Research Article

Received: May 25, 2018; Accepted: June 11, 2018

ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอล

Alpha-Amylase Inhibition and Antioxidant Activities of Ethanolic Crude Extract of *Ficus racemosa* Linn. Fruit

เบญจมาศ คุชนี*, อัจฉรา พรมลารักษ์, ชญาณ์พิมพ์ บุญชู,
ธนาวุธ เขาดี, บุญญวัฒน์ บุญระดม, วณิชชกร สิงห์บรรณ,
อชิดา จารุโชติกมล และปวิตรา พูลบุตร

หน่วยปฏิบัติการวิจัยเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

Benjamart Cushnie*, Autchara Promlaruk, Chayapim Boonchoo,
Wanitchakorn Singban, Thanawut Khaodee, Boonyawat Boonradom,
Achida Jaruchotikamol and Pawitra Pulburt

Pharmaceutical chemistry and natural products research unit, Faculty of Pharmacy,
Mahasarakham University, Khamriang, Kantarawichai, Maha Sarakham 44150

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานเกิดจากความผิดปกติของระบบเมแทบอลิซึม ซึ่งนำไปสู่ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเรื้อรัง ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนของอวัยวะสำคัญ ได้แก่ ไต จอประสาทตา หัวใจ เป็นต้น โดยมักสัมพันธ์กับการสร้างสารอนุมูลอิสระมากขึ้น การยับยั้งเอนไซม์ที่ช่วยย่อยอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตในระบบทางเดินอาหาร เช่น เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยชะลอการย่อยคาร์โบไฮเดรตและลดระดับน้ำตาลในเลือดหลังมื้ออาหารได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพร (*Ficus racemosa* Linn.) ด้วยเอทานอล โดยทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสใช้วิธีการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (DNS method) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี DPPH, ABTS และวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี FRAP ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 84.02±3.17 (ที่ความเข้มข้น 20 μg/mL) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.44±0.23 μg/mL และยังพบว่าสารสกัดหยาบมีศักยภาพในการต้านออกซิเดชัน ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 128.84±52.89 μg/mL และวิธี ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** benjamart.w@msu.ac.th **doi:** 10.14456/tstj.2019.75

30.21±2.42 μg/mL ส่วนการทดสอบด้วยวิธี FRAP มีค่า FRAP value เท่ากับ 0.58±0.03 mM Fe^{2+}/mg ของสารสกัดหยาบ สรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรมีฤทธิ์ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและต้านออกซิเดชัน อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องศึกษาสารพฤกษเคมีที่สำคัญของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ดังกล่าว และศึกษาในมนุษย์เพิ่มเติม เพื่อยืนยันสมบัติของสารสกัดหยาบของผลมะเดื่ออุทุมพรในการบำบัดโรคเบาหวาน

คำสำคัญ : ผลมะเดื่ออุทุมพร; เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส; สารต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder which can lead to chronic hyperglycemia. Diabetes impairs blood vessels and increases the risk of chronic kidney disease, vision loss and heart attack. The increase of free radical production is commonly related to these complications. Inhibition of carbohydrate hydrolyzing enzymes such as α-amylase, in the gastrointestinal tract can be an effective strategy to slow down dietary carbohydrate digestion and also reduce postprandial hyperglycemia. The objectives of this study were to investigate the α-amylase inhibition activity of *Ficus racemosa* Linn. fruit ethanolic extract (FRFE) and to determine its antioxidant capacity. The extract was determined for α-amylase inhibitory effect by 3,5 dinitrosalicylic (DNS) method, and for antioxidant potentials by radical scavenging capacity assay (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH) and 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, ABTS), and ferric ion reducing power assay (FRAP). In DNS method, the highest inhibitory effect of the extract against α-amylase was 84.02±3.17 % at 20 μg/mL with the IC_{50} value of 7.44±0.23 μg/mL. In DPPH and ABTS assays, FRFE had IC_{50} value of 128.84±52.89 μg/mL and 30.21±2.42 μg/mL, respectively. In FRAP assay, FRFE had FRAP value of 0.58±0.03 mM Fe^{2+}/mg dried extract weight. In conclusion, FRFE demonstrated an α-amylase inhibitory activity and antioxidant potentials. However, this study suggests that it would be further investigated, especially active the therapeutically ingredients of this extract as well as clinical study to develop a novel anti-diabetic drug.

Keywords: fruit of Ficus racemose; α-amylase; antioxidant

1. บทนำ

โรคเบาหวาน (diabetes mellitus) เป็นโรคเรื้อรังที่พบบ่อยและเป็นปัญหาที่สำคัญต่อภาวะสุขภาพของคนทั่วโลก โรคนี้เกิดจากความผิดปกติของระบบเมแทบอลิซึม (metabolic disorder) โดยสัมพันธ์กับความผิดปกติของเบต้าเซลล์ของตับอ่อน (pancreatic α-cell dysfunction) หรือร่างกายมีการตอบสนองต่ออินซูลินที่ลดลง หรือมีภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) ทำให้มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) ส่งผลให้เนื้อเยื่อของร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลไปใช้เป็นพลังงานได้ [1] ในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องและ

เหมาะสม ทำให้มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเรื้อรัง ก่อให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ (free radical) เพิ่มขึ้น เช่น superoxide anion, hydrogen peroxide นอกจากนี้ยังทำให้สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในร่างกายมีประสิทธิภาพลดลง เช่น catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase นำไปสู่ภาวะ oxidative stress [2] ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนของอวัยวะสำคัญ ได้แก่ โรคไตวายเรื้อรัง จอประสาทตาเสื่อม โรคหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน ความผิดปกติของระบบประสาทส่วนปลาย เป็นต้น อันเป็นผลมาจากอนุมูลอิสระทำลายชีวโมเลกุลในร่างกาย [3] โดยทั่วไปพบว่าการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคเบาหวานเกิดจากโรคแทรกซ้อนเป็นส่วนใหญ่ หลักการรักษาโรคเบาหวานที่สำคัญประการหนึ่ง คือ การลดระดับน้ำตาลในเลือดหลังมื้ออาหาร (post-prandial glucose) ทั้งนี้อาศัยหลักการยับยั้งเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตเพื่อลดการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่ร่างกาย เอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เอนไซม์ α-amylase (จากตับอ่อน) และเอนไซม์ α-glucosidase (จากลำไส้เล็ก) ตัวอย่างยาที่ใช้ทางคลินิกรักษาโรคเบาหวานที่มีผลยับยั้งการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตในลำไส้ ได้แก่ acarbose, miglitol, voglibose เป็นต้น ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase เป็นหลักและยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ α-amylase อีกด้วย [4] เอนไซม์ α-amylase เป็นอีกเอนไซม์หนึ่งที่ได้รับความสนใจศึกษาในการลดระดับน้ำตาลในเลือดหลังมื้ออาหาร เนื่องจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้จะช่วยชะลอการสลายคาร์โบไฮเดรต ทำให้ร่างกายดูดซึมน้ำตาลลดลง ส่งผลให้ระดับกลูโคสในกระแสเลือดลดลง [5]

มะเดื่ออุทุมพรหรือมะเดื่อชุมพร (*Ficus racemosa* Linn.) เป็นพืชในวงศ์ Moraceae จัดเป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดกลาง ทรงพุ่มกว้าง มีถิ่นกำเนิดครอบคลุมในเขตร้อนของทวีปเอเชีย โดยส่วนต่าง ๆ ของมะเดื่ออุทุมพรนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารและเครื่องดื่ม ในประเทศไทยมีการนำมะเดื่ออุทุมพรมาใช้ในตำรับยาไทยโบราณของแพทย์แผนไทย เช่น รากนำไปทำตำรับยาห้ารากหรือเบญจโลกวิเชียร ใช้ฤทธิ์แก้ไข้ แก้ปวด แก้ไข้มาลาเรีย ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ ต้านอนุมูลอิสระ [6] ยานี้ยังได้รับการบรรจุไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติ [7] สารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของมะเดื่ออุทุมพรได้รับความสนใจในการทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดและต้านออกซิเดชัน งานวิจัยของ Veerapur และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นมะเดื่ออุทุมพรในหนูขาวเพศผู้ที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยการให้ streptozotocin (25 mg/kg) และหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง (insulin resistance) พบว่าสารสกัดหยาบดังกล่าวสามารถลดระดับน้ำตาลและระดับอินซูลินในเลือด นอกจากนี้ยังทำให้เกิดภาวะ insulin resistance ลดลง [8] กลุ่มนักวิจัยของ Jain และคณะทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากเปลือกรากและแก่นรากมะเดื่ออุทุมพรด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดหยาบจากแก่นรากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีกว่าเปลือกรากและสารมาตรฐานวิตามินซี โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.49, 5.80 และ 5.27 μg/mL ตามลำดับ [9]

ในอดีตผลของมะเดื่ออุทุมพรนำมาใช้ในการรักษาท้องร่วง ขับพยาธิในลำไส้ ระบบเลือดผิดปกติ สมานแผล ปัจจุบันมีนักวิจัยให้ความสนใจศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ของผลของมะเดื่ออุทุมพร ได้แก่ ต้านจุลชีพ ต้านอักเสบ ต้านมะเร็ง ลดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น พบรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผลของมะเดื่ออุทุมพร ประกอบด้วย tetracyclic triterpenes (เช่น gluanol acetate), lupeol acetate, phytosterols (ß-sitosterol,

taraxasterol) [10] ส่วน ภัทรา และนาฏศจี พบว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α-glucosidase มีค่า IC_{50} เท่ากับ 93 μg/mL [11] ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจว่าสารสกัดหยาบนี้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ด้วยหรือไม่ เพราะถ้าสารสกัดหยาบนี้มีฤทธิ์ยับยั้งทั้งเอนไซม์ α-glucosidase และ α-amylase จะทำให้มีสมบัติคล้ายคลึงกับยาปัจจุบันที่ใช้รักษาโรคเบาหวานในทางคลินิก ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์ในการลดหรือป้องกันการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคสได้ดี ได้แก่ acarbose, miglitol, voglibose เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ยาในกลุ่มนี้มีข้อเสีย คือ ถ้าใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดพิษต่อตับ และเกิดอาการไม่พึงประสงค์ของระบบทางเดินอาหาร เช่น คลื่นไส้ ท้องอืด ท้องเฟ้อ อุจจาระร่วง [1] ซึ่งอาการเหล่านี้มีโอกาสเกิดขึ้นได้สูงในผู้ป่วยโรคเบาหวาน เนื่องจากโรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังต้องใช้ยารักษาเป็นเวลานาน อีกทั้งผู้ป่วยมักได้รับยาอื่นร่วมด้วยหลายชนิด ด้วยเหตุนี้ถ้าสามารถค้นพบสมุนไพรที่ได้จากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด จะช่วยลดอาการข้างเคียงหรืออาการไม่พึงประสงค์ต่อร่างกายได้ และถ้าสมุนไพรที่สนใจนั้นมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันร่วมด้วย จะทำให้ยิ่งเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโดยลดโรคแทรกซ้อนของอวัยวะสำคัญที่อาจรุนแรงถึงชีวิตได้

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยวิธี 3,5 dinitrosalicylic (DNS)

2.2 ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยวิธี radical scavenging capacity assay [(2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH และ 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS] และ ferric ion reducing power assay (FRAP)

3. วิธีการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพร

นำผลสดทั้งลูกของมะเดื่ออุทุมพร (*Ficus racemosa* Linn.) มาอบจนแห้งที่อุณหภูมิ 40 °C จากนั้นนำมาบดจนเป็นผงละเอียด นำผงแห้งของผลมะเดื่ออุทุมพรหมักใน 80 % ethanol ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator และทำให้เป็นผงแห้งโดยใช้ freeze dryer เก็บตัวอย่างสารสกัดหยาบ (ethanolic crude extract) ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อใช้วิเคราะห์ต่อไป

3.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ด้วยวิธี DNS

การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของ maltose ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยารีดักชันของ 3,5-DNS color reagent โดยดัดแปลงวิธีของ Ali และคณะ [12] เตรียมเอนไซม์ porcrine pancreatic α-amylase (4 °C) ความเข้มข้น 4 U/mL ละลายใน deionized water ปริมาตร 200 μL ผสมกับสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 2-100 μg/mL ปริมาตร 40 μL แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย soluble starch ความเข้มข้น 0.5 % (w/v) ปริมาตร 400 μL และ deionized water ปริมาตร 160 μL แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 3 นาที ก่อนเติม 3,5-DNS color reagent ปริมาตร 100 μL จึงนำไปต้มที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วเติม deionized water ปริมาตร 500 μL เพื่อให้ได้สีที่สามารถวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงได้ จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ 200 μL ลงใน 96-well microplate เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของ maltose ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยารีดักชันของ 3,5-DNS color reagent นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 nm โดยคำนวณค่า % inhibition of α-amylase ดังสมการ

% inhibition of α-amylase = $\{[A_{control} - (A_{sample} - A_{blank})] \div A_{control}\} \times 100$

เมื่อ $A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (สารละลาย 3,5-DNS color reagent และ 0.1 % DMSO); A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (สารละลาย 3,5-DNS color reagent และสารสกัดหยาบหรือสารมาตรฐาน); A_{blank} = ค่าการดูดกลืนแสงของ blank (deionized water ไม่มีสารละลาย 3,5-DNS color reagent และสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ)

เมื่อได้ค่า % inhibition of α-amylase แล้วหาค่า half maximal inhibitory concentration (IC_{50}; หน่วย μg/mL) โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition of α-amylase และสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป GraphPad Prism เวอร์ชัน 5.0 เมื่อค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้ค่า % inhibition of α-amylase ลดลงครึ่งหนึ่งจากค่ายับยั้งสูงสุด ถ้าค่า IC_{50} น้อยแสดงว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ได้ดี การศึกษานี้ใช้เมล็ดข้าวสาลี (*Triticum aestivum*; wheat seed α-amylase inhibitor) 20 U/mL เป็นสารมาตรฐานหรือเป็นสารควบคุมบวก เพราะมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase [12]

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging activity) โดยดัดแปลงวิธีของ Blois และคณะ [13] เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.15 mM ที่ละลายด้วยเอทานอล ปริมาตร 100 μL ผสมกับสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 25-300 μg/mL หรือสารมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic acid) ความเข้มข้น 1-20 μg/mL ปริมาตร 100 μL เขย่าให้เข้ากันใน 96-well microplate ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยคำนวณค่า % radical scavenging activity ดังสมการ

% DPPH radical scavenging activity = $\{[A_{control} - (A_{sample} - A_{blank})] \div A_{control}\} \times 100$

เมื่อ $A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (สารละลาย DPPH และ 0.1 % DMSO); A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (สารละลาย DPPH และสารสกัดหยาบหรือสารมาตรฐาน); A_{blank} = ค่าการดูดกลืนแสงของ blank (เอทานอลที่ไม่มีสารละลาย DPPH และสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2′-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS radical scavenging activity) โดยดัดแปลงวิธีของ Re และคณะ [14] เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM ใน deionized water ผสมกับ dipotassium peroxodisulfate ความเข้มข้น 2.45 mM ในอัตราส่วน 1 : 0.5 บ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเอทานอลและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.70 (±0.02) และเตรียมสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 25-300 μg/mL หรือสารมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 1-20 μg/mL

ปริมาตร 20 μL ผสมกับสารละลาย ABTS ปริมาตร 180 μL เขย่าให้เข้ากันใน 96-well microplate ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยคำนวณค่า % radical scavenging activity เช่นเดียวกับวิธี DPPH

หลังจากได้ค่า % radical scavenging activity จากทั้งวิธี DPPH และ ABTS นำไปหาค่า IC_{50} โดยการสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่าง % radical scavenging activity และสารสกัดหยาบ หรือสารมาตรฐานวิตามินซีที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป GraphPad Prism เวอร์ชัน 5.0 เมื่อค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงครึ่งหนึ่งจากค่ายับยั้งสูงสุด ถ้าค่า IC_{50} น้อยแสดงว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี และเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดหยาบในการต้านอนุมูลอิสระที่สมมูลกับวิตามินซีในหน่วย mg ของวิตามินซี/mg ของสารสกัดหยาบ เรียกว่า vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC)

3.4 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP

การวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันในการส่งผ่านอิเล็กตรอนให้กับอนุมูลต่าง ๆ ด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) โดยทดสอบว่าสารตัวอย่างนั้นสามารถรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyltriazine) หรือไม่ ถ้าสารใดมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระจะได้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{2+}-TPTZ (ferrous tripyridyltriazine) โดยดัดแปลงวิธีของ Benzie และคณะ [15] เตรียมสารละลาย FRAP โดยมีส่วนประกอบของ acetate buffer : ferric chloride : TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine) ในอัตราส่วน 10 : 1 : 1 ปริมาตร 175 μL ผสมกับสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 2.5-120 μg/mL หรือสารมาตรฐานวิตามินซีที่ความเข้มข้น 1-15 μg/mL ปริมาตร 25 μL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 593 nm คำนวณการต้านออกซิเดชันรายงานผลเป็น FRAP value (หน่วยเป็น mM of Fe^{2+}/mg ของสารทดสอบ) โดยเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน ferrous sulfate ($FeSO_4.7H_2O$) ถ้ามีค่ามากแสดงว่ามีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระสูง และเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดหยาบในการรีดิวซ์เฟอร์ริกที่สมมูลกับวิตามินซีในหน่วย mg ของวิตามินซี/mg ของสารสกัดหยาบ (VCEAC)

3.5 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้ทุกการทดลองได้ทดสอบแบบเป็นอิสระต่อกัน 3 ครั้ง รายงานผลการคำนวณ IC_{50}, VCEAC และ FRAP value แสดงเป็นค่า mean± standard derivation (SD) ในการคำนวณหาค่า IC_{50} ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป GraphPad Prism เวอร์ชัน 5.0 ส่วนค่า % inhibition of α-amylase และ % radical scavenging activity แสดงเป็นค่า mean±standard error of the mean (SEM)

4. ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ด้วยวิธี DNS

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ด้วยสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรที่ความเข้มข้น 2-100 μg/mL พบว่าที่ความเข้มข้น 20 μg/mL มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้สูงสุดถึงร้อยละ 84.02±3.17 ส่วนที่ความเข้มข้น 50 และ 100 μg/mL มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ประมาณร้อยละ 83 แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 20 μg/mL โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.44±0.23 μg/mL ส่วนสารมาตรฐานเมล็ดข้าวสาลี 20 U/mL มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ร้อยละ 52.96±8.47 แสดงว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรที่ความเข้มข้น 10-100 μg/mL มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ได้มากกว่าเมล็ดข้าวสาลี (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรที่ความเข้มข้น 0-100 μg/mL (n = 3)

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบผลมะเดื่ออุทุมพร (μg/mL)	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase (mean±SEM)
2	31.99±3.78[a]
5	43.99±11.58[a,b]
10	67.79±4.47[b]
20	84.02±3.17[c,d]
50	82.80±1.82[c,d]
100	82.99±11.54[c,d]

a, b, c และ d ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบด้วยสถิติ one-way ANOVA และ Turkey post hoc

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของภัทรา และนาฏศจี ที่พบว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α-glucosidase [11] และเมื่อเปรียบเทียบทั้ง 2 งานวิจัย อาจกล่าวได้ว่าสารสกัดหยาบนี้มีความสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α-amylase (IC_{50} เท่ากับ 7.44±0.23 μg/mL) ได้ดีกว่าเอนไซม์ α-glucosidase (IC_{50} เท่ากับ 93 μg/mL) โดยปกติเอนไซม์ α-amylase จากตับอ่อนจะย่อยแป้งที่ตำแหน่ง α-1,4-glycodidic linkage ได้เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้น ๆ และน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น maltose จากนั้นถูกย่อยโดยเอนไซม์ α-glucosidase จากลำไส้เล็กต่อไปจนได้น้ำตาลกลูโคส แล้วจึงถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด [4] การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองจะช่วยลดการย่อยคาร์โบไฮเดรต ทำให้การดูดซึมน้ำตาลกลูโคสจากลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดลดลง ลดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงหลังมื้ออาหาร (postprandial hyperglycemia) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดหยาบนี้มีความน่าสนใจในการพัฒนาเป็นยารักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ต่อไป

นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยในสัตว์ทดลองของ Hasan และคณะ [16] และ Zulfiker และคณะ [17] ซึ่งพบว่าการให้สารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอลในหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วย alloxan ทำให้ลดระดับน้ำตาลในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม Amin และคณะ รายงานว่าองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากผลของมะเดื่ออุทุมพรประกอบด้วย lupeol, β-sitosterol, taraxasterol, glauanol, glauanol acetate, tiglic acid, tannins, steroids, phenolics, flavonoids, alkaloids [18] ซึ่งสารออกฤทธิ์เหล่านี้หลายชนิดมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด [19] โดยเฉพาะอย่างยิ่ง lupeol และ β-sitosterol ที่พบในสารสกัดหยาบจากผลของมะเดื่ออุทุมพรนั้นมีฤทธิ์ต่อเอนไซม์ α-amylase กล่าวคือ Ali และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่า lupeol (5 μg/mL) ซึ่งอยู่ในกลุ่ม triterpenoids สามารถยับยั้งเอนไซม์ α-amylase เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม [12]

ส่วนกลุ่มวิจัยของ Rathinavelusamy และคณะ ได้ทดสอบด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (*in silico* study) พบว่า β-sitosterol ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ได้เป็นอย่างดี โดยมีค่า Ki เท่ากับ 269.3 nmol จากการเกิดอันตรกิริยาด้วยสองพันธะของไฮโดรเจน [20] ถึงแม้ว่าปัจจุบันยังไม่มีรายงานการต้านฤทธิ์เอนไซม์ α-amylase ในตับอ่อนด้วย β-sitosterol โดยตรง แต่จากข้อมูลเบื้องต้นอาจกล่าวได้ว่าฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผลของมะเดื่ออุทุมพรที่มีต่อเอนไซม์จากงานวิจัยในครั้งนี้มีแนวโน้มว่าเป็นผลของ lupeol และ β-sitosterol

4.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS

ผลการทดสอบทั้ง 2 วิธี รายงานผลเป็นค่า IC_{50} และค่า VCEAC (ตารางที่ 2) ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรที่ความเข้มข้น 25-300 μg/mL พบว่ามีร้อยละการยับยั้งอยู่ในช่วง 31.99±3.78 ถึง 73.11±5.03 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 128.84±52.89 μg/mL ส่วน IC_{50} ของสารมาตรฐานวิตามินซี มีค่าเท่ากับ 8.62±0.43 μg/mL และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดหยาบในการต้านออกซิเดชันที่สมมูลกับวิตามินซี พบว่ามีค่า VCEAC เท่ากับ 0.08±0.03 mg ของวิตามินซี/mg ของสารสกัดหยาบ แสดงว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ถึงแม้จะมีค่าน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรมีผลการศึกษาในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบด้วยวิธี DPPH กล่าวคือ ที่ความเข้มข้น 25-300 μg/mL พบว่ามีร้อยละการยับยั้งอยู่ในช่วง 42.09±3.81 ถึง 99.88±0.10 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 30.21±2.42 μg/mL ขณะที่ IC_{50} ของสารมาตรฐานวิตามินซี มีค่าเท่ากับ 5.89±0.16 μg/mL และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดหยาบในการต้านออกซิเดชันที่สมมูลกับวิตามินซี พบว่ามีค่า VCEAC เท่ากับ 0.31±0.05 mg ของวิตามินซี/mg ของสารสกัดหยาบ แสดงว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ถึงแม้จะมีค่าน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการทดลองด้วยวิธี DPPH

4.3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP

การวัดความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดหยาบด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรที่ความเข้มข้น 2.5 - 120 μg/mL

ตารางที่ 2 ค่า IC_{50} และ VCEAC ของสารสกัดหยาบผลมะเดื่ออุทุมพรและสารมาตรฐานวิตามินซีด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP (n = 3)

	IC_{50} (mean±SD) μg/mL		VCEAC (mean±SD) mg ของวิตามินซี/mg สารสกัดหยาบ		
	วิธี DPPH	วิธี ABTS	วิธี DPPH	วิธี ABTS	วิธี FRAP
สารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพร	128.84±52.89[a]	30.21±2.42[a]	0.08±0.03	0.31±0.05	0.08±0.01
สารมาตรฐานวิตามินซี	8.62±0.43[b]	5.89±0.16[b]			

a และ b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบด้วยสถิติ one-way ANOVA และ Turkey post hoc

พบว่ามีค่า FRAP value เท่ากับ 0.58±0.03 mM Fe^{2+}/mg ของสารสกัดหยาบ ขณะที่สารมาตรฐานวิตามินซีมีค่า FRAP value เท่ากับ 7.26±0.87 mM Fe^{2+}/mg ของสารสกัดหยาบ และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบในการต้านออกซิเดชันที่สมมูลกับวิตามินซี พบว่ามีค่า VCEAC เท่ากับ 0.08±0.01 mg ของวิตามินซี/mg ของสารสกัดหยาบ (ตารางที่ 2)

งานวิจัยนี้เลือกทดสอบสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavenging) ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีหลักการง่าย สะดวก และรวดเร็ว ทั้ง DPPH และ ABTS เป็นอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างเสถียร โดยอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลแล้ว ไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ จะวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอม ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ซึ่งเป็นสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็คตรอน ช่วยให้สภาวะอนุมูลอิสระหมดไป โดยทั้ง 3 วิธี เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในแต่ละวันร่างกายได้รับอนุมูลอิสระจากทั้งภายในร่างกาย (เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยมีออกซิเจนเป็นตัวเร่ง ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในการฆ่าเชื้อโรคของเซลล์เม็ดเลือดขาว) และภายนอกร่างกาย (เช่น การได้รับรังสียูวี มลพิษในอากาศ ควันบุหรี่ สารเคมีในอาหาร ยารักษาโรคบางชนิด) ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงมีหน้าที่ป้องกันการก่อตัวของอนุมูลอิสระ ช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระที่มีผลไปทำลายเซลล์ ต่าง ๆ ในร่างกาย

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรมีรายงานค่อนข้างจำกัด งานวิจัยของ Sumi และคณะ ได้ทดสอบสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเมทานอลโดยวิธี DPPH ซึ่งพบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.59 μg/mL และสารมาตรฐานวิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.15 μg/mL [21] จะเห็นได้ว่ามีค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานวิตาซีใกล้เคียงกับการศึกษาครั้งนี้ แต่สารสกัดหยาบด้วยเมทานอลมีค่า IC_{50} ที่ดีกว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล ขณะที่งานวิจัยของ Ramana และคณะ ได้ทดสอบสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอลด้วยวิธีเดียวกัน พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 81.00±0.02 μg/mL แต่ไม่ได้เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี [22] ซึ่งค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบมีค่าแตกต่างจากงานวิจัยนี้เพียงเล็กน้อย ปัจจุบันยังไม่พบรายงานวิจัยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยวิธี ABTS แต่เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นของมะเดื่ออุทุมพร เช่น งานวิจัยของ Veerapur และคณะ ซึ่งได้ทดสอบสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอลด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดหยาบมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.29 μg/mL และสารมาตรฐานวิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.64 μg/mL [23] ส่วนการศึกษาครั้งนี้มีค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบและสารมาตรฐานวิตามินซีเท่ากับ 30.21±2.42 μg/mL และ 5.89±0.16 μg/mL ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนระหว่าง IC_{50} ของสารสกัดหยาบและสารมาตรฐานวิตามินซีในการต้านอนุมูลอิสระของงานวิจัย Veerapur และคณะ กับการศึกษาครั้งนี้ คิดเป็น 2.5 และ 5 เท่า ตามลำดับ

ส่วนผลการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพร มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sumi และคณะ ที่ได้ทดสอบด้วยวิธี reducing power assay สารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเมทานอล โดยรายงานผลเป็นค่า % reduction พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้น

ของสารสกัดหยาบทำให้เพิ่มค่า % reduction แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการรีดิวซ์หรือให้อิเล็กตรอนของสารทดสอบที่มากขึ้น [21] ส่วนงานวิจัยครั้งนี้ทดสอบด้วยวิธี FRAP ประเมินการเปลี่ยน Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} โดยใช้ $FeSO_4 \bullet 7H_2O$ เป็นสารมาตรฐานและแสดงผลเป็นค่า FRAP value อย่างไรก็ตาม พบว่ามีแนวโน้มการเกิดรีดิวซ์ หรือมีการให้อิเล็กตรอนเพิ่มมากขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารทดสอบเช่นกัน (concentration-dependent manner) อีกทั้งผู้วิจัยได้เปรียบเทียบความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบในการต้านออกซิเดชันที่สมมูลกับวิตามินซี ซึ่งได้ค่า VCEAC จากวิธี FRAP ใกล้เคียงกับการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ 0.08±0.03, 0.31±0.05 และ 0.08±0.01 mg ของวิตามินซี/mg ของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการศึกษานี้มีมาตรฐานที่ดี

ข้อมูลข้างต้นได้แสดงให้เห็นการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรในหลอดทดลอง (*in vitro*) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) Ramana และคณะพบว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอลขนาด 100 และ 200 mg/kg สามารถลดการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation (วัดระดับ malondialdehyde) ในหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย carbon tetrachloride (CCl_4) เป็นเวลา 14 วัน ทั้งยังสามารถเพิ่มระดับเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และเอนไซม์ catalase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่ช่วยต้านออกซิเดชันที่เนื้อเยื่อตับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.001$) [22] จะเห็นได้ว่าหลักการของวิธี lipid peroxidation เอนไซม์ SOD และเอนไซม์ catalase อาศัยกลไก free radical scavenging เช่นเดียวกันกับหลักการของวิธี DPPH และ ABTS ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ สารพฤกษเคมีที่พบในสารสกัดหยาบผลมะเดื่ออุทุมพรมีหลักฐานปรากฏหลากหลายกลุ่ม [18] ดังที่ได้กล่าวข้างต้น แต่จากรายงานวิจัยของ Ramana และคณะ แสดงให้เห็นว่าสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ อาจเป็นผลมาจากสารกลุ่มฟีนอลิกส์เป็นสำคัญ เนื่องจากมีปริมาณสูง 13.68 μg GAE/g ของสารทดสอบ [22]

เป็นที่ทราบกันดีว่าภาวะน้ำตาลในเลือดสูงนำไปสู่การสร้างอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยาไกลเคชันเพิ่มขึ้น อีกทั้งมีการลดลงของสารต้านออกซิเดชันทำให้เสียสมดุลของปฏิกิริยาในร่างกาย จึงส่งผลกระทบต่อเซลล์และสารชีวโมเลกุล ทำให้เกิด oxidative stress เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อต่าง ๆ นำไปสู่การเกิดโรคแทรกซ้อนและเสียชีวิตในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ดังนั้นสารที่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดและต้านอนุมูลอิสระ จัดว่าเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการป้องกันโรคและลดความรุนแรงของการเกิดโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยกลุ่มนี้ [3] ผลมะเดื่ออุทุมพรเป็นอีกสมุนไพรพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่มีความน่าสนใจ เนื่องจากมีฤทธิ์ทั้งสองดังกล่าว อีกทั้งมีความปลอดภัยในการใช้สูง โดย Deshmukh และคณะรายงานการศึกษาด้านพิษวิทยา โดยพบว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรไม่ก่อให้เกิดพิษในหนูถึงแม้จะใช้ขนาด 5g/kg ของน้ำหนักตัว [24]

5. สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase โดยสามารถยับยั้งได้ดีกว่าสารมาตรฐานเมล็ดข้าวสาลี นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่มีค่าใกล้เคียงกับสารมาตรฐานวิตามินซี ดังนั้นสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรจึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารเพื่อ

สุขภาพและโภชนเภสัชในการบำบัดโรคเบาหวานได้ อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาสารพฤกษเคมีที่สำคัญของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ดังกล่าวและศึกษาในมนุษย์เพื่อยืนยันสมบัติก่อนนำไปใช้ในทางคลินิกต่อไป

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นาฏศจี นวลแก้ว คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ นวลแก้ว คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม สำหรับตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

7. รายการอ้างอิง

[1] Kennedy, M. and Masharani, U., 2015, Pancreatic Hormones and Antidiabetic Drugs, In Katzung, B.G., Trevor, A.J. (Eds.), Basic and Clinical Pharmacology, McGraw-Hill, New York.

[2] Ullah, A., Khan, A. and Khan, I., 2016, Diabetes mellitus and oxidative stress: A concise review, Saudi. Pharm. J. 24: 547-553.

[3] Giacco, F. and Brownlee, M., 2010, Oxidative stress and diabetic complica tions, Circ. Res. 107: 1058-1070.

[4] Standl, E. and Schnell, O., 2012, Alpha-glucosidase inhibitors 2012 – cardiovas cular considerations and trial evaluation, Diab. Vasc. Dis. Res. 9: 163-169.

[5] Kim, K., Rioux, L. and Turgeon, S.L., 2014, Alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibition is differentially modulated by fucoidan obtained from *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*, Phytochemis try 98: 27-33.

[6] Nutmakul, T., Pattanapanyasat, K., Soon thornchareonnon, N., Shiomi, K., Mori, M. and Prathanturarug, S., 2016, Anti plasmodial activities of a Thai traditional antipyretic formulation, Bencha-Loga-Wichian: A comparative study between the roots and their substitutes, the stems, J. Ethnopharmacol. 193: 125-132.

[7] คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาจากสมุนไพร แนบท้ายประกาศบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2559, ประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 133 ตอนพิเศษ 86 ง., หน้า 11 , ลงวันที่ 12 เมษายน 2559.

[8] Veerapur, V.P., Prabhakar, K.R., Thippeswamy, B.S., Bansal, P., Srinivasan, K.K. and Unnikrishnan, M.K., 2012, Antidiabetic effect of *Ficus racemosa* Linn. stem bark in high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetic rats: A mechanistic study, Food Chem. 132: 186-193.

[9] Jain, R., Rawat, S. and Jain, S.C., 2013, Phytochemicals and antioxidant evalua tion of *Ficus racemosa* root bark, J. Pharm. Res. 6: 615-619.

[10] Joseph, B. and Raj, S.J., 2010, Phyto pharmacological and phytochemical properties of three Ficus species – an overview, Int. J. Pharma. Bio. Sci. 1: 246-253.

[11] ภัทรา พวงช่อ, นาฏศจี นวลแก้ว, 2556, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดพื้น

บ้าน, ว.เภสัชศาสตร์อีสาน 9(1): 218.

[12] Ali, H. and Houghton, P.J., 2006, Soumyanath A. α-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes, with particular reference to *Phyllanthus amarus*, J. Ethnopharmacol. 107: 449-455.

[13] Blois, M.S., 1958, Antioxidant determina tions by the use of a stable free radical, Nature 4617: 1199-1200.

[14] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radic. Biol. Med. 26: 1231-1237.

[15] Benzie, F.F. and Strain, J.J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of: "Antioxidant Power": The FRAP assay, Anal. Biochem. 239: 70-76.

[16] Hasan, N., Shirin, F., Khan, A.J., Mamun, A., Belal, H., Hasan, M., Islam, A., Tasnin, N., Karim, R.U., Asaduzzaman, Islam, D., Ara, T., Rahman, K.Z., Rahman, M. and Islam, M.A., 2017, Hypoglycemic, Hypolipidemic and Antibacterial Activity of *Ficus racemosa* Fruit Extract, Br. J. Pharm. Res. 16(1): 1-9.

[17] Zulfiker, A.H.M., Saha, M.R., Sarwar, S., Nahar, L., Hamid, K. and Rana, M.S., 2011, Hypoglycemic and *in vitro* antioxidant activity of ethanolic extracts of *Ficus racemose* Linn. Fruits, Am. J. Sci. Ind. Res. 2, 391-400.

[18] Amin, M., Bhakta, S. and Das, S.K., 2015, Anti-diabetic potential of *Ficus racemosa*: Current state and prospect especially in the developing countries, J. Biosci. Agric. Res. 5: 65-72.

[19] Deepa, P., Sowndhararajan, K., Kim, S. and Park, S.J., 2018, A role of *Ficus* species in the management of diabetes mellitus: A review, J. Ethnopharmacol. 215: 210-232.

[20] Rathinavelusamy, P., Mazumder, P.M., Sasmal, D. and Jayaprakash, V., 2014, Evaluation of *in silico*, *in vitro* α-amylase inhibition potential and antidiabetic activity of *Pterospermum acerifo lium* bark, Pharm. Biol. 52: 199-207.

[21] Sumi, S.A., Siraj, A., Hossain, A., Mia, S., Afrin, S. and Rahman, M., 2016, Investigation of the key pharmacological activities of *Ficus racemosa* and analysis of its major bioactive polyphenols by HPLC-DAD, Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2016: 1-9.

[22] Ramana, G., Reddya, C.S., Raob, CV., 2011, *In-vitro* and *in-vivo* anti-oxidant activity of *Ficus racemosa* Linn. fruit extract and *Aegle marmelos* root and leaf extracts, J. Pharm. Res. 4: 2078-2081.

[23] Veerapur, V.P., Prabhakar, K.R., Parihar, V.K., Kandadi, M.R., Ramakrishana, S., Mishra, B., Mishra, B., Satish Rao, B.S., Srinivasan, K.K., Priyadarsini, K.I. and

Unnikrishnan, M.K., 2009, *Ficus racemosa* stem bark extract: A potent antioxidant and a probable natural radioprotector, Evid. Based Complement. Alternat. Med. 6: 317-324.

[24] Deshmukh, T.A., Yadav, B.V., Badole, S.L., Bodhankar, S.L. and Dhaneshwar, S.R., 2007, Antihyperglycaemic activity of petroleum ether extract of *Ficus racemose* fruits in alloxan induced diabetic mice, Pharmacol. Online 2: 504-515.