นิพนธ์ต้นฉบับ

# ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA Reductase ของสารสกัดจากใบส้มป่อยและฤทธิ์ลดไขมันในเลือดในหนูแรทที่มีไขมันในเลือดสูง

**สดุดี รัตนจรัสโรจน์*, สมจิตร์ เนียมสกุล, สมเกียรติ ปัญญามัง, ฐิติพร ทับทิมทอง, ณัฐพร พลแสน, ยุวดี เมตตาเมธา, นงนุช มณีฉาย, ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง**

*สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000*

* ***ผู้รับผิดชอบบทความ:*** *sadudee.r@dmsc.mail.go.th*

## บทคัดย่อ

ไขมันในเลือดสูงเป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดหลอดเลือดแดงแข็ง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเป็นโรคหัวใจขาดเลือดและโรคหลอดเลือดของสมอง ใบส้มป่อยมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันจึงอาจช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งได้ อย่างไรก็ตาม ยังขาดข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนคำกล่าวอ้างดังกล่าว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการสร้างคอเลสเตอรอลของสารสกัดใบส้มป่อยในหลอดทดลอง และฤทธิ์ลดไขมันในหนูแรทที่เหนี่ยวนำให้มีภาวะไขมันในเลือดสูงโดยให้อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบส้มป่อยสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยการดักจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ ($IC_{50}$ เท่ากับ 44.90 ± 4.17 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (HMG-CoA reductase) ($IC_{50}$ เท่ากับ 71.38 ± 5.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนการศึกษาในหนูแรท พบว่าเมื่อให้สารสกัดส้มป่อยขนาด 200-800 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน หรืออะทอร์วาสแตตินขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน พร้อมกับอาหารไขมันสูงทุกวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สามารถลดการเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ได้ เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารไขมันสูง แต่ไม่มีผลต่อระดับไตรกลีเซอร์ไรด์และ HDL นอกจากนี้ ค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของตับและไต การเจริญเติบโต และการกินอาหารของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดส้มป่อยและยามาตรฐานไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารไขมันสูง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบส้มป่อยมีศักยภาพในการลดระดับไขมันในเลือดเมื่อให้พร้อมกับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง โดยกลไกการออกฤทธิ์ส่วนหนึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอาจช่วยลดอุบัติการณ์ของหลอดเลือดแดงแข็ง ควรมีการศึกษาฤทธิ์และกลไกการลดไขมันของสารสกัดส้มป่อยแยกส่วนต่อไปในห้องปฏิบัติการและในหนูแรทที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง เพื่อหาสารออกฤทธิ์ก่อนนำไปพัฒนาเป็นยาจากสมุนไพรที่ควบคุมปริมาณสารสำคัญเพื่อลดไขมันในเลือดต่อไป

***คำสำคัญ:*** ส้มป่อย, ฤทธิ์ลดไขมันในเลือด, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, หนูแรทไขมันในเลือดสูง

*Received date 12/01/21; Revised date 12/03/21; Accepted date 01/07/21*

# Free Radical Scavenging Activity and HMG-CoA Reductase Inhibitory Activity of *Senegalia rugata* Leaf Extract and Its Hypolipidemic Effect in Hypercholesterolemic Rats

**Sadudee Rattanajarasroj*, Somchit Niumsakul, Somkiet Punyamong, Thitiporn Thaptimthong, Nattaporn Polsan, Yuwadee Mettametha, Nongnuch Maneechai, Sakwichai Ontong**

*Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Talat Kwan Sub-District, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand*

* ***Corresponding author***: *sadudee.r@dmsc.mail.go.th*

## Abstract

Hyperlipidemia is a major factor contributing to atherosclerosis which can lead to ischemic heart disease and stroke. *Senegalia rugata* (Lam.) Britton & Rose or *som-poi* leaf is an herb with antioxidant property and may help lower the risk of atherosclerosis. However, the data supporting this claim are still lacking. This study was therefore conducted to investigate the antioxidant activity and inhibitory activity of water extract of *S. rugata* leaf on cholesterol synthesis *in vitro*, and its lipid-lowering activity in cholesterol diet-induced hypercholesterolemic rats. Our findings revealed that *S. rugata* water extract exhibited a superoxide radical scavenging activity ($IC_{50}$ = 44.90 ± 4.17 μg/ml) and a dose-dependent inhibitory effect on HMG-CoA reductase ($IC_{50}$ = 71.38 ± 5.80 μg/ml ). Concomittant daily administration of *S. rugata* water extract at the doses of 200–800 mg/kg BW/day or atorvastatin (20 mg/kg BW/day) with cholesterol diet in rats for 12 weeks could lower the elevated cholesterol and LDL levels comparable to the effect on hypercholesterolemic rats, but had no effect on triglyceride and HDL levels. In addition, *S. rugata* extract and atorvastatin did not affect liver and kidney functions, body weight and food consumption. In conclusion, water extract of *S. rugata* leaves alleviated the increased lipid levels in hypercholesterolemic rats when given concomittantly with high fat diet. At least, its mechanism of action might involve inhibition of HMG-CoA reductase and its antioxidant effect might diminish the incidence of atherosclerosis. Further studies *in vitro* and in hypercholesterolemic rats on activity-guided isolation of bioactive constituent from subfractions of the water extract are required to develop a new standardized hypolipidemic herbal medicine from *S. rugata* leaf extract.

***Key words***: *Senegalia rugata* (Lam.) Britton & Rose, hypolipidemic activity, antioxidant activity, hypercholesterolemic rat

## บทนำและวัตถุประสงค์

ภาวะไขมันในเลือดสูง (hyperlipidemia) เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือด เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของไทยและทั่วโลก โรคหลอดเลือดหัวใจเกิดจากหลอดเลือดแดงโคโรนารี มีคราบไขมันสะสมที่ผนังหลอดเลือดหัวใจจนเกิดการอุดตัน หรือหลอดเลือดแดงโคโรนารีแข็งตัวและสูญเสียความยืดหยุ่นทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเป็นโรคหัวใจขาดเลือดและโรคหลอดเลือดของสมอง ไขมันที่สะสมในผนังหลอดเลือดส่วนใหญ่เป็น

คอเลสเตอรอล (cholesterol)[1] ดังนั้น การลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือดจึงเป็นเป้าหมายหนึ่งในการป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง

การรักษาไขมันในเลือดสูง ส่วนหนึ่งต้องควบคุมอาหารให้เหมาะสม หากการจำกัดชนิดและปริมาณอาหารที่รับประทานไม่สามารถลดระดับไขมันในเลือดลงได้มากพอ อาจจำเป็นต้องได้รับยาลดไขมันในเลือด โดยควรเลือกยาให้เหมาะสมกับชนิดและความรุนแรงของระดับไขมันที่สูงผิดปกติ การใช้ยารักษาจะช่วยลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดหลอดเลือดแดงแข็งและโรคแทรกซ้อนอื่น มีข้อมูลสนับสนุนว่ายากลุ่ม 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) reductase inhibitors หรือกลุ่มสแตติน (statins) สามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้[2] แม้ว่ามีการใช้ยากลุ่มสแตตินกันอย่างแพร่หลาย แต่ยากลุ่มนี้อาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ได้ ส่วนใหญ่เป็นอาการที่ไม่รุนแรง เช่น ปวดศีรษะ เวียนศีรษะ ง่วงนอนหรือนอนไม่หลับ คลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง แต่ก็มีรายงานอาการที่รุนแรงด้วย เช่น ปวดกล้ามเนื้อจากภาวะใยกล้ามเนื้อลายสลาย (rhabdomyolysis) ส่งผลให้มีการปลดปล่อยอิเล็กโทรไลต์และโปรตีนต่าง ๆ รวมถึงเอนไซม์สู่กระแสเลือด เกิดภาวะโพแทสเซียมในเลือดสูงจึงทำให้เสี่ยงต่อการเกิดหัวใจเต้นผิดจังหวะ นอกจากนี้ ผู้ที่เกิดภาวะใยกล้ามเนื้อลายสลายจะมีระดับเอนไซม์ครีเอทีนไคเนส (creatine kinase) ในเลือดสูงเกินขีดจำกัดของค่าปกติอย่างมาก (กว่า 40 เท่า) และพบโปรตีนจากกล้ามเนื้อในปัสสาวะ (myoglobinuria) ซึ่งเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไตวายเฉียบพลันและอาจเสียชีวิตได้ นอกจากนี้ยังพบรายงานรบกวนการทำงานของตับด้วย[3] จึงมีการมองหาทางเลือกในการรักษาโดยนำสมุนไพรมาใช้ลดไขมันในเลือด ผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยที่จำหน่ายอยู่ในท้องตลาดบางชนิดมีการกล่าวอ้างสรรพคุณว่าสามารถลดไขมันได้ โดยยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์มาสนับสนุนสรรพคุณดังกล่าวหรือยังมีข้อมูลไม่เพียงพอ ดังนั้น การตรวจสอบฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ลดไขมันของสมุนไพรจึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง

ส้มป่อย มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Senegalia rugata* (Lam.) Britton & Rose จัดอยู่ในวงศ์ Fabaceae มีชื่อพ้องว่า *Acacia concinna* (Willd.) DC. เป็นไม้เถาเนื้อแข็ง กิ่งมีขนกำมะหยี่หรือขนสั้นนุ่ม หูใบรูปหัวใจ ใบประกอบย่อยมี 4-10 คู่ ช่อดอกสีขาวออกตามซอกใบ บางครั้งแยกแขนง เมล็ดรูปรีกว้าง พบในอินเดีย ภูมิภาคอินโดจีนและมาเลเซีย นิวกินี และฟิลิปปินส์ ในไทยพบทุกภาค ขึ้นตามป่าเบญจพรรณหรือป่าโปร่ง ความสูงถึงประมาณ 1,400 เมตร[4-5]

ส้มป่อยมีสรรพคุณตามตำรายาไทยดังนี้ ใบ: แก้โรคตา ชำระเมือกมันในลำไส้ ยาถ่ายเสมหะ ถ่ายระดูขาว แก้บิด ฟอกล้างโลหิตระดู ประคบให้เส้นเอ็นหย่อน ใบใช้ในสูตรยาอบสมุนไพร ช่วยชะล้างสิ่งสกปรก เพิ่มความต้านทานโรคให้กับผิวหนัง บำรุงผิวพรรณ แก้หวัด แก้ปวดเมื่อย สูตรยาลูกประคบสมุนไพร ช่วยบำรุงผิว แก้โรคผิวหนัง ลดความดัน ฝัก: มีรสเปรี้ยว เป็นยาถ่าย ขับเสมหะ แก้ไอ แก้ไข้ จับสั่น ใช้สระผม ทำให้ผมชุ่มชื้นเป็นเงางาม ไม่มีรังแค ต้มน้ำอาบหลังคลอด ฝักตำพอกหรือชุบสำลีปิดแผลโรคผิวหนัง เปลือกฝัก: รสขมเปรี้ยวเผ็ดปร่า เจริญอาหาร กัดเสมหะ แก้ไอ แก้ทรางเด็ก[6] ตำรับ “ยาถ่ายดีเกลือฝรั่ง” ในบัญชียาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ ซึ่งมีสรรพคุณแก้อาการท้องผูกในกรณีที่ใช้ยาอื่นไม่ได้ผล ใช้ใบและฝักส้มป่อยร่วมกับสมุนไพรชนิดอื่น เป็นตัวยาในตำรับ[7] นอกจากนี้ ยังมีการใช้ส้มป่อยเป็นผักพื้นบ้าน ยอดอ่อนและใบอ่อนมีรส

เปรี้ยว ใช้รับประทานเป็นผักสด เป็นเครื่องเคียงน้ำพริก หรือนำมาปรุงรสหรือนำมาปรุงเป็นอาหารเพื่อเพิ่มรสเปรี้ยว รสของส้มป่อยจะเปรี้ยวกลมกล่อม และขจัดกลิ่นคาว และยังมีการใช้ส่วนของใบในการแพทย์พื้นบ้าน เช่น การแพทย์ล้านนา ใช้เป็นยาประคบ แทบทุกตำรับจะใช้ใบส้มป่อยเดี่ยว ๆ หรือผสมสมุนไพรตัวอื่นใส่ในลูกประคบ เพื่อแก้ปวดเมื่อย[8]

องค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบส้มป่อย ได้แก่ แอลคาลอยด์ (alkaloids), เฟลโวนอยด์ (flavonoids), แซโพนิน (saponin), แทนนิน (tannin) เป็นต้น [9-10] การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของใบส้มป่อยพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอล เมทานอล และคลอโรฟอร์ม[9] และสารสกัดด้วยอะซีโตน[10] ของใบส้มป่อยมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดด้วยน้ำของใบส้มป่อยแสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยยับยั้งการเหนี่ยวนำการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง[11] Rao และคณะ[12] รายงานว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อยมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและต้านการเกิดลิ่มเลือด Lumlerdkij และคณะ[13] รายงานว่าสารสกัดด้วยเอทานอลของใบส้มป่อยปกป้องการตายของเซลล์ตับเพาะเลี้ยงจากพิษของ tert-butyl hydroperoxide โดยเพิ่มเอนไซม์ NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1 activity) ซึ่งดักจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ และป้องกันการลดลงของกลูตาไธโอน (glutathione) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ปกป้องเนื้อเยื่อไม่ให้ถูกทำลาย นอกจากนี้ จากข้อมูลระบบอาหารชุมชนพบว่าใบส้มป่อยมีวิตามินเอ บีตาแคโรทีน และแคโรทีนรวมสูงมากเมื่อเทียบกับผักพื้นบ้านทั้งหลาย[14]

เนื่องจากส้มป่อยมีสรรพคุณหลากหลายและใช้ประโยชน์เป็นยาได้ ที่น่าสนใจ คือ ใบส้มป่อยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และเป็นผักที่มีวิตามินเอและบีตาแคโรทีนสูงมากเป็นอันดับต้น ๆ เป็นที่ทราบกันดีว่าอนุมูลอิสระทำให้เกิดการเสียสมดุลในร่างกาย และเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ ไขมันในเลือดสูง มะเร็ง เบาหวาน โรคข้อ โรคทางระบบประสาท ภาวะชรา เป็นต้น[15-16] และอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ[17-18] ดังนั้น การรับประทานใบส้มป่อยไม่เพียงแต่จะได้คุณค่าทางโภชนาการเท่านั้น แต่ยังได้รับวิตามินเอและบีตาแคโรทีนซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอาจช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคที่เป็นผลจากอนุมูลอิสระได้ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานฤทธิ์ลดไขมันในเลือดของใบส้มป่อย

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยประเมินการดักจับอนุมูลไฮดรอกซิลและซุปเปอร์ออกไซด์ และศึกษาฤทธิ์ลดไขมันของสารสกัดจากใบส้มป่อยโดยตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase และฤทธิ์ลดไขมันในเลือดในหนูแรทที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงโดยให้อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง

## ระเบียบวิธีศึกษา

### 1. วัสดุ

#### 1.1. วัตถุดิบสมุนไพร

เก็บรวบรวมตัวอย่างส้มป่อยจากพื้นที่จังหวัดจันทบุรีเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการศึกษาและตรวจระบุชนิดตามหลักอนุกรมวิธานพืช[4-5] เพื่อจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิง (voucher specimen) เก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืช กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (DMSC Herbarium) โดยมีหมายเลขพรรณไม้ของพิพิธภัณฑ์พืชกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ คือ DMSC 5269

**1.2. การเตรียมสมุนไพร**

นำส่วนที่ใช้ คือ ใบ มาล้างให้สะอาดด้วยน้ำ ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องพอหมาด และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส นำใบส้มป่อยที่แห้งไปบดเป็นผงหยาบและเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท

**1.3. การเตรียมสารสกัด**

นำผงสมุนไพรแห้งของใบส้มป่อย ตั้งต้นมีปริมาณ 3.36 กิโลกรัม มาเตรียมเป็นสารสกัดโดยการต้มกลั่นในน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 3 ครั้ง กรองและนำไปทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator และทำให้แห้งโดยใช้ lyophilizer ได้สารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อย โดยมีร้อยละของปริมาณสารที่สกัดได้เท่ากับ 36.8 (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก)

## 2. วิธีการศึกษา

**2.1. การควบคุมคุณภาพสารสกัด**

1) ควบคุมคุณภาพทางเคมีของสารสกัดใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีชนิดผิวบาง (thin layer chromatography; TLC) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแทนนิน (tannin), แซโพนิน (saponin) โดยผู้ร่วมศึกษาด้านพฤกษเคมี ผลการศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมีโดยวิธี TLC พบแถบสีของสารสกัดส้มป่อยตรงกับแถบของสารละลายมาตรฐานแทนนินและแซโพนิน และพบปริมาณแทนนินและแซโพนินรวมเป็นร้อยละ 12.10 และร้อยละ 18.97 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

2) ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดใช้วิธีตรวจวิเคราะห์ตาม Thai Pharmacopoeia Volume I and II supplement 2005[19] โดยห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร พบว่าสารสกัดส้มป่อยผ่านข้อกำหนดมาตรฐานทุกรายการ

**2.2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ**

1) วิเคราะห์ด้วยวิธีดักจับอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical scavenging assay) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Halliwell และคณะ[20] ดังนี้ reaction mixture ประกอบด้วย deoxyribose 1 มิลลิโมลาร์, $FeSO_4.7H_2O$ 10 ไมโครโมลาร์, $H_2O_2$ 100 ไมโครโมลาร์, ascorbic acid 100 ไมโครโมลาร์, และสารสกัดที่ความเข้มข้น 20-400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือสารมาตรฐาน trolox 40-400 ไมโครโมลาร์ ผสมสารให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาด้วย butylated hydroxytoluene 100 มิลลิโมลาร์ จากนั้นทำ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay โดยเติม trichloroacetic acid 2.8% และ thiobarbituric acid 1% นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ผลที่ได้นำไปคำนวณค่าร้อยละของการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันโดยเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีสารสกัดหรือสารมาตรฐาน การวิเคราะห์ประสิทธิผลในการต้านอนุมูลอิสระจะพิจารณาจากค่าความเข้มข้นของสารสกัดหรือสารมาตรฐานที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ร้อยละ 50 (inhibitory concentration 50%, $IC_{50}$) และค่า trolox equivalent antioxidant activity (TEAC) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความแรงของสารสกัดในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นจำนวนเท่าเมื่อเทียบกับอนุพันธ์วิตามินอี (trolox) ต่อกรัมของตัวอย่างสารสกัด

2) วิเคราะห์ด้วยวิธีดักจับอนุมูลซุปเปอร์-ออกไซด์ (superoxide radical scavenging assay) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Nishikimi และคณะ[21]

ดังนี้ reaction mixture ประกอบด้วย nitroblue tetrazolium 258 ไมโครโมลาร์, nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) 996 ไมโครโมลาร์ และ phenazine methosulfate (PMS) 16.2 ไมโครโมลาร์ และสารสกัดหรือสารมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้น 1-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเตรียมสารทุกตัวใน phosphate buffer ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย microplate reader ที่ 562 นาโนเมตร ผลที่ได้แสดงเป็นค่าร้อยละของ activity เทียบกับกลุ่มที่เกิดปฏิกิริยา 100% คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์เป็นร้อยละของการยับยั้ง แล้วนำมา plot กราฟเพื่อหาค่า $IC_{50}$ เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

**2.3. การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase**

ตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ด้วยวิธี colorimetric โดยใช้ชุดทดสอบ HMG-CoA reductase assay kit (Sigma) ซึ่งมี HMG-CoA เป็นสารตั้งต้น และประเมินการลดลงของ NADPH โดยวัดการดูดกลืนแสงด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งวัดเป็น kinetic ทุก 1 นาที เป็นเวลา 15 นาที และใช้พราวาสแตติน (pravastatin) เป็นสารควบคุมบวก ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทดสอบ คือ 25-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลที่ได้แสดงเป็นค่าเป็นการทำงานของเอนไซม์ (Units/mg protein) และแปลงค่าการทำงานของเอนไซม์ให้เป็นร้อยละของการยับยั้ง โดยเทียบกับกลุ่มที่เกิดปฏิกิริยาโดยสมบูรณ์ซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้งเป็นศูนย์ และหาค่า $IC_{50}$

**2.4. การศึกษาฤทธิ์ลดไขมันในสัตว์ทดลอง**

การศึกษานี้ใช้หนูแรท สายพันธุ์ Spraque Dawley เพศผู้ น้ำหนักตัว 160-180 กรัม อายุประมาณ 6 สัปดาห์ จำนวน 63 ตัว ซื้อจากบริษัทโนมูระ สยาม อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด นำมาเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองของศูนย์สัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยเลี้ยงในชุดกรงเลี้ยงสัตว์ทดลองแบบปลอดเชื้อ (individually ventilated cage, IVC) อย่างน้อย 1 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลองเพื่อให้สัตว์ทดลองคุ้นเคยและปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมและสถานที่ ซึ่งมีอุณหภูมิ 23 ± 3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 ± 20% ควบคุมความมืด/ความสว่างสลับกัน 12 ชั่วโมง ระหว่างนั้นให้สัตว์ทดลองกินอาหารสำเร็จรูปของบริษัทเพอร์เฟค คอมพาเนียนกรุ๊ป จำกัด และดื่มน้ำตามปกติ

การเตรียมอาหารไขมันสูง อาหารสัตว์ทดลองที่มีไขมันสูงประกอบด้วยคอเลสเตอรอล 0.250% + โคลิกแอซิด 0.125% + ซูโครส 40% + น้ำมันถั่วลิสง 10% + อาหารสัตว์ทดลองปกติ 49.625%

เตรียมส่วนผสมโดยบดอาหารสัตว์ทดลองและโคลิกแอซิดให้เป็นผงละเอียด และละลายซูโครสด้วยน้ำกลั่นเป็นสารละลายซูโครส เตรียมอาหารไขมันสูงโดยผสมอาหารสัตว์ทดลอง คอเลสเตอรอล และโคลิกแอซิดให้เข้ากัน นำส่วนผสมแห้งนี้ไปนวดให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องผสมอาหาร หลังจากนวดส่วนผสมแห้งเป็นเวลา 10-15 นาที ค่อย ๆ เติมสารละลายซูโครสและน้ำมันปริมาณน้อยโดยเติมสลับกัน แล้วนวดนาน 5 นาที ก่อนจะเติมครั้งต่อไป ทำอย่างนี้จนแล้วเสร็จ หลังจากนั้นนำส่วนผสมที่เป็นเนื้อเดียวกันแล้วไปเข้าเครื่องรีดอาหาร ตัดอาหารให้เป็น

ท่อนเล็ก ขนาดใกล้เคียงกับขนาดของอาหารสัตว์ทดลอง และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นบรรจุอาหารในถุงพลาสติก และเก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิด

การศึกษาฤทธิ์ลดไขมันในสัตว์ทดลองได้รับการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ตามหมายเลขอนุมัติการวิจัย 61-017 ในการทดลองแบ่งเป็นกลุ่มหนูปกติที่ได้รับอาหารสัตว์ทดลองและดื่มน้ำแบบ ad libitum (เท่าที่ต้องการ) และกลุ่มหนูไขมันสูงที่ได้รับอาหารสัตว์ทดลองที่มีไขมันสูงและดื่มน้ำเท่าที่ต้องการ และเริ่มการทดลองโดยเจาะเลือดหนูที่อดอาหารแล้วประมาณ 12-15 ชั่วโมง จากหลอดเลือดดำที่หางหนู (lateral tail vein) ไว้เป็นค่าเริ่มต้น (ที่ 0 สัปดาห์) แบ่งหนูโดยการสุ่มออกเป็น 7 กลุ่ม ๆ ละ 9 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นหนูปกติที่ได้รับอาหารและดื่มน้ำเท่าที่ต้องการ และกรอกน้ำ 10 มิลลิลิตร/กิโลกรัม/วัน (มล./กก./วัน) กลุ่มที่ 2-7 เป็นหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงและดื่มน้ำตามเท่าที่ต้องการ โดยกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุมและกรอกน้ำ 10 มล./กก./วัน กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มควบคุมบวก และกรอกอะทอร์วาสแตติน (atorvastatin) 20 มก./กก./วัน และกลุ่มที่ 4-7 เป็นกลุ่มทดลอง และกรอกสารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อย (สารสกัดส้มป่อย) ขนาดต่าง ๆ ได้แก่ 100, 200, 400 และ 800 มก./กก./วัน ตามลำดับ พร้อมกับให้อาหารที่มีไขมันสูงโดยให้ต่อเนื่องกันทุกวัน เป็นเวลา 3 เดือน

ระหว่างการทดลองสังเกตอาการเปลี่ยนแปลงที่แสดงออกภายนอกของหนูทุกวัน บันทึกปริมาณอาหารที่กินและน้ำหนักตัวสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และเจาะเลือดหนูในแต่ละกลุ่มจากหลอดเลือดดำที่หางหนูหลังอดอาหารแล้วประมาณ 12-15 ชั่วโมง ทุก 2 สัปดาห์ ที่เวลา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ หลังจากกรอกน้ำหรือยามาตรฐานหรือสารสกัดสมุนไพร จากนั้นนำเลือดไปตรวจวัดระดับไขมันในเลือด ได้แก่ คอเลสเตอรอล (คอเลสเตอรอลรวม), ไตรกลีเซอร์ไรด์, high-density lipoprotein (HDL-C) และ low-density lipoprotein (LDL-C) รวมทั้งตรวจวัดการทำงานของตับ ได้แก่ เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) และ alkaline phosphatase (ALP) และการทำงานของไต ได้แก่ blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ค่าชีวเคมีในเลือดอัตโนมัติ (Cobas Integra® รุ่น 400 plus)

**2.5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่มการทดลองที่เป็นอิสระต่อกันใช้ independent *t*-test การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยมากกว่า 2 กลุ่มใช้ analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบข้อมูลที่แตกต่างกันกรณีความแปรปรวนของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันใช้ Scheffe multiple comparisons และกรณีความแปรปรวนของทั้ง 2 กลุ่มแตกต่างกันใช้ Tamhane's T2 multiple comparisons โดยค่า $p$ ที่น้อยกว่า 0.05 หรือที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

## ผลการศึกษา

### 1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารสกัดส้มป่อยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลไฮดรอกซิลตามความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ โดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ

197.54 ± 4.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารมาตรฐาน trolox มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 128.45 ± 4.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าสารสกัดส้มป่อยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลไฮดรอกซิลได้น้อยกว่า trolox โดยมีความแรงในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (TEAC) เป็น 0.65 เท่า เมื่อเทียบอนุพันธ์วิตามินอี (trolox) ต่อกรัมของตัวอย่างสารสกัด

สารสกัดส้มป่อยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลซุปเปอร์-ออกไซด์ตามความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ โดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 44.90 ± 4.17 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารมาตรฐาน gallic acid มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 11.77 ± 0.56 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าสารสกัดส้มป่อยสามารถต้านอนุมูลซุปเ ปอร์ออกไซด์ได้ปานกลาง เมื่อเทียบกับ gallic acid ซึ่งต้านอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ได้ดี

## 2. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase

สารสกัดส้มป่อยสามารถยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ตามความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ โดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 71.38 ± 5.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดส้มป่อยขนาด 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase คิดเป็นร้อยละ 84.30 ± 1.05 ขณะที่ยาพราวาสแตติน 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นสารควบคุมบวกมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้คิดเป็นร้อยละ 90.55 ± 1.08 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดส้มป่อยขนาดสูงกว่ายามาตรฐานมากจึงสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ใกล้เคียงกับยาพราวาสแตติน

## 3. ผลต่อระดับไขมันในเลือด

หนูที่ได้รับอาหารปกติและหนูทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงมีค่าเฉลี่ยคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอร์ไรด์ HDL และ LDL เริ่มต้นไม่แตกต่างกัน หนูทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงมีค่าเฉลี่ยคอเลสเตอรอลและ LDL เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากได้รับอาหารที่มีไขมันสูงตลอดทุกช่วงเวลาที่ติดตามผลทุก 2 สัปดาห์ (ตารางที่ 1 และ 2) และค่าเฉลี่ย HDL ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากได้รับอาหารที่มีไขมันสูงเป็นเวลา 4-12 สัปดาห์ (ตารางที่ 3) เมื่อเทียบกับหนูที่ได้รับอาหารปกติ ขณะที่ค่าเฉลี่ยไตรกลีเซอร์ไรด์ไม่เปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง

จากการเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับไขมันในเลือดระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง พบว่าค่าเฉลี่ยคอเลสเตอรอลและ LDL ของหนูกลุ่มที่ได้รับอะทอร์วาสแตติน หรือกลุ่มที่ได้รับสารสกัดส้มป่อยขนาด 200-800 มก./กก./วัน เป็นเวลา 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1 และ 2) ขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดส้มป่อยขนาด 100 มก./กก./วัน มีระดับคอเลสเตอรอล และ LDL ที่เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และการลดลงของระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดส้มป่อยมีแนวโน้มเป็นการเปลี่ยนแปลงที่แปรตามขนาดของสารสกัดที่ให้ ระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดส้มป่อยขนาด 200, 400 และ 800 มก./กก./วัน มีแนวโน้มต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับยามาตรฐาน อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างดังกล่าวระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดส้มป่อยและกลุ่มที่ได้รับอะทอร์วาสแตตินไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ค่าเฉลี่ยไตรกลีเซอร์ไรด์และ HDL ของหนูแรทระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงทั้ง 6 กลุ่มไม่แตกต่างกันตลอดการศึกษา

จากการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับยามาตรฐานและกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารไขมันสูง พบว่าระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ของหนูกลุ่มที่ได้รับยามาตรฐานมีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารไขมันสูงตลอดการศึกษา โดยระดับคอเลสเตอรอลมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่เวลา 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 64, 62, 61, 62 และ 72 มิลลิกรัม/เดซิลิตร (มก./ดล.) ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนระดับ LDL มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่เวลา 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 65, 47, 37, 40 และ 43 มก./ดล. ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

## 4. ผลต่อการทำงานของตับและไต

หนูทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงมีค่าเฉลี่ย AST, ALT และ ALP (ภาพที่ 1) และค่าเฉลี่ย BUN และ creatinine (ภาพที่ 2) เริ่มต้นไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับหนูปกติ หนูแต่ละกลุ่มหลังจากได้รับอาหารที่มีไขมันสูงพร้อมกับน้ำหรือยามาตรฐานหรือสารสกัดส้มป่อย มีค่าเฉลี่ย ALP เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1ค) และค่าเฉลี่ย BUN ลดลง (ภาพที่ 2ก) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทุกระยะเวลาตลอดการศึกษาเมื่อเทียบกับหนูปกติ ส่วนค่าเฉลี่ย AST และ ALT ในหนูกลุ่มได้รับอาหารไขมันสูงทุกกลุ่มมีแนวโน้มสูงกว่าค่าของหนูปกติ (ภาพที่ 1ก และ 1ข) ค่าเฉลี่ย ALT ในกลุ่มที่ได้รับ อะทอร์วาสแตติน (atorvastatin) สูงกว่าหนูปกติมาก แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 1ข) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ creatinine เฉลี่ยมีค่าเพิ่มขึ้นในหนูทุกกลุ่ม รวมทั้งกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารไขมันสูงและหนูปกติ แต่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม (ภาพที่ 2ข) อย่างไรก็ตาม ค่าเฉลี่ย AST, ALT, ALP และค่าเฉลี่ย BUN และ creatinine ของหนูแรทที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงทั้ง 6 กลุ่ม ไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ภาพที่ 1 และภาพที่ 2)

## 5. ผลต่อสุขภาพทั่วไป

หนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงทุกกลุ่มมีอาการหรือพฤติกรรมไม่แตกต่างจากกลุ่มหนูปกติ คือ ไม่พบความผิดปกติของดวงตา จมูก ลักษณะขนและผิวหนัง รูทวาร สีของเยื่อเมือก ปัสสาวะ อุจจาระ การหายใจ การเดิน และการทรงตัว

## 6. ผลต่อการเจริญเติบโตและการกินอาหาร

หนูปกติและหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารสัตว์ทดลองที่มีไขมันสูงทั้ง 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับยามาตรฐานและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดส้มป่อย มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยและปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยเริ่มต้นไม่แตกต่างกัน น้ำหนักตัวเฉลี่ยและปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของหนูทั้ง 7 กลุ่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยหนูที่ได้รับอาหารสัตว์ทดลองที่มีไขมันสูงทั้ง 6 กลุ่ม มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวเฉลี่ยและปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยน้อยกว่าหนูปรกติตลอดการศึกษา โดยน้ำหนักตัวและปริมาณการกินอาหารที่เพิ่มขึ้นของหนูที่มีไขมันสูงทั้ง 6 กลุ่ม ในแต่ละสัปดาห์ไม่แตกต่างกัน

# อภิปรายผล

อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ มากมาย รวมถึงโรคหลอดเลือดแดงแข็ง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเป็นโรคหัวใจขาดเลือดและโรคหลอดเลือดของสมอง ไฮดรอกซิลและซุปเปอร์-ออกไซด์เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารชีวโมเลกุลหลายชนิดของร่างกาย ใน

**ตารางที่ 1** ค่าเฉลี่ยคอเลสเตอรอลของหนูแรทปกติที่ได้รับอาหารปกติและน้ำ และหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูง ทั้ง 6 กลุ่ม พร้อมกับน้ำหรืออะทอร์วาสแตตินหรือสารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อยขนาดต่าง ๆ กัน ทางปาก เป็นเวลา 3 เดือน

| หนูแรทที่ได้รับน้ำหรือยาหรือสารสกัด (มก./กก./วัน) | ค่าเฉลี่ยคอเลสเตอรอล (mg/dL) หลังจากได้รับน้ำหรือยาหรือสารสกัด | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 สัปดาห์ | 2 สัปดาห์ | 4 สัปดาห์ | 6 สัปดาห์ | 8 สัปดาห์ | 10 สัปดาห์ | 12 สัปดาห์ |
| 1. อาหารปกติ + น้ำ 10 มล./กก./วัน | 76.74 ± 2.40 | 59.31 ± 2.66 | 57.10 ± 2.06 | 58.24 ± 2.10 | 59.85 ± 3.03 | 63.84 ± 2.93 | 66.37 ± 2.43 |
| 2. อาหารไขมันสูง + น้ำ 10 มล./กก./วัน | 84.81 ± 2.73 | 279.22 ± 36.05* | 245.47 ± 20.39* | 230.85 ± 24.51* | 226.35 ± 27.55* | 232.10 ± 27.37* | 242.91 ± 22.05* |
| 3. อาหารไขมันสูง + อะทอร์วาสแตติน (20) | 84.85 ± 1.64 | 242.80 ± 19.14* | 181.86 ± 17.85*,† | 168.55 ± 16.27*,† | 165.36 ± 16.08*,† | 169.75 ± 16.37*,† | 170.76 ± 12.61*,† |
| 4. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (100) | 79.50 ± 2.84 | 279.32 ± 25.11* | 243.74 ± 30.29* | 223.64 ± 23.20* | 200.14 ± 18.34* | 207.93 ± 13.34* | 216.61 ± 14.04* |
| 5. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (200) | 83.22 ± 2.48 | 220.62 ± 34.48* | 166.82 ± 29.06*,† | 153.26 ± 26.96*,† | 145.05 ± 25.04*,† | 157.59 ± 26.65*,† | 165.27 ± 16.51*† |
| 6. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (400) | 84.51 ± 2.17 | 244.63 ± 33.02* | 156.68 ± 15.04*,† | 168.32 ± 17.92*,†, | 157.89 ± 17.23*,† | 153.47 ± 12.24*,† | 181.33 ± 12.73*† |
| 7. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (800) | 79.46 ± 2.54 | 235.97 ± 20.39* | 134.25 ± 9.60*,† | 135.73 ± 10.84*,† | 137.05 ± 17.59*,† | 145.91 ± 15.99*,† | 151.67 ± 10.59*,† |

ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SE), จำนวนสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่ม = 9

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูแรทปกติ

† แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับหนูแรทกลุ่มควบคุมที่มีไขมันสูง

**ตารางที่ 2** ค่าเฉลี่ย LDL ของหนูแรทปกติที่ได้รับอาหารปกติและน้ำ และหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูง ทั้ง 6 กลุ่ม พร้อมกับน้ำหรืออะทอร์วาสแตตินหรือสารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อยขนาดต่าง ๆ กันทางปาก เป็นเวลา 3 เดือน

| หนูแรทที่ได้รับน้ำหรือยาหรือสารสกัด (มก./กก./วัน) | ค่าเฉลี่ย LDL (mg/dL) หลังจากได้รับน้ำหรือยาหรือสารสกัด | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 สัปดาห์ | 2 สัปดาห์ | 4 สัปดาห์ | 6 สัปดาห์ | 8 สัปดาห์ | 10 สัปดาห์ | 12 สัปดาห์ |
| 1. อาหารปกติ + น้ำ 10 มล./กก./วัน | 22.55 ± 1.26 | 14.09 ± 1.23 | 10.05 ± 0.47 | 9.11 ± 0.40 | 8.55 ± 0.68 | 8.12 ± 0.74 | 9.49 ± 0.65 |
| 2. อาหารไขมันสูง + น้ำ 10 มล./กก./วัน | 25.47 ± 1.25 | 233.81 ± 36.05* | 213.58 ± 31.68* | 180.20 ± 30.48* | 171.61 ± 32.29* | 173.41 ± 32.36* | 193.21 ± 30.43* |
| 3. อาหารไขมันสูง + อะทอร์วาสแตติน (20) | 25.52 ± 0.50 | 205.59 ± 17.33* | 149.06 ± 20.82*,† | 132.73 ± 18.40*,† | 134.30 ± 17.23*,† | 133.14 ± 18.96*,† | 150.24 ± 22.41*,† |
| 4. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (100) | 24.10 ± 1.05 | 245.10 ± 23.87* | 213.06 ± 28.90* | 196.69 ± 22.95* | 173.93 ± 18.58* | 177.36 ± 13.24* | 190.34 ± 13.62* |
| 5. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (200) | 25.47 ± 0.82 | 187.29 ± 36.52* | 130.16 ± 30.10*,† | 120.66 ± 29.38*,† | 116.84 ± 28.46*,† | 121.44 ± 29.45*,† | 134.88 ± 31.23*,† |
| 6. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (400) | 26.80 ± 1.43 | 210.10 ± 34.59* | 121.22 ± 15.44*,† | 128.23 ± 20.32*,†, | 123.20 ± 19.30*,† | 115.08 ± 14.41*,† | 128.91 ± 18.88*,† |
| 7. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (800) | 24.79 ± 1.10 | 175.95 ± 19.46* | 102.66 ± 10.24*,† | 109.02 ± 11.00*,† | 105.80 ± 17.40*,† | 111.51 ± 15.62*,† | 118.13 ± 12.07*,† |

ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SE), จำนวนสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่ม = 9

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูแรทปกติ

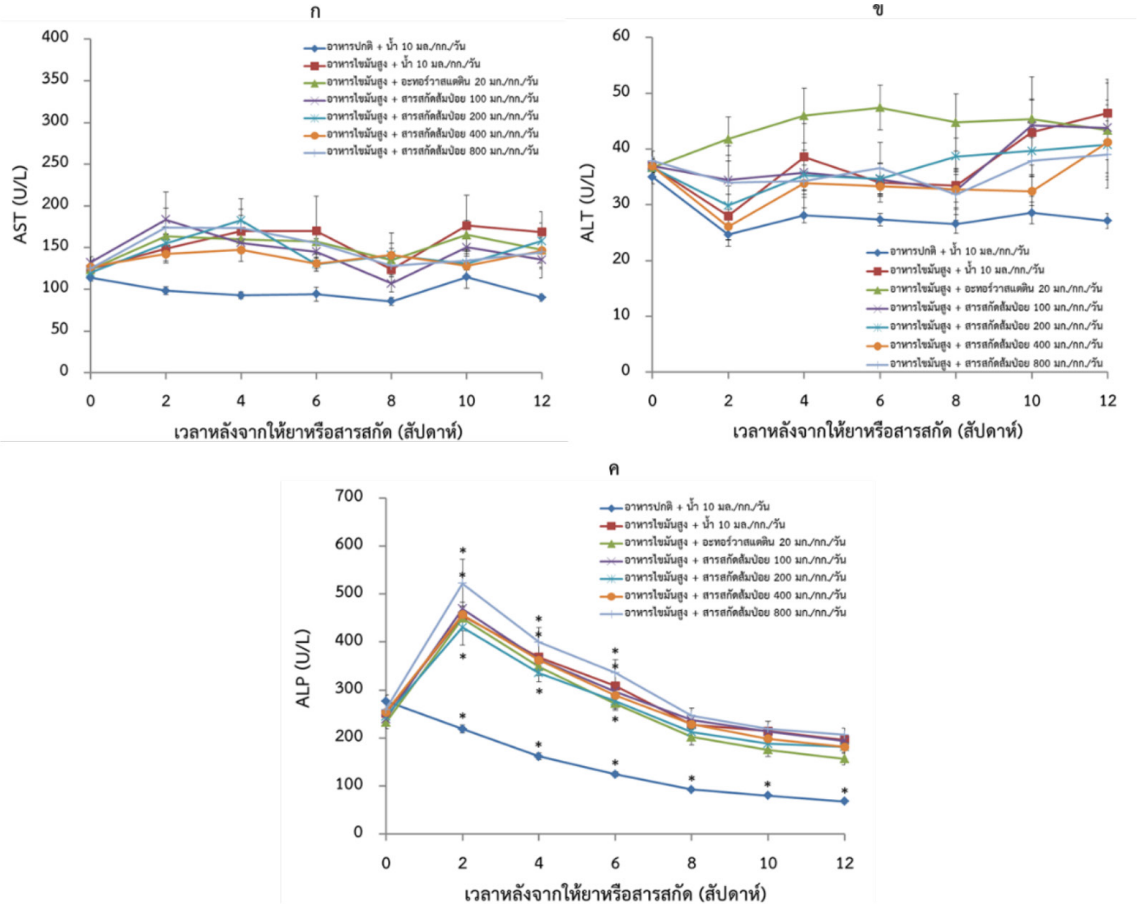
† แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับเมื่อเทียบกับหนูแรทกลุ่มควบคุมที่มีไขมันสูง

**ตารางที่ 3** ค่าเฉลี่ย HDL ของหนูแรทปกติที่ได้รับอาหารปกติและน้ำ และหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูง ทั้ง 6 กลุ่ม พร้อมกับน้ำหรืออะทอร์วาสแตตินหรือสารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อยขนาดต่าง ๆ กันทางปาก เป็นเวลา 3 เดือน

| หนูแรทที่ได้รับน้ำหรือยาหรือสารสกัด (มก./กก./วัน) | ค่าเฉลี่ย HDL (mg/dL) หลังจากได้รับน้ำหรือยาหรือสารสกัด | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 สัปดาห์ | 2 สัปดาห์ | 4 สัปดาห์ | 6 สัปดาห์ | 8 สัปดาห์ | 10 สัปดาห์ | 12 สัปดาห์ |
| 1. อาหารปกติ + น้ำ 10 มล./กก./วัน | 53.14 ± 1.61 | 44.89 ± 1.43 | 48.07 ± 2.06 | 45.11 ± 0.05 | 43.56 ± 2.19 | 47.77 ± 2.06 | 49.91 ± 1.90 |
| 2. อาหารไขมันสูง + น้ำ 10 มล./กก./วัน | 58.89 ± 1.31 | 36.60 ± 2.54 | 35.44 ± 2.39* | 26.37 ± 2.09* | 26.85 ± 2.24* | 26.98 ± 1.84* | 27.75 ± 1.93* |
| 3. อาหารไขมันสูง + อะทอร์วาสแตติน (20) | 61.77 ± 1.29 | 34.88 ± 1.75 | 29.77 ± 2.60* | 25.90 ± 2.33* | 26.00 ± 2.37* | 25.61 ± 1.89* | 27.40 ± 3.04* |
| 4. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (100) | 56.87 ± 2.15 | 37.46 ± 1.98 | 30.97 ± 2.11* | 25.04 ± 1.38* | 25.30 ± 1.74* | 25.60 ± 1.28* | 25.43 ± 1.06* |
| 5. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (200) | 61.73 ± 2.36 | 36.68 ± 1.59 | 35.08 ± 3.05* | 29.98 ± 2.12* | 28.65 ± 1.76* | 30.37 ± 1.82* | 31.19 ± 2.59* |
| 6. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (400) | 61.86 ± 1.48 | 38.32 ± 1.47 | 34.58 ± 2.05* | 27.19± 0.91* | 29.04 ± 1.37* | 28.69 ± 1.20* | 29.08 ± 1.76* |
| 7. อาหารไขมันสูง + สารสกัดส้มป่อย (800) | 59.28 ± 2.26 | 31.49 ± 2.29 | 30.41 ± 1.68* | 25.73 ± 1.61* | 28.18 ± 1.11* | 28.57 ± 1.58* | 30.28 ± 1.69* |

ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SE), จำนวนสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่ม = 9

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูแรทปกติ



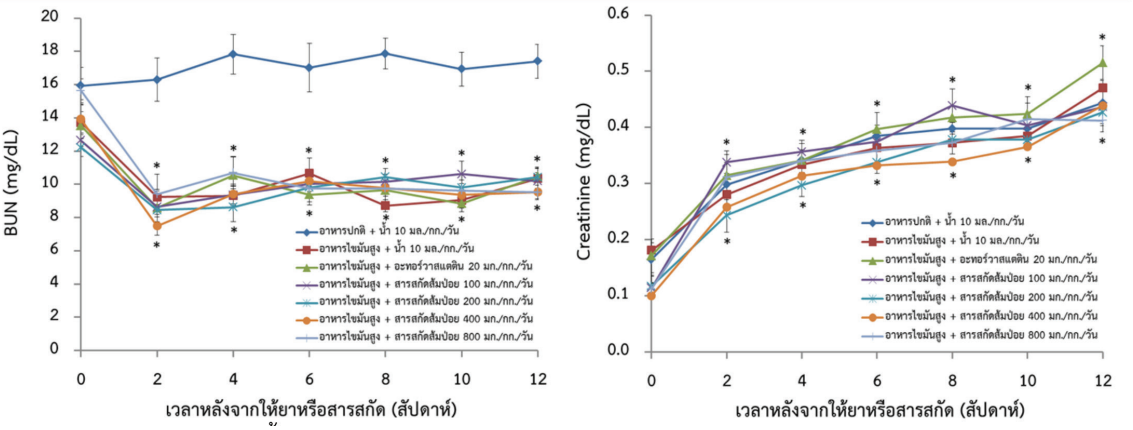

**ภาพที่ 1** ผลของสารสกัดด้วยน้ำของใบส้มป่อยขนาดต่าง ๆ หรืออะทอร์วาสแตตินต่อระดับ (ก) AST, (ข) ALT และ (ค) ALP เทียบกับของกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารไขมันสูง ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (กลุ่มละ 9 ตัว)
* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูแรทปกติ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้แบบจำลองที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดจากใบส้มป่อยสามารถต้านอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ได้ การแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส้มป่อยสอดคล้องกับรายงานที่มีการศึกษามาแล้ว พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อยมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยดักจับอนุมูลซุปเปอร์-ออกไซด์[12-13]

จากการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า สารสกัดใบส้มป่อยมีสารแทนนินและแซโพนิน ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานวิจัยอื่นที่พบว่าสารแทนนิน และแซโพนินเป็นองค์ประกอบทางเคมีในใบส้มป่อย[9-10] การแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส้มป่อยนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของแทนนินและแซโพนิน Chung และคณะ[22] รายงานว่าคุณสมบัติต้านออกซิเดชันของแทนนินอาจ

มีความสำคัญในการช่วยป้องกันการทำลายเซลล์แบบออกซิเดชัน เช่น การทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (lipid peroxidaton) และแทนนินยับยั้งการเกิดอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ มีหลักฐานมากขึ้นเกี่ยวกับสารที่พบในพืช มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยช่วยลดคอเลสเตอรอล[23] ได้แก่ แทนนินซึ่งเป็นสารกลุ่มฟีนอลิกที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์ลดไขมัน[22,24] ส่วนแซโพนินซึ่งเป็นสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์หรือสเตอรอยด์ก็มีรายงานว่ามีฤทธิ์ลดไขมันเช่นกัน[23,25-26] นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าแซโพนินมีประสิทธิผลในการป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูง โดยฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดของแซโพนินอาจเนื่องจากการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลในลำไส้เล็ก ทำให้เพิ่มการขับถ่ายคอเลสเตอรอลทางอุจจาระ[23,26] การต้านออกซิเดชันของทั้งแทนนินและแซโพนินที่พบในสารสกัดส้มป่อย อาจมีส่วนช่วยลดการเกิดพยาธิสภาพที่เป็นผลจากอนุมูลอิสระ จึงลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง จากการศึกษาผลต่อการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase พบว่า สารสกัดส้มป่อยสามารถยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ร้อยละ 84.30 ± 1.05 ($IC_{50}$ = 71.38 ± 5.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และยาพราวาสแตตินยับยั้งเอนไซม์นี้ ร้อยละ 90.55 ± 1.08 เนื่องจากส้มป่อยเป็นสารสกัดหยาบจึงใช้ขนาดสูงกว่ายามาตรฐานมากในการยับยั้งเอนไซม์ใกล้เคียงกัน แม้ว่าการศึกษานี้เป็นการทำงานของเอนไซม์ภายนอกร่างกาย (*in vitro*) ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าวอาจจะเหมือนหรือแตกต่างจากการศึกษาในร่างกายสัตว์ทดลองหรือมนุษย์ แต่อย่างน้อยผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดส้มป่อยอาจลดไขมันได้โดยยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็น rate limiting step ในการกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลเช่นเดียวกับยาลดไขมันในเลือดกลุ่ม statin ทำให้ระดับไขมันในเลือดลดลง จึงมีการศึกษาฤทธิ์ลดไขมันในเลือดของสารสกัดส้มป่อยต่อในสัตว์ทดลอง และใช้อะทอร์วาสแตตินซึ่งเป็นยาลดไขมันในเลือดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase เป็นกลุ่มควบคุมบวก จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าใบส้มป่อยมีสารสำคัญ คือ วิตามินเอ บีตาแคโรทีน และบีตาแคโรทีนรวม ในปริมาณสูงมากกว่าผักพื้นบ้านทั้งหลาย แต่ในการศึกษานี้ใช้สารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อย จึงไม่น่าจะได้สารกลุ่มนี้ออกมาในสารสกัดเพราะเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้น ฤทธิ์ดักจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์หรือฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ของสารสกัดใบส้มป่อย ไม่น่าจะเกิดจากสารกลุ่มนี้

การทดสอบผลของสารสกัดส้มป่อยต่อระดับไขมันในเลือดของหนูที่เหนี่ยวนำให้มีระดับไขมันในเลือดสูง พบว่าสารสกัดส้มป่อยขนาด 200, 400 และ 800 มก./กก./วัน สามารถลดระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ได้ในปริมาณใกล้เคียงกันกับยาอะทอร์วาสแตติน 20 มก./กก./วัน และฤทธิ์ดังกล่าวของสารสกัดส้มป่อยมีแนวโน้มแปรตามขนาดของสารสกัดที่ให้ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดส้มป่อยสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ในหนูที่เหนี่ยวนำให้ไขมันในเลือดสูงได้ การแสดงฤทธิ์ลดไขมันในเลือดของสารสกัดส้มป่อย อย่างน้อยอาจมีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase เช่นเดียวกันกับกลไกการออกฤทธิ์ลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลของอะทอร์วาสแตติน ทำให้ระดับไขมันลดลง นอกจากนี้ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของส้มป่อยอาจมีส่วนช่วยลดการเกิดหลอดเลือดแดงแข็ง โดยลดการเกิดออกซิเดชันของ LDL ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในกระบวนการเกิดผนังหลอดเลือดแข็งหรืออุดตัน จึงเป็นผลลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง




**ภาพที่ 2** ผลของสารสกัดด้วยน้ำของใบส้มป่อยขนาดต่าง ๆ หรืออะทอร์วาสแตตินต่อระดับ (ก) BUN และ (ข) Creatinine เทียบกับของกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารไขมันสูง ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (กลุ่มละ 9 ตัว)
* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูแรทปกติ

ในการศึกษานี้ระดับคอเลสเตอรอลและ LDL สูงขึ้น และระดับ HDL ต่ำลงหลังจากหนูได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงเมื่อเทียบกับหนูปกติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้[27-30] อาหารไขมันสูงทำให้เพิ่มระดับคอเลสเตอรอลและ LDL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ LDL ที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากตับสร้างคอเลสเตอรอลจำนวนมาก ซึ่ง LDLจะขนส่งคอเลสเตอรอลจากตับไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ยิ่งมีการสร้างคอเลสเตอรอลมากก็ยิ่งต้องการ LDL เพื่อขนส่งคอเลสเตอรอลมากขึ้น ถ้าสูงเป็นระยะเวลานานจะเกิดการคั่งและเกาะตามหลอดเลือดทำให้เกิดการอุดตันได้ การให้อาหารคอเลสเตอรอลสูงในการศึกษานี้ยังทำให้ระดับ HDL ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงทำให้ระดับ HDL ลดลงโดยเพิ่มการรับและการดูดซึมไขมัน เป็นผลให้ปริมาณคอเลสเตอรอลสูงขึ้น ตามด้วยการเพิ่มวิธีการขนส่งคอเลสเตอรอลจากเซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกายไปยังเซลล์ตับ (reverse cholesterol transport activity) เพื่อกำจัดคอเลสเตอรอลออกจากระบบโดยขับออกทางน้ำดี ดังนั้นระดับ HDL จึงลดลง นอกจากนี้ อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงยังสามารถเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในตับหนู ทำให้เพิ่มระดับ LDL และลดระดับ HDL ในเลือด[30]

สารสกัดส้มป่อยแสดงฤทธิ์ลดไขมันโดยลดระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ขณะที่ระดับ HDL ไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยสมุนไพรลดไขมันที่ผ่านมา[31-32] จากการศึกษาเชิงตำรับตรีผลาในหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูง พบว่าตำรับตรีผลาสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ได้ แต่ระดับ HDL ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งกลุ่มที่ได้รับตรีผลาและกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง[31] และการศึกษาสมุนไพรเชิงเดี่ยวของสมอไทยในหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูง พบว่าสมอไทยสามารถลดระดับ

คอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์และเพิ่มระดับ HDL[32]

นอกจากนี้ภาวะไขมันในเลือดสูงที่เป็นผลมาจากการสะสมไขมันมากเกินไปจนเกิดเป็นโรคอ้วนก็เป็นปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญ Ruangaram และ Kato[33] รายงานว่าสารสกัดจากฝักส้มป่อยแสดงฤทธิ์ลดความอ้วนโดยยับยั้งเอนไซม์ไลเปสที่ใช้ในการย่อยไขมัน เพิ่มการสลายไขมัน และลดการสะสมไขมัน จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าการให้บีตาแคโรทีนในอาหารมีส่วนช่วยทำให้หนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอสสูงมีระดับของคอเลสเตอรอลลดลง[34] ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยที่มีการให้วิตามินเอในหนูอ้วน (Ob strain) จะทำให้หนูมีน้ำหนักและการสะสมของไขมันลดลง[35] จากการทบทวนวรรณกรรมจะเห็นได้ว่าสารจำพวกแคโรทินอยด์ เช่น วิตามินเอ โปรวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) เป็นสารที่มีศักยภาพในการป้องกันการเกิดโรคอ้วน ดังนั้น ใบส้มป่อยซึ่งเป็นแหล่งของวิตามินเอ เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนรวม อาจมีศักยภาพในการป้องกันการเกิดโรคอ้วน หากมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของสารสกัดจากใบส้มป่อยในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะอ้วนด้วยอาหารที่มีไขมันสูง ใบส้มป่อยอาจเป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมทั้งภาวะอ้วนและไขมันในเลือดสูง ผลต่อการทำงานของตับและไตพบว่า หนูแรทที่เหนี่ยวนำให้มีไขมันในเลือดสูงโดยให้อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงทุกกลุ่ม ทั้งกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับยามาตรฐานหรือสารสกัดส้มป่อยมีค่าเฉลี่ย ALP สูงขึ้น และค่าเฉลี่ย BUN ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับหนูแรทปกติ แต่ไม่แตกต่างกันระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงทั้ง 6 กลุ่มตลอดการศึกษา ขณะที่ค่าเฉลี่ย AST และ ALT มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มหนูปกติเล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มหนูปกติหรือระหว่างกลุ่มหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงตลอดการศึกษา ระดับ AST และ ALT ที่มีแนวโน้มสูงขึ้นนี้เป็นผลมาจากอาหารไขมันสูงสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าอาหารไขมันสูงสามารถเพิ่มระดับ AST และ ALT ซึ่งเป็นผลมาจากเซลล์ตับเกิดการบาดเจ็บหรือตาย[27-28] ส่วนระดับ creatinine เฉลี่ยมีค่าเพิ่มขึ้นในหนูทุกกลุ่ม รวมทั้งกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่มตลอดการศึกษาแต่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม ค่า creatinine เพิ่มขึ้นตามอายุหนูที่เพิ่มขึ้น และค่าที่เพิ่มขึ้นนี้ยังอยู่ในช่วงค่าปกติ[36] แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของค่า ALP และ BUN เมื่อเทียบกับหนูปกติเป็นผลจากการได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง ยามาตรฐานและสารสกัดส้มป่อยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของตับและไตในหนูแรทที่เหนี่ยวนำให้มีไขมันในเลือดสูง

ส่วนผลต่อการเจริญเติบโตและการกินอาหาร พบว่า หนูแรทที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงมีการเจริญเติบโตและปริมาณการกินอาหารน้อยกว่าหนูแรทปกติ ในขณะที่หนูแรทที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงทั้ง 6 กลุ่ม มีการเจริญเติบโตและปริมาณการกินอาหารไม่แตกต่างกัน และไม่พบความผิดปกติของอาการหรือพฤติกรรม แสดงให้เห็นว่าทั้งยามาตรฐานและสารสกัดส้มป่อยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการกินอาหารของหนูแรทที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง รวมทั้งไม่มีผลต่อสุขภาพทั่วไป ดังนั้น สารสกัดส้มป่อยอาจไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับและไต การเจริญเติบโตและปริมาณการกินอาหารในหนูแรทที่เหนี่ยวนำให้เป็นไขมันในเลือดสูงเช่นเดียวกันกับยามาตรฐาน ในการศึกษานี้ไม่ได้ใช้หนูที่มีระดับไขมันในเลือดสูงตั้งแต่เริ่มต้น การให้ยาเพื่อป้องกันการเพิ่มขึ้นของระดับไขมันในเลือดอาจต้องใช้เวลาศึกษา

ยาวนานกว่านี้ เพราะหนูที่เลี้ยงด้วยอาหารไขมันสูงต้องใช้เวลานานพอสมควรกว่าจะมีระดับไขมันในเลือดสูงพอให้เห็นผลการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน ในการศึกษาต่อไปควรทำการศึกษาโดยใช้หนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงก่อนที่จะเริ่มทดสอบฤทธิ์ยาเพื่อให้ได้ผลการศึกษาที่สามารถเปรียบเทียบทางสถิติกับกลุ่มควบคุมได้ดีขึ้น

จากผลการศึกษานี้อาจกล่าวได้ว่าเป็นรายงานครั้งแรกของฤทธิ์ในสารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อยในการลดระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ที่สูงขึ้นในหนูแรทที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง โดยกลไกการออกฤทธิ์อย่างน้อยอาจเกี่ยวข้องกับการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase และการต้านออกซิเดชัน ซึ่งการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase เป็นการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลทำให้ระดับไขมันลดลง และการต้านออกซิเดชันอาจมีส่วนช่วยลดการเกิดพยาธิสภาพที่เกิดจากอนุมูลอิสระ เป็นการลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเบื้องต้นที่ได้จากการศึกษานี้เป็นการทดสอบฤทธิ์ลดไขมันของสารสกัดส้มป่อยในรูปของสารสกัดหยาบเท่านั้น และสารสกัดส้มป่อยอาจมีกลไกออกฤทธิ์ลดไขมันได้หลายทาง หากมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยเตรียมสารสกัดส้มป่อยให้บริสุทธิ์ขึ้นเป็นสารสกัดส้มป่อยแยกส่วน (subfraction extract) แล้วตรวจสอบฤทธิ์ลดไขมันของสารสกัดแยกส่วนและกลไกในการออกฤทธิ์ลดไขมันอื่น ๆ ที่เป็นไปได้ เช่น ฤทธิ์ยับยั้งการย่อยไขมันโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลโดยยับยั้งการนำคอเลสเตอรอลเข้าเซลล์เพาะเลี้ยงลำไส้ ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเซลล์ไขมัน เป็นต้น จะทำให้ทราบถึงสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ลดไขมันของสารสกัดส้มป่อยเพิ่มเติมและชัดเจนขึ้น นอกจากนี้ควรทำการศึกษาโดยใช้หนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงก่อนที่จะเริ่มทดสอบฤทธิ์ยา

## ข้อสรุป

การศึกษานี้ได้ตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบส้มป่อยในหลอดทดลอง และฤทธิ์ลดไขมันในหนูแรทที่เหนี่ยวนำให้มีไขมันในเลือดสูงโดยให้อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง พบว่าสารสกัดส้มป่อยสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยการดักจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ โดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 44.90 ± 4.17 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ได้โดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 71.38 ± 5.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดส้มป่อยขนาด 200-800 มก./กก./วัน เมื่อให้พร้อมกับอาหารที่มีไขมันสูงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ สามารถลดการเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ได้ใกล้เคียงกับอะทอร์วาสแตติน แต่ไม่มีผลต่อระดับไตรกลีเซอร์ไรด์และ HDL นอกจากนี้สารสกัดส้มป่อยไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับและไต การเจริญเติบโตและปริมาณการกินอาหารของหนูแรทที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง รวมทั้งไม่ส่งผลต่อสุขภาพทั่วไปเช่นเดียวกับยามาตรฐาน แสดงให้เห็นว่าสารสกัดส้มป่อยมีศักยภาพในการลดระดับไขมันเมื่อให้พร้อมกับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง โดยกลไกการออกฤทธิ์อย่างน้อยอาจเกี่ยวข้องกับการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase และการต้านออกซิเดชันอาจช่วยลดการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ดังนั้น สารสกัดจากใบส้มป่อยอาจมีศักยภาพที่จะนำไปศึกษาเพิ่มเติมและพัฒนาเพื่อให้ได้ยาจากสมุนไพรที่มีฤทธิ์ลดไขมันในเลือดหรือใช้เสริมยาแผนปัจจุบันในการรักษาโรคไขมันในเลือดสูง

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และขอขอบคุณ ภก.เดชมนตรี วจีสุนทร และ ดร.สุภัชฌา พูนศรัทธา ห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร ที่ช่วยเตรียมส่วนประกอบของอาหารสัตว์ทดลองที่มีไขมันสูง

## References

1. Hajar R. Risk factors for coronary artery disease: Historical perspectives. Heart Views. 2017;18(3):109-14.
2. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Merz NB, Blum CB, Eckel RH, Goldberg AC, Gordon D, Levy D, Lloyd-Jones DM, McBride P, Schwartz JS, Shero ST, SmithJr SC, Watson K, Wilson PWF. 2013 ACC/AHA Guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: A report of the American College of Cardiology/ American Heart Association task force on practice guidelines. Circulation. 2014;129(25 Suppl 2):S1-S45.
3. Sookvanichsilp N. Hypolipidemic drug...muscle-related adverse events. [internet]. 2019 [cited 2020 Aug 10]; Available from: https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/475 (in Thai).
4. Nielsen IC. Leguminosae-Mimosoideae (*Acacia concinna*). In: Smitinand T, Larsen K, editors. Flora of Thailand. Volume 4, Part 2. Bangkok: Forest Herbarium, Royal Forest Department; 1985. p. 169-70.
5. Maslin BR, Seigler DS, Ebinger J. New combinations in Senegalia and Vachellia (Leguminosae: Mimosoideae) for Southeast Asia and China. Blumea. 2013;58(1):39-44.
6. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University. Sompoi. [internet]. [cited 2021 Jan 5]. Available from: http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=129 (in Thai).
7. National List of Essential Medicines (No. 2) B.E. 2554 (2011). Published in Government Gazette on 28 June B.E. 2554 (2011). (in Thai).
8. Kongsamai P. Lanna indigenous vegetables. [internet]. 2017 [cited 2021 Mar 2]. Available from: https://panutda-kongsamai.wordpress.com/
9. Raja XV, Sivaraj R. Screening of Secondary Metabolites and Antibacterial Activity of *Acacia concinna* leaves. Int Res J Pharm. 2012;3(10):130-1.
10. Antil R, Priyanka, Dahiya P, Singh N. Phytochemical and antibacterial potential of acetone leaf extract of *Acacia concinna* (Willd.) DC. Int J Pharmacogn. 2016;3(3):161-6.
11. Soogarun S, Suwansuksri J. Inhibition of Heinz body induction of six common Thai medicinal leaves and creeping stems in *in vitro* antioxidant study model. Acta Hortic. 2005;680:161-3.
12. Rao TP, Htay HH, Yasuda NK, Sugino H, Ohkubo, Hayashi T, Okamoto T, Suzuki K. Antioxidant and anti-thrombotic properties of selected plant extracts of Asia. Austin J Nutr Metab. 2014;1(1):6.
13. Lumlerdkij N, Boonrak R, Booranasubkajorn S, Akarasereenont P, Heinrich M. *In vitro* protective effects of plants frequently used traditionally in cancer prevention in Thai traditional medicine: An ethnopharmacological study. J Ethnopharmacol. 2020;250:112409.
14. Leaves, flowers and vegetables. [internet]. 2011 [cited 2021 Mar 2]. Available from: https://www.mcgill.ca/cine/files/cine/karen_datatables_leaves_flowers_vegetables_dec11_0.pdf
15. Sharma N. Free radicals, antioxidants and disease. Biol Med. 2014;6(3):1-6.
16. Mao X, Gu C, Chen D, Yu B, He J. Oxidative stress-induced diseases and tea polyphenols. Oncotarget. 2017;8(46):81649-61.
17. Kwiterovich PO. The effect of dietary fat, antioxidants, and pro-oxidants on blood lipids, lipoproteins, and atherosclerosis. J Am Diet Assoc. 1997;97(7 Suppl):S31-41.
18. Tribble DL. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: Emphasis on vitamin C, vitamin E, and $\beta$-carotene: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Circulation. 1999;99(4):591-5.
19. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai Pharmacopoeia. Vol. I and II Supplement 2005. Nonthaburi: Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health; 2005. 40 p.
20. Halliwell B, Gutteridge JM, Aruoma OI. The deoxyribose method: a simple "test tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. Anal

Biochem. 1987;165(1):215-9.

21. Nishikimi M, Appaji N, Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. Biochem Biophys Res Commun. 1972;46(2):849-54.
22. Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y. Tannins and human health: A review. Crit Rev Food Sci Nutr. 1998;38(6):421-64.
23. Kim SW, Park SK, Kang SI, Kang HC, Oh HJ, Bae CY, Bae DH. Hypocholesterolemic property of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts in human body. Arch Pharm Res. 2003;26(12):1042-6.
24. Ghimire BK, Tamang JP, Yu CY, Jung SJ, Chung IM. Antioxidant, antimicrobial activity and inhibition of α-glucosidase activity by *Betula alnoides* Buch. bark extract and their relationship with polyphenolic compounds concentration. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2012;34(5):824-31.
25. Mukherjee PK. Plant products with hypocholesterolemic potentials. Adv Food Nutr Res. 2003;47:277-338.
26. Amany Ali MM, Tawfik MF, Hikal MS, Tag El-Din MA. Hypocholesterolemic effect of saponin extracts in experimental animals. Arab Univ J Agric Sci. 2019;Special Issue, 26(2D):2463-78.
27. Devi S, Singh R. Antioxidant and anti-hypercholesterolemic potential of *Vitis vinifera* leaves. Pharmacogn J. 2017;9(4):565-72.
28. Ji C, Li C, Gong W, Niu H, Huang W. Hypolipidemic action of hydroxycinnamic acids from cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) on hypercholesterolaemic rat in relation to its antioxidant activity. J Food Nutr Res. 2015;3(5):317-24.
29. Kamesh V, Sumathi T. Antihypercholesterolemic effect of *Bacopa monniera* linn. on high cholesterol diet induced hypercholesterolemia in rats. Asian Pac J Trop Med. 2012;5(12):949-55.
30. Pangestika I, Oksal E, Tengku-Muhammad TS, Amir H, Syamsumir DF, Wahid MEA, Andriani Y. Inhibitory effects of tangeretin and trans-ethyl caffeate on the HMG-CoA reductase activity: Potential agents for reducing cholesterol levels. Saudi J Biol Sci. 2020;27(8):1947-60.
31. Saravanan S, Srikumar R, Manikandan S, Jeya Parthasarathy N, Sheela Devi R. Hypolipidemic effect of Triphala in experimentally induced hypercholesteremic rats. Yakugaku Zasshi. 2007;127(2):385-8.
32. Maruthappan V, Shree KS. Hypolipidemic activity of haritaki (*Terminalia chebula*) in atherogenic diet induced hyperlipidemic rats. J Adv Pharm Technol Res. 2010;1(2):229-35.
33. Ruangaram W, Kato E. Selection of Thai medicinal plants with Anti-obesogenic potential via *in vitro* methods. Pharmaceuticals (Basel). 2020;13(4):56.
34. Silva LS, Miranda AM, Brito Magalhães CL, Dos Santos RC, Pedrosa ML, Silva ME. Diet supplementation with β-carotene improves the serum lipid profile in rats fed a cholesterol-enriched diet. J Physiol Biochem. 2013;69(4):811-20.
35. Prashanth A, Jeyakumar SM, Giridharan NV, Vajreswari A. Vitamin A-enriched diet modulates reverse cholesterol transport in hypercholesterolemic obese rats of the WNIN/Ob strain. J Atheroscler Thromb. 2014; 21(11):1197-207.
36. Department of Examinations: Technical Service Department. CLEA Japan. Biological background data of Jcl:SD rats (June 1991). Bangkok: Nomura Siam International Co., Ltd.; 1991.