บทที่ 4

ผลการทดลอง

น้ำหนักแห้งของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานและใบตำลึงแก่

จากการสกัดไหมข้าวโพดหวานและใบตำลึงแก่ด้วยน้ำร้อน พบว่าน้ำหนักของสารสกัดที่ได้มีค่าแตกต่างกันไป โดยน้ำหนักของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานได้น้ำหนัก 8.41 กรัม ส่วนสารสกัดจากใบตำลึงแก่ได้น้ำหนัก 24.94 กรัม จากน้ำหนักสด 1 กิโลกรัม ดังตาราง 17

ตาราง 17 น้ำหนักของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานและสารสกัดจากใบตำลึง

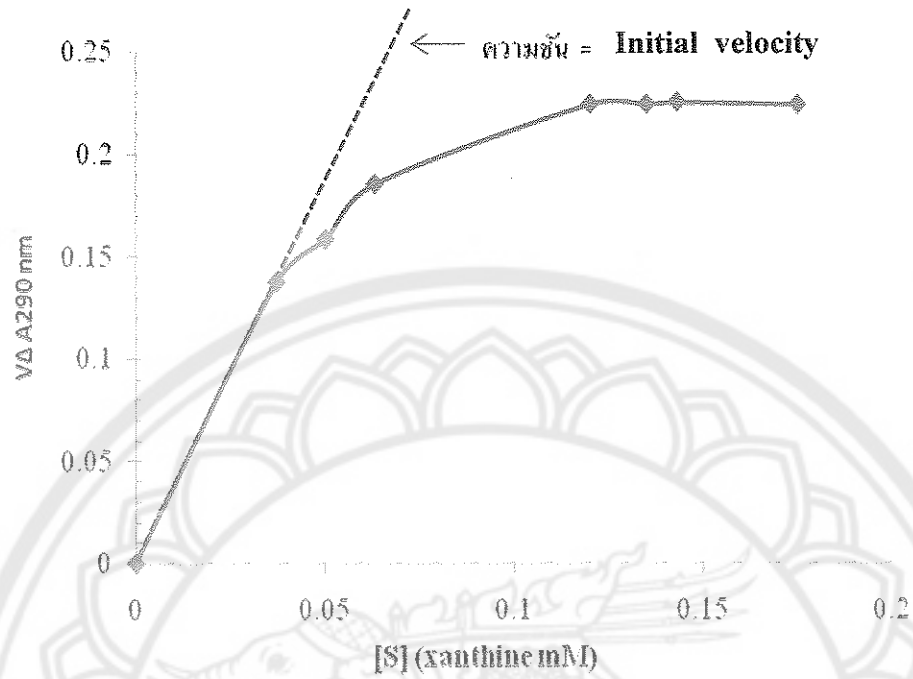
พืชตัวอย่าง	น้ำหนัก (g) / 1 กิโลกรัมน้ำหนักสด
ไหมข้าวโพดหวาน	8.41
ใบตำลึงแก่	24.94

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

จากการศึกษาจนศาสตร์ของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสโดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา คือ ความเข้มข้นของสับสเตรทแซนทีน ความเข้มข้นของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และอิทธิพลของ pH ในหลอดทดลอง โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 37 °C แสดงผลดังนี้

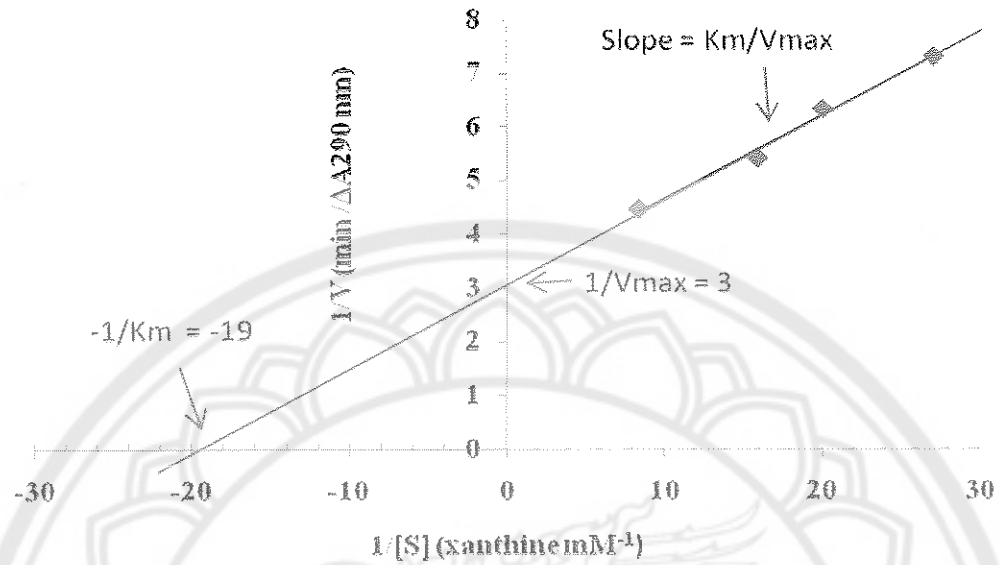
ผลของความเข้มข้นของสับสเตรทที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

การศึกษาความเข้มข้นของสับสเตรทแซนทีนที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.010, 0.037, 0.050, 0.063, 0.120 และ 0.135 mM ต่อการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยวัดค่าการเกิดกรดยูริกที่การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 nm เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแซนทีนจะได้กราฟ Michaelis Menten (ภาพ 11) และเขียนกราฟ line weaver burk plot (ภาพ 12)



ภาพ 11 การเกิดกรดยูริกเมื่อเวลาผ่านไปของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส เป็นตัวเร่ง (เส้นทึบ) ค่าความชันของเส้นตรงที่ลากสัมผัสเส้นโค้งที่ได้จากการเขียนกราฟระหว่าง ความเข้มข้นของกรดยูริกกับเวลา ที่ t = 0 (เส้นประ) เป็นค่าอัตราเร็วเริ่มต้น (V_0) ของปฏิกิริยา

จากการศึกษาความเข้มข้นของสับสเตรทแซนทีนต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณแซนทีนที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยกำหนดความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่ค่าหนึ่ง เมื่อนำค่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาในการเกิดกรดยูริก และค่าความเข้มข้นต่างๆ ของแซนทีนมาเขียนกราฟสมการ Michaelis Menten จะทำให้ทราบถึงอัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา (initial velocity) โดยวัดจากค่าความชันของเส้นตรงที่ลากสัมผัสเส้นโค้งที่ได้จากการเขียนกราฟระหว่าง ความเข้มข้นของแซนทีนกับเวลา (t = 0) ซึ่งเป็นอัตราเร็วของปฏิกิริยาเมื่อเริ่มเกิดปฏิกิริยาใหม่ๆ ซึ่งจะมีค่าคงที่ในช่วงระยะเวลาสั้นๆ ช่วงหนึ่ง และเมื่อปล่อยให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไป จะเห็นว่าอัตราเร็วลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของแซนทีนลดลง ดังภาพ 11



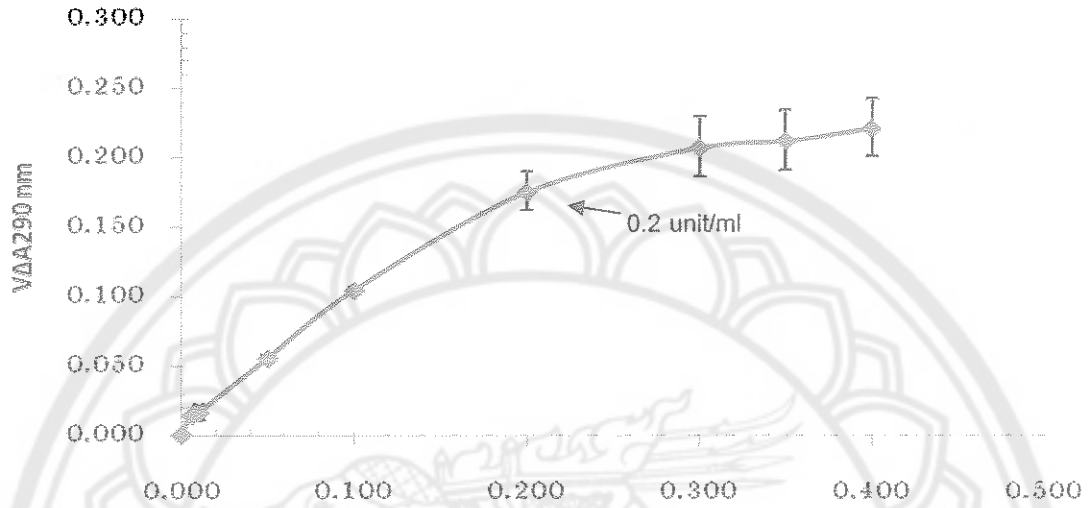
ภาพ 12 กราฟ Line-weaver burk ระหว่าง 1/V กับ 1/[S] จะได้กราฟเส้นตรงที่มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ Km/Vmax และจุดตัดบนแกน 1/V มีค่าเท่ากับ 1/Vmax ดังนั้น 1/[S] เท่ากับ –1/Km และความเข้มข้นของสับสเตรทที่เลือกใช้คือ 0.06 mM

เนื่องจากการหาค่าอัตราเร็วสูงสุดของการเกิดปฏิกิริยา (Vmax) และ ค่าคงที่มิเคลิส (Michaelis constant) จากสมการ Michaelis Menten อาจเกิดข้อผิดพลาดจากการวาดรูปเส้นโค้ง ทำให้ได้ค่า Km และ Vmax ไม่ถูกต้อง จึงนำข้อมูลจากสมการดังกล่าวมาเขียนให้อยู่ในรูปสมการเส้นตรงของ Line weaver burk (Double Reciprocal plot) ดังนั้นเมื่อเขียนกราฟระหว่าง 1/V กับ 1/[S] จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับ Km/Vmax และจุดตัดบนแกน 1/V คือ 1/Vmax และจุดตัดบนแกน 1/[S] มีค่าเท่ากับ -1/Km ดังนั้น จากกราฟ (ภาพ 12) ค่า Km ที่ได้คือ 0.06 mM ซึ่งเป็นความเข้มข้นของแซนทีนที่ทำให้อัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยามีค่าเท่ากับครึ่งหนึ่งของอัตราเร็วสูงสุด และอัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยา คือ 0.033

ผลของความเข้มข้น ของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา

การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา เป็นการทดลองหาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม โดยการทดลองใช้เอนไซม์แซนทีนออกซิเดสที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.006, 0.01, 0.05, 0.10, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35,

และ 0.40 unit/ml โดยวัดค่าการเกิดกรดยูริก ที่ความยาวคลื่น 290 nm เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแซนทีนออกซิเดส จะได้กราฟดังภาพ 13

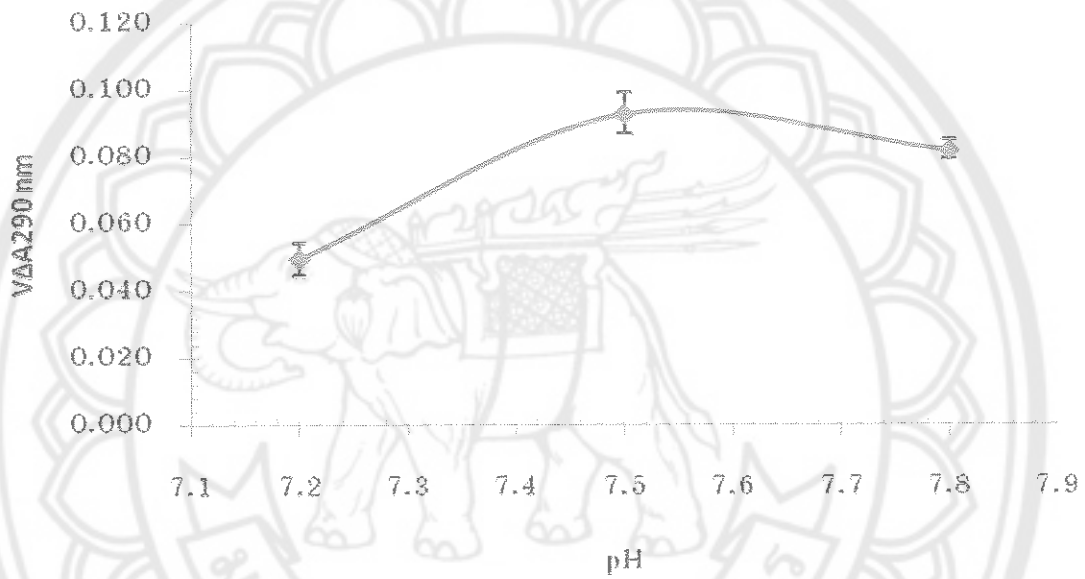


ภาพ 13 กราฟแสดงความเข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาเมื่อให้ความเข้มข้นของสารตั้งต้นแซนทีนคงที่ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ความเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นน้อยหรือไม่เพิ่มขึ้น เนื่องจากไม่มีสับสเตรทแซนทีนเหลือพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยา ดังนั้น ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมคือ 0.2 unit/ml

ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นต่างๆ ของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส เมื่อให้ปริมาณความเข้มข้นของสารตั้งต้นแซนทีนคงที่ พบว่า อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วถ้ามีเอนไซม์มาก แต่ถ้ามีเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากเกินพอ ซึ่งสังเกตในช่วงความเข้มข้น 0.3-0.4 unit/ml ความเร็วของปฏิกิริยาจะไม่เพิ่มขึ้นหรือเพิ่มขึ้นน้อย เนื่องจากไม่มีสับสเตรทแซนทีนเหลือพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยา ดังนั้นที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสที่ 0.2 unit/ml จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา ดังภาพ 13

ผลของ pH ต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา

การศึกษาผลของ pH ต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาเป็นการทดลองหาค่า pH ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการทดลอง โดยการทดลองใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่า pH ต่างๆ ได้แก่ 7.2, 7.5 และ 7.8 โดยวัดค่าการเกิดกรดยูริกที่ความยาวคลื่น 290 nm เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์กับค่า pH ต่างๆ ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จะได้กราฟดังภาพ 14



ภาพ 14 ค่า pH ต่าง ๆ ต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเป็นตัวเร่ง พบว่า ที่ pH 7.5 เป็นค่าที่ทำให้อัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยามีค่าสูงสุด (optimum pH) โดยพิจารณาจาก pH ที่ต่ำกว่าและสูงกว่าจะพบว่าอัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาลดลง ดังนั้นเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสทำงานได้ดีที่สุดที่ pH 7.5

ผลของ pH ต่ออัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา โดยจากการทดลองบัฟเฟอร์ที่ใช้คือโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยได้ทำการทดลองที่ค่า pH ต่างๆ คือ pH 7.2, 7.5 และ7.8 พบว่าที่ pH 7.5 เป็นค่าที่ทำให้อัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยามีค่าสูงสุด และจากผลการทดลองพบว่าค่า pH 7.2 และ 7.8 เป็นค่าที่ทำให้อัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาลดลง ดังนั้นโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 7.5 มีผลทำให้เอนไซม์แซนทีนออกซิเดสทำงานได้ดีที่สุด ดังภาพ 14 โดยสังเกตได้

จากปริมาณกรดยูริกที่เพิ่มขึ้น ซึ่งวัดได้จากเครื่อง spectrophotometer ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร

จากผลการทดลองที่แสดงดังภาพ 11 – 14 สภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ในการทดลองนี้คือ โพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ความเข้มข้นของแซนทีน 0.06 mM และความเข้มข้นของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส คือ 0.2 unit/ml โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองคือ 37 °C

ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบ (Crude extract) ตัวอย่าง ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

จากการทดสอบคุณสมบัติของสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวานและใบตำลึงแก่ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยการเติมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในปฏิกิริยาสารผสม เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดลงแล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 nm แล้วนำค่าการดูดกลืนที่วัดได้ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (% inhibition) จากสมการ (1)

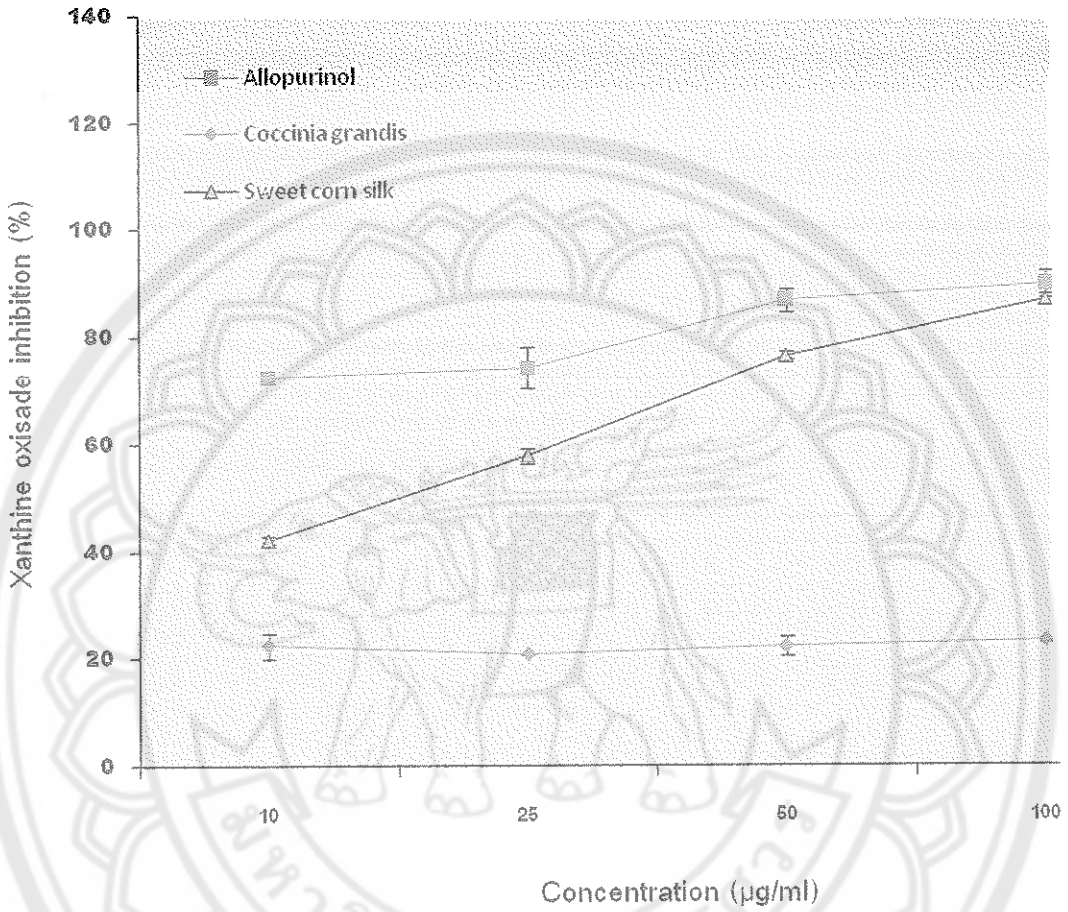
$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A-B) - (B-C)}{(A-B)} \times 100 \qquad (1)$$

ตาราง 18 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวาน และใบตำลึงแก่ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง

In vitro xanthine oxidase inhibitory activity

Materials	Extract	Percentage xanthine oxidase inhibition				
		10 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	IC_{50}(µg/ml)
Sweet corn-silk	Aqueous	42.12 ± 2.36	57.71 ± 0.09	76.28 ± 1.74	86.74 ± 0.15	17
Coccinia - grandis	Aqueous	22.32 ± 0.78	20.71 ± 1.41	22.14 ± 0.69	23.03 ± 1.05	-
Allopurinol	-	72.37 ± 0.92	74.15 ± 3.83	86.64 ± 2.19	89.49 ± 2.48	6

นำข้อมูลสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวาน และใบตำลึงแก่ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมาเขียนกราฟ (ภาพ 15)



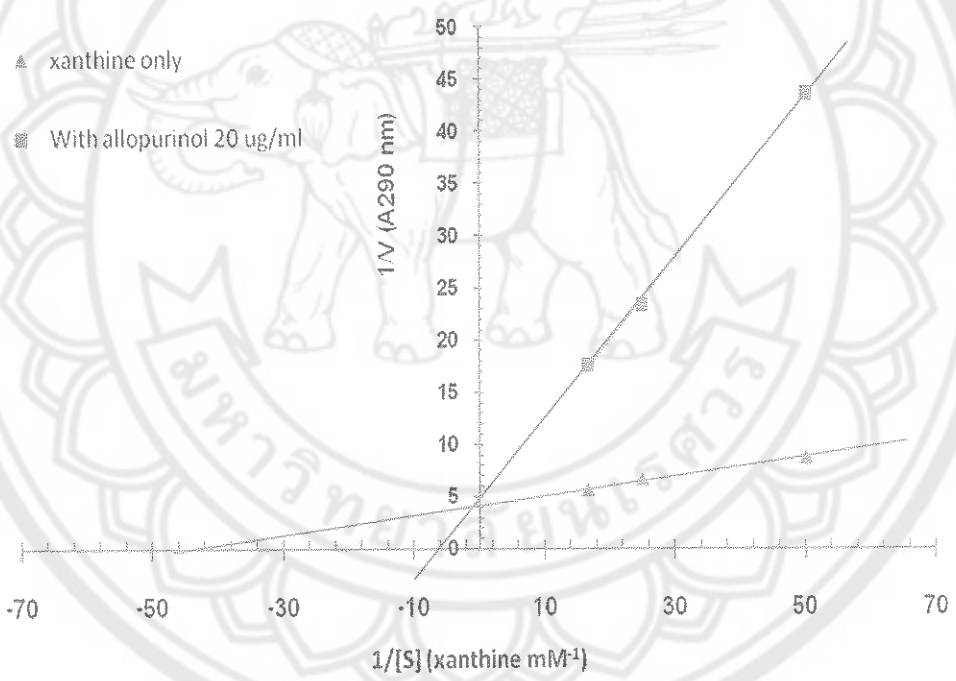
ภาพ 15 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวาน และใบตำลึงแก่ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานยาอัลโลพูรินอล
(mean ± SD, n = 3)

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในสารสกัดหยาบตัวอย่าง (ตาราง 18 และภาพ 15) พบว่าสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวาน และใบตำลึงแก่ที่ความเข้มข้นต่างๆ (10, 25, 50 และ 100 µg/ml) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และพบว่าที่ความเข้มข้นต่างๆ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้น้อยกว่าร้อยละ 50 ส่วนที่ความเข้มข้น 25, 50 และ100 µg/ml ของสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวานมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากกว่า 50 และให้ค่าใกล้เคียงกับการใช้ยาอัลโลพูรินอล (89.49 ± 2.48) ที่

ความเข้มข้น 100 µg/ml ของสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวาน (% inhibition คือ 86.74 ± 0.15) และเมื่อเปรียบเทียบกับค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในสารสกัดหยาบจากใบตำลึงแก่ พบว่าไหมข้าวโพดหวานมีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดีกว่า

ผลการศึกษาสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวานและใบตำลึงแก่ต่อชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

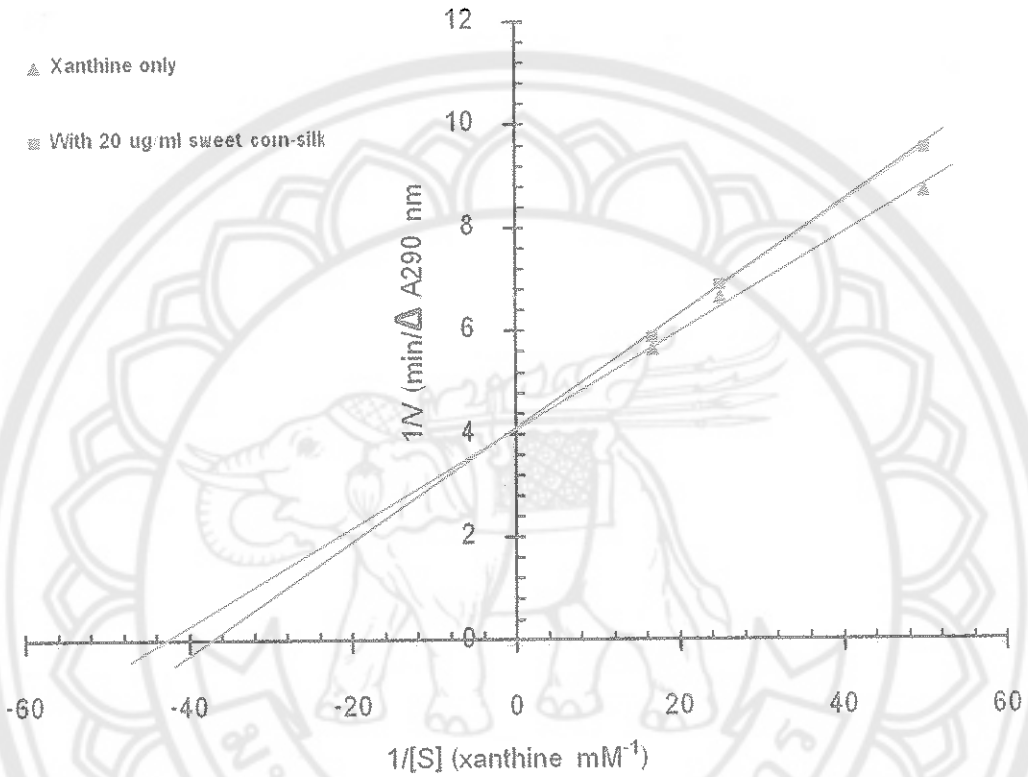
จากการศึกษาสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวาน และใบตำลึงแก่ที่ความเข้มข้น 20 µg/ml ต่อชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยเปรียบเทียบกับตัวยับยั้งมาตรฐานยาอัลโลพูรินอลที่ความเข้มข้น 20 µg/ml แสดงค่าการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสชนิดต่างๆ ดังภาพ 16, 17 และ 18 ตามลำดับ



ภาพ 16 ผลของสารมาตรฐานยาอัลโลพูรินอลต่อชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสโดยเขียนกราฟ Line weaver - burk plot (mean ± SD, n = 3); ■ xanthine only, ◆ with 20 µg/ml.

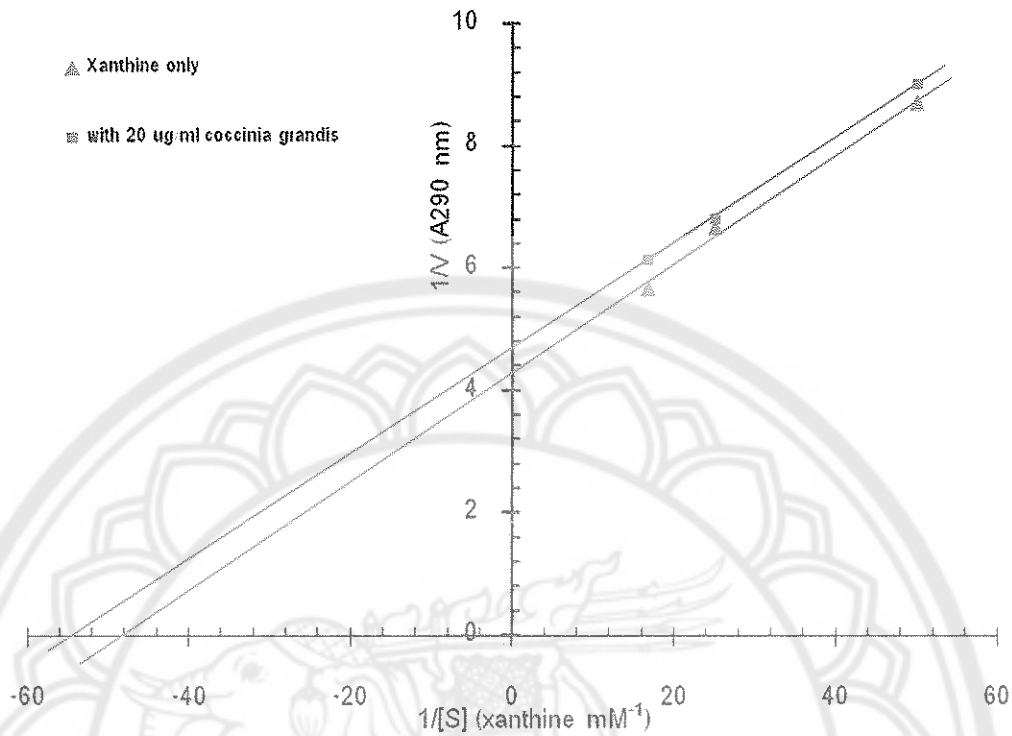
ผลจากการศึกษาชนิดการยับยั้งของสารสกัดหยาบตัวอย่างและสารมาตรฐาน (ยาอัลโลพูรินอล) พบว่าเมื่อเพิ่มยาอัลโลพูรินอลที่ความเข้มข้น 20 µg/ml ลงไปในปฏิกิริยาแล้วนำผลการทดลองที่ได้มาเขียนกราฟ Line weaver - burk พบว่ายาอัลโลพูรินอลเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์

แซนทีนออกซิเดสชนิดแบบแข่งขัน (Competitive inhibition) ซึ่งเป็นผลให้ค่า Km เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับปฏิกิริยาก่อนเติมและหลังเติมยาอัลโลพูรินอล (0.024 และ 0.17 ตามลำดับ) แต่อัตราเร็วสูงสุดของการเกิดปฏิกิริยา (Vmax) ไม่เปลี่ยนแปลง (ภาพ 16)



ภาพ 17 ผลของสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวานต่อชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยเขียนกราฟ Line weaver – burk plot (mean ± SD, n = 3); ■ xanthine only, ▲with 20 µg/ml corn-silk

เมื่อทดสอบชนิดการยับยั้งเอนไซม์โดยใช้สารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้น 20 µg/ml พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีผลทำให้ค่า Km เปลี่ยนแปลง เมื่อเปรียบเทียบกับปฏิกิริยาก่อนเติมและหลังเติมสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน (0.023 และ 0.029 ตามลำดับ) แต่ค่าอัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยา (Vmax) ไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นสารสกัดดังกล่าวจึงมีการยับยั้งเอนไซม์ชนิดแบบแข่งขัน (competitive inhibition) ภาพ 17

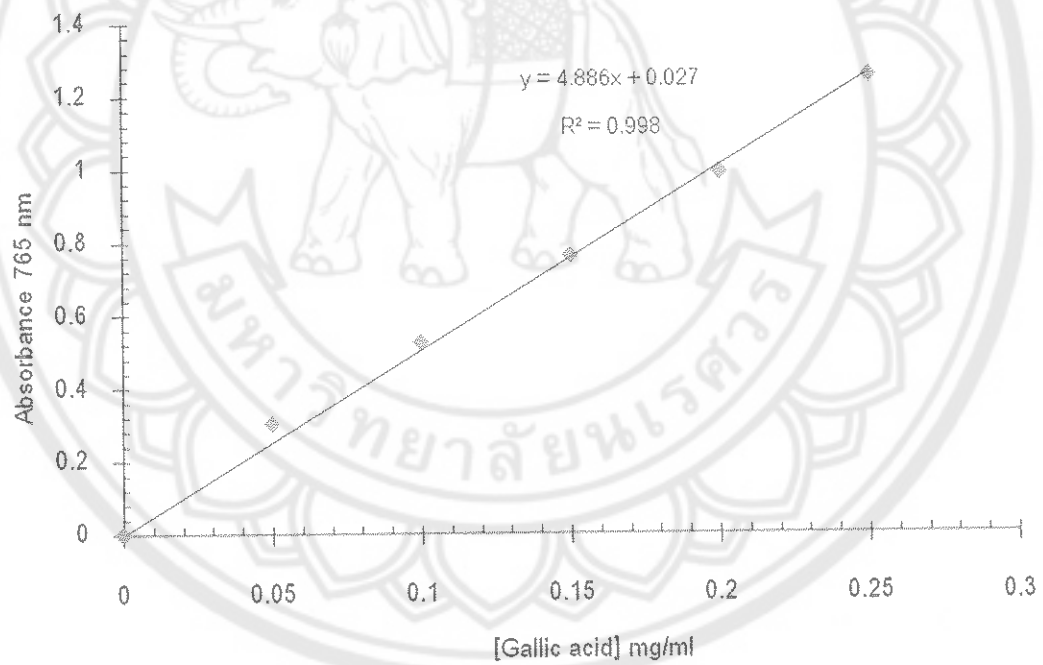


ภาพ 18 ผลของสารสกัดหยาบจากใบตำลึงแก่ต่อชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส Line weaver – burk plot (mean ± SD, n = 3); ▲ xanthine only, ■ with 20 µg/ml Coccinia grandis

จากการทดสอบชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารสกัดหยาบจากใบตำลึงแก่ที่ความเข้มข้น 20 µg/ml พบว่ามีชนิดการยังยั้งเป็นแบบไม่แข่งขัน (uncompetitive inhibition) โดยจากผลการทดลองจะเห็นว่าเมื่อเติมสารสกัดหยาบจากใบตำลึงลงไปจะส่งผลให้ค่า Vmax และ Km ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับปฏิกิริยาก่อนเติมและหลังเติมสารสกัดจากใบตำลึง โดยอัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยา (0.233 และ 0.213 ตามลำดับ) และค่า Km (0.021 และ 0.019 ตามลำดับ) ภาพ 18

ผลการทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน (Total Phenolic content)

การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากไหมข้าวโพดหวานด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ น้ำ เอทิลอะซีเตท และ เฮกเซน พบว่าน้ำหนักของสารสกัดที่ได้มีค่าแตกต่างกันไป โดยน้ำหนักของไหมข้าวโพดหวานที่สกัดด้วย น้ำ เอทิลอะซีเตท และเฮกเซน ได้น้ำหนัก (% yield) 8.410, 0.998 และ 0.060 ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดไหมข้าวโพดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ มาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Caicateu method ซึ่งเป็นการตรวจวัดปริมาณสารฟีโนลิกทั้งหมด พบว่าสารผสมเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ในการหาปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ gallic acid โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 และ 0.30 mg/ml) แสดงดังภาพ 19



ภาพ 19 กราฟมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ของสารสกัดไหมข้าวโพดหวานมาคำนวณหาสารฟีโนลิกทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid โดยแสดงค่าในรูป GAE (gallic acid equivalent) มีหน่วยเป็น mg gallic acid/น้ำหนักสารแห้ง พบว่าวิธีการสกัดและชนิดของตัว

ทำละลายที่ใช้สกัดสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานให้ค่า GAE ที่แตกต่างกัน โดยไหมข้าวโพดหวานที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีค่า GAE สูงที่สุดคือ 49 ± 0.04 mg GAE/ g dry extract ส่วนไหมข้าวโพดหวานที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตท และเฮกเซน พบว่าไม่สามารถหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยแสดงค่าในรูป mg GAE/ g fresh extract ได้ ดังตาราง 19

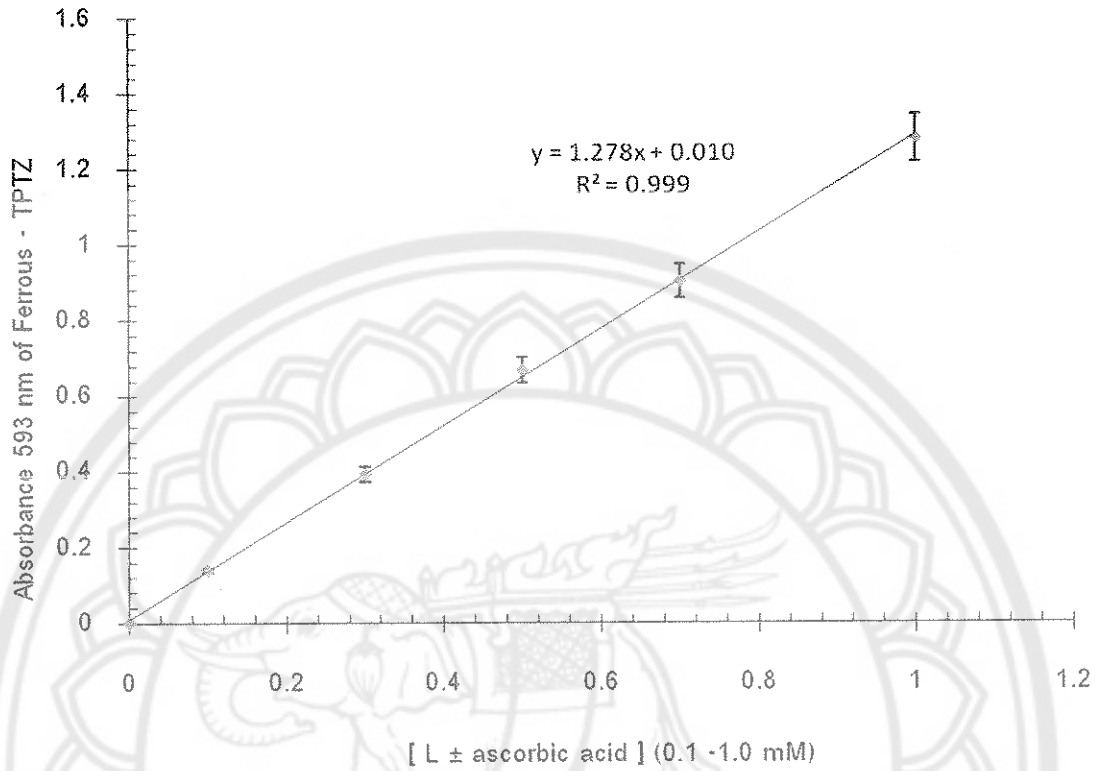
ตาราง 19 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และ% Yield ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทิลอะซีเตท และเฮกเซน

Materials	Extracts	% Yield	Total phenolic compounds (mg of gallic acid/of g dry weight) (Mean ± SD, n=3)
Sweet corn-silk	H_2O	8.410	49 ± 0.04
	EtOAc	0.998	-
	Hexane	0.060	-

จากผลการทดลองดังแสดงในตาราง 19 สารสกัดไหมข้าวโพดหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เอทิลอะซีเตท และเฮกเซน เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid โดยแสดงค่าในรูป gallic acid GAE (gallic acid equivalent) มีหน่วยเป็น mg gallic acid/น้ำหนักสด พบว่าไม่สามารถหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดได้ เนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลิกมีสภาพขั้วที่สูงมาก ดังนั้นเมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วเป็นกลางหรือมีขั้วน้อยจึงไม่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP assay)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนที่ความยาวคลื่น 593 nm ของสารมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 mM จะได้กราฟมาตรฐานดังภาพ 20



ภาพ 20 กราฟมาตรฐานการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน ascorbic acid **ในการรีดิวซ์** Fe^{3+}- TPTZ **ได้เป็น** Fe^{2+}-TPTZ (mean ± SD, n=3)

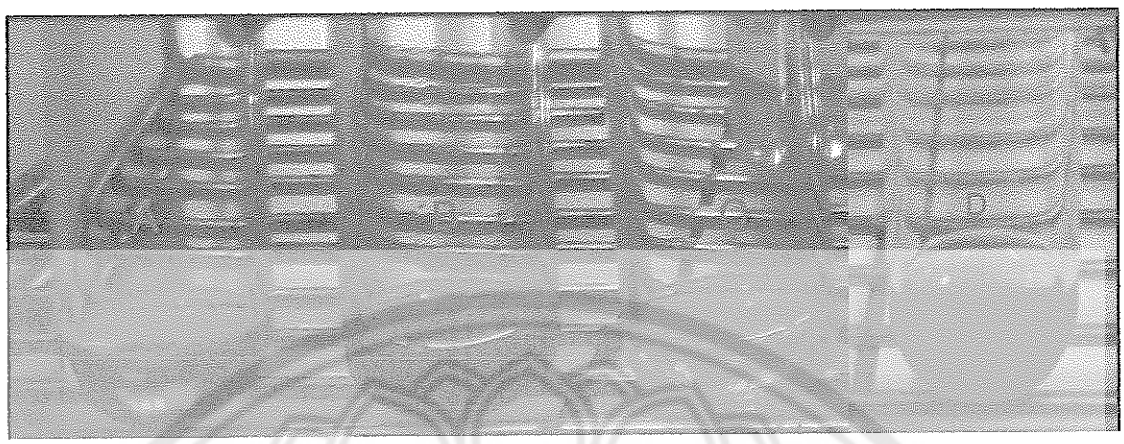
จากการตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบและสารที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตทในส่วนสกัดย่อยที่ 6 (fraction 6) ของไหมข้าวโพดหวานด้วยวิธี FRAP จากการเกิดปฏิกิริยาการรีดิวซ์ Fe^{3+}-TPTZ ให้เป็น Fe^{2+}-TPTZ ซึ่งจะให้สารละลายสีม่วงน้ำเงิน จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid แสดงเป็นค่า ascorbic acid equivalent (AAE) mg/g ของสารสกัด พบว่าสารสกัดหยาบและสารที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตทในส่วนสกัดย่อยที่ 6 (fraction 6) ของไหมข้าวโพดหวานมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบจากไหมข้าวโพดหวานมีค่า AAE เท่ากับ 0.275 µmole Ascorbic Acid/ 1 mg ของสารสกัด ส่วนสารที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตทในส่วนสกัดย่อยที่ 6 (fraction 6) ของไหมข้าวโพดหวานมีค่า AAE เท่ากับ 0.532 µmole Ascorbic Acid/ 1 mg ของสารสกัด ดังตาราง 20

ตาราง 20 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิระของสารสกัดหยาบและสารที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตทในส่วนสกัดย่อยที่ 6 (fraction 6) ของไหมข้าวโพดหวานด้วยวิธี FRAPเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid

Sweet corn-silk	Antioxidant activity (mg of ascorbic acid/of g dry weight) (Mean ± SD, n=3)
Crude extract	0.272 µmole/ 1mg ของสารสกัด
Fr.6-EtOAc	0.532 µmole/ 1mg ของสารสกัด

ผลการทดสอบคุณสมบัติในการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing property) ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านและไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis ด้วยวิธี Benedict's test

ในการตรวจหาคุณสมบัติในการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีเมื่อสารสกัดมีน้ำตาลรีดิวซ์เป็นองค์ประกอบ สารละลายเบเนดิกส์จะเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีน้ำตาล และเมื่อนำสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis มาทดสอบด้วยสารละลายเบเนดิกส์อีกครั้งพบว่า ได้สารละลายสีเขียว ดังภาพ 21



ภาพ 21 ผลการทดสอบ Benedict's test ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านและไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis. A; สารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis B; สารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน C; Benedict ' s reagent D; สารละลาย glucose.

จากการสังเกตผลของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานก่อนและหลังการทำปฏิกิริยา Acid Hydrolysis โดยเปรียบเทียบกับ Benedict's reagent แสดงดังตาราง 21

ตาราง 21 ผลของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ทำปฏิกิริยากับ Benedict's reagent ก่อนและหลังการทำปฏิกิริยา Acid Hydrolysis

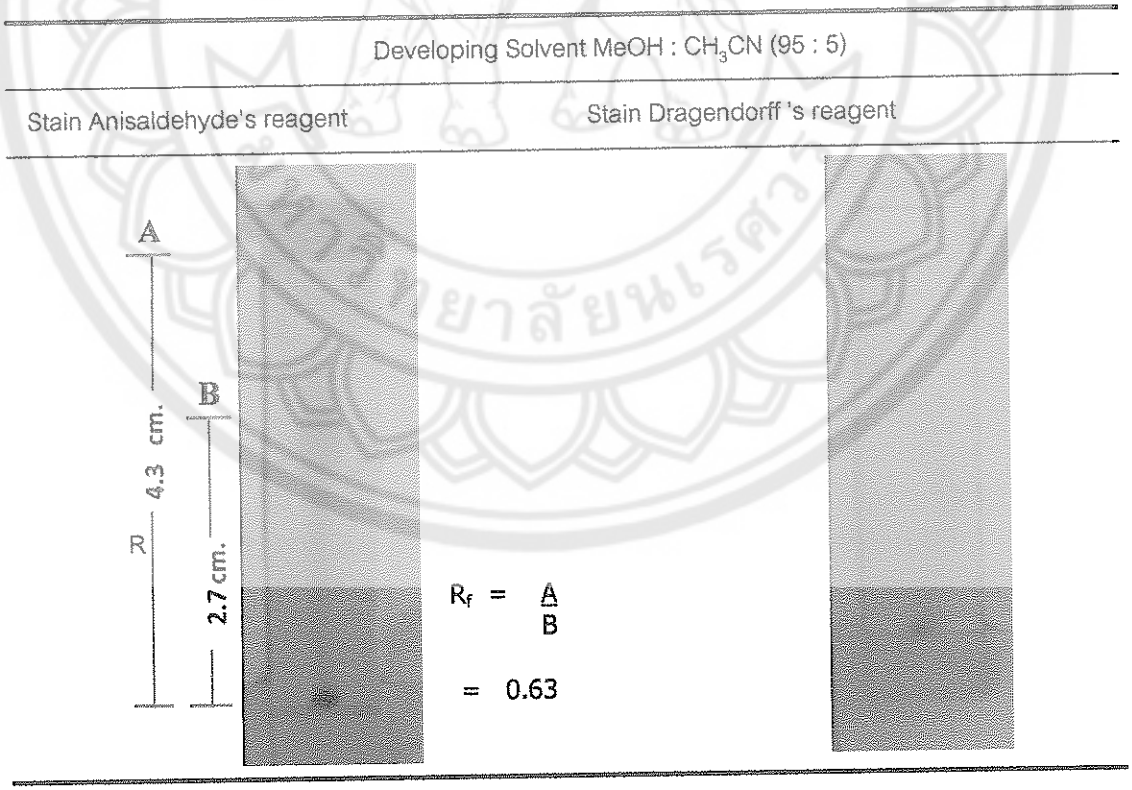
Materials	ผลที่สังเกตได้
สารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านการเกิดปฏิกิริยา acid hydrolysis (A)	สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีเหลืองจนถึงสีเขียวอ่อน
สารสกัดไหมข้าวโพดหวาน (B)	สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีส้มตะกอนอิฐ
Benedict's reagent (C)	สารละลายสีฟ้าใส
สารละลาย glucose	สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีส้มตะกอนอิฐ

ในการทดสอบคุณสมบัติการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน พบว่ามีคุณสมบัติในการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ และน่าจะมีองค์ประกอบของสารเป็นจำพวก glycosides ส่วนสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานเมื่อนำมาทำปฏิกิริยาด้วย acid hydrolysis เพื่อทำลาย side chain ในส่วนที่เป็นน้ำตาล (glycone part) แล้ว เมื่อนำมาทดสอบด้วย Benedict' s test อีกครั้งพบว่าสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานไม่มีคุณสมบัติในการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์เนื่องจาก glycoside bond ถูกทำลายด้วยกรด

ผลการตรวจสอบองค์ประกอบของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่สกัดด้วยน้ำร้อนด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

ผลของการทำ TLC และการตรวจสอบกลุ่มสารด้วย TLC staining solutions แสดงดังตาราง 22

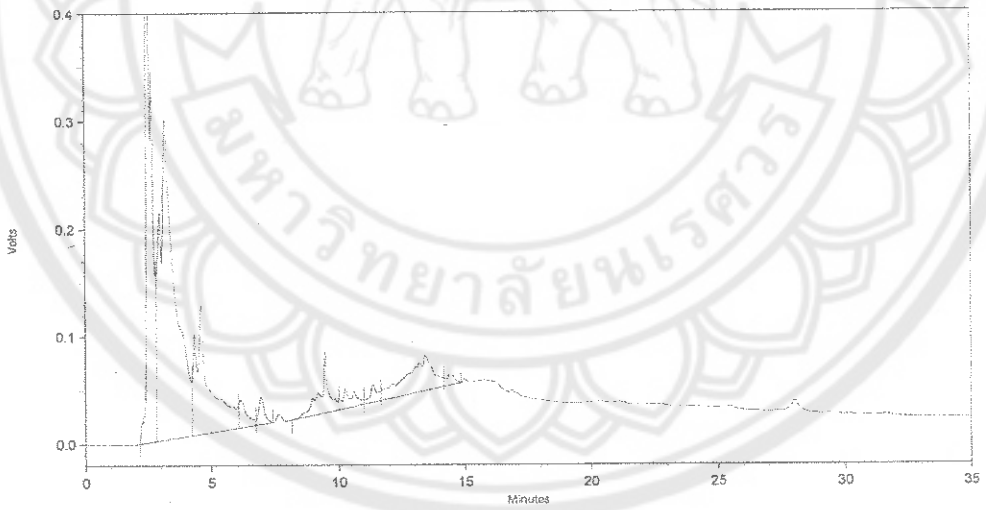
ตาราง 22 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบของสารสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน โดยวิธี TLC แล้วนำมา spray dry ด้วย Anisaldehyde's reagent และ Dragendorff 's reagent



จากการวิเคราะห์หากลุ่มสารที่มีในสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน ด้วยการทำ TLC พบว่าอัตราส่วนของ developing solvent (MeOH : CH_3CN) ที่เหมาะสมคือ 95 : 5 จากนั้น เมื่อนำแผ่น TLC มาตรวจสอบด้วย anisaldehyde's reagent ซึ่งใช้สำหรับตรวจหาสารกลุ่มสเตอรอยด์ (steroids) และเทอร์ปีนส์ (terpenes) จะแสดงแถบสีม่วงแดง (purple) จากผลการทดลองพบว่าแผ่น TLC ที่ spray dry ให้แถบสีม่วงแดงเกิดขึ้นโดยมีค่า Rf เท่ากับ 0.63 จึงวิเคราะห์ได้ว่าสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานประกอบด้วยสารกลุ่ม steroids และ terpenes ส่วน dragendorff's reagent ใช้สำหรับตรวจหาสารกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloids) โดยจะปรากฏแถบสีส้ม และจากการทดลองในครั้งนี้พบว่าแผ่น TLC ที่ spray dry ด้วย dragendorff's reagent ไม่ปรากฏแถบสีเกิดขึ้น แสดงว่าไม่สามารถตรวจพบสารกลุ่ม alkaloids ในสารสกัดตัวอย่าง

ผลการแยกและการเก็บส่วนสกัดย่อยจากสารสกัดไหมข้าวโพดหวานด้วยน้ำด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

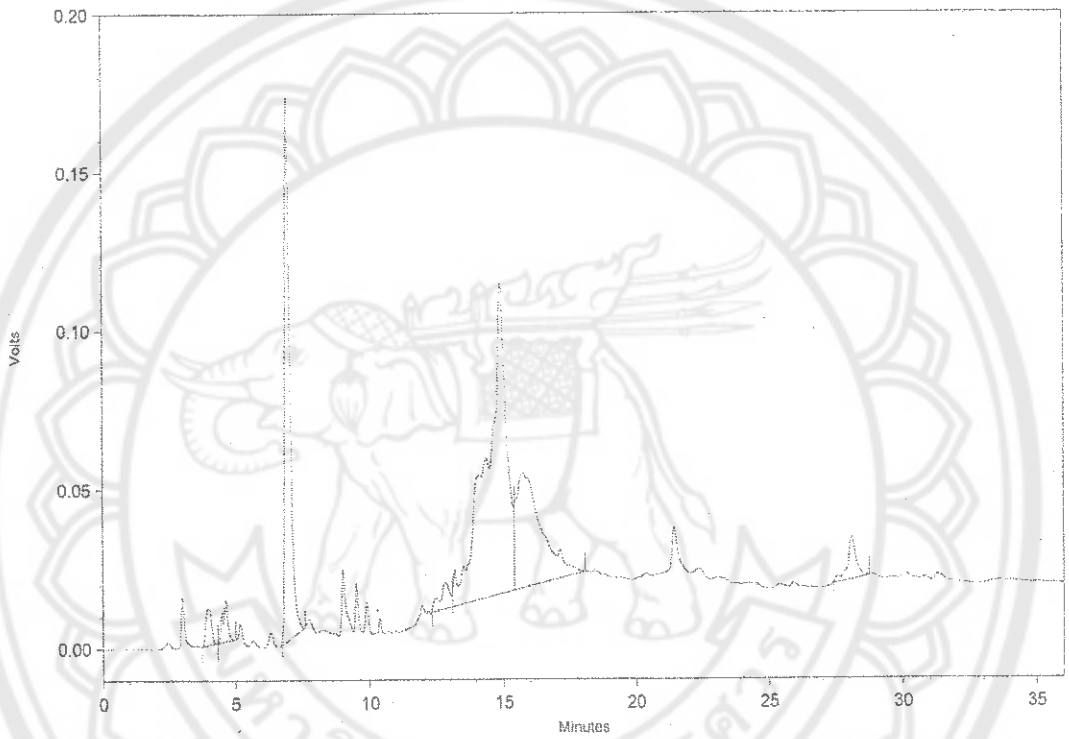
ในการแยกและการเก็บส่วนสกัดย่อยของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน ในครั้งนี้ทำการแยกด้วยเครื่อง HPLC ผลการแยกที่ได้แสดงดังภาพ 22



ภาพ 22 Chromatogram ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ทำการแยกด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ Column C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm ODS-3). Mobile phase: a gradient elution with H_2O / acetonitrile (95: 5 v/v, → 5: 95 v/v). Flow rate: 1 ml/min. detection: UV 214 nm เก็บทั้งหมด 6 fractions ที่ elution time (1.5 - 3.5, 3.5 - 6.0, 6.0 - 9.0, 9.0 - 12.0, 12.0 - 16.0, 27.0 - 29.0) ตามลำดับ

ผลการแยก และเก็บส่วนสกัดย่อย (fractions) ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านการทำ acid hydrolysis ด้วยเครื่อง HPLC

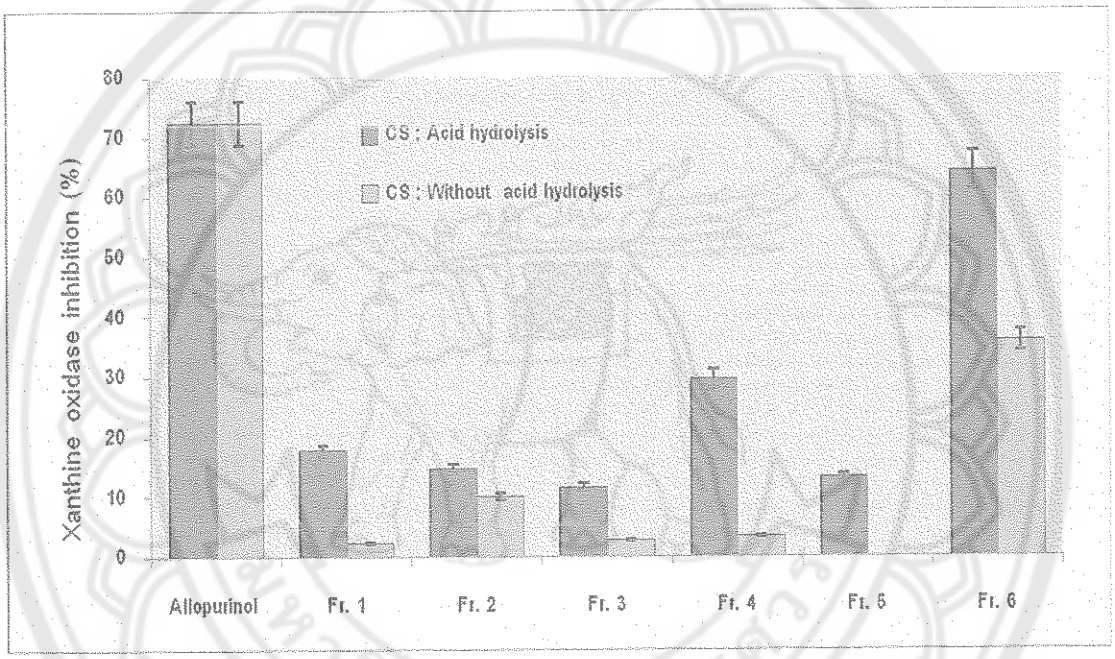
ในการแยกและการเก็บส่วนสกัดย่อยของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis ในครั้งนี้ทำการแยกด้วยเครื่อง HPLC ผลการแยกที่ได้ แสดงดังภาพ 23 จากนั้นทำการเก็บส่วนสกัดย่อยต่างๆ



ภาพ 23 Chromatogram ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis ทำการแยกด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ Column C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm ODS-3). mobile phase : a gradient elution with H_2O / acetonitrile (95: 5 v/v, → 5: 95 v/v). flow rate: 1 ml/min. detection: UV 214 nm เก็บทั้งหมด 6 fractions ที่ elution time (1.5 - 3.5, 3.5 - 6.0, 6.0 - 9.0, 9.0 - 12.0, 12.0 - 16.0, 27.0 - 29.0) ตามลำดับ

ผลของส่วนสกัดย่อยของไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านและไม่ผ่านปฏิกิริยา acid hydrolysis ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

จากการแยกกลุ่มสารในครั้งแรกนี้ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านและไม่ผ่าน acid hydrolysis reaction ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าสามารถเก็บส่วนสกัดย่อยได้ทั้งหมด 6 fractions จากนั้นเมื่อนำแต่ละ fraction มาระเหยเอาตัวทำละลายออกแล้วนำทั้งหมดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส แสดงดังภาพ 24

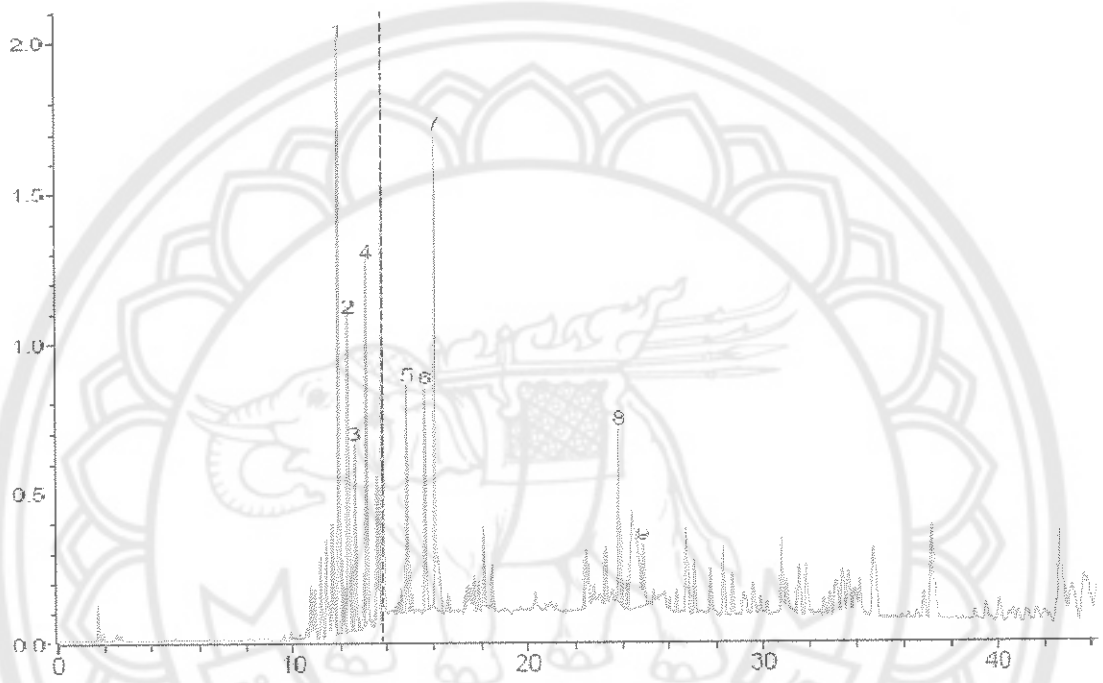


ภาพ 24 HPLC fractions ต่างๆ (Fr.1, 2, 3, 4, 5, 6) ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านและไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสโดยใช้ยาอัลโลพูรินอล (10 µg/ml) เป็น standard inhibitor แสดงเป็นค่า (mean ± SD, n = 3)

จากผลการทดลอง เมื่อนำสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านและไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis มาวิเคราะห์แยกด้วย column reverse phase C18 HPLC แล้วทำการเก็บ fractions ที่ elution time ต่างๆ มาทดสอบการยับยั้ง xanthine oxidase พบว่า fraction ที่ 6 ที่ผ่านและไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis มีค่าร้อยละการยับยั้ง xanthine oxidase มากที่สุดดังนั้นจึงนำ fraction ที่ 6 ที่ผ่านและไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid Hydrolysis ดังกล่าวไปวิเคราะห์แยกหาโครงสร้างสารที่มีฤทธิ์ (active compounds) ต่อไปด้วยเครื่อง LC/MS

ผลการวิเคราะห์แยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ (identify) สารตัวอย่างด้วยเครื่อง LC/MS

เมื่อนำ fraction ที่ 6 ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา hydrolysis ที่วิเคราะห์แยกองค์ประกอบของสารด้วยเครื่อง HPLC จากนั้น นำมาวิเคราะห์แยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ (identify) สารตัวอย่างด้วยเครื่อง LC/MS (ภาพ 25)



ภาพ 25 Chromatogram fractionที่ 6 ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน ที่วิเคราะห์แยกองค์ประกอบของสารด้วยเครื่อง HPLC ใช้ Column C18 (4.6 x 250 mm, 5µm). Mobile phase: a gradient elution with H_2O / CH_3CN (95: 5 v/v, →5: 95 v/v). flow rate: 1 ml/min.

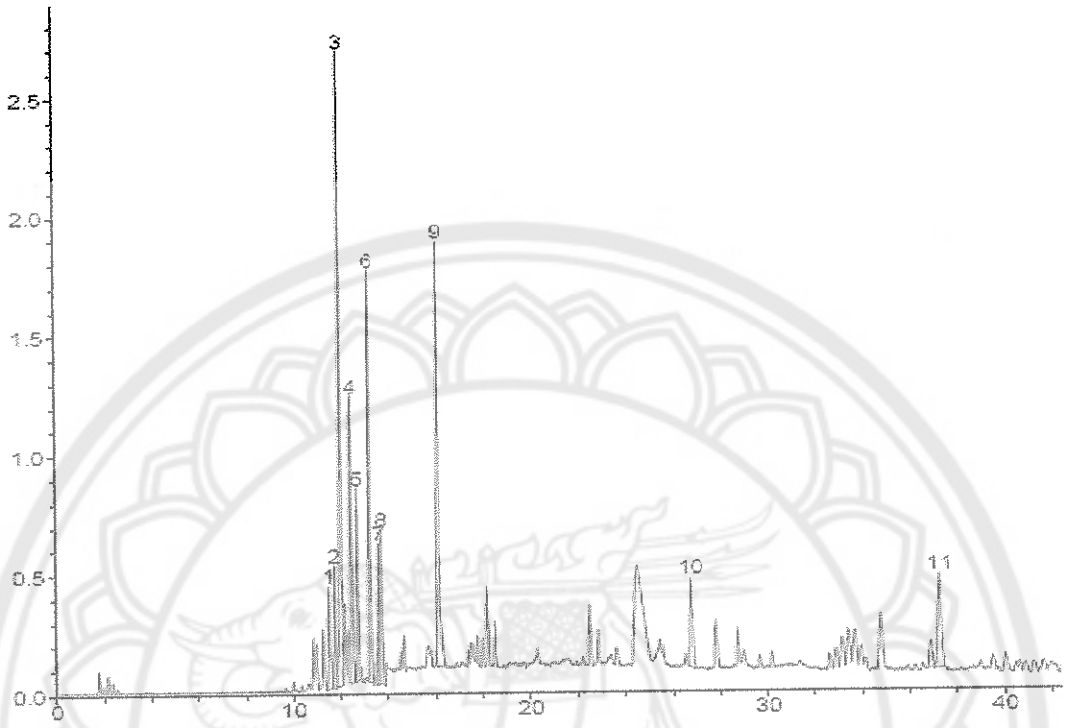
จากโครมาโทแกรมดังภาพ 25 เมื่อนำสารที่แยกได้มา identify ด้วย เทคนิค LC/MS แสดงค่ามวลต่อประจุ (m/z) ของน้ำหนักสารที่แยกได้ดังตาราง 23

ตาราง 23 Retention time และค่ามวลต่อประจุ (m/z) ของการแตกตัวเป็นไอออนของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน

Retention time (t_R), min	m/z
12.0	376.24
12.4	302.20
12.7	360.22
13.2	679.55
13.6	453.38
16.1	394.25
23.9	172.19
26.7	129.14
37.2	279.19

ผลการวิเคราะห์แยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ (identify)**สารตัวอย่างที่ผ่านการทำปฏิกิริยา** acid hydrolysis

เมื่อนำ fraction ที่ 6 ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ทำปฏิกิริยา acid hydrolysis ที่วิเคราะห์แยกองค์ประกอบของสารด้วยเครื่อง HPLC จากนั้นนำมาวิเคราะห์แยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ (identify) สารตัวอย่างด้วยเครื่อง LC/MS แสดงดังภาพ 26



ภาพ 26 Chromatogram fractionที่ 6 ของสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ทำปฏิกิริยา acid hydrolysis ที่วิเคราะห์แยกองค์ประกอบของสารด้วยเครื่อง LC/MS ใช้ Column C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm). Mobile phase: a gradient elution with H_2O / CH_3CN (95: 5 v/v, → 5: 95 v/v). flow rate: 1 ml/min.

จากโครมาโทแกรมดังภาพ 26 เมื่อนำสารที่แยกได้มา identify ด้วย เทคนิค LC/MS แสดงค่ามวลต่อประจุ (m/z) ของน้ำหนักสารที่แยกได้ดังตาราง 24

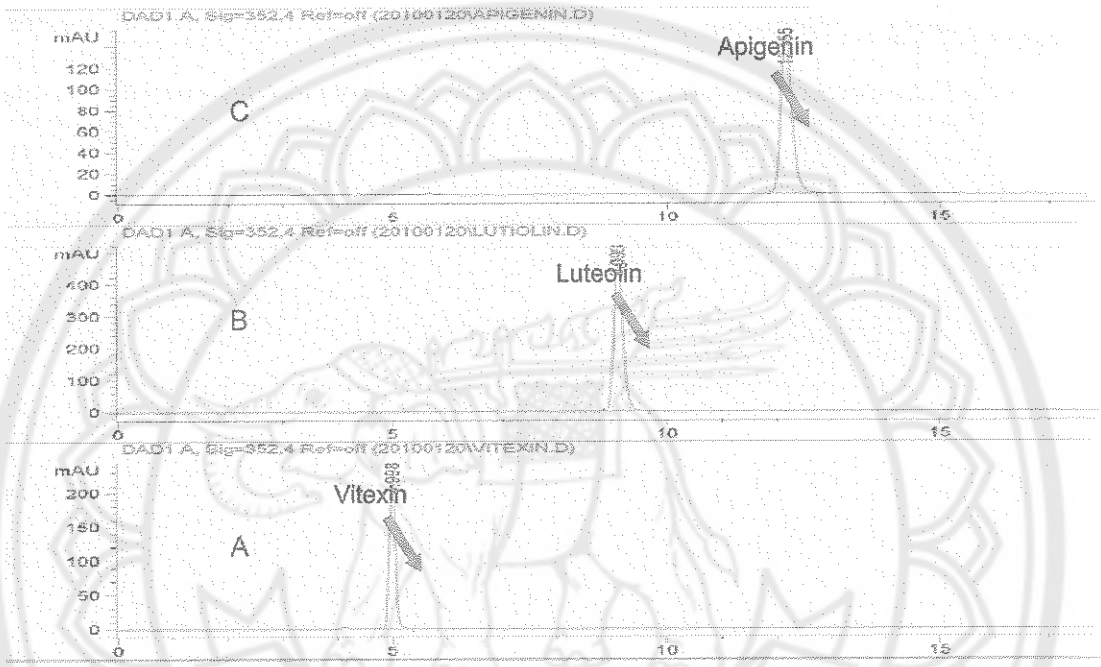
ตาราง 24 Retention time และค่ามวลต่อประจุ (m/z) ของการแตกตัวเป็นไอออนของสารสกัดไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis

Retention time (t_R), min	m/z
11.5	432.31
11.7	476.35
12.0	376.24
12.4	302.20
12.7	360.21
13.2	679.56
13.6	453.38
13.7	448.28
16.1	394.26
26.7	129.14
37.2	279.19

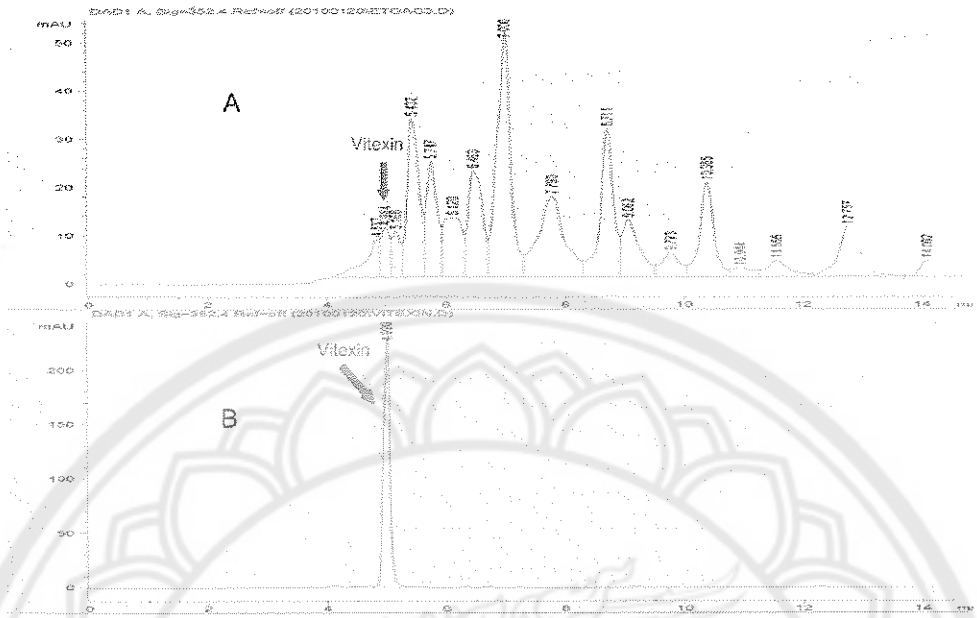
จากการนำ Fractions 6 ของสารสกัดไหมข้าวโพดหวานที่ผ่านและไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา acid hydrolysis มาวิเคราะห์แยกและทำให้สารแตกตัวเป็นไอออน ด้วยเครื่อง LC/MS (ดังแสดงใน ตาราง 23 และ 24) ตามลำดับ พบว่า ข้อมูลที่ได้จากค่ามวลต่อประจุ (m/z) ทำให้ทราบน้ำหนักโมเลกุลของสารที่มีในสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน และเมื่อนำค่ามวลต่อประจุของสารแต่ละชนิดมาพิจารณาโครงสร้างทางเคมีพบว่า ไม่สามารถหาโครงสร้างทางเคมีของสารที่มีในสารสกัดจากไหมข้าวโพดได้ เนื่องมาจากสารที่ได้จากการวิเคราะห์แยกยังไม่บริสุทธิ์ (purified) อีกทั้งข้อจำกัดของเทคนิค LC/MS และสารมาตรฐานสำหรับใช้เปรียบเทียบจึงไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสารชนิดใด

ผลการวิเคราะห์แยกสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ของ Fraction 6 ที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตท

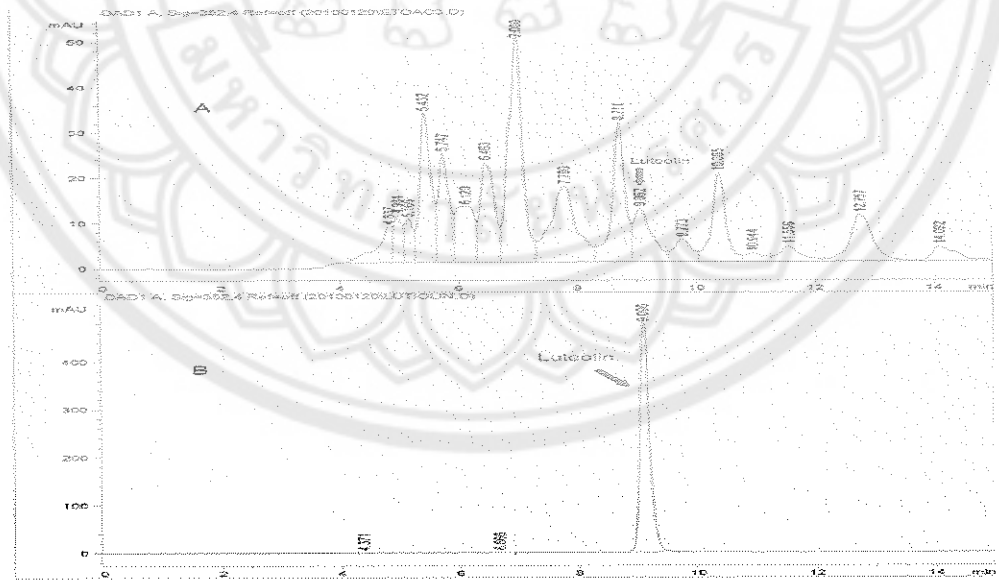
เมื่อนำส่วนสกัดย่อยที่ 6 (fraction 6) มาสกัดแยกด้วยเอทิลอะซีเตท จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ มาทำการวิเคราะห์แยกด้วยเทคนิค HPLC เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Luteolin, Vitexin และ Apigenin (ภาพ 27-30)



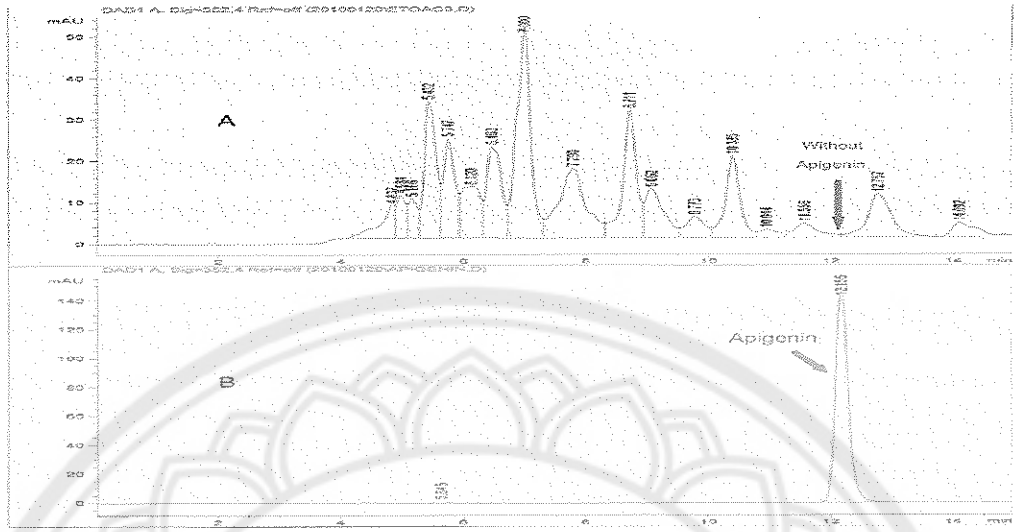
ภาพ 27 Standards ; vitexin (A), Luteolin (B), Apigenin (C). HPLC system: column, RP-C18 column (250 x 4.6 mm i.d, 5 µm); mobile phase, methanol: acetonitrile: acetic acid: phosphoric acid: H_2O (200:100:10:10:200, *V/V);* detecting wavelength, 352 nm; flow rate, 0.60 ml/min.



ภาพ 28 Fraction 6 extract (A), vitexin standard (B). HPLC system: column, RP-C18 column (250 x 4.6 mm i.d, 5µm); mobile phase, methanol-acetonitrile-acetic acid-phosphoric acid-H_2O (200:100:10:10:200, *V/V);* detecting wavelength, 352 nm; flow rate, 0.60 ml/min.



ภาพ 29 Fraction 6 extract (A) , Luteolin standard (B) . HPLC system: column, RP-C18 column (250 x 4.6 mm i.d, 5µm); mobile phase, methanol:acetonitrile: acetic acid: phosphoric acid: H_2O (200:100:10:10:200, *V/V);* detecting wavelength, 352 nm; flow rate, 0.60 ml/min.



ภาพ 30 Fraction 6 extract without apigenin (A), Apigenin standard (B). HPLC system: column, RP-C18 column (250 x 4.6 mm i.d, 5µm); mobile phase, methanol-acetonitrile-acetic acid-phosphoric acid-H_2O (200:100:10:10:200, V/V); detecting wavelength, 352 nm; flow rate, 0.60 ml/min.

ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารมาตรฐานโดยใช้เทคนิค Spectroscopy ด้วยเครื่อง NMR

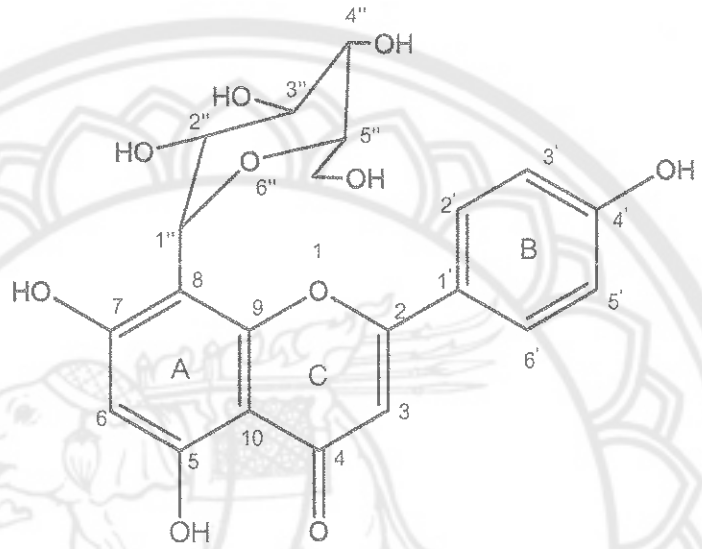
ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารมาตรฐาน Vitexin โดยใช้เทคนิค Spectroscopy ด้วยเครื่อง NMR (ตาราง 25) และโครงสร้างเคมีของสาร Vitexin (8-C-glucopyranosyl apigenin) (ภาพ 31)

ตาราง 25 ค่า Chemical shift (δ, ppm) ^{1}H-NMR (400 MHz) และ ^{13}C-NMR (100 MHz) spectra ของ Vitexin ใน acetone $-d_6$ + D_2O

Carbon no.	Chemical shift (δ ^{1}H)	Chemical shift (δ ^{13}C)
1	-	-
2	-	164.0
3	6.33(1H, s)	102.4
4	-	182.1
5	-	156.0
6	5.82(1H,s)	98.1
7	-	162.5
8	-	104.6
9	-	160.4
10	-	104.0
1'	-	121.6
2'	7.57(1H,d, 8.6)	128.9
3'	6.44(1H,d,8.6)	115.8
4'	-	161.1
5'	6.44(1H,d,8.6)	115.8
6'	7.57(1H,d, 8.6)	129.0
1''	4.54 (1H,d, 11.0)	73.4
2''	Glucose part	70.8
3''	Glucose part	70.7
4''	Glucose part	70.6
5''	Glucose part	81.8
6''	Glucose part	61.3
5-OH	12.71(1H,s)	-

ที่มา: Zhou, X., et al., 2005. [87]

Vitexin (8-glucopyranosyl apigenin)



C 21 H 20 O 10

Exact Mass: 432.106

Mol. Wt.: 432.377

m/e: 432.106 (100.0%), 433.109 (22.7%), 434.112 (2.5%), 434.110 (2.1%)

C, 58.33; H, 4.66; O, 37.00

ภาพ 31 โครงสร้างเคมีของสาร vitexin (8-C-glucopyranosyl apigenin)

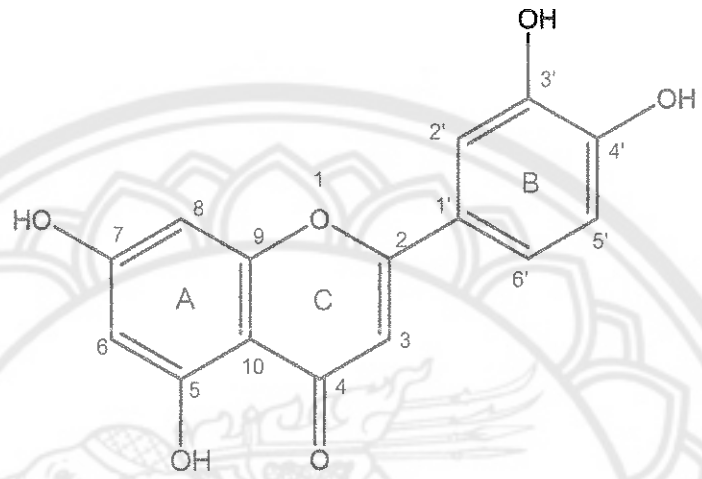
ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารมาตรฐาน Luteolin โดยใช้เทคนิค Spectroscopy ด้วยเครื่อง NMR (ตาราง 26) และโครงสร้างเคมีของสาร Luteolin (ภาพ 32)

ตาราง 26 ค่า Chemical shift (δ,ppm) ^{1}H-NMR (400 MHz) และ ^{13}C-NMR (100 MHz) spectra ของ Luteolin ใน acetone $-d_6$ + D_2O

Carbon no.	Chemicalshift (δ ^{1}H)	Chemicalshift (δ ^{13}C)
1	-	-
2	-	164.2
3	6.22(1H, s)	103.2
4	-	182.0
5	-	161.8
6	5.74(1H,d, 1.60)	99.2
7	-	164.4
8	5.99(1H,d, 1.52)	94.2
9	-	157.6
10	-	104.0
1'	-	121.8
2'	6.94-6.98 (1H, m)	113.7
3'	-	146.0
4'	-	150.1
5'	6.94-6.98 (1H, m)	116.6
6'	6.40(1H,d, 8.23)	119.3
5-OH	12.52(1H,s)	-

ที่มา: Gang Zhao, et al., 2010. [88]

Luteolin



$C_{15}H_{10}O_6$

Exact Mass: 286.048

Mol. Wt.: 286.236

m/e: 286.048 (100.0%), 287.051 (16.2%), 288.052 (1.2%), 288.054 (1.2%)

C, 62.94; H, 3.52; O, 33.54

ภาพ 32 โครงสร้างเคมีของสารมาตรฐาน Luteolin

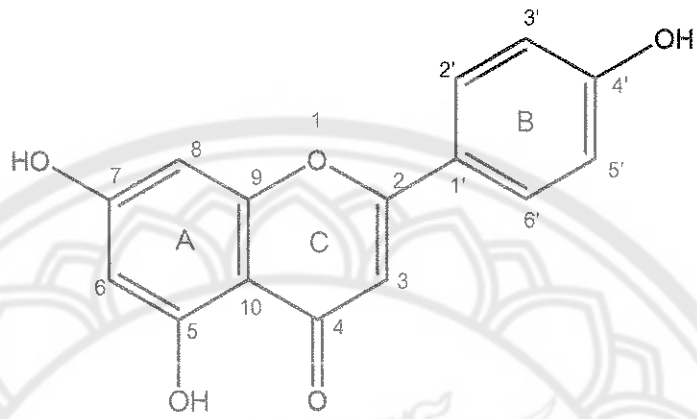
ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารมาตรฐาน Apigenin โดยใช้เทคนิค Spectroscopy ด้วยเครื่อง NMR (ตาราง 27) และโครงสร้างเคมีของสาร Apigenin (ภาพ 33)

ตาราง 27 ค่า Chemical shift (δ,ppm) ^{1}H-NMR (400 MHz) และ ^{13}C-NMR (100 MHz) spectra ของ Apigenin ใน acetone $-d_6$ + D_2O

Carbon no.	Chemical shift (δ^{1}H)	Chemical shift (δ^{13}C)
1	-	-
2	-	157.7
3	6.33(1H, s)	103.2
4	-	182.1
5	-	164.1
6	5.74(1H,d, 2.0)	99.2
7	-	164.5
8	6.03(1H,d, 2.0)	94.3
9		161.5
10		104.0
1'	-	121.5
2'	7.47(1H,d, 8.8)	128.8
3'	6.47(1H,d,8.8)	116.3
4'	-	161.8
5'	6.47(1H,d,8.8)	116.3
6'	7.47(1H,d, 8.8)	128.8
5-OH	12.50(1H,s)	-

ที่มา: Gang Zhao, et al., 2010. [88]

Apigenin



$C_{15}H_{10}O_5$

Exact Mass: 270.053

Mol. Wt.: 270.237

m/e: 270.053 (100.0%), 271.056 (16.2%), 272.060 (1.3%), 272.057 (1.0%)

C, 66.67; H, 3.73; O, 29.60

ภาพ 33 โครงสร้างเคมีของสารมาตรฐาน Apigenin

ผลการทดสอบสาร Vitexin และ Luteolin ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

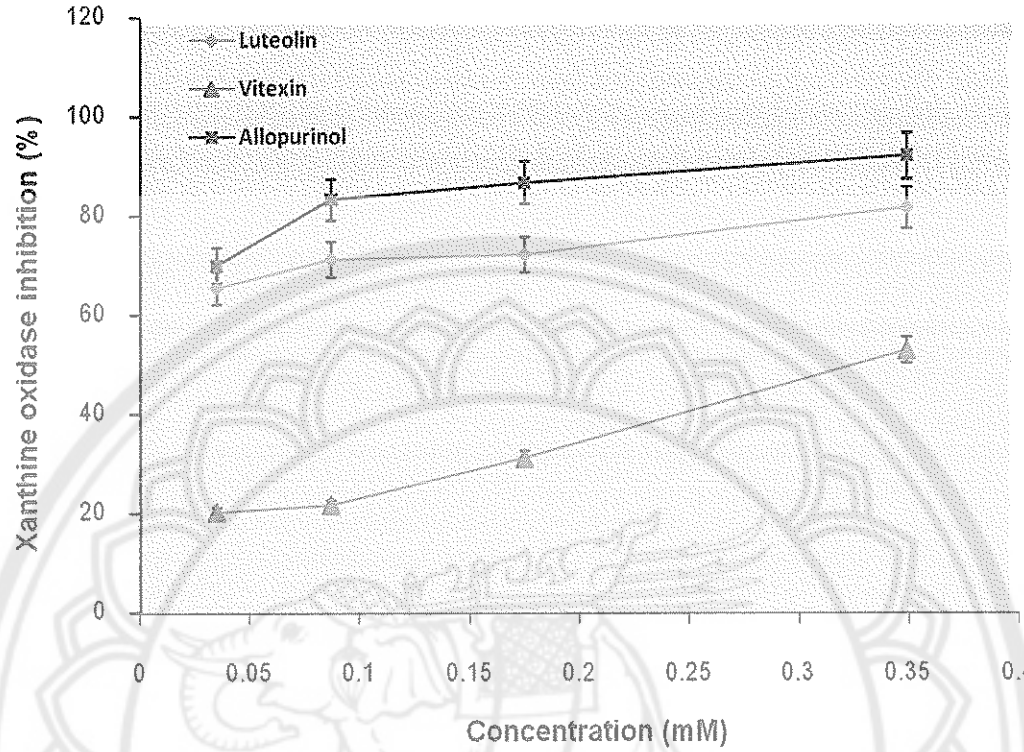
จากการเตรียมปฏิกิริยาของสารผสมดังวิธีที่กล่าวข้างต้น และเติมสารมาตรฐาน Vitexin และ Luteolin ที่พบในสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.035, 0.08, 0.175 และ 0.349 mM) หลังจากหยุดปฏิกิริยาด้วย 0.5 M HCl แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 nm เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหา % การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสโดยใช้สูตรการคำนวณดังที่กล่าวไว้ในข้อ 5 พบว่าสารประกอบต่างๆ มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (ตาราง 28)

ตาราง 28 ผลการทดสอบสารประกอบที่พบในสารสกัดไหมข้าวโพดหวานต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

in vitro xanthine oxidase inhibitory activity

Flavonoids	Percentage xanthine oxidase inhibition				
(mM)	0.035	0.087	0.175	0.349	IC_{50}(mM)
Luteolin	65.57 ± 0.02	71.23 ± 0.02	72.17 ± 0.03	81.60 ± 0.03	0.039
Vitexin	20.28 ± 0.03	21.70 ± 0.04	31.13 ± 0.03	52.83 ± 0.03	0.326
Allopurinol	70.07 ± 0.03	83.33 ± 0.04	86.64 ± 0.04	92.13 ± 0.03	0.031

นำข้อมูลสารมาตรฐาน (Luteolin และ Vitexin) และยาอัลโลพูรินอลต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมาเขียนกราฟ (ภาพ 34)



ภาพ 34 สารมาตรฐาน (Luteolin และ Vitexin) และยาอัลโลพูรินอลต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (mean ± SD, n=3)