

องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดสมุนไพรฮวนง็อก

ภัทรพร ผูกคล้าย^{*} ปราณี เซมา และ นิภาพร สันยวงค์

Phytochemical contents and antimutagenicity of Hoan Ngoc extracts

Pattraporn Pukklay^{1*}, Pranee Saema² and Nipaporn Sanyawong²

¹สาขาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ อ.ร้องกวาง จ.แพร่

²สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ อ.ร้องกวาง จ.แพร่

¹Faculty of Basic Science, MaeJo-Phrae University, RongKwang, Phrae

²Faculty of Biotechnology, MaeJo-Phrae University, RongKwang, Phrae

*Corresponding author. E-mail: pattrapornp@phrae.mju.ac.th

Received 3 August 2009; accepted 19 April 2010

บทคัดย่อ

ฮวนง็อก เป็นพืชสมุนไพรซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศเวียดนาม เชื่อกันว่าใบของฮวนง็อกมีสรรพคุณในการรักษาโรคหลากหลาย แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่ตรวจสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากนัก โดยเฉพาะฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ซึ่งมีสาเหตุสำคัญจากการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรม ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มเอส โดยใช้แบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมูเรียม สายพันธุ์ TA98 และ TA100 และวิเคราะห์ปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรฮวนง็อกที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล พบว่าสารสกัดน้ำและเอทานอลมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์และสามารถยับยั้งการกลายพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ โดยสารสกัดน้ำ มีค่า IC_{50} ต่อแบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมูเรียม สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ที่ 15.11 ± 0.05 ไมโครกรัมต่อเพลท และ 17.99 ± 0.32 ไมโครกรัมต่อเพลทตามลำดับ ขณะที่สารสกัดเอทานอลมีค่า IC_{50} 8.53 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อเพลท และ 10.49 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อเพลทตามลำดับ แสดงว่าสารสกัดสมุนไพรจากเอทานอลมีความสามารถในการต้านการกลายพันธุ์ได้ดีกว่าสารสกัดน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของสารโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดเอทานอลมีปริมาณของสารทั้งสองชนิดมากกว่าที่พบในสารสกัดน้ำอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดเอทานอลมีปริมาณโพลีฟีนอล 9.2 ± 0.61 mgGAE/g fresh weight และ ฟลาโวนอยด์ 2.3 ± 0.37 mgQE/g fresh weight ปริมาณโพลีฟีนอลและ ฟลาโวนอยด์ของสารสกัดน้ำคือ 1.1 ± 0.06 mgGAE/g fresh weight และ 0.5 ± 0.03 mgQE/g fresh weight ตามลำดับ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดของใบฮวนง็อกด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล มีคุณสมบัติในการต้านการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมูเรียม สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ดังนั้นฮวนง็อกจึงเป็นสมุนไพรอีกหนึ่งชนิดที่มีความน่าสนใจอย่างยิ่งในการนำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเซลล์มะเร็งและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆต่อไป

คำสำคัญ: ฮวนง็อก วิธีเอ็มเอส แบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมูเรียมสายพันธุ์ TA98 และ TA100 โพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์

Abstract

Hoan Ngoc (*Pseuderatherum platiferum*) is the medicinal plant from Vietnam. It is claimed in several pharmacological properties. However, the scientific data to support their properties still limit. This study aimed to investigate the antimutagenic activity of water and ethanolic extracts from Hoan Ngoc leaves. The results showed that both extracts possessed very potent antimutagenic activity against sodium azide (NaN_3) in strains TA98 and TA100 of *Salmonella typhimurium*. In TA 98, the antimutagenicity of ethanolic extract was significantly higher than that of water extract with IC_{50} 8.53 ± 0.06 μ g/plate and 15.11 ± 0.05 μ g/plate, respectively. The significant antimutagenicity of ethanolic extract also were obtained to TA100 with IC_{50} 10.49 ± 0.03 μ g/plate while IC_{50} of water extract was 17.99 ± 0.32 μ g/plate. In according to the antimutagenic effect, the amount polyphenolic and flavonoid in ethanolic extract is significantly higher than that of water extract. The polyphenol contents of ethanolic extract and water extract was 9.2 ± 0.61 mgGAE/g fresh weight and 1.1 ± 0.06 mgGAE/g fresh weight, respectively. The flavonoid contents of ethanolic extract and water extract was 2.3 ± 0.37 mgQE/g fresh weight and 0.5 ± 0.03 mgQE/g fresh weight, respectively. The large amount of polyphenol and flavonoid contents in ethanolic extract may cause its

strong antimutagenic activity. Therefore, Hoan Ngoc extracts have the antimutagenic activity which are interesting to be further studied on their anticancer activity and the other biological activities.

Keywords: Hoan Ngoc, Ames test, *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 Polyphenol Flavonoid

บทนำ

ในปัจจุบันการรักษาแบบแพทย์แผนปัจจุบัน ยังไม่สามารถรักษาโรคต่างๆ เช่น มะเร็ง เบาหวาน เป็นต้น ให้หายขาดได้และส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ ดังนั้นการแพทย์ทางเลือกจึงเข้ามามีบทบาททางด้านการรักษามากขึ้น เพราะเป็นศาสตร์ที่พึ่งพากับธรรมชาติ และเชื่อว่ามีความเป็นพิษน้อย (Gage et al., 2009) โดยมุ่งความสนใจในการนำสารจากธรรมชาติหรือสมุนไพรมาช่วยในการรักษาหรือสังเคราะห์ลอกเลียนแบบสูตรโครงสร้างของสารนั้น เพื่อนำมาพัฒนาเป็นยา

สว่านง็อก (*Pseuderatherum platiferum*) เป็นพืชสมุนไพรจากประเทศเวียดนาม มีชื่อไทยว่าว่านลิงหรือว่านพญาวาน แต่มีการนำเข้ามาขายในประเทศไทยกันอย่างแพร่หลาย เพราะเชื่อกันว่าใบสว่านง็อกมีสรรพคุณในการรักษาอาการท้องเสีย เจ็บคอ (Lan et al., 2002) โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคมะเร็ง จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเอทานอลจากใบสว่านง็อกพบว่าสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดี (Sittisart & Chitsomboon, 2008) และสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดและเพิ่มปริมาณ germ cell ของหนูเพศผู้ที่เป็เบาหวานได้ (วรภรณ์, 2551) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงสรรพคุณที่มีต่อโรคมะเร็ง ซึ่งการกลายพันธุ์ที่สารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต เป็นสาเหตุที่สำคัญของการเกิดโรคมะเร็ง (แก้ว, 2006) ดังนั้นถ้าสมุนไพรสว่านง็อกมีฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์ได้ ซึ่งอาจจะนำไปศึกษาหรือพัฒนาเพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งต่อไป

นอกจากนี้พบว่าพืชส่วนใหญ่ที่มีคุณสมบัติในการต้านการกลายพันธุ์ได้ดี มีปริมาณของสารพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์สูง (Dimitros, 2006) สารกลุ่มพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์พบมากในพืชสมุนไพร ผัก และผลไม้เป็นสารกลุ่มที่มีกลไกออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง (Chung et al., 1999) รวมทั้งช่วยทำลายฤทธิ์ของสารก่อกลายพันธุ์ได้ (Ikken et al., 1999) โดยน้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารกลุ่มนี้เพราะสามารถสกัดสารได้ดี และมีความเป็นพิษต่ำ (Sun & Ho, 2005) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดสมุนไพรสว่านง็อกในตัวทำละลายน้ำและเอทานอล รวมทั้งศึกษาปริมาณของสารกลุ่มพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดสมุนไพรสว่านง็อก

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

สมุนไพรที่ใช้ในทดสอบ

สมุนไพรสว่านง็อก จากตำบลแม่เจดีย์ใหม่ อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย โดยเลือกส่วนใบที่ไม่แก่และอ่อนเกินไป จากนั้นนำไปสับสว่านง็อกมาล้างทำความสะอาดเพื่อใช้ในการสกัดต่อไป

การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลและน้ำ

นำใบสว่านง็อกหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วเติม 99.8 เปอร์เซ็นต์เอทานอล อัตราส่วน 1 ต่อ 10 w/v เขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำสารสกัดที่ระเหยแห้งโดยเครื่องระเหยแห้ง (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นชั่งน้ำหนักสารสกัดและละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ เก็บไว้ในตู้เย็นและพ้นแสง

การสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ ใช้ น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อทำการสกัดเช่นเดียวกันกับสารสกัดเอทานอล การระเหยแห้งใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นชั่งน้ำหนักสารสกัดและละลายด้วยน้ำ เก็บไว้ในตู้เย็นและพ้นแสง

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก (polyphenolic compounds)

โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric (Pourmorad et al., 2002) นำสารสกัดสมุนไพรปริมาณ 1 มิลลิกรัม ผสมกับ 0.2 N ของสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 5 มิลลิกรัม จากนั้นเติม 1 M sodium carbonate ปริมาตร 4 มิลลิกรัม ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

โดยใช้วิธี aluminium chloride colorimetric (Pourmorad et al., 2002) นำสารสกัดสมุนไพรปริมาณ 1 มิลลิกรัม ผสมกับ 10 % w/v ของสารละลาย aluminium chloride ปริมาตร 0.2 มิลลิกรัม จากนั้นเติม 1 M potassium acetate ปริมาตร 0.2 มิลลิกรัม และน้ำกลั่นปริมาตร 5.6 มิลลิกรัม ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน

การเลี้ยงแบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมูเรียม (*Salmonella typhimurium*) สายพันธุ์ TA98 และ TA 100 (วงศ์วิวัฒน์, 2547)

แบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมูเรียม (*Salmonella typhimurium*) สายพันธุ์ TA98 (*his D3052*, *rfa*, *uvrB*, *pKM101*) และ TA 100 (*his G46*, *rfa*, *uvrB*, *pKM101*) ได้รับจากสถาบันวิจัยมะเร็งแห่งชาติ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชย้าข้ามคืน จนมีปริมาณของเชื้อมากพอ เพื่อใช้ในการทดสอบเอมส์ (Ames test) ต่อไป

การทดสอบฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดเอธานอลและน้ำ (วงศ์วิวัฒน์, 2547)

การศึกษานี้ใช้วิธีทดสอบเอมส์ (Ames test) แบบ standard plate incorporation assay โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่ม คือ

negative control หมายถึง เฟลทที่ไม่เติมสารก่อการกลายพันธุ์ แต่ใช้ vehicle เช่น ตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารก่อการกลายพันธุ์โซเดียมเอไซด์ (sodium azide) เติมน้ำลงในปริมาณที่เท่ากันแทน เพื่อทราบจำนวนโคโลนีที่สามารถเกิดการกลายได้เอง คือ สปอนเตเนียสโคโลนี (spontaneous colonies)

positive control หมายถึง เฟลทที่เติมแต่สารก่อการกลายพันธุ์ แต่ไม่เติมสารสกัดสมุนไพรที่ใช้ทดสอบลงไป เพื่อทราบจำนวนของโคโลนีที่เกิดการกลายพันธุ์ครั้งที่สอง โคโลนีที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า มิวแทนต์โคโลนี (mutant colonies)

สารกลุ่มทดสอบ หมายถึง เฟลทที่เติมสารกลุ่มทดสอบตั้งแต่ความเข้มข้น 5 -1000 ไมโครกรัม และนับจำนวนมิวแทนต์โคโลนี (mutant colonies) โดยนำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 ไมโครลิตรผสมกับ sodium phosphate buffer pH 7.4 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร หลังจากเติมเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 50 ไมโครลิตรและสารก่อการกลายพันธุ์ 50 ไมโครลิตร ตามด้วย top agar ลงไป 2 มิลลิลิตรผสมเข้ากัน หลังจากนั้นเทลงบนอาหาร glucose minimal agar plate (GM plate) นำไปบ่มเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หลังจากครบ 48 ชั่วโมง นำมานับจำนวน revertant colony โดยนำมาคำนวณกับกลุ่ม spontaneous colony และ mutant colony และนำไปคำนวณร้อยละ การด้านการกลายพันธุ์ (% antimutagenicity) และคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการกลายพันธุ์ได้ร้อยละ 50 (inhibitory concentration IC_{50}) โดยใช้โปรแกรม Graphpad Prism 5 (Trial version)

$$\% \text{ antimutagenicity} = [(P-T)/P] \times 100$$

P คือ จำนวนของ mutant colonies ที่ลบด้วย จำนวนของ spontaneous colonies

T คือ จำนวนของ revertant colonies ที่ลบด้วย จำนวนของ spontaneous colonies

การทดสอบทางสถิติ

นำเสนอข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบความแตกต่าง ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถด้านการกลายพันธุ์ได้ร้อยละ 50 ที่พบในสารสกัดเอธานอลและน้ำ โดยใช้สถิติ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่นที่ 95 % ($p < 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS version 16

ผลการศึกษา

ลักษณะของสารสกัดสมุนไพรที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย มีสีเขียวแกมน้ำตาล ในขณะที่สารสกัดเอธานอลมีสีเขียวเข้ม ผลผลิตร้อยละ (%yield) ที่ได้การสกัดด้วยน้ำและเอธานอล มีค่า 3.61 % w/w และ 5.08 % w/w ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และเมื่อนำสารสกัดทั้งสองชนิดไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ พบว่าสารสกัดเอธานอลมีปริมาณของทั้งสองชนิดสูงกว่าในสารสกัดน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 1 สารสกัดเอธานอลมีปริมาณโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ 9.2 ± 0.61 mgGAE/g fresh weight และ 2.3 ± 0.37 mgQE/g fresh weight ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดน้ำมีค่า 1.1 ± 0.06 mgQE/g fresh weight และ 0.5 ± 0.03 mgQE/g fresh weight ตามลำดับ

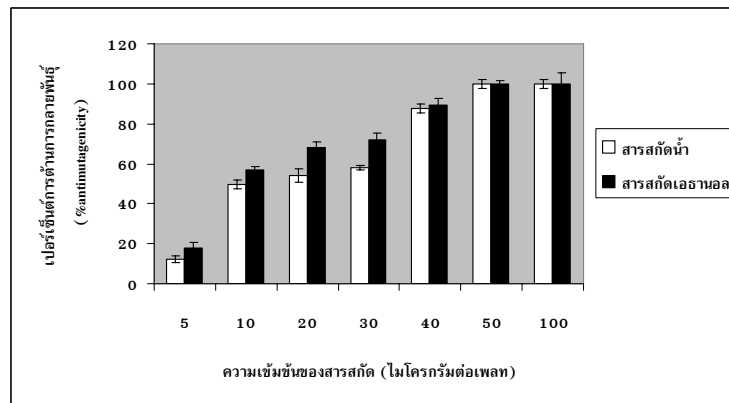
จากการศึกษาฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดสมุนไพรสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเอธานอล โดยใช้วิธีเอมส์ (Ames test) ซึ่งใช้แบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมูเรียม สายพันธุ์ TA98 และ TA100 เป็นตัวทดสอบและโซเดียมเอไซด์ เป็นสารก่อการกลายพันธุ์ พบว่าสารสกัดสมุนไพรจากตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ดี โดยฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร จากกราฟที่ 1 แสดงการด้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดที่มีต่อแบคทีเรียสายพันธุ์ TA 98 พบว่าตั้งแต่ความเข้มข้นที่ 5 ไมโครกรัมต่อเฟลทของสารสกัดน้ำและเอธานอลด้านการกลายพันธุ์ได้ 12.32 และ 17.89 % ตามลำดับ และสามารถด้านอย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อเฟลท ในขณะที่แบคทีเรียสายพันธุ์ TA 100 สารสกัดทั้ง 2 ชนิด สามารถด้านได้สมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อเฟลท ดังแสดงในกราฟที่ 2

ตารางที่ 1 ผลผลิตร้อยละ (%yield) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ของสารสกัดสมุนไพรฮวานจ็อกด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล

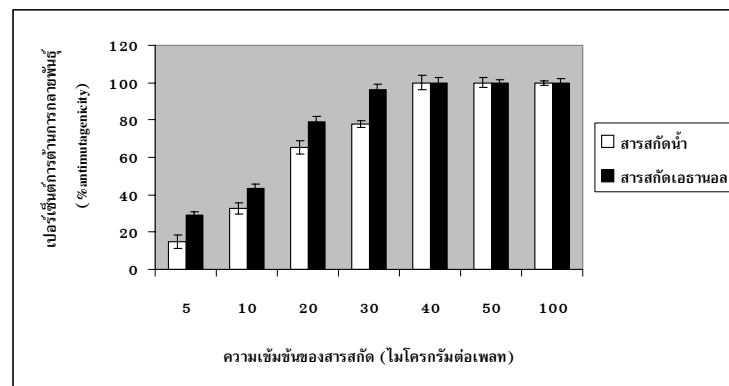
สารสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลาย	ผลผลิตร้อยละ (%w/w)	ปริมาณพอลิฟีนอล (mgGAE/g fresh weight)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mgQE/g fresh weight)
น้ำ	3.61	1.1 ± 0.06	0.5 ± 0.03
เอทานอล	5.08*	9.2 ± 0.61*	2.3 ± 0.37*

GAE, gallic acid; QE, quercetin.

* ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ P < 0.05, เปรียบเทียบระหว่างสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอล



รูปที่ 1 ผลการต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดสมุนไพรฮวานจ็อกด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล ที่มีต่อแบคทีเรียซัลโมเนลลา ทัยฟิมูริยม สายพันธุ์ TA98



รูปที่ 2 ผลการต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดสมุนไพรฮวานจ็อกด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล ที่มีต่อแบคทีเรียซัลโมเนลลา ทัยฟิมูริยม สายพันธุ์ TA100

แม้ว่าสารสกัดทั้งสองชนิดสามารถต้านการกลายพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ในช่วงความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดช่วง 5-40 ไมโครกรัมต่อเพลท ในแบคทีเรีย TA98 และ 5-30 ไมโครกรัมต่อเพลท ในแบคทีเรีย TA100 พบว่าสารสกัดเอทานอลสามารถแสดงฤทธิ์ได้ดีกว่าสารสกัดน้ำ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดทั้ง 2 ชนิด โดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นที่ต้านการกลายพันธุ์ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่าในการทดสอบกับแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ สารสกัดเอทานอลมีค่า IC_{50} แตกต่างจากสาร

สกัดน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 2 ในแบคทีเรียสายพันธุ์ TA98 สารสกัดน้ำและเอทานอล มีค่า IC_{50} 15.11 ± 0.05 ไมโครกรัมต่อเพลท และ 8.53 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อเพลท ตามลำดับ และในแบคทีเรียสายพันธุ์ TA100 สารสกัดน้ำและเอทานอล มีค่า IC_{50} 17.99 ± 0.32 ไมโครกรัมต่อเพลท และ 10.49 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อเพลท ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าสารสกัดสมุนไพรฮวานจ็อกด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านการกลายพันธุ์ได้ดีกว่าสารสกัดจากน้ำ

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นของของสารสกัดสมุนไพรฮวันจ็อกในตัวทำละลายน้ำและเอทานอลที่สามารถต้านการกลายพันธุ์
ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ที่มีต่อแบคทีเรียชัลโมเนลลา ทัยฟิมิวเรียม TA 98 และ TA100

สารสกัดสมุนไพร	ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านการกลายพันธุ์ได้ร้อยละ 50 IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	
	TA98	TA100
สารสกัดน้ำ	15.11 $\pm$ 0.05*	17.99 $\pm$ 0.32*
สารสกัดเอทานอล	8.53 $\pm$ 0.06	10.49 $\pm$ 0.03

* ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ $P < 0.05$, เปรียบเทียบระหว่างสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอล

อภิปรายผลการศึกษา

ฮวันจ็อก (Hoan Ngoc) เป็นสมุนไพรซึ่งสรรพคุณทางเภสัชวิทยายังไม่มีการศึกษามากนัก พืชชนิดนี้จัดอยู่ในวงศ์ Acanthaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกันกับสมุนไพรสำคัญหลายชนิด ได้แก่ ฟ้ายะลวยโจร รวงจืด ทองพันชั่ง พญาขอเป็นต้น โดยเฉพาะฟ้ายะลวยโจรมีสาร andrographolide เป็นองค์ประกอบสำคัญ มีฤทธิ์ต้านอาการอักเสบและต้านเซลล์มะเร็ง (Kumar et al., 2004) สรรพคุณที่กล่าวอ้างของสมุนไพรฮวันจ็อกหนึ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่งคือการรักษามะเร็ง ซึ่งสามารถศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเบื้องต้นได้โดยวิธีแอมส์ (Ames test) เป็นวิธีตรวจสอบสารก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสมุนไพรที่ง่าย ไม่สิ้นเปลือง และใช้เวลาน้อยในการทดสอบ (แก้ว, 2546) ในการทดสอบใช้แบคทีเรียชัลโมเนลลา ทัยฟิมิวเรียมสายพันธุ์ TA98 และ TA100 ที่ถูกทำให้กลายพันธุ์ในระดับยีนเช่นเดียวกับมนุษย์ และกลายพันธุ์นี้เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดมะเร็ง

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพรฮวันจ็อกในตัวทำละลายน้ำและเอทานอลมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียชัลโมเนลลา ทัยฟิมิวเรียมสายพันธุ์ TA98 และ TA100 ได้อย่างสมบูรณ์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่าสารสกัดจากสมุนไพรฮวันจ็อกมีฤทธิ์ในการต้านการกลายพันธุ์สูง โดยกลไกที่เกิดขึ้นอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดสมุนไพรฮวันจ็อกจะไปลดประสิทธิภาพในการทำงานของโซเดียมเอไซด์ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Sittisart & Chitsomboon, 2008 พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบฮวันจ็อกมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีเช่นกัน ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าวอาจจะช่วยส่งเสริมฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ได้เช่นกัน ทั้งนี้เพราะ Weisburger JH, 2001 กล่าวว่าสารสกัดจากผัก ผลไม้ ถั่ว และชาสามารถทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ ซึ่งมีบทบาทช่วยป้องกันและรักษาโรคมะเร็งได้

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดเอทานอลและน้ำด้วยค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านการกลายพันธุ์สูงกว่าสารสกัดน้ำอย่างมีนัยสำคัญ และในช่วงความเข้มข้นของสารสกัดที่ 5-40 ไมโครกรัมต่อเพลท ใน TA98 และ 5-30 ไมโครกรัมต่อเพลท ใน TA100 สารสกัดเอทานอลมีเปอร์เซ็นต์การต้านที่สูงกว่าสารสกัดน้ำซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ

ของสารพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดเอทานอลมีปริมาณสูงกว่าในสารสกัดน้ำ

แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดน้ำสามารถต้านการกลายพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์เช่นเดียวกับสารสกัดเอทานอลที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อเพลท ใน TA98 และ 40 ไมโครกรัมต่อเพลทใน TA100 แสดงให้เห็นว่าสารพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์เป็นสารที่ออกฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ นอกจากปริมาณของสารแล้วนั้น อาจจะเป็นไปได้ว่าองค์ประกอบของสารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลแตกต่างจากตัวทำละลายน้ำ ซึ่งส่งผลต่อกลไกการแสดงออกของฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (Ikken et al., 1999) จากการศึกษาของ Ayrton et al., 1992 พบว่า ellagic acid, catechin, chlorogenic, caffeic acid และ ferulic acid ที่พบได้พืชหลายชนิดมีคุณสมบัติในการต้านการกลายพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และมีกลไกช่วยปกป้องสารพันธุกรรม (Hour et al., 1999) นอกจากนี้พบว่าสารสกัดพอลิฟีนอลจากงาขาวสามารถรบกวนการทำงานของโซเดียมเอไซด์ที่มีผลต่อระบบซ่อมแซมของดีเอ็นเอ (DNA-repair system) (Lazarou et al., 2007)

สรุปผลการศึกษา

สารสกัดสมุนไพรฮวันจ็อกด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล มีคุณสมบัติในการต้านการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียชัลโมเนลลา ทัยฟิมิวเรียม สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ได้อย่างสมบูรณ์ และสารสกัดเอทานอลมีความสามารถในการต้านการกลายพันธุ์สูงกว่าสารสกัดน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของสารพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดทั้งสองชนิด ดังนั้นฮวันจ็อก จึงเป็นสมุนไพรอีกหนึ่งชนิดที่น่าสนใจนำไปศึกษาการออกฤทธิ์ องค์ประกอบของสารสำคัญ รวมทั้งฤทธิ์ทางด้านอื่นๆต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รศ.ดร. วงศ์วิวัฒน์ ทศนียกุล อาจารย์ประจำคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และคุณอนงค์ เทพสุวรรณ์ หน่วยวิจัยงานชีวเคมีและวิจัยสารก่อมะเร็ง

สถาบันมะเร็งแห่งชาติที่อนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* TA98 และ TA100

เอกสารอ้างอิง

แก้ว กังสดาลอำไพ. (2546). *พิษวิทยาทางอาหารและโภชนาการ*. กรุงเทพมหานคร: มาจลองคุนซีเอสบี.

วงศ์วิวัฒน์ ทศนียกุล. (2547). *Lab Manual Toxicology*. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วรารณ ชัยน. (2551). ผลของสารสกัดว่านพญาวาน (*Pseuderaterum platiferum*) ต่อดับโคเลสเตอรอลในเลือดและอัมตะของหนูเบาหวาน. Thesis, Chiangmai University.

Ayrton, A. D., Lewis, D. F. V., Walker, R., & Ioannides, C. (1992). Antimutagenicity of ellagic acid towards the food mutagen IQ: investigation into possible mechanisms of action. *Food and Chemical Toxicology*, 30, 289–295.

Chung, H.S., Chang, L.C., Lee, S.K., Shamon, L.A., VanBreemen, R.B., Mehta, R.G., et al. (1999). Flavonoid constituents of *Chorizanthe diffusa* with potential cancer chemopreventive activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 36–41.

Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trend in Food Science & Technology*, 17(9), 505–512.

Gage, H., Storey, L., McDowell, C., Maguire, G., Williams, P., Faithfull, S., et al. (2009). Integrated care: Utilisation of complementary and alternative medicine with a conventional cancer treatment centre. *Complementary Therapies in Medicine*, 17, 84–91.

Hour, T. C., Chih, L. C., Yu, I. S., & Lin, J. K. (1999). Inhibition of eleven mutagens by various tea extracts, (–) epigallocatechin-3-gallate, gallic acid and caffeine. *Food Chemistry and Toxicology*, 37, 569–579.

Ikken, Y., Morales, P., Martinez, A., Marin, M. L., Haza, A. I. & Morales, P. (1998). Antimutagenic effect of fruit and vegetable aqueous extracts against N-nitrosamines evaluated by the Ames test. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3257–3264.

Kumar, R. A., Sridevi, K., Kumar, N. V., Nanduri, S. & Rajagopal, S. (2004). Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 291–295.

Lan, V. L., Ziegler, S., & Grever, T. (2002). Utilization of forest products and environmental services in Bach Ma National Park, Vietnam. Retrieved May 15, 2009, from http://www.mekong-protected-areas.org/vietnam/docs/bach_ma_forest_products.pdf

Lazarou, D., Grougnet, R., & Papadopoulos, A. (2007). Antimutagenic properties of a polyphenol-enriched Extract derived from sesame-seed perisperm. *Mutation research*, 634, 163–171.

Pourmorad, F., Hosseini-mehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1142–1145.

Sittisart, P. & Chitsomboon, B. (2008). Phytochemical content and antioxidant activity of Hoan-Ngoc leave extract: a comparison of aqueous cold maceration and fresh extraction. *Naresuan Phayao Journal*, 1(Suppl. 1), 2008.

Sun, T., & Ho, C. (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, 90, 743–749.

Weisburger, H. J., (2001). Antimutagenesis and anticarcinogenesis, from the past to the future. *Mutation research*, 480–481, 23–35.