

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากดอกทองกวาว

Antioxidant and antibacterial activities of *Butea monosperma* (Lam.) Taub. flower extracts

กัมปนาท คำสุข¹, ปาริชาติ อนองอาจ^{1*}, ณลิตา ไพบูลย์¹, ภรณ์ทิพย์ ชัยสว่าง¹, สุธิดา พันแสน¹
Kumpanat Khamsuk¹, Parichat Onongarj^{1*}, Nalita Phaiboon¹, Pornthip Chaisawang¹, Sutida Pounsant¹

บทคัดย่อ

ทองกวาวเป็นพืชที่มีการใช้ในทางการแพทย์แผนโบราณมาช้านาน โดยมีการรายงานว่ามีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น flavonoids, phenolics, และ tannins ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดดอกทองกวาวที่สกัดด้วย 50% เอทานอล โดยหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay และ FRAP assay จากนั้นศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) โดยศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* ผลการศึกษาพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 65 ± 0.014 mg of gallic acid equivalent/g of extract ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP assay แสดงผลด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.44 ± 1.181 mg/ml และ 16.054 ± 0.188 mg/ml ตามลำดับ ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียพบว่าสารสกัดดอกทองกวาวมีค่า MIC และ MBC อยู่ในช่วง 1.56 ถึง 200 mg/mL ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าสารสกัดดอกทองกวาวมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค อย่างไรก็ตามควรศึกษาเพิ่มเติมด้วยการแยกองค์ประกอบของสารและการแยกเป็นสารบริสุทธิ์ เพื่อให้มีความเข้าใจถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: ดอกทองกวาว, สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด, ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ, ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

Citation:

Khamsuk K, Onongarj P, Phaiboon N, Chaisawang P, Pounsant S. Antioxidant and antibacterial activities of *Butea monosperma* (Lam.) Taub. flower extracts. Health Sci J Thai 2024; 7(2): 60-67. (in Thai); <https://doi.org/10.55164/hsjt.v7i2.269190>

¹ สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

¹ Department of Medical Science, Faculty of Allied Health Science, Nakhon Ratchasima College

* Corresponding Author E-mail: parichat@nmc.ac.th, Tel: 0849521261
<https://doi.org/10.55164/hsjt.v7i2.269190>

Abstract

Butea monosperma (Lam.) (commonly known as the flame of the forest or Palash) is a plant that has been used in traditional medicine for a long time. It has been reported to contain various bioactive compounds such as flavonoids, phenolics, and tannins, which possess antioxidant properties. These compounds help neutralize free radicals and reduce oxidative stress, making the plant a subject of interest for its potential health benefits and therapeutic applications. In the present study, total phenolic compounds, antioxidant activities, and antibacterial activities of the hydroethanolic extract from the flower of *B. monosperma* were evaluated. The total phenolic compound was quantified based on the Folin-Ciocalteu method, and the antioxidant activities of the extracts were assessed through the 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The broth dilution method, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) were used to evaluate the antibacterial activity of the extracts against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* and, *Escherichia coli*. The results revealed that the total phenolic content of the extracts was 65 ± 0.014 mg of gallic acid equivalent/g of extract. Additionally, the antioxidant activities in terms of IC₅₀ value of the extracts were 0.44 ± 1.181 mg/ml and 16.054 ± 0.188 mg/ml, according to the DPPH and the FRAP assay. Crude extracts of *B. monosperma* flower also demonstrated antibacterial activity against selected bacterial strains, with MIC and MBC values ranging from 1.56 to 200 mg/mL. In summary, the results suggest that flower extracts of *B. monosperma* may serve as valuable sources of bioactive compounds with antioxidant and antibacterial properties. However, further research involving the isolation and purification of these bioactive compounds is necessary to elucidate their mechanism of action.

Keywords: *Butea monosperma*, Total phenic compound, Antioxidant activity, Antibacterial activity

บทนำ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพอย่างต่อเนื่องในปัจจุบัน พบว่ามีศักยภาพในการป้องกันและฟื้นฟูสุขภาพหรือโรคเรื้อรังในมนุษย์ เช่น โรคหัวใจ และโรคหลอดเลือดและหัวใจ⁽¹⁻²⁾ โดยพบว่ายารักษาโรคหัวใจทั่วโลกจำนวนร้อยละ 60 โดยประมาณได้จากการพัฒนายาจากสารสำคัญที่พบในพืช⁽³⁾ นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ที่เกิดจากความไม่สมดุลของการสร้างและการกำจัดอนุมูลอิสระ (Free radicals) ในร่างกาย ถือเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ⁽⁴⁾ หากมีปริมาณอนุมูลอิสระมากเกินไปจะสามารถเข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) กับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ ส่งผลให้เซลล์และเนื้อเยื่อเสียหายและทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดแข็ง โรคหลอดเลือดและหัวใจ โรคเบาหวานและโรคที่เกิดจากกระบวนการอักเสบ⁽⁵⁾ โดยปกติร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดอนุมูลอิสระและยังพบว่าการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในพืชก็สามารถป้องกันการเกิดโรคที่มีสาเหตุจากอนุมูลอิสระได้⁽⁶⁾

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ (Radical chain reactions) ในปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยยับยั้งขั้นแรกของอนุมูลอิสระที่จะสร้างหรือผลิตขึ้น (Initiation step) และขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อๆ กันไป (Propagation step) ตลอดจนขั้นสุดท้ายที่หยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ (Termination step)⁽⁷⁾ อนุมูลอิสระ เช่น Superoxide anion (O_2^-), Hydroxyl radicals ($OH^\cdot$) และ Nitric oxide (NO) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ และทำลายองค์ประกอบของเซลล์ที่สำคัญต่อกระบวนการสรีรวิทยาของร่างกาย⁽⁸⁾ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรจึงอาจต้านความเครียดออกซิเดชันโดยการกำจัดอนุมูลอิสระและน่าจะมีความสามารถในการนำมาพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกัน ฟื้นฟูและรักษาโรค

พืชสมุนไพรยังสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อมาตั้งแต่สมัยโบราณเนื่องจากในพืชมีสารประกอบอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น แทนนิน อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนินและสารประกอบฟีนอลิก และยังพบว่าการใช้พืชสมุนไพรในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ยังมีผลข้างเคียงน้อย ปลอดภัย และราคาไม่แพง ด้วยเหตุผลดังกล่าวพืชสมุนไพรจึงมีความสำคัญ

ในด้านเภสัชวิทยาในการพัฒนายาเพื่อใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสและแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์⁽⁹⁻¹⁰⁾

ทองกวาว มีชื่อสามัญว่า Bastard teak, Bengal kino หรือ Flame of the forest ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Butea monosperma* (Lam.) Taub. จัดอยู่ในวงศ์ Fabaceae ทองกวาวมีชื่ออื่นๆ อีกได้แก่ กวาว ก้าว จอมทอง จำ จาน ทองตัน ทองธรรมชาติ และทองพรมชาติ เป็นต้น ทองกวาวเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งมีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียใต้จากประเทศไทยลาว กัมพูชา เวียดนาม มาเลเซีย ศรีลังกา เนปาล บังกลาเทศ ปากีสถาน อินเดีย และในแถบทางภาคตะวันตกของอินโดนีเซีย โดยจัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ดอกทองกวาวนั้นเป็นช่อคล้ายกับดอกทองหลาง ดอกมีสีแดงส้มหรือแสด มีความยาวประมาณ 6-15 เซนติเมตร มีดอกย่อยเกาะกันเป็นกลุ่ม เมื่อดอกบานจะมีกลีบ 5 กลีบ และจะออกดอกมากในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ของทุกปี ดอกให้สีแดงใช้ย้อมผ้าโดยใช้ดอกสดมาต้มเอาน้ำซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติ อีกทั้งดอกทองกวาวยังมีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ดอกทองกวาว ใช้ต้มดื่มช่วยถอนพิษไข้ได้ ดอกทองกวาวใช้หยอดตาแก้อาการตาแดง เจ็บตา ปวดตา ระคายเคืองตา ตามัว ตาแฉะ และตาฟาง⁽¹¹⁾ นอกจากนี้ดอกทองกวาวยังใช้ในการรักษาโรคตับ โรคเบาหวาน⁽¹²⁾ โรคเมะเร็ง⁽¹³⁾ และโรคท้องเสียได้อีกด้วย⁽¹⁴⁾ และเนื่องจากสรรพคุณทางยาของดอกทองกวาว จึงมีความสนใจในการศึกษาถึงสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกทองกวาว เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อให้ได้ใช้ในการประยุกต์ใช้สมุนไพรท้องถิ่นมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

- 1) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากดอกทองกวาว
- 2) ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* ของสารสกัดจากดอกทองกวาว

วิธีการวิจัย

การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

นำดอกทองกวาวตัวอย่างมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากนั้นนำมาบดเป็นผง แล้วนำมาชั่ง 300 กรัม สกัดด้วยวิธีการหมักด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 50 % ในอัตราส่วน 1:10 w/v ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน และเขย่าเป็นระยะๆ หลังจากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำสารสกัดที่ได้ไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (Rotary evaporator) และเก็บสารสกัดที่ได้ใน

ภาชนะที่ป้องกันแสง และจัดเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส⁽¹⁵⁾ และคำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดที่ได้จากสูตร

ร้อยละผลผลิต = (น้ำหนักหลังสกัด/น้ำหนักผงสมุนไพรก่อนสกัด) × 100

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging activity)

1 เตรียมสารละลายสารสกัดหยาบดอกทองกวาวความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางเพื่อเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 5, 10, 50, 100, 250, 500, 750 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2 เตรียมสารละลาย 0.1 mM DPPH โดยชั่ง DPPH (MW = 394.33)หนัก 0.0039 กรัม ละลายในเมทานอล 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้น 0.5 10 20 30 40 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยการชั่ง กรดแอสคอร์บิก 0.025 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้นเป็น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางจนได้ความเข้มข้นตามที่กำหนด (0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร)

4 นำสารละลายสารสกัดตัวอย่างมา 1.35 ml จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืดและอุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และนำค่าดูดกลืนแสงมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ และศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรายงานเป็น IC₅₀

$$\% \text{ radical scavenging} = [1 - (A_{\text{sample}} / A_{\text{control}})] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

และ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน x) คำนวณค่า IC₅₀ จากสมการเส้นตรง $y = ax + b$

การทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent ทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method⁽¹⁶⁾

1 เตรียมสารละลายจากสารสกัดหยาบดอกทองกวาวความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยชั่งสารสกัดดอกทองกวาว 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นสารละลาย 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

2 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งกรดแกลลิก 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้

100 มิลลิลิตร นำมาเจือจางเพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3 เตรียมสารละลาย 20% sodium carbonate โดยชั่ง Na_2CO_3 20 กรัม แล้วละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เตรียมสารมาตรฐาน 10% Folin-Ciocalteu phenol reagent โดยปิเปต Folin-Ciocalteu phenol มา 10 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

4 นำสารละลายสกัดที่เตรียมไว้มา 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10% Folin-Ciocalteu phenol ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย 20% sodium carbonate 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม โดยเทียบผลกับกราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 2-40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รายงานผลเป็นหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้:

Total Phenolic Content (TPC)=

A = ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของตัวอย่าง

b = ค่าตัดแกน y (y-intercept) จากเส้น calibration curve

m = ความชัน (slope) ของเส้น calibration curve

V = ปริมาตรทั้งหมดของสารสกัด (หน่วย: มิลลิลิตร, mL)

W = น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้สกัด (หน่วย: กรัม, g)

Ferric reducing ability power (FRAP) assay

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต⁽¹⁷⁾ การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต เตรียมสารละลาย FRAP reagent ซึ่งมีอัตราส่วนผสมดังนี้ อะซีเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ สารละลาย 2,4,6-tri(2-pyridyl)-S-traizine (TPTZ) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ สารละลาย FeCl_3 20 มิลลิโมลาร์ ผสมกันในอัตราส่วน 10:1:1 (v/v/v) เตรียมตัวอย่างของสารสกัดเพื่อทดสอบ โดยชั่งตัวอย่าง 0.250 กรัม เติมน้ำทำละลาย 4 มิลลิลิตร ปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร เติม FRAP reagent ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Brain Heart Infusion Broth ใช้อัตราส่วน BHI:DW = 3.7:100 ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำ BHI Broth ที่ผสมเข้ากันดีแล้วแบ่งบรรจุใส่หลอดทดลอง

นำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จัดเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส⁽¹⁸⁾

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

นำ *S. mutans*, *S. aureus*, *B. subtilis* และ *E. coli* จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข มาเพาะเลี้ยงใน BHI Broth ในหลอดทดลองปริมาตร 3 มิลลิลิตรนำไปบ่มภายใต้สภาวะเดียวกัน นำเชื้อที่ได้มาปรับความขุ่นให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายแบรียมซัลเฟต (McFarland no. 0.5) ซึ่งมีเชื้อประมาณ 1.5×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร และทำการเจือจางต่อโดยนำเชื้อที่ทำการปรับความขุ่นแล้ว เลือกลูกตามจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลว 9 มิลลิลิตร ปริมาณที่ทำการเจือจางจะมีเชื้ออยู่ประมาณ 1.0×10^6 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร⁽¹⁸⁾

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากดอกทองกวาวที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดดอกทองกวาวที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution method โดยการเจือจางลดความเข้มข้นลงทีละครึ่งแบบ 2-Fold serial dilution ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบให้มีความขุ่นเท่ากับค่า McFarland no. 0.5 ซึ่งในแต่ละหลอดทดลองจะประกอบด้วยสารสกัดที่เจือจางแล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเชื้อแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร มีชุดควบคุมบวกประกอบด้วย Chlorhexidine (Antibiotic positive control) ชุดควบคุมลบประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว (Negative control) และชุดควบคุมการเจริญผลบวกประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อแบคทีเรีย (Positive growth control) ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มี 5-10% CO_2 เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง บันทึกผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ โดยอ่านผลจากการเจริญเติบโตของเชื้อ หากสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้จะแสดงผลเป็นลบ คือจะไม่พบตะกอนของเชื้อเกิดขึ้น เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จะได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียคือค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC)⁽¹⁹⁾

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการตรวจวิเคราะห์ Total phenolic content และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จะแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) ของการทดลอง 3 ครั้ง

ผลการศึกษา

การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากดอกทองกวาว โดยศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compounds), FRAP assay วัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. mutans*, *B. subtilis* และ *E. coli* ของสารสกัดจากดอกทองกวาว ได้ผลการทดลองดังนี้

ตัวอย่างพรรณไม้และการเตรียมตัวอย่างพืช

ตัวอย่างพืชทองกวาว พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยนักพฤกษศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น รหัส KKU No. 25655 ฝากไว้ที่หอพรรณไม้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลการเตรียมสารสกัด

จากการนำตัวอย่างดอกทองกวาวที่สะอาดและบดให้แห้ง ชั่งน้ำหนักแล้วนำมาสกัดด้วยวิธีการหมักด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ ตัวทำละลาย 50% เอทานอล แล้วนำสารละลายไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) สีเหลืองน้ำตาล มีค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบ (%yield) คือ ร้อยละ 16.14

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดดอกทองกวาว และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดดอกทองกวาวเท่ากับ 65 ± 0.014 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อทดสอบความสามารถในการจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่ามีค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 เท่ากับ 0.44 ± 1.181 mg/ml และพบว่าความสามารถในการให้อิเล็กตรอนเมื่อทดสอบด้วย FRAP assay มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 16.054 ± 0.188 mg/ml ดังตารางที่ (Table) 1

Table 1 The total phenolic compounds and the biological activities of *Butea monosperma*

Total phenolic compounds mg GAE/g plant extract ^a	Antioxidant activity	
	DPPH IC ₅₀ , mg/ml	FRAP IC ₅₀ , mg/ml ^b
65±0.014	0.44±1.181	16.054±0.188

Note: ^aGAE : gallic acid equivalents, ^bFe²⁺: Fe²⁺ equivalents

การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli*

Table 2 The antibacterial activity against *S. mutans* of the ethanolic extracts of *Butea monosperma*

Bacterial strains/compound	Concentrations of flower extract (mg/ml)	
	MIC	MBC
<i>S. mutans</i>	3.12	12.5
<i>S. aureus</i>	3.12	12.5
<i>B. subtilis</i>	3.12	12.5
<i>E. coli</i>	1.56	12.5
Chlorhexidine (Positive control)	< 0.78	< 0.78

Note: MIC = Minimum inhibitory concentration (ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้), MBC = Minimum bactericidal concentration (ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้)

จากตารางที่ (Table) 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรในการต้านเชื้อ *S. mutans*, *S. aureus*, *B. subtilis* และ *E. coli* ด้วยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) ของสมุนไพรดอกทองกวาว ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จนถึง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมี Chlorhexidine เป็นตัวควบคุมบวกโดยสารสกัดดอกทองกวาวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans*, *S. aureus*, *B. subtilis* และ *E. coli* ได้ในความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด ดังนั้นจากตารางผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดดอกทองกวาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น

อภิปรายผล

จากการสกัดดอกทองกวาวด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล สารสกัดที่ได้จากการสกัดได้เป็นของเหลว สีเหลืองน้ำตาล และได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 16.14 ทั้งนี้ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดดอกทองกวาว สอดคล้องกับงานวิจัยของ⁽²⁰⁾ พบว่าเมื่อสกัดใบพืช *Teucrium polium* ด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอลจะได้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดรวมทั้งได้ปริมาณฟีนอลิกรวม โทโคฟีรอล แทนนิน และฟลาโวนอยด์สูงที่สุด โดยสารสกัดที่ได้เป็นสีน้ำตาลเนื่องเมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูง ในที่นี้คือตัวทำละลาย 50% เอทานอล จะสามารถสกัดสารโพลีฟีนอล (Polyphenols) เช่น

แทนนิน ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และแทนนิน ออกมาได้ดีกว่าตัวทำลายที่มีไม่มีชีวิต โดยมีความเป็นไปได้ว่าสัณฐานที่มีสีน้ำตาลแสดงถึงการมีสารโพลีฟีนอลสูงในสารสกัด และอาจเกิดเนื่องจากการเกิดออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลบางชนิดในขั้นตอนของการทำแห้งและการระเหยแห้งในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง⁽²¹⁾

สารประกอบฟีนอลิกในพืชมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิกจะจับอนุมูลอิสระ ดังนั้นจะไปยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของการเกิดออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นด้วย โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วย โดยการให้อะตอมไฮโดรเจนอย่างรวดเร็วและมีความเสถียร สารประกอบฟีนอลิกจึงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก⁽²²⁾ ผลการศึกษาสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำลาย 50% เอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 65 ± 0.014 มิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่าต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม โดยมีปริมาณต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมจากสารสกัดดอกทองกวาวด้วยตัวทำลายน้ำ-เอทานอล (Hydro-ethanolic extract) ที่พบในประเทศปากีสถานของ⁽²³⁾ มีค่าเท่ากับ 84.9 ± 2.10 มิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่าต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม แต่อย่างไรก็ตามมีการพิจารณาว่าปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีค่ามากกว่า 20 มิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่าต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม ถือว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวมที่สูง⁽²⁴⁾

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay โดยเป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH[•] โดยอนุมูลอิสระ DPPH[•] มีความเสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้อีกเพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวมีโครงสร้างเปลี่ยนไปไม่เป็นอนุมูลอิสระ การลดลงของความเข้มข้นของ DPPH[•] แสดงถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ⁽²⁵⁾ จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดดอกทองกวาวด้วยสารละลาย 50% เอทานอลมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50% (IC_{50}) เท่ากับ 0.44 ± 1.181 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับผลการศึกษาของ⁽²³⁾ มีค่า IC_{50} ของ DPPH assay จากสารสกัดดอกทองกวาวด้วยเอทานอลผสมน้ำ เท่ากับ 0.37 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และผลการศึกษาสารสกัดดอกทองกวาวด้วยสารละลาย 95 % เอทานอลในประเทศไทยพบว่าค่า IC_{50} ของ DPPH assay เท่ากับ 49.43 ± 3.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีของสารสกัดจากดอกทองกวาวเกิดจากดอก

ทองกวาวด้วยสารละลายมีขั้วสูงทำให้ได้สารประกอบฟีนอลิกสูง เช่น ฟลาโวนอยด์และสารโพลีฟีนอลต่างๆ ออกมามากซึ่งมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ⁽²⁶⁾

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay เป็นอีกวิธีที่ใช้วิเคราะห์ความสามารถของสารสกัดในการรีดิวซ์ โดยสารสกัดจะให้อิเล็กตรอนแก่สารประกอบ Fe(III)-TPTZ ซึ่งเป็นสารไม่มีสี ทำให้ได้สารประกอบ Fe(II)-TPTZ ที่มีสีน้ำเงิน ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากดอกทองกวาวมีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.05 ± 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากดอกทองกวาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากความสามารถในการรีดิวซ์โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe^{3+} ให้เป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอิสระคือ Fe^{2+} ได้ดี อาจเนื่องจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในดอกทองกวาว คือสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น Butin, Butrin และ Isobutrin ที่พบในดอกทองกวาวที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing power) ได้สูง ทำให้สารสกัดหยาบจากดอกทองกวาวมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี⁽²⁷⁻²⁸⁾ ดอกทองกวาว มีสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น butrin, butein, และ isobutrin ซึ่งมีคุณสมบัติทางชีวภาพหลายประการ มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเมทานอลจากดอกทองกวาว โดยแบ่งเป็นส่วนสกัดด้วยเฮกเซน, เอทิลอะซิเตท, และบิวทานอล จากนั้นนำแต่ละส่วนสกัดไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อด้วยวิธี disk diffusion พบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมีฤทธิ์แรงในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis* อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากดอกทองกวาวยังมีจำกัด และจำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้สารสกัดดังกล่าว⁽³¹⁾

ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากดอกทองกวาวมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution โดยมีค่า MIC และ MBC อยู่ในช่วง 1.56 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในดอกทองกวาวคือสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบมากในดอกทองกวาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) ที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์ของแบคทีเรีย โดยมีกลไกในการทำลายการสังเคราะห์เยื่อหุ้มเซลล์ของโปรตีน (Membrane protein) ส่งผลให้แบคทีเรียเจริญช้าลง นอกจากนั้นสารประกอบฟีนอลิกสามารถเข้าไปจับโปรตีนบนผนังเซลล์รบกวนการขนส่งผ่านเมมเบรน (Membrane permeability) นอกจากนั้นยังแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแล้วเข้าไปหยุดการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์กรดอะมิโน ทำให้โปรตีน

ตกตะกอน สารในเซลล์รั่วไหลออกมาข้างนอกเซลล์ ส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียแตกจึงทำลายเซลล์แบคทีเรียได้⁽²⁹⁻³⁰⁾ จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากดอกทองกวาวมีความน่าสนใจในการพัฒนาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเพื่อลดการใช้สารเคมีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและพัฒนาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพอื่นๆ ในอนาคตได้

สรุป

ดอกทองกวาว (*Butea monosperma* Lam.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณค่าทางยาและอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยการศึกษาดอกทองกวาวมักมุ่งเน้นไปที่องค์ประกอบทางเคมี สรรพคุณทางยา และฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ โดยสารสกัดหยาบของดอกทองกวาวที่สกัดด้วยเอทานอลนั้น มีองค์ประกอบของสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก ที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *S. mutans*, *S. aureus*, *B. subtilis* และ *E. coli* สารสกัดดอกทองกวาวจึงน่ามีความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือเครื่องสำอางต่อไป เนื่องจากมีทั้งสารสำคัญในพืชและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค แต่ควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลองต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาลัยนครราชสีมา และสาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่การทำงาน เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Zhang Y-J, Gan R-Y, Li S, Zhou Y, Li A-N, Xu D-P, et al. Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules*. 2015;20(12):21138–56.
2. Nowak D, Gośliński M, Kłębukowska L. Antioxidant and antimicrobial properties of selected fruit juices. *Plant Foods Hum Nutr*. 2022;77(3):427–35.
3. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod*. 2007;70(3):461–77.
4. Abbasi S, Gharaghani S, Benvidi A, Latif A. Identifying the novel natural antioxidants by coupling different feature selection methods with nonlinear regressions and gas chromatography-mass spectroscopy.

- Microchem J. 2018;139:372–9.
5. Goswami N, Chatterjee S. Assessment of free radical scavenging potential and oxidative DNA damage preventive activity of *Trachyspermum ammi* L. (carom) and *Foeniculum vulgare* Mill. (fennel) seed extracts. *Biomed Res Int*. 2014;2014:582767.
6. Bardaweel SK, Tawaha KA, Hudaib MM. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of *Anthemis palestina* essential oil. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14(1):297.
7. Islam MZ, Hossain MT, Hossen F, Mukharjee SK, Sultana N, Paul SC. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Crotalaria pallida* stem extract. *Clin Phytoscience*. 2018;4(1). doi.org/10.1186/s40816-018-0066-y
8. Zhang Z, Gao L, Cheng Y, Jiang J, Chen Y, Jiang H, et al. Resveratrol, a natural antioxidant, has a protective effect on liver injury induced by inorganic arsenic exposure. *Biomed Res Int*. 2014;2014:617202.
9. Devi WR, Singh SB, Singh CB. Antioxidant and anti-dermatophytic properties leaf and stem bark of *Xylosma longifolium* clos. *BMC Complement Altern Med*. 2013;13(1):155.
10. Afsar T, Khan MR, Razak S, Ullah S, Mirza B. Antipyretic, anti-inflammatory and analgesic activity of *Acacia hydaspica* R. Parker and its phytochemical analysis. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15(1):136.
11. Ninkaew S, Chantaranothai P. The Genus *Butea* Roxb. Ex Willd. (Leguminosae-Papilionoideae) in Thailand. *Chiang Mai J. Sci*. 2015; 42(2) : 367-375.
12. Somani R, Kasture S, Singhai AK. Antidiabetic potential of *Butea monosperma* in rats. *Fitoterapia*. 2006;77(2):86–90.
13. Choedon T, Shukla SK, Kumar V. Chemopreventive and anti-cancer properties of the aqueous extract of flowers of *Butea monosperma*. *J Ethnopharmacol*. 2010;129(2):208–13.
14. Rana F, Avijit M. REVIEW ON BUTEA MONOSPERMA. *Ijrpc.com*. [cited 2024 May 7]. Available from: <https://www.ijrpc.com/files/19-2180.pdf>
15. Moonpa R, Suntornphtthue A, Visutthi M. Ethanollic

- Extract of *Piper betle* L. Leaves for Controlling of Bovine Mastitis. Science and Technology Research Journal Nakhon Ratchasima Rajabhat University 2020; 5(2): 22-29. (in Thai)
16. Buachoon N, Kookid S. Total phenolic and antioxidant activity of mango cv. nam dokmai in sa kaeo province. VRU Research and Development Journal Science and Technology 2019; 14: 121-132. (in Thai)
17. Kaisoon O, Siriamornpun S, Weerapreeyakul N, Meeso N. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. J Funct Foods. 2011;3(2):88–99.
18. Phaiboon N, Pulbutr P, Sungthong B, Rattanakit S. Effects of the ethanolic extracts of guava leaves, licorice roots and cloves on the cariogenic properties of streptococcus mutans. Pharmacogn J. 2019;11(5):1029–36.
19. Torrungruang K. Antibacterial activity of mangosteen pericarp extract against cariogenic Streptococcus mutans. Chulalongkorn University Dental Journal. 2007 [cited 2024 May 7];30(1):1–10. Available from: <https://digital.car.chula.ac.th/cudj/vol30/iss1/1/>
20. Farahmandfar R, Tirgarian B, Dehghan B, Nemati A. Comparison of different drying methods on bitter orange (*Citrus aurantium* L.) peel waste: changes in physical (density and color) and essential oil (yield, composition, antioxidant and antibacterial) properties of powders. J Food Meas Charact. 2020;14(2):862–75.
21. Pintathong P, Chomnunti P, Sangthong S, Jirarat A, Chaiwut P. The feasibility of utilizing cultured *Cordyceps militaris* residues in cosmetics: Biological activity assessment of their crude extracts. J Fungi (Basel). 2021;7(11):973.
22. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chem. 2006;99(1):191–203.
23. Baessa M, Rodrigues MJ, Pereira C, Santos T, da Rosa Neng N, Nogueira JMF, et al. A comparative study of the in vitro enzyme inhibitory and antioxidant activities of *Butea monosperma* (Lam.) Taub. and *Sesbania grandiflora* (L.) Poiret from Pakistan: New sources of natural products for public health problems. S Afr J Bot. 2019;120:146–56.
24. Tawaha K, Alali F, Gharaibeh M, Mohammad M, Elelimat T. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chem. 2007;104(4):1372–8.
25. Baliyan S, Mukherjee R, Priyadarshini A, Vibhuti A, Gupta A, Pandey RP, et al. Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. Molecules. 2022;27(4):1326.
26. Sungthong B, Phadungkit M. Anti-tyrosinase and DPPH radical scavenging activities of selected Thai herbal extracts traditionally used as skin toner. Pharmacogn J. 2015;7(2):97–101.
27. Chokchaisiri R, Suaisom C, Sriphota S, Chindaduang A, Chuprajob T, Suksamrarn A. Bioactive flavonoids of the flowers of *Butea monosperma*. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2009 [cited 2024 May 8];57(4):428–32.
28. Liu J, Li X, Cai R, Ren Z, Zhang A, Deng F, et al. Simultaneous study of anti-ferroptosis and antioxidant mechanisms of butein and (S)-butin. Molecules. 2020;25(3):674.
29. Boulekbache-Makhlouf L, Slimani S, Madani K. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. Ind Crops Prod. 2013;41:85–9.
30. Karnwal A. In vitro antibacterial activity of *Hibiscus rosa sinensis*, *Chrysanthemum indicum*, and *Calendula officinalis* flower extracts against Gram negative and Gram positive food poisoning bacteria. Advances in Traditional Medicine. 2022;22(3):607–19.
31. Dave KM, Darji PP, Gandhi FR. Antimicrobial activity and phytochemical study of plant parts of *Butea monosperma*. J Drug Deliv Ther. 2019;9(4-A):344–8.