

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส
ของสารสกัดหยาบกรอบพินส์

The Study of Antioxidant Activity and α -glucosidase Inhibition
of *Abutilon indicum* (L.) Sweet Crude Extract

อรัทัย สายสะอาด* รัชดาพร ในทอง และศุภษร ที่รวม
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี
*Email: Oratai_phasai@yahoo.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบส่วนรากและผลของกรอบพินส์ ซึ่งสกัดด้วยวิธีการแช่ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล และเมทานอล ใช้เวลาในการสกัด 7 วัน ได้สารสกัดหยาบทั้งหมด 6 ตัวอย่าง เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วยวิธี DPPH ผลปรากฏว่า กรณีสวนรากของกรอบพินส์ สารสกัดหยาบเมทานอลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 94.94 ± 0.032 ในขณะที่สารสกัดหยาบน้ำ แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 70.42 ± 0.015 กรณีสวนผลของกรอบพินส์ สารสกัดหยาบเมทานอลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 91.37 ± 0.028 ส่วนสารสกัดหยาบเอทานอล แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 69.50 ± 0.055 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส พบว่า กรณีสวนรากของกรอบพินส์ สารสกัดหยาบเอทานอลแสดงฤทธิ์การยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสมากที่สุด คือ ร้อยละ 56.25 ± 0.003 ในขณะที่สารสกัดหยาบน้ำ แสดงฤทธิ์การยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 31.51 ± 0.573 กรณีสวนผลของกรอบพินส์ สารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส มากที่สุด คือ ร้อยละ 60.42 ± 0.462 ส่วนสารสกัดหยาบน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส น้อยที่สุด คือ ร้อยละ 39.58 ± 0.45 ตามลำดับ

คำสำคัญ: กรอบพินส์ แอลฟาไกลูโคซิเดส DPPH ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

This research study of antioxidants activity and α -glucosidase inhibition of *Abutilon indicum* (L.) Sweet root and fruit crude extract. The maceration method was used with three solvents (water, ethanol, and methanol) and the reaction time of seven days. All six crude extracts were tested antioxidants activity and α -glucosidase inhibition. The root of *Abutilon indicum* (L.) Sweet methanol crude extract shows the highest ($94.94 \pm 0.032\%$) and water crude extract shows the lowest ($70.42 \pm 0.015\%$) antioxidants activity, respectively. Fruit of *Abutilon*

indicum (L.) Sweet methanol crude extract shows the highest (91.37±0.028%) and ethanol crude extract shows the lowest (69.50±0.055%) antioxidants activity, respectively. Root of *Abutilon indicum* (L.) Sweet ethanol crude extract shows the highest and water crude extract shows the lowest α -glucosidase inhibition of 56.25±0.003 and 31.51±0.573, respectively. Fruit of *Abutilon indicum* (L.) Sweet methanol crude extract shows the highest and water crude extract shows the lowest α -glucosidase inhibition of 60.42±0.462 and 39.58±0.451, respectively.

Keywords: *Abutilon indicum* (L.), α -glucosidase, DPPH, Antioxidant activity

บทนำ

โรคเบาหวานเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของระบบต่อมไร้ท่อซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญต่อภาวะสุขภาพของคนทั่วโลก โรคเบาหวานเป็นภาวะที่เรื้อรังที่เกิดจากพันธุกรรม และ/หรือ มีความผิดปกติของการสร้างฮอร์โมนอินซูลินจากตับอ่อน หรือจากการที่ร่างกายมีการตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลินที่ลดลง หรือมีภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) อินซูลินเป็นฮอร์โมนที่สำคัญที่สุดของร่างกายที่ช่วยรักษาระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด และการที่ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงจนถึงระดับที่เป็นโรคเบาหวานจะมีผลกระทบต่อการรักษาระดับไขมันในเลือดด้วย ดังนั้น อินซูลินจึงมีบทบาทหลักในการควบคุมความคงที่และความสมดุลของพลังงานในเลือด ควบคุมระบบการเผาผลาญในร่างกาย

โรคเบาหวานสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ ชนิดที่ 1 ร่างกายไม่สามารถสร้างอินซูลินอย่างเพียงพอ เกิดจากภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำลายเซลล์ที่สร้างอินซูลินในตับอ่อน ทำให้ร่างกายหยุดสร้างอินซูลิน ดังนั้น ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 จึงต้องฉีดอินซูลิน เพื่อควบคุมน้ำตาลในเลือด เกิดขึ้นได้กับเด็กที่อายุน้อยและมีคนจำนวนไม่น้อยเกิดเป็นเบาหวานชนิดนี้เพราะเป็นผลมาจากพันธุกรรม และชนิดที่ 2 ร่างกายสร้างอินซูลินได้ แต่เซลล์ไม่ตอบสนองต่ออินซูลิน ดังนั้น จึงต้องการอินซูลินเพิ่มมากขึ้น เบาหวานชนิดนี้เกิดขึ้นกับผู้ใหญ่อายุตั้งแต่ 40 ปีขึ้นไป ส่วนใหญ่เกิดจากพฤติกรรมการใช้ชีวิตและอาหาร การมีภาวะน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงเป็นเวลานานนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนรุนแรงทั้งระยะสั้นและระยะยาว

โรคเบาหวานเป็นสาเหตุของโรคไตเรื้อรัง (diabetic nephropathy) จอประสาทเสื่อม (diabetic retinopathy) หรือความผิดปกติของระบบประสาทส่วนปลาย (peripheral neuropathy) มีผลทำให้มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดแผลเรื้อรังซึ่งถ้าแผลติดเชื้อลุกลามอาจนำไปสู่การที่ผู้ป่วยต้องถูกตัดอวัยวะบางส่วนออก นอกจากนี้โรคเบาหวานยังเป็นปัจจัยเสี่ยงหลักของโรคหัวใจ (myocardial infarction) และเส้นเลือดสมองอุดตันอีกด้วย (วรรณิ, 2561)

เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสทำให้สามารถชะลอการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด และชะลอการเพิ่มของระดับน้ำตาลในกระแสเลือด ส่งผลในการบำบัดรักษาโรคเบาหวาน ดังนั้น การทดสอบการยับยั้งการ

ทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส จึงเป็นวิธีการเบื้องต้นในการทดสอบพืชที่จะนำมาใช้รักษาโรคเบาหวานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Damsud *et al.*, 2016)

ครอบฟันสี (*Abutilon indicum* (L.) Sweet) เป็นพืชสมุนไพรจำพวกต้น ที่มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นต่างๆ เช่น โคราช เรียก โฝงฝาง หรือ ในภาคเหนือ เรียก มะก่องข้าว ปอบแปบ คอบแคบ ขัดมอน เป็นต้น ครอบฟันสีมีประโยชน์มากมาย โดยเฉพาะในคนที่เป็นโรคเบาหวาน เป็นตัวช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดที่ดี สำหรับครอบฟันสีนั้นเป็นพืชที่มีลักษณะเป็นพุ่มไม้ขนาดเล็กซึ่งมีลำต้นสูงไม่เกิน 5 ฟุต ลำต้นตรง แตกกิ่งก้านมากพร้อมใบที่ค่อนข้างหนา กลมโต และมีขนสีขาววาวออกสลับกัน ฐานใบคล้ายหัวใจส่วนขอบใบจะหยัก โดยมีดอกเป็นสีเหลือง ออกเป็นดอกเดี่ยวจากซอกของก้านใบ ก้านดอกยาวโดยใกล้โคนดอกจะมีลักษณะเป็นรอยข้อ 1 รอย และกลีบเลี้ยงติดกันโดยเวลาดอกบานแล้วจะมีลักษณะคล้ายกับจาน ส่วนผลจะกลมเป็นกลีบๆ คล้ายพันธุ์ที่ไซส์ขาว

ต้นครอบฟันสีมีสารองค์ประกอบหลัก เช่น ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ คาร์โบไฮเดรต สเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ แทนนิน และ กรดแกแลกติก เป็นต้น (Srividya *et al.*, 2012; Mohite *et al.*, 2012) มีหลายงานวิจัยที่เคยนำครอบฟันสีไปศึกษาการลดระดับน้ำตาลในเลือด (Krisanapun *et al.*, 2009; Pant *et al.*, 2013) ด้านจุลชีพ ด้านอาการอักเสบ รักษาบาดแผล (Srividya *et al.*, 2012; Mohite *et al.*, 2012) และการต้านอนุมูลอิสระ (Yasmin *et al.*, 2010)

จากความสำคัญของครอบฟันสีข้างต้น งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบส่วนราก และ ผลของครอบฟันสีซึ่งผลที่ได้จะเป็นแนวทางในการนำสมุนไพรครอบฟันสีไปใช้เพื่อการรักษาโรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งพาอินซูลินได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนรากและผลของครอบฟันสีและศึกษาผลของสารสกัดหยาบส่วนรากและผลของครอบฟันสีต่อการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

สมุนไพรครอบฟันสีในงานวิจัยนี้ได้จากบ้านเคาะ ตำบลศรีตระกูล อำเภอชุมพวง จังหวัดศรีสะเกษ สารเคมีที่ใช้ได้แก่ เมทานอล (99.9 % เกรด AR, Carlo Erba Reagents) เอทานอล (99.9% เกรด AR, Carlo Erba) Dimethyl Sulfoxide (99.9% เกรด AR, Carlo Erba) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ DPPH (เกรด AR, Sigma-Aldrich) วิตามินซี (เกรด AR, Carlo Erba) โซเดียมคาร์บอเนต (เกรด AR, Carlo Erba) *P*-Nitrophenyl- α -D-Glucopyranoside หรือ PNP-G (เกรด AR, Sigma-Aldrich) α -glucosidase enzyme (เกรด AR, Sigma-Aldrich) Acarbose (95% เกรด AR, Acros Organics)

วิธีดำเนินการวิจัย

การสกัดสารสำคัญโดยการแช่ในตัวทำละลาย

นำรากและผลของครอบฟันสีมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปทำให้แห้งโดยการผึ่งในที่ร่มเป็นเวลา 3-5 วัน หาเปอร์เซ็นต์ความชื้น (ควรน้อยกว่า 10%) นำมาสกัดต่อโดยวิธีการแช่ในตัวทำละลายเมทานอล (99.9%) เอทานอล (99.9%) และน้ำ ในอัตราส่วนตัวอย่าง:ตัวทำละลาย เท่ากับ 1:3 (w/v) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำตัวอย่างมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สำหรับตัวทำละลาย เมทานอลและเอทานอล ส่วนตัวทำละลายน้ำใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

เป็นวิธีซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Braca และคณะ (2002) เริ่มจากการผสมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (ความเข้มข้น เริ่มต้น 0.02 mg/mL) หรือสารสกัดหยาบที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้น 5.0 mg/mL) ปริมาตร 0.2 mL กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอล (99.9%) ความเข้มข้น 0.05 mM ปริมาตร 1.8 mL ให้เข้ากัน แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) เทียบกับสารละลายมาตรฐานวิตามินซี สูตรการคำนวณดังนี้

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

เมื่อ A คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

เป็นวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Lebowitz และคณะ (1998) โดยชั่งสารสกัดหยาบมา 2.0 mg มาละลายใน DMSO เข้มข้น ปริมาตร 0.2 mL โดยจะได้สารละลายเข้มข้น 10 mg/mL จากนั้นนำไปเจือจางให้มีความเข้มข้น 4 mg/mL นำไปทดสอบการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Acarbose® เข้มข้น 10 mg/mL ซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวาน แล้วนำไปคำนวณหาร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) โดยคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}} \times 100$$

เมื่อ A_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DMSO

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างสมุนไพร

วิธีวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS version 21. วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางเดียว ANOVA และหาค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทดลองจำนวน 3 ครั้ง

ผลการวิจัย

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนรากและผลของครอบฟันสี ได้ผลการทดลองแสดงเป็นค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition) ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 1

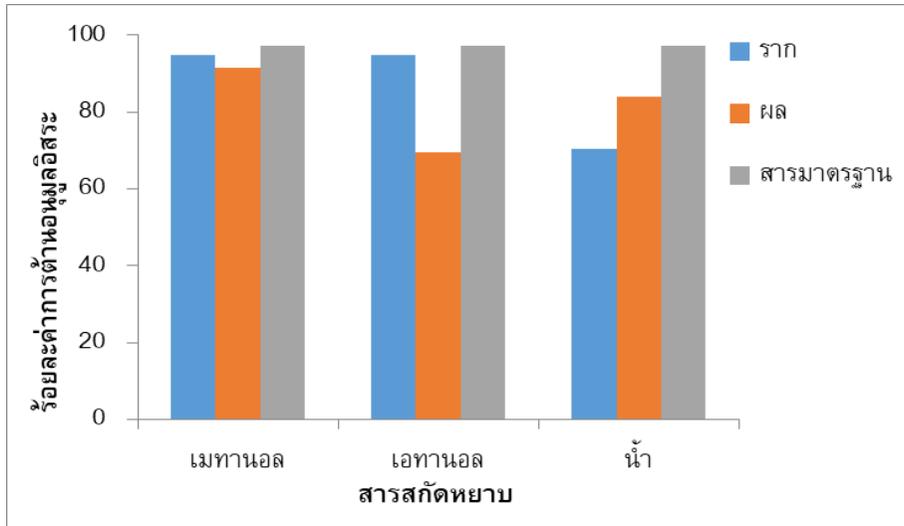
ตารางที่ 1 แสดงร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบจากส่วนรากและผลของครอบฟันสี เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

| ตัวอย่างสารสกัดหยาบ | | ค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ |
|---------------------|-----------|--------------------------------|
| สารสกัดหยาบส่วนราก | เมทานอล | 94.94±0.032* |
| | เอทานอล | 94.70±0.032* |
| | น้ำ | 70.42±0.015* |
| สารสกัดหยาบส่วนผล | เมทานอล | 91.37±0.028* |
| | เอทานอล | 69.50±0.055* |
| | น้ำ | 84.11±0.110* |
| สารมาตรฐาน | วิตามินซี | 97.17±0.016* |

* ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ย ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 1 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ พบว่า ตัวอย่างสารสกัดของรากที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สารสกัดหยาบเมทานอล และ น้อยที่สุดคือ สารสกัดหยาบน้ำ โดยร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 94.94±0.032 และ 70.42±0.015 ตามลำดับ

ส่วนสารสกัดของผลที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สารสกัดหยาบเมทานอล และน้อยที่สุดคือ สารสกัดหยาบเอทานอล ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 91.37±0.028 และ 69.50±0.055 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซีจะเห็นว่าค่าที่ใกล้เคียงกัน คือ 97.17±0.016 แสดงว่าสารสกัดจากทั้งส่วนรากและผลของครอบฟันสีมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดี



ภาพที่ 1 แสดงร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหวานจากส่วนรากและผลของครอบครัวสนี่ เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสในสารสกัดหวานส่วนรากและผลของครอบครัวสนี่ โดยใช้ *p*-Nitrophenyl- α -D-Glucopyranoside หรือ PNP-G เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยา ซึ่งเป็นสารละลายที่ไม่มีสี เมื่อมีเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส จะถูกไฮโดรไลซ์ไปเป็น *p*-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลือง และน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสามารถตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้เทคนิค UV-Visible spectroscopy โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm (วิมลพรรณและคณะ, 2553) ถ้าการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงมาก แสดงว่า เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ถ้าการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อย แสดงว่าเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสไม่สามารถทำงานได้อย่างเป็นปกติ

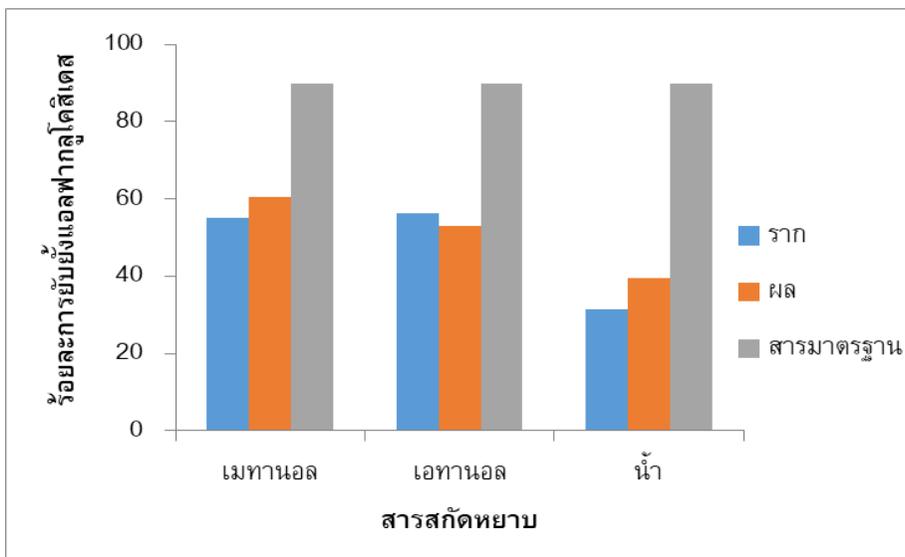
ในการทดลองนี้ได้แสดงผลไว้ในตารางที่ 2 และ ภาพที่ 2 พบว่า ตัวอย่างสารสกัดของรากที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสมากที่สุด คือ สารสกัดหวานเอทานอล และน้อยที่สุดคือ สารสกัดหวานน้ำ โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส เท่ากับ 56.25 ± 0.003 และ 31.51 ± 0.573 ตามลำดับ

สารสกัดของผลที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส มากที่สุดคือ สารสกัดหวานเมทานอล และ น้อยที่สุดคือ สารสกัดหวานน้ำ โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส เท่ากับ 60.42 ± 0.462 และ 39.58 ± 0.451 ตามลำดับ ในการทดสอบนี้จะเทียบกับสารมาตรฐาน Acarbose® เข้มข้น 10 mg/mL ซึ่งแสดงค่าร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับ 89.84 ± 0.010

ตารางที่ 2 แสดงร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบจากส่วนรากและผลของครอปฟันสี เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

| ตัวอย่างสารสกัดหยาบ | | ค่าร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส |
|---------------------|-----------|---|
| สารสกัดหยาบส่วนราก | เมทานอล | 54.95±0.454* |
| | เอทานอล | 56.25±0.003* |
| | น้ำ | 31.51±0.573* |
| สารสกัดหยาบส่วนผล | เมทานอล | 60.42±0.462* |
| | เอทานอล | 52.86±0.451* |
| | น้ำ | 39.58±0.451* |
| สารมาตรฐาน | Acarbose® | 89.84±0.010* |

* ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ย ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 2 แสดงร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบจากส่วนรากและผลของครอปฟันสี เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดส่วนรากและผลของครอบครัวส้ม โดยการนำเอาสารสกัดที่สกัดไว้เป็นเวลา 7 วัน ไปทำการวิเคราะห์ ซึ่งมีสารสกัดหยาบทั้งหมด 6 ตัวอย่าง คือ สารสกัดหยาบจากส่วนราก ได้แก่ สารสกัดหยาบเมทานอล สารสกัดหยาบเอทานอล และสารสกัดหยาบน้ำ สารสกัดหยาบจากส่วนผล ได้แก่ สารสกัดหยาบเมทานอล สารสกัดหยาบเอทานอล และสารสกัดหยาบน้ำ

ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ สามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำให้มองเห็นเป็นสีม่วง เมื่อทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบทั้ง 6 ตัวอย่าง สามารถเรียงลำดับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากมากไปน้อยได้ดังนี้ สารสกัดหยาบเมทานอลของราก ($94.94 \pm 0.032\%$) สารสกัดหยาบเอทานอลของราก ($94.70 \pm 0.032\%$) สารสกัดหยาบเมทานอลของผล ($91.37 \pm 0.028\%$) สารสกัดหยาบน้ำของผล ($84.11 \pm 0.110\%$) สารสกัดหยาบน้ำของราก ($70.42 \pm 0.015\%$) และสารสกัดหยาบเอทานอลของผล ($69.50 \pm 0.055\%$) ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี พบว่า ค่าที่ได้ของสารสกัดหยาบเมทานอลและเอทานอลของส่วนรากครอบครัวส้ม มีค่าสูงเกือบเท่ากับวิตามินซี ($97.17 \pm 0.016\%$) แสดงว่าสารสกัดจากส่วนรากของครอบครัวส้มมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าส่วนผลของครอบครัวส้ม เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Chakraborty *et al.* (2010) ที่ทำการศึกษาลำต้นของครอบครัวส้มโดยสกัดในตัวทำละลาย น้ำ เมทานอล และ เมทานอล:น้ำ (1:1) พบว่า สารสกัดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1154.20, 1343.89, และ 2387.14 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับวิตามินซีที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.73 $\mu\text{g/ml}$ Srividya *et al.* (2009)

ใบของครอบครัวส้มที่สกัดด้วยตัวทำละลาย น้ำ และ เอทานอล (50%) พบว่า สารสกัดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 738.56 ± 12.78 และ 219.2 ± 3.89 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับวิตามินซี ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.0 ± 1.0 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งจะเห็นว่าในแต่ละส่วนของครอบครัวส้ม ก็จะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน รวมถึงแหล่งกำเนิดของพืชที่ต่างกันก็มีส่วนทำให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกันด้วย

ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส พบว่า สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 4 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสโดยเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ สารสกัดหยาบเมทานอลของผล ($60.42 \pm 0.462\%$) สารสกัดหยาบเอทานอลของราก ($56.25 \pm 0.003\%$) สารสกัดหยาบเมทานอลของราก ($54.95 \pm 0.454\%$) สารสกัดหยาบเอทานอลของผล ($52.86 \pm 0.451\%$) สารสกัดหยาบน้ำของผล ($39.58 \pm 0.451\%$) และ สารสกัดหยาบน้ำของราก ($31.51 \pm 0.573\%$) ตามลำดับ

การทดสอบนี้เทียบกับสารมาตรฐาน Acabose® ($89.84 \pm 0.010\%$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นันทพร (2556) ที่ได้ทำการศึกษารายละเอียดการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส พบว่า สารสกัดจากรากของครอบครัวส้มที่สกัดด้วยไดคลอโรโรมีเทนให้ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากยีสต์เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานไดออกซินอิจิโรไมซิน โดยมีค่า IC_{50} อยู่ที่ 0.36 และ 0.58 mg/ml

ครอบฟันสีในส่วนของรากที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานคือออกซินोजิริไมซิน โดยมีค่า IC_{50} 0.08 และ 0.11 mg/ml ตามลำดับ และสอดคล้องกับศิรินทร (2552) ที่ได้ทำการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากใบครอบฟันสี ด้วยการบ้อนสารสกัดในขนาด 500 mg/kg ของน้ำหนักตัวหนู พบว่าสารสกัดดังกล่าวจะใช้เวลาดูดซึมประมาณ 2 ชั่วโมง จึงจะออกฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด Pant *et al.* (2013) ได้ศึกษาสารสกัดเมทานอลของใบครอบฟันสี และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส โดยใช้ความเข้มข้นในช่วง 10 μ g/ml ถึง 160 μ g/ml พบร้อยละการยับยั้ง 8.01% - 36.13% มีค่า IC_{50} 137.61 μ g/ml (Krisanapun *et al.*, 2009) ได้ทดสอบการยับยั้งการดูดซึ่มกลูโคสในหนูของสารสกัดครอบฟันสีในส่วนราก กิ่ง และใบ ที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าเมื่อให้หนูกินสารสกัดในปริมาณ 0.5 และ 1 g/kg ของน้ำหนักตัว จะสามารถลดระดับน้ำตาลในพลาสมาได้ใน 30 นาที

โดยสรุปการศึกษานี้ให้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ จึงเป็นประโยชน์ในการพัฒนาต่อยอดเพื่อนำสมุนไพรครอบฟันสีไปใช้เพื่อรักษาโรคเบาหวานในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ได้สนับสนุนเงินทุนวิจัยจากงบประมาณรายได้ ปี 2561 และสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ได้อำนวยความสะดวกในด้านสถานที่สำหรับการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- นันทพร ดิลกานนท์. (2556). การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรบางชนิดในวงศ์ฝ้าย. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรีบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิมลพรรณ รุ่งพรหม ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาล สัญญา เขียวไสว และ มุกดา ทรงไตรย์. (2553). สารยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากพืชสมุนไพรเพื่อใช้บำบัดโรคเบาหวาน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 41(3/1)(พิเศษ), 301-304.
- วรรณิ นิธิยานนท์. (2561). โรคเบาหวาน. สารานุกรมไทยฉบับเยาวชน. เล่มที่ 35 หน้า 243-269. สืบค้นเมื่อ 15 สิงหาคม 2561, จาก <http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/Ebook/Ebook.php?book=35>
- ศิรินทร หยิบโซคอนันต์. (2552). สารสกัดจากใบครอบฟันสีพัฒนาเป็นยาลดระดับน้ำตาลในเลือดผู้ป่วยเบาหวาน. จุฬาสัมพันธ์, 43.
- Braca, A., Sortino, C., Politi, M., Morelli, I., and Mendez, J. (2002). Antioxidant Activity of Flavonoids from *Licania licaniaeflora*. Journal of Ethnopharmacology, 79, 379-381.
- Chakraborty G. S., and Ghorpade, P. M. (2010) Free Radical Scavenging Activity of *Abutilon indicum* (Linn) Sweet Stem Extracts. International Journal of ChemTech Research, 2, 526-531.

- Damsud, T and Kaewpiboon, C. (2016). *In Vitro* α -Glucosidase Inhibitory Activities of the Watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) Extracts. Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology), 11, 65-74.
- Krisanapuna, C., Peungvichaa, P., Temsiririrkulb, R., and Wongkrajanga, Y. (2009). Aqueous Extract of *Abutilon indicum* Sweet Inhibits Glucose Absorption and Stimulates Insulin Secretion in Rodents. Nutrition Research, 29, 579–587.
- Lebowitz, H.E. (1998). α -Glucosidase Inhibitors as Agents in the Treatment of Diabetes. Diabetes Reviews, 6, 132- 145.
- Mohite, M. S., Shelar, P. A., Raje, V. N., Babar, S. I. and Sapkal, R. K. (2012). Review on Pharmacological Properties of *Abutilon indicum*. Asian Journal of Pharmaceutical Research, 2, 156-160.
- Pant, G., Krishna, S.J., Babasaheb, S., Rajashekar, R. P. and Sibi, G. (2013). *In Vitro* α -amylase and α -glucosidase Inhibitor Activity of *Abutilon indicum* Leaves. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 6, 22-24.
- Srividya, A. R., Ajit Kumar Yadev, and Dhanbal, S. P. (2009). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Rhizome of Curcuma aromatica And Curcuma Zeodaria, Leaves of *Abutilon Indicum*. Archives of Pharmaceutical Science and Research, 1, 14-19.
- Srividya, A. R., Dhanabal, S. P., Jeevitha, S., Vishnu Varthan, V. J., and Rajesh Kumar, R. (2012). Relationship between Antioxidant Properties and Chemical Composition of *Abutilon indicum* Linn. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 74, 163-167.
- Yasmin, S., Kashmiri, M. A., Asghar, M. N., Ahmad, M., and Mohy-ud-Din, A. (2010). Antioxidant Potential and Radical Scavenging Effects of Various Extracts from *Abutilon indicum* and *Abutilon muticum*. Pharmaceutical Biology, 48, 282-289.