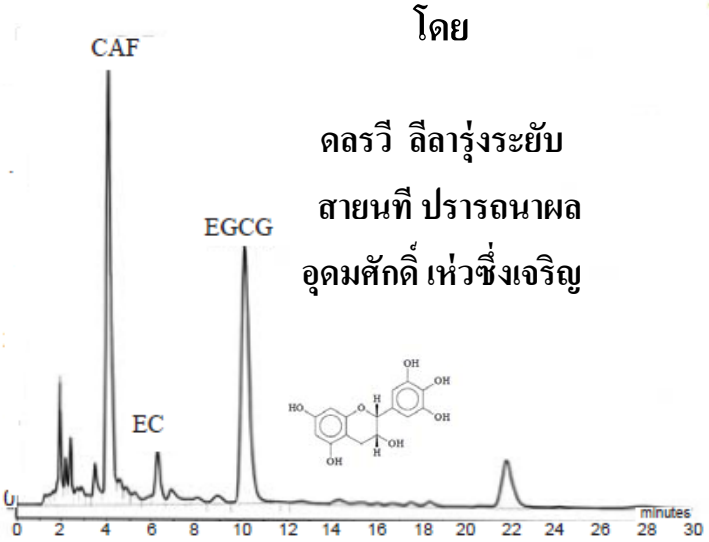
รายงานการวิจัย

เรื่อง

โครงการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในสมุนไพรหญ้าดอกขาว

(Study of Antioxidant activity and Active compounds in *Vernonia cinerea* Less.)

รหัสโครงการ 52-01-03



โดย

ดลรวี ลีลารุ่งระยับ

สายนที ปรารถนาผล

อุดมศักดิ์ เห่วซึ่งเจริญ

การวิจัยได้รับทุนสนับสนุนจาก

ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมการบริโภคยาสูบ (ศจย) และ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส)

พ.ศ.2552

คำนำ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากงานวิจัยเดิมที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิผลของสมุนไพรหญ้าดอกขาวในการช่วยเลิกบุหรี่ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ ซึ่งผลที่ได้พบว่าช่วยให้เลิกบุหรี่ได้ อีกทั้งพบว่าช่วยลดภาวะออกซิเดทีฟสเตรสในกลุ่มคนที่ได้รับหญ้าดอกขาว แต่เดิมไม่ทราบกลไกหรือองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ที่ชัดเจน

ในงานวิจัยครั้งนี้ ได้มุ่งประเด็นเกี่ยวกับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์สารองค์ประกอบในน้ำเคี่ยวหญ้าดอกขาว เพื่อเป็นการยืนยัน ผลการศึกษาที่ผ่านมา อีกทั้งจะเป็นข้อมูลเชิงวิชาการ อีกทั้งนำไปสนับสนุนงานวิจัยต่อไปในทางคลินิก

ดลรวี ลีลารุ่งระยับ และคณะ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณแหล่งทุนวิจัย “ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมการบริโภคยาสูบ (ศจย) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส) ที่ให้ทุนวิจัย เพื่อทำให้งานศึกษาครั้งนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ดลรวี ลีลารุ่งระยับ

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างและวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในน้ำเคี่ยวสมุนไพรหญ้าดอกขาวจากส่วนต่างๆ คือ ดอก ก้าน ใบ และ ผสม

วิธีการศึกษา โดยการนำหญ้าดอกขาวทั้งต้น มาทำการล้างให้สะอาดแล้วแยกส่วน ดอก ก้าน ใบ และผสมทั้งต้นออกจากกัน หันให้เป็นชิ้นประมาณ 1 นิ้ว แล้วจึงนำไปอบให้แห้ง จากนั้นทำการเคี่ยวโดยการชั่งแต่ละส่วนจำนวน 20 กรัมเติมน้ำ 390 ซีซี แล้วเคี่ยวจนน้ำเหลือเพียง 130 ซีซี นำน้ำเคี่ยวที่ได้จากส่วนต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ด้วยวิธี ABTS decolorization, Nitric Oxide Scavenging, Hydroxyl Radical Scavenging, และ Superoxide Radical Scavenging นอกจากนี้นำมาวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ได้แก่ Total phenolics, Catechines (Catechin-C, Epicatechin-EC, Epigallocatechin gallate-EGCG, Epigallocatechin-EGC และ Epicatechin gallate-ECG), Flavonoid (Kaempferol, Quercetin, Myricetin), Isoflavone (Daidzin, Genistin) รวมไปถึงการตรวจหาปริมาณ Nitrite ในน้ำเคี่ยวจากหญ้าดอกขาวส่วนต่างๆ

ผลการศึกษาพบว่า น้ำเคี่ยวที่ได้จากใบจะมีฤทธิ์ในการทำลาย ABTS cation โดยรวมสูงสุด (10.40 ± 0.32 มิลลิกรัมในน้ำเคี่ยว 130 มิลลิลิตร) รองลงมาคือ จากดอก (3.56 ± 0.23 มิลลิกรัมในน้ำเคี่ยว 130 มิลลิลิตร) ผสม (2.23 ± 0.12 มิลลิกรัมในน้ำเคี่ยว 130 มิลลิลิตร) และจากก้าน (0.96 ± 0.11 มิลลิกรัมในน้ำเคี่ยว 130 มิลลิลิตร) ฤทธิ์ในการทำลายไนตริกออกไซด์พบว่า น้ำเคี่ยวจากส่วนก้านจะมีฤทธิ์มากที่สุด (60.10 ± 4.78%) รองลงมาคือ ดอก (55.05 ± 3.2%), ใบ (45.45 ± 5.12%) และผสม (42.32 ± 3.24%) ตามลำดับ ฤทธิ์ในการทำลายอนุมลอิสระชนิดไฮดรอกซิล พบว่า น้ำเคี่ยวที่ได้จากส่วนผสม มีฤทธิ์ในการทำลายได้ดีที่สุด (39.24 ± 2.11%) รองลงมาคือ ดอก (35.69 ± 1.23%), ใบ (32.28 ± 1.99%) และก้าน (17.97 ± 1.9%) ตามลำดับ ฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระชนิดซูเปอร์ออกไซด์ พบว่าในส่วนของดอกและก้านจะมีฤทธิ์ใกล้เคียงกันคือ 42.86 ± 3.2%, 42.86 ± 4.7% โดยในส่วนของผสมจะให้ฤทธิ์รองลงมา (28.57 ± 3.2%) และใบต่ำที่สุด (14.28 ± 5.12%) สำหรับปริมาณสารออกฤทธิ์ในกลุ่มฟีนอลิกโดยรวม พบว่า น้ำเคี่ยว 1 มิลลิลิตรจากส่วนใบมีปริมาณสูงที่สุด (1579.9 ± 13.4 ไมโครกรัม) รองลงมาคือ ผสม (971.81 ± 33.1 ไมโครกรัม) ดอก (674.0 ± 21.2 ไมโครกรัม) และก้านต่ำที่สุด (364 ± 10.9 ไมโครกรัม) สำหรับปริมาณของ Catechin พบว่าในน้ำเคี่ยวจากดอกจะมีปริมาณ Catechin ทั้งหมดสูงที่สุด (101.85 มิลลิกรัม โดย C > EC), รองลงมาคือ ใบ (91.38 มิลลิกรัม โดย EC > C > EGC > EGCG > ECG), ผสม (78.03 มิลลิกรัม โดย C > EC > EGCG > EGC > ECG) และก้าน (18.53 มิลลิกรัม โดย EC > C > EGCG > EGC) ในขณะที่การหาปริมาณ Flavonoid ในน้ำเคี่ยวจำนวน 130 มิลลิลิตรจากส่วนต่างๆ พบว่าในส่วนของดอกไม่พบสารในกลุ่มนี้ โดยจากก้านมีสารเพียง Myricetin (130.65 ± 5.23 ไมโครกรัม) เช่นเดียวกับจากส่วนใบ Myricetin (88.19 ± 8.45 ไมโครกรัม) แต่ในใบยังพบสารสำคัญอีก 2 ชนิดคือ Kaempferol (52.21 ± 3.12 ไมโครกรัม) และ Quercetin (312.56 ± 6.34 ไมโครกรัม) ในปริมาณที่สูง ขณะเดียวกันในน้ำเคี่ยวจากผสม พบทั้ง Kaempferol (45.83 ± 6.87 ไมโครกรัม), Querctein

(240.74 ± 9.45 ไมโครกรัม) และ Myricetin (78.39 ± 3.55 ไมโครกรัม) ตามลำดับ สำหรับปริมาณของ Isoflavone พบว่า ในน้ำเคี่ยว 130ซีซี พบ Daidzin ในปริมาณที่สูงที่สุดจากใบ (50.87 ± 2.3 มิลลิกรัม), รองลงมาคือ ดอก (27.29 ± 1.23 มิลลิกรัม) ก้าน (13.36 ± 2.12 มิลลิกรัม) และ ผสม (9.49 ± 1.99 มิลลิกรัม) ส่วนปริมาณ Genistin จะมีปริมาณมากที่สุดในน้ำสกัดจากใบ (80.51 ± 2.34 มิลลิกรัม) รองลงมาคือ ผสม (30.49 ± 1.34 มิลลิกรัม) ดอก (39.43 ± 1.56 มิลลิกรัม) และ ก้าน (9.42 ± 1.89 มิลลิกรัม) ตามลำดับ สำหรับปริมาณของ Nitrite พบว่าน้ำเคี่ยวจากดอกจะมีปริมาณไนไตรทสูงที่สุด (1.04 ± 0.06 ไมโครกรัม) รองลงมาคือ น้ำสกัดจากก้าน (0.93 ± 0.02 ไมโครกรัม) น้ำสกัดจากผสม (0.84 ± 0.08 ไมโครกรัม) และจากน้ำสกัดจากใบ (0.47 ± 0.06 ไมโครกรัม) ตามลำดับ

Abstract

Objectives: This study was to investigate the various antioxidant activities and analyzed the active compounds in four condensed juices from flower, stem, leaf, and mix of *Vernonia cinerea* (VC) Less.

Methods: Raw fresh VC was cleaned and separated to flower, stem, leaf and mix all, then heated until dry in oven. 20 gram of each was mixed with clean water (390 ml) and boiled until water evaporated to 130 ml (condensed juice). Condensed juices from flower, stem, leaf and mix all were tested their antioxidant activities with ABTS decolorization, Nitric oxide scavenging, Hydroxyl radical scavenging, Superoxide radical Scavenging, and nitrite content with a spectrophotometer. Each juices were analyzed their active compounds, Total phenolics, Catechin (Catechin-C, Epicatechin-EC, Epigallocatechin gallate-EGCG, Epigallocatechin-EGC and Epicatechin gallate-ECG), Flavonoid (Kaempferol, Quercetin, Myricetin), Isoflavone (Daidzin, Genistin) by high performance liquid chromatography (HPLC).

Results: Condense juice from leaves had the highest anti-oxidant activity by scavenging ABTS radical (10.40 ± 0.32 mg/130 ml), but from flowers (3.56 ± 0.23 mg/130 ml), mix (2.23 ± 0.12 mg/130 ml) and stems (0.96 ± 0.11 mg/130 ml) were lower. In nitric oxide scavenging, stem juice showed higher activity (60.10 ± 4.78%) compared to from flower (55.05 ± 3.2%), leaf (45.45 ± 5.12%) and mix (42.32 ± 3.24%). Hydroxyl radical scavenging, mix juice had higher activity (39.24 ± 2.11%) compared to juices from flower (35.69 ± 1.23%), leaf (32.28 ± 1.99%) and stem juices (17.97 ± 1.9%). Superoxide radical scavenging, juices from flower and stem had better activity (42.86 ± 3.2%, 42.86 ± 4.7%), compared to from mix (28.57 ± 3.2%) and leaf parts (14.28 ± 5.12%). For the active compounds, in 130 ml of juice from leaf had the highest total phenolics (1,579.9 ± 13.4 µg), compared to juices from mix (971.81 ± 33.1 µg), flower (674.0 ± 21.2 µg), and stem (364 ± 10.9 µg). Catechin content, juice from flower had higher total catechin (101.85 mg with C > EC), compared to juices from leaf (91.38 mg with EC > C > EGC > EGCG, ECG), mix (78.03 mg with C > EC > EGCG > EGC > ECG) and stem (18.53 mg with EC > C > EGCG > EGC). Flavonoid content in all juices (130 ml), no any flavonoids' peaks from flower juice, whereas from stem showed only Myricetin (130.65 ± 5.23 µg) as same as from leaf juice (88.19 ± 8.45 µg) that contained high concentration of Kaempferol (52.21 ± 3.12 µg) and Quercetin (312.56 ± 6.34 µg). But in juice from mix had Kaempferol (45.83 ± 6.87 µg), Quercetin (240.74 ± 9.45 µg) and Myricetin (78.39 ± 3.55 µg) respectively. For Isoflavone in 130 ml of all juices, Daidzin was found in leaf juice (50.87 ± 2.3 mg) compared to juices from flower (27.29 ± 1.23 mg), stem (13.36 ± 2.12 mg), and mix (9.49 ± 1.99 mg).

Moreover, Genistin in the leaf juice was higher (80.51 ± 2.34 mg) than in mix (30.49 ± 1.34 mg), flower (39.43 ± 1.56 mg) and stem (9.42 ± 1.89 mg). Finally, in 130 ml of juice from flower had the nitrite (1.04 ± 0.06 μg) higher than from stem (0.93 ± 0.02 μg), mix (0.84 ± 0.08 μg), and leaf (0.47 ± 0.06 μg) respectively.

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	2
กิตติกรรมประกาศ	3
บทคัดย่อภาษาไทย	4
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	5
สารบัญ	8
สารบัญภาพ	9
สารบัญตาราง	10
ที่มาและความสำคัญ	11
ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
วัตถุประสงค์	14
ขั้นตอนและวิธีการศึกษา	15
ผลการศึกษา	21
สรุปผลการศึกษา	29
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก (กราฟของ HPLC ต่างๆ)	32
ประวัติและผลงานนักวิจัย	

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1	หญ้าดอกขาว	12
2	แสดงหญ้าดอกขาว การแยกส่วนต่าง และการอบแห้งในตู้อบ	16
3	แสดงลักษณะส่วนต่างๆ ได้แก่ ดอก ก้านหรือต้น และใบที่อบแห้งแล้ว	17
4	แสดงการเคี่ยวหญ้าดอกขาว	17
5	กราฟเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity)	21
6	กราฟเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระชนิดไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide scavenging)	22
7	กราฟเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระชนิดไฮดรอกซิลด์ (Hydroxyl radical scavenging)	23
8	กราฟเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระชนิดซูปเปอรออกไซด์ (Superoxidel radical scavenging)	24
9	กราฟเปรียบเทียบปริมาณของสาร Total Phenolics	25
10	กราฟเปรียบเทียบปริมาณของสาร Isoflavones (Daidzin และ Genistin)	27
11	กราฟเปรียบเทียบปริมาณของสารไนไตรท (Nitrite)	28

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงปริมาณของสาร Catechin; Catechin-C, Epicatechin-EC, Epigallocatechin gallate-EGCG, Epicatechin gallate-ECG และ Epigallocatechin-EGC) ในสารสกัดชนิดต่างๆ	26
2	แสดงปริมาณของสาร Flavonoid (Kaempferol, Quercetin และ Myricetin)	26

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ (Background and Rationale)

ปัจจุบันประเทศไทย ได้มีการรณรงค์ให้ประชาชนให้เลิกบุหรี่อย่างต่อเนื่องถึงแม้จำนวนประชากรที่สูบบุหรี่ลดลง อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ 2549 เป็นต้นมา รวมไปถึงราคาของบุหรี่ขาวเพิ่มสูงขึ้นก็ตาม แต่ก็ยังมีประชาชนอีกจำนวนมาก ทั้งในผู้ใหญ่ วัยรุ่นหรือนักเรียนทั่วไป นอกจากบุหรี่ขาวแล้วทางภาคเหนือ ในวัยกลางคนหรือกลุ่มผู้สูงอายุ นิยมสูบบุหรี่ขี้โยกันเป็นจำนวน ซึ่งอาจจะมาทดแทนบุหรี่ในอนาคตเป็นได้

สำหรับประสิทธิผลในการเลิกบุหรี่ของหญ้าดอกขาว ได้เคยมีงานศึกษาในกลุ่มผู้ติดบุหรี่ ณ สถาบันธัญญารักษ์ สามารถช่วยเลิกบุหรี่ได้เป็นผลสำเร็จประมาณร้อยละ 40 โดยวิธีการใช้หญ้าดอกขาวแบบ ชงชา หรือ สมุนไพรแห้ง 3 กรัม เติมน้ำร้อน ประมาณ 1 แก้ว ทิ้งไว้สักครู่แล้วดื่ม (Wongwiwatthananukit และคณะ, 2009)

แต่จากงานศึกษาวิจัยของทีมผู้วิจัย ในระหว่างปี พ.ศ. 2551-2552 ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพและประสิทธิผลของการออกกำลังกายร่วมกับการใช้สมุนไพรหญ้าดอกขาว เพื่อการเลิกบุหรี่ในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่า หญ้าดอกขาวในรูปแบบของการเคี่ยว ตามตำรับแพทย์แผนไทย โดยใช้วิธีการเคี่ยวน้ำ 3 แก้วในหญ้าดอกขาว 20 กรัม จนเหลือ 1 แก้ว จากนั้นให้อมแล้วดื่มเป็นเวลาติดต่อกันนาน 2 เดือน พบว่าสามารถช่วยลดจำนวนการสูบบุหรี่เกินกว่าร้อยละ 50 และหากใช้ร่วมกับการออกกำลังกายอย่างหนัก พบว่า สามารถทำให้ลดจำนวนการสูบบุหรี่และเลิกการสูบบุหรี่ได้มากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเจาะเลือดมาตรวจวัดฤทธิ์ในร่างกาย ในกลุ่มที่ได้สมุนไพรหญ้าดอกขาวอย่างต่อเนื่อง จะมีการฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น ลดภาวะออกซิเดทีฟสเตรสดีกว่า กลุ่มอื่นๆ โดยไม่พบอาการข้างเคียงใดๆ อาทิ ท้องเสีย วิงเวียน ท้องผูกแต่อย่างไร แต่กลับพบว่าในกลุ่มอาสาสมัครบางราย สามารถรับประทานอาหารได้เพิ่มขึ้นจากเดิม

แต่เนื่องยังไม่พบงานวิจัยใดๆที่ได้แสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรวมแบบของสารองค์ประกอบในการออกฤทธิ์สำคัญในระดับห้องปฏิบัติการ รวมไปถึงรูปแบบวิธีการเตรียมที่ชัดเจน จึงทำให้สนใจศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆและสารออกฤทธิ์ในน้ำสมุนไพรหญ้าดอกขาว นอกจากนี้แล้วในการศึกษาครั้งนี้ ยังสนใจหญ้าดอกขาวในส่วนต่างๆ คือ ทั้งหมด ใบ ต้น ดอกหรือราก เพื่อเปรียบเทียบกัน

บทบวนวรรณกรรม

หญ้าหมอน้อย (Mo noi) (วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) หรือ หญ้าดอกขาว โดยมีชื่ออื่นๆตามภูมิภาคในประเทศไทยคือ เสือสามขา, หญ้าหมอน้อย, หญ้าสามวัน (เชียงใหม่, ต้นก้านธูป (จันทบุรี) หรือ หญ้าละออง (ตราด) บางครั้งเรียกว่า ต้นม่านพระอินทร์ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า " *Vernonia cinerea* (L) Less . เป็นพืชล้มลุก ขนาดเล็ก สูง 1-5 ฟุต ลำต้นเป็นเหลี่ยม มีขนนุ่ม ใบมีหลายรูป รูปไข่รี ปลายและโคนแหลม ผิวค่อนข้างเรียบ มีขนนุ่ม ดอกเล็กกลมเป็นพู่เป็นช่ออยู่ปลายยอดมีสีม่วงหรือชมพู ผลแห้งเล็กปลายเป็นขนแห้งสีขาวเป็นพู่แตกบาน ปลิวไปตามลม พบได้ทั่วไปคือ สนามหญ้า ที่รกร้าง และทุ่งนา ชายป่า เจริญได้ตลอดทั้งปี

รูปที่ 1 หญ้าดอกขาว

ประโยชน์คือ ลำต้น นำมาต้ม เอาน้ำกินเป็นยาแก้ไข้ ปวดท้องเฟ้อท้องขึ้น แผลบวมอักเสบ ความดันโลหิตสูง หรือใช้ตำให้ละเอียดเอามาพอก แก้นมคัด ดูดหนองแก้บวม โดยมีข้อมูลภูมิปัญญาไทยคือ ใบ ใช้ใบบด นำมาตำให้ละเอียดใช้พอกแผล ช่วยสมานแผล แก้ตาฟาง เมล็ดนำมาป่นให้ละเอียด ใช้ชงกับน้ำร้อนกินเป็นยาขับพยาธิเส้นด้าย ปัสสาวะขัด รากสด ต้มกินขับปัสสาวะขัด และไอเรื้อรัง โดยสารออกฤทธิ์สำคัญ ยังไม่ได้มีการศึกษา ส่วนความเป็นพิษ พบว่าสารสกัดอัลกอฮอล์ : น้ำ (1:1) จากทั้งต้น ขนาด 20 มคก./มล. ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง CA-9KB (Dhar และคณะ, 1968) สารสกัดจากทั้งต้น ฉีดเข้าช่องท้องหนูถีบจักร ขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50% เท่ากับ 1.874 ก./กก. (Muir, 1981) คำแนะนำ วิธีการใช้คือ นำหญ้าดอกขาวหรือหญ้าหมอน้อยเอาใบเป็นส่วนใหญ่ นำใบมาล้างให้สะอาด อบให้แห้งแล้วนำมาคั่วไฟอ่อนๆให้พอหอม นำมาชงแบบชาจีนดื่มเหมือนน้ำชา โดยนำผงหญ้าดอกขาวที่อบคั่วแล้ว 1/ 2 ช้อนชา แช่ในน้ำร้อน 2 แก้วกาแฟ ดื่มตอนเช้า และ อีก 1/2 ช้อนชา แช่ในน้ำร้อน 2 แก้วกาแฟ ดื่มตอนเย็นจะทำให้การสูบบุหรี่ครั้งต่อไปรสชาติไม่เหมือนเดิมทำให้สารถเลิกบุหรี่ได้

นอกจากนี้แล้วการศึกษาฤทธิ์ของใบหญ้าดอกขาวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเทธานอล พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ การปวด และลดไข้ (Iwalewa, 2003) นอกจากนี้แล้วยังพบว่าสามารถลดการอักเสบในหนูทดลองได้ (Mazumder 2003) โดยสารสำคัญที่ออกฤทธิ์คาดว่าเป็นกลุ่ม Flavonoid และ Terpenoid (Mishra 1984 และ Misra 1993) และยังพบว่าสารสกัดที่ได้จากดอกหญ้าดอกขาว ก็มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) และการยับยั้งการอักเสบ (Anti-inflammation) โดยการลดการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Lipid peroxidation) และ สร้างสารกลูตาไทโอน (Glutathione) ในหนู (Latha 1998)

คำถามงานวิจัย

สารออกฤทธิ์ที่ได้มีการศึกษามาก่อน มักจะสกัดด้วยตัวทำละลายเมธานอลและเฉพาะศึกษาใบหรือดอก แต่ไม่ได้ศึกษาในรูปแบบที่ใช้จริงหรือการเคี่ยว ซึ่งได้ทำการศึกษาวิจัยมาก่อน ซึ่งในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ที่ได้รับหญ้าดอกขาว พบว่าภาวะออกซิเดชันลดลงอย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับหญ้าดอกขาว ดังนั้นในน้ำหญ้าดอกขาว น่าจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีสารประกอบทางเคมีที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระชนิด ABTs radical, Nitric Oxide, Hydroxyl radical, และ Superoxide radical ระหว่างน้ำเคี่ยวที่ได้จากส่วน ดอก ก้าน ใบหรือทั้งต้นของสมุนไพรหญ้าดอกขาว

2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์สำคัญทางเคมี ได้แก่ Total phenolics, Catechin, Flavonoid, และ Isoflavone ในน้ำเคี่ยวที่ได้จากส่วน ดอก ก้าน ใบ และทั้งต้นของสมุนไพรหญ้าดอกขาว

ขั้นตอนและวิธีการศึกษา (Methodology)

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1. Spectrophotometer รุ่น GENESYS 10S VIS (England)

1.2. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) แบบ UV-Vis detector รุ่น 1100 (Hewlett-Packard, Germany) 1990-1997 Hewlett-Packard License Software Analysis

1.3. Reversed Phase C18 HPLC Column (Water, USA)

1.4. Potassium persulfate (Merk, Germany)

1.5. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS) (Sigma, Chemical Co, USA)

1.6. Potassium di-hydrogen phosphate (KH_2PO_4) (BDH Prolabo®, Belgium)

1.7. Di-potassium monohydrogen phosphae (K_2HPO_4) (BDH Prolabo®, Belgium)

1.8. Sodium dihydrogen orthophoate (NaH_2PO_4) (Ajax Finechem Pty. LTd (New Zealand)

1.9. Hydrogen peroxide (30%)(Merck, Germany)

1.10. Horseradish peroxidase (HRP) (Sigma, Chemical Co, USA)

1.11. Hypoxanthine (Sigma, Chemical Co, USA)

1.12. Xanthine oxidase (Sigma, Chemical Co, USA)

1.13. Nitro blue tetrazolium NBT (Sigma, Chemical Co, USA)

1.14. 2-Deoxy-D-ribose (Sigma, Chemical Co, USA)

1.15. Iron (III) perchlorate ($FeCl_3$) (Sigma-Aldrich, Chemical Co, USA)

1.16. L-ascorbic acid (Sigma, Chemical Co, USA)

1.17. Thiobarbituric acid (TBA) (Sigma, Chemical Co, USA)

1.18. Tricholoacetic acid (TCA) (Sigma, Chemical Co, USA)

1.19. Sodium nitroprusside (SNP) (Sigma-Aldrich, Chemical Co, USA)

1.20. Sulfanilamide (Sigma-Aldrich, Chemical Co, USA)

1.21. Naphthyletylenediamine dihydrochloride (NED) (Sigma-Aldrich, Chemical Co, USA)

1.22. Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Merck, Germany)

1.23. Gallic acid (Sigma-Aldrich, Chemical Co, USA)

1.24. Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Chemical Co, USA)

1.25. Ortho-Phosphoric acid (85%) (Merck, Germany)

1.26. Methanol (HPLC) (Lab-Scan, Thailand)

1.27. Acetonitrite (HPLC) (RCI-LAB-SCAN, Thailand)

1.28. Ethyl acetate (Merck, Germany)

1.29. Glacial Acetic acid (Merch, Germany)

1.30. Catechin (Sigma, Chemical Co, USA)

1.31. Epicatechin gallate (ECG) (Sigma, Chemical Co, USA)

1.32. Epicatechin (EC) (Sigma, Chemical Co, USA)

1.33. Epigallocatechin gallate (EGCG) (Sigma, Chemical Co, USA)

1.34. Epigallocatechin (EGC) (Sigma, Chemical Co, USA)

1.35. Myricetin (Sigma, Chemical Co, USA)

1.36. Quercetin (Sigma, Chemical Co, USA)

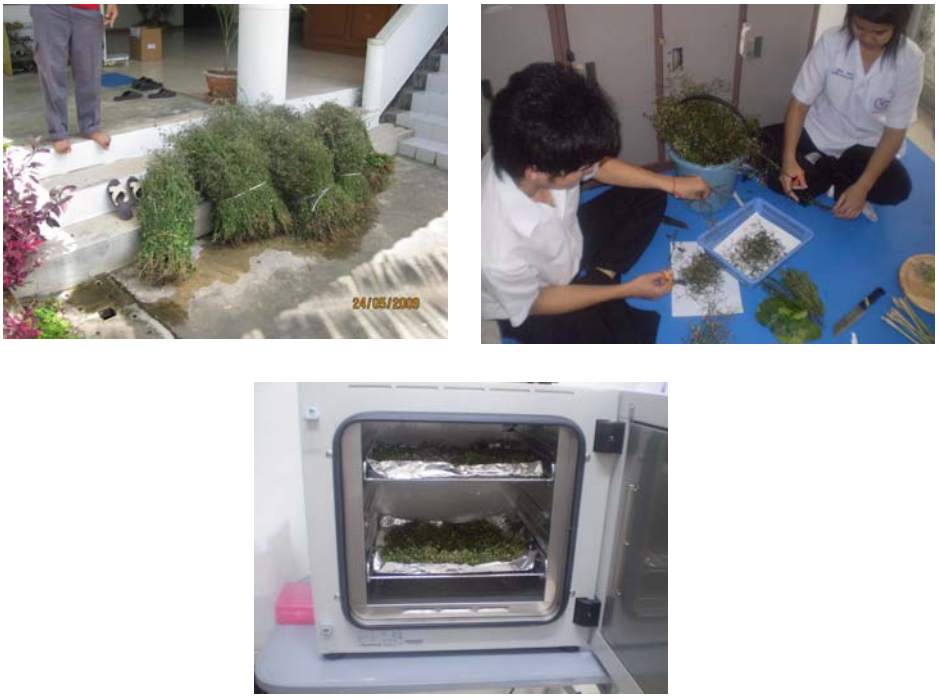
1.37. Daidzin (Sigma, Chemical Co, USA)

1.38. Kaempferol (Sigma, Chemical Co, USA)

1.39. Genistin (Sigma, Chemical Co, USA)

2. การสกัดสมุนไพรหญ้าดอกขาว

นำต้นหญ้าดอกขาวที่ขึ้นตามพื้นหญ้าที่ปลอดสารพิษ นำมาล้างให้สะอาด แยกออกเป็น ส่วน ดอก ใบ ก้าน และผสมทั้งหมด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ยาวประมาณ 1 นิ้ว จากนั้นนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งแห้ง แล้วเก็บไว้ในภาชนะบรรจุภัณฑ์ที่มีสารกันความชื้น



รูปที่ 2. แสดงหญ้าดอกขาว การแยกส่วนต่าง และการอบแห้งในตู้อบ

รูปที่ 3. แสดงลักษณะส่วนต่างๆ ได้แก่ ดอก ก้านหรือต้น และใบที่อบแห้งแล้ว

3. การเตรียมสาร เพื่อทดสอบฤทธิ์จากสารสกัดที่เตรียมได้จากขั้นตอนที่ 2 โดยแต่ละแบบจะมาผ่านการเคี่ยว โดยชั่งสารสกัด 20 กรัม จากตัวอย่างที่ได้ใน ข้อ 2 ลงในน้ำร้อน 390 ซีซี เคี่ยวจนเหลือน้ำ 130 ซีซี รวมเป็น 4 ตัวอย่าง

รูปที่ 4. แสดงการเคี่ยวหญ้าดอกขาว

4. การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง ด้วยวิธีศึกษาการ 4 วิธี

ก. ABTS decolorization method (Re, 1999) โดยการสร้างอนุมูลอิสระจาก ABTS ด้วยตัวกระตุ้น Potassium persulfate เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จะได้สีของสารอนุมูลอิสระชนิด ABTS+ มีสีเขียวอมฟ้าเข้ม จากนั้นทำการเจือจางสารอนุมูลอิสระดังกล่าวด้วยน้ำไร้ประจุ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ได้ค่าเฉลี่ย 0.7 หรืออยู่ระหว่าง 0.68-0.72 เมื่อจะทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำสกัดที่ได้จะเตรียมสารอนุมูลอิสระที่เจือจางแล้วข้างต้นในปริมาณ 0.990 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำสกัดจาก ดอก ก้าน ใบหรือ ผสม ในปริมาณ 10 ไมโครลิตร จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงเป็นเวลา 3 นาที แล้วทำการหาอัตราการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงต่อนาที (ΔA/min) นำค่าดังกล่าวของน้ำสกัดแต่ละชนิด ไปเปรียบเทียบกับค่า ΔA/min ของสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานคือ วิตามินซี แล้วแสดงผลเปรียบเทียบกับกับปริมาณ 130 ซีซี ของน้ำสกัดที่ได้จาก ดอก ก้าน ใบหรือผสม

ข. Nitric oxide scavenging assay (Sumanont et al., 2004) โดยการเติมน้ำสกัดที่ได้จากขั้นตอนที่ 3 ในปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในสารละลาย Sodium nitroprusside (SNP) (100 มิลลิโมลลาร์) ในปริมาณ 500 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นสารสร้าง Nitric oxide จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเป็นเวลา 180 นาที เมื่อครบเวลาเติมสารละลาย Sulfanilamide (1 %) ในปริมาณ 500 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเติมสารละลาย Naphthyletylenediamine dihydrochloride (NED) (0.1%) จำนวน 500 ไมโครลิตร แล้วตั้งในที่มืด นาน 10 นาที หากในหลอดใดมีสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากก็จะทำให้ปริมาณ Nitric oxide ในหลอดทดลองลดลง โดยจะทำให้สีเจือจางลง และสามารถตรวจวัดได้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แสดงผลการยับยั้งเป็นร้อยละ โดยเปรียบเทียบกับหลอดที่ไม่มีน้ำสกัดใดๆ

ค. Superoxide radical scavenging assay (Nakamura et al, 1998) อาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์ Xanthine oxidase ในการทำให้ Hypoxanthine ให้เป็น Xanthine และมีการปล่อยอนุมูลอิสระชนิด Superoxide radical ออกมา ซึ่งจะสามารถไปทำปฏิกิริยากับสาร NBT ได้สีน้ำเงิน จะสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ช่วงความยาวคลื่นแสงที่ 560 นาโนเมตร หากเติมสารตัวอย่างที่เตรียมไว้ในข้อ 3 มาทำการทดสอบ หากมีฤทธิ์ในการทำลาย จะทำให้เกิดสีลดลง ทำให้ทราบว่าสารตัวอย่างมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระชนิด Superoxide radical นั่นเอง วิธีการทดสอบ โดยการเติมสารละลาย Hypoxanthine (1.1 mM) 760 ไมโครลิตร, NBT (300 µM) 100 ไมโครลิตร, ตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร และเอนไซม์ Xanthine Oxidase (2 U/ml) 40 ไมโครลิตร จากนั้นทำการตรวจวัดอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร เป็นระยะเวลา 6 นาที ทำให้ได้ค่า ΔA/min ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ โดยการเทียบกับหลอดที่ไม่ได้เติมสารตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละของการทำลาย

ง. Hydroxyl radical scavenging assay (Schleriser et al., 2002) โดยอาศัยหลักการสร้างสารอนุมูลอิสระชนิด Hydroxyl radical ด้วยระบบที่ประกอบด้วย Deoxyribose, $FeCl_3$, Ascorbic acid, H_2O_2 และสารตัวอย่างที่เตรียมไว้ข้างต้น จากนั้นจะทำการตรวจวัดสารด้วย TBA ในสภาพกรด ที่ได้จากการต้มที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จะทำให้เกิดสีชมพูที่วัดการดูดกลืนแสงได้ที่ช่วงความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร หากเติมสารตัวอย่าง จะทำให้เกิดสีชมพูลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้เติม วิธีการทดสอบ โดยการผสมสารละลาย KH_2PO_4 (100 mM) ในปริมาณ 200 ไมโครลิตร, Deoxyribose (15 mM) 200 ไมโครลิตร, $FeCl_3$ (500 µM) 100 ไมโครลิตร, H_2O_2 (10 mM) 100 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วจึงเติมสารละลาย (1%) TBA และ (2.8%) TCA อย่างละ 1 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร คำนวณร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ โดยการเปรียบเทียบกับหลอดที่ไม่ได้เติม

5. การศึกษาหาองค์ประกอบสำคัญในสารสกัด

ก. สารประกอบฟีนอลโดยรวม (Total Phenol) ด้วย Folin-Cioaclteu reagent (Singletion and Rossi, 1965) โดยการผสมน้ำสกัดที่ได้จากขั้นตอนที่ 3 จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในสารละลาย Folin-Ciocalteu จำนวน 100 ไมโครลิตรและน้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืดนาน 10 นาที แล้วจึงเติมสารละลาย Sodium carbonate (20%) จำนวน 500 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้นาน 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที แล้วจึงนำส่วนบนมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำการคำนวณปริมาณของ Total phenolic ในน้ำสกัด 130 ซีซี โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid (1.0 -125.0 ไมโครกรัม)

ข. วิเคราะห์แยกสารประกอบกลุ่มสาร Catechin (EGC, C, EGCG, EC, และ ECG) โดย HPLC-UV (Bronner 1998) โดยใช้คอลัมน์ RP-C18 (25 cm long x 4 mm i.d. and 5 µm particle diameter, Phenomenex, USA) และใช้ตัวทำละลายที่ประกอบด้วย water/acetonitrite/methanol/ethyl acetate/glacial acetic acid (89:6:1:3:1 *v/v/v/v/v*) และตั้งอัตราการไหลของเครื่องที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที สาร Catechin แต่ละชนิดจะถูกแยกออกจากกันตามเวลา (Retention time) ที่จำเพาะที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร ปริมาณ Catechin แต่ละชนิดในน้ำเคี่ยว จะคำนวณโดยการเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานแต่ละชนิดคือ Catechin-C, Epicatechin-EC, Epigallocatechin gallate-EGCG, Epicatechin gallate-ECG และ Epigallocatechin-EGC (100-3.12 µg/ml) ตามลำดับ

ค. วิเคราะห์แยกสารประกอบกลุ่มฟาโวนอยด์ (Isoflavone) (Khoo and Ismail, 2008)ได้แก่ Daidzin และ Genistin ทำการวิเคราะห์ปริมาณด้วย High performance Liquid chromatrography (HPLC) ด้วย โดยใช้คอลัมน์ RP-C18 (25 cm long x 4 mm i.d. and 5 µm particle diameter, Phenomenex, USA) ใช้ตัวทำละลายคือ Acetonitrite: Methanol: 0.2 Ammonium acetate buffer (pH 4.6) (10:50:40, *v:v:v*) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยสารทั้งสองจะถูกแยกออกจากกันที่ 260 นาโนเมตร ปริมาณ Isoflavone ในน้ำเคี่ยวจะคำนวณโดยการเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานแต่ละชนิด คือ Daidzin และ Genistin (200-3.12 µg/ml)

ง. วิเคราะห์แยกสารประกอบกลุ่มฟาโวนอยด์ (Flavonoid) (Tokusoglu et al, 2003) ได้แก่ Quercetin, Kaempferol, Myricetin ด้วย High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ด้วย RP-C18 (25 cm long x 4 mm i.d. and 5 µm particle diameter, Phenomenex, USA) ใช้ตัวทำละลายคือ Acetonitrite (25%) และ 0.025 mM NaH_2PO_4 (75%) (pH 2.4) อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที โดยสารทั้งสองจะถูกแยกออกจากกันที่ 266 นาโนเมตร ปริมาณ Flavonoid ในน้ำเคี่ยวจะคำนวณโดยการเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานแต่ละชนิด Quercetin, Kaempferol, Myricetin (200-3.12 µg/ml)

(หมายเหตุ การวิเคราะห์หา Flavonoid และ Isoflavone จะนำน้ำเคี่ยวจำนวน 25 ซีซี ผสมกับ Acidified Methanol 1% HCl จำนวน 25 ซีซี และทำการ reflux ที่อุณหภูมิ 70 องศาเป็นเวลา 2 ชม.ก่อนนำมาตรวจวัด)

จ. การวิเคราะห์หาสาร Sodium nitrate โดยอาศัยการตรวจวัดด้วย Giress reagent โดยการนำสารตัวอย่างมาจำนวน 100 ไมโครลิตร เติมสาร Sulfanilamide และ NED อย่างละ 500 ไมโครลิตร สาร Sodium nitrate จะทำปฏิกิริยาได้เป็นสีชมพูจาง สามารถตรวจวัดได้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ปริมาณสาร Sodium nitrate ในสารตัวอย่างจะคำนวณโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Sodium nitrate ที่วิเคราะห์ได้

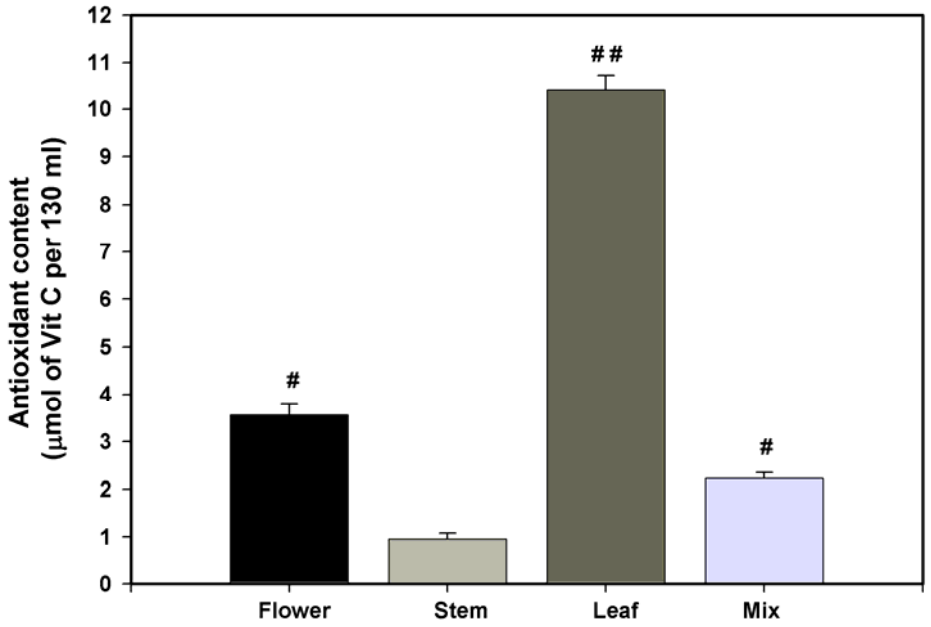
6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่าที่ตรวจวัดได้ในแต่ละตัวแปรจากตัวอย่าง 4 ชนิดคือ ดอก ก้าน ใบและผสม มาวิเคราะห์ความแตกต่างกันทางสถิติด้วย Independent T-test (SPSS Version, 16)

ผลการศึกษา (Results)

ตอนที่ 1. ผลของสารสกัดในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) แบบเดี่ยว

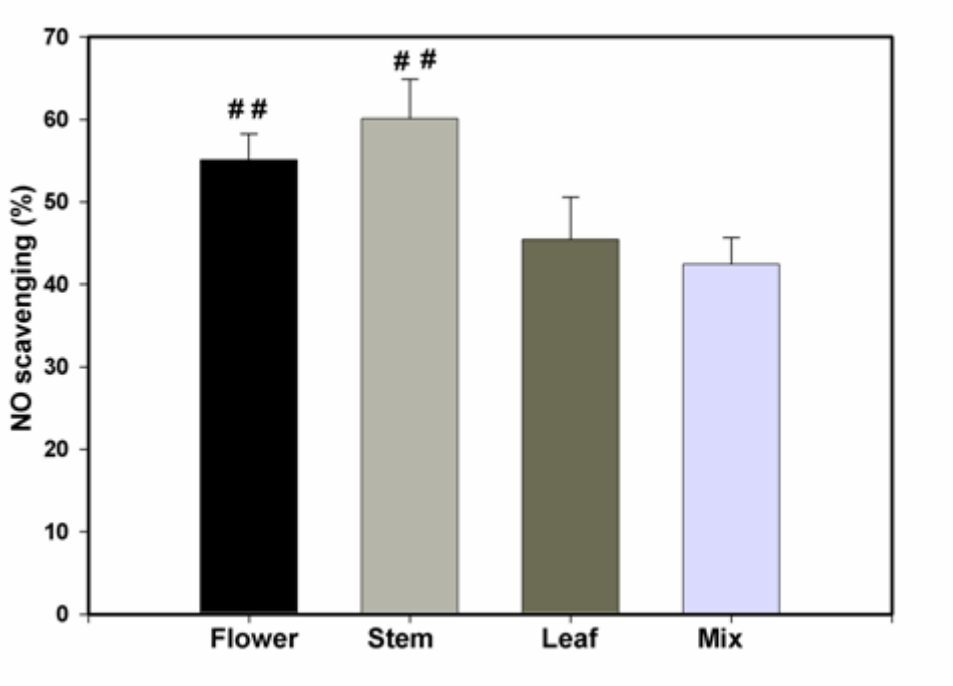
1.1. ฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระชนิด $ABTs^{\bullet+}$ radical



รูปที่ 5. กราฟเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity) ระหว่างสารสกัดต่างๆ คือ ดอก (flower) ก้าน (stem) ใบ (leaf) และผสม (mix) ในปริมาณ 130 ซีซี (# #, $p < 0.001$ เปรียบเทียบกับสารอื่นๆ และ #, $p < 0.05$ เปรียบเทียบกับก้าน)

โดยเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างสารสกัดพบว่า น้ำสกัดที่ได้จากใบจะมีฤทธิ์โดยรวมสูงสุด (10.40 ± 0.32 มิลลิกรัม) รองลงมาคือ น้ำสกัดจากดอก (3.56 ± 0.23 มิลลิกรัม) น้ำสกัดจากผสม (2.23 ± 0.12 มิลลิกรัม) และน้ำสกัดจากก้าน (0.96 ± 0.11 มิลลิกรัม)

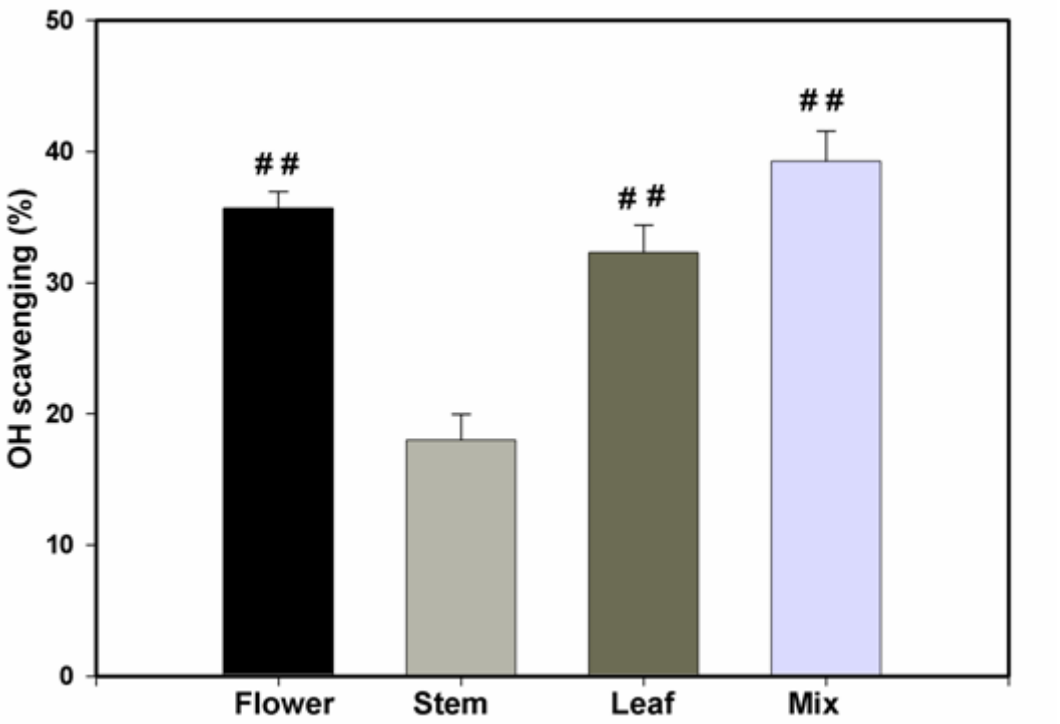
1.2. ฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระชนิดไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide scavenging)



รูปที่ 6. กราฟเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระชนิดไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide scavenging) ระหว่างสารสกัดต่างๆคือ ดอก (flower) ก้าน (stem) ใบ (leaf) และผสม (mix) (# #, $p < 0.001$ เปรียบเทียบกับใบและผสม)

โดยจากการศึกษาพบว่า น้ำสกัดจากส่วนก้านจะสามารถยับยั้งได้มากที่สุด (60.10 ± 4.78%) รองลงมาคือ ดอก (55.05 ± 3.2%), ใบ (45.45 ± 5.12%) และผสม (42.32 ± 3.24%) ตามลำดับ

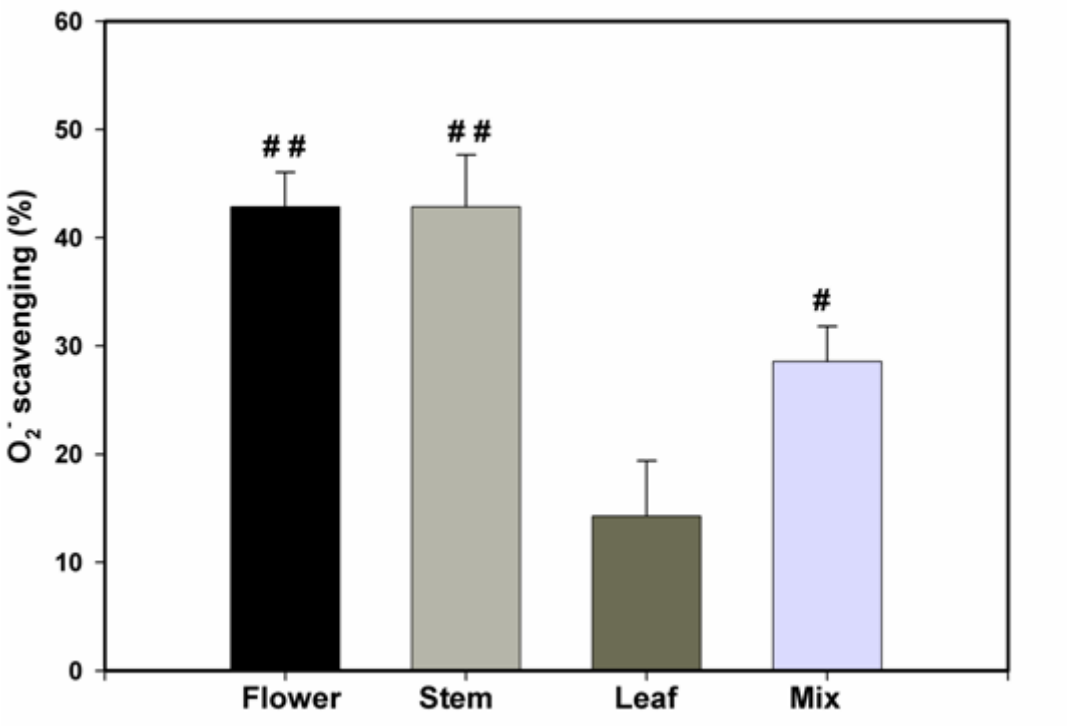
1.3. ฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระชนิดไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical scavenging)



รูปที่ 7. กราฟเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระชนิดไฮดรอกซิลด์ (Hydroxyl radical scavenging) ระหว่างสารสกัดต่างๆคือ ดอก (flower) ก้าน (stem) ใบ (leaf) และผสม (mix) (# #, $p < 0.001$ เปรียบเทียบกับก้าน)

จากการศึกษาพบว่า น้ำสกัดที่ได้จากการเคี่ยวส่วนผสม (mix) จะมีฤทธิ์ในการทำลายได้ดีที่สุด (39.24 ± 2.11%) รองลงมาคือ ดอก (35.69 ± 1.23%), ใบ (32.28 ± 1.99%) และก้าน (17.97 ± 1.9%) ตามลำดับ

1.4. ฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระชนิดซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging)

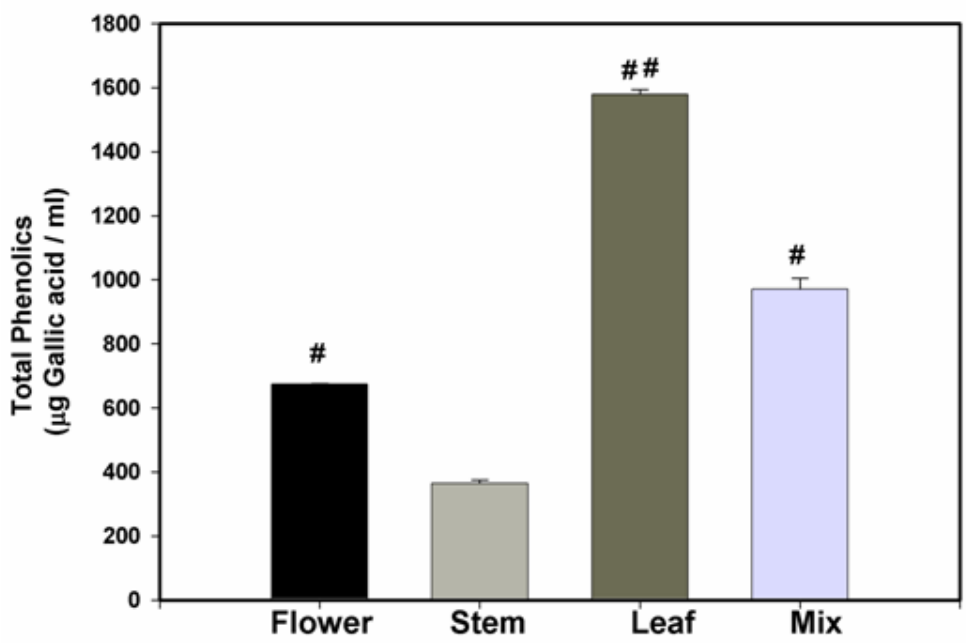


รูปที่ 8. กราฟเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระชนิดซูปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging) ระหว่างสารสกัดต่างๆคือ ดอก (flower) ก้าน (stem) ใบ (leaf) และผสม (mix) (# #, $p < 0.001$ และ #, $p< 0.01$ เปรียบเทียบกับใบ)

โดยในส่วนของดอกและก้านจะมีฤทธิ์ใกล้เคียงกันคือ 42.86 ± 3.2%, 42.86 ± 4.7% โดยในส่วนของผสมจะให้ฤทธิ์รองลงมา (28.57 ± 3.2%) และใบต่ำที่สุด (14.28 ± 5.12%)

ตอนที่ 2. ผลการศึกษาสารองค์ประกอบ (Active compound) ในสารสกัดแบบเคี่ยว

2.1. ปริมาณของ Total Phenolics



รูปที่ 9. กราฟเปรียบเทียบปริมาณของสาร Total Phenolicsระหว่างสารสกัดต่างๆคือ ดอก (flower) ก้าน (stem) ใบ (leaf) และผสม (mix) ในปริมาณ 1 ซีซี

โดยแสดงเป็นปริมาณของสาร Gallic acid ในน้ำสกัด 1 มิลลิลิตร (ซี ซี) ที่ได้จากการเคี่ยวในส่วนของใบ จะมีปริมาณ Total phenolic สูงที่สุด (1579.9 ± 13.4 ไมโครกรัม) รองลงมาคือ ผสม (971.81 ± 33.1 ไมโครกรัม) ดอก (674.0 ± 21.2 ไมโครกรัม) และก้านต่ำที่สุด (364 ± 10.9 ไมโครกรัม) (# #, $p < 0.001$ และ #, $p < 0.05$ เปรียบเทียบกับก้าน)

2.2. ปริมาณของ Catechin ในสารสกัดต่างๆ

ตาราง 1. แสดงปริมาณของสาร Catechin; Catechin-C, Epicatechin-EC, Epigallocatechin gallate-EGCG, Epicatechin gallate-ECG และ Epigallocatechin-EGC) ในสารสกัดชนิดต่างๆ

สารสกัด (130 ซีซี)	C (มิลลิกรัม)	EC (มิลลิกรัม)	EGCG (มิลลิกรัม)	EGC (มิลลิกรัม)	ECG (มิลลิกรัม)
ดอก	68.59 ± 3.23	33.26 ± 4.22	-	-	-
ก้าน	4.81 ± 2.12	12.03 ± 3.67	1.54 ± 2.54	0.15 ± 0.08	-
ใบ	22.85 ± 4.23	41.80 ± 2.10	7.25 ± 1.65	18.64 ± 1.44	0.84 ± 0.08
ผสม	31.75 ± 3.32	29.90 ± 2.27	3.74 ± 1.08	12.01 ± 2.11	0.629 ± 0.07

โดยเมื่อเปรียบเทียบแล้วในน้ำสกัดจากใบและจากผสมทั้งหมด จะมีประกอบด้วยสารทั้งหมด โดยจะมีปริมาณ Catechin และ Epicatechin สูง และมีปริมาณของ EGC, EGCG และ ECG ลดลงตามลำดับ

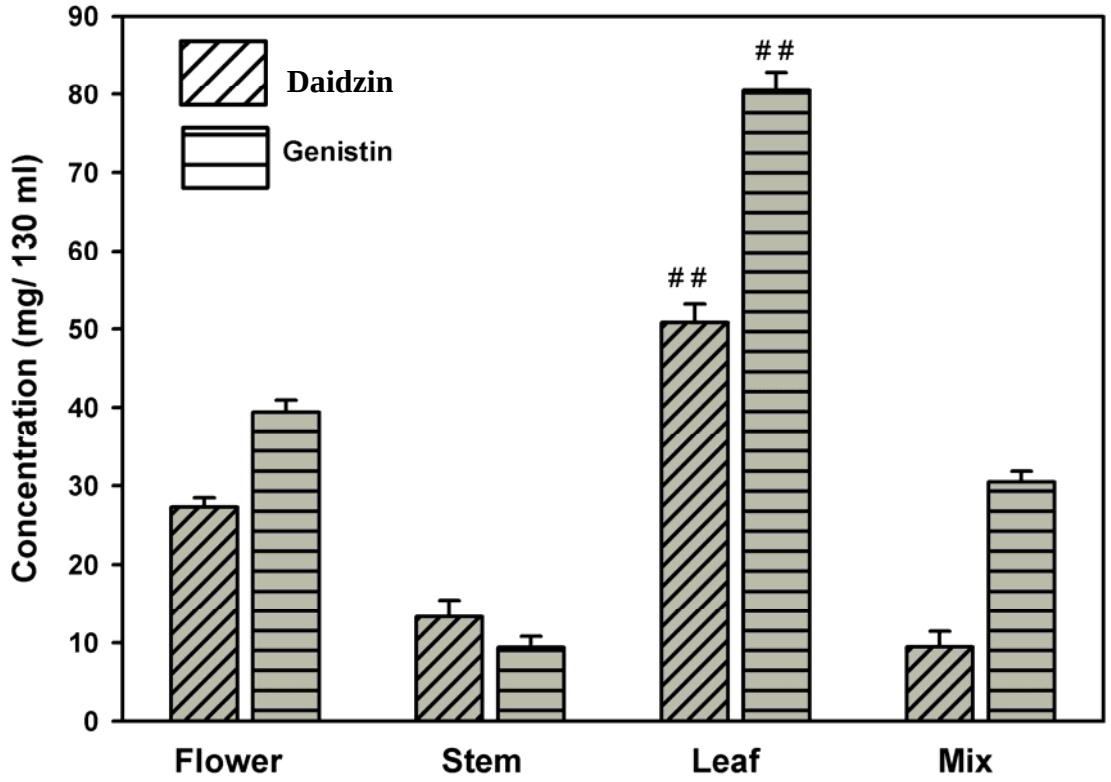
2.3. ปริมาณของ Flavonoids ในสารสกัดต่างๆ

ตาราง 2. แสดงปริมาณของสาร Flavonoid (Kaempferol, Quercetin และ Myricetin)

ชนิดของสารสกัด (130 ซี ซี)	Kaempferol (ไมโครกรัม)	Quercetin (ไมโครกรัม)	Myricetin (ไมโครกรัม)
ดอก	-	-	-
ก้าน	-	-	130.65 ± 5.23
ใบ	52.21 ± 3.12	312.56 ± 6.34	88.19 ± 8.45
ผสม	45.83 ± 6.87	240.74 ± 9.45	78.39 ± 3.55

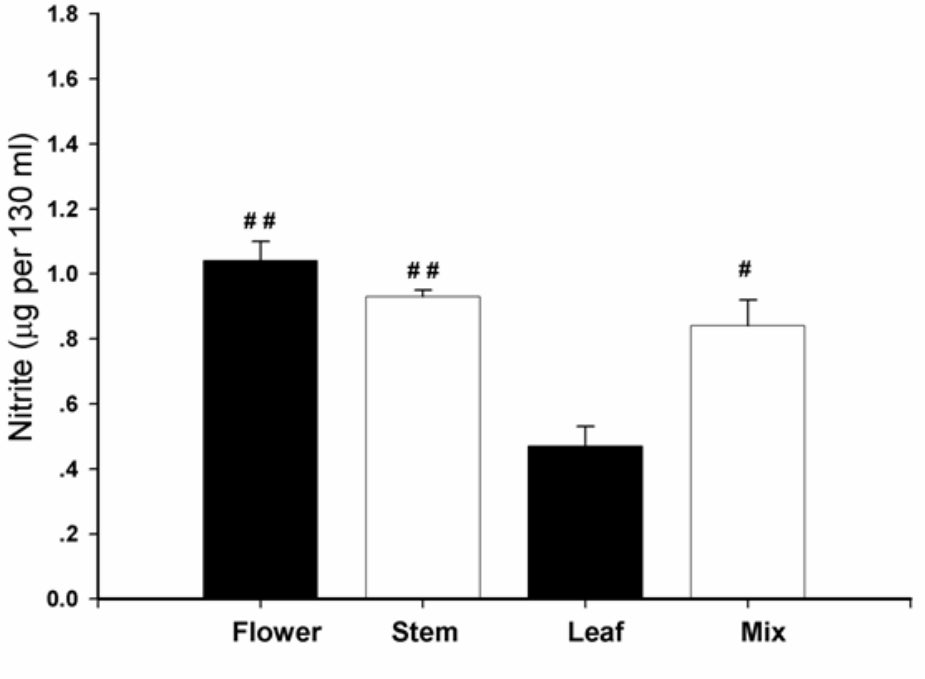
จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าในน้ำสกัดจากผสมทั้งหมดจะมีปริมาณ Quercetin, Myricetin และ Kaempferol เช่นเดียวกับที่พบในใบ โดยในน้ำสกัดจากใบจะมีสารทั้งหมดที่สูงกว่าผสมมาก แต่ในก้านพบเพียงสาร Myricetin นอกจากนี้ จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบสารประกอบใดๆในน้ำสกัดจากดอก

2.4. ปริมาณของ Isoflavone ในสารสกัดต่างๆ



รูปที่ 10. กราฟเปรียบเทียบปริมาณของสาร Isoflavones (Daidzin และ Genistin) ระหว่างสารสกัดต่างๆ คือ ดอก (flower) ก้าน (stem) ใบ (leaf) และผสม (mix) ในปริมาณ 130 ซีซี โดยแสดงเป็นปริมาณของสาร Gallic acid ในน้ำสกัด 130ซีซี พบว่า Daidzin จะมีปริมาณมากที่สุดในน้ำจากใบ (50.87 ± 2.3 มิลลิกรัม), รองลงมาคือ ดอก (27.29 ± 1.23 มิลลิกรัม) ก้าน (13.36 ± 2.12 มิลลิกรัม) และ ผสม (9.49 ± 1.99 มิลลิกรัม) ส่วนปริมาณ Genistin จะมีปริมาณมากที่สุดในน้ำสกัดจากใบ (80.51 ± 2.34 มิลลิกรัม) รองลงมาคือ ผสม (30.49 ± 1.34 มิลลิกรัม) ดอก (39.43 ± 1.56 มิลลิกรัม) และ ก้าน (9.42 ± 1.89 มิลลิกรัม) ตามลำดับ (# #, $p < 0.001$ เปรียบเทียบกับดอก ก้านและผสม)

2.5. ปริมาณของสารไนเตรท (Nitrate) ในสารสกัดชนิดต่างๆ



รูปที่ 11. กราฟเปรียบเทียบปริมาณของสารไนไตรท (Nitrite) ระหว่างสารสกัดต่างๆคือ ดอก (flower) ก้าน (stem) ใบ (leaf) และผสม (mix) ในปริมาณ 130 ซีซี โดยพบว่าในน้ำสกัดจากดอกจะมีปริมาณไนไตรทสูงที่สุด (1.04 ± 0.06 ไมโครกรัม) รองลงมาคือ น้ำสกัดจากก้าน (0.93 ± 0.02 ไมโครกรัม) น้ำสกัดจากผสม (0.84 ± 0.08 ไมโครกรัม) และจากน้ำสกัดจากใบ (0.47 ± 0.06 ไมโครกรัม) ตามลำดับ (# #, $p < 0.01$ และ #, $p < 0.05$ เปรียบเทียบกับใบ)

สรุปผลการศึกษา (Summary)

1. การเตรียมหญ้าดอกขาวโดยแบ่งออกเป็น ดอก ก้าน ใบหรือผสมรวม พบว่าให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน
2. น้ำสกัด (Mix juice) ซึ่งประกอบด้วยใบ ก้าน และ ดอก ในปริมาณ 20 กรัมในน้ำ 390 ซีซี ที่เคี่ยวจนเหลือเพียง 130 ซีซี มีฤทธิ์ต่างๆ เรียงต่อไปนี้

    2.1. ABTS radical scavenging พบว่า ใบ > ดอก > ผสม > ก้าน

    2.2. Nitric Oxide scavenging พบว่า ก้าน > ดอก > ใบ > ผสม

    2.3. Hydroxyl radical scavenging พบว่า ผสม> ดอก > ใบ > ก้าน

    2.4. Superoxide radical scavenging พบว่า ดอก > ก้าน > ผสม > ใบ

3. สำหรับสารองค์ประกอบทางเคมีที่แสดงฤทธิ์ ในปริมาณ 130 ซีซี จะพบว่ามีความแตกต่างกันดังต่อไปนี้

    3.1. Total Phenolics จะสูงใน ใบ > ผสม > ดอก > ก้าน

    3.2. Catechin (C) จะสูงใน ดอก > ผสม > ใบ > ก้าน

    3.3. Epicatechin (EP) จะสูงใน ดอก > ผสม > ใบ > ก้าน

    3.4. Epogallocatechin gallate (EGCG) จะสูงใน ดอก > ใบ > ผสม > ก้าน

    3.5. Epigallocatechin (EGC) จะสูงใน ใบ > ผสม > ดอก > ก้าน

    3.6. Epicatechin gallate (ECG) จะสูงใน ใบ และ ดอก

    3.7. Quercetin สูงใน ใบ > ผสม

    3.8. Myricetin สูงใน ก้าน > ใบ > ผสม

    3.9. Kaempferol พบสูงใน ใบ>ผสม

    3.10. Diadzin จะสูงใน ใบ > ดอก > ผสม > ก้าน

    3.11. Genistin จะสูงใน ใบ > ผสม > ดอก > ก้าน

4. สำหรับปริมาณของไนไตรท (Nitrite) พบว่าในน้ำเคี่ยวปริมาณ 130 ซีซี จะมีปริมาณใบและผสมน้อย แต่ใบดอกและก้านจะมีปริมาณไนไตรทสูงกว่า ประมาณ 1 ไมโครกรัม

เอกสารอ้างอิง (References)

Iwalewa, E.O., Iwalewa, O.J., Adeboye, J.O., 2003. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory effects of methanol, chloroform and ether extracts of Vernonia cinera less leaf. Journal of Ethnopharmacology 86, 229-234.

Khoo HE, Ismail A. Determination of Daidzein and Genistein contents in Magifera fruit. Mal J Nut 2008; 14: 189-198.

Latha, R.M., Geetha, T., Varalakshmi, P., 1998. Effect of *Vernonia cinerea* Less flower extract in adjuvant-induced arthritis. Genernal Pharmacology 31, 601-606.

Mazumder, U.K., Gupta, M., Manikandan, L., Bhattacharya, P.K., Haldar, P.K., Roy, S., 2003. Evaluation of anti-inflammatory activity of Vernonia cinerea Less. extracts in rats. Phytomedicine 10, 185-188.

Mishra, T.N., Singh, R.S., Upadhyay, J., Srivastava, R., 1984.Chemical constituents of Vernonia cinerea. Part I. Isolation and spectral studies of triterpenes, J. Natural. Prod. 47, 368-372.

Misra, T.N., Singh, R.S., Srivastava, R., Pandey, H.S., Prasad, C., Singh, S., 1993. A new triterpeno

Nakamura Y, Ohto Y, Murakami A, Ohigashi H. Superoxide scavenging activity of Rosmarinic acid from Perilla frutescens Britton Var. acuta f. viridis. J Agric Food Chem 1998; 46; 4545-4550.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yand M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay**.** Free Radic Bio Med 1999; 26: 1231-1237.

Singleton VL, Rossi J A Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-Phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic 1965; 16: 144-158.

Sumanont, Y. Murakami, M. Tohda, O. Vajragupta, K. Matsumoto and H. Watanabe, Evaluation of the nitric oxide radical scavenging activity of manganese complexes of curcumin and its derivative, Biological & Pharmaceutical Bulletin 2004; 27; 170–173.

Tokusoglu O, Unal MK, Yildirim Z. HPLC-UV and GC-MS characteriszation of the flavonol aglycons quercetin, kaempferol, an myricetin in tomato pastes and other tomato-based products. Acta Chromatographica 2003; 13: 196-207.

Wongwiwatthananukit, S., 2003. Role of pharmacists in smoking cessation program. in: Jindavijag, B. (ed). Ambulatory pharmaceutical care. 1st ed. Bangkok: Thai Hospital Pharmacist Association, pp.153-174.

Wongwiwatthananukit, S., Benjanakaskul, P., Songsak, T., Suwanamajo, S., Verachai, V., 2009. Efficacy of Vernonia cinerea for smoking cessation. Journal of Health Research 23, 31-36.

ประวัติส่วนตัวและผลงานวิชาการ

ชื่อ-นามสกุล นาย ดลรวี ลีลารุ่งระยับ

สถานที่ทำงาน

ห้องทำงาน ชั้น 9 ภาควิชากายภาพบำบัด ตึก 12 ชั้น คณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โทรศัพท์ที่ทำงาน 053-94-9245 แฟกซ์ 053-946042

ห้องปฏิบัติการ ชั้น 4 ห้องปฏิบัติการชีวเคมีสำหรับงานกายภาพบำบัดและการฟื้นฟูสมรรถภาพ
ภาควิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อีเมลล์ nuttakan@chiangmai.ac.th
nuttakaan@hotmail.com
leela.donrawee@gmail.com

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี (กายภาพบำบัด)	คณะเทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2536
ปริญญาโท (ชีวเคมี)	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2544
ปริญญาเอก (ชีวเคมี)	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2549

ความเชี่ยวชาญ

1. ด้านชีวเคมี-สมุนไพร-และเทคโนโลยีทางการแพทย์
   1.1. การประยุกต์ใช้ไบโอเซนเซอร์เพื่อใช้งานทางกายภาพบำบัดและการแพทย์ทางคลินิก
   1.2. การศึกษาภาวะออกซิเดทีฟสเตรทต์ ทั้งสารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระและศึกษาการเกิดการออกซิเดชันของไขมันและโปรตีนในคนปกติ ผู้ป่วยโรคต่างๆ และในเซลล์เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ
   1.3. การศึกษาสมุนไพรและการสกัดน้ำมันหอมระเหย และตรวจหาองค์ประกอบทางเคมี รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ-การอักเสบ รวมทั้งพัฒนาและศึกษาประสิทธิผลของรูปแบบสมุนไพรปกติ อาทิ น้ำมันนวดตัว ครีม เจลหรือลูกประคบ หรือพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบนาโนเทคโนโลยีเช่น นีโอโซม เพื่อพัฒนามาใช้ในงานกายภาพบำบัด ด้านสปา หรือทางการแพทย์ต่อไป
2. ด้านกายภาพบำบัด การกีฬา และการออกกำลังกาย
   2.1. การศึกษาผลการรักษาทางกายภาพบำบัดและการฟื้นฟูสมรรถภาพทางด้านระบบหายใจในผู้ป่วยกลุ่มโรคต่างๆโดยเฉพาะโรคปอดเรื้อรังทางด้านสรีรวิทยาระบบหายใจ
   2.2. การศึกษาผลกระทบจากการออกกำลังกายในกลุ่มคนทั่วไป นักกีฬาหรือกลุ่มผู้ป่วยที่เกิดขึ้นภายในร่างกายในระดับสรีรวิทยาและระดับสารชีวเคมีที่สัมพันธ์กับภาวะออกซิเดทีฟสเตรส
   2.3. การประดิษฐ์และพัฒนาอุปกรณ์-เครื่องมือสำหรับผู้ป่วยเรื้อรัง เพื่อการฟื้นฟูสมรรถภาพองค์รวม

งานวิจัย

หัวหน้าโครงการ

การศึกษาประสิทธิภาพและประสิทธิผลของการออกกำลังกายร่วมกับการใช้สมุนไพร เพื่อเลิกบุหรี่เชิงปฏิบัติในจังหวัดเชียงใหม่ โดยทุน ศจย. ประจำปี 2551

การประดิษฐ์และสร้างเตียงปรับท่าทางต้นแบบสำหรับผู้ป่วยเด็กโรคเรื้อรังบนหอผู้ป่วยหนัก เพื่อเป็นอุปกรณ์ทางการแพทย์ โดยทุน NETEC ประจำปี 2551

การศึกษาการพัฒนาอิเลคโทรดคาร์บอนนาโนทูปสำหรับไบโอเซนเซอร์ เพื่อตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรไทยทางการแพทย์ โดยทุน Biomed Engineering center คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี 2551

การผลิตไบโอเซนเซอร์ทางคลินิก เพื่อตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในทางการแพทย์ โดยทุน สกว.-สสว ประจำปี 2550

การศึกษาปริมาณของอนุมูลชนิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปัสสาวะคนด้วยไบโอเซนเซอร์ที่เกิดขึ้นหลังจากการออกกำลังกายที่ระดับความหนักต่างๆ ระหว่างผู้ที่ไม่ได้ออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอกับนักกีฬาที่ออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ โดยทุนพัฒนาอาจารย์รุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ประจำปี 2550

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการอักเสบของนีโอไพลและแนวทางการประยุกต์มาใช้ทางด้านกายภาพบำบัด โดยทุน สกว. ประจำปี 2550

การประยุกต์ไบโอเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากภาวะออกซิเดทีฟสเตรส เพื่อใช้ในทางการแพทย์ โดยทุน Biomed Engineering Center คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี 2550

การพัฒนาวิธีการตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวมด้วยวิธี ABTS decolorization ใน 96 well plate โดยทุนคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี 2550

การศึกษาองค์ประกอบและฤทธิ์ของน้ำหมักจากฝรั่ง แครอล และมะเขือเทศ โดยทุนคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี 2549

การศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไฮโดรเปอรออกไซด์ในเลือดจากการทดสอบด้วยการออกกำลังกายอย่างหนักระหว่างกลุ่มนักกีฬากับคนปกติ โดยทุนคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี 2548

การศึกษาฤทธิ์ของหอมแดงไทยต่อการสร้างกลูตาไธโอนและการอักเสบในเซลล์เลี้ยงชนิดโมโนไซต์ โดยทุน SM Pharmaceutical จำกัด แห่งประเทศไทย ประจำปี 2545

แนวทางการใช้หอมแดงพื้นบ้าน เพื่อผลิตสารออกฤทธิ์การป้องกันและยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในเม็ดเลือดแดงในเชิงการค้า โดยทุน สวทช. ภาคเหนือ ประจำปี 2543

การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของยาที่มีองค์ประกอบของ N-acetyl cysteine (NAC) ในการต้านภาวะออกซิเดชัน ในการเกิดโปรตีนและไขมันไฮโดรเปอรออกไซด์ในหลอดทดลอง โดยทุน SM Pharmaceutical จำกัด แห่งประเทศไทย ประจำปี 2543

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูตาไธโอนและมาลอนไดออลดีไฮด์กับการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคลมชัก โดยทุนโรงพยาบาลประสาท จังหวัดเชียงใหม่ ประจำปี 2542

เอกสารวิชาการ

Journal

Coenzyme Q10 supplementation decreases oxidative stress and improves physical performance in young swimmers. Open Sports Medicine Journal 2010;

Potential antioxidant and anti-inflammatory activities of Thai Plai (Zingiber cassumunar Roxb.) essential oil. International Journal of Essential Oil Therapeutics. 2009; 3 (x-x) (in press)

Acute clinical benefits of chest wall-stretching exercise on expired tidal volume, dyspnea, and chest expansion in patient with chronic obstructive pulmonary disease: A single case studu. Journal of Body work and movement therapies. 2009; xx: 1-6 (in press)

Open-labeled pilot study of cysteine-rich whey protein isolate supplementation for nonalcoholic steatohepatitis patients. Journal of Gastroenterogy and Hepatology 2009; 24: 1045-1050.

Effect of oral supplementation of whey protein isolate on non-alcoholic steatohepatitis patients. Thai Journal of Clinical Nutrition 2009; 3: 42-47.

Beneficial effect of Shallot (Allium ascalonicum L.) extract on cyclosporine nephrotoxicity in rats. Food and Chemical Toxicology 2008: 46: 1844-1850.

Studying and developing the carbon nanotube electrode for biosensor for detecting the antioxidant capacity in medical Thai plants. The 3rd International symposium on Biomedical Engineering (ISBME) 2008; 370-373.

Glutathione for Health Benefits. Thai Journal of Clinical Nutrition (TJCN). 2006 1 (1) : 20-29.

Qantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. Nutrition. 2006; 22 : 266-274.

Exhaustive Exercise Test and Oxidative Stress Response in Athletic and Sedentary subjects . Chiang Mai University Journal. 2005; 4 (2) : 183-190.

Potential activity of Thai shallot (Allium ascallonicum L.) extract on the prevention of hemolysis and glutathione depletion in human erythrocyte from oxidative stress . Chiang Mai University Journal. 2004; 3 (3) : 225-234.

Anti-oxidative stress and anti-inflammatory effects of Thai shallot (Allium Ascanolicum L.) extracts in human monocytic (U937) cells . The Niigata Journal of Health and Welfare. 2004; 4 (1) : 11-19.

Free radical and Exercise Tolerance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: COPD . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2000; 33; 212-220.

Oxidative Stress Response to Exhaustive Exercise in Urine and Blood of Healthy Subjects: Preliminary Study. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci. 2006; 39 (1) : 2-9.

Aerosol Therapy and Chest Physical Therapy on Oxidative Stress in blood and tracheal aspirate fluid (TAF) of pediatric patients with pneumonia. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci. 2005; 38 (3) : 160-172.

Antioxidant capacity of Thai shallot (Allium ascalonicum L.) on amino acid and glutathione from oxidation in vitro . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 2004 (37) : 27-36.

Chest Physical Therapy and ventilation-gas exchanges impairment. . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 2004 (38) : 40-50.

Correlation between Malondialdehyde (MDA), Hyaluronan (HA), and Alpha-tocopherol (Vit E) in Tracheal Aspirate Fluid (TAF) and Oxygen Index (PaO2/FiO2) in Pediatric Patients with Chronic Lung Disease . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 2003 (36) : 24-34.

Determination of GSH levels in Red Blood Cell with Dithiobis-nitrobenzoic acid method in normal and cerebrovascular disease patients . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 2001 (34) : 12-21.

Chest Physical Therapy Techniques. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 2000 (33) : 29-40.

Free radical and Exercise Tolerance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: COPD. . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 2000 (33) : 212-220.

A case study; Therapeutic effects of physical therapy in a COPD patient on weaning from ventilator . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 1999 (32): 31-42.

Abnormal pulmonary assessment in pediatric patients. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 1999 (32): 25-30.

A new approach of respiratory physical therapy in a patient with empyema thoracis after decortication. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 1998. 1998 (31): 199-206.

Biochemistry and respiratory disorder in chest physical therapy. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci. 1998 (31): 42-56.

Exercise and Glutathione under Oxidative Stress. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci. 1998 (31) : 225-230.

Respiratory Muscles Exercise in Chest Physical Therapy. . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci . 1997 (30) : 44-56.

Chest Physical Therapy for Abdominal Surgical Patients. . Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 1996; 29: 19-29.

การประชุมวิชาการ

An application the simple biosensor for detection specific H2O2 from oxidative stress in human urine. Proceeding of the 1st Symposium on Thai Biomedical Engineering (ThaiBME 2007). 18-19 December, 2007. Rangsit University. Bangkok, Thailand. (Oral presentation)

Oxidative stress responses in human urine from acute exercise with different intensities. Research path: Towards a Green and Happy Society. Chiang Mai University, 26-27 November, 2007. Chiang Mai, Thailand. (Poster presentation)

The effectiveness of Thai shallot (Allium ascanolicum L) and phenolics compounds against protein and lipid peroxidation. International Colloquium 2004 Health Benefit and Application of Polyphenoids. Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand., 25 - 26 November 2004. (Oral presentation)

Effects of Thai shallot (Allium ascanolicum L) extracts on oxidative stress under intracellular glutathione and nitric oxide. International Colloquium 2004 Health Benefit and Application of Polyphenoids. Faculty of

Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand., 24 - 26 November 2004. (Oral presentation)

Anti-oxidative stress and anti-inflammatory effects of Thai shallot (Allium ascanolicum L) extracts in human monocytic, . The 28th Annual Scientific Meeting on Mahidol' s Day, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. Thailand., 24 September 2004. (Poster presentation)

A comparative study N-acetylcysteine-derived drug on scavenging free radical and hydroperoxide formation in vitro. The 4th International World Asthma Meeting, Bangkok, Thailand. Granted by S.M Pharmaceutical Co. th., 16 - 19 February 2004. (Oral presentation)

Anti-oixdative stress and Anti-inflammatory effects of Thai shallot (Allium ascanolicum L) extracts in human monocytic, . The 4th National symposium on graduate research. August 10-11, 2004. Lotus Hotel Pang Suan Kaew Chiang Mai, Chiang Mai, Thailand., 10 - 11 August 2004. (Oral presentation)

The relationship between gross motor function measurement score and glutathione and malondialdehdye level in children with cerebral palsy. The 14th International World Physical Therapy, 7-12 June, 2003; Barcelona, Spain. 2003 Granted by Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai, Thailand. (RR-PO-0377)., 7 - 12 June 2003. (Poster presentation)

Antioxidative effect of Thai shallot (Allium ascalonicum L.) extracts on protein and lipid hydroperoxides. , . The 27th Annual Scientific Meeting on Mahidol's Day, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. Thailand., 25 September 2003. (Poster presentation)

Effects of chest physical on biochemical changes in pediatric patient with pneumonia. , . The 8th General Assembly of Asian Confederation for Physical therapy, Central Grand Plaza Hotel, Bangkok, 17 - 20 November 2002. (Oral presentation)

Exhaustive exercise test and oxidative stress response to athletic and sedentary subjects. 29th Annual Scientific Meething on Mahidol's Day, Faculty of Medicine. Chiang Mai University, Chiang Mai, Thialand, 23 กันยายน 2548, หน้า 28-28. (Poster presentation)

Protein hydroperoxide relating to glutathine and lung function: A preliminary study, . 29th Annual Scientific Meething on Mahidol's Day. Faculty of Medical, Chiang Mai University. Thailand, 23 กันยายน 2548, หน้า 18-18. (Poster presentation)

Filename: รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ศจย 52-01-03
Directory: C:\Users\VAiO CS\Documents
Template: C:\Users\VAiO CS\AppData\Roaming\Microsoft\Templates\Normal.dotm
Title:
Subject:
Author: DarkUser
Keywords:
Comments:
Creation Date: 02/07/52 23:15:00
Change Number: 57
Last Saved On: 09/03/53 10:33:00
Last Saved By: VAiO CS
Total Editing Time: 2,270 Minutes
Last Printed On: 09/03/53 10:33:00
As of Last Complete Printing
Number of Pages: 36
Number of Words: 6,749 (approx.)
Number of Characters: 38,474 (approx.)