



ฤทธิ์ยับยั้งการสะสมไขมันและลดน้ำหนักตัวของสารสกัดเปลือกกระท้อน
และเปลือกเงาะในแมลงหวี่ที่ได้รับน้ำตาลปริมาณสูง

Inhibitory effect on lipid accumulation and body weight reduction of
rambutan and santol peel extracts in high sugar intake *Drosophila*
melanogaster

ศรัณย์ ฉวีรักษ์^{1*} และ อนัญญา เดชะคำภู^{1,2}

¹สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี 34000

²สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ความงามและสุขภาพ คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี 34000

Saran Chaweerak^{1*} and Ananya Dechakhamphu^{1,2}

¹Program of Thai Traditional Medicine, Faculty of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ubon Ratchathani Rajabhat University,
Ubon Ratchathani 34000 Thailand

²Program of Aesthetic Sciences and Health, Faculty of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ubon Ratchathani Rajabhat,
Ubon Ratchathani University 34000 Thailand

*Corresponding Author, Email: saran.c@ubru.ac.th

Received: 30 October 2020 | Revised: 14 December 2020 | Accepted: 30 December 2020

บทคัดย่อ

โรคอ้วนเป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคเรื้อรังอื่น ๆ ที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย รายงานการศึกษาในหลอดทดลองก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดเปลือกกระท้อน (*Sandoricum koetjape* Merr.) และเปลือกเงาะ (*Nephelium lappaceum* L.) สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสได้ แต่ยังไม่มีการศึกษายืนยันในสัตว์ทดลอง ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสอบฤทธิ์ยับยั้งการสะสมไขมันของสารสกัดหยาบเปลือกผลไม้ทั้งสองชนิดในแมลงหวี่ สกัดสารสำคัญด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบการกิน ความเป็นพิษ และการสะสมไขมันในแมลงหวี่โดยการผสมสารสกัดในอาหารแล้วให้แมลงหวี่กินโดยสมัครใจเป็นเวลา 7 วัน แบ่งกลุ่มการศึกษาก่อเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มได้รับอาหารน้ำตาลสูง 3-4) กลุ่มได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือกกระท้อนที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับน้ำตาลสูง และ 5-6) กลุ่มได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับน้ำตาลสูง ผลการศึกษาพบว่าปริมาณการกินอาหารของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน ผลทดสอบความเป็นพิษพบว่าทุกกลุ่มมีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 95 ผลการศึกษาการสะสมไขมันพบว่าแมลงหวี่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดเปลือกกระท้อนที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับน้ำตาลสูง มีค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหลังการทดลอง ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ และการย้อมติดสีไขมันบริเวณท้องต่ำกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อทดสอบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และพัฒนาเป็นยาหรืออาหารเสริมสำหรับยับยั้งการสะสมไขมันต่อไป

ABSTRACT

Obesity is the major risk factor for chronic diseases, which are the major health problems globally including Thailand. The previous report has demonstrated that santol (*Sandoricum koetjape* Merr.) and rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extracts showed to inhibit lipase activity *in vitro*. However, the experimental prove *in vivo* is limited. Therefore, this study aims to evaluate the inhibitory effect of both peel extracts on the lipid accumulation in *Drosophila melanogaster*. The crude extracts was obtained by using the maceration method with 95% ethanol. The extracts were used for testing the gustatory, toxicity and lipid accumulation in *Drosophila* by mixing in the diet and feeding *ad libitum* for 7 days. The study groups were divided into 6 group: 1) the control group 2) the high sugar diet group 3-4) the groups that were fed with santol peel extract at the concentrations of 10 and 20 mg/mL mixed with high sugar diet and 5-6), the groups that were fed with rambutan peel extract at the concentrations 10 and 20 mg/mL mixed with high sugar diet. The results showed that the food intake of all groups was not different. The toxicity test results showed that all groups had a survival rate of more than 95%. The lipid accumulation results demonstrated that the mean change in body weight after the experiment, triglyceride content, and fat score in the abdominal area of the *Drosophila* fed with rambutan extract at the concentration of 20 mg/mL mixed with high sugar diet were significantly lower than other groups. This study's results can be used as a promising data to test in mammal models and to further develop a drug or dietary supplement for inhibition of lipid accumulation.

คำสำคัญ: กระท้อน เงาะ *Sandoricum koetjape* Merr *Nephelium lappaceum* L. สารสกัดเปลือกผลไม้
การสะสมไขมัน, แมลงหวี่

Keywords: Santol, Rambutan, *Sandoricum koetjape* Merr, *Nephelium lappaceum* L., fruit peel extract, lipid accumulation, *Drosophila melanogaster*

บทนำ

ในปัจจุบันโรคอ้วนมีอุบัติการณ์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทั่วโลกเนื่องจากพฤติกรรมการรับประทานอาหารและการออกกำลังกายที่เปลี่ยนแปลงไป ในปี ค.ศ. 2016 องค์การอนามัยโลกรายงานว่ามีประชากรวัยผู้ใหญ่ประมาณ 1.9 พันล้านคนมีภาวะน้ำหนักเกิน โดยในจำนวนนี้มีผู้ที่มีภาวะอ้วนคิดเป็นร้อยละ 13 นอกจากนี้ยังพบว่าประชากรที่มีอายุต่ำกว่า 5 ปี ประมาณ 41 ล้านคน และประชากรที่มีอายุระหว่าง 5-19 ปี ประมาณ 341 ล้านคน มีภาวะน้ำหนักเกินหรือภาวะอ้วน (WHO, 2018) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างประชากรในอนาคตจะมีผู้ป่วยโรคอ้วนจำนวนมาก สำหรับข้อมูลโรคอ้วนในประเทศไทยพบว่าประชากร 1 ใน 3 เข้าข่ายภาวะน้ำหนักเกิน ส่วนอีกประมาณร้อยละ 8.5 เข้าข่ายโรคอ้วน (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ, 2562) ข้อมูลจากการศึกษาทางระบาดวิทยา การศึกษาในหลอดทดลองและการศึกษาทางคลินิกพบว่าโรคอ้วนเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเรื้อรังหลายชนิดตามมา

เช่น โรคข้อเสื่อม โรคเก๊าท์ โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ และโรคมะเร็งบางชนิด (Druso and Fischbach, 2018; Dyck and Lynch, 2018; Upadhyay and Mishra, 2018) ข้อมูลขององค์การอนามัยโลกรายงานว่าโรคเรื้อรังเหล่านี้เป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลกประมาณ 41 ล้านคน หรือประมาณร้อยละ 75 ของจำนวนผู้เสียชีวิตทั้งหมด และที่น่าสนใจคือผู้ป่วยที่เสียชีวิตส่วนใหญ่อายุระหว่าง 30-69 ปี ซึ่งถือว่าเป็นช่วงอายุก่อนถึงอายุขัยโดยเฉลี่ย (WHO, 2018) สำหรับประเทศไทยนั้น สถิติล่าสุดพบว่ามีประชากรประมาณ 14 ล้านคนที่ป่วยเป็นโรคในกลุ่มโรคเรื้อรัง (NCDs) และที่สำคัญยังถือเป็นสาเหตุหลักการเสียชีวิตของประชากรทั้งประเทศ โดยจากสถิติปี พ.ศ. 2552 พบว่ามีประชากรเสียชีวิตจากกลุ่มโรค NCDs มากกว่า 300,000 คน หรือ คิดเป็นร้อยละ 73 ของการเสียชีวิตของประชากรไทยทั้งหมด คิดเป็นมูลค่าความเสียหายทางเศรษฐกิจถึง 200,000 ล้านบาทต่อปี (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ,

2562) แต่อย่างไรก็ตามโรคอ้วนจัดเป็นโรคที่สามารถควบคุมและป้องกันได้ การลดน้ำหนักและควบคุมน้ำหนักเป็นแนวทางในการลดภาวะน้ำหนักเกินและโรคอ้วนได้ดีที่สุดซึ่งสามารถลดอัตราเสี่ยงต่อโรคแทรกซ้อนและเพิ่มคุณภาพชีวิตได้

ในปัจจุบันมียาต้านโรคอ้วนที่มีขายในท้องตลาดที่เป็นที่รู้จักจำนวน 2 ชนิด ชนิดแรกคือยา orlistat หรือชื่อทางการค้าว่า Xenical ยาชนิดนี้สามารถลดความอ้วนได้เนื่องจากออกฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมไขมันที่บริเวณลำไส้เล็กโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสที่สร้างมาจากตับอ่อน (Drew et al., 2007) ส่วนยาอีกหนึ่งชนิดคือยา sibutramine หรือชื่อทางการค้าว่า Reductil เป็นยาที่ทำให้ความอยากอาหารลดลง (Tziomalos et al., 2009) แต่อย่างไรก็ตามยาทั้งสองชนิดที่กล่าวมานี้มีผลข้างเคียงที่อันตราย เช่น อ่อนเพลีย ใจสั่น ใจเต้นเร็ว ความดันเลือดเพิ่มขึ้น ปากแห้ง ท้องผูก ปวดศีรษะ และนอนไม่หลับ (Simone and Addeo, 2008; Karamadokis et al., 2009) นอกจากนี้ยังมียาอีกหลายชนิดที่กำลังถูกพัฒนา เช่น radafaxaine แต่ยังไม่อยู่ในขั้นตอนการทดลองระดับคลินิก จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่ายาที่มีอยู่ในปัจจุบันยังมีจำนวนน้อย มีผลข้างเคียงอันตรายและที่สำคัญคือมีราคาที่ค่อนข้างแพง ประเทศไทยยังต้องมีการนำเข้ายาเหล่านี้จากต่างประเทศ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการวิจัยเพื่อค้นหาตัวยาใหม่ ๆ ที่มีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ในปัจจุบันนักวิจัยทั่วโลกมุ่งเน้นไปที่การค้นคว้าวิจัยยาต้านโรคอ้วนจากสารสกัดธรรมชาติ เนื่องจากมีผลข้างเคียงน้อยกว่ายาสังเคราะห์ (Karri et al., 2019)

พืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมของไขมันส่วนใหญ่จะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส (pancreatic lipase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างมาจากตับอ่อน ทำหน้าที่ในการย่อยสลายไขมันจากอาหารที่อยู่ในรูปแบบไตรกลีเซอไรด์ซึ่งเป็นไขมันที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นกรดไขมันอิสระและโมโนกลีเซอรอล เมื่อไขมันมีขนาดโมเลกุลเล็กลงก็จะสามารถถูกดูดซึมและขนส่งไปสะสมยังเซลล์ไขมันตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ทำให้เกิดไขมันส่วนเกิน เมื่อเอนไซม์ถูกยับยั้งจึงทำให้ไขมันยังคงอยู่ในลักษณะที่เป็นโมเลกุลใหญ่จึงไม่สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ ทำให้เกิดการขับถ่ายเป็นไขมันออกทางอุจจาระ ดังนั้นวิธีการนี้จึงเป็นวิธีการยับยั้งการสะสมไขมันด้านแรกก่อนที่ไขมันจะถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือด กลไกนี้เป็นกลไกที่มีความปลอดภัยมากที่สุดเนื่องจากไม่เกิดการ

รบกวนหรือเปลี่ยนแปลงระบบเมตาบอลิซึมของร่างกาย ดังนั้นกลไกนี้จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับการศึกษาเป็นจำนวนมาก

จากรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ กลุ่มวิจัยของเราได้ทำการศึกษาถึงการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในหลอดทดลองของสารสกัดเปลือกผลไม้ 14 ชนิดที่มีการบริโภคทั่วไปและหาได้ง่ายตามท้องตลาด ได้แก่ กระท้อน สละ มะขาม เงาะ มังคุด ลองกอง ลำไย แก้วมังกร มะไฟ ส้มโอ แตงโม สับปะรด ส้ม และแคนตาลูป ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเปลือกกระท้อนและเปลือกเงาะ ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสที่สร้างจากตับอ่อนได้ (Dechakhamphu et al., 2017) แต่ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษายืนยันในสัตว์ทดลอง ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการสะสมไขมันของสารสกัดเปลือกกระท้อน (*Sandoricum koetjape* Merr.) และเปลือกเงาะ (*Nephelium lappaceum* L.) ในสัตว์ทดลองโดยเลือกแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) เป็นต้นแบบในการศึกษาเนื่องจากเป็นสัตว์ทดลองที่ได้รับการยอมรับในทางการแพทย์เพื่อศึกษากลไกทางชีววิทยาและการเกิดโรค (Panchal and Tiwari, 2017; Pandey and Nichols, 2011) เนื่องจากได้มีการนำมาศึกษาพันธุ์กรรมมากกว่า 110 ปี และจากการศึกษาลำดับเบสในจีโนมของแมลงหวี่เมื่อปี ค.ศ. 2000 พบว่ามียีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการก่อโรคลำไส้กับมนุษย์ร้อยละ 75 (Reiter et al., 2001; Adams et al., 2000) และที่สำคัญแมลงหวี่ได้รับการยอมรับว่าเป็นสัตว์ทดลองที่มีรูปแบบเมตาบอลิซึมของไขมันและน้ำตาลใกล้เคียงกับมนุษย์ ดังนั้นจึงเป็นต้นแบบที่น่าเชื่อถือในการศึกษาโรคเบาหวานและโรคอ้วน (Musselman and Kühnlein, 2018; Smith et al., 2018) และนอกจากนี้แมลงหวี่ยังเป็นสัตว์ที่มีขนาดเล็ก เลี้ยงง่าย ขยายพันธุ์เร็ว ให้ลูกจำนวนมาก ค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาน้อย โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาระดับไตรกลีเซอไรด์ของแมลงหวี่ที่ได้รับสารสกัดร่วมกับการได้รับอาหารน้ำตาลความเข้มข้นสูง และศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดเพื่อประเมินความปลอดภัยในการนำมาพัฒนาเป็นยาเพื่อใช้กับมนุษย์ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างสมุนไพรและการสกัดสารสำคัญ

เก็บตัวอย่างผลกระทอนสายพันธุ์ปุ๋ยฝ้ายและผลเงาะสายพันธุ์โรงเรียน ในพื้นที่อำเภอบางบาล จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2562 โดยเลือกเก็บเฉพาะผลสุก นำผลไม้ทั้งสองชนิดมาล้างน้ำเปล่าให้สะอาด ปอกเอาเฉพาะส่วนเปลือก แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเปลือกผลไม้ที่แห้งแล้วมาบดเป็นผงโดยใช้เครื่องบด แล้วนำมาสกัดด้วยวิธีแช่เย็น (maceration) ด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:5 เก็บในภาชนะฝาปิดสนิทเป็นเวลา 7 วัน กรองตะกอนด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman) โดยใช้ระบบการกรองแบบสุญญากาศ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นสารระเหยแบบหมุน (rotary evaporator, Bruchi) เก็บสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดสอบ

2. แมลงหวี่ที่ใช้ในการศึกษาและการออกแบบการทดลอง

แมลงหวี่ที่ใช้ในการศึกษาค้นครั้งนี้เป็นสายพันธุ์แท้ (wild-type) ได้รับอนุเคราะห์จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทำการเลี้ยงภายใต้สภาวะควบคุมที่อุณหภูมิ 25 ± 1.2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 70-80 การได้รับแสง 12 ชั่วโมง/วัน สูตรอาหารเลี้ยงแมลงหวี่ประกอบด้วยผงวุ้น 6 กรัม กลูโคส 600 กรัม โซเดียมเบนโซเอท 0.45 กรัม และน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร นำส่วนผสมทั้งหมดผสมรวมกันเป็นเนื้อเดียว ต้มให้สุกประมาณ 30 นาที แล้วเติมในขวดเลี้ยงขวดละ 5 มิลลิลิตร สำหรับอาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดจะทำการผสมสารสกัดเมื่ออาหารมีอุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส แบ่งแมลงหวี่ออกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารปกติ (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารน้ำตาลสูง (น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 30) กลุ่มที่ 3-4 ได้รับอาหารน้ำตาลสูงร่วมกับสารสกัดเปลือกกระทอนความเข้มข้น 15 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และกลุ่มที่ 5-6 ได้รับอาหารน้ำตาลสูงร่วมกับสารสกัดเปลือกเงาะความเข้มข้น 15 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ การใช้ความเข้มข้นนี้เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อแมลงหวี่และเมื่อผสมในอาหารแล้วไม่ทำให้อาหารมีความหนืดซึ่งส่งผลให้แมลงหวี่ตายเนื่องจากปิกติดบนอาหาร การศึกษาค้นครั้งนี้ได้รับการอนุมัติให้ทำการวิจัยโดยคณะกรรมการ

จริยธรรมสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี เลขที่ AN63001

3. การทดสอบการกิน

การทดสอบการกินเพื่อทดสอบยืนยันว่าการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของน้ำหนักตัวและปริมาณไตรกลีเซอไรด์ของแมลงหวี่ไม่ได้เป็นผลจากการอดอาหารเนื่องจากสารสกัดบางชนิดอาจมีผลต่อประสาทสัมผัสการกิน ในการศึกษาครั้งนี้ทำการทดสอบโดยใช้วิธี gustatory assay ที่ดัดแปลงจาก (Maseka and Keeneb, 2016) โดยการผสมสีโบรโมฟีนอลบลูที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ลงในอาหารของกลุ่มการศึกษาทั้ง 6 กลุ่ม (กลุ่มละ 10 ตัว) จากนั้นนำอาหารที่ผสมสีแล้วมาใช้ในการทดสอบการกินในแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียอายุ 5-7 วัน โดยให้แมลงหวี่อดอาหารเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้แมลงหวี่แต่ละกลุ่มกินอาหารที่เตรียมไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการการุณยฆาตแมลงหวี่ด้วยก๊าซ CO_2 แล้วย้ายแมลงหวี่ใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.1 M PBS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บดแมลงหวี่ให้ละเอียด แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์อีก 400 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 5,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ดูดเฉพาะส่วนใสใสลงใน 96 well-plate แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 668 นาโนเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ คำนวณปริมาณการกินโดยการหาค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงต่อจำนวนตัวของแมลงหวี่ในแต่ละกลุ่ม นำเสนอค่าที่ได้โดยใช้ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ผลต่างระหว่างกลุ่มด้วยสถิติ One-WAY ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างรายคู่ด้วยสถิติ LSD กำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $P < 0.05$

4. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อแมลงหวี่

ทดสอบความเป็นพิษเพื่อประเมินความปลอดภัยเบื้องต้นของสารสกัดโดยใช้แมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียอายุ 3-5 วัน จำนวนเพศละ 300 ตัว แต่ละเพศแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 50 ตัว (แบ่งเลี้ยงหลอดละ 10 ตัว) ทำการเลี้ยงแมลงหวี่ในแต่ละกลุ่มเป็นเวลา 7 วัน โดยบันทึกการตายทุกวัน วิเคราะห์การตายโดยใช้สถิติ Kaplan-Meier ด้วยวิธี Log-rank test โดยทำการเปรียบเทียบอัตราการตายของทุกกลุ่มด้วยวิธีการจับคู่และนำเสนอข้อมูลโดยการพลอตกราฟร้อยละการรอดชีวิตด้วยโปรแกรม Sigma Plot 10.0

5. การศึกษาผลของสารสกัดต่อน้ำหนักตัวของแมลงหวี่

ทดสอบการยับยั้งการสะสมไขมันของสารสกัดโดยใช้แมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียอายุ 3-5 วัน จำนวนเพศละ 600 ตัว โดยแต่ละเพศแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 100 ตัว (แบ่งเลี้ยงหลอดละ 10 ตัว) ชั่งน้ำหนักแมลงหวี่ทุกกลุ่มก่อนการทดลองและหลังการทดลอง 7 วัน วิเคราะห์น้ำหนักตัวโดยการคำนวณผลต่างของน้ำหนักตัวก่อนและหลังการทดลอง (ในหน่วยต่อตัว มิลลิกรัม/ตัว) และเปรียบเทียบน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงหลังการทดลองด้วยสถิติ One-WAY ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างรายคู่ด้วยสถิติ LSD กำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $P < 0.05$

6. การศึกษาผลของสารสกัดต่อปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในแมลงหวี่

เมื่อทำการชั่งน้ำหนักแมลงหวี่หลังการทดลองครบ 7 วันแล้ว ทำการุณยฆาตด้วยก๊าซ CO_2 จากนั้นนำแมลงหวี่จำนวนกลุ่มละ 90 ตัว (แบ่งอีก 10 ตัว ไปใช้ในการย้อมสีไขมัน) ทำการสกัดไตรกลีเซอไรด์จากแมลงหวี่ด้วยตัวทำละลายเมทานอล จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.5 มิลลิโมลาร์ vanillin ในกรดซัลฟิวริกเข้มข้นเป็นเวลา 45 นาทีในที่มืด นำสารละลายที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณไตรกลีเซอไรด์โดยใช้กราฟมาตรฐานของ triolein นำเสนอข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ยปริมาณไตรกลีเซอไรด์/ตัวของแมลงหวี่ (Men et al., 2019)

7. การศึกษาผลของสารสกัดต่อการสะสมไขมันของแมลงหวี่

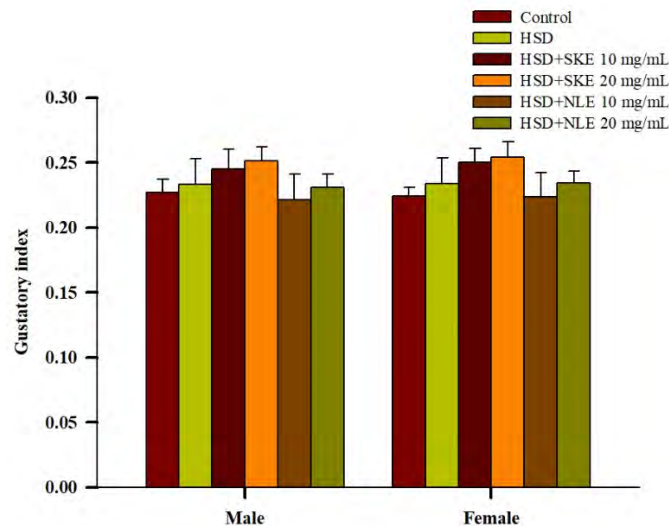
เมื่อทำการชั่งน้ำหนักแมลงหวี่หลังการทดลองครบ 7 วันแล้ว ทำการุณยฆาตด้วยก๊าซ CO_2 จากนั้นนำแมลงหวี่กลุ่มละ 10 ตัว ใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ตรึงตัวอย่างโดยการแช่ในสารละลายร้อยละ 4 paraformaldehyde เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย 1 มิลลิโมลาร์ PBS pH 7.4 จำนวน 2 รอบ แล้วแช่สารละลาย propylene

glycol จำนวน 2 รอบ จากนั้นนำแมลงหวี่ใส่หลอดแก้วแล้วเติมสารละลายสี Oil red O ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (ละลายใน propylene glycol ร้อยละ 50) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มในเครื่อง water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างสีส่วนเกินออกด้วยสารละลาย propylene glycol ร้อยละ 85 จำนวน 2 รอบ และล้างด้วยสารละลาย 1 มิลลิโมลาร์ PBS pH 7.4 จำนวน 2 รอบ คีบแมลงหวี่วางลงบนแผ่นสไลด์ ทำการเมาท์ตัวอย่างด้วยสารละลายกลีเซอรอล แล้วนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยใช้กำลังขยายที่ 40 เท่า ประเมินการสะสมไขมันบริเวณส่วนท้องของแมลงหวี่โดยการให้คะแนนปริมาณไขมันบริเวณท้องโดยดัดแปลงวิธีการจาก (Tennessen et al., 2014) กำหนดค่าคะแนนในช่วง 0-5 คะแนน โดยกำหนดให้ 0 คือ ไม่มีสีบริเวณท้อง ถึง 5 คือ มีสีแดงเต็มท้อง กำหนดให้มีผู้ประเมินจำนวน 3 คน โดยใช้วิธีการให้คะแนนแบบปกปิดสองทาง (double blind method) นำเสนอข้อมูลในรูปแบบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของแต่ละกลุ่ม เปรียบเทียบคะแนนของแต่ละกลุ่มกับกลุ่มควบคุมด้วยสถิติ One-WAY ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างรายคู่ด้วยสถิติ LSD กำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $P < 0.05$

ผลการวิจัย

1. ผลของสารสกัดต่อปริมาณการกินของแมลงหวี่

ผลการทดสอบการกินพบว่าแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียทุกกลุ่มที่ทำการศึกษามีปริมาณการกินไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 1) จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอาหารที่ผสมสารสกัดไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการกินของแมลงหวี่ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงไปของน้ำหนักตัวและปริมาณไตรกลีเซอไรด์ของแมลงหวี่จึงไม่ได้เป็นผลมาจากการอดอาหาร

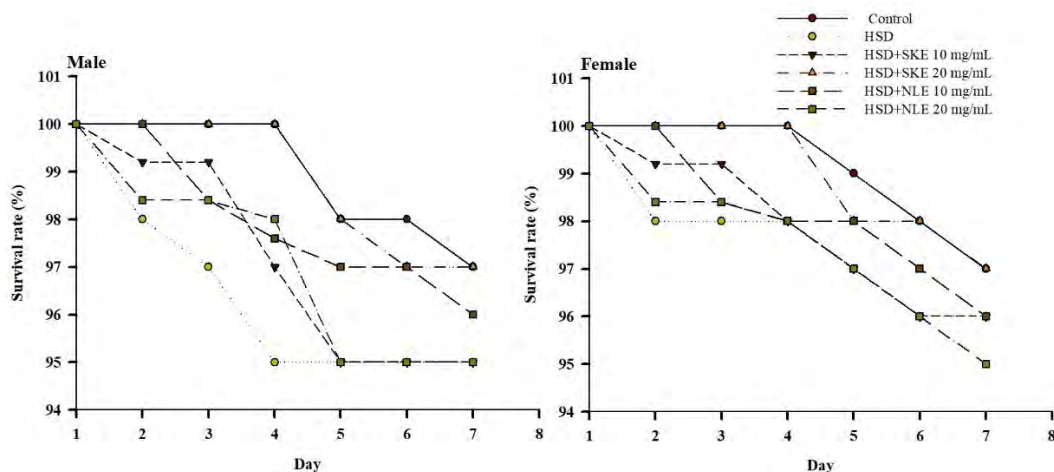


รูปที่ 1 แสดงผลการทดสอบการกินสารสกัดของแมลงหรีเพศผู้และเพศเมีย (กำหนดให้ * และ ** แทน $P < 0.05$ และ $P < 0.01$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในเพศเดียวกันโดยใช้สถิติ One-way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างรายคู่ด้วยสถิติ LSD; HSD = แมลงหรีที่ได้รับอาหารน้ำตาลสูง; HSD+SKE = แมลงหรีที่ได้รับอาหารน้ำตาลสูงร่วมกับสารสกัดเปลือกกระเทียม; HSD+NLE = แมลงหรีที่ได้รับอาหารน้ำตาลสูงร่วมกับสารสกัดเปลือกเงาะ)

2. ผลทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด

การศึกษารังนี้ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเปลือกกระเทียมและเปลือกเงาะโดยการนับอัตราการตายของแมลงหรีที่ได้รับสารสกัดเป็นเวลา 7 วัน โดยทำการศึกษาในแมลงหรีเพศผู้และเพศเมีย ผลการศึกษาพบว่าแมลงหรีทุกกลุ่มที่ทำการศึกษามีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 95 ซึ่งแสดงให้เห็น

ว่าสารสกัดเปลือกเงาะและเปลือกกระเทียมความเข้มข้นที่ 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อแมลงหรีที่ทำการศึกษา และจากการทดสอบด้วยสถิติ Kaplan-Meier พบว่าอัตราการตายของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของแมลงหรีเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับสารสกัดเปลือกกระเทียมและเปลือกเงาะเป็นเวลา 7 วัน

3. ผลของสารสกัดต่อน้ำหนักตัวของแมลงหรี

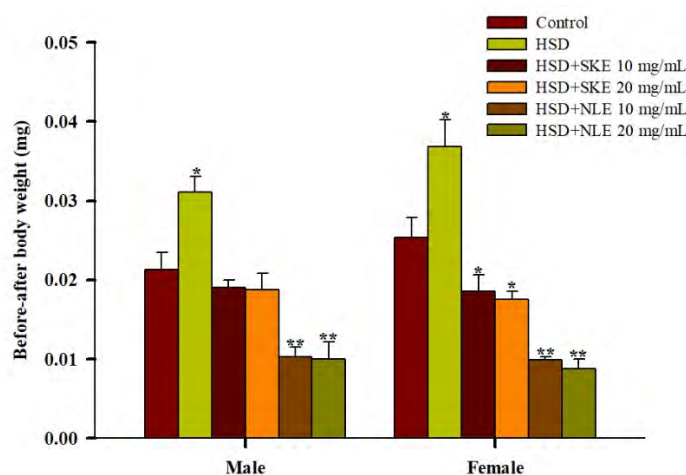
การศึกษาผลของสารสกัดเปลือกกระเทียมและเปลือกเงาะต่อน้ำหนักตัวของแมลงหรีเพศผู้ พบว่าแมลงหรีเพศผู้ที่ได้รับอาหารน้ำตาลสูงเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 7 วัน มีน้ำหนัก

มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับอาหารน้ำตาลสูงมีค่าเฉลี่ยผลต่างของน้ำหนักตัวก่อนและหลังการทดลองที่ 0.0213 ± 0.0021 และ 0.0311 ± 0.0023 มิลลิกรัม/ตัว ตามลำดับ น้ำหนักตัวของแมลงหรีเพศผู้

ได้รับอาหารที่ผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับน้ำตาลความเข้มข้นสูงพบว่ามีความแตกต่างของน้ำหนักตัวก่อนและหลังการทดลองน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า 0.0103 ± 0.0013 และ 0.0101 ± 0.0021 มิลลิกรัม/ตัว ตามลำดับ ส่วนแมลงหวี่ที่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดเปลือกกระท้อนที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นั้นพบว่ามีความแตกต่างของน้ำหนักตัวก่อนและหลังการทดลองน้อยกว่ากลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบด้วยสถิติ One-Way ANOVA พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีค่า 0.0190 ± 0.0010 และ 0.0180 ± 0.0021 มิลลิกรัม/ตัว ตามลำดับ

สำหรับผลการศึกษาในแมลงหวี่เพศเมียนั้นพบว่ามีความโน้มเอียงไปในทิศทางเดียวกันกับผลการศึกษาในเพศผู้ แต่ค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของเพศเมียมีค่าสูงกว่าเพศผู้เล็กน้อยเนื่องจากแมลงหวี่เพศเมียจะมีขนาดตัวใหญ่กว่าแมลงหวี่เพศผู้โดย

ธรรมชาติ แมลงหวี่เพศเมียที่ได้รับอาหารน้ำตาลสูงเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 7 วัน มีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับอาหารน้ำตาลสูงมีความแตกต่างของน้ำหนักตัวก่อนและหลังการทดลองที่ 0.0253 ± 0.0025 และ 0.0368 ± 0.0034 มิลลิกรัม/ตัว ตามลำดับ ส่วนแมลงหวี่เพศเมียที่ได้รับอาหารที่ผสมสารสกัดกระท้อนและเปลือกเงาะที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยผลต่างของน้ำหนักตัวก่อนและหลังการทดลองที่ 0.0175 ± 0.0010 และ 0.0087 ± 0.00127 มิลลิกรัม/ตัว ตามลำดับ ส่วนผลของการให้อาหารผสมสารสกัดเปลือกผลไม้ทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นั้นพบว่าแมลงหวี่ที่ได้รับสารสกัดเปลือกกระท้อนและเปลือกเงาะมีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่า 0.0185 ± 0.0021 และ 0.0099 ± 0.0004 มิลลิกรัม/ตัว ตามลำดับ (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แสดงน้ำหนักตัวของแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือกกระท้อนและเปลือกเงาะร่วมกับน้ำตาลความเข้มข้นสูง (กำหนดให้ * และ ** แทน $P < 0.05$ และ $P < 0.01$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในเพศเดียวกันโดยใช้สถิติ One-way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างรายคู่ด้วยสถิติ LSD)

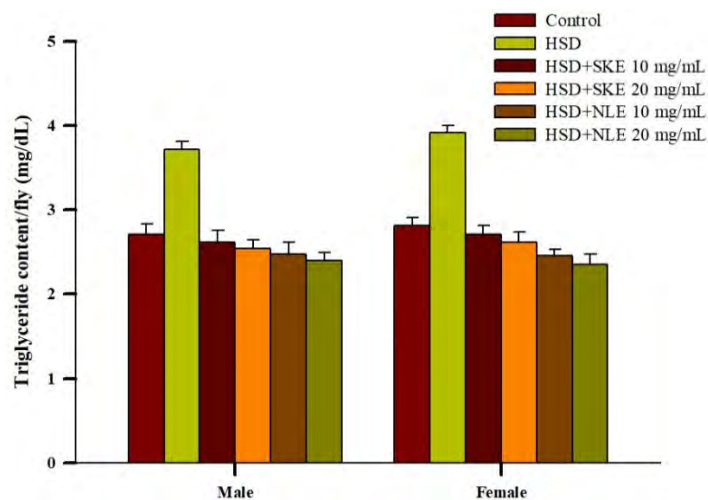
4. ผลของสารสกัดต่อการสะสมไขมันของแมลงหวี่

การศึกษานี้ทำการศึกษาผลของสารสกัดต่อการสะสมไขมันในแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียโดยการวัดปริมาณไตรกลีเซอไรด์จากทั้งตัวของแมลงหวี่หลังจากการได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือกผลไม้ทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน และศึกษาปริมาณไขมันบริเวณส่วนท้องโดยการย้อมสี oil red O ผลการศึกษาพบว่าแมลงหวี่ทั้งสองเพศที่ได้รับอาหารน้ำตาลความเข้มข้นสูงเพียง

อย่างเดียวมีปริมาณไตรกลีเซอไรด์มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียมีค่าเฉลี่ยปริมาณไตรกลีเซอไรด์ 3.714 ± 0.100 และ 3.915 ± 0.087 มิลลิกรัม/เดซิลิตร/ตัว ตามลำดับ ส่วนแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียกลุ่มควบคุมมีปริมาณ 2.715 ± 0.120 และ 2.817 ± 0.090 มิลลิกรัม/เดซิลิตร/ตัว ตามลำดับ การศึกษาผลของสารสกัดต่อปริมาณไขมันพบว่าแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือกเงาะมีปริมาณไขมันไตรกลีเซอไรด์ต่ำกว่ากลุ่ม

ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเพศผู้ที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยปริมาณไตรกลีเซอไรด์ 2.478 ± 0.140 ($P < 0.05$) และ 2.397 ± 0.098 ($P < 0.05$) มิลลิกรัม/เดซิลิตร/ตัว ตามลำดับ ส่วนแมลงหวี่เพศเมียมีปริมาณ 2.454 ± 0.078 ($P < 0.05$) และ 2.348 ± 0.122 ($P < 0.01$) มิลลิกรัม/เดซิลิตร/ตัว ตามลำดับ ส่วนการศึกษาผลของสารสกัดเปลือกกระท้อนต่อการสะสมไขมันนั้นพบว่าแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดความเข้มข้น 10

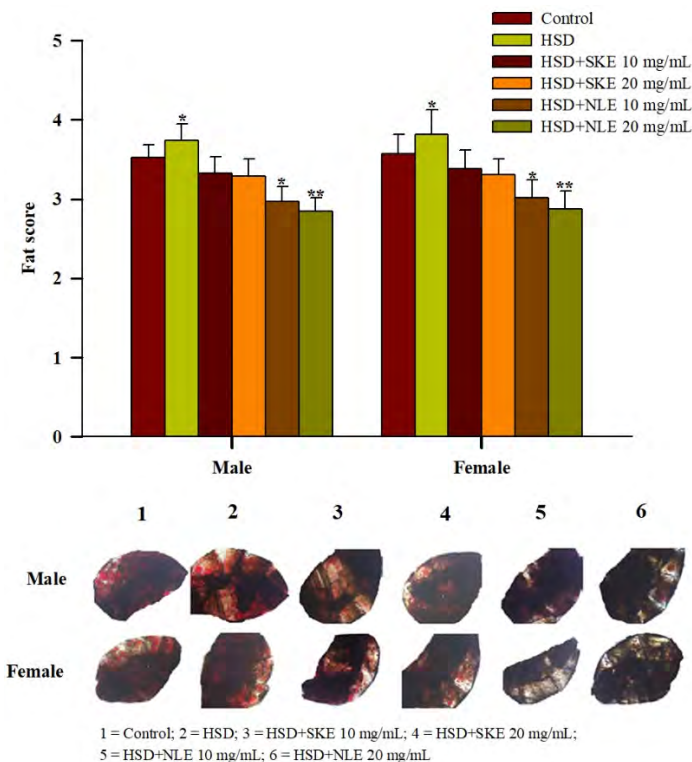
และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม โดยแมลงหวี่เพศเมียมีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ 2.615 ± 0.140 และ 2.541 ± 0.100 มิลลิกรัม/เดซิลิตร/ตัว ตามลำดับ ส่วนแมลงหวี่เพศเมียมีปริมาณ 2.715 ± 0.099 และ 2.611 ± 0.125 มิลลิกรัม/เดซิลิตร/ตัว ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบทางสถิติแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 แสดงปริมาณไตรกลีเซอไรด์ของแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือกกระท้อนและเปลือกเงาะร่วมกับน้ำตาลความเข้มข้นสูง (กำหนดให้ * และ ** แทน $P < 0.05$ และ $P < 0.01$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มคุมในเพศเดียวกันโดยใช้สถิติ One-way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างรายคู่ด้วยสถิติ LSD)

ผลศึกษาปริมาณไขมันบริเวณส่วนท้องโดยการย้อมสี oil red O พบว่าผลการประเมินการติดสีมีความสอดคล้องกับปริมาณไตรกลีเซอไรด์ แมลงหวี่ทั้งสองเพศที่ได้อาหารน้ำตาลความเข้มข้นสูงเพียงอย่างเดียวมีค่าคะแนนการติดสีย้อมมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่า 3.74 ± 0.21 และ 3.81 ± 0.31 คะแนน ในแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมีย ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมมีคะแนนการติดสี 3.52 ± 0.16 และ 3.57 ± 0.24 คะแนน ในเพศผู้และเพศเมีย ตามลำดับ ผลการประเมินการติดสีบริเวณท้องในแมลงหวี่ที่ได้รับสารสกัดเปลือกเงาะพบว่ามีความเข้มข้นต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือก

เงาะที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยคะแนน 2.97 ± 0.18 และ 2.81 ± 0.17 คะแนน ตามลำดับ ส่วนแมลงหวี่เพศเมียมีค่าเฉลี่ยคะแนน 3.01 ± 0.23 และ 2.87 ± 0.23 คะแนน ตามลำดับ ผลของสารสกัดเปลือกกระท้อนต่อการสะสมไขมันนั้นพบว่าแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีการการติดสีย้อมน้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยแมลงหวี่เพศผู้มีค่าเฉลี่ยคะแนน 3.324 ± 0.021 และ 3.290 ± 0.021 คะแนน ตามลำดับ ส่วนแมลงหวี่เพศเมียมีปริมาณ 3.380 ± 0.024 และ 3.310 ± 0.019 คะแนน ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบทางสถิติแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 แสดงค่าคะแนนการติดสีไขมันบริเวณท้องของแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือกกระเทียมและเปลือกเงาะร่วมกับน้ำตาลความเข้มข้นสูง (รูปบน) และแสดงภาพถ่ายแสดงปริมาณไขมันบริเวณท้องของแมลงหวี่ที่เป็นตัวแทนแต่ละกลุ่ม (รูปล่าง) (กำหนดให้ * และ ** แทน $P < 0.05$ และ $P < 0.01$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มคุมในเพศเดียวกันโดยใช้สถิติ One-way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างรายคู่ด้วยสถิติ LSD)

วิจารณ์ผลการวิจัย

ภาวะน้ำหนักเกินและโรคอ้วนเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญของประเทศไทยและทั่วโลกทั้งในปัจจุบันและอนาคต โรคอ้วนส่งผลให้เกิดโรคเรื้อรังรักษายากและต้องใช้ค่าใช้จ่ายจำนวนมาก เช่น โรคข้อเสื่อม โรคเก๊าท์ โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดหัวใจตีบตลอดจน โรคมะเร็ง เป็นต้น ดังนั้นการหาวิธีการป้องกันและรักษาโรคอ้วนจึงมีความจำเป็นในปัจจุบันเนื่องจากการอุบัติการณ์ของการเกิดโรคมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ (Graham and Pick, 2017) การป้องกันการดูดซึมไขมันบริเวณลำไส้เล็กด้วยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส นับว่าเป็นกระบวนการรักษาด้วยยาที่มีความปลอดภัยกว่าวิธีอื่น เนื่องจากไม่ได้ไปรบกวนระบบเมตาบอลิซึมของร่างกายและไม่ส่งผลต่อระบบประสาท การวิจัยก่อนหน้านี้กลุ่มผู้วิจัยพบว่าสารสกัดเปลือกกระเทียมและเปลือกเงาะสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในหลอดทดลอง (Dechakhamphu et al., 2017) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษายืนยันการออกฤทธิ์ในสัตว์ทดลอง ดังนั้นการศึกษารังนี้จึงได้ทำการศึกษาคผล

ของสารสกัดดังกล่าวต่อการยับยั้งการสะสมไขมันในแมลงหวี่ ผลการศึกษาพบว่าแมลงหวี่ทั้งเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับน้ำตาลความเข้มข้นสูงมีการสะสมไขมันน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างและกลุ่มที่ได้รับอาหารน้ำตาลเพียงอย่างเดียว เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดที่ทำการศึกษาคพบว่าสารสกัดเปลือกเงาะสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการสะสมไขมันได้ดีกว่า ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาในหลอดทดลอง สำหรับกลไกการออกฤทธิ์นั้นสมมติฐานได้ว่าน่าจะมี ความเกี่ยวข้องกับสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบของสารสกัดถึงแม้ว่าการศึกษารังนี้จะได้ศึกษาชนิดของสารสำคัญที่พบในสารสกัดหายาโดยตรง แต่มีการศึกษาหลายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบมากในเปลือกเงาะคือสารกลุ่มฟีนอลิก ได้แก่ geraniin corilagin rutin ellagic acid และ quercetin (Dechakhamphu et al., 2017; Martin et al., 2015; Gui-Fang., 2012) เมื่อศึกษาจากรายงานการวิจัยพบว่า สารสำคัญเหล่านี้สามารถออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการ

สะสมไขมันได้ การศึกษาในเซลล์ไขมัน (3T3-L1) พบว่าสาร geraniin สามารถออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนอินซูลินในการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ (Perera et al., 2020) รายงานการวิจัยของ Chung et al. (2018) พบว่าสาร geraniin สามารถป้องกันภาวะความผิดปกติของการเมตาบอลิซึมในหนูแร้ที่ที่ได้รับอาหารไขมันสูงได้ และยังพบว่าสาร geraniin ไม่มีความเป็นพิษต่อหนูแร้ที่เมื่อได้รับในปริมาณความเข้มข้นสูง (50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และยังมีรายงานการวิจัยที่พบว่า สาร geraniin สามารถป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูแร้ที่ที่ได้รับอาหารไขมันสูง (Chung et al., 2018) การศึกษาแบบ in silico พบว่าสาร corilagin สามารถจับกับโมเลกุลของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สูงที่สารนี้จะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ (Sudeep et al., 2014) การศึกษาของ Nandini and Naik, (2019) พบว่าการให้สาร corilagin ปริมาณ 10 และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน ในหนูแร้ที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานโดยการกระตุ้นด้วยสารสเตปโตโซโทซิน (streptozotocin) สามารถลดระดับน้ำตาลและระดับไขมันในเลือด และลดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ใกล้เคียงกับยามาตรฐาน glibenclamide การศึกษาแบบ in silico และในหลอดทดลอง พบว่าสาร quercetin สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสที่สร้างจากตับอ่อนได้ (Luo et al., 2019) การศึกษาในเซลล์ไขมัน 3T3-L1 พบว่าสาร quercetin and rutin ที่พบในสารสกัดใบบัว (*Nelumbo nucifera*) และต้น *Sophorae flos* สามารถยับยั้งการสะสมไขมันและกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ (Ahn et al., 2013; Ha do et al., 2010) การศึกษาในระดับโมเลกุลของเซลล์พบว่าสาร quercetin สามารถลดการสะสมไขมันโดยการลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการแปลรหัสเป็นเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในเซลล์ตับ การศึกษาในหนูเมาส์ C57B1/6 ที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสาร quercetin พบว่าสามารถลดภาวะอ้วนในได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยหนูกลุ่มที่ได้รับสาร quercetin มีน้ำหนักตัว น้ำหนักของตับ และปริมาณเนื้อเยื่อไขมันสีขาว (white adipose tissue) ที่น้อยกว่ากลุ่มไม่ได้รับ ดังนั้นในปัจจุบันสาร quercetin จึงได้รับความสนใจในการนำมาใช้เป็นยาทางเลือกเพื่อป้องกันและรักษาโรคอ้วน (Nabavi et al., 2015) สำหรับ ellagic acid นั้นก็พบว่ามีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันโรคอ้วนเช่นเดียวกัน

การศึกษาในหนูแร้ พบว่าหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกัน ellagic acid มีปริมาณเนื้อเยื่อไขมันสีน้ำตาล (brown adipose tissue) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับอาหารไขมันเพียงอย่างเดียว ซึ่งเมื่อศึกษาการออกฤทธิ์ในระดับเซลล์ พบว่า ellagic acid ออกฤทธิ์ลดการแสดงออกของยีน p423 และ Aldh1a1 ซึ่งเป็นเกี่ยวข้องกับการรักษาสภาพของเนื้อเยื่อไขมันสีขาว และ ellagic acid ยังสามารถเพิ่มการแสดงออกของยีนที่พบในเนื้อเยื่อไขมันสีน้ำตาล ได้แก่ UCP1 PRDM16 Cidea PGC1 α และ Ppar- α (Wang et al., 2019) การศึกษาของ Panchal et al. (2013) ยังพบว่า ellagic acid สามารถชะลอการเกิดโรคเมตาบอลิซึมในหนูแร้ที่รับประทานอาหารคาร์โบไฮเดรตและไขมันสูงผ่านกลไกการลดการอักเสบและภาวะเครียดออกซิเดชัน ดังนั้นจากข้อมูลรายงานการศึกษาที่ผ่านมาและจากผลการศึกษานี้จึงสามารถสรุปได้ว่าฤทธิ์ยับยั้งการสะสมไขมันของสารสกัดเปลือกเงาะในแมลงหวี่อาจเกิดจากการออกฤทธิ์แบบเสริมฤทธิ์กันของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบของสารสกัดเหยา เพื่อยืนยันข้อสรุปดังกล่าวจำเป็นต้องมีการสกัดแยกสารบริสุทธิ์เพื่อทดสอบต่อไป รวมทั้งมีความจำเป็นต้องมีการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุลของเซลล์เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาเป็นยาหรืออาหารเสริมต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการรายงานการศึกษาครั้งแรกในสัตว์ทดลองเพื่อยืนยันฤทธิ์การยับยั้งการสะสมไขมันในแมลงหวี่ของสารสกัดเปลือกกระท้อนและเปลือกเงาะ ผลการศึกษาพบว่าปริมาณการกินอาหารของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าผลของน้ำหนักและปริมาณไขมันไม่ได้เป็นผลมาจากการอดอาหาร ผลทดสอบความเป็นพิษพบว่าทุกกลุ่มมีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 95 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดไม่มีความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง ผลการศึกษาการสะสมไขมันพบว่าแมลงหวี่กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับน้ำตาลสูง มีค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหลังการทดลอง ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ และการย้อมติดสีไขมันบริเวณท้องต่ำกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อทดสอบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และพัฒนาเป็นยาหรืออาหารเสริมสำหรับยับยั้งการสะสมไขมันต่อไป

แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาค้นคว้าพบว่าสัดส่วนการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของน้ำหนักหนักไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน อาจเนื่องมาจากระบบเมตาบอลิซึมของแมลงหริ้นไม่ได้ขึ้นกับการได้รับอาหารเพียงอย่างเดียวแต่สามารถเกิดขึ้นได้จิงโนไทป์สภาวะการผสมพันธุ์ การวางไข่และการออกลูก (Malick et al., 1966) เพศ และภูมิหลังทางพันธุกรรม (Regan et al., 2016) ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจึงควรมีการใช้แมลงหริ้นที่มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมให้มากที่สุดเพื่อควบคุมปัจจัยที่ส่งผลต่อการทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี สำหรับทุนอุดหนุนการวิจัย ปีงบประมาณ 2562 และขอบคุณผู้ช่วยวิจัย 3 ท่านได้แก่ นางสาวภทิตา วิเศษ นางสาวภทิตรินทร์ ภูวิโคตร และนายปฐมพร สายสุด ขอขอบคุณคณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่เอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้ และผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สายพันธุ์แมลงหริ้นเพื่อใช้ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ. (2562). รายงานประจำปี 2562 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ, แหล่งข้อมูล: <https://www.thaihealth.or.th/>. ค้นเมื่อ 16 ตุลาคม 2563.

Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. G. and Craig Venter, J. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science* 287 (5461): 2185-2195.

Ahn, J. H., Kim, E. S., Lee, C., Kim, S., Cho, S. H., Hwang, B. Y. and Lee, M. K. (2013). Chemical constituents from *Nelumbo nucifera* leaves and their anti-obesity effects. *Journal of Medicinal Chemistry* 23(12): 3604-3608.

Chung, A., Ton, S., Gurtu, S. and Palanisamy, U. (2014). Ellagitannin geraniin supplementation ameliorates metabolic risks in high-fat diet-induced obese Sprague Dawley rats. *Journal of Functional Foods* 9(1): 173-82.

Chung, A. P. Y. S., Gurtu, S., Chakravarthi, S., Moorthy, M., and Palanisamy, U. D. (2018). Geraniin Protects High-Fat Diet-Induced Oxidative Stress in Sprague Dawley Rats. *Frontiers in Nutrition* 5 (17): 1-14.

Druso, J. E. and Fischbach, C. (2018). Biophysical Properties of Extracellular Matrix: Linking Obesity and Cancer. *Trends Cancer* 4(4): 271-273.

Dyck, L. and Lynch, L. (2017). Cancer, obesity and immune-metabolism Connecting the dots. *Cancer Letters* 417: 11-20.

Dechakhamphu, A., Chaweerak, S., Wongchum, N., Wanna, S., Nanthasamroeng, D. and Amornwong, N. (2017). Tropical Fruit Peel Extracts as Potential Agents for Treatment of Obesity and Inhibitor of Tyrosinase Activity. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences* 41: 37-40.

Drew, B. S., Dixon, A. F. and Dixon, B. J. (2007). Obesity management: update on orlistat. *Vascular Health and Risk Management* 3(6): 817-21.

Graham, P. and Pick, L. (2017). Chapter Thirteen - *Drosophila* as a Model for Diabetes and Diseases of Insulin Resistance. *Fly Models of Human Diseases* 121: 397-419.

Gui-Fang, D., Chen, S., Xiang-Rong, X., Ru-Dan, K., Ya-Jun, G., Li-Shan, Z., Li-Li, G., Xi, L., Jie-Feng, X., En-Qin, X., Sha, L., Shan, W., Feng, C., Wen-Hua, L. and Hua-Bin, L. (2012). Potential of fruit wastes as natural resources of bioactive compounds. *International Journal of Molecular Sciences* 13: 8308-23.

Ha do, T., Trung, T. N., Phuong, T. T., Yim, N., Chen, Q. C. and Bae, K. (2010). The selected flavonol glycoside derived from *Sophora* Flos improves glucose uptake and inhibits adipocyte differentiation via activation AMPK in 3T3-L1 cells. *Journal of Medicinal Chemistry* 20(20): 6076-6081.

Karamadous, L., Ansell, D. and Foley, R. (2009). Towards case-mix adjusted international registry comparisons: how can we improve data collection practice?. *Nephrology Dialysis Transplantation* 24: 2306-2311.

Karri, S., Sharma, S., Hatware, K. and Patil, K. (2019). Natural anti-obesity agents and their therapeutic role in management of obesity: A future trend perspective. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 110: 224-238.

Luo, S., Gill, H., Dias, D. A., Li, M., Hung, A., Nguyen, L. T. and Lenon, G. B. (2019). The inhibitory effects of an eight herb formula (RCM-107) on pancreatic lipase: enzymatic, HPTLC profiling and in silico approaches. *Heliyon* 5(9): 1-10.

Malick, L. E. and Kidwell, J. F. (1996). The effect of mating status, sex and genotype on longevity in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 54: 203-209.

Martin, K. A., Mani, M. V., Mani, A. (2015). New targets to treat obesity and the metabolic syndrome. *European Journal of Pharmacology* 15: 457-64.

- Maseka, P. and Keeneb, A. C. (2016). Gustatory processing and taste memory in *Drosophila*. *Journal of Neurogenetics* 30(2): 112-121.
- Men, T. T., Thanh, N. Q. C., Yen, N. D. H., Binh, T. D. and Trang D. T. X. (2019). A simple spectrophotometric method for quantifying total lipids in plants and animals. *Can Tho University Journal of Science* 11(2): 106-110.
- Musselman, L. P. and Kühnlein, R. (2018). *Drosophila* as a model to study obesity and metabolic disease. *The Company of Biologists* 221: 1-12.
- Nandini, H. S., and Naik, P. R. (2019). Action of corilagin on hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions* 299: 186-193.
- Nabavi, S. F. Russo, G. L., Daglia, M., Nabavi, S. M. (2015). Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat!. *Food Chemistry* 179: 305-310.
- Panchal, K. and Tiwari, A. K. (2017). *Drosophila melanogaster* “a potential model organism” for identification of pharmacological properties of plants/plant-derived components. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 89: 1331-1345.
- Panchal, S. K., Ward, L. and Brown, L. (2013). Ellagic acid attenuates high- carbohydrate, high- fat diet- induced metabolic syndrome in rats. *European Journal of Nutrition* 52(2): 559-568.
- Pandey, U. and Nichols, C. D. (2011). Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery. *Pharmacological Reviews* 63(2): 411-436.
- Perera, M., Papa, N., Roberts, M., Williams, M., Udovicich, C., Vela, I., Christidis, D., Bolton, D., Hofman, M. S., Lawrentschuk, N., Murphy, D. G. (2020). Gallium- 68 Prostate- specific Membrane Antigen Positron Emission Tomography in Advanced Prostate Cancer- Updated Diagnostic Utility, Sensitivity, Specificity, and Distribution of Prostate-specific Membrane Antigen-avid Lesions: A Systematic Review and Meta-analysis. *European Urology* 77: 403-417.
- Regan, J. C., Khericha, M., Dobson, A. J. Bolukbasi, E., Rattanavirotkul, N. and Partridge, L. (2016). Sex difference in pathology of the ageing gut mediates the greater response of female lifespan to dietary restriction. *eLife* 5: e10956.
- Reiter, L. T., Potocki, L., Chien, S., Gribskov, M. and Bier, E. (2001). A Systematic Analysis of Human Disease- Associated Gene Sequences In *Drosophila melanogaster*. *Genome Research* 11: 1114-1125.
- Simone, D. G and Addeo D. G. (2008). Sibutramine: balancing weight loss benefit and possible cardiovascular risk. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 18(5): 337-341.
- Smith, R. A., Andrews, K. S., Brooks, D., Fedewa, S. A., Baptiste, D.M., Saslow, D., Brawley, O. W., Wender, R. C. (2018). Cancer Screening in the United States, 2018: A Review of Current American Cancer Society Guidelines and Current Issues in Cancer Screening. *A Cancer Journal for Clinicians* 68(4): 297-316.
- Sudeep, H. V. and Shyam Prasad, K. (2014). Computational studies on the antiobesity effect of polyphenols from pomegranate leaf. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 6(9): 278-281.
- Tennessen, J. M., Barry, W., Cox, J. and Thummel, C. S. (2014). Methods for studying metabolism in *Drosophila*. *Drosophila developmental biology methods* 68(1): 105-115.
- Tziomalos, K., Krassas, G. E. and Tzotzas, T. (2009). The use of sibutramine in the management of obesity and related disorders: an update. *Vascular Health and Risk Management* 3: 441-452.
- Upadhyay, A. and Mishra, A. (2018). Amyloids of multiple species: are they helpful in survival?. *Biological reviews* 93(3): 1363-1386.
- Wang, L., Wei, Y., Ning, C., Zhang, M., Fan, P., Lei, D., Du, J., Gale, M., Ma, Y. and Yang, Y. (2019). Ellagic acid promotes browning of white adipose tissues in high-fat diet-induced obesity in rats through suppressing white adipocyte maintaining genes. *Endocrine Journal* 66(10): 923-936.
- Wang, Y., Yin, W., and Zeng, J. (2018). Global Convergence of ADMM in Nonconvex Nonsmooth Optimization. *Journal of Scientific Computing* 78: 29-63.
- World Health Organization. (2018). Obesity and overweight. Data source: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en>. Retrieve on 7 October 2020.

