รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสกุล *Clausena* สำหรับการรักษาโรคเบาหวาน

Bioactive compounds from *Clausena* plants for diabetes treatment

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผศ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย

ผู้ร่วมวิจัย

อ.ดร.ภรณี ศรีปรีชาศักดิ์

ผศ.ดร.สุวรรณา เสมศรี

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

จากเงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 60272

สัญญาเลขที่ 46.4/2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสกุล Clausena สำหรับการรักษาโรคเบาหวาน

Bioactive compounds from Clausena plants for diabetes treatment

ผศ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

อ.ดร.ภรณี ศรีปรีชาศักดิ์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผศ.ดร.สุวรรณา เสมศรี

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

มีนาคม 2562

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

(Executive Summary)

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากมหาวิทยาลัยบูรพาประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 โครงการวิจัยเรื่อง สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสกุล *Clausena* สำหรับการรักษาโรคเบาหวาน (Bioactive compounds from *Clausena* plants for diabetes treatment) รหัสโครงการ 60272 สัญญาเลขที่ 46.4/2562 ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 1,145,000 บาท (หนึ่งล้านหนึ่งแสนสี่หมื่นห้าพันบาทถ้วน)

ระยะเวลาดำเนินงาน 1 ปี ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2561 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2562

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาและค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน พบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดหยาบของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดคือส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*) สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวานได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการลดระดับน้ำตาลในเลือด รวมทั้งส่วนสกัดหยาบทุกส่วนสกัดของพืชวงศ์ส้มดังกล่าวนั้น ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย ดังนั้นการบริโภคส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสกอาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคเบาหวานซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

Output / Outcome

1. ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ อยู่ระหว่างดำเนินการ จำนวน 2 เรื่อง
   1.1 Anan Athipornchai*, Rungnapha Kumpang and Suwanna Semsri. Potential biological activities of *Clausena* essential oils for the treatment of Diabetes. (Submitted in Journal of Oleo Science).
   1.2 Anan Athipornchai*, Pongsakorn Jaikwang and Suwanna Semsri. Bioactive coumarins from *Clausena harmandiana* leaves for diabetes treatment. (Manuscript in preparation).
2. ผลิตบัณฑิตนักวิจัยรุ่นใหม่ระดับปริญญาโท สาขาเคมีศึกษา จำนวน 1 คน คือนางสาวรุ้งนภา คำแพง
3. ผลิตบัณฑิตนักวิจัยรุ่นใหม่ระดับปริญญาตรี สาขาเคมี จำนวน 1 คน คือนายพงศธร ใจกว้าง
4. ได้กรรมวิธี และกระบวนการใหม่ ในการสกัดสารออกฤทธิ์ และแยกสาบริสุทธิ์จากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด คือส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*)
5. ได้เทคโนโลยีใหม่ในการสกัดสารออกฤทธิ์ และแยกสาบริสุทธิ์จากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด คือส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*)

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้พบว่า “พืชวงศ์ส้ม (Rutaceae)” คือ ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวานได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการลดระดับน้ำตาลในเลือด รวมทั้งส่วนสกัดหยาบทุกส่วนสกัดของพืชวงศ์ส้มดังกล่าวนั้น ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย แต่ข้อมูลดังกล่าวเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ถ้าจะนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของอาหารเสริมที่เป็นสารสกัดจากพืชวงศ์ส้ม ควรมีการทดสอบความปลอดภัยในสัตว์ทดลองต่อไป อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้พบว่าการบริโภค “ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก” ในส่วนการนำไปเป็นผักแกล้มกับอาหารก็มีโอกาสที่อาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคเบาหวานซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ รหัสโครงการ 60272 เลขที่สัญญา 46.4/2562

โครงการวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือด้านต่างๆ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับความอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับเงินทุนอุดหนุนการวิจัยในโครงการวิจัยนี้

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาและค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน พบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดหยาบของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดคือส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*) สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวานได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการลดระดับน้ำตาลในเลือด รวมทั้งส่วนสกัดหยาบทุกส่วนสกัดของพืชวงศ์ส้มดังกล่าวนั้น ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย ดังนั้นการบริโภคส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสกอาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคเบาหวานซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

Abstract

This research is to study and search for bioactive agents from *Clausena* plants, which is one of the medicinal plants of Rutaceae family that is used for medicinal and medicinal components for the treatment and prevention of various pharmacological conditions of diabetes. From the results, it was found that the essential oils and crude extracts of all three *Clausena* plants, *C. harmandiana*, *C. guillauminii* and *C. excavata*, can help to alleviate the pathology of diabetes disease which inhibited free radicals, suppressing inflammation and inhibited enzymes related to lowering blood sugar levels. Moreover, all extracts of these plants showed no cyctoxic activity. Therefore, the edible parts of *Clausena* plants (*C. harmandiana*, *C. guillauminii* and *C. excavata*) may have dietary and medicinal applications for the treatment of diabates.

สารบัญ

		หน้า
1. บทนำ (Introduction)		**1**
1.1	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2	วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3	ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4	วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี และแนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	2
1.5	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	10
1.6	แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	10
2. วิธีดำเนินการวิจัย (Material & Method)		**11**
2.1	อุปกรณ์และสารเคมี	11
2.2	พืชตัวอย่าง (Plant materials)	11
2.3	การเตรียมสารสกัดหยาบ (Preperation of plant extracts)	12
2.4	การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content : TPC)	13
2.5	การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content : TFC)	14
2.6	การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging	14
2.7	การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti-α-glucosidase activity)	14
2.8	การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammation activity)	15
2.9	การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity)	15
2.10	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Phytochemical analysis)	16
3. ผลการทดลองและอภิปรายผล (Results & Discussion)		**17**
3.1	การเตรียมสารสกัดหยาบ (Preperation of plant extracts)	17
3.2	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content : TPC)	26
3.3	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content : TFC)	29
3.4	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging	32
3.5	ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti-α-glucosidase activity)	43
3.6	ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และความเป็นพิษต่อเซลล์	47
3.7	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Phytochemical analysis)	48
4. สรุปผลการทดลอง (Conclusion)		**50**
	ข้อเสนอแนะ การทำวิจัยในขั้นตอนต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้	51
บรรณานุกรม		52
ผลผลิตของโครงการวิจัย (Output)		54
ภาคผนวก : ประวัติคณะผู้วิจัย		55

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3-1	น้ำหนักของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพ	17
3-2	ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง	18
3-3	ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า	20
3-4	ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก	23
3-5	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด	27
3-6	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง	27
3-7	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า	28
3-8	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก	28
3-9	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง	30
3-10	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า	31
3-11	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก	31
3-12	ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และความเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด	47
3-13	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด	49

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1-1	ลักษณะพฤกษศาสตร์ของส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*)	5
1-2	ลักษณะพฤกษศาสตร์ของส่องฟ้า (*Clausena guillauminii* Tanaka)	6
1-3	ลักษณะพฤกษศาสตร์ของสันโสก (*Clausena excavata* Burm. f.)	6
2-1	แผนการดำเนินการวิจัยการศึกษาตัวอย่างพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae)	12
3-1	ต่อมน้ำมันใบสดของพืชตัวอย่างและลักษณะทางกายภาพของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย	17
3-2	กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid)	26
3-3	กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์ซิติน (Quercetin)	29
3-4	ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (%DPPH radical inhibition) ของสารมาตรฐาน	32
3-5	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด	33
3-6	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของส่องฟ้าดง	34
3-7	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของส่องฟ้าดง	34
3-8	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้าดง	35
3-9	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของส่องฟ้าดง	35
3-10	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของส่องฟ้าดง	36
3-11	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของส่องฟ้า	37
3-12	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของส่องฟ้า	37
3-13	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้า	38
3-14	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของส่องฟ้า	38
3-15	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของส่องฟ้า	39
3-16	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของสันโสก	40
3-17	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของสันโสก	40
3-18	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของสันโสก	41
3-19	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของสันโสก	41
3-20	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของสันโสก	42
3-21	ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอคาร์โบส	43
3-22	ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย	44
3-23	ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบของส่องฟ้าดง	44
3-24	ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบของส่องฟ้า	45
3-25	ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบของสันโสก	46

1. บทนำ (Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

จากข้อมูลของสำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ประเทศไทยกำลังจะก้าวเข้าสู่การเป็น "สังคมผู้สูงอายุ (Aged Society)" โดยพบว่าอีก 6 ปีข้างหน้า (พ.ศ. 2566) ประชากรอายุ 60 ปีขึ้นไปในประเทศไทยจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 14.1 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 21 ของประชากรทั้งหมดเท่ากับว่าประเทศไทยจะกลายเป็น "สังคมสูงวัยอย่างสมบูรณ์" และนับจากวันนี้ไปอีกเพียง 15 ปี ในปี พ.ศ.2576 ประเทศไทยจะมีประชากรอายุ 60 ปีขึ้นไปมากถึง 18.7 ล้านคนหรือคิดเป็นร้อยละ 29 ของประชากรทั้งหมด โดยจะมีผู้สูงอายุ 1 คนในประชากรทุกๆ 5 คน[1] จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะส่งผลถึงการที่ประชากรทุกคนต้องเตรียมพร้อมกับภาวะต่างๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาวะทุพโภชนาการและโรคต่างๆ ที่จะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ โดยโรคที่พบมากในผู้สูงอายุได้แก่ โรคสมองและระบบประสาท โรคอัลไซเมอร์ โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคข้อเข่าเสื่อม โรคกระดูกพรุน และโรคเบาหวาน เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคเบาหวาน เป็นโรคอันดับต้นๆ ที่พบในผู้สูงอายุ[2] จากการรายงานการระบาดของโรคเบาหวาน และผลกระทบที่มีต่อประเทศไทยพบว่าจำนวนประชากรสูงอายุจะมีอัตราการเกิดโรคเบาหวานเพิ่มขึ้น และมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน 2 เท่าในขณะที่โรคอ้วนเพิ่มความเสี่ยงถึง 3 เท่า การเกิดภาวะโรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวานเช่น โรคแทรกซ้อนทางไต โรคแทรกซ้อนทางตาในการสูญเสียการมองเห็นหรือตาบอด โรคหัวใจขาดเลือด โรคความดันโลหิตสูง การเกิดแผลติดเชื้อสูญเสียอวัยวะหรือโรคซึมเศร้า เป็นต้น ส่งผลกระทบทั้งทางด้านร่างกายและจิตใจของผู้ป่วย ผลกระทบด้านสังคมและอารมณ์ต่อครอบครัว และเศรษฐกิจของประเทศโดยรวม เนื่องจากเป็นโรคที่มีค่าใช้จ่ายสูง โรคเบาหวานสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ คือเบาหวานประเภทที่ 1 (type 1 diabetes) ชนิดพึ่งอินซูลิน เบาหวานประเภทที่ 2 (type 2 diabetes) ชนิดไม่พึ่งอินซูลิน เบาหวานชนิดอื่นๆ (other specific types) และเบาหวานในระยะตั้งครรภ์ โดยเบาหวานที่มีความสำคัญจะเป็นเบาหวานประเภทที่ 2 เนื่องจากมีจำนวนผู้ป่วยมากกว่าประเภทอื่นๆ[3] ประเทศไทยและประเทศในภูมิภาคอาเซียนนั้นมีผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานประเภทที่ 2 หรือเบาหวานที่พบในผู้ใหญ่มากถึงร้อยละ 99 การรักษาเบาหวานประเภทที่ 2 นี้สามารถทำได้โดย การควบคุมอาหาร การออกกาลังกาย และการรักษาแบบแพทย์แผนปัจจุบันคือการรับประทานยาลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้การใช้สมุนไพร (medicinal plants) ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความนิยมในการรักษาเบาหวาน ซึ่งสามารถช่วยในการรักษา ป้องกัน ควบคุม และการบรรเทาอาการต่างๆ ของโรคได้เป็นอย่างดี ตลอดจนการใช้สมุนไพรยังสามารถลดอาการข้างเคียงต่างๆ และลดอาการแพ้ของผู้ป่วยที่เกิดจากการใช้ยารักษาโรคเบาหวานอีกด้วย ด้วยเหตุผลดังกล่าวประกอบกับประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ มีแหล่งผลิตภัณฑ์ธรรมชาติรวมถึงพืชสมุนไพรจำนวนมาก และพืชสมุนไพรกลุ่มหนึ่งที่พบมากในประเทศไทยและประเทศต่างๆ ในภูมิภาคอาเซียน ได้แก่พืชสมุนไพรในวงศ์ส้ม (Rutaceae) พืชวงศ์นี้มีความสำคัญอย่างมากในทางเศรษฐกิจของประเทศและภูมิภาคซึ่งเป็นแหล่งของพืชผลในสกุล *Citrus* เช่น ส้ม และมะนาว รวมถึงพืชวงศ์นี้เป็นแหล่งของพืชในอุตสาหกรรมน้ำหอมอีกด้วย ยิ่งไปกว่านั้นพืชวงศ์ส้มยังถูกใช้เป็นยาและส่วนประกอบของยาแผนโบราณขนานต่างๆ จำนวนมาก[4] จากภาวะปัจจัยที่ต้องเตรียมการกับสถานการณ์สังคมผู้สูงอายุและคุณสมบัติเด่นและหาง่ายของพืชวงศ์ส้ม ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาจำนวนมาก ต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน ซึ่งเป็นโรคที่พบมากในผู้สูงอายุและพบมากในภูมิภาคอาเซียนอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาและค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาจำนวนมาก ต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน ซึ่งเป็นโรคที่พบมากในผู้สูงอายุและพบมากในภูมิภาคอาเซียนอีกด้วย เพื่อเป็นการพัฒนาสารออกฤทธิ์ที่ค้นพบดังกล่าวไปเป็นยาหรือส่วนประกอบของยาในการรักษาโรคเบาหวานต่อไป อีกทั้งเพื่อนำความรู้ที่ได้ไปแลกเปลี่ยนความรู้และประสบการณ์กับผู้สนใจทั่วไปทั้งภาครัฐและเอกชนหรืออุตสาหกรรม เพื่อนำไปประยุกต์และปรับใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และสร้างองค์ความรู้ด้านการทางานวิจัยให้แก่นิสิต รวมทั้งผลิตและตีพิมพ์ผลงานวิจัยร่วมกับนิสิตคณาจารย์ในวารสารระดับนานาชาติที่เป็นที่ยอมรับ

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษา ค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน โดยขั้นแรกจะทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในสกุล *Clausena* สายพันธุ์ต่างๆ อาทิ ส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*) เป็นต้น และนำมาทำการศึกษาการสกัดด้วยกระบวนการทางเคมี โดยทำการสกัด (extraction) ส่วนต่างๆ จากพืชในสกุล *Clausena* สายพันธุ์ต่างๆ ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความมีขั้วแตกต่างกันตั้งแต่ขั้วน้อยจนถึงขั้วมาก หลังจากนั้นจะทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชในสกุล *Clausena* สายพันธุ์ต่างๆ เพื่อค้นพบสารออกฤทธิ์สำหรับการรักษาโรคเบาหวาน โดยการแยก (separation) การทำให้บริสุทธิ์ (purification) และการพิสูจน์ยืนยันโครงสร้าง (identification) ด้วยเทคนิคทางสเปกโทสโกปี สุดท้ายจะทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของการเกิดโรคเบาหวาน เช่น ฤทธิ์ยับยั้งการลดระดับน้ำตาลในเลือก โดยทำการทดสอบผ่านการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (anti-α-glucosidase activity) และเอนไซม์อะไมเลส (anti-amylase activity)ซึ่ งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเบาหวาน การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ของสารสกัดหยาบจากพืชในสกุล *Clausena* สายพันธุ์ต่างๆ และสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากพืชในสกุล *Clausena* รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างของสารอนุพันธ์ต่อการแสดงฤทธิ์ (structure-activity relationship) อีกด้วย เพื่อนำข้อมูลนี้ไปประยุกต์และปรับใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และสร้างองค์ความรู้ด้านการทางานวิจัยให้แก่นิสิต รวมทั้งผลิตและตีพิมพ์ผลงานวิจัยร่วมกับนิสิตคณาจารย์ในวารสารระดับนานาชาติที่เป็นที่ยอมรับ

1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี และแนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

จากข้อมูลของสำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ประเทศไทยกำลังจะก้าวเข้าสู่การเป็น "สังคมผู้สูงอายุ (Aged Society)" โดยพบว่าอีก 6 ปีข้างหน้า (พ.ศ. 2566) ประชากรอายุ 60 ปีขึ้นไปในประเทศไทยจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 14.1 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 21 ของประชากรทั้งหมดเท่ากับว่าประเทศไทยจะกลายเป็น "สังคมสูงวัยอย่างสมบูรณ์" และนับจากวันนี้ไปอีกเพียง 15 ปี ในปี พ.ศ.2576 ประเทศไทยจะมีประชากรอายุ 60 ปีขึ้นไปมากถึง 18.7 ล้านคนหรือคิดเป็นร้อยละ 29 ของประชากรทั้งหมด จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะส่งผลถึงการที่ประชากรทุกคนต้องเตรียมพร้อมกับภาวะต่างๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาวะทุพโภชนาการและโรคต่างๆ ที่จะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ โดยโรคที่พบมากใน

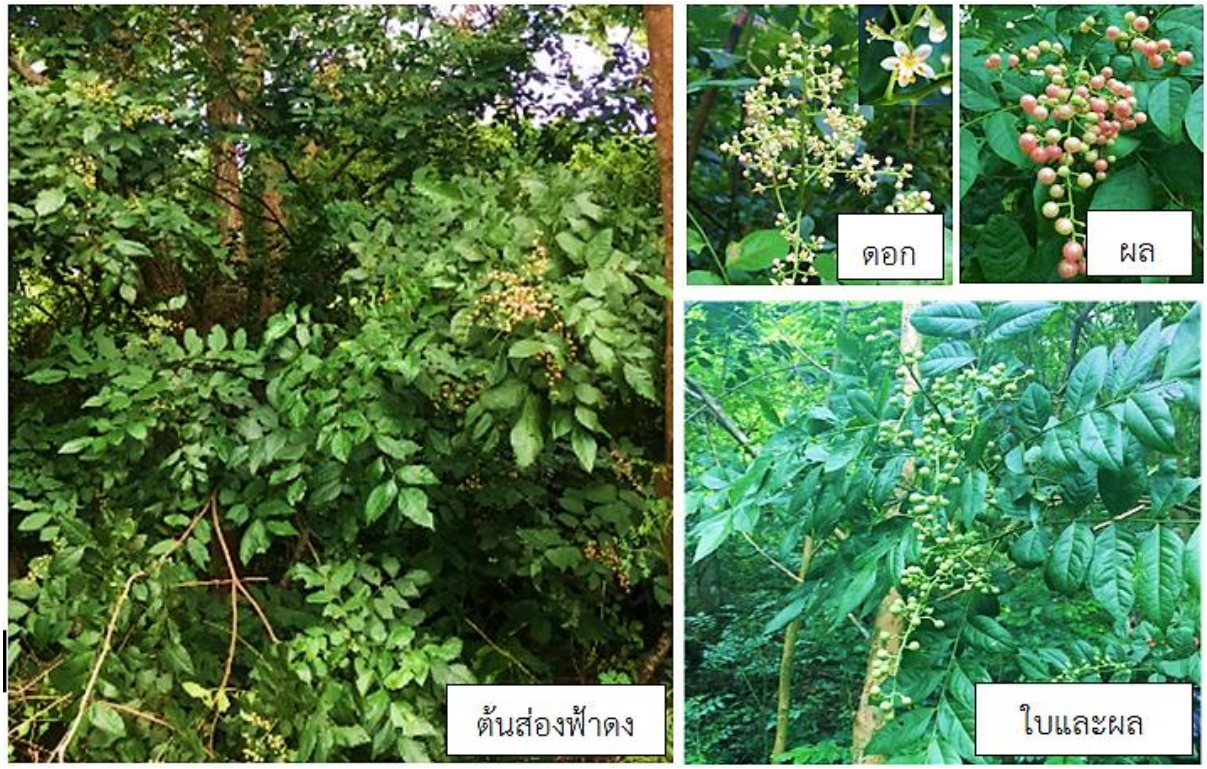
ผู้สูงอายุได้แก่ โรคสมองและระบบประสาท โรคอัลไซเมอร์ โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคข้อเข่าเสื่อม โรคกระดูกพรุน และโรคเบาหวาน เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคเบาหวาน (Diabetes disease) เป็นโรคอันดับต้นๆ ที่พบในผู้สูงอายุ โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังต้องการการดูแลรักษาตลอดชีวิต ทั้งยังมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนที่รุนแรงและมีค่าใช้จ่ายสูง เช่น โรคหัวใจขาดเลือด โรคหลอดเลือดสมอง ไตวาย ตาบอด หรือการต้องสูญเสียอวัยวะจากการติดเชื้อง่าย ข้อมูลจากรายงานการระบาดของเบาหวานและผลกระทบต่อไทยรายงานว่า ร้อยละ 64 ของประชากรไทยวันผู้ใหญ่เป็นโรคเบาหวาน ซึ่งเท่ากับประมาณ 3.2 ล้านคนและจำนวนจะเพิ่มขึ้นอีก 1.1 ล้านคนหรือมากกว่าในปี พ.ศ. 2578 ประกอบกับสังคมไทยกำลังเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุในไม่ช้า ซึ่งจะทำให้มีผู้สูงอายุที่เป็นโรคเบาหวานเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย โรคเบาหวานยังเป็นสาเหตุเสียชีวิตอันดับ 1 ของการเสียชีวิตในผู้หญิงที่มีอายุมากกว่า 50 ปี และการเสียชีวิตจากเบาหวานในผู้ชายมีความสำคัญรองจากการเกิดอุบัติเหตุการจราจรและโรคเอดส์ จากข้อมูลของสมาพันธ์เบาหวานโลก ในแต่วันจะมีประชากรไทยจำนวน 180 รายเสียชีวิตจากโรคเบาหวาน หรือเสียชีวิตประมาณ 8 รายต่อชั่วโมง การรักษาโรคเบาหวานมีการใช้กลุ่มยาหลายชนิดขึ้นกับชนิดของโรคเบาหวาน ภาวะแทรกซ้อนที่เกิดกับคนไข้ ซึ่งยารักษาหรือบรรเทาอาการนั้นเป็นยาที่ได้จากการสังเคราะห์และมักเกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ เช่น มีผลต่อการทำงานตับ ไตที่ลดลง มีผลต่อระบบทางเดินอาหารเช่น ท้องอืด ท้องเฟ้อ คลื่นไส้อาเจียน เช่น metformin มีความเสี่ยงต่อ lactic acidosis ได้แก่ โรคไต หัวใจวาย ระบบหายใจล้มเหลว ภาวะที่มีการติดเชื้อ มีผลข้างเคียงต่อทางเดินอาหาร เช่น ท้องเสีย คลื่นไส้อาเจียน อาจทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถทนยาได้ และผู้ป่วยบางรายอาจจะมีการขาด vitamin B12 และ folate ในร่างกายได้ ยาในกลุ่ม meglitinides ในผู้ป่วยสูงอายุบางรายมีปัญหาทำให้ย่อยอาหารช้าซึ่งจะเป็นสาเหตุที่ทำให้มีภาวะน้ำตาลต่ำมากกว่าผู้ที่มีอายุน้อย ยาในกลุ่ม α-glucosidase inhibitors ผู้ป่วยอาจมีปัญหาในระบบทางเดินอาหาร เช่น ท้องอืด เฟ้อ และยาในกลุ่ม thiazolidinediones ต้องระวังในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหัวใจวาย เป็นต้น[5]

ร่างกายของคนเราจำเป็นต้องใช้พลังงานในการดำรงชีวิตพลังงานเหล่านี้ได้มาจากอาหารต่างๆ ที่รับประทานเข้าไป โดยเฉพาะอาหารประเภทแป้งซึ่งจะถูกย่อยสลายกลายเป็นน้ำตาลกลูโคสในกระเพาะอาหารและถูกดูดซึมเข้าไปในกระแสเลือดเพื่อส่งผ่านไปเลี้ยงเยื่อส่วนต่างๆ ของร่างกาย แต่การที่ร่างกายจะนำกลูโคสไปใช้เป็นพลังงานได้นั้นมีความจำเป็นต้องอาศัยฮอร์โมนจากตับอ่อนชื่อ อินซูลิน (Insulin) เป็นตัวพาน้ำตาลกลูโคสในเลือดเข้าไปในเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ หากขาดฮอร์โมนอินซูลินแล้วก็จะทำให้น้ำตาลไม่สามารถเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ และจะมีน้ำตาลในเลือดเหลือค้างอยู่มากกว่าปกติซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อนที่ไม่สามารถสร้างฮอร์โมนอินซูลินออกมาได้เพียงพอหรือสร้างไม่ได้เลย หรือสร้างได้แต่อินซูลินนั้นออกฤทธิ์ได้ไม่ดี ความผิดปกติเหล่านี้ล้วนจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ร่างกายนำน้ำตาลไปใช้ได้ไม่ดี ส่งผลให้น้ำตาลในเลือดเหลือค้างอยู่มากและมีระดับสูงกว่าคนปกติ โดยในคนปกติก่อนรับประทานอาหารเช้าจะมีระดับน้ำตาลในเลือดประมาณ 70-115 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และหลังรับประทานอาหารแล้ว 2 ชั่วโมง ระดับน้ำตาลในเลือดไม่เกิน 140 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) เมื่อในเลือดมีระดับน้ำตาลสูงมาก ไตจะกรองน้ำตาลออกมากับปัสสาวะทำให้ปัสสาวะมีรสหวานจึงเรียกภาวะนี้ว่าเบาหวาน (Diabetes mellitus) ดังนั้นโรคเบาหวานจะเกิดจากสภาวะที่ร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติและเกิดขึ้นเนื่องมาจากร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลในเลือดไปใช้ได้ตามปกตินั่นเอง ผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดี หรือผู้ป่วยเบาหวานที่มีระดับน้ำตาลในเลือดไม่สูงมากนัก มีค่าอยู่ระหว่าง 140-180 มิลลิกรัม/เดซิลิตร อาจตรวจไม่พบน้ำตาลในปัสสาวะก็ได้ ทั้งนี้เพราะไตของคนเรามีความสามารถในการกั้นน้ำตาลได้ระดับหนึ่งคือประมาณ 180-200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หากระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่านี้ ไตจะไม่สามารถกรองน้ำตาลได้ น้ำตาลจึงออกมากับปัสสาวะ ดังนั้นในการวินิจฉัยโรคหากใช้วิธีตรวจระดับน้ำตาลในเลือดจะได้ผลแน่นอนกว่าและสามารถตรวจพบได้แต่เนิ่นๆ เพราะ

การตรวจพบว่ามีน้ำตาลออกมาในปัสสาวะย่อมแสดงว่าระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่า 180-200 มิลลิกรัม/เดซิลิตรแล้ว โรคเบาหวานเป็นโรคที่เรื้อรังสามารถรักษาได้แต่ไม่หายขาดทั้งนี้เกิดจากสาเหตุของโรค คือการสืบทอดทางกรรมพันธุ์ และปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวานได้อีกหลายประการ เช่น ความอ้วน ร่างกายเสื่อมสภาพในผู้สูงอายุ ตับอ่อนได้รับความกระทบกระเทือน การติดเชื้อไวรัสบางชนิด เช่น คางทูม หัดเยอรมัน เกิดจากการใช้ยาบางชนิด เช่น ยาขับปัสสาวะ ยาคุมกำเนิด ก็จะส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นได้ หรือเกิดจากการตั้งครรภ์อันเนื่องจากฮอร์โมนหลายชนิดที่สังเคราะห์ขึ้นมีผลยับยั้งการทางานของอินซูลิน ดังนั้นโรคเบาหวานสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ คือ เบาหวานประเภทที่ 1 (type 1 diabetes) ชนิดพึ่งอินซูลิน เบาหวานประเภทที่ 2 (type 2 diabetes) ชนิดไม่พึ่งอินซูลิน เบาหวานชนิดอื่นๆ (other specific types) และเบาหวานในระยะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus) การเป็นโรคเบาหวานหากไม่ดูแลรักษาตัวเองให้ดีแล้วจะนำมาซึ่งโรคแทรกซ้อนกับระบบต่างๆ ของร่างกายได้มาก เช่น โรคแทรกซ้อนเฉียบพลัน คือฝีฝักบัว แผลที่เท้า วัณโรคปอด ไตอักเสบ เป็นต้น และโรคแทรกซ้อนเรื้อรัง คือ โรคหัวใจ และหลอดเลือดหัวใจตีบแข็ง เป็นต้น[6]

องค์การอนามัยโลกได้ให้ความสำคัญกับโรคเบาหวานซึ่งเป็นหนึ่งในโรคไม่ติดต่อที่มีอัตราทางระบาดวิทยาสูงมาก ซึ่งเป็นโรคที่พบมากในผู้สูงอายุอีกด้วย ทั้งนี้พบว่าประชากรไทยทุกๆ 100 คน จะมีผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานถึง 6 คน และสำหรับประเทศไทยและประเทศในภูมิภาคอาเซียนนั้นมีผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานประเภทที่ 2 หรือเบาหวานที่พบในผู้ใหญ่ร้อยละ 99 การรักษาเบาหวานประเภทที่ 2 นี้สามารถทำได้โดย การควบคุมอาหาร การออกกาลังกาย และการรักษาแบบแพทย์แผนปัจจุบันคือการรับประทานยาลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้การใช้สมุนไพร (medicinal plants) ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความนิยมในการรักษาเบาหวาน ซึ่งสามารถช่วยในการรักษา ป้องกัน ควบคุม และการบรรเทาอาการต่างๆ ของโรคได้เป็นอย่างดี ตลอดจนการใช้สมุนไพรยังสามารถลดอาการข้างเคียงต่างๆ และลดอาการแพ้ของผู้ป่วยที่เกิดจากการใช้ยารักษาโรคเบาหวานอีกด้วย ด้วยเหตุผลดังกล่าวประกอบกับประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ มีแหล่งผลิตภัณฑ์ธรรมชาติรวมถึงพืชสมุนไพรจำนวนมาก และพืชสมุนไพรกลุ่มหนึ่งที่พบมากในประเทศไทยและประเทศต่างๆ ในภูมิภาคอาเซียน ได้แก่พืชสมุนไพรในวงศ์ส้ม (Rutaceae) พืชวงศ์นี้มีความสำคัญอย่างมากในทางเศรษฐกิจของประเทศและภูมิภาคซึ่งเป็นแหล่งของพืชผลในสกุล *Citrus* เช่น ส้ม และมะนาว รวมถึงพืชวงศ์นี้เป็นแหล่งของพืชในอุตสาหกรรมน้ำหอมอีกด้วย ยิ่งไปกว่านั้นพืชวงศ์ส้มยังถูกใช้เป็นยาและส่วนประกอบของยาแผนโบราณขนานต่างๆ จำนวนมาก จากภาวะปัจจัยที่ต้องเตรียมการกับสถานการณ์สังคมผู้สูงอายุและคุณสมบัติเด่นและหาง่ายของพืชวงศ์ส้ม[4] ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาจำนวนมาก ต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวานซึ่งเป็นโรคที่พบมากในผู้สูงอายุและพบมากในภูมิภาคอาเซียนอีกด้วย ตัวอย่างพืชวงศ์ส้มในสกุล *Clausena* ที่นิยมนำมาบริโภคเป็นอาหาร ใช้เป็นยาหรือส่วนประกอบของยาและแหล่งของน้ำมันหอมระเหย ได้แก่

1. ส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana* (Pierre) Pierr ex Guillaumin)[7,8] มีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น สมุยหอม (นครศรีธรรมราช) เหม็น (จันทบุรี) โปร่งฟ้า (ภาคกลาง) ส่องฟ้า (อุดรธานี) ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของส่องฟ้าดง (ดังรูปที่ 1-1) เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นสีเขียวอมน้ำตาลเข้ม ไม่มีขน ใบมีลักษณะเป็นรูปแกมไข่ ปลายใบแหลม ผิวใบมันและมีจุดน้ำมันกระจายทั่วทั้งใบ ออกดอกช่วงเดือนมีนาคมถึงพฤศจิกายน ดอกเป็นช่อตั้งที่ปลายกิ่ง ผลเป็นรูปกลมรี ผลสุกสีชมพูอมขาว ลักษณะผลแก่ค่อนข้างฉ่ำน้ำและมีเมล็ดเดียว เกิดตามป่าดงดิบแล้ง ป่าละเมาะทั่วประเทศ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

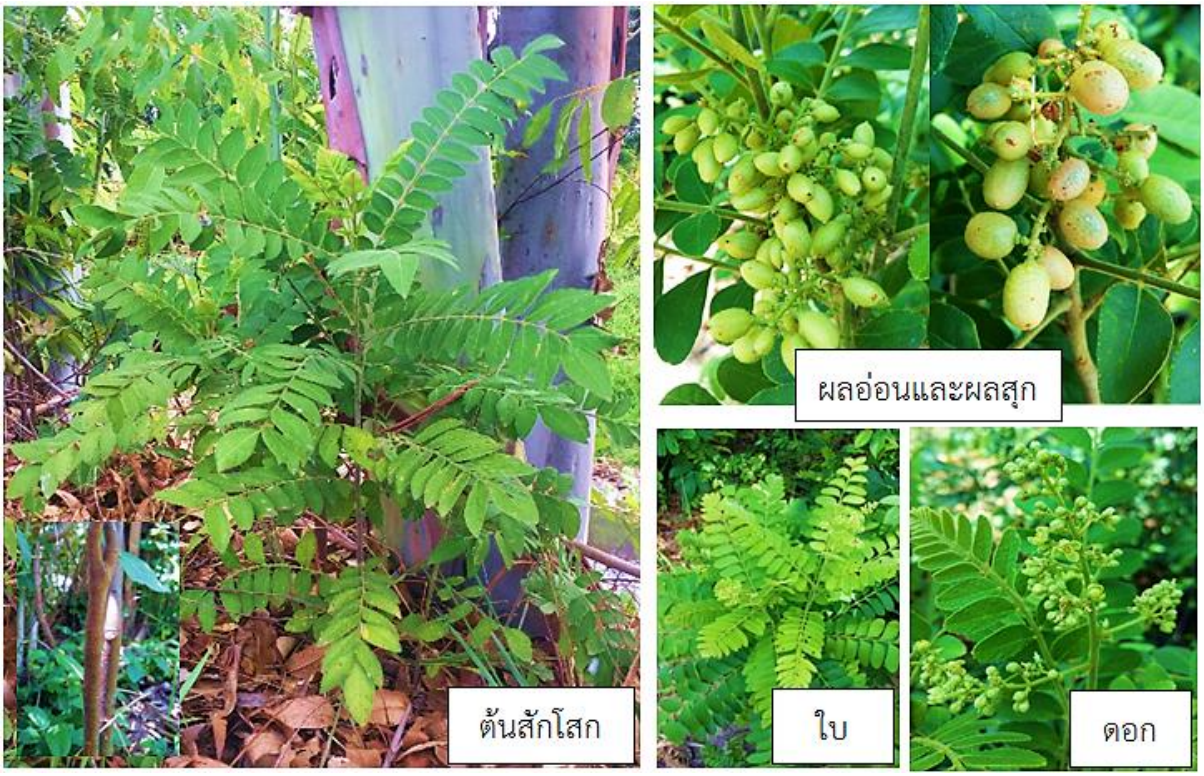


รูปที่ 1-1 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*)

2. ส่องฟ้า (*Clausena guillauminii* Tanaka)[7,9] ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของส่องฟ้า (ดังรูปที่ 1-2) มีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูง 20-25 เซนติเมตร ใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับ ใบย่อย มี 3-7 ใบเป็นรูปไข่แกมวงรีขอบขนาน มีกลิ่นหอมเหมือนการบูร เนื่องจากมีจุดน้ำมันกระจายอยู่ทั่วทั้งใบ สังเกตโดยนำใบมาส่องดูกับแสงจะมองเห็นจุดโปร่งแสงเล็กๆ กระจายทั่วทั้งใบ ดอกออกเป็นช่อ ที่ปลายกิ่ง กลีบดอกสีขาวแกมเหลือง ผลเป็นรูปกลมรี ผลสุกมีสีชมพูอ่อน ยอดอ่อนรับประทานเป็นผัก ในจังหวัดอุบลราชธานี ส่องฟ้าเป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน โดยนำรากมาต้มน้ำดื่มใช้เป็นยาแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ในตำรายาไทย ใช้ส่วนราก รักษาอาการเจ็บตา ใช้รักษาฝี โดยผสมรากส่องฟ้ากับรากเจตพังคี ต้มรากส่องฟ้าน้ำดื่มแก้จุกเสียด หรือผสมรากส่องฟ้ากับน้ำนมราชสีห์และรากทับทิมรวมทั้งเดือยไก่ป่านำมาฝนกับน้ำกินและทาตัวแก้ไข้ทำมาลาเรียได้อีกด้วย

3. สันโสก (*Clausena excavata* Burm. f.)[7,10] ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของสันโสก (ดังรูปที่ 1-3) มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สูง 2-4 เมตร ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขาและมีขนละเอียดคลุมแทบทุกส่วนของพืช ใบเป็นรูปไข่ปลายแหลม ส่วนดอกจะออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง มีสีเขียวอ่อนถึงขาวอมเหลือง ผลมีเนื้อนอก รูปไข่ เมื่อสุกมีสีชมพูอมแดง พบได้ในป่าทั่วไปในพื้นที่ต่ำ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ยอดอ่อนรับประทานเป็นผัก สันโสกเป็นสมุนไพรพื้นบ้านของชาวเขา โดยนำใบมาตำและพอกแผลแก้อาการอักเสบ ที่เกิดจากไฟ น้ำร้อนลวก ในพม่านำมาใช้แก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ ในจีนน้ำต้มจากใบถือเป็นยาบำรุง ยาสมาน และยาขับระดู ส่วนชาวไทยใหญ่ใช้รากมาต้มกินเป็นยาบำรุงกำลัง นอกจากนี้เปลือกลำต้นชาวบ้านได้นำมาใช้เป็นยาแก้ไข้ หืด ไอ ส่วนผลนำมาใช้เป็นยาถ่าย ขับเสมหะ ขับลม และฟอกโลหิตอีกด้วย

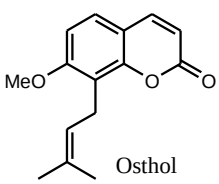
รูปที่ 1-2 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของส่องฟ้า (*Clausena guillauminii* Tanaka)



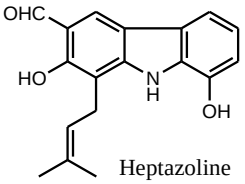
รูปที่ 1-3 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของสันโสก (*Clausena excavata* Burm. f.)

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชวงศ์ส้มในสกุล *Clausena* นั้นมีการวิจัยอยู่จำนวนมากเพราะเป็นพืชสมุนไพรที่ได้รับความสนใจอย่างมาก ดังตัวอย่างเช่น

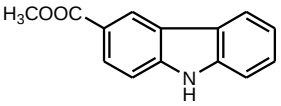
1. Thongthoom et al. (2010)[11] รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) พบสารที่รายงานแล้ว 10 สาร คือ osthol, methyl carbazole-3-carboxylate, mukonal, heptazoline, 7-methoxymukonol, glycosinine, clausine-C, clauszoline-K, clausine-V และ docosyl ferulate และนำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) มะเร็งในช่องปาก (KB) และมะเร็งเต้านม (MCF-7) พบว่า heptazoline แสดงฤทธิ์ความมีพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดที่ดีด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.63 µg/mL นอกจากนี้ยังพบว่าสาร 7-methoxymukonal มีความเป็นพิษที่สูงต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งช่องปากด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 2.21 และ 1.74 µg/mL ตามลำดับ และยังพบว่าสาร mukonal และ heptazoline มีฤทธิ์ปานกลางในความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม รวมถึงสาร clauszoline-K แสดงความเป็นพิษที่ปานกลางต่อเซลล์มะเร็งปอดและมะเร็งช่องปาก และนอกจากนี้ยังพบว่าสาร 7-methoxymukonal และ mukonal มีฤทธิ์ในกายับยั้งเชื้อมาลาเรีย โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.94 และ 3.27 µg/mL ตามลำดับอีกด้วย



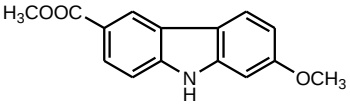
Osthol



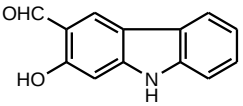
Heptazoline



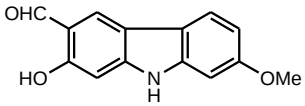
Methyl carbazole-3-carboxylate



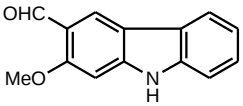
Clausine-C



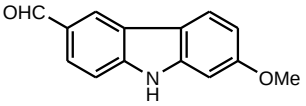
Mukonol



7-Methoxymukonol

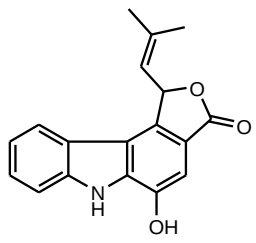


Glycosinine

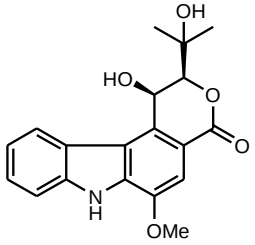


Clauszoline-K

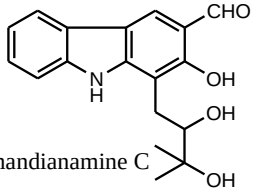
2. Maneerat et al. (2012)[12] รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งของส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) พบสารใหม่ในกลุ่มคาบาร์โซลแอลคาลอยด์ 3 สารคือ harmandianamines A–C และสารที่มีรายงานมาแล้วอีก 15 สาร นอกจากนี้ยังนำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *E. coli* TISIR 780, *S. typhimurium* TISTR 292, *S. aureua* TISTR 1466 และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) SK1 พบว่าสาร clausamine B แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) SK1 มีค่า MIC เท่ากับ 0.25 µg/mL เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน vancomycin (มีค่า MIC เท่ากับ 1 µg/mL)



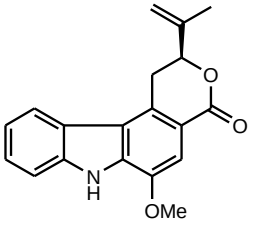
Harmandianamine A



Harmandianamine B

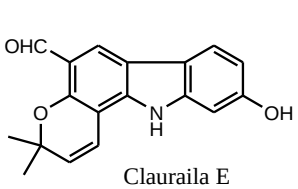


Harmandianamine C

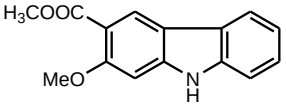


Clausamine B

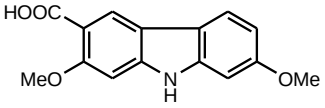
3. Sriphana et al. (2013)[13] รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) พบสารใหม่ในกลุ่มคาร์บาโซลแอลคาลอยด์ คือ clauraila E และสารที่มีรายงานมาแล้วอีก 8 สาร คือ mukonine, clausine L, clausine H, mukonidine, clausine K, *N*-methylswietenidine B, dictamnine และ zapoterin สารที่แยกได้ทั้งหมดนำไปศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Pythium insidiosum* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ พบว่าสาร clausine L, clausine K, และ *N*-methylswietenidine B สามารถยับยั้งการเจริญเติมโตของเชื้อ *P. insidiosum* ได้เป็นอย่างดีจากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าสารที่แยกได้สามารถนำไปพัฒนาในการผลิตยาต้านจุลินทรีย์และเชื้อราได้



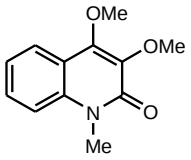
Clauraila E



Clausine L

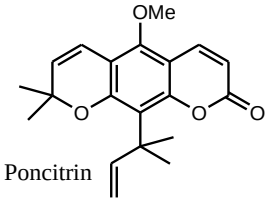


Clausine K

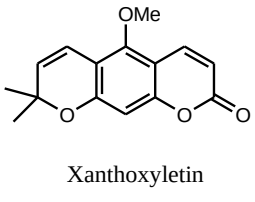


N-Methylswitenidine B

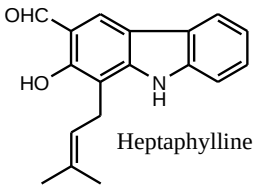
4. Nakamura el at. (2009)[14] รายงานองค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกรากของส่องฟ้า (*C. guillauminii*) พบสารใหม่ 2 สาร คือ osthol และ xanthoxyletin และสารที่มีรายงานมาแล้วอีก 3 สาร คือ poncitrin, heptaphylline และ 7-methoxyheptaphylline สารที่แยกได้นำไปศึกษาฤทธิ์ต้านการอับเสบต่อการแสดงออกในเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) โดยการติดตาม lipopolysaccharide (LPS) และ ไนตริกออกไซด์ (NO) ในเซลล์แมคโครฟาจ ของหนูสายพันธ์ RAW264.7 พบว่า poncitrin มีฤทธิ์ยับยั้งการแสดงออกในเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase ที่ความเข้มข้น 10 μM และพบว่า xanthoxyletin ก่อให้เกิดการแสดงออกของ iNOS ส่งผลให้มีการผลิตไนตริกออกไซด์และการแสดงออกของโปรตีน TNF-α และ cyclooxygenase-2 (COX-2) ที่คาดว่าน่าจะแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบได้



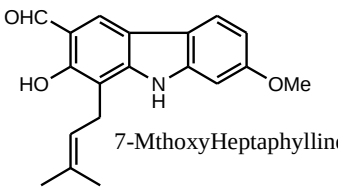
Poncitrin



Xanthoxyletin

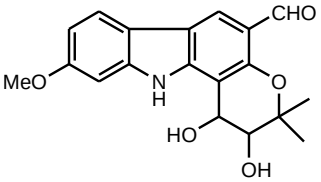


Heptaphylline

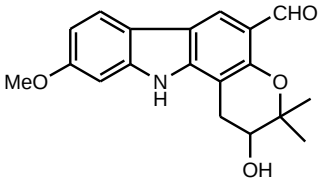


7-MthoxyHeptaphylline

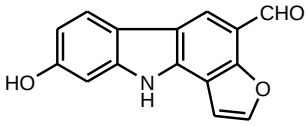
5. Auranwiwat el at. (2014)[15] รายงานผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากส่องฟ้า (*C. guillauminii*) พบสารใหม่ในกลุ่มคาร์บาโซลแอลคาร์ลอยด์ 2 สาร คือ guillauminines A และ B และสารที่มีรายงานมาแล้วอีก 16 สาร นำสารที่แยกได้ไปศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด และมะเร็งในช่องปาก ฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย และฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย พบว่าสาร fluroclausine A และ 7-methoxyheptaphylline มีความเป็นพิษที่สูงต่อเซลล์มะเร็งปอด ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 7.44 และ 9.51 μg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้สาร fluroclausine A มีฤทธิ์เป็นพิษที่สูงต่อเซลล์มะเร็งช่องปากด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.35 μg/mL และยังพบว่าสาร mukonol ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ นอกจากนี้สาร mukonol, 7-methoxymokonol และ cluariala D มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 4.03, 3.46 และ 3.41 μg/mL ตามลำดับ รวมทั้ง fluroclausine A และ 7-methoxyheptaphylline มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่อ่อนด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 25 μg/mL



Guillauminine A

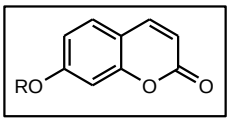


Guillauminine B

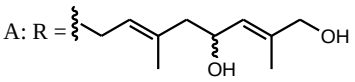


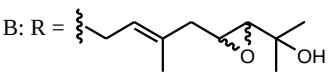
Fluroclausine A

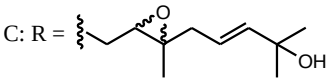
6. Thuy el at. (1999)[16] รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากใบสันโสก (*C. excavata*) พบสารใหม่ในกลุ่มคูมาริน 13 สาร คือ Excavatins A-M และยังพบสารในกลุ่มลิโมนอยด์ที่รายงานมาแล้วอีกด้วย โดยโครงสร้างสารทั้งหมดที่แยกได้ทำการพิสูจน์และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปคโทสโกปี (spectroscopy)

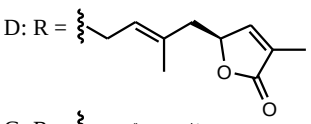


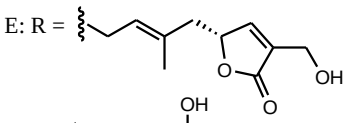
Excavatins

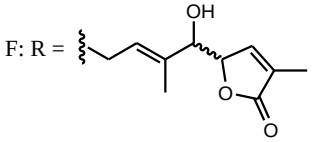


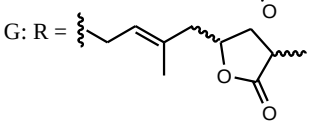


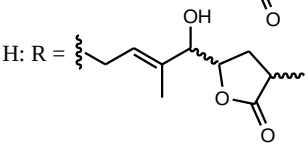


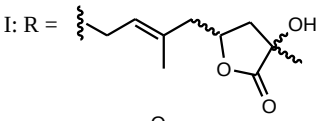


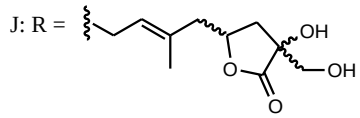


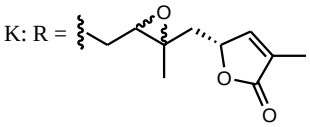


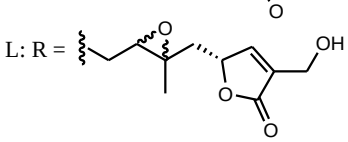


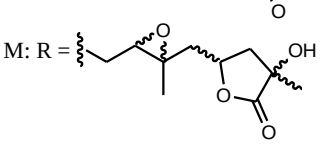




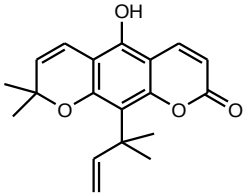




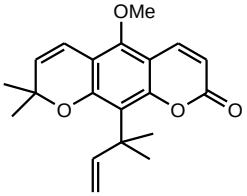




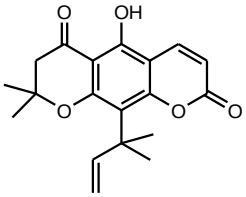
7. Sripisut el at. (2012)[17] รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของสันโสก (*C. excavata*) พบสารในกลุ่มคูมาริน 6 คือ binorponcitrin, xanthoxyletin, dentatin, nordentatin, clausenidin และ scopoetin และสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ 12 สาร คือ dictamine, clausine D, clausine F, murrayafoline A, murrayanine, clauszoline I, clauszoline J, clausine H, murrayacine, 2-hydroxy-3-formyl-7-methoxycarbazole, 3-formyl-2,7-dimethoxycarbazole และ heptaphylline และนำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ความมีพิษต่อเซลล์มะเร็ง 3 ชนิดคือ เซลล์มะเร็งช่องปาก เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์มะเร็งปอด พบว่า nordentatin, murrayanine และ heptaphylline แสดงฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.95, 3.76 และ 5.26 µg/mL ตามลำดับ



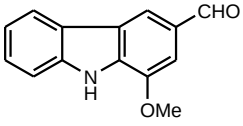
Nordentatin



Dentatin



Clausenidin



Murrayanine

จากการศึกษาและค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องข้างต้นพบว่าพืชวงศ์ส้มในสกุล *Clausena* มีรายงานการศึกษาองค์ประกอบเคมีมากพอสมควร ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่ที่พบเป็นสารกลุ่มคาร์บาโซลแอลคาลอยด์ (carbazole alkaloids) และคูมาริน (coumarins) นอกจากนี้จากรายงานการวิจัยทั้งหมดของพืชวงศ์ส้มในสกุล *Clausena* มีรายงานการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเพียงแค่ฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในมนุษย์ แต่ยังไม่มีการรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ เพิ่มเติมโดยเฉพาะอย่างยิ่งไม่มีรายงานฤทธิ์การยับยั้งโรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เลย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาจำนวนมาก ต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน ซึ่งเป็นโรคที่พบมากในผู้สูงอายุและพบมากในภูมิภาคอาเซียนอีกด้วย อีกทั้งเพื่อนำความรู้ที่ได้ไปแลกเปลี่ยนความรู้และประสบการณ์กับผู้สนใจทั่วไปทั้งภาครัฐและเอกชนหรืออุตสาหกรรม เพื่อนำไปประยุกต์และปรับใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และสร้างองค์ความรู้ด้านการทางานวิจัยให้แก่นิสิต รวมทั้งผลิตและตีพิมพ์ผลงานวิจัยร่วมกับนิสิตคณาจารย์ในวารสารระดับนานาชาติที่เป็นที่ยอมรับ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาจำนวนมาก ต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน ซึ่งเป็นโรคที่พบมากในผู้สูงอายุและพบมากในภูมิภาคอาเซียนอีกด้วย เพื่อเป็นการพัฒนาสารออกฤทธิ์ที่ค้นพบดังกล่าวไปเป็นยาหรือส่วนประกอบของยาในการรักษาโรคเบาหวานต่อไป อีกทั้งเพื่อนำความรู้ที่ได้ไปแลกเปลี่ยนความรู้และประสบการณ์กับผู้สนใจทั่วไปทั้งภาครัฐและเอกชนหรืออุตสาหกรรม เพื่อนำไปประยุกต์และปรับใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และสร้างองค์ความรู้ด้านการทางานวิจัยให้แก่นิสิต รวมทั้งผลิตและตีพิมพ์ผลงานวิจัยร่วมกับนิสิตคณาจารย์ในวารสารระดับนานาชาติที่เป็นที่ยอมรับ และมีโอกาสที่สถาบันต่างๆ นำผลการวิจัยดังกล่าวนี้ไปใช้สร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์และนวัตกรรมในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยาต่อไปได้แก่ สถาบันการศึกษาวิจัยทั้งในด้านเคมี ชีวเคมี เภสัชเคมี เช่น คณะวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ ในการนำผลการศึกษาไปศึกษาต่อยอด และองค์การเภสัชกรรม หรือหน่วยงาน บริษัทอุตสาหกรรมยา เป็นต้น

1.6 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

ประสานงานกับหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งในภาครัฐและเอกชน เพื่อการนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ไปใช้ประโยชน์ หรือต่อยอดโครงการวิจัย หรือเพื่อนำมาปรับปรุงและพัฒนาเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุดต่อกลุ่มเป้าหมาย และเพื่อประโยชน์สูงสุดต่อยกระดับพืช ผัก สมุนไพรของประเทศให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งเพื่อปกป้องพืช ผัก และสมุนไพรของประเทศไทย ให้อยู่กับคนไทยและคนไทยได้ใช้ประโยชน์สูงที่สุด หรือการนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมระดับนานาชาติ หรือตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารระดับชาติ/นานาชาติ

2. วิธีดำเนินการวิจัย (Material & Method)

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator)
2. เครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum pump)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
4. กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)
5. เครื่อง UV-Vis spectrophotometer
6. เครื่องอังไอน้ำ (Water bath)
7. หลอดแสง UV สำหรับ TLC
8. ชุดเครื่องแก้วพื้นฐาน เช่น บิกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ กระบอกตรวง หลอดทดลอง เป็นต้น
9. ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น Hexane, Dichloromethane, Chloroform, Ethyl acetate, Acetone, Methanol, Ethanol, Dimethylsulfoxide, น้ำกรอง และน้ำกลั่น
10. โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Sodium phosphate buffer, pH 6.8)
11. กรดแกลลิก (Gallic acid), เคอร์ซิติน (Quercetin) วิตามินซี และ อคาร์โบส (Acarbose)
12. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)
13. สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent
14. เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Alpha-glucosidase)
15. *p*-nitrophenyl-β-D-glucopyranoside (PNPG)
16. โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na_2CO_3)

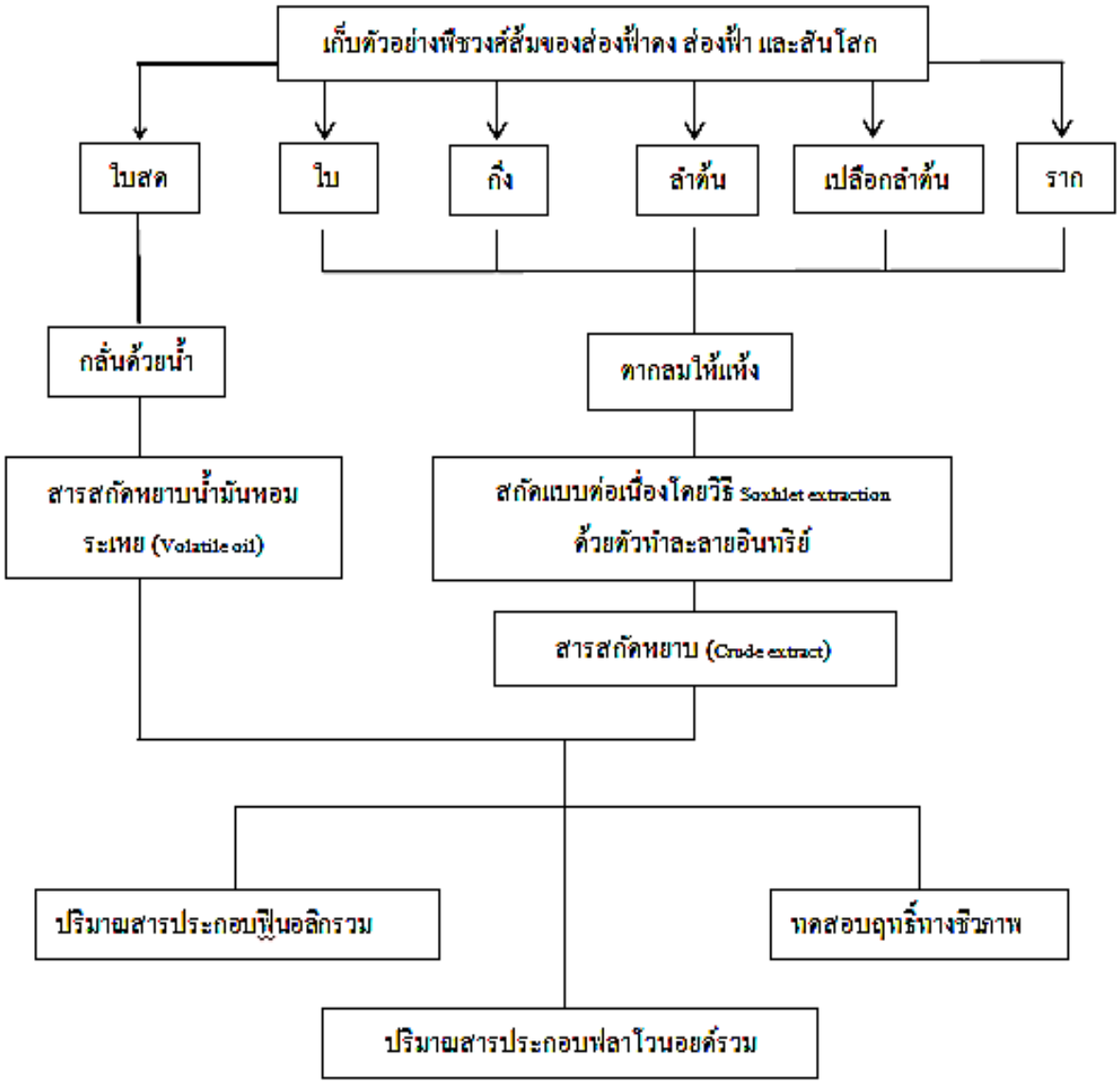
2.2 พืชตัวอย่าง (Plant materials)

การเก็บตัวอย่างพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae) ที่ใช้ในการศึกษามี 3 ชนิด โดยพืชทั้ง 3 ชนิด ได้รับการตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์โดยสำนักหอพรรณไม้ ฝ่ายอนุกรมวิธานพืช กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 และทำการเก็บตัวอย่างพืชไว้ที่ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เลขที่ 169 ถ.ลงหาดบางแสน ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131 โดยพืชทั้ง 3 ชนิดคือ

1. ส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*) โดยเก็บตัวอย่างพืชแยกเป็นส่วนต่าง ๆ 5 ส่วน ได้แก่ ใบ (L) กิ่ง (T) เปลือกลำต้น (STB) ลำต้น (ST) และราก (R) เก็บช่วงเดือนพฤศจิกายน 2558 ถึงเดือนมีนาคม 2559 จากตำบลวังสมบูรณ์ อำเภอวังสมบูรณ์ จังหวัดสระแก้ว
2. ส่องฟ้า (*Clausena guillauminii*) โดยเก็บตัวอย่างพืชแยกเป็นส่วนต่าง ๆ 5 ส่วน ได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก เก็บช่วงเดือนพฤศจิกายน 2558 ถึงเดือนมีนาคม 2559 จากตำบลสำโรงตาเจ็น อำเภอขุขันธ์ จังหวัดศรีสะเกษ
3. สันโสก (*Clausena excavata*) โดยเก็บตัวอย่างพืชแยกเป็นส่วนต่าง ๆ 5 ส่วน ได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก เก็บช่วงเดือนพฤศจิกายน 2558 ถึงเดือนมีนาคม 2559 จากตำบลสำโรงตาเจ็น อำเภอขุขันธ์ จังหวัดศรีสะเกษ

2.3 การเตรียมสารสกัดหยาบ (Preperation of plant extracts)

การเตรียมสารสกัดหยาบตัวอย่างพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae) ทั้ง 3 ชนิดคือ ส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*) ส่องฟ้า (*Clausena guillauminii*) และ สันโสก (*Clausena excavata*) นั้นจะล้างทำความสะอาด และผึ่งลมให้หมาด และทำการสกัดด้วยกระบวนการทางเคมีต่างๆ โดยแบ่งการสกัดเป็น 2 แบบ คือการสกัดน้ำมันหอมระเหย (Water distillation) จากใบสด และการสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ตามลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายจากตัวอย่างส่วนต่างๆ ของพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae) ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ใบ (L) กิ่ง (T) เปลือกลำต้น (STB) ลำต้น (ST) และราก (R) จากนั้นจะนำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน ซึ่งแผนการดำเนินการวิจัยแสดงดังรูปที่ 2-1



รูปที่ 2-1 แผนการดำเนินการวิจัยการศึกษาตัวอย่างพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae)

1. การสกัดน้ำมันหอมระเหย (Water distillation)

โดยนำตัวอย่างใบสดของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น และนำส่วนที่บดละเอียดมาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (250 กรัม) แล้วนำตัวอย่างพืชทั้ง 3 ชนิด ไปกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (Water distillation) นำของเหลวที่กลั่นออกมาได้มาสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนโดยใช้กรวยสกัด (Separatory funnel) นำชั้นไดคลอโรมีเทนไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil, VO) ชั่งน้ำหนัก คำนวณร้อยละผลผลิต (% yield) และ เก็บสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของพืชทั้ง 3 ชนิดไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อทดสอบหาองค์ประกอบทางเคมีเชิงปริมาณ และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

2. การสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction)

โดยนำตัวอย่างส่วนต่างๆ ของพืชในวงศ์ส้ม (Rutaceae) ทั้ง 3 ชนิด (ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก) ประกอบด้วยชนิดละ 5 ส่วน (ใบ กิ่ง ลำต้น เปลือกลำต้น และราก) ทำความสะอาดและตากให้แห้ง แล้วนำมาบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน 200 กรัม แล้วนำตัวอย่างแต่ละส่วนมาสกัดแบบต่อเนื่องโดยวิธี Soxhlet extraction สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทำการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายอินทรีย์ที่สกัดได้แต่ละส่วนไประเหยให้แห้ง ด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 °C ในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วแตกต่างกันประกอบด้วย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และ น้ำ นำสารสกัดหยาบ (Crude extract) ของแต่ละตัวทำละลายอินทรีย์ ไปชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบแต่ละตัวอย่างที่ได้ คำนวณร้อยละผลผลิต (% yield) และเก็บสารสกัดหยาบดังกล่าวไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อทดสอบหาองค์ประกอบทางเคมีเชิงปริมาณและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.4 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content : TPC)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Majhenic, Skerget, and Knez (2007)[18] โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน การทดสอบทำได้โดยนำสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก หรือ สารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 2.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที และทดลองเช่นเดียวกันโดยใช้ dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เป็น Blank นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EPOCH 2 microplate reader (BioTek, America) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก รายงานผลการทดลองในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mgGAE/g dried extract)

2.5 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content : TFC)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ด้วยวิธี Aluminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat, and Legret (1994)[19] โดยใช้สารเคอร์ซิติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน การทดสอบทำได้โดยนำสารละลายมาตรฐานเคอร์ซิติน หรือ สารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 2% $AlCl_3$ ในเมทานอล ปริมาตร 180 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที และทดลองเช่นเดียวกันโดยใช้ dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เป็น Blank นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EPOCH 2 microplate reader (BioTek, America) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน รายงานผลการทดลองในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mgQE/g dried extract)

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca, Sortino, Politi, Morelli, และ Mendez (2002)[20] โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือสารละลาย 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) จะเป็นสารละลายสีม่วงและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) จะทำให้สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำโดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EPOCH2 microplate reader spectrophotometer (BioTek, America) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) จากสูตรดังต่อไปนี้ %DPPH radical inhibition = [(A-B)/A] × 100 เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีการทดสอบ และ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

2.7 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti-α-glucosidase activity)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ด้วยวิธี *p*-nitrophenol colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Matsui, Yoshimoto, Oki และ Osajima (1996)[21] โดยใช้อคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลกลูโคสโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของเอนไซม์ ในการทดสอบจะใช้สารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (PNPG) ทำหน้าที่เป็นซับสเตรต โดยเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับ PNPG ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส และสาร *p*-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายใสสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร การทดสอบทำได้โดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือสารละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลายบัฟเฟอร์ (Sodium phosphate buffer, pH 6.8) ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 120 ไมโครลิตร และ

สารละลายเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ความเข้มข้น 10 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (U/mL) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyrannoside (PNPG) ความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EPOCH2 microplate reader spectrophotometer (BioTek, America) และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (% α-glucosidase inhibition) จากสูตร [(A-B)/A]×100 เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ และ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

2.8 การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammation activity)[22]

ทำการเลี้ยงเซลล์แมคโคฟาจชนิด RAW264.7 ในจานอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-wells plates) มีจำนวนเซลล์เท่ากับ 1 x 105 เซลล์/หลุม โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์ คือ DMEM ที่ประกอบด้วย 10% ของ fetal bovine serum (FBS), penicillin (100 ยูนิต/มิลลิลิตร; U/mL) และ streptomycin (100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร; μg/mL) โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ในตู้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูดสารละลายเก่าออก เติม lipopolysaccharide (LPS) 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ลงไปหลุมละ 100 ไมโครลิตร (เพื่อกระตุ้นการสร้าง nitric oxide; NO จากเอนไซม์ iNOS และ COX-2) เฉพาะหลุม control และ sample ส่วน blank จะใส่ DMEM จากนั้นเติมสารสกัด จำนวน 100 ไมโครลิตร ในหลุมของ sample และ blank of sample ส่วนหลุม control และ blank of control ให้เติม DMEM แล้วนำไปบ่มเพาะที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูด supernatant แต่ละหลุมมา 100 ไมโครลิตร ใส่ใน 96-wells plates เติม Griess's reagent หลุมละ 100 ไมโครลิตร วัดค่าดูดกลืนแสง (optical density; OD) ที่ 540 นาโนเมตร (nm) ส่วน supernatant ที่เหลือใน plate แรก เติม MTT หลุมละ 10 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มเพาะ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง คว่ำจานเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก และเติม DMSO ปริมาตร 150 ไมโครลิตร เขย่าแล้ว วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 และ 620 นาโนเมตร เพื่อดูความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์ถ้าเซลล์รอดมากกว่า 70% ในความเข้มข้นนั้นจึงจะวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ในการทดสอบนี้ใช้สาร apigenin ความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ (μM) เป็น positive control และใช้ Nitrate เป็นสารมาตรฐานในการทำกราฟมาตรฐาน ทำการคำนวณร้อยละการยับยั้ง (%inhibition of NO production) ดังนี้ % inhibition = [(A – B)/(A - C)] x100 โดยที่ A – C คือ NO_2^- concentration (μM), A: LPS (+), sample (-), B: LPS (+), sample (+) และ C: LPS (-), sample (-)

2.9 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity)[22]

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบที่ได้ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงปกติชนิด vero โดยทำการเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่มี fetal bovine serum ความเข้มข้นร้อยละ 10 (10% FBS), 100 ยูนิต/มิลลิลิตร ของ penicillin, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ของ streptomycin และมี pH 7.2 - 7.4 โดยทำการเพาะเลี้ยงในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 95% ทำการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณเซลล์ ให้ได้ปริมาณ 80% ของ confluence จากนั้นทำการปั่นล้างเซลล์ทั้งหมดด้วย sterile PBS ด้วยความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 2 ครั้ง ปริมาตรครั้งละ 10 มิลลิลิตร ทำการนับจำนวนเซลล์ด้วย hemocytometer โดยคำนวณ จากสูตรดังนี้คือ ปริมาตรเซลล์ = N

x Cv x Cd (เซลล์/ไมโครลิตร) โดยที่ N คือ จำนวนเซลล์ที่นับได้ Cv คือ ค่า correction factor ของปริมาตร และ Cd คือ ค่า correction factor ของ dilution

การทดสอบจะใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นของเซลล์ เท่ากับ 5 x 104 เซลล์/หลุม หลังจากนั้นเติมลงในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ทำการเลี้ยงในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 incubator) 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 95% นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเตรียมสารสกัดข่าและสารสกัดสมุนไพรกลุ่มลดระดับน้ำตาลในเลือดที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำมาเติมลงในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงอยู่ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุมข้างต้น หลุมละ 100 ไมโครลิตร และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ dimethyl sulfoxide (DMSO) ลงไปในหลุมของชุดควบคุม (vehicle control) หรือหลุมที่ไม่มีสารทดสอบผสมอยู่ ให้เท่ากับชุดทดสอบ โดยร้อยละของ DMSO ไม่ควรเกินร้อยละ 2 และนำไปบ่มที่ตู้ซึ่งมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ ที่อยู่ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ออกทุกหลุม ๆ ละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติม MTT dye ลงไปทุกหลุมๆ ละ 10 ไมโครลิตร และนำไปบ่มต่อในตู้อบที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการคว่ำจานอาหาเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ และ MTT ส่วนเกิน ที่อยู่ในหลุมออกให้หมดและให้เหลือแต่เพียงผลึก formazan ที่ก้นหลุมเท่านั้น จากนั้นเติม DMSO ลงไปทุกหลุม ๆ ละ150 ไมโครลิตร เพื่อทำการละลายผลึก formazan หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาทำการคำนวณหาร้อยละของการมีชีวิตรอดของเซลล์ (%cell viability) ทำการหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ %cell viability ในสารที่ทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำมาสร้างเป็นเส้นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %cell viability กับปริมาณความเข้มข้นของสาร แล้วทำการวัดค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายไปร้อยละ 50 (inhibitory concentration หรือ IC_{50})

2.10 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Phytochemical analysis)

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Hewlett-Packard capillary GC-quadrupole MS system QP 5890) โดยใช้คอลัมน์ J&W DB-5 (60 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร) ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร อุณหภูมิ Injector 270 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ Detector 270 องศาเซลเซียส โหมดการฉีดแบบทิ้งสาร (split mode) spit ratio 1:10 แก๊สตัวพาเป็นฮีเลียม อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาทีโปรแกรมอุณหภูมิ เริ่มต้นที่ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 1 นาทีเพิ่มอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 200 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 2 นาที การทดสอบทำได้โดยทำการฉีดตัวอย่างปริมาตร 1.0 ไมโครลิตร โหมดการฉีดแบบทิ้งสาร (split mode) spit ratio 1:10 แก๊สตัวพาเป็นฮีเลียม อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาทีโปรแกรมอุณหภูมิ เริ่มต้นที่ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 1 นาทีเพิ่มอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 200 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 2 นาที สำหรับแมสสเปกโตรมิเตอร์ สัดส่วนมวลต่อประจุ (m/z) เท่ากับ 50-650 บ่งชี้คุณลักษณะของสารโดยการเปรียบ เทียบสเปกตรัมกับ National Institute of Standard and Technology (NIST) Mass Spectral Search Program และ Chemstation Wiley Spectral Library โดยเทียบเคียงกับสารที่มี mass spectra ของสารที่มี %quality match มากกว่า 80%

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล (Results & Discussion)

3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ (Preperation of plant extracts)

การเตรียมสารสกัดหยาบตัวอย่างพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae) ทั้ง 3 ชนิดคือ ส่องฟ้าดง (Clausena harmandiana) ส่องฟ้า (Clausena guillauminii) และ สันโสก (Clausena excavata) นั้นจะล้างทำความสะอาด และผึ่งลมให้หมาด และทำการสกัดด้วยกระบวนการทางเคมีต่างๆ โดยแบ่งการสกัดเป็น 2 แบบคือ การสกัดน้ำมันหอมระเหย (Water distillation) จากใบสด และการสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ตามลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายจากตัวอย่างส่วนต่างๆ ของพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae) ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ใบ (L) กิ่ง (T) เปลือกลำต้น (STB) ลำต้น (ST) และราก (R) จากนั้นจะนำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน ซึ่งผลการทดลองได้ดังนี้

1. การสกัดน้ำมันหอมระเหย (Water distillation)

จากการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบของส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*) ส่องฟ้า (*Clausena guillauminii*) และสันโสก (*Clausena excavate*) ด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ และเมื่อระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil, VO) ที่มีน้ำหนักของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยร้อยละผลผลิต (% yield) และลักษณะต่างๆ ทางกายภาพ ดังตารางที่ 3-1 และรูปที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพ

สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้ม	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (% yield)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่องฟ้าดง	0.19	0.07	ของเหลวสีน้ำตาลแดงและมีกลิ่นหอม
ส่องฟ้า	3.19	1.28	ของเหลวสีน้ำตาลแดงและมีกลิ่นหอม
สันโสก	0.07	0.03	ของเหลวสีน้ำตาลอ่อนและมีกลิ่นหอม

จากตารางที่ 3-1 พบว่า สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้า (1.28 %) มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด และมีกลิ่นหอมที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะใบของส่องฟ้า (ดังรูปที่ 3-1) ที่มีต่อมน้ำมันกระจายทั่วทั้งใบมากกว่าส่องฟ้าดง และสันโสก

รูปที่ 3-1 ต่อมน้ำมันใบสดของพืชตัวอย่างและลักษณะทางกายภาพของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย

2. การสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction)

จากการสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก ด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วแตกต่างกัน 7 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และ น้ำ และเมื่อระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 °C จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) ที่มีน้ำหนักของสารสกัดหยาบ ร้อยละผลผลิต และลักษณะต่างๆ ทางกายภาพดังตารางที่ 3-2 ถึงตารางที่ 3-4

ตารางที่ 3-2 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนใบ (Leaves)		
เฮกเซน	2.14	ของแข็ง สีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	1.30	ของแข็ง สีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
เอทิลอะซิเตท	1.11	ของเหลวข้นหนืด สีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
อะซิโตน	2.19	ของเหลวข้นหนืด สีดำอมเขียว
เอทานอล	5.03	ของเหลวข้นหนืด สีดำอมเขียว
เมทานอล	2.11	ของเหลวสีน้ำตาลแดงและมีของแข็งสีดำปนอยู่
น้ำ	20.69	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-2 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนกิ่ง (Twig)		
เฮกเซน	0.67	ของแข็งสีดำและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	9.06	ของแข็งสีดำและมีกลิ่นหอม
เอทิลอะซิเตท	0.31	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
อะซิโตน	0.70	ของเหลวข้นหนืดสีดำอมน้ำตาล
เอทานอล	2.00	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	2.03	ของเหลวสีน้ำตาลดำและมีผลึกรูปเข็ม
น้ำ	6.24	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลเข้มอมเขียว

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-2 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนเปลือกลำต้น (Stem bark)		
เฮกเซน	0.50	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
ไดคลอโรมีเทน	0.68	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
เอทิลอะซิเตท	0.80	ของแข็งสีดำ
อะซิโตน	0.88	ของแข็งสีดำ
เอทานอล	4.91	ของเหลวสีน้ำตาลดำและมีของแข็งสีดำปนอยู่
เมทานอล	2.34	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
น้ำ	13.71	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-2 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนลำต้น (Stem)		
เฮกเซน	0.81	ของเหลวหนืด คล้ายไขมัน สีน้ำตาลอ่อน
ไดคลอโรมีเทน	0.18	ของแข็งสีน้ำตาลแดงและมีผลึกรูปเข็ม
เอทิลอะซิเตท	0.22	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำและมีผลึกรูปเข็ม
อะซิโตน	0.28	ของแข็งสีน้ำตาล
เอทานอล	1.76	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
เมทานอล	1.15	ของแข็งสีน้ำตาล
น้ำ	1.05	ของแข็งสีน้ำตาล

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-2 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนราก (Root)		
เฮกเซน	0.02	ของเหลวหนืดสีดำอมน้ำตาล
ไดคลอโรมีเทน	0.88	ของแข็งสีดำ
เอทิลอะซิเตท	0.71	ของแข็งสีดำแดง
อะซิโตน	0.80	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำและของแข็งน้ำตาลดำ
เอทานอล	2.61	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	1.14	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
น้ำ	3.59	ของแข็งสีน้ำตาลแดง

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-3 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้า	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนใบ (Leaves)		
เฮกเซน	2.14	ของแข็งสีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	0.84	ของแข็งสีดำอมเขียว มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.80	ของแข็งสีน้ำตาลอมเขียว มีลักษณะคล้ายไข
อะซิโตน	1.12	ของแข็งสีน้ำตาลดำ มีลักษณะคล้ายไข
เอทานอล	7.58	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	3.76	ของแข็งสีน้ำตาลดำ ของแข็งสีขาว และมีผลึก
น้ำ	12.25	ของแข็งสีน้ำตาลและของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-3 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้า	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนกิ่ง (Twig)		
เฮกเซน	0.38	ของแข็งสีน้ำตาลเหลืองอมเขียว
ไดคลอโรมีเทน	0.23	ของแข็งสีดำ มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.29	ของแข็งสีดำ มีลักษณะคล้ายไข
อะซิโตน	0.49	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลและมีของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	2.40	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	2.10	ของแข็งเป็นผลึกใสสีน้ำตาลรูปสีเหลี่ยม
น้ำ	4.71	ของแข็งสีน้ำตาลดำ

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-3 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้า	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนเปลือกลำต้น (Stem bark)		
เฮกเซน	0.87	ของแข็งสีดำแดง มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	0.43	ของแข็งสีดำอมเขียว มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.76	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
อะซิโตน	0.80	เป็นผลึกสีน้ำตาล และมีของเหลวหนืดสีน้ำตาล
เอทานอล	1.67	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	3.74	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
น้ำ	3.63	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-3 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้า	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนลำต้น (Stem)		
เฮกเซน	0.13	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	0.14	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.16	ของแข็งสีน้ำตาลดำ มีลักษณะคล้ายไข
อะซิโตน	0.82	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลและมีของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	2.07	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
เมทานอล	1.11	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
น้ำ	1.66	ของแข็งสีน้ำตาลแดง มีลักษณะคล้ายไข

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-3 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้า	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนราก (Root)		
เฮกเซน	1.39	ของแข็งสีน้ำตาล วาว มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	1.62	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทิลอะซิเตท	0.72	ของแข็งสีน้ำตาลแดง วาว มีลักษณะคล้ายไข
อะซิโตน	0.63	ของแข็งสีน้ำตาลดำ วาว
เอทานอล	2.60	ของเหลวสีน้ำตาล
เมทานอล	2.34	ของเหลวสีน้ำตาลและมีของแข็งสีดำปนอยู่
น้ำ	6.69	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-4 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก

สารสกัดหยาบจากสันโสก	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนใบ (Leaves)		
เฮกเซน	2.76	ของแข็งสีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	1.35	ของแข็งสีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
เอทิลอะซิเตท	2.33	ของแข็งสีดำอมเขียวคล้ายไขและมีกลิ่นหอม
อะซิโตน	3.26	ของเหลวข้นหนืดสีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
เอทานอล	7.14	ของเหลวหนืดสีแดงและมีของแข็งสีน้ำตาลแดง
เมทานอล	5.24	ของเหลวข้นหนืดสีดำอมเขียว
น้ำ	8.49	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลแดงและวาว

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-4 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากสันโสก	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนกิ่ง (Twig)		
เฮกเซน	0.78	ของแข็งสีเขียวอมเหลืองและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	0.99	ของแข็งสีดำอมเขียว
เอทิลอะซิเตท	0.57	ของแข็งสีดำอมเขียว
อะซิโตน	0.66	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	2.68	ของแข็งเป็นผลึกใสรูปเข็มสีน้ำตาล
เมทานอล	2.07	ของแข็งเป็นผลึกใสรูปเข็มสีน้ำตาล
น้ำ	1.52	ของแข็งสีน้ำตาลแดง และมีผลึกใสสีน้ำตาล

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-4 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากสันโสก	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนเปลือกลำต้น (Stem bark)		
เฮกเซน	0.34	ของแข็งสีดำแดง มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	0.42	ของแข็งสีดำอมเขียว มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.40	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
อะซิโตน	0.85	ผลึกสีน้ำตาล และมีของเหลวหนืดสีน้ำตาล
เอทานอล	3.34	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	2.35	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
น้ำ	8.19	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-4 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากสันโสก	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนลำต้น (Stem)		
เฮกเซน	0.14	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อนมีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	0.10	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อนมีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.27	ของแข็งสีน้ำตาลดำและมีของแข็งสีขาวปนอยู่
อะซิโตน	0.72	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	1.35	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
เมทานอล	0.77	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
น้ำ	1.05	ของแข็งสีน้ำตาลดำมีลักษณะคล้ายไข

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

ตารางที่ 3-4 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากสันโสก	ร้อยละผลผลิต*	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนราก (Root)		
เฮกเซน	1.68	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	2.17	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
เอทิลอะซิเตท	1.01	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
อะซิโตน	1.44	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	3.64	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	2.19	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
น้ำ	5.53	ของเหลวข้นหนืดสีดำ

* ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

จากผลการสกัดสารจากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ดังตารางที่ 3-2 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ จากใบ (20.69 %) และเปลือกลำต้น (13.71 %) และส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน (9.06 %) จากกิ่ง มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ส่วนสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ มีร้อยละผลผลิตเท่าๆ กัน และจากการเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดงพบว่า ใบมีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด รองลงมาคือเปลือกลำต้นและกิ่งตามลำดับ ส่วนรากและลำต้น มีร้อยละผลผลิตน้อยที่สุด

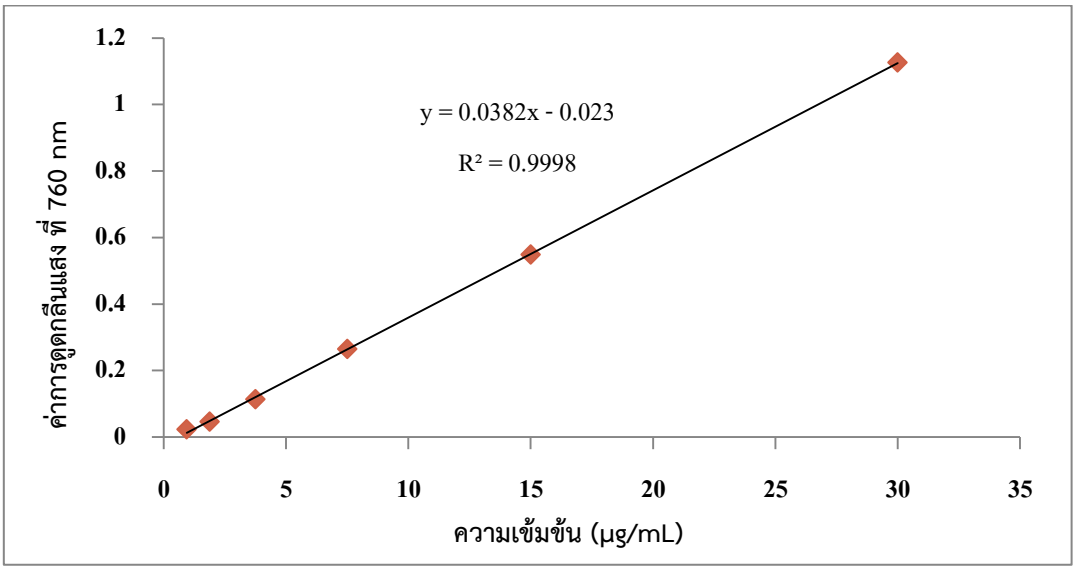
จากผลการสกัดสารจากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ดังตารางที่ 3-3 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้า พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ (12.25 %) และส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล (7.58 %) จากใบ มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในชั้นตัวทำละลายที่มีขั้วมาก (น้ำ เมทานอล และเอทานอล) มีร้อยละผลผลิตที่สูง และจากการเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า พบว่าส่วนใบ มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ เช่น ราก เปลือกลำต้น และกิ่ง มีร้อยละผลผลิตเท่าๆ กัน และส่วนสกัดจากส่วนลำต้นมีร้อยละผลผลิตน้อยที่สุด

จากผลการสกัดสารจากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ดังตารางที่ 3-4 ของส่วนสกัดหยาบจากสันโสก พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ จากใบ (8.49 %) และเปลือกลำต้น (8.19 %) มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในชั้นตัวทำละลายที่มีขั้วมาก (น้ำ เมทานอล และเอทานอล) มีร้อยละผลผลิตที่สูง และจากการเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก พบว่าส่วนใบ มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ เช่น และราก เปลือกลำต้น มีร้อยละผลผลิตเท่าๆ กัน ในขณะที่ส่วนสกัดจากส่วนกิ่งและลำต้นมีร้อยละผลผลิตน้อยกว่า

จากผลการสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก ด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วแตกต่างกัน 7 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบชั้นน้ำจากใบของส่องฟ้าดง มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด นอกจากนี้ร้อยละผลผลิตของส่วนสกัดหยาบทั้งหมด ขึ้นกับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์โดยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากให้ค่าร้อยละผลผลิตที่สูง และนอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตรวมของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่องฟ้าดงมีร้อยละผลผลิตรวมสูงที่สุด ส่วนสันโสกและส่องฟ้า มีร้อยละผลผลิตรวมเท่าๆ กัน

3.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content : TPC)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Majhenic Skerget และ Knez (2007) ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการ คือสารประกอบฟีนอลิกรวมจะทำปฏิกิริยารวมกับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย Phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย Phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิกรวม เกิดเป็น tungsten และ molybdenum ซึ่งให้สีน้ำเงิน และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ได้กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0382x - 0.0230$, $R^2 = 0.9998$) ดังรูปที่ 3-2 และปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 3-5 ถึงตารางที่ 3-8 โดยรายงานผลการทดลองในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบแห้ง 1 กรัม ($mgGAE.g^{-1}$)



รูปที่ 3-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid)

จากกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแกลลิก ($y = 0.0382x - 0.023$) สามารถนำไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก รวมถึงส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ได้ผลดังตารางที่ 3-5 ถึงตารางที่ 3-8

ตารางที่ 3-5 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด

สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)
ส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*)	45.65±0.50
ส่องฟ้า (*C. guillauminii*)	12.79±5.35
สันโสก (*C. excavata*)	40.75±2.06

จากผลการหาปริมาณฟีนอลิกรวมดังตารางที่ 3-5 ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก พบว่าสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากส่องฟ้าดงมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (45.65±0.50 mgGAE/g) รองลงมาได้แก่ สันโสก (40.75±2.06 mgGAE/g) และส่องฟ้า (12.79±5.35 mgGAE/g) ตามลำดับ

ตารางที่ 3-6 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)				
ส่องฟ้าดง	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	18.45±0.39	18.50±1.38	27.98±1.15	12.20±0.59	46.13±0.73
ไดคลอโรมีเทน	31.08±1.08	25.85±0.94	80.49±0.16	21.08±0.52	54.03±7.93
เอทิลอะซิเตท	34.87±1.05	31.43±0.20	86.32±1.54	19.39±0.85	105.79±5.06
อะซิโตน	18.80±0.93	30.84±1.54	58.17±1.84	25.60±0.55	41.82±1.48
เอทานอล	39.04±1.74	51.71±1.79	35.36±2.48	41.71±2.04	39.02±3.19
เมทานอล	41.55±2.43	50.52±3.36	34.61±3.18	29.86±1.94	36.00±1.77
น้ำ	40.47±1.66	49.42±2.04	42.84±2.43	23.51±1.02	27.07±8.43

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมดังตารางที่ 3-6 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง พบว่าส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากราก (105.79±5.06 mgGAE/g) และเปลือกลำต้น (86.32±1.54 mgGAE/g) แสดงปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง พบว่ารากและเปลือกลำต้นให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ เช่น ใบ กิ่ง และลำต้นจะมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่าๆ กัน

ตารางที่ 3-7 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)				
ส่องฟ้า	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	7.87±0.41	6.11±0.36	20.59±0.43	6.39±0.16	85.06±5.51
ไดคลอโรมีเทน	18.27±1.65	23.18±0.24	60.21±3.92	20.92±1.07	84.71±2.20
เอทิลอะซิเตท	51.24±2.59	45.76±1.97	49.81±1.57	26.16±2.62	88.69±3.10
อะซิโตน	35.6±3.44	31.34±1.57	43.14±1.13	22.69±2.15	41.12±2.41
เอทานอล	51.82±1.64	27.14±2.33	36.67±4.59	22.95±2.25	24.15±0.74
เมทานอล	73.68±2.41	33.84±1.69	33.86±1.37	24.38±1.57	18.01±0.99
น้ำ	42.23±1.93	41.22±0.95	30.87±0.80	18.66±0.39	14.21±0.32

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมดังตารางที่ 3-7 ของส่วนสกัดหยาบจากรากส่องฟ้า พบว่าส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท (88.69±3.10 mgGAE/g) เฮกเซน (85.06±5.51 mgGAE/g) และไดคลอโรมีเทน (84.71±2.20 mgGAE/g) แสดงปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า พบว่ารากให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ เช่น ใบ เปลือกลำต้น กิ่ง และลำต้นจะมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่าๆ กัน

ตารางที่ 3-8 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก

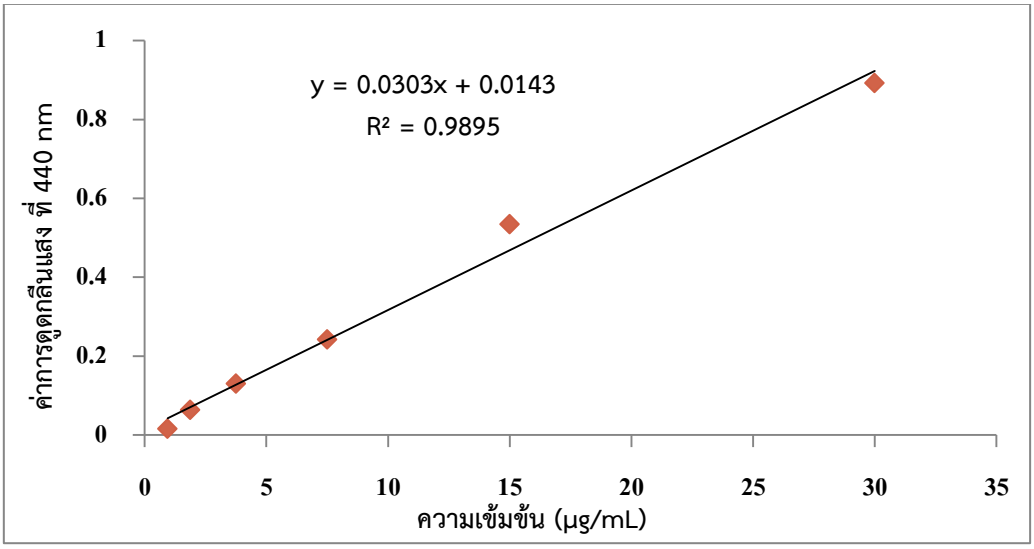
สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)				
สันโสก	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	5.57±0.11	13.37±2.13	18.66±1.48	7.73±1.08	61.47±1.15
ไดคลอโรมีเทน	28.12±0.76	43.56±1.54	64.82±4.94	26.42±0.76	84.43±0.71
เอทิลอะซิเตท	50.79±0.28	41.38±2.26	64.71±1.82	40.02±1.60	76.02±3.71
อะซิโตน	46.98±3.20	34.68±2.75	40.68±3.96	32.08±1.07	45.15±5.60
เอทานอล	40.47±1.95	38.85±3.43	59.27±2.92	30.19±3.24	36.04±1.29
เมทานอล	52.84±2.53	41.06±2.99	47.70±3.22	30.42±4.08	37.57±1.76
น้ำ	45.10±2.26	39.16±5.27	49.53±0.57	28.32±1.29	21.40±0.52

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมดังตารางที่ 3-8 ของส่วนสกัดหยาบจากรากสันโสก พบว่าส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน (84.43±0.71 mgGAE/g) เอทิลอะซิเตท (76.02±3.71 mgGAE/g) แสดงปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนต่างๆ ของสันโสก พบว่ารากและเปลือกลำต้นให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ เช่น ใบ กิ่ง และลำต้นจะมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่าๆ กัน

โดยสรุปจากผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากส่วนต่างๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทจากรากของส่องฟ้าดง มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนต่างๆ พบว่าส่วนราก เปลือกลำต้น ใบ และกิ่งของพืชทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงเท่า ๆ กัน และพบว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนลำต้นของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ

3.3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content : TFC)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ด้วยวิธี Aluminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat, and Legret (1994) โดยใช้สารเคอร์ซิติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน โดยสารประกอบฟลาโวนอยด์ จะใช้ Phenolic hydroxyl groups เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะ Al^{3+} ซึ่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้นได้เป็นสีเหลือง และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร ได้กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0303x + 0.0143$, $R^2 = 0.9895$) ดังรูปที่ 3-3 และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 3-9 ถึงตารางที่ 3-11 โดยรายงานผลการทดลองในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบแห้ง 1 กรัม (mgQE.g^{-1})



รูปที่ 3-3 กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์ซิติน (Quercetin)

จากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน (y = 0.0303x – 0.0143) สามารถนำไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้ง 3 ชนิดไม่พบสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบดังตารางที่ 3-5 ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มที่ไม่ใช่สารประกอบฟลาโวนอยด์ และจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน สามารถนำไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ได้ผลดังตารางที่ 3-9 ถึงตารางที่ 3-11 โดยรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักสารแห้ง 1 กรัม (mgQE.g^{-1})

ตารางที่ 3-9 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g)				
ส่องฟ้าดง	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	NF^a	10.28±0.01	0.25±0.17	NF^a	1.37±1.23
ไดคลอโรมีเทน	NF^a	NF^a	NF^a	NF^a	2.61±0.84
เอทิลอะซิเตท	NF^a	NF^a	NF^a	NF^a	1.06±0.78
อะซิโตน	NF^a	0.27±0.54	1.40±0.54	0.03±0.06	2.26±0.42
เอทานอล	NF^a	0.23±0.14	0.04±0.14	NF^a	0.46±0.12
เมทานอล	0.33±0.02	0.04±0.42	NF^a	NF^a	0.11±0.17
น้ำ	NF^a	NF^a	NF^a	NF^a	NF^a

NF^a คือ วิเคราะห์ไม่พบสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมดังตารางที่ 3-9 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (10.28±0.01 mgQE/g) จากกิ่ง แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทุกชนิดมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยมาก และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง พบว่าส่วนกิ่งและรากมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ และส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้น ใบและลำต้น มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมพอๆ กัน

ตารางที่ 3-10 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า

สารสกัดหยาบ ส่องฟ้า	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g)				
	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	0.51±0.24	NF[a]	0.07±1.63	1.01±0.61	2.95±0.11
ไดคลอโรมีเทน	2.41±0.75	0.71±0.72	0.48±0.59	0.69±0.41	4.54±0.51
เอทิลอะซิเตท	1.41±0.11	9.59±0.48	1.24±1.07	0.57±0.48	1.22±0.50
อะซิโตน	1.76±0.03	6.58±0.66	1.85±1.03	0.01±0.05	0.25±0.65
เอทานอล	14.91±0.58	4.70±0.26	0.42±0.12	NF[a]	NF[a]
เมทานอล	14.99±1.53	5.67±0.28	0.28±0.22	NF[a]	NF[a]
น้ำ	3.67±0.20	0.50±0.19	NF[a]	NF[a]	NF[a]

NF[a] คือ วิเคราะห์ไม่พบสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมดังตารางที่ 3-10 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้า พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอล (14.99±1.53 mgQE/g) และเอทานอล (14.91±0.58 mgQE/g) จากใบ แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากถึงปานกลาง มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูง และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า พบว่าส่วนใบและกิ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่า ส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ และส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้น ราก และลำต้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยพอๆ กัน

ตารางที่ 3-11 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก

สารสกัดหยาบ สันโสก	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g)				
	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	NF[a]	NF[a]	NF[a]	1.21±0.07	2.72±0.05
ไดคลอโรมีเทน	NF[a]	NF[a]	NF[a]	NF[a]	0.99±0.16
เอทิลอะซิเตท	6.17±3.54	0.32±0.50	2.85±1.07	0.55±0.56	1.08±0.61
อะซิโตน	10.35±0.46	1.71±0.25	0.34±0.33	0.18±0.12	0.02±1.34
เอทานอล	11.67±0.85	0.69±0.10	0.33±0.29	NF[a]	NF[a]
เมทานอล	12.08±1.13	0.66±0.13	NF[a]	0.03±0.03	NF[a]
น้ำ	0.41±0.48	0.40±0.15	NF[a]	NF[a]	NF[a]

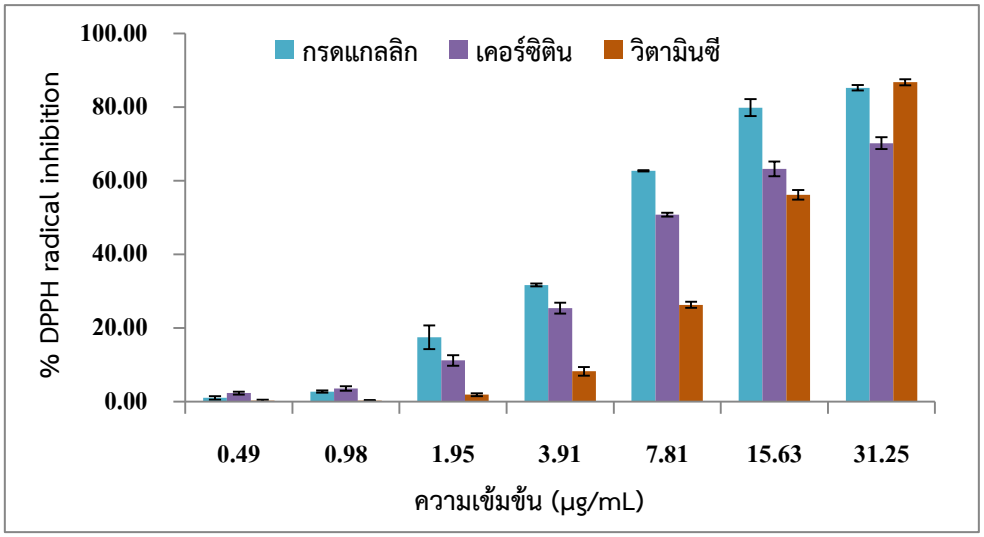
NF[a] คือ วิเคราะห์ไม่พบสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมดังตารางที่ 3-11 ของส่วนสกัดหยาบจากสันโสก พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอล (12.08±1.13 mgQE/g) เอทานอล (11.67±0.85 mgQE/g) และอะซิโตน (10.35±0.46 mgQE/g) จากใบ แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากถึงปานกลาง มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูง และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนต่างๆ ของสันโสก พบว่าส่วนใบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ เช่น ราก เปลือกลำต้น และลำต้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยพอๆ กัน

โดยสรุปจากผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากส่วนต่างๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิดของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่องฟ้า (0.07±1.63 ถึง 14.99±1.53 mgQE/g) แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด รองลงมาได้แก่สันโสก (0.02±1.34 ถึง 12.08±1.13 mgQE/g) และส่องฟ้าดง (0.03±0.06 ถึง 10.28±0.01 mgQE/g) ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดของพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากถึงปานกลาง มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูง และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนต่างๆ พบว่าส่วนใบและกิ่ง ของสันโสก มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่นๆ เช่น ราก เปลือกลำต้น และลำต้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยพอๆ กัน

3.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging

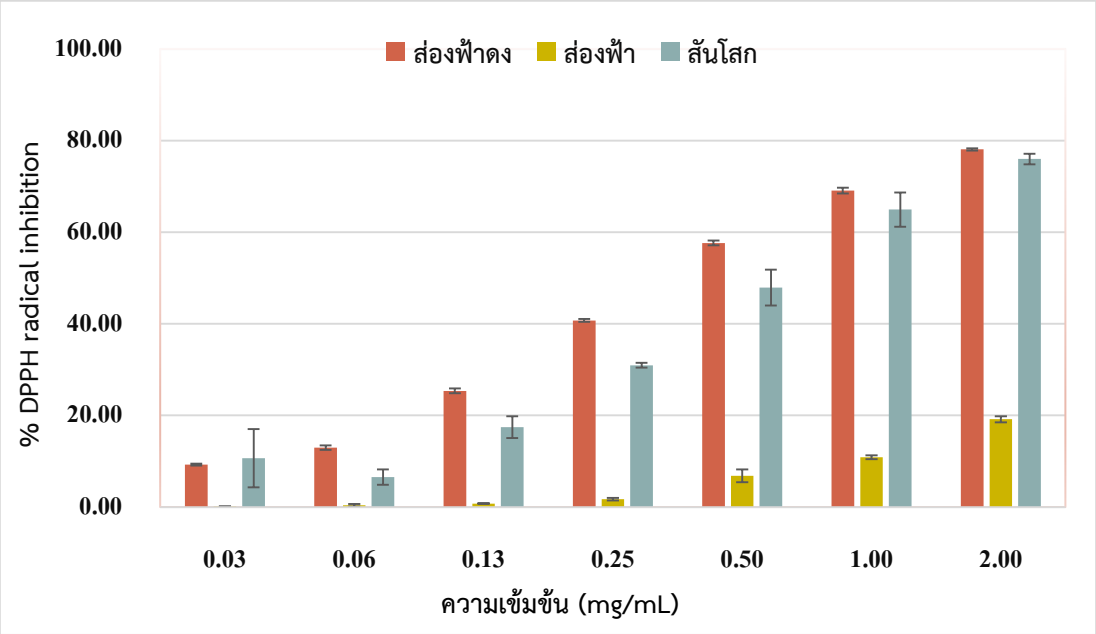
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca, Sortino, Politi, Morelli, และ Mendez (2002) โดยใช้กรดแกลลิก เคอร์ซิติน และวิตามินซี เป็นสารมาตรฐาน โดยสารละลาย 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) จะเป็นสารละลายสีม่วงและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) จะทำให้สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อทำการวิเคราะห์และคำนวณผลการทดลองร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) ได้ผลการทดลองของสารมาตรฐานดังรูปที่ 3-4



รูปที่ 3-4 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (%DPPH radical inhibition) ของสารมาตรฐาน

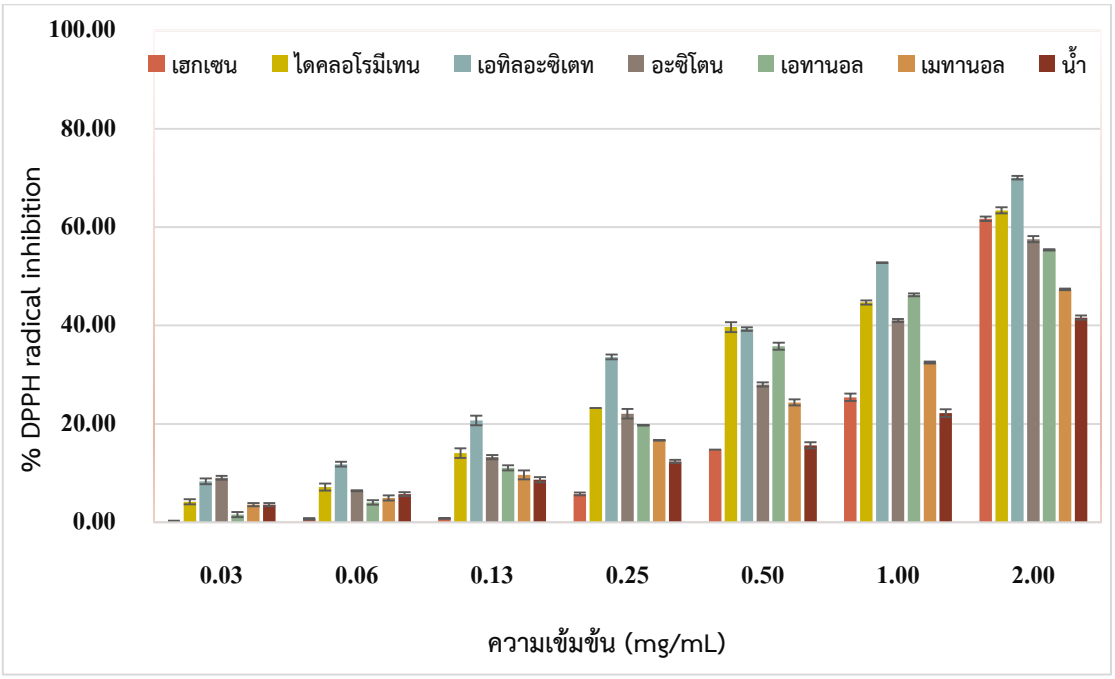
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังรูปที่ 3-4 ของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก เคอร์ซิติน และวิตามินซี พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 15.63 μg/mL สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด (79.85±2.32 μg/mL) รองลงมาได้แก่ เคอร์ซิติน (63.23±2.03 μg/mL) และวิตามินซี (56.19±1.33 μg/mL) ตามลำดับ

จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดและสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก ด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกันกับสารละลายมาตรฐาน โดยรายงานผลด้วยค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH radical inhibition) จากการทดสอบได้ผลดังรูปที่ 3-5 ถึงรูปที่ 3-20

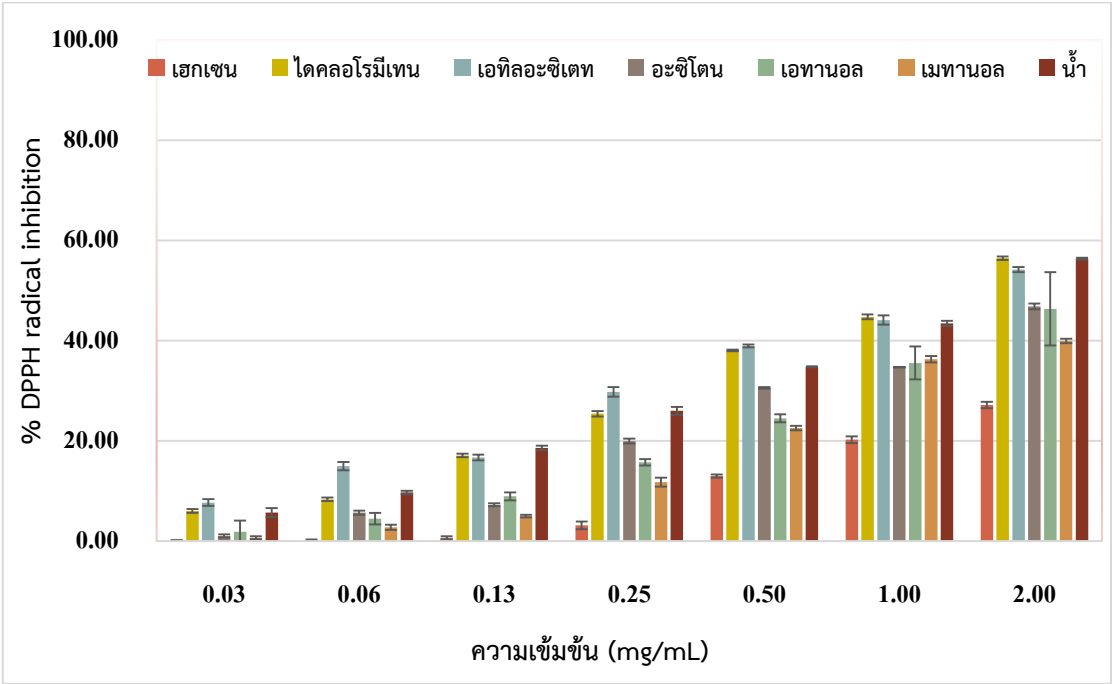


รูปที่ 3-5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด

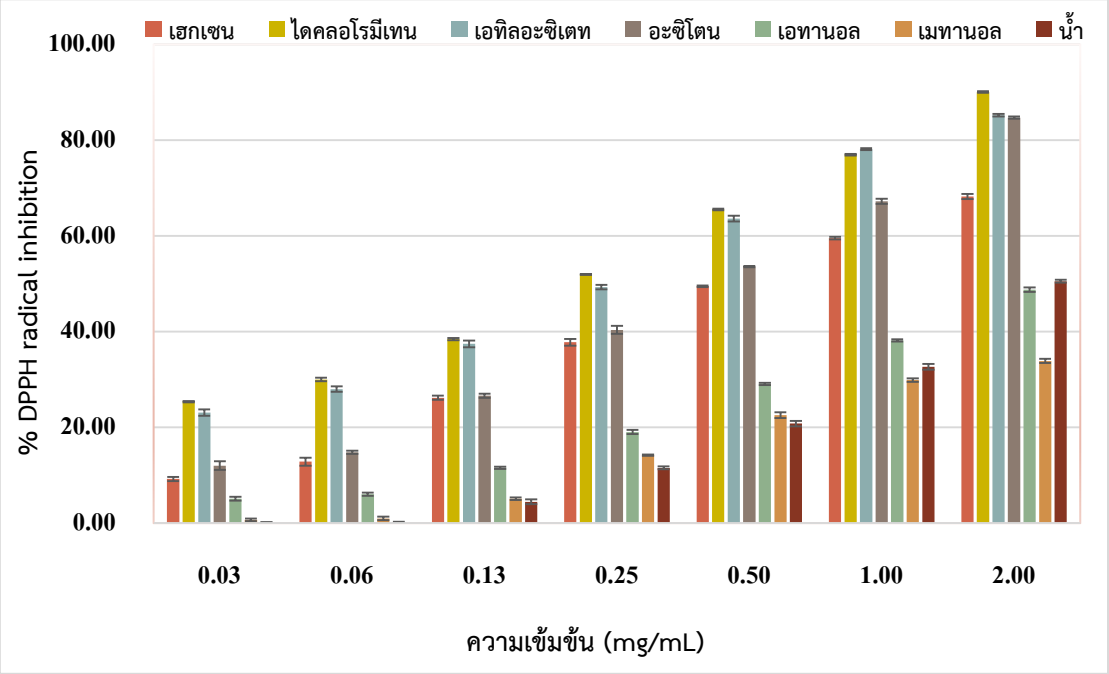
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชทั้ง 3 ชนิด ดังภาพที่ 3-5 พบว่าสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง (78.08±0.25 %) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า สันโสก (75.99±1.15 %) และส่องฟ้า (19.18±0.67 %) ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวมที่น้ำมันหอมระเหยจากส่องฟ้าดง พบปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด รองลงมาคือ สันโสก และส่องฟ้าตามลำดับ



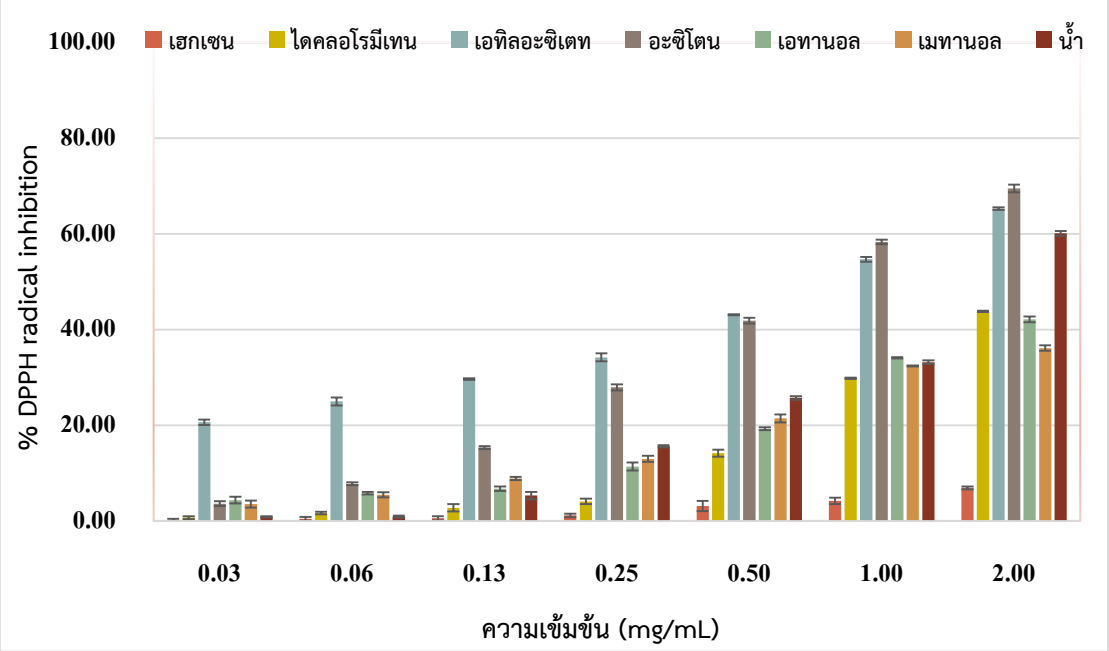
รูปที่ 3-6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของส่องฟ้าดง



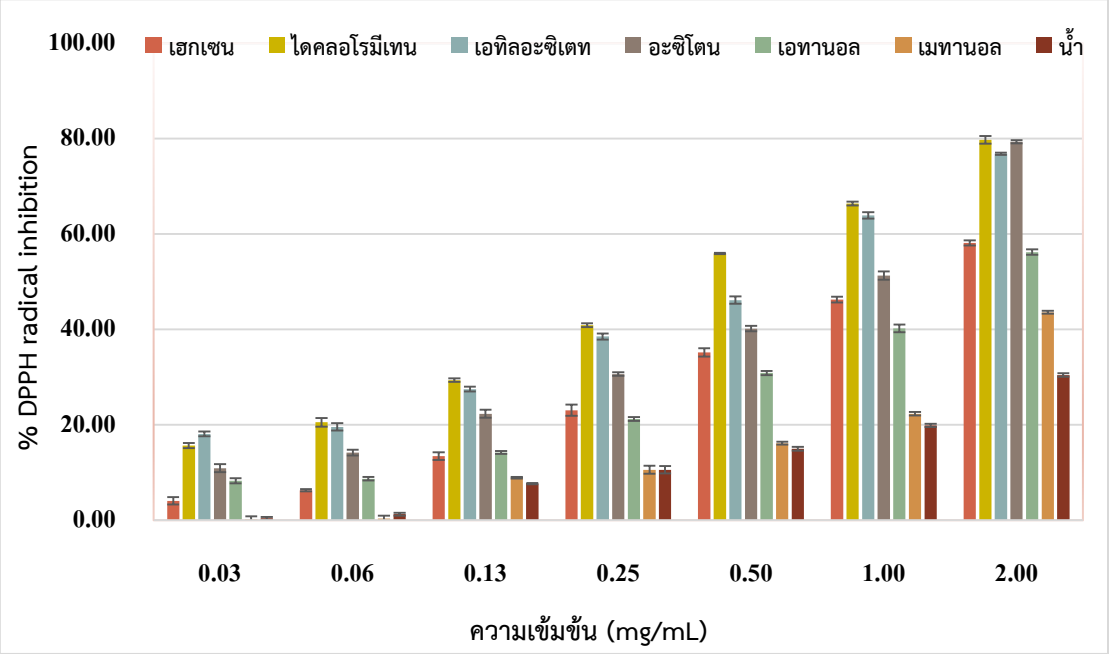
รูปที่ 3-7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของส่องฟ้าดง



รูปที่ 3-8 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้าดง

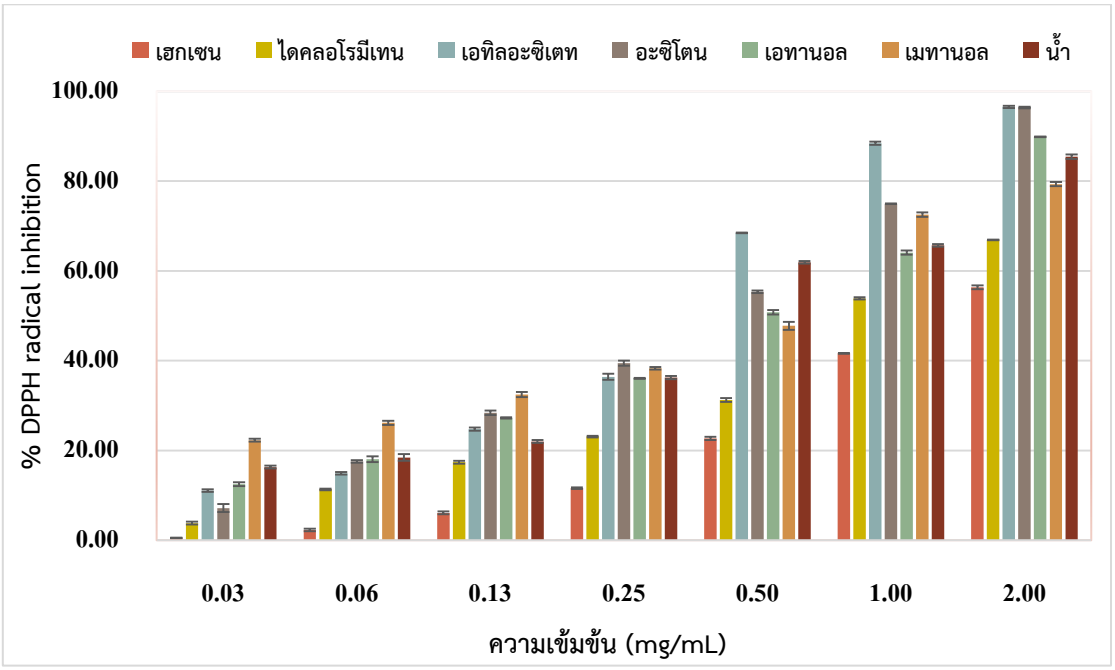


รูปที่ 3-9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของส่องฟ้าดง

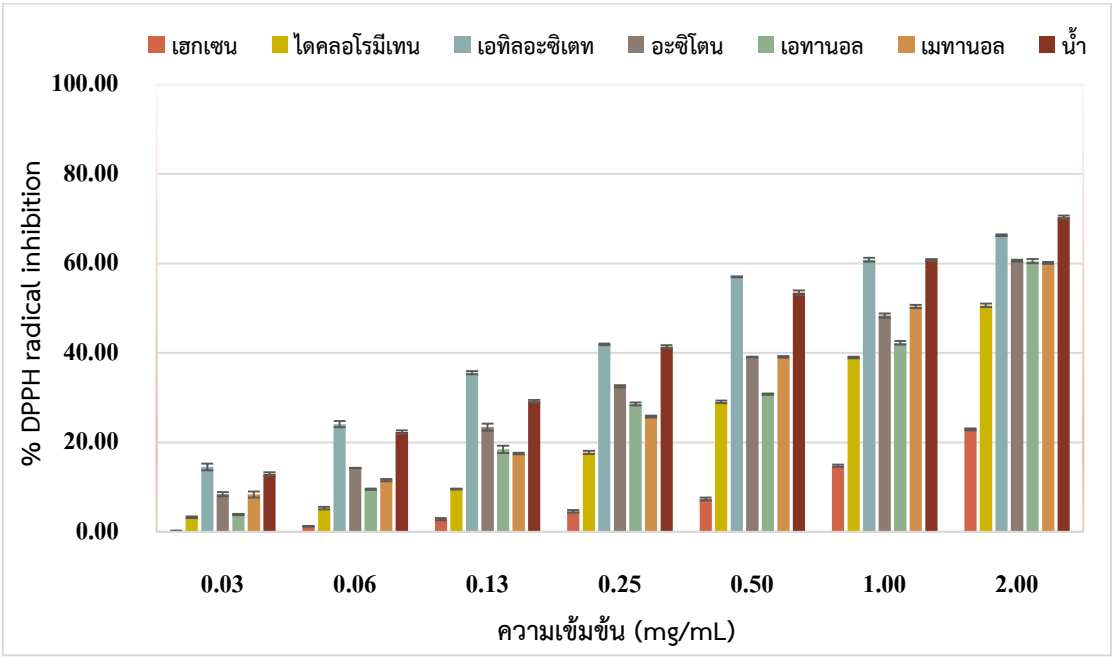


รูปที่ 3-10 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของส่องฟ้าดง

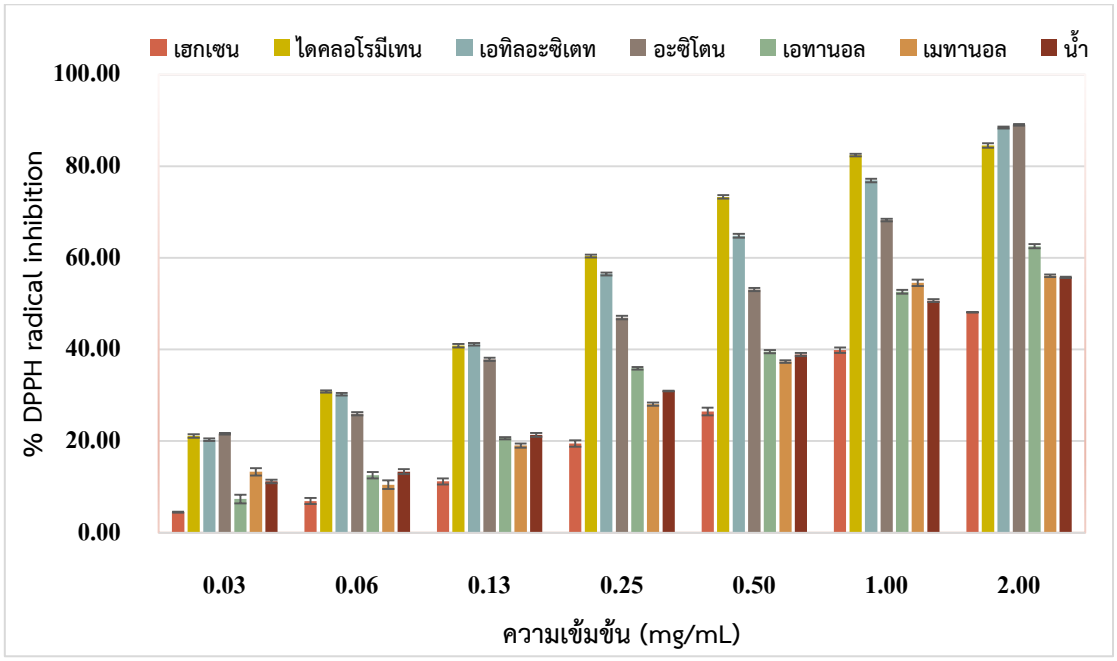
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังรูปที่ 3-6 ถึง รูปที่ 3-10 ของส่วนสกัดหยาบจากใบ กิ่ง เปลือกต้น ลำต้น และรากของส่องฟ้าดง พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน (90.06±0.18 %) เอทิลอะซิเตท (85.20±0.27 %) และอะซิโตน (84.72±0.21 %) จากเปลือกลำต้น มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลาง มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี และจากการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง พบว่าส่วนเปลือกลำต้น และราก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ส่วนสกัดส่วนอื่นๆ เช่น ใบ ลำต้น และกิ่ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกัน



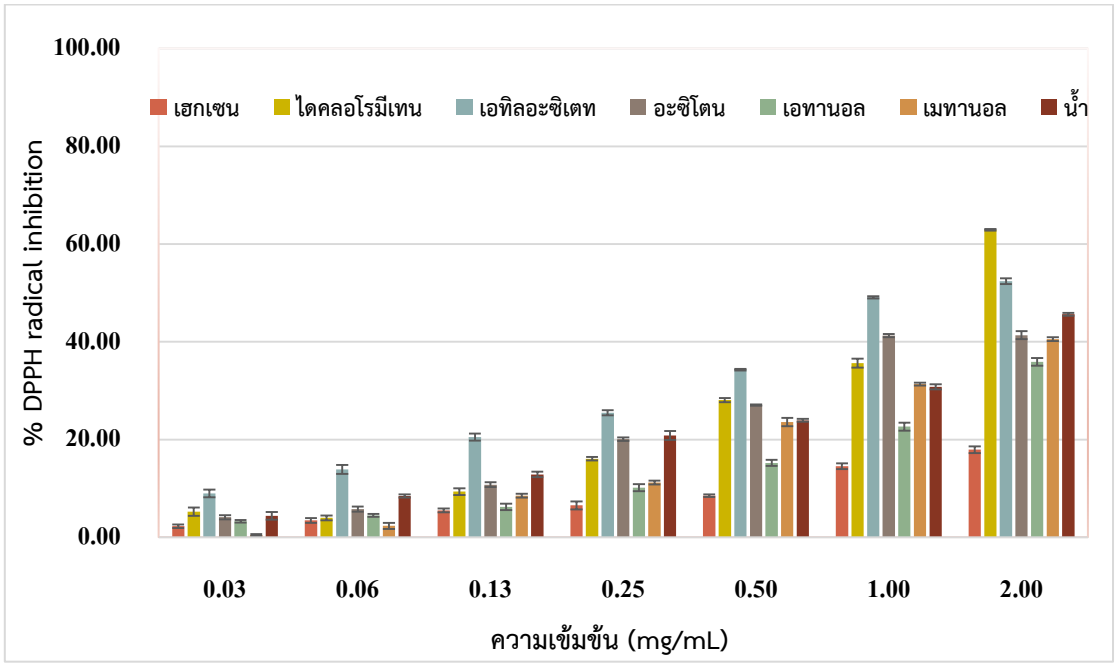
รูปที่ 3-11 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของส่องฟ้า



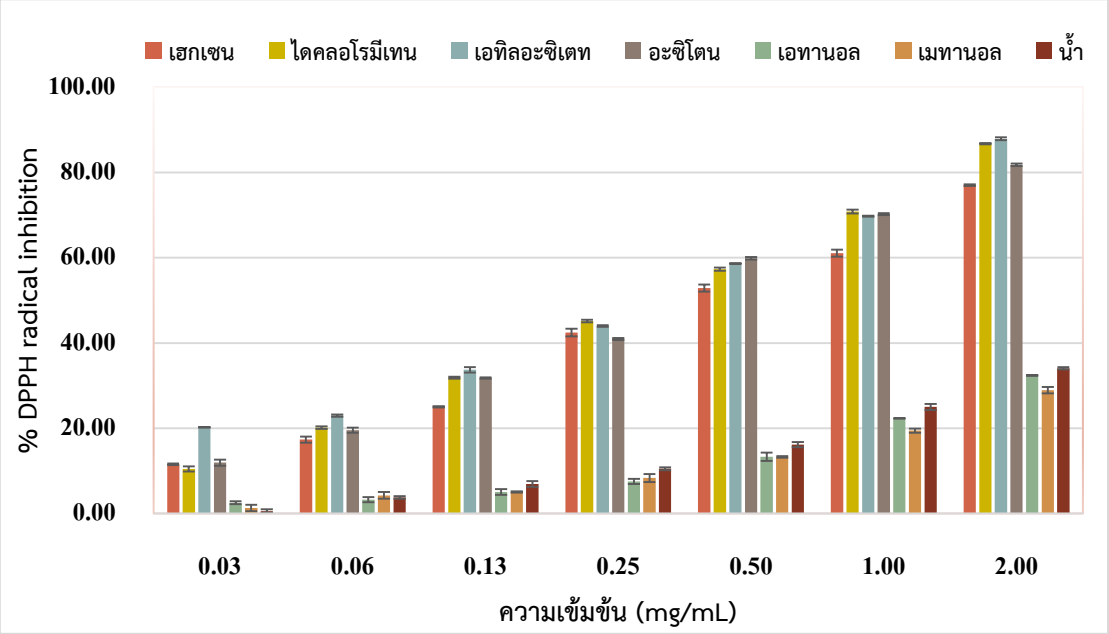
รูปที่ 3-12 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของส่องฟ้า



รูปที่ 3-13 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้า

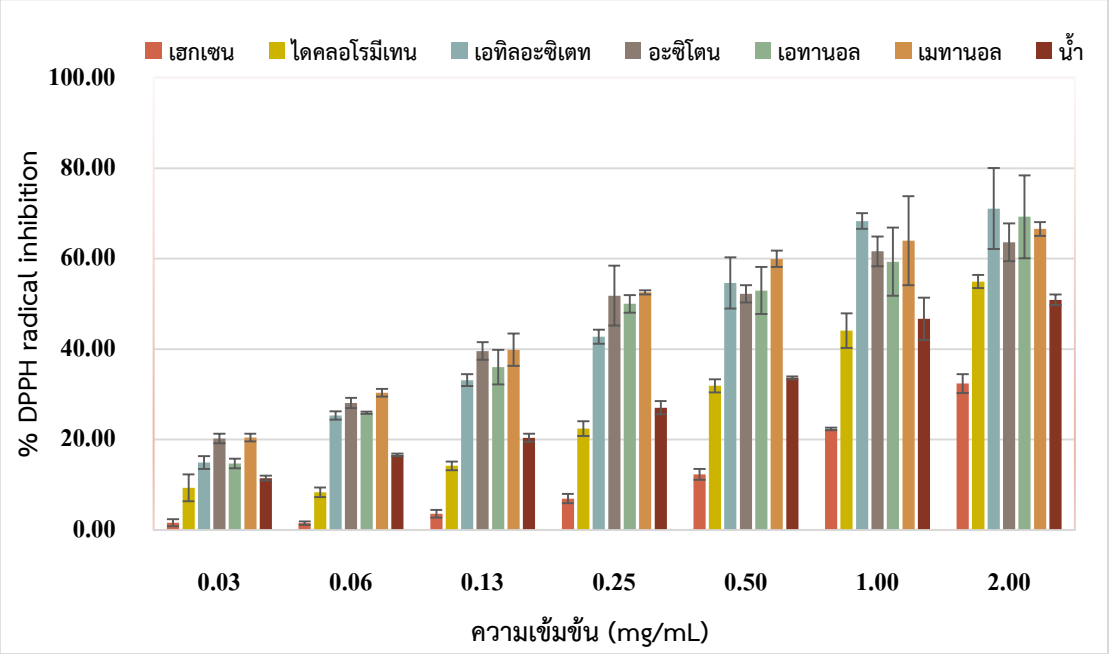


รูปที่ 3-14 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของส่องฟ้า

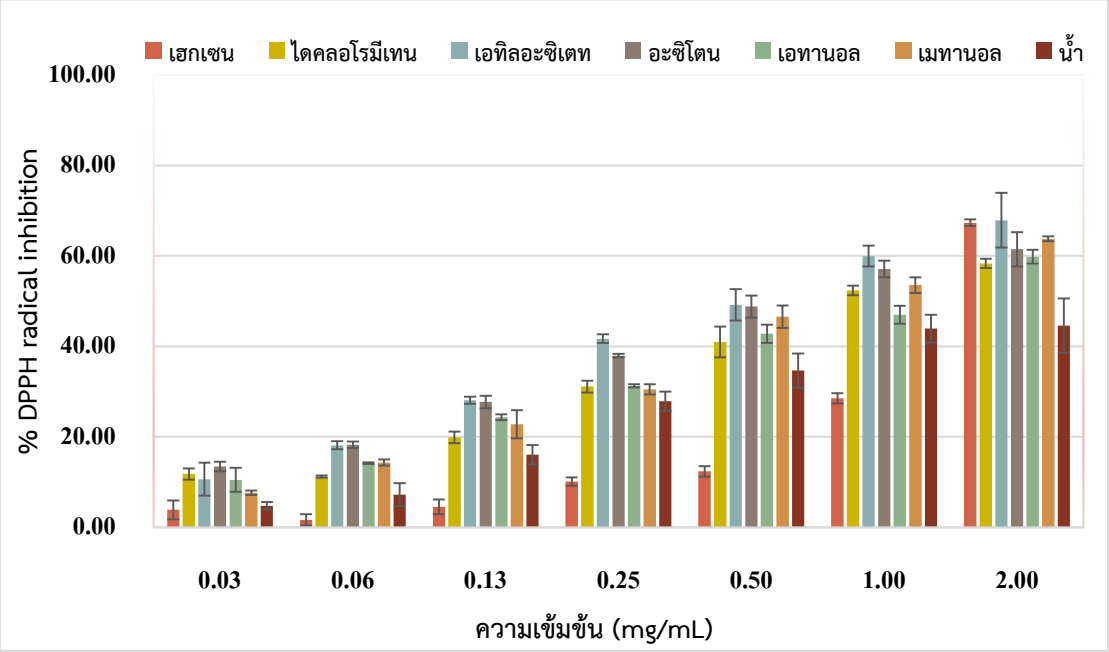


รูปที่ 3-15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของส่องฟ้า

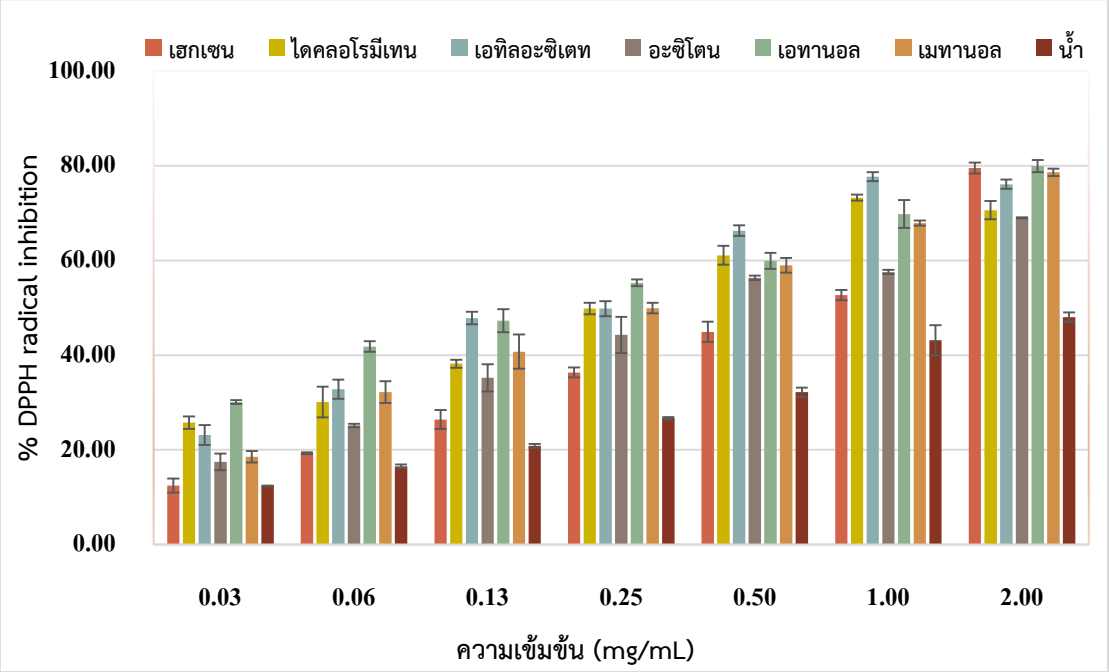
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังรูปที่ 3-11 ถึง รูปที่ 3-15 ของส่วนสกัดหยาบจากใบ กิ่ง เปลือกต้น ลำต้น และรากของส่องฟ้า พบว่าที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (96.54±0.25 %) อะซิโตน (96.39±0.18 %) และเอทานอล (89.86±0.07 %) จากใบ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางของพืชในส่วนเปลือกลำต้นและราก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยมีร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 88.44±0.19 ถึง 77.04±0.26 % และในส่วนของใบพบว่าตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางถึงสูงจะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีเช่นกันนอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า พบว่าส่วนใบ เปลือกลำต้น และราก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าส่วนสกัดส่วนอื่นๆ เช่น ลำต้น และกิ่ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกัน



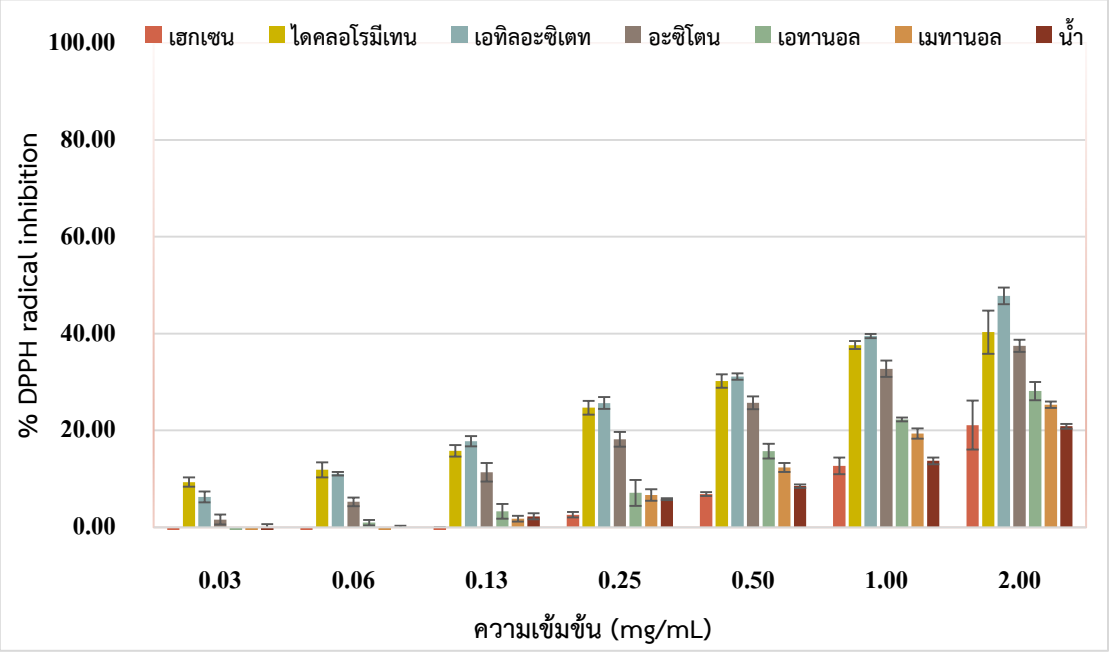
รูปที่ 3-16 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของสันโสก



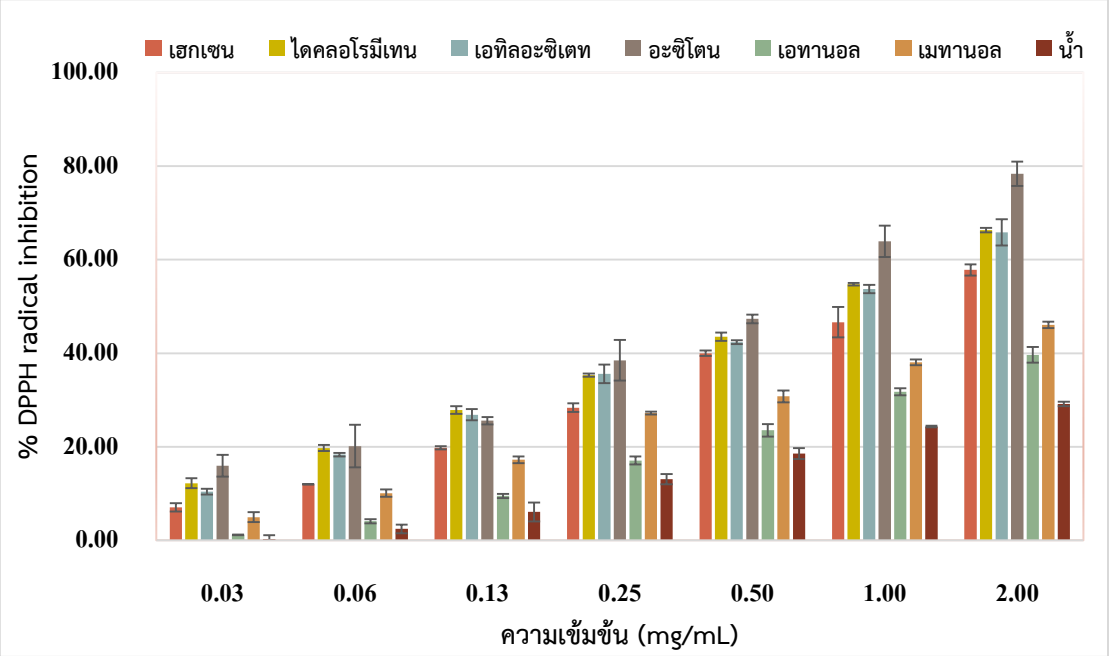
รูปที่ 3-17 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของสันโสก



รูปที่ 3-18 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของสันโสก



รูปที่ 3-19 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของสันโสก



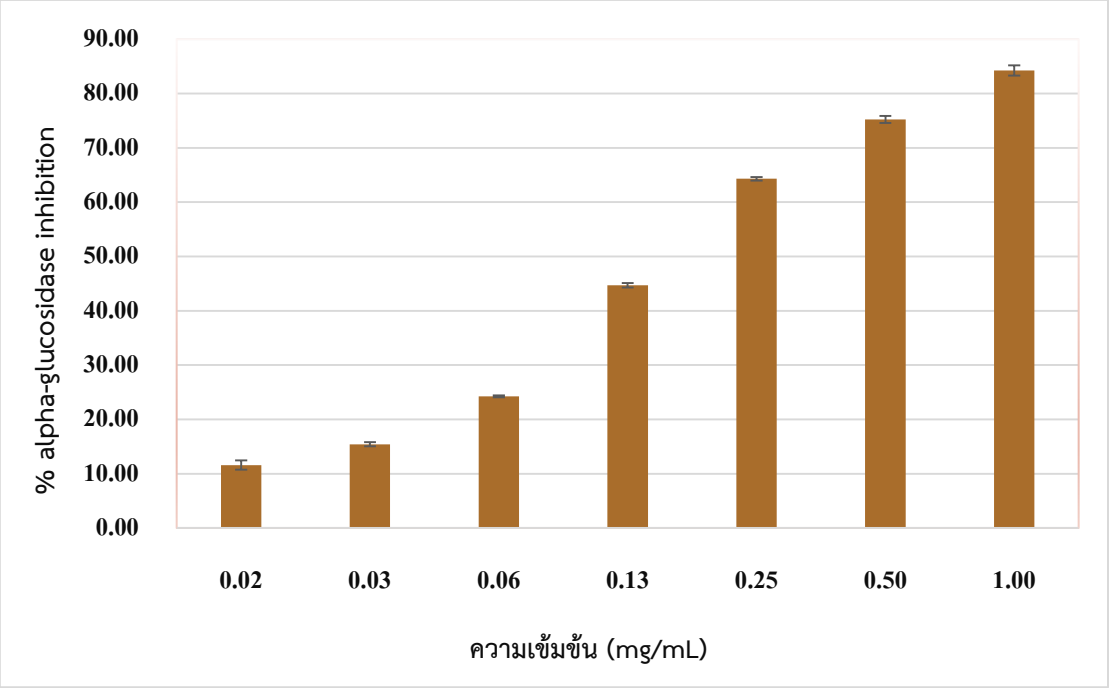
รูปที่ 3-20 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของสันโสก

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังรูปที่ 3-16 ถึง รูปที่ 3-20 ของส่วนสกัดหยาบจากใบ กิ่ง เปลือกต้น ลำต้น และรากของสันโสก พบว่าที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบชั้น เอทานอล (79.91±1.30 %) เฮกเซน (79.50±1.16 %) และเมทานอล (78.61±0.76 %) จากเปลือกลำต้นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก พบว่าส่วน เปลือกลำต้น กิ่ง ใบ และราก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีเท่าๆ กัน สำหรับส่วนสกัดในส่วนลำต้น จะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่น้อยกว่ามาก

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดหยาบจากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด ของพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด คือ ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก พบว่าพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีพอๆ กัน โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางจะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี และนอกจากนี้พบว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนลำต้นของพืชทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวมของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ในส่วนลำต้นที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด แสดงว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กล่าวคือส่วนสกัดหยาบที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากก็จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี

3.5 ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti-α-glucosidase activity)

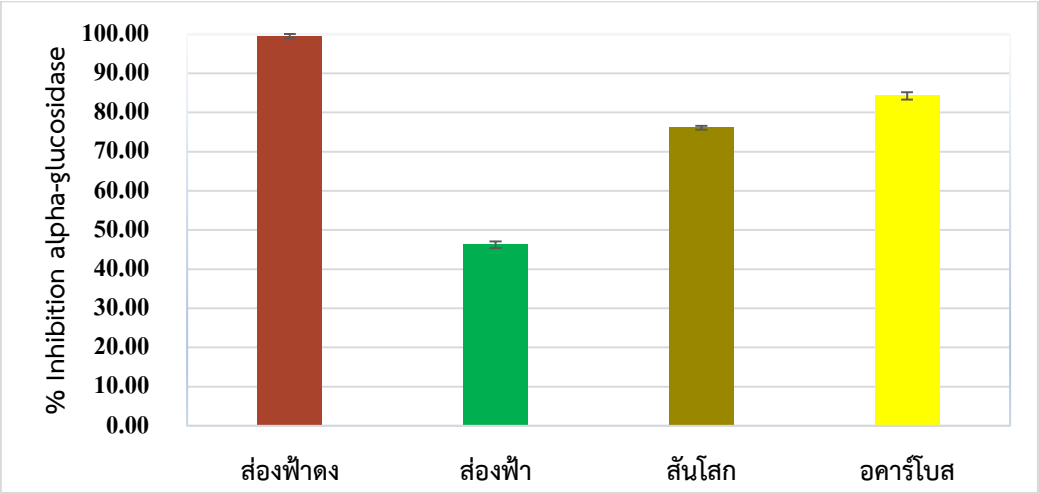
จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ด้วยวิธี *p*-nitrophenol colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Matsui, Yoshimoto, Oki, and Osajima (1996) โดยใช้อคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐาน และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของอคาร์โบสที่ใช้เป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 2 mg/mL ได้ผลการทดลองแสดงเป็นค่าร้อยละของฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังรูปที่ 3-21



รูปที่ 3-21 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอคาร์โบส

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอคาร์โบส ดังรูปที่ 3-21 พบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 84.27 ±0.93 ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL

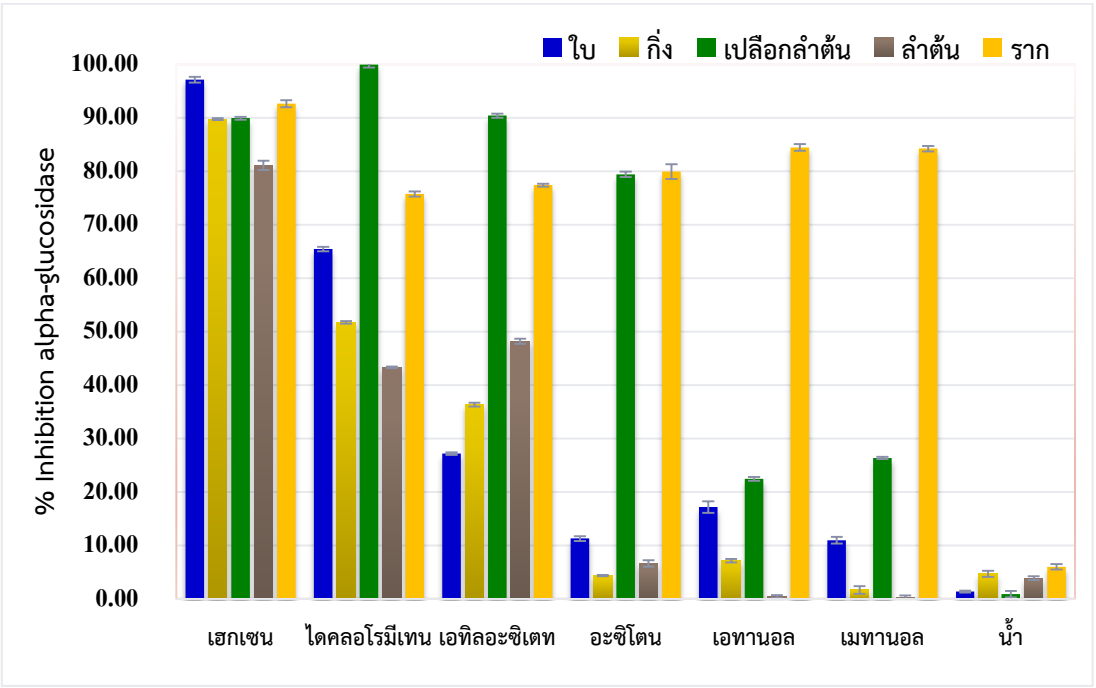
จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส โดยแอลฟา-กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ในผู้ป่วยเบาหวาน การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส จะช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดลงได้ ดังนั้นการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสด และสารสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิด จากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกันกับสารมาตรฐาน โดยรายงานด้วยค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส จากการทดสอบได้ผลดังรูปที่ 3-22 ถึงรูปที่ 3-24



* ผลการทดสอบที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL

รูปที่ 3-22 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย

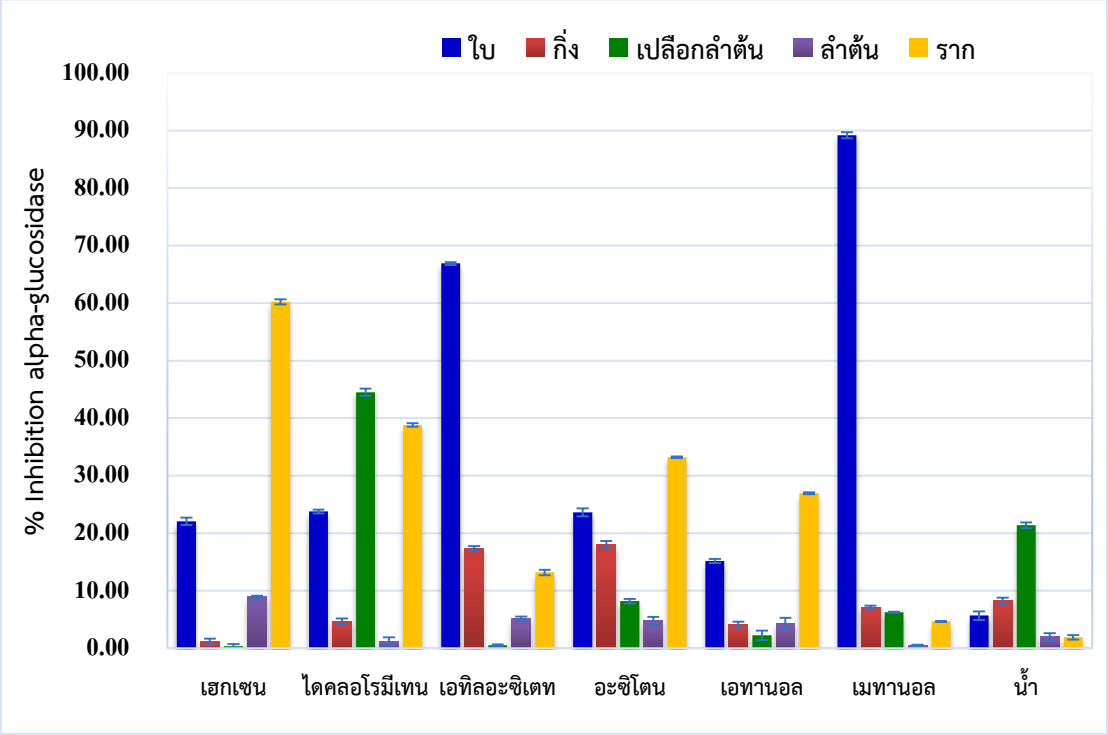
จากผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชทั้ง 3 ชนิด ดังรูปที่ 3-22 พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง (99.56±0.55 %) แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ดีกว่าสันโสก (76.09±0.50 %) และส่องฟ้า (46.23±0.82 %) และพบว่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่องฟ้าดงมีค่ามากกว่าสารมาตรฐาน อคาร์โบส (84.27±0.93 %) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน



* ผลการทดสอบที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL

รูปที่ 3-23 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบของส่องฟ้าดง

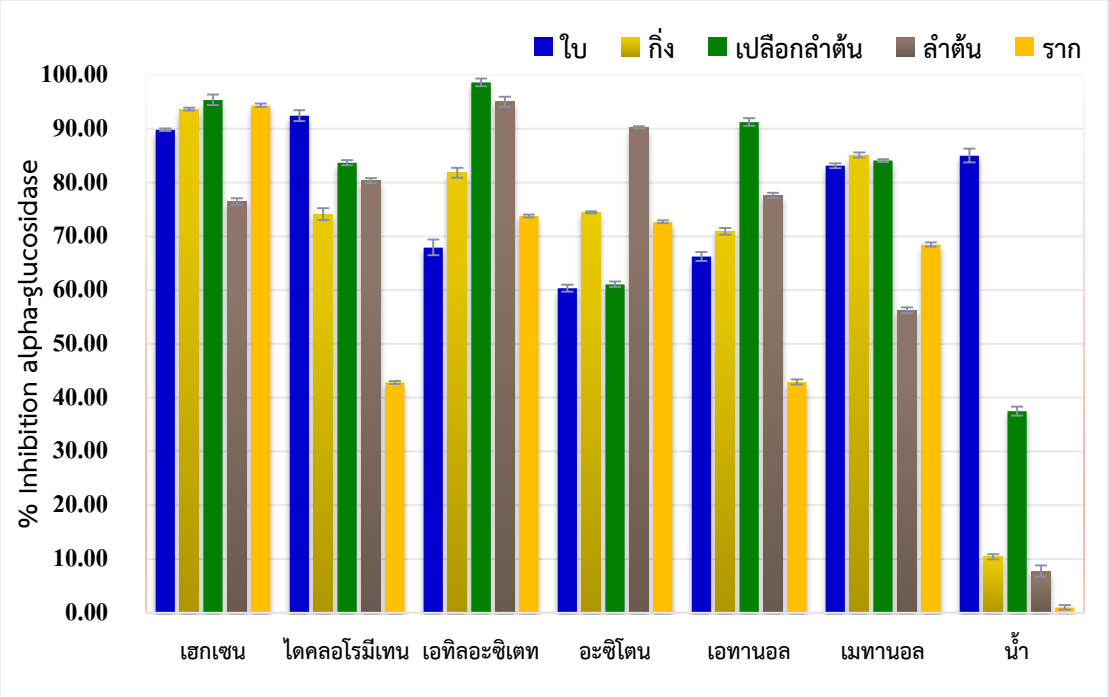
จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังภาพที่ 3-23 ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน (99.94±0.59%) จากเปลือกลำต้น มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ส่วนสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนจากใบ (97.10±0.53%) และราก (92.61±0.69%) ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าในตัวทำละลายเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดีที่สุด ที่มีค่าอยู่ในช่วง 81.08±0.84 ถึง 97.10±0.53% และพบว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางของพืชในส่วนเปลือกลำต้นมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่สูง (79.38±0.50 ถึง 99.94±0.59 %) นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนสกัดหยาบจากรากแทบทุกตัวทำละลายอินทรีย์มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ดีเท่าๆ กัน มีค่าอยู่ในช่วง 75.73±0.46 ถึง 92.61±0.69% ยกเว้นตัวทำละลายที่เป็นน้ำมีฤทธิ์การยับยั้งน้อย และยังพบอีกว่าสารสกัดหยาบชั้นน้ำจากทุกส่วนของพืชที่ศึกษามีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่น้อยที่สุด นอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของส่องฟ้าดง พบว่าส่วน เปลือกลำต้น และราก มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีเท่าๆ กัน สำหรับส่วนสกัดในส่วน ใบ กิ่ง และลำต้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่าๆ กัน และพบว่าส่วนสกัดหยาบของส่องฟ้าดงในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยมีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่สูงกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.93%) ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL



* ผลการทดสอบที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL

รูปที่ 3-24 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบของส่องฟ้า

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสดังรูปที่ 3-24 ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอล (89.16±0.53 %) จากใบ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุด และสูงกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.98 %) รองลงมาคือส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทจากใบ (66.87±0.23 %) นอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ไม่ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ นอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้า พบว่าใบและราก มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่สูงเมื่อเทียบกับส่วนเปลือกลำต้นและกิ่ง สำหรับส่วนลำต้นมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสน้อยที่สุด



* ผลการทดสอบที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL

รูปที่ 3-25 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบของสันโสก

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังภาพที่ 3-25 ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นในชั้นเอทิลอะซิเตท (98.65±0.74 %) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่สุดที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากส่วนเปลือกลำต้น (95.39±0.98 %) และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากส่วนราก (94.39±0.33 %) ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงมาก มีประสิทธิภาพในการการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดี และสูงกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.93 %) และจากการ

เปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสันโสก พบว่าแทบทุกส่วนมีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีเท่าๆ กัน

เมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งภาวการเกิดโรคเบาหวาน ผ่านการทดสอบหาองค์ปรกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ พบว่า จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด สารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้าดง (99.94±0.59 %) มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (80.49±0.16 mgGAE/g) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (90.06±0.18 %) ที่พบสูงที่สุดเช่นเดียวกัน นอกจากนี้พบว่าทุกๆ ตัวทำละลายของส่วนสกัดจากสันโสกมีประสิทธิในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสดีกว่าส่องฟ้าดง และส่องฟ้า ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่าทุกๆ ส่วนสกัดจากสันโสกยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสดีกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบสอีกด้วย ดังนั้นสันโสก (*Clausena excavata*) น่าจะสามารถพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์และนวัตกรรมในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยารักษาและป้องกันโรคเบาหวานต่อไปได้

3.6 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และความเป็นพิษต่อเซลล์

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำมันหอมระเหย (Volatile oils) จากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดคือ ส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*) โดยการยับยั้งสารสื่อกลางการอักเสบที่มีชื่อว่าไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide) จากเซลล์แมคโคฟาจชนิด RAW264.7 โดยใช้ Apigenin เป็นยาต้านการอักเสบมาตรฐาน ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3-12 อีกทั้งได้ทำการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดที่ได้ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงปกติชนิด Vero (Vero cells) ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3-12

ตารางที่ 3-12 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และความเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด

ความเข้มข้น	ส่องฟ้าดง		ส่องฟ้า		สันโสก	
(mg/mL)	% NO inhibition	% cell viability	% NO inhibition	% cell viability	% NO inhibition	% cell viability
500	98 ± 2.26	9 ± 5.10	97 ± 1.31	70 ± 9.87	100 ± 8.56	9 ± 5.67
250	99 ± 0.85	105 ± 8.44	82 ± 9.61	101 ± 4.21	100 ± 1.60	8 ± 4.61
125	70 ± 6.32	102 ± 9.76	29 ± 8.23	94 ± 0.16	99 ± 1.34	99 ± 8.45
62.5	36 ± 0.85	94 ± 9.76	15 ± 9.29	90 ± 0.09	94 ± 7.94	101 ± 4.88
31.25	14 ± 9.87	98 ± 8.86	5 ± 3.17	93 ± 2.68	60 ± 7.19	103 ± 9.78
Apigenin	82 ± 4.36	102 ± 5.61	82 ± 4.36	102 ± 5.61	82 ± 4.36	102 ± 5.61
IC_{50}	**0.087 ± 0.01**		**0.177 ± 0.01**		**0.031 ± 0.01**	

จากตารางที่ 3-12 พบว่าสันโสก (*C. excavata*) แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งสารสื่อกลางการอักเสบที่มีชื่อว่าไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide, NO) จากเซลล์แมคโคฟาจชนิด RAW264.7 ได้ดีที่สุด (IC_{50} = 0.031 ± 0.01 mg/mL) รองลงมาคือส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) และส่องฟ้า (*C. guillauminii*) ตามลำดับ นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงปกติชนิด Vero (Vero cells) อีกด้วย

3.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Phytochemical analysis)

จากการศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ สำหรับแมสสเปกโตรมิเตอร์ สัดส่วนมวลต่อประจุ (m/z) เท่ากับ 50-650 บ่งชี้คุณลักษณะของสารโดยการเปรียบเทียบสเปกตรัมกับ National Institute of Standard and Technology (NIST) Mass Spectral Search Program และ Chemstation Wiley Spectral Library โดยเทียบเคียงกับสารที่มี mass spectra ของสารที่มี %quality match มากกว่า 80% พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด แสดงดังตารางที่ 3-13

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ดังตารางที่ 3-13 พบว่า น้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) พบ oxygenated monoterpenes เป็นองค์ประกอบหลักสูงถึงร้อยละ 64.41 รองลงมาคือ monoterpene hydrocarbons (25.77%) โดย oxygenated monoterpenes ที่พบมากที่สุดคือ Terpien-4-ol (34.34%) และ monoterpene hydrocarbons ที่พบมากที่สุดคือ α-Sabinene (21.62%) ส่วนน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้า (*C. guillauminii*) พบองค์ประกอบทางเคมีหลักเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolics) สูงถึงร้อยละ 99.29 และสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดคือ Anethole (62.38%) รองลงมาคือ Estragole (24.54%) และ Safrole (11.60%) ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสันโสก (*C. excavata*) ก็พบองค์ประกอบทางเคมีหลักเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolics) เช่นเดียวกับน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้า โดยน้ำมันหอมระเหยจากสันโสกพบองค์ประกอบทางเคมีหลักเป็นสารประกอบฟีนอลิกสูงถึงร้อยละ 76.19 โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดคือ Seselin (38.49%) รองลงมาคือ Anethole (14.18%)

จากเปรียบเทียบผลการทดลองการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดงแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (78.08±0.25 %) ดีกว่าสันโสก (75.99±1.15 %) และส่องฟ้า (19.18±0.67 %) ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL ดังนั้นจึงคาดว่า oxygenated monoterpenes (Terpien-4-ol) ที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดงน่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งเมื่อทำการปรียบเทียบผลการทดลองการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) กับฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ก็พบว่าน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง ก็ยังคงแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุด (99.56±0.55 %) และดีกว่ายามาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.93 %) ที่อีกด้วย จากผลการทดลองดังกล่าวก็คาดได้ว่าองค์ประกอบทางเคมีที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล และเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคเบาหวานนั้น น่าจะเป็นองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่มของ oxygenated monoterpenes และ oxygenated monoterpenes ดังกล่าวนั้นก็คือ Terpien-4-ol ที่เป็นองค์ประกอบหลักนั่นเอง ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*) น่าจะสามารถพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์และนวัตกรรมในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยารักษาและป้องกันโรคเบาหวานต่อไปได้

ตารางที่ 3-13 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด

No.	Compounds	RT[a]	Content (%)			Identification method
			C. harmandiana	*C. guillauminii*	*C. excavata*	
1	α-Sabinene	9.03	**21.62**	-	-	MS[c]
2	γ-Terpinene	11.52	1.16	-	-	MS
3	trans-4-Thujanol	11.79	5.13	-	-	MS
4	cis-4-Thujanol	12.72	8.71	-	-	MS
5	Linalool	12.76	-[b]	-	3.00	MS
6	cis-*p*-2-Menthen-1-ol	13.39	2.87	-	-	MS
7	trans-*p*-2-Menthen-1-ol	13.91	1.82	-	-	MS
8	Terpien-4-ol	15.11	**34.34**	-	-	MS
9	(-)-α-Terpineol	15.42	2.04	-	-	MS
10	(-)-Myrtenol	15.50	0.49	-	-	MS
11	trans-Piperitol	15.55	0.61	-	-	MS
12	Estragole	15.72	-	**24.54**	1.84	MS
13	cis-Piperitol	15.89	0.93	-	-	MS
14	Coumaran	16.16	3.41	-	-	MS
15	Anethole	18.30	-	**62.38**	**14.18**	MS
16	4-Vinylguaiacol	18.81	1.30	-	5.27	MS
17	Vanillin	21.02	1.40	-	-	MS
18	Safrole	20.54	-	**11.60**	3.31	MS
19	β-elemene	20.91	-	-	0.88	MS
20	Caryophyllene	21.64	0.77	0.72	2.24	MS
21	4-Propylguaiacol	22.56	1.14	-	-	MS
22	trans-Isoeugenol	22.67	-	0.77	0.53	MS
23	β-Copaene	23.19	-	-	6.60	MS
24	β-Cyclogermacrane	23.56	-	-	0.88	MS
25	trans-Nerolidol	25.08	-	-	0.97	MS
26	(-)-Globulol	25.64	-	-	0.53	MS
27	(+)-Isospathulenol	26.65	-	-	0.41	MS
28	Cedrelanol	26.95	-	-	1.02	MS
29	Epicubebol	27.04	-	-	0.44	MS
30	τ-Muurolol	27.24	-	-	1.90	MS
31	5-Cyclodecen-1-ol	27.95	-	-	0.46	MS
32	Seselin	34.47	0.66	-	**38.49**	MS
	Monoterpene hydrocarbons (%)		25.77	0.00	0.00	
	Oxygenated Monoterpenes (%)		**64.41**	0.00	3.59	
	Sesquiterpene hydrocarbons (%)		0.87	0.72	13.35	
	Oxygenated Sesquiterpenes (%)		0.00	0.00	6.86	
	Phenolics (%)		8.95	**99.29**	**76.19**	
	Identified components (%)		88.40	100.01	83.50	
	Unidentified components (%)		11.61	0.00	16.50	

[a] Retention time (min.); [b] Not found;

[c] Comparison of mass spectra with those listed in the NIST 05 and Wiley 275 libraries and with published data.

4. สรุปผลการทดลอง (Conclusion)

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาและค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Clausena* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรวงศ์ส้มสกุลหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยาและส่วนประกอบทางยาต่อการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของโรคเบาหวาน โดยขั้นแรกจะทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในสกุล *Clausena* สายพันธุ์ต่างๆ อาทิ ส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*) เป็นต้น และนำมาทำการศึกษาการสกัดด้วยกระบวนการทางเคมี โดยทำการสกัด (extraction) ส่วนต่างๆ จากพืชในสกุล *Clausena* สายพันธุ์ต่างๆ ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความมีขั้วแตกต่างกันตั้งแต่ขั้วน้อยจนถึงขั้วมาก หลังจากนั้นจะทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชในสกุล *Clausena* สายพันธุ์ต่างๆ เพื่อค้นพบสารออกฤทธิ์สำหรับการรักษาโรคเบาหวาน โดยการแยก (separation) การทำให้บริสุทธิ์ (purification) และการพิสูจน์ยืนยันโครงสร้าง (identification) ด้วยเทคนิคทางสเปกโทสโกปี สุดท้ายจะทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งภาวะทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของการเกิดโรคเบาหวาน เช่น ฤทธิ์ยับยั้งการลดระดับน้ำตาลในเลือก โดยทำการทดสอบผ่านการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเบาหวาน การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ของสารสกัดหยาบจากพืชในสกุล *Clausena* สายพันธุ์ต่างๆ

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเบาหวาน ของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย (Volatile oils) จากใบสดของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด คือ ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และ สันโสก ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL พบว่า ส่องฟ้าดง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (78.08±0.25 %) ได้ดีกว่าสันโสกและส่องฟ้า และที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ส่องฟ้าดง ก็ยังคงแสดงฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (99.56±0.55 %) ได้ดีกว่าสันโสกและส่องฟ้าเช่นเดียวกัน อีกทั้งพบว่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่องฟ้าดง มีค่ามากกว่าสารมาตรฐาน อคาร์โบส (84.27±0.93 %) อีกด้วย นอกจากนี้ปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้ง 3 ชนิด นั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มที่ไม่ใช่สารประกอบฟลาโวนอยด์ จากเปรียบเทียบผลการทดลองการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดงแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ดังนั้นจึงคาดว่า oxygenated monoterpenes (Terpien-4-ol) ที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดงน่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งเมื่อทำการปรียบเทียบผลการทดลองการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) กับฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ก็พบว่าน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง ก็ยังคงแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้ดีที่สุด และดีกว่ายามาตรฐานอคาร์โบสอีกด้วย จากผลการทดลองดังกล่าวก็คาดได้ว่าองค์ประกอบทางเคมีที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล และเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคเบาหวานนั้น น่าจะเป็นองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่มของ oxygenated monoterpenes และ oxygenated monoterpenes ดังกล่าวนั้นก็คือ Terpien-4-ol ที่เป็นองค์ประกอบหลักนั่นเอง ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana* essential oil) น่าจะสามารถพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์และนวัตกรรมในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยารักษาและป้องกันโรคเบาหวานต่อไปได้

นอกจากนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ (Crude extracts) จากส่วนต่าง ๆ ของพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนใบในชั้นเอทิลอะซิเตตและอะซิโตน มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด (96.54±0.25 % และ 96.39±0.18 % ตามลำดับ) และพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกลำต้นในชั้นไดคลอโรมีเทนมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีเช่นเดียวกัน (96.54±0.25 %) นอกจากนี้ยังพบว่าพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีพอ ๆ กัน โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางจะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี สำหรับการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส พบว่าสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้าดง (99.94±0.59 %) มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้ดีที่สุด และมีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส อีกด้วย ซึ่งสอดคล้องปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (80.49±0.16 mgGAE/g) กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (90.06±0.18 %) ที่พบสูงที่สุดเช่นเดียวกัน และพบว่าส่วนสกัดหยาบจากสันโสกแทบทุกส่วนและทุกตัวทำละลายอินทรีย์มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีกว่าส่องฟ้าดงและส่องฟ้า จากข้อมูลการวิจัยดังกล่าวทำให้ทราบว่าส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ส้ม (Rutaceae) ที่พบในประเทศไทยนั้น สามารถนำมาใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน และโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องที่อาจจะเกิดจากอนุมูลอิสระได้ ซึ่งส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก น่าที่จะสามารถพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์และนวัตกรรมในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยารักษาและป้องกันโรคเบาหวานและโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องหรือส่งผลข้างเคียงต่อโรคเบาหวานต่อไปได้ อีกทั้งเป็นการยกระดับพืชสมุนไพรของไทยให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกทางหนึ่งด้วย

ข้อเสนอแนะ การทำวิจัยในขั้นตอนต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้

งานวิจัยนี้พบว่า “พืชวงศ์ส้ม (Rutaceae)” คือ ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวานได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการลดระดับน้ำตาลในเลือด รวมทั้งส่วนสกัดหยาบทุกส่วนสกัดของพืชวงศ์ส้มดังกล่าวนั้น ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย แต่ข้อมูลดังกล่าวเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ถ้าจะนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของอาหารเสริมที่เป็นสารสกัดจากพืชวงศ์ส้ม ควรมีการทดสอบความปลอดภัยในสัตว์ทดลองต่อไป อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้พบว่าการบริโภค “ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก” ในส่วนการนำไปเป็นผักแกล้มกับอาหารก็มีโอกาสที่อาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคเบาหวานซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

บรรณานุกรม

1. สุรพงษ์ มาลี. 2561. รู้จักสังคมสูงอายุ และสถานการณ์ผู้สูงอายุ (ในประเทศไทย). *วารสารข้าราชการ*, 60(4), 5–8.
2. Dall, T.M., Gallo, P.D., Chakrabarti, R., West, T., Semilla, A.P., Storm, M.V. (2013). An aging population and growing disease burden will require a large and specialized health care workforce by 2025. *Health Affairs*, 32(11), 2013–2020.
3. แดนชัย เครื่องเงิน, อเนก หาลี และบุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2556. ชาสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 31(3), 1–9.
4. Chaudhari, S.Y., Ruknuddin, G., Prajapati, P. (2016). Ethno medicinal values of *Citrus* genus: A review. *Medical Journal of Dr. D.Y. Patil University*, 9, 560–565.
5. Borges de Melo, E., Silveira Gomes, A., Carvalho, I. (2006). α- and β-Glucosidase inhibitors: Chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, 62(44), 10277–10302.
6. รื่นจิต เพชรชิต. 2558. พฤติกรรมการดูแลตนเอง และ การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรงพยาบาลเคียนซา จังหวัดสุราษฎร์ธานี. *วารสารเครือข่ายวิทยาลัยพยาบาลและการสาธารณสุขภาคใต้*. 2(2), 15–28.
7. Smitinan, T. 2014. Thai plant names (botanical names-vernacular names). Bangkok, Thailand: Royal Forest Department, 146.
8. อารีนี ชัชวาลชลธีระ และคณะ. (2556). การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคหูชั้นนอกอักเสบในสุนัขของสารสกัดจากลำต้น เปลือกราก และใบของต้นส่องฟ้าดง. *วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข*. 23(1), 110–118.
9. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2560). สมัดน้อย. เข้าถึงได้จาก http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=114.
10. สุธรรม อารีกุล. (2552). องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของประเทศ เล่ม 1-3. เชียงใหม่: มูลนิธิโครงการหลวง.
11. Thongthoom, T., Songsiang, U., Phaosiri, C., Yenjai, C. (2010). Biological activity of chemical constituents from *Clausena harmandiana*. *Archives of Pharmacal Research*, 33, 675–680.
12. Maneerat, W., Phakhodee, W., Ritthiwigrom, T., Cheenpracha, S., Promgool, T., Yossathera, K., Deachathai, S., Laphookhieo, S. (2012). Antibacterial carbazole alkaloids from *Clausena harmandiana* twigs. *Fitoterapia*, 83, 1110–1114.

13. Sriphana, U., Thongsri, Y. (2013). Clauraila E from the roots of *Clausena harmandiana* and antifungal activity against Pythium insidiosum. *Archives of Pharmacal Research*, 36, 1078–1083.
14. Nakamura, T., Kodama, N., Arai, Y., Kumamota, T., Higuchi, Y., Chaichantipyuth, C., Ishikawa, T., Ueno, K., Yano, S. (2009). Inhibitory effect of oxycoumarins isolated from the Thai medicinal plant *Clausena guillauminii* on the inflammation mediators, iNOS, TNF-α, and COX-2 expression in mouse macrophage RAW264.7. *Journal of Natural Medicines*, 63, 21–27.
15. Auranwiwat, C., Laphookhieo, S., Trisuwan, K., Pyne, S.G., Ritthiwigrom, T. (2014). Carbazole alkaloids and coumarins from the roots of *Clausena guillauminii*. *Phytochemistry Letters*, 9, 113–116.
16. Thuy, T.T., Ripperger, H., Porzel, A., Van Sung, T., Adam, G. (1999). Counlarins, limonoids and an alkaloid from *Clausena excavata*. *Phytochemistry*, 52, 511–516.
17. Sripisut, T., Cheenpracha, S., Ritthiwigrom, T., Prawat, U., Laphookhieo, S. (2012). Chemical constituents from the roots of *Clausena excavata* and their cytotoxicity. *Record of Natural Products*, 6, 386–389.
18. Majhenic, L., Skerget, M., & Knez, Z. (2007). Antioxident and antimicrobial activity of guarana seed extract. *Food Chemistry*, 104(3), 1258–1268.
19. Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Legret, P. (1994). Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents. *J de Pharmacie de Belgique*, 49, 462–468.
20. Braca, A., He, X., Zhou, S., Luo, A., He, T., & Chun, Z. (2009). Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 379–381.
21. Matsui, T., Yoshimoto, C., Osajima, K., Oki, T., & Osajima, Y. (1996). In vitro survey of alpha-glucosidase inhibitory food components. *Journal Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 60(12), 2019–2022.
22. Soonthornsit, N., Pitaksutheepong, C., Hemstapat, W., Utaisincharoen, P., Pitaksutheepong, T. (2017). In vitro anti-inflammatory activity of *Morus alba* L. stem extract in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 1–8.

ผลผลิตของโครงการวิจัย (Output)

1. ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ อยู่ระหว่างดำเนินการ จำนวน 2 เรื่อง
    a. Anan Athipornchai*, Rungnapha Kumpang and Suwanna Semsri. Potential biological activities of *Clausena* essential oils for the treatment of Diabetes. (Submitted in Journal of Oleo Science).
    b. Anan Athipornchai*, Pongsakorn Jaikwang and Suwanna Semsri. Bioactive coumarins from *Clausena harmandiana* leaves for diabetes treatment. (Manuscript in preparation).
2. ผลิตบัณฑิตนักวิจัยรุ่นใหม่ระดับปริญญาโท สาขาเคมีศึกษา จำนวน 1 คน คือนางสาวรุ้งนภา คำแพง
3. ผลิตบัณฑิตนักวิจัยรุ่นใหม่ระดับปริญญาตรี สาขาเคมี จำนวน 1 คน คือนายพงศธร ใจกว้าง
4. ได้กรรมวิธี และกระบวนการใหม่ ในการสกัดสารออกฤทธิ์ และแยกสาบริสุทธิ์จากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด คือส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*)
5. ได้เทคโนโลยีใหม่ในการสกัดสารออกฤทธิ์ และแยกสาบริสุทธิ์จากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด คือส่องฟ้าดง (*C. harmandiana*) ส่องฟ้า (*C. guillauminii*) และสันโสก (*C. excavata*)