Published Online: 7 SEP 2022

การศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากน้ำมันถั่วดาวอินคา

Acetylcholinesterase Inhibitory Activity and Anti-Oxidant Activity of Sacha Inchi Oil

ธนพล นิมิตธีรภาพ

อีเมล: 6352003262@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัครวรรธน์ สิทธิประภาพร

อีเมล: wichian.sit@mfu.ac.th

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay ของน้ำมันถั่วดาวอินคา การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจะทำการทดสอบซ้ำจำนวน 3 ครั้ง และนำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และทดสอบความแตกต่างทางสถิติเปรียบเทียบกับสารควบคุมเชิงบวก (Positive Control) โดยฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส ใช้ยากาแลนตามีน (Galantamine) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้ BHT (Butylated hydroxytoluene) เป็นสารควบคุมเชิงบวก ผลการศึกษาพบว่า น้ำมันถั่วดาวอินคาไม่มีฤทธิ์ในการต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay (IC50 >100 µg/mL และ EC50 >100 µg/mL ตามลำดับ) ส่วนสารมาตรฐานเชิงบวก (Positive Control) ของการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส (Acetylcholinesterase) คือ สาร Galantamine มีค่า IC50 เท่ากับ 0.17 ± 0.02 µg/mL และในขณะที่สารมาตรฐานเชิงบวกของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay ได้แก่สาร BHT (Butylated hydroxytoluene) มีค่า EC50 เท่ากับ 20.16 ± 1.80 µg/mL

คำสำคัญ: ถั่วดาวอินคา, เอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส , ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, DPPH

Published Online: 7 SEP 2022

Abstract

This study was a laboratory study. To study the activity of inhibiting the enzyme acetylcholinesterase and Antioxidant activity by DPPH Scavenging Assay of Sacha Inchi Oil. The bioactivity test was repeated 3 times and the results were averaged and tested for statistical differences compared to the positive control by the activity against the enzyme acetylcholinesterase take galantamine and antioxidant activity by using BHT (Butylated hydroxytoluene) as a positive control agent. The results of the study found that Sacha Inchi Oil had no activity against acetylcholinesterase and antioxidant activity by DPPH Scavenging Assay (IC50 >100 µg/mL and EC50 >100 µg/mL, respectively) The positive control standard of the acetylcholine esterase anti-enzymatic test Acetylcholinesterase was Galantamine with an IC50 of 0.17 ± 0.02 µg/mL, while the positive standard of the DPPH Scavenging Assay was BHT (Butylated hydroxytoluene) with an EC50 of 20.16 ± 1.80. µg/mL

Keywords: Sacha Inchi Oil, Acetylcholinesterase, Antioxidant, DPPH

บทนำ

โรคอัลไซเมอร์เป็นโรคที่พบบ่อยในผู้สูงอายุของประเทศไทยหนึ่งในเจ็ดอันดับแรก โดยพบว่าการเกิดโรคดังกล่าวสัมพันธ์กับอายุของผู้ป่วยที่เพิ่มขึ้น จากข้อมูลปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยมีจำนวนผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ประมาณ 600,000 คน โดยเป็นจำนวนผู้ป่วยใหม่ 100,000 รายต่อปี และคาดการณ์ว่าในปี พ.ศ. 2573 จะมีจำนวนผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์เพิ่มสูงถึง 1,177,000 คน ในผู้ที่มีอายุตั้งแต่ 65 ปี ขึ้นไป จะมีสัดส่วนการเป็นโรคอัลไซเมอร์ประมาณ 5-8% และเมื่อมีอายุ 80 ปี จะมีสัดส่วนการเป็นโรคอัลไซเมอร์สูงถึง 50% (มูลนิธิสถาบันวิจัยและพัฒนาผู้สูงอายุ, 2563)

การรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและสมองเป็นประจำ เป็นอีกหนึ่งวิธีที่จะช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้ (กรมสุขภาพจิต, 2564) จะเห็นได้ว่าในปัจจุบันมีพืชหลายชนิดถูกนำมาศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ในการป้องกันโรคอัลไซเมอร์ โดยพบว่าพืชตระกูลถั่ว (legumes) และธัญพืชเต็มเมล็ดที่ไม่ผ่านการขัดสี (whole grains) (Yusufov et al., 2016) กรดไขมันโอเมก้า 3 ยังมีประโยชน์ในด้านการป้องกันโรคอัลไซเมอร์ในผู้สูงอายุ เนื่องจาก DHA และ EPA ซึ่งเป็นโอเมก้า 3 ที่สำคัญ มีส่วนช่วยในการป้องกันโรคอัลไซเมอร์ได้ (Cremonini et al., 2019; วิศิษฐิพร สุขสมบัติ, 2557)

Published Online: 7 SEP 2022

ถั่วดาวอินคา (Plukenetia volubilis) หรือ sacha inchi เป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดจากทวีปอเมริกาใต้ อยู่ในวงศ์ Euphorbiacese และปัจจุบันกำลังเป็นที่นิยมในประเทศไทย จะเห็นได้จากมีการปลูกถั่วดาวอินคาอย่างแพร่หลาย เนื่องจากคุณค่าทางโภชนาการสูง ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจที่สูง แต่ต้นทุนในการดูแลต่ำ เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ตลอดปี (รักชนก ภูวพัฒน์, 2559)

นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับถั่วดาวอินคาออกมาจำหน่ายจำนวนมาก โดยถั่วดาวอินคาได้รับการขนานนามว่า “โอเมก้าบนดิน” เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญ และมีสารออกฤทธิ์คือ โอเมก้า โดยเฉพาะโอเมก้า 3, 6 และ 9 (วรรณทนา พันพา และคณะ, 2563)

จากคุณค่าทางโภชนาการของถั่วดาวอินคา และอีกทั้งยังเป็นพืชที่กำลังได้รับความนิยมในประเทศไทย ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันถั่วดาวอินคาที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ โดยผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะสามารถนำน้ำมันถั่วดาวอินคามาต่อยอดในการพัฒนาเป็นอาหารเสริม ยา หรือผลิตภัณฑ์ทางเลือกสำหรับผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์หรือผู้สูงอายุได้ในอนาคต และยังเป็นทางเลือกให้กับกลุ่มผู้ป่วยที่รับประทานอาหารประเภทมังสวิรัติหรือกลุ่มวีแก้น ที่ต้องการหลีกเลี่ยงผลิตภัณฑ์จากสัตว์

ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษาค้นคว้าอิสระครั้งนี้ รูปแบบการศึกษาเป็นการศึกษาเชิงห้องปฏิบัติการ (Laboratory study) โดยผู้วิจัยนำตัวอย่างน้ำมันถั่วดาวอินคา ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส (Acetylcholinesterase) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay โดยนำผลการศึกษาที่ได้จะทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง โดยนำมาหาค่าเฉลี่ย และในส่วนของฤทธิ์ทางชีวภาพจะนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติกับสารมาตรฐานเชิงบวก (Positive control)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ ของฤทธิ์ทางชีวภาพจะทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง (n=3) จากนั้นคำนวณเป็นค่า IC50 (ฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส) หรือค่า EC50 (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) และนำมาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยสารมาตรฐานเชิงบวกของฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส (Acetylcholinesterase) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ Galantamine และ Butylated hydroxytoluene (BHT) ตามลำดับ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้สถิติ t-test one sample และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ ที่ p-value < 0.05

ในกรณีที่ผลการศึกษาของฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส หรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีค่า IC50 หรือ ค่า EC50 >100 µg/mL ตามลำดับ จะไม่สามาถนำมีวิเคราะห์

ความแตกต่างทางสถิติได้ เนื่องจากสารตัวอย่างที่นำมาทดสอบ เทียบกับสารมาตรฐานเชิงบวก (Positive control) มีความแตกต่างของความเข้มข้นที่จะใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากเกินไป

ผลวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส พบว่าสาร Galantamine มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรสดีกว่าน้ำมันถั่วดาวอินคา โดยจากผลการทดสอบพบว่าน้ำมันถั่วดาวอินคา มีค่า IC50 >100 µg/mL เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเชิงบวก (Positive control) คือ สาร Galantamine มีค่า IC50 เท่ากับ 0.17 ± 0.02 µg/mL

ตารางที่ 1 ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรสของน้ำมันถั่วดาวอินคา และ สาร Galantamine

ตัวอย่าง	IC_{50} (µg/mL)
น้ำมันถั่วดาวอินคา	>100
Galantamine (Positive Control)	0.17 ± 0.02

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SD, n = 3

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay พบว่าสาร BHT มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดีกว่าน้ำมันถั่วดาวอินคา โดยจากผลการทดสอบพบว่าน้ำมันถั่วดาวอินคา มีค่า EC_{50} >100 µg/mL เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเชิงบวก (Positive control) คือ สาร BHT มีค่า EC_{50} เท่ากับ 20.16 ± 1.80 µg/mL

ตารางที่ 2 ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay ของน้ำมันถั่วดาวอินคา และสาร BHT

ตัวอย่าง	EC_{50} (µg/mL)
น้ำมันถั่วดาวอินคา	>100
BHT (Positive Control)	20.16 ± 1.80

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SD, n = 3

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

น้ำมันถั่วดาวอินคาที่ได้จากการบีบเย็น ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเอนไซม์อะเซทธิลโคลีนเอสเตอร์เรส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay อาจเป็นไปได้ว่า น้ำมันถั่วดาวอินคาที่นำมาศึกษา เป็นน้ำมันที่ได้จากการบีบเย็นแบบ commercial อาจไม่มีการควบคุมมาตรฐานวัตถุดิบตั้งแต่แหล่งเพาะปลูก การควบคุมมาตรฐานวัตถุดิบตาม Thai Herbal Pharmacopeia (THP) จึงทำให้น้ำมันที่ได้มีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงเพียงพอในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการสกัดแบบใช้สารทำละลาย (Solvent) ที่ค่อนข้างมีขั้ว เช่น อะซิโตน น้ำ เอทานอล เมทานอล อาจให้สารสกัดที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าการผลิตด้วยวิธีบีบเย็น ที่ได้ผลผลิตเป็นสารกลุ่มเอสเทอร์ ซึ่งโมเลกุลมีขนาดใหญ่ และไม่มีขั้ว

ข้อเสนอแนะ ควรมีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในวิธีอื่น เช่น ABTS assay, NBT assay, FRAP assay เป็นต้น เพื่อดูฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันถั่วดาวอินคาในกลไกอื่น

ควรมีการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์บิวไทริลโคลีนเอสเตอเรส ควบคู่กับฤทธิ์ต้านเอนไซม์แอซีทิลโคลีนเอสเทอเรส เพื่อให้สอดคล้องกับกลไกของยาในการรักษาโรคอัลไซเมอร์

ควรมีการเตรียมสารสกัดน้ำมันถั่วดาวอินคาเอง ตั้งแต่กระบวนการเลือกวัตถุดิบที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานตั้งแต่กระบวนการปลูก มีการควบคุมมาตรฐานวัตถุดิบ และกระบวนการสกัด เพื่อให้ได้สารสกัดน้ำมันถั่วดาวอินคาที่มีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูง

ควรเลือกใช้สารทำละลาย (Solvent) เป็นตัวสกัดสารสำคัญจากถั่วดาวอินคา เช่น เอทานอล เป็นต้น

รายการอ้างอิง

มูลนิธิสถาบันวิจัยและพัฒนาผู้สูงอายุ. (2563). “*ภาวะสมองเสื่อม*”. https://thaitgri.org/?p=38965.

รักชนก ภูวพัฒน์. (2559). การศึกษาการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิจากใบอ่อน ใบเพสลาดและใบแก่ของถั่วดาวอินคาเพื่อรองรับการผลิตใบชาเพื่อชุมชน ของจังหวัด *วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์*, *8*(2), 125-133.

วรรณทนา พันพา, ปัณณปภณ ใจฉกรรณ์, ภูวดล เชื้อนาค, ตะวันวัฒน์ คำพะไม และวรรณพร คลังเพชร. (2563). องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกถั่วดาวอินคา (*Plukentia volubilis* L.) และการผลิตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยไซลาเนสทางการค้า. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)*, *12*(23), 114-123.

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. (2557). *รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์การตอบสนองของการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่นและการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ต่อการเสริมน้ำมันที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 และกรดไขมันโอเมก้า 6 อยู่สูง ร่วมกับน้ำมันปลา*. http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/7543/1/Fulltext.pdf

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. (2557). *รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์การตอบสนองของการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่นและการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ต่อการเสริมน้ำมันที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 และกรดไขมันโอเมก้า 6 อยู่สูง ร่วมกับน้ำมันปลา*. http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/7543/1/Fulltext.pdf

Cremonini, A. L., Caffa, I., Cea, M., Nencioni, A., Odetti, P., & Monacelli, F. (2019). Nutrients in the Prevention of Alzheimer's Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*. 1-20. https://doi.org/10.1155/2019/9874159

Yusufov, M., Weyandt, L. L., & Piryatinsky, I. (2016). Alzheimer's disease and diet: A systematic review. *International Journal of Neuroscience*, *127*(2), 161-175.