

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การพัฒนาวิธีเตรียมสารสกัดเฟิร์น (*Cyclosorus terminans*) ที่มี
อินเทอร์รับตินเอและบีในปริมาณสูงและมีความคงตัว

Development of preparation process for interruptins A
and B-rich fern (*Cyclosorus terminans*) extract and its
stability

คณะนักวิจัย

หัวหน้าโครงการ นางสาวสิริวรรณ วิริยกุลโอภาศ

ผู้ร่วมโครงการวิจัย นายภาณุพงศ์ พุทธิรักษ์

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2556 รหัสโครงการ PHA560491S

บทคัดย่อ

เฟิร์น *Cyclosorus terminans* (วงศ์ Thelypteridaceae) เป็นพืชชั้นต่ำที่พบได้ทั่วไปในเขตร้อนชื้น โดยเฉพาะภาคใต้ของประเทศไทย ยอดอ่อนสามารถรับประทานเป็นอาหารได้ และเป็นสมุนไพรมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเบาหวานและความอ้วนเนื่องจากมีสารออกฤทธิ์อินเทอร์รับดินเอและบี งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาวิธีการเตรียมสารสกัดเฟิร์น *C. terminans* ที่มีสารกลุ่มอินเทอร์รับดินในปริมาณสูงและมีความคงตัว โดยศึกษาเปรียบเทียบผลการสกัดสารอินเทอร์รับดินด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล 95% ไอโซโพรพานอล และเอธิลอะซิเตท และใช้วิธีการสกัด 4 วิธี ได้แก่ การแช่หมักโดยใช้เครื่องเขย่า การแช่หมักโดยใช้เครื่องเขย่าด้วยคลื่นความถี่สูง การแช่หมักโดยคลื่นไมโครเวฟ และการสกัดแบบไหลย้อนกลับ จากการศึกษาพบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทโดยวิธีสกัดแบบไหลย้อนกลับให้ปริมาณสารอินเทอร์รับดินรวม (เอ บี และซี) สูงสุดเท่ากับ 0.21 %w/w ของน้ำหนักผงยาเริ่มต้น นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายไอโซโพรพานอลในการสกัดโดยโดยใช้เครื่องเขย่าด้วยคลื่นความถี่สูง ยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสกัดสารกลุ่มอินเทอร์รับดินเอ บี และซีจากเฟิร์น *C. terminans* เนื่องจากให้ปริมาณสารอินเทอร์รับดินรวม (เอ บี และซี) (0.15 %w/w) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เอธิลอะซิเตท (0.14 %w/w) ในวิธีการสกัดเดียวกันและวิธีการหมักโดยใช้เครื่องเขย่า (0.16 %w/w) อย่างไรก็ตามการใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95% แม้ว่าจะให้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าการสกัดด้วยไอโซโพรพานอล และเอธิลอะซิเตท แต่การสกัดด้วย เอทานอล 95% สกัดได้เพียงอินเทอร์รับดินซีเท่านั้น ไม่สามารถสกัดอินเทอร์รับดินเอและบีได้

สารสกัดเฟิร์นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทโดยวิธีสกัดแบบไหลย้อนกลับ และสารสกัดเฟิร์นที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลโดยใช้เครื่องเขย่าด้วยคลื่นความถี่สูงมีความคงตัวทางกายภาพและเคมีเมื่อเก็บในภาชนะปิดสนิทและป้องกันแสงที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ ในที่เย็น (4°C) อุณหภูมิห้อง (30°C) และในสภาวะแรง (45°C) รวมทั้งวางไว้ในที่มีแสงในอุณหภูมิห้อง (30°C) เป็นเวลานาน 3 เดือน และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกรัมบวกชนิด MSSA และ MRSA ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 16-64 µg/ml โดยสารสกัดเฟิร์นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทโดยวิธีสกัดแบบไหลย้อนกลับ มีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดเฟิร์นที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลโดยใช้เครื่องเขย่าด้วยคลื่นความถี่สูงประมาณ 2 เท่า

ดังนั้นการพัฒนาวิธีการเตรียมสารสกัดเฟิร์น *C. terminans* ที่มีสารกลุ่มอินเทอร์รับดินในปริมาณสูงและมีความคงตัวดังกล่าวจึงมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางเวชสำอาง อาหารเสริมสุขภาพและยาในอนาคต

Abstract

The fern *Cyclosorus terminans* (Thelypteridaceae) is a lower plant commonly found in tropical area especially in southern Thailand. It can be eaten as vegetable and also is a potential medicinal plant for antibiotic, antidiabetic, and antiobesity drug development due to active interruptins A and B. Therefore, this research work aims to develop the preparation process for interruptins-rich fern (*C. terminans*) extract with suitable stability. Comparison study of interruptin extraction by three solvents including 95% EtOH, isopropanol, and EtOAc and four extraction methods including maceration, ultrasound-assisted extraction, microwave-assisted extraction, reflux extraction was performed. It was found that using EtOAc with reflux extraction exhibited highest total interruptins (A, B, and C) as 0.21 %w/w of plant powder. Nevertheless, using isopropanol with ultrasound-assisted extraction was an alternative process for interruptins A-C extraction from *C. terminans*, since it provided total interruptins (A-C) (0.15 %w/w) no significant different from using EtOAc (0.14 %w/w) when extraction by the same process or maceration (0.16 %w/w). However, using 95% EtOH even gave higher extract yield than using isopropanol and EtOAc, whereas it can only extract interruptin C, not interruptins A and B.

The extracts prepared by EtOAc with reflux extraction and by isopropanol with ultrasound-assisted extraction revealed appropriate physical and chemical stability when kept in the dark at various temperatures (4, 30, and 45°C) as well as in the light at 30°C over 3 months. They also demonstrated antibacterial activity against gram positive bacteria MSSA and MRSA with MICs of 16-64 µg/ml). The extracts prepared by EtOAc with reflux extraction showed 2 times better antibacterial activity than the extracts prepared by isopropanol with ultrasound-assisted extraction.

Therefore, development of preparation process for interruptins-rich fern (*C. terminans*) extract with suitable stability has potential application for cosmeceutical, supplement and drug development in the future.