



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การประเมินผลทางประสาทสัมผัส ของชาจากตำรับจตุผลลาชิกะและผลต่อ

การยืดอายุของ *Caenorhabditis elegans*

Antioxidant activity and sensory evaluation of tea from Jatu-Phala-Tiga and its lifespan

extension in *Caenorhabditis elegans*

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร. ศศิธร ชูศรี คณะการแพทย์แผนไทย

ผศ.ดร. ชรรมรัตน์ แก้วมณี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

แพทย์แผนไทยธีรวัฒน์ สุดขาว โรงพยาบาลการแพทย์แผนไทย

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก

เงินรายได้มหาวิทยาลัย/กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประเภทโครงการวิจัยประเภททั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2559 รหัสโครงการ TTM590709S

สัญญาเลขที่ TTM590709S

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การประเมินผลทางประสาทสัมผัส ของชาจากตำรับจตุผลาธิกะและผลต่อ
การยืดอายุของ *Caenorhabditis elegans*

**Antioxidant activity and sensory evaluation of tea from Jatu-Phala-Tiga and its lifespan
extension in *Caenorhabditis elegans***

ABSTRACT

According to the free radical theory of aging, free radicals and other reactive oxygen species are the main reason for the age-related damage at the cellular and tissue levels. The imbalance between the generation of free radicals and natural cellular antioxidant defences, known as oxidative stress, can lead to the oxidation of biomolecules and further contribute to cellular functional impairment. Medicinal plants have been claimed as anti-aging properties, whereas some of these plants are scientifically proven as an effective agent in intervention or prevention of aging-associated diseases. A polyherbal formula, Jatu-Phala-Tiga (JPT), comprising four herbs viz. *Phyllanthus emblica*, *Terminalia arjuna*, *Terminalia chebula*, and *Terminalia bellirica* is used as a rejuvenating agent or a blood tonic in Thai traditional medicine. The objective of this research is to evaluate the antioxidant activities of different extracts prepared from JPT and its herbal components. Effects of JPT water extract on the lifespan of *Caenorhabditis elegans* under normal conditions and under oxidative stress conditions induced by H₂O₂ were additionally tested in this study. With exception of *T. chebula*, qualities of tested medicinal plants comply with standards described in the Thai Herbal Pharmacopoeia or the Ayurvedic Pharmacopoeia of India. Metal chelating and free radical scavenging activities were found in all extracts, in concentration-dependent manners. Among the tested extracts, JPT water extract was found to possess the highest chelating activity, with an IC₅₀ value of 1.75±0.05 mg/mL. The extract exhibited notable scavenging activities towards DPPH, ABTS, and superoxide anion radicals, with IC₅₀ values of 0.31±0.02, 0.308±0.004, and 0.055±0.002 mg/mL, respectively. The ORAC and FRAP values of JPT water extract were 40.338±2.273 µM of Trolox/µg of extract and 23.07±1.84 mM FeSO₄/mg sample, respectively. Among JPTs' herbal ingredients, *T. chebula* water extract had metal chelating activity (IC₅₀= 4.64±0.17 mg/mL), while *T. bellirica* showed the strongest capability to reduce Fe³⁺ to Fe²⁺ with reduction activity at 23.37±0.85 mM FeSO₄/mg sample. In addition, water extracts of *P. emblica* and *T. arjuna* displayed the highest scavenging capacity towards the DPPH, peroxy, and superoxide anion radicals, respectively. Spectrophotometric analysis revealed that the total phenolic and total flavonoid contents of JPT and its medicinal plant components ranged from 250-446 mg of gallic acid equivalence/g of extract and 41-95 mg of catechin equivalence/g of extract, respectively. Supplementation with JPT water extracts at

concentrations 1.0-10 mg/mL significantly extended both the mean and maximum lifespan of *C. elegans* ($p < 0.05$). The mean lifespan was extended by up to 35.48% with 5.0 mg/mL of JPT treatment, and the maximum lifespan was increased by 6 days. Exposure to JPT extract at 5.0 mg/mL significantly enhances the mean lifespan of *C. elegans* under oxidative stress condition compared to that of the untreated control ($p < 0.05$). The mean lifespan was 14.33 ± 0.58 days for untreated worms, and the mean lifespan of JPT for the worms fed at 5.0 mg/mL were 16.67 ± 0.40 days, under hydrogen peroxide-induced oxidative stress condition. Our results suggest that Jatu-Phala-Tiga and its herbal ingredients are strong antioxidants and may have beneficial effects on human health. These data also indicated that Jatu-Phala-Tiga water extract requires further investigation as possible agents for anti-aging and oxidative stress prevention.

บทคัดย่อ

ทฤษฎีความชราที่อนุมูลอิสระกล่าวไว้ว่า อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุหลักของความเสียหายระดับเซลล์และเนื้อเยื่อ ซึ่งมีความเกี่ยวเนื่องกับอายุที่เพิ่มขึ้น ความไม่สมดุลระหว่างการเกิดอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระที่รู้จักกันในนามความเครียดออกซิเดชัน สามารถนำไปสู่การเกิดออกซิเดชันในโมเลกุล และมีผลต่อการทำงานของเซลล์ลดลง พืชสมุนไพรมีการกล่าวถึงคุณสมบัติในการชะลอวัย ในขณะที่มีพืชสมุนไพรบางส่วนที่ได้รับการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับความสามารถในการป้องกันโรคที่เกิดจากความชรา พืชจากตระกูลพืชประกอบด้วยสมุนไพร 4 ชนิด คือ มะขามป้อม สมอเทศ สมอไทย และสมอพิเภก โดยมีสรรพคุณชูกำลัง บำรุงกำลังที่ใช้ในทางการแพทย์แผนไทย วัตถุประสงค์ของงานชิ้นนี้คือ ประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวทำละลายที่ต่างกันจากพืชจากตระกูลพืช และสมุนไพรองค์ประกอบ ผลของสารสกัดจากพืชด้วยน้ำต่อการยืดอายุของหนอนตัวกลม *Caenorhabditis elegans* ภายใต้ภาวะปกติ และภาวะเครียดออกซิเดชันด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในการศึกษาครั้งนี้นอกจากสมอไทย พบว่าสมุนไพรอื่นผ่านการทดสอบตามมาตรฐานที่ระบุไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย และตำรามาตรฐานยาสมุนไพรอายุรเวท โดยความสามารถในการเข้าจับโลหะ และการกำจัดอนุมูลอิสระพบในทุกสารสกัด และแปรผันตรงกับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น จากการทดสอบทุกสารสกัดพบว่า สารสกัดจากตำรับพืชจากตระกูลพืชด้วยน้ำมีความสามารถในการเข้าจับโลหะได้ดีที่สุด ซึ่งรายงานเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 1.75 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ABTS และ อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.031 ± 0.02 , 0.308 ± 0.004 และ 0.055 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าการศึกษาวิธี ORAC และ FRAP ของสารสกัดพืชจากตระกูลพืชด้วยน้ำ เท่ากับ 40.338 ± 2.273 ไมโครโมลาร์ของโทรลอคซ์ต่อไมโครกรัมของสารสกัด และ 23.07 ± 1.84 มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิกรัมของสารสกัด ตามลำดับ โดยในสมุนไพรองค์ประกอบพบว่า สารสกัดสมอไทยด้วยน้ำสามารถเข้าจับโลหะหนักได้ดีที่สุด ($IC_{50} = 4.64 \pm 0.17$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ขณะที่สมอพิเภกแสดงความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกให้เป็นเฟอร์รัสเท่ากับ 23.37 ± 0.85 มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิกรัมของสารสกัด นอกจากนี้สารสกัดมะขามป้อม และสารสกัดสมอเทศด้วยน้ำ แสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เปอร์ออกซิล และซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนได้ดีที่สุด การวิเคราะห์สารสำคัญพบว่าปริมาณสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ในพืชจากตระกูลพืชและสมุนไพรองค์ประกอบพบอยู่ในช่วง 250-446 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 41-95 มิลลิกรัมของคาทีชินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

สารสกัดพิกัดจตุผลาธิกะด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 0.1-10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยืดอายุทั้งอายุเฉลี่ยและอายุสูงสุดของหนอนตัวกลมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดพิกัดจตุผลาธิกะที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยืดอายุเฉลี่ยเท่ากับ 35.48 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มอายุได้มากขึ้น 6 วัน และสารสกัดพิกัดจตุผลาธิกะที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยืดอายุหนอนตัวกลมภายใต้ความเครียดออกซิเดชันได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด ($p < 0.05$) โดยอายุเฉลี่ยเท่ากับ 16.67 ± 0.40 วันภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันจากการเติมสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าพิกัดจตุผลาธิกะ และสมุนไพรองค์ประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และอาจจะส่งผลดีต่อสุขภาพ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าพิกัดจตุผลาธิกะสามารถเป็นตัวช่วยในการชะลอวัย และป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้