บทคัดย่อ

การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกเมล็ดมะขาม (*Tamarindus indica* Linn.) โดยตัวทำละลายต่างชนิดคือ เอธานอล (EtOH) เมธานอล (MeOH) น้ำกลั่น (W) น้ำกับอะซิโตน (1:1 v/v) (W+Ac) เมธานอลกับอะซิโตน (1:1 v/v) (MeOH+Ac) ด้วยวิธี soxlet และเมธานอลกับอะซิโตน (1:1 v/v) ด้วยวิธีการแช่ก่อนสกัดต่อด้วย soxlet (MeOH+Ac) (แช่) พบว่า EtOH เป็นตัวทำละลายที่สกัดสารได้สูงสุดคือ ร้อยละ 63.06 (กรัมต่อ น.น.กรัมแห้ง) และสารที่สกัดด้วย MeOH+Ac (แช่) มีปริมาณฟีนอลรวมและ procyanidin สูงกว่าสารที่สกัดด้วย MeOH+Ac และ W+Ac ตามลำดับ ผลการทำให้บริสุทธิ์ของสารที่สกัดด้วย MeOH+Ac (แช่) โดยคอลัมน์ sephadex LH 20 และแยกเป็นแฟรกชัน พบว่าแฟรกชัน F2 และ F3 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงกว่าแฟรกชันอื่นและดีกว่าสารสกัดที่ยังไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสกัดด้วยวิธี TLC, UV-VIS spectrometry, FT-IR spectrometry และ การทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของสารกลุ่มฟีนอลลิกให้ผลสอดคล้องกัน คือสารสกัดประกอบด้วยสารกลุ่ม oligomeric proanthocyanidins, catechin และ epicatechin การวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าสารที่สกัดด้วย MeOH+Ac (แช่) และ MeOH มีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลลิกสูงสุด และสารส่วนใหญ่เป็น catechin, epicatechin, myricetin และ procyanidin B1 การศึกษาฤทธิ์และกลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน พบว่าในวิธี DPPH สารที่สกัดด้วย MeOH+Ac (แช่) MeOH W+Ac และ MeOH+Ac มีค่า IC_{50} ใกล้เคียงกัน และมีฤทธิ์สูงกว่าสารมาตรฐาน rutin แต่ต่ำกว่าสารมาตรฐาน gallic acid และ quercetin การทดสอบสารที่สกัดด้วย MeOH+Ac (แช่) W+Ac MeOH+Ac ด้วยวิธี $ABTS^{\bullet+}$และ chelating property พบว่า สารสกัดทั้งสามมีฤทธิ์ทัดเทียมกันและมีค่าเทียบเท่าสารมาตรฐานของแต่ละวิธีการทดสอบ การตรวจสอบด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดด้วย MeOH+Ac (แช่) มีฤทธิ์สูงกว่าสารที่สกัดด้วย W+Ac และ MeOH+Ac ตามลำดับ และมีค่าสูงกว่าสารมาตรฐาน trolox นอกจากนั้น สารที่สกัดด้วย MeOH+Ac (แช่) ยังมีฤทธิ์ต้าน hemolysis สูงกว่าสารมาตรฐาน trolox เช่นกัน โดยภาพรวม สารสกัดจากเปลือกเมล็ดมะขามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยกลไกหลายรูปแบบ และมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารมาตรฐานต่าง ๆ ดังนั้น จึงควรค่าต่อการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในระดับเซลล์และสัตว์ทดลองต่อไป

Abstract

The antioxidant compounds from tamarind (*Tamarindus indica* Linn.) seed pericarps were extracted by different solvents, namely ethanol (EtOH), methanol (MeOH), distilled water (W), water and acetone (1:1 v/v) (W+Ac), methanol and acetone (1:1 v/v) (MeOH+Ac) using soxlet apparatus, and methanol and acetone (1:1 v/v) using maceration before soxlet extraction $(MeOH+Ac)_{(mac)}$. The EtOH extract had the highest recovery yield of 63.06% (g/g dry wt.), while the MeOH+Ac $_{(mac)}$ extract provided the greatest contents of total phenolic and procyanidin. Further purification and fractionation of MeOH+Ac $_{(mac)}$ extract by sephadex LH 20 revealed that the fractions F2 and F3 had higher antioxidant activity than any other fractions including the unpurified extract, as assessed by the DPPH assay. The identification of polyphenolic components of the extract, using TLC, UV-VIS spectrometry, FT-IR spectrometry, and the basic tests of phenolic compounds, indicated the similarity of major constituents of oligomeric proanthocyanidins, catechin and epicatechin. The HPLC analysis confirmed that MeOH+Ac $_{(mac)}$ and MeOH extracts possess the highest total phenolic content, and the dominant polyphenolic profiles were catechin, epicatechin, myricetin, and procyanidin B1. The study of antioxidant capacity of the extracts, assessed by various methods with different underlying mechanisms, revealed that the extracts of MeOH+Ac $_{(mac)}$, MeOH, W+Ac, and MeOH+Ac has similar IC_{50} values in the DPPH assay. Their antioxidant activities were higher than the antioxidant standard rutin but lower than gallic acid and quercetin. The studies of $ABTS^{\bullet+}$ and chelating property also showed similar antioxidant activities of MeOH+Ac $_{(mac.)}$, W+Ac, and MeOH+Ac extracts, and their activities were comparable to their corresponding antioxidant standards in each assay. In the FRAP assay, MeOH+Ac $_{(mac)}$ displayed the highest reducing capability than W+Ac and MeOH+Ac extracts, respectively, and the activity was higher than the standard trolox. Similarly, MeOH+Ac $_{(mac)}$ also exhibited higher inhibitory effect on hemolysis of human red blood cells than the standard trolox. Overall, the polyphenolic compounds extracted from tamarind seed pericarps possess high antioxidant potential as comparable to many gold standards, and the antioxidant activities can occur through different defense mechanisms. The antioxidant-related biologic activity of the extract *in vitro* and *in vivo* should be worthwhile for further investigation.