

การศึกษาเปรียบเทียบทางเภสัชเวทและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืช 3 ชนิด ในสกุล *Murdannia* (วงศ์ Commelinaceae)

Comparative Pharmacognostic and Antioxidant Activity Studies of Three *Murdannia* species (Family Commelinaceae)

ธารินี สืบปาละ (Tarinee Subphala) * ดร.สุพัตรา ปรศุพัฒนา (Dr.Supatra Porasuphatana) **

ดร.ศรีสมพร ปรีเปรม (Dr.Srisomporn Preeprame) ** ดร.ทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์ (Dr.Thaweesak Thitimetharoch) ***

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบทางเภสัชเวทของพืชสมุนไพร 3 ชนิด ในสกุล *Murdannia* (วงศ์ Commelinaceae) คือ หญ้าปากกิ้ง (*M. bracteata*), ผักลิ้มผิวใหญ่ (*M. loriformis*) และกินกุ่มน้อย (*M. nudiflora*) ด้วยวิธีศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และthin layerโครมาโทกราฟีสามารถแยกความแตกต่างของพืชสมุนไพรดังกล่าวได้ โดยพบว่าจุลลักษณะวินิจฉัยของแผ่นใบคือ ลักษณะปรากฏของลวดลายคิวทินและขนขนาดใหญ่ ลักษณะวินิจฉัยทางเคมีคือ ปริมาณสารสกัดในเมทานอลมีความแตกต่างอย่างชัดเจนในการศึกษาหาปริมาณฟีนอลิก และthin layerโครมาโทแกรม สำหรับการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันพบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลของ *M. bracteata* มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุดเมื่อศึกษาด้วยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH) และวิธี The ability of ferric reducing-antioxidant power (FRAP) ส่วนสารสกัดด้วยน้ำของ *M. nudiflora* มีความสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดีที่สุด

ABSTRACT

The comparative pharmacognostic studies for three *Murdannia* species (Family Commelinaceae), *M. bracteata*, *M. loriformis* and *M. nudiflora*, were conducted using methods of diagnostic microscopic studies, leaf scraping and leaf clearing; phytochemical methods, physico-chemical value and thin layer chromatography. Theses methods are found to be useful for the diagnosis. Cutin pattern and macro-hairs were distinguished based on microscopic characters. The evaluations of phytochemical studies, phenolic contents and thin layer chromatogram, have been valuable tools for pharmacognostic identification. In the determining of antioxidant activity, we found that crude methanolic extracts of *M. bracteata* showed the highest of antioxidant activity using 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH) and The ability of ferric reducing-antioxidant power (FRAP) methods. Whereas the water extraction of *M. nudiflora* was found to be the highest of inhibitory activity in lipid peroxidation.

คำสำคัญ: Commelinaceae การศึกษาทางเภสัชเวท ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

Key Words: Commelinaceae, Pharmacognostic, Antioxidant activity

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** อาจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

สมุนไพรหญ้าปักกิ่งจัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในสกุล *Murdannia* วงศ์ผักปราช (Commelinaceae) จากการศึกษาอนุกรมวิธานและทบทวนรายชื่อพืชวงศ์ผักปราชในประเทศไทยของ Thitimetharoch (2004) ซึ่งรายงานว่าสมุนไพรหญ้าปักกิ่งมีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Murdannia bracteata* (C.B. Clarke) J.K. Morton ex

D.Y. Hong พบว่ามีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายกับพืชอีก 2 ชนิด คือ ผักลิ้มผัวใหญ่ (*M. loriformis* (Hassk.) Rolla Rao & Kammathy) และกินกุ้งน้อย (*M. nudiflora* (L.) Brenan) (รูปที่ 1) แต่ลักษณะปรากฏของลำต้นและใบแบบกระจุก (Rosette form) รากสะสมอาหาร (Storage roots) จะพบได้ใน *M. bracteata* และ *M. loriformis*



รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Murdannia* 3 ชนิดคือ: ก. *M. bracteata*, ข. *M. loriformis*, ค. *M. nudiflora*

การใช้ประโยชน์สมุนไพรหญ้าปักกิ่งรับวัฒนธรรมจากประเทศจีน ซึ่งมีสรรพคุณช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย รักษาอาการเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจและกำจัดพิษ (Saralamp et al., 1996) ใช้รักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งหลายชนิดเพื่อช่วยลดผลข้างเคียงทางเคมีบำบัดหรือรังสีบำบัด (วิณา, 2542) มีการศึกษาและวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหญ้าปักกิ่ง เช่น สารสำคัญกลัยโคสฟิงโกไลปิดส์ (Glycosphingolipid) จากหญ้าปักกิ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ในหลอดทดลอง (Jiratchariyakul et al., 1998) สารสกัดด้วยเอทานอลมีคุณสมบัติป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ในหนูทดลอง (Intiyot et al., 1998) ลดระดับสาร Aflatoxin-albumin ในหนูทดลอง (Vinitketkumnuen et al., 1999) และยังมีฤทธิ์เหนี่ยวนำเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารพิษรวมถึงสารสกัดยังมีฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Salmonella typhimurium* (Vinitketkumnuen et al., 1996; Intiyot et al., 2002) นอกจากนี้

สารสกัดดังกล่าวยังมีฤทธิ์ในการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Phetsuk et al., 2005) ส่วนกินกุ้งน้อยตามการแพทย์พื้นบ้านโดยรากใช้แก้ไข้ โรคบิด แก้ปวดบ่งเวลาถ่ายปัสสาวะ ใบใช้เป็นยาพอกแผลเรื้อรัง (Perry and Metzger, 1980) ทั้งต้นต้มในน้ำมันใช้รักษาโรคเรื้อน บดเป็นผงใช้รักษาอาการคัน และแผลถูกไฟไหม้ (Jain and De Filippis, 1991) และผักลิ้มผัวใหญ่เป็นผักพื้นบ้านที่ใช้อยอดอ่อนรับประทานเป็นผักจิ้มน้ำพริก (Thitimetharoch, 2004) โดยทั่วไปพืชสกุล *Murdannia* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกันมาก ง่ายต่อการปลอมปนและเกิดความสับสนในการระบุชนิดพันธุ์ การศึกษาทางเภสัชเวทจึงมีความสำคัญ นอกจากจะจัดทำมาตรฐานลักษณะวินิจฉัยชนิดพืชสมุนไพร ยังใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาและการใช้ประโยชน์ในวิทยาศาสตร์สาขาอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไปโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การศึกษาฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันซึ่งมีรายงานการศึกษามากมายถึงความสัมพันธ์ถึงสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันนั้นมีบทบาท

สำคัญในการป้องกันและยับยั้งโรคมะเร็งหลายชนิด (Slaga, 1995)

การศึกษาค้นคว้านี้ได้ทำการศึกษาเภสัชเวท จุลลักษณะวินิจัยด้วยวิธีชุดผิวใบและวิธีทำตัวอย่าง ให้ใส การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีประเมิน คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และวิธีทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี นอกจากนี้ยังสนใจในการหา ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสมุนไพร หญ้าปักกิ่ง ผักลิ้มผิวใหญ่ และกินกุ้งน้อย ด้วยวิธี DPPH FRAP และ TBARS เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐาน การวิจัยต่อไปในอนาคต

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีวิจัย

1) วิธีศึกษาทางจุลลักษณะ (Microscopic Method)

ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและ บันทึกรูปภาพด้วยกล้องถ่ายรูป

วิธีชุดผิวแผ่นใบ (Leaf scraping) นำแผ่น ใบมาชุดแล้วย้อมสี Safranin แขนในชุดลำดับเอธิล แอลกอฮอล์แล้วนำไปผ่านกระบวนการทำสไลด์ถาวร (Johansen, 1940)

วิธีทำตัวอย่างให้ใส (Leaf clearing) นำ ส่วนที่ต้องการศึกษามาทำการละลายรังควัตถุและ ทำตัวอย่างให้ใส ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์, 5% NaOH และ Chloral hydrate ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แล้วนำไปเข้ากระบวนการย้อมสี Celestine blue B/Safranin และกระบวนการทำสไลด์ถาวร (Johansen, 1940)

2) วิธีศึกษาคุณสมบัติและองค์ประกอบทางเคมี (Phytochemical method)

วิธีประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physico-chemical value) ได้แก่การหาปริมาณ สารสกัดด้วยเมทานอล และน้ำ (Anonymous, 1966) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents) (Folin and Ciocalteu, 1927)

วิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin layer chromatography, TLC) นำผงยา 1 กรัมของ

พืชแต่ละชนิดมาสกัดด้วยเมทานอล 5 มิลลิลิตร 15 นาทีจากนั้นนำ 5 ไมโครลิตรมาหยดบนแผ่น TLC (G60 F₂₅₄ Merck) ขนาด 5 cm x 10 cm โดยใช้ชุดตัวทำละลาย ชุดที่ 1 Chloroform : Ethyl acetate : Methanol : Formic acid : Water อัตราส่วน 900 : 250 : 150 : 25 : 25 ตรวจสอบด้วย 10% กรดซัลฟูริกในเอทานอลและตรวจสอบความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร ชุดที่ 2 ประกอบด้วย Ethyl acetate : Formic acid : Acetic acid : water อัตราส่วน 125 : 11 : 11 : 13.5 ตรวจสอบด้วยเฟอริกคลอไรด์ อลูมิเนียมคลอไรด์ และตรวจสอบด้วยความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร บันทึกผล (Wagner and Bladt, 1984) ตัวอย่างที่ใช้ศึกษาเก็บจากภาคสนามแล้ว จัดทำเป็นตัวอย่างแห้งซึ่งเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืชสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ดังตารางที่ 1

3) การศึกษาฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน (Antioxidant assays) นำพืชแต่ละชนิดมา 5 กรัมสกัดด้วยเมทานอลและน้ำอย่างละ 20 มิลลิลิตรนำไปปั่นเหวี่ยง ประมาณประมาณ 2 ชั่วโมงจากนั้นนำมารองแล้วไป ทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแห้ง เก็บในอุณหภูมิต่ำ

วิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) การทดสอบฤทธิ์ในการจับกับสารอนุมูลอิสระที่เสถียร สารใดก็ตามที่มีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH นี้ได้จะส่งผลค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ก็จะลดลงสำหรับสารต้านออกซิเดนต์ที่ใช้เปรียบเทียบความสามารถในการจับอนุมูลอิสระในการศึกษาคือ Trolox และรายงานค่าเป็น EC₅₀ จาก % Scavenging (Ohtake and Tagashira, 1998)

วิธี The ability of ferric reducing-antioxidant power (FRAP) คือ การทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันรวมทั้งหมด เพื่อวัดความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดนต์รวมทั้งหมด (Total antioxidant power) โดยวัดความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งใช้พื้นฐานความรู้ว่าสารต้านกระบวนการออกซิเดชันในร่างกายทั้งที่เป็นโลหะ

และเอนไซม์ โดยหาความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารสกัด รายงานผลเป็นค่าความสามารถของสารสกัดในการต้านออกซิเดชันโดยการรีดิวซ์เหล็ก Fe^{3+} ให้เป็นเหล็ก Fe^{2+} (FRAP-value) ของสารสกัดที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับค่า FRAP ของ Trolox (Benzie and Strain, 1996)

วิธี Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) การทดสอบความสามารถในการเป็น

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวหรือเรียกว่ากระบวนการ Lipid peroxidation ในกระบวนการเกิดนี้จะให้สารประกอบต่างๆ มากมาย แต่ที่นิยมนำมาตรวจวัดคือสารประกอบเชิงซ้อน Malondialdehydes ที่เป็น Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) และรายงานค่าความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาเป็นค่า EC_{50} จาก % Inhibition (Ohkawa et al., 1979)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาจุลลักษณะ คุณสมบัติและองค์ประกอบทางเคมี

ชนิด	ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา	วันที่เก็บ	สถานที่เก็บ
<i>M. bracteata</i>	TS&TT-1	20 January 2005	มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น
	TS-15	9 September 2005	อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จ.เชียงใหม่
	TS-19	16 April 2006	อ.เชียงม่วน จ. พะเยา
<i>M. loriformis</i>	TS&TT-2	6 June 2005	มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น
<i>M. nudiflora</i>	TT-560	30 September 2002	อุทยานแห่งชาติภูเวียง จ. ขอนแก่น
	TS-22	13 June 2006	บ้านหนองหลุม ต. แดงน้อย อ. เมือง จ. ขอนแก่น

TS = Tarinee Subphala, TT = Thaweesak Thitimetharoch

ผลการทดลอง

1) การศึกษาทางจุลลักษณะ

1.1 หนู่ปักกิ่ง (*Murdannia bracteata* (C.B. Clarke) J.K. Morton ex D.Y. Hong) ดังแสดงในรูปที่ 2

เนื้อเยื่อผิว (Epidermis) ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวทิน (Cutin) สะสมเห็นชัดเจนลักษณะเป็นลวดลายร่างแห (Reticulate) รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบนเซลล์มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีขนาด ($30-40 \times 10-12 \mu m^2$) ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมขนาด ($8-12 \times 12-15 \mu m^2$) เซลล์ที่อยู่ในบริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่างปากใบ (Stomata) พบปากใบชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ กระจายอยู่น้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน และเรียงเป็นแถวอย่างเป็น

ระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่างเซลล์ขน พบขนจิวที่มี 3 เซลล์ เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง (Glandular micro-hairs) ขนาด $20-40 \mu m$ ทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง พบขนขนาดใหญ่ (Macro hairs) 4-7 เซลล์เรียงเป็นแถวเดียว (Uniseriate hairs) ขนาด $60-70 \mu m$ กระจายทั่วไปบนผิวใบด้านล่าง ขอบใบ (Margin) เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม พบขนปุ่ม (Papillae) และขนขนาดใหญ่ 2-7 เซลล์เรียงเป็นแถวเดียว

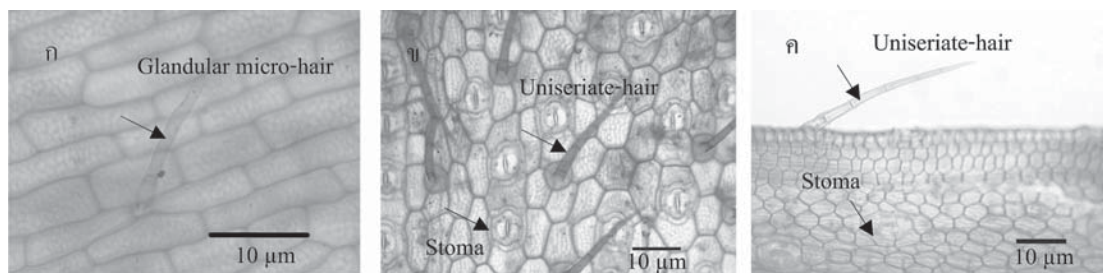
1.2 ผักลิ้มผิวใหญ่ (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao & Kammathy) ดังแสดงในรูปที่ 3

เนื้อเยื่อผิว ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวทินสะสมเห็นชัดเจนลักษณะเป็นลวดลายร่างแหรูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบนเซลล์มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีขนาด ($10-15 \times$

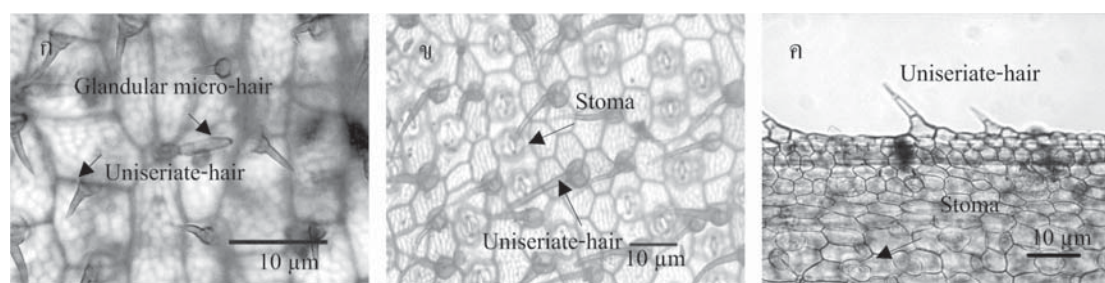
35-40 μm^2) ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม ($8-10 \times 10-15 \mu\text{m}^2$) เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบ พบปากใบชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คู่ 6 เซลล์ กระจายอยู่น้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน และเรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง เซลล์ขน ขนจี้ที่มี 3 เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง ขนาด 20 μm พบทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง พบขนขนาดใหญ่ 2 เซลล์เรียงเป็นแถวเดี่ยว ขนาด 20 μm กระจายทั่วแผ่นใบที่ผิวใบด้านบน และขนขนาดใหญ่ 2-4 เซลล์เรียงเป็นแถวเดี่ยว ขนาด 20-40 μm กระจายทั่วไปบนผิวใบด้านล่าง ขอบใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม บริเวณขอบใบพบขนขนาดใหญ่ 2-4 เซลล์เรียงเป็นแถวเดี่ยว

1.3 กินกุ่มน้อย (*Murdannia nudiflora* (L.) Brenan) ดังแสดงในรูปที่ 4

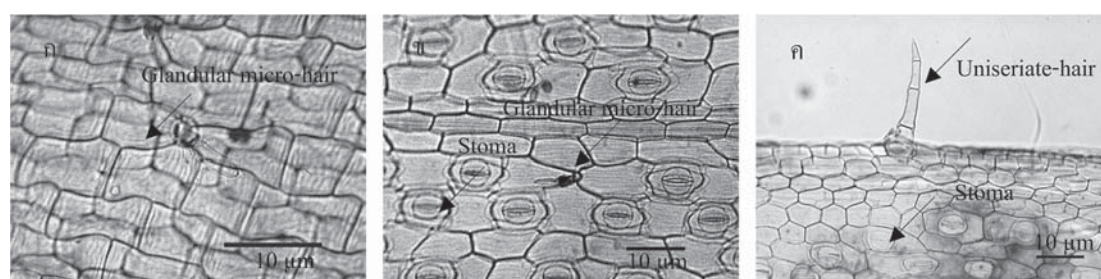
เนื้อเยื่อผิว ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวตินสะสมลักษณะเป็นเส้นขนานลวดลายตามยาว (Striate) รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบนเซลล์มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีขนาด ($5-10 \times 10-13 \mu\text{m}^2$) ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหลายเหลี่ยมขนาด ($10-20 \times 15-20 \mu\text{m}^2$) เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบ ชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คู่ 6 เซลล์ กระจายอยู่น้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน และเรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง เซลล์ขน พบขนจี้ที่มี 3 เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง ทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่าง ขอบใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมพบ ขนปุ่มเล็ก และขนขนาดใหญ่ 2-4 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดี่ยวส่วนจุลลักษณะที่แตกต่างของพืชทั้ง 3 ชนิด



รูปที่ 2 แสดงลักษณะเนื้อเยื่อผิวใบของ *M. bracteata*: ก. เนื้อเยื่อผิวใบด้านบนมีคิวตินสะสมลวดลายร่างแห รูปร่างผิวใบเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า และขนจี้ (ลูกศรชี้); ข. เนื้อเยื่อผิวใบด้านล่างมีคิวตินลวดลายร่างแห ขนแถวเดี่ยว (ลูกศรชี้) และปากใบจัดเรียงอย่างเป็นระเบียบ (ลูกศรชี้); ค. ขอบใบ มีขนแถวเดี่ยว (ลูกศรชี้) และปากใบ (ลูกศรชี้)



รูปที่ 3 รูปแสดงลักษณะเนื้อเยื่อผิวใบของ *M. loriformis*: ก. เนื้อเยื่อผิวใบด้านบนมีคิวทินสะสมแบบลวดลายร่างแห ขน 2 เซลล์ เรียงแถวเดียว (ลูกศรชี้) และขนจั่ว (ลูกศรชี้); ข. เนื้อเยื่อของผิวใบด้านล่างมีคิวทินลวดลายร่างแห ขนแถวเดียว (ลูกศรชี้) ปากใบจัดเรียงอย่างเป็นระเบียบ (ลูกศรชี้); ค. ขอบใบ มีขนแถวเดียว (ลูกศรชี้) และปากใบ (ลูกศรชี้)



รูปที่ 4 แสดงลักษณะเนื้อเยื่อผิวใบของ *M. nudiflora*: ก. เนื้อเยื่อผิวใบด้านบนมีคิวทินสะสมแบบลวดลายตามยาว มีขนจั่ว (ลูกศรชี้); ข. เนื้อเยื่อผิวใบด้านล่างมีคิวทินสะสมแบบลวดลายตามยาว ปากใบจัดเรียงอย่างเป็นระเบียบ (ลูกศรชี้) และขนจั่ว (ลูกศรชี้); ค. ขอบใบ พบขนแถวเดียว (ลูกศรชี้) และปากใบ (ลูกศรชี้)

2) องค์ประกอบเคมี

2.1 วิธีประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

ร้อยละของปริมาณสารที่สกัดด้วยเมทานอล และสกัดด้วยน้ำ ปริมาณฟีนอลิกที่สกัดด้วยเมทานอล และสกัดด้วยน้ำ ดังตารางที่ 2

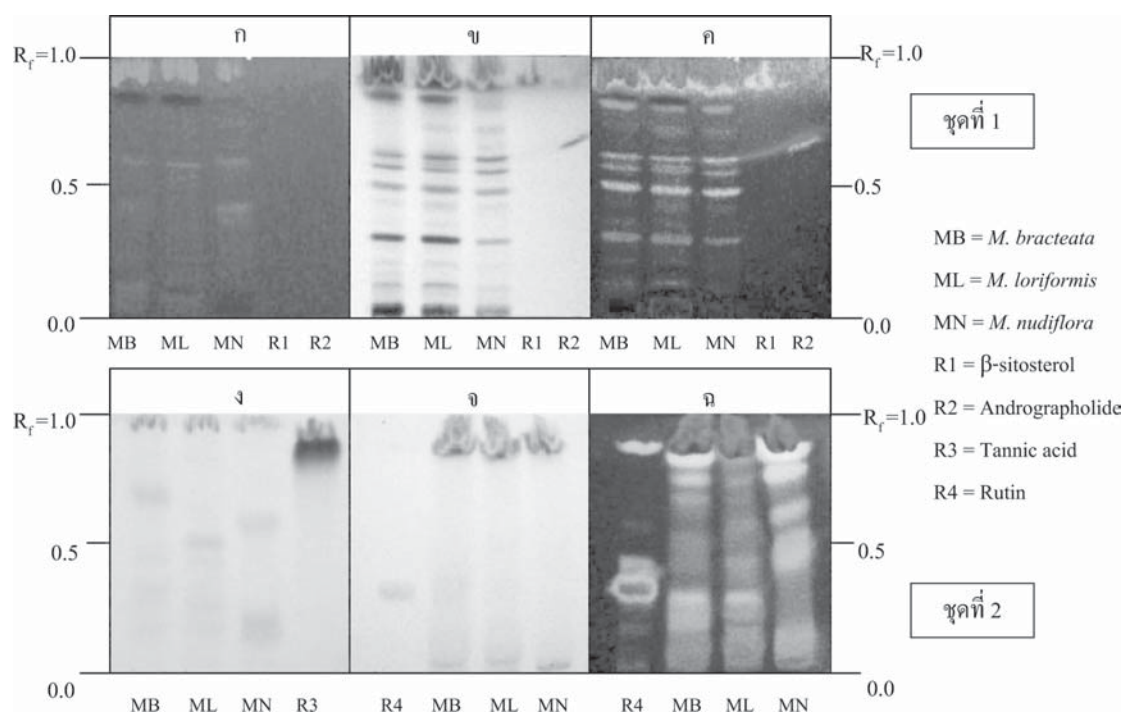
2.2 วิธีทีนเลเยอร์โครมาโทกราฟี สำหรับโครมาโตแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอล (TLC fingerprint profile of methanol extract) ของพืชทั้ง 3 ชนิด เมื่อใช้ระบบตัวทำละลายชุดที่ 1 เพื่อตรวจสอบกลุ่ม Terpenoid ประกอบด้วย Chloroform : Ethyl acetate : Methanol : Formic acid : Water อัตราส่วน 900 : 250 : 150 : 25 : 25 เมื่อสังเกตภายใต้ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีแดงและสีฟ้า (รูปที่ 5-ก) และเมื่อ

ตรวจสอบด้วย 10% กรดซัลฟูริกในเอทานอล จะปรากฏแถบสีแตกต่างกัน (รูปที่ 5-ข) และเมื่อเมื่อสังเกตภายใต้ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตรหลังตรวจสอบด้วย 10% กรดซัลฟูริกในเอทานอล จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีแดง น้ำเงิน เขียว ชมพู (รูปที่ 5-ค) ส่วนตัวทำละลายชุดที่ 2 เพื่อตรวจสอบสารกลุ่มฟีนอลประกอบด้วย Ethyl acetate : Formic acid : Acetic acid : Water อัตราส่วน 125 : 11 : 11 : 13.5 เมื่อตรวจสอบด้วยน้ำยาเฟอริริกคลอไรด์จะปรากฏแถบสีเขียว น้ำเงิน (รูปที่ 5-ง) และเมื่อตรวจสอบด้วยน้ำยาลูมิเนียมคลอไรด์จะปรากฏแถบสีเหลืองและน้ำตาลอ่อน (รูปที่ 5-จ) แล้วตรวจสอบด้วยความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเหลืองและสีฟ้าขาวชัดเจน (รูปที่ 5-ฉ)

ตารางที่ 2 ค่าปริมาณของค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของพืชในสกุล *Murdannia*

พารามิเตอร์	<i>M. bracteata</i>	<i>M. loriformis</i>	<i>M. nudiflora</i>
ปริมาณสารสกัดด้วยเมทานอล (ร้อยละ)	4.13 ± 0.61	4.26 ± 0.39	3.88 ± 0.92
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (ร้อยละ)	3.26 ± 0.49	3.38 ± 0.63	3.03 ± 0.23
ปริมาณฟีนอลิก (มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัดด้วยเมทานอล)	74.61 ± 6.36	37.95 ± 4.16	16.31 ± 1.68
ปริมาณฟีนอลิก (มิลลิกรัม/กรัมของสารสกัดด้วยน้ำ)	55.78 ± 2.35	56.26 ± 2.27	37.91 ± 1.80

Mean ± SD (n=3)



รูปที่ 5 ทินเลเยอร์โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลของ *M. bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora* ทินเลเยอร์โครมาโตแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลของ *M. bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora*: ก-ค, ในตัวทำละลายชุดที่ 1 Chloroform: Ethyl acetate : Methanol : Formic acid : water (900 : 250 : 150 : 25 : 25), ก. ตรวจสอบภายใต้แสง UV 366, ข. ตรวจสอบด้วย 10% กรดซัลฟูริกในเอทานอล, ค. ตรวจสอบด้วย 10% กรดซัลฟูริกในเอทานอล ภายใต้แสง UV 366 ; ง-ฉ, ตัวทำละลายชุดที่ 2 Ethyl acetate : Formic acid : Acetic acid : Water (125: 11: 11: 13.5), ง. ตรวจสอบด้วยน้ำยา 2% เฟอริกคลอไรด์-เอทานอล, จ. ตรวจสอบด้วยน้ำยา 1% อลูมิเนียมคลอไรด์ในเอทานอล, ฉ. ตรวจสอบด้วย 1% อลูมิเนียมคลอไรด์ในเอทานอล ภายใต้แสง UV 366

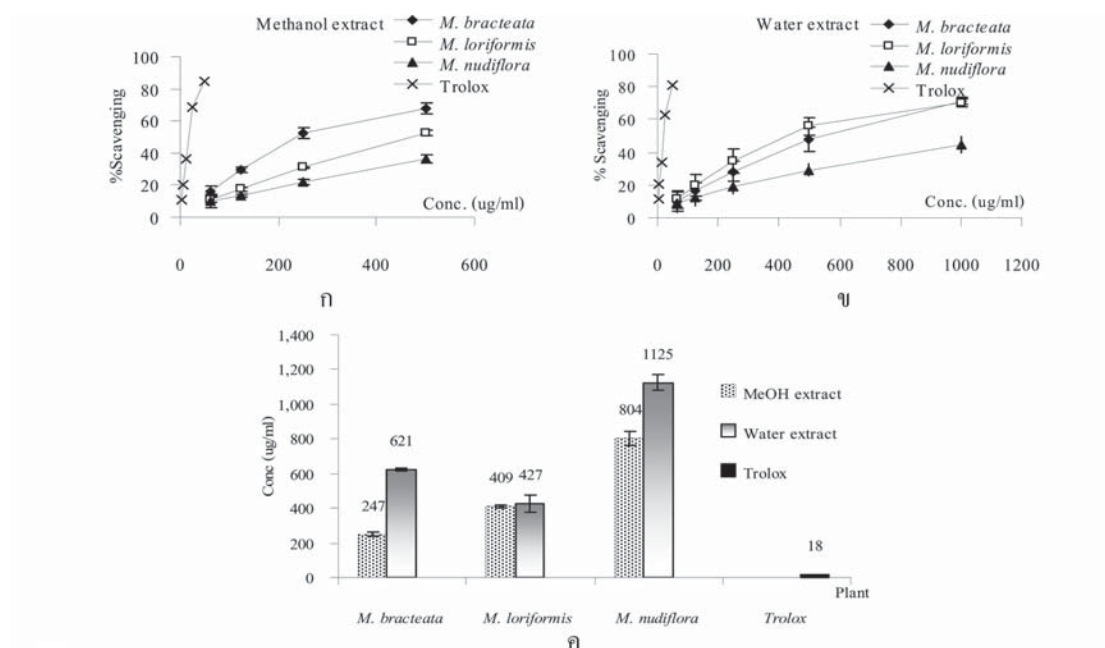
3)ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

3.1 วิธี DPPH ในการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระที่เสถียรของสารสกัดด้วยเมทานอลและน้ำของพืชทั้ง 3 ชนิดและสารต้านออกซิเดชันมาตรฐานคือ Trolox พบว่าสารสกัดด้วยสารสกัดด้วยเมทานอลและน้ำของพืชทั้ง 3 ชนิดทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH และเมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงพบว่าสารสกัดของพืชทั้ง 3 ชนิดสามารถลดค่าการดูดกลืนแสงลงได้ดังรูปที่ 6 ก-ข และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณค่า EC_{50} จะได้ผลดังตารางที่ 3 ซึ่งสารสกัดด้วยเมทานอลของ *M. bracteata* มีความสามารถในการกำจัด DPPH ได้ดีที่สุด ($EC_{50} = 246.9$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนสารสกัดด้วยน้ำของ *M. loriformis* มีความสามารถในการกำจัด DPPH ได้ดีที่สุด ($EC_{50} = 427.1$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และจากค่า EC_{50} สารสกัดด้วยเมทานอลนั้นมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ ดังรูปที่ 6-ค

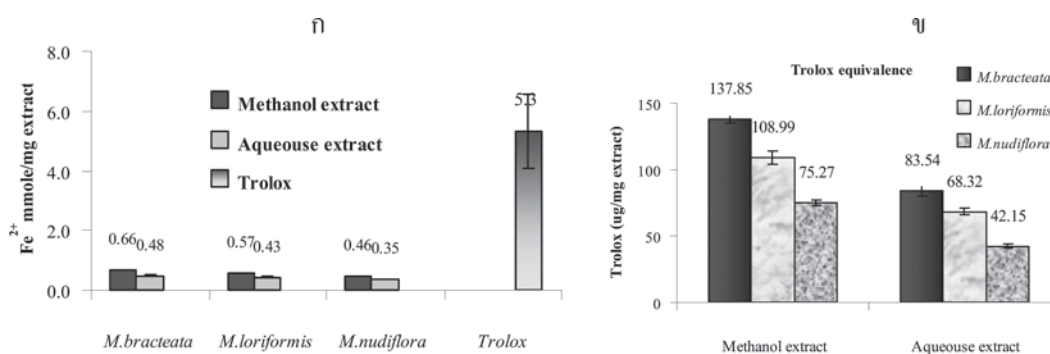
3.2 วิธี FRAP ผลการทดลองพบว่าสารสกัดของพืชทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์เป็น Reducing agent แตกต่างกัน รายงานผลเป็นค่าความสามารถของสารสกัดในการต้านออกซิเดชันโดยการรีดิวซ์เหล็ก Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} (Fe^{2+} มิลลิโมล/มิลลิกรัมของสารสกัด)

นอกจากนี้จะแสดงเป็นค่าเทียบเท่ากับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน (Trolox) สารที่มีค่าเทียบเท่ากับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐานมากนั้นหมายความว่ามีความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันสูง ซึ่งค่าเปรียบเทียบของสารสกัดของพืชทั้ง 3 ชนิดแสดงไว้ดังตารางที่ 3 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบสารที่สกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยเมทานอลพบว่าสารที่สกัดด้วยเมทานอลมีค่า FRAP สูงกว่า (รูปที่ 7) และสารสกัดด้วยเมทานอลและน้ำของ *M. bracteata* มีค่า FRAP สูงที่สุด

3.3 TBARs assay ผลการทดลองพบว่าสารสกัดของพืชทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งปฏิกิริยาการเกิด Lipid peroxidation โดยมีค่าการดูดกลืนแสงลดลงเมื่อนำไปคำนวณค่า EC_{50} แสดงในตารางที่ 3 จะเห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบสารที่สกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยเมทานอลพบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำจะมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา Lipid peroxidation ได้ดีกว่า และสารสกัดด้วยเมทานอลของ *M. loriformis* จะมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา Lipid peroxidation ได้สูงที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยน้ำของ *M. nudiflora* มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา Lipid peroxidation ได้สูงที่สุด



รูปที่ 6 ค่าความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารสกัด *M. bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora* ทั้งส่วนที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำ: ก. สกัดด้วยเมทานอล, ข. สกัดด้วยน้ำ, ค. ค่า EC₅₀ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)



รูปที่ 7 แสดงค่า FRAP ของสารสกัด *M. bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora*: ก. รายงานผลเป็น Fe²⁺ mmole/mg extract, ข. รายงานค่า FRAP ของสารสกัดเมื่อเปรียบเทียบกับค่าความสามารถของ Trolox

ตารางที่ 3 ค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัด *M. bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora* ทั้งส่วนที่สกัดด้วยเมทานอล และน้ำ และสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน (Trolox)

Assay	<i>M. bracteata</i>		<i>M. loriformis</i>		<i>M. nudiflora</i>		Trolox
	Methanol extract	Water extract	Methanol extract	Water extract	Methanol extract	Water extract	
DPPH EC ₅₀ (μg/ml)	246.9±11.8	620.9±5.4	408.8±9.6	427.1±48.76	804.3±41.0	1124.7±42.09	18.1±1.48
FRAP							
Fe ²⁺ (mmole/mg extract)	0.66±0.008	0.48±0.011	0.57±0.0176	0.43±0.0087	0.46±0.0072	0.35±0.0049	5.31±1.2
trolox -μg /mg-extract	137.85±2.60	83.54±3.35	108.99±5.13	68.3±2.65	75.27±2.19	42.15 ±1.49	-
TBARs EC ₅₀ (mg/ml)	2.00±0.090	1.51±0.076	2.27±0.149	1.6±0.071	2.37±0.220	1.09±0.065	0.27±0.028

n=3 (mean ± SD)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาจุลลักษณะวินิจัยแผ่นใบของพืชทั้ง 3 ชนิดในสกุลหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia*) พบว่าจุลลักษณะที่ปรากฏทั่วไปไม่มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Tomlinson (1969), Faden and Inman (1996) และ Thitimetharoch (2004) และพบว่าลักษณะลดลายการสะสมคิวทินที่เนื้อเยื่อผิวใบสามารถใช้เป็นจุลลักษณะวินิจัยได้โดย *M. nudiflora* ที่มีลดลายตามยาวเป็นเส้นขนาน ส่วน *M. bracteata* และ *M. loriformis* มีลดลายร่างแห และการปรากฏหรือไม่ปรากฏของขนขนาดใหญ่นบนผิวแผ่นใบด้านบนและด้านล่างสามารถใช้ในการจำแนก *Murdannia* ทั้ง 3 ชนิดนี้ได้โดยที่ไม่พบขนขนาดใหญ่ที่ผิวใบด้านบนของ *M. bracteata* และไม่พบขนขนาดใหญ่ที่ผิวใบด้านล่างของ *M. nudiflora* ดังแสดงในตารางที่ 4 อย่างไรก็ตามข้อมูลจุลลักษณะแผ่นใบที่ได้ศึกษาครั้งนี้ควรศึกษาพืชชนิดเดียวกันที่มีความแตกต่างของสภาพถิ่นที่อยู่ตามการแพร่กระจายพันธุ์เพิ่มเติมเพื่อจะได้ทราบลักษณะที่คงที่ (Consistent characters) ลักษณะผันแปร (Variation characters) และลักษณะที่สำคัญที่ใช้เป็นลักษณะจำแนกหรือวินิจัยควรเป็นลักษณะปรากฏอันเกิดจากพันธุกรรมและไม่ผันแปรตามสิ่งแวดล้อม

การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ โดยศึกษาปริมาณร้อยละของสารที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำ พบว่าปริมาณฟีนอลิกที่สกัดด้วยเมทานอลของ *M. bracteata* มีค่ามากที่สุดประมาณ 2 เท่าของ *M. loriformis* และประมาณ 4.5 เท่าของ *M. nudiflora* ตามลำดับ โครมาโทแกรมของทินเลเยอร์โครมาโทกราฟฟีในสารสกัดด้วยเมทานอลพบว่าพืชทั้ง 3 ชนิด โดยทั่วไปมีองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นเหมือนกันคือ Steroid, Triterpene, Lactone, Tannin และ Flavonoids โดยในตัวอย่างละลายชุดที่ 1 แสดงให้เห็นความแตกต่างทางโครมาโทแกรมซึ่งองค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่มที่มีขั้วน้อย จะเห็นชัดเจนภายใต้แสง UV 366 และเมื่อตรวจสอบด้วย 10% กรดซัลฟูริกในเอทานอล โดยเฉพาะแถบที่มีค่า R_f ประมาณ 0.75 นั้นจะปรากฏเฉพาะ *M. bracteata* และ *M. loriformis* ส่วนในตัวอย่างละลายชุดที่ 2 จะเห็นกลุ่มสารส่วนใหญ่ที่มีความเป็นขั้วมากกว่าชุดที่ 1 เมื่อตรวจสอบด้วย 2 % เฟอร์ริกคลอไรด์ในเอทานอล และตรวจสอบด้วย 1% อลูมิเนียมคลอไรด์ในเอทานอล สามารถแยกความแตกต่างโครมาโทแกรมของสารสกัดได้อย่างชัดเจนภายใต้แสง UV 366 พบว่า *M. loriformis* ไม่ปรากฏสารเรืองแสงสีฟ้าขาว 2 แถบที่ค่า R_f ประมาณ

0.75-0.8 และ 0.82-0.88 ในขณะที่อีก 2 ชนิด ปรากฏแถบสารในช่วงดังกล่าวอย่างชัดเจน จากรูปที่ 5-จ จะเห็นว่าสารสกัดของ *M. nudiflora* ปรากฏแถบสารเรืองแสงสีเหลืองของสารกลุ่ม Flavonoid หลายแถบอย่างชัดเจน (R_f ประมาณ 0.1, 0.12-0.2, 0.4-0.58 และ 0.6-0.65) ซึ่งมากกว่าสารสกัดพืชอีก 2 ชนิด

การศึกษาพืชฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชทั้ง 3 ชนิดที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำเพื่อเปรียบเทียบ การสกัดด้วยน้ำนั้นจะเลียนแบบการปรุงอาหารซึ่งสารส่วนใหญ่จะเป็นสารมีขั้วสูง เช่น น้ำตาล ส่วนสกัดด้วยเมทานอลจะได้สารกลุ่มที่มีขั้วและไม่มีขั้วซึ่งครอบคลุมเกือบทุกกลุ่มของสารจะเห็นว่าค่า Yield ของสารสกัดด้วยเมทานอลจะมีค่าสูงกว่าสารสกัดด้วยเมทานอลของ *M. bracteata* ฤทธิ์ในการกำจัด DPPH สูงที่สุด ($EC_{50} = 246.9 \mu\text{g/ml}$) ขณะที่สารสกัดด้วยน้ำของ *M. loriformis* มีฤทธิ์ในการกำจัด DPPH สูงสุด ($EC_{50} = 427.1$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) จากผลการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดด้วยเมทานอลของพืชทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์ในการกำจัดได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเมทานอล สำหรับการวัดความสามารถในการเป็นสารรีดิวซ์ (Reducing agent) โดยวัดความสามารถของสารสกัดในการถ่ายเทอิเล็กตรอนให้แก่เหล็ก Fe^{3+} ซึ่งเลียนแบบคุณสมบัติประการหนึ่งของสารต้านออกซิเดชันโดยการเติมอิเล็กตรอนทำให้โมเลกุลนั้นไม่เป็นอนุมูลอิสระอีกต่อไป ค่า FRAP ที่สกัดด้วยเมทานอลจะสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำซึ่งเหมือนกับวิธี DPPH และค่า FRAP ของ *M. bracteata* มีค่าสูงที่สุดทั้งที่สกัดด้วยน้ำและเมทานอลรองลงมา *M. loriformis*

และ *M. nudiflora* ตามลำดับ นอกจากนี้ค่า FRAP ยังสอดคล้องกับปริมาณ Phenolic compound ของสารสกัดด้วยน้ำและเมทานอลของพืชทั้ง 3 ชนิด จากผลการทดลองทั้ง 2 วิธีจะเห็นว่าสารสกัดด้วยเมทานอลของ *M. bracteata* มีค่าสูงสุดแสดงว่าพืชชนิดนี้มีความสามารถเป็น Scavenging agent และ Reducing agent ได้ดี และสำหรับการตรวจวัดฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากความสามารถในการป้องกันเซลล์หรือส่วนประกอบของเซลล์จัดเป็นวิธีการที่มีความใกล้เคียงกับปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกายเช่น ปฏิกิริยา Lipid peroxidation โดยวัดค่า Thiobarbituric reactive substance (TBARs) จากผลการทดลองสารสกัดด้วยน้ำของพืชทั้ง 3 ชนิด สามารถต้านการเกิดปฏิกิริยา Lipid peroxidation ได้ดีกว่าสกัดด้วยเมทานอลอาจเนื่องมาจากสารสกัดด้วยน้ำจะมีกลุ่มสารที่มีขั้วสูงซึ่งจะมีหมู่ ไฮดรอกซิลมากกว่าจึงมีความสามารถในการละลายได้ดีกว่า นอกจากนี้เคยมีรายงานว่าสารที่มีไฮดรอกซิลเพิ่มเข้ามาทำให้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากกว่า (Ho, 1992; Hollman et al, 1995) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยา Lipid peroxidation พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของ *M. nudiflora* มีฤทธิ์สูงสุด ($EC_{50} = 1.09$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ซึ่งอาจเกี่ยวเนื่องมาจากสกัดของ *M. nudiflora* มีสารกลุ่ม Flavonoids เป็นองค์ประกอบหลักที่มากกว่าดังจะเห็นแบน TLC รูป 5-จ ซึ่งสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพมากโดยเฉพาะ Lipid peroxy radical (Nordmann, 1993)

ตารางที่ 4 จุลลักษณะที่แตกต่างของผิวใบของ *M. bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora*

ลักษณะ	<i>M. bracteata</i>	<i>M. loriformis</i>	<i>M. nudiflora</i>
ลวดลายคิวทิน	ร่างแห	ร่างแห	เป็นเส้นขนานตามยาว
ขนขนาดใหญ่			
- ผิวใบด้านบน	ไม่พบ	2 เซลล์เรียงเป็นแถวเดียว	ไม่พบ
- ผิวใบด้านล่าง	4-7 เซลล์เรียงเป็นแถวเดียว	2-4 เซลล์เรียงเป็นแถวเดียว	ไม่พบ

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากทุนอุดหนุนส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ ประจำภาคต้น ปีการศึกษา 2549 มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบคุณรศ. ดร. สมาน เทศนา ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องสถานที่และเครื่องมือในการถ่ายภาพดิจิทัล

เอกสารอ้างอิง

วีณา จิรัจฉริยากุล. 2542. สารต้านมะเร็งจากหญ้าปักกิ่ง. จุลสารข้อมูลสมุนไพร. 16(3): 10-13.

Anonymous, 1966. *Official Indian Pharmacopoeia*, 2nd ed. Government of India, New Delhi.

Benzie, I.F., Strain, J.J. 1996. The ferric reduction ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem.* 239(1): 70-6.

Faden, R.B, Inman, K.E. 1996. Leaf anatomy of the African genera *Commelinaceae*: *Anthericopsis* and *Murdannia*. *The Biodiversity of African Plants*. Kluwer Academic Publishers, Netherland.

Folin, O., Ciocalteu, V. 1927. On Tyrosine and Tryptophane Determination in Proteins. *Journal of Biological Chemistry.* (27): 627-650.

Ho, C. T. 1992. Phenolic Compounds in Food: an Overview. In: Huang, M. T., Ho, C. T. and Lee, C. Y. (Editors), *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II*. American Chemical Society, Washington, 2-7.

Hollman, P. C. H., Vries, J. H. M., Leeuwen, S. D., Mengelers, M. J. B. and Katan, M. B. 1995. Absorption of Dietary Quercetin Glycosides and Quercetin in Healthy Ileostomy Volunteers. *Am J Clin Nutr.* 62:1276-1282.

Intiyot, Y., Kinouchi, T., Vinitketkumnien, U., Ohnishi, Y. 1998. Effect of *Murnannia loriformis* Extract on Xenobiotic Metabolizing Enzyme Introduction and AOM-Induced Colon Cancer in Rats. *The 3rd International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations*. Bangkok, Thailand.

- Intiyot, Y., Kinouchi, T., Kataoka, K., Arimochi, H., Kuwahara, T., Vinitketkumnue, U., Ohnishi, Y. 2002. Antimutagenicity of *Murdannia loriformis* in the Salmonella mutation assay and its inhibitory effects on azoxymethane-induced DNA methylation and aberrant *crypt* focus formation in male F344 rats. *Med Invest.* 49(1-2): 25-34.
- Jain, S.K., DeFilipps, R.A. 1991. Medicinal Plants of India. Vol. I. Reference Publications, Algonac, Michigan.
- Jiratchariyakul, W., Mongkarndi, P., Okabe, H., Frahm, A.W. 1998. Cytotoxic glycosphingolipid from *Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao and Kammathy. *Thai J Phytopharm.* 5(20): 10-20.
- Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Company, New York, USA.
- Nordmann, R. 1993. Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidant Vitamins. *C R Seances Soc Biol Fil* 187:277-285.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analst. Biochem.*, 95: 351-358.
- Ohtake, Y., Tagashira, M. 1998. A New Antioxidant 1,3-Benodioxole from *Melissa officinalis*. *Planta. Medica.*, 64: 555-8.
- Perry, L.M., Metzger J. 1980. Medicinal Plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses. The MIT Press Cambridge, Massachusetts, London.
- Phetsuk, P., Hahnvajjanawong, C., Lulitanond, V., Laupattarakasem, P. 2005. Immunomodulatory Effect of Thai Plant [Master of Science Thesis in Medical Microbiology]. Khon Kaen, The Graduate School, Khon Kaen University.
- Saralamp, P., Chuakul, W., Tamsiririrkkul, R., Clayton, T. 1996. Medicinal Plants in Thailand. Vol. I. Amarin Printing and Publishing Public Co., Ltd. Bangkok.
- Slaga, T. J. 1995. Inhibition of the induction of cancer by antioxidants. *Adv. Exp. Med. Biol.* 369, 167-174.
- Thitimetharoch, T., Chantaranothai, P., Thammathaworn, A., Faden, R.B. 2004. Taxonomic Studies of the Family Commelinaceae in Thailand [Ph.D. Philosophy Thesis in Biology]. Khon Kaen, The Graduate School, Khon Kaen University.
- Tomlinson, P.B. 1969. Anatomy of the Monocotyledons III (Commelinales-Zingiberales). The Clarendon Press, Oxford.
- Vinitketkumnue, U., Charoenkunathum, W., Kongtawelert, P., Lertprasertsuk, N., Picha, P., Matsushima, T. 1996. Antimutagenicity and DT-diaphorase inducer activity of Thai Medicinal plant, *Murdannia loriformis*. *Herbs Spices Medicinal Plants.* 4: 45-52.
- Vinitketkumnue, U., Chewonarin, T., Dhumtanom, P., Lertprasertsuk, N., Wild, C.P. 1999. Aflatoxin-albumin adducts formation after single and multiple dose of aflatoxin B1 in rats treated with Thai medicinal plants. *Mutation Research.* 428(-): 345-51.
- Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M. 1984. Plant Drug Analysis, translate by Scott, A. Springer-Verlag, New York.