# บทที่ 2
# แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดหยาบของชาเลือดมังกร 4 ชนิด นั้นคือส่วนสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เมทานอล และน้ำ โดยมีรายละเอียดที่เกี่ยวข้องดังนี้

## ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของต้นเลือดมังกร

ต้นเลือดมังกร มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่าเพอริทโทฟี รอคเบอกิอานา (*Peristrophe roxburghiana*) วงศ์อแคนทาซี (Acanthaceae) พบมากในประเทศจีน กัมพูชา อินเดีย มาเลเซีย เวียดนาม ไนจีเรีย และไทย (Aluko et al., 2019) ต้นเลือดมังกรเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก ความสูงประมาณ 30-50 เซนติเมตร สามารถเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณพื้นที่ชื้น ดินร่วนปนทราย ใบเดี่ยว ปลายใบแหลมสีเขียว ดอกเดี่ยวรูปแตรออกเป็นกระจุกบริเวณซอกใบและปลายยอด ดอกบานเต็มที่สีชมพูอ่อนหรือสีม่วงกุหลาบ กลีบดอก 2-3 กลีบ (Khue et al., 2014) ฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นเลือดมังกร คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รักษาปอดแผลในปาก วัณโรค หลอดลมอักเสบ ตับอักเสบ พิษงูกัด ควบคุมความดัน ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดเบาหวาน รักษาความดันโลหิตสูง (Aluko et al., 2019)

**ภาพที่ 2.1** ลักษณะใบของต้นเลือดมังกร

## อนุมูลอิสระ

อนุมูลหรืออนุมูลอิสระ (Free radicals) คือ สารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูล หรืออนุมูลอิสระ คืออิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล $A^{\bullet}$ อนุมูล $A^{-\bullet}$ และอนุมูล $A^{+\bullet}$ ร่างกายสามารถสร้างอนุมูลอิสระได้ และยังสามารถได้รับอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น มลพิษ ในอากาศ ฝุ่น ควันบุหรี่ แสงแดด ความร้อน ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Nitrogen dioxide) เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น โรคความดันโลหิต โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคข้ออักเสบ โรคเหงือก โรคภูมิแพ้ โรคเกี่ยวกับสายตา โรคชรา โรคความจำเสื่อม เกิดความผิดปกติของปอดและระบบประสาท เป็นต้น อนุมูลอิสระมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ($O_2^{-\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซี ($^{\bullet}OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^{\bullet}$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($^{\bullet}OOH$) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

## สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารที่มีหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียร ซึ่งกลไกในการต้านอนุมูลอิสระมีหลายรูปแบบ เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ การจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจน (Oxygen) ที่ขาดอิเล็กตรอน การหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556) จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ไปทำลายองค์ประกอบของเซลล์ แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ โพรพิลแกลเลต (Propyl gallate) บิวทิล ไฮดรอกซีแอนิโซล (Butylated hydroxyanisole) บิวทิล ไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylated hydroxytoluene) และเทอเทียรีบิวทิลไฮโดรควิโนน (Tertiary butylhydroquinone) สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่นสีและรสชาติเปลี่ยนแปลงไปสารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ใน

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

สิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์วิตามินและสารอื่น ๆ เช่น กรดอะมิโน (Amino acid) วิตามินซี (Ascorbic acid) แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แทนนิน (Tannins) และโทโคฟีรอล (Tocopherols) (อัญชนา เจนวิถี, 2544)

**1. สารประกอบฟีนอลิก**

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดา ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม ถึง 1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลี-ฟีนอลิกเป็นสารที่บทบาทสาคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือด เหล่านี้เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติ การเป็นสารต้านอนุมูล โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี อย่างน้อย 1 หมู่ (ปริยานุช อินทร์รอด, 2551)

**2. สารกลุ่มแอนโทไซยานิน**

แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นรงควัตถุที่พบในพืชทั้งในดอกและในผลของพืช ให้สีแดง น้ำเงิน หรือม่วง เป็นสารที่ละลายในน้ำได้ดี มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของลิโปโปรตีน (Lipoprotein) และการตกตะกอนของเกล็ดเลือด ทาให้แอนโทไซยานินมีบทบาทในการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคระบบหัวใจหลอดเลือด มะเร็ง และเบาหวาน (ปริยานุช อินทร์รอด, 2551)

**3. สารกลุ่มฟลาโวนอยด์**

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้งการมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาแวน (Flanvanes) ฟลาวาโนน (Flavanols) ฟลาวานอล (Flavanols) ฟลาโวนอล (Flavonols) ฟลาโวน (Flavonoes) และแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) (ปริยานุช อินทร์รอด, 2551)

## วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ ความสามารถในการยับยั้ง หรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ หน่วยของการวิเคราะห์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และแบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทาให้สารอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 ($IC_{50}$ หรือ The half maximal inhibitory concentration) โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งทั้งสองแบบสามารถแสดง หน่วยได้หลากหลาย ได้แก่ ไมโครโมลาร์ต่อมิลลิกรัม มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิกรัม ไมโครโมลาร์ต่อมิลลิลิตร มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิลิตร และมิลลิโมลต่อกรัม เป็นต้น

**1. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช**

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คือ อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH หรือ Diphenyl-picryhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ 515-517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตรมิเตอร์ (Spectrophotometer) เมื่ออนุมูลอิสระดีพีพีเอชทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (สารที่นำมาทดสอบ) สารอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (มีสีม่วง) จะกลายเป็นสารดีพีพีเอชที่เสถียร (มีสีเหลือง) โดยในการวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างจะวัดการหายไปของสารสีม่วง (สารอนุมูลอิสระดีพีพีเอช)

**2. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส**

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS•+, 2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงิน สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของเอบีทีเอส ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจางเอบีทีเอส ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำเอบีทีเอสทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยน้ำซึ่งจะทาให้สีจางลง

## แบคทีเรียก่อโรค

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กมาก และมนุษย์เราไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าเชื้อแบคทีเรียนั้นแตกต่างจากเชื้อราที่มีขนาดใหญ่กว่าและมีหลายเซลล์ และต่างจากเชื้อไวรัสที่เป็นเพียงสารพันธุกรรมซึ่งมีขนาดเล็กมาก แบคทีเรียชนิดที่ก่อโรค เมื่อเข้าสู่ร่างกายอาจแทรกตัวเข้าไปสู่ในเซลล์ต่าง ๆ สร้างสารพิษหรือกระตุ้นให้ร่างกายตอบสนองจนเกิดความผิดปกติได้ การแบ่งประเภทแบคทีเรียนั้นขึ้นอยู่กับเกณฑ์ที่ใช้ในการแบ่ง ยกตัวอย่างเช่น แบ่งตามรูปร่างหลัก ๆ จะแบ่งได้เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างแบบกลม (Cocci) และแบคทีเรียที่มีรูปร่างแบบแท่ง (Bacilli) แบ่งตามส่วนประกอบบนผนังและเยื่อหุ้มเซลล์จะแบ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) และแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) เมื่อย้อมด้วยสีแกรมจะมองเห็นสีแตกต่างกันแบ่งตามการใช้ออกซิเจนจะแบ่งได้เป็น แบคทีเรียที่ต้องใช้ออกซิเจน (Aerobic bacteria) และแบคทีเรียที่ไม่ต้องใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria) ในการเจริญเติบโต แบคทีเรียมีอยู่รอบ ๆ ตัวเราทั้งในร่างกายและธรรมชาติ แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ และบางชนิดยังเป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ แต่แบคทีเรียบางชนิดก็ทาให้เกิดโรคได้ ซึ่งโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ อหิวาตกโรค โรคปอดบวม โรคอาหารเป็นพิษ วัณโรค โรคอุจจาระร่วง โรคฉี่หนู โรคบาดทะยัก เป็นต้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดดังต่อไปนี้ (ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร และคณะ, 2551)

1. แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ก่อโรคอาหารเป็นพิษ ส่วนใหญ่จะพบได้ในร่างกายของมนุษย์ ตามผิวหนังและโพรงจมูก

2. แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ก่อโรคก่อโรคอาหารเป็นพิษ พบตามสิ่งแวดล้อม

3. แบคทีเรีย *Escherichia coli* ก่อโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และก่อโรคอุจจาระร่วง พบได้ในร่างกายของมนุษย์

4. แบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ก่อโรคปอดบวม พบกระจายในดิน น้ำเสียและในพืช

## งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

Aluko et al. (2019) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์แมสสเปกโทรเมทรีของสารสกัดจากใบเลือดมังกร (*P. roxburghiana*) และประเมินผลการต่อต้านความดันโลหิตสูงและป้องกันการเกิดไขมันในเลือดสูง พบว่าสารสกัดจากใบเลือดมังกร (*P. roxburghiana*) ช่วยลดความดันโลหิต ไขมันในเส้นเลือดตีบ และไขมันในหลอดเลือดของหนูที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง

อย่างมีนัยสำคัญ จำนวนเม็ดเลือดขาว และระดับ ครีเอตินินลดลงอย่างมีประสิทธิภาพ และยังป้องกันไขมันในเลือด เพิ่มระดับกลูตาไธโอน เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดในหนู

Quan et al. (2016) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบน้ำและสารสกัดหยาบเมทานอลของใบเจ็ดกำลังช้างสาร (*P. bivalvis*) ด้วยวิธีการขจัดอนุมูลดีพีพีเอช พบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และสารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่ดีกว่าสารสกัดหยาบน้ำ

Tanavade et al. (2012) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดเอทานอลของใบและลำต้นของต้นเจ็ดกำลังช้างสาร (*P. bivalvis*) โดยแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ คือ คือ สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส บาซิลลัส ซับทีลิส เอสเชอริเชีย โคไล และซูโดโมแนส ออรูจิโนซ่า ทาการทดสอบด้วยวิธีเอการ์ เวล ดิฟฟิวชัน (Agar well diffusion) พบว่า สารสกัดเอทานอลของใบและลาต้นของต้นเจ็ดกำลังช้างสารมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด และ สารสกัดเอทานอลของใบต้นเจ็ดกาลังช้างสารมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดเอทานอลของลำต้นต้นเจ็ดกำลังช้างสาร

Thuy et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากใบเลือดมังกร (*P. roxburghiana*) ต่อการไหลเวียนโลหิตและการเกิดลิ่มเลือดในหนู ทำการทดสอบโดยศึกษาวิทยากระแสเลือด (Hemorheology) ของอะดรีนาลีนและการกระตุ้นน้ำกลายเป็นน้าแข็งและสังเกตการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด พบว่าสารสกัดจากใบเลือดมังกร (*P. roxburghiana*) สามารถช่วยลด Hemorheologic ในหนูได้อย่างมีประสิทธิภาพและลดการเกิดลิ่มเลือดอุดตัน

Yang et al. (2012) ได้ทำการศึกษาหาฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นเลือดมังกร (*P. roxburghiana*) โดยพบว่าต้นเลือดมังกรมีสารประกอบเบต้า-ซิโตสเตอรอล (Beta-sitosterol) เบต้า-ดาอูโคสเตอรอล (Beta-daucosterol) คูมาริน (Coumarin) 1-ออกตะเดคคานอล (1-Octadecanol) อัลลันโทอิน (Allantoin) ลูพิออล (Lupeol) กรดโอลีนโนลิก (Oleanolic acid) กรด 3-อะซิทิล โอลีนโนอิก (3-Acetyl oleanolic acid) ไซยานิดิน (Cyanidin) ไซยานิดิน-3-โอ-เบต้า-ดี-กลูโคส (Cyanidin-3-*O*-beta-*D*-glucoside) เพอริสโทรพีน (Peristrophine) โดยการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกโทรสโกปีและเปรียบเทียบกับวรรณกรรม และได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนู พบว่าต้นเลือดมังกรมังกรมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ