



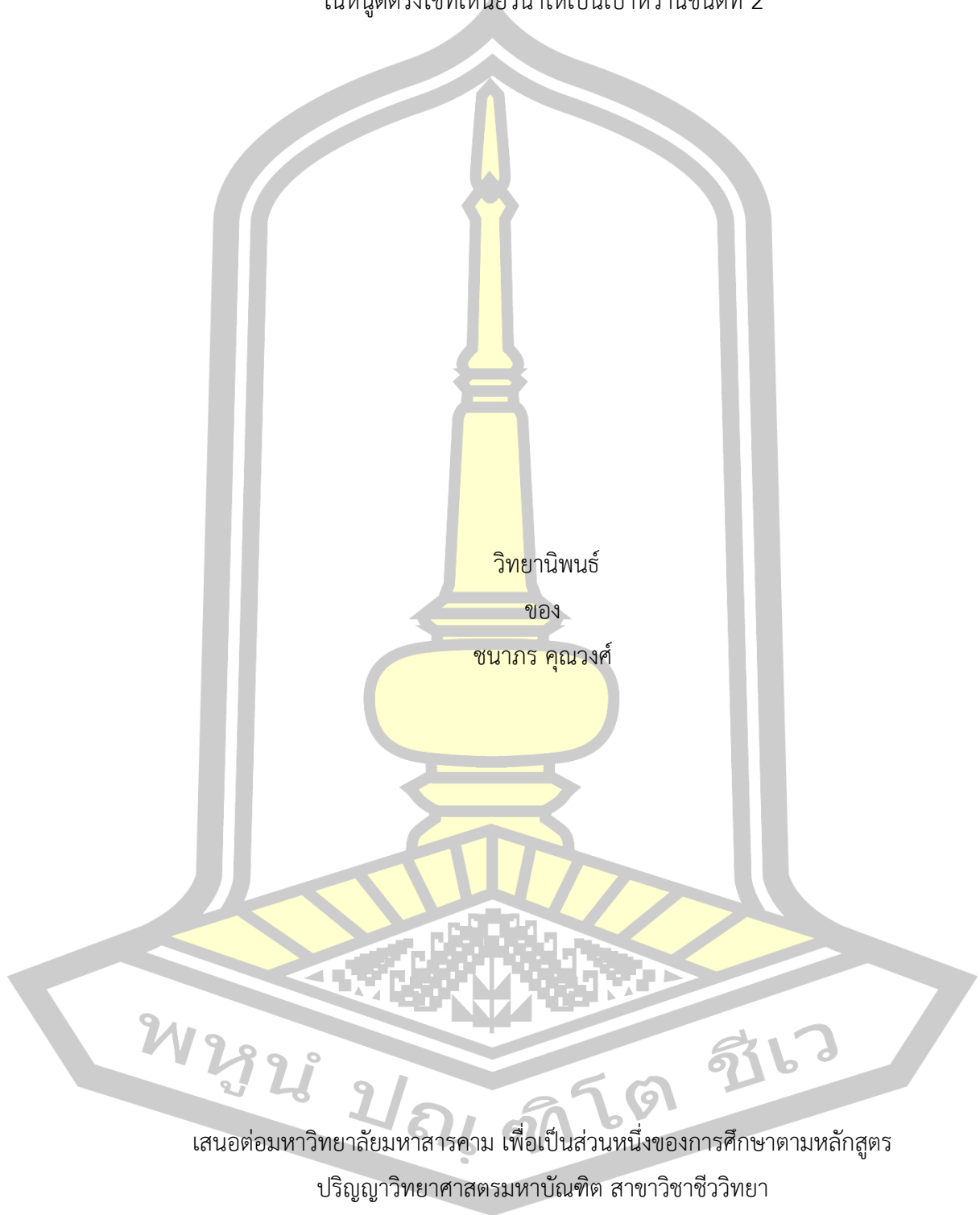
ฤทธิ์ต้านเบาหวานและฤทธิ์เอสโตรเจนิกของสารสกัดหัวมันเสา *Dioscorea alata* L.
ในหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

วิทยานิพนธ์
ของ
ชนาภร คุณวงศ์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
มิถุนายน 2563

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ฤทธิ์ต้านเบาหวานและฤทธิ์เอสโตรเจนของสารสกัดหัวมันเสา *Dioscorea alata* L.
ในหนูตัดรังไข่ที่เหนียวน้ำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

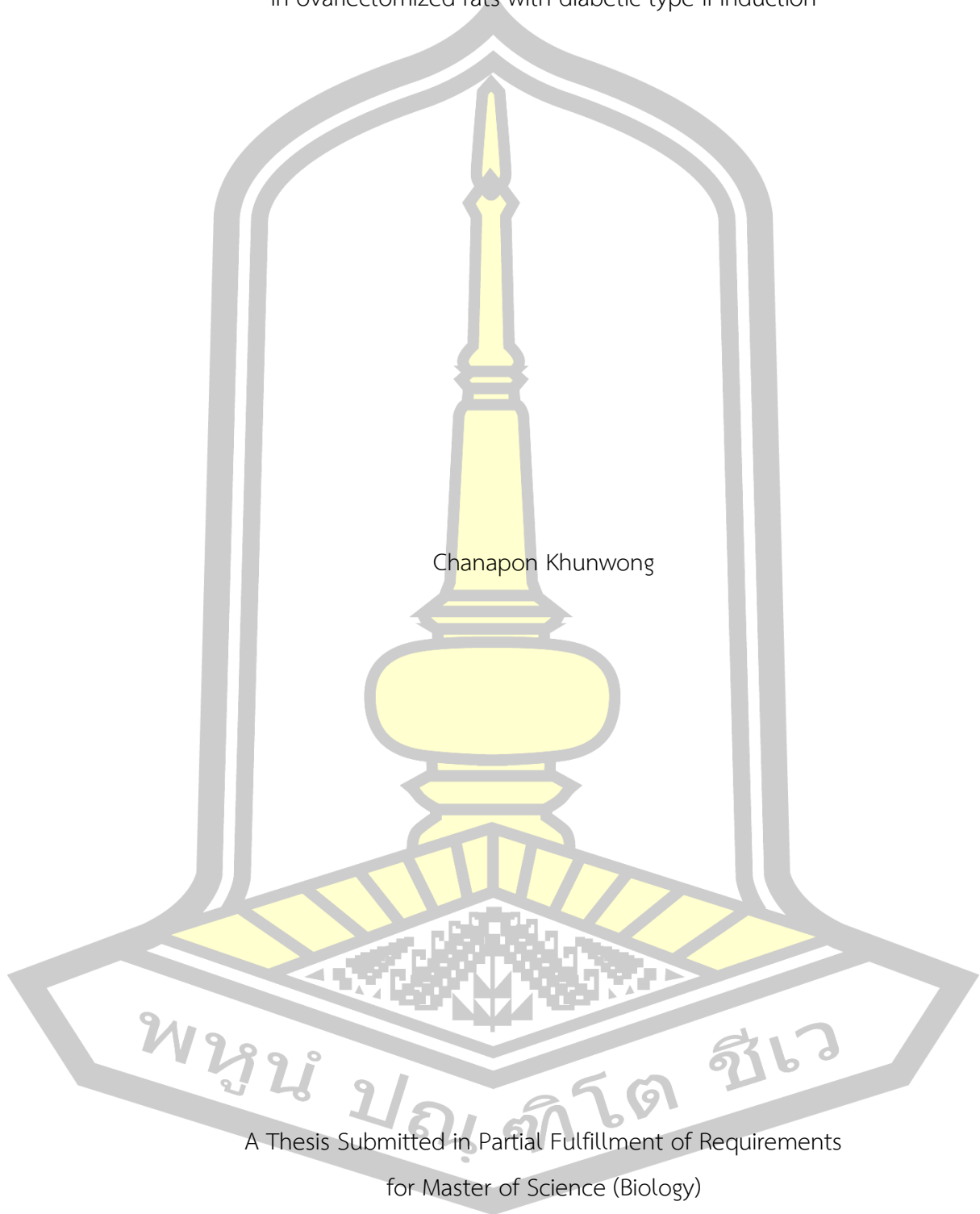


เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
มิถุนายน 2563

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Hypoglycemic and Estrogenic activity of *Dioscorea alata* L. tuber extract
in ovariectomized rats with diabetic type II induction

Chanapon Khunwong



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (Biology)

June 2020

Copyright of Mahasarakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวชนาภร คุณวงศ์
แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร. พักพล มุ่งลือ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผศ. ดร. วิลาวัลย์ พร้อมพรม)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผศ. ดร. วรณชัย ชาแท่น)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รศ.สพ.ญ ดร. ศจีรา คุปพิทยานันท์)

.....กรรมการ

(ผศ. ดร. มั่นทนา นครเรียบ)

.....กรรมการ

(รศ. ดร. ประสงค์ สีทานาม)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....
(ศ. ดร. ไพโรจน์ ประมวล)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

.....
(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	ฤทธิ์ต้านเบาหวานและฤทธิ์เอสโตรเจนิกของสารสกัดหัวมันเสา <i>Dioscorea alata</i> L. ในหนูตัดรังไข่ที่เหนียวนำไปเป็นเบาหวานชนิดที่ 2		
ผู้วิจัย	ชนาภร คุณวงศ์		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิลาวัลย์ พร้อมพรม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณชัย ชาแท่น รองศาสตราจารย์สัตวแพทย์หญิง ดร. ศจีรา คุปพิทยานันท์		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชา	ชีววิทยา
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2563

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวาน ฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิก การศึกษาสารฟลักษเคมี (ฟีนอลิก และแอนโทไซยานิน) และฤทธิ์ทางชีวภาพ (ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส) ของสารสกัดหัวมันเสา (*Dioscorea alata* L.) ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวาน พบว่าหนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนียวนำไปเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับสารสกัดหัวมันเสานขนาด 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีน้ำหนักตัว ระดับอินซูลินเพิ่มขึ้น และระดับน้ำตาลในเลือดลดลง ส่วนผลการศึกษาฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิก พบว่าสารสกัดจากหัวมันเสาทำให้มีน้ำหนักสัมพัทธ์มดลูก ช่องคลอด เต้านม เพิ่มขึ้น ด้านการศึกษากายวิภาคของเนื้อเยื่อตับอ่อนและมดลูกพบว่าทำให้มีขนาดของไอเลสอพอลงเกอฮานส์เพิ่มขึ้น และมีความหนาของเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium นอกจากนี้ผลการทดสอบสารฟลักษเคมี พบว่าสารสกัดหัวมันเสามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมคือ 310.30 มิลลิกรัมของแกลลิกตอกรัมสารสกัดหัวมันเสา ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมคือ 323.05 มิลลิกรัมของเคอซีตินต่อกรัมสารสกัดหัวมันเสา และปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินคือ 10.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระพบค่า IC_{50} เท่ากับ 4.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเมื่อทดสอบด้วย DPPH assay ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนเมื่อทดสอบด้วย FRAP assay มีค่าเท่ากับ 61.27 มิลลิโมลเฟอร์รัสซัลเฟต สารสกัดหัวมันเสาสามารถยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดี (IC_{50} เท่ากับ 1,251.44 และ 401.52 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) จากผลที่ได้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากหัวมันเสามีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพและโภชนเภสัชในการบำบัดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้

คำสำคัญ : มันเสา, ฤทธิ์ต้านเบาหวาน, ฤทธิ์เอสโตรเจนิก, เบาหวานชนิดที่ 2

TITLE	Hypoglycemic and Estrogenic activity of <i>Dioscorea alata</i> L. tuber extract in ovariectomized rats with diabetic type II induction		
AUTHOR	Chanapon Khunwong		
ADVISORS	Assistant Professor Wilawan Promprom , Ph.D. Assistant Professor Wannachai Chatan , Ph.D. Associate Professor Sajeera Kupittayanant , Ph.D.		
DEGREE	Master of Science	MAJOR	Biology
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2020

ABSTRACT

The purpose of this research was hypoglycemic activity, estrogenic activity and phytochemistry study and biological activity of tuber extract of *Dioscorea alata* L. The result from hypoglycemic activity showed that the ovariectomized rats with diabetic type II induction fed by 1,000 mg/Kg bw. of plant tuber extract had increase body weight and insulin level, but the blood glucose was decreased. Estrogenic activity showed that had a relative of uterus weight, vagina and mammary gland that were increased. From histological studies of pancreas and uterus showed that increase of Islets of Langerhans, and thickness of endometrium and myometrium. The result from phytochemical study showed that the total phenolic content was shown at 310.30 mgGAE.g⁻¹/g and total flavonoid content was shown at 323.05 mgQE.g⁻¹/g the plant extract and total anthocyanin content was shown at 10.26 µg / ml. Free radical scavenging activity of extract was revealed as IC₅₀ at 4.90 µg / ml for DPPH assay. The reducing power of extract as FRAP assay value was and 61.27 mmol FeSO₄ /g. The α-amylase and α-glucosidase with IC₅₀ of *D. alata* . tuber extract was 1,251.44 and 401.52 µg / ml respectively. These results suggest that *D. alata* tuber extract has a potential which might used as a functional food and nutraceutical for diabetic type II therapy.

Keyword : *Dioscorea alata* Hypoglycemia Estrogenic Type 2 Diabetes

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร.วิลาวัณย์ พร้อมพรม รศ.สพ.ญ.ดร. ศจีรา คุปพิทยานันท์ และผศ.ดร. วรณชัย ซาแค้น อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้องช่วยสร้างช่วยตรวจสอบข้อบกพร่องต่างๆด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมาพร้อมทั้งให้กำลังใจตลอดระยะเวลาทำวิจัยผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่งจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ช่วยแนะนำแนวทางตรวจสอบข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณคณะอาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ช่วยสั่งสอนให้ความรู้และปลูกฝังให้ผู้วิจัยเป็นนักวิทยาศาสตร์ที่ดีและมีคุณภาพ

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่และสมาชิกในครอบครัวทุกคนที่ให้กำลังใจและสนับสนุนผู้วิจัยเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูทเวทิตาบุพการีบูรพาจารย์และผู้ที่มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบันที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาตราบนานเท่านานนี้

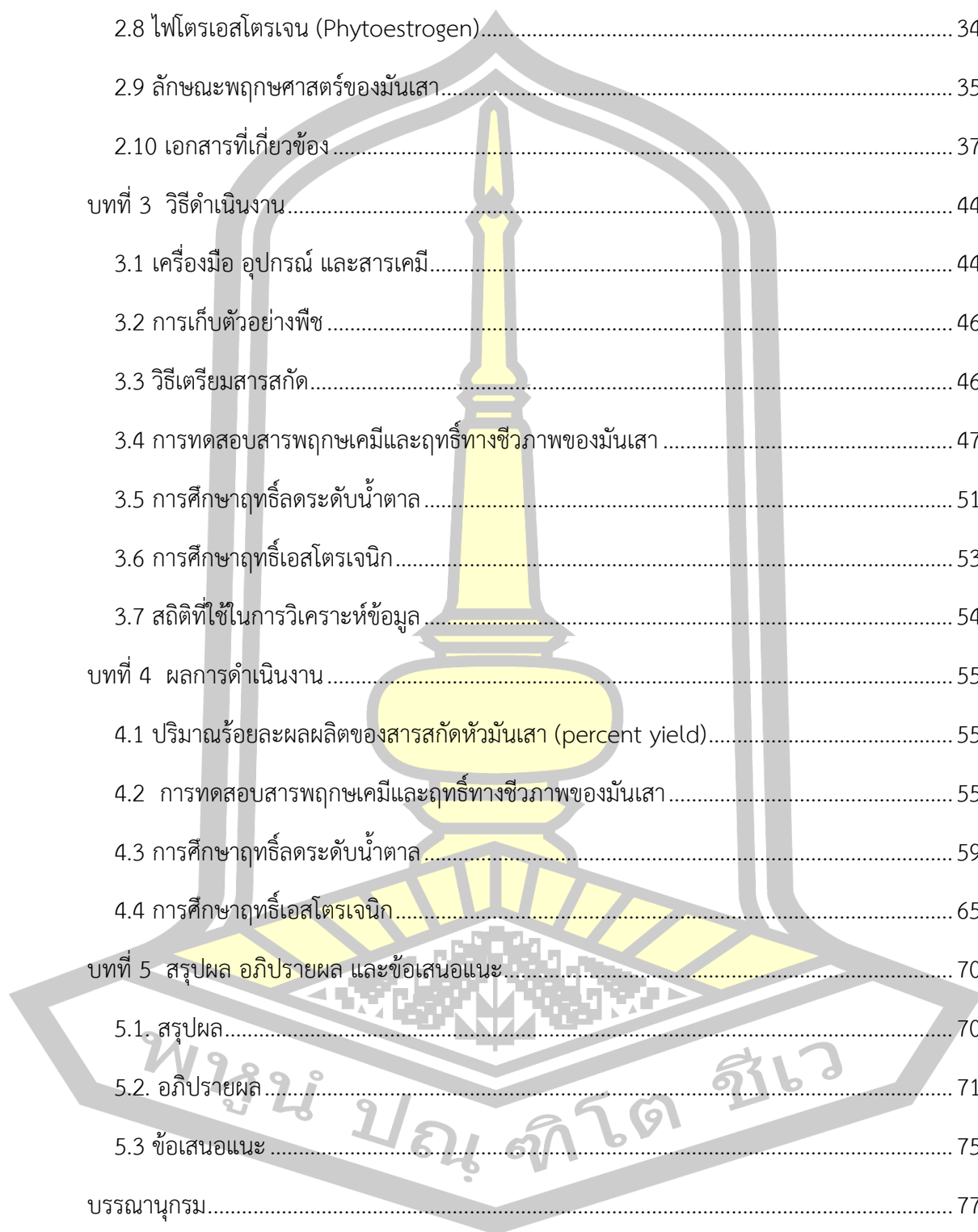
ชนาภร คุณวงศ์



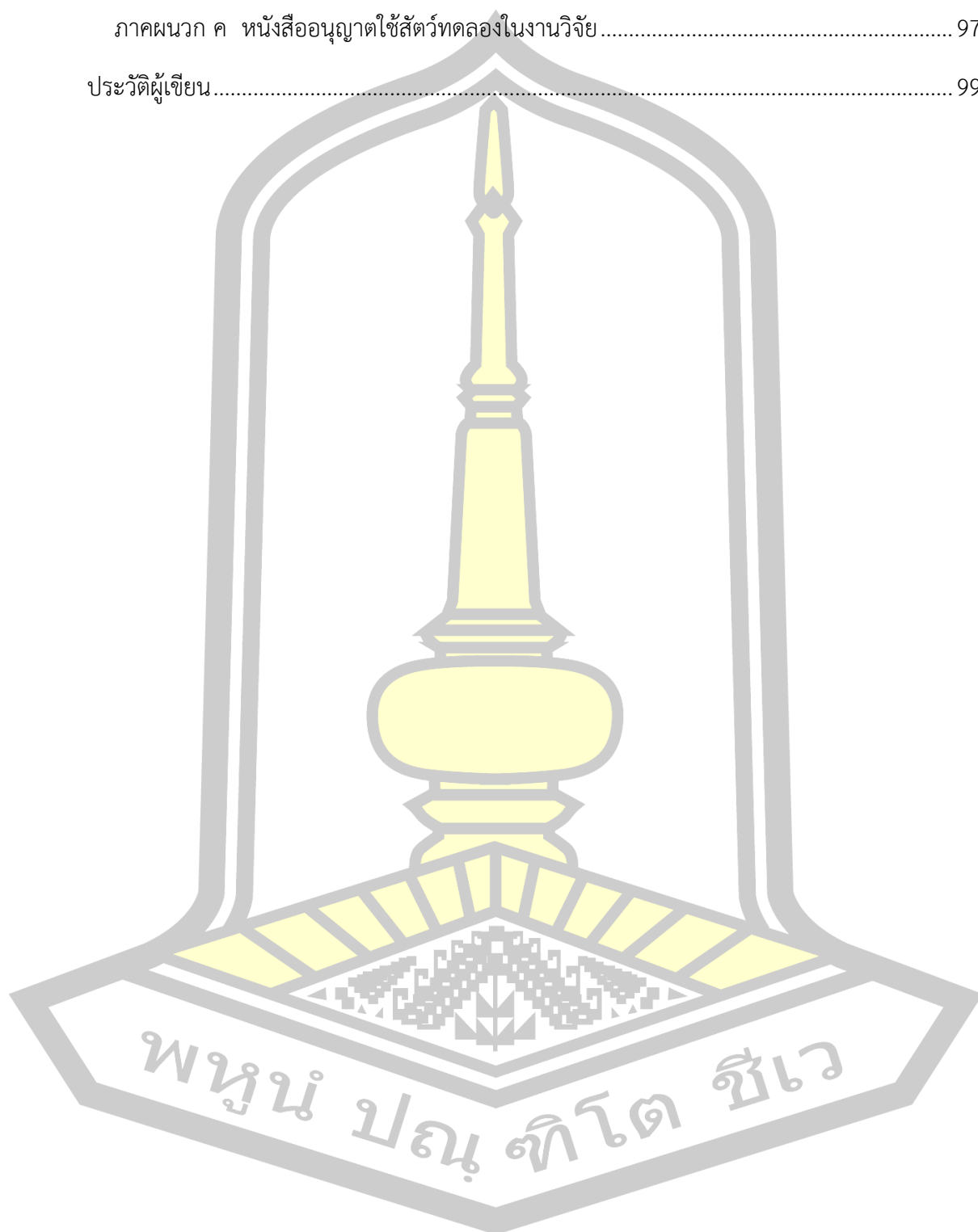
สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพประกอบ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.5 ระยะเวลาในการทำงานวิจัย.....	4
1.6 สถานที่ที่ใช้สำหรับทำงานวิจัย.....	4
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ปรีทัศน์เอกสารข้อมูล.....	6
2.1 วัยหมดประจำเดือน (Menopause).....	6
2.2 เอสโตรเจนและวัยหมดประจำเดือน.....	12
2.3 เบาหวาน (Diabetic mellitus).....	14
2.4 เบาหวานในภาวะหมดประจำเดือน.....	21
2.5 สารฟรุกโทสในพืช.....	25
2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	29

2.7 การยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส	32
2.8 ไฟโตรเอสโตรเจน (Phytoestrogen).....	34
2.9 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของมันเสา.....	35
2.10 เอกสารที่เกี่ยวข้อง.....	37
บทที่ 3 วิธีดำเนินงาน.....	44
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี.....	44
3.2 การเก็บตัวอย่างพืช	46
3.3 วิธีเตรียมสารสกัด.....	46
3.4 การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของมันเสา	47
3.5 การศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล	51
3.6 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนิก.....	53
3.7 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล.....	54
บทที่ 4 ผลการดำเนินงาน	55
4.1 ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหุ้มมันเสา (percent yield).....	55
4.2 การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของมันเสา	55
4.3 การศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล.....	59
4.4 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนิก.....	65
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	70
5.1. สรุปผล.....	70
5.2. อภิปรายผล.....	71
5.3 ข้อเสนอแนะ	75
บรรณานุกรม.....	77
ภาคผนวก.....	85
ภาคผนวก ก การเตรียมสาร และการตรวจสอบหาปริมาณสารพฤกษเคมี.....	86

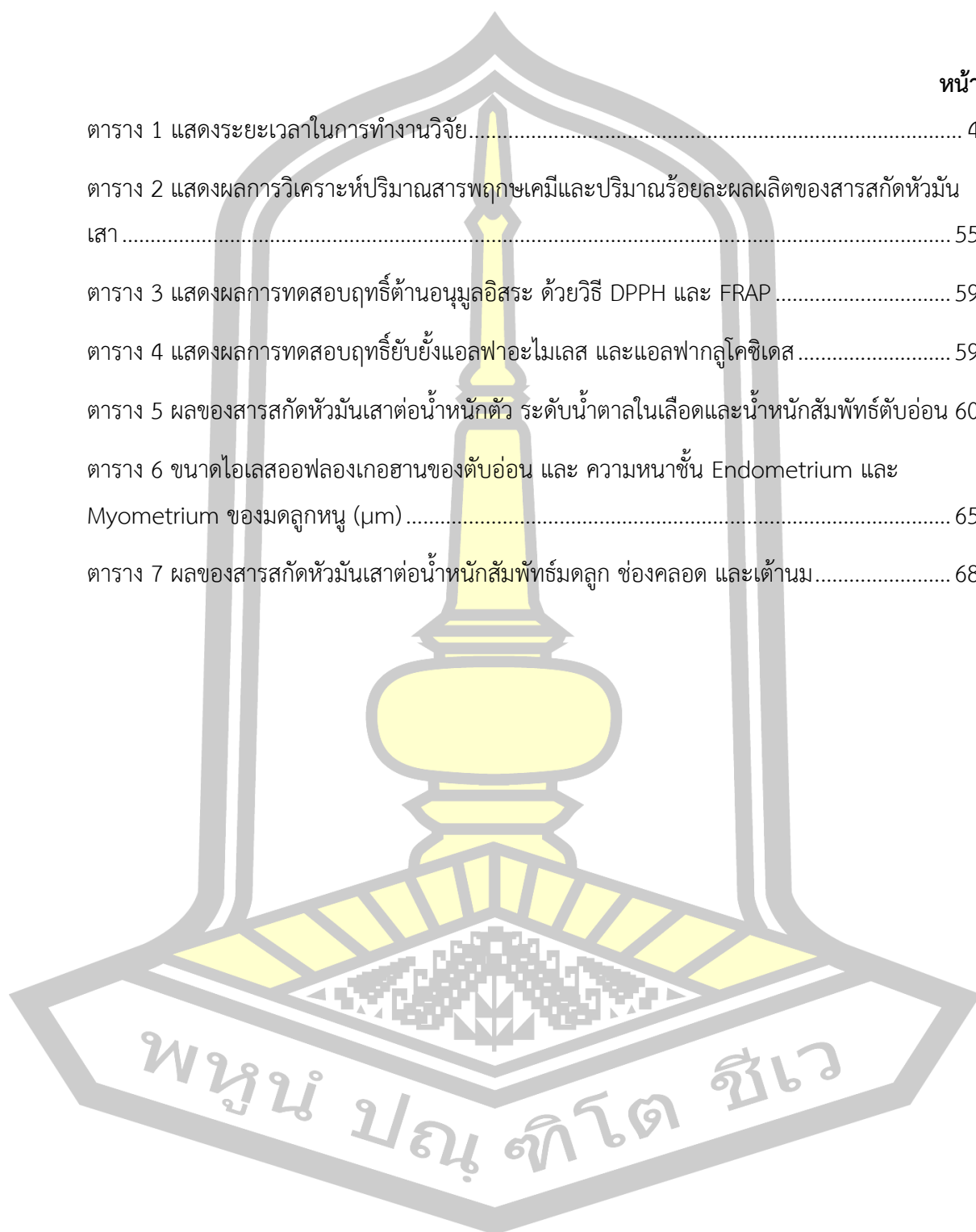


ภาคผนวก ข การเตรียมสาร และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	91
ภาคผนวก ค หนังสืออนุญาตใช้สัตว์ทดลองในงานวิจัย.....	97
ประวัติผู้เขียน.....	99



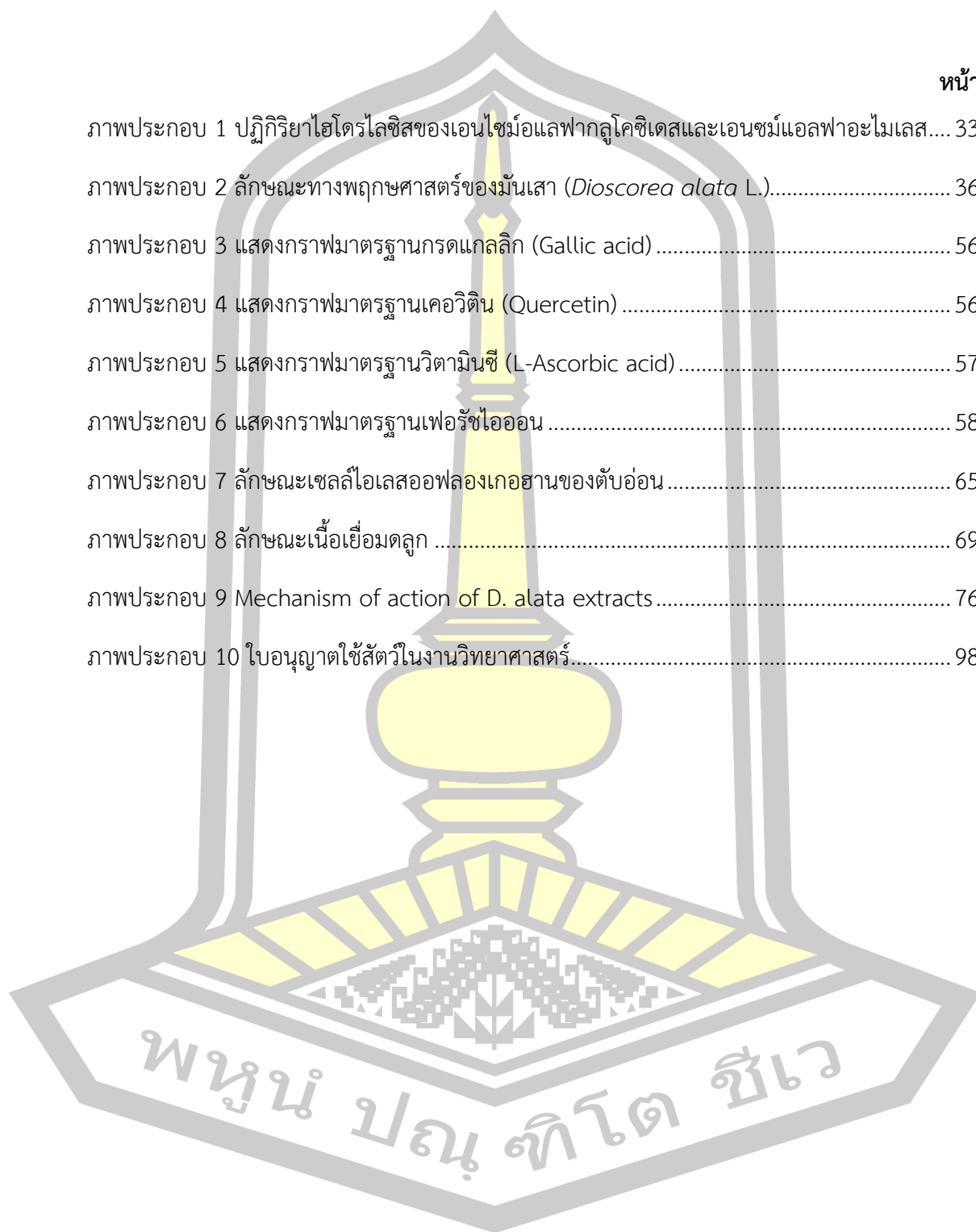
สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 แสดงระยะเวลาในการทำงานวิจัย.....	4
ตาราง 2 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีและปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหว่าม เส้า.....	55
ตาราง 3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ FRAP.....	59
ตาราง 4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดส.....	59
ตาราง 5 ผลของสารสกัดหว่ามเส้าต่อน้ำหนักตัว ระดับน้ำตาลในเลือดและน้ำหนักสัมพัทธ์ตับอ่อน	60
ตาราง 6 ขนาดไอเลสออฟล่องเกอฮานของตับอ่อน และ ความหนาชั้น Endometrium และ Myometrium ของมดลูกหนู (μm).....	65
ตาราง 7 ผลของสารสกัดหว่ามเส้าต่อน้ำหนักสัมพัทธ์มดลูก ช่องคลอด และเต้านม.....	68



สารบัญภาพประกอบ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส...	33
ภาพประกอบ 2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันเสา (<i>Dioscorea alata</i> L.).....	36
ภาพประกอบ 3 แสดงกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)	56
ภาพประกอบ 4 แสดงกราฟมาตรฐานเคอวิติน (Quercetin)	56
ภาพประกอบ 5 แสดงกราฟมาตรฐานวิตามินซี (L-Ascorbic acid)	57
ภาพประกอบ 6 แสดงกราฟมาตรฐานเฟอร์ริกไอออน	58
ภาพประกอบ 7 ลักษณะเซลล์ไอเลสออฟล่องเกอฮานของตับอ่อน	65
ภาพประกอบ 8 ลักษณะเนื้อเยื่อมดลูก	69
ภาพประกอบ 9 Mechanism of action of <i>D. alata</i> extracts	76
ภาพประกอบ 10 ใบอนุญาตใช้ส้วในงานวิทยาศาสตร์.....	98



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

วัยหมดประจำเดือน ส่งผลให้ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลง เนื่องจากการทำงานของรังไข่เสื่อมหรือจำนวนไข่ลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น (Webster, 2002; Zeng et al., 2018) และอีกหลายสาเหตุได้แก่ เกิดการผ่าตัดรังไข่ทั้งสองข้าง การได้รับอุบัติเหตุ และการได้รับสารเคมี (Broekmans, Soules, & Fauser, 2009) โดยเฉลี่ยวัยหมดประจำเดือนจะเกิดขึ้นในช่วงระหว่างอายุ 45 ถึง 55 ปี ของวัยหมดประจำเดือน มักทำให้เกิดอาการและโรคต่าง ๆ เช่น อารมณ์แปรปรวน หงุดหงิด ร้อนวูบวาบ รวมทั้งส่งผลต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน โรคอัลไซเมอร์และ โรคหัวใจและหลอดเลือดรวมทั้งโรคเบาหวาน (Maithili, Dhanabal, Vadivelan, & Mahendran, 2011) เป็นต้น ในภาวะวัยหมดประจำเดือนก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ซึ่งหนึ่งในนั้นที่สำคัญที่สุดคือภาวะการณการเป็นโรคเบาหวานเบาหวานในวัยหมดประจำเดือนมีสาเหตุมาจากความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเอสโตรเจนและการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดโดย Estrogen receptor alpha: ER α receptor ในเบต้าเซลล์ของตับอ่อนเป็นตัวควบคุมการสร้างอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดผิดปกติ (Le May et al., 2006; Rettberg, Yao, & Brinton, 2014; Wong et al., 2010) ปัจจุบันการรักษาโรคเบาหวานในภาวะหมดประจำเดือน นิยมใช้ ยาเมทฟอร์มิน การฉีดอินซูลิน และเอสโตรเจนร่วมด้วย แต่การใช้ยาจะส่งผลกระทบต่อภาวะเลือดเป็นกรด ภาวะตับทำงานล้มเหลว และเสียชีวิต (Inzucchi et al., 2015) จึงมีการรักษาโดยใช้ฮอร์โมนทดแทน (hormone replacement therapy) ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรม พบว่าในผู้ป่วยวัยหมดประจำเดือนที่เป็นเบาหวานเมื่อได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจน ตับอ่อนจะกระตุ้นการหลั่งอินซูลินทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง (นิมิตเตช ไกรชนะ, 2543) แต่เมื่อใช้ฮอร์โมนทดแทนต่อเนื่องเป็นเวลา 5 ปี ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อน (Fournier et al., 2014) ได้แก่ ความดันโลหิต โรคหลอดเลือดโคโรนารี กระดูกพรุน มะเร็งเต้านม และมะเร็งมดลูก (Seki K et al.1983; Zeng et al. 2018) ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงได้ให้ความสนใจนำพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนคือ ไฟโตรเอสโตรเจน โดยพบสารกลุ่ม isoflavones และ isocoumarins ซึ่งสารในพืชกลุ่มไฟโตรเอสโตรเจนสามารถกระตุ้นฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิก ปัจจุบันมีการศึกษาพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์เอสโตรเจนิกกันอย่างแพร่หลายได้แก่ ถั่วเหลือง เรดโคลเวอร์ คุดชู กวาวเครือ และรวมถึงพืชวงศ์ Dioscoreacea

Dioscorea alata L. มีชื่อท้องถิ่นว่า มันเสา มีลักษณะเป็นพืชที่มีลำต้นเลื้อย หัวใต้ดินรูปทรงกระบอก เปลือกหัวสีน้ำตาลแกมเทา เนื้อในหัวมีสีขาวแกมเหลืองไปจนถึงสีม่วงอมแดง ลำต้นส่วนใหญ่สีม่วงอมแดง มีครีบตามยาว 4 ครีบ ใบเดี่ยวเกิดตรงข้าม ดอกเพศผู้ขนาดเล็กเกิดรวมกันเป็นช่อ

ดอกเพศเมียมีรังไข่รูปรีแกมรูปไข่ มักมีสีม่วงอมแดงตามแกนกลาง ผลทรงกลมแผ่ออกเป็น 3 พู เมล็ดรูปหยดน้ำ มีปีกกลมสีน้ำตาลล้อมรอบ (เชิดศักดิ์ ทัพใหญ่ และคณะ, 2560); (Santisuk T and Larsen K, 2009) มีสารอาหารสูงเช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตและไฟเบอร์ แร่ธาตุที่จำเป็นได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัสและ โซเดียม เป็นต้น นอกจากนี้มีวิตามินที่สำคัญเช่น วิตามิน ซี อี เค เอ และวิตามินบี (Chandrasekara and Josheph Kumar, 2016) มีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ saponins, sapogenins, mucin, dioscin, dioscorin, allantoin, choline, polyphenole, diosgenin, carotenoids และ tocopherols (Podolak, Galanty, & Sobolewska, 2010) นอกจากนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเบาหวาน ต้านแบคทีเรีย สารต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์เอสโตรเจนิก เป็นต้น งานวิจัยที่รายงานเกี่ยวกับการนำพืชสกุลนี้มาใช้ในการศึกษาฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิกและป้องกันโรคเบาหวานมีดังนี้ Wu et al., (2005) รายงานว่า การรับประทาน *D.alata* ช่วยเพิ่มฮอร์โมนเพศ ลดไขมันและเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระผลกระทบเหล่านี้อาจช่วยลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งเต้านมและโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนได้ ในงานวิจัยของ Ahmed et al., (2009) ได้ทำการการศึกษาฤทธิ์ลดเบาหวานของ *D. bulbifera* โดยเหนี่ยวนำหนูให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin ทำการทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในวันที่ 42 หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัด *D. bulbifera* ขนาด 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักมีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับสารสกัด รายงานวิจัยของ Maithili et al.,(2011) ทำการศึกษาฤทธิ์การป้องกันเบาหวานของสารสกัด *D. alata* ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan พบว่าหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัด *D. alata* ขนาด 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนัก มีระดับน้ำตาลในเลือดลดลง และมีค่า Low density lipoprotein :LDL ,Total cholesterol: TCH และ Total triglyceride:TG ลดลง และค่า High density lipoprotein: HDL เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับสารสกัดแต่ไม่แตกต่างจากหนูเบาหวานที่ได้รับยา และ งานวิจัยของ Zeng et al., (2018) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิกของสารสกัดจาก *D. opposita* และประสิทธิภาพของสารประกอบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและในร่างกาย พบว่าน้ำหนักมดลูกของหนู และมีระดับ Estrogen: E2 และ ฮอร์โมน Follicle-stimulating hormone: FSH เพิ่มขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ $p < 0.01$ และสารสกัดมีการป้องกันการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ $p < 0.05$

จากการศึกษางานวิจัยที่กล่าวข้างต้นพบว่าพืชสกุล *Dioscorea* มีฤทธิ์ชีวภาพ ป้องกันโรคเบาหวาน และมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนิก หากสามารถค้นพบว่า *D. alata* ซึ่งเป็นพืชสกุล *Dioscorea* ที่เป็นสมุนไพรให้ความปลอดภัยและให้ผลในการรักษาภาวะโรคเบาหวานของผู้หญิงในวัยหมดประจำเดือนได้ดี อาจเป็นการใช้ทดแทนยาในปัจจุบันได้ ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์

คือ การหาสารสกัดจาก *D. alata* ที่สามารถออกฤทธิ์ในการรักษาภาวะโรคเบาหวานในวัยหมดประจำเดือนได้ โดยการศึกษาถึงการลดระดับน้ำตาลในเลือด การเพิ่มฮอร์โมนเอสโตรเจนและ การฟื้นฟูความผิดปกติของผู้ป่วยวัยหมดประจำเดือน ซึ่งนอกจากจะช่วยในการป้องกัน ยับยั้งและ รักษาภาวะโรคเบาหวานในวัยหมดประจำเดือนแล้ว ยังเป็นการรักษาที่ไม่แพง และนอกจากนี้ยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ผู้รักษาได้อีก รวมถึงยังเป็นประโยชน์ต่อบุคลากรทางการแพทย์และสาธารณสุข เป็นแนวทางในการพัฒนาองค์ความรู้ทางวิชาการ และ เผยแพร่ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ของ *D. alata* ให้กับประชาชน หน่วยงานและบุคลากรที่เกี่ยวข้อง

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของห้วมันเสา
- 1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์การลดระดับน้ำตาลของสารสกัดห้วมันเสาต่อระดับน้ำตาลในเลือดระดับอินซูลินในซีรัม และน้ำหนักตับอ่อนของหนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2
- 1.2.3 เพื่อศึกษาฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิกของสารสกัดห้วมันเสาต่อน้ำหนักอวัยวะ (มดลูก ช่องคลอด และเต้านม) ของหนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2
- 1.2.4 เพื่อศึกษาสารสกัดห้วมันเสาต่อลักษณะเนื้อเยื่อมดลูกและตับอ่อน ของหนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย

- 1.3.1 พบสารพฤกษเคมีได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และ ปริมาณแอนโทไซยานิน และพบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในสารสกัดห้วมันเสา
- 1.3.2 สารสกัดจากมันเสามีผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง และมีค่าระดับอินซูลินในซีรัมเพิ่มขึ้น
- 1.3.3 สารสกัดจากมันเสามีผลทำให้ค่าน้ำหนักตัว น้ำหนักมดลูก เต้านม ช่องคลอด และตับอ่อนเพิ่มขึ้น
- 1.3.4 สารสกัดจากมันเสามีผลทำให้เอนโดเมทริอุมและเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium มีขนาดเพิ่มขึ้น

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.4.1 สัตว์ทดลองที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้คือ หนูแรทเพศเมีย สายพันธุ์วิสตา (albino Wistar rats) อายุ 8 สัปดาห์ น้ำหนัก 200-250 กรัม
- 1.4.2 พืชสมุนไพรที่ใช้สำหรับการวิจัยครั้งนี้คือ มันเสา
- 1.4.3 ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด คือ เอทานอล 95%
- 1.4.4 เลี้ยงที่อาคารสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา

1.4.5 ตัวแปรต้น คือสารสกัดหุ้มมันเสา

1.4.6 ตัวแปรตาม ได้แก่ ฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิก และฤทธิ์การลดระดับน้ำตาลในเลือด

1.4.7 ตัวแปรควบคุม คือ สารสกัดหุ้มมันเสา ขนาด 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว

1.5 ระยะเวลาในการทำงานวิจัย

ตาราง 1 แสดงระยะเวลาในการทำงานวิจัย

กิจกรรม	ระยะเวลา มกราคม พ.ศ 2561 ถึง กันยายน 2563									
	ม.ค.-มี.ค.	เม.ย.-มิ.ย.	ก.ค.-ก.ย.	ต.ค.-ธ.ค.	ม.ค.-มี.ค.	เม.ย.-มิ.ย.	ก.ค.-ก.ย.	ต.ค.-ธ.ค.	ม.ค.-มี.ค.	เม.ย.-มิ.ย.
1. เตรียมเอกสาร										
1.1 ทบทวนวรรณกรรม										
1.2 สอบเค้าโครง 3 บท										
2. เตรียมสารสกัด										
3. ศึกษาสารสกัดมันเสา										
4. วิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลอง										
5. สรุปผล เขียนรายงานฉบับสมบูรณ์										
6. เสนอผลงานวิทยานิพนธ์										
7. ตีพิมพ์งานวิจัย										

1.6 สถานที่ที่ใช้สำหรับทำงานวิจัย

1.6.1 ห้อง SC1-309/1 และ ห้อง SC1-309/2 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.6.2 โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.6.3 อาคารสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา

1.6.4 คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

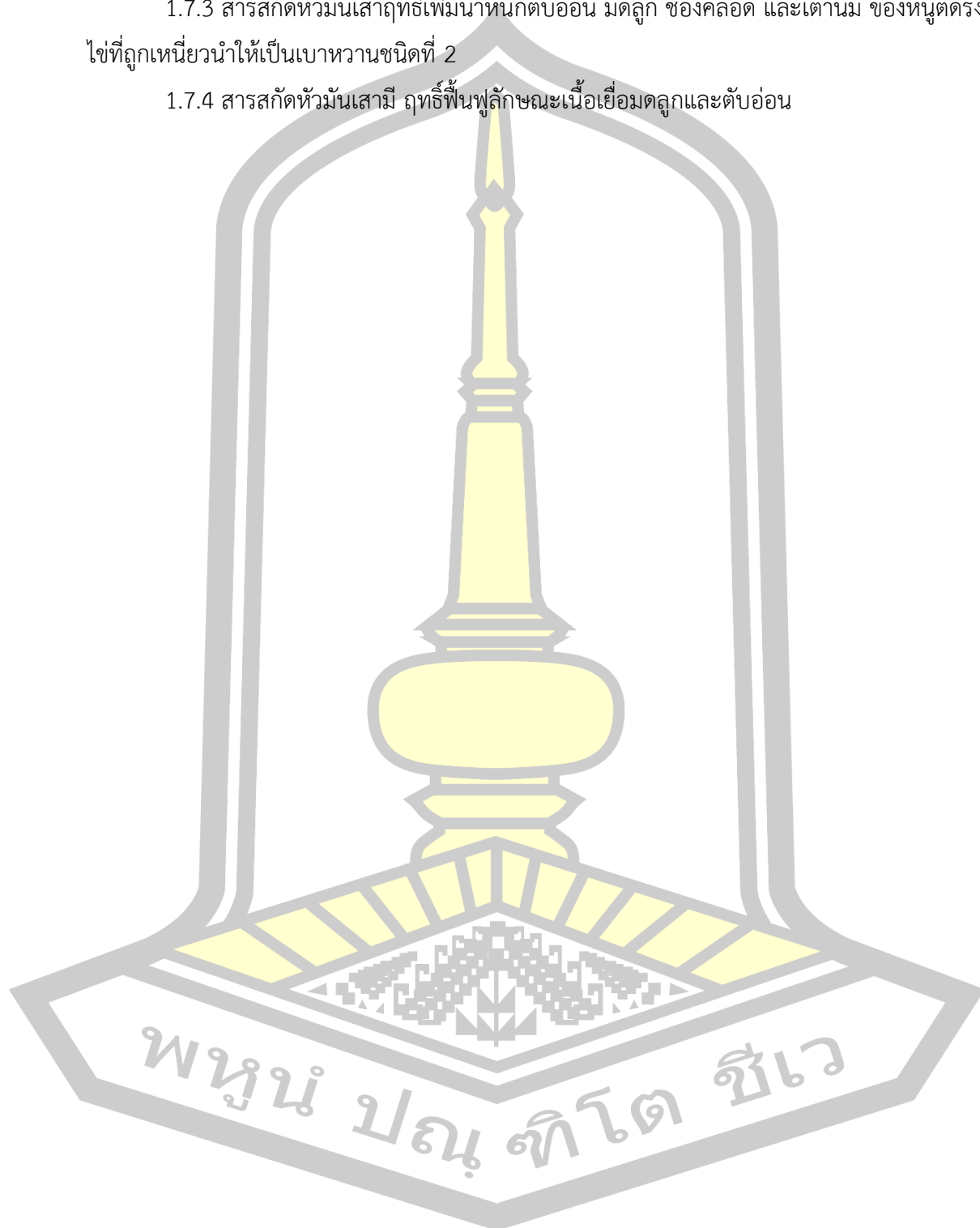
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.7.1 ทราบสารพิษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และแอนโทไซยานิน และ ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหุ้มมันเสา

1.7.2 สารสกัดหัวมันเสามีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด เพิ่มอินซูลินในซีรัม

1.7.3 สารสกัดหัวมันเสามีฤทธิ์เพิ่มน้ำหนักตับอ่อน มดลูก ช่องคลอด และเต้านม ของหนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

1.7.4 สารสกัดหัวมันเสามี ฤทธิ์ฟื้นฟูลักษณะเนื้อเยื่อมดลูกและตับอ่อน



บทที่ 2

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

ผู้วิจัยได้แบ่งเนื้อหาที่เกี่ยวข้องสำหรับการศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดและฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิกของสารสกัดมันเส้าในหนุ่ดัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ไว้ดังนี้

- 2.1 วัยหมดประจำเดือน (Menopause)
- 2.2 เอสโตรเจนและวัยหมดประจำเดือน
- 2.3 เบาหวาน (Diabetic mellitus)
- 2.4 เบาหวานในภาวะหมดประจำเดือน
- 2.5 สารพฤษเคมีในพืช
- 2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ
- 2.7 การยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส
- 2.8 ไฟโตเอสโตรเจน (Phytoestrogen)
- 2.9 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของมันเส้า
- 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 วัยหมดประจำเดือน (Menopause)

วัยหมดประจำเดือน วัยหมดระดู ภาวะหมดประจำเดือน หรือวัยทอง หมายถึงสตรีที่เริ่มเข้าสู่ภาวะวัยหมดประจำเดือนเมื่อขาดประจำเดือนนับเป็นเวลา 12 เดือนนับตั้งแต่เป็นประจำเดือนครั้งสุดท้าย โดยไม่ได้เกิดจากสาเหตุของความผิดปกติทางสรีรวิทยาหรือพยาธิสภาพวิทยาใด ๆ อายุเฉลี่ยคือ 50 ปี ซึ่งอายุที่เพิ่มขึ้นทำให้รังไข่ผิดปกติที่มีผลทำให้ขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน นอกจากนี้วัยหมดประจำเดือนยังเกิดจากการผ่าตัดรังไข่ออกทั้งสองข้าง หรือจากการได้รับยาเคมีบำบัดหรือการฉายแสง ซึ่งวัยหมดประจำเดือนมีความเกี่ยวข้องกับระยะเวลาของการเปลี่ยนแปลงเพื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน ในช่วงเวลาใกล้เข้าสู่วัยหมดประจำเดือนหรือ climacteric หรือ peri-menopause หรือ menopause transition ร่างกายจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมน และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านร่างกาย ด้านอารมณ์ ได้แก่ หงุดหงิดง่าย อารมณ์แปรปรวน เป็นต้น ส่วนสตรีที่หมดประจำเดือนเนื่องจากอุบัติเหตุ หรือเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนก่อนอายุ 40 ปี เรียกความผิดปกตินี้ว่า ภาวะวัยหมดประจำเดือนก่อนวัยอันควร (Premature ovarian failure)

2.1.1 ความหมายของวัยหมดประจำเดือน

วัยหมดประจำเดือน หมายถึงสตรีที่เข้าสู่ระยะสิ้นสุดการมีประจำเดือนอย่างถาวรเนื่องจากรังไข่หยุดทำงาน วัยหมดประจำเดือนเป็นช่วงระยะเวลาหนึ่งในกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ซึ่งเป็นไปตามธรรมชาติจากสตรีในวัยเจริญพันธุ์เข้าสู่วัยที่รังไข่หมดความสามารถในการเจริญพันธุ์

และสร้างฮอร์โมนเพศลดลง (นิมิต เตชไกรชนะ, 2543)นอกจากนี้ วัยหมดประจำเดือนหมายถึง ความเสื่อมของรังไข่ต่อการตอบสนองต่อฮอร์โมนโกนาโดโทรฟิน เป็นเหตุให้มีการผลิตไข่น้อยลงและหยุดการผลิตไข่ทำให้การหลั่งฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลงและส่งผลกระทบต่อประจำเดือนหมดไปซึ่งช่วงเวลาที่มีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่าง ทางด้านร่างกายและจิตใจโดยมีความสัมพันธ์กับการทำงานลดลงของรังไข่ แม้ว่าจะเป็นการเปลี่ยนแปลงตามธรรมชาติแต่ก็อาจก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพในสตรีบางรายโดยในช่วงแรกจะมีประจำเดือนผิดปกติอาการร้อนวูบวาบ และอาการทางจิตใจ ต่อมาจะมีอาการจากการเสื่อมถอยของอวัยวะระบบสืบพันธุ์ และระบบขับถ่ายปัสสาวะ ส่วนในระยะยาวการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจนจะเป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดความผิดปกติและการเสื่อมถอยของอวัยวะต่าง ๆ เช่น โรคกระดูกพรุนโรคหัวใจโรคหลอดเลือดโรคสมองเสื่อม เป็นต้น

2.1.2 สาเหตุของการหมดประจำเดือน มี 3 สาเหตุ ดังนี้

2.1.2.1 การหมดประจำเดือนตามธรรมชาติ เกิดจากการทำงานของรังไข่ค่อยๆ ลดลง ซึ่งจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อสตรีมีอายุระหว่าง 40 ถึง 50 ปี ทำให้การตกของไข่ลดลงและหยุดในที่สุดเมื่ออายุประมาณ 45 ถึง 55 ปี ประจำเดือนจะมีการเปลี่ยนแปลงโดยเริ่มจากการมาไม่สม่ำเสมออาจมีมากขึ้นหรือน้อยลงในระยะเวลาหนึ่งแล้วจึงไปอย่างถาวร

2.1.2.2 การหมดประจำเดือนก่อนกำหนด หมายถึงการหมดประจำเดือนก่อนอายุ 40 ปีพบได้ร้อยละ 5 ของสตรีที่มีประจำเดือนปกติบางคนเรียกกลุ่มอาการเหล่านี้ว่า premature ovarian failure สาเหตุที่สำคัญได้แก่ การติดเชื้อเนื้องอกในรังไข่การได้รับรังสีรักษา และการผ่าตัดทำลายเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงรังไข่ประจำเดือนอาจมีการเปลี่ยนแปลงโดยเริ่มจากการมาไม่สม่ำเสมอแล้วจึงหมดไปอย่างถาวรหรือประจำเดือนหมดทันที

2.1.2.3 การหมดประจำเดือนจากการรักษา เป็นการหมดประจำเดือนที่เกิดจากการทำงานของรังไข่ลดลงหรือหยุดการทำงานอย่างถาวรจากการผ่าตัดรังไข่ออก การฉายรังสี ที่รังไข่ ซึ่งมีผลทำให้ประจำเดือนหมดไปอย่างถาวร เมื่อสตรีเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนตามธรรมชาติแล้ว การทำงานของรังไข่จะลดน้อยลงอย่างค่อยเป็นค่อยไปมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของรอบประจำเดือนคือมีประจำเดือนมาบ่อยขึ้นหรืออาจมีเลือดออกกะปริดกะปรอยก่อนมีประจำเดือนจนเมื่อรังไข่เสื่อมการทำงานลักษณะของประจำเดือนจะไม่แน่นอนอาจมีประจำเดือนมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกายเมื่อรังไข่สร้างฮอร์โมนเอสโตรเจน ได้น้อยลงจนไม่เพียงพอที่จะไปกระตุ้นให้โพรงมดลูกเจริญเติบโตประจำเดือนก็จะห่างออกไปเรื่อย ๆ ปริมาณเลือดของประจำเดือนจะน้อยลงจนกระทั่งหายไป ในที่สุดการลดลงของระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกายมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายวิภาคและสรีรวิทยาของ สรีรวิทยาของอวัยวะต่าง ๆ

2.1.3 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนไข่ (oocyte) และฟอลลิเคิล (follicle) ในวัยหมดประจำเดือน

การทำงานของรังไข่เริ่มตั้งแต่มีก่อนมีประจำเดือนครั้งแรกโดยพบในระยะ 5-7 ปี หลังจากเริ่มมีประจำเดือนอาจเป็นช่วงระหว่างรอบประจำเดือนที่ยืดยาวออก ประจำเดือนมาไม่สม่ำเสมอและมักเกิดจากรอบประจำเดือนที่ไม่มีการตกไข่ โดยช่วงระหว่างรอบประจำเดือนจะเริ่มสั้นลง และมาสม่ำเสมอทุก 25-28 วัน ในอายุ 25 ปีเป็นต้นไป และในช่วงอายุ 40 ปี เป็นต้นไปรอบประจำเดือนจะไม่มีตกไข่ ซึ่งสตรีวัยหมดประจำเดือนจะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาตามธรรมชาติที่มีความต่อเนื่อง ค่อยเป็นค่อยไปและสัมพันธ์กับการทำงานของรังไข่ ระยะเวลาที่รังไข่เริ่มมีการเสื่อมจนเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน จะมีการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล ดังนี้

2.1.3.1 วัยใกล้หมดประจำเดือน

ในช่วงอายุตั้งแต่ 37-38 ปี จะเริ่มมีการลดลงของฟอลลิเคิลอย่างรวดเร็ว และความเสื่อมสภาพของฟอลลิเคิลทำให้รังไข่ตอบสนองต่อการกระตุ้นจากโกนาโดโทรปิน (gonadotropin) ลดลง ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของรอบประจำเดือน ทำให้มีรอบประจำเดือนที่ไม่มีการตกไข่มากขึ้น และความสามารถในการเจริญพันธุ์ลดลง

2.1.3.2 วัยหมดประจำเดือน

สตรีในวัยหมดประจำเดือนฟอลลิเคิลจะพอดัวซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดจากกลไกที่เรียกว่า apoptosis เป็นกลไกของร่างกายที่ทำให้เซลล์ตายเมื่อถึงเวลาหนึ่ง เพื่อควบคุมจำนวนเซลล์บางชนิดในร่างกายให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม ทั้งนี้มีหลักฐานในสัตว์ทดลองที่แสดงให้เห็นว่าฟอลลิเคิลในรังไข่ของสัตว์ที่มีอายุมากจะเกิด apoptosis มากกว่าฟอลลิเคิลของสัตว์ที่มีอายุน้อย โดยอัตราการก่อตัวของฟอลลิเคิลในระยะ immature follicles ในวัยหมดประจำเดือนจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการเจริญพันธุ์ของสตรีแต่ละคน

2.1.4 การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนในวัยหมดประจำเดือน

รังไข่ของสตรีวัยหมดประจำเดือนจะมีการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ที่ลดลง และระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่มีในกระแสเลือดส่วนมากเกิดจากการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (testosterone) และ androstenedione โดยมีการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน 2 ระยะ ดังนี้

2.1.4.1 วัยใกล้หมดประจำเดือน

การลดลงของจำนวนฟอลลิเคิลและความเสื่อมสภาพของฟอลลิเคิลทำให้น้ำไขลดการสร้าง inhibin ซึ่งมีหน้าที่ยับยั้ง follicle stimulating hormone (FSH) ระดับ FSH ในเลือดจึงเริ่มสูงขึ้น ซึ่ง FSH ที่สูงขึ้นในระยะแรกอาจกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลที่เร็วขึ้นทำให้ระยะ follicular ของรอบการมีประจำเดือนสั้นลง ส่งผลทำให้รอบประจำเดือนถี่ขึ้น นอกจากนี้ระดับเอสโตรเจนในระยะนี้ก็ยังไม่มีเปลี่ยนแปลงหรือสูงขึ้นเล็กน้อย ขึ้นอยู่กับความสามารถของฟอลลิเคิลในการตอบสนองต่อ FSH แต่ระดับ luteinizing hormone (LH) ในระยะนี้ยังไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นเมื่อใกล้หมดประจำเดือนการตอบสนองและจำนวนฟอลลิเคิลลดลงอย่างมาก รังไข่ไม่ค่อยมีการ

ตกไข่ ช่วงระหว่างรอบประจำเดือนเริ่มยืดยาวออกและระดับเอสตราไดออล (estradiol) ในกระแสเลือดจะลดลง ในระยะเวลา 6 เดือน ถึง 1 ปี ก่อนที่รังไข่จะหยุดทำงาน

2.1.4.2 วัยหมดประจำเดือน

เมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน รังไข่จะสูญเสียฟอลลิเคิลทั้งหมดทำให้ไม่สามารถสร้างเอสโตรเจนต่อไปได้ แต่รังไข่ยังมีเซลล์ใน stroma ซึ่งรังไข่ยังสามารถสร้างแอนโดรเจน (androgen) ตามการกระตุ้นของโกนาโดโทรปินต่อไป ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในกระแสเลือดภายหลังเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนจึงพบได้ดังนี้

1) Androstenedione เมื่อเข้าสู่ภาวะวัยหมดประจำเดือน จะส่งผลกระทบต่อ androstenedione ในกระแสเลือดจะลดลงเหลือครึ่งหนึ่ง ซึ่ง androstenedione ในสตรีวัยหมดประจำเดือนสังเคราะห์จากสองแหล่งหลักในร่างกาย โดยส่วนใหญ่สร้างมาจากต่อมหมวกไต และส่วนน้อยสร้างมารากรังไข่

2) เทสโทสเตอโรน ในกระแสเลือดจะลดลง เมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน ส่วนใหญ่ อัตราการสร้างเทสโทสเตอโรน จากรังไข่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสตรีในวัยเจริญพันธุ์ การที่รังไข่สร้างเทสโทสเตอโรนมากขึ้น เนื่องจากระดับ LH ที่สูงขึ้น กระตุ้นให้เซลล์ stroma ในรังไข่เกิด hypertrophy และ hyperplasia จึงทำให้มีการสังเคราะห์เทสโทสเตอโรนได้มากขึ้น ยกเว้นในบางรายที่รังไข่เกิดพังผืด (fibrosis) ทำให้เซลล์ในเนื้อเยื่อดังกล่าวไม่ตอบสนองต่อ LH จึงอาจทำให้สร้าง เทสโทสเตอโรนได้น้อยลง การที่ระดับเทสโทสเตอโรนในกระแสเลือดโดยรวมกับลดลง เป็นผลมาจากการที่ระดับ androstenedione ในเลือดลดลง เนื่องจากส่วนใหญ่ของเทสโทสเตอโรนเปลี่ยนมาจาก androstenedione (peripheral conversion)

3) เทสโทสเตอโรน เมื่อเข้าสู่ภาวะวัยหมดประจำเดือน รังไข่จะไม่สามารถสังเคราะห์เอสโตรเจนได้โดยตรง ระดับเอสโตรเจน ในกระแสเลือดจึงลดลงเหลืออยู่ในระดับต่ำ โดยมีระดับเอสโตรเจนสูงกว่าเอสตราไดออล เอสโตรเจนที่มีอยู่ในกระแสเลือดเปลี่ยนมาจาก androstenedione และส่วนใหญ่ของเอสตราไดออลเปลี่ยนแปลงมาจากเอสโตรนอีกต่อหนึ่ง ส่วนน้อยร้อยละ 0.1 เปลี่ยนมาจากเทสโทสเตอโรน ดังนั้นเมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน รังไข่ไม่สามารถสร้างเอสโตรเจนได้เองระดับเอสโตรเจนส่วนใหญ่ในกระแสเลือดจึงขึ้นอยู่กับระดับของ androstenedione เมื่อระดับ androstenedione ลดลง ในสตรีวัยหมดประจำเดือน ซึ่งทำให้ระดับเอสโตรเจนในกระแสเลือดลดลงด้วย

4) โกนาโดโทรปิน (FSH และ LH) เมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนระดับ FSH จะเพิ่มสูงขึ้นจากวัยเจริญพันธุ์ 10 ถึง 20 เท่า ในขณะที่ ระดับ LH เพิ่มขึ้นได้ประมาณ 3 เท่า โกนาโดโทรปินทั้ง 2 ชนิด จะเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนได้ 1 ถึง 3 ปี หลังจากนั้นจะเริ่มลดลงอย่างช้าๆ การที่ระดับ FSH เพิ่มขึ้นสูงกว่า LH เนื่องจาก LH ถูกกำจัดออกจากร่างกายได้เร็ว

กว่า FSH และ LH ไม่ได้ถูกยับยั้งโดย inhibin เช่นเดียวกับ FSH ดังนั้นเมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน ฟอลลิเคิลไม่สามารถสร้าง inhibin ได้ จึงทำให้ไม่มีตัวที่จะคอยยับยั้ง FSH จึงเป็นเหตุที่ทำให้ระดับ FSH สูง ได้ค่อนข้างมาก โดยทั่วไประดับของ FSH ที่ถือว่ารังไข่หยุดทำงาน (ovarian failure) และเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนคือ 30 ถึง 40 ยูนิตต่อลิตร อย่างไรก็ตาม การให้ฮอร์โมนทดแทนในสตรีวัยหมดประจำเดือนไม่ทำให้ระดับ FSH ลดลง จนกลับมาสู่ระดับปกติในวัยเจริญพันธุ์ เนื่องจากไม่มี inhibin ช่วยยับยั้ง ดังที่กล่าวมาข้างต้น จึงไม่สามารถใช้ FSH ในการติดตามการรักษาสตรีที่ใช้ฮอร์โมนทดแทนได้

สตรีวัยหมดประจำเดือนโดยทั่วไปจะมีระดับเอสโตรไดอลและเอสโตรนในกระแสเลือดอยู่ในระดับต่ำและค่อนข้างคงที่ เอสโตรเจนทั้งสองชนิดเปลี่ยนแปลงมาจาก androstenedione และ เทสโทสเตอโรน (peripheral conversion) ที่ยังคงสร้างได้จากต่อมหมวกไตและรังไข่ดังที่กล่าวมาข้างต้น ดังนั้นอัตราการเกิด peripheral conversion ของแอนโดรเจน เป็นเอสโตรเจนมักเกิดในเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) ดังนั้นในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่อ้วนหรือมีน้ำหนักตัวมาก จึงพบระดับเอสโตรเจนในกระแสเลือดสูงกว่าสตรีวัยหมดประจำเดือนโดยทั่วไปและเนื่องจากคนที่อ้วนจะมีระดับ sex hormone binding globulin (SHBG) ที่ต่ำจึงมีระดับเอสโตรเจนอิสระ (free estrogen) ที่ไม่ได้จับกับ SHBG ในกระแสเลือดสูง ซึ่งอาจกระตุ้นให้เยื่อบุโพรงมดลูกหนา (endometrial hyperplasia) และอาจเกิดมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก (endometrial carcinoma) และอาจมาพบแพทย์ด้วยอาการเลือดออกทางช่องคลอดในวัยหมดประจำเดือน (postmenopausal bleeding)

2.1.5 การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและพยาธิสรีรวิทยาในวัยหมดประจำเดือน

การเปลี่ยนแปลงในวัยหมดประจำเดือนเป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของร่างกาย ซึ่งเป็นผลมาจากการเสื่อมของอวัยวะในระบบต่าง ๆ ตามอายุที่มากขึ้นร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของร่างกาย อันเนื่องมาจากการลดลงของ follicle ในรังไข่ทำให้มีการสร้างเอสโตรเจนลดลงจนหยุดสร้างไปในที่สุด อย่างไรก็ตามสตรีวัยหมดประจำเดือนยังคงมีเอสโตรเจนในระดับต่ำ ๆ ที่เปลี่ยนแปลงมาจากแอนโดรเจนซึ่งส่วนใหญ่สร้างจากต่อมหมวกไตและบางส่วนยังคงได้มาจากรังไข่ทั้งนี้ระดับเอสโตรเจนโดยรวมในวัยนี้จะลดลงเช่นกัน ในสตรีที่เข้าสู่วัยหมดประจำเดือนจะมีระดับเอสโตรเจนอยู่กายน้อยแตกต่างกันไปเช่น สตรีที่อ้วน จะมีระดับเอสโตรเจนสูงกว่าสตรีที่ผอม สตรีที่สูบบุหรี่จะมีระดับเอสโตรเจนที่ต่ำกว่าสตรีโดยทั่วไปเนื่องจาก ผู้ที่สูบบุหรี่มักจะพอมมีเนื้อเยื่อไขมันน้อยจึงมีผลให้การเปลี่ยน แอนโดรเจนให้เป็นเอสโตรเจนลดลง นอกจากนี้การสูบบุหรี่จะเล่นการเปลี่ยนแปลงเอสโตรเจนไปเป็นสารอนุพันธ์ที่มีฤทธิ์ต่ำกว่าและยังส่งผลให้สตรีเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนเร็วกว่าปกติ ซึ่งการมีระดับเอสโตรเจนที่มากน้อยต่างกันนี้ในวัยหมดประจำเดือนทำให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ได้มากน้อยต่างกัน เช่น สตรีที่อ้วนหรือมีน้ำหนักตัวมากจะมีการสูญเสียกระดูกน้อยกว่าสตรีที่ผอมหรือมีน้ำหนักตัวน้อย ในวัยหมดประจำเดือนที่มีระดับเอสโตรไดอล ในกระแสเลือดที่ต่ำมาก ๆ มีความหนาแน่นของกระดูก

ต่ำกว่าสตรีที่มีระดับเอสตราดิออลสูงกว่า และมีความเสี่ยงต่อการหักของกระดูกสะโพกและกระดูกสันหลังมากกว่า จะเห็นได้ว่าสตรีที่อ้วนหรือมีน้ำหนักตัวมาก จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุนและกระดูกหักน้อยกว่าสตรีที่ผอมโดยมีน้ำหนักตัวน้อยแต่เมื่อเปรียบเทียบความเสี่ยงต่อสุขภาพจากความอ้วนที่อาจเกิดโรคต่าง ๆ ทางอายุรกรรมได้มากกว่าเช่นโรคเบาหวานความดันโลหิตสูงโรคหัวใจหลอดเลือด เป็นต้น จึงควรแนะนำให้สตรีควบคุมน้ำหนักตัวให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมโดยการควบคุมเรื่องโภชนาการและการออกกำลังกายที่เหมาะสมในส่วนของการเปลี่ยนแปลงทางร่างกายเมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนถึงแม้สตรีแต่ละรายจะมีการเปลี่ยนแปลงในอัตราและความรุนแรงที่ไม่เท่ากันแต่โดยทั่วไปอาจก่อให้เกิดอาการและการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะในระบบต่าง ๆ คือ การเปลี่ยนแปลงของระบบ vasomotor การเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์และทางเดินปัสสาวะ การเปลี่ยนแปลงทางจิตใจและอารมณ์ การเปลี่ยนแปลงและปัญหาทางเพศการเปลี่ยนแปลงของกระดูก การเปลี่ยนแปลงของหัวใจและหลอดเลือด การเปลี่ยนแปลงของระบบประสาทส่วนกลางการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อและข้อ และการเปลี่ยนแปลงทางตาการได้ยินและช่องปาก ซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดในหัวข้อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์และทางเดินปัสสาวะเป็นหลัก

การเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์และทางเดินปัสสาวะ เนื่องจากเนื้อเยื่อของอวัยวะสืบพันธุ์และเนื้อเยื่อของระบบทางเดินปัสสาวะเช่น ท่อปัสสาวะ(urethra) และส่วน trigone ของกระเพาะปัสสาวะ เป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ใกล้เคียงกัน และเจริญเติบโตมาด้วยกันตั้งแต่ระยะเอ็มบริโอ นอกจากนี้ยังพบตัวรับเอสโตรเจน(estrogen receptor) ในเนื้อเยื่อของอวัยวะทั้ง 2 ระบบดังนั้นการลดลงของระดับเอสโตรเจนในวัยหมดประจำเดือนจึงอาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและอาการต่าง ๆ ดังนี้

2.1.5.1 ผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์

ระดับเอสโตรเจนที่ลดต่ำลง ในวัยหมดประจำเดือนจะมีผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่ตอบสนองต่อเอสโตรเจนดังนี้คือ

- 1) ปากช่องคลอด มีการสูญเสียส่วนของคอลลาเจน (collagen) เนื้อเยื่อไขมันและความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ต่อมของเยื่อบุผิว (epithelial gland) จะมีการฝ่อลีบและบางลง สารคัดหลั่งจากต่อมไขมัน (sebaceous) ลดลง จึงอาจทำให้มีอาการ เจ็บแสบร้อนคัน และรู้สึกแห้งบริเวณปากช่องคลอดได้ โดยส่วนของหนังหุ้มปลาย (prepuce) ของคริสตอริส (clitoris) จะฝ่อลีบมากกว่าส่วนหัว (glans) ทำให้คริสตอริส ได้รับการเสียดสีและระคายเคืองได้ง่ายขึ้น

- 2) ช่องคลอด ผนังช่องคลอดเป็นเยื่อเมือกซึ่งมีต่อมที่จะสร้างสารคัดหลั่ง

การทำงานของต่อมเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับฮอร์โมนเอสโตรเจน เมื่อมีระดับของเอสโตรเจนต่ำ ต่อมเหล่านี้ จะไม่สามารถสร้างสารคัดหลั่งได้เพียงพอจึงทำให้เกิดอาการช่องคลอดแห้ง การหลังสารหล่อลื่นขณะ มีเพศสัมพันธ์ช้าลงและตามมาด้วยอาการเจ็บเวลามีเพศสัมพันธ์ การขาดเอสโตรเจนทำให้ผนังช่อง คลอดบางลงซิด ยึดหยุ่นน้อยลง รอยย่นของผิวหนังด้านในช่องคลอดหายไปช่องคลอดจะสั้นและแคบลง ผิวด้านในของช่องคลอดเปื่อยยุ่ง่าย อาจมีจุดเลือดออกหรือมีแผลเกิดขึ้นและมีเลือดออกได้ง่าย เกิด การยึดติดของช่องคลอด ได้ง่ายโดยเฉพาะรายที่ไม่ค่อยมีเพศสัมพันธ์ สารคัดหลั่งที่สร้างจากต่อม บริเวณเยื่อเมือกของผนังช่องคลอดประกอบด้วย พอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งจะถูกละลายโดยแบคทีเรียที่ ชื่อว่า lactobacilli ได้เป็นกรดแลคติก ทำให้ช่องคลอดมีสภาพเป็นกรด pH 3.5 ถึง 4.5 ซึ่งจะยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ที่อาจก่อให้เกิดโรคได้ ในสภาวะที่ขาดเอสโตรเจน ต่อมบริเวณเยื่อ เมือก ไม่สามารถสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ได้ จึงทำให้ช่องคลอดมีสภาพเป็นด่าง pH 6-8 ซึ่ง lactobacilli ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดีจึงทำให้เชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้แก่ Staphylococcus, Enterococci, Escherichia coli เจริญเติบโตขึ้นมาแทนที่ ทำให้เกิดการอักเสบติดเชื้อได้ง่ายจึงอาจทำให้มีอาการเจ็บ และคันได้

3) มดลูก จากการบางลงของเนื้อเยื่อของอวัยวะสืบพันธุ์ อันเป็นผลมาจากการขาดเอสโตรเจนจึงพบว่าปากมดลูกเป็นแผลได้ง่ายและอาจมีลักษณะของ erosion ต่อมภายในคอ มดลูก จะสร้างสารคัดหลั่งลดลง จึงมีส่วนทำให้ช่องคลอดแห้งมากขึ้น สำหรับการหย่อนตัวของมดลูก กระเพาะปัสสาวะ และผนังของไส้ตรง พบว่า น่าจะเป็นผลมาจากอายุที่มากขึ้นทำให้ความยืดหยุ่น ของเนื้อเยื่อลดลง รวมถึงปัจจัยที่เป็นอันตรายต่อผนังช่องคลอดเช่น การได้รับฮอร์โมนทดแทนซึ่งอาจ นำไปสู่การเป็นมะเร็งเยื่อมดลูกได้

2.1.5.2 ผลต่อทางเดินปัสสาวะ

สตรีวัยหมดประจำเดือนอาจมีอาการ urethral syndrome ได้บ่อยซึ่งกลุ่มอาการนี้ ประกอบด้วยอาการปัสสาวะบ่อย ปวดแสบปวดร้อน ถ่ายปัสสาวะลำบาก ปัสสาวะบ่อยกลางคืน และ ไม่สามารถกลั้นปัสสาวะได้นาน ร่วมกับการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียจากการ ติดเชื้อในกระเพาะ ปัสสาวะ ทำให้มีโอกาสเกิด urethral caruncle ,diverticula และท่อปัสสาวะโป่ง (urethrocele)

2.2 เอสโตรเจนและวัยหมดประจำเดือน

ฮอร์โมนหลายชนิดมีส่วนเกี่ยวข้องกับสุขภาพ หรือการเสื่อมสภาพของร่างกายมนุษย์ ในช่วงวัยเยาว์จนถึงหนุ่มสาว ฮอร์โมนนี้จะกระตุ้นให้ร่างกาย มีการเจริญเติบโต มีพัฒนาการของ อวัยวะรวมถึงอวัยวะเพศ เมื่อร่างกายมีอายุมากขึ้นฮอร์โมนเหล่านี้มีการผลิตได้น้อยลง และถ้าเป็น การผลิตได้น้อยลง ในขณะที่ร่างกายมีอายุไม่มาก จะทำให้เกิดสภาวะบกพร่องฮอร์โมน เป็นผลให้บาง ระบบอวัยวะเข้าสู่การเสื่อมสภาพเร็วกว่ากำหนด

2.2.1 เอสโตรเจน (Estrogen)

เอสโตรเจนเป็นฮอร์โมนสเตียรอยด์ที่มีบทบาทสำคัญในเพศหญิงเอสโตรเจนมีอยู่ 3 รูปแบบด้วยกัน คือ เอสตราไดออล (estradiol) เอสทริออล (estriol) และเอสโตรน (estrone) ในระยะเริ่มผลิตเอสโตรเจนจากรังไข่จนถึงระยะวัยหมดประจำเดือน เอสโตรเจนตัวหลัก คือ 17 β - estradiol) หลังจากนั้นเอสโตรน จะมีมากกว่าเอสตราไดออล มีการผลิตโดยการเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลมาจากเทสโทสเตอโรนซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศชาย (androgen) ในขณะที่เอสโตรน สร้างมาจากแอนโดรสตีไดโอน (androstenedione) ซึ่งเอสโตรน มีฤทธิ์ต่ำกว่าเอสตราไดออล

2.2.2 แหล่งผลิตเอสโตรเจน

แหล่งผลิตเอสโตรเจนคือ ฟอลลิเคิล (follicle) ที่กำลังเจริญเติบโต ในรังไข่ จนถึงระยะ ของคอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum) ภายใต้การกระตุ้นจากฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลตติ้งฮอร์โมน (follicle stimulating hormone ;FSH) และ ลูทิซิงฮอร์โมน (luteinizing hormone; LH) เอสโตรเจนยังสามารถได้บางส่วนจากรก ในขณะที่ตั้งครรภ์ ต่อมาหมดประจำเดือน และเต้านมสร้างเอสโตรเจน ได้ในปริมาณเล็กน้อย เซลล์ที่ทำหน้าที่เริ่มต้นสร้างเอสโตรเจนในรังไข่คือ เซลล์ทีคา อินเทอร์นา (theca interna) ซึ่งสามารถเปลี่ยนคอเลสเทอรอล ไปเป็นแอนโดรสตีไดโอน (androstenedione) สารชนิดนี้จะผ่านออกจากเซลล์ไปยังเซลล์แกรนูโลซา (granulosa cell) ที่อยู่รอบ ๆ ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสารเริ่มต้น ให้กลายเป็นเอสโตรน (estrone) หรือเอสตราไดออล (estradiol) ซึ่งบางส่วนอาจเปลี่ยนมาจากเทสโทสเตอโรน ได้โดยตรงผ่านการทำงานของเอนไซม์แอโรมาเทส (Aromatase)

2.2.3 หน้าที่ของเอสโตรเจน

เอสโตรเจน ทำให้มีพัฒนาการของลักษณะทางเพศในเพศหญิงเป็นตัวหนึ่งให้เพิ่มความสูงเพิ่มช้าลงในหญิงสาวเพิ่มเมแทบอลิซึมโดยเร่งการเผาผลาญไขมันในร่างกาย ลดมวลกล้ามเนื้อลาย กระตุ้นให้เยื่อบุโพรงมดลูกเจริญเติบโตมีพัฒนาการตามรอบประจำเดือน กระตุ้นให้มดลูกเจริญสมบูรณ์ขึ้น รักษาสภาพยืดหยุ่นของเส้นเลือดและผิวหนังช่องคลอดเจริญสมบูรณ์ขึ้น ลดการทำลายมวลกระดูก เพิ่มการสร้างมวลกระดูก กระตุ้นให้ตับสร้างโปรตีนเพื่อเพิ่มการลำเลียงอาหารออกจากตับ เพิ่มการสร้างโปรตีนที่เร่งให้เลือดแข็งตัว ลดปริมาณ LDL ลดการสะสมไขมันในร่างกาย เพิ่มปริมาณ HDL และไตรกลีเซอไรด์ ทำให้เกิดการอ้วนขึ้นในเนื้อเยื่อ กระตุ้นให้ร่างกายสร้างฮอร์โมนโกรท ทำให้สีผิวจางลงด้วยการลดการสร้างเมลานิน แต่เอสโตรเจนมีฤทธิ์ไม่พึงประสงค์คือ สามารถกระตุ้นมะเร็งเต้านมที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนโดยเฉพาะฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งมะเร็งเต้านมชนิดนี้ประกอบด้วยเซลล์มะเร็งที่มี ER α แพทย์อาจแนะนำให้สตรีวัยหมดประจำเดือนบริโภคเอสโตรเจนหรือเอสโตรเจนและโปรเจสเทอโรนในปริมาณต่ำลง วิธีการนี้เรียกว่าการบำบัดด้วยฮอร์โมนทดแทน (Hormone replacement therapy) เพื่อใช้บำบัดอาการบัพรองของฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่นกระดูกพรุน ร้อนวูบวาบ ช่องคลอดแห้ง ปัสสาวะเล็ด หงุดหงิดง่าย การบำบัดด้วยฮอร์โมนทดแทนเป็นวิธีหนึ่ง ที่นิยมแนะนำให้แก่สตรีวัย

หมดประจำเดือน คือการรับประทานเอสโตรเจน(ตัวอย่างเช่น พีรีมาริน) ในปริมาณวันละ 0.625 มิลลิกรัม แต่อาจเกิดปัญหาเรื่องการแข็งตัวของเลือด และข้อดีคือช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ทำให้มีโอกาเสี่ยงเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจลดลง นอกจากนี้ยังมีการใช้เอสโตรเจน ในการรักษาอาการช่องคลอดแห้งหรือช่องคลอดแสบ ประจำเดือนขาด ประจำเดือนไม่สม่ำเสมอ และยังสามารถใช้ บังคับให้ต่อมน้ำนมหยุดสร้างน้ำนมภายหลังให้กำเนิดบุตร เนื่องจากเอสโตรเจนสามารถกระตุ้นการ เจริญของมะเร็งเต้านมชนิดที่มี ER α ได้ ดังนั้นจึงมีวิธีการรักษาโดยการให้ยาที่มีผลยับยั้งการสร้าง เอสโตรเจน ในร่างกายผู้ป่วย วิธีการนี้เรียกว่าการรักษาด้วยฮอร์โมน(hormonal therapy) หรือการ รักษาโดยการต้านเอสโตรเจน(Anti estrogen therapy)

2.2.4 ตัวรับเอสโตรเจน

ตัวรับเอสโตรเจนหรือรีเซพเตอร์เอสโตรเจน (estrogen receptor;ER) เป็นโมเลกุลโปรตีนที่ จัดอยู่ในกลุ่มย่อยของรีเซพเตอร์นิวเคลียส (nuclear receptor;NE) ซึ่งเป็นโมเลกุลโปรตีนที่ทำหน้าที่ เป็นทรานสคริปชันแฟกเตอร์ (transcription factor;TF) หรือโปรตีนที่ควบคุมการสร้างเมสเซนเจอร์ อาร์เอ็นเอ (Messenger RNA;mRNA) ซึ่งเป็นขั้นตอนแรกในการทำงานของยีนเพื่อทำให้เกิดกิจกรรม ต่างๆภายในเซลล์ ตัวอย่างของทรานสคริปชันแฟกเตอร์ ได้แก่รีเซพเตอร์สเตียรอยด์ (Steroid receptor;SR) ซึ่งสามารถจับกับฮอร์โมนสเตียรอยด์ที่มีความจำเพาะเจาะจง แล้วกระตุ้นให้ยีนที่ เกี่ยวข้องแสดงออกได้ รีเซพเตอร์นิวเคลียสมีโครงสร้างโมเลกุลส่วนหนึ่งเว้าบุ๋มตัวเป็นชอก ซึ่งบริเวณนี้ มีประจุต่ำทำให้ฮอร์โมนสเตียรอยด์มีประจุต่ำ และมีโมเลกุลขนาดเล็กพอที่จะเข้ามาอยู่ในช่องนี้ได้ แล้วเกิดการจับตัวกัน เป็นผลให้สามารถจับกับโมเลกุลของโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นโคแอกทิเวเตอร์ (coactivator) หรือสารที่มีส่วนร่วมในการกระตุ้นการทำงานของยีน เมื่อโมเลกุลทั้ง 3 ชนิดจับตัวกัน ได้อย่างสมบูรณ์ จะมีผลกระตุ้นให้เอนไซม์อาร์เอ็นเอพอลิเมอเรส (RNA polymerase) เข้ามาจากที่ บริเวณโปรโมเตอร์ (promotor) ของยีน จากนั้นเอนไซม์อาร์เอ็นเอพอลิเมอเรส จะสามารถเคลื่อนตัว ไปตามสาย DNA ของยีนนั้น ๆ ทำให้มีการสร้างเมสเซนเจอร์อาร์เอ็นเอ ซึ่งถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้ จากขั้นตอนทรานสคริปชัน หรือการทำงานช่วงแรกของยีนที่เข้ามาจากช่องของโมเลกุลรีเซพเตอร์ นิวเคลียสแล้วทำให้เกิดการแสดงออกของยีนได้เรียกว่า สารที่มีฤทธิ์กระตุ้น (agonist)

2.3 เบาหวาน (Diabetic mellitus)

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญของโลก โดยอัตราความ ชุกของโรคเบาหวานในประเทศที่พัฒนาแล้วมีอัตราเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 42 จากข้อมูลของสหพันธ์ เบาหวานนานาชาติซึ่งเป็นองค์กรร่วมเมื่อระหว่างประเทศ คาดการณ์ผู้ป่วยเบาหวานที่มีอายุระหว่าง 20-79 ปี ทั่วโลกว่ามีจำนวน 285 ล้านคนในปี 2553 และคาดว่าจะเพิ่มขึ้นเป็น 438 ล้านคนในปี 2573 ในจำนวนนี้ประมาณ 4 ใน 5 เป็นชาวเอเชีย เฉพาะภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้นั้นคาดว่า จะเพิ่มขึ้นจาก 58.7 ล้านคนในปี 2553 เป็น 101 ล้านคนในปี 2573 สำหรับในประเทศไทยพบความ

ชุกของผู้ป่วยเบาหวานที่มีอายุมากกว่า 35 ปีขึ้นไปถึงร้อยละ 9.6 โดยส่วนใหญ่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 (เฉลาศรี เสงี่ยม, 2555)

2.3.1 ความหมายของเบาหวาน

คำว่า “เบา” หมายถึง ปัสสาวะ และคำว่า “หวาน” หมายถึง รสหวาน แต่เดิมนั้นเรายังไม่มีวิวัฒนาการการตรวจระดับน้ำตาลในเลือด แพทย์จึงวินิจฉัยโรคเบาหวานได้โดยการชิมปัสสาวะของคนไข้และพบว่ามึรสหวาน (เทพ หิมะทองคำ, 2554)

เบาหวาน คือ โรคทางเมตาบอริซึม ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงอันเป็นผลมาจากความบกพร่องของการหลั่งอินซูลินหรือการออกฤทธิ์ของอินซูลินหรือทั้งสองอย่าง เกิดความผิดปกติในเมตาบอริซึมของ คาร์โบไฮเดรต, ไขมัน และ โปรตีน ซึ่งความผิดปกติดังกล่าวมีส่วนเกี่ยวข้องกับระยะยาว การสูญเสียหน้าที่ และความล้มเหลวของอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ตา ไต ระบบประสาท หัวใจ และหลอดเลือด เบาหวานเป็นสาเหตุหลักที่สำคัญของตาบอด ไตวาย การถูกตัดเท้าหรือขาจากแผลติดเชื้อลุกลาม ผู้ป่วยเบาหวานมีโอกาเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคหลอดเลือดสมองและโรคหลอดเลือดส่วนปลายตีบตันมากกว่าคนปกติ ทั้งยังมีโอกาสเสียชีวิตมากกว่าคนที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน ในขณะที่พบความดันเลือดสูง ระดับไขมันในเลือดผิดปกติ น้ำหนักตัวเกินหรืออ้วนร่วมด้วย (วารภณ วงศ์ถาวรวัฒน์, 2549)

2.3.2 ประเภทของโรคเบาหวาน

2.3.2.1 เบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 diabetes) เกิดจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อนถูกทำลาย ซึ่งส่วนใหญ่ผ่านทางกลไก cellular mediated autoimmunity และมักนำไปสู่การขาดอินซูลินอย่างสิ้นเชิง โดยมีลักษณะดังนี้

- 1) ส่วนใหญ่อายุน้อยกว่า 20 ปี
- 2) อาการของโรคเกิดขึ้นรวดเร็ว
- 3) รูปร่างผอม
- 4) ถ้าขาดการรักษาด้วยอินซูลิน ส่วนใหญ่จะเกิดโรคแทรกซ้อนชนิดเฉียบ

พลัน ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดนี้จะเป็นผู้ป่วยที่ตับอ่อนสร้างอินซูลินไม่ได้ หรือสร้างอินซูลินได้น้อยมาก ร่างกายจึงไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ตัวเองได้ ตับอ่อนก็ถูกทำลายจนไม่สามารถสร้างอินซูลินได้ ดังที่เรียกว่าโรคภูมิแพ้ต่อตัวเองหรือ ออโตอิมมูน (Autoimmune) ทั้งนี้เป็นผลมาจากความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ ดังนั้น ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดนี้จำเป็นต้องพึ่งพาการฉีดอินซูลินเข้าทดแทนในร่างกายทุกวัน จึงจะสามารถเผาผลาญน้ำตาลได้เป็นปกติ และถ้าหากมีอาการรุนแรงจะมีการคั่งของสารคีโตน (ketones) ที่เป็นพิษต่อระบบประสาท ทำให้หมดสติและอาจถึงตายได้ (วิไล อ่อนศิลา, 2555)

2.3.2.2 เบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes) เกิดจากภาวะ insulin resistance

(โดยกรรมพันธุ์และสิ่งแวดล้อม) ร่วมกับภาวะขาดอินซูลินมากขึ้นตามลำดับ โดยมีลักษณะดังนี้

- 1) ส่วนใหญ่อายุมากกว่า 30 ปี
- 2) อาการเกิดขึ้นแบบค่อยเป็นค่อยไป หรือไม่มีอาการ
- 3) รูปร่างอ้วนหรือปกติ แต่มี abdominal obesity
- 4) มักมีประวัติเบาหวานในครอบครัวชัดเจน

2.3.2.3 เบาหวานชนิดอื่นจากสาเหตุอื่นดังนี้

- 1) เกิดจากความผิดปกติของพันธุกรรมของเซลล์ตับอ่อน ส่วนใหญ่พบในคนที่มีอายุน้อย และไม่มีอาการรุนแรงอาการเหล่านี้อาจจะถ่ายทอดทางพันธุกรรม
- 2) เกิดจากความผิดปกติของพันธุกรรมมาจากการออกฤทธิ์ของอินซูลิน
- 3) เกิดจากโรคตับอ่อน โรคตับอ่อนอักเสบหรือโรคมะเร็งตับ
- 4) เกิดจากโรคทางต่อมไร้ท่อ สาเหตุเหล่านี้จะมีผลต่อการทำงานของเบต้าเซลล์หรือตับอ่อนไม่สามารถควบคุมอินซูลินของร่างกายได้

2.3.3 อาการเบื้องต้นของโรคเบาหวาน

2.3.3.1 กระจายน้ำ ผู้ป่วยเบาหวานมักจะหิวน้ำบ่อยเนื่องจากต้องทดแทนน้ำที่ถูกขับออกทางปัสสาวะ

2.3.3.2 ปัสสาวะบ่อย เนื่องจากน้ำตาลจะถูกขับออกทางปัสสาวะ ทำให้น้ำถูกขับออกมากขึ้นจึงมีอาการปัสสาวะบ่อยและเกิดการสูญเสียน้ำ

2.3.3.3 น้ำหนักลด ร่างกายอ่อนเพลียเนื่องจากน้ำตาลไม่สามารถใช้เป็นพลังงานได้ จึงมีการสลายพลังงานจากไขมันและโปรตีนจากกล้ามเนื้อ ทำให้มีอาการอ่อนเพลีย

2.3.3.4 อาการคันตามผิวหนังและที่อวัยวะเพศ ซึ่งอาจเกิดจากการติดเชื้อรา ทำให้แผลหายช้า

2.3.3.5 อาการคลื่นไส้ อาเจียน อาการของโรคจะทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียนรับประทานอาหารไม่ค่อยได้

2.3.3.6 อาการชาตามมือตามเท้า เกิดอาการชาจนไม่มีความรู้สึก เจ็บตามแขนขาและหย่อนสมรรถภาพทางเพศ เนื่องจากน้ำตาลสูงนาน ๆ ทำให้เส้นประสาทเสื่อม

2.3.4 สาเหตุของโรคเบาหวาน

2.3.4.1 พันธุกรรม ประวัติครอบครัว และอายุ

2.3.4.2 ภาวะผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดภาวะแพ้ภูมิตนเองร่างกายจะสร้าง antibodies (Ab) ต่อ islet cells พบเป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 โดยจะพบโรคเบาหวาน เพื่อ islet cells ถูกทำลายมากกว่า 80 %

2.3.4.3 ความอ้วน เป็นปัจจัยที่สำคัญของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยไขมันที่มีมาก

ขึ้นในเลือดไปจับรวมกับอินซูลินทำให้อินซูลินออกฤทธิ์ไม่เต็ม (inactive insulin) และไขมันที่สะสมมากขึ้นในเซลล์ จะทำให้โปรตีนตัวรับและเซลล์ตอบสนองต่ออินซูลินได้น้อยลง ซึ่งพอจะสรุปผลของความอ้วนต่อการเกิดโรคเบาหวานได้

2.3.4.4 อาหารและสารพิษ อาหารหวานจะดูดซึมจากลำไส้ได้อย่างรวดเร็ว และมีผลกระทบต่อการหลั่งอินซูลินของร่างกาย ถ้าร่างกายได้รับอาหารหวานเป็นประจำจะทำให้เซลล์เบต้าของตับอ่อนต้องทำงานหนัก จึงมีโอกาสเกิดความผิดปกติและทำให้เกิดโรคเบาหวานได้ง่าย พวกสารพิษบางชนิด เช่น สารเบื่อหนู มีผลทำลายเซลล์เบต้าของตับอ่อนโดยตรง จึงทำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ได้

2.3.4.5 ความเครียด มีผลทำให้มีการหลั่งฮอร์โมน catecholamine, glucagon, Cortisol และ growth hormone มากขึ้น ฮอร์โมนเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอินซูลินทำให้ระดับกลูโคสในร่างกายเพิ่มขึ้น ถ้าเป็นนาน ๆ จะทำให้ระดับความทนต่อกลูโคสของร่างกายลดลง เกิดโรคเบาหวาน

2.3.4.6 ยาต่าง ๆ เช่น ยาขับปัสสาวะ ยาระงับชัก มีผลทำให้การหลั่งอินซูลินลดลง ยาสเตียรอยด์ มีผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูง

2.3.4.7 การขาดการออกกำลังกาย มีผลทำให้เนื้อเยื่อมีการตอบสนองต่ออินซูลินไม่ดี เนื่องจากจำนวนโปรตีนตัวรับอินซูลินลดลง

2.3.4.8 อายุ สาเหตุที่เกิดโรคเบาหวานในเด็กก็มาจากตับอ่อนของเด็กจะสร้างอินซูลินไม่ได้ส่วนในผู้ใหญ่พอจะสร้างอินซูลินได้บ้างแต่ไม่สมบูรณ์ที่รวมไปถึงผู้หญิงวัยหมประจำเดือนจากสาเหตุต่าง ๆ ของโรคเบาหวานซึ่งมีผลกระทบให้เกิดภาวะขาดอินซูลิน หรือภาวะดื้อต่ออินซูลิน หรือภาวะที่มีฮอร์โมนต้านฤทธิ์ต่ออินซูลินสูงขึ้นหรือ อื่น ๆ ทำให้เซลล์ต่าง ๆ ไม่สามารถใช้และเก็บกลูโคสได้ ร่วมกับมีการสลายไกลโคเจนเป็นกลูโคสจากตับมากขึ้น ระดับน้ำตาลในเลือดจะสูงขึ้นเมื่อระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ท่อไตไม่สามารถดูดกลับได้ทั้งหมด จึงมีน้ำตาลเหลือทิ้งออกมากับปัสสาวะ (glycosuria) ทำให้เกิดภาวะ osmotic diuresis ร่างกายมีการสูญเสียน้ำและ อิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ออกไปกับปัสสาวะมากขึ้น (polyuria) จึงเกิดภาวะขาดน้ำ (dehydration) ผู้ป่วยมักจะกระหายน้ำและดื่มน้ำมากขึ้น (polydipsia) เซลล์ต่าง ๆ เมื่อขาดสารอาหารจะกระตุ้น ไฮโปทาลามัสทำให้ผู้ป่วยรู้สึกหิวและกินอาหารมากขึ้นแต่เซลล์ไม่สามารถนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ ผู้ป่วยจึงผอมลงเมื่อร่างกายเกิดภาวะขาดน้ำความเข้มข้นของเลือดจะเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดความล้าเหลวในการไหลเวียนเลือดปลายทางปริมาณเลือดไปยังอวัยวะที่สำคัญ คือ ไต และสมองลดลง ทำให้ผู้ป่วยเกิดภาวะช้ำและหมดสติ

สำหรับการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของสารอาหาร พบว่า เมื่อเซลล์ไม่สามารถใช้สารอาหารกลูโคส จะมีผลไปทำให้อัตราการสร้างไขมันลดลง ไขมันถูกสลายออกมาเป็นกรดไขมันและมีการสร้างคีโตนที่ตับมากขึ้นทำให้มีระดับคีโตนในเลือดเพิ่มขึ้นและถูกขับออกมากับปัสสาวะ

ร่างกายเสียโซเดียมออกไปกับปัสสาวะมากขึ้นและเนื่องจากคีโตนมีสภาพเป็นกรด จึงทำให้กรดในร่างกายซึ่งมีผลการทำงานของระบบประสาท ร่างกายพยายามปรับตัวโดยเพิ่มการดูดกลืนไบคาร์บอเนตทางไตมากขึ้น นอกจากนี้ การหายใจจะเพิ่มขึ้นเพื่อขับคาร์บอนไดออกไซด์ออกทางลมหายใจ ซึ่งจะทำให้เกิดภาวะขาดน้ำมากขึ้น การปรับตัวของร่างกายแบบนี้ในรายที่เป็นมาก ๆ จะไม่ได้ผล ผู้ป่วยจะเกิดภาวะคีโตสิส จากเบาหวาน

2.3.5 โรคแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน

เบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่มีการทำลายหลอดเลือดทั่วร่างกาย ทำให้หลอดเลือดแดงแข็งตัว และมีการทำลายอวัยวะต่าง ๆ ดังนี้

2.3.5.1 โรคหลอดเลือดหัวใจตีบตัน ถือเป็นเพศฆาตเงียบที่เป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานมานาน และผู้ที่เป็นโรคนี้จะมีปัจจัยเสี่ยงอื่น ๆ ของโรคหัวใจที่พบร่วมด้วยอีก คือ สูบบุหรี่ ความดันโลหิตสูง มีไขมันในเส้นเลือดสูง และอ้วน

2.3.5.2 โรคหลอดเลือดสมองตีบหรืออุดตัน ก่อให้เกิดอัมพฤกษ์หรืออัมพาต ผู้ที่เป็นโรคนี้อาจเสียชีวิตทันทีหรือพิการ อาการเริ่มแรกของผู้ป่วยกลุ่มนี้คือมีความดันโลหิตสูงนำมาก่อน และมีอาการปวดศีรษะบริเวณท้ายทอยเมื่อเกิดหลอดเลือดตีบหรือตัน อาจเกิดอาการลำตัวอ่อนแรงข้างใดข้างหนึ่ง แขนและขาไม่มีแรง เดินไม่ได้ หกล้ม ปากเบี้ยว พูดไม่ได้ กลืนไม่ได้

2.3.5.3 โรคหลอดเลือดแดงเลี้ยงขาตีบ มักเกิดในตำแหน่งหลอดเลือดแดงที่บริเวณใต้บริเวณหนึ่งของขา ผู้ที่เป็นเบาหวานจะเริ่มมีอาการปวดขา ถ้าเดินไกลต้องนั่งพักจึงหายปวด และเป็นปัจจัยหนึ่งที่เกิดแผลแล้วทำให้แผลหายช้า ถ้าตีบมากอาจทำให้นิ้วเท้าเน่าตายได้

2.3.5.4 ตาบอด เนื่องจากจอประสาทตาเสื่อม ที่ชาวบ้านเรียกกันว่า “เบาหวานขึ้นตา” สาเหตุมาจากหลอดเลือดที่เลี้ยงจอประสาทตามีการอุดตัน มีเส้นเลือดแดงเล็ก ๆ เกิดใหม่ มีเลือดออก และมีการดึงรั้งให้จอประสาทตาหลุดลอก ผู้ที่เป็นเบาหวานจะมีจุดดำลอยไปมาภายในตา ถ้าไม่รักษาจะมีอาการตามัวลง คล้ายมีฝนตกเป็นมาบบ้าง หรือคล้ายมีใยมีควันมาบบ้างตา

2.3.5.5 โรคไต เบาหวานที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไต เมื่อตรวจจะพบว่าปริมาณโปรตีนรั่วออกมาในปัสสาวะ ผู้ที่เริ่มมีไตวายจะมีความดันโลหิตสูงนำมาก่อนและปริมาณปัสสาวะในระยะแรกจะมาก แต่ต่อมาจะลดลง ส่งผลให้มีของเสียคั่งค้างในร่างกายสูง เช่น กลูโคส เคมี โพแทสเซียม

2.3.5.6 ปลายประสาทเสื่อม เป็นโรคที่พบบ่อยมากที่สุดในผู้ป่วยเบาหวาน ผู้ที่เป็นเบาหวานอาจมีอาการชาหรือปวดแสบปวดร้อนที่ปลายเท้า มือ หรือตามตัว เนื่องจากเส้นเลือดฝอยมาเลี้ยงเส้นประสาทถูกทำลาย ไม่สามารถนำส่งออกซิเจนมาตามกระแสเลือดเพื่อจะนำไปเลี้ยงเส้นประสาทส่วนต่าง ๆ ได้ จึงทำให้การทำงานของเส้นประสาทเสื่อมลงนอกจากนี้ยังทำให้เสื่อมสมรรถภาพทางเพศอีกด้วย

2.3.6 การรักษาเบาหวานโดยการใช้อาหาร

การรักษาโรคเบาหวานมีจุดมุ่งหมาย เพื่อไม่ให้ผู้ป่วยมีอาการจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงหรือต่ำเกินไป ป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนเฉียบพลันและเรื้อรังจากโรคเบาหวาน และเพื่อให้ผู้ป่วยเบาหวานมีคุณภาพชีวิตที่ดีสามารถใช้ชีวิตได้ตามปกติ วิธีการรักษาโรคเบาหวานประกอบด้วย การปรับเปลี่ยนพฤติกรรม ได้แก่ การควบคุมอาหาร การออกกำลังกาย การลดน้ำหนัก และการงดสูบบุหรี่ และการรักษาด้วยยา เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

2.3.6.1 ยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดและกลไกการออกฤทธิ์

ยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือด ส่วนใหญ่ใช้สำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นหลักซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ตามกลไกการออกฤทธิ์ดังนี้

1) ยาที่ออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งของอินซูลินจากตับอ่อน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม

a) ยากลุ่มซัลโฟนิลยูเรีย (Sulfonylurea) ออกฤทธิ์โดยกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน ส่งผลให้มีปริมาณอินซูลินในร่างกายเพิ่มมากขึ้น ยาในกลุ่มนี้สามารถแบ่งออกเป็น 3 รุ่น ได้แก่ ยารุ่นที่หนึ่ง (First generation) เช่น Chlorpropamide ยารุ่นที่สอง (Second generation) เช่น Glibenclamide, Glipizide และยารุ่นที่สาม (Third generation) เช่น Glimepiride, Glicazide MR เป็นต้น ปัจจุบันยา Chlorpropamide ไม่นิยมใช้เนื่องจากเป็นยาที่ออกฤทธิ์นานและเกิดผลข้างเคียง เช่น ภาวะที่มีการทำงานของแอนติไดยูเรติกฮอร์โมน (Antidiuratic hormone :ADH) มากผิดปกติ ทำให้เกิดภาวะโซเดียมในเลือดต่ำ (Hyponatremia) และยังทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemia) ในผู้ป่วยสูงอายุได้บ่อย

b) ยากลุ่มออกฤทธิ์เร็วที่ไม่ใช่ซัลโฟนิลยูเรีย (Rapid acting non-sulfonylurea) เป็นยากลุ่มใหม่ที่โครงสร้างของยาไม่ใช่กลุ่มซัลฟา กลไกการออกฤทธิ์เช่นเดียวกับยากลุ่มซัลโฟนิลยูเรีย ประสิทธิภาพของยาใกล้เคียงกัน แต่กระตุ้นที่ตำแหน่งของตัวรับแตกต่างกัน ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์ได้เร็วกว่า ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำน้อยกว่า เนื่องจากมีค่าครึ่งชีวิตสั้น การใช้ยาต้องรับประทานยาก่อนอาหารประมาณ 15 นาที เพื่อให้ยาออกฤทธิ์ได้พอดีกับมื้ออาหารที่รับประทาน สามารถเลือกใช้ยากลุ่มนี้ในผู้ป่วยที่แพ้ยากลุ่มซัลฟา หรือผู้ที่รับประทานอาหารไม่เป็นเวลา หรือในผู้ป่วยสูงอายุที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำได้มาก ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Repaglinide และNateglinide

2) ยากลุ่มที่ลดภาวะดื้อต่ออินซูลิน เป็นกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์โดยทำให้อินซูลินสามารถทำงานได้ดีขึ้น (insulin sensitizer) โดยยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์นี้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

a) ยากลุ่มไบกัวไนด์ (Biguanide) ออกฤทธิ์ยับยั้งการสลายไกลโคเจนจากตับเป็นหลัก และยังทำให้อินซูลินออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อได้ดีขึ้น ทำให้การนำน้ำตาลเข้าเซลล์กล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น ข้อดีของยากลุ่มนี้คือไม่ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ และน้ำหนักตัวไม่ค่อย

เพิ่มขึ้น ผลข้างเคียงที่พบบ่อย เช่น เบื่ออาหาร คลื่นไส้ ไม่สบายท้อง ท้องเสีย แต่อาการเหล่านี้จะดีขึ้นเมื่อใช้ยาติดต่อกันไปสักระยะ ผลที่ไม่พึงประสงค์ที่สำคัญคือ ภาวะกรดแลคติกคั่งในเลือด (Lactic acidosis) ควรหลีกเลี่ยงการใช้ยาในผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับไต หรือในผู้ป่วยที่เสี่ยงต่อการเกิดภาวะนี้ เช่น โรคตับ โรคหัวใจล้มเหลว เป็นต้น ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Metformin

b) ยากลุ่มโรอะโซลิดินไดโอน (Thiazolidinedione) มีผลทำให้อินซูลินออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อ เกิดการนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้อินซูลินออกฤทธิ์ที่ตับเพิ่มขึ้น โดยการยับยั้งการสลายไกลโคเจนจากตับอีกด้วย ยากลุ่มนี้เป็นยาใหม่สามารถใช้รักษาเป็นยาเดี่ยวหรือใช้ร่วมกับยากลุ่มอื่นได้ผลข้างเคียงของยา เช่น ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มเนื่องจากการคั่งของน้ำ ระดับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ลดลง และอาจทำให้เกิดตับอักเสบได้ ดังนั้นผู้ป่วยทุกรายที่ได้รับยากลุ่มนี้ต้องได้รับการประเมินการทำงานของตับ (Liver function test) ด้วย ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Rosiglitazone และ Pioglitazone

c) ยากลุ่มที่ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตที่ลำไส้ โดยมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ลำไส้ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตลดลง จึงมีกลูโคสสำหรับดูดซึมได้น้อยลงส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงได้ ยากลุ่มนี้จึงมีผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดหลังอาหาร (Postprandial glucose) เป็นส่วนใหญ่ และยาถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายน้อยมากจึงไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์ทั่วร่างกาย ผลข้างเคียงที่พบบ่อย เช่น ท้องอืด แน่นท้อง ปวดท้อง ถ่ายเหลว โดยเฉพาะหากได้รับยาในขนาดสูง ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Acarbose และ Voglibose

2.3.6.2 ยาฉีดอินซูลิน

ยาฉีดอินซูลิน ออกฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการทำหน้าที่เหมือนกับอินซูลินภายในร่างกาย ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการสลายไกลโคเจนจากตับ เพิ่มการใช้กลูโคสที่กล้ามเนื้อหรือไขมัน อินซูลินที่ใช้ในปัจจุบันได้มาจากการสังเคราะห์ที่ให้มีโครงสร้างเช่นเดียวกับอินซูลินที่ร่างกายสร้างขึ้นเรียกว่า ฮิวแมนอินซูลิน (Human insulin) และในระยะหลังมีการดัดแปลงฮิวแมนอินซูลินให้มีการออกฤทธิ์ตามที่ต้องการเรียกว่า อินซูลินอะนาล็อก (Insulin analog) โดยอินซูลินสามารถแบ่งออกเป็น 4 ประเภท ตามระยะเวลาการออกฤทธิ์ได้ดังนี้

- 1) ฮิวแมนอินซูลินที่ออกฤทธิ์สั้น (Regular human insulin)
- 2) ฮิวแมนอินซูลินที่ออกฤทธิ์ปานกลาง (Intermediate acting insulin)
- 3) อินซูลินอะนาล็อกที่ออกฤทธิ์เร็ว (Rapid acting insulin analog)

เป็นอินซูลินรุ่นใหม่ที่เกิดจากการดัดแปลงกรดอะมิโนที่สายของฮิวแมนอินซูลิน ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Insulin lispro และ Insulin aspart

- 4) อินซูลินอะนาล็อกที่ออกฤทธิ์นาน (Long acting insulin analog)

เป็น อินซูลินรุ่นใหม่ที่เกิดจากการดัดแปลงกรดอะมิโนที่สายของฮิวแมนอินซูลิน และเพิ่มกรดอะมิโน หรือ เสริมแต่งสายของอินซูลินด้วยกรดไขมัน ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Insulin glargine และ Insulin detemir

ยานี้ดอินซูลินสามารถใช้ได้ในทุกกรณีที่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง โดยอาจมีข้อบ่งชี้เฉพาะ เช่น โรคเบาหวานชนิดที่ 1 ความผิดปกติของตับอ่อน ภาวะกรดคั่งจาก คีโตน การตั้งครรภ์ การติดเชื้อรุนแรง การผ่าตัด โรคตับ โรคไต ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงรุนแรง และในกรณีที่ไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ด้วยการควบคุมอาหารหรือยาเม็ดลดระดับน้ำตาล ผลข้างเคียงและอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา เช่น ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ การแพ้ยา ตาพร่ามัวมากขึ้น อาการบวม และ น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นต้น

2.4 เบาหวานในภาวะหมดประจำเดือน

เบาหวานในภาวะหมดประจำเดือน เกิดเนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเพศและการเปลี่ยนแปลงของระดับกลูโคส และอินซูลินในกระแสเลือดสังเกตได้จากสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงของร่างกายในสภาวะต่าง ๆ เช่นในสตรีตั้งครรภ์ ซึ่งมีเอสโตรเจนและ โพรเจสเตอโรนในระดับสูงพบว่ามี การดื้ออินซูลินเพิ่มขึ้น (insulin resistance คือการที่อินซูลินในปริมาณเท่าเดิมนำกลูโคสเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ลดลง) หรือมีการดื้ออินซูลินเพิ่มขึ้นในระยะ luteal ของรอบประจำเดือนปกติ นอกจากนี้เมื่ออายุมากขึ้นทั้งสตรีและบุรุษการทำงานของเซลล์เบต้าในการสร้างอินซูลินจากตับอ่อนจะลดลง และมีภาวะดื้ออินซูลินเพิ่มขึ้น

2.4.1 พยาธิสรีรวิทยาของโรคเบาหวานและวัยหมดประจำเดือน

ในปัจจุบันร้อยละ 90 ของผู้ป่วยโรคเบาหวาน จะเป็นผู้สูงอายุ และ เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ทั้งนี้ปัจจัยหลักของร่างกายในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติประกอบไปด้วย

2.4.1.1 การสร้างอินซูลินจากตับอ่อนซึ่งเป็นผลจากการกระตุ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือด

2.4.1.2 การนำกลูโคสไปใช้ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยอินซูลิน

หากความสามารถในการนำกลูโคสไปใช้ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ลดลง แสดงว่ามีภาวะดื้ออินซูลินมากขึ้น ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดและอินซูลินในกระแสเลือดสูงขึ้นจึงเกิดปัญหาและภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ตามมา สำหรับวงจรการสร้างและออกฤทธิ์ของอินซูลินเริ่มจากเซลล์เบต้า จากตับอ่อนจะเป็นตัวเปลี่ยน proinsulin ไปเป็นอินซูลินและ C-peptide สารทั้ง 2 ตัวจะถูกหลั่งเข้าสู่หลอดเลือดดำของตับตามการกระตุ้นของระดับกลูโคสในกระแสเลือดและเข้าสู่ตับประมาณร้อยละ 50 ของอินซูลินที่ถูกหลั่งออกมาจะถูกกักเก็บไว้ในตับ ส่วนที่เหลือจะเข้าสู่กระแสเลือดทั่วร่างกายซึ่งจะออกฤทธิ์ต่อไป ได้แก่ การนำกลูโคสเข้าสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ การยับยั้งการสลายไขมัน เป็นต้น ในส่วนของสตรีที่เข้าสู่วัยหมดประจำเดือนพบว่าการเปลี่ยนแปลงที่ทำให้มีแนวโน้มของการเกิด

โรคเบาหวาน โดยพบว่าเมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนระดับกลูโคสและอินซูลินในกระแสเลือดไม่ได้เปลี่ยนแปลงทันที แต่พบว่าการหลังอินซูลินจากตับอ่อนจะเริ่มลดลง ร่างกายจะชดเชยโดยทำให้อินซูลินอยู่ในกระแสเลือดได้นานขึ้น มีครึ่งชีวิตที่ยาวขึ้น ทั้งนี้มีการศึกษาที่พบว่าระดับอินซูลินในกระแสเลือดและภาวะดื้ออินซูลินจะเพิ่มขึ้นตามจำนวนปีที่หมดประจำเดือน มากกว่าการเพิ่มตามอายุที่มากขึ้นจึงเห็นได้ว่าการขาดเอสโตรเจนในสตรีวัยหมดประจำเดือนอาจมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเบาหวานในทางตรงกันข้ามการได้รับเอสโตรเจนและโปรเจสโตเจนในขนาดสูง ทำให้มีแนวโน้มที่จะเกิดโรคเบาหวานได้เช่นกัน ดังกรณีของสตรีตั้งครรภ์ที่กล่าวมาข้างต้นหรือแม้แต่การรับประทานยาคุมเม็ดกำเนิดในขนาดสูง

ดังนั้นพยาธิสรีรวิทยาของโรคเบาหวานโดยเฉพาะในภาวะวัยหมดประจำเดือน เมื่อเริ่มเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้แก่การเพิ่มของ Total cholesterol และ LDL cholesterol และอาจมีการลดลงของ HDL cholesterol ในระบบการแข็งตัวของเลือดจะมีการเพิ่มขึ้นของ fibrinogen และการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เหล่านี้ทำให้สตรีวัยหมดประจำเดือนมีแนวโน้มจะเกิดเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดมากขึ้น ดังนั้นในสตรีเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนและมีโรคเบาหวานร่วมด้วยจึงมีแนวโน้มที่จะเกิดโรคหัวใจหลอดเลือดได้สูงกว่าสตรีวัยหมดประจำเดือนโดยทั่วไป

2.4.2 การใช้ฮอร์โมนทดแทนในผู้ป่วยวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคเบาหวาน

หลักฐานการศึกษาในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ตั้งแต่อดีตได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของเอสโตรเจนและเมตาบอลิก ของคาร์โบไฮเดรตดังนี้

- 1) เอสโตรเจนเพิ่มการหลังอินซูลินจากตับอ่อน
- 2) เอสโตรเจนกระตุ้นการตอบสนองของอินซูลินต่อกลูโคส
- 3) เอสโตรเจนลดภาวะดื้ออินซูลินลง

การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวข้างต้นเป็นการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ลดแนวโน้มของการเกิดโรคเบาหวานและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในทางตรงกันข้ามการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจนในวัยหมดประจำเดือนจะทำให้มีภาวะดื้ออินซูลินมากขึ้นการหลังอินซูลินลดลงอินซูลินในกระแสเลือดมีครึ่งชีวิตที่ยาวออกไป เนื่องจากการเก็บอินซูลินเข้าสู่ตับลดลงการเปลี่ยนแปลงนี้ทำให้มีแนวโน้มเกิดโรคเบาหวานและโรคหัวใจและหลอดเลือดมากขึ้น ในส่วนของผลของฮอร์โมนทดแทนในขนาดชนิดรูปแบบและวิธีการใช้ต่าง ๆ ต่อเมตาบอลิกของคาร์โบไฮเดรตสามารถแยกพิจารณาได้ดังนี้

2.4.2.1 ขนาดของเอสโตรเจนต่อเมตาบอลิกของคาร์โบไฮเดรต

มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการรับประทาน เอสโตรเจน ในขนาด 0.625 มิลลิกรัม

ต่อวัน จะช่วยเพิ่มความไวต่ออินซูลินทำให้เมตาบอลิกของคาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้น แต่ถ้าในขนาด 1.25 มิลลิกรัมต่อวันจะทำให้มีภาวะดื้ออินซูลินมากขึ้นและทำให้ความทนกลูโคสลดลง ดังนั้นผลที่แตกต่างกันของเอสโตรเจนของเมตาบอลิกของคาร์โบไฮเดรตจากการศึกษาต่าง ๆ ส่วนหนึ่งอาจขึ้นอยู่กับขนาดของเอสโตรเจนที่ได้รับ

2.4.2.2 ชนิดของเอสโตรเจนต่อเมตาบอลิกของคาร์โบไฮเดรต

ผลจากการศึกษาส่วนใหญ่ที่แสดงให้เห็นว่า ประโยชน์ของเอสโตรเจนต่อเมตาบอลิกของคาร์โบไฮเดรตเป็นการศึกษาที่ใช้เอสโตรเจนชนิดธรรมชาติเช่นเอสตราไดอลเป็นต้นโดยส่วนของเอสโตรเจนชนิดสังเคราะห์เช่น ethinyl estradiol และ mestranol ซึ่งใช้ในยาเม็ดคุมกำเนิดมักพบว่าทำให้ภาวะดื้ออินซูลินเพิ่มขึ้นมีอินซูลินในกระแสเลือดสูงและมีการลดลงของความทนกลูโคส การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้มีแนวโน้มที่จะเกิดโรคเบาหวานมากขึ้น

2.4.2.3 รูปแบบการใช้เอสโตรเจนต่อเมตาบอลิกของคาร์โบไฮเดรต

การให้เอสโตรเจนต่างรูปแบบกันอาจมีผลต่อเมตาบอลิกของคาร์โบไฮเดรตต่างกัน ส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับขนาดของเอสโตรเจนที่ได้รับ เช่น ในการศึกษาให้เอสตราไดอลชนิดแผ่นติดผิวหนังในขนาด 0.5 ถึง 0.1 มิลลิกรัมต่อวัน ไม่มีผลต่อปริมาณของอินซูลินและช่วยเพิ่มความไวต่ออินซูลินซึ่งเป็นผลดีต่อเมตาบอลิกคาร์โบไฮเดรต

ดังนั้น การใช้ฮอร์โมนทดแทนในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่า ผู้ที่ได้รับเอสโตรเจนมีการเปลี่ยนแปลงในเมตาบอลิกของกลูโคสไปในทางที่ดีเช่นลดภาวะดื้ออินซูลิน ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ LDL cholesterol ลดลง และเพิ่มระดับ HDL cholesterol นอกจากนี้ การได้รับเอสโตรเจนจะลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดโคโรนารี อีกด้วย

2.4.3 ภาวะแทรกซ้อนของฮอร์โมนทดแทนในวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคเบาหวาน

สำหรับภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ที่เกิดจากโรคเบาหวานไม่ว่าจะเป็นโรคของเส้นประสาท (diabetic neuropathy) โรคไต (diabetic nephropathy) หรือโรคหลอดเลือดส่วนปลาย (peripheral vascular disease) ความดันโลหิตสูง และโรคหลอดเลือดโคโรนารี มักเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงในเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นการรักษาที่ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลและอินซูลินในกระแสเลือดให้ดีขึ้น น่าจะทำให้ภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ลดลงได้ สำหรับภาวะแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่เกี่ยวข้องกับการใช้ฮอร์โมนทดแทนที่สำคัญประกอบด้วย

2.4.3.1 ความดันโลหิตสูง

ความดันโลหิตสูงและเบาหวานเป็นโรคที่อยู่โดยพบว่า ผู้ที่เป็นโรคเบาหวานมีโอกาสเกิดความดันโลหิตสูงมากกว่าคนทั่วไปถึง 2 เท่า และผู้ที่เป็นโรคเบาหวานร่วมกับความดันโลหิตสูง มีโอกาสเสียชีวิตจากโรคหลอดเลือดโคโรนารีและโรคหลอดเลือดสมองมากกว่าผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน

เพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงมีผู้แนะนำให้ระงับการใช้ฮอร์โมนทดแทนในผู้ป่วยที่มีโรคความดันโลหิตสูงร่วม จากผลการศึกษาในอดีตที่พบว่าการใช้ยาเม็ดคุมกำเนิดที่มีเอสโตรเจนขนาดสูง อาจทำให้ความดันโลหิตสูงขึ้นได้ อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในปัจจุบันพบว่าการใช้ฮอร์โมนทดแทนหรือยาเม็ดคุมกำเนิดที่มีเอสโตรเจนในขนาดต่ำไม่ทำให้มีความดันโลหิตเปลี่ยนแปลงทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความไวต่อปฏิกิริยายาเมื่อได้รับฮอร์โมนทดแทน

2.4.3.2 โรคหลอดเลือดโคโรนารี

สตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคเบาหวานมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดโคโรนารีสูงกว่าสตรีวัยหมดประจำเดือนโดยทั่วไป ส่วนหนึ่งเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของไขมันจากพยาธิสรีรวิทยาของโรคเบาหวานและผลจากการเปลี่ยนแปลงในวัยหมดประจำเดือน ได้แก่ การมีระดับไตรกลีเซอไรด์ total cholesterol และ LDL cholesterol สูง ร่วมกับระดับ HDL cholesterol ที่ลดลงโดยเฉพาะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 การรับประทานเอสโตรเจนในวัยหมดประจำเดือน ช่วยให้ระดับ total cholesterol และ LDL cholesterol ลดลง และเพิ่ม HDL cholesterol ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงไปในทางการป้องกันโรคหลอดเลือดโคโรนารี อย่างไรก็ตามพบว่าการรับประทานเอสโตรเจน ทำให้ระดับไตรกลีเซอไรด์สูงขึ้น อันเป็นผลมาจาก first pass hepatic effect ดังนั้นผู้ป่วยวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคเบาหวาน จึงควรระมัดระวังการใช้ฮอร์โมนทดแทนโดยเฉพาะในผู้ที่สูงอายุ และมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันหลอดเลือด

2.4.3.3 โรคกระดูกพรุน

มีรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน โดยมักจะมีผลต่อกระดูกชนิด cortical ทั้งนี้เป็นผลมาจากการลดลงในอัตราการสร้างกระดูกมากกว่าเป็นผลจากการเพิ่มอัตราการสลายกระดูก โดยพบว่าอัตราการสร้างกระดูกจะช้ากว่าในคนปกติทั่วไป 2-8 เท่า กลไกต่อกระบวนการดังกล่าวยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่อาจเกี่ยวข้องกับการขาดอินซูลินในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 เนื่องจากพบว่า อินซูลินเป็นสารตัวหนึ่งที่ช่วยสังเคราะห์คอลลาเจน ดังนั้นสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุนมากขึ้น ทั้งจากภาวะขาดอินซูลินตั้งแต่ในวัยก่อนหมดประจำเดือน ร่วมกับการขาด estrogen ในวัยหมดประจำเดือน นอกจากนี้ภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานอื่น ๆ เช่นโรคจอตา โรคเส้นประสาทและโรคกระดูก อาจมีส่วนทำให้กระดูกเสื่อมได้ง่ายขึ้นเนื่องจากการสูญเสียความสามารถในการทรงตัวทำให้หกล้มได้ง่ายการใช้ฮอร์โมนทดแทนมีผลในการปกป้อง ป้องกันการสูญเสียกระดูกที่เกิดจากการขาดเอสโตรเจน ในวัยหมดประจำเดือนและมีประโยชน์ต่อ metabolic ของคาร์โบไฮเดรต จึงมีผลทางอ้อมในการป้องกันหรือชะลอการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ที่จะทำให้อายุเสี่ยงต่อการเกิดกระดูกหักได้ง่าย สำหรับผู้ที่เป็นโรคเบาหวานชนิด 1 มีรายงานการศึกษา ที่ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคกระดูกพรุนเนื่องจากมักมี อินซูลินในกระแสเลือดสูงและมักจะอ้วนทำให้มีเนื้อเยื่อ

ไขมันเพิ่มขึ้นจึงมีการสร้างเอสโตรเจนจากเนื้อเยื่อดังกล่าวมากขึ้นและมีการสร้าง insulin-like growth Factor ซึ่งจะกระตุ้นให้มีการสร้างกระดูกเพิ่มขึ้น (นิมิต เตชไกรชนะ, 2543)

2.4.3.4 การเกิดมะเร็งเต้านม และมะเร็งมดลูก เนื่องจากการได้รับฮอร์โมนทดแทนเป็นเวลานานจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (Seki et al.,1983; Zeng et al., 2018)

2.5 สารพฤกษเคมีในพืช

สารเคมีที่พบในพืชมีจำนวนมาก สามารถแบ่งกลุ่มสารเคมีในพืชตามสารตั้งต้น (biosynthesis origin) ของสารเคมีเหล่านี้ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือสารปฐมภูมิ (primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolites)

2.5.1 สารปฐมภูมิ (primary metabolites) เป็นสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดโดยทั่วไปพบได้ในพืชเกือบทุกชนิดเป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึมที่จำเป็น (essential metabolism) ของเซลล์ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช และกระบวนการชีวสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิดสารปฐมภูมิได้แก่คาร์โบไฮเดรต(carbohydrates) ไขมัน (lipid) โปรตีน กรดอะมิโน และเอนไซม์ (enzymes)

2.5.2 สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) เป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด เชื่อว่าสารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืช สารเหล่านี้มักแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามสารทุติยภูมิเกี่ยวข้องกับวงจรเมตาโบลิซึมพื้นฐานของเซลล์สิ่งมีชีวิต สารทุติยภูมิที่พบพืชแต่ละชนิด ตัวอย่าง เช่น สารพฤกษเคมีเบื้องต้นที่พบในพืชมี 7 ชนิด และสารประกอบฟีนอลิก ดังนี้

2.5.2.1 แทนนิน (Tannin)

แทนนินเป็นพอลิฟีนอล (polyphenol) ที่มีโมเลกุลใหญ่ และโครงสร้างซับซ้อน โดยสูตรโมเลกุล ($C_{75}H_{52}O_{46}$) เป็นกรดอ่อน ประกอบด้วย gallic acid 9 โมเลกุล และน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล แทนนิน มีจำหน่ายทางการค้าในรูปของ กรดแทนนิน (tannin acid) แทนนินเป็นสารที่ทำให้รสฝาด (astringency) และรสขม (bitter) พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ใบชา ใบฝรั่ง ใบพลู ใบชุมเห็ด ผลไม้ดิบ เช่น กัลยาดิบ ในเปลือกและเมล็ดของผลไม้ เช่น เปลือกมังคุด องุ่น เมล็ดในของมะขาม เปลือกมะขามอ่อน และพบในไวน์แดง แทนนิน มีส่วนสำคัญ เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (enzymatic browning reaction) ของผลไม้มีฤทธิ์เป็นสารกันเสีย (preservative) ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ สรรพคุณทางยา คือ มีสมบัติเป็นสารตกตะกอนโปรตีน มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราได้ ใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง แก้บิด สมานแผล แผลเปื่อย

2.5.2.2 ซาโปนิน (Saponin)

ซาโปนินเป็นสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside compound) มีคุณสมบัติทำให้

เกิดฟองได้ง่าย ชื่อสารซาโปนินมาจากพืชชนิดหนึ่ง ที่มีชื่อว่า the soapwort plant มีชื่อสกุลว่า ซาโปนาเรีย (saponaria) ในสมัยโบราณใช้รากพืชชนิดนี้มาทำเป็นสบู่ (soap) ในภาษาลาติน คำว่า sapo แปลว่า soap หรือสบู่ นั่นเอง สามารถพบสารซาโปนินในพืชหลายชนิด เช่น ปะคำดีควาย หางไหลแดง พืชตระกูลชา เป็นต้น สารซาโปนินที่สกัดจากเมล็ดชา (Tea seed saponin) เป็นซาโปนินชนิดคอน (aglycon) และกรดอินทรีย์ สูตรโมเลกุลของสารซาโปนิน คือ $(C_{57}H_{90}O_{26})$ มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีไอออน (non-ionic surfactant) ทำให้เกิดฟองได้ดี สารซาโปนินรสมขม เคี้ยวทำให้เกิดการระคายเคืองต่อตาและจมูกได้

2.5.2.3 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ในประเภทพอลิฟีนอล (polyphenol) มี สูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายในน้ำได้ ส่วนใหญ่มักพบอยู่ร่วมกับ น้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) สารประกอบ flavonoids ได้แก่ flavonol, flavonone, flavone, isoflavone, flavonol catechin และ anthocyanins มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด ช่วยให้เม็ดเลือดไม่จับตัวเป็นก้อนจนอุดตัน ป้องกันการเกิดมะเร็ง เป็นสารต้านจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังเป็นสารต้านอาการแพ้ ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ แต่สิ่งที่น่าสนใจมากที่สุดคือคุณสมบัติในการเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ โดยสารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) มีความสามารถในการลดการเกิดอนุมูลอิสระ หรือหากเกิด มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นแล้วฟลาโวนอยด์ก็สามารถกำจัดได้

2.5.2.4 เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids)

เทอร์ปีนอยด์เป็นสารกลุ่มไฮโดรคาร์บอนหรือมีออกซิเจนอยู่ด้วยก็ได้ โดยมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายด้าน เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย เป็นสารประกอบประเภทโมโนเทอร์ปีนและเซสควิเทอร์ปีน อาจพบไดเทอร์ปีนเล็กน้อย เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย เป็นน้ำมันหอมระเหยสามารถพบ ในอวัยวะพิเศษของพืช เช่น ขนต่อมน้ำมันในพืชพวก กะเพรา โหระพา สะระแหน่ ในต่อมน้ำมัน เช่น ผิวส้ม ในท่อน้ำมัน เช่น ลูกผักชี ยี่หระ เซลล์พาราเรโนไมมาในดอกกุหลาบมะลิ หรือในเนื้อไม้ เช่น สนสองใบ คุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหย คือ ขับลม ฆ่าเชื้อโรค แต่งกลิ่น กลบกลิ่น กระตุ้นอวัยวะ ระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเรียกรวมๆว่า น้ำมันหอมระเหยในการบำบัด

2.5.2.5 อัลคาลอยด์ (Alkaloid)

อัลคาลอยด์เป็นสารอินทรีย์กลุ่มที่มีธาตุไนโตรเจน อยู่ภายในโมเลกุลในรูปของเอมีน (amine) เอมีนออกไซด์ (amine oxide) หรืออาจพบอยู่ในรูปของเอไมด์ (amide) และอีไมด์ (imide) ไนโตรเจนใน อัลคาลอยด์ได้มาจากกรดอะมิโน โดยทั่วไปอัลคาลอยด์จะมีคุณสมบัติเป็นเบส แต่จะมากหรือน้อย ขึ้นกับจำนวนของไนโตรเจน บางชนิดเป็นกลางหรือเป็นกรดอ่อนมักมีฤทธิ์ทางยา ใน

ธรรมชาติจะพบ แอลคาลอยด์มากในพืชชั้นสูง ตามส่วนต่าง ๆ ของพืชเช่น ใบ ดอก ผล เมล็ด ราก และเปลือก พบน้อย ในพืชชั้นต่ำ สัตว์ และจุลินทรีย์ แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็น ยา ระบุปวด ยาชาเฉพาะที่ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ ยาลดความดัน ยาคุมกำเนิดของหัวใจ (นพมาศ สุทธิธรรมเจริญนทร์, 2544)

2.5.2.6 แอนทราควิโนน (Anthraquinone)

แอนทราควิโนน มีอะไกลโคไซด์เป็นอนุพันธ์ของแอนทราซีน (anthracene) ที่พบ ในธรรมชาติโดยเฉพาะในพืช ชั้นสูงทั้งหลายจะอยู่ในสภาพของไกลโคไซด์ คุณสมบัติทางเคมีของแอนทราควิโนนจะสามารถเปลี่ยนกลับไปกลับมากับแอนทรอน (anthrone) และแอนทรานอล (anthanol) มีฤทธิ์เป็นยาระบายและยาล้าง เช่น เซนโนไซด์-บี จากใบและฝักของต้นมะขามแขก (*Cassia angustifolia* Vahl.) ในวงศ์ชิวาลพีเนียซีอี (Caesalpinaceae) ฤทธิ์ในการระบายขึ้นอยู่กับปริมาณของแอนทรานอลอิสระโดย เฉพาะส่วนประกอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์จะถูกรีดิวซ์ด้วยแบคทีเรียในลำไส้ให้ได้สารแอนทรานอลเสียก่อน หรือบาบาโลอิน จากใบของว่านหางจระเข้ (*Aloe babadensis* Mill.) ในวงศ์ลิลีเยซีอี (Liliaceae) เป็นองค์ประกอบในยาตาใช้เป็นยาล้าง เป็นต้น

2.5.2.7 คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiacglycosides)

คาร์ดิแอกไกลโคไซด์มี อะไกลโคไซด์เป็นสเตียรอยด์นิวเคลียส (steroid nucleus) คือ มีโครงสร้างเป็นวงแหวนไฮโดรเพนทาโนเพอไฮโดรฟิแนนทรินอยู่ในโมเลกุล มีฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด เช่น ดีจอกซิน (degoxin) จากใบของพืชสกุลดิจิตาลิส (*Digitalis lanata* Ehrh. หรือ *Digitalis purpurea* L.) ใน วงศ์สะครอพลาเรียซีอี (Scrophulariaceae) ใช้บำบัดอาการรักษาโรคหัวใจที่มีการเต้นผิดปกติของ หัวใจหรือโอลีแอนดริน (oleandrin) จากใบอีโกล (*Nerium indicum* Mill) ในวงศ์เอปไซนาซีอี (Apocynaceae) มีฤทธิ์เช่นเดียวกับดีจอกซิน เป็นต้น (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

2.5.2.8 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound)

เป็นกลุ่มสารที่พบมากในพืช มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ป้องกันความเสียหายที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต และป้องกันการสร้างสารก่อมะเร็ง จำแนกตามโครงสร้างทางเคมีออกเป็นกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม ซึ่งสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นหนึ่งในกลุ่มย่อยที่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นอาหาร ยา และเครื่องสำอางอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) คือ สารที่มีสูตรโครงสร้างที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH group) บนวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป สารในกลุ่มนี้จึงมีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ดี พบได้ในพืช ผัก และผลไม้ทั่วไป

ปัจจุบันสารประกอบฟีนอลิกได้รับความสนใจในฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidation) และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagenic activity) ที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (Free radicals) และการ

ใช้สารประกอบฟีนอลิกในการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะ โรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็งโดย สารประกอบฟีนอลิก จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และโมเลกุลอื่นๆด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่าง รวดเร็ว เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้วจะกลายเป็นอนุมูลอิสระ ของสารประกอบฟีนอลซึ่งค่อนข้างเสถียร ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระ ของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้ สารประกอบฟีนอลิกเหล่านั้นลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า สารประกอบฟีนอลิกที่ถูพบว่ามี คุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด ผล และใบ

2.5.3 แอนโทไซยานิน (anthocyanin)

ผักผลไม้ที่มีสีแดงให้สีส้มที่สะดุดตาและดึงดูดความน่าสนใจของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก สีแดง ของผลิตผลส่วนใหญ่เป็นรงควัตถุที่เกิดจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ซึ่งเป็นสารกลุ่ม สำคัญในการเกิดสีต่างๆ ในพืช ได้แก่ ฟลาโวน (flavones) มีสีเหลือง, ชาลโคน (chalcones) มีสี เหลืองสดไปจนถึงสีส้ม และ แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) มีสีน้ำเงินม่วงและแดง โดย anthocyanidin เมื่อรวมกับโมเลกุลของน้ำตาลจะเปลี่ยนเป็นแอนโทไซยานิน (anthocyanin) แอน โทไซยานินที่สร้างขึ้นมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) ภายใน โมเลกุล ชนิดและจำนวนของน้ำตาลที่เกาะกับโครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน รวมทั้งตำแหน่งที่เข้า เกาะจับของน้ำตาลในโมเลกุล บริเวณ B ring ทำให้เกิดชนิดและสีของแอนโทไซยานินที่แตกต่างกันไป ได้แก่ ไซยานิดิน (cyanidin) มีสีส้มแดง เดลฟินิดิน (delphinidin) และพิทูนิดิน (petunidin) มีสีน้ำ เงินอมแดง เพลาโกนินิดิน (pelargonidin) มีสีส้ม และโรซินินิดิน (rosinidin) มีสีแดง เป็นต้น ซึ่งใน ผลิตผลแต่ละชนิดมีชนิดของแอนโทไซยานินหลักที่สำคัญแตกต่างกันได้แก่ ในผลลิ้นจี่พันธุ์ Brewster แอปเปิ้ลพันธุ์ Winesap, Red Delicious, Girmes Golden และ Jonathan มังคุดของเอเชียใต้ และ black chokeberry ของอเมริกาเหนือมีแอนโทไซยานินชนิดหลัก คือ ไซยานิดิน ในขณะที่ผลเสาวรส ทางตอนใต้ของบราซิลและ Java plum มีแอนโทไซยานินชนิดหลัก คือ เดลฟินิดินและพิทูนิดิน ตามลำดับในมะเขือม่วง 14 พันธุ์ของเปรู มีแอนโทไซยานินชนิดหลัก คือ ไซยานิดิน 3-0-กาแลคโท ไซด์ โดยการเปลี่ยนแปลงสีและความคงตัวของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสารที่ผันแปร ตามค่า pH ซึ่งความเป็นด่างที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้แอนโทไซยานินเปลี่ยนเป็นสี carbinol base เป็นรูป ที่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์สอคล้ายกับการศึกษาในเปลือกลิ้นจี่ พันธุ์ “Hong Huay” pH ใน สารละลายภายในเปลือกผลต่ำกว่า 3.0 และในถั้วฝักยาวสีม่วงสิรินธร เบอร์ 1 ซึ่งมี pH ของ สารละลายภายในฝักถั้วระหว่าง 5.0-5.5 สามารถรักษาความคงตัวของสีแดงในเปลือกผลได้ดีใน กระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน มีฟีนิลอะลานิน (phenylalanine) เป็นสารตั้งต้น ที่สำคัญ ซึ่ง เปลี่ยนแปลงเป็นกรดซินนามิก (cinnamic acid) โดยอาศัยเอนไซม์ที่สำคัญในการเร่งปฏิกิริยา คือ

เอนไซม์ฟี นีลอลานีน แอมโมเนีย ไลเอส (phenylalanine amonalyase; PAL) กรดซินนามิกที่ เกิดขึ้นสามารถนำไปสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารตัวกลางมากมายระหว่างการสร้างสาร แอนโทไซยานิน ได้แก่ chalcone, flavanone, dihydroflavonol และ anthocyanidin ตามลำดับ แอนโทไซยานินมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ ป้องกันการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในปฏิกิริยาลูกโซ่ของชั้นตอนอินินิโทเอชันและพอรพาเกชัน จึงสามารถยับยั้ง หรือป้องกันอนุมูลอิสระที่ทำอันตรายแก่ เซลล์ได้ (Radical scavenging antioxidants) สารเหล่านั้น ได้แก่ วิตามินซี, กรดยูริก, bilirulin, albumin, วิตามินอี, ubiquinol (reduced coenzyme Q10) แคโรทีนอยด์ และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น

ดังนั้นในการรับประทานผักผลไม้ที่มีสีแดงหลากหลายชนิด จึงให้ประโยชน์แก่ร่างกายรวมทั้ง ต่อต้านอนุมูลอิสระซึ่งก่อให้เกิดโรคต่างๆ ภายในร่างกาย ส่งผลให้เกิดซาลงหรือชะลอการเกิดการ เสื่อมสภาพภายในเซลล์ได้เป็นอย่างดี (กัญญารัตน์ และคณะ, 2560)

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) หรืออาจเรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่สามารถ ยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) เช่น การเกิดออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)

สารต้านออกซิเดชัน สามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด คือ

- 1) Preventive antioxidant ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ
- 2) Scavenging antioxidant ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น
- 3) Chain breaking antioxidant ทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง

2.6.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ ภายในร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ 3 กลุ่มดังนี้

2.6.1.1 กลุ่มที่เป็นเอนไซม์ (Anzyme Antioxidant) อยู่ในพลาสมาประกอบด้วย Superoxide Dismutase (SOD), Catalase, Glutatnion Peroxidase (GSH-Px)

2.6.1.2 กลุ่มที่เป็นโปรตีน เช่น Cerulpolasmin

2.6.1.3 กลุ่มที่มีซิลไฟด์เป็นส่วนประกอบ เช่น อัลบูมินในเลือด

2.6.2 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ได้มาจากพืชผัก เครื่องเทศ องุ่น และ สมุนไพร ได้รับความสนใจ และศึกษากันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากกระแสเรื่องความปลอดภัยของสาร สกัดจาก ธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิดได้แก่

2.6.2.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)

สารประกอบฟีนอลิก สังเคราะห์ 5 ชนิดได้แก่ propyl gallate, 2- butylated

hydroxyanisole, 3- butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone มีสูตรโครงสร้างเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ใน อุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอันเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และ รสชาติที่เปลี่ยนไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มี ประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจาก ธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหา ด้านความปลอดภัยในการบริโภค

2.6.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภค มากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้าน อนุมูลอิสระเหล่านี้ พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช ซึ่ง มีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชัน (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดัก จับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูล H^{\bullet} แก่อนุมูลอิสระ เหล่านี้ นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอล ที่มี โครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ใน โมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล OH^{\bullet} ใน ปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชัน คือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับ กับโลหะ ดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาตินานาชนิด สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการ (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหนาม, 2554)

2.6.3 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีหลายกลไกดังนี้

2.6.3.1 ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging)

เป็นที่ทราบดีว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้ง อนุมูลอิสระได้โดยการทำให้ โมเลกุลของอนุมูลอิสระมี ความเสถียรขึ้นซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ ไฮโดรเจนหรือ อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Valacchi et al., 2014)

2.6.3.2 ยับยั้งการทำงานของซิงเกิลท์ออกซิเจน (Singlet oxygen quenching)

สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกิลท์ออกซิเจน โดยการเปลี่ยน ($^1O_2^*$) ให้อยู่ใน รูปทริปเปอริท (triplet oxygen (3O_2)) และ ปล่อย พลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน โดยที่แคโรทีนอยด์ จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกิลท์ออกซิเจน ได้ถึง 1,000 โมเลกุล (Sies and Stahl , 1992)

2.6.3.3 จับกับโลหะที่สามารถเร่งสารกลุ่มนี้ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal

chelation) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟอสฟอริกแอซิด (phosphoric acid) และ ซิตริกแอซิด (citric acid) เป็นต้น สำหรับกลไกการจับโลหะของสารประกอบ ฟลาโวนอยด์

2.6.3.4 หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking)

วิตามินอี (α -tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron-acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxy (ROO^*) (Burton, 1990)

2.6.3.5 เสริมฤทธิ์ (synergism)

สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอนุมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่าง วิตามินอี (α -tocopherol) กับ วิตามินซี (ascorbic acid) โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในในสถานะไม่มีขั้ว (hydrophobic condition) ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ อนุมูลแอลฟา-โทโคฟีรอลเปอร์ออกซิล (α -tocopherol peroxy) ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง แอลฟา-โทโคฟีรอล กับอนุมูลเปอร์ออกซิล (ROO^*) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็น แอลฟาโทโคฟีรอล ที่สามารถทำงานได้ (Frankel et al., 1998)

2.6.3.6 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) สารประกอบ ฟีนอลิก บางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และ แกลเลต (gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ลิพอกซีจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้ (Puerta, Gutierrez, and Hault, 1999)

2.6.3.7 สารต้านอนุมูลอิสระกับการป้องกันโรค

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอนุมูลอิสระส่งผลเสียต่อร่างกายและเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิดในมนุษย์ เช่น โรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รูมาตอยด์ การศึกษาข้อมูลทางเภสัชวิทยาของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีส่วนส่งเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรคในมนุษย์ ซึ่งตัวอย่างการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ (Comish and Garbary, 2011)

2.6.4 วิธีการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

2.6.4.1 diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้คือ อนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช ($DPPH^*$, diphenyl-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

(spectrophotometer) ที่ ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH[•] ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้มีสีม่วงจางลง ๆ จนเป็นสีเหลือง (ตั้งสมการ) ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มีดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสาร ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่สารตัวอย่าง) ดังนี้



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

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง

ข้อดีของวิธีนี้คือ ง่าย สะดวกและรวดเร็ว ส่วนข้อเสียคือ DPPH[•] ค่อนข้างเสถียรไม่ว่าต่อปฏิกิริยาเหมือน อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งจะทำให้โปรตีนตก ตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรบกวนแล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH[•] จางลงได้เช่นกัน (บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์, 2556)

2.6.4.2 Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

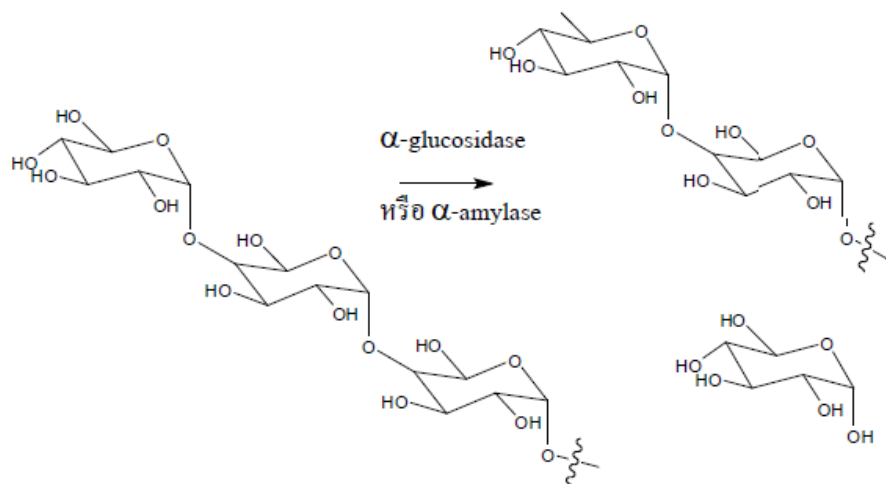
เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ ในการรับอิเล็กตรอนอิสระ (reducing agent) โดยอาศัยคุณสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ในปฏิกิริยา redox-linked colorimetric method โดยที่ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) complex จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ ทำให้เกิด Fe^{2+} -TPTZ complex (10 นาที) ซึ่งมีสีน้ำเงินเข้มดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร จึงสามารถใช้วัด total reducing power ของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้ Fe^{3+} เปลี่ยนเป็น Fe^{2+} ได้ โดยเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานคือ เพอร์ร็อกซิไดออน

2.6.4.3 ABTS scavenging activity เป็นการทดสอบโดย ABTS (2,2'-Azino-bis-(3-ethybenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt) จะถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวกด้วยการเติม potassium persulfate เมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นไม่มีสี โดยเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานคือ โทลอกซ์

2.7 การยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส

โรคเบาหวานทำให้เกิดความผิดปกติของการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินส่งผลให้มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงซึ่งวิธีการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานโดยทั่วไปใช้วิธีการควบคุมอาหารและออกกำลังกายร่วมกับการฉีดอินซูลิน ในผู้ป่วยที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงมากแพทย์จะให้รับประทานยาที่มีกลไกการออก

ฤทธิ์การลดหรือการป้องกันการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคส เช่น อะคาร์โบส ไมกลิทอล และ โวกลิโบส และพืชสมุนไพรที่มีสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำตาลกลูโคส เช่น เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส และ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็กเอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยน้ำตาลโพลีแซคคาไรด์ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมากกว่า 10 โมเลกุลขึ้นไปเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟาไกลูโคซิดิกด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (ภาพประกอบ 1) เช่น น้ำตาลกลูโคสที่เข้าสู่กระแสเลือดและไปเลี้ยงเซลล์ทั่วร่างกาย ส่วนเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสโดยการย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิกภายในสายพอลิเมอร์ของโมเลกุลแป้งและไกลโคเจนที่ตำแหน่งแอลฟา 1-4 แบบสุ่มซึ่งทำให้โมเลกุลของแป้งและไกลโคเจนถูกย่อยเป็นน้ำตาลอย่างรวดเร็วเช่นน้ำตาลมอลโทสน้ำตาลกลูโคสเอนไซม์ชนิดนี้พบได้ทั่วไปในระบบการย่อยอาหารของมนุษย์และสัตว์เช่นในน้ำลายและน้ำย่อยจากตับอ่อนดังนั้นถ้ามีสารยับยั้งที่สามารถต้านการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส หรือ ลดประสิทธิภาพการทำงานให้น้อยลงสักสารชนิดนี้จะสามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ (พรชนก ชโลปกรณ์ และ พงศธร กล่อมสกุล, 2560)



ภาพประกอบ 1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (ที่มา: พรชนก ชโลปกรณ์ และ พงศธร กล่อมสกุล, 2560)

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน ของสารที่สกัดได้จากสมุนไพร นั้น จะใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เพื่อติดตามปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสารตั้งต้นไปเป็นผลิตภัณฑ์ดัง ปฏิกิริยา p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNP-G) เป็นสารละลายไม่มีสี ทำหน้าที่เป็น ซับสเตรตในปฏิกิริยา เมื่อมีเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส จะถูกไฮโดรไลซ์ไปเป็น p-nitrophenol ซึ่ง

เป็นสารละลายใสสีเหลือง และน้ำตาลกลูโคส ดังภาพประกอบ 1 ซึ่งสามารถตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้เทคนิค UV-Visible spectroscopy โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ถ้าการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงมากแสดงว่าไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ แต่ถ้าการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อยแสดงว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ยาที่สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในปัจจุบัน ได้แก่ acarbose, miglitol และ voglibose เป็นต้น แต่พบว่ายาเหล่านี้อาจมีผลต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานทำให้มีอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ และท้องร่วง จึงได้มีการนำพืชสมุนไพรมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคเบาหวานมากขึ้นในปัจจุบัน

2.8 ไฟโตรเอสโตรเจน (Phytoestrogen)

ไฟโตรเอสโตรเจน เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สร้างขึ้นโดยพืชมีคุณสมบัติคล้ายเอสโตรเจน เพื่อประโยชน์เช่นเพื่อเป็นสัญญาณให้แบคทีเรียในดิน ที่มีประโยชน์ต่อพืชนั้นเข้ามาอาศัยร่วมกันแบบ symbiosis เช่นพืชตระกูลถั่ว จะสร้างไฟโตเอสโตรเจนเพื่อจุดเพื่อดึงดูดไรโซเบียมมาอยู่บริเวณราก เพื่อช่วยในการนำไนโตรเจนจากดินมาใช้ประโยชน์ และยังช่วยป้องกันเชื้อราและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอีกด้วย สารไฟโตเอสโตรเจนนี้ประกอบด้วยไอโซฟลาโวน (Isoflavone) ที่พบในถั่วเหลืองตัวอย่างสารกลุ่มนี้เช่น genistein, daidzein และ biochanin A เป็นต้น สารกลุ่มลิกนิน (lignans) ที่พบมากในธัญพืชเมล็ดพืชและผลไม้แห้ง เช่น matairesinol secoisolariciresinol และ สารกลุ่ม coumestrol resorcylic acid lactones เป็นต้น สารในกลุ่มไฟโตเอสโตรเจน จะมีสูตรโครงสร้างบางส่วนคล้ายคลึงกับ estradiol ซึ่งเป็นเอสโตรเจนที่พบในธรรมชาติ จึงอาจมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อนหรืออาจออกฤทธิ์ต่อต้านฤทธิ์ของเอสโตรเจน คล้าย raloxifene และ tomosifen ได้ สารไฟโตเอสโตรเจนนี้สามารถจับกับ เอสโตรเจน receptor ได้ ทั้งชนิด ER α และ ER β แต่จะมี potency ต่ำกว่า estradiol ขึ้นอยู่กับชนิดของ receptor ชนิดของไฟโตเอสโตรเจน และเนื้อเยื่อนั้นๆเช่น ไอโซฟลาโวน จะมีความสามารถจับกับ ER α ซึ่งพบมากในเซลล์เต้านมและกระดูก ได้ต่ำกว่า estradiol ประมาณ 1/50,000 ถึง 1/100,000 แต่จะมีความสามารถในการจับกับ ER β ซึ่งพบมากที่ไขมันกระดูกและสมองได้ใกล้เคียงกับ estradiol

ดังนั้นเมื่อสัตว์หรือมนุษย์บริโภคพืชที่มีสารกลุ่มไอโซฟลาโวนและลิกนิน สารเหล่านี้จะถูกแปรรูปโดยวิธีไฮโดรไลซิส โดยกรดเกลือที่มีอยู่ในกระเพาะอาหาร และจุลชีพที่อยู่ในลำไส้ซึ่งมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส สารไอโซฟลาโวนที่ถูกดูดซึมได้จะถูกลำเลียงไปตามกระแสเลือดไปยังตับซึ่งจะเกิดการแปรรูปโดยวิธีรีคอนจูเกตคือ การจับรวมกับสารอื่น เช่น กรดกลูควิโรนิก และกรดกำมะถัน โดยการกระตุ้นจากเอนไซม์เฮปาทิก เฟส 2 และเจนิสทิน ทั้งนี้อาจมีการดูดซึมได้บางส่วน ภายในเวลาเพียง 7-8 ชั่วโมง จะปรากฏระดับสูงสุดของไอโซฟลาโวนที่ดูดซึมได้

ภายในส่วนต่าง ๆ ของร่างกายเช่น น้ำเลือด น้ำคร่ำ น้ำปัสสาวะ อุจจาระ น้ำนม และน้ำลาย นอกจากนี้ไฟโตเอสโตรเจนเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งได้หลายชนิด ซึ่งไฟโตเอสโตรเจนที่มีในอาหารที่สำคัญได้แก่ สารในกลุ่มไอโซฟลาโวนอยด์จากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและลิกแนนจากธัญพืชอาหาร ที่มีส่วนผสมของถั่วเหลืองมีฤทธิ์ป้องกันมะเร็งเต้านมได้บางส่วน โดยจะต้องมีการบริโภคก่อนเข้าสู่ระยะวัยรุ่นหรือบริโภคตั้งแต่วัยเด็กมีรายงานว่าบริโภคถั่วเหลืองมีผลยับยั้งมะเร็งต่อมลูกหมาก ลิกแนนมีผลยับยั้งมะเร็งลำไส้ใหญ่ สำหรับไฟโตเอสโตรเจนที่มีผลต่อการเกิดโรคมะเร็งเต้านม เกิดเนื่องจาก ER β ของไฟโตเอสโตรเจนสามารถจับกับ ER β ได้แรงกว่าหรือแน่นกว่า ในขณะที่ฮอร์โมนเอสโตรเจนจับกับ ER α ได้แรงกว่า ER β หากร่างกายบริโภคไฟโตเอสโตรเจนในปริมาณสูงมากพอจะมีผลทำให้ไฟโตเอสโตรเจนไปแข่งขันกับฮอร์โมนเอสโตรเจนเพื่อเข้าจับกับตัวรับเอสโตรเจนทั้งสองชนิดถ้าไฟโตเอสโตรเจนในเซลล์เป้าหมายมีปริมาณสูงกว่าและมากพอจะจับกับตัวรับเอสโตรเจนได้มากขึ้นจะส่งผลให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนจับกับ ER α ได้น้อยลง ผลของฮอร์โมนเอสโตรเจนในการกระตุ้นเซลล์จึงน้อยลงซึ่งรวมทั้งการกระตุ้นให้เกิดการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านมด้วย

จากการศึกษาสารที่ออกฤทธิ์ทดแทนฮอร์โมนเอสโตรเจนที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าสารกลุ่มนี้ อยู่ทั้งในธรรมชาติได้แก่ พืช เชื้อรา อยู่ในสภาพสารจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรม และการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จะต้องค้นคว้าวิจัยเพื่อหาคำตอบให้ได้ว่าสารในกลุ่มนี้ สารใดมีประโยชน์ต่อสุขภาพมนุษย์ และจะเลือกไฟโตเอสโตรเจนชนิดใดออกมาพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภคของมนุษย์ต่อไป

2.9 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของมันเสา

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Dioscorea alata* L.

ชื่อวงศ์: Dioscoreaceae

ชื่อพื้นเมือง: มันเสา มันเลือด มันแข้งช้าง มันหวาย มันเขาวัว มันดำ มันเหลี่ยม มันอีจาน มันหลวง มันรัก มันลองเชิง มันแซม มันงู มันทุ้ม มันจาว มันจาวมะพร้าว และมันกิบ เป็นต้น

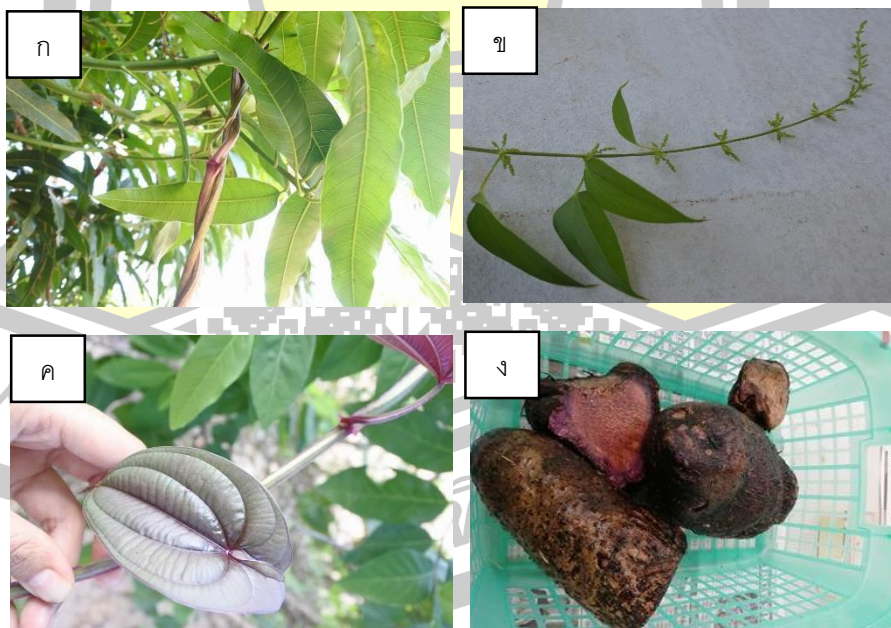
ลักษณะพฤกษศาสตร์: ไม้เลื้อย (climber) ยาว 25 เมตร ลำต้นไต่ดินสะสมอาหาร หรือหัวใต้ดิน (tubers) มีหลายขนาดตั้งแต่ 5-50 เซนติเมตร รูปร่างมีหลายแบบ ในป่ามักจะเป็นทรงกระบอก พองออกตอนปลายคล้ายกระบอง บางสายพันธุ์มีรูปร่างกลม กลมรี หรือ ทรงกระบอกมีลักษณะเป็นพูหลายพู หรือแตกแขนงออกไปเป็นส่วน ๆ รูปร่างไม่แน่นอน เนื้อในหัวมีสีขาวแกมเหลืองไปจนถึงสีม่วงอมแดง ส่วนหัวใต้ดินสามารถนำไปปลูกเพื่อขยายพันธุ์ได้ ลำต้น ส่วนใหญ่สีม่วงอมแดง มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-15 มิลลิเมตร เลื้อยพันในทิศทวนเข็มนาฬิกา หรือเวียนขวา ยาวได้ถึง 10 เมตร รูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมมีปีกตามยาวในแต่ละมุม (รวมถึงก้านใบและช่อดอกอีกด้วย) ใบ เป็นใบเดี่ยวเกิดตรงข้ามหรือเยื้องกันเล็กน้อย ใบรูปไข่ ฐานใบเว้าลึกรูปหัวใจ เนื้อใบคล้ายกระดาษผิวใบเกลี้ยงเป็นมัน

มีเส้นใบ 7-9 เส้น ขอบใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ใบประดับ ขนาด 2.5-10 มิลลิเมตร รูปใบหอกถึงรูปไข่ หัวบริเวณใบมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-7 เซนติเมตร รูปร่างกลม หรือกึ่งกลมทรงกระบอก มีสีน้ำตาลเทาถึงดำน้ำตาล ผิวเรียบ หรือ ผิวบาง ช่อดอก ห้อยตามแนวตั้ง ช่อเชิงลดแน่น ช่อดอกเพศผู้เป็นช่อเดี่ยวหรือประกบแกนช่อดอกคุดไปมา ช่อดอกเพศเมีย เป็นช่อเดี่ยวมีแกนต่อกับผล ดอกเพศผู้ กลีบรวมด้านนอกรูปไข่กว้าง 1.3-1.6 มิลลิเมตร กลีบรวมด้านในรูปไข่กว้าง 0.9-1.1 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้ 6 อัน ดอกเพศเมีย กลีบดอกสีเหลือง มีรังไข่รูปรีแกมรูปไข่มีสีม่วงอมแดงตามแกนกลาง ผลเป็นผลแห้งแตกทรงกลมแผ่ออกเป็น 3 พูขนาด 25.5-43.5 มิลลิเมตร เมล็ดรูปหยดน้ำ ขนาด 5-7.5 มิลลิเมตร มีปีกกลมสีน้ำตาลล้อมรอบขนาด 15-21.5 มิลลิเมตร (Santisuk T and Larsen K 2009; เชิตศักดิ์ ทัพใหญ่ และคณะ, 2560)

ระยะเวลาการออกดอก: กรกฎาคม-สิงหาคม

การใช้ประโยชน์: หัวใต้ดินไม่มีพิษ กินได้มีรสอร่อย

สารอาหาร: ให้พลังงาน 118 กิโลแคลอรี โปรตีน ไขมันรวม คาร์โบไฮเดรต ไฟเบอร์ และน้ำตาล แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม วิตามิน จะประกอบไปด้วยวิตามิน ซี อี เค เอ และวิตามินบี (Chandrasekara and Josheph Kumar, 2016) สารประกอบทางชีวภาพ ได้แก่ saponins, sapogenins (Podolak et al., 2010), mucin, dioscin, dioscorin, allantoin, choline, polyphenole, diosgenin, carotenoids และ tocopherols เป็นต้น นอกจากนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเบาหวาน ต้านแบคทีเรีย สารต้านอนุมูลอิสระ



ภาพประกอบ 2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันเสา (*Dioscorea alata* L.) ประกอบด้วย ลำต้น (ก), ดอกเพศผู้ (ข), ใบ (ค), หัวใต้ดิน (ง) (ที่มา: ชนากร, 2561)

2.10 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.10.1 งานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดและฤทธิ์เอสโตรเจนิก

เกศริน มณีขุน (2013) ทำการศึกษาสมุนไพรสกุลกลอย (*Dioscorea*) ในตำหรับยาแผนไทย โดยรวบรวมชนิดของพืชสกุลกลอยไว้ 42 ชนิด ซึ่งพบรายงานวิจัยพืชสกุลกลอยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และมีการกระจายในประเทศไทย ได้แก่ *D. alata* L. มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน (Maithili *et al.*, 2011) *D. collettii* var. *hypolauca* (Palib.) S.J. Pei & C.T. Ting มีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม (Hu and Yao, 2003) ต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ และ *D. pentaphylla* L. ใช้รักษาโรกระบบทางเดินอาหารและระบบหายใจ (Nashriyah *et al.*, 2011)

McAnuff *et al.* (2002) ทำการศึกษาเรื่อง การกระจายของพลาสมาและไขมันตับในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin ที่ให้สารสกัด sapogenin จาก Jamaican bitter yam (*Dioscorea polygonoides*) โดยใช้ sapogenin steroidal ที่สกัดจาก *D. polygonoides* และ diosgenin ถูกใช้กับหนูเบาหวานเป็นเวลา 21 วัน ผลการทดลองพบว่า หนูเบาหวานที่ได้รับ sapogenin steroidal และ diosgenin น้ำหนักตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดสอบน้ำตาลในเลือดและคอเลสเตอรอลรวมพบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัด Sapogenin ช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พลาสมาและตับมีระดับ VLDL+LDL-cholesterol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ HDL เพิ่มขึ้นในหนูเบาหวานที่ทดสอบในสารสกัด ดังนั้นการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการบริโภคผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดนี้ มีประโยชน์ในการจัดการกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูงซึ่งมักเกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน

McAnuff *et al.* (2003) ทำการศึกษาเรื่องการเปลี่ยนแปลงลักษณะลำไส้เล็กของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin เมื่อได้รับสารสกัด steroidal sapogenin จาก *Dioscorea polygonoides* ทำการทดลองโดยใช้หนูเพศผู้จำนวน 32 ตัว ให้อาหารเสริมด้วย 1 % สารสกัด steroidal sapogenin จาก *D. polygonoides* หรือ diosgenin เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าหนูเบาหวานมีความยาวของ villus เพิ่มขึ้นและมีความลึกของ crypt

Wu *et al.* (2005) ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์การเป็น estrogenic ของการกินมัน (*Dioscorea alata*) ในสุขภาพสตรีวัยหมดประจำเดือน ทำการศึกษาในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีสุขภาพดี จำนวน 24 คน ให้กินมันเป็นอาหาร 390 กรัม ใน 2 มื้อต่อวันเป็นเวลา 30 วัน ผลการทดลองพบว่า หลังได้รับมัน มีระดับความเข้มข้นของ estron และ sexhormone binding globulin เพิ่มขึ้นและ estradiol เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ามัน ช่วยเพิ่มฮอร์โมนเพศลดไขมันและเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ ผลกระทบเหล่านี้จะช่วยลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งเต้านม และโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน

Mcanuff-harding, Omoruyi, and Asemota (2006) ทำการศึกษาเรื่องเอนไซม์เกี่ยวกับลำไส้และ renal enzymes บางตัวในหนูเบาหวานที่ได้รับ streptozotocin ที่ให้สารสกัด sapogenin จาก bitter yam (*Dioscorea polygonoides*) ในการศึกษานี้ได้ศึกษาผลของสารสกัด sapogenin จาก bitter yam เกี่ยวกับลำไส้และ renal enzymes ในหนูที่เป็นเบาหวานได้รับการตรวจสอบ โดยใช้หนู Wistar Rat เพศผู้ที่เป็นเบาหวาน ได้รับสารสกัด sapogenin 1% หรือ diosgenin เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ทดสอบระดับน้ำตาลในเลือด เอนไซม์เกี่ยวกับลำไส้และ ฤทธิ์ของ ทรานสมิเลส กรดพอตฟาเตส กลูโคส -6- ฟอสฟอรัส ATP citrate lyase glucose-6-phosphate dehydrogenase และ pyruvate kinase ผลการทดสอบพบว่า ระดับการเปลี่ยนแปลงการเผาผลาญในไตของหนูเบาหวานที่ได้รับสาร sapogenin 1% หรือ diosgenin ส่งผลให้ฤทธิ์ lactase และ maltase ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทั้งสามส่วนของลำไส้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมโรคเบาหวาน อย่างไรก็ตามอาหารทดลองลดฤทธิ์ sucrase ในลำไส้เล็กในบริเวณใกล้เคียงและกึ่งกลาง การทดสอบสารสกัดและ diosgenin มีผลทำให้ฤทธิ์ของกลุ่ม transaminases ลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มควบคุมโรคเบาหวาน ฤทธิ์ของ glucose-6-phosphatase เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ฤทธิ์ของเอนไซม์ ATP citrate lyase, pyruvate kinase และ glucose-6-phosphate dehydrogenase ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในไตหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับสารสกัดเมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ นอกจากนี้การทดสอบสารสกัดและ diosgenin ไม่ได้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคส-6-phosphatase, ATP citrate lyase และโคกูราโคเนสเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโรคเบาหวาน แต่ฤทธิ์ glucose-6-phosphate dehydrogenase มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูกลุ่มปกติ ดังนั้นสรุปได้ว่าการศึกษาการบริโภคสารสกัดจาก *D. polygonoides* หรือสาร diosgenin มีคุณสมบัติในการลดน้ำตาลในเลือดซึ่งเป็นประโยชน์ต่อโรคเบาหวานโดยการลดฤทธิ์ของ disaccharidases ในลำไส้ อย่างไรก็ตามสารสกัดจาก *D. polygonoides* อาจส่งผลเสียต่อความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มไตได้

Cheng, Kuo, and Huang (2007) ทำการศึกษาเรื่องการจำแนกสารประกอบ estrogenic ในหัวมัน *Dioscorea alata* Cv.Tainung No.2 การศึกษาฤทธิ์ estrogenic ทำการแยกและจำแนกโดย ligand กระตุ้นการถอดรหัสของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยทำการสกัดมันโดยใช้ ethyl acetate เป็นตัวทำละลาย จากนั้นหาตัวรับ α และ β ของ estrogen ด้วยเทคนิค HPLC ผลการศึกษาพบว่า ฤทธิ์การทำงาน ER α และ β ในมนุษย์ ซึ่งผลจากการวิจัยเป็นหลักฐานพื้นฐานสำหรับผลของประโยชน์มันสำหรับผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน

Ahmed et al.(2009) ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์การป้องกันระดับน้ำตาลในเลือดสูงและป้องกันระดับไขมันในเลือดสูงของหัว *Dioscorea bulbifera* สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ทำการทดลองในหนูเพศผู้ mice แบ่งกลุ่มออกเป็น 6 กลุ่มละ 10 ตัว ในการศึกษาฤทธิ์ลดเบาหวาน โดยเหนี่ยวนำ

หนูให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin ทำการทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ และในการศึกษาฤทธิ์ป้องกันระดับไขมันในเลือดสูง แบ่งกลุ่มเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว ซึ่งให้อาหารไขมันสูงเพื่อทดสอบการลดระดับไขมันสูงในเลือด ทำการทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ให้สารสกัดขนาด 250 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จากการทดลองพบว่า สารสกัดขนาด 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีฤทธิ์การป้องกันเบาหวาน โดยหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดมีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างเห็นได้ชัดในวันที่ 42 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับหนูเบาหวานไม่ได้รับสารสกัด และฤทธิ์ป้องกันไขมันในเลือดสูง พบว่า มีระดับ HDL เพิ่มขึ้นในวันที่ 28 และระดับ LDL ลดลงในวันที่ 28 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับหนูที่ได้รับไขมันสูงแต่ไม่ได้รับสารสกัด

Maithili et al.(2011) ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์การป้องกันเบาหวานของสารสกัด *Dioscorea alata* ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan โดยทำการแบ่งกลุ่ม ออกเป็น 5 กลุ่มกลุ่มละ 6 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 Normal control กลุ่มที่ 2 หนูเบาหวาน กลุ่มที่ 3 หนูเบาหวานได้รับ *D. alata* extract (100 mg/kg, p.o.) กลุ่มที่ 4 หนูเบาหวานที่ได้รับ *D. alata* extract (200 mg/kg, p.o.) กลุ่มที่ 5 หนูเบาหวานได้รับ Metformin (250 mg/kg, p.o.) ทำการทดลองเป็นเวลา 21 วัน จากการทดลองพบว่า หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดทั้ง 2 ขนาดมีระดับน้ำตาลในเลือดลดลง และมีค่า LDL TCH และ TG ลดลงค่า HDL เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับสารสกัดแต่ไม่แตกต่างจากหนูเบาหวานที่ได้รับยา

Atsukwei et al. (2015) ทำการศึกษาเรื่องการคุมกำเนิด ที่เป็นผลกระทบของสารสกัด *Dioscorea villosa* โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ต่อฮอร์โมนในระบบสืบพันธุ์ของหนูแรทเพศเมีย ทำการทดลองโดยให้หนูเพศเมียรับประทานสารสกัด 100 200 และ 300 mg/kg เป็นเวลา 30 วัน จากการทดลองพบว่า ระดับฮอร์โมน (luteinizing hormone) LH ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และฮอร์โมนเอสโตรเจน ของหนูที่ได้รับสารสกัดลดลงและ ฮอร์โมน(follicle stimulating hormone) FSH เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ดังนั้นการได้รับสารสกัด *D. villosa* จึงมีผลต่อการคุมกำเนิดโดยสารสกัดส่งผลต่อการเจริญของไข่และการตกไข่

Shrivastava et al. (2007) ทำการศึกษาเรื่องการสำรวจพืชสมุนไพรที่นำมาใช้เป็นยาคุมกำเนิด จาก Madhya-Pradesh จากการสำรวจพบพืชสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ต่อฮอร์โมนเพศรวมไปถึง *Dioscorea bulbifera* L. มีสารประกอบทางเคมีไม่ว่าจะเป็น steroidal sapogenin diosgenin sorbitol lucetin auroxanthin cryptoxanthin ฯลฯ (Khare,2004) ผลจากการรับประทาน *D.bulbifera* L. โดยการนำหัวไปปอกเปลือกแห้งออกนำไปย่าง บดเป็นผงนำมารับประทาน 10 กรัมเป็นเวลา 5 วันหลังจากมีประจำเดือน ส่งผลต่อการยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนเอสโตรเจน จึงไปยับยั้งการสร้างไข่

Go et al. (2015) ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์การต้านเบาหวานของมัน (*Dioscorea batatas*) และฤทธิ์ใช้เป็นสารออกฤทธิ์อัลลันโทอิน ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาประสิทธิภาพฤทธิ์การรักษาของมันดิบ (*Dioscorea batatas*) ทำให้เป็นผง (PY) สารสกัดจากมัน (EY) และ allantoin (ส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ของมัน) ในหนูเบาหวานที่ได้รับสารกระตุ้น streptozotocin (STZ) เมื่อเทียบกับน้ำตาลกลูโคส, อินซูลิน, glucagon-like peptide-1 (GLP-1), C-peptide glycated hemoglobin (HbA1c), การเผาผลาญของเอนไซม์ไลเปสและ ภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน วิธีการทดลองใช้หนู 50 ตัว แบ่งกลุ่มออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้กลุ่มควบคุมปกติ (NC) กลุ่มควบคุมโรคเบาหวาน (STZ) และ กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับ (STZ + PY, STZ + EY และ STZ + allantoin) และให้เป็นเวลา 1 เดือน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ามันและอัลลันโทอินมีฤทธิ์ต้านโรคเบาหวาน โดยการปรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กระบวนการตรวจไขมันในเลือดและการกระตุ้นการปลดปล่อย GLP-1 โดยเฉพาะการปรับปรุงการทำงานของเซลล์ที่ช่วยรักษาระดับอินซูลินและระดับน้ำตาลในร่างกาย

Zeng et al. (2018) ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิกของสารสกัดจากมันจีน (*Dioscorea opposita* Thunb.) และประสิทธิภาพของสารประกอบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและในร่างกาย ทำการทดสอบจากน้ำหนักรวมของหนูและ เทคนิคการเพาะเลี้ยงของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม (MCF-7 cell) และ ทดสอบหาสารประกอบที่ออกฤทธิ์เอสโตรเจนิก ผลการทดลองพบว่าน้ำหนักมดลูกของหนูเพิ่มขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ $p < 0.05$ และมีระดับ E2 และฮอร์โมน FSH เพิ่มขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ $p < 0.01$ และสารสกัดมีการป้องกันการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ $p < 0.05$ ดังนั้นมันจีน *D. opposita* มีสารประกอบ adenosine และ arbutin มีผลคล้ายเอสโตรเจน ซึ่งมีกลไกการทำงานของคล้ายเอสโตรเจนโดยเป็นตัวสื่อกลางการออกฤทธิ์จากตัวรับ $ER\alpha$ และ $ER\beta$

2.10.1 งานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ

Bhandari and Kawabata (2004) ทำการศึกษาเรื่องปริมาณกรดอินทรีย์ ปริมาณฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของมันป่า (*Dioscorea* spp.) ของเนปาล การทดลองนำมันป่า (*Dioscorea* spp.) จำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีอยู่ในประเทศเนปาลที่ได้รับการวิเคราะห์กรดอินทรีย์แต่ละชนิด ปริมาณฟีนอลรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีกรดซัลซินิกที่มีค่าเฉลี่ย 1316 มก. / 100 กรัมน้ำหนักสด (FW) กรดซิทริกมีปริมาณมากที่สุดเป็นอันดับสองโดยมีค่าเฉลี่ย 274 มก. / 100 g FW ค่าเฉลี่ยที่วัดได้จากกรด malic และ oxalic คือ 147 และ 110 มก. / 100 g FW ตามลำดับ ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (เป็นฟีนอล) อยู่ระหว่าง 13 ถึง 166 มก. / 100 กรัม FW นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยทำการทดลองด้วยวิธีต่างๆ เช่น DPPH free radical scavenging,

ferrous ion chelating, reducing power และ total antioxidant activity tests ซึ่งการบริโภคหัวมันป่าสดอาจเป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระในรูปแบบธรรมชาติและอาจมีบทบาทในการป้องกันโรคของมนุษย์ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระเช่นมะเร็งและโรคหัวใจและหลอดเลือด

Luo (2008) ทำการศึกษาเรื่องการระบุโครงสร้างและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนของโพลีแซคคาไรด์บริสุทธิ์จาก *Dioscorea nipponica* Makino ทำการทดสอบสาร polysaccharides ที่มีอยู่ปริมาณมากในสารสกัดของ *D. nipponica* Makino ที่สกัดด้วยการต้ม โดยการใส่คอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบ DEAE-Sepharose CL-6B เพื่อแยกสาร polysaccharides จาก *D. nipponica* Makino โพลีแซคคาไรด์ปริมาณมากถูกทำให้บริสุทธิ์ต่อไปโดยการกรองเจลบน Sephadex G-100 ส่วนที่บริสุทธิ์คือโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นกลางและเป็นสายเดี่ยวใน HPLC กับคอลัมน์ Sugar KS-804 มีน้ำหนักโมเลกุล 38,000 และประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสเป็นส่วนใหญ่ (45: 1) การวิเคราะห์โดยการย่อยสลาย Periodate oxidation-Smith ซึ่งให้ผลว่ามี 5.9% (1 สาย) ไกลโคซิดิลิงคเจก 4.94% (1 สาย 2) ไกลโคซิดิลิงคเจก, 61.16% (1 สาย 4) ไกลโคซิดิลิงคเจก, และ 28% (1 สาย 3) โดยใช้ชุดทดสอบ superoxide radical assay, hydroxyl radical assay และ self-oxidation of 1,2,3-phentriol assay เป็นการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งส่วนของโพลีแซคคาไรด์บริสุทธิ์นี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ 1,2,3-phentriol ที่ vitamin C:Vc การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระของ superoxide radical and hydroxyl radical สูงกว่า Vc เล็กน้อย และควรได้รับการพิจารณาว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดใหม่

Ghosh et al. (2012) เรื่องฤทธิ์ต้านโรคเบาหวานของ *Gnidia glauca* และ *Dioscorea bulbifera*: ที่มีศักยภาพเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ Amylase และ Glucosidase โรคเบาหวานเป็นโรคที่เกิดจากการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีผลต่อผู้ป่วยประมาณ 220 ล้านคนทั่วโลก หนึ่งในภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญที่สุดของโรคเบาหวานคือระดับน้ำตาลในเลือดสูงหลังรับประทานอาหาร (PPHG) Glucosidase inhibitor และ α -amylase inhibitors เป็นสารประกอบที่ช่วยในการยับยั้ง PPHG การแนะนำให้ใช้สมุนไพรที่มีราคาถูก เนื่องจากมีผลข้างเคียงน้อยกว่าในการรักษาโรคเบาหวาน ซึ่งพืชที่มีศักยภาพในการรักษาแบบดั้งเดิมคือ *Gnidia glauca* และ *D. bulbifera* พืชทั้ง 2 ชนิดถูกทดสอบเพื่อประสิทธิภาพในการยับยั้ง α -amylase และ α -glucosidase ก้านใบและดอกของ *G. glauca* และ ส่วนหัวของ *D. bulbifera* ได้รับการสกัดด้วยน้ำมันปิโตรเลียมเอทิลอะซิเตต เมทานอล และเอทานอล 70% สารสกัดจากปิโตรเลียมเอทิลอะซิเตตของดอก *G. glauca* พบว่ายับยั้ง α -amylase (78.56%) และสารสกัดจากเมทานอลของหัว *D. bulbifera* (73.54%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดได้รับการทดสอบต่อไปกับตับอ่อน ลำไส้เล็ก และเอนไซม์ glucosidase ตับที่แสดงคุณสมบัติการยับยั้งที่ดีเยี่ยม การยับยั้ง α -glucosidase เป็นข้อมูลในการทดลองที่ชัดเจน

สำหรับการยืนยันว่าทั้ง *G. glauca* และ *D. bulbifera* เป็นยาแก้โรคเบาหวานที่ยอดเยี่ยม นี่เป็นรายงานฉบับแรกที่ให้เป็นหลักฐานทางชีวเคมีสำหรับการจัดการโรคเบาหวานชนิด II โดยใช้ *G. glauca* และ *D. bulbifera* ผลลัพธ์เหล่านี้ให้เหตุผลที่มากมายสำหรับการศึกษาต่อในร่างกายและทางคลินิก

Li et al. (2013) ทำการศึกษาเรื่องความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของพืชสมุนไพร 223 ชนิด ในการทดลองใช้พืช 223 ชนิดรวมถึงพืชสกุล *Dioscorea* spp. ได้แก่ *D. bulbifera*, *D. collettii*, *D. nipponica*, *D. opposita* ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay และ Total phenolic content (TPC) ผลการทดสอบพืชทั้ง 223 ชนิด พบว่า พืชสกุล *Dioscorea* spp. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกสูงสุดคือ *D. bulbifera* (FRAP; 468.97 ± 14.95 , TEAC; 379.63 ± 26.29 , TPC; 24.71 ± 0.39) รองลงมาคือ *D. nipponica* (FRAP; 119.48 ± 1.56 , TEAC; 64.81 ± 1.36 , TPC; 5.57 ± 0.21), *D. collettii* (FRAP; 99.22 ± 6.02 , TEAC; 20.53 ± 1.56 , TPC; 2.15 ± 0.08) และน้อยที่สุดคือ *D. opposita* (FRAP; 7.62 ± 0.11 , TEAC; 3.12 ± 0.06 , TPC; 2.71 ± 0.05) ทั้งนี้ในการทดลองพืชสกุล *Dioscorea* spp. ยังไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเมื่อเทียบกับพืช 10 ชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ได้แก่ *S. miltiorrhiza* Bge, *P. multiflorum*, *R. sacra*, *S. cuneata*, *F. rhynchophylla*, *P. persica*, *C. foetida*, *P. lactiflora*, *T. farfara*, และ *S. officinalis* แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการเป็นสารออกซิไดซ์สูงสุดและมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงนอกเหนือจากกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่มีความเป็นพิษต่ำ การทำงานของพืชสมุนไพรทั้งหมดเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ในอุตสาหกรรมอาหารและเภสัชกรรม ในอนาคตสารประกอบเฉพาะที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงควรแยกออกจากพืชเหล่านี้เพื่อให้บริสุทธิ์และเพื่อพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติซึ่งจะใช้เพื่อรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติของออกซิเจน เช่น โรคมะเร็งหลอดเลือดหลอดเลือด โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ และโรคเบาหวาน

Moriya et al. (2015) ทำการศึกษาเรื่อง acylated anthocyanins ชนิดใหม่ *Dioscorea alata* L. และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าสีม่วงของ *D. alata* มีหลากหลายของ acylated anthocyanins ที่มีค่าสูงกว่าระดับสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารประกอบ nonacylated ในการศึกษานี้เมื่อดีสีพบในสีม่วงสีม่วงจาก *D. alata* ถูกแยกและประเมินในแง่ของสารต้านอนุมูลอิสระ ในการวิเคราะห์กิจกรรม anthocyanins acylated พบว่าสามารถดูดซับอนุมูลอิสระออกซิเจนและการตรวจวัดสมรรถนะของสารต่อต้านอนุมูลอิสระด้วย ferric

Dey, Chowdhuri, & Sarkar (2016) เรื่องฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและลักษณะทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากเมทานอลของหัวใต้ดิน *Dioscorea alata* หัวใต้ดินของ *D. alata* L. เป็นอาหารที่ได้รับความ

นิยมและยังใช้ในยาแผนโบราณ โดยเป็นตัวต้านการอักเสบ อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีการใช้ประโยชน์อย่างมากในด้านพฤกษศาสตร์ต่างๆ แต่ยังไม่เคยได้รับการประเมินสำหรับผลของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพใด ๆ นอกจากนี้ยังมีการศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับพิษเคมีด้วย ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงได้ทำการประเมินประเมินความเป็นไปได้ของฤทธิ์ทางระบบภูมิคุ้มกันและลักษณะทางพิษเคมีของ *D. alata* ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากหัวใต้ดินของ *D. alata* (DATE) ช่วยกระตุ้นการตอบสนองภูมิคุ้มกันของสุนัขและปรับเปลี่ยน phagocytosis และฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องของ peritoneal macrophages การเพิ่มขึ้นของระดับ IL-4 และ IL-10 และการควบคุมการทำงานของไนตริกออกไซด์ (NO), IL-2, IFN- γ , TNF- α , ระดับ prostaglandin E2 (PGE2) และ cyclooxygenase (COX) activities ให้หลักฐานเกี่ยวกับศักยภาพในการต้านการอักเสบของมัน มีการระบุและวัดปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายวิธีด้วยวิธีโครมาโตกราฟีและการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ต่อสุขภาพในการบริโภคหัวใต้ดินของ *D. alata*

Mohasin, Das, & Ibrahim, (2018) เรื่องสารต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ การรักษาเสถียรภาพของเมมเบรนและการเกิดลิ้มเลือดของ *Dioscorea hispida* Dennst โดย *D. hispida* เป็นสมุนไพรยืนต้นที่พบในบังคลาเทศและมีการใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับการรักษาโรคข้ออักเสบแผลและผิวหนัง ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อจุลินทรีย์ thrombolytic และการรักษาเสถียรภาพของเมมเบรนของสารสกัดเมธานอลของพืชและสารละลายที่เป็นของเหลวในน้ำ (AQSF), ปีโตรเลียมอีเทอร์ (PETF), ไดคลอโรมีเทน (DCMSF) และคาร์บอนเทออร์คลอไรด์ (CTCSF)

Zhang et al. (2018) เรื่องการแยกและจำแนกสารประกอบฟีนอลิกในมันเทศสีม่วงเงินและการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มันเทศสีม่วง (*Dioscorea alata* L.) ได้รับการตรวจสอบอย่างแพร่หลายในด้านของ ชีวการแพทย์ เกษษุวิทยาและพิษวิทยา โดยสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบทางชีวภาพที่แสดงถึงฤทธิ์ทางชีววิทยาในระดับสูง ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากมันเทศสีม่วงเงิน 7 ชนิด ได้รับการทดสอบด้วยวิธีการ liquid chromatography ที่มีความละเอียดสูงร่วมกับ electrospray ionization mass spectrometry การเปรียบเทียบเวลาในการเก็บรักษาและสเปกตรัมมวลของสารสกัดที่ได้จากการตรวจสอบกับสารมาตรฐานพบว่ามี erulic acid (4) และ sinapic acid (5) นอกจากนี้พบสารประกอบฟีนอลิก 5 ชนิดที่ยังไม่ปรากฏชื่อมาก่อนซึ่งรวมถึงกรด dihydroxybenzoic หนึ่งชนิด (vanillic acid 2 ชนิด) สองชุดของกรด hydroxycinnamic (กรด caffeic 1 และกรด P-coumaric 3) และสองชนิดของแอนโธไซยานิน (quercetin dehydrate, 6 และ kaempferol, 7) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรวมและ DPPH ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งได้รับการประเมินส่วนความเข้มข้นที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงรวม (2.38 มิลลิเมตร) และ DPPH free radical scavenging activity (89.56%)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงาน

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.1.1 เครื่องระเหยสารแบบหมุนได้ภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator)
- 3.1.1.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.1.1.3 เครื่อง UV-Vis spectrophotometer
- 3.1.1.4 เครื่องอ่างน้ำ (Water bath)
- 3.1.1.5 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dryer)
- 3.1.1.6 เครื่องดูดจ่ายสารละลายปิเปต (Micropipette)
- 3.1.1.7 เครื่องแช่เยือกแข็ง – 80% (Deep Freezer)
- 3.1.1.8 เครื่องวัดพีเอช (pH-meter)
- 3.1.1.9 ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tip)
- 3.1.1.10 ปีกเกอร์ (Beaker)
- 3.1.1.11 กระบอกตวง (Cylinder)
- 3.1.1.12 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask)
- 3.1.1.13 กรวยแก้ว (Glass funnel)
- 3.1.1.14 ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
- 3.1.1.15 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
- 3.1.1.16 ขวดบรรจุสารขนาดเล็ก (vial)
- 3.1.1.17 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
- 3.1.1.18 หลอดทดลอง (Test tube)
- 3.1.1.19 หลอดหยด (Dropper)
- 3.1.1.20 กระดาษฟอยด์ (Foil)
- 3.1.1.21 ช้อนตักสาร (Spatula)
- 3.1.1.22 ที่ตั้งหลอดทดลองสแตนเลส (Stainless Test Tube Stand)
- 3.1.1.23 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Microplate Reader)
- 3.1.1.24 ผ้าขาวบาง (Straining cloth)
- 3.1.1.25 กระดาษกรอง (Filter paper)
- 3.1.1.26 กรงเลี้ยงหนู

- 3.1.1.27 ขวดน้ำ
- 3.1.1.28 กล้องจุลทรรศน์
- 3.1.1.29 สไลด์พร้อมกระจกปิดสไลด์
- 3.1.1.30 ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด
- 3.1.1.31 เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (Rotary microtome)
- 3.1.1.32 หม้อหลอมพาราฟิน
- 3.1.1.33 หม้ออุ่นสไลด์ (slide warmer)
- 3.1.1.34 โถแก้วสลบสัตว์
- 3.1.1.35 เข็มฉีดยา ขนาด 23, 21 และ 19 G
- 3.1.1.36 เข็มป้อนขนาด 18 G
- 3.1.1.37 กรรไกรผ่าตัดปลายแหลม
- 3.1.1.38 กรรไกรผ่าตัดปลายมน
- 3.1.1.39 คีมจับเข็มและตัดไหม
- 3.1.1.40 คีมจับเนื้อเยื่อแบบธรรมดา
- 3.1.1.41 ไซริงค์ (syringe) ขนาด 3,5,10 ml

3.1.2 สารเคมี

- 3.1.2.1 น้ำกลั่น (Distilled water)
- 3.1.2.2 เอทานอล (Ethanol, C_2H_5OH)
- 3.1.2.3 เมทานอล (Methanol, CH_3OH)
- 3.1.2.4 คลอโรฟอร์ม (Chloroform, $CHCl_3$)
- 3.1.2.5 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid, H_2SO_4)
- 3.1.2.6 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl)
- 3.1.2.7 กรดแกลเซียลแอซิดิก (Glacial acetic acid, CH_3COOH)
- 3.1.2.8 แอมโมเนีย (Ammonia, NH_3)
- 3.1.2.9 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Na_2CO_3)
- 3.1.2.10 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, $NaOH$)
- 3.1.2.11 โซเดียมฟอสเฟต (sodium phosphate tribasic dodecahydrate, $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$)
- 3.1.2.12 เฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride, $FeCl_3$)
- 3.1.2.13 อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (Aluminium trichloride, $AlCl_3$)
- 3.1.2.14 ลวดแมกนีเซียม (Mg ribbon)

- 3.1.2.15 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)
- 3.1.2.16 กรดแกลลิก (Gallic acid)
- 3.1.2.17 วิตามินซี (Ascorbic acid)
- 3.1.2.18 เคอร์ซีติน (Quercetin)
- 3.1.2.19 อคาร์โบส (Acarbose)
- 3.1.2.20 น้ำยาทดสอบดราเจนดอร์ฟ (Dragendroff's reagent)
- 3.1.2.21 น้ำยาทดสอบฟอลินซีโอแคลตู (Folin-Ciocalteu reagent)
- 3.1.2.22 เอ็นไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase)
- 3.1.2.23 p -nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNP-G)
- 3.1.2.24 Pentobarbital sodium
- 3.1.2.25 Xylene
- 3.1.2.26 FeSo₄
- 3.1.2.27 TPTZ (2,4,6-tripyridyl- striazine)
- 3.1.2.28 Paraplast
- 3.1.2.29 สีย้อม Haematoxylin และ Eosin
- 3.1.2.30 Cyanidin-3-O-glucoside
- 3.1.2.31 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride, KCl)
- 3.1.2.32 โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate, CH₃COONa)
- 3.1.2.33 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase)

3.2 การเก็บตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างทั้งเครือของมันเสาในวันที่ 2 มีนาคม 2561 จากอำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประเทศไทย แล้วนำมาตรวจสอบระบุชื่อวิทยาศาสตร์ ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานจากตัวอย่างอ้างอิงของมันเสา (Khunwong CH.001) โดยเก็บไว้ที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา SC1-309 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

3.3 วิธีเตรียมสารสกัด

- 3.3.1 นำมันเสา มาล้างทำความสะอาด แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วทำให้แห้งด้วยตู้อบความร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- 3.3.2 นำมันเสามาหมักด้วยเอทานอล 95% โดยใช้อัตราส่วน 2:10 ผงมันเสา 200 กรัมต่อแอลกอฮอล์ 95% 1000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องแล้วนำมากรอง
- 3.3.3 นำสารที่กรองไปสกัดด้วย เครื่องระเหยสาร (Rotary evaporator)

3.3.4 นำสารสกัดที่ได้ไป freeze dry ให้แห้ง เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป (Atsukwei et al., 2015)

$$\% \text{yield} = (\text{Weight of crude extract}) / (\text{Weight of dried plant}) \times 100$$

3.4 การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของมันเสา

3.4.1 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

ตรวจสอบหาสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอลจากหัวมันเสา แบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ออกเป็น 8 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ แอนทราควิโนน แทนนิน ซาโปนิน สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน (Ayoola et al., 2008) ดังนี้

3.4.1.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์ (alkaloids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำละลาย 10% H_2SO_4 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าและนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปหยดสารละลายดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด เขย่าถ้าปรากฏตะกอนสีส้มแดง แสดงว่าพบ แอลคาลอยด์

3.4.1.2 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า และกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 1 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม แสดงว่าพบ ฟลาโวนอยด์

3.4.1.3 การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า และกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบ เทอร์ปีนอยด์

3.4.1.4 การตรวจสอบแอนทราควิโนน (anthraquinones)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำละลาย 10% H_2SO_4 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปเติมน้ำละลายแอมโมเนีย (10% NH_3) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีชมพูแดงเกิดขึ้น แสดงว่าพบ แอนทราควิโนน

3.4.1.5 การตรวจสอบแทนนิน (tannins)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ

(water bath) 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) เติมสารละลาย เฟอร์ริกคลอไรด์ (1% FeCl_3) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำ หรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบ แทนนิน

3.4.1.6 การตรวจสอบซาโปนิน (saponins)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที เขย่าอย่างแรง ถ้าปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้น แสดงว่าพบ ซาโปนิน

3.4.1.7 การตรวจสอบสเตียรอยด์ (steroids)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมกลacial acetic (Glacial acetic) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) จำนวน 3 หยด ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียว แสดงว่าพบ สเตียรอยด์

3.4.1.8 การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycosides)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) เติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (1% FeCl_3) จำนวน 5 หยด เขย่า เติมกลacial acetic (Glacial acetic) จำนวน 5 หยด เขย่า และค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์

3.4.2 การตรวจสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมตามวิธีการของ Basma (Basma, Zakaria, Latha, & Sasidharan, 2011) นำสารสกัดหุ้มเมล็ดเสมาละลายในเอทานอล 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 10% 500 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7.5% (w/v) 800 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารตัวอย่างและสารมาตรฐานตั้งแต่ 50-1,000 ไมโครกรัม/ลิตร และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดกลลิก

3.4.3 การตรวจสอบหาฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoids Content)

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium trichloride (AlCl_3) colorimetric ดัดแปลงจากวิธีของ พัชรีและรุ่งเพ็ชร (2559) (พัชรี บุญศิริ และรุ่งเพ็ชร ตั้งรัศมีประเสริฐ, 2559) นำสารละลายสารสกัดหยาบเอทานอล 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 5% NaNO_2 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติม 10% AlCl_3 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที หลังจากนั้นเติม 1 M NaOH ปริมาตร 500

ไมโครลิตร และปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 2 ml ด้วยน้ำกลั่น แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดหาได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐาน ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม

3.4.4 การตรวจสอบหาแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH-differential method โดยดัดแปลงตามวิธีการของ Lee et al. (2005) โดยนำสารสกัดหุ้มเมล็ด 0.5 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง 2 หลอด หลอดที่ 1 เติมน้ำละลาย potassium chloride buffer ที่มีค่า pH 1.0 ปริมาตร 4.5 มิลลิกรัม หลอดที่ 2 เติมน้ำละลาย sodium acetate buffer ที่มีค่า pH 4.5 ปริมาตร 4.5 มิลลิกรัม ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 510 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินตามวิธีของ Chaovanalikit (2011) ซึ่งมีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของสารสกัดหุ้มเมล็ด

$$\text{Monomeric anthocyanin (mg/liter)} = (A \times MW \times DF \times 1000)/(f \times 1)$$

$$\text{โดยที่ } A = (A_{\lambda_{\text{vis max}}} - A_{510})_{\text{pH 1.0}} - (A_{\lambda_{\text{vis max}}} - A_{700})_{\text{pH 4.5}}$$

= (ค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น สูงสุดของตัวอย่างที่ใส่สารละลาย บัฟเฟอร์ pH 1.0 – ค่าการดูดกลืนความยาวคลื่นที่ 700 นาโนเมตรของตัวอย่างที่ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0) – (ค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นสูงสุดของตัวอย่างที่ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.5 – ค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นที่ 700 นาโนเมตร ของตัวอย่างที่ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.5)

MW = มวลโมเลกุล

DF = Dilution factor (ถ้าใช้ตัวอย่าง 0.2 มิลลิกรัม เจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์จนมีปริมาตร เป็น 3 มิลลิกรัม ใช้ค่า DF เท่ากับ 15) = โมลาร์แอบซอร์บติวิตี (Molar absorptivity)

ค่านี้จะขึ้นกับชนิดของแอนโทไซยานินและตัวทำละลาย โดยทั่วไปมักใช้ค่าของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (Cyanidin-3-glucoside) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 ซึ่งเท่ากับ $26,900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

3.4.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.4.5.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay (Ayoola et al., 2008) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Vitamin C ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม และเตรียมสารสกัดหุ้มเมล็ดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมในเอทานอล นำสารสกัดจากที่เตรียมข้างต้น จำนวน 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำละลาย DPPH 1,800 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าทุกหลอด

รวมทั้งหลอดควบคุม และมี Vitamin C เป็นสารมาตรฐาน คำนวณค่า % Radical scavenging activity และค่า IC₅₀ ใช้สูตรคำนวณ % Radical scavenging ดังนี้

$$\% \text{ Radical scavenging} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เมื่อเติมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน

3.4.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (ดัดแปลงจาก

Benzie และ Strain (Benzie & Strain, 1996) ปิเปตสารละลาย FRAP ปริมาตร 950 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง เติมสารสกัดห้วมันเสาทีทำการเจือจางแล้วปริมาตร 50 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากัน เก็บในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร สารมาตรฐานทำเช่นเดียวกันกับสารสกัดห้วมันเสา โดยใช้ความเข้มข้นของสารตัวอย่างและสารมาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยหาค่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กโดยมีหน่วยเป็นมิลลิโมลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด (mmole FeSo₄/g d.wt.extract)

3.4.6 การทดสอบการยับยั้งแอลฟาอะไมเลส

ทำการชั่งแป้งมันฝรั่ง 100 มิลลิกรัมใน 5 มิลลิลิตรของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 จากนั้นต้มให้ละลาย รอให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เตรียมสารสกัดห้วมันเสา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายแป้ง 50 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มไว้ 5 นาทีที่ 37 องศาเซลเซียส เติม 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของแอลฟาอะไมเลส 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย 1 โมลาร์ของกรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติม สารละลายไอโอดีน 50 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร (Luyen et al., 2013)

3.4.5 การทดสอบการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส

การทดสอบการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส ดัดแปลงจาก Wongsas (Wongsas, Chaiwarit, & Zamaludien, 2012) โดยนำสารสกัดห้วมันเสา 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารสกัดห้วมันเสา 0.1 กรัมละลายใน DMSO 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารสกัด 100 ไมโครลิตร เติมสารละลายไนโตรฟีนอล-แอลฟาดีกลูโคไพราโนไซด์ (p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) ในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9 ที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมสารละลายแอลฟาไกลูโคซิเดส ปริมาตร 0.1 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติม 1M Na₂CO₃ 1,000 ไมโครลิตรทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

ในการหาค่า IC_{50} ของกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสนั้น ทำได้โดยการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดที่ 0.01-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการคำนวณเป็นร้อยละของกิจกรรมเอนไซม์ เท่ากับ $[(ABS_{blank} - ABS_{sample})/ABS_{blank}] \times 100$ โดยใช้อะคาร์โบส (acarbose) เป็นตัวควบคุมบวก

3.5 การศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล

3.5.1 การทดสอบสารสกัดในสัตว์ทดลอง

ขั้นตอนการดำเนินการใช้สัตว์ทดลองได้ผ่านการอนุมัติจริยธรรมโดยมีหมายเลขจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลองคือ A-5/2562

3.5.1.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้หนูทดลองเพศเมีย หนูสายพันธุ์ Wistar Rat น้ำหนัก 200-250 กรัม ชื้อจากอาคารสัตว์ทดลองศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียส วงจรแสง 12 ชั่วโมงต่อความมืด 12 ชั่วโมง และที่ความชื้นสัมพัทธ์ 40-60% หนูทดลองจะได้รับอาหารและน้ำมาตรฐานเป็นเวลา 7 วัน ก่อนที่จะเริ่มการทดลอง

3.5.1.2 การผ่าตัดรังไข่หนู

สำหรับการทดลองนี้จะนำสัตว์ทดลองจากการทดลองที่ 3.5.1.1 มาทำการผ่าตัดรังไข่ (ovariectomy) ออกทั้งสองข้างเพื่อให้สัตว์ทดลองอยู่ในสภาวะหมดประจำเดือน (menopause) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Fahmy (Fahmy et al., 2017) ยกเว้นกลุ่มควบคุมและกลุ่มผ่าตัดลอกจะไม่ได้รับการผ่าตัดรังไข่ โดยมีขั้นตอนการผ่าตัดรังไข่ดังนี้

- 1) ชั่งน้ำหนักหนูและทำสัญลักษณ์ไว้บริเวณหางของหนู
- 2) ฉีดยาสลบ Pentobarbital sodium ขนาด 50 มก./กก. เข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal injection, i.p.)
- 3) เมื่อหนูสลบ นำหนูมาโกนขนบริเวณด้านข้างลำตัวใต้กระดูกซี่โครงซี่สุดท้ายทั้งสองข้าง
- 4) ใช้สำลีชุบ 70% แอลกอฮอล์เช็ดทำความสะอาดผิวหนังให้ทั่วบริเวณที่จะผ่าตัดและเช็ดเบตาดีนทาทั่วบริเวณที่จะผ่าตัดอีกครั้ง
- 5) เปิดหน้าท้องโดยผ่าชั้นผิวหนังก่อนแล้วจึงผ่าชั้นกล้ามเนื้อประมาณ 1-2 ซม.
- 6) ดึงเอารังไข่ออกมาเพื่อมัดเส้นเลือดบริเวณที่ใกล้กับรังไข่ โดยมัดได้รังไข่และได้มดลูก เพื่อไม่ให้เส้นเลือดแตกเวลาตัด ทำการตัดรังไข่ทั้ง 2 ข้างออก
- 7) นำเอาอวัยวะกลับเข้าช่องท้องเหมือนเดิม แล้วทำการเย็บปิดแผล โดยเย็บชั้นกล้ามเนื้อด้วยไหมละลายก่อน แล้วจึงเย็บชั้นผิวหนังด้วยไหมธรรมดา
- 8) ทาเบตาดีนเพื่อรักษาบาดแผล แล้วจึงใช้ผ้าก๊อชสเตอร์ไรด์ปิดแผลอีกครั้ง

9) นำหนูไปพักพื้นที่เบาหรือนอนด้วยอุณหภูมิประมาณ 30-40 องศาเซลเซียส หนัมน้ำปัสสาวะด้วยยาปัสสาวะและหนัมน้ำเปลี่ยนท่านอนให้หนูตลอดเพื่อไม่ให้ได้รับความร้อนเกินไป

10) ฝ้าสังเกตการเปลี่ยนแปลง หากหนูรู้สึกตัวแล้ว จึงนำกลับเข้ากรงได้เหมือนเดิม

3.5.1.3 การเหนี่ยวนำหนูให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

หลังจากการผ่าตัดรังไข่และพักสัตว์ทดลองเป็นเวลา 2 อาทิตย์ จะทำการเหนี่ยวนำหนูให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ดัดแปลงวิธีการจาก Fahmy (Fahmy et al., 2017) ให้สัตว์ทดลองกินอาหารไขมันสูงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ โดยอาหารไขมันสูงเตรียมจาก การเติมน้ำตาลซูโครส 20% (w / w) และ ไขมันสัตว์ 10% (w / w) ลงในอาหารมาตรฐาน แล้วตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือด สัตว์ทดลองด้วยเครื่อง glucometer โดย Fasting plasma glucose (FPG) \geq 126 มก/ดล. (อดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง นำมาแบ่งกลุ่มการทดลอง

3.5.1.4 แบ่งกลุ่มการทดลอง

กลุ่มที่ 1 หนูผ่าหลอก (Sham control)

กลุ่มที่ 2 หนูตัดรังไข่ (OVX control)

กลุ่มที่ 3 หนูผ่าหลอกและถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 (DM)

กลุ่มที่ 4 หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 (OVX+DM)

กลุ่มที่ 5 หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และได้รับสารสกัดห้วมันเสา 500 มิลลิกรัมต่อกิโกรัม น้ำหนักตัว (500 *D. alata*)

กลุ่มที่ 5 หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และได้รับสารสกัดห้วมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโกรัม น้ำหนักตัว (1,000 *D. alata*)

กลุ่มที่ 7 หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และ metformin 250 มิลลิกรัมต่อกิโกรัม น้ำหนักตัว (Metformin)

กลุ่มที่ 8 หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และได้รับ 17 β -estradiol 1 มิลลิกรัมต่อกิโกรัม น้ำหนักตัว (17 β -estradiol)

หลังจากแบ่งกลุ่มการทดลองทำการเลี้ยงหนูโดยให้อาหารมาตรฐานและน้ำปกติและป้อนสารสกัดห้วมันเสาที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโกรัม น้ำหนักตัว ยา metformin ขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโกรัม น้ำหนักตัว และ 17 β -estradiol ขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโกรัม น้ำหนักตัว ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร เวลา 10.00 เป็นเวลา 30 วัน

3.5.1.5 ชั่งน้ำหนักตัวและวัดระดับน้ำตาลในเลือด

ชั่งน้ำหนักตัว และวัดระดับน้ำตาลในเลือดทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ หรือ

30 วันโดยอดอาหารหนูเป็นเวลา 8-10 ชั่วโมงจากนั้นทำการเจาะเลือดที่หางของหนูและนำเลือดไปวัดด้วยเครื่องตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือด (glucometer)

3.5.1.6 การเก็บตัวอย่างเลือดและการวิเคราะห์หาค่าอินซูลินในซีรัม

หลังทำการทดลองเป็นเวลา 30 วัน จะทำการุณยฆาต (euthanasia) หนูทดลองโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) เก็บตัวอย่างเลือดโดยดูดเลือดจากหัวใจบรรจุเลือดใส่หลอดสำหรับเก็บเลือด เพื่อนำเลือดไปวิเคราะห์หาค่าอินซูลินในซีรัม โดยมีขั้นตอนดังนี้ เก็บตัวอย่างเลือดปริมาณ 1.5 มิลลิลิตรไว้ในหลอดเลือดแดงฮีโมโกลิต (Hirschmann Laborgerate GmbH & Co. KG, Eberstadt, Germany) และนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 นาที จะได้ชั้นของซีรัมและตะกอนลิ่มเลือด นำตัวอย่างซีรัมมาวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA โดยใช้ชุดทดสอบ Rat Insulin ELISA Kit (Crystal Chemistry) (สุภาพร สกลใจตรง, 2560)

3.5.1.7 การศึกษาน้ำหนักตับอ่อน

การศึกษาน้ำหนักตับอ่อนที่ตัดจากหนูภายหลังการได้รับสารสกัดหุ้มไขมันเสาคขนาด 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว 17 β -estradiol 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ได้รับ metformin 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เก็บตับอ่อนหลังสิ้นสุดการทดลองนำไปชั่งน้ำหนักและนำมาหาปริมาณน้ำหนักสัมพัทธ์เพื่อเปรียบเทียบผลระหว่างกลุ่มโดยคำนวณจากสูตรดังนี้

$$\text{น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ} = \frac{\text{น้ำหนักอวัยวะ}}{\text{น้ำหนักตัวสุดท้าย}} \times 100$$

3.5.1.8 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของตับอ่อน

นำเนื้อเยื่อตับอ่อนที่ฟิกในฟอมาลีน 10 เปอร์เซ็นต์มาตัดใส่ embedding cassette จากนั้นนำไปล้างผ่านน้ำไหลแล้วนำไปใส่ในเครื่องเตรียมชิ้นเนื้อ 24 ชั่วโมง เพื่อดึงน้ำออกจากตัวอย่างโดยใช้ Ethyl alcohol จากความเข้มข้นต่ำ (70%) ไปสูง (100%) จากนั้นนำไปหลอมพาราฟิน ทำการตัดชิ้นเนื้อด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อแบบกึ่งอัตโนมัติ (Microtome) ขนาด 0.5 ไมครอน และย้อมด้วยสี Hematoxylin และ eosin จากนั้นนำไปทำเป็นสไลด์ถาวรและนำไปตรวจหาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาภายใต้แสงจากกล้องจุลทรรศน์ โดยการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับอ่อนจะสังเกตได้จากรูปร่างของไอเลสออฟลองเกอฮาน (Asgary et al., 2008)

3.6 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนิก

3.6.1 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนิกต่อน้ำหนักมดลูกหนูโดยวิธี Uterotrophic assay ในหนูแรทเพศเมีย

การศึกษากฤทธิ์เอสโตรเจนิกของสารสกัดหุ้มไขมัน โดยดูผลจากการกระตุ้นให้มดลูกของหนูตั้งครรภ์ไม่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขนาด ซึ่งจะให้น้ำหนักมดลูกเพิ่มขึ้นด้วย การศึกษานี้จึงใช้การเพิ่ม

น้ำหนักของมดลูกเป็นดัชนีชี้วัด โดยมีการศึกษาน้ำหนักมดลูกและการศึกษาพื้นที่หน้าตัดมดลูก (วิจัย เชิดชีวิตศาสตร์, 2552)

3.6.1.1 การศึกษาน้ำหนักมดลูก ช่องคลอด และเต้านม

สำหรับการทดลองนี้จะเก็บตัวอย่างหลังจากการทดลอง 3.5 เพื่อเป็นการลดจำนวน การใช้สัตว์ทดลองตามหลัก 3R เก็บมดลูก ช่องคลอด และเต้านม หลังสิ้นสุดการทดลองนำไปชั่งน้ำหนักและนำมาหาปริมาณน้ำหนักสัมพัทธ์เพื่อเปรียบเทียบผลระหว่างกลุ่มโดยคำนวณจากสูตรดังนี้

$$\text{น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ} = \text{น้ำหนักอวัยวะ} / \text{น้ำหนักตัวสุดท้าย} \times 100$$

3.6.1.2 การศึกษาพื้นที่หน้าตัดมดลูก

นำเนื้อเยื่อมดลูกที่ฟีกในฟอมาลีน 10 เปอร์เซ็นต์มาตัดใส่ embedding cassette จากนั้นนำไปล้างผ่านน้ำไหลแล้วนำไปใส่ในเครื่องเตรียมชิ้นเนื้อ 24 ชั่วโมง เพื่อดึงน้ำออกจากตัวอย่าง โดยใช้ Ethyl alcohol จากความเข้มข้นต่ำ (70%) ไปสูง (100%) จากนั้นนำไปหลอมพาราฟิน ทำการตัดชิ้นเนื้อด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อแบบกึ่งอัตโนมัติ (Microtome) ขนาด 0.5 ไมครอน และย้อมด้วยสี Hematoxylin และ eosin ทำการถ่ายรูปสไลด์มดลูกที่กำลังขยาย 40 เท่า โดยจำแนกชั้น เยื่อบุโพรงมดลูก (endometrium) ชั้นกล้ามเนื้อ (myometrium) คำนวณพื้นที่หน้าตัดของโครงสร้างย่อยโดยโปรแกรม Image-pro express program version 2 (Media Cybernetics, Inc. USA)

3.7 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

3.7.1 สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ร้อยละ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน Standard Error Means (SEM)

3.7.2 สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐานได้แก่ One –Way ANOVA (One-way analysis of variance)

3.7.3 เมื่อพบว่าผลการตรวจสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

3.7.4 คำนวณค่าสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

พหุ ประถมศึกษา

บทที่ 4

ผลการดำเนินงาน

4.1 ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดห้วมันเสา (percent yield)

การสกัดห้วมันเสาด้วยวิธีการหมัก (maceration) โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 2 ต่อ 10 โดยใช้ผงแห้งห้วมันเสา 200 กรัม ต่อ เอทานอล 95% 1,000 มิลลิลิตร ทำการหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปสกัดด้วยเครื่องระเหยสารและนำไป freeze dry ให้แห้งและหาปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดห้วมันเสา พบว่า ผงแห้งห้วมันเสา 1,000 กรัม ได้สารสกัด 28.3 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิตของสารสกัดได้ 2.83 กรัมผลผลิตต่อ 100 กรัมของผงแห้งห้วมันเสา แสดงในตารางที่ 2

4.2 การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของมันเสา

4.2.1 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

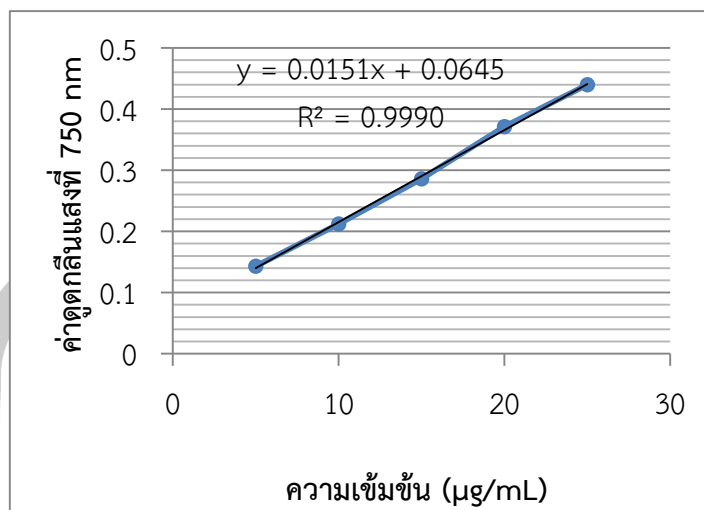
การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดห้วมันเสา ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ ตรวจสอบพบสารพฤกษเคมี คือ เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ แอลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์

4.2.2 การตรวจสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดห้วมันเสา วิเคราะห์โดยใช้สารละลายกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Basma et al. (2011) ได้สมการกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก $y = 0.0151x + 0.0629$ ($R^2 = 0.9990$) แสดงในภาพประกอบ 3 ในการทดสอบใช้ความเข้มข้นของสารสกัดห้วมันเสาที่ 50 100 250 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสมการไปคำนวณเพื่อหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และรายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mgGAE.g⁻¹) พบว่า สารสกัดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคิดเป็น 310.30 ± 0.39 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม แสดงในตารางที่ 2

ตาราง 2 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีและปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดห้วมันเสา

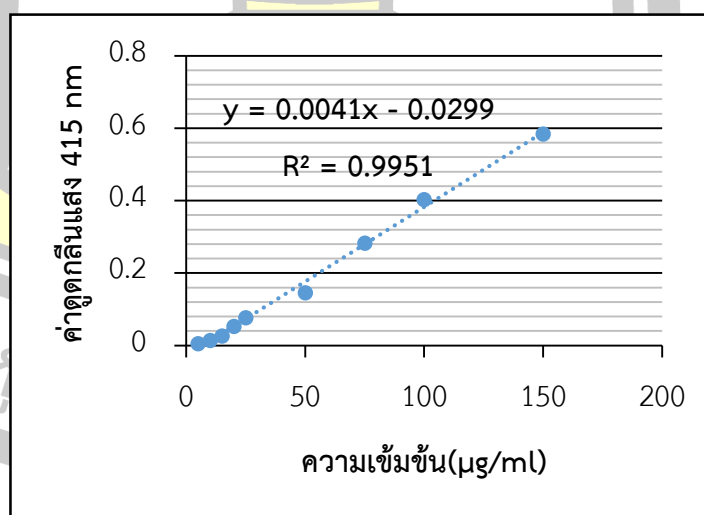
สารสกัด	ปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้	ปริมาณฟีนอลิกรวม	ปริมาณหาฟลาโวนอยด์รวม	ปริมาณแอนโทไซยานิน
		mgGAE.g ⁻¹	mgQE.g ⁻¹	µg/ml
ห้วมันเสา	2.83 %	310.30 ± 0.39	323.05 ± 3.92	10.26 ± 1.34



ภาพประกอบ 3 แสดงกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

4.2.3 การตรวจสอบหาฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหัวมันเสา Aluminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric ดัดแปลงจากวิธีของ พัชรีและรุ่งเพ็ชร (2559) ได้สมการกราฟมาตรฐานเคอเซอิติน $y = 0.0041x - 0.0299$ ($R^2 = 0.9951$) แสดงในภาพประกอบ 4 ในการทดสอบใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหัวมันเสาที่ 50 -1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสมการไปคำนวณเพื่อหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และรายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอเซอิตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mgQE.g⁻¹) พบว่า สารสกัดมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดคิดเป็น 323.05 ± 3.92 มิลลิกรัมสมมูลของเคอเซอิตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม แสดงในตารางที่ 2



ภาพประกอบ 4 แสดงกราฟมาตรฐานเคอวิติน (Quercetin)

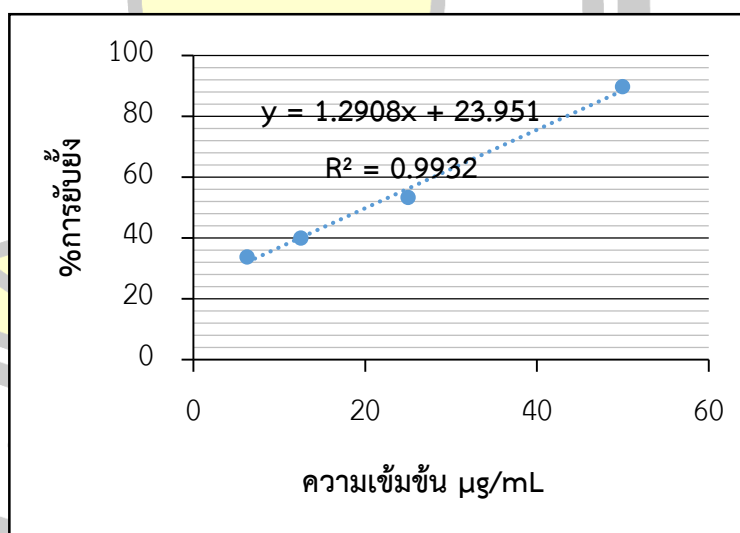
4.2.4 การตรวจสอบหาปริมาณแอนโทไซยานิน

การหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหัวมันเสา วิเคราะห์โดยใช้สารละลาย cyanidin-3-glucoside เป็นสารมาตรฐาน ในการทดสอบใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหัวมันเสาที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสมาการไปคำนวณเพื่อหาปริมาณแอนโทไซยานินและรายงานในหน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สารสกัดมีปริมาณแอนโทไซยานินคิดเป็น 10.26 ± 1.34 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตรแสดงในตารางที่ 2

4.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.2.3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

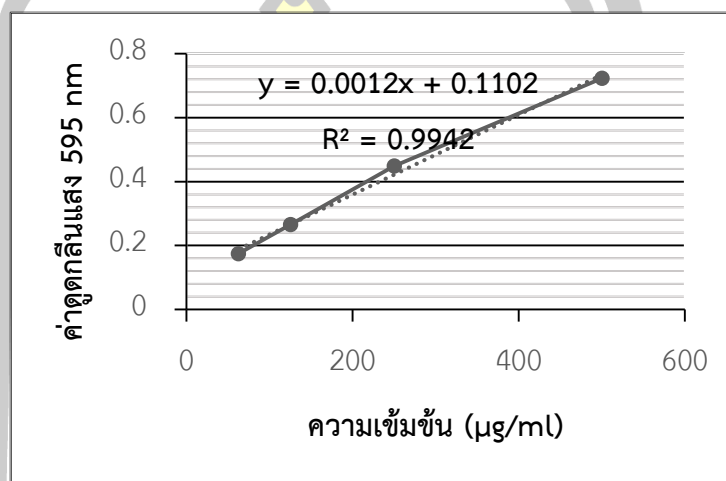
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging จากกราฟของ สารละลายมาตรฐาน (L-Ascorbic acid) ที่มีสมการเส้นตรงคือ $y = 1.2908x + 23.951$ ($R^2 = 0.9932$) แสดงในภาพประกอบ 5 จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากมันเสามีความสามารถต้าน ออกซิเดชันร้อยละ 86.23 ± 0.20 และค่าความเข้มข้นของสารสกัดมีความสามารถในการต้าน ออกซิเดชันร้อยละ 50 (IC_{50}) คือ 4.95 ± 0.37 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสาร มาตรฐาน ซึ่งมีความสามารถต้านออกซิเดชันร้อยละ 78.24 ± 0.13 และมีค่าการยับยั้ง 50 % (IC_{50}) คิดเป็น 20.18 ± 0.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหัวมันเสามี ความสามารถต้านออกซิเดชันได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน แตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$



ภาพประกอบ 5 แสดงกราฟมาตรฐานวิตามินซี (L-Ascorbic acid)

4.2.3.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) จากกราฟของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate) ที่มีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.0012x + 0.1102$ ($R^2 = 0.9942$) แสดงในภาพประกอบ 5 จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากมันเสามีความสามารถต้านออกซิเดชันเท่ากับ 61.27 ± 5.02 mmol FeSO_4 ต่อกรัมสารสกัดหุ้มมันเสแห่ง



ภาพประกอบ 6 แสดงกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต

4.2.4 การทดสอบการยับยั้งแอลฟาอะไมเลส (Inhibition- α -amylase assay)

จากตารางที่ 4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส พบว่า สารสกัดจากหุ้มมันเสามีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส 53.49 ± 0.21 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ร้อยละ 50 (IC_{50}) 1250.44 ± 6.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสเท่ากับร้อยละ 48.46 ± 0.16 และมีค่าการยับยั้ง 50% (IC_{50}) คิดเป็น 1475.71 ± 7.10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหุ้มมันเสสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้มากเมื่อเปรียบเทียบกับอะคาร์โบส แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$

4.2.5 การทดสอบการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส (Inhibition- α -glucosidase assay)

จากตารางที่ 4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส พบว่า สารสกัดจากหุ้มมันเสามีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส 68.18 ± 0.36 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ร้อยละ 50 (IC_{50}) 401.52 ± 0.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับร้อยละ 75.80 ± 0.25 และมีค่าการยับยั้ง 50 % (IC_{50}) คิดเป็น 327.56 ± 4.98 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหัวมันเสาสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับอะคาร์โบส แต่ต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$

ตาราง 3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ FRAP

Plant material	DPPH		FRAP
	%inhibition	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	FRAP value (mM/g d.wt extract)
<i>D. alata</i>	86.23 ± 0.20^a	4.90 ± 2.50^a	61.27 ± 5.02
Vitamin C	78.24 ± 0.13^b	20.18 ± 0.15^b	NA

หมายเหตุ ค่าที่มีอักษร a และ b ตามแนวตั้ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตาราง 4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดส

หมายเหตุ ค่าที่มีอักษร a และ b ตามแนวตั้ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Plant material	α -glucosidase		α -amylase	
	%inhibition	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	%inhibition	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
<i>D. alata</i>	68.18 ± 0.36^a	401.52 ± 0.54^a	53.49 ± 0.21^a	1250.44 ± 6.32^a
Acarbose	75.80 ± 0.25^b	327.56 ± 4.98^b	48.46 ± 0.16^b	1475.71 ± 7.10^b

4.3 การศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล

4.3.1 การศึกษาน้ำหนักตัว

ตารางที่ 5 การศึกษาผลของหนูตัดรังไข่ที่เหนียวนำไปเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาน้ำหนักตัวเริ่มต้นของหนูทุกกลุ่มคือ หนูผ่าหลอก, หนูตัดรังไข่, หนูผ่าหลอกที่ถูกเหนียวนำไปเป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนียวนำไปเป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนียวนำไปเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนียวนำไปเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนียวนำไปเป็น

เบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (270.50 ± 5.99 , 280.16 ± 4.60 , 268.83 ± 6.85 , 295.00 ± 7.32 , 288.17 ± 9.45 , 288.00 ± 6.56 , 288.67 ± 9.85 , 288.83 ± 8.91 ตามลำดับ)

ส่วนน้ำหนักตัวสุดท้ายของหนูทุกกลุ่มมีค่าน้ำหนักตัวสุดท้ายคือ หนูผ่าหลอด, หนูตัดรังไข่, หนูผ่าหลอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (274.17 ± 8.28 , 298.33 ± 7.69 , 244.66 ± 2.71 , 255.830 ± 2.18 , 272.50 ± 5.99 , 278.17 ± 6.84 , 283.83 ± 6.74 , 267.00 ± 2.44 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าหนูทดลองทั้ง 8 กลุ่มมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นไม่แตกต่างกัน แต่พบว่าน้ำหนักตัวสุดท้ายของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลุ่มหนูผ่าหลอดที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และ หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

4.3.2 การศึกษาาระดับน้ำตาลในเลือด

ตารางที่ 5 การศึกษาผลของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาาระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทุกกลุ่มคือ หนูผ่าหลอด, หนูตัดรังไข่, หนูผ่าหลอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (92.00 ± 1.54 , 96.00 ± 2.17 , 158.50 ± 1.97 , 166.33 ± 3.91 , 142.22 ± 2.53 , 114.00 ± 5.40 , 119.00 ± 5.46 , 137.50 ± 6.34 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลุ่มหนูผ่าหลอดที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และ หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

ตาราง 5 ผลของสารสกัดหุ้มมันเส้าต่อน้ำหนักตัว ระดับน้ำตาลในเลือดและน้ำหนักสัมพัทธ์ตับอ่อน

a,b,c,dแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกันในคอลัมน์ Mean \pm S.E.M

กลุ่ม	น้ำตาลในเลือด (mg/dl)	อินซูลินในซีรัม (ng/ml)	น้ำหนักตัว (g)		น้ำหนักสัมพัทธ์ ตับอ่อน (%)
			เริ่มต้น	สิ้นสุด	
Sham	92.00 \pm 1.54 ^a	3.40 \pm 0.02 ^d	270.50 \pm 5.99 ^a	274.17 \pm 8.28 ^c	0.29 \pm 0.00 ^a
OVX	96.00 \pm 2.17 ^a	2.48 \pm 0.02 ^c	280.16 \pm 4.60 ^a	298.33 \pm 7.69 ^d	0.30 \pm 0.00 ^a
Sham+DM	158.50 \pm 1.97 ^d	0.31 \pm 0.02 ^b	268.83 \pm 6.85 ^a	244.66 \pm 2.71 ^a	0.24 \pm 0.00 ^d
OVX+DM	166.33 \pm 3.91 ^d	0.30 \pm 0.02 ^b	295.00 \pm 7.32 ^a	255.830 \pm 2.18 ^{ab}	0.26 \pm 0.01 ^c
500 <i>D.alata</i>	142.22 \pm 2.53 ^{cd}	0.29 \pm 0.00 ^b	288.17 \pm 9.45 ^a	272.50 \pm 5.99 ^{bc}	0.26 \pm 0.00 ^c
1000 <i>D.alata</i>	114.00 \pm 5.40 ^b	2.50 \pm 0.01 ^c	288.00 \pm 6.56 ^a	278.17 \pm 6.84 ^c	0.27 \pm 0.00 ^b
Metformin	119.00 \pm 5.46 ^b	3.41 \pm 0.02 ^d	288.67 \pm 9.85 ^a	283.83 \pm 6.74 ^{cd}	0.30 \pm 0.00 ^a
17 β -estradiol	137.50 \pm 6.34 ^{cd}	0.22 \pm 0.00 ^a	288.83 \pm 8.91 ^a	267.00 \pm 2.44 ^{bc}	0.26 \pm 0.01 ^c

4.3.3 การศึกษาน้ำหนักตับอ่อน

ตารางที่ 5 การศึกษาผลของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาน้ำหนักตับอ่อนของหนูทุกกลุ่มคือ หนูผ่าหลอด, หนูตัดรังไข่, หนูผ่าหลอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17 β -estradiol (0.29 \pm 0.00, 0.30 \pm 0.00, 0.24 \pm 0.00, 0.26 \pm 0.01, 0.26 \pm 0.00, 0.27 \pm 0.00, 0.30 \pm 0.00, 0.26 \pm 0.01 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าน้ำหนักตับอ่อนของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลุ่มหนูผ่าหลอดที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และ หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

4.3.4 การวิเคราะห์หาค่าอินซูลินในซีรัม

ตารางที่ 5 การศึกษาผลของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาระดับอินซูลินในซีรัมของหนูทุกกลุ่มคือ หนูผ่าหลอด, หนูตัดรังไข่, หนูผ่าหลอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัด

หัวมันเสา 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (3.40 ± 0.02 , 2.48 ± 0.02 , 0.31 ± 0.02 , 0.30 ± 0.02 , 0.29 ± 0.00 , 2.50 ± 0.01 , 3.41 ± 0.02 , 0.22 ± 0.00 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าระดับอินซูลินในเซรัมของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มหนูผ่าหลอดที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และ หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

4.3.5 การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคตับอ่อน

4.3.5.1 ขนาดไอเลสอพลองเกอฮาน (islets of Langerhans) ในตับอ่อน

จากตารางที่ 6 การศึกษาผลของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาขนาดไอเลสอพลองเกอฮานของหนูทุกกลุ่มคือ หนูผ่าหลอด, หนูตัดรังไข่, หนูผ่าหลอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (768.49 ± 20.53 , 811.44 ± 11.14 , 379.13 ± 14.78 , 437.99 ± 9.41 , 359.69 ± 27.51 , 672.20 ± 10.57 , 710.85 ± 14.90 , 470.79 ± 21.88 ตามลำดับ)

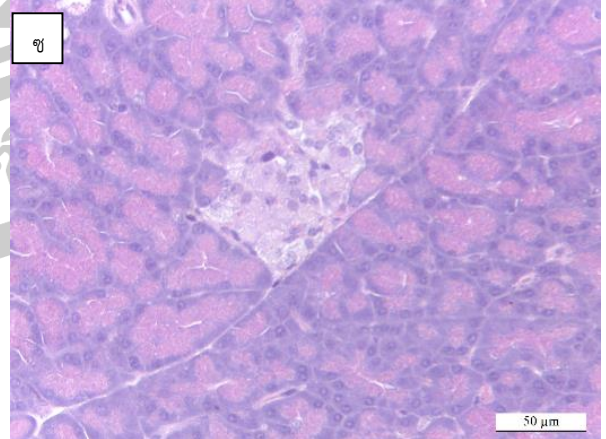
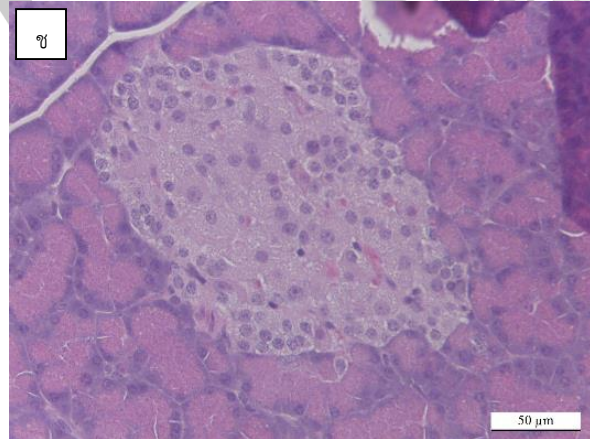
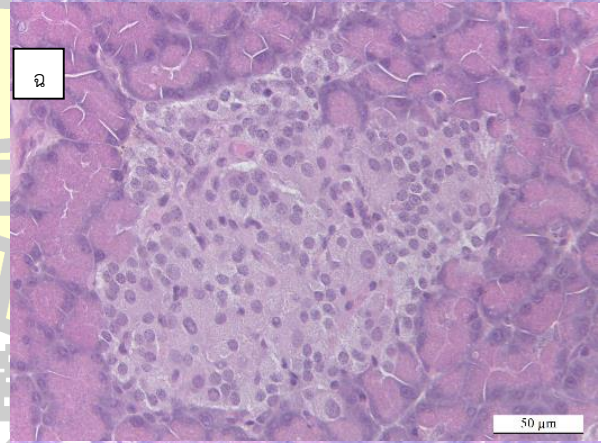
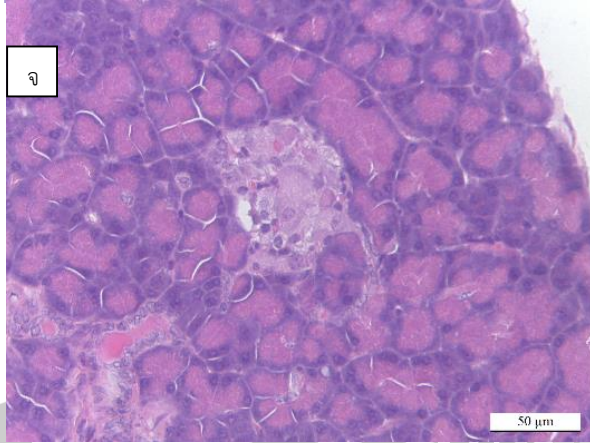
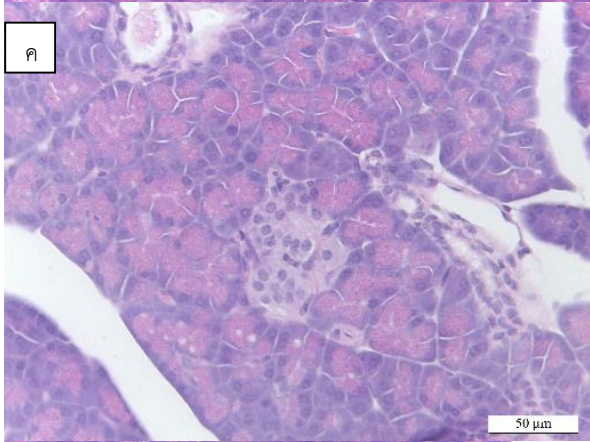
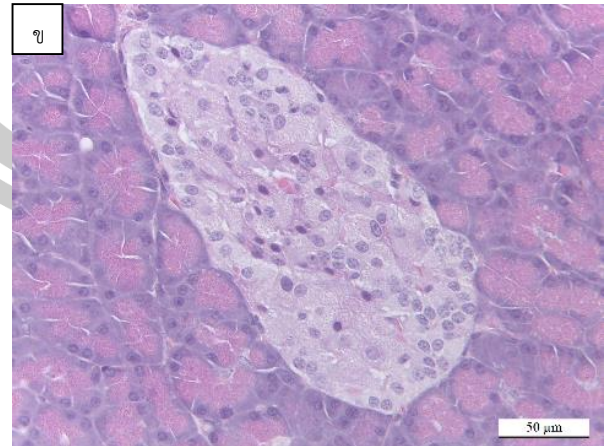
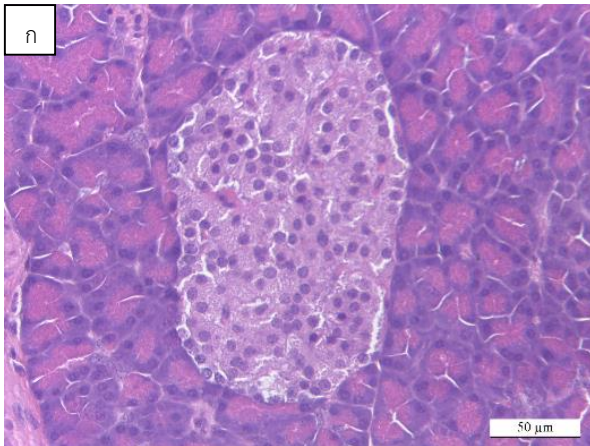
เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าขนาดไอเลสอพลองเกอฮานของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มหนูผ่าหลอดที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และ หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

4.3.5.2 ลักษณะจุลกายวิภาคเนื้อเยื่อตับอ่อน

จากภาพประกอบที่ 7 จากผลการศึกษาเนื้อเยื่อตับอ่อนด้วยวิธี Paraffin method พบว่า ภาพ (ก) คือหนูผ่าหลอด มีลักษณะเซลล์มีรูปร่างปกติ ความหนาของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์ปกติ ภาพ (ข) กลุ่มหนูตัดรังไข่ไม่มีลักษณะเซลล์มีรูปร่างปกติ ความหนาของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์ปกติ ภาพ (ค) และ (ง) กลุ่มหนูผ่าหลอดถูกเหนี่ยวนำให้เป็น

เบาหวานชนิดที่ 2 และ กลุ่มหนูตัดรังไข่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 มีลักษณะเซลล์มีรูปร่างฝ่อเล็กน้อย ความหนาของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์น้อย ภาพ (จ) หนูเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มก/กกมีลักษณะเซลล์มีรูปร่างฝ่อเล็กน้อย ความหนาของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์ลดลง ภาพ (ฉ) หนูเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มก/กก มีลักษณะเซลล์มีรูปร่างใหญ่ขึ้น ความหนาของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์เพิ่มขึ้น ภาพ (ช) หนูเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มินมีลักษณะเซลล์มีรูปร่างใหญ่ขึ้น ความหนาของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์เพิ่มขึ้น ภาพ (ซ) หนูเบาหวานได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol ลักษณะเซลล์มีรูปร่างฝ่อเล็กน้อย ความหนาของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์ลดลง





ภาพประกอบ 7 ลักษณะเซลล์ไอเลสอพลองเกอฮานของตับอ่อน

ก. กลุ่มหนูผ้าหอก ข. กลุ่มหนูตัดรังไข่ ค. กลุ่มหนูผ้าหอกถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ง. กลุ่มหนูตัดรังไข่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 จ. หนูเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 500 มก/กก ฉ. หนูเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 1,000 มก/กก ช. หนูเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน ซ. หนูเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol

ตาราง 6 ขนาดไอเลสอพลองเกอฮานของตับอ่อน และ ความหนาชั้น Endometrium และ Myometrium ของมดลูกหนู (μm)

กลุ่ม	ขนาดไอเลสอพลองเกอฮานของตับอ่อน (μm)	ความหนาชั้น Endometrium (μm)	ความหนาชั้น Myometrium (μm)
Sham	768.49±20.53 ^d	846.64 ±20.96 ^c	410.47±20.08 ^c
OVX	811.44±11.14 ^d	223.63±11.90 ^a	275.11±10.91 ^b
Sham+DM	379.13±14.78 ^a	476.33±14.45 ^b	319.09±29.11 ^b
OVX+DM	437.99±9.41 ^b	179.89±18.79 ^a	202.91±10.84 ^a
500 <i>D.alata</i>	359.69±27.51 ^a	291.40±16.78 ^a	295.99±17.56 ^b
1000 <i>D.alata</i>	672.20±10.57 ^c	437.74±25.30 ^b	410.36±11.30 ^c
Metformin	710.85±14.90 ^c	275.78±10.76 ^a	278.79±10.00 ^b
17β -estradiol	470.79±21.88 ^b	528.39±30.66 ^b	448.29±4.52 ^c

a,b,c,d,e แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกันในคอลัมน์ Mean±S.E.M

4.4 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนิก

4.4.1 การศึกษาน้ำหนักมดลูก ช่องคลอด และเต้านม

จากตารางที่ 7 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนิกต่อน้ำหนักมดลูกโดยวิธี uterotrophic assay การศึกษาผลของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาน้ำหนักมดลูกของหนูทุกกลุ่มคือ หนูผ้าหอก, หนูตัดรังไข่, หนูผ้าหอกที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหุ้มมันเส้า 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -

estradiol (0.26 ± 0.01 , 0.05 ± 0.00 , 0.23 ± 0.01 , 0.05 ± 0.00 , 0.05 ± 0.01 , 0.09 ± 0.01 , 0.05 ± 0.01 , 0.21 ± 0.02 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าน้ำหนักรวมของหนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มหนูตัวผู้ และ หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

จากตารางที่ 7 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนของน้ำหนักรวมของหนูตัวผู้โดยวิธี uterotrophic assay การศึกษาผลของหนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาน้ำหนักรวมของหนูตัวผู้ทุกกลุ่มคือ หนูตัวผู้ หลอก, หนูตัวผู้, หนูตัวผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (0.070 ± 0.00 , 0.031 ± 0.00 , 0.050 ± 0.00 , 0.024 ± 0.00 , 0.032 ± 0.00 , 0.036 ± 0.00 , 0.022 ± 0.00 , 0.050 ± 0.00 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าน้ำหนักรวมของหนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มหนูตัวผู้ และ หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

จากตารางที่ 7 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนของน้ำหนักรวมของหนูตัวผู้โดยวิธี uterotrophic assay การศึกษาผลของหนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาน้ำหนักรวมของหนูตัวผู้ทุกกลุ่มคือ หนูตัวผู้ หลอก, หนูตัวผู้, หนูตัวผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักตัว, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัวผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (2.54 ± 0.09 , 1.85 ± 0.08 , 2.07 ± 0.02 , 1.77 ± 0.09 , 1.91 ± 0.12 , 2.17 ± 0.06 , 2.00 ± 0.09 , 2.29 ± 0.10 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าน้ำหนักเต้านมของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มหนูตัดรังไข่ และ หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

4.4.2 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของมดลูก

4.4.2.1 การศึกษาความหนาชั้น Endometrium และความหนาชั้น Myometrium

จากตารางที่ 6 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนต่อความหนาชั้น Endometrium และ Myometrium โดยวิธี Paraffin method การศึกษาผลของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วย อาหารไขมันสูงและ Streptozotocin ต่อน้ำหนักตัว พบว่า ผลของการศึกษาความหนาชั้น Endometrium และ Myometrium ของหนูทุกกลุ่มคือ หนูผ่าหลอก, หนูตัดรังไข่, หนูผ่าหลอกที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม น้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม น้ำหนักตัว, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอร์มิน, หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (ความหนาชั้น Endometrium 846.64 ± 20.96 , 223.63 ± 11.90 , 476.33 ± 14.45 , 179.89 ± 18.79 , 291.40 ± 16.78 , 437.74 ± 25.30 , 275.78 ± 10.76 , 528.39 ± 30.66 ตามลำดับ และ ความหนาชั้น Myometrium 410.47 ± 20.08 , 275.11 ± 10.91 , 319.09 ± 29.11 , 202.91 ± 10.84 , 295.99 ± 17.56 , 410.36 ± 11.30 , 278.79 ± 10.00 , 448.29 ± 4.52 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่าความหนาชั้น Endometrium และ Myometrium ของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มหนูตัดรังไข่ และ หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

4.2.2.2 การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคมดลูก

จากภาพประกอบที่ 7 จากผลการศึกษาเนื้อเยื่อตับอ่อนด้วยวิธี Paraffin method พบว่า ภาพ (ก) คือหนูผ่าหลอก มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium หนาปกติ ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์ปกติ จำนวน uterine gland ปกติ ภาพ (ข) กลุ่มหนูตัดรังไข่มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium บางลง ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์ฝ่อลง จำนวน uterine gland ลดลง ภาพ (ค) กลุ่มหนูผ่าหลอกถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium บางลงเล็กน้อย ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์ปกติ จำนวน uterine gland ปกติ (ง) กลุ่มหนูตัดรังไข่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่

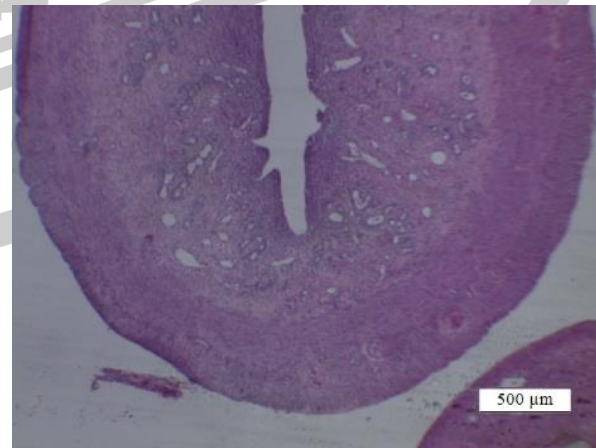
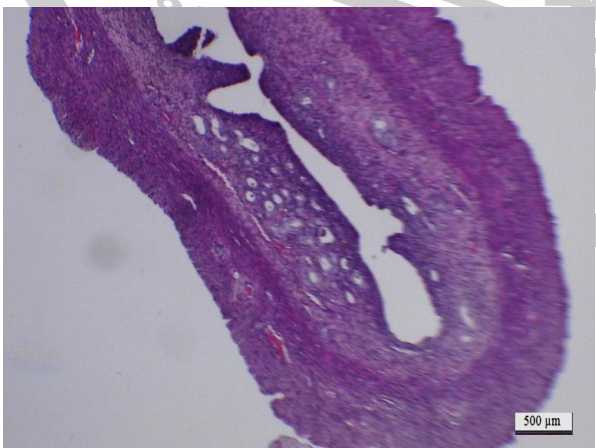
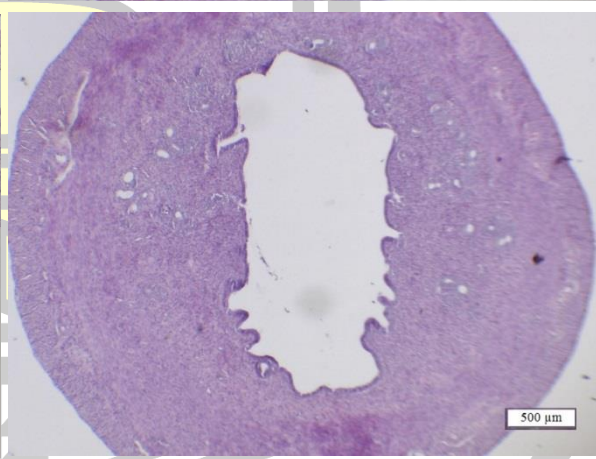
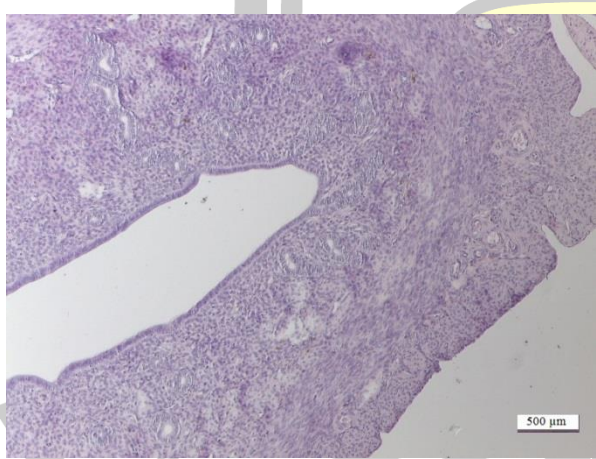
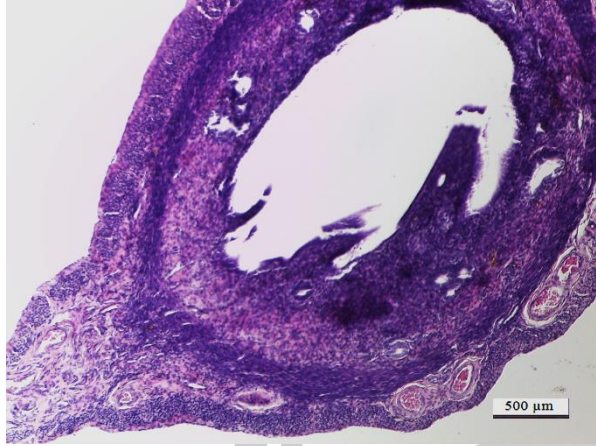
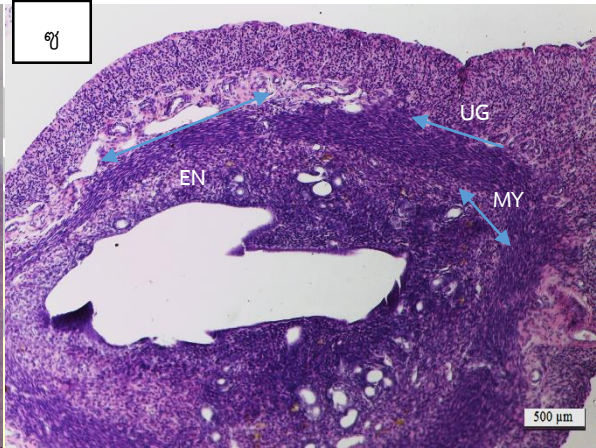
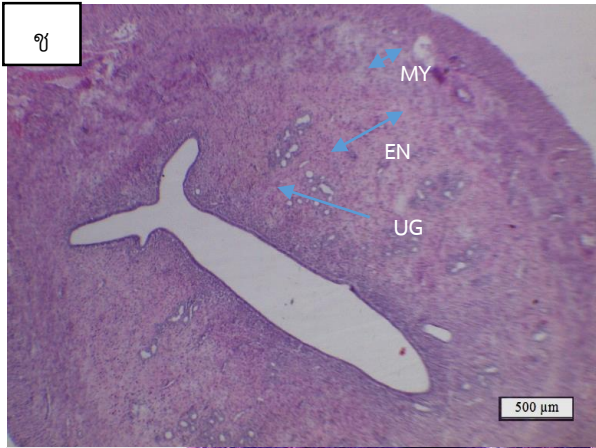
2 มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium บางลง ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์ฝอลง จำนวน uterine gland ลดลง ภาพ (จ) หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มก/กก มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium บางลง ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์ฝอลง จำนวน uterine gland ลดลง ภาพ (ฉ) หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1,000 มก/กก มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometriumหนาขึ้น ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์มีการฟื้นฟูเพิ่มขึ้น จำนวน uterine gland เพิ่มขึ้น ภาพ (ช) หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับยาเมทฟอมีน มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium บางลง ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์ฝอลง จำนวน uterine gland ลดลง ภาพ (ซ) หนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำเบาหวานได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium หนาขึ้น ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์มีการฟื้นฟูเพิ่มขึ้น จำนวน uterine gland เพิ่มขึ้น

ตาราง 7 ผลของสารสกัดหัวมันเสาต่อน้ำหนักสัมพัทธ์มดลูก ช่องคลอด และเต้านม

กลุ่ม	น้ำหนักสัมพัทธ์มดลูก (%)	น้ำหนักสัมพัทธ์ช่องคลอด (%)	น้ำหนักสัมพัทธ์เต้านม (%)
Sham	0.26±0.01 ^e	0.070±0.00 ^e	2.54±0.09 ^e
OVX	0.05±0.00 ^a	0.031±0.00 ^{abc}	1.85±0.08 ^{ab}
Sham+DM	0.23±0.01 ^d	0.050±0.00 ^d	2.07±0.02 ^{bcd}
OVX+DM	0.05±0.00 ^a	0.024±0.00 ^{ab}	1.77±0.09 ^a
500 <i>D.alata</i>	0.05±0.01 ^a	0.032±0.00 ^{bc}	1.91±0.12 ^{abc}
1000 <i>D.alata</i>	0.09±0.01 ^b	0.036±0.00 ^c	2.17±0.06 ^{cd}
Metformin	0.05±0.01 ^a	0.022±0.00 ^a	2.00±0.09 ^{abc}
17 β -estradiol	0.21±0.02 ^c	0.050±0.00 ^d	2.29±0.10 ^{de}

a,b,c,d,e แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกันในคอลัมน์ Mean±S.E.M

พจนานุกรมพืชโต ชีวะ



ภาพประกอบ 8 ลักษณะเนื้อเยื่อมดลูก

ก. กลุ่มหนูผ่าทลอก ข. กลุ่มหนูตัดรังไข่ ค. กลุ่มหนูผ่าทลอกถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ง. กลุ่มหนูตัดรังไข่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน จ. หนูเบาหวานได้รับสารสกัดหัวมันเสา 500 มก/กก ฉ. หนูเบาหวานได้รับสารสกัดหัวมันเสา 1000 มก/กก ช. หนูเบาหวานได้รับยาเมทฟอร์มิน ซ. หนูเบาหวานได้รับฮอร์โมน 17β -estradiol (4X) เมื่อ EN; Endometrium MY; Myometrium UG; uterine gland



บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมี ได้แก่ การตรวจสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและ การตรวจสอบหาปริมาณแอนโทไซยานิน การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP และการทดสอบการยับยั้งแอลฟาอะไมเลส และกลูโคซิเดส และการศึกษาฤทธิ์การลดระดับน้ำตาล ได้แก่ น้ำหนักตัว ระดับน้ำตาลในเลือด ค่าอินซูลินในเซรัม และน้ำหนักตับอ่อน การศึกษาฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิก ได้แก่ น้ำหนักมดลูก ช่องคลอด และเต้านม และศึกษาสารสกัดหุ้มมันเสาคู่ต่อจุลกายวิภาคเนื้อเยื่อมดลูก และตับอ่อน ของหนูตัวเต็มวัยที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

5.1. สรุปผล

5.1.1 การศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของหุ้มมันเสาคู่

5.1.1.1 สารพฤกษเคมีเบื้องต้นที่พบในสารสกัดหุ้มมันเสาคู่ คือ เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ แอลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ การตรวจสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณแอนโทไซยานิน พบว่า ปริมาณร้อยละของสารสกัดคิดเป็น 2.83 กรัม ผลผลิตต่อ 100 กรัมของผงแห้งหุ้มมันเสาคู่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคิดเป็น 310.30 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหุ้มมันเสาคู่ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดคิดเป็น 323.05 ± 3.92 มิลลิกรัมสมมูลของเคอซีตินต่อน้ำหนักสารสกัด และปริมาณแอนโทไซยานินคิดเป็น 10.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

5.1.1.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของสารสกัดหุ้มมันเสาคู่คิดเป็น 4.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ $61.27 \text{ mmol FeSO}_4$ ต่อกรัมสารสกัดหุ้มมันเสาคู่แห้ง ตามลำดับ

5.1.1.3 การทดสอบการยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและ แอลฟาไกลูโคซิเดส พบว่า การทดสอบการยับยั้งแอลฟาอะไมเลส และกลูโคซิเดส ของสารสกัดหุ้มมันเสาคู่คิดเป็น 1,251.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 401.52 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

5.1.2 การศึกษาฤทธิ์การลดระดับน้ำตาลของสารสกัดหุ้มมันเสาคู่

5.1.2.1 การศึกษาน้ำหนักตัว ระดับน้ำตาลในเลือด อินซูลินในเซรัมและ น้ำหนักตับอ่อน พบว่า สารสกัดหุ้มมันเสาคู่ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ทำให้น้ำหนักตัวและของหนูดัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูผ่าทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และหนูดัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

5.1.2.2 การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคตับอ่อน พบว่า สารสกัดหุ้มมันเสาคู่

1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีลักษณะเซลล์และรูปร่างใหญ่ขึ้น ความหนาของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์เพิ่มขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูผ่าหลอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และหนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

5.1.3 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนิก

5.1.3.1 การศึกษาน้ำหนักมดลูก ช่องคลอด และเต้านม พบว่าน้ำหนักมดลูก ช่องคลอด และน้ำหนักเต้านมของหนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเส้า 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มหนูตัดรังไข่และ หนูตัดรังไข่ที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2

5.1.3.2 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของมดลูก พบว่าหนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำเบาหวานชนิดที่ 2 ได้รับสารสกัดหัวมันเส้า 1,000 มก/กก มีลักษณะเนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium หนาขึ้น ลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์มีการฟื้นฟูเพิ่มขึ้น จำนวน uterine gland เพิ่มขึ้น

5.2. อภิปรายผล

5.2.1 การศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหัวมันเส้า

จากผลการทดลองสารสกัดจากหัวมันเส้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูง และฟลาโวนอยด์รวมสูง นอกจากนั้นยังพบปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมเช่นกัน ซึ่งสารที่ให้สีม่วงในหัวมันเส้าคือสารประกอบแอนโทไซยานิน จัดเป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ทั้งสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบแอนโทไซยานินมีความสัมพันธ์และสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งสองวิธีคือ การจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนเมื่อทดสอบด้วย FRAP assay ข้อดีของทั้งสองวิธีคือ เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ข้อเสียคือวิธี DPPH ไม่สามารถวิเคราะห์ที่เนื้อตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ และวิธี FRAP สารละลายที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำปราศจากไอออนจากรายงานการศึกษาของ Sakthidevi & Mohan (2013) ได้ศึกษาเรื่อง ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองของหัว *Dioscorea alata* L. ได้รายงานว่าพบปริมาณฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์ของ *D.alata* ในปริมาณสูงซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาล ของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และเบาหวานชนิดที่ 2 (Dröge, 2002) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชชนิดต่างๆ จึงอาจสามารถรักษาโรคเบาหวานและโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระได้เช่นกัน (Shetty, 2004) นอกจากนี้งานวิจัยของ Moriya et al. (2015) รายงานว่าแอนโทไซยานินที่พบในสารสกัด *D.alata* มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินเป็นสารสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหัวมันเส้า

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหุ้มมันเสาด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดหุ้มมันเสามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 86.23 ± 0.20 และสารสกัดหุ้มมันเสามีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ 50 % (IC_{50}) 4.95 ± 0.37 $\mu\text{g/ml}$ และการทดสอบความสามารถของการรีดิวซ์เฟอริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP values) พบว่า สารสกัดหุ้มมันเสามีค่า FRAP values เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานเพอรัสซัลเฟส เท่ากับ 61.27 ± 5.02 mM/g ของสารสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Das, Organisation, Chaudhuri, & Chatterjee (2012) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหัว *D. alata* ด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดมีประสิทธิภาพกำจัดสารอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล และเปอร์ออกซินิทไรต์ ต่อมาในงานวิจัยของ Sakthidevi & Mohan (2013) ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ใน *D. alata* ที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่า สารสกัดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดซึ่งเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกรวมและ ฟลาโวนอยด์ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และในปีเดียวกัน Kim et al. (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase ในสารสกัดของหัว *Dioscorea japonica* พบว่ากิจกรรมการกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นเป็นผลทำให้การต้านอนุมูลอิสระได้ดีขึ้น ต่อมางานวิจัยของ Moriya et al. (2015) ที่ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ในสารสกัด *D. alata* ที่สกัดด้วยเอทานอลรายงานว่าพบสารประกอบแอนโทไซยานินที่สามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นเป็นไปได้ว่าสารสกัดสารสกัดจาก *D. alata* สามารถต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase

สารสกัดจากหุ้มมันเสามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase และเอนไซม์ α -amylase ร้อยละ 68.18 ± 0.36 (IC_{50} 401.52 ± 0.54 $\mu\text{g/ml}$) และ 53.49 ± 0.21 (IC_{50} $1,250.44 \pm 6.32$ $\mu\text{g/ml}$) ตามลำดับ ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งสูงเทียบเท่ากับสารมาตรฐานอาคาร์โบท จากรายงานการวิจัยของ (Ghosh et al., 2012) โดยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase และเอนไซม์ α -amylase ในสารสกัดหัวใต้ดิน *Dioscorea bulbifera* พบว่า สารไดออสเจนิน และเทอร์ฟีนอยด์ในสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้ง α -glucosidase และ α -amylase ต่อมาของ Kim et al. (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase ในสารสกัดหัว *Dioscorea japonica* พบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase ต่อมางานวิจัยของ Ghosh et al. (2013) รายงานว่าสาร Dioosgenin ซึ่งเป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase และเอนไซม์ α -amylase สูงกว่าอาคาร์โบท อาจเป็นเพราะสารประกอบฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ทั้งสอง

5.2.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวาน

ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะวัยหมดประจำเดือนเกิดเนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างภาวะโรคอ้วนและภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidation stress) เป็นกลไกที่สำคัญทำให้เกิดการตายของเบต้าเซลล์แบบ apoptosis ทำให้เกิดภาวะดื้ออินซูลิน และทำให้เซลล์ตับอ่อนได้รับความเสียหาย

จะส่งผลทำให้เกิดการตายของเบต้าเซลล์ขึ้น ทำให้การทำงานของเบต้าเซลล์ผิดปกติ มีการสังเคราะห์ และหลั่งอินซูลินลดลง อินซูลินมีหน้าที่ในการช่วยขนส่งกลูโคสเข้าสู่เซลล์ กระตุ้นการสังเคราะห์และยับยั้งการสลายไตรกลีเซอไรด์ ในเซลล์ไขมัน และยับยั้งการสร้างน้ำตาลใหม่ที่ตับ (Cnop, Welsh, Jonas, Jo, & Lenzen, 2005) ดังนั้นเมื่อมีการสังเคราะห์และหลั่งอินซูลินลดลง เซลล์ในร่างกายไม่สามารถใช้กลูโคสเป็นพลังงานได้ ต้องเปลี่ยนมาใช้ไขมันและโปรตีนแทน ซึ่งการสูญเสียไขมันและโปรตีนสะสมของร่างกายจะทำให้น้ำหนักตัวลดลง ส่งผลให้น้ำหนักอวัยวะลดลงตามมา เซลล์สมองขาดกลูโคสและเซลล์ในศูนย์อำนวยการกระตุ้นโดยอินซูลินจึงทำให้อยากอาหาร และรับประทานมากขึ้น ไกลโคเจนในตับถูกสลายเป็นกลูโคส และตับมีการสร้างน้ำตาลใหม่เพิ่มขึ้นทำให้มีการปล่อยกลูโคสออกสู่กระแสเลือดได้มากขึ้นส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูง (Baynes & Thorpe, 1999)

จากการศึกษาโดยให้สารสกัดจากหัวมันเสาชขนาด 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว แก่หนูตัวโตที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน และใช้ยาเมทฟอร์มินเป็นตัวควบคุมบวก ผลการศึกษาพบว่า หนูตัวโตที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับสารสกัดหัวมันเสาช 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว มีฤทธิ์เพิ่มน้ำหนักตัว น้ำหนักตับอ่อน และอินซูลินในซีรัม ลดระดับน้ำตาลในเลือด และมีการฟื้นฟูลักษณะเซลล์และขนาดของเซลล์ในกลุ่มเซลล์ไอเลตสอพลองเกอฮาน จากงานวิจัยของ Mcanuff et al. (2002) ได้รายงานสาร ซาโปจินินและไดออสเจนิน จาก *D. polygonoides* โดยให้สารทั้งสองชนิดแก่หนูเบาหวาน พบว่าสาร ซาโปจินินและไดออสเจนิน มีฤทธิ์ต้านเบาหวานและลดไขมัน VLDL LDL และเพิ่ม HDL ในหนูเบาหวาน ในปีต่อมา Mcanuff et al. (2006) ได้รายงานผลการทดสอบสารซาโปจินินและไดออสเจนินจาก *D. polygonoides* ว่าสารทั้งสองชนิดส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการเผาผลาญกลูโคสและทำให้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ ต่อมา Maithili et al. (2011) ได้รายงานผลการศึกษาพบว่าให้สารสกัด *D. alata* ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan ทำให้ระดับอินซูลินในซีรัมเพิ่มขึ้นและสามารถรักษาระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างเหมาะสม จากรายงานของ Sato, Fujita, & lemitsu (2014) ได้สกัดสารไดออสเจนิน จาก *D. esculenta* และทดสอบในหนูเบาหวานชนิดที่ 1 พบว่าไดออสเจนิน ที่มีโครงสร้างคล้าย dehydroepiandrosterone มีคุณสมบัติลดระดับน้ำตาลในเลือดและช่วยส่งสัญญาณ GLUT4 ในกล้ามเนื้อของหนูเบาหวานชนิดที่ 1 ต่อมา Yu et al. (2015) ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเบาหวานของ *D. nipponica* ในหนูเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าสารสกัดสามารถต้านเบาหวานได้ ต่อมา Go et al. (2015) ได้รายงานว่าสารสกัด *D. batata* มีฤทธิ์ต้านเบาหวานโดยมีฤทธิ์ยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ ลดไขมันในเลือด และกระตุ้นให้มีการปล่อย GLP-1 ที่ทำหน้าที่เพิ่มการทำงานของ β -cell รักษาอินซูลินและลดระดับน้ำตาลในเลือดและฟื้นฟูเนื้อเยื่อตับอ่อน

ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า สารสกัดจากหัวมันเสามีสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบแอนโทไซยานิน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เอนไซม์ α -glucosidase และเอนไซม์ α -amylase จึงส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านเบาหวานชนิดที่ 2

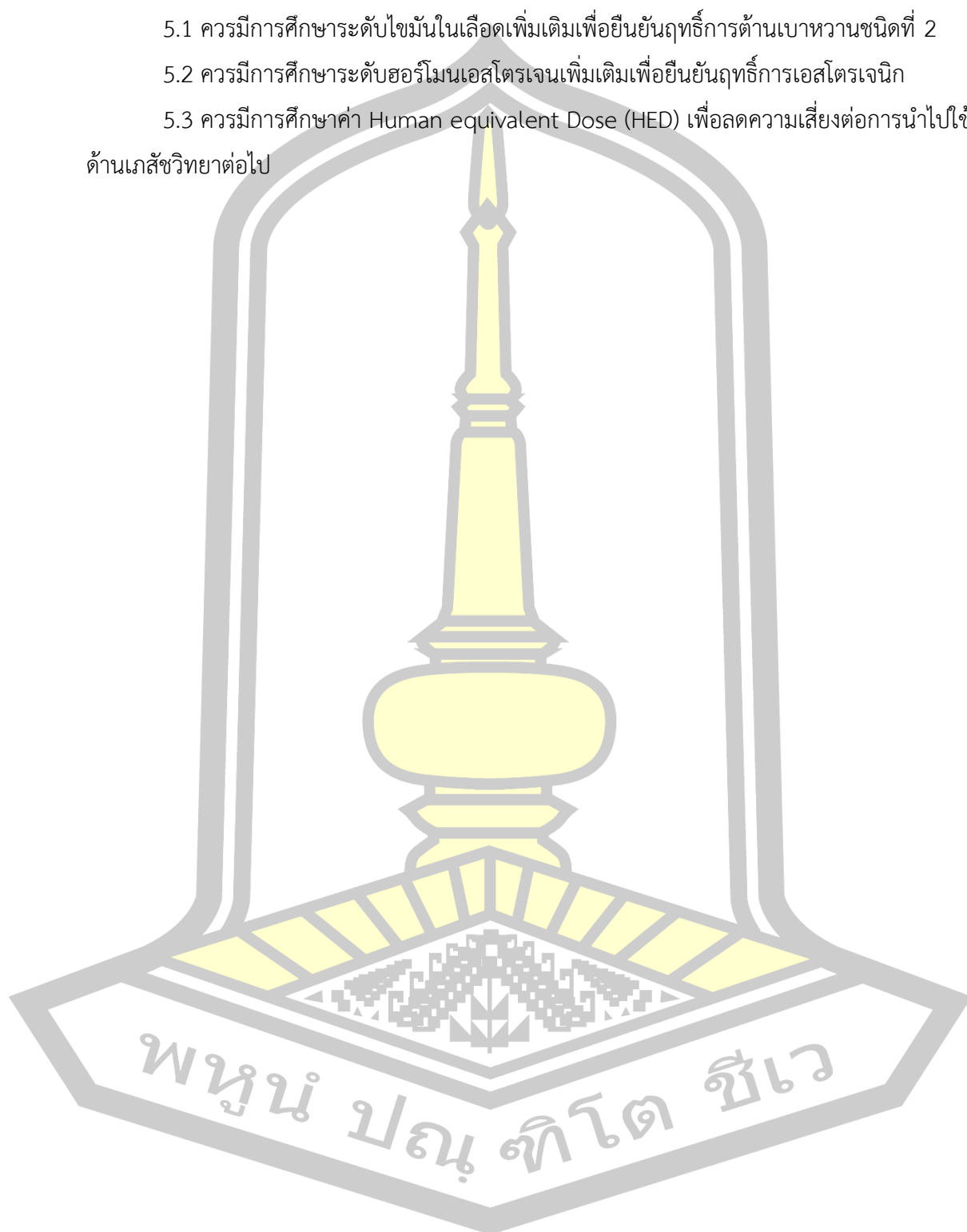
5.2.3 การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนิก

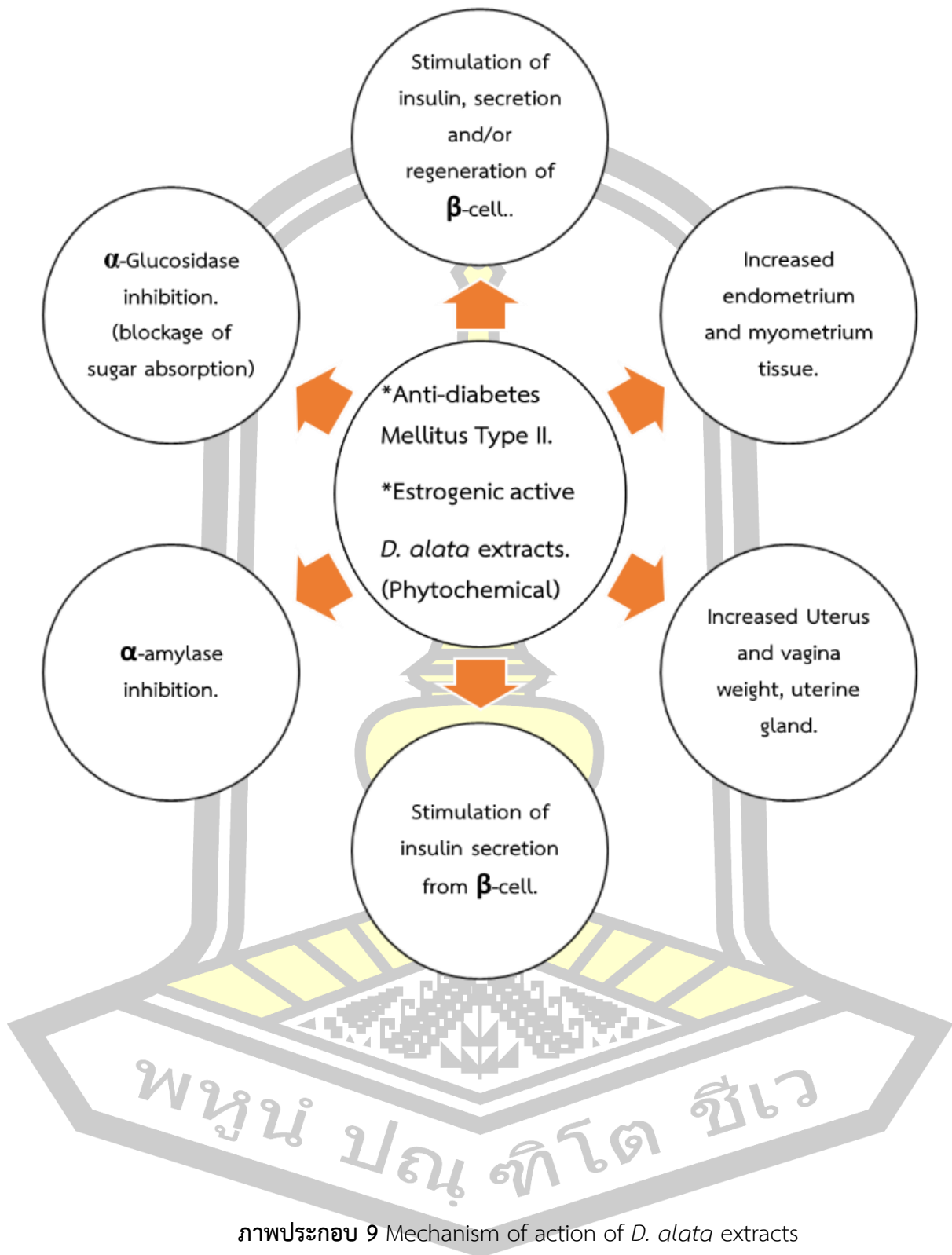
เบาหวานในวัยหมดประจำเดือนมีสาเหตุมาจากความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเอสโตรเจน และการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดโดย Estrogen receptor alpha: ER α receptor ในเบต้าเซลล์ของตับอ่อนเป็นตัวควบคุมการสร้างอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดผิดปกติ (Le May et al., 2006; Rettberg et al., 2014; Wong et al., 2010) ในหนูตัดรังไข่ลักษณะมดลูกจะมีขนาดเล็ก ฝ่อเหี่ยว ส่งผลให้เนื้อเยื่อชั้น endometrium และ myometrium บางลง และมีน้ำหนักมดลูก ช่องคลอดและเต้านมลดลง การออกฤทธิ์ที่เป็นเอสโตรเจนจะส่งผลต่อมดลูกในหนูปกติและหนูตัดรังไข่โดยจะมีผลต่อการเพิ่มของน้ำหนักมดลูก ช่องคลอดและเต้านม ในการศึกษาฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนของสารสกัดหัวมันเสาในหนูตัดรังไข่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่า สารสกัดหัวมันเสาขนาด 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวมีการกระตุ้นการสร้างชั้น endometrium และ myometrium ให้หนาขึ้นและพบ uterus grand จำนวนมาก จึงทำให้น้ำหนักมดลูกเพิ่มขึ้นตามไปด้วย จากรายงานวิจัยของ Wu et al. (2005) ได้รายงานว่ *Dioscorea alata* ช่วยเพิ่มฮอร์โมนเอสโตรเจนและลดไขมันในเลือดของสตรีวัยหมดประจำเดือน ต่อมา Zeng et al. (2018) รายงานพบสารสกัด *Dioscorea opposita* Thunb. มีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนทำให้น้ำหนักมดลูกเพิ่มขึ้นและระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนและฮอร์โมน FSH (Follicle stimulating hormone) เพิ่มขึ้น ซึ่งสารสกัด *D. opposita* มีกลไกการทำงานของคล้ายเอสโตรเจนโดยเป็นตัวสื่อกลางการออกฤทธิ์จากตัวรับ ER α และ ER β

จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าสารสกัดจากหัวมันเสา *D. alata* มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบแอนโทไซยานิน มีความสัมพันธ์กับสารต้านออกซิเดชันทั้งสองวิธี คือ DPPH, FRAP นอกจากนั้นพบว่าสารสกัดจากหัวมันเสามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase, เอนไซม์ α -amylase และในสารสกัดจากมันเสาขนาด 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว มีฤทธิ์ต้านเบาหวานชนิดที่ 2 และฤทธิ์การเป็นเอสโตรเจนิก ดังนั้นสารสกัดจากหัวมันเสาอาจสามารถนำไปพัฒนาปรับปรุงให้เป็นอาหารเสริมสุขภาพและพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุและผู้ป่วยเบาหวานต่อไปได้

5.3 ข้อเสนอแนะ

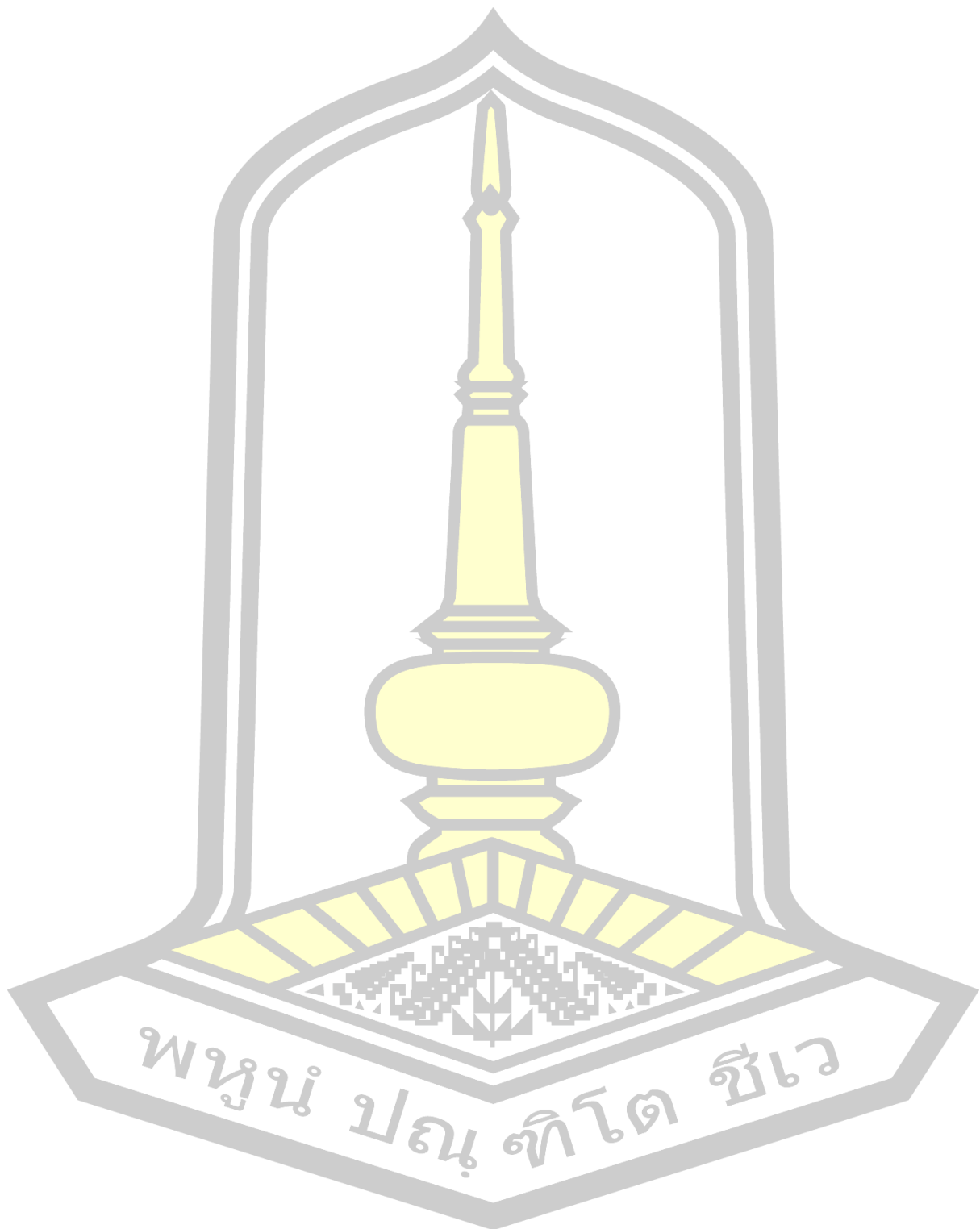
- 5.1 ควรมีการศึกษาระดับไขมันในเลือดเพิ่มเติมเพื่อยืนยันฤทธิ์การต้านเบาหวานชนิดที่ 2
- 5.2 ควรมีการศึกษาระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนเพิ่มเติมเพื่อยืนยันฤทธิ์การเอสโตรเจนิก
- 5.3 ควรมีการศึกษาค่า Human equivalent Dose (HED) เพื่อลดความเสี่ยงต่อการนำไปใช้ด้านเภสัชวิทยาต่อไป





ภาพประกอบ 9 Mechanism of action of *D. alata* extracts

บรรณานุกรม



บรรณานุกรม

- กัญญารัตน์ เหลืองประเสริฐ ญัฐนิชา ทวีแสง และขวัญใจ หรุพิทักษ์. (2560). แอนโทไซยานิน. *มหาวิทยาลัยบูรพา*, 116.
- เกศริน มณีนน. (2013). Medicinal Plants of the Genus *Dioscorea* L. Used in Traditional Thai Medicine Prescriptions. *Kku Science Journal*, 41(4), 1689–1699.
- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลิสรระและสารต้านอนุมูลิสรระ: แหล่งที่มาและกลไกการ เกิดปฏิกิริยา. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์*, 1(1), 59–70.
- ฉลาตรี เสี่ยม. (2555). เบาหวาน. *ตำราโรคเบาหวาน พิมพ์ครั้งที่ 1*. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เชิดศักดิ์ ทัพใหญ่ มานะ จิตฤทธิ และ เทพณรงค์ ยะสุข. (2560). การศึกษาพฤกษศาสตร์พื้นฐานของของชนเผ่ามลาบรี กรณีศึกษา : มั่นป่าบริเวณศูนย์การเรียนรู้เพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตชุมชนน้ำสะเนียน-ห้วยลู่ อำเภอมือง จังหวัดน่าน. *วารสารวนศาสตร์*, 36(1), 33–46.
- เทพ หิมะทองคำ. (2554). เบาหวาน. *ความรู้เรื่องเบาหวานฉบับสมบูรณ์*. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร : วิทย์พัฒนา.
- นพมาศ สุทธิเจริญนนท์. (2544). สารพฤกษเคมีจากพืช. In *ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: แสงเทียนการพิมพ์.
- นิมิตเดช ไกรชนะ. (2543). ฮอร์โมนในผู้หญิง. In *ฮอร์โมนทดแทนในวัยหมดระดู*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- บุหรัน พันธุ์สุวรรณ. (2556). อนุมูลิสรระ สารต้านอนุมูลิสรระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลิสรระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 21(3).
- พรชนก ชโลปกรณ์ และ พงศธร กล่อมสกุล. (2560). ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟา กลูโคซิเดสของสารสกัดฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร*, 12(1), 63–73.
- พัชรี บุญศิริ และรุ่งพีพร ตั้งรัศมีประเสริฐ. (2559). อนุมูลิสรระและสารต้านอนุมูลิสรระในร่างกายและในผลิตภัณฑ์อาหาร. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 1.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). *การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพร*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วรภาณ วงศ์ถาวรวัฒน์. (2549). *การดูแลรักษาโรคเบาหวานแบบองค์รวม*. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิชัย เชิดชูวิทยาศาสตร์. (2552). *นวัตกรรมสมุนไพรกวาวเครือขาว*. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์

มหาวิทยาลัย.

- วิไล อ่อนศิลา. (2555). *เบาใจไม่เป็นเบาหวาน*. กรุงเทพมหานคร: บจก. พิมพ์ดีการพิมพ์.
- สุภาษร สกลุใจตรง. (2560). ฤทธิ์ต้านเบาหวานและลดไขมันในเลือดของสารสกัดสะท้อน (*Millettia leucantha* Kurz) ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วยสเตอริบโตโซโตซิน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี*, 7(1), 9–23.
- Ahmed, Z., Chishti, M. Z., Johri, R. K., Bhagat, A., Gupta, K. K., & Ram, G. (2009). Antihyperglycemic and antidyslipidemic activity of aqueous extract of *Dioscorea bulbifera* tubers. *Diabetologia Croatica*, 38(3), 63–72.
- Asgary, S., Parkhideh, S., Solhpour, A., Madani, H., Mahzouni, P., & Rahimi, P. (2008). Effect of Ethanolic Extract of *Juglans regia* L. on Blood Sugar in Diabetes-Induced Rats Sedigeh. *Journal of Medicinal Food*, 11(3), 533–538.
- Atsukwei, D., Daniel, E. E., Adams, M. D., Tende, J. A., Tope, O. O., & Danmallam, L. (2015). Contraceptive Effect of Ethanolic Extract of *Dioscorea villosa* Tuber on Reproductive Hormones of Female Wistar Rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 5(2), 135–144.
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., & Atangbayila, T. O. (2008). Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria, 7(September), 1019–1024.
- Basma, A. A., Zakaria, Z., Latha, L. Y., & Sasidharan, S. (2011). Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(5), 386–390.
- Baynes, J. W., & Thorpe, S. R. (1999). Baynes, J. W., & Thorpe, S. R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1), 1–10.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay, 76, 70–76.
- Bhandari, M. R., & Kawabata, J. (2004). Food Chemistry Organic acid, phenolic content and antioxidant activity of wild yam (*Dioscorea* spp.) tubers of Nepal, 88, 163–168.
- Broekmans, F. J., Soules, M. R., & Fauser, B. C. (2009). Ovarian aging: Mechanisms and

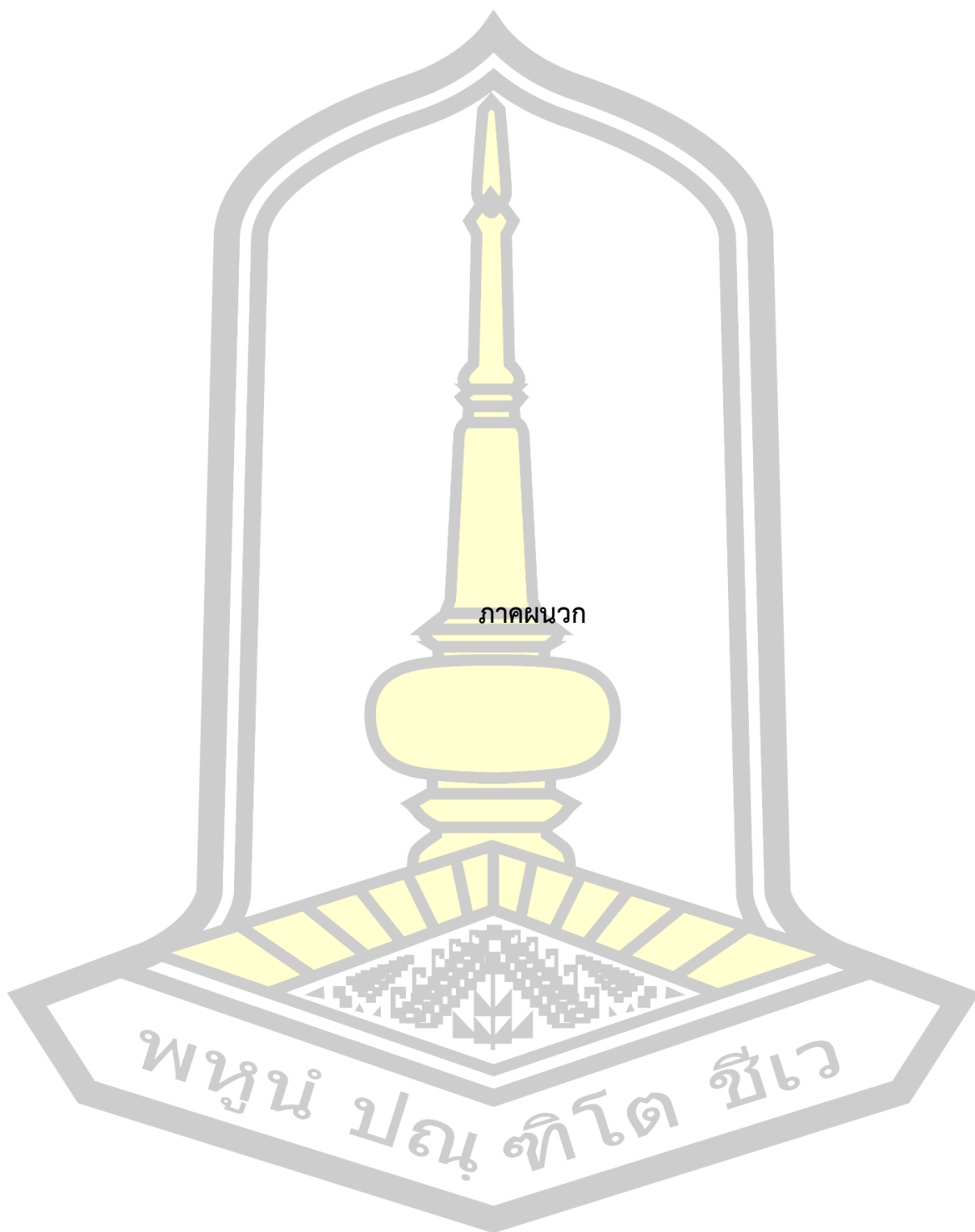
- clinical consequences. *Endocrine Reviews*, 30(5), 465–493.
- Burton, G. W., & Traber, M. G. (1990). Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annual review of nutrition*, 10(1), 357-382.
- Chandrasekara, A., & Josheph Kumar, T. (2016). Roots and tuber crops as functional foods: A review on phytochemical constituents and their potential health benefits. *International Journal of Food Science*, 2016(March).
- Cheng, W. Y., Kuo, Y. H., & Huang, C. J. (2007). Isolation and identification of novel estrogenic compounds in yam tuber (*Dioscorea alata* cv. Tainung No. 2). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(18), 7350–7358.
- Cnop, M., Welsh, N., Jonas, J., Jo, A., & Lenzen, S. (2005). Mechanisms of Pancreatic Cell Death in Type 1 and Type 2 Diabetes Many : many differences, few similarities. *Diabetes*, 54(6), 97–107.
- Cornish, M. L., & Garbary, D. J. (2010). Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. *Algae*, 25(4), 155-171.
- Das, A., Organisation, D., Chaudhuri, D., & Chatterjee, A. (2012). Study of antioxidant and reactive oxygen species scavenging activity of the edible tuber of “greater yam”(*Dioscorea alata* L.) from north-east India. *flora*, 11, 12.
- Dey, P., Roy Chowdhuri, S., Sarkar, M. P., & Chaudhuri, T. K. (2016). Evaluation of anti-inflammatory activity and standardisation of hydro-methanol extract of underground tuber of *Dioscorea alata*. *Pharmaceutical biology*, 54(8), 1474-1482.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47–95.
- Fahmy, M. K., Sayyed, H. G., Abd Elrahim, E. A., & Farag, R. T. A. (2017). Superimposed effect of ovariectomy on type 2 diabetes mellitus in Wistar rats. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(2), 129–137.
- Frankel, E. N., Bosanek, C. A., Meyer, A. S., Silliman, K., & Kirk, L. L. (1998). Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 834-838.
- Fournier, A., Mesrine, S., Dossus, L., Boutron-Ruault, M. C., Clavel-Chapelon, F., &

- Chabbert-Buffet, N. (2014). Risk of breast cancer after stopping menopausal hormone therapy in the E3N cohort. *Breast cancer research and treatment*, 145(2), 535-543.
- Ghosh, S., Ahire, M., Patil, S., Jabgunde, A., Bhat Dusane, M., Joshi, B. N., & Chopade, B. A. (2012). Antidiabetic activity of *Gnidia glauca* and *Dioscorea bulbifera*: potent amylase and glucosidase inhibitors. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Ghosh, S., Derle, A., Ahire, M., More, P., Jagtap, S., Phadatare, S. D., Chopade, B. A. (2013). Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Activity of Medicinal Plants *Gnidia glauca* and *Dioscorea bulbifera*. *PLoS One*, 8(12), 1–18.
- Go, H. K., Rahman, M., Kim, G. B., Na, C. S., Song, C. H., Kim, J. S., ... Kang, H. S. (2015). Antidiabetic effects of yam (*Dioscorea batatas*) and its active constituent, allantoin, in a rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Nutrients*, 7(10), 8532–8544.
- Inzucchi, S. E., Bergenstal, R. M., Buse, J. B., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., Matthews, D. R. (2015). Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centred approach. Update to a Position Statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*, 58(3), 429–442.
- Kim, H. S., Kim, T. W., Kim, D. J., Lee, J. S., Kim, K. K., & Choe, M. (2013). Antioxidant activities and α -glucosidase inhibitory effect of water extracts from medicinal plants. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 21(3), 197-203.
- Le May, C., Chu, K., Hu, M., Ortega, C. S., Simpson, E. R., Korach, K. S., Mauvais-Jarvis, F. (2006). Estrogens protect pancreatic β -cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(24), 9232–9237.
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269–1278.

- Li, S., Li, S., Gan, R., Song, F., Kuang, L., & Li, H. (2013). Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. *Industrial Crops & Products*, 51, 289–298.
- Luo, D. (2008). Identification of structure and antioxidant activity of a fraction of polysaccharide purified from *Dioscorea nipponica* Makino. *Carbohydrate polymers*, 71(4), 544-549.
- Luyen, N. T., Tram, L. H., Thi, T., Hanh, H., Binh, P. T., & Dang, N. H. (2013). Inhibitors of α -glucosidase, α -amylase and lipase from *Chrysanthemum morifolium*. *Phytochemistry Letters*, 6(3), 322–325.
- Maithili, V., Dhanabal, S., Vadivelan, R., & Mahendran, S. (2011). Antidiabetic activity of ethanolic extract of tubers of *Dioscorea alata* in alloxan induced diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 43(4), 455.
- McAnuff-Harding, M. A., Omoruyi, F. O., & Asemota, H. N. (2006). Intestinal disaccharidases and some renal enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats fed sapogenin extract from bitter yam (*Dioscorea polygonoides*). *Life Sciences*, 78(22), 2595-2600.
- McAnuff, M. A., Omoruyi, F. O., Gardner, M. T., Morrison, E. Y., & Asemota, H. N. (2003). Alterations in intestinal morphology of streptozotocin-induced diabetic rats fed Jamaican bitter yam (*Dioscorea polygonoides*) steroidal sapogenin extract. *Nutrition Research*, 23(11), 1569–1577.
- McAnuff, M. A., Omoruyi, F. O., Morrison, E. Y., & Asemota, H. N. (2002). Plasma and liver lipid distributions in streptozotocin-induced diabetic rats fed sapogenin extract of the Jamaican bitter yam (*Dioscorea polygonoides*). *Nutrition Research*, 22(12), 1427-1434.
- Miah, M. M., Das, P., Ibrahim, Y., Shajib, M. S., & Rashid, M. A. (2018). In vitro antioxidant, antimicrobial, membrane stabilization and thrombolytic activities of *Dioscorea hispida* Dennst. *European Journal of Integrative Medicine*, 19, 121-127.
- Moriya, C., Hosoya, T., Agawa, S., Sugiyama, Y., Kozone, I., Shin-Ya, K., Kumazawa, S. (2015). New acylated anthocyanins from purple yam and their antioxidant activity. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 79(9), 1484–1492.

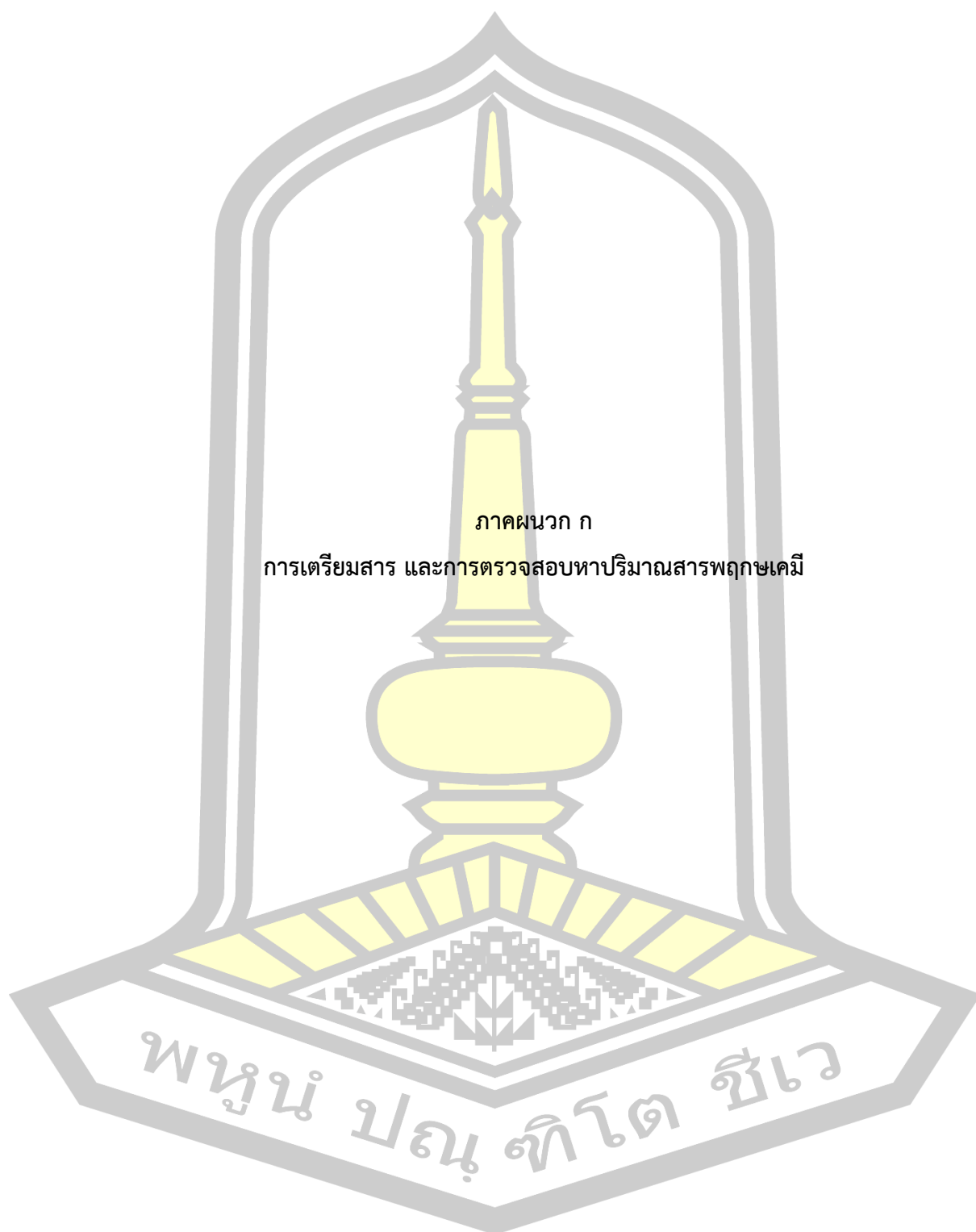
- Nashriyah, M., Athiqah, M. N., Amin, H. S., Norhayati, N., Azhar, A. M., & Khairil, M. (2011). Ethnobotany and distribution of wild edible tubers in Pulau Redang and nearby islands of Terengganu, Malaysia. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 60, 1832-1835.
- Podolak, I., Galanty, A., & Sobolewska, D. (2010). Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochemistry Reviews*, 9(3), 425-474.
- Puerta, R. De, Gutierrez, V. R., & Hault, J. R. S. (1999). Inhibition of Leukocyte 5-Lipoxygenase by Phenolics from Virgin Olive Oil, 57(98), 445-449.
- Rettberg, J. R., Yao, J., & Brinton, R. D. (2014). Estrogen: A master regulator of bioenergetic systems in the brain and body. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35(1), 8-30.
- Sakthidevi, G., & Mohan, V. R. (2013). Total phenolic, flavonoid contents and in vitro antioxidant activity of *Dioscorea alata* l. Tuber. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(5), 115-119.
- Santisuk T and Larsen K. (2009). *Flora of Thailand Volume Ten Part One Dioscoreaceae*. Bangkok: Prachachon Co. LTD.
- Sato, K., Fujita, S., & Iemitsu, M. (2014). Acute administration of diosgenin or dioscorea improves hyperglycemia with increases muscular steroidogenesis in STZ-induced type 1 diabetic rats. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 143, 152-159.
- Seki K, Minami Y, Nishikawa M, Kawata S, Miyoshi S, Imai Y, T. S. (1983). "Nonalcoholic steatohepatitis" induced by massive doses of synthetic estrogen. *Gastroenterologia Japonica*, 18(3), 197-203.
- Shetty, K. (2004). Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications: A review. *Process Biochemistry*, 39(7), 789-804.
- Shrivastava, S., Dwivedi, S., Dubey, D., & Kapoor, S. (2007). Traditional herbal remedies from madhya pradesh used as oral contraceptives-a field survey. *International Journal of Green Pharmacy*, 17-22.
- Sies H, Stahl W, S. A. (1992). Antioxidant Functions of Vitamins: Vitamins E and C,

- Beta-Carotene, and Other Carotenoids a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669(1), 7–20.
- Valacchi G, Pagnin E, Corbacho AM, Olano E, Davis PA, Packer L, C. C. (2014). In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radical Biology and Medicine.*, 36(5), 673–680.
- Webster, R. W. (2002). Aboriginal women and menopause. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, 24(12), 938-940.
- Wong, W. P. S., Tiano, J. P., Liu, S., Hewitt, S. C., Le May, C., Dalle, S., Mauvais-Jarvis, F. (2010). Extranuclear estrogen receptor- α stimulates Neuro D1 binding to the insulin promoter and favors insulin synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(29), 13057–13062.
- Wongsa, P., Chaiwarit, J., & Zamaludien, A. (2012). In vitro screening of phenolic compounds , potential inhibition against α -amylase and α -glucosidase of culinary herbs in Thailand. *Food Chemistry*, 131(3), 964–971.
- Wu, W. H., Chung, C. J., Liu, L. Y., Jou, H. J., & Wang, T. A. (2005). Estrogenic Effect of Yam Ingestion in Healthy Postmenopausal Women. *Journal of the American College of Nutrition*, 24(4), 235–243.
- Yu, H., Zheng, L., Xu, L., Yin, L., Lin, Y., Li, H., Peng, J. (2015). Potent effects of the total saponins from *Dioscorea nipponica* Makino against streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus in rats. *Phytotherapy Research*, 29(2), 228–240.
- Zeng, M., Zhang, L., Li, M., Zhang, B., Zhou, N., Ke, Y., Zheng, X. (2018). Estrogenic effects of the extracts from the Chinese Yam (*dioscorea opposita* Thunb.) and its effective compounds in vitro and in vivo. *Molecules*, 23(2), 3–15.
- Zhang, J., Tian, H., Zhan, P., Du, F., Zong, A., & Xu, T. (2018). LWT - Food Science and Technology Isolation and identification of phenolic compounds in Chinese purple yam and evaluation of antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 96(December 2017), 161–165.



ภาคผนวก

พหุณํ ปณฺ ทิโต ชีเว



ภาคผนวก ก

การเตรียมสาร และการตรวจสอบหาปริมาณสารพิษเคมี

พหุณฺ์ ปณฺุ ทิโต ชีเว

1. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

1.1 เตรียมสารละลายในการทดสอบ

1.1.1 เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu โดยเจือจางเป็น 10 % โดยนำ Folin-Ciocalteu มา 10 mL ผสมด้วยน้ำกลั่น 90 mL

1.1.2 เตรียมสารละลาย Gallic acid ที่มีความเข้มข้น 0.01g ในน้ำกลั่น โดยชั่ง Gallic acid 0.01 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาณให้ได้ 100 mL จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25 $\mu\text{g/mL}$ เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

1.1.3 เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอล จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent แล้วนำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 nm

1.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

นำสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 10% 500 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7.5% (w/v) 800 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1.3 สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 nm กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก ทำการหาสมการเส้นตรง และค่า R^2 จากกราฟมาตรฐาน

1.4 คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหุ้มเมล็ดในหน่วย $\text{mgGAE}\cdot\text{g}^{-1}$

ตัวอย่าง การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

สมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก คือ $y = 0.0151x + 0.0629$ ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหุ้มเมล็ดที่ความเข้มข้น 0.05 mg/mL

ครั้งที่ 1 เท่ากับ 0.432 จะได้ว่า

$$\text{จากสมการ } y = 0.0151x + 0.0629$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.229$$

$$0.432 = 0.0151x + 0.0629$$

$$X = 24.33775$$

ในส่วนสารสกัดจากหุ้มเมล็ดที่ความเข้มข้น 0.05 mg/mL มีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 24.33775 $\text{mg GAE}\cdot\text{mg}^{-1}$

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในหน่วย mgGAE.g⁻¹

ส่วนสกัดตัวอย่าง 0.05 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก 24.33775 mgGAE

ถ้าส่วนสกัดตัวอย่าง 1,000 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก

$$\frac{24.33775 \text{mgGAE} \times 1,000 \text{ mg}}{0.05 \text{ mg} \times 1,000}$$

$$= 486.755 \text{ mgGAE.g}^{-1}$$

ดังนั้น สารสกัดจากหัวมันเสามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 486.755 mgGAE.g⁻¹

1

นำค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่คำนวณได้ทั้ง 3 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ยจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดจากหัวมันเสา

2. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content) ด้วยวิธี Aluminium trichloride (AlCl₃) colorimetric

2.1 เตรียมสารละลายในการทดสอบ

2.1.1 สารละลาย Aluminum trichloride (AlCl₃) ความเข้มข้น 10% โดยชั่ง AlCl₃ 10 กรัม ละลายในน้ำแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL

2.1.2 สารละลายซิงโครเนียมไนเตรท (NaNO₃) 5 % (w/v) โดยชั่ง NaNO₃ 5 กรัม ละลายในน้ำ ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL

2.1.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยชั่ง NaOH 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับให้ได้ 50 mL

2.1.4 สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรในตัวทำละลายเอทานอล

2.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content)

นำสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายซิงโครเนียมไนเตรท (NaNO₃) ความเข้มข้น 5 % ปริมาตร 75 ไมโครลิตร แล้วตั้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl₃ reagent) ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งไว้อีก 6 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ 500 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 2 mL ด้วยน้ำกลั่น ก่อนนำสารผสมที่ได้ไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ก่อนจะนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม หาได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐาน ปริมาณที่ได้

แสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mgQE.g⁻¹dried extract)

2.3 สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm กับความเข้มข้นต่างๆของสารมาตรฐานเคอร์ซีติน ทำการหาสมการเส้นตรง และค่า R² จากกราฟมาตรฐาน

2.4 คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหุ้มเมล็ดในหน่วย mgQE.g⁻¹

ตัวอย่าง การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

สมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก คือ $y = 0.0041x - 0.0299$

ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหุ้มเมล็ดในความเข้มข้น 0.05 mg /mL

ครั้งที่ 1 เท่ากับ 0.084 จะได้ว่า

$$\text{จากสมการ} \quad y = 0.0041x - 0.0299$$

$$\text{แทนค่า} \quad y = 0.084$$

$$0.084 = 0.0041x + 0.0299$$

$$X = 27.7804878$$

ในส่วนสารสกัดหุ้มเมล็ดในความเข้มข้น 0.05 mg /mL มีปริมาณ

ฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 27.7804878 mgQE.mg⁻¹

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในหน่วย mgQE.g⁻¹

ส่วนสกัดตัวอย่าง 0.10 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีติน 27.7804878 mgQE.g⁻¹

ถ้าส่วนสกัดตัวอย่าง 1,000 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีติน

$$\frac{27.7804878 \text{ mgQE} \times 1,000 \text{ mg}}$$

$$0.10 \text{ mg} \times 1,000$$

$$= 555.6097561 \text{ mgQE.g}^{-1}$$

ดังนั้น สารสกัดหุ้มเมล็ดมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 555.61 mgQE.g⁻¹

นำค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมที่คำนวณได้ทั้ง 3 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ยจะได้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหุ้มเมล็ด

3. การหาปริมาณแอนโทไซยานิน ด้วยวิธี pH-differential method

3.1 การเตรียมสารละลายในการทดสอบ

3.1.1 เตรียม 0.025 M Potassium chloride buffer pH 1.0 โดยชั่ง Potassium chloride 1.86 g ละลายในน้ำกลั่น 980 ml ปรับ pH 1.0 ด้วย HCl

3.1.2 การเตรียม 0.4 M Sodium acetate pH 4.5 โดยชั่ง Sodium acetate 54.43 g ละลายในน้ำกลั่น 960 ml ปรับ pH 4.5 ด้วย HCl

3.2 วิธีการทดสอบหาปริมาณแอนโทไซยานิน

3.2.1 นำสารสกัดใส่ลงในหลอดทดลอง 0.5 ml 2 หลอด (หลอดที่ 1 กับ หลอดที่ 2) ทำทั้งหมด หลอดละ 3 ครั้ง

3.2.2 เติมสารละลาย Potassium chloride buffer pH 1.0 ลงในหลอดที่ 1 และเติมสารละลาย Sodium acetate pH 4.5 ลงในหลอดที่ 2

3.2.3 ทิ้งไว้ 15 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง 510 nm และ 700 nm

3.3 คำนวณ หาปริมาณแอนโทไซยานินโดยใช้สูตร ดังนี้

$$\text{Monomeric anthocyanin (mg/liter)} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (f \times 1)$$

$$\text{โดยที่ } A = (A_{\lambda_{\text{vis}} \text{ max}} - A_{510})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\lambda_{\text{vis}} \text{ max}} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

MW = มวลโมเลกุล

DF = Dilution factor (ถ้าใช้ตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์จนมีปริมาตร เป็น 3 มิลลิลิตร ใช้ค่า DF เท่ากับ 15) = โมลาร์แอบซอร์บติวิตี (Molar absorptivity)

ค่านี้จะขึ้นกับชนิดของแอนโทไซยานินและตัวทำละลาย โดยทั่วไปมักใช้ค่าของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (Cyanidin-3-glucoside) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 ซึ่งเท่ากับ $26,900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

ตัวอย่าง การคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml

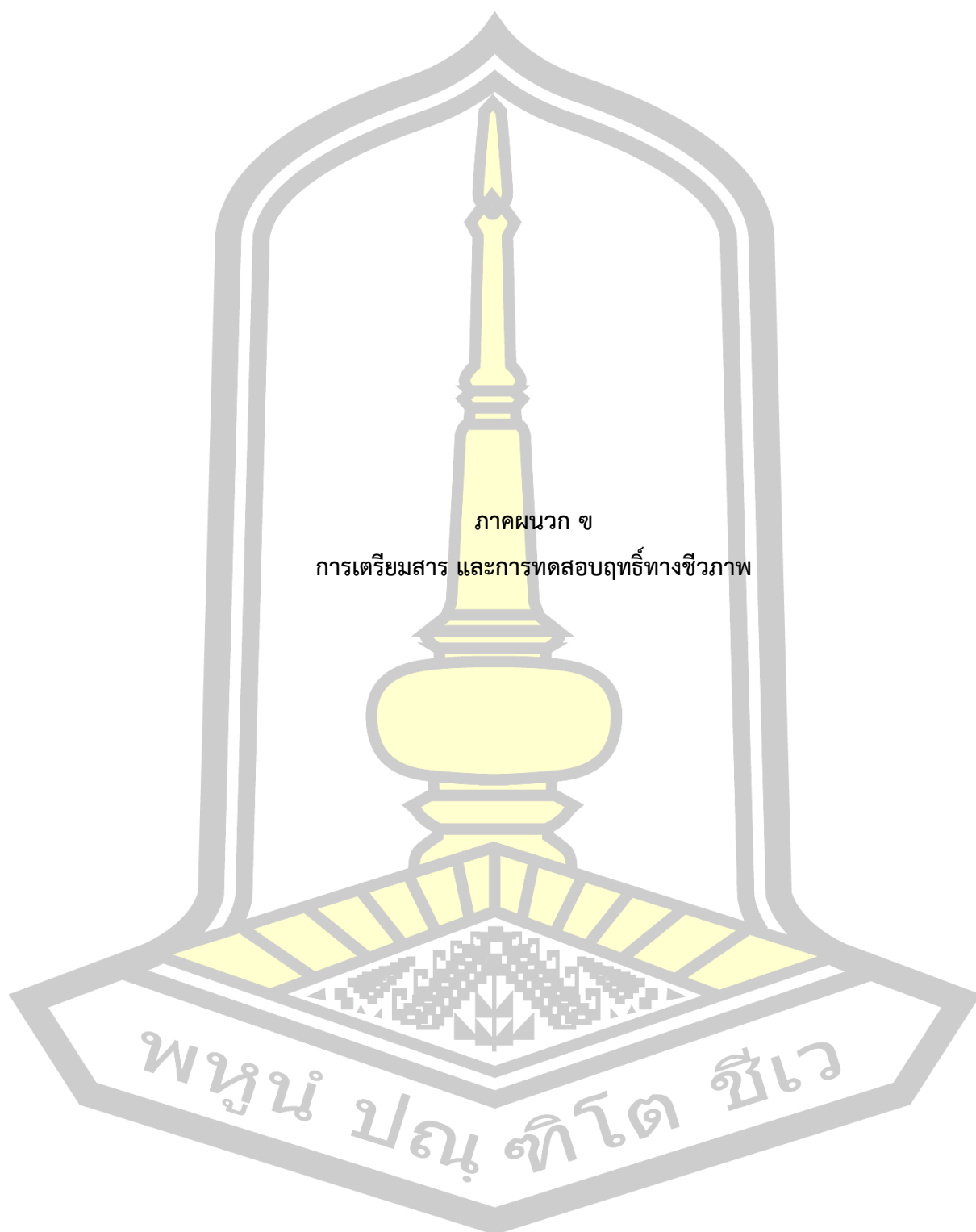
$$\text{หาค่า } A = (0.211 - 0.038)_{\text{pH } 1.0} - (0.142 - 0.034)_{\text{pH } 4.5} = 0.065$$

แทนค่าในสูตร

$$\begin{aligned} \text{Monomeric anthocyanin (mg/liter)} &= (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1,000) / (f \times 1) \\ &= (0.065 \times 449.2 \times 15 \times 1,000) / (26,900 \times 1.4) \\ &= 11.62958046 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

คำนวณทั้ง 3 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ยจะได้ปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดหัวมันเสา

พูน ปณ ทิโต ชีเว



ภาคผนวก ข
การเตรียมสาร และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

พหุบัณฑิตยาลัย

1. การคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH free radical scavenging

1.1 การเตรียมสารละลายในการทดสอบ

1.1.1 สารละลาย DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.05 mM (20 µg/mL) โดยชั่ง DPPH 10.0 mg ละลายในเอทานอล 500 mL

1.1.2 สารมาตรฐานวิตามินซี ที่มีความเข้มข้น 1.0 mg/mL ในเอทานอล โดยชั่งสารมาตรฐาน 0.1 mg ละลายในเอทานอล 1.0 mL แล้วเจือจางแบบ 2-fold ให้มีความเข้มข้น 1.0 - 0.06 µg/mL เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

1.1.3 เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 mg/mL ในเอทานอล ปริมาตร 0.2 mL แล้วเจือจางแบบ 2-fold ให้มีความเข้มข้นในช่วง 1000-36.5 µg/mL

1.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

โดยผสมสารละลายมาตรฐานหรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 mL กับ สารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 0.05 mM ปริมาตร 1.8 mL ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer โดยใช้ Vitamin C เป็นสารมาตรฐาน คำนวณค่า % Radical scavenging activity และค่า IC₅₀ ใช้สูตรคำนวณ % Radical scavenging ดังนี้

$$\% \text{ Radical scavenging} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เมื่อเติมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน

ตัวอย่าง การคำนวณหาร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ

ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหัวมันเสา ที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL ครั้งที่ 1 เท่ากับ 0.011 (B) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ เท่ากับ 0.454 (A)

จากสมการ $\% \text{ Radical scavenging} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$

แทนค่า $\% \text{ Radical scavenging} = [(0.454 - 0.011) / 0.454] \times 100$
 $= 97.557$

สารสกัดหัวมันเสา ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ครั้งที่ 1 มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 97.557%

นำร้อยละการต้านอนุมูลอิสระที่คำนวณได้ทั้ง 3 ครั้งมาหาค่าเฉลี่ยจะได้ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหัวมันเสา

ตัวอย่าง การหาค่า IC₅₀ สารสกัดหัวมันเสา

จากสมการ $y = 0.3723x + 47.462$ เมื่อ $y = 50$

$$\begin{aligned}\text{แทนค่า } x &= (50-47.462)/0.3723 \\ &= 6.817\end{aligned}$$

ดังนั้นความเข้มข้นสารที่ IC₅₀ ของสารสกัดหัวมันเสาเท่ากับ 6.817 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. การคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

2.1 การเตรียมสารละลายในการทดสอบ

2.1.1 เตรียมบัฟเฟอร์ โดยชั่ง Sodium acetate 2.634 g ละลายในน้ำปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Acetic acid 1.62 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2.1.2 เตรียม FeCl₃ โดยชั่ง 0.0324 g ละลายในน้ำปราศจากไอออน 10 มิลลิลิตร

2.1.3 เตรียม TPTZ โดยชั่ง 0.0315 g ละลายใน 40 mM HCl 10 มิลลิลิตร

2.1.4 นำสารละลายในข้อ 1 2 และ 3 มารวมกันจะได้ FRAP reagent

2.1.5 ชั่งสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน 0.2 g ละลายใน เอทานอล 10 ml แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง ให้มีความเข้มข้น 2,000-50 ppm

2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP

โดยปิเปตสารละลาย FRAP ปริมาตร 950 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง เติมสารสกัดหัวมันเสาที่ทำการเจือจางแล้วปริมาตร 50 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากัน เก็บในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร สารมาตรฐานทำเช่นเดียวกันกับสารสกัดตัวอย่าง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ คำนวณค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP value (mM/g d.wt extract)

ตัวอย่าง การคำนวณหาค่า FRAP value ที่ความเข้มข้น 0.03 mg/ml ในน้ำหนักแห้ง 0.01g จากสมการ $y=0.0012x+0.1102$ เมื่อ $y=$ ค่าดูดกลืนแสง 0.813

$$\text{แทนค่า } x = (0.813-0.1102)/0.0012$$

$$= 587.33 \mu\text{M}/0.1\text{g extracts}$$

$$\text{เปลี่ยนให้เป็น mM}/1 \text{ g extracts} = (587.33/0.1) \times 1,000$$

$$= 58.733 \text{ mM} / \text{g extracts}$$

คำนวณทั้ง 3 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ยจะได้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP value (mM/g d.wt extract) ของสารสกัดหัวมันเสา

3. การคำนวณฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (Inhibition- α -glucosidase assay)

3.1 การเตรียมสารละลายในการทดสอบ

3.1.1 การเตรียม Stock phosphate buffer pH 6.9

A : ชั่ง NaH₂PO₄ 0.69314 g ละลายใน DI ปริมาตร 50 mL

B : ชั่ง Na_2HPO_4 1.6128 g ละลายใน DI ปริมาตร 50 mL

C : ผสมสารละลาย A และ B เขย่าให้เข้ากันจากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 200 ml และปรับ pH ให้ได้ 6.9

3.1.2 การเตรียม Stock α -glucosidase

A : ใส่ buffer pH 6.9 ลงในขวด 1 ml

B : บีบ α -Glucosidases ปริมาณ 500 μl ละลายใน Buffer pH 6.9
50 ml

3.1.3 เตรียม stock PNP-G

A : ชั่ง PNP-G 30.125 mg ละลายใน buffer 6.9 50 ml

B : ปรับปริมาตรได้ 100 ml

3.1.4 เตรียม stock Na_2CO_3

A : ชั่งสาร Na_2CO_3 21.2 g ละลายในน้ำ DI 100 ml

B : ปรับปริมาตรให้ได้ 200 ml

3.1.5 เตรียม Stock สารละลาย และสารมาตรฐาน

ชั่งสารตัวอย่าง 0.2 g ละลายใน DMSO 10 ml ให้มีความเข้มข้น 2000-50 ppm

3.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (Inhibition- α -glucosidase assay)

โดยชั่งสารสกัด 0.1 กรัมละลายใน DMSO 10 มิลลิลิตร บีบสารสกัด 100 ไมโครลิตร เติมสารละลายไนโตรฟีนิล-แอลฟา-ดีกลูโคไพราโนไซด์ (p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) ในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9 ที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมสารละลายแอลฟาไกลูโคซิเดส ปริมาตร 0.1 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติม 1M Na_2CO_3 1000 ไมโครลิตร ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

ในการหาค่า IC_{50} ของกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำได้โดยการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดที่ 0.01-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการคำนวณเป็นร้อยละของกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ $[(\text{ABS}_{\text{blank}} - \text{ABS}_{\text{sample}}) / \text{ABS}_{\text{blank}}] \times 100$ โดยใช้อะคาร์โบส (acarbose) เป็นตัวควบคุมบวก

3.3 การคำนวณ% α -glucosidase inhibition

ตัวอย่าง การคำนวณ % α -glucosidase inhibition ของสารสกัดหุ้มเมล็ดเส้าที่ความเข้มข้น 0.500 (mg/mL)

จากสมการ % α -glucosidase inhibition = $[(\text{ABSblank} - \text{ABSsample})/\text{ABSblank}] \times 100$

แทนค่า เมื่อ ABSblank = 0.701

ABSsample = 0.264

% α -glucosidase inhibition = $[(0.701 - 0.264)/0.701] \times 100$

% α -glucosidase inhibition = 62.34

สารสกัดหุ้มเมล็ดเส้าที่ความเข้มข้น 0.500 (mg/mL) ครั้งที่ 1 มีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส เท่ากับ 62.34

3.4 คำนวณค่า IC_{50} ของสารสกัดหุ้มเมล็ดเส้า โดยใช้สมการเส้นตรงจากกราฟสารสกัดหุ้มเมล็ดเส้า

จากสมการ $y = 0.1297x - 2.0782$ โดย $y = 50$

แทนค่า $x = (50 + 2.0782)/0.1297$

= 401.528 $\mu\text{g/ml}$

คำนวณทั้ง 3 ครั้งและนำมาหาค่าเฉลี่ย จะได้ค่า IC_{50} ของสารสกัดหุ้มเมล็ดเส้า

4. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส (Inhibition- α -amylase assay)

4.1 ชั่งแป้งมันฝรั่ง 100 mg ละลายด้วย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 5 ml ต้มให้แป้งละลายรอให้เย็น

4.2 เตรียมสารละลาย ชั่งมันเส้า 0.01 g ละลายใน DMSO 10 ml

4.3 ผสมน้ำแป้ง 500 μl สารละลายตัวอย่าง 20 μl และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 300 μl

4.4 เตรียม 5 ppm α -Amylase โดย α -Amylase 5×10^{-6} g/1ml ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 จากนั้น เตรียม α -Amylase 100 ml โดยชั่ง α -Amylase 0.0005 g ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 100 ml

4.5 นำมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งและหาค่า IC_{50}

จากสมการ % α -glucosidase inhibition = $[(\text{ABSblank} - \text{ABSsample})/\text{ABSblank}] \times 100$

แทนค่า เมื่อ ABSblank = 0.484

ABSsample = 0.363

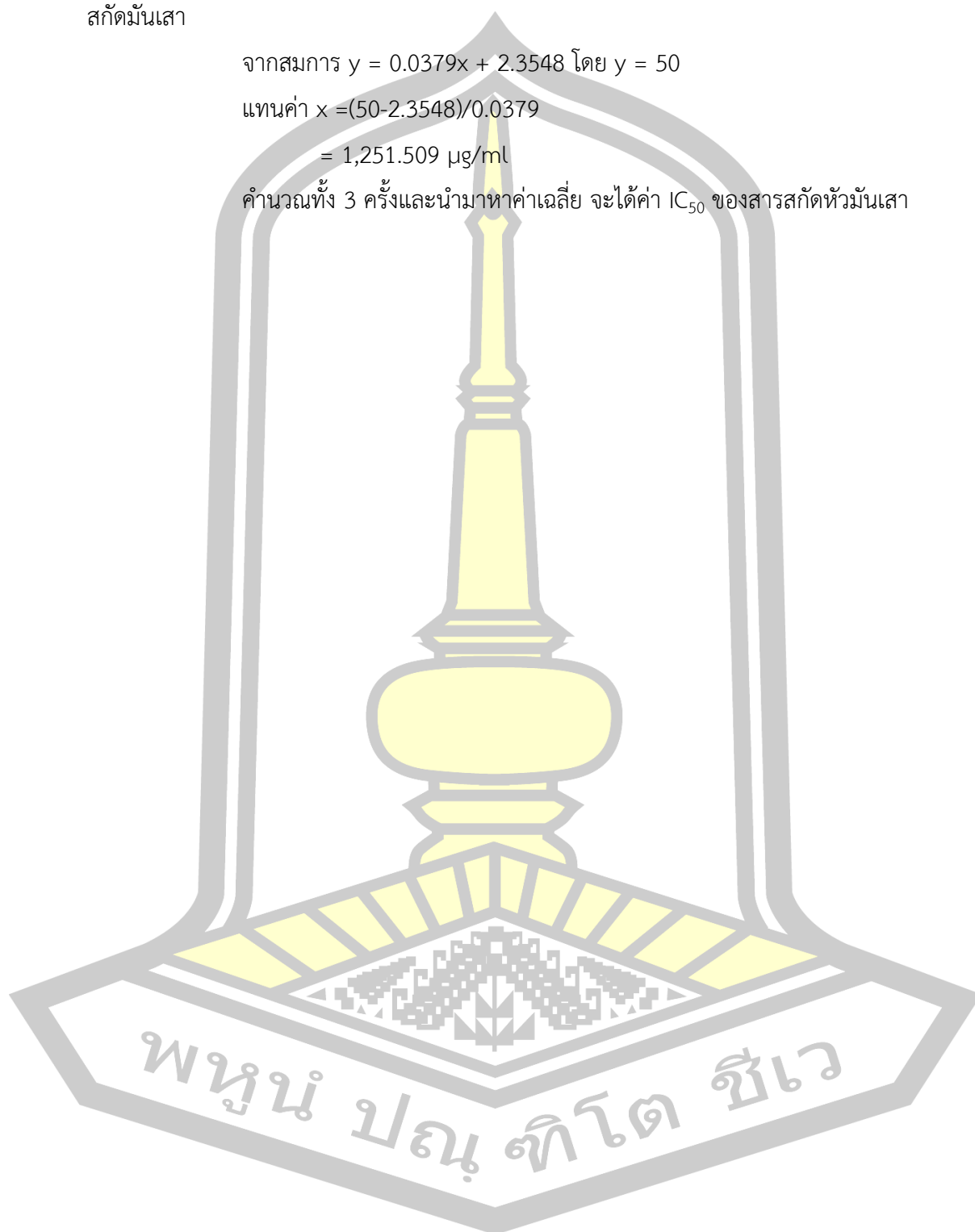
% α -amylase inhibition = $[(0.484 - 0.363)/0.484] \times 100$

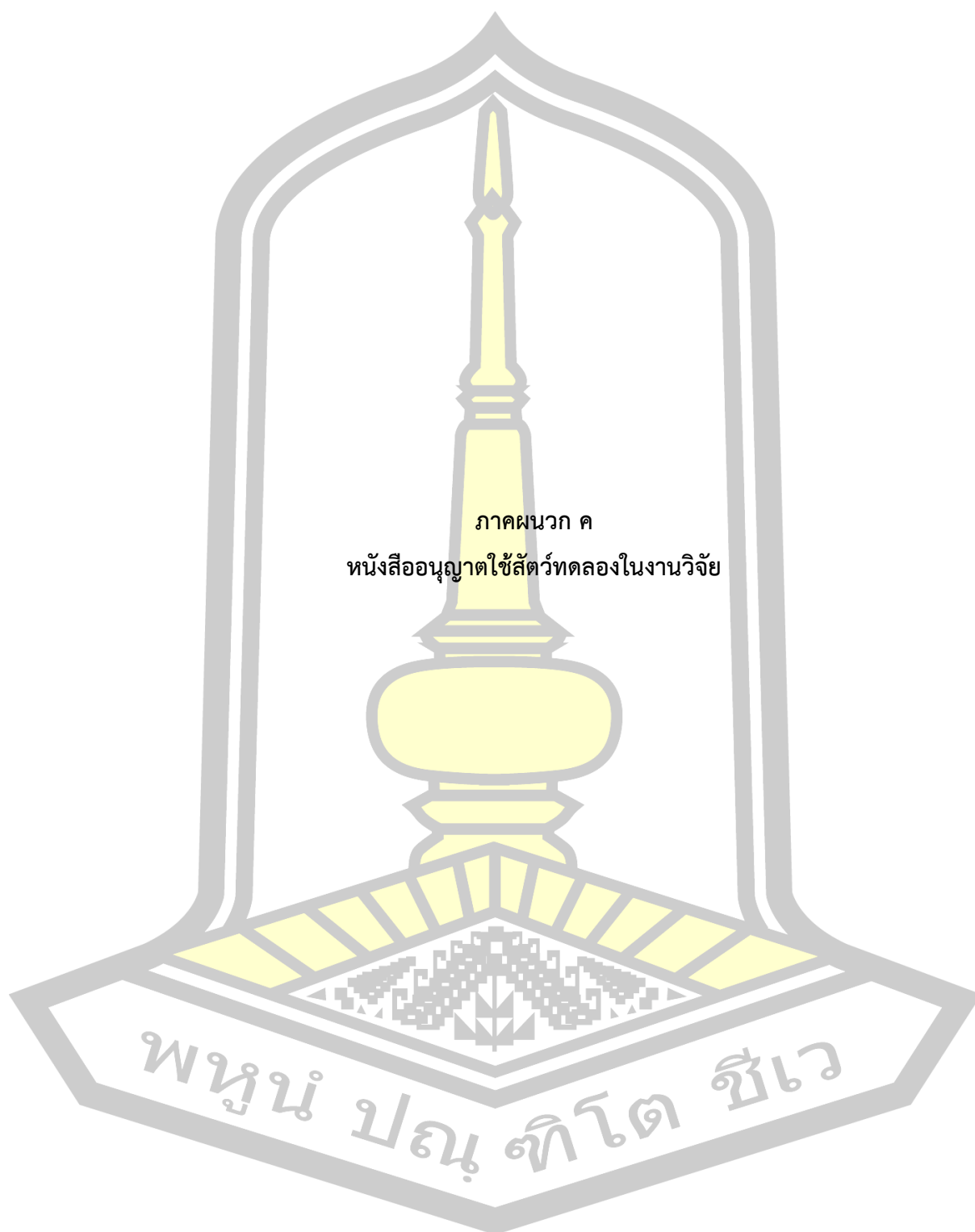
% α -amylase inhibition = 25

สารสกัดหุ้มเมล็ดเส้าที่ความเข้มข้น 0.500 (mg/mL) ครั้งที่ 1 มีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เท่ากับ 25

3.4 คำนวณค่า IC₅₀ ของสารสกัดหัวมันเสา โดยใช้สมการเส้นตรงจากกราฟสาร

สกัดมันเสา

จากสมการ $y = 0.0379x + 2.3548$ โดย $y = 50$ แทนค่า $x = (50 - 2.3548) / 0.0379$ $= 1,251.509 \mu\text{g/ml}$ คำนวณทั้ง 3 ครั้งและนำมาหาค่าเฉลี่ย จะได้ค่า IC₅₀ ของสารสกัดหัวมันเสา



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บัณฑิตศึกษา

44
19 ม.ค. 62
15-43-4

บัณฑิตศึกษา
37/3062
19.12.61

บันทึกข้อความ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หน่วยงาน ฝ่ายพัฒนาและส่งเสริมการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา โทรศัพท์ 4753 โทรสาร 4750
ที่ ศธ 5621(5)/ 116 วันที่ 10 มกราคม 2562
เรื่อง ใบอนุญาตให้ใช้สัตว์

① เรียน คณะบดีสำนักวิชาวิทยาศาสตร์ (ผ่านหัวหน้าสถานวิจัย)

ตามที่สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ ได้ส่งแบบขออนุญาตใช้สัตว์ของโครงการวิจัยเรื่องฤทธิ์ต้านเบาหวานและฤทธิ์เอสโตรเจนของสารสกัดหัวมันเสา *Diocorea alata* L. ในหนูตัดรังไข่ที่เหนียวมาให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 รหัสโครงการ 35/2562 โดยมี นางสาวชนากร คุณวงศ์ เป็นหัวหน้าโครงการ และมี รศ. สพญ. ดร. ศจีรา คุปพิทยานันท์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา เพื่อให้คณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์พิจารณา

บัดนี้ คณะกรรมการฯ ได้มีมติอนุมัติให้ใช้สัตว์ตามที่เสนอขอ พร้อมกันนี้ได้ส่งใบอนุญาตให้ใช้สัตว์ เลขที่ A-5/2562 ของโครงการดังกล่าว มาด้วยแล้ว

จึงเรียนมาเพื่อโปรดแจ้งให้ผู้เกี่ยวข้องทราบต่อไป

(รองศาสตราจารย์ ดร. พีระพงษ์ อุฑารสกุล)
ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา
ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

② เรียน คณะบดีสำนักวิชาวิทยาศาสตร์

เพื่อโปรดทราบ

ช.ก.อุทก

19 ม.ค. 62

พรวิฑาร

19 ม.ค. 62

③ เรียน หัวหน้าสาขาวิชา

เพื่อโปรดทราบ พล.พิงภท

ช.ก.อุทก

19 ม.ค. 62

④ เรียน รศ. สพญ. ดร. ศจีรา

เพื่อโปรดทราบ

ช.ก.อุทก

19 ม.ค. 62

ภาพประกอบ 10 ใบอนุญาตใช้สัตว์ในงานวิทยาศาสตร์

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวชนาภร คุณวงศ์
วันเกิด	21 ตุลาคม 2537
สถานที่เกิด	อำเภอสว่างแดนดิน
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	69 หมู่ 5 ตำบลค้อใต้ อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร 47110
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2549 จบชั้นประถมศึกษาปีที่ 6 ที่โรงเรียนคำเจริญวิทยา อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร พ.ศ. 2552 จบชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น ที่โรงเรียนสว่างแดนดิน อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร พ.ศ. 2556 จบชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย ที่โรงเรียนสว่างแดนดิน อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร พ.ศ. 2560 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา (วท.บ.ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม พ.ศ. 2563 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา (วท.ม.ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม
ทุนวิจัย	-
ผลงานวิจัย	-

พูนุ่ ปณุ่ ทีโตะ ชีเว