RMUTT
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
Rajamangala University of Technology Thanyaburi

วิทยาลัยการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
8 พหลโยธิน 87 ซอย 2 ตำบลประชาธิปัตย์ อำเภอธัญบุรี
จังหวัดปทุมธานี 12130
โทร: 02-592-1999 โทรสาร: 02-592-1900

รายงานผลการทดสอบสารสกัดชะลอความแก่

วันที่รับตัวอย่าง
จำนวนตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง
ชื่อตัวอย่าง น้ำสโรชา
วันที่รายงานผล 2 พฤศจิกายน 2561
วิธีการทดสอบ 1. การทดสอบความเป็นพิษของสารทดสอบต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี MTT
2. การทดสอบการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี Sirius Red
3. การทดสอบฤทธิ์การชะลอความแก่ของสารสกัด โดยการดูการเพิ่มการแสดงออกของ FoxO1 และ Sirt1 ในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี RT-PCR
4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 กลไก

สโรชาโอสถ www.sarochaosot.com

วิธีการทดลอง

1. **การทดสอบความเป็นพิษของสารทดสอบต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี MTT** (Boonpisuttinant et al., 2014)

เซลล์ผิวหนังมนุษย์ (Human dermal fibroblasts) ซื้อมาจาก บริษัท ATCC ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ในจานเพาะเลี้ยงขนาด 75 cm ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ (10% DMEM) ซึ่งประกอบด้วย Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), 10% fetal bovine serum (FBS) และยาปฏิชีวนะ 100 U/ml penicillin+ 100 ug/ml streptomycin ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37°C และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุกๆ 2-3 วัน เมื่อเซลล์เจริญเต็มจานเพาะเลี้ยง (ประมาณ 70-80%) ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษ โดยทำการล้างเซลล์ 1 ครั้งด้วย PBS จากนั้นเติม 2 ml ของ 0.25 % Trypsin-EDTA แล้วบ่ม 5 นาทีที่ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37°C เมื่อครบเวลาหยุดการทำงานของเอนไซม์ Trypsin โดยการเติม 8 ml ของ 10% DMEM แล้วเก็บอาหารและทำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 rpm 5 นาที

จากนั้นทำการแบ่งเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ให้มีความเข้มข้น $1x10^4$ เซลล์ต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ 10% DMEM นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 ℃ ที่มีปริมาตรคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยให้มีความเข้มข้นสุดท้ายคือ 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 mg/ml ตามลำดับ โดยมีกลุ่มควบคุมคือ ตัวทำละลายของสารทดสอบ แล้วบ่มไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 ℃ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง และล้างด้วย 1X PBS, pH 7.4 จำนวน 1 ครั้ง แล้วเติมสารละลาย (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide; MTT) ที่มีความเข้มข้น 0.05 mg/ml จำนวน 100 µl แล้วนำไปบ่มไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นเวลา 6

ชั่วโมง ซึ่งวิธี MTT ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์ (cell viability) โดยการวัดความสามารถการทำงานของเอนไซม์ succinate dehydrogenases ในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิต ที่จะสามารถรีดิวซ์ tetrazolium salt (MTT) ที่มีสีเหลือง ให้เป็นผลึก formazan ที่มีสีม่วง ซึ่งปริมาณของผลึก formazan ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตรอด จากนั้นเมื่อครบ 6 ชั่วโมง ทำการดูดสารละลายทิ้ง แล้วละลายผลึก formazan ด้วย 100 µl ของ DMSO เขย่าให้เข้ากันประมาณ 15 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์ความเข้มของสารละลาย formazan โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร และทำการคำนวณค่าร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ของสารทดสอบ ดังสมการด้านล่าง โดยเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังในกลุ่มควบคุม

$$\% \text{ Cell viability} = \frac{A_{560}\ \text{Sample}}{A_{560}\ \text{Control}} \text{ X } 100$$

โดยที่ A_{560}Sample = ค่าการดูดกลืนแสงของ สารทดสอบ

A_{560}Control = ค่าการดูดกลืนแสงของ กลุ่มควบคุม

2. **การทดสอบการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี Sirius Red** (Ramires et al., 2001)

แบ่งเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ให้มีความเข้มข้น $1x10^4$ เซลล์ต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ 10% DMEM แล้วนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37°C ที่มีปริมาตรคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารทดสอบที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ แล้วทำการบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37°C ในสภาวะอากาศที่มี 5% คาร์บอนไดออกไซค์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบการกระตุ้นคอลลาเจนของสารสกัดต่อเซลล์ผิวหนัง โดยใช้สารละลาย 0.1% (w/v) Sirius Red Solution ที่ละลายใน สารละลายอิ่มตัว picric acid ปริมาตร 100 µl นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ล้างเซลล์ด้วย 200 µl ของ 10 mM HCl จำนวน 5 ครั้ง และ 200 µl ของ 0.1 M NaOH เพื่อแตกเซลล์ จากนั้นทำการวัดปริมาณคอลลาเจนโดยนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm การคำนวณการกระตุ้นการสังเคราะห์คอลลาเจนของเซลล์ผิวหนังจากสมการด้านล่าง

$$\% \text{ Collagen synthesis activity} = \left(\frac{A_{560}\ \text{Sample}}{A_{560}\ \text{Control}} \text{ X } 100 \right) - 100$$

โดยที่ A_{560}Sample = ค่าการดูดกลืนแสงของ สารทดสอบ

A_{560}Control = ค่าการดูดกลืนแสงของ กลุ่มควบคุม

www.sarochaosot.com

3. การทดสอบฤทธิ์การชะลอความแก่ของสารสกัด โดยการดูการเพิ่มการแสดงออกของ FoxO1 และ Sirt1 ในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี RT-PCR

แบ่งเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ให้มีความเข้มข้น $5x10^5$ เซลล์ต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 6 หลุม ด้วยอาหาร 10% DMEM บ่มเซลล์ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 ℃ ในสภาวะอากาศที่มี 5% คาร์บอนไดออกไซค์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารทดสอบที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 ℃ ในสภาวะอากาศที่มี 5% คาร์บอนไดออกไซค์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการสกัด RNA ด้วยชุด Total RNA Extraction Kit Maxi สำหรับ Cultured Cells and Tissue (Cat.No. YRBM25) ทำการสกัด RNA ตามวิธีการที่บริษัทแนะนำ ทำการวัดปริมาณ RNA ที่ได้ ด้วย Qubit™ RNA BR Assay Kit (Cat.No. Q10210) ด้วยเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ Qubit® 2.0 จากนั้นนำ RNA ที่ได้มาวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของ FoxO1 FoxO3 และ Sirt1 mRNA ด้วยปฏิกิริยา RT-PCR โดยใช้เครื่อง TProfessional Basic Gradient 070-601 โดยชุดน้ำยา SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ Taq DNA Polymerase ทำการผสมสารในแต่ละหลอด PCR ตัวอย่างตามที่บริษัทแนะนำ ดังแสดงใน **ตารางที่** 1 โดยใช้ลำดับเบสของไพรเมอร์ของ FoxO1 primer สำหรับ forward 5'-GAC GCC GTG CTA CTC GTT-3' และ reverse 5'-CGG TTC ATA CCC GAG GTG-3', ขนาดแถบของผลผลิต PCR เท่ากับ 459 bp Sirt1 primer สำหรับ forward 5'-TAG CCT TGT CAG ATA AGG AAG GA-3' และ reverse 5'-ACA GCT TCA CAG TCA ACT TTG T-3', ขนาดแถบของผลผลิต PCR เท่ากับ 160 bp และลำดับเบสของไพรเมอร์ของ β- actin สำหรับ forward 5'-TCA TGC AGT GTG ACG TTG ACA TCC GT-3' และ reverse 5'-CCT AGA AGC ATT TGC GGT GCA CGA TG -3', ขนาดแถบของผลผลิต PCR เท่ากับ 310 bp

สโรชาโอสถ www.sarochaosot.com

ตารางที่ 1 การเตรียม master mix สำหรับการศึกษาการแสดงออกของ mRNA

สารเคมี	สำหรับ 1 ตัวอย่าง (1Rx) (µl)
2X reaction Mix	25
10 mM ของ Forward primer	1
10 mM ของ Reverse primer	1
Super Script	2

จากนั้นแบ่งสารผสม (master mix) จากตารางด้านบน ของแต่ละยีนลงในหลอด PCR หลอดละ 29 µl แล้วเติม 1 µg ของ RNA และปรับปริมาตรด้วย น้ำให้มีปริมาตรสุดท้ายของแต่ละหลอดเท่ากับ 50 µl นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง PCR ดังสภาวะใน**ตารางที่** 2

ตารางที่ 2 สภาวะที่ใช้วิเคราะห์ปฏิกิริยา RT-PCR

รอบที่		อุณหภูมิ (°C)	เวลาที่ใช้ (นาที)	จำนวนรอบ
1	cDNA synthesis	60	30	1
2	Pre-heat	94	2	1
3	Denature	94	0.15	40
	Annealing	55	0.30	

	Extension	68	0.30	
4	Final reaction	68	5	1

จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ทำการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของ mRNA โดย 2% Agarose gel electrophoresis ใน 1x TBE buffer และทำการวิเคราะห์ความเข้มของแบน DNA ด้วยโปรแกรม Quantity One

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทำการเตรียมสารสกัดตัวอย่าง และวิตามินซี (สารมาตรฐานควบคุมด้านบวก) ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10 และ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 µl ลงใน 96-well plate จากนั้นเติมสารละลาย 0.5 mg/ml DPPH ปริมาตร 50 µl เขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 560 nm จากนั้นคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จากสมการ

$$\% \text{ Radical scavenging activity} = \frac{[(A-B) - (C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ กลุ่มควบคุม

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D =ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่เติม DPPH

จากนั้น คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้) (Boonpisuttinant *et al*., 2012)

4.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน ทำการเตรียมสารสกัดตัวอย่าง และวิตามินอี (สารมาตรฐานควบคุมด้านบวก) ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10 และ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 µl ลงใน 96-well plate จากนั้นเติมสารละลาย 1 mg/ml ของ linoleic acid emulsion ที่ละลายใน 50% DMSO ปริมาตร 50 µl จากนั้นเติมสารละลาย 1 mg/ml ของ NH_4SCN ที่ละลายใน 1% HCl ปริมาตร 50 µl จากนั้นเติม 1 mg/ml ของ $FeCl_2$ ที่ละลายใน 1% HCl ปริมาตร 50 µl เขย่าเมื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดนาน 60 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 450 nm จากนั้นคำนวณการยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน จากสมการ

$$\% \text{ Lipid peroxidation inhibition activity} = \frac{[(A-B) - (C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ $FeCl_2$

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ กลุ่มควบคุม

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

www.sarochaosot.com สโรชาโอสถ

D =ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่มี $FeCl_2$

จากนั้น คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Boonpisuttinant *et al*., 2012)

4.3 การทดสอบฤทธิ์คีเลชันของโลหะ ทำการเตรียมสารสกัดตัวอย่าง และ EDTA (สารมาตรฐานควบคุมด้านบวก) ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10 และ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 µl ลงใน 96-well plate จากนั้นเติม Ferrozine ปริมาตร 50 µl เติมสารละลาย $FeCl_2$ เข้มข้น 1 mg/ml ที่ละลายใน 1% HCl ปริมาตร 50 µl เขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มืด 60 นาที จากนั้นนำเข้าเครื่อง Microplate Reader วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 nm จากนั้นคำนวณฤทธิ์คีเลชันของโลหะ จากสมการ

$$\% \text{ Metal chelating activity} = \frac{[(A-B) - (C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ $FeCl_2$

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ กลุ่มควบคุม

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D =ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่มี $FeCl_2$

จากนั้น คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งคีเลชันของโลหะ (Boonpisuttinant *et al*., 2012)

สโรชาโอสถ www.sarochaosot.com

ผลการตรวจสอบ

1. ฤทธิ์กระตุ้นคอลลาเจน

จากผลการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ของสารทดสอบทั้งหมดไม่แสดงความเป็นพิษ โดยแสดงความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์มากกว่าร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงใน**ตารางที่ 3** ดังนั้นในการทดสอบฤทธิ์การกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน และฤทธิ์การชะลอความแก่ของสารสกัดจึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่ 0.1 mg/ml ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ของสารสกัดตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นสารทดสอบ (mg/ml)				
	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
น้ำสโรชา	106.95 ± 0.24	101.60 ± 0.33	105.01 ± 0.50	101.67 ± 0.60	100.73 ± 1.143
L-ascorbic acid	100.84 ± 0.41	99.28 ± 1.01	100.61 ± 0.47	100.86 ± 1.71	85.07 ± 6.34
Resveratrol	101.94 ± 3.22	105.16 ± 3.03	105.58 ± 1.33	80.42 ± 0.17	46.48 ± 0.77*
control	100.00 ± 0.00				

หมายเหตุ : * คือ สารสกัดที่มีร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังน้อยกว่า 80 % เมื่อเทียบกลุ่มควบคุม

ในการทดสอบฤทธิ์การกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนของน้ำสโรชาพบว่า ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ได้ 12% ซึ่งมีฤทธิ์เทียบเท่ากับวิตามินซี (22%) ซึ่งเป็นสามารถควบคุมด้านบวก ดังแสดงใน**ตารางที่ 4**

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์การกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนของสารสกัดตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ร้อยละการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน
control	0.00 ± 0.00[a]
ยาน้ำสโรชา	12.32 ± 2.83[b]
L-ascorbic acid	22.37 ± 1.12[b]

หมายเหตุ: [a-b] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

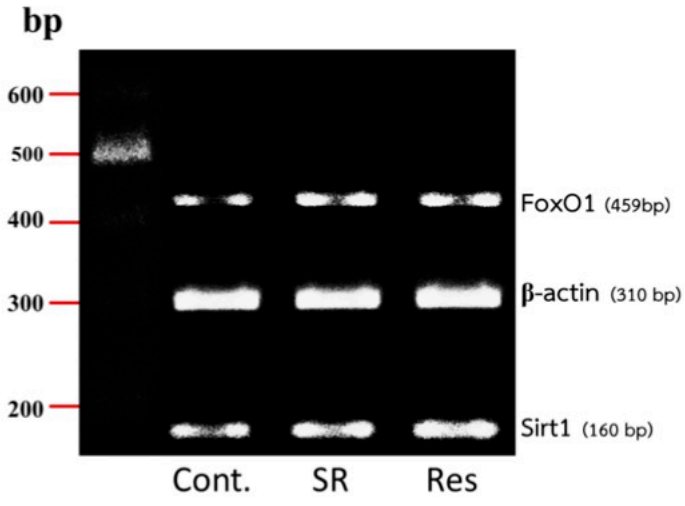
2. **ฤทธิ์การชะลอความแก่ของสารสกัด**

การศึกษาฤทธิ์การชะลอความแก่ โดยการศึกษาฤทธิ์การกระตุ้นการแสดงออกของยีนต้านความแก่ ได้แก่ FoxO1 และ Sirt1 พบว่า น้ำสโรชา มีฤทธิ์ในการช่วยชะลอความแก่ได้ โดยสามารถกระตุ้นการแสดงออกmRNA ของ FoxO1 และ sirt1 ได้ประมาณ 24% และ 14% ตามลำดับ ซึ่งมีฤทธิ์เทียบเท่ากับ resveratrol (28% และ 15% ตามลำดับ) ที่ใช้เป็นสารควบคุมด้านบวก ดังแสดงใน**ตารางที่ 5** และ**รูปที่ 1**

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์การกระตุ้นการแสดงออกของ FoxO1 และ Sirt1 mRNAของสารสกัดตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ร้อยละการกระตุ้นการแสดงออกของ mRNA	
	FoxO1	Sirt1
control	0.00 ± 0.00[a]	0.00 ± 0.00[a]
น้ำสโรชา	24.02 ± 4.01[b]	13.92 ± 1.87[b]
Resveratrol	28.13 ± 2.71[b]	15.14 ± 1.22[b]

หมายเหตุ: [a-b] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$



www.sarochaosot.com สโรชาโอสถ

หมายเหตุ Cont. คือ control; SR คือ น้ำสโรชา; Res คือ Resveratrol

รูปที่ 1 เจลการทดสอบการกระตุ้นการแสดงออกของ FoxO1 และ Sirt1 mRNAของสารสกัดตัวอย่าง

3. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัด

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging activity) ด้วยวิธี DPPH พบว่า สารตัวอย่าง ยาน้ำสโรชา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 82.36±0.92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีฤทธิ์เทียบเท่าสารละลายวิตามินซี ที่ระดับนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of Lipid peroxidation activity) ด้วยวิธี Lipid peroxidation พบว่า สารตัวอย่าง ยาน้ำสโรชา มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน เท่ากับ 76.02±0.12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีฤทธิ์น้อยกว่าสารละลายวิตามินอี นอกจากนี้ จากการทดสอบฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะ (Chelation activity) ด้วยวิธี Ferrous Metal chelating พบว่า สารตัวอย่าง ยาน้ำสโรชา มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดคีเลชันของโลหะได้ เท่ากับ 71.80±1.28 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีฤทธิ์น้อยกว่าสารละลาย EDTA ที่ระดับนัยสำคัญ ดังแสดงใน**ตารางที่ 6**

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดตัวอย่าง

สารทดสอบ	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน		
	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (เปอร์เซ็นต์)	ฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	ฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะ (เปอร์เซ็นต์)
ยาน้ำสโรชา	82.36±0.92[a]	76.02±0.12[b]	71.80±1.28[b]
วิตามินซี	99.01±0.21[a]	N.D.	N.D.
วิตามินอี	N.D.	86.45±0.54[a]	N.D.
อีดีทีเอ	N.D.	N.D.	81.19±0.12[a]

หมายเหตุ : [a-b] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

N.D. คือ ไม่ได้ตรวจสอบ

สโรชาไฮสุด www.sarochaesot.com

<u>สรุปผลการทดลอง</u>

จากการทดสอบฤทธิ์การกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนและฤทธิ์ช่วยชะลอความแก่ ของน้ำสโรชา พบว่า น้ำสโรชามีฤทธิ์การกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนและฤทธิ์ช่วยชะลอความแก่ โดยไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ที่ความเข้มข้นน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.1 mg/mL ซึ่งมีฤทธิ์เทียบเท่ากับสารควบคุมด้านบวกคือ วิตามินซี และ resveratrol นอกจากนี้ ยังพบว่า ยาน้ำสโรชา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 กลไก ประกอบด้วย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging activity) ด้วยวิธี DPPH ฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of Lipid peroxidation activity) ด้วยวิธี Lipid peroxidation และฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะ (Chelation activity) ด้วยวิธี Ferrous Metal chelating

<u>เอกสารอ้างอิง</u>

Boonpisuttinant, K., Sodamook, U., Ruksiriwanich, W., & Winitchai, S. (2014). In Vitro Anti-

melanogenesis and Collagen Biosynthesis Stimulating Activities of Star Grass (Hypoxis aurea Lour.) Extracts. Asian Journal of Applied Sciences, 2(4), 405-413.

Boonpisuttinant, K., Manosroi, A., Rahmat, D. & Manosroi, J. (2012). Enhancement of *In Vitro* Anti-Proliferative Activity and Intestinal Membrane Permeation of Thai Medicinal Plant Extracts Selected from the MANOSROI II Database by Loading in Chitosan-Thioglycolic Acid (TGA) Nanoparticles. *Advanced science letters*, 17(1), 206-216.

Ramires, P.A., Romito, A., Cosentino, F. & Milella, E. (2001). The influence of titania/hydroxyapatite composite coatings on in vitro osteoblasts behavior. Journal biomaterials, 22, 1467-1474.

ลงชื่อ .....

(นางสาวสรินพร อุดมพงษ์)

ผู้ทดสอบ

ลงชื่อ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรวินท์วิชญ์ บุญพิสุทธินันท์)

ที่ปรึกษา และผู้ตรวจสอบ

สโรชาโอสถ www.sarochaosot.com