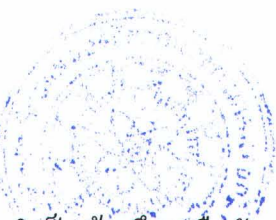


## บทที่ 5

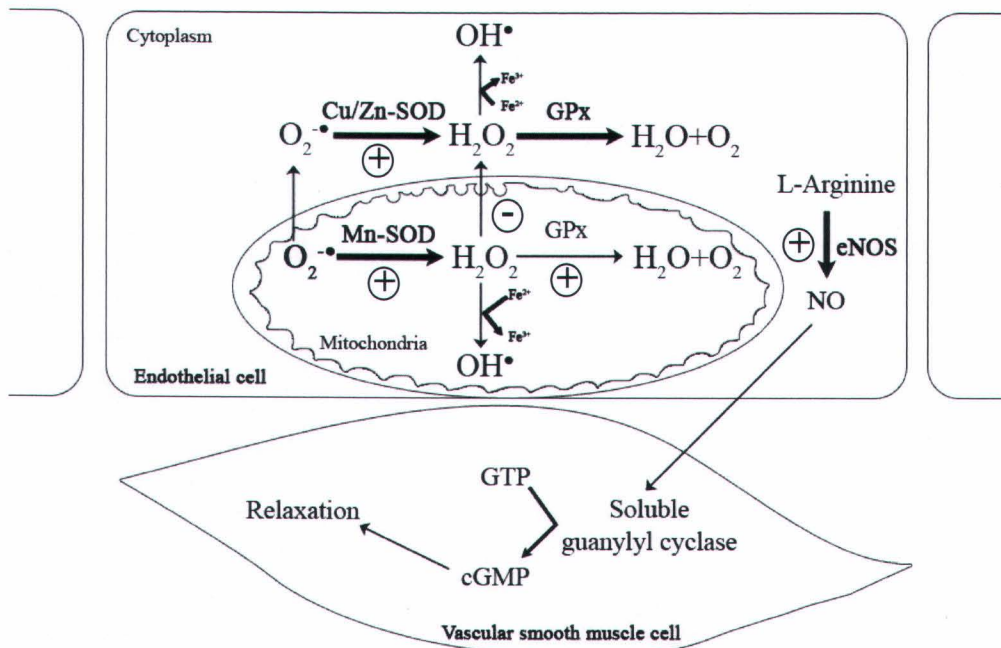
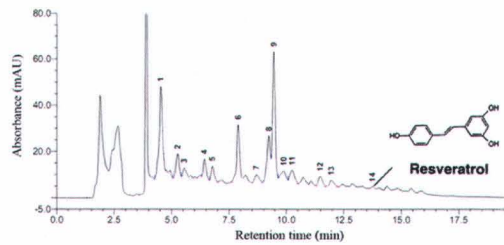
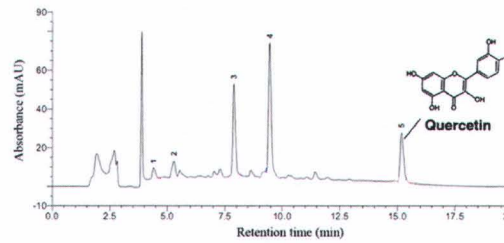
### ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ

ส่วนเนื้อดินของเพชรสังฆาตได้นำมาสกัดด้วยเอทานอลและน้ำจากกรรมวิธีสกัดต่าง ๆ กัน ได้สารสกัดจากเอทานอล CQES7, CQES48, CQER7 และสารสกัดจากน้ำ CQWS1, CQWF1 จึงนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง พบว่าสารสกัดทั้ง 5 ชนิด มีเพียง CQWS1 สามารถต้านอนุมูลอิสระ  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ , และ  $OH^{\cdot}$  ได้ดีกว่า CQES48 ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ของ quercetin และ resveratrol ในทางตรงกันข้าม CQES48 กลับมีฤทธิ์ต้าน  $NO^{\cdot}$  ได้ดีกว่า CQWS1 จึงได้นำมาสารสกัดทั้งสองมาศึกษาฤทธิ์ลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ ECV304 ภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันด้วย  $H_2O_2$  ด้วยวิธี DCFH-DA พบว่า CQES48 ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดปริมาณอนุมูลอิสระภายในเซลล์ที่ได้รับ  $H_2O_2$  (100 ไมโครโมลาร์) ได้อย่างมีนัยสำคัญ และได้ดีกว่า CQWS1 (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับกลุ่มเซลล์ที่ได้รับ quercetin (5 ไมโครโมลาร์) resveratrol (5 ไมโครโมลาร์) และ diosmin (10 ไมโครโมลาร์) รวมทั้งยังสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้าน  $H_2O_2$  ที่ทดสอบในหลอดทดลองของ CQES48 ( $EC_{50}$  0.661 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ CQWS1 ( $EC_{50}$  0.488 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างความเป็นพิษด้วยวิธี MTT และฤทธิ์ลดปริมาณอนุมูลอิสระภายในเซลล์ด้วยวิธี DCFH-DA ( $IC_{50} : EC_{50}$ ) พบว่า CQES48 (32.57) ค่อนข้างปลอดภัยต่อเซลล์มากกว่า CQWS1 (> 5.85) โดยทั้ง CQES48 ( $IC_{50}$  7.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ CQWS1 ( $IC_{50}$  5.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ไม่พบความเป็นพิษต่อยีนเมื่อทดสอบด้วยวิธี comet ดังนั้น จึงได้คัดเลือกเฉพาะ CQWS48 มาศึกษาการแสดงออกของโปรตีนด้วยวิธี Western blot พบว่า CQES48 ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเช่นเดียวกับที่ใช้ลดปริมาณอนุมูลอิสระภายในเซลล์นั้น ไปทำให้การแสดงออกของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระได้แก่ Cu/Zn-SOD, Mn-SOD และ GPx ภายในเซลล์ที่ได้รับ  $H_2O_2$  กลับเข้าสู่ปกติ ทั้งนี้ไม่มีผลต่อ CAT จึงน่าจะเป็นกลไกอื่นหนึ่งที่ CQES48 ใช้ในการรักษาสมดุลปริมาณอนุมูลอิสระภายในเซลล์ นอกจากนี้ CQES48 ยังไปเพิ่มการแสดงออกของ eNOS เพื่อเร่งการสร้าง NO หลังออกจากเซลล์ไปกระตุ้นเซลล์กล้ามเนื้อเรียบรอบหลอดเลือดให้คลายตัว กลไกดังกล่าวสัมพันธ์กับผลการทดลองการแสดงผลของโปรตีนของ quercetin และ resveratrol จึงเป็นไปได้ว่า quercetin และ resveratrol น่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ใน CQES48 เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมนุษย์เมื่อกระตุ้นด้วย ADP โดยวิธี aggregometry พบว่า CQES48 เกือบไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ถึงแม้จะมีความปลอดภัยทั้งระดับเซลล์และระดับยีนก็ตาม อย่างไรก็ตาม เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาเลือดไหลไม่หยุดในผู้สูงอายุที่รับประทานผลิตภัณฑ์แปะก๊วยอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน จึงมีความ



จำเป็นต้งศึกษาชั้นย่นฤทธิ์ด้านเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเมื่อใช้ตัวกระตุ้นชนิดอื่น นอกเหนือจาก ADP เช่น arachidonic acid, collagen, thrombin และ epinephrine ต่อไป เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC พบว่าใน CQES48 มี quercetin อยู่ 0.0763 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของสารสกัด และมี resveratrol อยู่ 0.0026 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของสารสกัด ซึ่งอาจนำมาใช้ควบคุมคุณภาพของสารสกัด เพชรสังฆาตเพื่อติดตามฤทธิ์ต่อระบบหลอดเลือด (ภาพที่ 26)

ดังนั้น นอกจากข้อมูลวิทยาศาสตร์สนับสนุนประสิทธิผลของเพชรสังฆาตสำหรับบรรเทา ริดสีดวงทวาร ที่ระบุไว้ใน “บัญชียาจากสมุนไพร” (ประกาศ คณะกรรมการพัฒนาระบบยา แห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2554) แล้ว ยังได้ข้อมูลลักษณะเฉพาะหรือไฟล์ของ สารสกัดเพชรสังฆาตด้วยเอทานอล CQES48 ซึ่งอาจใช้เป็นแนวทางในการศึกษาด้านความคงตัว ของสารสกัดเพชรสังฆาต ควบคู่กับการเตรียมสารสกัดในระดับนำร่องอุตสาหกรรม สำหรับนำไป วิจัยด้านพรีคลินิก ก่อนที่จะพัฒนาเป็นวัตถุดิบให้กับผลิตภัณฑ์สุขภาพรูปแบบใหม่ ๆ เช่น ตำรับใช้ ภายนอกสำหรับดูแลสุขภาพขั้นปฐมภูมิให้กับผู้สูงอายุด้วยการแพทย์ทางเลือกต่อไป



ภาพที่ 26. กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดพืชสมุนไพร CQES48 ในการลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ ECV304 ภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันด้วย  $H_2O_2$  และโครมาโทแกรมของ CQES48 ที่มี quercetin และ resveratrol สำหรับใช้ควบคุมคุณภาพของสารสกัดพืชสมุนไพร