



ระดับสารต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านเซลล์แก่
ของสารสกัดไมยราบ

Antioxidant Levels Antioxidant Anti-Inflammatory and Anti-Senescence cells
Activities of *Mimosa Pudica* L.

พิชาพัชร ฐิตินอนภิกษณ์^{1*} ศุภรัตน์ ดวนใหญ่² อัจฉรา แก้วน้อย² อ้อมบุญ วลิสุต²
และ จันทนา ยะหัวฝาย³

¹สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร สกลนคร
47160

²สาขาแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร 10600

³งานวิจัยคลินิกและนวัตกรรม สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพมหานคร 10400

Pichapat Thititanaapipong^{1*}, Supharat Duanyai², Atchara Kaewnoi², Omboon Vallisuta²
and Jantana Yahuafai³

¹Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of
Technology Isan Sakon Nakhon Campus, Sakon Nakhon 47160

²Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology Bansomdejchaopraya
Rajabhat University, Bangkok 10600

³Research Clinic and Innovation National Cancer Institute, Bangkok 10400

*Corresponding author: pichapat.th@rmuti.ac.th

Received: 1 November 2024/ Revised: 4 April 2025/ Accepted: 9 April 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับสารต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต้านการอักเสบ และต้านเซลล์แก่ของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 จากการศึกษาพบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 228.021 ± 0.91 และ 372.782 ± 1.49 mg GAE/g extract และพบสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม 13.422 ± 0.21 และ 49.010 ± 0.49 mg QE/g extract ตามลำดับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากลำต้นเหนือดินและราก พบค่า IC_{50} เท่ากับ 8.479 ± 0.19 และ 5.707 ± 0.49 μ g/mL ตามลำดับเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging capacity assay (DPPH assay) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS radical cation decolorization assay (ABTS^{•+}) เท่ากับ 17.772 ± 0.62 และ 14.589 ± 0.25 mg ascorbic acid equivalent/g extract ตามลำดับเมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS assay และมีค่า Ferric ion reducing antioxidant power assay (FRAP assay) เท่ากับ 3750.108 ± 18.17 และ 5243.727 ± 23.27 mM FeSO₄ equivalent/g extract ตามลำดับเมื่อทดสอบด้วยวิธี

FRAP assay ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิต Nitric Oxide (NO), Prostaglandin E₂ (PGE₂) และ Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-Alpha) ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ที่กระตุ้นการอักเสบด้วย lipopolysaccharide (LPS) พบว่าสารสกัดไมยราบส่วนลำต้นเหนือดินและราก ที่ความเข้มข้น 125, 250, 500 µg/mL สามารถลดการสร้าง NO, PGE₂ และ TNF-Alpha ในเซลล์มาโครฟาจได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ผลจากการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ พบว่าสามารถยับยั้งการเสื่อมของเซลล์มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดไมยราบส่วนลำต้นเหนือดินและราก มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ด้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ได้ ซึ่งเป็นการสนับสนุนการนำไมยราบมาใช้ประโยชน์ในการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพผิว และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับไมยราบในการพัฒนาเป็นเวชสำอางต่อไป

คำสำคัญ : ไมยราบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านอักเสบ ฤทธิ์ต้านเซลล์แก่

Abstract

This study aimed to investigate the Antioxidant Levels Antioxidant Anti-Inflammatory and Anti-Senescence cells activities of the 95% ethanol extracts of the aerial parts and roots of *Mimosa pudica* L. The results showed that both the aerial parts and roots of *M. pudica* contained total phenolic contents of 228.02 ± 0.91 and 372.78 ± 1.49 mg GAE/g extract, and total flavonoid content of 13.42 ± 0.22 and 49.01 ± 0.49 mg QE/g extract, respectively. The Antioxidant Activity of the *M. pudica* extracts from aerial parts and roots, when tested using the DPPH assay, yielded IC₅₀ values of 8.48 ± 0.19 and 5.71 ± 0.49 µg/ml, by ABTS assay yielded values of 16.65 ± 0.47 and 14.589 ± 0.25 mg ascorbic acid equivalent/g extract, and by FRAP assay yielded values of 3750.11 ± 18.17 and 5243.73 ± 23.27 mM FeSO₄ equivalent/g extract, respectively. The Anti-Inflammatory activity was tested by the production inhibition of nitric oxide, PGE₂ and TNF-Alpha in RAW264.7 macrophage cells stimulated with lipopolysaccharide. It was found that both extracts from aerial parts and roots of *M. pudica* at concentrations of 125, 250, and 500 µg/ml could significantly reduce nitric oxide production PGE₂ and TNF-Alpha in the macrophage cells. The results from the Anti-Senescence cells activity test showed that it could inhibit cell degeneration by more than 50 percent. This study indicates that the extracts from both aerial parts and roots of *M. pudica* possess Antioxidant Anti-Inflammatory and Anti-Senescence cells properties. These findings support the use of *M. pudica* as a natural resource for developing skincare products and add value to *M. pudica* for further development as a cosmeceutical.

Keywords: *Mimosa pudica* L., Antioxidation Activity, Anti-Inflammatory Activity, Anti-Senescence cells

บทนำ

อนุมูลอิสระ (Free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่ไม่มีคู่อิเล็กตรอน เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ร่างกายเกิดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน [1] โดยอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากการสร้างภายในร่างกาย และเกิดจากปัจจัยภายนอกในร่างกาย ซึ่งส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อในระดับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจากอัตราเมแทบอลิซึมที่สูงขึ้น จึงทำให้ร่างกายเกิดความเสื่อมโทรมและความชรา และทำให้เกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ ได้ [2] ในสภาวะปกติร่างกายของมนุษย์มีกลไกในการต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้น เช่น โคเอนไซม์คิวเทรล วิตามินอี วิตามินซี วิตามินเค กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น [3] และหากเกิดอนุมูลอิสระภายในร่างกายเป็นระยะ



เวลานาน จะทำให้เกิดการอักเสบ (Inflammation) ภายในร่างกายขึ้น ซึ่งการอักเสบเป็นกระบวนการที่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายตอบสนองเมื่อเกิดการบาดเจ็บ การติดเชื้อ หรือมีสิ่งแปลกปลอม เช่น เชื้อโรค สารพิษ โดยร่างกายจะส่งสัญญาณให้เซลล์ภูมิคุ้มกันเข้ามาจัดการกับบริเวณที่เกิดปัญหา และปล่อยสารเคมี เช่น สารกลุ่มไซโตไคน์ (Cytokines) และสารก่อการอักเสบอื่น ๆ เพื่อช่วยกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้น [4] การอักเสบของร่างกายแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ การอักเสบเฉียบพลัน (Acute Inflammation) ซึ่งเกิดขึ้นทันทีหลังจากที่ร่างกายได้รับบาดเจ็บหรือเกิดการติดเชื้อ โดยอาการมักจะเกิดขึ้นเป็นระยะเวลาสั้น ๆ เช่น อาการปวด บวม แดง ร้อน และการอักเสบเรื้อรัง (Chronic Inflammation) เป็นการอักเสบที่เกิดขึ้นเป็นเวลานานหลายเดือนหรือหลายปี [5] โดยอาจส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย แม้ว่าการอักเสบจะเป็นกลไกที่สำคัญของร่างกายในการรักษาและปกป้องตัวเองจากการบาดเจ็บหรือการติดเชื้อ แต่หากการอักเสบเกิดขึ้นอย่างไม่เหมาะสมหรือยาวนานเกินไป อาจทำให้เกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจ (Heart Disease) เบาหวาน (Diabetes) หรือโรคแพ้ภูมิตัวเอง (Autoimmune Diseases) [6] เมื่อร่างกายเกิดอนุมูลอิสระ และมีสภาวะการอักเสบที่ยาวนาน ย่อมส่งผลให้เอนไซม์ β -galactosidase (SA- β -gal) ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเผาผลาญของร่างกายเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้เกิดเซลล์แก่ (Senescence Cell) [7] หยุดการแบ่งตัว และเข้าสู่ภาวะหยุดการเจริญเติบโตของเซลล์อย่างถาวร โดยสาเหตุการเกิดเซลล์แก่สามารถเกิดจากปัจจัยภายในร่างกาย เช่น กระบวนการเสื่อมของเซลล์ (Cellular Senescence) ภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน (Oxidative Stress) การลดลงของฮอร์โมนเอสโตรเจน การเกิด Advanced Glycation End-Products (AGEs) และปัจจัยภายนอกในร่างกาย เช่น การเปลี่ยนแปลงของเมทริกซ์นอกเซลล์ (Extracellular Matrix Changes) การเพิ่มขึ้นของ Matrix Metalloproteinases (MMPs) และการส่งสัญญาณเข้าสู่เซลล์ (Cellular Signal Transduction) [8]

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพโดยการนำมาทดสอบและวัดปริมาณ Senescence-Associated β -galactosidase จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ ซึ่งในปัจจุบันการใช้สมุนไพรเพื่อการรักษาโรคเรื้อรังกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากจากกลุ่มผู้ป่วย [9] เนื่องจากมีประวัติการใช้รักษาโรคที่ยาวนาน จากหลากหลายวัฒนธรรมทั่วโลก และมีผลการศึกษาจำนวนมากที่สนับสนุนประสิทธิภาพของสมุนไพรในการรักษาโรคเรื้อรังซึ่งเป็นปัญหาทางสุขภาพที่ส่งผลกระทบต่อการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วยในระยะยาว โดยการรักษาโรคเรื้อรังมักใช้การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด การผ่าตัด และการรักษาแบบภูมิปัญญา อย่างไรก็ตามการใช้ยาทางเคมีอย่างต่อเนื่องอาจส่งผลข้างเคียงทั้งระยะสั้นและระยะยาว ทำให้ผู้ป่วยบางกลุ่มมองหาทางเลือกในการรักษาที่มีผลข้างเคียงน้อยกว่า เช่น การใช้สมุนไพรในการบำบัด โดยสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการใช้สมุนไพรเพิ่มมากขึ้น เป็นผลมาจากความเชื่อในความปลอดภัย และผลข้างเคียงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับยาสังเคราะห์ การรักษาด้วยสมุนไพรยังสอดคล้องกับแนวโน้มการดูแลสุขภาพแบบองค์รวม (Holistic Health) ซึ่งเน้นการปรับสมดุลของร่างกาย จิตใจ และจิตวิญญาณ โดยไม่มุ่งเน้นแต่เพียงการรักษาอาการของโรคเพียงอย่างเดียว [10]

ไมยราบ (*Mimosa pudica* L.) อยู่ในวงศ์ Fabaceae เป็นพืชล้มลุก เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่แฉะ มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ ในประเทศไทยพบเพียง 3 ชนิด ได้แก่ ไมยราบ *Mimosa Pudica* L. ไมยราบต้น *Mimosa Pigra* L. และ ไมยราบขาว *Mimosa diplotricha* C. [11] ไมยราบจัดเป็นวัชพืชที่ขึ้นอยู่ทั่วไป ทางกรมแพทย์แผนไทยใช้ทั้งต้น รสขมเย็นเล็กน้อย ต้ม น้ำดื่ม แก้บิด บำรุงร่างกาย ขับน้ำนม ขับปัสสาวะ แก้ทางเดินปัสสาวะอักเสบ แก้ไข้ แก้กระษัย แก้แผลฝีและฝีตามตัว ในตำรายาของหลวงพ่อบุช วัดมะขามเฒ่า ใช้ทั้งห้า คือ ต้น ใบ ดอก ลูก ราก สับเป็นชิ้น คั่วไฟให้สุก ชงน้ำร้อน รับประทานแก้โรคหัวใจสั้น หัวใจเต้นแรงผิดปกติ [12] ราก รสเย็นเย็น ใช้เป็นยาแก้ไอ ขับเสมหะ แก้ปวดประจำเดือน ลำต้น เป็นยาขับปัสสาวะ ขับระดูขาว ขับโลหิตเสีย แก้กระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง ระบายประสาท [13] ทางภาคอีสานมีรายงานการใช้ไมยราบในกลุ่มชาติพันธุ์ไท มาตม้อบ เพื่อใช้ในการรักษา “มูมมาน” หรือลมพิษ [14] ใบของสารสกัดไมยราบมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และสามารถลดการอักเสบในอุ้งเท้าของหนู นอกจากนี้ในทางแพทย์พื้นบ้านของอินเดีย ใช้ในการรักษาอาการปวดศีรษะ อาการท้องเสีย แก้ไข้ รักษาอาการซึมเศร้า [15] จากผลการศึกษาพบว่าใบของไมยราบ พบสารกลุ่ม แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ รากของไมยราบพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ ซาโปนิน มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ รักษาบาดแผล ต้านจุลินทรีย์ แก้วตักกังวล ต้านมาลาเรีย [16] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากลำต้น และใบของ



ไมยราบสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *C. acnes* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสิว [17] เมล็ดของไมยราบสามารถต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน [18] ใช้ในการรักษาโรคท้องร่วง ไซซ้ออักเสบ ริดสีดวงทวาร วัณโรค การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ [16] จากข้อมูลสรรพคุณทางการแพทย์แผนไทยและการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และสารฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดสมุนไพรส่วนใหญ่เป็นสารสกัดส่วนของใบ และลำต้นไมยราบ แต่รายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดส่วนของรากไมยราบยังมีรายงานการวิจัยไม่มากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ และด้านเซลล์แก่ ของสารสกัดหยาบจากลำต้นเหนือดินและรากของไมยราบ โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 v/v จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการนำส่วนต่าง ๆ ของไมยราบไปใช้ในการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพผิวและเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับไมยราบในการพัฒนาเป็นเวชสำอาง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบ

นำไมยราบทั้งต้นที่เก็บมาจากพื้นที่อำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร ช่วงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2566 จากนั้นส่งตัวอย่างพรรณไม้แห้งเพื่อใช้ในการอ้างอิงงานวิจัย โดยระบุลักษณะทางพฤกษอนุกรมวิธาน ณ พิพิธภัณฑ์สมุนไพร กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กรุงเทพมหานคร หมายเลข voucher specimen คือ TTM No.0006790 มาล้างทำความสะอาดผึ่งให้แห้ง นำมีดสับส่วนของลำต้นเหนือดิน และส่วนรากแยกกัน แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50-55 °C เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้นนำส่วนของลำต้นเหนือดิน และส่วนรากของไมยราบ บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร นำส่วนที่บดเรียบร้อยแล้วผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 60 จากนั้นนำผงไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากไมยราบมาทำการสกัดด้วยวิธีการแช่ย่อย (Maceration) โดยซึ่งผสมสมุนไพรตัวอย่างละ 200 g สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 2,000 mL ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เขย่าทุกวัน ๆ ละ 2 ครั้ง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารสกัดที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกด้วยวิธีการระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) นำสารสกัดที่ได้มาชั่งน้ำหนัก และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักของพืชสมุนไพร (% yield) [19]

2. การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์

2.1 การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ในการทดสอบใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน [20] โดยเตรียมสารสกัดไมยราบทั้งส่วนลำต้นเหนือดินและส่วนรากที่ความเข้มข้น 1 mg/mL ในเอทานอล จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยาโดยใช้สารสกัดปริมาตร 20 μ L และเติมสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์โพลิน-ซีโอแคลตู (เจือจาง 1:10 ด้วยน้ำกลั่น) ปริมาตร 100 μ L ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที เติมน้ำ 7.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 μ L ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยกลุ่มควบคุมเปล่า (blank sample) คือ สารละลายตัวอย่าง 20 μ L กับเอทานอล 180 μ L นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ความเข้มข้นในช่วง 0.01-0.1 mg/mL คำนวณในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (Gallic acid equivalent, GAE/ g extract)

2.2 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium chloride method

วิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม [21] โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์เซติน (Quercetin) ความเข้มข้นที่ 100 μ g/mL เป็นสารละลายเริ่มต้น (stock solution) จากนั้นเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ 10, 20, 30, 40 และ 45 μ g/mL



และเตรียมตัวอย่างสารสกัดไมยราบทั้งส่วนลำต้นเหนือดินและส่วนราก ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL นำสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน ปริมาตร 100 μ L เติม 2 เปอร์เซ็นต์อะลูมิเนียมคลอไรด์ในเมทานอล ปริมาตร 100 μ L และเติมเอทานอล จำนวน 100 μ L ที่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท โดยกลุ่มควบคุมเปล่า (blank sample) คือ สารละลายตัวอย่าง 100 μ L กับเมทานอล 100 μ L โดยไม่มีอะลูมิเนียมคลอไรด์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐานของสารเคอซีทิน คำนวณในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของเคอซีทินต่อกรัมสารสกัด (mg Quercetin equivalent, QE/ g extract)

3. การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

3.1 DPPH radical scavenging capacity assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดลำต้นเหนือดินและรากของไมยราบ ด้วยวิธี DPPH assay [22] โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน เตรียมสารละลายสารสกัดของไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ความเข้มข้น 0.001-0.1 mg/mL นำสารสกัดปริมาตร 80 μ L มาทำปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย methanolic DPPH ที่ความเข้มข้น 152 mM ปริมาตร 120 μ L จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท จากนั้นนำมาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถลดปริมาณอนุมูลอิสระได้สูงสุด โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะแสดงในค่า IC_{50} (50% Inhibitory Concentration)

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_c - A_{bc}) - (A_s - A_{bs})}{(A_c - A_{bc})} \times 100$$

เมื่อ A_c = absorbance of control

A_b = absorbance of blank control

A_s = absorbance of sample

A_{bs} = absorbance of blank sample

3.2 ABTS radical cation decolorization assay

เตรียมสารละลาย ABTS⁺ เข้มข้น 7 mM และสารละลายโปแตสเซียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 2.45 mM จากนั้นผสมสารละลาย ABTS กับสารละลายโปแตสเซียมเปอร์ซัลเฟตอัตราส่วน 1:0.5 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 12 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ แล้วเจือจางสารละลาย ABTS⁺ ด้วยเอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงช่วง 0.7 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 nm แล้วเตรียมสารละลายของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ที่ความเข้มข้น 0.003-0.1 mg/mL มาทำปฏิกิริยาโดยใช้สารละลายของสารสกัด 20 μ L เติมสารละลาย ABTS⁺ 180 μ L ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท จากนั้นคำนวณคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS⁺ โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีโดยสร้างกราฟมาตรฐานของวิตามินซีที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยกำหนดแกน y เป็น % Inhibition และแกน x เป็นความเข้มข้นของสารมาตรฐานวิตามินซีแสดงค่าในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อกรัมสารสกัด (mg ascorbic acid equivalent/g extract) [23]

3.3 Ferric ion reducing antioxidant power assay

เตรียมสารละลาย FRAP reagent ผสมสารละลาย 300 mM อะซิเทตบัฟเฟอร์ pH 3.6 สารละลาย 20 mM เฟอริกคลอไรด์และสารละลาย 10 mM TPTZ ใน 40 mM ของกรดไฮโดรคลอริกที่อัตราส่วน 10:1:1 และเตรียมสารละลายของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากความเข้มข้น 100 μ g/mL ในเอทานอล ปิเปตสารสกัดไมยราบ 20 μ L และเติม FRAP reagent 180 μ L เขย่าเล็กน้อยให้เข้ากัน นำไปตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm คำนวณค่าการดูดกลืนแสงดังสมการ ค่าที่ได้แสดงในรูปแบบ mM สมมูลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมสารสกัด (mM FeSO₄ equivalent/g extract) [23]



$$\text{Absorbance} = A - B - C$$

โดย A = sample 20 μL + FRAP reagent 180 μL

B = sample 20 μL + Acetate buffer pH 3.6 180 μL

C = Ethanol 20 μL + FRAP reagent 180 μL

4. การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ

4.1 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7

เตรียมตัวอย่างสารสกัด โดยนำสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก 100 mg จากนั้นละลายตัวทำละลาย Dimethylsulfoxide (DMSO) (Sigma-Aldrich, Germany) ปริมาตร 1 mL นำมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (ATCC, USA) ปริมาตร 9 mL เป็น Stock เริ่มต้น 10 mg/mL เจือจางสารละลายที่เป็น stock เริ่มต้นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ให้ได้ 7 ระดับความเข้มข้น คือ 62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 (ATCC® CRL-2278, USA) ทดสอบด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ที่ความเข้มข้น 2×10^5 cells/mL ดูดเซลล์ปริมาตร 200 μL ใน 96-well plate (Corning, USA) บ่มเซลล์ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง ครอบคลุมเวลาอาหารเก่าทิ้ง เติมสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 200 μL /หลุม สำหรับการทดลองในครั้งนี้กำหนดให้เซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดเป็นกลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มทดลองคือ เซลล์ที่ได้รับสารสกัดของไมยราบความเข้มข้นต่าง ๆ (62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$) ในตัวทำละลาย DMSO ความเข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 100 μL จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในตู้บ่มที่สภาวะเดิมนาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารทดสอบออกแล้วเติมสารละลาย 4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate (WST-1) (GIBCO, USA) [24] ที่เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM อัตราส่วน 1:10 ปริมาตร 100 μL ลงในแต่ละหลุม นำเซลล์กลับไปที่ตู้บ่มต่อในสภาวะเดิมเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 450 nm ด้วยเครื่อง Microplate Reader คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ (% Cell viability) ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ จะถือว่ามีความเป็นพิษหากมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 80 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

$$\text{ร้อยละของการมีชีวิต} = (\text{ค่าดูดกลืนแสงของเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบ} / \text{ค่าดูดกลืนแสงของเซลล์กลุ่มควบคุม}) \times 100$$

4.2 การเตรียมสารสกัดไมยราบเพื่อทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ

เตรียมสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่ความเข้มข้น 10 mg/mL จากนั้นนำมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ให้ได้ความเข้มข้นที่ 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ เตรียมสารละลาย LPS (Sigma-Aldrich, Germany) ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นสารสื่ออักเสบ และกระตุ้นการเกิด NO ที่ระดับความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/mL}$ เป็นกลุ่มควบคุมบวก (positive control)

4.3 การทดสอบการยับยั้งสารสื่ออักเสบ

เลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ความเข้มข้น 2×10^5 cells/mL ให้ได้ปริมาตร 200 μL ลงใน 96-well plate นำเซลล์ไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ครอบคลุมเวลาอาหารเก่าทิ้ง แล้วเติม LPS ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 200 μL /หลุม จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในสภาวะเดิมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กระตุ้นให้เกิดการอักเสบเมื่อครบเวลาให้ดูดอาหารเก่าทิ้ง แล้วเติมสารสกัดไมยราบความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 200 μL /หลุม นำเซลล์ไปบ่มในสภาวะเดิมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารทดสอบออก นำหาปริมาณสารสื่ออักเสบและ NO [25]

4.4 การทดสอบการยับยั้ง NO

ทดสอบการยับยั้ง NO (Lot: WW2082TB3126, USA) ด้วย Griess's reagent assay โดยการทำในที่มืดจากนั้นเติม nitrate reductase เพื่อเปลี่ยนไนเตรท (NO_3^-) เป็นไนไตรท์ (NO_2^-) ก่อนทำปฏิกิริยากับสารละลาย Griess reagent จากนั้น



ทดสอบการยับยั้ง NO ด้วยการเติมสารละลายของสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตรหลุมละ 85 μL จากนั้นเติมสารละลาย nitrate reductase (Abcam, USA) และ enzyme cofactor ปริมาตรหลุมละ 5 μL บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเติมสารละลาย enhancer ปริมาตรหลุมละ 5 μL นำกลับไปบ่มที่สภาวะเดิมเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Griess's reagent R1 และ Griess's reagent R2 ปริมาตรหลุมละ 50 μL อ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 540 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader [25]

4.5 การทดสอบการยับยั้ง TNF-Alpha

เติมสารละลาย biotinylated Antibody reagent (Abcam, USA) ปริมาตร 50 μL ลงแต่ละหลุม จากนั้นเติมสารละลายของสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 50 μL ลงไป ปิด plate บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาล้างด้วย wash buffer (เจือจาง wash buffer ปริมาตร 50 mL ต่อ ultrapure water ปริมาตร 1.5 ลิตร) จำนวน 3 ครั้ง เติมสารละลาย streptavidin-HRP (เจือจาง streptavidin-HRP ปริมาตร 30 mL: streptavidin-HRP dilution buffer ปริมาตร 120 mL ปริมาตร 100 μL ปิด plate บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ครบเวลาล้างด้วย wash buffer จำนวน 3 ครั้ง เติมสารละลาย TMB substrate ปริมาตร 100 μL บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วเติมสารละลาย stop solution ปริมาตร 100 μL วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader เทียบความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานของไซโทโคน [26]

4.6 การทดสอบการยับยั้ง PGE₂

เติมสารละลายของสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 100 μL จากนั้นเติมสารละลาย PGE₂-AP conjugate (Cayman, USA) ปริมาตร 50 μL และเติมสารละลาย PGE₂-AP Antibody ปริมาตร 50 μL ลงแต่ละหลุม ปิด plate แล้วนำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ครบเวลาล้างด้วย wash buffer (เจือจาง wash buffer ปริมาตร 5 mL/น้ำ deionized water ปริมาตร 95 mL จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นเติมสารละลาย pNpp Substrate ปริมาตร 100 μL ลงแต่ละหลุม ปิด plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ต้องเขย่า นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย Stop solution ปริมาตร 50 μL วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader [27]

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ (Anti- Senescence cells)

5.1 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบร بلاสต์

เตรียมตัวอย่างสารสกัด โดยนำสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก 100 mg จากนั้นละลายตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 1 mL นำมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ปริมาตร 9 mL เป็น Stock เริ่มต้น 10 mg/mL เจือจางสารละลายที่เป็น stock เริ่มต้นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ให้ได้ 7 ระดับความเข้มข้น คือ 62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบร بلاสต์ (Primary Dermal Fibroblast Normal Human) (ATCC® PCS-201-012™) (American type culture collection, USA) ทดสอบด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบร بلاสต์ ที่ความเข้มข้น 2×10^5 cells/mL ปริมาตร 200 μL ใน 96-well plate บ่มเซลล์ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ที่มี CO₂ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง ครบเวลาดูดอาหารเก่าทิ้ง เติมสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 200 μL /หลุม จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในตู้บ่มที่สภาวะเดิมนาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทดสอบออกแล้วเติมสารละลาย WST-1 [24] ที่เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM อัตราส่วน 1:10 ปริมาตร 100 μL ลงในแต่ละหลุม นำเซลล์กลับไปบ่มต่อในสภาวะเดิมเป็นเวลานาน 30 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 450 nm ด้วยเครื่อง Microplate Reader คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ (% Cell viability) ดังสมการ ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ จะถือว่ามีความเป็นพิษหากมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 80 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

$$\text{ร้อยละของการมีชีวิต} = (\text{ค่าดูดกลืนแสงของเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบ} / \text{ค่าดูดกลืนแสงของเซลล์กลุ่มควบคุม}) \times 100$$



5.2 การประเมินฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ด้วยการวัดปริมาณ Senescence-Associated β -galactosidase (SA- β -gal)

นำเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาเติมสารละลายของสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ แล้วนำกลับไปบ่มในสภาวะเดิมภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเหนี่ยวนำให้เซลล์แก่โดยการเพิ่มรอบอายุของเซลล์ (Passage) ให้เร็วขึ้นทุก ๆ 48 ชั่วโมง จำนวน 3 รอบ [28] เมื่อครบรอบดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 1 mL 2 ครั้ง ดูด 1 mL ของ Fixation ใส่ลงไปในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ นาน 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ล้างเซลล์ด้วย 1 mL ของ PBS จำนวน 3 ครั้ง หลังจากนั้นดูด 1 mL ของ Staining Mixture ใส่ลงใน well plate บ่มสีย้อมข้ามคืนสภาวะ 37 °C ปราศจาก CO₂ นับจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีฟ้ามากกว่า 50 เพอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ไซโทพลาสซึม อย่างน้อย 200 เซลล์ต่อกลุ่ม จากภาพ 5 สนามสุม ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่มีกล้องติดอยู่ และใช้เลนส์ขยาย 10 เท่า [29] เพื่อคำนวณหาร้อยละการติดสี SA- β -gal-positive cells จากสูตร SA- β -gal= (จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสี SA- β -gal/จำนวนเซลล์ 200) x 100 และคำนวณหา % Inhibition Senescence ดังสมการ [30]

$$\% \text{ Inhibition Senescence} = \frac{(\% \text{ การต้านเซลล์แก่ของเซลล์กลุ่มควบคุม} - \% \text{ การต้านเซลล์แก่ของเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบ})}{\% \text{ การต้านเซลล์แก่ของเซลล์กลุ่มควบคุม}} \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองในครั้งนี้ใช้ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD (n=3) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS Statistics version 26 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) โดยใช้สถิติการวิเคราะห์การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างตัวแปร 2 ตัว ที่เป็นอิสระต่อกัน (Independent-Sample T Test) และการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One way ANOVA) ทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่ โดยวิธี Duncan's test กำหนดค่า p<0.05 จึงจะถือว่ามีความสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัย

1. ผลของการสกัดไมยราบ

ผลการสกัดไมยราบส่วนของลำต้นเหนือดินและรากด้วยวิธีการหมักในเอทานอลร้อยละ 95 เป็นเวลา 7 วัน ได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะทางกายภาพเป็นของเหลวหนืดสีเขียวจากสารสกัดส่วนของลำต้นเหนือดิน และของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้มจากสารสกัดส่วนราก เมื่อคำนวณหาปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ได้เท่ากับ 5.72 และ 4.29 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

2. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากการหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ($R^2=0.9989$) โดยมีสมการเส้นตรง ($y=3.9283+0.0156x$) ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 228.021 ± 0.91 และ 372.782 ± 1.49 mg GAE/g extract ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคิชิทินด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ($R^2=0.9980$) โดยมีสมการเส้นตรง ($y=12.089x-0.0874$) ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดไมยราบทั้งส่วนของลำต้นเหนือดินและรากด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบ 13.422 $\pm$ 0.21 และ 49.010 $\pm$ 0.49 mg QE/g extract ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1



ตารางที่ 1 แสดงปริมาณสารฟีนอลิกรวม ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก (Mean $\pm$ S.D., n=3)

Extract	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g extract)	ปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวม (mg QE/g extract)	IC ₅₀ of DPPH (μ g/mL)	IC ₅₀ of ABTS (μ g/mL)	FRAP value (mM FeSO ₄ equivalent/g extract)
ลำต้นเหนือดิน	228.021 $\pm$ 0.91 ^a	13.422 $\pm$ 0.21 ^a	8.479 $\pm$ 0.19 ^a	17.772 $\pm$ 0.62 ^a	3750.108 $\pm$ 18.17 ^a
ราก	372.782 $\pm$ 1.49 ^b	49.010 $\pm$ 0.49 ^b	5.707 $\pm$ 0.49 ^b	14.589 $\pm$ 0.25 ^b	5243.727 $\pm$ 23.27 ^b
กรดแอสคอร์บิก	-	-	2.465	-	-

หมายเหตุ: ค่าที่มีตัวอักษร a และ b แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดส่วนของรากแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดส่วนของลำต้นเหนือดิน โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 8.479 $\pm$ 0.19 และ 5.707 $\pm$ 0.49 μ g/mL ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไมยราบกับสารมาตรฐานวิตามินซี 2.47 $\pm$ 0.12 μ g/mL พบว่าสารสกัดไมยราบทั้งส่วนของลำต้นเหนือดินและรากมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 1

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบไมยราบของลำต้นเหนือดินและรากที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธี ABTS⁺ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซี จากการสร้างกราฟมาตรฐานวิตามินซีได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของกราฟ (R²=0.9964) โดยมีสมการเส้นตรง (y=88.032x-50.631) จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีค่า VEAC Value เท่ากับ 17.772 $\pm$ 0.62 และ 14.589 $\pm$ 0.25 mg ascorbic acid equivalent/g extract ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1

ผลการศึกษาความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธี FRAP assay โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของเพอร์รัสซัลเฟต จากการสร้างกราฟมาตรฐานของเพอร์รัสซัลเฟตได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (R²=0.9996) โดยมีสมการเส้นตรง (y=0.6164x-0.0629) จากการทดสอบ พบว่าสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน เท่ากับ 3750.108 $\pm$ 18.17 และ 5243.727 $\pm$ 23.27 mM FeSO₄ equivalent/g extract ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ

4.1 ผลของการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7

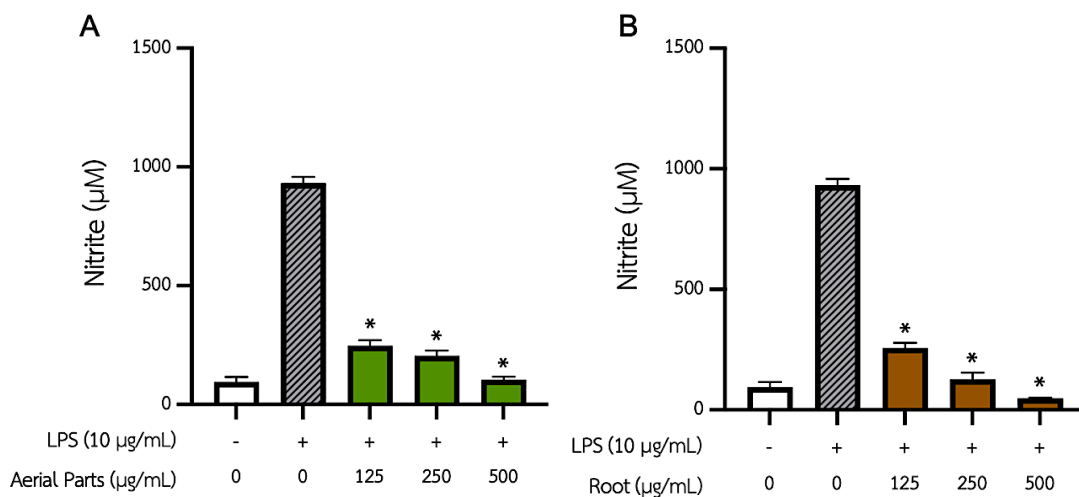
อัตราการมีชีวิตรอด (cell viability) ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ภายหลังได้รับตัวอย่างทดสอบสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ระดับความเข้มข้น 62.50, 125, 250, 500, 1000, 2000 และ 4000 μ g/mL เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยกลุ่มควบคุมหมายถึง เซลล์ปกติที่ไม่ได้รับสารทดสอบใด ๆ (คิดเป็น 100% cell viability) จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ 98.98 $\pm$ 6.32 ถึง 34.97 $\pm$ 0.89 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินที่ความเข้มข้น 125, 250, 500 μ g/mL มีอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ที่ 90.74 $\pm$ 0.56, 86.20 $\pm$ 2.78 และ 84.88 $\pm$ 2.07 ตามลำดับ และสารสกัดจากรากที่ความเข้มข้น



125, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ มีอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ที่ 91.27 ± 1.37 , 85.32 ± 1.84 และ 81.36 ± 1.26 ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้น พบว่าสารสกัดไมยราบทั้งสองส่วนมีอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ จึงใช้ความเข้มข้นที่ 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ในการนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบ

4.2 ผลของการทดสอบการยับยั้ง NO

เมื่อบ่มสารทดสอบ NO ต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และกระตุ้นการอักเสบด้วยสารละลาย LPS จากผลการทดสอบการสร้าง NO ด้วยวิธี Griess's reagent assay จากสารสกัดของลำต้นเหนือดินไมยราบมีค่าเท่ากับ 247.33 ± 23.63 , 204.00 ± 22.91 และ 104.00 ± 13.23 $\mu\text{M/mL}$ ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการยับยั้งการสร้าง NO เท่ากับ 73.42 ± 3.24 , 78.15 ± 1.91 และ 88.83 ± 1.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากสารสกัดจากรากไมยราบมีค่าเท่ากับ 257.33 ± 20.21 , 126.50 ± 38.89 และ 46.50 ± 3.54 $\mu\text{M/mL}$ คิดเป็นอัตราการยับยั้งการสร้าง NO เท่ากับ 71.14 ± 0.66 , 87.40 ± 3.84 และ 96.06 ± 2.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งค่าอัตราการยับยั้ง NO เป็นไปในลักษณะแปรผันตามระดับของความเข้มข้น แสดงผลในภาพที่ 1 และตารางที่ 2



ภาพที่ 1 แสดงค่าร้อยละการยับยั้ง NO ของสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน (A) และราก (B) ของไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับการกระตุ้นด้วย LPS โดย * $p < 0.05$ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ LPS

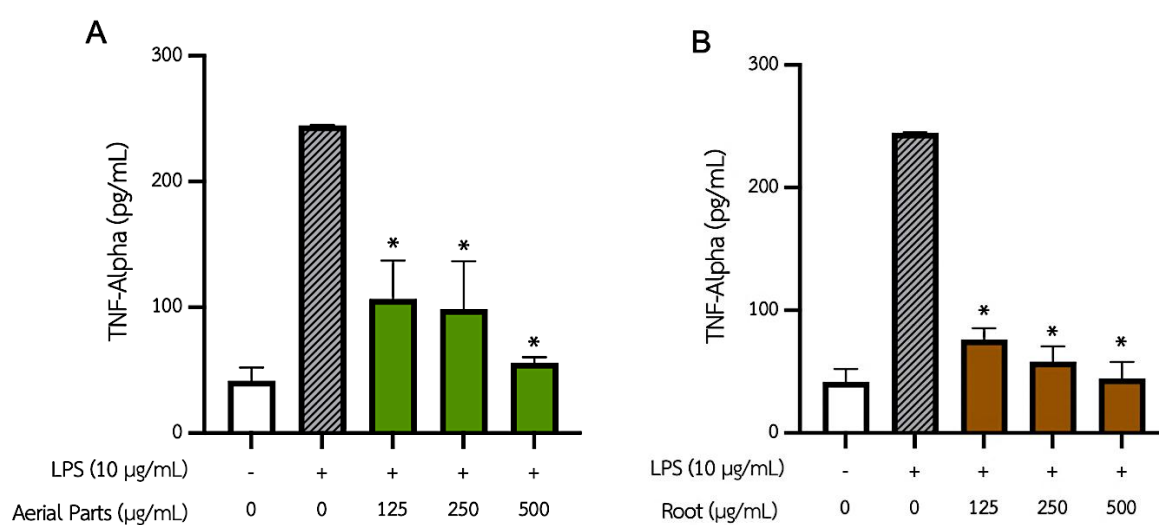
ตารางที่ 2 ความเข้มข้นและเปอร์เซ็นต์การสร้าง NO ของเซลล์ในเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 เมื่อได้รับสารสกัดไมยราบ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ด้วยวิธี Griess's reagent assay) (Mean $\pm$ S.D., $n=3$)

ตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาณ NO ($\mu\text{M/mL}$)	อัตราการยับยั้ง NO (% Inhibition)
กลุ่มควบคุม	-	94.33 ± 20.82	-
กลุ่มควบคุมบวก LPS	-	932.33 ± 25.66	-
ลำต้นเหนือดิน	125	247.33 ± 23.63	73.42 ± 3.24
	250	204.00 ± 22.91	78.15 ± 1.91
	500	104.00 ± 13.23	88.83 ± 1.58
ราก	125	257.33 ± 20.21	71.14 ± 0.66
	250	126.50 ± 38.89	87.40 ± 3.84
	500	46.50 ± 3.54	96.06 ± 2.07



4.3 ผลของการทดสอบการยับยั้ง TNF-Alpha

ผลการทดสอบการยับยั้งสารสื่ออักเสบ TNF-Alpha ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับสารสกัดหยาบไมยราบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และกระตุ้นการอักเสบด้วยสารละลาย LPS จากผลการทดสอบหาปริมาณ TNF-Alpha และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้าง TNF-Alpha (% inhibition) พบว่าสารสกัดไมยราบที่ระดับความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ มีฤทธิ์ในการยับยั้งสารสื่ออักเสบเมื่อเทียบกับตัวควบคุมบวกที่มีปริมาณ TNF-Alpha เท่ากับ 244.56 ± 0.66 pg/mL สารสกัดจากลำต้นเหนือดินไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ มีปริมาณการหลั่ง TNF-Alpha 106.56 ± 30.66 , 98.67 ± 37.87 และ 55.56 ± 4.66 pg/mL ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการยับยั้ง TNF-Alpha เท่ากับ 56.43 ± 12.46 , 59.67 ± 15.37 และ 77.28 ± 1.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากรากไมยราบมีปริมาณการหลั่ง TNF-Alpha 76.01 ± 9.43 , 58.12 ± 12.50 และ 44.40 ± 15.31 pg/mL ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการยับยั้ง TNF-Alpha เท่ากับ 68.92 ± 3.82 , 76.23 ± 5.08 และ 81.85 ± 5.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงผลในภาพที่ 2 และตารางที่ 3



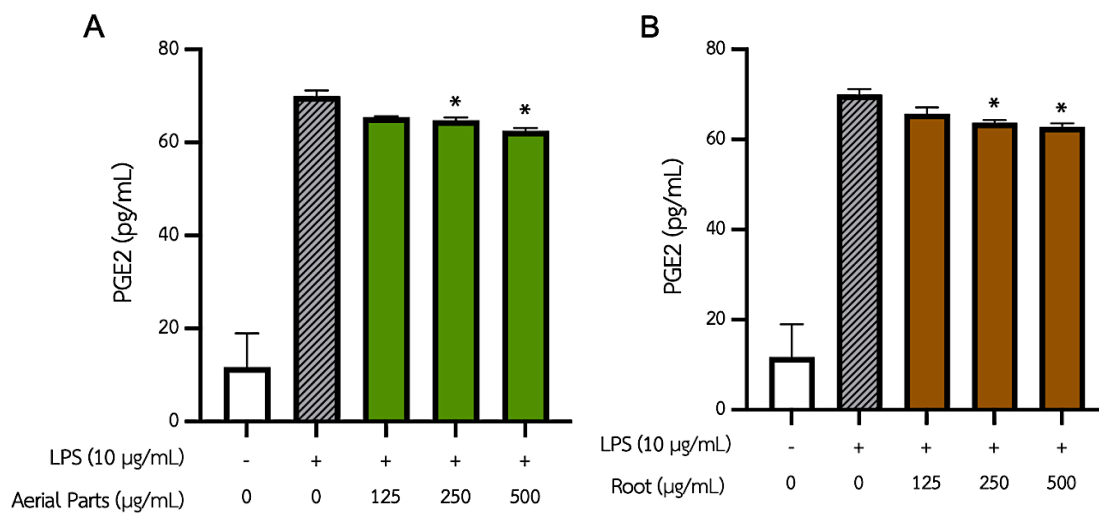
ภาพที่ 2 แสดงค่าร้อยละการยับยั้ง TNF-Alpha ของสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน (A) และราก (B) ของไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับการกระตุ้นด้วย LPS โดย * $p < 0.05$ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ LPS

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณการยับยั้งสารสื่ออักเสบ TNF-Alpha ในเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 เมื่อได้รับสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (Mean $\pm$ S.D., $n=3$)

ตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาณเอนไซม์ TNF-Alpha (pg/mL)	อัตราการยับยั้ง TNF-Alpha (% Inhibition)
กลุ่มควบคุม	-	41.56 ± 10.66	-
กลุ่มควบคุมบวก LPS	10	244.56 ± 0.66	-
ลำต้นเหนือดิน	125	106.56 ± 30.66	56.43 ± 12.46
	250	98.67 ± 37.87	59.67 ± 15.37
	500	55.56 ± 4.66	77.28 ± 1.87
ราก	125	76.01 ± 9.43	68.92 ± 3.82
	250	58.12 ± 12.50	76.23 ± 5.08
	500	44.40 ± 15.31	81.85 ± 5.47

4.4 ผลของการทดสอบการยับยั้ง PGE₂

ผลการทดสอบการยับยั้งสารสื่ออักเสบ PGE₂ ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับสารสกัดไมยราบ 24 ชั่วโมง และกระตุ้นการอักเสบด้วยสารละลาย LPS จากผลการทดสอบ ปริมาณ PGE₂ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้าง PGE₂ (% inhibition) พบว่าสารทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/mL มีฤทธิ์ในการยับยั้งสารสื่ออักเสบเมื่อเทียบกับตัวควบคุมบวกที่มีปริมาณ PGE₂ เท่ากับ 69.95±1.18 pg/mL สารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/mL มีปริมาณการหลั่ง PGE₂ 65.46±1.00, 64.74±1.18 และ 62.51±0.56 pg/mL ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการยับยั้ง PGE₂ เท่ากับ 6.39±1.82, 7.43±1.05 และ 10.61±2.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดหยาบไมยราบจากรากที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/mL มีปริมาณการหลั่ง PGE₂ 65.72±1.37, 63.35±1.23 และ 62.78±0.75 pg/mL คิดเป็นอัตราการยับยั้ง PGE₂ เท่ากับ 6.00±3.07 8.87±1.97 10.22±2.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงผลในภาพที่ 3 และตารางที่ 4



ภาพที่ 3 แสดงค่าร้อยละการยับยั้ง PGE₂ ของสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน (A) และราก (B) ของไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/mL ต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับการกระตุ้นด้วย LPS โดย * p<0.05 แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ LPS

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ปริมาณ PGE₂ และการยับยั้งสารสื่ออักเสบ PGE₂ ในเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 เมื่อได้รับสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (Mean ± S.D., n=3)

ตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น (µg/mL)	ปริมาณ PGE ₂ (pg/mL)	อัตราการยับยั้ง PGE ₂ (% Inhibition)
กลุ่มควบคุม	-	11.73±7.21	-
กลุ่มควบคุมบวก LPS	10	69.95±1.18	-
ลำต้นเหนือดิน	125	65.46±1.00	6.39±1.82
	250	64.74±1.18	7.43±1.05
	500	62.51±0.56	10.61±2.27
	125	65.72±1.37	6.00±3.07
ราก	250	63.35±1.23	8.87±1.97
	500	62.78±0.75	10.22±2.33



5. ผลของการทดสอบต้านเซลล์แก่ (Anti- Senescence cells)

5.1 ผลของการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์

ผลของอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ภายหลังได้รับสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้น 62.50, 125, 250, 500, 1000, 2000 และ 4000 $\mu\text{g/mL}$ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยกลุ่มควบคุมหมายถึง เซลล์ปกติที่ไม่ได้รับสารทดสอบใด ๆ (คิดเป็น 100% cell viability) จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีอัตราการมีชีวิตของเซลล์ตั้งแต่ 128.74 ± 8.79 ถึง 33.15 ± 4.54 เปอร์เซ็นต์ โดยสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินที่มีความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ 108.94 ± 10.68 , 105.85 ± 8.87 และ 112.06 ± 14.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดไมยราบจากรากที่มีความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ 110.77 ± 5.30 , 111.05 ± 2.43 และ 122.89 ± 4.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้นพบว่าสารสกัดไมยราบทั้งสองส่วนมีอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แต่เนื่องจากต้องการใช้ความเข้มข้นของการทดสอบที่มีค่าความเข้มข้นเท่ากับการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ จึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่ 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ในการนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านเซลล์แก่

5.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ (Anti- Senescence cells)

จากการทดสอบการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์บีต้ากาแลคโตซิเดส (β -galactosidase) ของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ภายหลังได้รับสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่มีความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มรอบอายุของเซลล์ (Passage) ทุก 48 ชั่วโมง จำนวน 3 รอบ จากผลการทดสอบการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์ β -galactosidase และหาเปอร์เซ็นต์ด้านการเสื่อมของเซลล์ แสดงดังตารางที่ 5 พบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีฤทธิ์ยับยั้งการเสื่อมของเซลล์มากกว่า 50 %

ตารางที่ 5 แสดงฤทธิ์ต้านการเสื่อมของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ภายหลังได้รับสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (Mean $\pm$ S.D., n=3)

กลุ่มและตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ (เปอร์เซ็นต์)		เปอร์เซ็นต์ด้านการเสื่อมของเซลล์ (% Inhibition Senescence Cells)
		เซลล์ปกติ Non-Senescence Cell	เซลล์แก่ Senescence Cell	
กลุ่มควบคุม		33.40	66.59	0.00 $\pm$ 0.00
ลำต้นเหนือดิน	125	69.85	30.51	52.42 $\pm$ 13.05
	250	75.00	25.00	71.72 $\pm$ 9.58
	500	91.34	12.53	81.50 $\pm$ 5.30
ราก	125	68.05	31.95	52.03 $\pm$ 13.04
	250	72.67	27.33	57.64 $\pm$ 15.13
	500	81.48	18.52	70.00 $\pm$ 9.58

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ไมยราบเป็นพืชล้มลุกพบได้ในเขตร้อน เจริญเติบโตได้ทั้งดินเหนียวและดินทราย ทนต่อสภาพแล้งได้ดี ในประเทศไทยหมอยาพื้นบ้านใช้ในการรักษาอาการเจ็บป่วยตามองค์ความรู้และภูมิปัญญาท้องถิ่นของแพทย์แผนไทยในการดูแลสุขภาพ เช่น การใช้ส่วนของไมยราบทั้งต้นเป็นหนึ่งในการรักษาอาการไพลามทุ่ง วิธีการใช้คือ นำมาบดเป็นผง ผสมน้ำพอกบริเวณที่มีอาการ [31] จะเห็นได้ว่าไมยราบเป็นสมุนไพรที่สามารถบรรเทาอาการอักเสบเฉพาะที่ได้ โดยผลการศึกษาฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม ฟีนอลิกรวมของสารสกัดไมยราบจากส่วนของลำต้นเหนือดินและราก ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 พบว่าสารสกัดจากรากไมยราบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ABTS assay และ FRAP assay และยังพบว่าสารสกัดเอทานอลร้อยละ 95 จากรากไมยราบมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและฟีนอลิกรวมที่สูงขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากขึ้น จากผลการศึกษาของ Tamilarasi T and et al. [32] ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้นของไมยราบ พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ ฟีนอล สเตอรอยด์ และฟลาโวนอยด์ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสารทั้งสามกลุ่มนี้มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ABTS⁺ assay และ FRAP assay ของสารสกัดไมยราบทั้งสองส่วน พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับผลการศึกษาของณมล เสี่ยงเล็ก [33] ที่พบว่าสารสกัดไมยราบด้วยเอทานอล มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินของไมยราบจะสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ แต่จากผลของการศึกษาครั้งนี้เมื่อนำสารสกัดจากลำต้นเหนือดินและรากมาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดจากรากไมยราบมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1) จึงสรุปได้ว่าสารสกัดไมยราบทั้งส่วนของลำต้นเหนือดินและราก มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ แต่หากต้องการนำไปใช้ประโยชน์ทางยาควรใช้ส่วนของรากที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนของลำต้นเหนือดิน หรืออาจใช้ทั้งห้า (ใบ, ลูก, ดอก, ลำต้น, ราก) ตามหลักการแพทย์แผนไทยในการใช้รักษาโรค

ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในการยับยั้งการผลิต NO ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ที่กระตุ้นการอักเสบด้วย LPS ผลของการยับยั้งการสร้าง NO พบว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินที่ระดับความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/mL}$ และจากรากที่ระดับความเข้มข้น 250 $\mu\text{g/mL}$ คือค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งไนตริกออกไซด์ (ตารางที่ 2) ผลการยับยั้งสารสื่ออักเสบ TNF-Alpha พบว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้น 125 $\mu\text{g/mL}$ คือค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งสารสื่ออักเสบ TNF-Alpha (ตารางที่ 3) ผลการยับยั้งสารสื่ออักเสบ PGE₂ พบว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้น 250 $\mu\text{g/mL}$ คือค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งสารสื่ออักเสบ PGE₂ (ตารางที่ 4) และผลการศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ พบว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้น 125 $\mu\text{g/mL}$ คือค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการต้านเซลล์แก่ (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับ Azam และคณะ [34] ที่พบว่าสารสกัดส่วนใบของไมยราบสามารถลดอาการบวมจากอุ้งเท้าของหนูถึง 43.48 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.001$) หลังจากได้รับสารสกัดในปริมาณ 300 mg/kg ในระยะเวลา 1 ชั่วโมง สอดคล้องกับ Goli และคณะ [35] ที่พบว่าสารสกัดส่วนใบของไมยราบสามารถลดการอาการบวมที่อุ้งเท้าหนูถึง 44.81 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) หลังได้รับสารสกัด 200 mg/kg ในระยะเวลา 4 ชั่วโมง สอดคล้องกับ Mistry และคณะ [33] ที่พบว่าสารสกัดส่วนใบของไมยราบสามารถลดการอาการบวมที่อุ้งเท้าหนูหลังได้รับสารสกัดในปริมาณ 200 และ 400 mg/kg สอดคล้องกับ Arfiandi และคณะ [36] ที่พบว่าสารสกัดส่วนใบของไมยราบสามารถลดการอาการบวมที่อุ้งเท้าหนูหลังได้รับสารสกัดในปริมาณ 1000 mg/kg การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดไมยราบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (ยับยั้ง NO, TNF-Alpha, PGE₂) และฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ โดยผลการศึกษาสารสกัดจากรากไมยราบมีความสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงกว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม มีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ที่มีความสัมพันธ์เป็นไปในทิศทางเดียวกัน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ijaz และคณะ [37] ที่พบว่าสารโพลีฟีนอลที่สกัดจากเมล็ดของไมยราบสามารถต้านอนุมูลอิสระและต้านไทโรซิเนส (Anti-Tyrosinase) ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มความชุ่มชื้นของผิว ลดอาการแดง ทำให้ผิวมีความยืดหยุ่นมากขึ้น ผลการศึกษาที่ได้จึงมี



แนวโน้มในการนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อป้องกันภาวะแก่แดด (Dermatoheliosis) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ชะลอการแก่ของผิวหนังได้

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดกระบวนการในการสกัดไมยราบ และ การใช้ประโยชน์จากลำต้นเหนือดินและรากของต้นไมยราบเกี่ยวกับฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของฤทธิ์การต้านอักเสบกับการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น Dexamethasone, Rapamycin การศึกษาในระดับโมเลกุล การศึกษาความเป็นพิษระยะยาวและผลในสัตว์ทดลอง เช่น ผลต่ออวัยวะอักเสบ (Inflammatory organ pathology) การลดการอักเสบในทางเดินหายใจ การศึกษาศักยภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในการรักษา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถอธิบายได้ตามกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ในการใช้รักษาโรคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. ประสาร สวัสดิ์ชิตัง. การตรวจวัดในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากพืช. กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮาส์ จำกัด; 2561.
2. รัชชา เอื้อบุณยานนท์, สุพรรณ ปกป้อง, อจลา ชัยวิชาวาญ. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลต้นตาลโตนด. โครงการวิจัยเภสัชศาสตร์ปริญญาบัณฑิต สาขาเภสัชศาสตร์, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี; 2561.
3. นพวัฒน์ เพ็งคำศรี, จัตุพล กันทะมูล, ภัทราภรณ์ โด้วพัฒนกิจ, วชิรวิทย์ วงศ์ชารัฐ, วนิดา ใจหมั่น, นิภาพร เมืองจันทร์, และคณะ. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าข่าลิ้ง. วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2554;6(3):195-201.
4. กล่าวขวัญ ศรีสุข, เอกรัฐ ศรีสุข, ณัฐกานต์ จิริมณัฐ. การประเมินศักยภาพของ 4-methoxycinnamyl 4-coumarate ที่แยกได้จากเหง้าเร่วหอมในการเป็นสารต้านอักเสบชนิดใหม่. BUUIR คลังปัญญา มหาวิทยาลัยบูรพา [อินเทอร์เน็ต]. 2562 [เข้าถึงเมื่อ 9 มี.ค. 2568]. เข้าถึงได้จาก: https://buuir.buu.ac.th/bitstream/1234567890/3905/3/2564_055.pdf
5. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. Nature 2008;454:428–35.
6. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. Oncotarget 2017;9:7204-18.
7. Chen S, Liu M, Zi Y, He J, Wang L, Wu Y, et al. Rational design of near-infrared ratiometric fluorescent probes for real-time tracking of β -galactosidase in vivo. SAA 2023;285:1-8.
8. ธรรมนูญ รุ่งสังข์. ความแก่ของผิวหนัง: กลไกการเกิดระดับโมเลกุล การป้องกัน/การรักษา และสารธรรมชาติที่ใช้ในการต่อต้าน ความแก่ของผิวหนัง. บทความวิชาการ [อินเทอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 14 มีนาคม 2568]. เข้าถึงได้จาก: https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=195
9. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Front Pharmacol 2014;4:1-10.
10. Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. Molecules 2016;21(5):1-18.
11. พรทิพย์ เต็มวิเศษ, บุชราภรณ์ ธนสีลังกูร, ธนาธิป ฉิมแพ ขวัญเรือน จันทิ. ประมวลสรรพคุณสมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2555.
12. พระครูนนทประภากร. ตำรายาสมุนไพร หลวงพ่อศุข วัดมะขามเฒ่า เพิ่มตำรายาจีนแผนโบราณ. นนทบุรี: [ม.ป.ป.].



13. จิตทิพรณ ฉิมสุข. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากไมยราบต่อการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างการเก็บรักษา. สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้ [อินเทอร์เน็ต]. 2557 [เข้าถึงเมื่อ 3 ต.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: http://webpac.library.mju.ac.th:8080/mm/fulltext/research/2558/thitiphan_chimsook_2557/fulltext.pdf
14. วิชัย โชควิวัฒน์, สุวิทย์ วิบุลผลประเสริฐ, ประพจน์ เกตุราภาศ, รัชณี จันทร์เกษ, วิชัย จันทร์กิติวัฒน์. รายงานการสาธารณสุขไทยด้านการแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน และการแพทย์ทางเลือก. กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจกรรมโรงพยาบาลองค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2553.
15. Mistry S, Patidar R, Vyas V, Jena J, Dutt KR. Anti-inflammatory activity of *Mimosa pudica* Linn. (Mimosaceae) Leaves: An Ethnopharmacological study. J Pharm Sci & Res 2012;4(3):1789-91.
16. Adurosakin OE, Iweala EJ, Otike JO, Dike ED, Uche ME, Owanta JI, et al. Ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological activities and toxicological effects of *Mimosa pudica* - A review. Pharmacol Res - Mod Chin Med 2023;7:1-18.
17. Sutti T. DEVELOPMENT OF ANTI-ACNE SOAP CONTAINING *MIMOSA PUDICA* L. EXTRACT. Master Degree Thesis, Naresuan University. Phitsanulok; 2021.
18. Ijaz S, Khan HMS, Anwar Z, Talbot B, Walsh JJ. HPLC profiling of *Mimosa pudica* polyphenols and their non-invasive biophysical investigations for anti-dermatoheliotic and skin reinstating potential. Biomed Pharmacother 2019;109:865-75.
19. อัจฉรา แก้วน้อย, ศุภรัตน์ ดวนใหญ่, รัตนะ รุ่งสุข, จันทนา ยะหัวฝ่าย, อ้อมบุญ วลีสุต, พิชชาพัชร ฐิตินนอภิงษ์.ฤทธิ์ ด้านอักเสบในหลอดทดลองของสารสกัดเอทานอลจากสมุนไพรไทยที่ใช้ในตำรับยาไทยแก้ปวดและแก้ไข้. PBRU Science Journal 2567;21(2):25-37.
20. Chewchinda S, Kongkiatpaiboon S, Sithisarn P. Evaluation of Antioxidant Activities, Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Aqueous Extracts of Leaf, Stem, and Root of *Aerva lanata*. J Nat Sci 2019;18(3):345-57.
21. Sithisarn PO, Rojsanga P, Sithisarn PA, Kongkiatpaiboon S. Antioxidant Activity and Antibacterial Effects on Clinical Isolated *Streptococcus suis* and *Staphylococcus intermedius* of Extracts from Several Parts of *Cladogynos orientalis* and Their Phytochemical Screenings. Evid Based Complement Alternat Med 2015;2015(1):1-8.
22. ศุภรัตน์ ดวนใหญ่, ชารินทร์ แฉกกลาง, อัจฉรา แก้วน้อย, เพชรน้ำผึ้ง รอดโพธิ์, อาวุธ หงษ์ศิริ. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมุฏฐาน. วารสารหมอยาไทยวิจัย 2564;7(2):93-104.
23. สุชาติ มานอก, ปวีณา ลิ้มเจริญ. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. วารสารก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์ 2558;15(1):106-17.
24. Praphasawat R, Suttajit M, Charoensin S, Thongbuntho R, Kunsorn P, Jeerawut K, et al. Cytotoxicity evaluation of leaf-extract from *Moringa oleifera*, *Cratoxylum formosum*, and *Mangifera indica*. Naresuan Phayao Journal 2016;9(2):5-8.
25. Junlatat J, Nusawat S, Sangprapai W, Chaweerak S. Antioxidative and anti-inflammatory effects of Thai traditional topical herbal recipe for osteoarthritis of knee. Naresuan Phayao Journal 2022;15(1):11-22.



26. Hseu YC, Wu FY, Wu JJ, Chen JY, Chang WH, Lu FJ, Lai YC, Yang HL. Anti-inflammatory potential of *Antrodia Camphorata* through inhibition of iNOS, COX-2 and cytokines via the NF-kappaB pathway. *International Immunopharmacology* 2005;5:1914-25.
27. Jaengklang C, Muangmanb T, Pathtubtimb I, Jaroennon P. Development of Dosage form of Ya Kae Fok Buam Mueai Khop, a Thai Traditional Formula, and Its Phytochemical Contents and Anti-inflammatory Activity. *JFHB* 2024;17(2):33-43.
28. Geng YQ, Guan JT, Xu XH, Fu YC. Senescence-associated beta-galactosidase activity expression in aging hippocampal neurons. *BBRC* 2010;396(4):866-9.
29. Hooten NN, Evans M. Techniques to Induce and Quantify Cellular Senescence. *Visualized Experiments* 2017;123:1-14.
30. สีนสุตา เดชสุภา, วีรศักดิ์ สิงหนัดกิจ, วรวรรณ ลิ้มทองกุล, วิชาญ ยิ่งศักดิ์มงคล, ธันว์ อธิพานิชพงศ์. การเปลี่ยนแปลงความยาวเทโลเมียร์ และจำนวนชุดไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอจากเซลล์ชั้นเอ็นในโรคโพรงกระดูกสันหลังส่วนเอวตีบแคบ : กรณีศึกษานำร่อง. *Chulalongkorn Medical* 2560;61(4):407-509.
31. สุพรรณิกา สมคุณ, บดินทร์ ขาตะเวท, วัฒนาภรณ์ สมนึก, ชญาภาณต์ ปาโต, ณัฐนิชา สุษะ. การศึกษาภูมิปัญญาหมอพื้นบ้านไทยในการรักษาโรคเลือดโรคลม: กรณีศึกษาหมอฉันทะ สิริพิล อำเภอยายเมือง จังหวัดพังงา. *J Thai Trad Alt Med* 2565;20(3):551-64.
32. Tamilarasi T, Ananthi T. Phytochemical Analysis and Anti Microbial Activity of *Mimosa pudica* Linn. *J Chem Sci* 2012;2(2):72-4.
33. นฤมล เสี่ยงเล็ก. ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสมบัติในการเป็นสารต้านเชื้อราของสารสกัดเอทานอลของไมยราบ. *วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์, บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่; 2557.*
34. Azam S, Huda AF, Shams K, Ansari P, Mohamed MK, Hasan MM, et al. Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Study of Ethanolic Extract of *Mimosa pudica*. *Young Pharmacists* 2015;7(3):234-40.
35. Goli V, Bhaskar V, Macharla SP, Bhaskar J, Devi PS, Ramchander T. Effects of Anti-Inflammatory Activity of *Mimosa pudica*. *Asian Pharma Press* 2011;1(3):69-71.
36. Arfiandi A, Nofita D, Fadrija N. ANTIINFLAMMATORY EFFECTS OF ETHANOL EXTRACT LEAVES OF PUTRI MALU (*Mimosa pudica* Linn). *JPS* 2022;5(2):274-8.
37. Ijaz S, Khan HMS, Anwar Z, Talbot B, Walsh JJ. HPLC profiling of *Mimosa pudica* polyphenols and their non-invasive biophysical investigations for anti-dermatoheliotic and skin reinstating potential. *Biomed Pharmacother* 2019;109:865-75.