บทคัดย่อ

หัวข้องานวิจัย การสกัดและการตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นจากไมยราบ

ผู้วิจัย นางศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และนายกฤษณะ พวงระย้า

การศึกษาผลของการเตรียมตัวอย่างและตัวทำละลายต่อปริมาณสารสกัดหยาบ สารพฤกษ-เคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของไมยราบ ทำโดยการสกัดส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งด้วยตัวทำละลายชนิดต่างกันได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล 95% เอทานอล 30% และน้ำ พบว่าเอทานอล 30% สามารถสกัดสารออกจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งได้มากที่สุด สารสกัดหยาบของตัวทำละลายแต่ละชนิดถูกนำมาทดสอบหาสารพฤกษเคมีเบื้องต้น พบสารพฤกษเคมี 5 ประเภทคือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ เช่นเดียวกันทั้งไมยราบสดและแห้ง ในสารสกัดเอทิลอะซิเตตและเอทานอล 30% พบประเภทสารพฤกษเคมีมากที่สุด และจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบพบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตจากส่วนเหนือดินของไมยราบแห้งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งในช่องปาก (KB-oral cavity) และเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187-small cell lung) และสารสกัดหยาบทั้งหมดไม่แสดงความเป็นพิษต่อ Vero cells ที่ความเข้มข้น 50μg/mL

ABSTRACT

Research Title Extraction and phytochemical screening from *Mimosa Pudica* L.

Researcher Mrs. Sarinrat Chattiranan and Mr. Kridsana Poungraya

Effect of sample preparation and solvents on quantity, phytochemical and biological activities of crude extracts of *Mimosa pudica* have been studies. The fresh and dried aerial parts of *Mimosa pudica* were extracted with different solvents, including hexane, ethyl acetate, 95% ethanol , 30% ethanol and water. The 30% ethanolic extract showed the highest amount of crude extract in both fresh and dried sample. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and terpenoids. Results obtained indicated that ethyl acetate and 30% ethanolic extracts found the most of phytochemical content. The ethyl acetate extracts from dried aerial parts exhibited anticancer activity against KB-oral cavity and NCI-H187-small cell lung cell line *in vitro* and all of extracts did not show any cytotoxicity against Vero cells at the tested concentration 50μg/mL

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนสำหรับทำงานวิจัย

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ทุกท่านที่กรุณาให้ความช่วยเหลือเรื่องเครื่องมือสำหรับทำวิจัย

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัย

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์

กฤษณะ พวงระย้า

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ข

กิตติกรรมประกาศ ค

สารบัญ ง

สารบัญภาพ ช

สารบัญตาราง ซ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ 2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 2

1.5 สมมุติฐานการวิจัย 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไมยราบ 5

2.2 กลุ่มสารพฤกษเคมีที่พบในพืช 6

2.2.1. แอลคาลอยด์ 6

2.2.2. ไกลโคไซด์ 6

2.2.3. แทนนิน 10

2.2.4. เทอร์พีนอยด์ 11

2.3 การทดสอบสารพฤกษเคมีในพืชเบื้องต้น 12

2.3.1. การทดสอบแอลคาลอยด์ 12

2.3.2. การทดสอบไกลโคไซด์ 12

2.3.3. การทดสอบแทนนิน 14

2.3.4. การทดสอบเทอร์พีนอยด์ 14

2.4 รายงานการวิจัยของไมยราบ 14

2.4.1. การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นจากไมยราบ 14

2.4.2. การแยกสารจากไมยราบ 18

สารบัญ (ต่อ)

2.4.3. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากไมยราบ 19

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี 21

3.1.1. วัสดุ อุปกรณ์ 21

3.1.2. เครื่องมือ 21

3.1.3. สารเคมี 22

3.2 วิธีวิจัย 23

3.2.1. การเตรียมตัวอย่างไมยราบ 23

3.2.2. การเตรียมสารสกัดหยาบ 23

3.2.3. การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 23

3.2.4. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 25

บทที่ 4 ผลการทดลอง

4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบ 27

4.2 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 28

4.2.1. ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ 28

4.2.2. ผลการทดสอบฟลาโวนอยด์ 30

4.2.3. ผลการทดสอบซาโปนิน 31

4.2.4. ผลการทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 32

4.2.5. ผลการทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ 33

4.2.6. ผลการทดสอบแทนนิน 34

4.2.7. ผลการทดสอบเทอร์พีนอยด์ 35

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 36

4.3.1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา 36

4.3.2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง 37

4.3.3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปาก 38

4.3.4. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ 49

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

5.1 ปริมาณสารสกัดหยาบ 41

5.2 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 42

5.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 43

5.4 ข้อเสนอแนะ 46

บรรณานุกรม 47

ประวัติผู้วิจัย 51

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ไมยราบ	5
2.2	โครงสร้างทางเคมีของอะโทรปีน (ก) และมอร์ฟีน (ข)	6
2.3	โครงสร้างทั่วไปของฟลาโวนอยด์	7
2.4	โครงสร้างทางเคมีของรูทิน	7
2.5	โครงสร้างทางเคมีของสเตียรอยด์	8
2.6	โครงสร้างทางเคมีของไทรเทอร์พีนอยด์	8
2.7	โครงสร้างทางเคมีของไดออสเจนิน	8
2.8	โครงสร้างทางเคมีของดิก๊อกซิน	9
2.9	โครงสร้างทางเคมีของบาบาโลอิน	9
2.10	โครงสร้างทางเคมีของโลทาวสะทราลิน	10
2.11	โครงสร้างทางเคมีของเบนโซแอลฟาไพโรน	10
2.12	โครงสร้างทางเคมีของคอนเดนซ์แทนนิน	11
2.13	โครงสร้างทางเคมีของไอโซพรีน	11
2.14	โครงสร้างทางเคมีของมิโมพูดีน	18
5.1	ปริมาณสารสกัดหยาบของไมยราบสดและแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	41

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีของสารสกัดเอทานอลจากใบไมยราบ	15
2.2	ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีจากรากไมยราบ	16
2.3	ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีจากใบไมยราบ	17
2.4	ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีจากไมยราบสดทั้งต้น	18
3.1	รายชื่อสารเคมี	22
4.1	ลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดหยาบจากไมยราบสด	27
4.2	ลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดหยาบจากไมยราบแห้ง	28
4.3	ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเฮกเซน	29
4.4	ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเอทิลอะซิเตต	29
4.5	ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเอทานอล 95%	29
4.6	ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเอทานอล 30%	30
4.7	ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดน้ำ	30
4.8	ผลการทดสอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดไมยราบสด	31
4.9	ผลการทดสอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดไมยราบแห้ง	31
4.10	ผลการทดสอบซาโปนินของสารสกัดไมยราบสด	32
4.11	ผลการทดสอบซาโปนินของสารสกัดไมยราบแห้ง	32
4.12	ผลการทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ของสารสกัดไมยราบสด	33
4.13	ผลการทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ของสารสกัดไมยราบแห้ง	33
4.14	ผลการทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ของสารสกัดไมยราบสด	34
4.15	ผลการทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ของสารสกัดไมยราบแห้ง	34
4.16	ผลการทดสอบแทนนินของสารสกัดไมยราบสด	35
4.17	ผลการทดสอบแทนนินของสารสกัดไมยราบแห้ง	35
4.18	ผลการทดสอบเทอร์พีนอยด์ของสารสกัดไมยราบสด	36
4.19	ผลการทดสอบเทอร์พีนอยด์ของสารสกัดไมยราบแห้ง	36
4.20	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดไมยราบสด	37
4.21	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดไมยราบแห้ง	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.22	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดไมยราบสด	38
4.23	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดไมยราบแห้ง	38
4.24	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปากของสารสกัดไมยราบสด	39
4.25	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปากของสารสกัดไมยราบแห้ง	39
4.26	ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบสด	40
4.27	ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบแห้ง	40
5.1	ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดไมยราบสด	42
5.2	ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดไมยราบแห้ง	43
5.3	ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไมยราบสด	44
5.4	ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไมยราบแห้ง	44

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

พืชสมุนไพรเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ตั้งแต่สมัยโบราณจนถึงปัจจุบัน เช่น ใช้รักษาโรค เมื่อพบว่าพืชสมุนไพรชนิดใดใช้รักษาโรคได้ดี ก็จะถูกจดจำบอกเล่าสืบทอดต่อกันมา แต่ยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์พิสูจน์ยืนยัน จากนั้นความนิยมการใช้สมุนไพรก็ลดลง เมื่อเทคโนโลยีทางการแพทย์ และเภสัชกรรมที่ทันสมัยเข้ามามีบทบาทมากยิ่งขึ้น เนื่องจากยาแผนปัจจุบันรับประทานง่าย หาซื้อได้สะดวก แต่เมื่อพบว่ายาแผนปัจจุบันอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียง (side effect) ต่อร่างกาย ผู้คนจึงหันกลับมาให้ความสนใจกับพืชสมุนไพรมากยิ่งขึ้น และได้มีการส่งเสริมให้มีการอนุรักษ์และฟื้นฟูการใช้สมุนไพรกันอย่างกว้างขวาง

ในปัจจุบันจะพบว่ามีผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรออกจำหน่ายในรูปแบบยารักษาโรค อาหารเสริม และอื่นๆ สาเหตุที่ทำให้ผู้บริโภคนิยมใช้พืชสมุนไพรกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากก่อให้เกิดพิษหรือโทษน้อยกว่ายาแผนปัจจุบันที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี นอกจากนี้ในประเทศไทยยังมีพืชสมุนไพรอีกจำนวนมากที่ถูกนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ แต่ยังไม่มีการนำมาทำวิจัยเพื่อพิสูจน์ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรนั้นๆ ซึ่งไมยราบก็เป็นพืชชนิดหนึ่งในนั้น

ไมยราบ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Mimosa pudica* L. จัดอยู่ในวงศ์ LEGUMINOSAE มีชื่อในภาษาอังกฤษว่า sensitive plant มีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบอเมริกากลาง แต่ปัจจุบันพบแพร่กระจายทั่วไปในประเทศเขตร้อนชื้น ในประเทศไทยไมยราบจัดเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่มีประโยชน์ในการรักษาโรคต่างๆ คือ แก้ไอ ขับเสมหะ แก้หลอดลมอักเสบเรื้อรัง ระงับประสาท แก้บิด ขับปัสสาวะ แก้ทางเดินปัสสาวะอักเสบ รักษาอาการปวดเวลามีประจำเดือน ขับระดูขาว แก้ไตพิการ ขับโลหิต แก้ปวดบวม แผลฝีหนอง แก้หัด และผื่นคัน(วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) และจากการศึกษาภูมิปัญญาท้องถิ่นจังหวัดเพชรบุรีได้ทราบข้อมูลเบื้องต้นว่าสารสกัดแอลกอฮอล์จากไมยราบ สามารถใช้การรักษาโรคเริมและงูสวัดได้อีกด้วย

นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้ไมยราบเป็นยาพื้นบ้านในหลายประเทศได้แก่ ประเทศจีนใช้ไมยราบตั้งต้นเป็นยารักษาอาการอ่อนเพลีย นอนไม่หลับ แผลฟกช้ำ และวัณโรคปอด (Jiangsu New Medical College,1986) ในอินเดียใช้ไมยราบในการคุมกำเนิด โดยมีรายงานการศึกษาในหนู

พบว่าสารสกัดจากรากของไมยราบมีผลทำให้หนูเป็นหมันได้ (Ganguly, Mahanta, & Burtkur, 2007) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบไมยราบมีผลเพิ่มระดับน้ำตาลในเลือด (Amalraj & Ignacimuthu, 2002)

จากที่ได้กล่าวข้างต้น ทำให้เชื่อว่าสารสกัดจากไมยราบน่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ ดั้งนั้นจึงได้เสนอโครงการวิจัยนี้เพื่อศึกษาวิธีสกัดสารสกัดหยาบจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้ง โดยทำการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการทำวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดจากส่วนเหนือดินของไมยราบต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับสกัดส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้ง

1.2.2 เพื่อทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ

1.2.3 เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ

1.2.4 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการสกัดไมยราบสดและแห้งในด้านปริมาณสารสำคัญ กลุ่มสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับสกัดส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้ง

1.3.2 ทราบกลุ่มสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบของไมยราบ

1.3.3 ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากไมยราบ

1.3.4 ทราบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดหยาบ กลุ่มสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างไมยราบสดและแห้ง

1.4 ขอบเขตการวิจัย

1.4.1 ตัวอย่างไมยราบเลือกเฉพาะส่วนเหนือดิน โดยเก็บจาก ต. เวียงคอย อ. เมือง จ. เพชรบุรี

1.4.2 ตัวอย่างพืชแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ ตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง

1.4.3 ตัวทำละลายที่ใช้สกัดคือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล 95% เอทานอล 30% และน้ำ

1.4.4 ทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 7 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ซาโปนิน แทนนิน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และแอนทราควิโนน ไกลโคไซด์ ของสารสกัดหยาบจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้ง

1.4.5 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น คือฤทธิ์ต้านเชื้อรา(*Candida albicans*) ต้านไวรัสเริมที่ปาก(HSV-1) ต้านมะเร็งในช่องปาก(KB) มะเร็งเต้านม(MCF-7) และมะเร็งปอด (NCI-H187) และทดสอบความเป็นพิษต่อ Vero cell

1.5 สมมุติฐานการวิจัย

1.5.1 ตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วต่างกันสามารถสกัดสารออกจากส่วนเหนือดินของไมยราบได้แตกต่างกันทั้งด้านปริมาณ และชนิดสารพฤกษเคมี

1.5.2 สารสกัดหยาบจากส่วนเหนือดินของไมยราบที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน

1.5.3 การสกัดระหว่างไมยราบสดและไมยราบแห้งน่าจะได้สารสกัดหยาบที่แตกต่างกันทั้งในด้าน ปริมาณ กลุ่มสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไมยราบ (พงษ์ศักดิ์ พลเสนา, 2550; วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540)

ไมยราบมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mimosa pudica* L. จัดอยู่ในวงศ์ LEGUMINOSAE มีชื่ออื่นๆ ได้แก่ กระทืบยอด หนามหญ้าราบ (จันทบุรี) กะหงับ (ภาคใต้) ก้านของ (นครศรีธรรมราช) ระงับ (ภาคกลาง) หงับพระพาย(ชุมพร) หญ้าจิยอบ หญ้าปันยอด (ภาคเหนือ)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เป็นไม้ล้มลุก เป็นเถาเลื้อยไปตามพื้นดิน ยอดชูตั้งประมาณ 1 ฟุต ต้นสีแดง ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก 2 ชั้น รูปไข่ยาวเล็ก หุบได้เมื่อสั่นสะเทือน ดอกช่อกระจุกแน่น สีชมพูม่วง ก้านช่อยาว ผลเป็นฝักแบนยาวโค้ง ออกเป็นกระจุก เกิดตามที่รกร้างว่างเปล่า

ภาพที่ 2.1 ไมยราบ

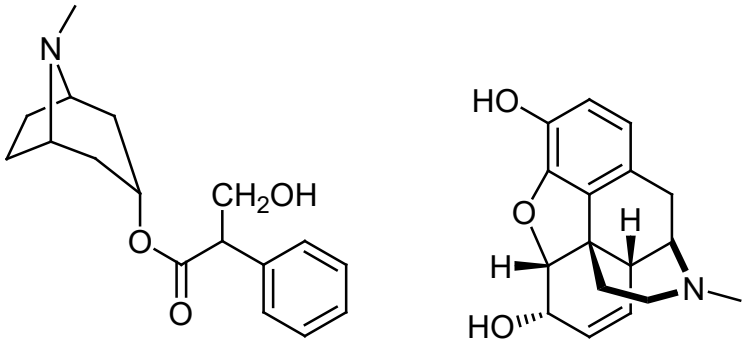
ที่มา (Waterhouse, 1994, p. 158)

2.2 กลุ่มสารพฤกษเคมีที่พบในพืช (วันดี กฤษณพันธ์, 2541; รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

สารในพืชแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ สารปฐมภูมิ (primary metabolite) เป็นสารที่พบในพืชชั้นสูงทั่วๆ ไป และสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) เป็นกลุ่มสารเคมีที่มีลักษณะพิเศษพบต่างกันในพืชแต่ละชนิด และสารกลุ่มนี้ส่วนมากจะมีสรรพคุณทางยาหรือเป็นสารพิษ กลุ่มสารพฤกษเคมีที่พบเสมอๆ ในพืชได้แก่

2.2.1 แอลคาลอยด์

แอลคาลอยด์ (alkaloid) เป็นกลุ่มสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ มักมีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่าง เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่มีฤทธิ์ต่อคนหรือสัตว์ เช่น อะโทรปีน(atrophine) จากต้นลำโพง มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ จึงมักผสมในยาแก้ปวดท้อง มอร์ฟีน(morphine) ในผลฝิ่น มีฤทธิ์ระงับปวดและทำให้เสพติด เป็นต้น



(ก) (ข)

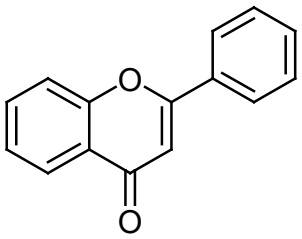
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของอะโทรปีน(ก) และมอร์ฟีน(ข)

2.2.2 ไกลโคไซด์

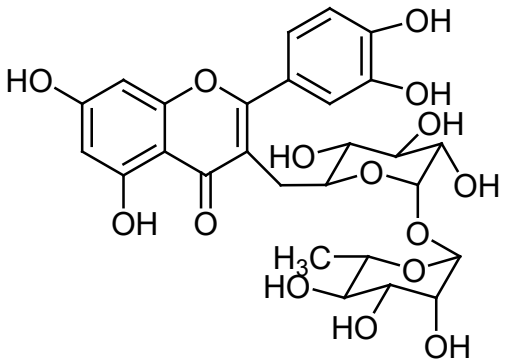
ไกลโคไซด์ (glycoside) เป็นสารกลุ่มที่นำมาใช้เป็นยารักษาโรคอย่างกว้างขวาง โครงสร้างประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลต่ออยู่กับส่วนที่เป็นน้ำตาล ซึ่งส่วนน้ำตาลจะทำให้สารกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ดี ส่วนที่ไม่ใช้น้ำตาลจะมีโครงสร้างแตกต่างกันไปทำให้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างกันออกไป ไกลโคไซด์แบ่งออกได้หลายชนิด ได้แก่

1) ฟลาโวนอลไกลโคไซด์หรือฟลาโวนอยด์

สารกลุ่มนี้เป็นสารมีสี (pigment) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์จะมีโครงสร้างพื้นฐานที่ประกอบด้วยคาร์บอนต่อกันแบบ C_6-C_3-C_6 แต่รูปแบบการต่ออาจแตกต่างกันทำให้เกิดเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์จำนวนมาก สารกลุ่มนี้พบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ในดอกไม้สีเหลืองจะพบสารฟลาโวน (flavone) ฟลาโวนอล (flavonol) หรือออโรน (aurone) แต่ในดอกไม้สีแดง ม่วง หรือน้ำเงิน จะเป็นสารพวกแอนโธไซยานิน (anthocyanin) ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีรายงานไว้ได้แก่ ฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ ต้านการอักเสบ ต้านจุลินทรีย์ ต้านมะเร็ง และต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่นำมาใช้รักษาโรคคือ รูทิน(rutin) นำมาใช้รักษาโรคเส้นโลหิตฝอยเปราะ



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทั่วไปของฟลาโวนอยด์

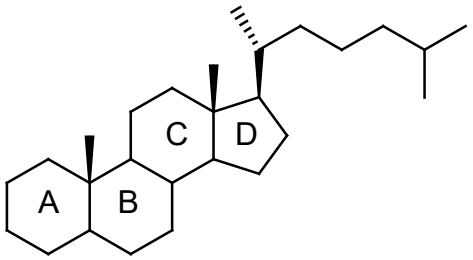


ภาพที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของรูทิน

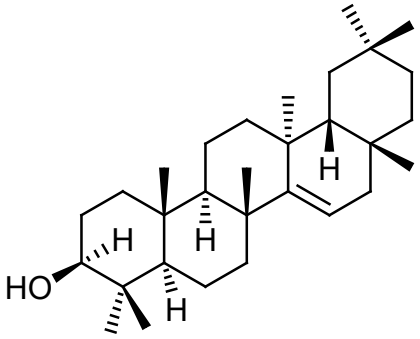
2) ซาโปนินไกลโคไซด์

โครงสร้างทางเคมีของซาโปนินไกลโคไซด์ (saponin glycoside) จะมีส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเป็นสเตียรอยด์(steroid) หรือไทรเทอร์พีนอยด์(triterpenoid) เมื่อเขย่ากับน้ำจะเกิดฟอง จึงใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวได้ดี สามารถนำมาใช้ชะล้างแทนสบู่ ใช้เป็นยาเบื่อปลา และ

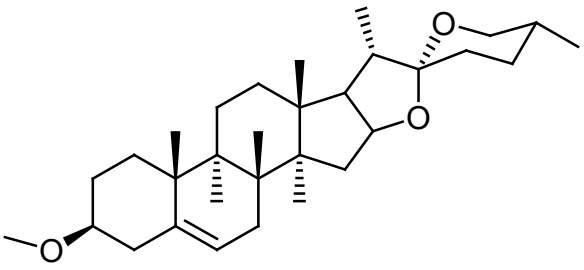
เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาประเภทสเตียรอยด์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าซาโปนินมีฤทธิ์ต้านอักเสบได้ (Just et al., 1998) พืชสมุนไพรที่ให้สารกลุ่มนี้ ได้แก่ กลอย (*Dioscorea spp*.) ซึ่งมีสารไดออสเจนิน (diosgenin) เป็นต้น



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของสเตียรอยด์



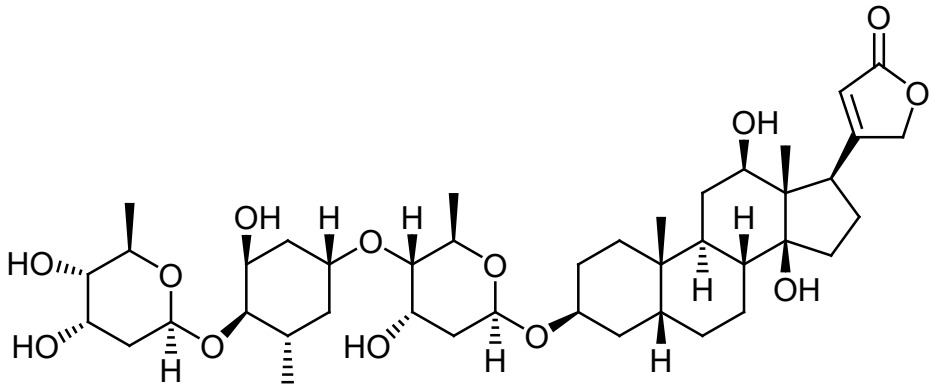
ภาพที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของไทรเทอร์พีนอยด์



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของไดออสเจนิน

3) คาร์ดิแอกไกลโคไซด์

คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycoside) จะออกฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจ และระบบการไหลเวียนโลหิต โครงสร้างประกอบด้วย 3 ส่วนคือ ส่วนสเตียรอยด์นิวเคลียส ส่วนวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มตัว (unsaturated lactone ring) และส่วนน้ำตาลดีออกซี (deoxy sugar) ตัวอย่างของสารในกลุ่มนี้ได้แก่ จิท็อกซิน (gitoxin) และดิก๊อกซิน (digoxin) ถ้านำมาใช้ในปริมาณน้อยๆ จะเป็นยาบำรุงหัวใจ แต่ถ้าใช้ในปริมาณมากจะเป็นอันตรายได้

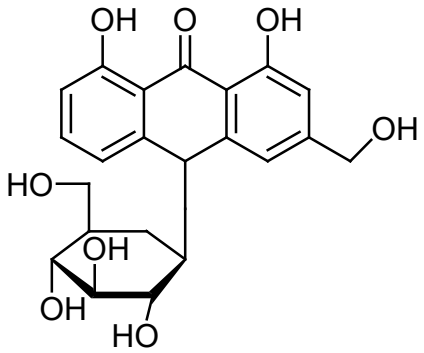


\

ภาพที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของดิก๊อกซิน

4) แอนทราควิโนนไกลโคไซด์

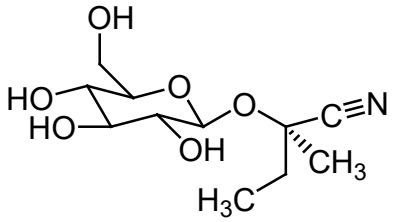
แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthraquinone glycoside) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย (laxative) โดยกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ใหญ่ เช่น เซ็นโนไซด์ (sennoside) ในใบและฝักมะขามแขก บาบาโลอิน (barbaloin) ใบว่านหางจระเข้



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของบาบาโลอิน

5) ไซยาโนเจนีติกไกลโคไซด์ (cyanogenetic glycoside)

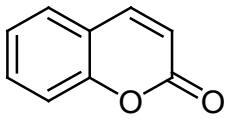
สารกลุ่มนี้สลายตัวให้สารพิษจำพวกไซยาไนด์ (cyanide) ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย ทั้งนี้เพราะสารไซยาไนด์ไปแย่งจับเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับกับออกซิเจนได้ พืชที่มีสารกลุ่มนี้ถ้าจะนำมาเป็นอาหารต้องทำให้สุกก่อนด้วยวิธีการเผา ต้ม ดอง หรือย่าง เพื่อให้สารไซยาไนด์สลายตัวก่อน ถ้าสัตว์กินพืชที่มีสารกลุ่มนี้อยู่อาจจะทำให้สัตว์ตายได้ พืชที่มีสารกลุ่มนี้ ได้แก่ มันสำปะหลังมีสารชื่อว่าโลทาวสะทราลิน(lotaustralin) นอกจากนี้ยังพบไซยาโนเจนีกติกไกลโคไซด์จากต้นตำแยแมว ผักเสี้ยนผี ใบยางพารา ชะอม หญ้าตีนกา และฝักสะตอ เป็นต้น



ภาพที่ 2.10 โครงสร้างทางเคมีของโลทาวสะทราลิน

6) คูมารินไกลโคไซด์ (coumarin glycoside)

สารกลุ่มนี้เป็นสารประกอบไกลโคไซด์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นเบนโซแอลฟาไพโรน(benzo-α-pyrone) สารเคมีกลุ่มนี้บางชนิดมีกลิ่นหอม ได้แก่ สารคูมาริน (coumarin) จากเปลือกต้นชะลูด ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นหอมในเครื่องสำอาง เป็นส่วนผสมในครีมป้องกันการแพ้แสงแดดหรือผสมในแป้งฝุ่นทาตัว

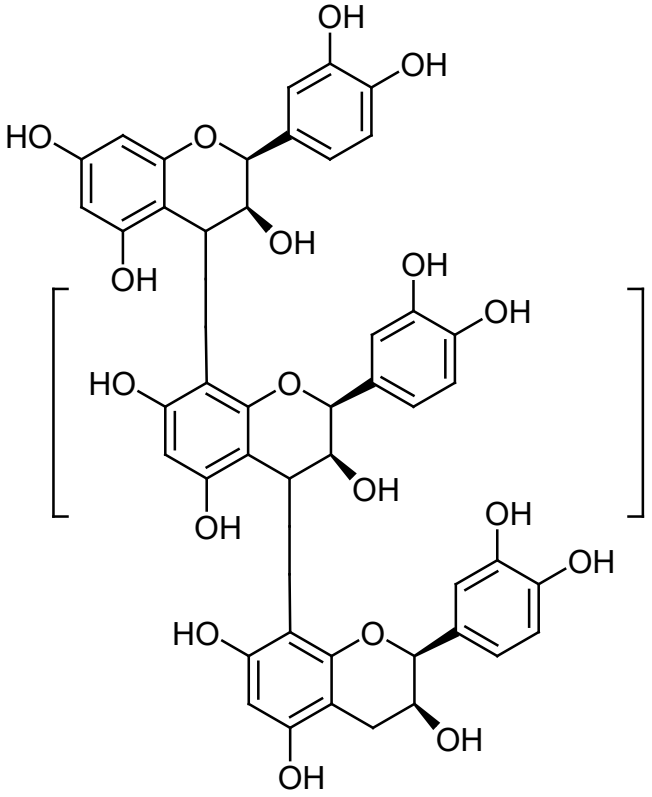


ภาพที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของเบนโซแอลฟาไพโรน

2.2.3 แทนนิน

แทนนิน (tannin) เป็นสารประกอบโพลิฟีนอล (polyphenol) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มแทนนินที่ละลายน้ำได้ (hydrolysable tannin) แทนนินที่ไม่ละลายน้ำ (condensed tannin) และ Pseudotannin แทนนินเป็นสารโมเลกุลใหญ่ รสฝาด สามารถทำให้แอลคาลอยด์ไกลโคไซด์

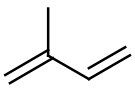
โปรตีน เจลาติน และโลหะหนักตกตะกอนได้ ประโยชน์ของแทนนินใช้เป็นยาฝาดสมาน แก้ท้องเสีย รักษาแผลไฟไหม้ ทำให้แผลติดเร็วขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแทนนินมีฤทธิ์ต้านมะเร็งได้อีกด้วย พืชที่มีสารแทนนินได้แก่ เปลือกสีเสียด ผลและเมล็ดหมาก เปลือกมังคุด เปลือกทับทิม ใบฝรั่ง เป็นต้น



ภาพที่ 2.12 โครงสร้างทางเคมีของคอนเดนซ์แทนนิน

2.2.4 เทอร์พีนอยด์

เทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นสารที่เปลี่ยนรูปมาจากไอโซพรีน (isoprene) สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น สารในกลุ่มแซสควิดเทอร์พีนอยด์มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ถ่ายพยาธิ และรักษาโรคมาลาเรีย สารในกลุ่มไดเทอร์พีนอยด์บางชนิดเช่น แท็กซอล (taxol) นำมาใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็ง เป็นต้น



ภาพที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของไอโซพรีน

2.3 การทดสอบสารพฤกษเคมีในพืชเบื้องต้น (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

การทดสอบสารพฤกษเคมีในพืชเบื้องต้นในที่นี้จะใช้วิธีการตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือเกิดตะกอน ซึ่งเป็นวิธีที่ทำให้ง่าย รวดเร็วและค่อนข้างจำเพาะกับกลุ่มสาร การทดสอบสารกลุ่มต่างๆ มีวิธีการทำดังนี้

2.3.1 การทดสอบแอลคาลอยด์

การทดสอบแอลคาลอยด์อาศัยหลักการที่ว่าแอลคาลอยด์เกือบทุกชนิดสามารถเกิดตะกอนหรือเกิดการขุ่น หรือเกิดสีกับน้ำยาทดสอบบางชนิดได้ ผลการทดสอบจะระบุได้เพียงว่ามีแอลคาลอยด์หรือไม่เท่านั้น ไม่สามารถระบุกลุ่มของแอลคาลอยด์ตามโครงสร้างทางเคมีได้ อีกทั้งสารบางกลุ่มเช่น โปรตีน แอลบูมิน อาจให้ผลคล้ายกับสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ ซึ่งอาจทำให้เข้าใจผิดได้ว่าสารตัวอย่างมีแอลคาลอยด์อยู่ และแอลคาลอยด์บางกลุ่มอาจไม่ให้ผลกับน้ำยาทดสอบอีกด้วย ดังนั้นการทดสอบจึงควรใช้น้ำยาทดสอบหลายๆ ชนิดเพราะแอลคาลอยด์แต่ละกลุ่มจะทำปฏิกิริยากับน้ำยาทดสอบแตกต่างกัน น้ำยาที่นิยมใช้ทดสอบแอลคาลอยด์ได้แก่

1) น้ำยาแวกเนอร์ (Wagner's reagent) ประกอบด้วยไอโอดีน (iodine) และโพแทสเซียมไอโอไดด์ (potassium iodide) ให้ตะกอนสีน้ำตาลกับแอลคาลอยด์

2) น้ำยาเมเยอร์ (Mayer's reagent) ประกอบด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ (mercuric chloride) และโพแทสเซียมไอโอไดด์ ให้ตะกอนสีขาวกับแอลคาลอยด์เกือบทุกชนิด

3) น้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) ประกอบบิสมัสไนเทรต (bismuth nitrate) ในกรดไนทริก และโพแทสเซียมไอโอไดด์ ให้ตะกอนสีส้มจนถึงสีแดง

4) น้ำยามาร์เม (Marme's reagent) ประกอบด้วยโพแทสเซียมไอโอไดด์และแคดเมียมไอโอไดด์ (cadmium iodide) ให้ตะกอนสีขาวหรือสีเหลือง ซึ่งตะกอนสามารถละลายได้ในน้ำยาทดสอบที่มากเกินพอ

2.3.2 การทดสอบไกลโคไซด์

เนื่องจากสารกลุ่มไกลโคไซด์มีหลายชนิด การทดสอบสารไกลโคไซด์แต่ละชนิดทำได้ดังนี้

1) การทดสอบฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์

การทดสอบสารกลุ่มนี้จะทดสอบด้วยปฏิกิริยาไซยานิดิน (cyanidin reaction) โดยการใส่ลวดแมกนีเซียมลงในสารสกัด และหยดกรดเกลือเข้มข้นลงไป ฟลาโวนอยด์ที่

มีโครงสร้างทั่วไปดังภาพที่ 2.3 จะให้สารละลายสีส้ม แดง น้ำเงินหรือเขียว ขึ้นกับโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์แต่ละชนิด ภายในเวลา 1-2 นาที หลังจากเติมกรด

2) การทดสอบซาโปนินไกลโคไซด์

การทดสอบซาโปนินไกลโคไซด์จะใช้การทดสอบฟอง ทำได้โดยนำสารสกัดมาเขย่ากับน้ำ ถ้าสารสกัดมีซาโปนินจะทำให้เกิดฟองลักษณะคล้ายรังผึ้ง และฟองนี้จะคงตัวประมาณ 15-20 นาที

3) การทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

การทดสอบสารกลุ่มนี้จะอาศัยการทดสอบโครงสร้างพื้นฐานแต่ละส่วนประกอบกัน เนื่องจากไม่มีรีเอเจนต์เฉพาะ ถ้าได้ผลบวกทุกการทดสอบ จึงจะสรุปได้ว่าพบสารในกลุ่มคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ การทดสอบประกอบด้วย 3 ส่วนคือ

การทดสอบสเตียรอยด์นิวเคลียสทำได้โดยใช้การทดสอบลีเบอร์แมนเบอร์ชาร์ด (Liebermann-Burchard test) การทดสอบนี้จะใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้นเติมลงในสารสกัดก่อน แล้วเติมอะซีติกแอนไฮไดรด์ (acetic anhydride) ซึ่งสารชนิดนี้จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างทำให้เกิดสีม่วง และสีจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน และสีเขียวในที่สุด

การทดสอบวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มตัวจะใช้น้ำยาเคดเด (Kedde's reagent) ซึ่งประกอบด้วยกรด 3,5-ไดไนโตรเบนโซอิกแอซิด (3,5-dinitrobenzoic acid) และสารละลายด่าง จะให้สีม่วง

การทดสอบน้ำตาลดีออกซีใช้ปฏิกิริยาของเคลเลอร์-คิเลียนิ (Keller-Kiliani test) ซึ่งประกอบด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ (ferric chloride) กรดซัลฟิวริกและกรดแกลเชียลอะซีติก จะให้สีม่วง แดง หรือเขียว ตรงรอยต่อระหว่างสารสกัดและกรดซัลฟิวริก แต่เนื่องจากสารสกัดเมื่อสัมผัสกับกรดเข้มข้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลซึ่งจะไปบดบังสีม่วงทำให้สังเกตสีได้ยาก

4) การทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์

การทดสอบจะใช้ปฏิกิริยาบอนเทรเกอร์ (Borntrager reaction) ทำได้โดยการไฮโดรไลซ์แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ด้วยสารละลายกรดเพื่อให้ได้ส่วนแอนทราควิโนนและส่วนน้ำตาลแยกออกจากกัน จากนั้นสกัดส่วนแอนทราควิโนนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เช่น เบนซีน ไดคลอโรมีเทน เป็นต้น นำชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มาเติมสารละลายด่าง จะปรากฏสีชมพูแดงในชั้นสารละลายด่าง

2.3.3 การทดสอบสารกลุ่มแทนนิน

การทดสอบแทนนินจะใช้สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ทำปฏิกิริยากับสารสกัดซึ่งจะให้สารละลายสีน้ำเงินดำ หรือเขียวดำ ถ้าสารสกัดมีสีเข้มอาจเติมน้ำลงไปให้เจือจางเพื่อช่วยให้เห็นสีชัดเจนขึ้น

2.3.4 การทดสอบเทอร์พีนอยด์

การทดสอบเทอร์พีนอยด์เบื้องต้นจะใช้การทดสอบของซาโควสกี้ (Salkowski test) ซึ่งปฏิกิริยานี้จะให้ผลบวกกับสารในกลุ่มสเตียรอยด์และไทรเทอร์พีนอยด์ การทดสอบจะต้องละลายสารสกัดหยาบด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตรเท่ากับปริมาตรของส่วนคลอโรฟอร์ม สารละลายจะแยกเป็นสองชั้น สังเกตบริเวณรอยต่อของสารละลายจะปรากฏสีน้ำตาล เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มขึ้นเรื่อยๆ แต่ถ้าหากมีปริมาณของสเตียรอยด์หรือไทรเทอร์พีนอยด์มากพอ ชั้นคลอโรฟอร์มจะปรากฏสีแดงและเข้มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อตั้งทิ้งไว้

2.4 รายงานการวิจัยของไมยราบ

งานวิจัยเกี่ยวกับไมยราบจะกล่าวถึงในด้านงานวิจัยที่เกี่ยวกับการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น การแยกสาร และงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.4.1 การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นจากไมยราบ

งานวิจัยเกี่ยวกับการหาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นจากไมยราบ มีรายงานการวิจัยดังต่อไปนี้ สารสกัดเอทานอลจากใบของไมยราบมีสารพฤกษเคมีในกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ ซาโปนิน และไทรเทอร์พีนอยด์ (Racadio & Molina ,2008) ดังแสดงในตารางที่ 2.1

สารสกัดจากรากของไมยราบด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ 6 ชนิด โดยเรียงลำดับตามความมีขั้วของตัวทำละลายจากขั้วต่ำไปหาขั้วสูงดังนี้ ปิโตรเลียมอีเทอร์(P) เบนซีน(B) คลอโรฟอร์ม(C) อะซิโตน(A) เมทานอล(M) และเอทานอล(E) และทำการทดสอบโดยวิธีโครมาโทกราฟีแผ่นบาง(TLC) พบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ในสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ อะซิโตน และเอทานอล และพบน้ำมันหอมระเหยในสารสกัดของปิโตรเลียมอีเทอร์และเบนซีน (Pande & Pathak, 2010) ดังแสดงในตารางที่ 2.2 และสารสกัดจากใบของไมยราบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดคือ เฮกเซน

คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตต และเมทานอล พบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ คาร์โบไฮเดรต และฟลาโวนอยด์จากสารสกัดคลอโรฟอร์ม สารสกัดเอทิลอะซิเตตและสารสกัดเมทานอล นอกจากนี้ยังพบคาร์โบไฮเดรตในสารสกัดเฮกเซน และพบซาโปนินในสารสกัดเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม (Rajendran & Sundarajan, 2010) ดังแสดงในตารางที่ 2.3

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยที่นำไมยราบสดทั้งต้นมาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ ปิโตรเลียมอิเทอร์ คลอโรฟอร์มและเมทานอล พบสารในกลุ่มของคูมาริน แอลคาลอยด์ และสเตอรอล (Muthumani et al., 2010) ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.1 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีของสารสกัดเอทานอลจากใบไมยราบ

Plant Constituent	**Chemical Test**	**Result**	**Descriptive Result**
Alkaloids	Mayer's test	+	Formation of slight opaqueness
Flavonoids	Bate-smith and Metcalf test	+	Formation of magenta red
Glycosides	Fehling's test	+	Formation of brick red
Saponins	Froth test	+	Formation of froth
Tannin	Ferric chloride test	-	No blue black and brownish-green color
Sterols	Liebermann Burchard test	-	No formation of blue color
Triterpenes	Liebermann Burchard tes	+	Formation of red color

ตารางที่ 2.2 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีจากรากไมยราบ

Detection reagent	**Observation**	**Inference**	**P**	**B**	**C**	**A**	**M**	**E**
KOH	Red (vis) Yellow	Anthraquinone, Anthrone	-	-	-	-	-	-
Vanillin sulphuric acid	Red/yellow/brown/blue-green	Bitter principle	-	-	-	-	-	-
Dragendorff's reagent	Orange Red(vis)	Alkaloid	+	-	+	-	-	-
NP/PEG and UV	Yellow /green/orange	Flavonoid	+	-	-	+	-	+
VS reagent	Blue (vis) Red	Saponin	-	-	-	-	-	-
VS reagent	/yellow/brown/ blue-green	Essential oil	+	+	-	-	-	-
Hcl/Acetic acid	Blue brown	Valepotriate	-	-	-	-	-	-
NH_3/KOH	Light blue brown	Coumarin	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2.3 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีจากใบไมยราบ

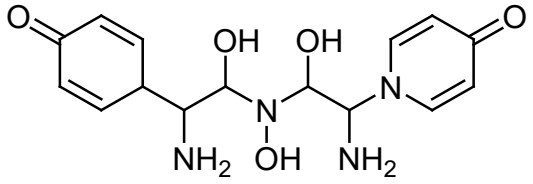
Test	**n-Hexane**	**Chloroform**	**Ethyl acetate**	**Methanol**
Alkaloids	-	+	+	+
Glycosides	-	+	+	+
Terpenoids	-	-	-	-
Carbohydrates	+	+	+	+
Proteins	-	-	-	-
Steroids	+	+	-	+
Flavonoids	-	+	+	+
Phenols	-	-	-	+
Tannins	-	-	-	-
Quinones	-	-	-	-
Saponins	+	+	-	-
Resins	-	-	-	-
Fixed oils & Fats	-	-	-	-
Volatile oils	-	-	-	-

ตารางที่ 2.4 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีจากไมยราบสดทั้งต้น

Test	Petroleum ether	Chloroform	Methanol
Sugar	+	-	-
Flavonoid	-	-	-
Coumarin	-	+	+
Alkaloid	+	+	+
Sterol	+	+	-
glycoside	-	-	-

2.4.2 การแยกสารจากไมยราบ

การวิจัยเกี่ยวกับการแยกสารที่เป็นองค์ประกอบของไมยราบมีรายงานดังต่อไปนี้ งานวิจัยของ Lobstein (2002) แยกสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ได้ 2 ชนิด คือ 4”-hydroxymaysin และ cassiaoccidentalin B จากส่วนเหนือดินของไมยราบแห้งที่สกัดด้วยเอทานอล 30% กลุ่มของ Kirk (2003) แยกสารที่เป็นอนุพันธ์ของ 5-deoxyflavonol ได้ 2 ชนิดคือ 7, 3’, 4’-trihydoxy-3,8-trihydroxy-dimethoxyflavone และ *p*-coumaric acid จากส่วนใบแห้งของไมยราบที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต และกลุ่มของ Yuan (2007) แยก 6,7,3’,4’-tetrahydroxy-8-C[α-L-rhamnopyranosyl-(1⟶2)]-β-D-glycopyranosyl flavone และ 5,7,3’,4’- tetrahydroxy-8-C[β-D-apinose-(1⟶4)]-β-D-glycopyranosyl flavones จากทุกส่วนของไมยราบที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต Ueda และ Yamamura (1999) แยกสารที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการปิดและเปิดใบของไมยราบได้ 2 ชนิดคือ 5-O-glucopyranosylgentisate และมิโมพูดีน (mimopudine) จากส่วนใบที่สกัดด้วยน้ำและบิวทานอลตามลำดับ



ภาพที่ 2.14 โครงสร้างทางเคมีของมิโมพูดีน

2.4.3 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากไมยราบ

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดไมยราบมีรายงานไว้ดังต่อไปนี้ สารสกัดด้วยเมทานอล 80% จากส่วนใบของไยราบมีผลเพิ่มระดับน้ำตาลในเลือดของหนู (Amalraj & Ignacimuthu, 2002) น้ำต้มจากใบแห้งของไมยราบมีฤทธิ์ต้านการสั่นอย่างควบคุมไม่ได้ของหนู (male swiss mice) ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ Strychnine และ Pentylenetetrazol (Bum et al ., 2004) สารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนรากของไมยราบมีผลทำให้หนู (albio mice) เป็นหมัน เมื่อให้หนูกินปริมาณ 300 mg /น้ำหนักตัว (kg) /วัน (Ganguly et al., 2007) สารสกัดไมยราบที่สกัดด้วย ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน ไดเอทิลอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตต เมทานอล เอทานอล และน้ำ ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคจุดขาว (white spot disease) ในกุ้ง (Balasubramanian et al., 2007) สารสกัดน้ำจากทุกส่วนของไมยราบมีฤทธิ์ในการต้านพิษงูสายพันธุ์ *Naja naja kaouthia* (Vejayan, Ibrahim , & Othman, 2007) สารสกัดเอทานอลจากใบไมยราบสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดอย่างมีนัยสำคัญ (Sutar & Behera, 2009) สารสกัดเมทานอลจากใบของไมยราบสามารถต้านเชื้อ *Aspergillus fumigates* และ *Klebsiella pneumonia* ได้ (Gandhiraja et al., 2009) สารสกัดคลอโรฟอร์มและเมทานอลจากรากของไมยราบมีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่เกิดจากบาดแผลภายนอก และแผลไฟไหม้หรือน้ำร้อนลวก (Paul et al., 2010)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์

1) ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)

2) บีกเกอร์ (beaker)

3) หลอดทดลอง (test tube)

4) กระบอกตวงสาร (graduated cylinder)

5) แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)

6) กระดาษกรอง (whatman No. 1)

7) เครื่องชั่งสารไฟฟ้า (balance)

8) ภาชนะสำหรับสกัด (perculator)

9) ถุงผ้า

3.1.2 เครื่องมือ

1) เตาอบ (Mammert)

2) เครื่อง UV –Light (Desaga)

3) เครื่องชั่ง รุ่น AG204 (Mettler-Toledo)

4) เครื่อง Vacuum Rotary Evaporator ประกอบด้วย

-Rotavapor รุ่น R-124 (Buchi)

-Vacuum รุ่น R-169 (Buchi)

-Cooling รุ่น RTE-111 (Buchi)

-Heater รุ่น B-480 (Buchi)

5) Heating and Shaker water bath (Becthai)

3.1.3 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 รายชื่อสารเคมี

สารเคมี	เกรดหรือความบริสุทธิ์	บริษัทผู้ผลิต
3,5 dinitrobenzoic acid	Analytical	Fluka
Bismuth nitrate	Analytical	Ajax Finechem
Chloroform	Analytical	Fluka
Dichrolomethane	Analytical	Fluka
Ethanol 95 %	Analytical	Lab-Scan
Ethyl acetate	Analytical	Merck
Glacial acetic acid	Analytical	Fluka
Hexane	Analytical	Lab-Scan
Hydrochloric acid	Analytical	Merck
Iodine	Analytical	Fisher Scientific
Iron(III)Chloride	Analytical	Merck
Mercury (II)chloride	Analytical	Ajax Finechem
Potassium Iodide	Analytical	Merck
Sodium hydroxide	Analytical	Ajax Finechem
Sulfuric acid	Analytical	Merck

3.2 วิธีวิจัย

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างไมยราบ

1) นำไมยราบสดมาสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ แบ่งตัวอย่างเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง

2) การเตรียมตัวอย่างแห้ง นำไมยราบที่สับเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วไปผึ่งลมให้แห้งและอบไล่ความชื้นด้วยเตาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 9 ชั่วโมง

3) ชั่งตัวอย่างสดใส่ในถุงผ้าจำนวน 5 ถุงๆ ละ 500 กรัม (ติดหมายเลข 1-f, 2-f, 3-f, 4-f และ 5-f ตามลำดับ) ชั่งตัวอย่างแห้งใส่ในถุงผ้าจำนวน 5 ถุงๆ ละ 500 กรัม (ติดหมายเลข 1-d, 2-d, 3-d, 4-d และ 5-d ตามลำดับ) นำถุงผ้าทั้งหมดใส่ลงในภาชนะสำหรับสกัดภาชนะละ 1 ถุง

3.2.2 การเตรียมสารสกัดหยาบ

1) เติมตัวทำละลายแต่ละชนิดปริมาตร 2.0 ลิตร ลงในภาชนะสำหรับสกัดดังนี้ เฮกเซนลงในภาชนะหมายเลข 1-f และ 1-d เอทิลอะซิเตตลงในภาชนะหมายเลข 2-f และ 2-d เอทานอล 95% ลงในภาชนะหมายเลข 3-f และ 3-d เอทานอล 30% ลงในภาชนะหมายเลข 4-f และ 4-d และน้ำลงในภาชนะหมายเลข 5-f และ 5-d แช่ตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เขย่าเป็นครั้งคราว กรองแยกสารสกัดออกจากกาก

2) นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator บันทึกลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดจากตัวทำละลายแต่ละชนิด เก็บส่วนสกัดหยาบทั้งหมดไว้ในขวดสีชา

3.2.3 การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

1) การทดสอบแอลคาลอยด์

ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่ในชามกระเบื้อง เติม 2 M HCl 15 cm^3 ต้มและคน 10 นาที กรอง ปล่อยสารละลายให้เย็น แบ่งสารละลายลงในหลอดทดลอง 4 หลอด หลอดละ 2 cm^3 เติมรีเอเจนต์ต่อไปนี้ แวกเนอร์ เมเยอร์ และดราเจนดอร์ฟ ลงในหลอดทดลองที่ 1-3 ตามลำดับ หลอดละ 3 cm^3 สังเกตสีและปริมาณของตะกอนเทียบกับหลอดที่ 4 ที่ใช้เป็น blank control

2) การทดสอบฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่ลงในหลอดทดลอง 2 หลอด เติม 50% เอทานอล 2 cm^3 คนให้ละลาย เติมลวดแมกนีเซียม 2-3 ชิ้น ยาวชิ้นละ 2-3 มิลลิเมตร ลงในหลอดที่ 1 (หลอดที่ 2 เป็น blank control) เขย่า หยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3-4 หยด สังเกตสีภายใน 1-2 นาที

3) การทดสอบซาโปนิน

ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่ในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่น 5 cm^3 แล้วต้มบนอ่างน้ำร้อน 5 นาที กรองขณะร้อนปล่อยให้เย็น เขย่าสารละลายที่กรองได้อย่างแรง 1 นาที สังเกตลักษณะและความคงตัวของฟอง

4) การทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

เนื่องจากการทดสอบสารกลุ่มนี้ไม่มีรีเอเจนต์เฉพาะจึงต้องทำการทดสอบส่วนต่างๆ ของโครงสร้างประกอบกันจึงจะสรุปได้ว่ามีสารกลุ่มคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ การทดสอบมี 3 ส่วนดังนี้

ก. ส่วนสเตียรอยด์นิวเคลียส ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่ถ้วยกระเบื้อง เติมคลอโรฟอร์ม 1 cm^3 เขย่าให้ละลาย เติมกรดแกลเชียลอะซีติก 1 cm^3 คนให้ละลาย และเติมกรดซัลฟิวริกเข้ม 1 cm^3 สังเกตสีที่เกิดขึ้นทันที

ข. ส่วนแล็กโทนไม่อิ่มตัว ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่ถ้วยกระเบื้อง เติมเอทานอล 95% ปริมาตร 2 cm^3 คนให้ละลาย เติม Kedde's reagent 1-2 หยด ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลาย 5% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ในแอลกอฮอล์ 1-2 หยดสังเกตสีที่เกิดขึ้นทันที

ค. ส่วนน้ำตาลดีออกซี ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่ลงในหลอดทดลอง เติมคลอโรฟอร์ม 1 cm^3 เขย่าให้ละลาย เติมกรดแกลเชียลอะซีติก 1 cm^3 เติมสารละลาย 1% เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) 1-2 หยด เขย่าให้เข้ากัน เอียงหลอดแล้วค่อย ๆ รินกรดซัลฟิวริกเข้มข้นไปตามข้างหลอดประมาณ 1-2 cm^3 สังเกตสีตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารละลาย

5) การทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์

ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่หลอดทดลอง เติม 10% กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 5 cm^3 แล้วต้มบนอ่างน้ำร้อน 5 นาที ปล่อยให้เย็น สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) 5

cm^3 นำชั้นไดคลอโรมีเทนมาเติมสารละลาย 10% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) สังเกตสีในชั้นสารละลายด่าง

6) การทดสอบแทนนิน

ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 5 cm^3 แล้วต้มบนอ่างน้ำร้อน 5 นาที กรองขณะร้อน นำสารละลายที่กรองได้มาเติมสารละลาย 1% เฟอร์ริก-คลอไรด์ จำนวน 3-4 หยด สังเกตสีที่เกิดขึ้น

7) การทดสอบเทอร์พีนอยด์

ชั่งสารสกัดประมาณ 0.2 กรัมใส่ในหลอดทดลอง เติมคลอโรฟอร์ม 2 cm^3 เขย่าค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) 2 cm^3 สังเกตสีชั้นคลอโรฟอร์มและชั้นกรดซัลฟิวริก

3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจะชั่งสารสกัดหยาบส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ จำนวน 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 0.1 กรัม ส่งไปทดสอบฤทธิ์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ โดยมีการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง ต้านเชื้อรา ต้านไวรัสเริมที่ปาก และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งในช่องปาก (KB-oral cavity cancer) มะเร็งเต้านม (MCF-7 breast cancer) มะเร็งปอด (NCI-H187 small cell lung cancer) และฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Anti-*Candia albicans*) ด้วยวิธี Rasazurin microplate assay (Brien et al., 1999)

การทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปาก(Anti-HSV-1) และการทดสอบความเป็นพิษต่อ Vero cells (cytotoxicity against vero cell) ด้วยวิธี Green fluorescent protein (GFP) detection (Hunt et al., 2009)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การสกัดส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งและนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้น และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบ

จากการนำส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งอย่างละ 500 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล 95 % เอทานอล 30 % และน้ำ เมื่อนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้สารสกัดหยาบลักษณะข้นหนืด สีเขียวดำ-น้ำตาลดำ ทั้งหมด 10 สารสกัด และพบว่าเอทานอล 30% สกัดสารจากไมยาบสดและแห้งได้ปริมาณมากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และ 4.2

ตารางที่ 4.1 ลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดหยาบจากไมยราบสด

ตัวทำละลาย	ลักษณะสารสกัดหยาบ	น้ำหนัก(กรัม)
เฮกเซน	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ	1.626
เอทิลอะซิเตต	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวดำ	4.456
เอทานอล 95 %	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวดำ	4.735
เอทานอล 30 %	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวดำ	16.816
น้ำ	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ	4.253

ตารางที่ 4.2 ลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดหยาบจากไมยราบแห้ง

ตัวทำละลาย	ลักษณะสารสกัดหยาบ	น้ำหนัก(กรัม)
เฮกเซน	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ	1.598
เอทิลอะซิเตต	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวดำ	5.098
เอทานอล 95 %	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวดำ	4.288
เอทานอล 30 %	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวดำ	16.289
น้ำ	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ	5.718

4.2 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

จากการนำสารสกัดหยาบจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งทั้งหมด 10 สารสกัดหยาบมาทดสอบหาสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 7 กลุ่มคือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ ได้ผลการทดสอบดังนี้

4.2.1 ผลการทดสอบแอลคาลอยด์

การทดสอบแอลคาลอยด์โดยใช้น้ำยาสำหรับทดสอบ 3 ชนิดคือ น้ำยาแวกเนอร์ น้ำยาเมเยอร์ และน้ำยาดราเจนดอร์ฟ เพราะแอลคาลอยด์แต่ละชนิดจะทำปฏิกิริยากับน้ำยาทดสอบได้แตกต่างกัน โดยถ้าการทดสอบมีตะกอนเกิดขึ้น หรือสารละลายขุ่น แสดงว่าสารสกัดนั้นๆ มีแอลคาลอยด์เป็นองค์ประกอบ ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.3-4.7 พบแอลคาลอยด์ในสารสกัดที่ใช้ เอทิลอะซิเตต เอทานอล 95% และเอทานอล 30% เป็นตัวทำละลาย โดยในสารสกัดเอทิลอะซิเตต พบแอลคาลอยด์ทั้งในไมยราบสดและแห้งเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาแวกเนอร์ ในสารสกัดของเอทานอล 95% และเอทานอล 30% พบแอลคาลอยด์ทั้งในไมยราบสดและแห้งเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาแวกเนอร์ และน้ำยาเมเยอร์ ทั้งนี้ในสารสกัดอื่นๆ ไม่พบแอลคาลอยด์

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเฮกเซน

น้ำยาทดสอบ	ผลการทดสอบสารสกัดเฮกเซน	
	สด	แห้ง
แวกเนอร์	สารละลายสีแดง	สารละลายสีแดง
เมเยอร์	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง
ดราเจนดอร์ฟ	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้ม

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเอทิลอะซิเตต

น้ำยาทดสอบ	ผลการทดสอบสารสกัดเอทิลอะซิเตต	
	สด	แห้ง
แวกเนอร์	สารละลายสีแดงขุ่น	สารละลายสีแดงขุ่น
เมเยอร์	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง
ดราเจนดอร์ฟ	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้ม

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเอทานอล 95%

น้ำยาทดสอบ	ผลการทดสอบสารสกัดเอทานอล 95%	
	สด	แห้ง
แวกเนอร์	สารละลายสีแดงมีตะกอน	สารละลายสีแดงขุ่น
เมเยอร์	สารละลายสีเหลืองขุ่น	สารละลายสีเหลืองขุ่น
ดราเจนดอร์ฟ	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้ม

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเอทานอล 30%

น้ำยาทดสอบ	ผลการทดสอบสารสกัดเอทานอล 30%	
	สด	แห้ง
แวกเนอร์	สารละลายสีแดงมีตะกอน	สารละลายสีแดงขุ่น
เมเยอร์	สารละลายสีเหลืองขุ่น	สารละลายสีเหลืองมีตะกอน
ดราเจนดอร์ฟ	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้ม

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดน้ำ

น้ำยาทดสอบ	ผลการทดสอบสารสกัดน้ำ	
	สด	แห้ง
แวกเนอร์	สารละลายสีแดง	สารละลายสีแดง
เมเยอร์	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง
ดราเจนดอร์ฟ	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้ม

4.2.2 ผลการทดสอบฟลาโวนอยด์

การทดสอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดต่างๆ โดยใช้ปฏิกิริยาไซยานิดิน ผลการทดสอบแสดงว่ามีฟลาโวนอยด์คือเกิดสีส้ม แดง เขียว หรือน้ำเงิน ภายใน 1-2 นาที ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.8 และ 4.9 พบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดของเอทิลอะซิเตตทั้งในไมยราบสดและแห้งเท่านั้น

ตารางที่ 4. 8 ผลการทดสอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบด้วยปฏิกิริยาไซยานิดิน
เฮกเซน	สารละลายสีเหลือง
เอทิลอะซิเตต	สารละลายสีน้ำตาลแดง
เอทานอล 95%	สารละลายสีน้ำตาล
เอทานอล 30%	สารละลายสีเหลือง
น้ำ	สารละลายสีเหลือง

ตารางที่ 4. 9 ผลการทดสอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบด้วยปฏิกิริยาไซยานิดิน
เฮกเซน	สารละลายสีเหลือง
เอทิลอะซิเตต	สารละลายสีน้ำตาลแดง
เอทานอล 95%	สารละลายสีน้ำตาล
เอทานอล 30%	สารละลายสีเหลือง
น้ำ	สารละลายสีเหลือง

4.2.3 ผลการทดสอบซาโปนิน

การทดสอบซาโปนินจากสารสกัดต่างๆ ใช้การทดสอบฟอง สารสกัดที่มีซาโปนินเป็นองค์ประกอบเมื่อเขย่ากับน้ำจะปรากฏฟองลักษณะคล้ายรวงผึ้ง และฟองนั้นจะคงตัวอยู่ได้นานประมาณ 15-20 นาที ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.10 และ 4.11 พบซาโปนินในสารสกัดของเอทานอล 30% ทั้งในไมยราบสดและแห้ง

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบซาโปนินของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบฟอง
เฮกเซน	ไม่มีฟอง
เอทิลอะซิเตต	ไม่มีฟอง
เอทานอล 95%	ไม่มีฟอง
เอทานอล 30%	มีฟอง
น้ำ	ไม่มีฟอง

ตารางที่ 4.11 ผลการทดสอบซาโปนินของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบฟอง
เฮกเซน	ไม่มีฟอง
เอทิลอะซิเตต	ไม่มีฟอง
เอทานอล 95%	ไม่มีฟอง
เอทานอล 30%	มีฟอง
น้ำ	ไม่มีฟอง

4.2.4 ผลการทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

การทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์จากสารสกัดต่างๆ โดยทำสารทดสอบ 3 ส่วน คือ ส่วนสเตียรอยด์นิวเคลียสใช้การทดสอบลีเบอร์แมนเบอร์ชาร์ด ผลการทดสอบที่เป็นบวกคือเกิดสีม่วง เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน และเปลี่ยนเป็นสีเขียวในที่สุด การทดสอบวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มตัวจะใช้น้ำยาเคดเด ผลการทดสอบที่เป็นบวกคือเกิดสีม่วงขึ้นทันที เมื่อตั้งทิ้งไว้สีจะหายไป และการทดสอบน้ำตาลดีออกซีใช้ปฏิกิริยาของเคลเลอร์-คิเลียนิ ถ้ามีน้ำตาลดีออกซี จะปรากฏสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารละลาย ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.12 และ 4.13 พบส่วนสเตรียรอยด์นิวเคลียสจากสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล 95% โดยพบทั้งในไมยราบสดและแห้ง ส่วนวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มไม่พบในสารสกัดใดเลย และพบน้ำตาลดีออกซีในทุกสารสกัดของไมยราบสดและแห้ง ดังนั้นจึงไม่พบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ในสารสกัดหยาบจากส่วนเหนือดินของทั้งไมยราบสดและแห้ง

ตารางที่ 4.12 ผลการทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบ		
	สเตียรอยด์นิวเคลียส	**วงแหวนแล็กโทน**	**น้ำตาลดีออกซี**
เฮกเซน	สารละลายสีเขียว	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง
เอทิลอะซิเตต	สารละลายสีเขียว	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง
เอทานอล 95%	สารละลายสีเขียว	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง
เอทานอล 30%	สารละลายสีน้ำตาล	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง
น้ำ	สารละลายใส	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง

ตารางที่ 4.13 ผลการทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบ		
	สเตียรอยด์นิวเคลียส	**วงแหวนแล็กโทน**	**น้ำตาลดีออกซี**
เฮกเซน	สารละลายสีเขียว	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง
เอทิลอะซิเตต	สารละลายสีเขียว	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง
เอทานอล 95%	สารละลายเขียว	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง
เอทานอล 30%	สารละลายน้ำตาล	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง
น้ำ	สารละลายใส	สารละลายสีเขียว	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดง

4.2.5 ผลการทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์

การทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์จะใช้ปฏิกิริยาบอร์นเทรเกอร์ โดยสารในกลุ่มแอนทราควิโนนไกลโคไซด์จะทำปฏิกิริยากับด่างให้สีชมพูแดง ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.14 และ 4.15 ไม่พบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ในสารสกัดใดๆ จากส่วนเหนือดินของทั้งไมยราบสดและแห้ง

ตารางที่ 4.14 ผลการทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบด้วยปฏิกิริยาบอร์นเทรเกอร์
เฮกเซน	สารละลายใส
เอทิลอะซิเตต	สารละลายใส
เอทานอล 95%	สารละลายใส
เอทานอล 30%	สารละลายใส
น้ำ	สารละลายใส

ตารางที่ 4.15 ผลการทดสอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบด้วยปฏิกิริยาบอร์นเทรเกอร์
เฮกเซน	สารละลายใส
เอทิลอะซิเตต	สารละลายใส
เอทานอล 95%	สารละลายใส
เอทานอล 30%	สารละลายใส
น้ำ	สารละลายใส

4.2.6 ผลการทดสอบแทนนิน

แทนนินเป็นสารประกอบในกลุ่มโพลิฟีนอล การทดสอบจะใช้สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ซึ่งสารละลายดังกล่าวจะทำปฏิกิริยากับสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอล เกิดเป็นสารละลายสีเข้ม ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.16 และ 4.17 พบสารละลายสีน้ำเงินดำในทุกสารสกัดของไมยราบสดและแห้ง ยกเว้นในสารสกัดเฮกเซนเท่านั้น ดังนั้นสรุปได้ว่าพบแทนนินในส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งที่สกัดด้วย เอทิลอะซิเตต เอทานอล 95% เอทานอล 30% และน้ำ

ตารางที่ 4.16 ผลการทดสอบแทนนินของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบกับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์
เฮกเซน	สารละลายใส
เอทิลอะซิเตต	สารละลายสีน้ำเงินดำ
เอทานอล 95%	สารละลายสีน้ำเงินดำ
เอทานอล 30%	สารละลายสีน้ำเงินดำ
น้ำ	สารละลายสีน้ำเงินดำ

ตารางที่ 4.17 ผลการทดสอบแทนนินของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบกับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์
เฮกเซน	สารละลายใส
เอทิลอะซิเตต	สารละลายสีน้ำเงินดำ
เอทานอล 95%	สารละลายสีน้ำเงินดำ
เอทานอล 30%	สารละลายสีน้ำเงินดำ
น้ำ	สารละลายสีน้ำเงินดำ

4.2.7 ผลการทดสอบเทอร์พีนอยด์

การทดสอบเทอร์พีนอยด์จะใช้การทดสอบของซาโควสกี้ การทดสอบที่เป็นบวก คือ เกิดสารละลายสีน้ำตาลแดงตรงรอยต่อของสารละลาย ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.18 และ 4.19 เกิดสารละลายสีน้ำตาลแดงบริเวณรอยต่อของสารละลายในทุกสารสกัด จึงสรุปว่าพบเทอร์พีนอยด์ในสารสกัดของทั้งไมยราบสดและแห้ง

ตารางที่ 4.18 ผลการทดสอบเทอร์พีนอยด์ของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบด้วยปฏิกิริยาซาโควสกี้
เฮกเซน	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย
เอทิลอะซิเตต	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย
เอทานอล 95%	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย
เอทานอล 30%	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย
น้ำ	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย

ตารางที่ 4.19 ผลการทดสอบเทอร์พีนอยด์ของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบด้วยปฏิกิริยาซาโควสกี้
เฮกเซน	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย
เอทิลอะซิเตต	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย
เอทานอล 95%	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย
เอทานอล 30%	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย
น้ำ	เกิดสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจะชั่งสารสกัดหยาบของไมยราบสดและแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ จำนวน 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 0.1 กรัม ส่งไปทดสอบฤทธิ์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ โดยมีการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง ต้านเชื้อรา ต้านไวรัสเริมที่ปาก และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.20-4.27

4.3.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *Candida albicans* ของสารสกัดหยาบจากไมยราบ พบว่าสารสกัดจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งทุกสารสกัดไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุดเท่ากับ 50µg/mL

ตารางที่ 4.20 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบ
เฮกเซน	Inactive
เอทิลอะซิเตต	Inactive
เอทานอล 95 %	Inactive
เอทานอล 30 %	Inactive
น้ำ	Inactive

Inactive at % inhibition < 50%

ตารางที่ 4.21 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบ
เฮกเซน	Inactive
เอทิลอะซิเตต	Inactive
เอทานอล 95 %	Inactive
เอทานอล 30 %	Inactive
น้ำ	Inactive

Inactive at % inhibition < 50%

4.3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง

การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง 3 ชนิด คือมะเร็งในช่องปาก มะเร็งเต้านม และมะเร็งปอด พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตของไมยราบแห้งมีฤทธิ์ต้านมะเร็งในช่องปากและมะเร็งปอดโดยมี % Inhibition ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 50μg/mL เท่ากับ 61.97 และ 63.34 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.22 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบ		
	ต้านมะเร็งในช่องปาก	ต้านมะเร็งเต้านม	ต้านมะเร็งปอด
เฮกเซน	Inactive	Inactive	Inactive
เอทิลอะซิเตต	Inactive	Inactive	Inactive
เอทานอล 95 %	Inactive	Inactive	Inactive
เอทานอล 30 %	Inactive	Inactive	Inactive
น้ำ	Inactive	Inactive	Inactive

Inactive at % inhibition < 50%

ตารางที่ 4.23 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบ		
	ต้านมะเร็งในช่องปาก	ต้านมะเร็งเต้านม	ต้านมะเร็งปอด
เฮกเซน	Inactive	Inactive	Inactive
เอทิลอะซิเตต	Active	Inactive	Active
เอทานอล 95 %	Inactive	Inactive	Inactive
เอทานอล 30 %	Inactive	Inactive	Inactive
น้ำ	Inactive	Inactive	Inactive

Inactive at % inhibition < 50%

4.3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปาก

การทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปากพบว่าสารสกัดจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งทุกสารสกัดไม่มีฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปากที่ความเข้มข้นสารสกัดสูงสุด 50 µg/mL เมื่อเทียบกับยา Acycolvir

ตารางที่ 4.24 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปากของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบ
เฮกเซน	Inactive
เอทิลอะซิเตต	Inactive
เอทานอล 95 %	Inactive
เอทานอล 30 %	Inactive
น้ำ	Inactive

Inactive at % inhibition < 50%

ตารางที่ 4.25 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปากของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบ
เฮกเซน	Inactive
เอทิลอะซิเตต	Inactive
เอทานอล 95 %	Inactive
เอทานอล 30 %	Inactive
น้ำ	Inactive

Inactive at % inhibition < 50%

4.3.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี Green Fluorescent Portein(GFP)-based assay ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 50µg/mL พบว่าสารสกัดจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งทุกสารสกัดไม่มีความเป็นพิษต่อ vero cell

ตารางที่ 4.26 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบสด

สารสกัด	ผลการทดสอบ
เฮกเซน	Non-cytotoxic
เอทิลอะซิเตต	Non-cytotoxic
เอทานอล 95 %	Non-cytotoxic
เอทานอล 30 %	Non-cytotoxic
น้ำ	Non-cytotoxic

Non-cytotoxic at % cell growth >50%

ตารางที่ 4.27 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบแห้ง

สารสกัด	ผลการทดสอบ
เฮกเซน	Non-cytotoxic
เอทิลอะซิเตต	Non-cytotoxic
เอทานอล 95 %	Non-cytotoxic
เอทานอล 30 %	Non-cytotoxic
น้ำ	Non-cytotoxic

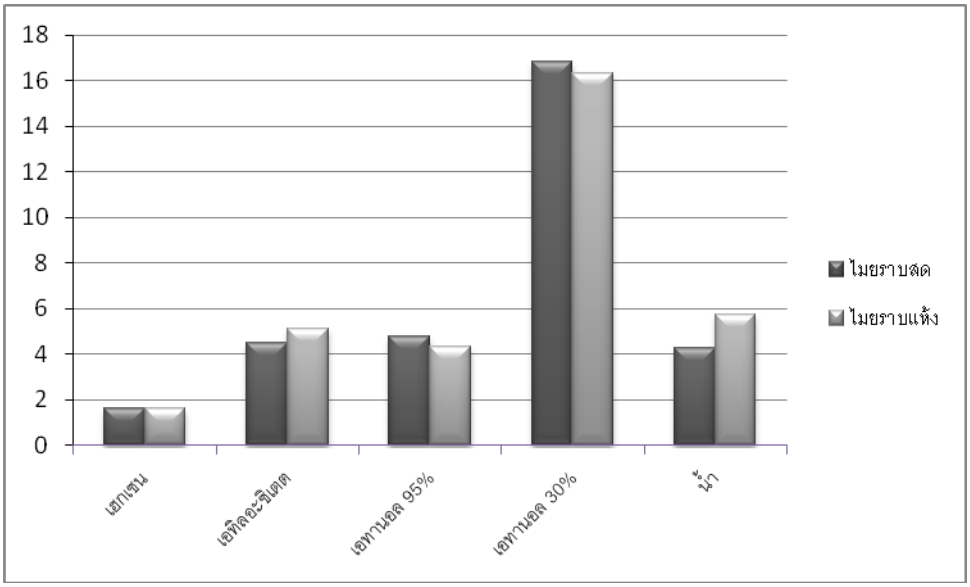
Non-cytotoxic at % cell growth >50%

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

5.1 ปริมาณสารสกัดหยาบ

จากการนำส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้ง มาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้ปริมาณสารสกัดหยาบดังแสดงในภาพที่ 5.1



ภาพที่ 5.1 ปริมาณสารสกัดหยาบของไมยราบสดและแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้ พบว่าเอทานอล 30% สามารถสกัดสารออกจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดได้ปริมาณมากที่สุดคือ 16.816 กรัม ในขณะที่ตัวทำละลายอื่นๆ ได้แก่ เอทิลอะซิเตต เอทานอล 95% และน้ำ สกัดได้ออกมาได้ปริมาณใกล้เคียงกันคือ 4.456 4.735 และ 4.253 กรัม ตามลำดับ ส่วนเฮกเซน สกัดสารออกมาได้ปริมาณน้อยที่สุดคือ 1.626 กรัม เช่นเดียวกับไมยราบแห้ง เอทานอล 30% สามารถสกัดสารได้มากที่สุดคือ 16.289 กรัม เอทิล

อะซิเตต เอทานอล 95% และน้ำ สกัดสารออกมาได้ปริมาณใกล้เคียงกันคือ 5.098 4.288 และ 5.718 กรัม ตามลำดับ และเฮกเซนสกัดสารออกมาได้น้อยที่สุดคือ 1.598 กรัม

จากภาพที่ 5.1 พบว่าเอทานอล 30% เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด เพราะสามารถสกัดสารออกจากส่วนเหนือดินของไมยราบได้ปริมาณมากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดหยาบระหว่างไมยราบสดและแห้งที่สกัดด้วยเอทานอล 30% พบว่าปริมาณสารสกัดหยาบใกล้เคียงกัน ดังนั้นการเตรียมไมยาบแบบสดหรือแห้งก่อนสกัด ไม่มีผลต่อปริมาณสารสกัดหยาบที่สกัดได้

5.2 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

จากการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบของไมยราบสดและแห้ง 7 กลุ่ม คือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แอนทราควิโนน-ไกลโคไซด์ แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ ในสารสกัดจากไมยราบสด พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตและเอทานอล 30% ประกอบด้วยกลุ่มสารพฤกษเคมีมากที่สุด 4 กลุ่ม โดยในสารสกัดเอทิล-อะซิเตตพบแอลคาลอยด์ ฟวาโวนอยด์ แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ ส่วนในสารสกัดเอทานอล 30% พบแอลคาลอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ ส่วนในสารสกัดเอทานอล 95% พบแอลคาลอยด์ แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ สารสกัดน้ำพบสารในกลุ่มแทนนิน และเทอร์พีนอยด์ และสารสกัดเฮกเซนพบสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์เท่านั้น ทั้งนี้ในสารสกัดจากไมยราบแห้งในแต่ละสารสกัดพบสารพฤกษเคมีกลุ่มเดียวกันกับสารสกัดจากไมยราบสด ดังแสดงในตารางที่ 5.1 และ 5.2

ตารางที่ 5.1 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดไมยราบสด

การทดสอบ	เฮกเซน	เอทิลอะซิเตต	เอทานอล 95%	เอทานอล 30%	น้ำ
แอลคาลอยด์	-	+	+	+	-
ฟลาโวนอยด์	-	+	-	-	-
ซาโปนิน	-	-	-	+	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-	-	-	-	-
แอนทราควิโนน ไกลโคไซด์	-	-	-	-	-
แทนนิน	-	+	+	+	+
เทอร์พีนอยด์	+	+	+	+	+

ตารางที่ 5.2 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดไมยราบแห้ง

การทดสอบ	เฮกเซน	เอทิลอะซิเตต	เอทานอล 95%	เอทานอล 30%	น้ำ
แอลคาลอยด์	-	+	+	+	-
ฟลาโวนอยด์	-	+	-	-	-
ซาโปนิน	-	-	-	+	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-	-	-	-	-
แอนทราควิโนน ไกลโคไซด์	-	-	-	-	-
แทนนิน	-	+	+	+	+
เทอร์พีนอยด์	+	+	+	+	+

หมายเหตุ – ผลทดสอบเป็นลบ + ผลทดสอบเป็นบวก

จากตารางที่ 5.1 และ 5.2 พบว่ากลุ่มสารพฤกษเคมีที่พบในส่วนเหนือดินของทั้งไมยราบสดและแห้งประกอบด้วยสารพฤกษเคมี 5 กลุ่มคือแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ ไม่พบสารในกลุ่มแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของนักวิจัยกลุ่มอื่นๆ (Racadio and Molina, 2008; Gandhiraja et al., 2009; Pande & Pathak, 2010)

5.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดยหยาบจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้ง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อรา มะเร็งในช่องปาก มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด ไวรัสเริมที่ปาก และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าทุกสารสกัดไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสเริมที่ปาก และฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมดังแสดงในตารางที่ 5.3 และ 5.4

ตารางที่ 5.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไมยราบสด

การทดสอบฤทธิ์	เฮกเซน	เอทิลอะซิเตต	เอทานอล 95%	เอทานอล 30%	น้ำ
ต้านเชื้อรา	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
ต้านมะเร็งในช่องปาก	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
ต้านมะเร็งเต้านม	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
ต้านมะเร็งปอด	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
ต้านไวรัสเริมที่ปอด	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
ความเป็นพิษต่อ Vero cells	Non-cytotoxic	Non-cytotoxic	Non-cytotoxic	Non-cytotoxic	Non-cytotoxic

ตารางที่ 5.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไมยราบแห้ง

การทดสอบฤทธิ์	เฮกเซน	เอทิลอะซิเตต	เอทานอล 95%	เอทานอล 30%	น้ำ
ต้านเชื้อรา	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
ต้านมะเร็งในช่องปาก	Inactive	Active	Inactive	Inactive	Inactive
ต้านมะเร็งเต้านม	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
ต้านมะเร็งปอด	Inactive	Active	Inactive	Inactive	Inactive
ต้านไวรัสเริมที่ปอด	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
ความเป็นพิษต่อ Vero cells	Non-cytotoxic	Non-cytotoxic	Non-cytotoxic	Non-cytotoxic	Non-cytotoxic

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *Candida albicans* ด้วยวิธี Resazurin Microplate Assay ที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุดคือ 50µg/mL พบว่าสารสกัดจากไมยราบไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบของ Racadio และ Molina (2008) ที่นำสารสกัดด้วยเอทานอลจากใบของไมยราบมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ พบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถต้านเชื้อ *Staphytlococcus aureus* และ *Bacillus sbutilis* แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Candida albicans*

การทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปาก(HSV-1) พบว่าสารสกัดจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งทุกสารสกัดไม่มีฤทธิ์ต้านไวรัสเริมที่ปากที่ความเข้มข้น 50 µg/mL เมื่อเทียบกับยา Acycolvir จากรายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดทั้งต้นของไมยราบด้วยเอทานอล 80% ทำการทดลองใน cell culture (ไม่บอกขนาดที่ใช้) พบว่าผลการทดลองได้ผลไม่แน่นอนต่อการต้านเชื้อไวรัสเริมที่ปาก (Van der Berghe et al., 1978)

การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง 3 ชนิดคือ มะเร็งในช่องปาก มะเร็งเต้านม และมะเร็งปอด ด้วยวิธี Resazurin Microplate Assay ที่ความเข้มข้น 50 µg/mL พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตของไมยราบแห้งมีฤทธิ์ต้านมะเร็งในช่องปากและมะเร็งปอดโดยมี % Inhibition ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 50µg/mL เท่ากับ 61.97 และ 63.34 ตามลำดับ จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไมยราบพบว่ายังไม่มีการศึกษาในเรื่องนี้มาก่อน

การทดสอบความเป็นพิษต่อ vero cell (African green monkey kidney) ด้วยวิธี Green Fluorescent Portein(GFP)-based assay ที่ความเข้มข้นของตัวอย่างเท่ากับ 50µg/ml พบว่าสารสกัดจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งทุกสารสกัดไม่มีความเป็นพิษต่อ vero cell แต่การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดทั้งต้นด้วยเอทานอล:น้ำ (1:1) เมื่อฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูถีบจักร พบว่าขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 1 ก./กก. (Bhakuni et al., 1969)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตจากส่วนเหนือดินของไมยราบแห้งมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปากและมะเร็งปอดซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาในเรื่องนี้มาก่อน ในขณะที่สารสกัดอื่นๆ ไม่แสดงฤทธิ์ดังกล่าว เมื่อเปรียบเทียบประเภทของสารพฤกษเคมีที่พบในสารสกัดเอทิลอะซิเตต กับสารสกัดอื่นๆ พบว่าในสารสกัดเอทิลอะซิเตตพบสารในกลุ่มฟวาโวนอยด์ซึ่งไม่พบในสารสกัดอื่นๆ จึงคาดว่าฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งน่าจะเป็นผลเนื่องมาจากสารฟลาโวนอยด์ ทั้งนี้มีรายงานการศึกษาค้นคว้าในหลอดทดลอง โดยนำสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

จำนวน 55 ชนิด มาทดสอบกับเซลล์มะเร็งจำนวน 5 ชนิดคือ A-549 lung carcinoma MCF-7 breast carcinoma HT-29 colon adenocarcinoma SKMEL-5 melanoma และ MLM melanoma พบว่าฟลาโวนอยด์จำนวน 15 ชนิดจากทั้งหมด 55 ชนิด แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งดังกล่าวอย่างน้อย 1 ชนิด (Cushman & Nagarathnam, 1991) แต่สารสกัดเอทิลอะซิเตตของไมยราบสดไม่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งดังกล่าว ทั้งที่พบสารฟวาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบ คาดว่าเนื่องจากในไมยราบสดจะมีน้ำปนอยู่จำนวนหนึ่ง ทำให้ความเข้มข้นของสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจากไมยราบสดน้อยกว่าสารสกัดหยาบจากไมยราบแห้ง สารสกัดเอทิลอะซิเตตจากไมยราบสดจึงไม่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งดังกล่าว

จากผลการทดลองที่กล่าวมาจะพบว่าตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณสารสกัดหยาบและกลุ่มของสารพฤกษเคมีที่สกัดได้ โดยที่การเตรียมตัวอย่างแบบสดและแห้งไม่มีผล แต่อาจมีผลต่อความเข้มข้นของสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบ ดังนั้นการสกัดส่วนเหนือดินของไมยราบควรใช้ตัวอย่างแห้ง สำหรับการเลือกชนิดของตัวทำละลายเมื่อพิจารณาจากปริมาณของสารสกัดหยาบที่ได้ พบว่าเอทานอล 30% เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด เพราะสามารถสกัดสารจากส่วนเหนือดินของไมยราบสดและแห้งได้ปริมาณมากที่สุด แต่ถ้าพิจารณาจากประเภทของสารพฤกษเคมีที่พบ พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมมี 2 ชนิดคือเอทิลอะซิเตต และเอทานอล 30% เพราะสามารถสกัดสารพฤกษเคมีออกมาได้มากกลุ่มที่สุด ในขณะที่ถ้าพิจารณาผลฤทธิ์ทางชีวภาพควรเลือกตัวทำละลายชนิดเอทิลอะซิเตต เพราะสารสกัดเอทิลอะซิเตตมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งในช่องปากและมะเร็งปอด ดังนั้นการจะเลือกใช้ตัวทำละลายชนิดใดในการสกัดควรคำนึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยเป็นหลัก และประกอบกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ราคา และความปลอดภัย

5.4 ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งในช่องปากและมะเร็งปอด โดยการแยกสารสกัดหยาบของไมยราบให้บริสุทธิ์และหาโครงสร้างทางเคมี และทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งดังกล่าวต่อไป

บรรณานุกรม

พงษ์ศักดิ์ พลเสนา. (2550). **พืชสมุนไพรในส่วนป่าสมุนไพรเขาหินซ้อนฉบับสมบูรณ์.** ปราจีนบุรี: เจตนารมณ์ภัณฑ์.

รัตนา อินทรานุปกรณ์.(2547). **การทดสอบและการสกัดแยกพฤกษเคมีจากสมุนไพร.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วันดี กฤษณพันธ์. (2541). **สมุนไพรน่ารู้.** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). **สารานุกรมสมุนไพร: รวมหลักเภสัชกรรมไทย.** กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

Amalraj, T., & Ignacimuthu, S.(2002). Hyperglycemic effect of leaves of *Mimosa pudica* Linn. **Fitoterapia. 73**, 351-352.

Balasumbramanian, G., Sarathi, M., Kumar, S.R., & Hameed, A.S.S. (2007). Screening the antiviral activity of Indian medicinal plants against white spot syndrome virus in shrimp. **Aquaculture. 263**, 15-19.

Bhakuni, O.S., Dhar M.I., Dhar M.M., Dhawan B.N., & Mehrotra B.N. (1969). Screening of Indian plants for biological activity Part II. **Indian J. Exp. Biol. 7,** 250-62.

Biswas, M., Biswas, K. Ghosh, A.K. & Haldar, P.K. (2009). A pentacyclic triterpenoid possessing analgesic activity from the fruit of *Dregea volubilis*. **Pharmacog. Mag. 5**, 90-92.

Brien, J.O., Wilson, I., Ortho, T., & Pognan, F. (1999). Investigation of the alamar blue (resazurin) fluorescent dye for the aassessment of mammalian cell cytotoxicity. ***Eur.J. Biochem*. 267**, 5421-5426.

Bum, E.N., Dawack, D.L., Schmutz, M., Rakotonirina, A., Rakotonirina, S.V., Portet, C., Jeker, A., Olpe, H.R., & Herling, P. (2004). Anticonvulsant activity of *Mimosa pudica* decoction. **Fitoterapia. 75**, 309-314.

Cushman, M., & Nagarathnam, D. (1991). Cytotoxicities of some flavonoid analogues. **J. Nat. Prod. 54**, 1656-1660.

Gandhiraja, N., Sriram, S., Meenaa, V., Sarilakshmi, J., Sasikumar, C., & Rajeswari, R. (2009). Phytochemical screening and antimicrobial activity of the plant extracts of *Mimosa pudica* L. **Ethnobotanical Leaflets. 13**, 618-624.

Ganguly, M., Devi, N., Mahanta, R., & Burtkur, M.K. (2007). Effect of *Mimosa pudica* root extract on vaginal estrous and serum hormones for screening of antifertility in albino mice. **Contraception, 76**, 482-485.

Hunt, L., Jorand, M., De Jesus, M., & Wurm, F.F. (2009). GFP-expressing mammalian cells for fast sensitive noninvasive cell growth assessment in a kinetic mode. ***Biotechnol and Bioeng*. 65,** 201-205.

Jiangsu New Medical College. (1986)**. A Dictionary of Traditional Chinese Medicines.** Shanghai: Shanghai Science and Technology Press.

Just, M.J., Reico, M.C., Giner, R.M., Cueller, M.J., Manez, S., Bilia, A. R., & Rios, J.L. (1998).Anti-imflammatory activity of usual lupine saponins from *Bupleurum fruticescens*. **Planta Medica. 64**, 404-407.

Kirk, L.F., Moller, M.V., Christensen J., Staerk D., Ekpee P., & Jaroszewski, J.W. (2003). A 5-deoxyflavonol derivative in *Mimosa pudica***. Biochem. Syst. Ecol. 31**, 103-105.

Lobstein, A., Weniger, B., Um ,B.H., Steinmetz, M., Declercq L., & Anton , R. (2002). 4" – Hydroxymaysin and cassiaoccidentalin B, two unusual C-glycosylflavones from *Mimosa pudica.* **Biochem. Syst. Ecol**. **30**, 375-377.

Muthumani, P., Meera, R., Devi, P., Koduri, L.V., Manavarthi, S., & Badmanaban, R. (2010). Phytochemical investigation and enzyme inhibitory activity of *Mimosa pudica* Linn. **J. Chem. Pharm. Res. 2**, 108-114.

Pande, M., & Pathak, A. (2010). Preliminary pharmacognostic evaluations and phytochemical studies on roots of *Mimosa pudica* (Lajvanti). **INT. J. Pharm. Sci. Rev. Res. 1**, 50-52.

Paul, J., Khan, S., & Basheeruddin , S.M. (2010). Wound healing evaluation of chloroform and methanolic extracts of *Mimosa pudica* roots in rats. **Int. J. Bio. Med. Res. 1**, 223-227.

Prasanna, K.B.R., Mohammed, K., & Shivalinge, G.K.P. (2009). Anti-inflammatory and analgesic ativity of aqueous extract of leaves of *Mimosa pudica* Linn. **Biomed. 4,** 141-146.

Racadio, S., & Molina, G.V. (2008). Phytochemical and microbiological testing of Makahiya (*Mimosa pudica* Linn) leaf extract. **UNP. Res. J. 17,** 11-18.

Rajendran, R., & Sundararajan, R. (2010). Preliminary phytochemical analysis & anti-bacterial activity of *Mimosa pudica* Linn leaves. **INT. J. Pharm. Bio. Sci. 1**, 1-8.

Sutar, N.G., Sutar, U.N., & Behera, B.C. (2009). Antidiabetic activity of the leaves of Mimosa pudica Linn in albino rats. **3**, 123-126.

Ueda, M., & Yamamura, S. (1999). The Chemistry of leaf-movement in *Mimosa pudica* L. **Tertrahedron. 55**, 10937-10948.

Van der Berghe, D.A., Ieven M., Mertens F., Vlietinck A.J., & Iammens, E. (1978). Screening of higher plants for biological activities II : Antiviral activity. **J. Nat. Prod. 41**, 463-467.

Vejayan, J., Ibrahim, H., & Othman, I. (2007). The Potential of *Mimosa pudica* (MIMOSACEAE) against snake envenomation. **J. Trop. For Sci. 19**, 189-197.

Waterhouse, D.F. (1994). **Biological Control of Weeds: Southeast Asian Prospects**. Canberra, Australia: Brown Prior Anderson Pty.

Yuau, K., Lu, J.L., Jia, A., & Zhu, J.X. (2007). Two new C-glycosylflavones from *Mimosa pudica.* **Chinese Chem. Lett. 20**, 1231-1234.