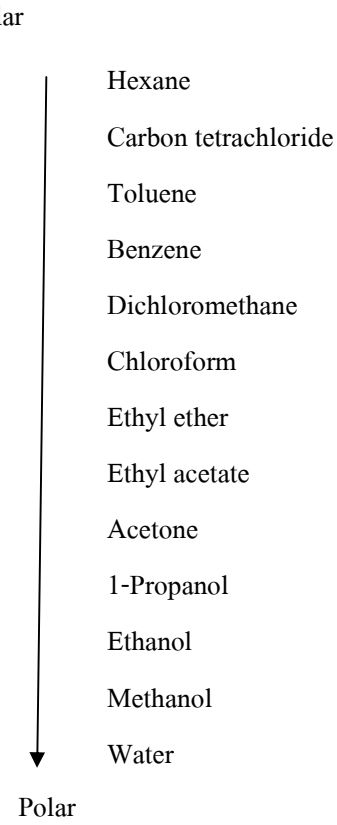
1. คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายที่ดีแต่มีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) น้อย เกิดคอลลอยด์ (emulsion) ง่าย ถ้าใช้สกัดสารซึ่งเป็นด่างแก่ อาจจะละลายได้กรดเกลือ

2. อีเทอร์มีอำนาจในการทำละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม แต่จะมีความจำเพาะเจาะจงดีกว่า ข้อเสียคือ ระเหยง่าย เกิดออกซิไดซ์ง่ายและดูดน้ำได้มาก

3. เฮกเซนเหมาะสำหรับพวกสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันจากสมุนไพร ข้อดีคือราคาถูก

4. แอลกอฮอล์ได้แก่ methanol และ ethanol เป็นตัวทำละลายที่มีอำนาจในการละลายกว้างมากและยังใช้ทำละลายเอนไซม์ในพืช

เรียงลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายจากน้อยไปหามากได้ดังนี้



5. การทำสารสกัดให้เข้มข้น

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาตรเป็นจำนวนมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี (กัลทิมา พิชัย, 2555) ดังนี้

5.1 การระเหยแห้งโดยใช้ความร้อน (free evaporation) จากหม้ออังไอน้ำที่ใช้หรือที่ให้ความร้อนโดยบางครั้งอาจจะเป่าอากาศร้อนลงไปในสารสกัดด้วยเพื่อทำให้ระเหยได้เร็วขึ้น

5.2 การระเหยแห้งโดยการกลั่นภายใต้สุญญากาศ (distillation in vacuo) เป็นการกลั่นด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ขวดก้นกลมที่ใส่สารสกัด ขวดก้นกลมที่รองรับตัวทำละลายที่แยกออกมาจากสารสกัดและเครื่องควบแน่นขวดก้นกลมที่ใส่สารสกัดซึ่งจะหมุนอยู่ตลอดเวลาที่ทำงานและแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำ เพื่อให้การกระจายตัวของความร้อนไปได้ทั่วถึงและ

สม่ำเสมอ เครื่องมือที่ดีจะต้องมีระบบทำสุญญากาศที่ดี ระยะห่างระหว่างขวดก้นกลมที่ใส่สารสกัดและเครื่องควบแน่นสั้น และระบบทำความเย็นเครื่องควบแน่นดี

5.3 การแช่แข็ง (freezing) เป็นกระบวนการกำจัดน้ำออกจากสารตัวอย่างโดยที่สารตัวอย่างยังคงมีคุณสมบัติเหมือนเดิมโดยเครื่อง lyophilizer extract แต่ถ้าเป็นสารละลายอื่นที่ไม่ใช่น้ำเฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่แข็งซึ่งจะใช้แยกจาก concentrated extract โดยการใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

5.4 การสกัดด้วยน้ำทำให้เข้มข้นโดยการกรองด้วย membrane (ultrafiltration) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000 ดาลตัน เช่น แยกโปรตีนจากน้ำเสียของการผลิตวุ้นเส้นถั่วเขียวด้วยวิธี ultrafiltration เพื่อให้ได้โปรตีนคุณภาพสูงและสามารถลดมลภาวะในน้ำเสียได้

อนุมูลอิสระ

1. ความหมายของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ สารที่มีอะตอม หมู่อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (singlet หรือ unpaired electron) เป็นส่วนประกอบอย่างน้อยหนึ่งตัว จำนวนอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่นี้อาจมีหนึ่งตัวหรือหลายตัวก็ได้ปกติอะตอมหรือโมเลกุลที่เสถียรจะต้องมีจำนวนอิเล็กตรอนอยู่เป็นคู่ๆ เสมอหากอิเล็กตรอนขาดหรือเกินกว่าเดิมจะทำให้อะตอมหรือโมเลกุลนั้นมีความว่องไวมาก ไม่อยู่นิ่งและจะหาทางทำปฏิกิริยากับธาตุอื่นเพื่อทำให้ตัวเองเกิดความเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Smith et al, 1996) และไม่มีแบบแผนที่แน่นอน (Gey, 1990) โดยที่อนุมูลอิสระแต่ละตัวสามารถทำให้เกิดความไม่สมดุลของอิเล็กตรอนต่อโมเลกุลอื่นๆ ได้หลายพันโมเลกุล อนุมูลอิสระจะมีครึ่งอายุสั้นโดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้ 2 รูปแบบ คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนมาจากสารโมเลกุลอื่นที่อยู่ข้างเคียง และโดยการเพิ่มโมเลกุลของออกซิเจนเข้าไป เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล แล้วจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ทำลายสมดุลของระบบต่างๆ ในร่างกายโดยการทำลายองค์ประกอบหลักของเซลล์ เช่น ทำลายหน้าที่ของเซลล์ เมมเบรน ทำลายดีเอ็นเอโดยจะไปจับกับหมู่ฟอสเฟตและน้ำตาลดีออกซีไรโบส อนุมูลอิสระยังสามารถสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีนทำให้โปรตีนไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติ จากสาเหตุนี้ทำให้เกิดการกลายพันธุ์และเกิดเป็นมะเร็งได้ นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดสภาวะทางพยาธิในโรคสำคัญบางโรค ได้แก่ โรคหัวใจไขมันอุดตันในเส้นเลือด ไขข้ออักเสบ และต้อกระจก เป็นต้น (อัญชนา เจนวิถีสุข, 2544)

2. สมบัติของอนุมูลอิสระ

เนื่องจากอิเล็กตรอนที่มีอยู่ในโมเลกุลของอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระมีสมบัติทางกายภาพ คือ ถูกดึงดูดในสนามแม่เหล็กอย่างอ่อนๆ สามารถตรวจสอบและวิเคราะห์ได้โดยเทคนิคที่เรียกว่า Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy (EPR) แต่อนุมูลอิสระส่วนน้อยเท่านั้นที่มีความเสถียรพอที่จะตรวจสอบโดยเทคนิคนี้ได้ที่อุณหภูมิห้องวิธีที่นิยมมากที่สุดที่ใช้ในการตรวจสอบอนุมูลอิสระที่สลายตัวง่ายคือการใช้เทคนิคที่เรียกว่า Spin trippingโดยวิธีนี้จะใช้ในโมเลกุลสารอินทรีย์ที่มีสมบัติเป็น diamagnetic ซึ่งเรียกว่า Spin trap โดยให้ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่ต้องการตรวจสอบเพื่อให้เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยาเคมี สิ่งที่มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระมีหลายอย่างเช่น อุณหภูมิ ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ ธรรมชาติของสารละลาย พีเอช เป็นต้น

3. ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (free radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรกเรียกว่าขั้นเริ่มปฏิกิริยาลูกโซ่ (initiation step) เป็นขั้นตอนที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ขั้นตอนที่สองเรียกว่า ขั้นแผ่ขยายสายโซ่ (propagation step) เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลตัวอื่น ขั้นตอนที่สามเรียกว่า ขั้นสิ้นสุดปฏิกิริยา (termination step) เป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้สารที่มีความเสถียร

3.1 ขั้นเริ่มปฏิกิริยาลูกโซ่ (Initiation step)

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ มักเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ (hydrolysis) แสง (photolysis) รังสี (radiolysis) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์อื่นๆ อีกหลายชนิดที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ รวมถึงโมเลกุลที่มีความไวสูงในการทำปฏิกิริยา เช่น nitric oxide (NO) singlet oxygen ($^1O_2$) ซึ่งเป็นออกซิเจนในสถานะที่ถูกกระตุ้น (exited state)สิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดขั้นตอนเริ่มปฏิกิริยาลูกโซ่ของปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ (1)

$$RH \longrightarrow R^{\cdot} + {}^{\cdot}H \qquad \text{สมการที่ (1)}$$

Singlet oxygen เมื่อทำปฏิกิริยากับไขมัน (RH) จะทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังสมการที่ (2)

$$RH + {}^1O_2 \longrightarrow ROOH \qquad \text{สมการที่ (2)}$$

นอกจากนี้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังเกิดขึ้นได้ในปฏิกิริยาที่มีออกซิเจนในสถานะพื้น (ground state) ซึ่งเรียกว่า triplet oxygen ($^3O_2$) และมีเอนไซม์ lipoxygenase อยู่ด้วยดังสมการที่ (3)

$$RH + {}^3O_2 \xrightarrow{\text{lipoxygenase}} ROOH \qquad \text{สมการที่ (3)}$$

พันธะ O-O ในโมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นพันธะที่อ่อน จึงถูกสลายได้ง่ายทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งถือเป็นขั้นตอนเริ่มปฏิกิริยาลูกโซ่ของปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ (4) – (6)

$$ROOH \rightleftharpoons ROO^{\cdot} + H^{\cdot} \qquad \text{สมการที่ (4)}$$

$$ROOH \rightleftharpoons RO^{\cdot} + OH^{\cdot} \qquad \text{สมการที่ (5)}$$

$$2\ ROOH \rightleftharpoons RO^{\cdot} + H_2O + ROO^{\cdot} \qquad \text{สมการที่ (6)}$$

ในปฏิกิริยาที่มีไอออน เช่น เหล็ก และทองแดง พบว่าจะเป็นการช่วยเร่งการสลายโมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ดังสมการที่ (7) และ (8)

$$ROOH + M^{N+} \longrightarrow RO^{\cdot} + OH^{\cdot} + M^{(N+1)+} \qquad \text{สมการที่ (7)}$$

$$ROOH + M^{(N+1)+} \longrightarrow ROO^{\cdot} + H^{+} + M^{N+} \qquad \text{สมการที่ (8)}$$

3.2 ขั้นแผ่ขยายสายโซ่ (Propagation step)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขั้นตอน initiation จะดำเนินปฏิกิริยาต่อไปในขั้นตอน propagation โดยเกิดปฏิกิริยา 2 แบบ คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลข้างเคียง หรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะ ground state ทำให้ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ ดังสมการที่ (9) และ (11)

$$RH + R^{1-} \rightleftharpoons R^{\cdot} + R^{1}H \qquad \text{สมการที่ (9)}$$

$$R^{\cdot} + {}^3O_2 \rightleftharpoons ROO^{\cdot} \qquad \text{สมการที่ (10)}$$

$$ROO^{\cdot} + RH \rightleftharpoons ROOH + R^{\cdot} \qquad \text{สมการที่ (11)}$$

3.3 ขั้นสิ้นสุดปฏิกิริยา (Termination step)

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลรวมกันได้เป็นสารที่มีความเสถียรจึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ (12) และ (13)

$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \rightleftharpoons ROOR + O_2$ สมการที่ (12)

$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \rightleftharpoons ROOR$ สมการที่ (13)

4. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant**)**

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารกำจัดอนุมูลอิสระคือสารเคมีที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในที่นี้รวมถึงสารที่สามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ (วัลยา เนาวรัตน์วัฒนา และพัชรี บุญศิริ, 2542) สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นสารธรรมชาติและสารสังเคราะห์

4.1 สมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยทั่วไปจะมีคุณสมบัติข้อใดข้อหนึ่งหรือหลายข้อต่อไปนี้

4.1.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Antiradical properties) คือความสามารถในการต้านหรือทำลายอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ

4.1.2 สมบัติการต้านปฏิกิริยาไลโปเปอร์ออกซิแดนท์ (Antilipoperoxidant properties) คือความสามารถในการยับยั้งหรือหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว

4.1.3 สมบัติการกำจัดออกซิเจน (Antioxygen properties) คือความสามารถในการกำจัดโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของปฏิกิริยาหลายชนิด

4.1.4 สมบัติการจับไอออนของโลหะ (Chelating properties) คือความสามารถในการจับไอออนของโลหะ เช่น Fe^{3+}และ Cu^{2+} ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ

4.2 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามคุณสมบัติของสารได้อย่างกว้างๆ เป็น 2 ประเภท (Erikson and Nat, 1994) ได้แก่

4.2.1 Primary antioxidants หมายถึงกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ โดยการจับกับอนุมูลอิสระและทำให้เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เสถียร ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติในการให้อิเล็กตรอน ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic substance) tocopherol, alkyl gallates, hydroquinone, trihydroxybutyrophenone, trolox, BHA, BHT และ TBHQ

4.2.2 Secondary antioxidants หมายถึงกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ dilaurylthiopropionate, distearyl esters และ thiodipropionic acid ซึ่งทำหน้าที่สลายอนุมูล lipid hydroperoxide ให้อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เสถียร

4.3 สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิด

4.3.1 บีตา– แคโรทีน (β-carotene) เป็นสารประกอบในกลุ่ม isoprenoid pigment และเป็นโปรวิตามินเอที่มีประสิทธิภาพที่สุด บีตา–แคโรทีน เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะจับกับโปรตีนในอาหารแล้วถูกย่อยด้วยเอนไซม์ carotene oxigenaseและเอนไซม์ retinaldehyde reductase ให้เปลี่ยนเป็นเรตินอลที่ลำไส้เล็กและถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ประมาณ 5–50% บีตา–แคโรทีนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยป้องกันเซลล์ไม่ให้ถูกอนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยาโดยเฉพาะบริเวณที่มีออกซิเจนต่ำซึ่งพบได้ในเซลล์

4.3.2 วิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่อยู่นอกเซลล์ (extracellular) ป้องกันเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระ วิตามินซีจะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้หลายชนิด โดยเฉพาะในกลุ่มออกซิเจน เช่นsuperoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) และ hydroxyl radical ($OH^{\cdot}$)วิตามินซีแม้จะมีปริมาณน้อยแต่มีประสิทธิภาพมากเพราะสามารถเปลี่ยนรูปกลับไปกลับมาได้ดังสมการที่ (14)–(17)

$$AH^{-} + OH^{\cdot} \longrightarrow H_2O + A^{\cdot-} \qquad \text{สมการที่ (14)}$$

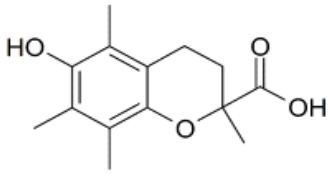
$$AH^{-} + O_2^{\cdot-} + H^{+} \longrightarrow H_2O + A^{\cdot-} \qquad \text{สมการที่ (15)}$$

$$AH^{-} + ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOH + A^{\cdot-} \qquad \text{สมการที่ (16)}$$

$$AH^{-} + H_2O + H^{+} \longrightarrow H_2O + A^{\cdot} \qquad \text{สมการที่ (17)}$$

4.3.3 วิตามินอี (α –Tocopherol) เป็นวิตามินที่ละลายในไขมันเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพสูงมีกลไกในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแบบ chain – breaking ป้องกันการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในปฏิกิริยา radical chain reaction และยังพบว่าวิตามินอีทำงานร่วมกับวิตามินซีในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

4.3.4 โทรลอกซ์ (6–Hydroxy–2,5,7,8–tetramethylchroman–2–carboxylicacid) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่เป็น analog ของวิตามินอีที่สามารถละลายน้ำได้โดยมีการแทนที่ส่วนที่ไม่ละลายน้ำด้วยกลุ่มของ -COOH ซึ่งเป็นส่วนที่สามารถละลายน้ำได้โทรลอกซ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่กำจัด (scavenger antioxidant) อนุมูลอิสระพวก peroxyl และ alkoxyl จากนั้นจะเปลี่ยนรูปเป็น trolox radical โดยมีวิตามินซีเป็นตัวช่วยให้กลับคืนรูป

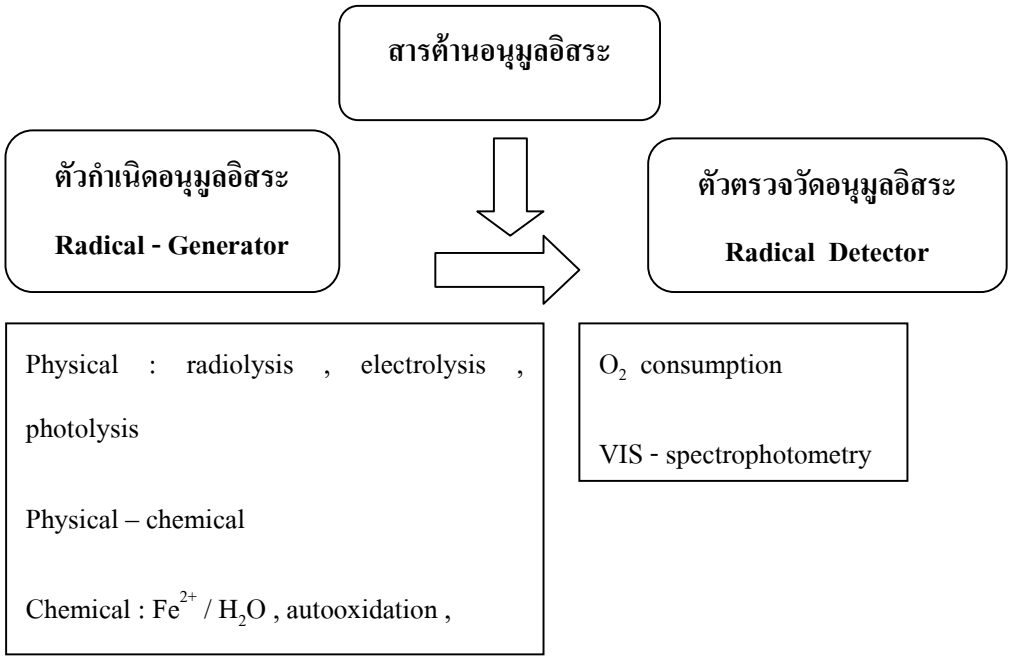


ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของ Trolox

ที่มา: http://www.emdbiosciences.com

5. หลักการตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

การหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ทำโดยอาศัยหลักการดังภาพที่ 2.3 โดยขั้นแรกจะเป็นการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมาก่อนแล้วจึงเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป จากนั้นทำการตรวจวัดหาอนุมูลอิสระที่เหลือหลังจากการเกิดปฏิกิริยาซึ่งหลักการนี้สามารถนำไปใช้ได้อย่างหลากหลายขึ้นอยู่กับการเลือกชนิดของตัวกำเนิดอนุมูลอิสระ และชนิดของตัวตรวจวัดอนุมูลอิสระ



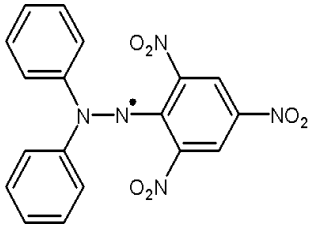
ภาพที่ 2.3 หลักการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา: บันเทิง เดี่ยวปรัชญารักษ์, 2549

5.1 การตรวจวัดความสามารถต้านอนุมูลอิสระ

5.1.1 หลักการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2–diphenyl–1–picrylhydrazylradical scavenging capacity assay)

DPPH assay เป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ reagent คือ 2,2–diphenyl–1–picrylhydrazyl ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2.4 เป็น stable radical ในตัวทำละลาย methanol สารละลายชนิดนี้มีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร



ภาพที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของ 2,2–diphenyl–1–picrylhydrazyl radical (DPPH radical)

ที่มา: www.chem drug.com

โดย DPPH$^{\cdot}$ จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species ($R^{\cdot}$) ได้ ดังสมการที่ (18) – (19)

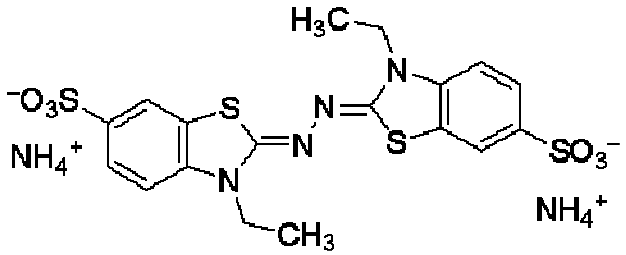
$$DPPH^{\cdot} + AH \longrightarrow DPPH - H + A^{\cdot} \quad \text{สมการที่ (18)}$$

$$DPPH^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow DPPH - R \quad \text{สมการที่ (19)}$$

DPPH assay เป็นวิธีที่มีข้อดี คือเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้อง และมี reproducibility สูง แต่มีข้อเสียคือไม่สามารถใช้วิธีนี้วิเคราะห์ antioxidant activity ของเลือดได้ เพราะต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งทำให้โปรตีนตกตะกอนได้

5.1.2 หลักการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS (2,2'–Azino–bis (3–ethylbenzothiazoline–6–sulfonic acid) cation radical scavenging assay)

ABTS assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant capacity)ที่ใช้ reagent คือ2,2'–Azino–bis(3–ethylbenzothiazoline–6–sulfonic acid)diammonium salt ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2.5 เป็น stable radical ใน aqueous solution สารละลายชนิดนี้มีสีเขียวดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร



ภาพที่ 2.5 สูตรโครงสร้างของ 2,2'–Azino–bis (3–ethylbenzothiazoline –6–sulfonic acid) diammoniumsalt

ที่มา: ปรียนันท์ บัวสด, 2549

การทำให้เกิด ABTS cation radical ทำได้หลายวิธีดังนี้

1. ใช้ enzyme reaction คือใช้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิด ABTS cation radical เช่น peroxidase, myoglobin เป็นต้น

2. ใช้ chemical reaction คือใช้สารเคมี เช่น manganesedioxidase, potassiumpersulfate, 2,2' – azo – bis (2 – amidinopropane) (ABAP) เป็นต้น

$$OH^{\cdot} + ABTS \longrightarrow ABTS^{\cdot+} + H_2O$$ สมการที่ (20)

Antioxidant (AH) จะทำปฏิกิริยากับ $ABTS^{\cdot+}$ ดังนี้

$$ABTS^{\cdot+} + AH \longrightarrow ABTS + A^{\cdot}$$ สมการที่ (21)

โครมาโทกราฟี (Chromatography)

1. โครมาโทกราฟี

เป็นการแยกสารผสมที่มีสีหรือสารที่สามารถทำให้เกิดสีได้ หลักการแยกนี้จะมีเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยที่สารในเฟสอยู่กับที่จะทำหน้าที่ดูดซับสารผสมด้วยแรงไฟฟ้าสถิตย์ สารที่ใช้ทำเฟสอยู่กับที่จึงมีลักษณะเป็นผงละเอียดมีพื้นที่ผิวมาก เช่น อลูมินา (Al_2O_3), ซิลิกาเจล (SiO_2) หรืออาจจะใช้วัสดุที่สามารถดูดซับได้ดี เช่น ชอล์ก กระดาษ ส่วนเฟสเคลื่อนที่จะทำหน้าที่ชะ (elute) เอาสารผสมออกจากเฟสอยู่กับที่ให้เคลื่อนที่ไปด้วย สารจะเคลื่อนที่ได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับแรงดึงดูดระหว่างสารในสารผสมกับตัวดูดซับในเฟสอยู่กับที่ ดังนั้นสารที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่จึงได้แก่ พวกตัวทำละลาย เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เบนซีน ฯลฯ การทำโครมาโทกราฟีสามารถทำได้หลายวิธีจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับว่าเฟสที่อยู่กับที่จะอยู่ในลักษณะใด การแยกสารผสมโดยวิธีโครมาโทกราฟีนั้นต้องอาศัยสมบัติ 2 ประการ คือ

1.1 สารต่างชนิดกันมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายได้ต่างกัน

1.2 สารต่างชนิดกันมีความสามารถในการถูกดูดซับด้วยตัวดูดซับได้ต่างกัน

2. หลักการของโครมาโทกราฟี

โครมาโทกราฟีอาศัยหลักการละลายของสารในตัวทำละลายและการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ โดยสารที่ต้องการนำมาแยกด้วยวิธีนี้จะมีสมบัติการละลายในตัวทำละลายได้ไม่เท่ากันและถูกดูดซับโดยตัวดูดซับได้ไม่เท่ากัน ทำให้สารเคลื่อนที่ได้ไม่เท่ากัน

2.1 วิธีการทำโครมาโทกราฟี

นำสารที่ต้องการแยกมาละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้วให้เคลื่อนที่ไปบนตัวดูดซับ การเคลื่อนที่ของสารบนตัวดูดซับขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารแต่ละชนิดในตัวทำละลาย และความสามารถในการดูดซับที่มีต่อสารนั้น กล่าวคือ สารที่ละลายในตัวทำละลายได้

ดี และถูกดูดซับน้อยจะเคลื่อนที่ออกมาก่อน ส่วนสารที่ละลายได้น้อยและถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ออกมาทีหลัง ถ้าใช้ตัวดูดซับมากๆ จะสามารถแยกสารออกจากกันได้

2.2 การเลือกตัวทำละลายและตัวดูดซับ

2.2.1 ตัวทำละลายและสารที่ต้องการแยกจะต้องมีการละลายไม่เท่ากัน

2.2.2 ควรเลือกตัวดูดซับที่มีการดูดซับสารได้ไม่เท่ากัน

2.2.3 ถ้าต้องการแยกสารที่ผสมกันหลายชนิด อาจต้องใช้ตัวทำละลายหลายชนิดหรือใช้ตัวทำละลายผสม

2.2.4 ตัวทำละลายที่นิยมใช้ได้แก่ เฮกเซนไซโคลเฮกเซนเบนซีนคลอโรฟอร์มและเอทานอล

2.2.5 ตัวดูดซับที่นิยมใช้ ได้แก่ อลูมินา (Al_2O_3) และ ซิลิกาเจล (SiO_2)

2.3 ข้อดีของโครมาโทกราฟี

2.3.1 สามารถแยกสารที่มีปริมาณน้อยได้

2.3.2 สามารถแยกได้ทั้งสารที่มีสี และไม่มีสี

2.3.3 สามารถใช้ได้ทั้งปริมาณวิเคราะห์และคุณภาพวิเคราะห์

2.3.4 สามารถแยกสารผสมออกจากกันได้

2.3.5 สามารถแยกสารออกจากกระดาษกรองหรือตัวดูดซับโดยสกัดด้วยตัวทำละลาย

3. โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column chromatography)

หลักการคือบรรจุสารที่เป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) เช่น อลูมินาหรือซิลิกาเจลไว้ในคอลัมน์ แล้วเทสารผสมที่เป็นสารละลายของเหลวลงสู่คอลัมน์ สารผสมจะผ่านคอลัมน์ช้าๆ โดยตัวทำละลายซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นตัวพาสารในเฟสอยู่กับที่จะดูดซับสารในสารผสมไว้ ส่วนประกอบใดของสารผสมที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ช้าส่วนที่ถูกดูดซับไม่ดีจะเคลื่อนที่ได้เร็ว ทำให้สารผสมแยกจากกันได้

การบรรจุ absorbent (packing) ทำได้ 2 วิธีดังนี้ (ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิต, 2534)

1. การบรรจุแบบ absorption chromatography เช่น dry packingใช้สำหรับอลูมินาโดยค่อยๆ เท adsorbent ลงในคอลัมน์ค่อยๆ เคาะเบาๆ ที่ข้างๆ คอลัมน์เพื่อให้ adsorbent pack สม่ำเสมอตลอดคอลัมน์

2. การ pack adsorbent สำหรับ partition chromatography ทำได้โดยผสม adsorbent กับ liquid ซึ่งจะใช้เป็น stationary phase แล้วจึงค่อย ๆ pack ลงใน mobile phase ซึ่ง อิ่มตัวด้วย liquid stationary

phase เนื่องจากตัวดูดซับมีคุณสมบัติเบาจึงต้องค่อยๆ pack และ tap ให้แน่นด้วย stirring rod ซึ่งแผ่ปลายออกให้แบน

ตัวทำละลายที่ใช้ในการทำโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

1. ควรจะเป็นตัวทำละลายบริสุทธิ์ระดับ chromatrographic grade ถ้าใช้ grade ที่ต่ำกว่านี้ เช่น analytical grade จะต้องนำไปกลั่นก่อนหรืออาจจะต้องผ่าน alumina column ก่อน

2. การใช้ตัวทำละลายแยกสารสกัดจากพืช ทำได้โดยค่อยๆเพิ่มความมีขั้วของตัวทำละลายตามลำดับดังนี้

hexane ⟶ ethyl acetate ⟶ methanol

4. โครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (Thin layer chromatography : TLC)

โครมาโทกราฟีแบบชั้นบางเป็นโครมาโทกราฟีแบบระนาบ (plane chromatography) โดยทำเฟสอยู่กับที่ให้มีลักษณะเป็นครีมข้นแล้วเคลือบบนแผ่นกระจกให้ความหนาของการเคลือบเท่ากันตลอดแล้วนำไปอบให้แห้ง หยดสารละลายของสารผสมที่ต้องการแยกบนแผ่นที่เคลือบเฟสอยู่กับที่ไว้ แล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่บรรจุตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ไว้โดยระดับของตัวทำละลายต้องอยู่ต่ำกว่าระดับของจุดที่หยดสารผสมไว้ ตัวทำละลายจะซึมไปตามเฟสอยู่กับที่ด้วยการซึมตามรูเล็กเหมือนกับน้ำที่ซึมไปในกระดาษหรือผ้า เมื่อซึมถึงจุดที่หยดสารผสมไว้ตัวทำละลายจะชะเอาองค์ประกอบในสารผสมนั้นไปด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพมีขั้วของสารที่เป็นองค์ประกอบกับสารที่เป็นตัวทำละลาย ถ้าตัวทำละลายเป็นโมเลกุลมีขั้วจะชะเอาสารในสารผสมที่เป็นสารมีขั้วไปด้วยได้เร็ว ส่วนสารที่ไม่มีขั้วในสารผสมจะถูกชะพาไปได้ช้า ทำให้สารผสมแยกออกจากกัน

สารสำคัญในพืช

สารสำคัญในพืช (ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิต, 2534) หมายถึง

1. แอลคาลอยด์ (Alkaloid)

แอลคาลอยด์เป็นสารอินทรีย์ที่มีฤทธิ์เป็นด่างมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบมักพบในพืชชั้นสูง แอลคาลอยด์มีสูตรโครงสร้างซับซ้อนและแตกต่างกันมากมาย คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ คือไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในสารอินทรีย์ ส่วนใหญ่มีรสขม แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่จะเป็นผลึกไม่มีสียกเว้นชนิดที่มี conjugated double bond เช่น berberine มีสีเหลือง แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการ

รักษาโรคอย่างกว้างขวางเช่น ใช้เป็นยาระงับปวด (สาร morphine ในยางของผลฝิ่น) ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ยารักษาโรคมาลาเรีย ยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น

2. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

ฟลาโวนอยด์พบได้ทุกส่วนของพืช เป็นสารมีสีทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงาม คุณสมบัติของฟลาโวนอยด์คือเป็นสารโพลีฟีนอล (polyphenolic compound) ส่วนใหญ่เป็นO-glycoside พบเป็น C-glycoside บ้าง และน้ำตาลมักจับตำแหน่ง 3, 5 หรือ 7 ของ aglyconeบางชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ทำให้เส้นเลือดฝอยแข็งแรง ต้านเชื้อไวรัส ลดการอักเสบ สารสำคัญกลุ่มนี้ ได้แก่ hesperidin และ rutin ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้ผนังเส้นเลือดฝอยแข็งแรง ไม่เปราะ ใช้รักษาโรคริดสีดวงทวาร

3. โพลีฟีนอล (Polyphenol)

โพลีฟีนอลเป็นกลุ่มของสารประกอบที่พบในพืชโดยเป็นสารประกอบที่มีกลุ่มของฟีนอลมากกว่าหนึ่งกลุ่มในแต่ละโมเลกุล โพลีฟีนอลสามารถแบ่งกลุ่มย่อยออกเป็นแทนนินและฟีนิลโพรพานอยด์ซึ่งได้แก่ ลิกนินและฟลาโวนอยด์ ประโยชน์ของโพลีฟีนอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระประเภทหนึ่ง สามารถต้านฤทธิ์ของอนุมูลอิสระซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการเสื่อมของร่างกายและโรคไม่ติดต่อเรื้อรังโดยพบว่าโพลีฟีนอลสามารถลดการอักเสบในโรคต่างๆ ได้ เช่นโรคหัวใจและโรคหลอดเลือด อาจลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งได้ โดยพบว่าโพลีฟีนอลลดปริมาณและกำจัดสารอนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นทั้งภายในและภายนอกเซลล์

4. แทนนิน (Tannins)

แทนนินเป็นสารที่พบในพืชทั่วไป มีรสฝาด ฤทธิ์เป็นกรดอ่อนและสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ เช่นตกตะกอน gelatin และเป็นสารที่ไม่ตกผลึกเมื่อนำมาละลายในน้ำจะให้ colloidal solution มีฤทธิ์ฝาดสมานและฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบในใบฝรั่ง เนื้อของกล้วยน้ำว้าดิบ ประโยชน์ของแทนนินใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ทำให้หนังเป็นเงางามและทนทาน เป็นยาแก้ท้องเสียเนื่องจากมีฤทธิ์ฝาดสมาน

โรคเอดส์หรือโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง

โรคเอดส์หรือโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง (Acquired Immune Deficiency Syndrome - AIDS) เป็นกลุ่มอาการเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นเพราะร่างกายได้รับเชื้อไวรัสเอชไอวี (Human Immunodeficiency Virus หรือ HIV) ซึ่งจะเข้าไปทำลายเม็ดเลือดขาว ที่เป็นแหล่งสร้างภูมิคุ้มกันโรค ทำให้ภูมิคุ้มกันโรคลดน้อยลง จึงทำให้ติดเชื้อโรคฉวยโอกาสแทรกซ้อนเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายขึ้น เช่น วัณโรค ปอดบวม

ต่อมน้ำเหลืองโต เยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อรา โรคผิวหนังบางชนิด หรือเป็นมะเร็งบางชนิดได้ง่ายกว่าคนปกติ ซึ่งสาเหตุของการเสียชีวิตมักเกิดขึ้นจากโรคติดเชื้อฉวยโอกาสต่างๆ เหล่านี้ ทำให้อาการรุนแรงและจะเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันมีการตรวจพบโรคเอดส์ทั่วโลกและประมาณการว่ามีผู้เสียชีวิตเนื่องจากโรคเอดส์อย่างน้อย 25 ล้านคน ตั้งแต่โรคนี้ถูกค้นพบในปี พ.ศ.2524 (ค.ศ.1981) นับเป็นโรคที่มีอันตรายสูงโรคหนึ่งของประวัติศาสตร์มนุษยชาติ ในปีพ.ศ.2548 ประมาณการว่ามีผู้ติดโรคเอดส์ประมาณ 3.1 ล้านคน(ระหว่าง 2.8 - 3.6 ล้าน) ซึ่ง 570,000 คนของผู้ป่วยโรคเอดส์จะอยู่ในวัยที่เป็นเด็ก (UNAIDS, 2005) ปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนป้องกันการติดเชื้อเอชไอวีใช้ทั่วไป และไม่มีวิธีรักษาการติดเชื้อเอชไอวีหรือโรคเอดส์ให้หายขาด วิธีป้องกันโรคอย่างเดียวที่มีใช้อยู่คือการหลีกเลี่ยงการได้รับเชื้อไวรัสหรือถ้าได้รับมาแล้วก็ต้องใช้ยาต้านไวรัสทันทีหลังจากการได้รับเชื้อ เป้าหมายทั่วไปของการรักษาคือการเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ลดภาวะแทรกซ้อน และลดจำนวนไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดให้อยู่ต่ำกว่าระดับที่ตรวจวัดได้ แต่ทั้งนี้ไม่สามารถรักษาผู้ป่วยให้หายจากการติดเชื้อเอชไอวีได้ เมื่อหยุดยาแล้วเชื้อเอชไอวีก็สามารถเพิ่มจำนวนกลับมาก่อโรคได้ และเชื้อที่เพิ่มจำนวนขึ้นมานี้มักดื้อต่อยาต้านไวรัส อย่างไรก็ดีพบว่ายาต้านไวรัสเหล่านี้ มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย เช่น ท้องเสีย ความรู้สึกไม่สบาย คลื่นไส้ อ่อนเพลีย lipodystrophy (ไขมันเจริญผิดรูป), dyslipidemia (ไขมันในเลือดสูง) ภาวะดื้ออินซูลินเพิ่มความเสี่ยงต่อโรคทางหัวใจและหลอดเลือดและความผิดปกติแต่กำเนิด นอกจากนี้ยาต้านไวรัสยังมีราคาแพงมาก ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่ซึ่งเป็นคนยากจนจึงไม่มีโอกาสเข้าถึงยานี้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวกับต้นตานหม่อน *Vernonia elliptica* DC. เท่าที่สำรวจมีน้อย แต่พบงานวิจัย genus *Vernonia* ใน species อื่นๆของนักวิจัยต่างประเทศซึ่งได้เผยแพร่ผลการวิจัยใน journal ต่างๆ ดังนี้

สถาบันวิจัยสมุนไพรไทย (2556) รายงานผลการวิจัยว่าตานหม่อนมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้านเกี่ยวกับการทำให้ผิวหนังอ่อนนุ่ม ลดการอักเสบและบรรเทาความเจ็บปวด นอกจากนี้ยังพบว่ามีองค์ประกอบเป็น glucolides A และ B, lupeol ,taraxasterol , sitosterolและstigmasterol

อรทัย เนียมสุวรรณ และคณะ (2555) ได้สำรวจพืชท้องถิ่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งโรคระบบทางเดินอาหารใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ของประเทศไทย คือ จังหวัดปัตตานี ยะลา และนราธิวาส โดยศึกษาถึงชื่อท้องถิ่น ส่วนประกอบทางพฤกษเคมี ส่วนของพืชที่นำมาใช้ประโยชน์ และวิธีการนำมาใช้ใน

การรักษาพบว่ามีการนำ *Vernonia elliptica* DC. มาใช้ในการรักษาโรคทางปรสิต (parasitic) โดยใช้ทั้งต้น (whole plant)

Oketch-Rabah,H.A.และคณะ (1997) ได้รายงานผลจากการสกัดแยกส่วนรากของ *Vernonia brachycalyx* ว่าพบไอโซเมอร์ใหม่ 2 ชนิดของ 5-methylcoumarins ซึ่งมีชื่อดังนี้ ชนิดที่1 มีชื่อว่า 2′-epicycloisobrachycoumarinone epoxide ชนิดที่ 2 ชื่อcycloisobrachycoumarinone epoxide โครงสร้างของสารทั้งสองได้รับการพิสูจน์ด้วยเทคนิคทาง MS และ NMR spectroscopy และได้มีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของไอโซเมอร์ทั้ง 2 ชนิดในหลอดทดลอง พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโรคทางปรสิต และเชื้อมาเลเรียได้

Yan Liang และคณะ (2008)ได้เปิดเผยสูตรเครื่องสำอางชนิดหนึ่ง ลักษณะเป็นครีมซึ่งประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรหลายชนิด หนึ่งในนั้นมาจากสมุนไพร *Vernonia cinerea* ซึ่งครีมนี้มีสรรพคุณช่วยบำรุงผิวพรรณให้ผุดผ่อง เต่งตึง อ่อนนุ่ม มีน้ำมีนวล ลดริ้วรอยเหี่ยวย่นและจุดด่างดำ

Magboul,A.Zial และคณะ (2010) สามารถแยกสารจากใบไม้ของต้น Vernonia ได้ 2 ชนิด คือ vernolepin และ vernodalin ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อราได้

Amarasekara,A.S.และคณะ (2010) ได้ศึกษาส่วนประกอบของต้น *Vernonia zeylanica* ในสภาพแห้ง แล้วรายงานว่าพบสารประกอบดังนี้คือ friedelin, 3β –friedelinol, lupeol acetate, β-amyrin acetate, taraxasterol และpseudotaraxasterol acetate

Cioffi Giuseppina และคณะ (2010) พบว่าจากการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบสารสกัดใน $CHCl_3$-MeOH (9:1) ของใบไม้จากต้น *Vernonia colorata* โดยใช้ carragenan –induced rat paw model ทำให้สามารถแยกสารประกอบได้ 6 ชนิดเป็นสาร androst-8-englycosides ใหม่ 2 ชนิด สาร stigmastane-type glycosides ใหม่ 2 ชนิด และสาร stigmastane type steroids ใหม่อีก 2 ชนิด ซึ่งโครงสร้างของสารเหล่านี้ได้จากการศึกษาสเปกตรัมและปฏิกิริยาเคมี สารทั้ง 6 นี้มีฤทธิ์ต้านการอักเสบเล็กน้อย

Masafumi Horiuch และคณะ (2006) สามารถแยกสารประกอบประเภท sesquiterpene pyridine alkaloid ชนิดใหม่ ได้ 3 ชนิด จากสารสกัดเอทานอลของรากต้น *Tripterygiumwilfordii* และสารประกอบ pyridine alkaloid อีก 8 ชนิด จากนั้นนำไปศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV และ cytotoxicity ใน vitro cell พบว่าสารประกอบชนิดใหม่ทั้งสามมีฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV สูง (EC_{50} 0.1 μg/mL)

Hong Jie Zhang และคณะ (2002) รายงานว่าจากการค้นหาพืชที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV ในประเทศเวียตนามอย่างต่อเนื่องมาตลอดหลายปีนั้น ได้พบสารประกอบ 19 ชนิดรวมทั้งสาร triterpene ชนิดใหม่ ซึ่งได้จากการแยกสารสกัดของใบและกิ่งของต้น *Vatica cinerea* จากการวิเคราะห์ด้วยข้อมูลทาง spectrum รวมทั้งใช้ 1D และ 2D NMR spectra ด้วยพบว่า triterpene นี้คือ cycloartane triterpenoid ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอนโซ่หลัก 29 อะตอม และมีชื่อว่า vaticacinone สารประกอบส่วนใหญ่ซึ่งเป็นพวก triterpene,sesquiterpene,1-hydroxycyclocolorenone และ pheophorbide (ซึ่งได้จากchlorophyll) แสดงศักยภาพในการต้านเชื้อ HIV ได้ โดยเฉพาะ chlorophyll มีฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV ได้สูงสุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.5 µg/mL

Ku และคณะ (2002) ได้ทดลองหาส่วนประกอบจากต้น*Vernonia patula* (Compositae) ที่อบแห้งซึ่งเป็นยาพื้นบ้านในไต้หวัน เพื่อประเมินศักยภาพของต้น*Vernonia patula* ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อทดสอบสารฟลาโวนอยด์ 4 ชนิดคือ apigenin (API), apigenin-7-o-glucoside(APG), luteolin (LUT) และ luteolin-7-oglucoside (LUG) โดยใช้คอลัมน์ชนิด Inertsil ODS-2 และใช้ตัวชะเป็น gradient ของ acetonitrile กับ 0.1%(vol/vol) กรดฟอสฟอริก และใช้ ET paraben เป็น internal standard วัดที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร เมื่อนำส่วนประกอบทั้ง 4 ที่พบในส่วนของลำต้น ดอก ใบและรากของ*Vernonia patula* มาเปรียบเทียบกัน พบว่าในใบมีสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด ยกเว้น APG พบน้อยกว่าในส่วนที่เป็นดอก สำหรับรากและลำต้นพบ APG น้อยที่สุด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้ง 4 ชนิดของ*Vernonia patula* คือ apigenin-7-o-glucoside, apigenin, luteolin-7-oglucoside และ luteolin มีค่าเท่ากับ 0.6016, 0.0042, 0.2160 และ 0.0577 mg/g ตามลำดับ

Montanaro,S. และคณะ (2010) รายงานว่าสามารถแยกสาร sesquiterpene lactone 8 ชนิดจากพืชที่แตกต่างกันคือ *Vernonia squamulose, Vernonia pinguis, Vernonia nitidula, Kaunia lasiophthalma , Mikania minima, Stevia breviaristata* และ *Parthenium hysterophorus* และได้ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียพบว่า สารประกอบ Hymenin ที่แยกได้จาก *Parthenium hysterophorus* และ *Vernonia nitidula* มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในระดับดี

Williams, Russell B. และคณะ (2010) ได้รายงานว่าจากผลการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากใบของต้น *Vernonia pachyclada* นำไปสู่การแยกสกัดสาร sesquiterpene lactone ชนิดใหม่ ได้ 3 ชนิด เป็นสาร glaucolides K-M (1–3) วิเคราะห์โครงสร้างของสารชนิดใหม่นี้ด้วย 1D และ 2D NMR spectroscopy และ single – crystal x-ray diffraction พบว่าสารประกอบชนิดที่ 3 สามารถต้านมะเร็งรังไข่ (A 2780 human ovarian cancer cell- line) ได้