ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเบาหวานในหลอดทดลองของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*Bombax ceiba* L.)

วิทยานิพนธ์

ของ

นุรารัตน์ กรีอินทอง

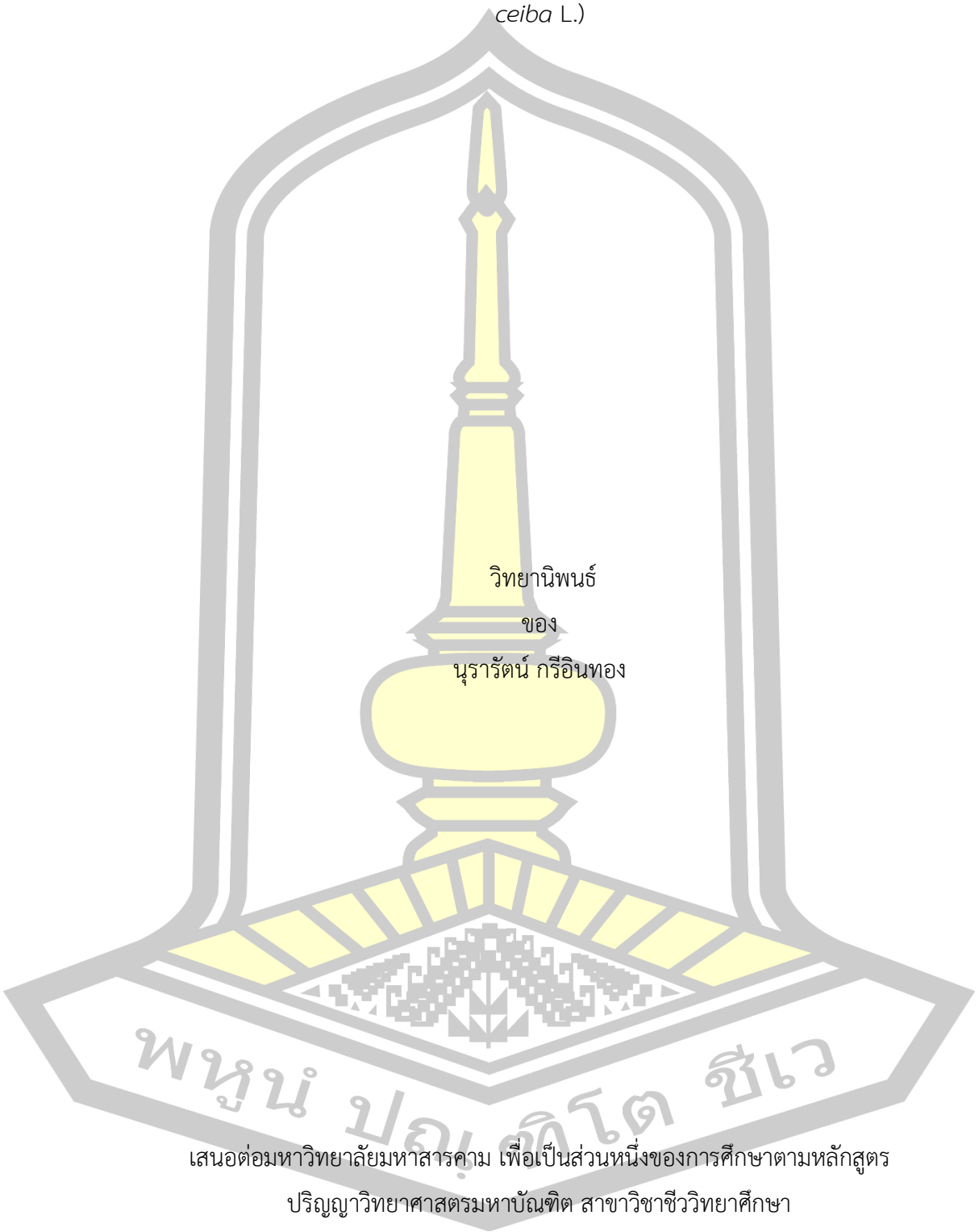
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา

มีนาคม 2563

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเบาหวานในหลอดทดลองของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*Bombax ceiba* L.)



วิทยานิพนธ์

ของ

นุรารัตน์ กรีอินทอง

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา

มีนาคม 2563

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

In Vitro Antioxidant and Anti-diabetic Activity of *Bombax ceiba* L. Extracts

Nurarat Kriintong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements

for Master of Science (Biology Education)

March 2020

Copyright of Mahasarakham University

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวนุรารัตน์ กรีอินทอง แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผศ. ดร. สาวิตรี วงศ์ตั้งถิ่นฐาน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผศ. ดร. ธีรพร กทิศาสตร์)

.....กรรมการ
(ผศ. ดร. สุธิรา มณีฉาย)

.....กรรมการ
(ผศ. ดร. บังอร แถวโนนงิ้ว)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....
(ศ. ดร. ไพโรจน์ ประมวล)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

.....
(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

พหุน ปณฺ ฑิโต ชีวเ

ชื่อเรื่อง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเบาหวานในหลอดทดลองของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*Bombax ceiba* L.)

ผู้วิจัย นุรารัตน์ กรีอินทอง

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรพร กทิศาสตร์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** ชีววิทยาศึกษา

มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม **ปีที่พิมพ์** 2563

บทคัดย่อ

งิ้วป่าดอกแดง (*Bombax ceiba*) อยู่ในวงศ์ Bombacaceae เกสรเพศผู้ของพืชชนิดนี้ใช้เป็นอาหารของชาวภาคเหนือของประเทศไทย โดยพืชชนิดนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพไม่มากโดยเฉพาะในส่วนดอก ซึ่งวิจัยนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี DPPH, ABTS และ FRAP รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวานจากฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากส่วนใบ ดอก และเปลือกต้นสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 50% และเอทานอล 95% ผลจากการทดสอบพบว่า สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด (8.05±0.29 mgGAE/g และ 130.09±6.38 mgQE/g ตามลำดับ) สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95% และสารสกัดใบด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH ได้ดีที่สุด (0.012±0.000 และ 0.012±0.000 mg/ml ตามลำดับ) สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTSได้ดีที่สุด (0.001±0.000 mg/ml) สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95% มีความสามารถในการถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (349.272 ± 35.163 mgTE/g) สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95% มีความสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสสูงที่สุด (0.0013±0.0012, 0.0002±0.0001 mg/ml ตามลำดับ) จากผลดังกล่าวจึงแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากงิ้วป่าดอกแดงมีฤทธิ์ต้านเบาหวานและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งสามารถยืนยันได้ว่างิ้วป่าดอกแดงที่นำมาประกอบอาหารสามารถนำมาใช้ทางการแพทย์ได้

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง, ฤทธิ์ต้านเบาหวานในหลอดทดลอง, งิ้วป่าดอกแดง

TITLE *In Vitro* Antioxidant and Anti-diabetic Activity of *Bombax ceiba* L. Extracts

AUTHOR Nurarat Kriintong

ADVISORS Assistant Professor Teeraporn Katisart , Ph.D.

DEGREE Master of Science **MAJOR** Biology Education

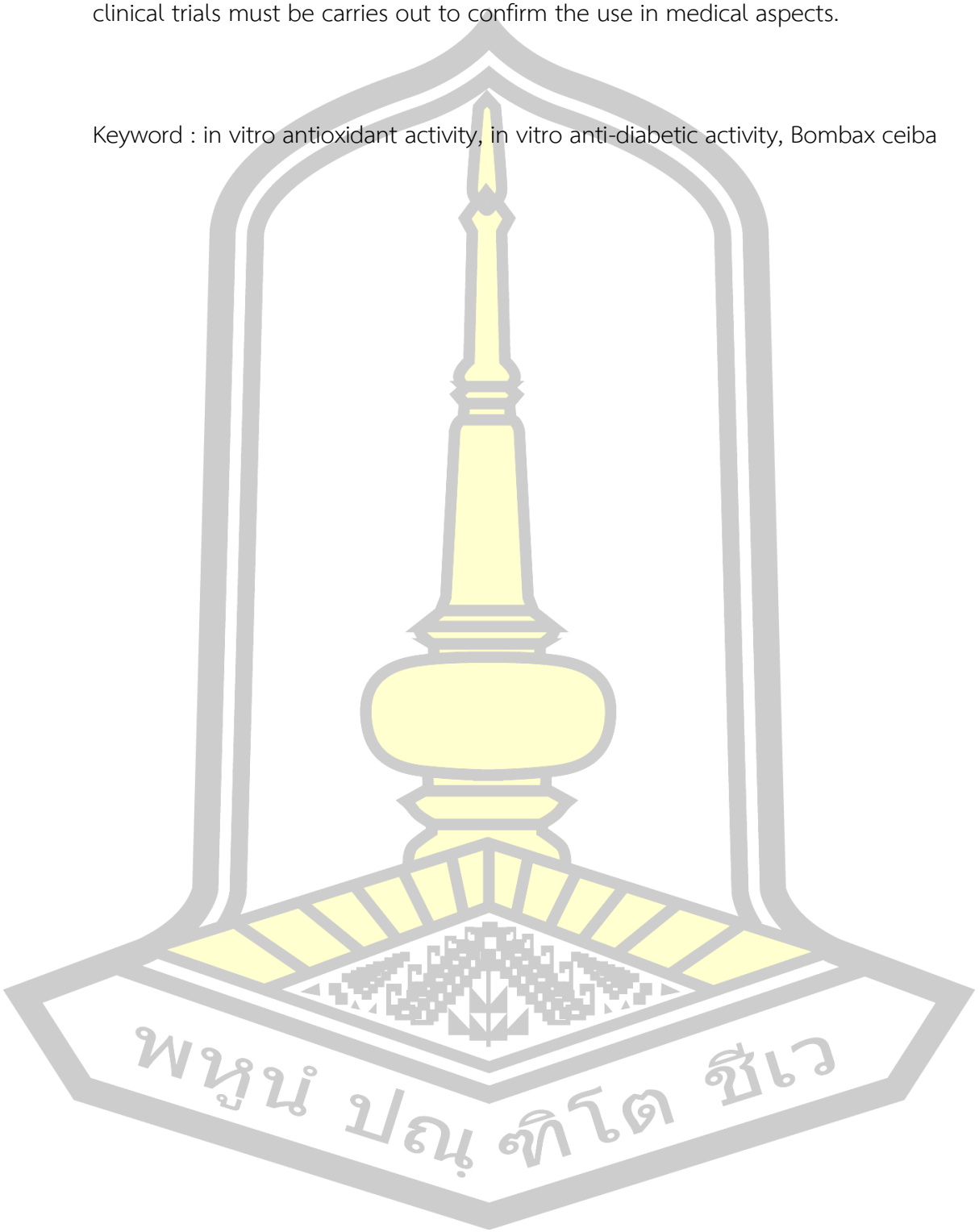
UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2020

ABSTRACT

Bombax ceiba is belonging to the family Bombacaceae. Dried stamen of this plant are used as vegetable and food ingredients for people in northern of Thailand. There are very few reports on the biological activities in this plant, especially the flower parts. The present study aimed to investigate *in vitro* antioxidant and anti-diabetic activities of crude extracts from *B. ceiba*. The leaf flower and stem bark parts of *B. ceiba* were extracted by using different solvents including water, 50% ethanol and 95% ethanol. Total phenolic content and total flavonoid content were analyzed by colorimetric methods. DPPH radical scavenging assay, ABTS assay and FRAP assay were used to investigate the *in vitro* antioxidant and anti-diabetic activity of the extracts. For *in vitro* anti-diabetic activities, alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitory effects were tested. The highest total phenolic content and total flavonoid content were found in 95% ethanol stem bark extract (8.05±0.29 mgGAE/g and 130.09±6.38 mgQE/g, respectively.). However the highest antioxidant activity (DPPH) was found in 95% ethanol stem bark extract and leaf extract (0.012±0.000 and 0.012±0.000 mg/ml, respectively.) ABTS assay was found in 95% ethanol stem bark extract (0.001±0.000 mg/ml) and FRAP assay was found 95% ethanol flower extract (349.272 ± 35.163 mgTE/g). The highest alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitory activity were found in 95% ethanol flower extract (0.0013±0.0012 and 0.0002±0.0001 mg/mL, respectively). The crude extracts from *B. ceiba* showed the potent in vitro antioxidant and anti-diabetic activities, especially the flower extracts. This findings confirm the ethno-botanical uses of *B. ceiba* as food and medicinal plants. The further

studies on biological and pharmacological activities of this plant in animal model and clinical trials must be carries out to confirm the use in medical aspects.

Keyword : in vitro antioxidant activity, in vitro anti-diabetic activity, Bombax ceiba



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณได้ด้วย โครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) ที่ให้ทุนการศึกษาและได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2563 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม รวมทั้งขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ด้านการสนับสนุนวัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี สำหรับใช้ในการวิจัย

ความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรพร กทิศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือ และคำแนะนำตลอดการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บังอร แถวโนนงิ้ว ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุธิรา มณีฉาย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาวิตรี วงศ์ตั้งถิ่นฐาน ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่อง

ความรู้ คุณค่าต่างๆ ที่ได้จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณ บิดามารดา ผู้มีอุปการะคุณทุกท่าน เพื่อนร่วมห้อง และเพื่อนร่วมห้องปฏิบัติการ ตลอดจนบูรพาจารย์ผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ดูแลเอาใจใส่และวางรากฐานการศึกษา แก่ผู้วิจัยตั้งแต่เยาว์วัยจนถึงปัจจุบัน

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจ หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขาดตกบกพร่อง หรือไม่สมบูรณ์ประการใด ผู้วิจัยขออภัยมา ณ ที่นี้

นุรารัตน์ กรีอินทอง

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 3

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวคิดของการวิจัย 4

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ 4

1.6 ระยะเวลาของการวิจัย 8

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 9

บทที่ 2 ปริทัศน์เอกสารข้อมูล 10

2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 10

2.2 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) 17

2.3 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds) 19

2.4 โรคเบาหวาน 19

2.5 สารสำคัญในพืชสมุนไพร 27

2.6 การสกัดสารจากสมุนไพร 30

2.7 ข้อมูลทั่วไปของงิ้วป่าดอกแดง 33
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 37
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 43
3.1 ตัวอย่างพืช 43
3.2 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากงิ้วป่าดอกแดง 43
3.3 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี 44
3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 46
3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านเบาหวาน 50
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 53
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปราย 54
4.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 54
4.2 ปริมาณสารสกัดแห้งจากงิ้วป่าดอกแดง 55
4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 56
4.4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 56
4.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 57
4.6 ฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 59
บทที่ 5 บทสรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ 62
5.1 บทสรุป 62
5.2 อภิปรายผลการทดลอง 63
5.3 ข้อเสนอแนะ 66
บรรณานุกรม 67
ภาคผนวก 75
ภาคผนวก ก วิธีการสกัดสาร 76
ภาคผนวก ข ผลการทดลองและผลการวิเคราะห์ทางสถิติ 83

ประวัติผู้เขียน..... 99

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ระยะเวลาของการวิจัยเดือนเมษายน-เดือนธันวาคม พ.ศ.2562 8

ตาราง 2 ระยะเวลาของการวิจัยเดือนมกราคม-เดือนกรกฎาคม พ.ศ.2563 9

ตาราง 3 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (Bombax ceiba) 55

ตาราง 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (Bombax ceiba) 57

ตาราง 5 ผลการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (Bombax ceiba) 59

ตาราง 6 ผลการหาฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (Bombax ceiba) 60

ตาราง 7 วิเคราะห์ความแตกต่างของผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) 85

ตาราง 8 วิเคราะห์ความแตกต่างของผลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) 87

ตาราง 9 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) 89

ตาราง 10 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTS ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) 92

ตาราง 11 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี FRAP ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) 94

ตาราง 12 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านเบาหวานวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) 96

ตาราง 13 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านเบาหวานวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) 98

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก 18
ภาพประกอบ 2 โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟลาโวนอยด์ 19
ภาพประกอบ 3 งิ้วป่าดอกแดง (A=ต้น, B=เปลือกต้น, C=ใบ, D=ดอก) 34
ภาพประกอบ 4 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 45
ภาพประกอบ 5 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ 46
ภาพประกอบ 6 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 47
ภาพประกอบ 7 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS 48
ภาพประกอบ 8 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP 49
ภาพประกอบ 9 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส 51
ภาพประกอบ 10 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 53
ภาพประกอบ 11 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 54
ภาพประกอบ 12 การเตรียมตัวอย่าง 77
ภาพประกอบ 13 การเตรียมตัวอย่าง 77
ภาพประกอบ 14 การเตรียมตัวอย่าง 78
ภาพประกอบ 15 การสกัดสารด้วยน้ำกลั่น 78
ภาพประกอบ 16 การสกัดสารด้วยน้ำกลั่น 79
ภาพประกอบ 17 การสกัดสารด้วยน้ำกลั่น 79
ภาพประกอบ 18 การสกัดสารด้วยน้ำกลั่น 80
ภาพประกอบ 19 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95% 80
ภาพประกอบ 20 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95% 81
ภาพประกอบ 21 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95% 81

ภาพประกอบ 22 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95% 82
ภาพประกอบ 23 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95% 82
ภาพประกอบ 24 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงต่อความเข้มข้นของกรดแกลลิก 84
ภาพประกอบ 25 กราฟแสดงผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง..... 84
ภาพประกอบ 26 การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 85
ภาพประกอบ 27 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงต่อความเข้มข้นของสารเคอร์ซิติน 86
ภาพประกอบ 28 กราฟแสดงผลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง . 86
ภาพประกอบ 29 การทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 87
ภาพประกอบ 30 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของโทรลอกซ์ 88
ภาพประกอบ 31 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก 88
ภาพประกอบ 32 กราฟแสดงผลการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง... 89
ภาพประกอบ 33 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH ของสารสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง 90
ภาพประกอบ 34 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของโทรลอกซ์ 90
ภาพประกอบ 35 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก 91
ภาพประกอบ 36 กราฟแสดงผลการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง.... 91
ภาพประกอบ 37 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTS ของสารสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง..... 92
ภาพประกอบ 38 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงต่อความเข้มข้นของโทรลอกซ์..... 93
ภาพประกอบ 39 กราฟแสดงผลการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง.... 93
ภาพประกอบ 40 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี FRAP ของสารสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง..... 94
ภาพประกอบ 41 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของอะคาร์โบส 95
ภาพประกอบ 42 กราฟแสดงผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส 95
ภาพประกอบ 43 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส 96
ภาพประกอบ 44 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของอะคาร์โบส 97
ภาพประกอบ 45 กราฟแสดงผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 97

ภาพประกอบ 46 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส..... 98

บทที่ 1
บทนำ

บทที่ 1 บ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ร่างกายของมนุษย์เมื่อเจอกับมลภาวะต่างๆ เช่น แสงแดด ควันบุหรี่ มลพิษทางอากาศ ยาฆ่าแมลง เป็นต้น สิ่งเหล่านี้จะเป็นตัวกระตุ้นให้ร่างกายผลิตสารอนุมูลอิสระ (free radicals) ซึ่งสารอนุมูลอิสระ เป็นสารที่ไม่เสถียรสามารถเข้าทำปฏิกิริยาลูกโซ่กับโมเลกุลข้างเคียงก่อเกิดเป็นอนุมูลอิสระไปเรื่อยๆ หากมีสารอนุมูลอิสระในร่างกายมากเกินไปจะทำให้ร่างกายเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ก่อเกิดโรคหรือภาวะแทรกซ้อนได้ เช่น โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง การอักเสบ อัลไซเมอร์ พาร์กินสัน โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน[3] อย่างไรก็ตามร่างกายสามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มาทำลายสารอนุมูลอิสระได้ แต่หากเกิดความผิดปกติในร่างกายจึงจำเป็นต้องมีการรับสารต้านอนุมูลอิสระเข้ามาเพิ่มเติมจากการสร้างของร่างกายเพื่อให้เพียงพอต่อการกำจัดอนุมูลอิสระ ซึ่งถ้าหากสารต้านอนุมูลอิสระไม่มากพอในการกำจัดอนุมูลอิสระแล้ว ก็จะก่อให้เกิดโรคแทรกซ้อนดังกล่าว ในปัจจุบันองค์กรอนามัยโลกได้มีการสำรวจพบ ผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นจำนวนกว่า 422 ล้านคน[1] โดยมีสาเหตุหนึ่งมาจาก การใช้ยาบางชนิด เช่น ยาคุมกำเนิด ยาสเตียรอยด์ ยาขับปัสสาวะ หรือมีสาเหตุมาจากการดื่มสุราก่อให้เกิดโรคพิษสุราเรื้อรัง หรืออาการตับอ่อนอักเสบ รวมทั้งพันธุกรรม[2] ทั้งนี้โรคเบาหวานเป็นโรคหนึ่งที่เกิดจากร่างกายมีสารอนุมูลอิสระจำนวนมากจนทำให้ร่างกายมีภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งโรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นภาวะที่ร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลที่ได้จากการรับประทานอาหารไปใช้ให้เกิดพลังงานได้อย่างเต็มที่ เกิดจากความผิดปกติของการทำงานของฮอร์โมนอินซูลินซึ่งผลิตจากตับอ่อน[4] ส่งผลให้เกิดความผิดปกติในระบบเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน ทำให้อวัยวะต่าง ๆ เกิดความเสียหายและเกิดการสูญเสียหน้าที่ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด[2] คือ 1) กลไกหลักของการเกิดเบาหวานชนิดที่ 1 การที่ร่างกายเกิดภาวะขาดอินซูลิน (Insulin deficiency) ซึ่งเกิดเนื่องจาก beta-cell ที่ Islets of Langerhans ของตับอ่อนถูกทำลายโดยขบวนการทางภูมิคุ้มกัน (Immune) พบในเด็กหรือวัยรุ่นมากกว่าวัยผู้ใหญ่ 2) กลไกการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีความผิดปกติของทั้งการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน (Insulin secretory defect) และการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน (Insulin resistance) ซึ่งโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นอีก 1 ประเภทของโรคเบาหวานที่ทำให้คนเสียชีวิตมากเป็นอันดับที่ 4 หรือ 5 ของโลก ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในปี พ.ศ. 2573[5,6] หลังจากมีการค้นพบว่า ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นซึ่งโรคเบาหวานหากขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโรคอาจจะทำให้การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ดี โดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มระดับน้ำตาลในเลือดหลังอาหาร ได้แก่ เอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสหรือมอลเทส

จากลำไส้เล็ก และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อน การยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะ-ไมเลส จะช่วยลดการย่อยคาร์โบไฮเดรตและสามารถลดการดูดซึมน้ำตาลหลังรับประทานอาหารทำให้น้ำตาลในเลือดลดลง[7] สำหรับยาที่ช่วยรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 จัดเป็นยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสซึ่งช่วยลดการดูดซึมกลูโคสจากลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือดตัวอย่างยาที่ใช้ทั่วไปและมีประสิทธิภาพมาก คือ อะคาร์โบส (acarbose) ยาดังกล่าวมีราคาค่อนข้างสูงและมีผลต่อการทำงานของไตและส่งผลต่อเอนไซม์ในร่างกาย เช่น เอนไซม์ Transaminases ซึ่งทำให้ตับเกิดความเสียหายหากใช้ยาเป็นเวลานาน ดังนั้นปัจจุบันจึงนิยมใช้พืชเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาซึ่งสามารถช่วยลดการเกิดโรคเบาหวานได้และมีผลข้างเคียงน้อยหรือแทบจะไม่มี โดยเฉพาะพืชในเขตร้อนชื้นบางชนิดมีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคในมนุษย์ได้[8] เช่น สะเดา แคนา งิ้วป่าดอกแดง กวาวเครือ เป็นต้น

งิ้วป่าดอกแดง อยู่ในวงศ์ Bombacaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Bombax ceiba* Linn. สามารถพบได้ทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตามป่าเต็งรัง และป่าผลัดใบ หรือสามารถพบได้ในประเทศเขตร้อน ลักษณะเฉพาะคือลำต้นมีหนามแหลม ก้านชูเกสรตัวผู้เชื่อมติดกัน (polyadelphous) ดอกสีแสดแดง สีส้ม สีเหลือง รากเป็นลักษณะรากค้ำจุน ใบมีรูปร่างคล้ายนิ้วมือมี 5 แฉก ฝักอ่อนจะมีสีเขียวเมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและฝักจะแตกออก ภายในบรรจุปุยนุ่นสีขาวนิยมนำมาใช้กับของเครื่องใช้ ซึ่งประเทศจีนและธิเบต ใช้ในทางการแพทย์ เช่น การรักษาแผล การฟื้นฟูเนื้อเยื่อและกระดูก ควบคุมการขับถ่าย แก้ท้องเสีย ยากระตุ้นกำหนัด ช่วยสมานแผล รักษานิ่วในไต เป็นต้น[9] โดยในงิ้วป่าดอกแดงมีสารเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่สำคัญจำพวก สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เช่น สาร Lupeol (ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ)[10] สาร Apigenin (สารต้านมะเร็ง ยาคลายกล้ามเนื้อ ลดความดันโลหิต สาร Quercetin (มีฤทธิ์เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemic) สารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการอักเสบและการติดเชื้อแบคทีเรีย) สาร Kaempferol มีฤทธิ์ยาสลายของลิ่มเลือด ฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งผิวหนังและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ที่มีฤทธิ์เช่นเดียวกับ acarbose ต่อการต้านโรคเบาหวาน สาร Cosmetin (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ) สาร Mangiferin มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemic) ฤทธิ์ลดไขมันในกระแสเลือด (hypolipidemic) ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HIV ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นยาแก้ปวด ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น[11]

ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงสนใจศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมีจากการหาปริมาณสารฟีนอลิก-รวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และFRAP รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวานจากการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในหลอดทดลองของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba* โดยหวังว่าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 รวมทั้งลด

โอกาสการเกิดโรคแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากปริมาณน้ำตาลในเลือดสูงของผู้ป่วยได้ ซึ่งองค์ความรู้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์ รวมทั้งอาจนำพืชชนิดนี้ไปใช้เป็นอาหารเสริม หรือยาสำหรับผู้ป่วยเบาหวานในอนาคตต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

2. เพื่อศึกษาหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. Ceiba*) ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. พืชที่ใช้วิจัยสำหรับการวิจัยครั้งนี้ คือ งิ้วป่าดอกแดง จากตำบลไผ่รอบ อำเภอโพธิ์-ประทับช้าง จังหวัดพิจิตร

2. ศึกษาหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม

3. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ได้แก่ DPPH ABTS และ FRAP ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ได้แก่ ใบ ดอก และเปลือกต้น ที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล 50% และเอทานอล 95%

4. ศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวาน ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล 50% และเอทานอล 95%

ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรต้น ได้แก่ สารสกัดงิ้วป่าดอกแดง ได้แก่ ใบ ดอก และเปลือกต้น

ตัวแปรตาม ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ได้แก่ Total phenolic content (TPC) Total flavonoid content (TFC) DPPH ABTS และFRAP จากสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) และฤทธิ์ยับยั้งยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและปริมาณสารฟีนอลิก-รวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม

ตัวแปรควบคุม ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณสารสกัดจากงิ้วป่าดอกแดง สารมาตรฐานสารเคมี

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการชีววิทยา SC1-309 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวคิดของการวิจัย

1. สารสกัดงิ้วป่าดอกแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2. สารสกัดงิ้วป่าดอกแดงมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม

3.สารสกัดงิ้วป่าดอกแดงมีฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง การนำสารสกัดจากงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) มายับยั้งอนุมูลอิสระ (free radical) (อะตอมหรือโมเลกุลที่มี unpaired electron อย่างน้อย 1 electron เกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก) ด้วย 3 วิธี ได้แก่ วิธี DPPH วิธี ABTS และวิธี FRAP

2. ฤทธิ์ยับยั้งยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส หมายถึง การนำสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ใช้เป็นยากลุ่มหนึ่งที่ใช้รักษาโรคเบาหวานประเภทที่ 2 (เสมือนยาอะคาร์โบส ซึ่งเป็นยาลดน้ำตาลในกระแสเลือดให้ต่ำลง) โดยจะใช้กลไกป้องกันมิให้ร่างกายย่อยคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่และน้ำตาลเดี่ยว (น้ำตาลชนิดสัมพันธ์กับโรคเบาหวาน)

1.6 ระยะเวลาของการวิจัย

ตาราง 1 ระยะเวลาของการวิจัยเดือนเมษายน-เดือนธันวาคม พ.ศ.2562

ขั้นตอนการดำเนินการ	พ.ศ.2562								
	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.
1.การศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	↔								
2.เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร		↔							
3.เตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร			↔						
4.ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ได้แก่ DPPH ,ABTS และ FRAP หาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโว-นอยด์รวมของสารสกัดจากงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล 50%และเอทานอล 95%				↔	↔				
5.ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล 50% และเอทานอล 95%						↔	↔	↔	↔

1.6 ระยะเวลาของการวิจัย

ตาราง 2 ระยะเวลาของการวิจัยเดือนมกราคม-เดือนกรกฎาคม พ.ศ.2563

ขั้นตอนการดำเนินการ	พ.ศ.2563						
	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.
6.วิเคราะห์ผลการทดลอง	←	—	→				
7.สรุปผลและอภิปรายผลการทดลอง				←	—	→	
8.รายงานผล						←	— →

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*)

2. ทราบปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*)

3. ทราบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*)

พหุน ปณฺฑิโต ชีเว

บทที่ 2
ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.1.1 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ เป็นสารหรืออนุภาคที่ไม่มีความเสถียรสามารถเข้าทำปฏิกิริยาลูกโซ่กับโมเลกุลข้างเคียงก่อเกิดเป็นอนุมูลอิสระไปเรื่อยๆ เช่น โมเลกุลของไขมัน โปรตีน หรือ สารพันธุกรรม หากมีอนุมูลอิสระในร่างกายมากเกินไปจะทำให้ร่างกายเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ก่อเกิดโรคหรือภาวะแทรกซ้อนได้ เช่น โรคมะเร็ง การอักเสบ อัลไซเมอร์ พาร์กินสัน โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน ทั้งนี้อนุมูลอิสระมีสาเหตุมาจาก 2 ปัจจัย คือ 1.ปัจจัยภายในร่างกาย โดยเป็นผลมาจากกระบวนการเผาผลาญพลังงานระดับเซลล์ของร่างกาย กระบวนการหายใจระดับเซลล์ หรือกระบวนการย่อยอาหาร เป็นต้น 2. ปัจจัยภายนอกร่างกายโดยเป็นผลมาจาก การเผชิญรังสี เช่นรังสี UV รังสีแกรมม่า คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า การรับควันบุหรี่เข้าร่างกาย มลพิษจากสิ่งแวดล้อมภายนอก การรับประทานอาหารปิ้งย่างที่ไหม้เกรียม สารเคมีจากอุตสาหกรรม ยารักษาโรคบางชนิด หรือยาฆ่าแมลง เป็นต้น อนุมูลอิสระแบ่งออกเป็น
3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่

กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) ส่วนใหญ่เกิดในไมโทคอนเดรีย เยื่อหุ้มเซลล์และทำให้เกิดโรคเบาหวาน[27]

กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) ส่วนใหญ่เกิดในระบบประสาท หลอดเลือด[27]

กลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) ส่วนใหญ่เกิดที่เยื่อหุ้มเซลล์[2]

2.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

เป็นโมเลกุลของสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชันซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมีเกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังสารออกซิไดซ์ ปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตามมาด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ทำให้เกิดกลิ่นหรือรสชาติผิดปกติและอาจเกิดสารอันตรายต่อร่างกาย ดังนั้น สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปยับยั้งปฏิกิริยาด้วยการเข้าจับกับอนุมูลอิสระจึงทำให้สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้และยังมีความสำคัญต่อการป้องกันที่เกิดจากความเสียหายของเซลล์ต่างๆที่เกิดจากการออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระอันเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคและความชรา[12]

2.1.3 ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระ

2.1.3.1 จำแนกตามโครงสร้างของการต้านการเกิดออกซิเดชัน มี 5 ประเภท[13]

1) สารต้านอนุมูลอิสระทั่วไป (general antioxdant) มีบทบาทสำคัญในการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วกลายเป็นสารประกอบที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยาซึ่งปฏิกิริยานี้จะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเปอร์ออกซีและแอลคอกซี ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบเปอร์-ออกไซด์ เช่น กลไกของกิจกรรมอนุมูลอิสระของสารพอลิฟีนอล

2) สารช่วยให้สารประกอบเปอร์ออกไซด์มีความคงตัว (peroxide stabilizer) มีบทบาทในการป้องกันหรือยับยั้งการสลายตัวของสารประกอบเปอร์ออกไซด์ไปเป็นอนุมูลอิสระ เช่น กลไกของกิจกรรมอนุมูลอิสระของสารพอลิฟีนอล

3) สารเสริมฤทธิ์ (synergid) เป็นสารที่ไม่มีการต้านอนุมูลอิสระและมีบทบาทที่สำคัญในการส่งเสริมสารอนุมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น กลไกของกิจกรรมอนุมูลอิสระของกรดซิตริก กรดแอสคอร์บิก

4) สารคีเลตหรือสารจับโลหะ เป็นสารที่ทำหน้าที่ในการจับโลหะที่เป็นตัวกระตุ้นให้สารประกอบเปอร์ออกไซด์สลายตัวและเป็นอนุมูลอิสระโดยเมื่อสารคีเลตจับกับโลหะจะเกิดเป็นสารประกอบที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยาทำให้โลหะไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาต่อได้ เช่น กลไกของกิจกรรมอนุมูลอิสระของกรดฟอสฟอริก กรดซิตริก สารประกอบที่เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด

5) สารจับออกซิเจนซิงเกลตหรือสารจับออกซิเจนเดี่ยว มีบทบาทในการเปลี่ยนออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (single oxygen) ซึ่งอยู่ในสถานะถูกกระตุ้นไปเป็น ออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว 2 ตัว (triplet oxygen) ที่อยู่ในสถานะพื้นที่มีความเสถียร เช่น กลไกของกิจกรรมอนุมูลอิสระของแคโรทีนอยด์

2.1.3.2 จำแนกตามกลไกของการต้านการเกิดออกซิเดชัน มี 2 ประเภท

1) สารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิ (Primary antioxidant) เป็นสารที่ทำหน้าที่ชะลอหรือยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในขั้นเริ่มต้นหรือป้องกันการเกิดออกซิเดชัน โดยในขั้นเริ่มต้นไฮโดรเจนอะตอมจะหลุดออกจากกรดไขมันชนิดอิ่มตัวกลายเป็นอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 1

$$RH \longrightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet} \quad \text{.....[1]}$$

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี ($ROO^{\bullet}$) ในขั้นต่อเนื่อง ดังสมการที่ 2

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} \quad \text{.....[2]}$$

จากนั้นอนุมูลอิสระของเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันอื่นเกิดเป็นสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์และสารอนุมูลอิสระขึ้นซึ่งสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้จะเกิดเป็นอนุมูลอิสระทั้งยังสามารถกระตุ้นการเกิดออกซิเดชันได้ต่อเนื่อง ดังสมการที่ 3

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet} \quad \text{.....[3]}$$

สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะไม่คงตัวและสามารถเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระที่สามารถชักนำให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องได้

$$ROOH \longrightarrow RO^{\bullet} + OH^{\bullet} \quad \text{.....[4]}$$

$$RO + RH \longrightarrow ROH + R^{\bullet} \quad \text{.....[5]}$$

หน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิ คือ จะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วกลายเป็นสารที่ไร้อนุมูลทำให้เกิดความเสถียรมากขึ้น โดยการให้อะตอมของไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระก็จะกลายเป็นสารอนุมูลอิสระเอง ($A^{\bullet}$) ที่มีความเสถียรมากกว่าและไม่เกิดการออกซิเดชัน ดังสมการที่ 6 – 8

$$ROO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\bullet} \quad \text{.....[6]}$$

$$RO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROH + A^{\bullet} \quad \text{.....[7]}$$

$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet} \quad \text{.....[8]}$$

อนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมักจะเฉื่อยต่อปฏิกิริยา เพราะสารต้านอนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่ขาดความเสถียรเกิดการเรโซแนนซ์ (resonance) ภายในวงของฟีนอล เกิดโครงสร้างที่ไม่เสถียร อาจเกิดการยับยั้งหรือเกิดขึ้นได้ช้าปฏิกิริยาต่อเนื่อง นอกจากนี้อนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารประกอบเปอร์ออกซี (สมการที่ 9) ออกซี (สมการที่ 10) และอนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น (สมการที่ 11) เกิดโครงสร้าง dimer และให้ปฏิกิริยาสิ้นสุดลง

$$ROO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROOA \quad \text{.....[9]}$$

$$RO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROA \quad \text{.....[10]}$$

$$A^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow AA \quad \text{.....[11]}$$

นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิแบบสังเคราะห์ที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ TBHQ, Propylglalet, BHA, BHT และสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากอาหาร ได้แก่ vitamin C, Tocopherol, Carotenoid เป็นต้น

2) สารต้านอนุมูลอิสระขั้นทุติยภูมิ (Secondary antioxidant) มีอัตราการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันค่อนข้างช้าและมีกลไกการยับยั้งหลายขั้นตอน แต่กลับไม่สามารถเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้กลับเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรได้ นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ยังสามารถจับกับโลหะโดยให้อิเล็กตรอนจับกับสารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิ ทำหน้าที่เป็นสารเสริมฤทธิ์ หรือการสลายสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรและออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (single oxygen) สารต้านอนุมูลอิสระขั้นทุติยภูมิที่สำคัญ เช่น tartaric acid, carotenoid, citric acid, ascorbyl palmitate, lecitin เป็นต้น

2.1.3.3 จำแนกตามแหล่งที่มา มี 2 ประเภท

1) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxdant) คือ สารสังเคราะห์ที่เติมลงในอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในอาหาร เช่น BHA, EDTA

2) สารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ (natural antioxdant) คือ สารธรรมชาติ จากพืช สัตว์หรือจุลินทรีย์ มีความสามารถในการต้านหรือชะลอการเกิดออกซิเดชัน เช่น สารประกอบ phenolic,flavonoid, astraxanthrin, eugenol, vitamin A, vitamin E, citric acid, anthocyanin และselenium เป็นต้น

2.1.4 เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระในอาหารที่มีการนำมาใช้ในปัจจุบัน มีทั้งสารที่ได้จากธรรมชาติและสารสังเคราะห์ ได้แก่[14,15]

2.1.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์

1) เอนไซม์ซูเปอร์ร็อกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD)

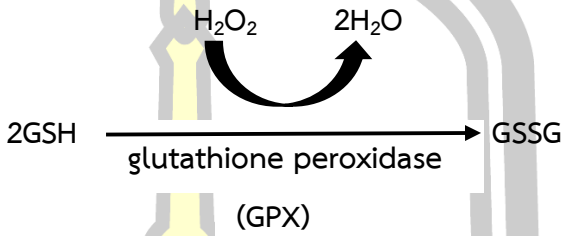
ทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่เกิดขึ้นในร่างกาย คือ ซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิ-ออน(O_2^-) โดยเปลี่ยนอนุมูล O_2^- ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังสมการ

$$2O_2^{\bullet -} + 2^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

2) สารคีเลตโลหะทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นน้ำและออกซิเจน ดังสมการ

$$H_2O_2 + 2H^+ \xrightarrow{CAT} H_2O + O_2$$

3) เอนไซม์ glutathione peroxidase(GPX) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้แก่ ลิปิดเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยที่กลูตาไธโอนร่วมในปฏิกิริยา เอนไซม์ชนิดนี้ช่วยป้องกันเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่ให้ถูกทำลายหรือเสียหายจากภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไป



2.1.4.2. สารคีเลทโลหะ

สารที่ทำหน้าที่คีเลตโลหะในร่างกาย ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่จับและแยกโลหะที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนการเกิด $OH^{\bullet}$ เข้ามารวมไว้ในโครงสร้างให้อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน โลหะจึงไม่สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระได้โปรตีนที่จับกับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะในร่างกาย เช่น transferrin ferritin lactoferrin ceruloplasmin hemopexin haptoglobin และอัลบูมิน เป็นต้น

2.1.4.3 สารต้านอนุมูลอิสระจากอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์

1) วิตามินซี ช่วยปกป้องไมโตคอนเดรียต่อการเกิดออกซิเดชัน เนื่องจากวิตามินซีละลายได้ในน้ำจึงลอยอยู่ในน้ำภายในเซลล์ ทำให้อนุมูลอิสระเป็นกลาง ก่อนที่มันจะไปถึงผนังของไมโตคอนเดรีย นอกจากนี้วิตามินซียังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นคือวิตามินอีและเบต้าแคโรทีน

2) วิตามินอีหรือTrolox วิตามินอีไม่ใช่สารเดี่ยวแต่เป็นกลุ่มสาร ซึ่งจำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ tocopherol และtocotrienol วิตามินอี ตัวที่สำคัญและมีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ d-alpha tocopherol

3) กลูตาไธโอน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสามารถผลิตขึ้นมาได้เองโดยสร้างที่ตับจากกรดอะมิโน 3 ตัวคือ ซีสเตอิน กรดกลูตามิค และไกลซีน กลูตาไธโอนเป็นองค์ประกอบหลักในการทำให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในไขมันเป็นกลางโดยทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์ glutathione - peroxidase glutathionereductase กำจัดอนุมูลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และอนุมูลไฮดรอกซิลเปลี่ยนเป็นน้ำ

4) เคอร์เซติน เป็นฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง พบในกระเทียม หอม พริกหยวกและชาเขียว มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระและป้องกันอนุมูลอิสระจากการเกิดออกซิเดชันของ LDL ซึ่งเป็นสาเหตุ

ของการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว กลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลมี 3 กลไก ได้แก่ กลุ่มทำหน้าที่ regenerate วิตามินอี โดยจะรีดิวซ์อนุมูล alpha-tocopheral กลับเป็น alpha-tocopherol เหมือนเดิม เพื่อให้สามารถทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระต่อไปได้

5) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ กลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลมี 3 กลไก ได้แก่ เป็นสารคีเลตหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ในการกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น lipid alkoxy และ peroxyredicals เป็นต้น โดยทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลเหล่านั้น หลังจากที่ฟลาโวนอยด์ถูกออกซิไดซ์แล้วจะได้อนุมูลของฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิลเป็นผลผลิตซึ่งมีความเสถียรมากกว่า เนื่องจากมีการ delocalize ของอิเล็กตรอนตลอดเวลา

2.1.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย การวัดความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระหรือต้านออกซิเดชัน (total anti-oxidation capacity, TAC) เป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ มีวิธีที่นิยมได้แก่ DPPH assay ABTS assay และ FRAP assay[15]

วิธีการข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสงการคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดกับสารมาตรฐาน เช่น trolox, vitamin C, ferrous sulfate, quercitin และgallic เป็นต้น

การรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต่างๆ นิยมรายงานในรูปความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (50 % of inhibitory concentration) หรือเรียกว่า IC_{50} โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง แสดงหน่วยได้หลากหลายได้แก่ mM, µM, mg/ml, µg/ml เป็นต้น

2.1.5.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay

DPPH หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl มีสภาวะเป็นอนุมูลอิสระ (DPPH) ที่มีความคงตัว โดยสภาพธรรมชาติ เมื่อ DPPH อยู่ในรูปสารละลายในเอทานอลจะมีสีม่วง และเมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สารละลาย DPPH สีจางลงบันทึกผลค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณหาค่าร้อยละความสามารถต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = (A - B) / A \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม (สารทั้งหมดยกเว้นสารสกัด)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด

คำนวณหาค่า IC_{50} จากกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความสามารถต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) กับสารสกัดในแต่ละความเข้มข้นโดยใช้สมการเส้นตรง Y=aX+B

ข้อดี คือ ง่าย ไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกัน

ข้อด้อย คือ อนุมูล DPPH มีความคงตัว ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือในร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้โครงสร้างทางเคมีของอนุมูล DPPH นั้นอิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วงและหมู่ไนโตรเจน ทำให้สารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางสารไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากำจัดอนุมูลอิสระได้หรือเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าความเป็นจริง

2.1.5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay

ABTS radical cationdecolorizationassay เป็นวิธีการตรวจสอบความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$(2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น734 นาโนเมตร $ABTS^{\bullet+}$+ AH (antioxidant) ABTS (สีจางลง) + $A^{\bullet}$ เมื่อตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาจึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งวิธีการคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน trolox ทำเช่นเดียวกับวิธี DPPH

ข้อดี ของวิธีการนี้คือ$ABTS^{\bullet+}$ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วและทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง

ข้อด้อย คือ $ABTS^{\bullet+}$ไม่ใช่สารที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

2.1.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย FRAP assay

FRAP assay หรือ Ferric reducing antioxidant power เป็นวิธีหนึ่งโดยการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือเมื่อการให้หรือรับอิเล็กตรอนจากสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyltriazine) จากนั้นเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน วิธี FRAP สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสง 595 นาโนเมตร จากนั้นทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน

ข้อดีของวิธีนี้คือ มีขั้นตอนในการทดลองซับซ้อน ต้นทุนไม่มาก มีความรวดเร็วและสะดวก[16]

2.1.6 อนุมูลอิสระกับโรคเบาหวาน

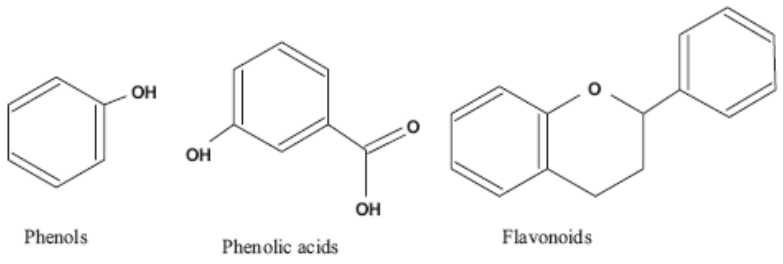
ในผู้ป่วยโรคเบาหวานจะมีภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งเป็นความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและการป้องกันด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ภาวะเครียดออกซิเดชันมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดโรคไตวายในผู้ป่วยด้วยโรคนี้ แต่กลไกการส่งสัญญาณภายในเซลล์และระหว่างเซลล์โดยอนุมูลอิสระยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด การมีระดับกลูโคสสูงจะกระตุ้นให้มีการสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นผ่านทางเมตาบอลิซึมของกลูโคสและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อนุมูลอิสระสามารถก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานต่อระบบประสาทสามารถพบแนวทางการรักษาหรือป้องกันเพื่อไม่ให้เกิดความผิดปกตินี้มากขึ้นทำได้ยาก นอกจากนี้ภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานต่อจอภาพของตาสามารถป้องกันได้โดย การรักษาระดับน้ำตาลให้อยู่ในเกณฑ์ปกติไม่สูงเกินไปควบคุมความดันไม่ให้สูงและควบคุมระดับไขมันในเลือดให้อยู่ในระดับปกติ นอกจากนี้การรักษาโดยให้สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านการกระตุ้นโปรตีนไคเนส จากการที่มีระดับกลูโคสสูงก็สามารถช่วยชะลอการเกิดภาวะแทรกซ้อนที่จอภาพของตา รวมทั้งในผู้ป่วยโรคเบาหวานยังมีการทำลายที่เกิดจากการมีระดับน้ำตาลกลูโคสสูงผ่านการสร้างอนุมูลอิสระทำให้เกิดผลเสียหายของการส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพและภาวะแทรกซ้อนของโรคนี้ การที่โรคเบาหวานสามารถเพิ่มการผลิตอนุมูลอิสระผ่านทางกลไกต่างๆ เช่น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำตาลกลูโคส การกระตุ้นผ่านทางวิถีโพลีออล การกระตุ้นเอนไซม์ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase หลักการผลิตสาร AGEs (advance glycation adducts) การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดพยาธิสภาพของโรคเบาหวาน อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากเอนไซม์ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase ยั้งการทำงานของไนตริกออกไซด์ซึ่งมีผลในการทำให้หลอดเลือดขยายตัวและมีผลยับยั้งการขยายตัวของหลอดเลือดจะช่วยเร่งการเกิดหลอดเลือดตีบเพิ่มการผลิตอนุมูลอิสระในผู้ป่วยเบาหวานมีผลทำให้เกล็ดเลือดทำงานผิดปกติ การทำงานของเอนไซม์มีเท่าโปรตีนในการสร้างเนื้อเยื่อและการควบคุมรีดอกซ์ของการขนส่ง กลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อลาย นอกจากการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานและวิธีลดระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดแล้ว วิธีใหม่คือการให้สารต้านอนุมูลอิสระก็จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วย[17]

2.2 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

เป็นสารที่พบในธรรมชาติพบไดมากใน พืชผัก ผลไมชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวนแดง เปนตน มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกนี้จะเข้าไปยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่โดยการใช้โครงสารเข้าเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ

(free radicle) โดยทั่วไปมักพบอยู่ในพืชรวมอยู่กับน้ำตาลในรูปของสารประกอบ glycoside จะพบน้ำตาลกลูโคสในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดหรืออาจจะรวมกับกรดอินทรีย์ แอลคา-ลอยด์ เทอร์พีนอยด์ มีบทบาทสำคัญ เนื่องจากมีฤทธิ์ตานแบคทีเรีย ตานไวรัส ต่านการอักเสบ ตานการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมเปนสารตานการกอมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือด เปนตน ซึ่งคุณสมบัติดังกลาว มีความสัมพันธกับคุณสมบัติการเปนสารตานอนุมูลอิสระ

สารประกอบฟีนอลิกมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนเป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซินมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ไม่น้อยกว่า 1 วง ซึ่งโครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิกจะมีเพียงวงเบนซิน 1 วงและหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่



ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก

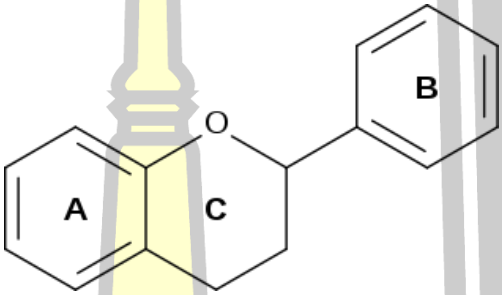
ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/phenolic-compound สืบค้นเมื่อวันที่ 16 สิงหาคม 2562

การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) มีหลักการคือ วัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล โดยไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกนั้นๆ ดังนั้น การวิเคราะห์ในรูปแบบนี้จึงไม่มีการระบุชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารสกัด โดยสารประกอบฟีนอลิกรวมจะทำปฏิกิริยากับสาร Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าว จะถูกรีดิวซ์โดยphenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเกิดเป็น phosphotungstic-phosphomolybdic complex ซึ่งมีสีน้ำเงินและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณหา total phenolic content จากกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) และคำนวณให้อยู่ในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักกรัมของสารสกัด (Gallic Acid Equivalent (GAE)/g dry extract)[15]

2.3 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds)

สารฟลาโวนอยด์มักพบทั่วไปในและมักเป็นสารที่ทำให้ดอกและผลมีสีสันสวยงาม เช่น สีเหลือง แดง ฟ้า ม่วง ซึ่งจัดเป็นสารสำคัญในกลุ่มโพลีฟีนอล มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นแบบวงแหวนวงอะโรมาติกและหมู่ไฮดรอกซิลไม่น้อยกว่า 2 หมู่ มีคุณสมบัติเป็นสารที่ละลายน้ำได้ มักรวมอยู่กับน้ำตาลในรูปของสารประกอบ glycoside[25]

สารฟลาโวนอยด์จัดเป็น nutracuetical มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่เหนี่ยวนำและเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นคือช่วยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่



ภาพประกอบ 2 โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟลาโวนอยด์

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Naringin

สืบค้นเมื่อวันที่ 16 สิงหาคม 2562

การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content) เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (Trolox equivalent antioxidant activity : TEAC) โดยการวัดค่าความเข้มข้นของสารละลาย Trolox ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับสารละลายทดสอบเข้มข้น 1mM ผลที่ได้บ่งบอกถึงความสามารถของสารในการเป็น hydrogen-donating ในการขจัดหรือยังยั้งอนุมูลอิสระ โดยถ้า TEAC มีค่าสูงแสดงว่าสารนั้นมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดี

2.4 โรคเบาหวาน

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นภาวะที่ร่างกายไม่สามารถนำโมเลกุลของน้ำตาลหลังกระบวนการย่อยอาหารมาใช้เป็นพลังงานให้กับร่างกาย ดังนั้นจึงทำให้ร่างกายมีปริมาณน้ำตาลในเลือดสูง เกิดจากความผิดปกติของการทำงานของฮอร์โมนอินซูลินซึ่งผลิตจากตับอ่อน[18] ส่งผลให้เกิดความผิดปกติในในเผาผลาญพลังงานของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน ทำให้อวัยวะต่าง ๆ เกิดความเสียหายและเกิดการสูญเสียหน้าที่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งดวงตา ไต ระบบประสาท หัวใจและหลอดเลือด[19] โรคเบาหวานมีสาเหตุจากความบกพร่องของฮอร์โมน “อินซูลิน” ที่ผลิตมาจากกลุ่ม

เนื้อเยื่อ “เบต้าเซลล์ของตับอ่อน” ซึ่งอาจเกิดจากการเสื่อมของตับอ่อนจึงสร้างอินซูลินได้น้อยหรือสร้างไม่ได้เลย ทำให้อินซูลินบกพร่องต่อหน้าที่ในการนำน้ำตาล เข้าสู่เซลล์ (glucose uptake) เมื่ออินซูลินในร่างกายไม่พอหรือมีพอแต่ประสิทธิภาพในการนำน้ำตาลเข้าเซลล์ลดลง น้ำตาลในเลือดมากทำให้ไตกรองออกมาในปัสสาวะ ทำให้ปัสสาวะมีน้ำตาลสูงและ ดึงเอาน้ำออกมาด้วย ทำให้มีการถ่ายปัสสาวะบ่อยๆ ส่งผลให้ร่างกายขาดน้ำ ผู้ป่วยจึงรู้สึกกระหายน้ำ ต้องดื่มน้ำบ่อยๆ อีกทั้งเนื่องจากผู้ป่วยไม่สามารถนำน้ำตาลมาเผาผลาญเป็นพลังงานได้ จึงต้องเผาผลาญโปรตีนจากกล้ามเนื้อและไขมันทดแทน ทำให้ร่างกายผู้ป่วยผอมไม่มีไขมัน กล้ามเนื้ออ่อนลีบอ่อนแรง นอกจากนี้การมีปริมาณน้ำตาลภายในอวัยวะต่างๆ ทำให้เกิดความผิดปกติ และนำมาซึ่งภาวะแทรกซ้อนมากมาย คนที่เป็นโรคเบาหวานจะสูญเสียประโยชน์จากการใช้กลูโคส ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญและหากไม่ได้รับการดูแลรักษาจะเป็นผลทำให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ตามมา คือ โรคไต โรคตา โรคปอด โรคหัวใจ เป็นลมหมดสติ และโรคที่มีอาการทางประสาท

2.4.1 กลไกการเกิดโรคเบาหวาน

2.4.1.1 สมาคมโรคเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกา (american diabetes association ; ADA) ได้แบ่งกลุ่มของโรคเบาหวาน ออกเป็น 2 ชนิดได้แก่ เบาหวานชนิดที่ 1 คือ ภาวะขาดอินซูลิน (insulin deficiency) และเบาหวานชนิดที่ 2 คือ ภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) โรคทั้งสองกลุ่มนี้มีลักษณะของโรค การดำเนินโรค และการรักษาโรคแตกต่างกัน ซึ่งโรคเบาหวานทั้งสองกลุ่มมีกลไกการเกิดโรคดังนี้

1) กลไกหลักของการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 1

การที่ร่างกายเกิดภาวะขาดอินซูลิน (insulin deficiency) ซึ่งเกิดเนื่องจาก β – cell ที่ islets of langerhans ของตับอ่อนถูกทำลายโดยขบวนการทางภูมิคุ้มกัน (immune) พบในเด็กหรือวัยรุ่นมากกว่าวัยผู้ใหญ่[20] ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเบาหวานชนิดที่ 1 ประกอบด้วย

(1) ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factor) ผู้ที่เป็นโรคเบาหวานจะได้รับพันธุกรรมผิดปกติจากพ่อแม่ การป่วยเป็นเบาหวานจะช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม สามารถถ่ายทอดความผิดปกติไปให้ลูกได้ ลูกของคนที่เป็นเบาหวานจึงได้รับพันธุกรรมของโรคเบาหวานทุกคน[21]

(2) ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม มีรายงานถึงอุบัติการณ์ของเบาหวานชนิดที่ 1 สูงขึ้น ถ้ามีการติดเชื้อในระยะแรกเกิด (perinatal) จะเพิ่มความเสี่ยงดังกล่าวได้ แสดงถึงปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมส่งผลโดยตรงต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) ตามช่วงอายุ[20]

2) กลไกการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2

มีความผิดปกติของทั้งการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน (insulin secretory defect) และการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) โดยมีปัจจัยทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเป็นส่วนร่วมที่สำคัญ[22] มักพบในบุคคลที่มีอายุตั้งแต่ 40 ปีขึ้นไป และคนอ้วนก็มีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะเบาหวานชนิดนี้[23]

(1) การเปลี่ยนแปลงที่ตับ ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของการผลิตน้ำตาลจากตับ ซึ่งมีผลสำคัญในการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลหลังจากอดอาหาร

(2) การเปลี่ยนแปลงที่กล้ามเนื้อ ซึ่งกล้ามเนื้อเป็นอวัยวะหลักในการนำเอาน้ำตาลไปใช้เป็นปริมาณถึง 80 % หลังจากได้รับน้ำตาล การลดลงของการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์จึงมีความสำคัญต่อการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือด

(3) การเปลี่ยนแปลงที่เนื้อเยื่อไขมัน โดยภาวะดื้อต่ออินซูลินบริเวณเนื้อเยื่อไขมันทำให้มีการเพิ่มขึ้นของกระบวนการสลายไขมัน (lipolysis) ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของกรดไขมัน (Free fatty acid ; FFA) การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันนี้มีผลกระทบต่อ beta–cell ซึ่งอาจมีผลรบกวนการหลั่งอินซูลิน และยังมีผลกระตุ้นการสร้างกลูโคสที่ตับ

2.4.2 เกณฑ์การวินิจฉัยโรคเบาหวาน

ระดับ Provisional คือ มีอาการของเบาหวาน (เช่น ปัสสาวะบ่อย กระหายน้ำบ่อย น้ำหนักลด) หรือมีอาการที่สงสัยว่าเกิดจากภาวะแทรกซ้อนของเบาหวาน เช่น ตามัว แผลหายช้า ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะหรือผิวหนังบ่อย ๆ

ระดับ Probable คือ พบลักษณะดังข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้[24]

2.4.2.1 Fasting plasma glucose (FPG) มากกว่าหรือเท่ากับ 126 มิลลิกรัม/เดซิลิตร

2.4.2.2 Plasma glucose ณ เวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังจากทำ Oral glucose tolerance test (OGTT) โดยรับประทานน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม แล้ววัดระดับน้ำตาลกลูโคสที่เวลา 2 ชั่วโมง มีระดับน้ำตาลมากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร (11.1 มิลลิโมล/ลิตร)

2.4.2.3 Random plasma glucose มากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร มีอาการของระดับน้ำตาลในเลือดสูง ร่วมกับมีระดับน้ำตาลที่เวลาใด ๆ (casual (random) plasma glucose) มากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร (11.1 มิลลิโมล/ลิตร) มักปรากฏอาการต่าง ๆ ได้แก่ ปัสสาวะมาก หิวบ่อย น้ำหนักลด

ระดับน้ำตาลปกติในเลือดขณะยังไม่กินอาหารจะอยู่ระหว่าง 60-110 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ถ้าเป็นเบาหวานจะมีสภาวะของน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ เรียกว่า ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเกณฑ์การวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวานในการวินิจฉัยว่าบุคคลใดบุคคลหนึ่งจะเป็นเบาหวานหรือไม่นั้น พิจารณาจากผลการตรวจดังนี้

1) ตรวจระดับน้ำตาลในเลือดก่อนรับประทานอาหารเช้าโดยหลังเที่ยงคืนไม่ได้รับประทานยกเว้นน้ำ (Fasting Plasma Glucose – FPG) ได้มากกว่า 126 มิลลิกรัม/เดซิลิตร 2 ครั้ง

2) ตรวจพบน้ำตาลในเลือดไม่ว่าเวลาใดมากกว่า 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร เพียงครั้งเดียวร่วมกับมีอาการ เช่น ปัสสาวะบ่อย คอแห้ง กระหายน้ำ กินจุ น้ำหนักลดสำหรับคนที่มีระดับน้ำตาลในเลือดก่อนรับประทานอาหารเช้าเกิน 115 มิลลิกรัม/เดซิลิตร แต่ไม่เกิน 126 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ถือว่าอาจมีความผิดปกติ จำเป็นต้องทำการทดสอบอย่างละเอียด โดยใช้วิธีทดสอบความทนต่อน้ำตาลกลูโคสอีกครั้ง[25] ร่างกายรักษาระดับกลูโคสในเลือดให้คงที่เสมอ โดยใช้ฮอร์โมนหลายชนิดควบคุม

(1) การลดระดับน้ำตาล มีฮอร์โมนชนิดเดียว คือ อินซูลิน ซึ่งสังเคราะห์จาก cells ของ islets of langerhans ของตับอ่อน มีฤทธิ์กระตุ้นให้กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมันรับกลูโคสมากขึ้น กระตุ้น glycogenesis และ glycolysis ยับยั้ง glycogenolysis และ gluconeogenesis

(2) การเพิ่มระดับน้ำตาล มีฮอร์โมนหลายชนิด

(2.1) glucagon สังเคราะห์จาก cells ของ islets of langerhans ของตับอ่อนมีฤทธิ์ตรงข้ามกับอินซูลิน เช่น กระตุ้นการสลายไกลโคเจนที่ตับ กระตุ้น gluconeogenesis และยับยั้ง glucogenesis

(2.2) Adrenaline สังเคราะห์จาก adrenal medulla กระตุ้น glycogenolysis และยับยั้ง glucogenesis

(2.3) Growth Hormone สังเคราะห์จาก pituitary gland ออกฤทธิ์โดยการลดการรับกลูโคสของกล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อต่างๆ

(2.4) ATCH สังเคราะห์จาก pituitary gland การหลั่งฮอร์โมนจาก adrenal cortex ทำให้มี gluconeogenesis เพิ่มขึ้น

(2.5) Glucocorticoid สังเคราะห์จาก adrenal cortex กระตุ้น gluconeogenesis และเพิ่มการสลายโปรตีน

(2.6) Thyroid Hormone สังเคราะห์จาก thyroid gland กระตุ้น gluconeogenesis และเพิ่มการดูดซึมกลูโคสจากลำไส้ฮอร์โมน 4 ชนิดหลังทำงานช้ากว่า 2 ชนิดแรก โรคเบาหวานเป็นสาเหตุของการป่วยเป็นโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ ที่มีอันตราย ข้อสังเกตและข้อแนะนำในการตรวจว่าเป็นโรคเบาหวาน โดยสังเกตจากชีวิตประจำวัน เช่น มีปัสสาวะบ่อยเวลากลางคืน มีอาการอ่อนเพลียง่าย เหนื่อยง่ายหรือกระหายน้ำบ่อย ๆ รับประทานอาหารได้ดี แต่น้ำหนักลดโดยไม่ทราบสาเหตุ มีอาการตาพร่ามัว ซึ่งไม่ควรจะเป็นในอายุ 30-40 ปี โดยมีอาการเหล่านี้ควบคู่กัน 2 อาการขึ้นไป ควรตรวจระดับน้ำตาลในเลือด ปกติระดับน้ำตาลในเลือดควรอยู่ในระดับประมาณ 70-110 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หากระดับน้ำตาลสูงมากกว่า 110 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร อาจต้องรับประทาน

ยารักษาโรคเบาหวาน โรคแทรกซ้อนที่จะเกิดควบคู่หรือเกิดหลังจากเป็นโรคเบาหวานมีหลายโรค เช่น โรคไต โรคหัวใจ โรคต้อภายในดวงตา คนไข้มีอาการตามัว หรือขาบวม ถ้าเป็นโรคต้อจะทำให้คนไข้ตาบอดได้ในที่สุด คนไข้เบาหวานผิวหนังจะอ่อนแอสามารถเป็นแผลได้ง่าย

2.4.3 ผู้ป่วยโรคเบาหวานมักพบภาวะฉุกเฉิน

2.4.3.1 ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำเกินไป

เกิดจากการรับประทานยา หรือฉีดยาเบาหวานเกินขนาด หรือได้รับยาเบาหวานแล้วไม่ได้รับประทานอาหาร ยาจึงไปลดระดับน้ำตาลในเลือดมากเกินไป ทำให้มีอาการหัวใจสั่น หน้ามืด หรืออาจเป็นลมหมดสติ

2.4.3.2 ระดับน้ำตาลในเลือดสูงเกินไป

เกิดจากการขาดยา หรือได้รับยาเบาหวานน้อยเกินไป เมื่อระดับน้ำตาลในเลือดสูงมากขึ้น ทำให้ร่างกายเกิดความผิดปกติ เช่น เกิดภาวะเป็นกรดในเลือดสูง จะมีอาการอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ปัสสาวะบ่อย กระหายน้ำบ่อยผิวแห้ง ปากแห้ง มีไข้ ผอมมาก ซึม และหมดสติภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานหากไม่รักษาปล่อยให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูง เป็นสาเหตุให้เกิด
ทุพลภาพ หรืออันตรายถึงแก่ชีวิตได้ ภาวะแทรกซ้อนที่พบบ่อย ได้แก่

1) ทางตา มีอาการตามัว เป็นต้อกระจกหรือตาบอดได้

2) ทางระบบหัวใจและหลอดเลือด มีเส้นเลือดหัวใจตีบตัน ทำให้กล้ามเนื้อหัวใจตายได้ และความดันโลหิตสูง

3) ทางระบบประสาท เกิดอาการของอัมพาต มีอาการชาหรือปวดแสบร้อนปลายมือปลายเท้า โดยเฉพาะที่เท้าทั้งสองข้างเมื่อเกิดแผลจะทำให้ไม่รู้สึกเจ็บ เมื่อไม่ได้ดูแลรักษาจะทำให้แผลลุกลาม ติดเชื้อง่ายเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยต้องถูกตัดนิ้วเท้าและขา

4) ทางระบบกล้ามเนื้อ มีอาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อ

5) ทางระบบขับถ่าย มีอาการท้องผูก หรือท้องเดินบ่อยๆ กระเพาะปัสสาวะไม่มีแรงเบ่ง ไตอาจจะเสื่อมสมรรถภาพได้

6) ทางระบบสืบพันธุ์ ทำให้ความรู้สึกทางเพศลดลง หรืออาจจะมีบุตรได้ยาก

7) การติดเชื้อ มีภูมิต้านทานต่ำจึงติดเชื้อได้ง่ายและโรคมักลุกลาม รวดเร็วรักษายาก

2.4.4 หน้าที่ของตับอ่อน

ตับอ่อนเป็นต่อมมีท่อ(การสร้างน้ำย่อยไปที่ลำไส้เล็ก) และเป็นต่อมไร้ท่อ (สร้างฮอร์โมน) เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการผลิตฮอร์โมนจะรวมกันเป็นกลุ่มมีชื่อว่า “ไอสเลตส์ออฟแลงเกอร์ฮานส์ (islets of langerhans)” มีหน้าที่สำคัญ 2 ประการ[26]

2.4.4.1 มีหน้าที่สร้างน้ำย่อย ประกอบด้วยเอ็นไซม์หลายชนิด ช่วยในการย่อยอาหารจำพวกแป้ง โปรตีน ไขมันให้มีขนาดอนุภาคเล็กลง จนสามารถซึมผ่านผนังลำไส้เข้าสู่เซลล์ร่างกายได้แก่ เอนไซม์ทริปซิน สำหรับย่อยโปรตีน เอนไซม์อะไมเลสสำหรับย่อยแป้ง และเอนไซม์ไลเปสสำหรับย่อยไขมัน[26]

2.4.4.2 ทำหน้าที่เป็นต่อมไร้ท่อ สร้างฮอร์โมนหลายชนิด ซึ่งจะส่งเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรงฮอร์โมนที่สำคัญได้แก่ อินซูลิน (insulin)

2.4.5 ความสำคัญของตับอ่อน

ร่างกายสามารถสร้างและใช้พลังงานจากอาหาร โดยอาศัยขบวนการสังเคราะห์อาหารหรือการสร้างสารชีวโมเลกุลที่เรียกว่า “แอนนาบอลิก” (anabolic) ซึ่งเป็นการรวมโมเลกุลเล็กให้กลายเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น กลูโคสรวมกันเป็นไกลโคเจน ซึ่งเป็นขบวนการสร้างไกลโคเจน (glycogen formation) หรือ ไกลโคเจนนีซิส (glycogenesis)

ปกติร่างกายจะใช้พลังงานจากคาร์โบไฮเดรตแต่ในภาวะที่ร่างกายขาดอาหารประเภทนี้ ร่างกายสามารถใช้สารอาหารอื่นทดแทนกันได้ เช่น เปลี่ยนกรดไขมัน กรดอะมิโนให้เป็นกลูโคส เมื่อร่างกายมีน้ำตาลกลูโคสมากเกินไป ก็จะเปลี่ยนและเก็บไว้ในรูปกรดไขมันที่เนื้อเยื่อ โดยการควบคุมความสมดุลของระดับน้ำตาลในเลือดเป็นผลจากการทำงานของฮอร์โมนจากตับอ่อน[26]

2.4.6 ฮอร์โมนอินซูลิน

ฮอร์โมนอินซูลินเป็นฮอร์โมนประเภทเปปไทด์สร้างมาจากเซลล์ภายในตับอ่อน (islets of langerhans) ชื่อว่า “เบต้าเซลล์” โมเลกุลแรกที่สังเคราะห์ได้มีขนาดใหญ่เรียกว่า “โพรอินซูลิน (proinsulin)” โดยมีโครงสร้างเป็นสาย เอ ประกอบด้วยกรดอะมิโน 21 หน่วย สายบี 30 หน่วย เชื่อมด้วยพันธะเปปไทด์ จากนั้นจะตัดโมเลกุลบางส่วนของส่วนแรกออก เหลือเพียงโมเลกุลของอินซูลิน (insulin) ต่อมาจะมีการรวมตัวโดยเชื่อมด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) 3 ตำแหน่ง ซึ่งเป็นรูปที่ยังไม่ทำงาน ซึ่งโปรตีนในร่างกายจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์
ทริปซิน (trypsin) เกิดการตัดสายเปปไทด์แล้วนำมาต่อกันเป็นอินซูลิน[27]

2.4.6.1 หน้าที่ของฮอร์โมนอินซูลิน

อินซูลินมีผลต่อเซลล์เกือบทุกชนิดในร่างกาย โดยมีอวัยวะเป้าหมายที่สำคัญคือ ตับ กล้ามเนื้อลาย และเซลล์ไขมัน อินซูลินได้ชื่อว่าเป็นฮอร์โมนแห่งความอุดมสมบูรณ์ (hormone of abundance) เป็นฮอร์โมนที่ส่งเสริมให้มีการสะสมกลูโคส กรดไขมันและกรดอะมิโนไว้ภายในเซลล์ต่างๆ และสำรองไว้ใช้ระหว่างวัน ทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดมีค่าปกติ ฮอร์โมนอินซูลินช่วยให้ในการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้นนำไปเก็บไว้ที่ตับและกล้ามเนื้อลาย

2.4.6.2 ระดับฮอร์โมนอินซูลินในกระแสเลือด

1) ผลต่อการเผาผลาญสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลในกระแสเลือดสูง เช่น หลังการรับประทานอาหาร จะส่งผลให้เบต้าเซลล์หลั่งอินซูลินมากขึ้น โดยไปกระตุ้นให้เพิ่มการขนถ่ายกลูโคสจากกระแสเลือดเข้าสู่เซลล์ ส่งเสริมการแพร่ของน้ำตาลกลูโคสผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อของไขมัน และตับ ภายหลังรับประทานอาหาร ถ้ามีกลูโคสเข้าเซลล์เป็นจำนวนมากจะมีการเปลี่ยนรูปไปเป็นไกลโคเจนในตับหรือกล้ามเนื้อลาย (glycogenesis) ซึ่งร่างกายสามารถดึงมาใช้เมื่อต้องการพลังงานหรือออกแรงมากๆ ในขณะเดียวกันระหว่างวันหรือกลางคืน ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลในกระแสเลือดลดลง การหลั่งของฮอร์โมนอินซูลินก็จะลดน้อยลงด้วย

2) ผลต่อการเผาผลาญสารอาหารจำพวกโปรตีน ส่งเสริมการขนถ่ายกรดอะมิโนเข้าเซลล์กล้ามเนื้อและเซลล์ตับ ทำให้มีการสังเคราะห์โปรตีนมากขึ้น (proteogenesis) และยับยั้งการสลายตัวของกรด อะมิโนเป็นน้ำตาลกลูโคส

3) ผลต่อการเผาผลาญสารอาหารจำพวกไขมัน กระตุ้นให้มีการขนถ่ายกลูโคสเข้าเซลล์เพื่อสร้างเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล ซึ่งรวมเป็นไตรกลีเซอไรด์เก็บไว้ในเซลล์ไขมัน อินซูลินยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (lipase) ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ถูกเก็บไว้ในเซลล์ไขมัน ทำให้กรดไขมันถูกปลดปล่อยออกมาในกระแสเลือดน้อยลง

2.4.7 กลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลิน

ฮอร์โมนอินซูลินจะจับกับตัวรับสัญญาณที่เป็นโปรตีนที่เยื่อหุ้มเซลล์ อันได้แก่ หน่วยแอลฟา และเบต้า โดยหน่วยแอลฟาจะยื่นออกนอกเซลล์และเชื่อมกับหน่วยเบต้า ส่วนหน่วยเบต้าจะมีทั้งส่วนที่ยื่นออกนอกเซลล์และส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ หน่วยแอลฟาจับกับฮอร์โมนอินซูลิน เกิดการกระตุ้นให้ตัวรับสัญญาณที่เยื่อหุ้มเซลล์ทำงาน ทำให้หน่วยเบต้า ซึ่งจับอยู่กับไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase) ที่อยู่ติดกับหน่วยเบต้าในเซลล์ เติมฟอสเฟตให้กับ สารเร่งปฏิกิริยา (enzyme) หลายชนิดในเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ และเป็นการตอบสนองของเซลล์ นอกจากนี้การเติมฟอสเฟตให้ตัวเอง (autophosphorylation) ของตัวรับสัญญาณ ทำให้สามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ เช่น จี โปรตีน เพื่อไปกระตุ้นฟอสโฟไลเปส ซี ตัวส่งสัญญาณชนิดที่สอง เช่น ไอนอซิทอล ทริสฟอสเฟต(IP3) และ ไดเอซิลกลีเซอรอล (DG) การเติมฟอสเฟตของตัวรับสัญญาณ จะไปกระตุ้นฟอสโฟอินโนซิไทด์ 3 ไคเนส (phospho inositide 3 kinase) และไคเนสอื่นๆ ทำให้ตัวขนส่งกลูโคส (glucose transporter : Glu T มี 5 ชนิดในร่างกาย) มีการเคลื่อนย้าย ภายในเซลล์ไปยังเยื่อหุ้มเซลล์และติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้มีการนำกลูโคสเข้าเซลล์ได้ ขั้นตอนการกระตุ้นการขนส่งกลูโคสเข้าเซลล์กล้ามเนื้อหรือเนื้อเยื่อไขมัน โดยเมื่อฮอร์โมนอินซูลินจับกับตัวรับสัญญาณหลัง จากนั้นจะไปกระตุ้น

ฟอสโฟอินโนซิไทด์ 3 ไคเนสให้มีการเคลื่อนย้ายตัวขนส่งกลูโคสไปที่เยื่อหุ้มเซลล์ และจะเชื่อมกับเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้มีการขนส่งกลูโคสเข้าเซลล์ได้มากขึ้น[27]

2.4.7.1 การควบคุมการหลั่งฮอร์โมน

ปัจจัยต่อการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินได้แก่

1) ระดับของน้ำตาลกลูโคสในเลือดที่สูงขึ้นจากค่าปกติ (80 – 100 มิลลิกรัม / 100 มิลลิลิตร หรือ มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)

2) ฮอร์โมนบางตัวจากระบบทางเดินอาหาร เช่น ซีครีติน แกสตริน โคลีซิสโตไค-นิน (cholecystokinin)

3) กรดอะมิโนบางตัว เช่น อาร์จีนีน ไลซีน นอกจากนี้ยังมีฮอร์โมนที่ยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมนอินซูลิน ซึ่งได้แก่ ฮอร์โมนที่เพิ่มระดับน้ำตาลในเลือด

2.4.7.2 การยับยั้งการเกิดโรคเบาหวาน

การยับยั้งการเกิดโรคเบาหวาน มีปัจจัยหลายอย่าง เช่น การทำงานของตับอ่อน การทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ผิดปกติ การทำงานของโปรตีนในร่างกาย การดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือดมากเกินไปและไม่สามารถนำกลูโคสที่อยู่กระแสเลือดมาใช้ได้อย่างปกติ ซึ่งหากสามารถยับยั้งการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้ก็จะมีผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดน้อยลง โดยการยับยั้งเอนไซม์ในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้แก่ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ซึ่งทำการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ และโมเลกุลเดี่ยว ตามลำดับ ถ้าร่างกายได้รับตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด จะมีผลทำให้ลดการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่ร่างกาย

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งมี 4 กลุ่ม คือ

1) endoamylase เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายในโมเลกุลของแป้ง จะตัดพันธะแอลฟา -1, 4 กลูโคลซิดิก ระหว่างโมเลกุลกลูโคสภายในส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่แอลฟาอะไมเลสจะได้ผลิตภัณฑ์ คือ oligosaccharide และ alpha–limit-dextrins

2) exoamylase เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะที่จับกันของกลูโคสทั้งพันธะ แอลฟา -1, 4 และ แอลฟา -1, 6 กลูโคลซิดิกเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ กลูโคลอะไมเลส เบต้าอะไมเลส และแอลฟากลูโคซิเดส การทำงานจะตัดโมเลกุลกลูโคสที่ตำแหน่งปลายของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน

3) debraching enzyme เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะ แอลฟา-1,6 กลูโคซิดิก เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ ไอโซอะไมเลส พูลูแลนเนสการทำงานย่อยพันธะกิ่งของอะไมโลเพคติน

4) transferase เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่จับ แอลฟา-1,4 กลูโคซิดิก ของ donor

molecule และเปลี่ยนส่วนของ donor เพื่อเป็น glycosidic acceptor ซึ่งเป็นการสร้างพันธะกลูโคซิดิกใหม่ เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ amylomaltase cyclodextrin glucosyltransferase

2.4.8 เอนไซม์อะไมเลส (alpha-amylase) และเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (alpha - glucosidase)

เอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตได้ช้าลง สำหรับในผู้ป่วยโรคเบาหวาน การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองเป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ในภาวะปกติร่างกายภายหลังรับประทานอาหาร ปากจะมีการหลั่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและลำไส้เล็กหลั่งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส แล้วทำการย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็น น้ำตาลโมเลกุลคู่ และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวตามลำดับ ทั้งนี้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจะเข้ามาจับเอนไซม์ทั้งสองชนิดด้วยปฏิกิริยาผันกลับซึ่งเป็นแบบแก่งแย่งแข่งขัน แทนที่โมเลกุลของน้ำตาล ดังนั้นจึงเป็นการชะลอการเพิ่มของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้[28]

2.5 สารสำคัญในพืชสมุนไพร

สารสำคัญในพืชสมุนไพร สามารถนำมาใช้เป็นยาและยังเป็นองค์ประกอบในอาหารและเครื่องสำอางซึ่งสารสำคัญในพืชสมุนไพรแบ่งออกเป็น 7 กลุ่มใหญ่ดังนี้ [29]

2.5.1 คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เป็นสารอินทรีย์คาร์บอนที่ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจนในสัดส่วนไฮโดรเจนต่อออกซิเจนเท่ากับ 2:1 เป็นกลุ่มสารที่พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ ได้จากการสังเคราะห์แสงและเก็บสะสมไว้ในพืชและคนประโยชน์สามารถนำแป้งใช้เป็นสารช่วยเพิ่มปริมาณและสารช่วยการแตกตัวยาเม็ด หรือเซลลูโลสซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ในทางเภสัชกรรมใช้อนุพันธ์ของเซลลูโลส ได้แก่ เมทิลเซลลูโลสใช้เป็นยาระบายชนิดช่วยเพิ่มกากใยและใช้เป็นสารช่วยแขวนตะกอน

2.5.2 ไขมัน (lipid)เป็นเอสเทอร์เกิดจากไขมันจับกับแอลกอฮอล์นำมาใช้เป็นอาหารหรือใช้ในทางเภสัชกรรม เช่น น้ำมันมะกอกใช้เป็นสารหล่อลื่นและเป็นยาระบาย

2.5.3 น้ำมันหอมระเหย (volatile oils หรือ essentail oils หรือ ethereal oils) พบได้ตามส่วนต่างๆของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง เป็นต้น ซึ่งลักษณะของน้ำมันจะมีกลิ่นและรสเฉพาะตัว สามารถระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิธรรมดาหากเมื่อตั้งทิ้งไว้นานๆจะถูกออกซิไดซ์ทำให้สีเข้มขึ้น ดังนั้นจึงควรเก็บไว้ในขวดสีชาที่ปิดสนิทสามารถจำแนกน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบได้หลายกลุ่ม ดังนี้

2.5.3.1 พวกไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก (hydrocarbon volatile oils) เช่น ลิโมนีน (limonene) ในน้ำมันกระวาน (cardamom oil) ไพนิน (pinene) ในน้ำมันสน

2.5.3.2 พวกแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบหลัก (alcohol volatile oils) เช่น จิรานิ-ออล (geraniol) ในน้ำมันดอกกุหลาบ (rose oil) เมนทอล (menthol) ในน้ำมันสะระแหน่ (pepper mint oil)

2.5.3.3 จำพวกแอลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบหลัก (aldehyde volatile oils) เช่น ซิน-โทรเนลลาล (Citronellal) ในน้ำมันตะไคร้หอม (Citronella oil)

2.5.3.4 พวกคีโตนเป็นองค์ประกอบหลัก (ketone volatile oils) เช่น คาร์โวน (Carvone) ในน้ำมันเทียนตากบ (caraway oil)

2.5.3.5 พวกฟีนอลเป็นองค์ประกอบหลัก (phenol volatile oils) เช่น ยูจีนอล (eugenol) ในน้ำมันกานพลู (clove oil)

2.5.3.6 จำพวกฟีนอลิกอีเทอร์เป็นองค์ประกอบหลัก (phenolic ether volatile oils) เช่น อะนีโทล (anethole) ในน้ำมันจันทน์แปดกลีบ (anise oil)

2.5.3.7 พวกออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลัก (oxide volatile oils) เช่น ยูคาลิปตอล (eucalyptal) ในน้ำมันยูคาลิปตัส (eucalyptus oil)

2.5.3.8 พวกสารจะพวกเอสเทอร์เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น เมทิลซาลิไซเลต (methyl salicylate) ในน้ำมันระกำ (wintergreen oil)

2.5.4 เรซินและบาลซัม (resins and balsums) พวกเรซินจัดเป็นสารประกอบที่มีรูปทรงสัณฐานเป็นก้อนแข็ง เมื่อทำให้ร้อนจะเหนียวหนืดและค่อยๆหลอมละลายสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรม ได้แก่ ชันสน (rosin หรือ colophony) นำมาทำยาช่วยให้ผลิตภัณฑ์แข็งตัวในยาเตรียมขี้ผึ้งและปลาสเตอร์นอกจากนี้ใช้เป็นยาขับปัสสาวะสำหรับสัตว์อีกด้วยและโอเล-โอเรซินเป็นสารผสมของเรซินกับน้ำมันหอมระเหยนำมาใช้ในทางเภสัชกรรมคือนำโอเลโอเรซินจากผลสุกแห้งของพริกชนิดต่างๆ ทำเป็นยาเจริญอาหารยาขับลมและยาแก้ปวดท้องเพื่อกระตุ้นการหลั่งเอนไซม์

2.5.5 แอลคาลอยด์ (alkaloids) เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบคุณสมบัติโดยทั่วไปคือมักมีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่าง ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์มีคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ และทางเภสัชวิทยาต่อมนุษย์และสัตว์แตกต่างกันมากซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย เช่น ควินิน (quinine) จากเปลือกต้นซิงโคนา ฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร เช่น โปรตีนจากใบเบลลาดอน-น่า ใช้ต้านโรคมะเร็ง เช่น วินคริสทีนซัลเฟส (vincristine sulfate) จากลำต้นเหนือดินของแพงพวยฝรั่ง ฤทธิ์ระงับปวด เช่น มอร์ฟีน (morphine) จากยางฝิ่น ฤทธิ์ระงับอาการไอ เช่น โคดีอีน (codeine) จากยางฝิ่น ฤทธิ์ลดความดันโลหิต เช่น เรเซอพีน (reserpine) จากรากต้นระย่อมน้อย เป็นต้น

2.5.6 ไกลโคไซด์ (Glycosides) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วย ส่วนอะไกลโคน (aglycone) หรือจีนิน (genin) จับกับน้ำตาลหรืออนุพันธ์ของน้ำตาลหรือเรียก ส่วนไกลโคน (glycone) จัดเป็นสารกลุ่มใหญ่อีกกลุ่มหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรคอย่างกว้างขวางและบางชนิดมีฤทธิ์เป็นสารพิษ โดยปกติไกลโคไซด์จะละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วซึ่งขึ้นกับจำนวนและชนิดน้ำตาลของโครงสร้าง โดยเมื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะเกิดพันธะเชื่อมต่อระหว่างอะไกลโคนและไกลโคนมักนิยมใช้เป็นหลักในการจำแนกประเภทของไกลโคไซด์ โดยแบ่งออกได้หลายกลุ่มดังนี้

2.5.6.1 คาร์ดิแอคไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) มีโครงสร้างเป็นวงแหวนไซโคเพนทาโนเพอไฮโดรฟีแนนทรีนอยู่ในโมเลกุลมีฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด

2.5.6.2 ซาโปนินไกลโคไซด์ (saponin glycosides) มีอะไกลโคนเป็นสเตียรอยด์หรือไทรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoid) เช่น ไดออสซิน (dioscin) เป็นสเตียรอยดัลซาโปนิน (steroidal saponin) จากเมล็ดลูกซัด

2.5.6.3 แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthraquinone glycosides) มีอะไกลโคนเป็นอนุพันธ์ของแอนทาซีน (anthracene) ที่พบในธรรมชาติในพืชชั้นสูง ซึ่งสมบัติทางเคมีของแอนทราควิโนนจะเปลี่ยนกลับไปกลับมาระหว่างแอนโทรน (anthrone) และแอนทรานอล (anthranol) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย เช่น sennoside จากใบและฝักของต้นมะขามแขก

2.5.6.4 ไซยาโนเจนิกไกลโคไซด์ (cyanogenic glycosides) พบในธรรมชาติส่วนใหญ่รูปไกลโคไซด์ เมื่อถูกไฮโดรไลซิสด้วยกรดเกลือหรือเอนไซม์ที่อยู่ในพืชเองจะให้กรดไฮโดรไซยานิกหรือไซยาไนด์เมื่อคนหรือจะกินเข้าไปจะเกิดอันตราย เนื่องจากไซยาไนด์ไอออนจะจับกับอะตอมของธาตุโลหะซึ่งเป็นองค์ประกอบในเอนไซม์หลายชนิดทำให้ฤทธิ์ของเอนไซม์หมดไปทำให้ระบบหายใจล้มเหลวและเสียชีวิตได้

2.5.6.5 ไอโซไซยาเนตไกลโคไซด์ (isothiocyanate glycosides) เป็นสารประกอบไกลโคไซด์ที่ถูกไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ไทโอกลูโคซิเดส (thioglucosidase) หรือเรียกชื่ออื่นว่า ไมโรซิเนส (myrosinase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในพืชเช่นเดียวกัน แต่ว่าจะอยู่คนละส่วนของเซลล์มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เช่น เทอริโกสเพอมิน (pteregospermin) จากมะรุม

2.5.6.6 ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ (flavonoid glycosides) จัดเป็นสารประกอบเคมีที่สำคัญกลุ่มใหญ่อีกกลุ่มหนึ่งที่ได้จากพืชส่วนมากเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่พบในส่วนต่างๆของพืช โดยเฉพาะในดอกทำให้ดอกไม้มีสีสวยงามสูตรโครงสร้างพื้นฐานเป็นหมู่ C_6 จำนวน 2 หมู่มาเชื่อมต่อกันด้วยลูกโซ่ของอะตอมคาร์บอน 3 อะตอมแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่

1) สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างฟลาโวนอยด์แท้ (true flavonoid structure) สารกลุ่มนี้มีนิวเคลียส phenylbenzopyrone คือมีวงแหวนไพแรน (pyran ring) เชื่อมติดกับวงแหวนเบนซีนทำให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ

2) สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างสัมพันธ์ (related compounds)สารกลุ่มนี้ไม่มีนิวเคลียสเป็น phenylbenzopyrone แต่มีความเกี่ยวพันกัน เพราะว่าโครงสร้างหลักยังคงประกอบด้วย $C_6C_3C_6$ ได้แก่ ชาโคน (chalcones) ออโรน (aurones) และไอโซฟลาโวน (isoflavones)

2.5.6.7 คูมารินไกลโคไซด์ (coumarin glycosides) จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบไกลโคไซด์มีลักษณะเฉพาะตัวคือเป็นสารประกอบที่ให้กินหอม

2.5.6.8 อิริดอยด์ไกลโคไซด์ (Iridoid glycosides) เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้าง cyclopentane เป็นส่วนอะไกลโคนและมีส่วนน้ำตาลหรือไกลโคนต่อเชื่อมกับระบบวงแหวนนี้ ปัจจุบันสารอิริดอยด์เกือบ 300 ตัว พบมากในสารออคิวบินจากต้นผักกาดน้ำ

2.5.6.9 แซนโทนไกลโคไซด์ (Xanthone glycosides) มีโครงสร้างของนิวเคลียสแซนโทนอยู่ในโมเลกุล เป็นอะไกลโคนเชื่อมกับน้ำตาลตำแหน่งต่างๆของแซนโทนโครงสร้างทางเคมีจะสัมพันธ์ใกล้ชิดกับฟลาโวนอยด์ เช่น แมนโกสทิน (mangostin) จากเปลือกผลของมังคุด

2.5.6.10 สทีลบีนไกลโคไซด์ (stilbene glycosides) เป็นส่วนอะไกลโคนเชื่อมกับน้ำตาล มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารประกอบสทีลบีนที่ได้รับความสนใจคือ สารประกอบชนิดนี้มีความเป็นพิษค่อนข้างสูงต่อเชื้อรา ปลา แมลง และหนูถีบจักร

2.5.7 แทนนิน (tannin) เป็นสารพวกโพลีฟีนอล (polyphenol) มีขนาดโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างที่ซับซ้อนพบได้ในพืชหลายชนิด มีรสฝาด ซึ่งใช้เป็นยาสมานแผล ยาแก้ท้องเสีย รวมทั้งฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วย ในอุตสาหกรรมใช้ในการฟอกหนัง สมุนไพรที่มีแทนนิน เช่น เปลือกทับทิม

2.5.8 เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) เป็นสารประกอบหน่วยย่อยของไอโซพรีน (isoprene units) ซึ่งเป็นโซ่แขนงของคาร์บอน 5 ตัว มีพันธะไม่อิ่มตัวของพันธะ ดังนั้นจึงเรียกไอโซพรีนอยด์ (isoprenoids) เป็นกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย จึงได้รับความสนใจ นอกจากนี้ยังพบเป็นองค์ประกอบและสารประกอบที่เกิดจากภาวะเครียดหรือสารที่สร้างขึ้นเป็นพิเศษเมื่อพืชได้รับอันตรายเช่น ไฟโตอะเลกซิน (phytoalexins) โดยสารเหล่านี้มีความสำคัญในการยับยั้งเชื้อรา

2.6 การสกัดสารจากสมุนไพร

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างแล้วควรนำตัวอย่างพืชที่ต้องการศึกษามาทำการอบแห้งซึ่งวิธีการสกัดน้ำมีหลายวิธี คือการสกัดเย็น (maceration or percolation) การสกัดร้อนหรือการสกัดโดยใช้

ซอกห์เลต (Soxhlet extraction) และการสกัดน้ำมันหอมระเหยซึ่งเมื่อสกัดเสร็จแล้วสารสกัดจะถูกนำมาเก็บรักษาซึ่งอาจจะมีการใช้เครื่องมือเข้าช่วยเพื่อลดการถูกทำลายของสารทางชีวภาพของสารสกัด[30]

2.6.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

การเก็บและรักษาตัวอย่างพืชเพื่อนำมาสกัดสารจากพืชนั้นเมื่อทำการเก็บตัวอย่างแล้วควรจะนำมาทำการอบแห้งเพื่อป้องกันการเกิดเชื้อราสามารถทำได้ 2 วิธีคือ

2.6.1.1 การทำแห้งโดยวิธีธรรมชาติหรือแสงอาทิตย์ซึ่งวิธีนี้อาจใช้เวลานานและในอากาศอาจก่อเกิดการปนเปื้อนของเชื้อราได้หากตัวอย่างพืชนั้นมีปริมาณน้ำในเซลล์ค่อนข้างสูง รวมทั้งการตากการแจ้งอาจทำให้สารออกฤทธิ์สลายตัว

2.6.1.2 การทำแห้งโดยใช้อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องอบแห้ง (incubation oven) ซึ่งมีข้อดี คือ สามารถควบคุมอุณหภูมิในการอบได้ โดยทั่วไปจะทำการอบที่อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส

หลังจากที่ทำการอบแห้งจนตัวอย่างแห้งสนิทแล้ว ควรทำการบดพืชตัวอย่างเป็นผงละเอียดหรือทำตัวอย่างพืชให้มีขนาดเล็กที่สุดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารโดยทำตัวละลายชนิดต่างๆ

2.6.2 วิธีการสกัดสารจากพืช

การสกัดตัวอย่างพืชนั้นทำได้หลายวิธีแต่ที่รู้จักกันโดยทั่วไปคือการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยหลักเกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกตัวทำละลายขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของผู้สกัดว่าต้องการได้สารที่มีสภาพขั้ว (polar compound) หรือสารที่มีสภาพไม่มีขั้ว (nonpolar compound) ต้องการสารที่ไม่มีขั้วก็ให้ใช้ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วในการสกัดหรือถ้าต้องการสารที่มีขั้วขึ้นมาก็ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้นมาในการสกัด ทั้งนี้ตัวทำละลายที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมีอินทรีย์จากขั้วต่ำไปขั้วสูง เช่น เฮกเซน (hexane) คลอโรฟอร์ม (chloroform) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) เอทิลอะซิ-เตต (ethylacetate) เมทานอล (metanol) ฯลฯ การสกัดสารแบ่งเป็น 3 วิธี ดังนี้[30]

2.6.2.1 การกลั่น (distillation) คือกระบวนการเปลี่ยนของเหลวให้เป็นไอโดยใช้ความร้อนแล้วเกิดการทำให้เป็นไอและเกิดการควบแน่นกลับเป็นของเหลวอีกครั้งด้วยเหตุนี้การกลั่นใช้ในการทำให้ของเหลวมีความบริสุทธิ์ขึ้นหรือใช้แยกของเหลวออกจากกันได้แต่ของเหลวเหล่านั้นจะต้องมีคุณสมบัติทางกายภาพที่เรียกว่าการระเหยที่มีระดับแตกต่างกัน

2.6.2.2 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (solvent extraction) มี 2 แบบ คือ

1) การสกัดแบบเย็น (maceration) หรือการแช่ (percoration) ทำได้โดยการแช่ตัวอย่างที่อยู่ในรูปผงละเอียดในตัวทำละลายหลังจากแช่ในเวลาที่ต้องการแล้วต้องนำมากรองนำกากออกและนำมาทำการระเหยแห้งเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ออกมา

2) การสกัดแบบร้อน (soxhlet extraction) หรือการสกัดโดยใช้ความร้อน โดยใช้ใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ “ซอกห์เลต (sohxlet extractor)” ซึ่งวิธีนี้จะใช้เวลาและปริมาณตัวทำละลายน้อยเมื่อเทียบกับการสกัดแบบเย็น แต่จะมีข้อเสียเมื่อสารที่สกัดมีจุดเดือดต่ำอาจทำให้สารสลายตัวได้

2.6.2.3 การสกัดน้ำมันหอมระเหย เป็นการสกัดที่ใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำเพื่อให้ความร้อนแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชจึงทำให้น้ำมันหอมระเหยปนออกมากับไอน้ำ

2.6.2.4 การต้มด้วยอุณหภูมิที่เหมาะสมในเวลา 10-20 นาที

2.6.3 การเก็บรักษาสารสกัดจากพืช

ขั้นตอนการเก็บรักษาสารสกัดจากพืชนั้นโดยทั่วไปขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ ทั้งนี้ควรเก็บในที่อุณหภูมิค่อนข้างเย็นหรือเก็บในโถดูดความชื้น (decicator) และควรเก็บในภาชนะสีชาเพื่อป้องกันแสงอาทิตย์เข้าทำลายประสิทธิภาพทางชีวภาพของสารสกัดเนื่องจากแสงอาทิตย์และอุณหภูมิที่สูงสามารถลดประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช

2.6.4 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

สารสกัดหยาบที่ได้ต้องนำมาทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการต่างๆ ดังนี้[29]

2.6.4.1 การระเหย (free evaporation) เป็นการใช้ความร้อนจากหม้อไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากถูกความร้อนโดยตรง

2.6.4.2 การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuum) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากตัวทำละลายสกัด โดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศ (vacuum pump) โดยใช้เครื่องมือ “rotary evaporator”

2.6.4.3 อัลตราฟิลเทรชัน (ultrafiltration) เป็นการนำสารสกัดด้วยน้ำ ทำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหลักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000

2.6.4.4 การทำให้แห้ง (drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารตัวอย่าง แห้งสารที่ได้จะมีสถานะเป็นของแข็งหรือกึ่งแข็ง เช่น เครื่อง freeze dryer โดยอาศัยความเย็นและแรงดัน

2.7 ข้อมูลทั่วไปของงิ้วป่าดอกแดง

2.7.1 อนุกรมวิธานของงิ้วดอกแดง

Kingdom : Plantae

Division : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Malvales

Family : Bombacaceae

Genus : *Bombax*

Species : *Bombax ceiba*

2.7.2 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของงิ้วป่าดอกแดง

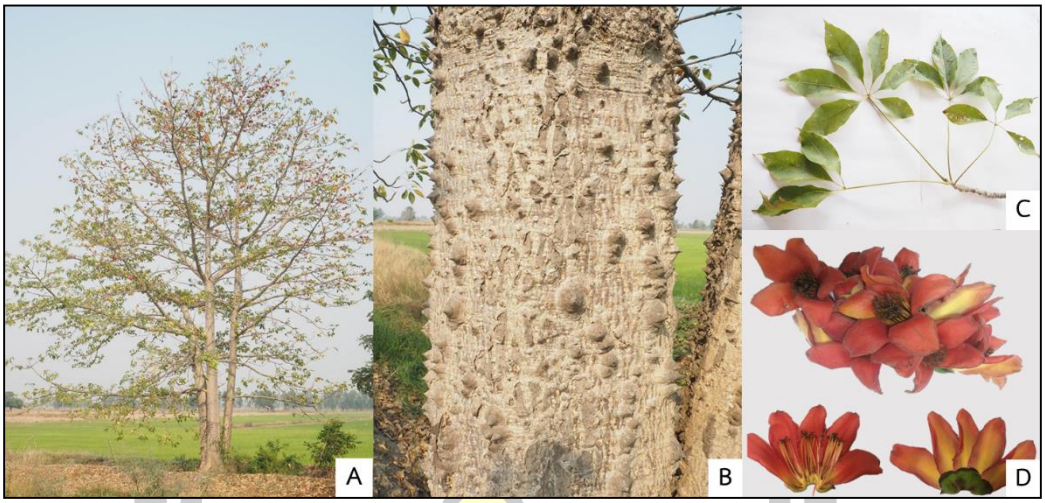
ชื่อสามัญ : Cotton tree, Kapok tree, Red cotton tree, Silk cotton

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Bombax ceiba* L. (ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Bombax malabaricum* DC., *Gossampinus malabarica* Merr.)

ชื่อท้องถิ่น : งิ้วบ้าน (ทั่วไป) งิ้วแดง (กาญจนบุรี) งิ้วปง งิ้วปกแดง สะเน้มระกา (ชอง-จันทบุรี) งิ้วป่า งิ้วปงแดง งิ้วหนาม นุ่นนาง ตอเหมาะ (กะเหรี่ยงแดง) ปั้งพัวะ (ม้ง) บักมี้ (จีน) Shalmali (ภาษาสันสกฤต) Semal , Simal (ภาษาฮินดู) Shimul (ภาษาบังคลาเทศ) Bombax de Malabar, Cotonnier Mapou (ฝรั่งเศส) Mu Mien (จีน) Algodoeiro domatto, Arvore de Panha (โปรตุเกส) Arbol capoc (สเปน) Indischer Seidenwolbaum (เยอรมัน) Ngui (ไทย) เป็นต้น[11]

แหล่งที่พบ : พบในเอเชียเขตร้อน (จีนถึงไต้หวัน) อินเดีย ภูฏาน พม่า อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา ไทย มาเลเซีย ลาว และเวียดนาม ปาปัวนิวกินี แอฟริกา และ ออสเตรเลีย[11]

พหูน ปณ ฑิโต ชีเว



ภาพประกอบ 3 งิ้วป่าดอกแดง (A=ต้น, B=เปลือกต้น, C=ใบ, D=ดอก)

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

2.7.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของงิ้วดอกแดง

ลำต้น เป็นไม้ยืนต้นขนาดกว้างถึงขนาดใหญ่ ทรงพุ่ม สูงประมาณ 15-25 เมตร และกว้างประมาณ 15 เมตร ลำต้นมีลักษณะต้นตรงและมีหนามอยู่ทั่วลำต้นและกิ่ง เห็นข้อปล้องไม่ชัดเจน ต้นอ่อนจะเป็นสีเขียวอ่อน เมื่อแก่จะเป็นสีเขียวเข้ม สามารถใช้เมล็ดที่อยู่ในฝักในการขยายพันธุ์ได้ โดยจะกระจายพันธุ์ในที่ราบ ป่าเบญจพรรณ เขาที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 100-600 เมตร[31]

ใบ เป็นรูปรีถึงรูปไข่ ปลายใบเรียวแหลม โคนใบสอบเรียวเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ มีใบย่อย 5-7 เรียงสลับกัน กว้างประมาณ 1.5-2.5 นิ้ว และยาวประมาณ 6-10 นิ้ว ใบสีเขียวไม่มีขน แผ่นใบค่อนข้างหนาและเรียบ ก้านช่อใบยาว[31]

ดอก เป็นดอกเดี่ยว ออกดอกตามปลายกิ่งหรือตามปลายยอด ดอกมีขนาดใหญ่ สีแดง สีแสด ดอกมีกลิ่นเฉพาะ ออกดอกเป็นกระจุกหรือเป็นกลุ่มประมาณ 3-5 ดอก ฐานรองดอกเป็นกลีบเลี้ยงติดกันคล้ายรูปถ้วยแข็งปลายแยกออกเป็น 5 กลีบไม่ใหญ่มีขนาดเล็ก สีเขียวอ่อน ส่วนกลีบดอกใหญ่และหนา มี 5 กลีบ เมื่อดอกบานเต็มที่จะกว้างประมาณ 8-10 เซนติเมตร ปลายกลีบจะแผ่ออกและม้วนกลับเข้าทางขั้วดอก หลุดร่วงได้ง่าย ดอกมีเกสรตัวผู้เป็นเส้นจำนวนมาก เรียงกระจายเป็นวงรอบ มีสีขาวปนสีชมพู ส่วนเกสรตัวเมียมีสีชมพู บริเวณปลายเป็นจุดสีเข้มมีความเหนียว และรังไข่จะอยู่เหนือกลีบ โดยตลอดทั้งปีจะออกดอกเดือนมกราคมจนถึงเดือนกุมภาพันธ์[31]

ผล ยาวรีคล้ายรูปทรงกระบอก ที่ปลายทั้งสองข้างของผลจะแหลม ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะกลายเป็นสีน้ำตาล เปลือกแข็ง ยาว 6-8 นิ้ว และเมื่อแก่จัดจะแตกอ้าออกตามรอยประสาน ใน

ผลมีเส้นหรือปุยสีขาวและมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก ลักษณะเป็นรูปทรงกลมสีดำ และถูกห่อหุ้มด้วยฝ้ายสีขาว ๆ ช่วยในการกระจายพันธุ์โดยใช้ลมเป็นพาหะ[31]

2.7.4 องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ราก มีสาร flavonoids, tannins, saponins, steroids, cardiac-glycosides, phenols และIsohemigossylic acid lactone 2-methyl ether มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา

สาร daucosterol เป็นสารพวก b-sitosterol glycoside มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราในระบบทางเดินอาหารและช่องคลอด

Hesperidin มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านอาการแพ้

กรด oleanolic ซึ่งเป็นสารที่สำคัญอีกชนิดของราก มีฤทธิ์ป้องกันตับอักเสบ ยับยั้งภาวะไขมันในเลือดสูง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านเนื้องอก ฤทธิ์ต้านกระบวนการ glycation ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและปรสิต

pentacylic triterpene มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ ป้องกันกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และฤทธิ์ต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาว[11]

เปลือกต้น ประกอบด้วยสาร shamimicin ซึ่งเป็นสารจำพวก flavonoid มีฤทธิ์ยับยั้งภาวะความดันโลหิตต่ำ[11,32]

ใบ มีความเข้มข้นของสาร tannin ในปริมาณสูงมาก รวมทั้งมีสารที่สำคัญคือ

mangiferin มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemic) ฤทธิ์ลดไขมันในกระแสเลือด (hypolipidemic) รวมทั้งลดความดันให้ต่ำลง ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HIV ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นยาแก้ปวด ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากสาร mangiferin ที่มีความสำคัญมากที่สุดในใบแล้วยังปรากฏ

สาร steroids, carbohydrates, tannins, triterpenoids, deoxysugar, flavonoids และ coumarin glycosides เมื่อนำใบไปสกัดด้วยเมทานอล[11,33,34]

ดอก มีสารสำคัญจำพวก สารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) คือ apigenin, quercetin และ kaempferol โดยสาร 3 ชนิดนี้เป็นที่รู้จักกันในด้านคุณประโยชน์

สาร apigenin มีฤทธิ์เป็นยารักษาโรคมะเร็ง (antineoplastic) เป็นยาคลายการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (antispasmolytic) ลดความดันโลหิต ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ glucosyltransferases และ phosphodiesterase มีฤทธิ์ต้านโรคเบาหวาน[35]

สาร kaempferol มีฤทธิ์ยาสลายของลิ่มเลือด ฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งผิวหนัง และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ alpha-glucosidase ที่มีฤทธิ์เช่นเดียวกับ acarbose ต่อการต้านโรคเบาหวาน

สาร quercetin มีฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemic) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(antioxidant) ยับยั้งการอักเสบและการติดเชื้อไวรัสแบคทีเรีย[36]

สาร cosmetin มีฤทธิ์ต้าน HIV ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งกรดไหลย้อน[37]

สาร vitexin มีฤทธิ์ต้านไข้มาลาเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ สาร saponarin มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemia) และฤทธิ์ป้องกันการอักเสบของตับ[11]

สาร linarin มีฤทธิ์ช่วยให้นอนหลับได้ดีขึ้น[11]

สาร taraxerol ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านความเป็นพิษต่อเซลล์[11]

สาร alpha- และ beta-amyrin มีฤทธิ์เป็นยาแก้ปวด ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์กล่อมประสาท ฤทธิ์ต้านอาการซึมเศร้า[11]

กรด gallic ฤทธิ์ต้านความเครียด ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอาการปวด (analgesic) ฤทธิ์ยับยั้งกำเนิดหลอดเลือดที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (angiogenesis inhibitor)[11]

สาร bombasin ฤทธิ์ป้องกันเลือดออกในทางเดินอาหาร[11]

เมล็ด ประกอบกอบด้วยน้ำมันสีเหลือง ซึ่งน้ำมันนี้เป็นไขมันอิ่มตัว ประกอบด้วย myristic 1.2% palmitic 23.6% oleic 64.9% linoleic 7.5% และ arachidic acids 2.8% และประกอบด้วย n-hexacosanol และ cyclohexenonic ซึ่งมีฤทธิ์ในการรักษาการบีบรัดตัวของลำไส้ (Ilium) มากเกินไป ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน[11]

ยาง มีสีน้ำตาลแกมดำ โดยยางที่สามารถออกมาได้มาจากการที่แมลงเข้าทำลายต้นงิ้ว การผุ การสลายของลำต้นหรือเกิดจากโรคบางชนิด และยางไม่นี้เป็นสารที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ ประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาลหลายชนิด กรดแกลลิก และกรดแทนนิน[11]

2.7.5 การนำไปใช้ประโยชน์

2.7.5.1 เกสรตัวผู้จากดอกนำไปตากแห้ง นำมาทำเป็นแกงทานคู่กับขนมจีน

2.7.5.2 เกสรตัวผู้ช่วยเพิ่มสีสันให้กับอาหาร

2.7.5.3 ดอกสดต้มรับประทานกับน้ำพริก

2.7.5.4 ดอกใช้ผสมกับข้าวโพดทำเป็นขนมแผ่นรับประทานได้

2.7.5.5 ใบและยอดอ่อนใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์เลี้ยงได้เป็นอย่างดี

2.7.5.6 รากอ่อนใช้เป็นยาและใช้เป็นอาหารเมื่อยามขาดแคลน ดอกและยางใช้ทำเป็นยารักษาโรค

2.7.5.7 ใช้ปลูกไม้ประดับในสนามกว้าง ๆ ทั่วไป ซึ่งต้นงิ้วป่าดอกแดงเป็นไม้ที่มีต้นสูงใหญสามารถให้ร่มเงาได้

2.7.5.8 งิ้วป่าดอกแดงเป็นไม้เนื้ออ่อน สีขาวหรือเหลืองอ่อน เสี้ยนหยาบ ไม่ทนทานมากนัก ผุและเปื่อยได้ง่าย หรือนำมาทำเป็นหีบเก็บของ

2.7.5.9 เปลือกต้นให้เส้นใย นำมาทำเป็นเชือกมีความเหนียวมาก แข็งและหยาบ

2.7.5.10 ปุยนุ่นภายในฝักแก่สามารถนำมาทำเครื่องนุ่งห่ม หรือเครื่องนอน

2.7.5.11 ชาวบ้านทางภาคเหนือหรือภาคอีสานจะใช้ส่วนเปลือกมาย้อมสีผ้า

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Belal *et al.,* (2017)[38] ศึกษาทางพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ยับยั้งโรคเบาหวานในหลอดทดลองของสารสกัดเปลือกต้นหว้า สารสกัดเปลือกต้นดอกแดง และสารสกัดดอกก้ามปู โดยผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี Nitric oxide scavenging พบว่าสารสกัดเปลือกต้นหว้า มีค่า IC_{50} มากที่สุด เท่ากับ 79.25 และ 256. 3 µg/ml ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดเปลือกต้นดอกแดง และสารสกัดดอกก้ามปู จากนั้นทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะ-ไมเลส พบว่า สารสกัดเปลือกต้นหว้า มีค่า IC_{50} สูงมากกว่าสารสกัดจากพืชอีก 2 ชนิด ส่วนฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ สารสกัดเปลือกต้นดอกแดง มีฤทธิ์ยับยั้งสูงที่สุดเมื่อเทียบกับพืชอีก 2 ชนิด และเมื่อวิเคราะห์ทางพฤกษเคมี พบสาร Alkaloids, flavonoids, phenols, carbohydrate, resins saponins, steroids, tannins, anthracenosides และcoumerins ซึ่งจากองค์ประกอบทางเคมีแสดงให้เห็นว่า การศึกษาพืชที่ใช้วิจัยทั้ง 3 ชนิดนี้ มีสิทธิภาพในการลดความเครียดออกซิเดชัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดเปลือกต้นหว้ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และสารสกัดเปลือกต้นดอกแดงมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ ซึ่งส่งผลต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานให้มีภาวะโรคแทรกซ้อนได้น้อยลงเช่นกัน

Bhavsar *et al.,* (2013)[39] ศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดเปลือกต้นงิ้ว (*Bombax ceiba*) โดยพิจารณาจากภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycermic) และภาวะไขมันในเลือดต่ำ (hypolipidemic) ซึ่งเปลือกต้นงิ้วสกัดสารโดยใช้เอทีลอะซิเตต ทดสอบหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin โดยก่อนทำการทดสอบได้มีการวัดค่าน้ำตาลในเลือดของหนูหลังจากฉีด streptozotocin ไปแล้ว 7 วัน มีค่าเท่ากับ 250 mg/dL จากนั้นทำการป้อนสารสกัดงิ้วทางปากเป็นเวลานาน 21 วัน ปริมาตร 200 400 600 mg/kg/day และใช้สารมาตรฐาน คือ glibenclamide 10 mg/kg ผลลัพธ์ที่ได้ คือหนูเบาหวานที่ถูกป้อนด้วย glibenclamide มีค่าน้ำตาลและไขมันในเลือดเท่ากับ 159 mg/dL และ 1.8 mmol/L ตามลำดับ ถูกนำมาใช้เทียบกับสารสกัดงิ้วปริมาตร 600 mg/kg body weight/day มีฤทธิ์ลดน้ำตาลและไขมันในเลือดในหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานให้มีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 156 mg/dL และ 1.8 mmol/L ตามลำดับ และยังส่งผลให้ค่าไตรกลีเซอไรด์ลดลงอีกด้วย จากนั้นนำเนื้อเยื่อตับอ่อนของหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin มา

ตรวจสอบด้วยเทคนิค Histological โดยพบว่า เมื่อป้อนสารสกัดเปลือกต้นงิ้วปริมาตรมากขึ้นจะช่วยยับยั้งการทำลาย β-cell ของตับอ่อนจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงได้ แล้ววิเคราะห์ทางพฤกษเคมีของสารสกัดเปลือกต้นงิ้ว ด้วยเทคนิค GC-MS พบสารประกอบ triterpenoid ซึ่งเป็นสารที่สามารถทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดลดลงได้ จึงสรุปได้ว่าสารสกัดเปลือกต้นงิ้วมีประสิทธิภาพในการลดระดับน้ำตาลกลูโคสและไขมันในเลือดให้ต่ำลงได้

Faizi *et al.,* (2011)[40] ศึกษาสาร Shamiminol : สารวงอะโรมาติกไกลโคไซด์ชนิดใหม่จากเปลือกต้นงิ้วป่าดอกแดง (*Bombax ceiba*) พบสาร Shamiminol รวมทั้ง stigmasta-3,5- diene, lupenone, (±)-lyoniresinol 2a-*O*-β-D-glucopyranoside และ opuntiol ซึ่งสารเหล่านี้สามารถพบได้ในพืชชนิดนี้โครงสร้างของ shamiminol ถูกอธิบายอย่างกว้างขวางด้วยเทคนิคสเปกตรัม 1D- และ 2D-NMR ที่คือ 3,4,5- trimethoxyphenol 1-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1⟶2)-β-D-glucopyrano- side

Gupta *et al.,* (2019)[41] ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของตัวรับส่งสัญญาณ FAS และ PTP-1B ที่ทำให้เกิดโรคอ้วน โดยใช้ส่วนเปลือกต้นสกัดด้วยเมทานอล แล้วนำไปทดสอบกับหนูอัลตร้าอัลบิโนเพศผู้ที่มีน้ำหนักตัว 180-220 กรัม ชักนำให้หนูเป็นโรคอ้วนโดยให้กินอาหารที่มีไขมันสูงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ จากนั้นป้อนสารสกัดปริมาตร 100, 200, 400 mg/kg และ ยา gemfibrozil 50 mg/kg เริ่มป้อนสารสกัดและสารมาตรฐานสัปดาห์ที่ 7-10 จากนั้นจึงนำหนูมาตรวจสอบค่า BMI, นำเลือดมาตรวจสอบหาค่า ไตรกลีเซอร์ไรด์, LDL, VLDL, คลอเลสเตอรอล, กรดไขมันอิสระ, ALT, AST; tissue TBARS (ตรวจสอบปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน) และระดับไนไตรท์/ไนเตรต พบว่าสารสกัดปริมาตร 200, 400 mg/kg มีประสิทธิภาพในการต้านโรคอ้วนใกล้เคียงกับยา gemfibrozil เนื่องจากในสารสกัดเปลือกต้นงิ้วมีสารลูพีออล (lupeol) และและสาร ฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

Mohamed *et al.,* (2019)[42] ศึกษาฤทธิ์ต้านแผลในกระเพาะอาหารของสารสกัดดอกงิ้ว (*Bombax ceiba* L.) และสารสกัดผลพุทรา (*Ziziphus spina* christi) ในหนูที่ถูกชักนำให้เป็นแผลในกระเพาะอาหารขณะที่หนูท้องว่างด้วย absolute ethanol 5 mL/kg เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยการทดลองแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม1 หนูปกติใช้เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่ม2 หนูที่ถูกป้อนยา/สารสกัดก่อนทำให้หนูเกิดแผลในกระเพาะอาหาร และกลุ่ม3 หนูที่ถูกป้อนยา/สารสกัดหลังทำให้หนูเกิดแผลในกระเพาะอาหาร โดยในแต่ละกลุ่มการทดลองจะป้อนยา Ranitidine ปริมาตร 100 mg/kg/day สารสกัดดอกงิ้วปริมาตร 300 mg/kg/day และสารสกัดผลพุทราปริมาตร 200 mg/kg/day โดยหนูในกลุ่ม2 จะถูกนำเนื้อเยื่อกระเพาะมาวิเคราะห์ข้อมูลหลังจากทำให้เป็นแผลในกระเพาะอาหารด้วยเอทานอลหลังจาก 2 ชั่วโมง และกลุ่ม3 เนื้อเยื่อกระเพาะจะถูกนำมาวิเคราะห์หลังจากที่มีการให้ยา/สารสกัดเป็นเวลานาน 7 วัน ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้ พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิดช่วยลด

การอักเสบนำไปสู่การถูกทำลายของกระเพาะอาหาร รวมทั้งมีการต้านภาวะเครียดออกซิเดชันจากปฏิกิริยา lipid peroxides (สร้างสารอนุมูลอิสระ เกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์) และยังสามารถเพิ่มระดับของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ glutathione (GSH) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้กระเพาะอาหารเกิดกลไกการป้องกันตัวเองมากขึ้น และยังสามารถช่วยลด prostaglandin E_2 (PGE_2) และ nitric oxide (NOx) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องการอักเสบของเซลล์ ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากดอกงิ้วและสารสกัดจากผลพุทรามีฤทธิ์ในการปกป้องกระเพาะอาหารจากแผลที่เกิดจากกรดและมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบของเซลล์ได้

Sharmin *et al*., (2018)[40] ศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวานและฤทธิ์ปกป้องตับจากสารสกัดรากอ่อนของงิ้ว(*Bombax ceiba*) ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วยสาร Alloxan โดยการนำผงรากอ่อนมาสกัดด้วยเอทานอล และนำไปศึกษาทางพฤกษเคมีพบว่าประกอบด้วยสาร flavonoids, phenolics, tannin, steroids alkaloids และ glycosides จากนั้นจึงนำมาทดสอบกับหนูที่เป็นเบาหวานและไม่เป็นเบาหวานโดยการฉีดเข้าที่ช่องท้อง ด้วยสารสกัดจากรากอ่อนงิ้วปริมาตร 400 mg/kg bw /hr เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดจากรากอ่อนของงิ้วสามารถช่วยลดระดับกลูโคสในเลือดได้ และสิ่งที่น่าสนใจก็คือ การลดลงของกลูโคสชั่วโมงที่ 16 พบว่าสามารถลดกลูโคสได้ถึง 78.36% ซึ่งมีค่ามากกว่าสารมาตรฐาน metformin (72.36%) และสารสกัดรากอ่อนของงิ้วสามารถช่วยเพิ่มระดับไขมันดี (HDL) ลดระดับไขมันไม่ดี (LDL) ไตรกลีเซอไรด์ และคอเลสเตอรอล รวมทั้งช่วยลดความเป็นพิษในตับโดยการลดลงของ marker ที่บ่งบอกความเป็นพิษในตับได้ คือ SGPT (Serum Glutamate Pyruvate Transaminase) และ SGOT (Serum Glutamic Oxalate Transaminase) โดยนำข้อมูลมาเทียบกับกลุ่มหนูที่ไม่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน อย่างมีนัยสำคัญที่ P>0.0001 ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากรากอ่อนของงิ้วมีประสิทธิภาพในการลดระดับน้ำตาล ไขมันในเลือด รวมทั้งมีฤทธิ์ปกป้องตับ

Tadera *et al*., (2006)[43] ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (alpha -amylase) และเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (alpha -glucosidase) ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม1 flavone (ประกอบด้วยสาร luteolin apigenin และbaicalein) กลุ่ม2 flavonol(ประกอบด้วยสารmyricetin qurcetin kaempferol และfiseti) กลุ่ม3 flavanone(ประกอบด้วยสาร narin- genin และhesperetin) กลุ่ม4 isoflavone(ประกอบด้วยสาร genistein และdaidzein) กลุ่ม5 flavan(ประกอบด้วยสาร catechin epicat- echin epigallocatechin epigallocatechin และgallate) และ กลุ่ม6 anthocyanidin(ประกอบด้วยสาร cyanidin) ทดสอบ

กับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อน เอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูและเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ ผลที่ได้ พบว่าเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ถูกยับยั้งด้วยสารประกอบฟลาโวนอยด์ กลุ่ม anthocyanidin(สาร cyanidin) isoflavone(สาร genistein) และ flavonol(สารmyricetin qurcetin และfiseti) ซึ่งมีค่า IC_{50} <15 μM ในขณะที่เอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูถูกยับยั้งด้วยสารประกอบฟลาโวนอยด์กลุ่ม anthocyanidin(สาร cyanidin) และ isoflavon (สาร genistein) และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อนของหนูถูกยังยั้งด้วยสารประกอบฟลาโวนอยด์กลุ่ม flavonol(สารmyricetin และqurcetin) และกลุ่ม flavone(สาร luteolin) มีค่า IC50 < 500 μM ทั้งนี้เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ประกอบด้วยกลุ่ม phenol และวงอะโรมาติกเบนโซไพแรน (Benzopyran) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) จำนวน 3-5 หมู่ที่มีความสามารถเป็นผู้ให้หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) แก่เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้สารประกอบฟลาโวนอยด์เกิดการยับยั้งเอนไซม์ได้ นอกจากนี้ยังสรุปได้ว่าหากโครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH)จำนวนมากขึ้นจะสามารถช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟลาโวนอยด์กับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้เร็วขึ้นเช่นกัน

Tiago *et al.,* (2009)[44] ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกงิ้ว (*Bombax ceiba*) จากเมทานอล ทดสอบ 2 วิธี ได้แก่ 1. วิธี DPPH เป็นวิธีการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่ง DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรและรับอิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านอนุมูลอิสระ (สารสกัดดอกงิ้ว) ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อยลง เนื่องจากปริมาณของ อนุมูลอิสระ DPPH ลดลง จึงแสดงได้ถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งวิธีนี้ใช้สารมาตรฐาน คือ trolox 2. วิธี Myeloperoxidase (MPO) เอนไซม์ชนิดนี้สามารถพบได้ในเม็ดเลือดขาวชนิด neutophill ทำหน้าที่เกี่ยวกับกลไกการติดเชื้อและการอักเสบของเซลล์ โดยการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ให้เป็นกรดไฮโดรเจนคลอรัส (HOCl) ทั้งยังก่อให้เกิดอนุมูลอิสระชนิด nitric oxide ซึ่งวิธีนี้ใช้สารมาตรฐาน คือ Sodium azide หลังการทดสอบระหว่างสารสกัดดอกงิ้วกับทั้ง 2 วิธี พบว่า วิธี DPPH สามารถวัดค่า EC_{50} เท่ากับ 87 μg/ml และผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Myeloperoxidase (MPO) 50 เปอร์เซ็นต์ ด้วยสารสกัดดอกงิ้วปริมาตร 264 μg/ml โดยทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และวิธียังยั้งเอนไซม์ Myeloperoxidase นี้เป็นผลมาจากสารสกัดใบงิ้วมีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เช่น เคอซิติน เคอร์คิวมิน และกรดแกลลิก เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีความสามารถในการให้หมู่ไฮดรอกซิลแก่อนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดดอกงิ้วมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

XU *et al.*, (2017)[45] ศึกษาฤทธิ์ต้านโรคไตจากเบาหวานของสกัดใบงิ้วด้วยเอทานอลและสาร mangiferin (องค์ประกอบเคมีหลักของใบงิ้ว) ในหนูที่เป็นโรคไตจากเบาหวานถูกชักนำด้วยสาร streptozotocin (โรคแทรกซ้อนของเบาหวาน) โดยนำสารสกัดใบงิ้วปริมาณ 40 80 120 mg/kg สาร mangiferin 50 mg/kg และสาร metformin (สารมาตรฐาน) 200 mg/kg ป้อนแก่หนูปกติและหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานด้วยสาร streptozotocin เป็นเวลา 16 สัปดาห์ แล้วนำไปวิเคราะห์หาข้อมูลโดยการเจาะน้ำตาลหลังอดอาหาร การตรวจพบอัลบูมินในปัสสาวะ การตรวจวัดค่าครีเอตินิน (เพื่อตรวจสอบภาวะโรคไตเรื้อรัง) การตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนในกระแสเลือด และการตรวจทางพยาธิวิทยากายวิภาคด้วยการย้อมอิมมูโนของเนื้อเยื่อไต ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณกลูโคสที่สูงสามารถเพิ่มภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) และการทำลายเซลล์ตัวเองของเซลล์ mesangial ในไตได้ โดยจากผลการวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ พบว่าสารสกัดจากใบงิ้วและสาร mangiferin มีผลยับยั้งเอนไซม์ Nox4 และ hexokinase ซึ่งเอนไซม์ก่อให้เกิดสารอนุมูลอิสระส่งผลเสียต่อไตได้เช่นกันโดยการเข้าทำลายโปรตีนที่เป็นตัวกลางขนส่งสารในท่อหน่วยไตทำให้ท่อหน่วยไตเกิดการรั่วเกิดเป็นโรคไตวายในที่สุด ซึ่งผลที่ได้พบว่าสารสกัดใบงิ้วปริมาณ 80 120 mg/kg และสาร mangiferin 50 mg/kg มีผลต่อการต้านภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ต่อโรคไตของหนูซึ่งเป็นโรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวานได้

XU *et al*., (2017)[46] ศึกษาฤทธิ์ต้านภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ฤทธิ์ต้านภาวะไขมันสูง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบงิ้วในหนูที่มีไขมันสูงและถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย streptozotocin โดยการนำผงใบงิ้วมาสกัดด้วยเอทานอล จากนั้นนำสารสกัดใบงิ้วป้อนให้กับหนูปกติและหนูที่ถูกชักนำให้มีไขมันสูงและเป็นเบาหวานปริมาตร 70 140 และ280 mg/kg/day เป็นเวลา 21 วัน และทำการวิเคราะห์ผล พบว่าปริมาณสารสกัดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือ 140 mg/kg/day สามารถทำให้เกิดการลดลงของระดับน้ำตาลในเลือด glycosylated hemoglobin, cholesterol, triglyceride LDL ขณะเดียวกันยังสามารถเพิ่ม HDL SOD (superoxide dismutase) และความทนทานต่อน้ำตาลที่กินเข้าไป ในหนูที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 นอกจากนี้ยังสามารถป้องกัน beta-cells ในตับอ่อนไม่ให้ถูกทำลายจากโรคเบาหวาน (มีระดับกลูโคสในเลือดสูง) ทั้งนี้ได้มีการนำสารสกัดใบงิ้วไปวิเคราะห์ทางพฤกษเคมีด้วยเทคนิค HPLC-ESI-Q/TOF-MS/MS พบว่าประกอบด้วยสาร mangiferin, isoorientin, vitexin, isomangiferin, isovitexin, quercetin และnigricanside ซึ่งสารเหล่ามีส่วนสำคัญที่ทำให้สารสกัดใบงิ้วมีประสิทธิภาพดังกล่าว ดังนั้นผลของการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากใบงิ้วสามารถยับยั้งภาวะน้ำตาลในเลือดสูงที่มีความสัมพันธ์กับโรคเบาหวานได้ รวมทั้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ป้องกัน beta -cellsในตับอ่อนได้อีกด้วย

You *et al*., (2003)[47] ศึกษาสาร lupeol จากเปลือกต้นงิ้วป่าดอกแดงต่อการสร้างเส้นเลือดใหม่ (antiangiogenic) โดยนำต้นงิ้วป่าดอกแดงซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ในเวียดนามสกัดด้วยเมทานอลทดสอบกับเซลล์บุผนังหลอดเลือดจากรก (HUVEC) ในหลอดทดลองพบว่า สาร lupeol สามารถเพิ่มการสร้างของเส้นเลือดใหม่ได้ที่ปริมาตร 30 และ 50 µg/mL และสาร lupeol ไม่ส่งผลต่อการเจริญของเซลล์มะเร็ง

พหูน ปณ ฑิโต ชีเว

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

บทที่ 3 วิธีดำเนิน

3.1 ตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างพืชในเขตตำบลไผ่รอบ อำเภอโพธิ์ประทับช้าง จังหวัดพิจิตร (ละติจูด 16.3895 ลองจิจูด 100.1989) ตรวจเอกลักษณ์ด้วยรูปวิธานระดับสกุลและชนิด และเก็บตัวอย่างพรรณไม้แห้งไว้ที่หอพรรณไม้ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ (QBG) อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยส่วนที่ใช้ในการศึกษา คือ ดอก ใบ และเปลือกต้นของงิ้วป่าดอกแดง โดยเก็บดอกแก่ที่บานเต็มที่ ใบแก่ใบที่ 3-5 จากปลายยอด และเปลือกต้นสูงจากระดับพื้นดิน 1 เมตร

3.2 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากงิ้วป่าดอกแดง

3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.2.1.1 นำใบ ดอก และเปลือกต้นงิ้วป่าดอกแดงมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด

3.2.1.2 นำตัวอย่างที่ได้ อบที่อุณหภูมิ 40 °C จนแห้ง นาน 18 ชั่วโมง

3.2.1.3 นำไปแยกบดแต่ละส่วนเป็นผงให้ละเอียดโดยเครื่องบดสมุนไพร

3.2.1.4 นำไปสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอล 50% และ เอทานอล 95%

3.2.2 การสกัด

3.2.2.1 สกัดด้วยน้ำกลั่น

1) สกัดด้วยตัวน้ำโดยการชั่งผงงิ้ว 100 g น้ำกลั่น 1000 ml ในอัตราส่วน 1:10

2) นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 10 นาที จำนวน 3 ครั้ง แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1)

3) นำไปเคี่ยวด้วยไฟอ่อนบน hot plate แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปอบด้วยเครื่อง Hot air oven อุณหภูมิ 60 °C

4) นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dry จะได้สารสกัดจากงิ้วในรูปผง จากนั้นนำมาคำนวณหา % yield และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

$$\% \text{ yield} = \left(\frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้}}{\text{น้ำหนักพืชที่ใช้ในการสกัด}} \right) \mathbf{X}\ 100$$

3.2.2.2 สกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอล 50%และ เอทานอล 95%

1) ใช้ผงงิ้ว 100 g และเอทานอล 50% 400 ml ในอัตราส่วน 1:4 หมักไว้ 7 วัน

2) กรองด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1)

3) นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยวิธี rotary evaporater

4) นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dry จะได้สารสกัดจากงิ้วในรูปผง จากนั้นนำมาคำนวณหา % yield และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี

3.3.1 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic content)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยการดัดแปลงวิธีการของ Singleton *et al*,. (1999)[48] ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu phenol reagent

3.3.1.1 ชั่งสารสกัด 25 mg นำไปละลายกับตัวทำละลายที่เหมาะสมให้ได้ปริมาตร 1000 µL และชั่งกรดแกลลิก 0.01 g/ น้ำกลั่น 100 mL แล้วปรับระดับความเข้มข้นแล้วเลือกความเข้มข้นสารสกัดที่เหมาะสมมาทดสอบ

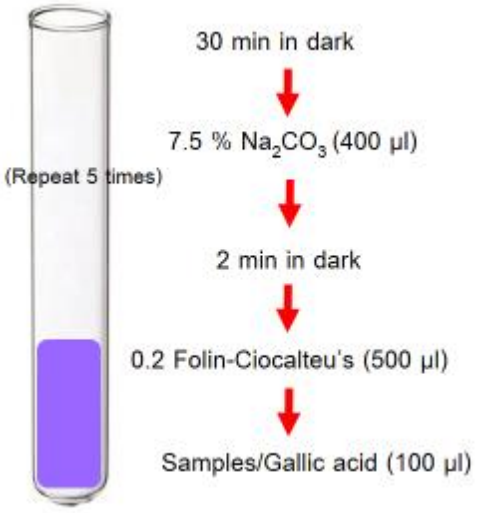
3.3.1.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid)/สารสกัดปริมาตร 100 µl ใส่ในหลอดทดลอง

3.3.1.3 เติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu reagent (V/V) ลงไป 500 µl เขย่าและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที

3.3.1.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้น 7.5% (W/V) ลงไป 400 µl เขย่าและปิดปากหลอดและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 30 นาที

3.3.1.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 nm ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ

3.3.1.6 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิก (gallic acid) ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน รายงานเป็นหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (gallic acid equivalents, mgGAE/g)



ภาพประกอบ 4 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

3.3.2 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม เป็นวิธีการที่ดัดแปลงจาก Zhishen *et al.* (1999)[49]

3.3.2.1 ชั่งสารสกัด 25 mg นำไปละลายกับตัวทำละลายที่เหมาะสมให้ได้ปริมาตร 1000 µL และชั่งเคอร์ซิติน (quercitin) 0.025 g/ น้ำกลั่น 25 mL แล้วปรับระดับความเข้มข้นแล้วเลือกความเข้มข้นสารสกัดที่เหมาะสมมาทดสอบ

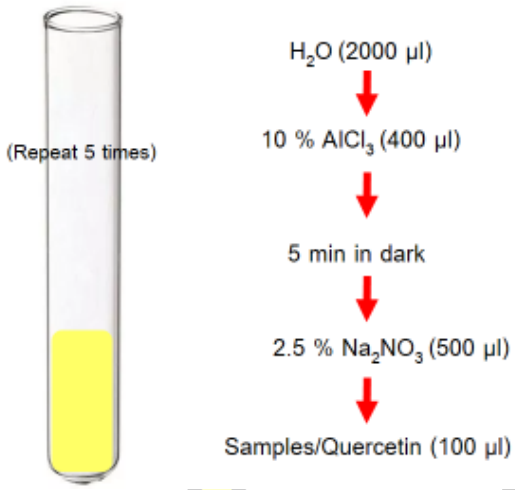
3.3.2.2 เติมสารสารสกัดหรือสารมาตรฐานปริมาตร 100 ml

3.3.2.3 เติม 2.5% $NaNO_2$ (W/V) ปริมาตร 400 µl แล้วเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

3.3.2.4 เติม 5% $AlCl_3$ W/V ปริมาตร 500 µl เขย่าให้เข้ากัน

3.3.2.5 เติมน้ำกลั่น 2000 µl แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 415 nm ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ

3.3.2.6 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานสารเคอร์ซิติน (quercitin) ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน รายงานเป็นหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิติน ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (quercitin equivalents, mgQE/g)



ภาพประกอบ 5 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาการวัดความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระด้วยวิธี FRAP assay วิธี DPPH assay และ ABTS assay ดังต่อไปนี้

3.4.1 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay

การศึกษาฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ดัดแปลงตามวิธีของ Brand-Williams *et al*. (1995)[50]

3.4.1.1 ชั่งสารสกัด 25 mg นำไปละลายด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมให้ได้ปริมาตร 1000 µL และชั่งโทรลอกซ์ (trolox) เข้มข้น 0.001 g/ 10 mL และปรับระดับความเข้มข้น แล้วเลือกช่วงของความเข้มข้นสารสกัดที่เหมาะสมจำนวน 5 ความเข้มข้นจากนั้นจึงนำมาทดสอบ

3.4.1.2 เติมสารสกัดหรือสารมาตรฐาน ปริมาตร 100 µl

3.4.1.3 เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 mM ปริมาตร 900 µl เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวางไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที

3.4.1.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 515 nm ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ

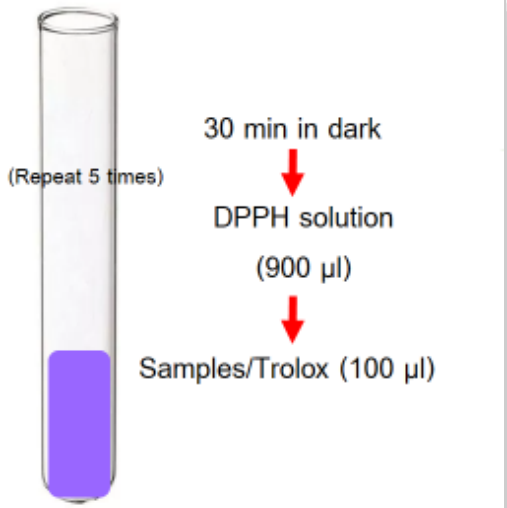
3.4.1.5 นำผลค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการออกซิเดชัน (% inhibition) รายงานค่าเป็น IC_{50} (50 % Inhibitory concentration) และเทียบกับ

สารมาตรฐาน วิตามินซี (ascorbic acid) และ trolox เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition)

$$\% \text{ DPPH radical inhibition} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*)

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*)



ภาพประกอบ 6 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

3.4.2 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay

ดัดแปลงวิธีการจาก Re *et al*,. (1999)[12]

3.4.2.1 ชั่งสารสกัด 25 mg นำไปละลายด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมให้ได้ปริมาตร 1000 µL และชั่งโทรลอกซ์ (trolox) เข้มข้น 0.001 g/ 10 mL และปรับระดับความเข้มข้น แล้วเลือกช่วงของความเข้มข้นสารสกัดที่เหมาะสมจำนวน 5 ความเข้มข้นจากนั้นจึงนำมาทดสอบ

3.4.2.2 เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM ด้วยการเปลี่ยนอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยสารละลาย Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ในอัตราส่วน 1:0.5 ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 16 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้

3.4.2.3 เจือจางสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1: 50 ตามลำดับ นำสารสกัดปริมาตร 100 µl

3.4.2.4 เติมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ 900 µl เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที

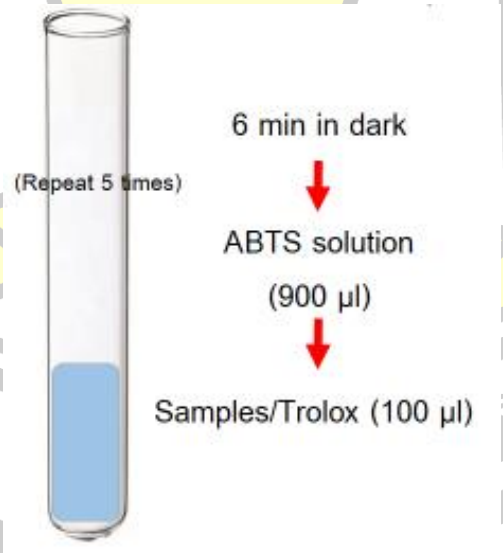
3.4.2.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 734 nm ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ

3.4.2.6 นำผลค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการออกซิเดชัน (% inhibition) รายงานค่าเป็น IC_{50} (50 % Inhibitory concentration) และเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ของการต้านอนุมูลอิสระ (% ABTS radical inhibition)

$$\% \text{ ABTS radical inhibition} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*)

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*)



ภาพประกอบ 7 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

3.4.3 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

ดัดแปลงวิธีการจาก Benzie *et al*,. (1996)[51]

3.4.3.1 ชั่งสารสกัด 25 mg นำไปละลายด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมให้ได้ปริมาตร 1000 µL และชั่งโทรลอกซ์ (trolox) เข้มข้น 0.001 g/ 10 mL และปรับระดับความเข้มข้นแล้วเลือกช่วงของความเข้มข้นสารสกัดที่เหมาะสมจำนวน 5 ความเข้มข้นจากนั้นจึงนำมาทดสอบ

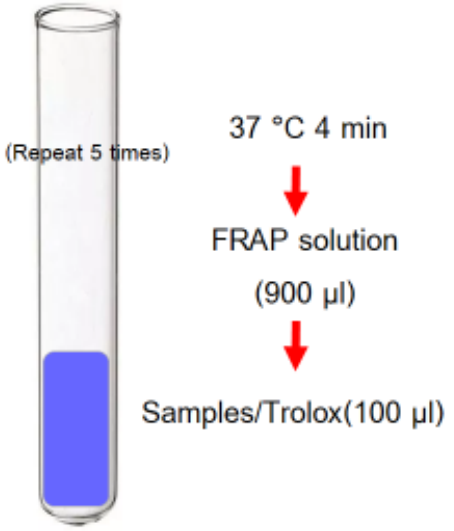
3.4.3.2 เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลาย 300 mM Acetate buffer (pH 3.6): 10 mM TPTZ (Tripyridyltriazine solution): 20 mM $FeCl_3.6H_2O$ (Ferric choride solution) ในอัตราส่วน 10: 1: 1 ตามลำดับ แล้วเขย่าให้เข้ากัน

3.4.3.3 นำสารสกัดหรือสารมาตรฐานมา 100 µl

3.4.3.4 เติมสารละลาย FRAP ที่เตรียมเอาไว้ ปริมาตร 900 µl แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4 นาที

3.4.3.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 nm ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ

3.4.3.6 นำผลค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยใช้ trolox เป็นสารมาตรฐานรายงานเป็นหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (trolox equivalents, mg TE/g)



ภาพประกอบ 8 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านเบาหวาน

3.5.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (alpha-glucosidase)

ดัดแปลงจาก Dong HQ *et al,*. (2012)[52] โดยในการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (alpha-glucosidase) จะใช้ p-nitrophenyl-alpha-D-glucopyranoside (PNP-G) เป็นสารละลายที่ไม่มีสี ทำหน้าที่เป็น substrate ในปฏิกิริยา เมื่อมีเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส PNP-G จะถูกไฮโดรไลซ์ไปเป็น p-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายใสสีเหลือง และน้ำตาลกลูโคสซึ่งสามารถตรวจสอบโดยใช้เทคนิค colorimeter โดยใช้เครื่องมือ UV-Vis spectrophotometer ถ้าผลการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงมาก แสดงว่าเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ถ้าการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อย แสดงว่าเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสทำงานผิดปกติ นั่นคือ เอนไซม์ถูกยับยั้งการทำงานด้วยสารที่สกัดได้จากสมุนไพรชนิดนั้น[53] ดังนั้นการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส จึงเป็นวิธีการเบื้องต้นในการทดสอบพืชสมุนไพรได้อย่างมีประสิทธิภาพ[54] ซึ่งเทียบกับสารมาตรฐานอะคาร์โบสเป็นตัวควบคุมบวก

3.5.1.1 การเตรียมสารละลาย

1) เตรียม 0.1 M potassium phosphate buffer pH 6.8

2) เตรียมเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส 1 unit/ml ใน 0.1 M potassium phosphate buffer pH 6.8 โดยเก็บไว้ในขวดสีหรือหุ้มด้วยกระดาษฟรอยด์

3) เตรียม p-nitrophenyl- alpha -D-glucopyranoside (PNP-G substate) ความเข้มข้น 2 mM ใน 0.1 M potassium phosphate buffer pH 6.8

4) เตรียม Na_2CO_3 ความเข้มข้น 1 mM ใน 0.1 M potassium phosphate buffer pH 6.8

5) เตรียมสารมาตรฐาน acarbose ปริมาตร 5 mg/ml ใน 0.1 M potassium phosphate buffer pH 6.8 และปรับระดับความเข้มข้นเป็น 10 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.001-5 mg/ml

3.5.1.2 วิธีการทดลอง

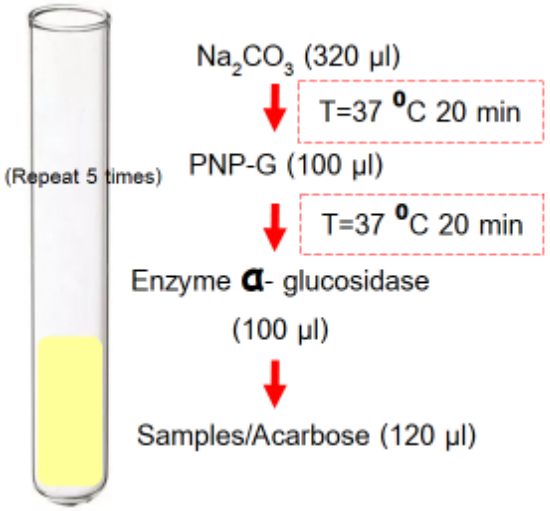
นำสารสกัดหรือสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 120 µl เติมเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิ-เดส 100 µl เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C 20 นาที จากนั้นเติม PNP-G 100 µl เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C 20 นาที สุดท้ายเติมด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 320 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 405 nm และคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (% alpha -glucosidase inhibition) พร้อมรายงานผลด้วยค่า IC_{50} (50 % Inhibitory concentration) เทียบกับสารมาตรฐาน acarbose

% alpha -glucosidase inhibition = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด

คำนวณหาค่า IC_{50} (ความเข้มข้นของสารสกัด ที่สามารถยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสได้ร้อยละ 50)



ภาพประกอบ 9 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (alpha-amylase)

ดัดแปลงวิธีจาก ศริญญา อัครไชยสิทธิ์, (2551)[55] การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (alpha-amylase) เพื่อเป็นการตรวจสอบการการไฮโดรไลซ์ โดยใช้สารตั้งต้น คือ แป้ง ให้เป็นผลิตภัณฑ์ คือ reducing sugar เช่น มอลโทส ซึ่งทำปฏิกิริยากับ DNS reagent สามารถตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 nm หากการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงมาก หมายถึง เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส สามารถย่อยแป้งให้เป็นผลิตภัณฑ์ได้มาก แสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้น้อย แต่หากค่าการดูดกลืนแสงน้อย หมายถึงเอนไซม์

แอลฟาอะไมเลส สามารถย่อยแป้งให้เป็นผลิตภัณฑ์ได้น้อย แสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้มาก

3.5.2.1 การเตรียมสารละลาย

1) เตรียมสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาตร 1 ml ด้วยน้ำกลั่น

2) เตรียมสารละลายแป้งที่ความเข้มข้น 1% W/V โดยชั่งแป้ง 0.25 g ละลายด้วยน้ำเดือดจนมีปริมาตรเป็น 25 ml เป็นสารตั้งต้น

3) เตรียมสารละลาย sodium phosphate buffer pH 6.9 โดยชั่ง sodium choride (NaCl) 32.2 mg และ sodium phosphate (Na_3PO_4) 0.24 g ละลายด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตร 100 ml ปรับ pH เป็น 6.9 ด้วย NaOH ความเข้มข้น 1 mole

4) เตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 3 unit/ml โดยชั่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ปริมาณ 9.49 mg ละลายด้วย sodium phosphate buffer pH 6.9 จนมีปริมาตร 50 ml

5) นำสารละลายของเอนไซม์ที่ได้มาใส่หลอดทดลองขนาดเล็ก นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบ เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นดูดเฉพาะส่วนใส ใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก แล้วเก็บไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 °C

6) เตรียมสารละลาย 1% DNS โดยชั่ง 3,5-dinitrosalicylic acid 1.0 g sodium sulphate 0.05 g sodium hydroxide 1.0 g phenol 0.2 g ละลายด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตร 100 ml

7) เตรียมสารละลาย 40 % sodium potassium tartrate โดยชั่ง sodium potassium tartrate 40 g ละลายด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตร 100 ml

3.5.2.2 วิธีการทดลอง

1) นำสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (alpha-amylase) ปริมาตร 150 µl

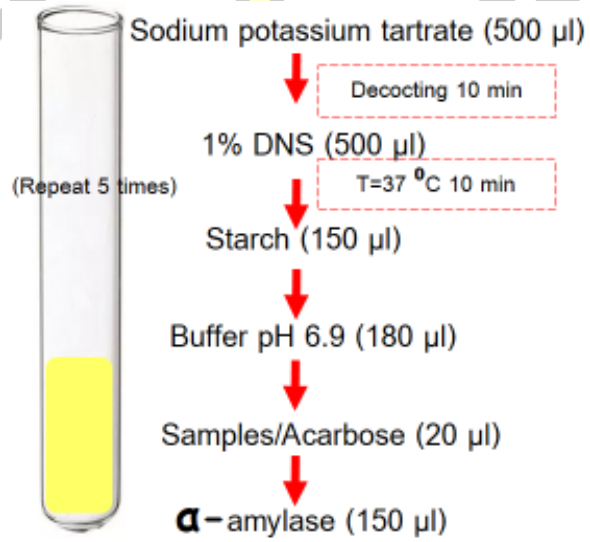
2) เติมสารสกัดหรือสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 20 µl

3) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 6.9 ปริมาตร 180 µl ผสมกับสารละลายแป้งปริมาตร 150 µl แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 10 นาที

4) เติมสารละลาย 1% DNS ปริมาตร 500 µl แล้วนำไปต้มเป็นเวลา 10 นาที

5) เติมสารละลาย sodium potassium tartrate ปริมาตร 500 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา

6) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 nm แล้วนำไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (% alpha-amylase inhibition) พร้อมรายงานผลด้วยค่า IC_{50} (50 % inhibitory concentration) เทียบกับสารมาตรฐาน acarbose



ภาพประกอบ 10 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ (mean± standard derivation) ความแปรปรวนทางเดียว (analysis of varience (ANOVA)) วิเคราะห์ความแตกต่างของสารสกัดต่างตัวทำละลายและวิธีในการทดสอบ ด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) ที่ *P*-value < 0.05 คำนวณค่าสถิติและหาความสำคัญของข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS Version 23.0

ดัดแปลง... (2013, 56)

พหุน ปณฺฑิโต ชีเว

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปราย

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดจากงิ้วป่าดอกแดง ดังนี้

4.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

4.2 ปริมาณสารสกัดแห้งจากงิ้วป่าดอกแดง

4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

4.4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

4.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

4.6 ฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

4.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

การสกัดส่วน ใบ ดอก และเปลือกต้นของงิ้วป่าดอกแดงด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่า ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดส่วนใบ ดอก เปลือกสกัดด้วยน้ำกลั่น ส่วนดอกและเปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 50% และ เอทานอล 95% มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลเข้ม ส่วนใบสกัดด้วยเอทานอล 50% และ เอทานอล 95% มีลักษณะเป็นผงสีเขียวเข้ม ดังภาพประกอบ 4.1

ภาพประกอบ 11 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

ที่มา : นุรารัตน์ กรีอินทอง, 2563

หมายเหตุ : ALE = ใบสกัดด้วยน้ำกลั่น, AFE = ดอกสกัดด้วยน้ำกลั่น, ABE = เปลือกต้นสกัดด้วยน้ำกลั่น, HELE = ใบสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 50%, ELF = ใบสกัดด้วยเอทานอล 95%,EFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 95%, EBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 95%

4.2 ปริมาณสารสกัดแห้งจากงิ้วป่าดอกแดง

จากการทดลองเมื่อนำงิ้วป่าดอกแดงแห้งมาสกัดด้วยน้ำกลั่น เอทานอล 50% และเอทานอล 95% โดยใช้อัตราส่วนผงงิ้วป่าดอกแดง 100 g ต่อน้ำกลั่น 1000 ml หรือ 50 เปอร์เซ็นต์เอทานอล และเอทานอล 95% 400 ml เมื่อทำการสกัดเสร็จเรียบร้อยจะได้สารสกัดหยาบ (crude extracts) โดยมีร้อยละผลผลิตดังนี้ สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 50% (HEFE) มีร้อยละผลผลิต (%W/W) มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 20.31% รองลงมาคือ สารสกัดใบด้วยเอทานอล 50% (HELE) เท่ากับ 15.01% สารสกัดใบด้วยน้ำกลั่น (ALE) เท่ากับ 14.47% สารสกัดใบด้วยเอทานอล 95% (ELE) เท่ากับ 9.64% สารสกัดดอกด้วยน้ำกลั่น (AFE) เท่ากับ 8.35% สารสกัดเปลือกต้นด้วยน้ำกลั่น (ABE) เท่ากับ 7.78% สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95% (EFE) เท่ากับ 5.06% สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50% (HEBE) เท่ากับ 2.70% และสารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95% (EBE) เท่ากับ 1.35% ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*Bombax ceiba*)

สารสกัดของงิ้วป่าดอกแดง	ร้อยละผลผลิต (%W/W)
ALE	14.47
AFE	8.35
ABE	7.78
HELE	15.01
HEFE	20.31
HEBE	2.70
ELE	9.64
EFE	5.06
EBE	1.35

หมายเหตุ : ALE = ใบสกัดด้วยน้ำกลั่น, AFE = ดอกสกัดด้วยน้ำกลั่น, ABE = เปลือกต้นสกัดด้วยน้ำกลั่น, HELE = ใบสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 50%, ELF = ใบสกัดด้วยเอทานอล 95%, EFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 95%, EBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 95%

4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

จากการทดลองหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) พบว่าสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด คือ EBE เท่ากับ 8.05±0.29 mgGAE/g รองลงมาคือ HEBE, EFE, ELE, ABE, HEFE, HELE, AFE และ ALE เท่ากับ 3.39±0.33, 2.73 ± 0.06, 1.67 ± 0.03, 1.21±0.06, 1.15 ± 0.02, 1.01 ± 0.01, 0.82 ± 0.01, 0.09 ± 0.00 mgGAE/g ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงแต่ละตัวทำละลายมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ ดังแสดงในตาราง 4

4.4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

จากการทดลองหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) พบว่าสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด คือ EBE เท่ากับ 130.09±6.38 mgQE/g รองลงมา คือ HEBE, EFE, ELE, HEFE, HELE, ABE, AFE, ALE เท่ากับ 49.79±2.93, 28.25 ± 2.33, 16.87 ± 2.67, 16.33 ± 0.49, 13.22 ± 3.15, 12.32±0.76, 8.71 ± 0.59, 1.34 ± 0.09 mgQE/g ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงแต่ละตัวทำละลายมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ ดังแสดงในตาราง 4

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

ตาราง 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง *(Bombax ceiba)*

สารสกัดงิ้วป่าดอกแดง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม[A] (mgGAE/g)	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม[B] (mgQE/g)
ALE	0.09 ± 0.00[a]	1.34 ± 0.09[a]
AFE	0.82 ± 0.01[b]	8.71 ± 0.59[b]
ABE	1.21±0.06[c]	12.32±0.76[b,c]
HELE	1.01 ± 0.01[b,c]	13.22 ± 3.15[c,d]
HEFE	1.15 ± 0.02[c]	16.33 ± 0.49[d]
HEBE	3.39±0.33[d]	49.79±2.93[e]
ELE	1.67 ± 0.03[e]	16.87 ± 2.67[d]
EFE	2.73 ± 0.06[f]	28.25 ± 2.33[f]
EBE	8.05±0.29[g]	130.09±6.38[g]

หมายเหตุ : ALE = ใบสกัดด้วยน้ำกลั่น, AFE = ดอกสกัดด้วยน้ำกลั่น, ABE = เปลือกต้นสกัดด้วยน้ำกลั่น, HELE = ใบสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 50%, ELF = ใบสกัดด้วยเอทานอล 95%,EFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 95%, EBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 95%

a–f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p \leq 0.05$)

A = ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.) เมื่อ n=5 หน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mgGAE/g)

B = ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.) เมื่อ n=5 หน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิติน ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mgQE/g)

4.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

4.5.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay

จากการทดลองการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) วิธี DPPH assay พบว่า EBE และ ELE มีความสามารถการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.012±0.0002 และ 0.012±0.0003 mg/ml ตามลำดับ รองลงมา คือ HEBE, ABE, HEFE, HELE, EFE, AFE, ALE เท่ากับ 0.014±0.000, 0.016±0.000, 0.019±0.000, 0.022±0.001, 0.024±0.000,

0.025±0.000, 0.114±0.007 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดทั้ง 9 ชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐาน ascorbic มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.004±0.000 mg/ml และสารมาตรฐาน trolox มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.016±0.001 mg/ml ยกเว้น EBE, ELE, HEBE, ABE มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐาน trolox อย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ ดังแสดงในตาราง 5

4.5.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี 2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay

จากการทดลองการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*Bombax ceiba*) วิธี ABTS assay พบว่า EBE มีความสามารถการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.001±0.000 mg/ml ตามลำดับ รองลงมา คือ HEBE, ABE, ELE, HELE, AFE, EFE, HEFE, ALE เท่ากับ 0.001±0.000, 0.001±0.000, 0.009±0.001, 0.018±0.000, 0.020±0.001, 0.027±0.001, 0.037±0.000, 0.096±0.011 mg/ml ตามลำดับ ซึ่ง EBE, HEBE, ABE, ELE มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารมาตรฐาน ascorbic (ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.002±0.000 mg/ml) และสารมาตรฐาน trolox (ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.009±0.001 mg/ml) อย่างมีนัยสำคัญ $P<0.05$ ดังแสดงในตาราง 5

4.5.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

จากการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) วิธี FRAP assay แสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อน้ำหนักสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงแห้ง 1 g พบว่า สารสกัด EFE มีความสามารถในการถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ 349.272 ± 35.163 mgTE/g รองลงมา คือ EBE, HEBE, HELE, AFE, HEFE, ELE, ABE, ALE มีความสามารถในการถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เท่ากับ 258.696±29.209, 116.595±23.051, 113.197 ± 12.725, 112.141 ± 10.504, 102.501 ± 6.256, 94.545 ± 1.788, 50.256±0.426, 30.042 ± 0.639 mgTE/g ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ ดังแสดงในตาราง 5

พหูน ปณ ฑิโต ชีเว

ตาราง 5 ผลการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง *(Bombax ceiba)*

สารสกัดของงิ้วป่าดอกแดง	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ		
	DPPH (IC_{50}*(mg/mL))	ABTS (IC_{50}*(mg/mL))	FRAP[A] (mgTE/g)
ALE	0.114±0.007[a]	0.096±0.011[a]	30.042 ± 0.639[a]
AFE	0.025±0.000[b]	0.020±0.001[b]	112.141 ± 10.504[b]
ABE	0.016±0.000[c]	0.001±0.000[c]	50.256±0.426[a]
HELE	0.022±0.001[d,e]	0.018±0.000[b]	113.197 ± 12.725[b]
HEFE	0.019±0.000[e]	0.037±0.000[d]	102.501 ± 6.256[b]
HEBE	0.014±0.000[f,g]	0.001±0.000[c]	116.595±23.051[b]
ELE	0.012±0.000[g]	0.009±0.001[e]	94.545 ± 1.788[b]
EFE	0.024±0.000[b,d]	0.028±0.001[f]	349.272 ± 35.163[c]
EBE	0.012±0.000[g]	0.001±0.000[c]	258.696±29.209[d]
Trolox	0.016±0.001[c,f]	0.009±0.001[e]	
Ascorbic	0.004±0.000[h]	0.002±0.000[c]	

หมายเหตุ : ALE = ใบสกัดด้วยน้ำกลั่น, AFE = ดอกสกัดด้วยน้ำกลั่น, ABE = เปลือกต้นสกัดด้วยน้ำกลั่น, HELE = ใบสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 50%, ELF = ใบสกัดด้วยเอทานอล 95%,EFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 95%, EBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 95%

a–f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p \leq 0.05$)

A = ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.) เมื่อ n=5 หน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mgTE/g)

*การวิเคราะห์วิธี DPPH และ ABTS แสดงค่า IC_{50} มีหน่วยเป็น mg/mL เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid และ trolox

4.6 ฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

4.6.1 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส

จากการทดลองการหาฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธียับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน อะคาร์โบส (acarbose) ซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวาน พบว่า EFE มีความสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสสูงที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ

0.0013±0.0012 mg/ml รองลงมา คือ EBE, HEBE, AFE, HEFE, ABE, HELE, ALE, ELE เท่ากับ 0.0022±0.0000, 0.0017±0.0000, 0.0017±0.0006, 0.0034±0.0004, 0.0156±0.0005c, 0.1211±0.0022, 0.1752±0.0027, 0.1870±0.0088 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดทั้ง 9 ชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสดีกว่าสารมาตรฐาน acarbose ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.2015±0.0183 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ ดังแสดงในตาราง 6

4.6.2 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

จากการทดลองการหาฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธียับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน อะคาร์โบส (acarbose) ซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวาน พบว่า EFE มีความสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสสูงที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0002±0.0001 mg/ml รองลงมา คือ HEBE, ELE, HEFE เท่ากับ 0.0010±0.0001, 0.0012 ±0.0009, 0.0024±0.0002 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดทั้ง 4 ชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสดีกว่าสารมาตรฐาน acarbose ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0020±0.0004 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ และพบว่าสารสกัด ALE, AFE, ABE, HELE และ EBE ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ดังแสดงในตาราง 6

ตาราง 6 ผลการหาฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*Bombax ceiba*)

สารสกัดของงิ้วป่าดอกแดง	ฤทธิ์ต้านเบาหวาน	
	alpha-glucosidase (IC_{50}*(mg/mL))	alpha-amylase (IC_{50}*(mg/mL))
ALE	0.1752±0.0027[a]	ND**
AFE	0.0017±0.0006[b]	ND**
ABE	0.0156±0.0005[c]	ND**
HELE	0.1211±0.0022[d]	ND**
HEFE	0.0034±0.0004[b]	0.0024±0.0002[a]
HEBE	0.0017±0.0000[b]	0.0010±0.0001[b]
ELE	0.1870±0.0088[e]	0.0012±0.0009[b]
EFE	0.0013±0.0012[b]	0.0002±0.0001[c]
EBE	0.0022±0.0000[b]	ND**
acarbose*	0.2015±0.0183[f]	0.0020±0.0004[a]

หมายเหตุ : ALE = ใบสกัดด้วยน้ำกลั่น, AFE = ดอกสกัดด้วยน้ำกลั่น, ABE = เปลือกต้นสกัดด้วยน้ำกลั่น, HELE = ใบสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 50%, HEBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 50%, ELF = ใบสกัดด้วยเอทานอล 95%, EFE = ดอกสกัดด้วยเอทานอล 95%, EBE = เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 95%

a–f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p \leq 0.05$) แสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.)เมื่อ $n=5$ ค่าความเชื่อมั่นอย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$

*การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านเบาหวานแสดงค่า IC_{50} มีหน่วยเป็น mg/mL เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose

**ND (Not determined) คือ ไม่สามารถหาค่าการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

บทที่ 5
บทสรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากงิ้วป่าดอกแดงได้สรุปและอภิปรายผลการวิจัยตามหัวข้อดังต่อไปนี้

5.1 บทสรุป

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.1 บทสรุป

งานวิจัยนี้มุ่งที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเบาหวานในหลอดทดลองของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) รวมถึงการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมโดยใช้ส่วนใบ ดอก และเปลือกต้น จากการทดลองได้ข้อสรุปดังนี้

1. สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 95%,สารสกัดเปลือกต้นด้วยน้ำกลั่น, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดดอกด้วยน้ำกลั่น และสารสกัดใบด้วยน้ำกลั่น ตามลำดับ

2. เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดเปลือกต้นด้วยน้ำกลั่น,สารสกัดดอกด้วยน้ำกลั่น และสารสกัดใบด้วยน้ำกลั่น ตามลำดับ

3. จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถสรุปผลการทดลอง ดังนี้

เมื่อใช้อนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ พบว่า สารสกัดจากเปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 95% และใบสกัดด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดและมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดเปลือกต้นด้วยน้ำกลั่น, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดดอกด้วยน้ำกลั่น และสารสกัดใบด้วยน้ำกลั่น ตามลำดับ

เมื่อใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ พบว่า สารสกัดจากเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดและมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดเปลือกต้นด้วยน้ำกลั่น, ใบสกัดด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 50%, สาร

สกัดดอกด้วยน้ำกลั่น, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 50%, และสารสกัดใบด้วยน้ำกลั่นตามลำดับ

เมื่อใช้อนุมูลอิสระ ferric-tripyridyltriazine (Fe^{3+}) พบว่า ดอกสกัดด้วยเอทานอล 95% มีความสามารถในการถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดจากเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดดอกด้วยน้ำกลั่น, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดเปลือกต้นด้วยน้ำกลั่น และสารสกัดใบด้วยน้ำกลั่น ตามลำดับ

4. จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวาน

เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส พบว่า ดอกสกัดด้วยเอทานอล 95% มีความสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสสูงที่สุดและมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดจากเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95%, สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดดอกด้วยน้ำกลั่น, สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดเปลือกต้นด้วยน้ำกลั่น, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดใบด้วยน้ำกลั่น และสารสกัดใบด้วยเอทานอล 95% ตามลำดับ

เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส พบว่า ดอกสกัดด้วยเอทานอล 95% มีความสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสสูงที่สุดและมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50%, สารสกัดใบด้วยเอทานอล 95% และสารสกัดดอกด้วยเอทานอล 50% ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดใบ ดอก และเปลือกต้นด้วยน้ำกลั่น สารสกัดใบด้วยเอทานอล 50% และสารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95% ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

5.2 อภิปรายผลการทดลอง

ร้อยละผลผลิตของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงของแต่ละตัวทำลายมีความแตกต่างกัน แสดงถึงความสามารถของตัวทำละลายในการดึงสารสำคัญออกจากพืช เนื่องจากสารแต่ละชนิดมีโครงสร้างที่แตกต่างกัน สามารถละลายในตัวทำละลายได้แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องใช้ตัวทำละลายที่มีความหลากหลาย ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 50% และเอทานอล 95% จะเห็นได้ว่าตัวทำละลาย เอทานอล 50% เป็นตัวทำละลายที่รวมระหว่างน้ำกลั่นกับเอทานอล 95% ซึ่งตัวทำละลายดังกล่าวจึงถูกนำมาใช้เปรียบเทียบถึงประสิทธิภาพในการสกัดสาร โดยจากการทดสอบ พบว่าร้อยละผลผลิตที่ได้ที่สามารถสกัดสารได้ปริมาณสารสกัดแห้งมากที่สุด คือ เอทานอล 50% > น้ำกลั่น > เอทานอล 95% ตามลำดับ โดยน้ำกลั่นสามารถสกัดสารได้ปริมาณใกล้เคียงกับเอทานอล 50% สอดคล้องกับการนำไปใช้งานในทางพฤกษศาสตร์พื้นบ้านที่สามารถสกัดสารจากสมุนไพร โดยใช้น้ำซึ่งสามารถจัดหาได้ง่ายกว่าเอทานอล 50% แต่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ซึ่ง

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Thongmee *et al.*, (2015) ได้กล่าวถึงการนำดอกของต้นงิ้วป่าดอกแดงมาประกอบอาหารโดยการต้ม เช่น น้ำเงี้ยว ดอกงิ้วต้มทานกับน้ำพริก ซึ่งเป็นที่นิยมของชาวภาคเหนือของประเทศไทย(ชาวล้านนา)[57] ทั้งนี้หากต้องการเลือกนำตัวทำลายไปสกัดสารจากงิ้วป่าดอกดอกในระดับอุตสาหกรรมจึงควรใช้ น้ำกลั่น หรือ เอทานอล 50% เพื่อประสิทธิภาพในการดึงสารสำคัญออกมาได้ปริมาณมาก

จากการทดสอบการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง โดยสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ต้านเบาหวาน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของทั้ง ใบ ดอก และเปลือกต้น พบว่า สารสกัดงิ้วป่าดอกแดงที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด คือ เปลือกต้นสกัดด้วยเอทานอล 95% เท่ากับ 130.09±6.38 mgQE/g ขณะเดียวกันก็มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด เท่ากับ 8.05±0.29 mgGAE/g ซึ่ง Faizia *et al.*, (2011) พบว่าเปลือกต้นงิ้วป่าดอกแดงมีสารชามิมินอล (Shamiminol) ซึ่งสารองค์ประกอบที่สำคัญและเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลและมีโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติก[40] Saleem *et al.*, (2003) ศึกษาสารลูพีออล (lupeol) ของเปลือกต้นงิ้วป่าดอกแดงต่อภาวะความดันโลหิตต่ำ พบว่าสารลูพีออล (lupeol) เป็นสารประกอบฟีนอลิกประเภทไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids)[58] และ Ruiz-Montañez *et al.*, (2014) ได้ศึกษาสารสำคัญสารแมนจิเฟอร์ริน (mangiferin) และ สารลูพีออล (lupeol) จากมะม่วง พบว่า สารลูพีออล (lupeol) ใช้ต้านโรคต่างๆ เช่น โรคข้อเสื่อมและรูมาตอยด์ โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน รวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น[59] ขณะเดียวกันส่วนดอกที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ก็มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงรองลงมาจากเปลือกต้น ซึ่ง Nakashima *et.al.*, (2018) และ Joshi *et.al.*, (2013) ได้ทำการทดสอบหาสารองค์ประกอบสำคัญของดอกงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) สกัดด้วยเมทานอล พบว่าประกอบด้วยสารประกอบฟลาโวนอยด์ ได้แก่ แคมเฟอร์รอล(kaempferol) และเคอร์ซิติน(quercetin) รูติน (rutin) ไวทีซิน(vitexin) ไอโซไวทีซิน(isovitexin) และไวซีนิน(vicenin)[60,61] ทั้งนี้สารประกอบฟลาโว-นอยด์ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงจะพบในดอกที่มีสีสันสดใส เช่น สีแดง สีส้ม สีเหลืองส้ม สามารถบอกได้เบื้องต้นว่าส่วนดอกมีสารประกอบฟลาโวนอยด์[25]

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay วิธี 2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay พบว่า วิธี DPPH สารสกัดเปลือกต้นและสารสกัดใบด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.012±0.000 และ 0.012±0.000 เช่นเดียวกับ วิธี ABTS ที่สารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.001±0.000 mg/ml จะเห็นได้ว่าเปลือก

ต้นและใบสกัดด้วย 95% เอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงเช่นกัน ทั้งนี้ Wahab *et.al.,* (2014) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสารสกัดเปลือกต้นงิ้วป่าดอกแดงด้วยเมทานอลในหนู swiss albino พบว่าหนูสามารถสร้างแอนติบอดีได้ดีและช่วยเพิ่มการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระชนิด GSH, SOD และ CAT[62] Stoilova *et.al.,* (2011) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร mangiferin พบว่า ด้วยวิธี thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ซึ่งสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลได้[63] และ Guang-Kai *et.al.,* (2017) ศึกษาฤทธิ์ต้านโรคไตจากเบาหวานของสกัดใบงิ้วด้วยเอทานอลและสาร mangiferin (องค์ประกอบเคมีหลักของใบงิ้ว) ในหนูที่เป็นโรคไตจากเบาหวานถูกชักนำด้วยสาร streptozotocin พบว่า สารสกัดใบด้วยเอทานอลประกอบด้วยสาร mangiferin สามารถยับยั้งการเกิดโรคแทรกซ้อนจากเบาหวานซึ่งมีสาเหตุหนึ่งมาจากสารอนุมูลอิสระในร่างกายได้[45]

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay พบว่า สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95% มีความสามารถในการถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ 349.27 ± 35.16 mgTE/g มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม ซึ่งผลการทดสอบนี้คล้ายกับงานวิจัยก่อนหน้าโดยทำการศึกษาสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิจากธรรมชาติที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ[64] และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tundisa *et al.,* (2014) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกงิ้วป่าดอกแดง (*B. ceiba*) ด้วยเอทานอล 50% วิธี FRAP พบว่าสารสกัดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ[65]

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มระดับน้ำตาลในเลือดให้สูงขึ้นหลังรับประทานอาหาร และไม่ส่งผลดีต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หากเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดทำงานได้ปกติ จากการทดสอบพบว่า สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95% ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสมากที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0013±0.0012 และ 0.0002±0.0001 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสารมาตรฐานคือยา acarbose ซึ่งเป็นยาใช้ลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน นอกจากนี้ สารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95% ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์สูง ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสและนำไปสู่การต้านโรคเบาหวาน[43] ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดดอกด้วยเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์สูง จึงส่งผลทำให้มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส โดยมีงานวิจัยของ Tadera *et.al.,* (2006) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของสารประกอบฟลาโวนอยด์

(flavonoid) พบว่าหากโครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) จำนวนมากขึ้นจะสามารถช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟลาโวนอยด์กับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้เร็วขึ้นเช่นกัน[43] Ghorbani *et.al.,* (2019) ได้ทำการทดสอบการป้องกันบีต้าเซลล์ของตับอ่อนให้อยู่รอดโดยใช้สารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่า ช่วยต่อต้านไม่ให้เซลล์ถูกทำลายจากน้ำตาลกลูโคส รวมทั้งต้านเบาหวานทำให้ผู้ป่วยมีเบต้าเซลล์ที่แข็งแรงและสามารถทำงานได้อย่างปกติ[66] และจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส พบว่า สารสกัดใบ ดอก และเปลือกต้นที่ด้วยน้ำกลั่น รวมทั้ง สารสกัดใบและเปลือกต้นด้วยเอทานอล 50% ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เนื่องจากการใช้ตัวทำลายที่แตกต่างกันซึ่งมีคุณสมบัติในการดึงสารสำคัญที่ต่างกัน โดยสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วมากหรือขั้วปานกลาง เช่น เอทานอล สามารถดึงสารละลายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสได้ดี[67] โดยจากการศึกษานี้พบว่าตัวทำละลายชนิดเอทานอล 95% มีความสามารถดึงสารสำคัญจากส่วนดอกได้ดีกว่าส่วนอื่นเป็นผลให้ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลส ทั้งนี้หากนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานโดยการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสสามารถนำส่วนดอกซึ่งเป็นส่วนที่นิยมนำมาบริโภคมากกว่าส่วนเปลือกและใบ แล้วนำมาทำการดองด้วยเหล้าหรือต้มด้วยน้ำก็สามารถทำให้ดอกงิ้วป่าดอกแดงมีฤทธิ์ดังกล่าวได้

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 สารสกัดที่ใช้ในการทดลองนี้จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในหลอดทดลอง จึงควรนำไปศึกษาเพิ่มเติมในระดับสัตว์ทดลอง

5.3.2 การนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควรมีการทดสอบความเป็นพิษและผลข้างเคียงต่อร่างกายระยะยาว

5.3.3 ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสารสำคัญของ ใบ ดอก และเปลือกต้นของงิ้วป่าดอกแดงด้วยเทคนิค HPLC

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

1. Kumar A, Bharti SK, Kumar A. Therapeutic molecules against type 2 diabetes. *Pharmacol Reports*. 2017;69(5):959-970.
2. กนกวรรณ จารุกำจร, ทินกร เหล่าออง และวรัญญา จตุพรประเสริฐ. การชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลอง. วารสารไทยเภสัชและวิทยาการสุขภาพ 2554;6(3):229-239.
3. บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. วิทยานิพนธ์หลักสูตร ปริญญาหลักสูตร ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2549
4. Petrov MS. Pancreatology Diabetes of the exocrine pancreas. Pancreatology. 2017:4-7.
5. Hu FB. Globalization of diabetes: The role of diet, lifestyle, and genes. *Diabetes Care.* 2011;34(6):1249-1257.
6. Kumar R, Anjum N, Tripathi YC. Phytochemistry and pharmacology of *Santalum Album* L.: a review. *Res World J Pharm Res* 2015;4(10):1842-1876.
7. Trinh BTD, Staerk D, Jäger AK. Screening for potential **α**-glucosidase and **α**-amylase inhibitory constituents from selected Vietnamese plants used to treat type 2 diabetes. *J Ethnopharmacol*. 2016;186:189-195.
8. Singh A, Chauhan DES, Singh DOP. Anti-hyperlipidaemic effect of *Bombax ceiba* bark and seeds powder on Albino wistar rats. *world J Pharm Pharm Sci*. 2018;7(4).
9. Said A, Aboutabl EA, Nofal SM, Tokuda H, Raslan M. Phytoconstituents and bioctivity evaluation of *Bombax ceiba* L. flowers. *J Tradit Med* 2011;28(2):55-62.
10. Wahab S, Hussain A, Farooqui AHA, Ahmad P, Hussain S, Rizvi A, et al. In vivo antioxidant and immunomodulatory activity of *Bombax ceiba* Bark - focusing on its invigorating effects. American Journal of Advanced Drug Delivery. 2014;2(1):1-13.
11. Jain V, Verma SK. Springer Briefs in Pharmacology and Toxicology. In:Pharmacology of *Bombax ceiba* Linn. Springer Science & Business Media

2012. p. 12-45.

12. Romera-castillo C, Jaff R. Free radical scavenging (antioxidant activity) of natural dissolved organic matter. *Mar Chem* 2015.

13. ศิริธร ศิริอมรพรรณ. สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร (Antioxdant in Food). กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์ 2557.

14. อนันต์ สกุลกิม.อนุมูลอิสระ สารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย. วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ 2551; 8(1):28-33.

15. โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: แอคทีฟ พริ้นต์. 2550.

16. สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และFRAPและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ 2558;106-107.

17. ไมตรี สุทธจิตต์, รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย, วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, ศิริธร ศิริอมรพรรณ, ไชยวัฒน์ ไชยสุต, สุพัตรา ปรศุพัฒนา และคณะ. อมุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพสำนักพิมพ์ 2555.

18. วีรศักดิ์ ศรินนภากร, ชัยชาญ ดีโรจนวงศ์, ทองคำ สุนทรเทพวรากุล และสถิต นิรมิตรมหาปัญญา. โรคเบาหวาน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์กรุงเทพเวชสาร. 2553.

19. วราภณ วงศ์ถาวราวัฒน์ และวิทยา ศรีดามา. การวินิจฉัยและการแบ่งประเภทเบาหวาน : การดูแลรักษาเบาหวานแบบองค์รวม.กรุงเทพฯ: ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2549.

20. ธิติ สนับบุญ. กลไกการเกิดเบาหวานชนิดที่ 1 : การดูแลรักษาเบาหวานแบบองค์รวม. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2549.

21. จิตบรรจง ตั้งปอง1, อุทัย ไตรอภิรักษ์, วรางคณา จุ้งลก, ดารารัตน์ ปันวงศ์ และธัญลักษณ์ พลายด้วง. อุบัติการณ์กลุ่มอาการเมแทบอลิคในพนักงานมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จากการตรวจสุขภาพประจำปี. *Journal of Health Research* 2549 22(4), 173-179.

22. Duru KC, Kovaleva EG, Danilova IG, van der Bijl P, Belousova A V. The potential beneficial role of isoflavones in type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res* 2018;59:1-15.

23. วันดี กฤษณพันธ์ และ พีรนุช มั่งมีศรี. สมุนไพรลดน้ำตาลในเลือด. วารสารเภสัชกรรมชุมชน. 25528;(45):16-24.

24. Valdés S, Botas P, Delgado E, Álvarez F, Diaz F. Does the new American Diabetes Association definition for impaired fasting glucose improve its ability to predict type 2 diabetes mellitus in Spanish persons. *The Asturias Study* 2008;57:399-403.

25. จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก. สมุนไพรบำบัดเบาหวาน 150 ชนิด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: เซเว่น พริ้นติ้ง กรุ๊ป 2552.

26. สุพจน์ พงศ์ประสบชัย และ รังสรรค์ ฤกษ์นิมิตร. Pancreas. กรุงเทพฯ: สาขาวิชาโรคระบาดทางเดินอาหาร คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล 2560.

27. Vakilian M, Tahamtani Y, Ghaedi K. A review on insulin trafficking and exocytosis. *Gene* 2019:52-61.

28. Ahmed I, Lakhani MS, Gillett M, John A, Raza H. Hypotriglyceridemic and hypocholes- terolemic effects of anti-Diabetic *Momordica charantia* (Karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats, Diabetes *Research and Clinical Practice* 2001;51(3):61-155.

29. รัตนา อินทรานุปกรณ์. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2550.

30. วสกร บัลลังก์โพธิ์. สารสกัดจากพืชควบคุมแมลง. กรุงเทพฯ: สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2561.

31. Samuel AJSJ, Kalusalingam A, Chellappan DK, Gopinath R, Radhamani S, Husain HA, et al. Ethnomedical survey of plants used by the Orang Asli in Kampung Bawong, Perak, West Malaysia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2010;6:1-6

32. Saleem R, Ahmad SI, Ahmed M, Faizi Z, Zikr-Ur-Rehman S, Ali M, et al. Hypotensive activity and toxicology of constituents from *Bombax ceiba* stem bark. *Biol. Pharm. Bull* 2003;26(1):41-46.

33. Stoilova I, Jirovetz L, Stoyanova A, Krastanov A, Gargova S, Ho L. Antioxidant activity of the polyphenol mangiferin. *Electronic Journal of Environment, Agricultural and Food Chemistry* 2008;7(13):2706-2716.

34. Wang RR, Gao YD, Ma CH, Zhang XJ, Huang CG, Huang JF, et al. an Anti-HIV-1 agent targeting protease and effective against resistant strains. *Molecules* 2011;16:4264-4277.

35. Habtemariam S. alpha-glucosidase inhibitory activity of kaempferol-3-O-rutinoside. *Natural Product Communications* 2011;6(2):201-203.

36. Okoko T, Oruambo IF. Inhibitory activity of quercetin and its metabolite on lipopoly-saccharide-induced activation of macrophage U937 cells. *Food and Chemical Toxicology* 2009;47:809–812.

37. Min YS, Yim SH, Bai KL, Choi HJ, Jeong JH, Song HJ, et al. The effects of apigenin-7-O-beta-D-glucuronopyranoside on reflux oesophagitis and gastritis in rats. *Autonomic & Autacoid Pharmacology* 2005;25:85–91.

38. Belal H, Yesmin R, Mamun A, Hasan N, Islam D, Islam A, et al. In vitro comprehensive analysis of phytochemical screening, antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic avtivities of three different plants of Bangladesh. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences* 2017;3(7): 39-48.

39. Bhavsar CJ, Talele GS. Potential anti-diabetic activity of *Bombax ceiba*. Bangladesh journal of pharmacology. 2013;8:102-106.

40. Faizi S, Zikr-ur-rehman S, Versiani MA. Shamiminol : a new aromatic glycoside from the stem bark of *Bombax ceiba*. *Natural Product Communications* 2011;6(12):1897-1900.

41. Gupta P, Goyal R, Chauhan Y, Sharma PL. Possible modulation of FAS and PTP-1B signaling in ameliorative potential of *Bombax ceiba* against high fat diet induced obesity. BMC complementary and alternative medicine. 2013;13(1):1-9.

42. Barakat MMA, El-Boghdady NA, Farrag EKE, Said AA, Shaker SE. Protective and curative effects of *Bombax ceiba* flower and *Ziziphus spina christi* fruit extracts on gastric ulcer. Journal of Biological Sciences. 2019;19(2):161-172.

43. Tadera KT, Inami YM, Akamatsu KT, Atsuoka TM. Inhibition of alpha -glucosidase and alpha -amylase by Flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol* 2006;52:149–153.

44. Vieira TO, Said A, Aboutabl E, Azzam M, Tânia B. Antioxidant activity of methanolic extract of *Bombax ceiba*. *Redox Report* 2009;14(1):41-46.

45. Xu GK, SUN CY, Qin XY, Han Y, LI Y, Xie GY, et al. Effects of ethanol extract of *Bombax ceiba* leaves and its main constituent mangiferin on diabetic nephropathy in mice. *Chinese Journal of Natural Medicines* 2017;15(8): 597-605.

46. Xu GK, Qin XY, Wang GK, Xie GY, Li XS, Sun CY, et al. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of standard ethanol extract of *Bombax ceiba* leaves in high-fat-diet-and streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. Chinese journal of natural medicines. 2017;15(3):168-177.

47. You YJ, Nam NH, Kim Y, Bae KH, Ahn BZ. Antiangiogenic activity of lupeol from *Bombax ceiba*. Phytotherapy research. 2003;17: 341–344

48. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Am. J. Enol. 1999;299:152-178.

49. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 1999;64:555-559.

50. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 1995;28:25-30.

51. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘‘antioxidant power’’: the FRAP Assay. Analytical biochemistry. 1996;239(292):70-76.

52. Dong HQ, Li M, Zhu F, Liu FL, Huang JB. Inhibitory potential of trilobatin from Lithocarpus polystachyus Rehd against alpha-glucosidase and alpha-amylase linked to type 2 diabetes. Food Chem. 2012;130:261-266.

53. Kim YM, Wang MH, Rhee HI. A novel alpha-glucosidase inhibitor from pine bark. *Carbohydrate Research* 2004;339:715-717.

54. Narender T, Shweta S, Tiwari P, Papi Reddy K, Khaliq T, Prathipati P, et al. Antihyperglycemic and antidyslipidemic agent from *Aegle marmelos*. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 2007;17:1808-1811.

55. ศริญญา อัครไชยสิทธิ์. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและฤทธิ์ลดระดับกลูโคสในพลาสมาของไซยานิดินและอนุพันธ์. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเภสัชวิทยา (สหสาขา). บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2551: 43-47.

56. Oboh G, Ogunsuyi OB, Ogunbadejo MD, Adefegha SA. Influence of gallic acid on alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory properties of acarbose. *Journal of food and drug analysis* 2016;24:627-634.

57. Thongmee O, Rodhetbhai C, Siltragool W. Lanna food : the cultural management strategy for the creative economy development. Silpakorn University Journal of Social Sciences, Humanities, and Arts 2015;15(3):105-119

58. Aleem RS, Hmad IA, Hmed MA, Aizi ZF. Hypotensive activity and toxicology of constituents from *Bombax ceiba*. 2003;26(66854):41-46.

59. Ruiz-montañez G, Ragazzo-sánchez JA, Calderón-santoyo M, Cruz GV. Evaluation of extraction methods for preparative scale obtention of mangiferin and lupeol from mango peels (*Mangifera indica* L.). Food Chemistry 2014;159:267–272.

60. Joshi KR, Devkota HP, Yahara S. Chemical analysis of flowers of *Bombax ceiba* from Nepal. *Natural Product Communications* 2013;8(5):583-584.

61. Akashima S, Oda Y, Ogawa Y. Protective effects of compounds in *Bombax ceiba* flower on benzo[a] pyrene-induced cytotoxicity. *Natural Product Communications* 2018;13(5):8-11.

62. Wahab S, Hussain A, Farooqui AHA, Ahmad P, Hussain S, Rizvi A, et al. In vivo antioxidant and immunomodulatory activity of *Bombax ceiba* Bark - focusing on its invigorating effects. American Journal of Advanced Drug Delivery. 2014;2(1):1-13.

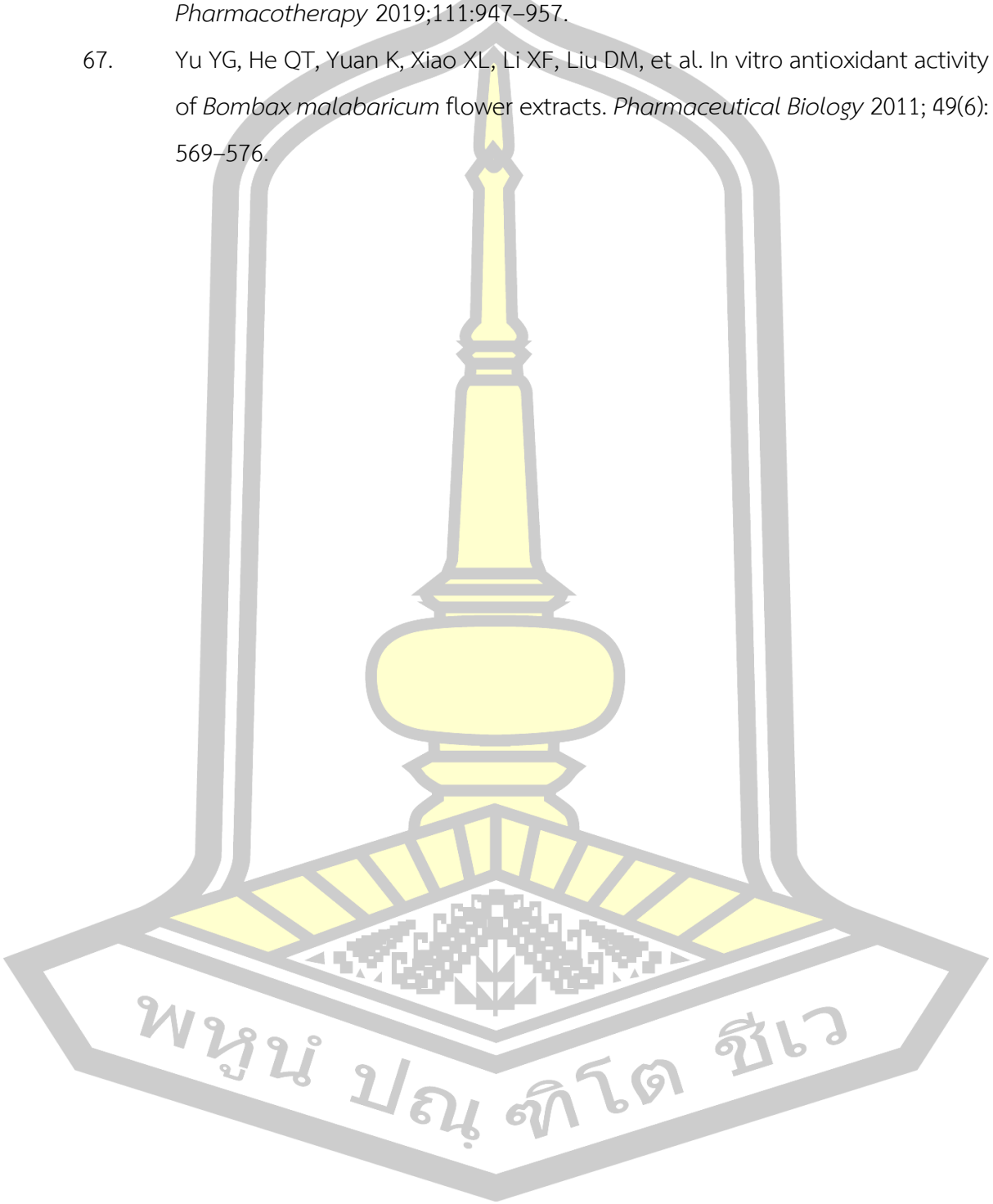
63. Stoilova I, Jirovetz L, Stoyanova A. Krastanov A, Gargova S, Ho L. Antioxidant activity of the polyphenol mangiferin. *Electronic Journal of Environment, Agricultural and Food Chemistry* 2008;7(13):2706-2716.

64. Prior RL, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwen J, O'Brien C, et al. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content , maturity, and variety of vaccinium species. *J. Agric. Food Chem* 1998;46:2686–2693.

65. Tundis R, Rashed K, Said A, Menichini F, Loizzo MR. In vitro cancer cell growth inhibition and antioxidant activity of *Bombax ceiba* (Bombacaceae) flower extracts. Natural product communications. 2014;9(5):691-694.

66. Ghorbani A, Rashidi R, Shafiee-Nic R. Flavonoids for preserving pancreatic beta cell survival and function: A mechanistic review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2019;111:947–957.

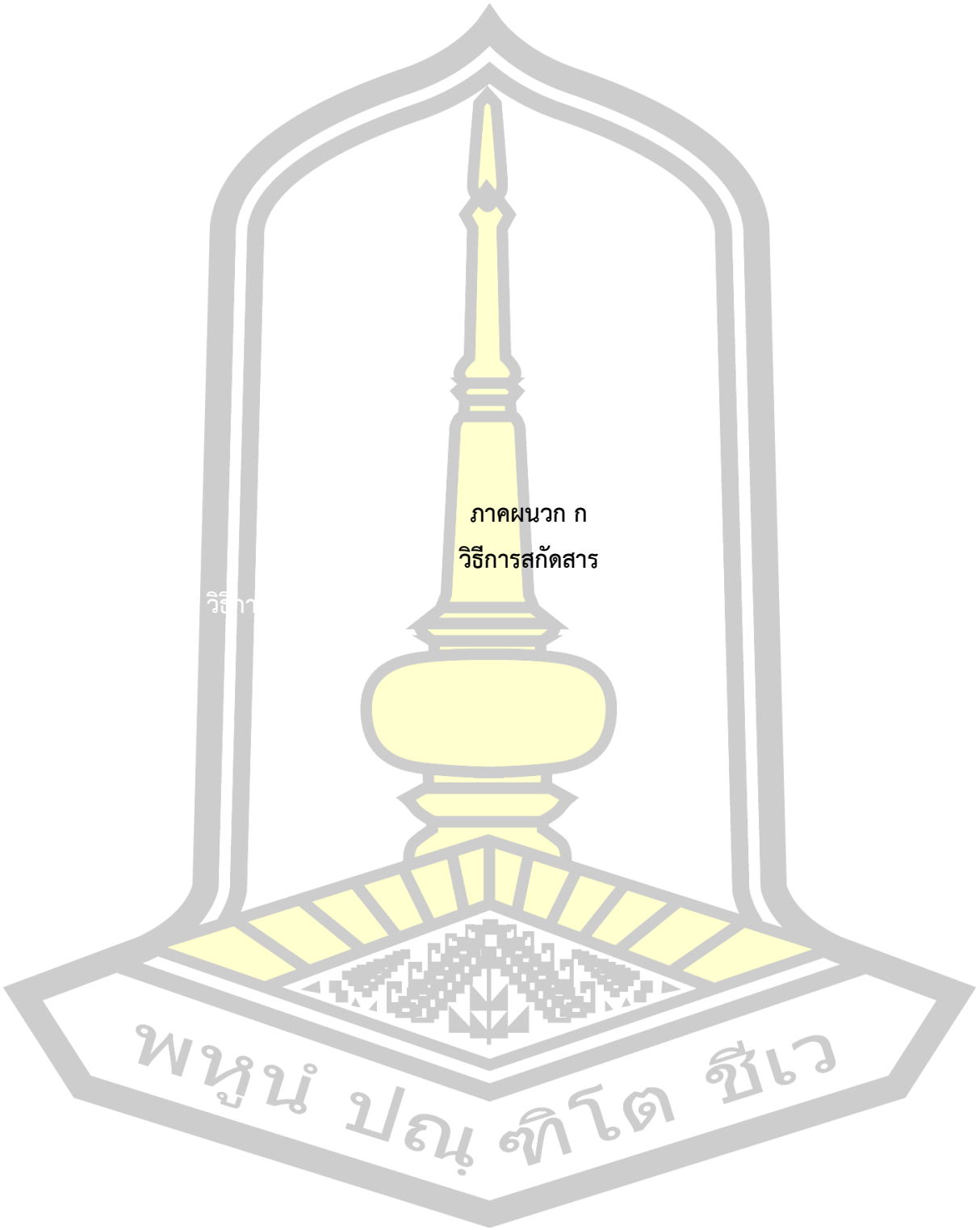
67. Yu YG, He QT, Yuan K, Xiao XL, Li XF, Liu DM, et al. In vitro antioxidant activity of *Bombax malabaricum* flower extracts. *Pharmaceutical Biology* 2011; 49(6): 569–576.



ภาคผนวก

ภาคผ

พหูน ปณ ฑิโต ชีเว



ภาคผนวก ก
วิธีการสกัดสาร

การสกัดสาร

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 นำใบ ดอก และเปลือกต้นป่าดอกแดงมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด

ภาพประกอบ 12 การเตรียมตัวอย่าง

1.2 อบที่อุณหภูมิ 40 ℃ จนแห้ง นาน 18 ชั่วโมง

ภาพประกอบ 13 การเตรียมตัวอย่าง

1.3 นำไปแยกบดแต่ละส่วนเป็นผงให้ละเอียดโดยเครื่องบดสมุนไพร

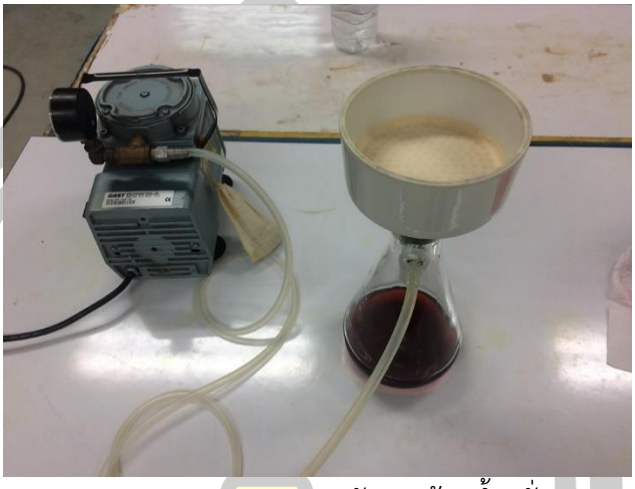
ภาพประกอบ 14 การเตรียมตัวอย่าง

2. การสกัดด้วยน้ำกลั่น

2.1 สกัดด้วยตัวน้ำโดยการชั่งผงงิ้ว 100 g น้ำกลั่น 1000 ml ในอัตราส่วน 1:10 นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 10 นาที จำนวน 3 ครั้ง

ภาพประกอบ 15 การสกัดสารด้วยน้ำกลั่น

2.2 กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1)



ภาพประกอบ 16 การสกัดสารด้วยน้ำกลั่น

2.3 นำไปเคี่ยวด้วยไฟอ่อนด้วย hot plate

ภาพประกอบ 17 การสกัดสารด้วยน้ำกลั่น

2.4 นำสารสกัดที่ได้ไปอบด้วยเครื่อง Hot air oven อุณหภูมิ 60 °C

ภาพประกอบ 18 การสกัดสารด้วยน้ำกลั่น

3. การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95%

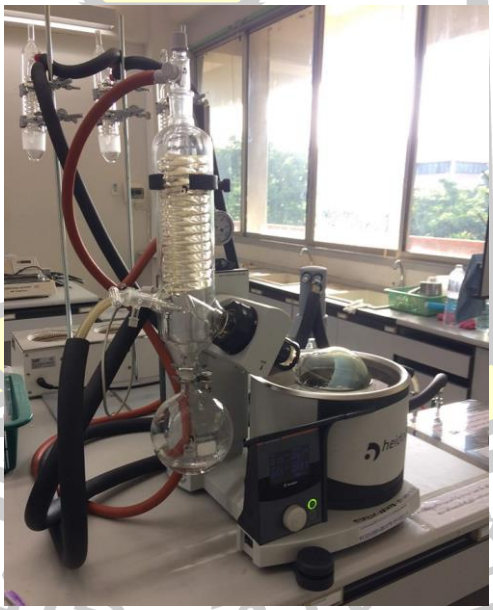
3.1 ใช้ผงขิ้ว 100 g และเอทานอล 50% 400 ml ในอัตราส่วน 1:4 หมักไว้เป็นเวลา 7 วัน

ภาพประกอบ 19 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95%

3.2 กรองด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1)

ภาพประกอบ 20 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95%

3.3 นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยวิธี rotary evaporater

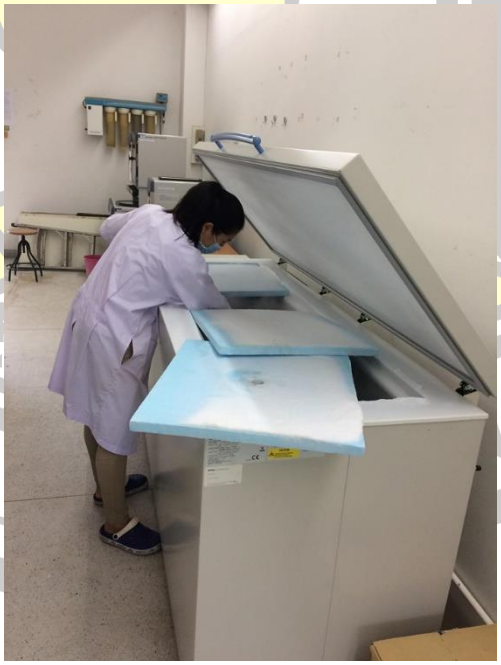


ภาพประกอบ 21 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95%

3.4 นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dry

ภาพประกอบ 22 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95%

3.5 สารสกัดที่สกัดเสร็จเรียบร้อยมาคำนวณหา % yield และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 ℃ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

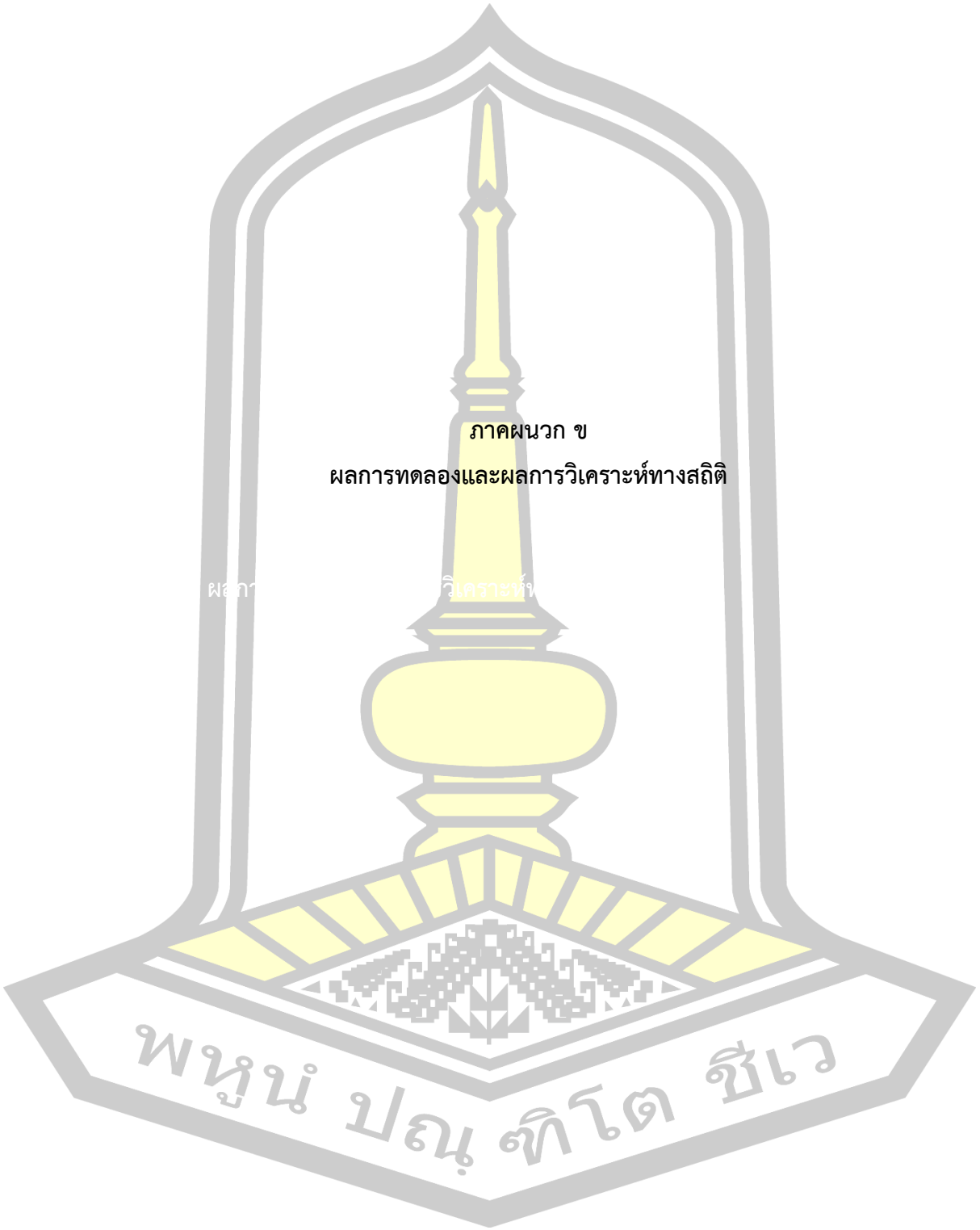


ภาพประกอบ 23 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95%

ภาคผนวก ข

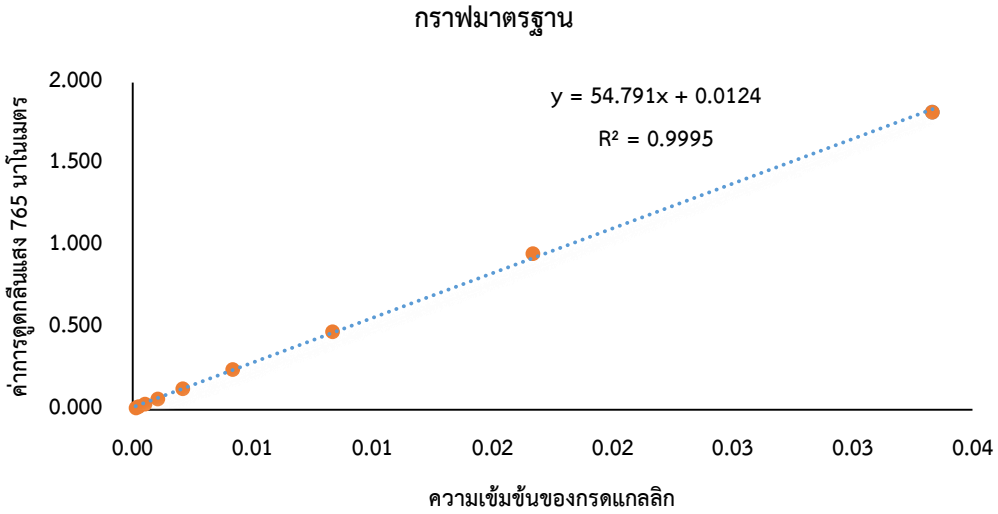
ผลการทดลองและผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองและผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

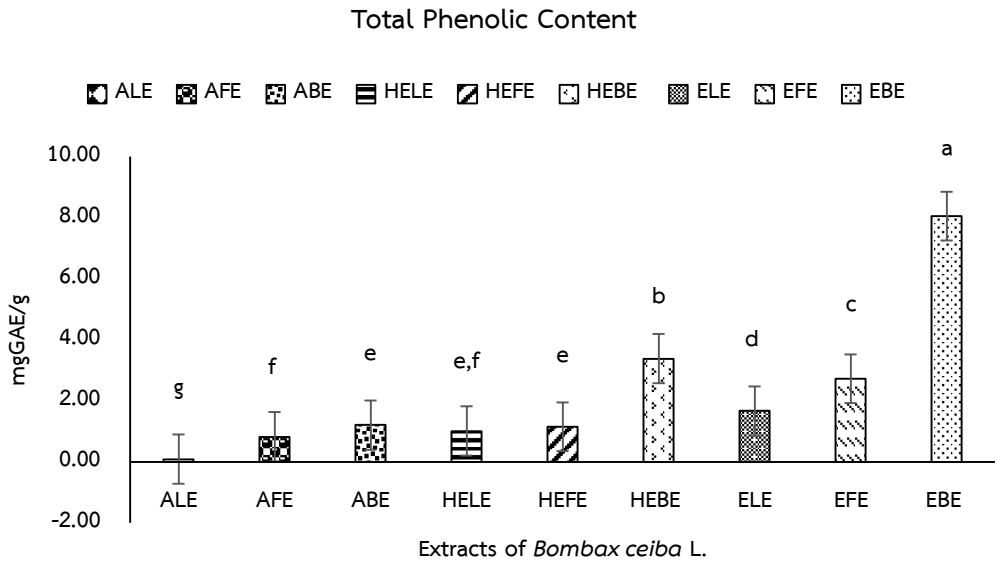


การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง



ภาพประกอบ 24 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงต่อความเข้มข้นของกรดแกลลิก



ภาพประกอบ 25 กราฟแสดงผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

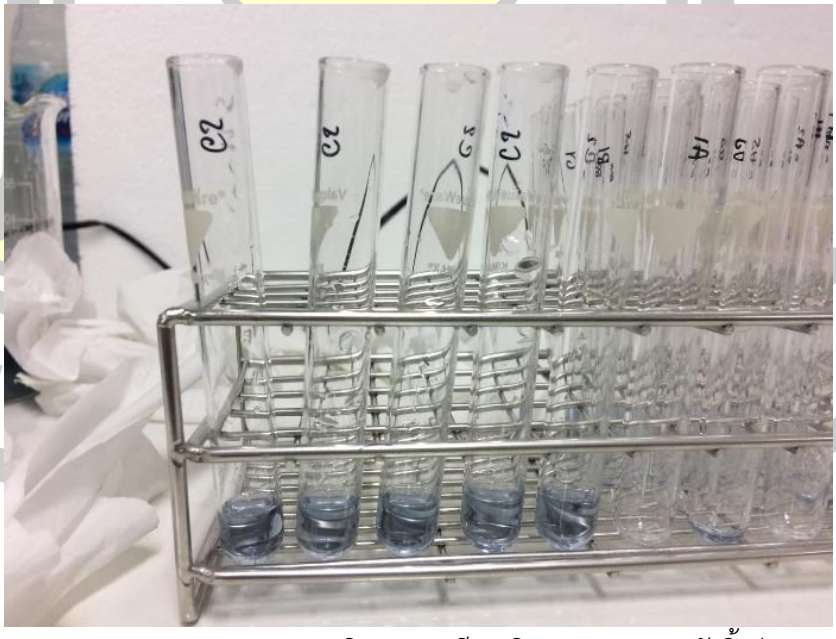
ตาราง 7 วิเคราะห์ความแตกต่างของผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

TPC

group	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
A1	5	.089833						
A2	5		.823833					
B1	5		1.013160	1.013160				
B2	5			1.150300				
A3	5			1.204864				
C1	5				1.665640			
C2	5					2.726040		
B3	5						3.385122	
C3	5							8.052336
Sig.		1.000	.083	.096	1.000	1.000	1.000	1.000

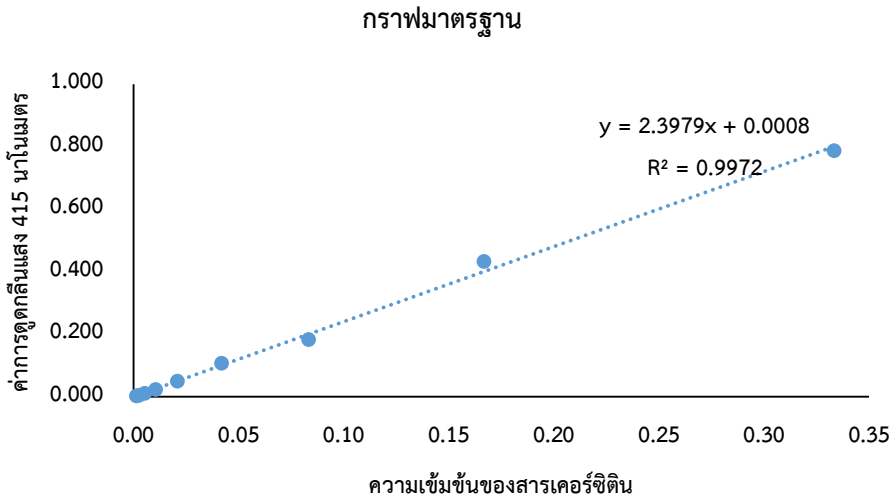
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000

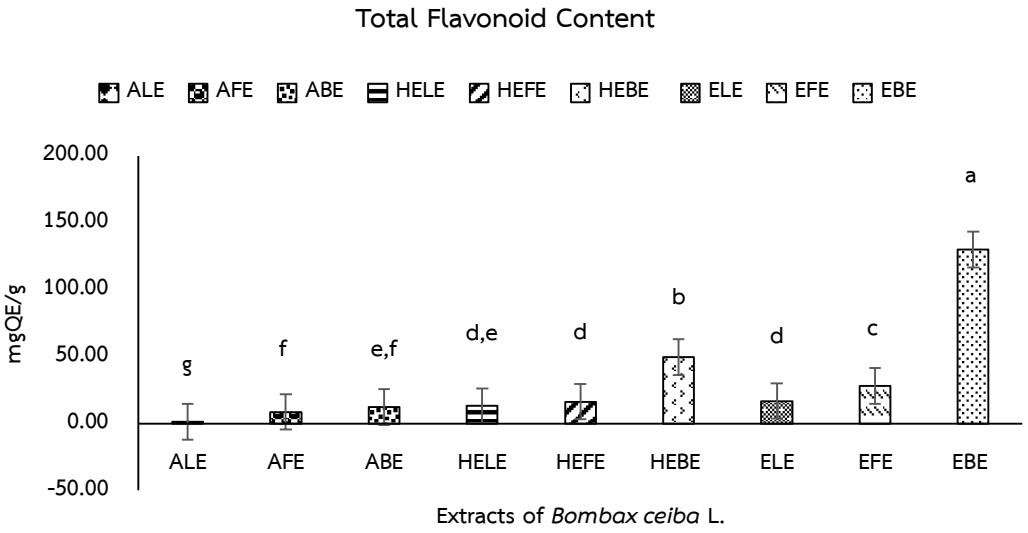


ภาพประกอบ 26 การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

2. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง



ภาพประกอบ 27 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงต่อความเข้มข้นของสารเคอร์ซิติน



ภาพประกอบ 28 กราฟแสดงผลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

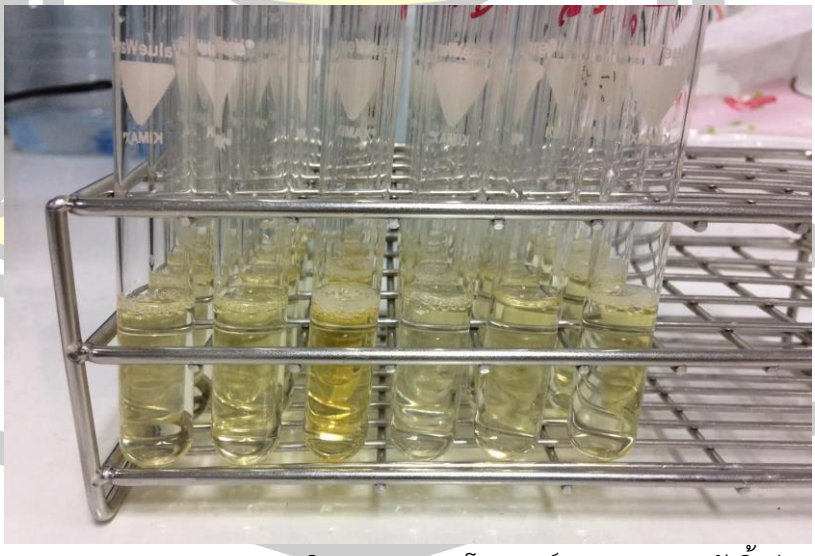
ตาราง 8 วิเคราะห์ความแตกต่างของผลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

TFC

group	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
A1	5	1.337200						
A2	5		8.714360					
A3	5		12.324440	12.324440				
B1	5			13.219660	13.219660			
B2	5				16.332160			
C1	5				16.870220			
C2	5					28.248920		
B3	5						49.785580	
C3	5							130.093460
Sig.		1.000	.052	.622	.062	1.000	1.000	1.000

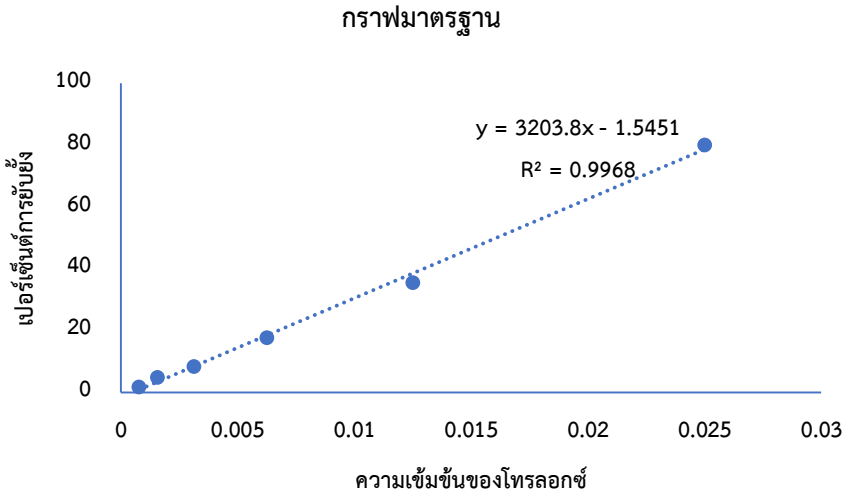
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000

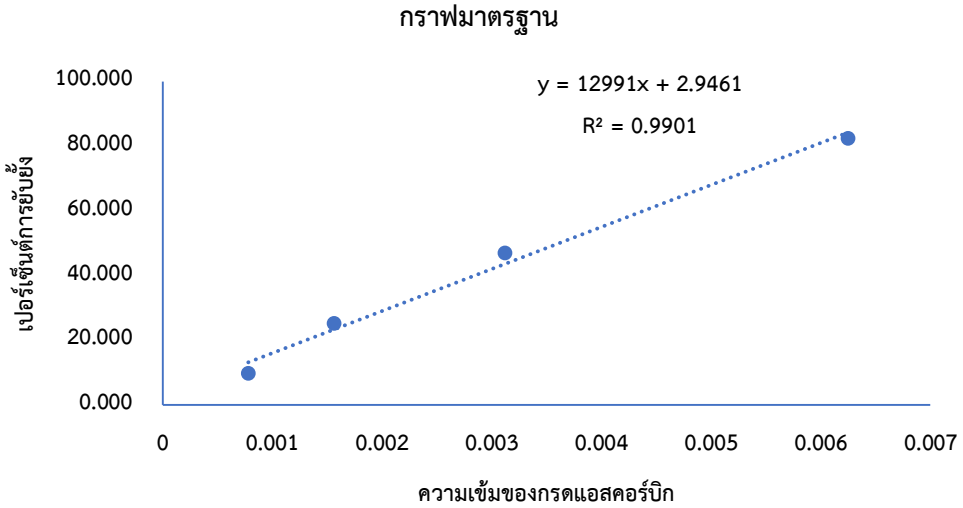


ภาพประกอบ 29 การทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

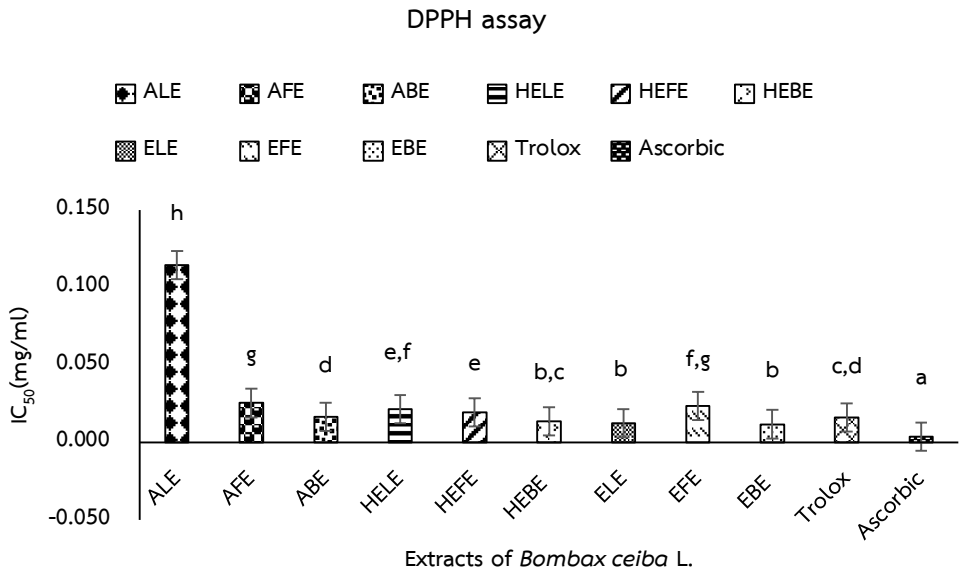
3. การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH



ภาพประกอบ 30 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของโทรลอกซ์



ภาพประกอบ 31 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก



ภาพประกอบ 32 กราฟแสดงผลการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

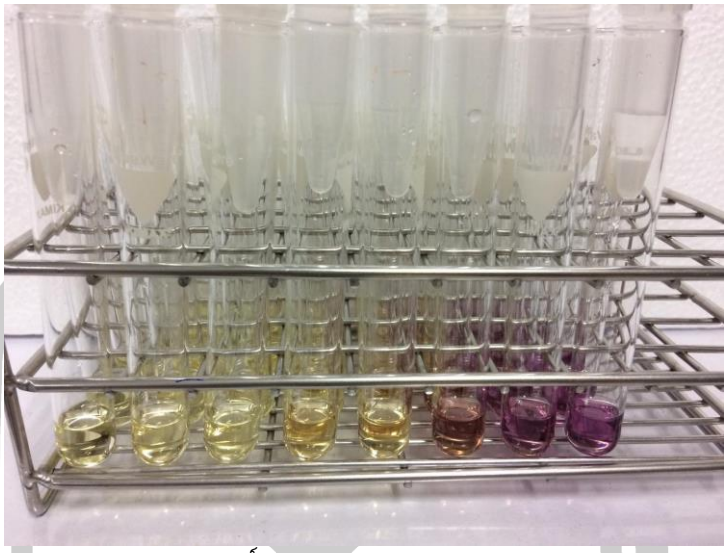
ตาราง 9 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

DPPH

group	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Ascorbic	5	.003660							
C3	5		.011800						
C1	5		.012340						
B3	5		.013520	.013520					
Trolox	5			.016180	.016180				
A3	5				.016460				
B2	5					.019300			
B1	5					.021620	.021620		
C2	5						.023640	.023640	
A2	5							.025460	
A1	5								.114460
Sig.		1.000	.226	.050	.833	.086	.133	.175	1.000

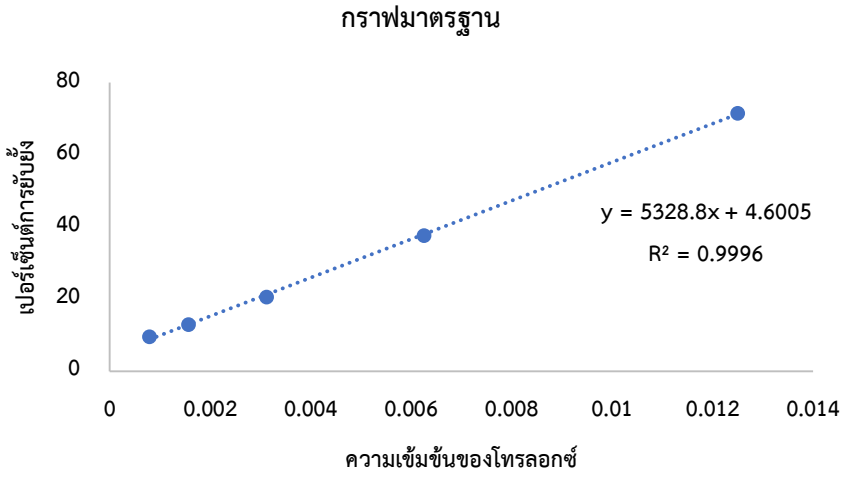
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

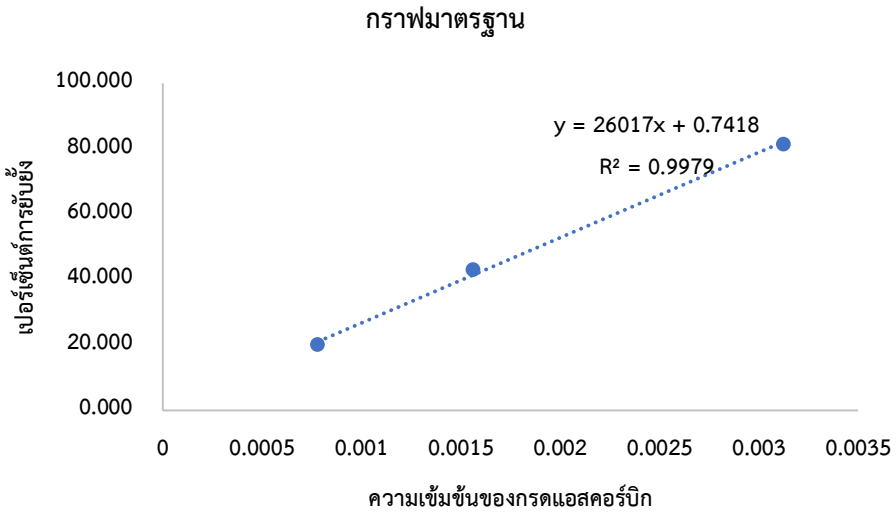


ภาพประกอบ 33 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH ของสารสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

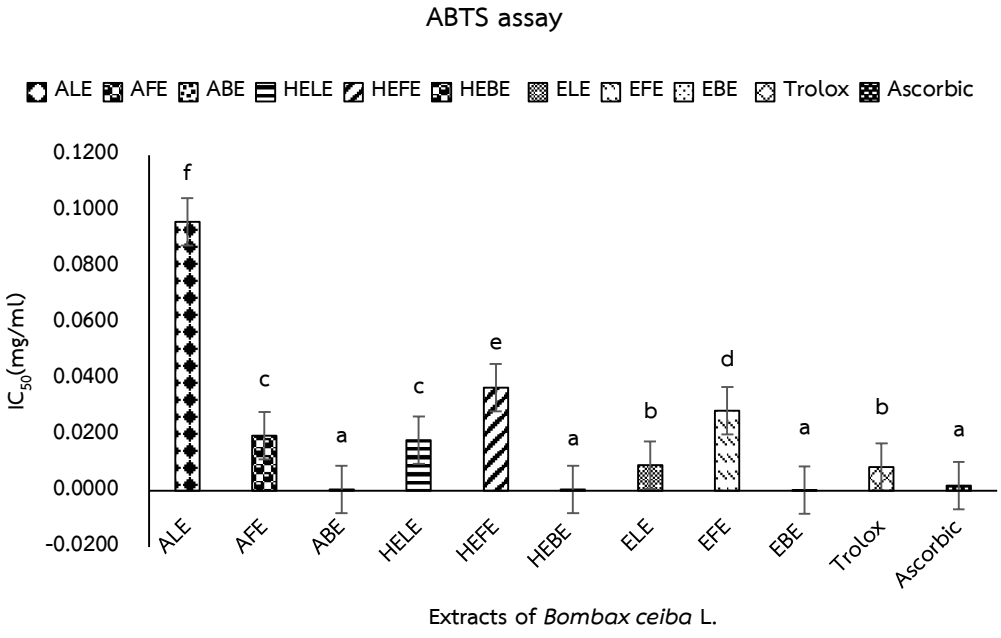
4. การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTS



ภาพประกอบ 34 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของโทรลอกซ์



ภาพประกอบ 35 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก



ภาพประกอบ 36 กราฟแสดงผลการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

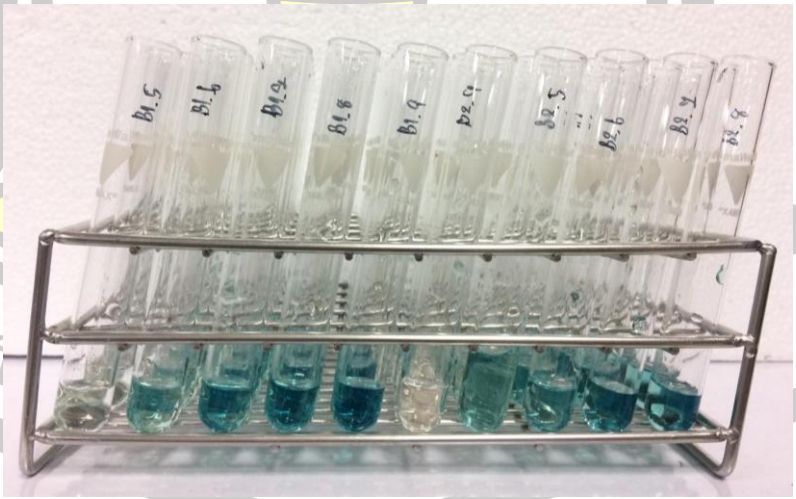
ตาราง 10 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTS ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

ABTS

group	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
C3	5	.000420					
B3	5	.000500					
A3	5	.000600					
Ascorbic	5	.001900					
Trolox	5		.008580				
C1	5		.009220				
B1	5			.018180			
A2	5			.019700			
C2	5				.028580		
B2	5					.036820	
A1	5						.096260
Sig.		.511	.752	.455	1.000	1.000	1.000

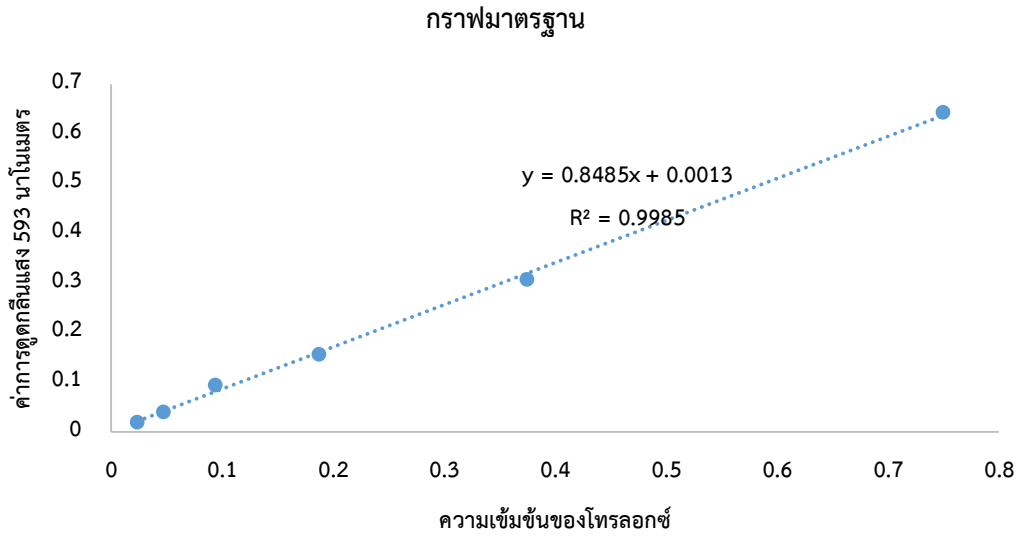
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

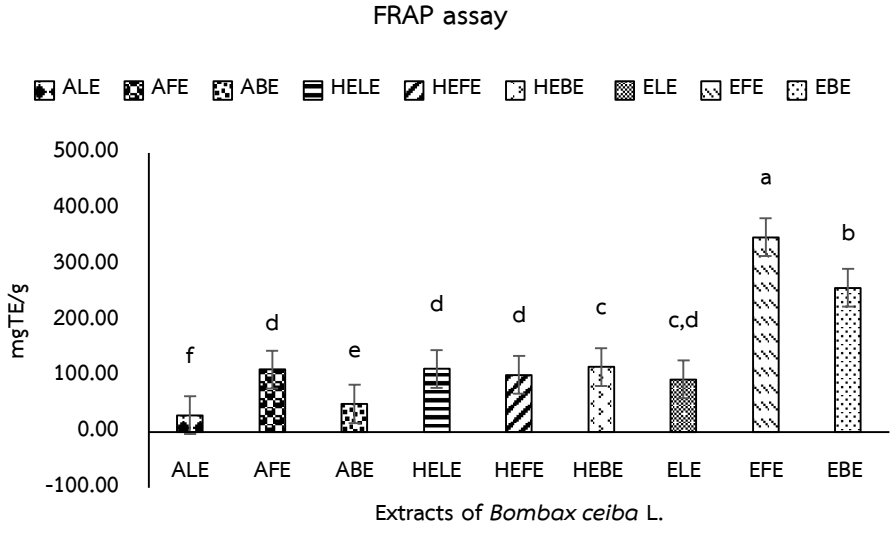


ภาพประกอบ 37 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTS ของสารสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

5. การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี FRAP



ภาพประกอบ 38 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงต่อความเข้มข้นของโทรลอกซ์



ภาพประกอบ 39 กราฟแสดงผลการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

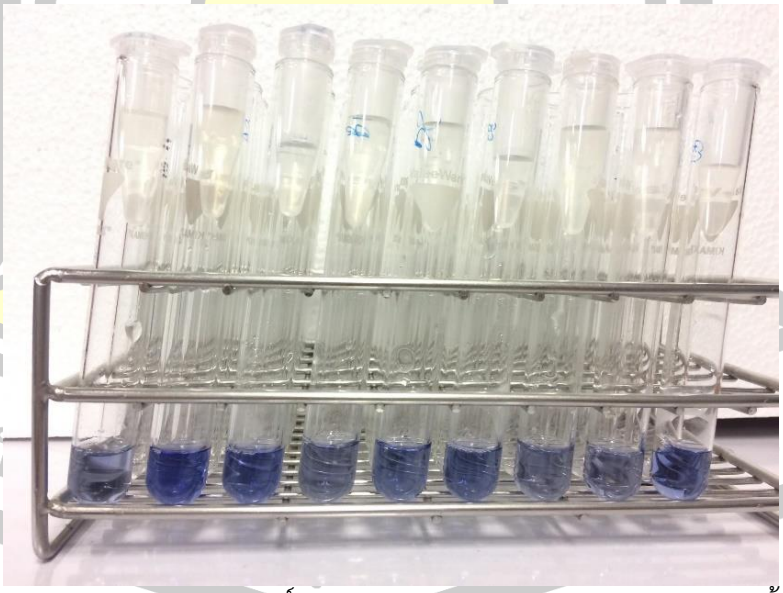
ตาราง 11 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี FRAP ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

FRAP

group	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
A1	5	30.041960			
A3	5	50.255720			
C1	5		94.544900		
B2	5		102.501240		
A2	5		112.141440		
B1	5		113.197360		
B3	5		116.594760		
C3	5			258.695740	
C2	5				349.272360
Sig.		.085	.092	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

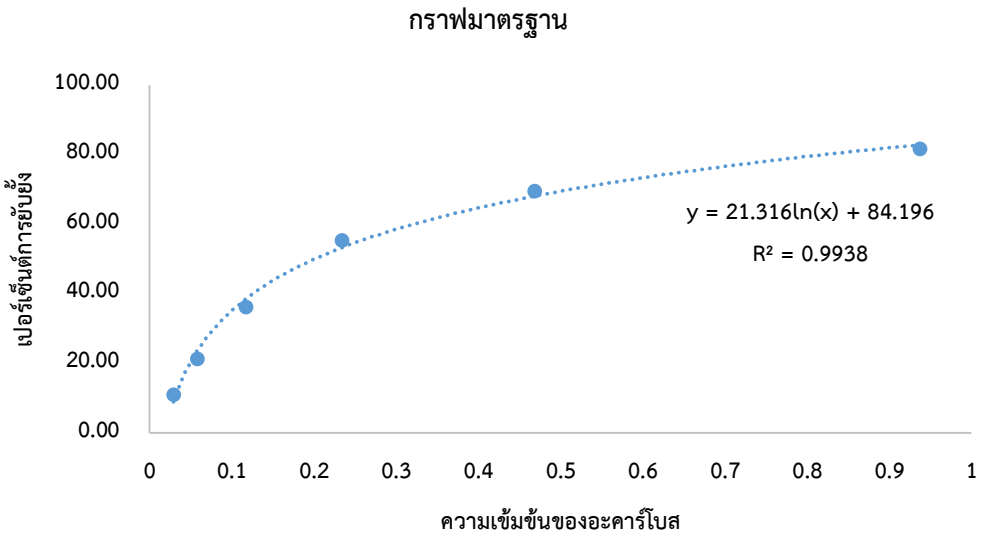
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



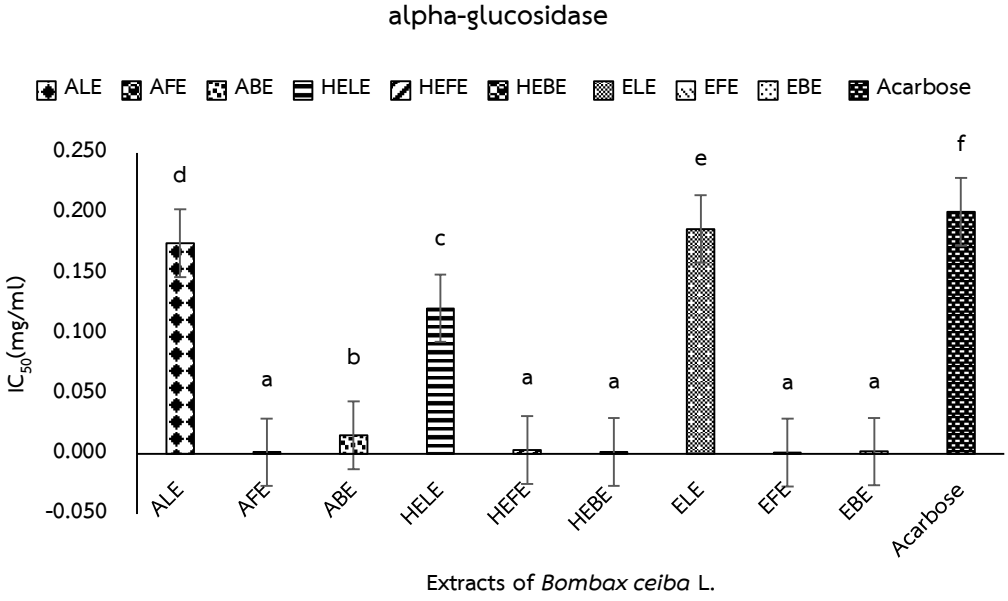
ภาพประกอบ 40 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี FRAP ของสารสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

ฤทธิ์ต้านเบาหวาน

1. การทดสอบหาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส



ภาพประกอบ 41 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของอะคาร์โบส



ภาพประกอบ 42 กราฟแสดงผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

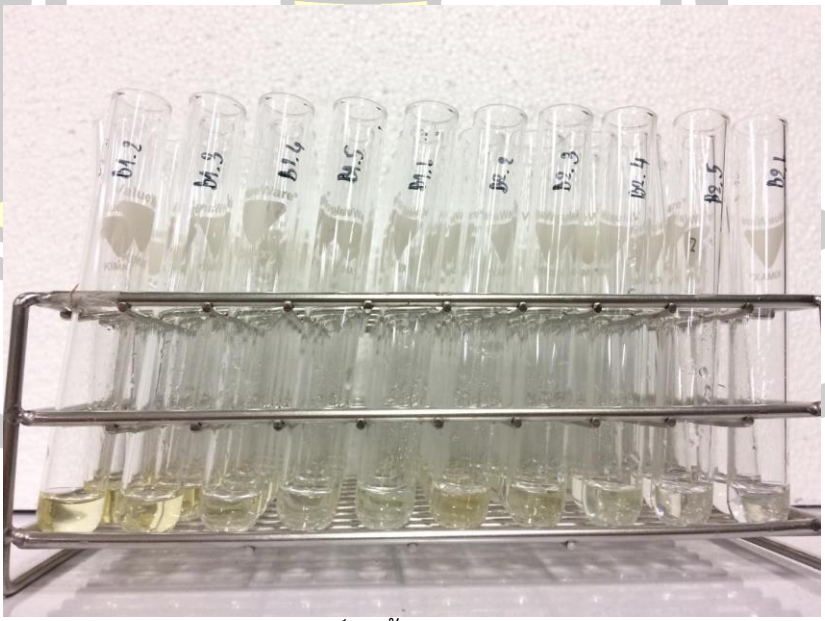
ตาราง 12 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านเบาหวานวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

Alphaglucosidase

group	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
C2	5	.001344					
A2	5	.001668					
B3	5	.001744					
C3	5	.002236					
B2	5	.003354					
A3	5		.015628				
B1	5			.121056			
A1	5				.175248		
C1	5					.186978	
Acarbose	5						.201463
Sig.		.671	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

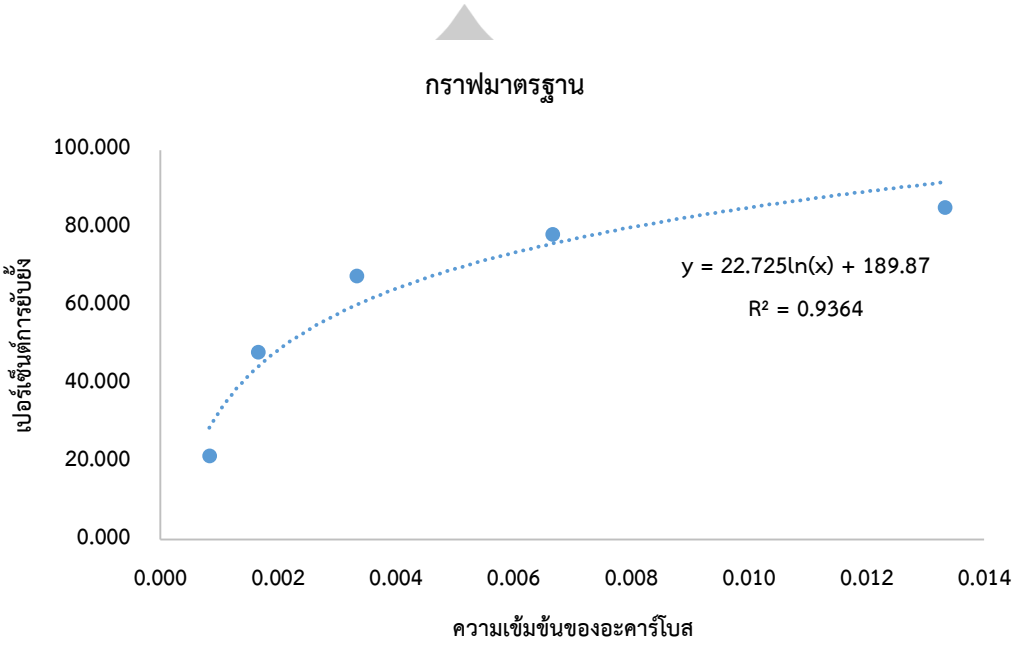
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

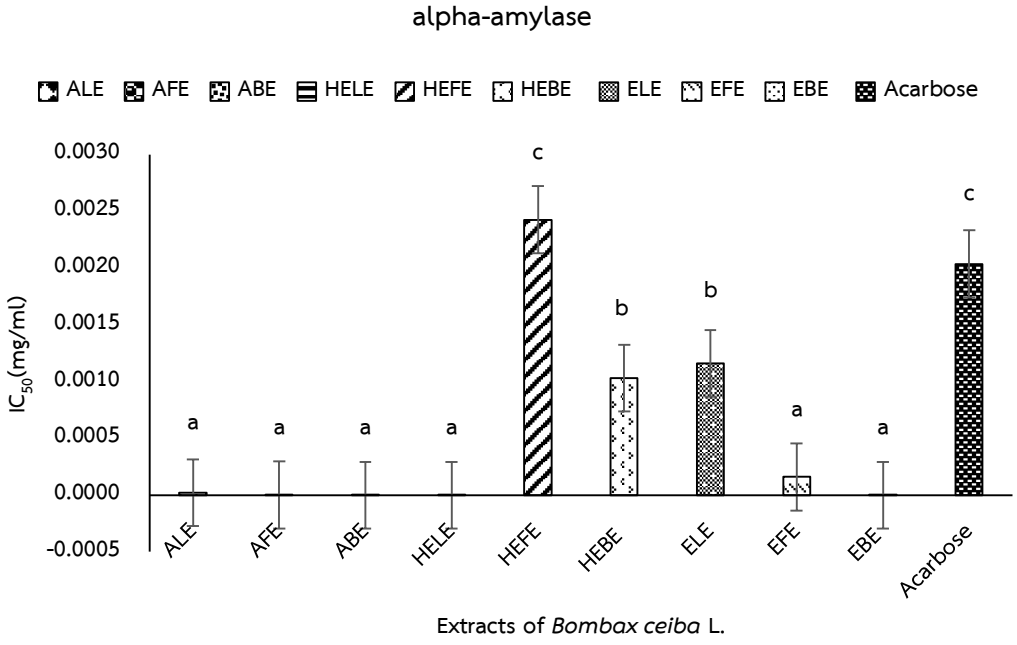


ภาพประกอบ 43 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

2. การทดสอบหาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส



ภาพประกอบ 44 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อความเข้มข้นของอะคาร์โบส



ภาพประกอบ 45 กราฟแสดงผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

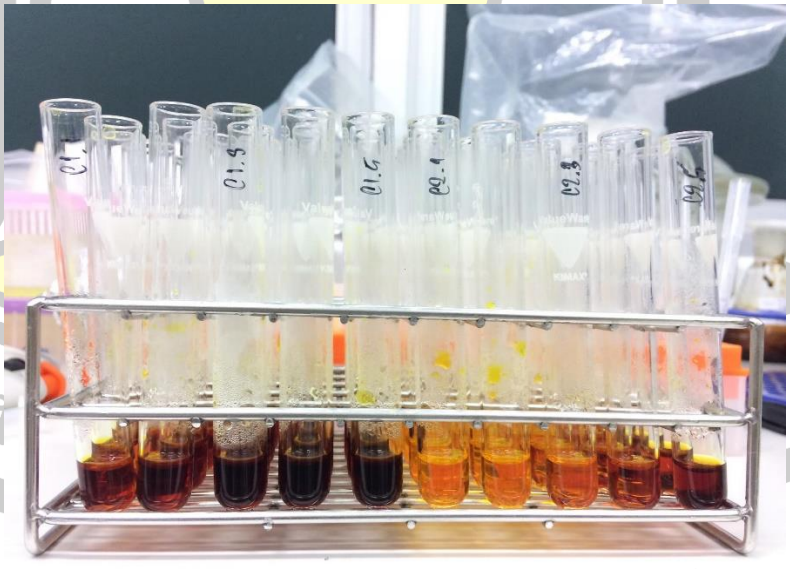
ตาราง 13 วิเคราะห์ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านเบาหวานวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดงด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

Alphaamylase

group	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
B1	5	.000000		
C3	5	.000000		
A3	5	.000000		
A2	5	.000001		
A1	5	.000021		
C2	5	.000160		
B3	5		.001032	
C1	5		.001158	
Acarbose	5			.002038
B2	5			.002426
Sig.		.490	.532	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



ภาพประกอบ 46 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดงิ้วป่าดอกแดง

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวนุรารัตน์ กรีอินทอง
วันเกิด	วันที่ 21 ตุลาคม พ.ศ. 2537
สถานที่เกิด	อำเภอ เมือง จังหวัด พิจิตร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	68/1 หมู่ 8 ตำบลไผ่รอบ อำเภอโพธิ์ประทับช้าง จังหวัดพิจิตร รหัสไปรษณีย์ 66190
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	นิสิต
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2552 มัธยมศึกษาปีที่ 1-3 โรงเรียนพิจิตรพิทยาคม จังหวัดพิจิตร พ.ศ. 2555 มัธยมศึกษาปีที่ 4-6 โรงเรียนพิจิตรพิทยาคม จังหวัดพิจิตร พ.ศ. 2560 ปริญญาการศึกษาบัณฑิต (กศ.บ.) สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยนเรศวร พ.ศ. 2563 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม) สาขาชีววิทยาศึกษา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ทุนวิจัย	ทุนโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2563 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ผลงานวิจัย	-

พหูน ปณฺ ฑิโต ชีเว