

ชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและแอซิติลโคลีนเอสเตอเรสจากเห็ดป่ากินได้

TYPE OF BIOACTIVE COMPOUNDS AGAINST α -GLUCOSIDASE
AND ACETYLCHOLINESTERASE FROM EDIBLE WILD
MUSHROOMS

สุกฤษฎี วัฒนลออสมบุญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2568
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิ
เดสและแอสติลโคลิเนสเทอเรสจากเห็ดป่ากินได้

สุกฤษฎี วัฒนลอสมบุญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2568
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และแอซิติลโคลีนเอสเทอเรสจากเห็ดป่ากินได้

Type of Bioactive Compounds Against α -Glucosidase and Acetylcholinesterase from Edible Wild Mushrooms

ชื่อ-นามสกุล

นายสุกฤษฎี วัฒนลออสมบุญ

สาขาวิชา

เคมีประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์สมพงษ์ แสนเสนยา, วท.ด.

ปีการศึกษา

2568

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

สุภาภรณ์ ๑/๗๖

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุภาภรณ์ ไบยา, วท.ด.)

๑

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ศิริวรรณ ตี๋ภู, ประ.ด.)

กษัตริย์ กษัตริย์

กรรมการ

(อาจารย์เจ๊ะอาซัน เจ๊ะอุบง, Ph.D.)

สมพงษ์ นรนาถกุล

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์สมพงษ์ แสนเสนยา, วท.ด.)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทฉบับนี้

นิตยา ๐๑๕๔๔

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิพัทธ์ จงสวัสดิ์, ประ.ด.)

วันที่ 27 เดือน ธันวาคม พ.ศ.2567

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และแอสติลโคลีนเอสเทอเรสจากเห็ดป่ากินได้
ชื่อ-นามสกุล	นายสุกฤษฎี วัฒนลออสมบุญ
สาขาวิชา	เคมีประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์สมพงษ์ แสนเสนยา, วท.ด.
ปีการศึกษา	2568

บทคัดย่อ

เห็ดได้มีการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของยาแผนโบราณในหลายประเทศโดยเฉพาะประเทศแถบเอเชีย นอกจากนี้ยังมีรายงานความหลากหลายของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพของมนุษย์

งานวิจัยนี้ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มลิพิดจำนวน 2 ชนิดคือ โอลีเอไมด์และกรดเฮกซะเดคาโนอิกจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดตับเต่า (M1), เห็ดแครง (M2), เห็ดผึ้งแดงคราม (M3), เห็ดผึ้งหวาน (M4) และเห็ดผึ้งแดง (M5) รวมถึงศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวานและโรคอัลไซเมอร์ของสารโอลีเอไมด์และกรดเฮกซะเดคาโนอิก ผลการทดลองพบว่าสารสกัดของเห็ด M2 และ M4 มีปริมาณสารโอลีเอไมด์และกรดเฮกซะเดคาโนอิกสูงที่สุด ดังนั้นสารโอลีเอไมด์และกรดเฮกซะเดคาโนอิกจากสารสกัด M2 และ M4 ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีแบบผิวบาง โดยใช้ระบบตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม:เมทานอล (5:5 v/v) สำหรับสารสกัด M2 และเมทานอล:คลอโรฟอร์ม:น้ำ (51:42:7 v/v/v) สำหรับสารสกัด M4 ผลการทดลองพบว่าได้สารบริสุทธิ์โอลีเอไมด์ (M2P) จากสารสกัด M2 และสารบริสุทธิ์กรดเฮกซะเดคาโนอิก (M4P) จากสารสกัด M4 เมื่อศึกษาชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และ เอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P และสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ พบว่ามีชนิดของการยับยั้งเป็นแบบผสมทั้งสองเอนไซม์และเมื่อหาชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P และสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก พบว่าการยับยั้งเป็นแบบผสม แบบแข่งขัน และแบบไม่แข่งขันตามลำดับ และเมื่อหาชนิดของการยับยั้งเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P และสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิกพบว่ามีชนิดของการยับยั้งเป็นแบบผสม นอกจากนี้ยังพบว่าสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ และกรดเฮกซะเดคาโนอิกมีการจับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และแอสติลโคลีนเอสเทอเรส

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเห็ดเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และแอสติลโคลีนเอสเทอเรสได้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานและโรคอัลไซเมอร์ต่อไป

คำสำคัญ : โอลีเอไมด์ กรดเฮกซะเดคาโนอิก แอสติลโคลีนเอสเทอเรส แอลฟา-กลูโคซิเดส เห็ดป่ากินได้

Thesis Title	Type of Bioactive Compounds Against α -Glucosidase and Acetylcholinesterase from Edible Wild Mushrooms
Name-Surname	Mr. Sukrit Wattanalooosomboon
Program	Applied Chemistry
Thesis Advisor	Associate Professor Sompong Sansenya, Ph.D.
Academic Year	2025

ABSTRACT

Edible wild mushrooms have been used as an ingredient in traditional medicine in many countries, particularly in Asia. Various bioactive compounds related to human health have been reported in edible wild mushrooms.

This research investigated the content of two lipid-based bioactive compounds oleamide and hexadecanoic acid from five species of edible wild mushrooms, including *Phlebopus portentosus* (Berk & Broome) Boedijn (M1), *Schizophyllum commune* Fr. (M2), *Boletus aemilii* Barbier (M3), *Boletus edulis* Bull (M4), and *Heimiella japonica* (Hongo) E. Horak (M5). Moreover, the research also investigated the inhibitory effects of oleamide and hexadecanoic acid against the enzymes related to diabetes mellitus (DM) and Alzheimer's disease (AD). The results revealed that mushroom extracts M2 and M4 contained the highest amounts of oleamide and hexadecanoic acid. Therefore, oleamide and hexadecanoic acid were purified from M2 and M4 using Preparative Thin Layer Chromatography (PTLC) technique, with chloroform: methanol (v/v/v) for M4. The results showed that purified oleamide (M2P) and hexadecanoic acid (M4P) were successfully purified from M2 and M4, respectively. The inhibition analysis revealed that the M2 extract, M2P, and standard oleamide exhibited mixed type inhibition against α -glucosidase and acetylcholinesterase (AChE). The M4 extract, M4P, and standard hexadecanoic acid demonstrated mixed-type, competitive, and non-competitive inhibition, respectively, against α -glucosidase. For AChE, the M4 extract, M4P, and standard hexadecanoic acid showed mixed-type inhibition. For more observations, the oleamide and hexadecanoic acid were located in the active site of α -glucosidase and AChE.

The results suggest that edible wild mushrooms are the source of bioactive compounds capable of inhibiting α -glucosidase and AChE and may have potential applications in the treatment of diabetes mellitus and Alzheimer's disease.

Keywords: oleamide, hexadecanoic acid, acetylcholinesterase, α -glucosidase, edible wild mushrooms

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ เนื่องด้วยได้รับความกรุณาเป็นอย่างยิ่งจากอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก คือ รองศาสตราจารย์ ดร.สมพงษ์ แสนเสนยา ที่ให้คำแนะนำ ดูแล ให้คำปรึกษาตลอดจนถึงการติดตามความก้าวหน้าของงานวิจัยตั้งแต่เริ่มต้นจะกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยซาบซึ้งในความกรุณาของท่านเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาภรณ์ ไบยา ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริวรรณ ตี๋ภูและ ดร.เจี๊ยะฮัน เจี๊ยะอุบง ที่ได้สละเวลา มาเป็นกรรมการในการสอบครั้งนี้และยังกรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบงานวิจัยตลอดจนเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และให้การสนับสนุนผู้วิจัย สามารถนำความรู้ต่างๆมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมถึงภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์การเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัยให้ประสบผลสำเร็จ และขอขอบคุณครอบครัว เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆร่วมสาขาวิชา ตลอดจนบุคคลต่างๆที่ไม่สามารถกล่าวนามได้หมดที่ได้ให้ความช่วยเหลือ สุดท้ายผู้วิจัยหวังว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดหรือบกพร่องประการใด ผู้วิจัยกราบขออภัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

สุกฤษฎี วัฒนลออสมบุญ

สารบัญ

บทคัดย่อ	3
กิตติกรรมประกาศ	4
สารบัญ	6
สารบัญตาราง	10
สารบัญรูป	10
บทที่ 1 บทนำ	15
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	15
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	17
1.3 กรอบแนวคิดในการวิจัย	17
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	17
บทที่ 2 วรรณกรรมหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
2.1 เห็ด	18
2.1.1 เบสิดิโอไมโคตา (Basidiomycota)	19
2.2 กลุ่มสารออกฤทธิ์ที่พบได้ในเห็ด	22
2.2.1 สารประกอบฟีนอลิก	22
2.2.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์	23
2.2.3 แอลคาลอยด์	24
2.2.4 เทอร์พีน	25
2.2.5 ลิพิด	26
2.3 โรคเบาหวาน	29
2.3.1 โรคเบาหวานชนิดที่ 1	29
2.3.2 โรคเบาหวานชนิดที่ 2	29
2.3.3 การรักษาอาการโรคเบาหวาน	29
2.4 โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease)	33
2.4.1 การรักษาโรคอัลไซเมอร์โดยไม่ใช้ยา	33
2.4.2 การรักษาโรคอัลไซเมอร์โดยใช้ยา	33
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	37
3.1 วัสดุ	37
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	37

สารบัญ (ต่อ)

3.3	สารเคมี.....	38
3.4	เอนไซม์.....	39
3.5	ตัวอย่าง	39
3.6	วิธีการทดลอง	39
3.6.1	แผนการดำเนินการวิจัย	39
3.6.2	การเตรียมตัวอย่าง.....	40
3.6.3	การสกัดตัวอย่าง	40
3.6.4	การหาชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธี แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์	40
3.6.5	การแยกสารสกัดหยาบและทำสารให้บริสุทธิ์	41
3.6.6	การหาปริมาณของโอลิโกแซคคาไรด์และกรดเฮกซะเดคาโนอิก	41
3.6.7	การทดสอบปริมาณสารฟีนอลิก.....	41
3.6.8	การทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์	42
3.6.9	การศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอของสารสกัดจากเห็ด	43
3.6.10	การศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของสารสกัดจากเห็ด	44
3.6.11	การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดเห็ด.....	45
3.6.12	การศึกษาจลนพลศาสตร์การยับยั้งของสารสกัดต่อ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	46
3.6.13	การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วย เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี	46
3.6.14	การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดเห็ด	46
3.6.15	การศึกษาจลนพลศาสตร์การยับยั้งของสารสกัดต่อ เอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส.....	47
3.6.16	การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสด้วย เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี	48
3.6.17	การจำลองการจับกันเชิงโมเลกุล (Molecular docking) ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส	48
บทที่ 4	ผลการดำเนินงานวิจัย.....	49
4.1	สารสกัดหยาบจากเห็ด.....	49

สารบัญ (ต่อ)

4.2	การหาชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วย วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์	50
4.3	การแยกสารสกัดหยาบและทำสารให้บริสุทธิ์จากเห็ดแครง	63
4.4	สารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวาน	63
4.5	ปริมาณสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบจากเห็ด	64
4.6	ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ของสารสกัดหยาบ และสารบริสุทธิ์จากเห็ดแครง	65
4.7	ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ของสารสกัดหยาบ และ สารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวาน	65
4.8	ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน	66
4.9	ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐาน	66
4.10	ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน	67
4.11	ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐาน	67
4.12	จลนพลศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน	68
4.13	จลนพลศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐาน	70
4.14	จลนพลศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน	72
4.15	จลนพลศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากผึ้งหวานและสารมาตรฐาน	74
4.16	การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของ สารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี	76

สารบัญ (ต่อ)

4.17	การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของ สารสกัดหยาบสารบริสุทธิ์จากฝัองหวานและสารมาตรฐาน ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี.....	80
4.18	การจำลองการจับกันเชิงโมเลกุล (Molecular docking) ของ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส ต่อโอลีสเไมด์	83
4.19	การจำลองการจับกันเชิงโมเลกุล (Molecular docking) ของ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส ต่อกรดเฮกซะเดคาโนอิก.....	85
บทที่ 5	สรุปผลการดำเนินงานวิจัย	88
	บรรณานุกรม.....	90
	ภาคผนวก	121
	ประวัติผู้เขียน.....	135



สารบัญตาราง

ตารางที่ 3.1	ตัวอย่างสำหรับการทดสอบ.....	40
ตารางที่ 3.2	แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิก	42
ตารางที่ 3.3	แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์.....	42
ตารางที่ 3.4	แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช	43
ตารางที่ 3.5	แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเอบีทีเอส	44
ตารางที่ 3.6	แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	45
ตารางที่ 3.7	แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้ง เอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส	47
ตารางที่ 4.1	แสดงถึงลักษณะของสารสกัด รสทดสอบ น้ำหนักสารสกัดแห้งและร้อยละ ของผลผลิต (%Yield).....	49
ตารางที่ 4.2	แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้งแดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) โดย + แสดงถึงการพบ - แสดงถึงการไม่พบ	50
ตารางที่ 4.3	ปริมาณสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์สารสกัดหยาบจากเห็ด.....	64
ตารางที่ 4.4	ร้อยละการยับยั้งของสารสกัดและสารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและเห็ดผึ้งหวาน ต่ออนุมูลอิสระดีพีพีเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอส	65
ตารางที่ 4.5	ร้อยละการยับยั้งของสารสกัดและสารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและเห็ดผึ้งหวาน ต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส.....	66
ตารางที่ 4.6	ร้อยละการยับยั้งของสารมาตรฐานต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส.....	67
ตารางที่ 4.7	ร้อยละการยับยั้งของสารสกัดและสารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและเห็ดผึ้งหวาน ต่อเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส	68
ตารางที่ 4.8	ร้อยละการยับยั้งของสารมาตรฐานต่อเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส	68
ตารางที่ 4.9	ชนิดของการยับยั้งและค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P จากเห็ดแครงและสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ ต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	69
ตารางที่ 4.10	ชนิดของการยับยั้งและค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก ต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส.....	71
ตารางที่ 4.11	ชนิดของการยับยั้งและค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P จากเห็ดแครงและสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ต่อเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส	73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ 4.12	ชนิดของการยับยั้งและค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P จากเห็ดผึ้งหวานและและสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก	
	ต่อเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส	75
ตารางที่ 4.13	ผลของการจำลองการจับกันเชิงโมเลกุลของไอส์เอไมด์ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส	84
ตารางที่ 4.14	ผลของการจำลองการจับกันเชิงโมเลกุลของกรดเฮกซะเดคาโนอิกที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส.....	86



สารบัญภาพ

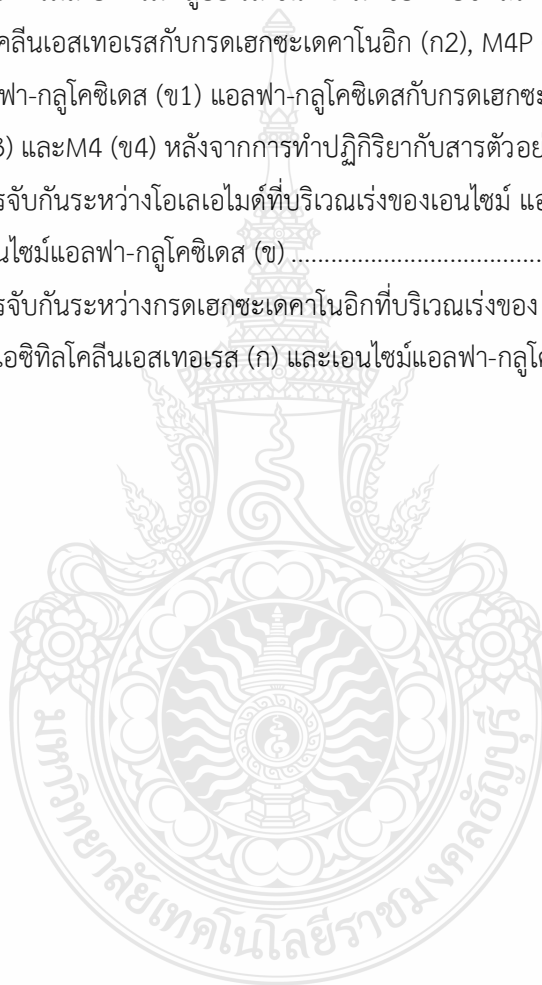
ภาพที่ 2.1	ภาพวงจรชีวิตและโครงสร้างของเห็ดโดยดัดแปลงจาก มัลโดนาโด ค.ศ. 2019	18
ภาพที่ 2.2	เห็ดตับเต่า (<i>Phlebopus portentosus</i> (Berk. & Broome) Boedijn).....	19
ภาพที่ 2.3	เห็ดแครง (<i>Schizophyllum commune</i> Fr.).....	20
ภาพที่ 2.4	เห็ดผึ้งแดงคราม (<i>Boletus aemilii</i> Barbier)	21
ภาพที่ 2.5	เห็ดผึ้งหวาน (<i>Boletus edulis</i> Bull)	21
ภาพที่ 2.6	เห็ดผึ้งแดง (<i>Heimioporus japonicus</i> (Hongo) E. Horak).....	22
ภาพที่ 2.7	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกทั่วไป	23
ภาพที่ 2.8	โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั่วไป	24
ภาพที่ 2.9	โครงสร้างของมอร์ฟีน ที่เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มของแอลคาลอยด์	25
ภาพที่ 2.10	โครงสร้างของเบต้า-เซลินีน ที่เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มของเทอร์พีน	26
ภาพที่ 2.11	โครงสร้างกรดเฮกซาเดคาโนอิก.....	27
ภาพที่ 2.12	ปฏิกิริยาการเกิดโอลีโอไมด์จากกรดไขมันโอเลอิก ดัดแปลงจากมุลเลอร์และคณะ ค.ศ. 2009.....	28
ภาพที่ 2.13	โครงสร้างโอลีโอไมด์	29
ภาพที่ 2.14	แสดงกลไกการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -Glucosidase) ดัดแปลงจากอาลี ยาวารี ค.ศ. 2021	32
ภาพที่ 2.15	ลักษณะโครงสร้าง ของ α -Glucosidase (PDB No. 3A4A) ดัดแปลงจาก เคอิไต้ ยามาโมโตะและคณะ ค.ศ. 2010.....	32
ภาพที่ 2.16	กลไกการทำงานของแอสติลโคลินเอสเทอเรส ดัดแปลงจาก เดเซนเนส ค.ศ. 2019.....	36
ภาพที่ 2.17	ลักษณะโครงสร้างของแอสติลโคลินเอสเทอเรส (PDB No.1W76) ดัดแปลงจาก เฮนรี่และคณะ ค.ศ. 2004	36
ภาพที่ 3.1	แผนการดำเนินการวิจัย.....	39
ภาพที่ 4.1	แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบ ของ เห็ดตับเต๋าดำ (ก) เห็ดแครง (ข) เห็ดผึ้งแดงคราม (ค) เห็ดผึ้งหวาน (ง) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (จ)	49
ภาพที่ 4.2	TLC ของสารสกัดM2 สารบริสุทธิ์M2P และสารมาตรฐานโอลีโอไมด์ (Ole) ระบบ คลอโรฟอร์ม: เมทานอล (5:5 ปริมาตร/ปริมาตร) รูป ก ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร รูป ข หลังแช่ 10% กรดซัลฟิวริก	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 4.3	TLC ของสารสกัดM4 สารบริสุทธิ์M4P และกรดเฮกซะเดคาโนอิก(Hex) ระบบ คลอโรฟอร์ม: เมทานอล (5:5 ปริมาตร/ปริมาตร) รูป ก ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร รูป ข หลังแช่ 10% กรดซัลฟิวริก64
ภาพที่ 4.4	กราฟ Lineweaver–Burk ต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัด M2 (ก) สารบริสุทธิ์ M2P (ข) และ สารมาตรฐาน โอลีเอไมด์ (ค) ตามลำดับ.....69
ภาพที่ 4.5	กราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้ง ของสารสกัด M2 (ก) สารบริสุทธิ์ M2P (ข) และ สารมาตรฐาน โอลีเอไมด์ (ค) ตามลำดับ.....70
ภาพที่ 4.6	กราฟ Lineweaver–Burk ต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัด M4 (ก) สารบริสุทธิ์ M4P (ข) และ สารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ค) ตามลำดับ.....71
ภาพที่ 4.7	กราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้ง ของสารสกัด M4 (ก) สารบริสุทธิ์ M4P (ข) และ สารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ค) ตามลำดับ72
ภาพที่ 4.8	กราฟ Lineweaver–Burk ต่อการทำงานของเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส ของสารสกัดM2 (ก) สารบริสุทธิ์M2P (ข) และสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ (ค) ตามลำดับ.....73
ภาพที่ 4.9	กราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้งของสารสกัดM2 (ก) สารบริสุทธิ์M2P (ข) และสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ (ค) ตามลำดับ74
ภาพที่ 4.10	กราฟ Lineweaver–Burk ต่อการทำงานของเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส ของสารสกัดM4 (ก) สารบริสุทธิ์M4P (ข) และสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ค) ตามลำดับ.....75
ภาพที่ 4.11	กราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้งของสารสกัดM4 (ก) สารบริสุทธิ์M4P (ข) และสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ค) ตามลำดับ76
ภาพที่ 4.12	แสดงสเปกตรัมของฟลูออเรสเซนซ์ ระหว่างเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสต่อ โอลีเอไมด์ (ก), M2P (ข) และM2 (ค) และระหว่างเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสต่อ โอลีเอไมด์ (ง), M2P (จ) และM2 (ฉ) หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง78
ภาพที่ 4.13	แสดงสเปกตรัมสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ 3 มิติของ แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส (ก1) แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสกับโอลีเอไมด์ (ก2), M2P (ก3) และM2 (ก4) และ แอลฟา-กลูโคซิเดส (ข1) แอลฟา-กลูโคซิเดสกับโอลีเอไมด์ (ข2), M2P (ข3) และ M2 (ข4) หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง79

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 4.14	แสดงสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ ระหว่างเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสต่อ กรดเฮกซะเดคาโนอิก (ก), M4P (ข) และM4 (ค) และระหว่างเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดสต่อกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ง), M4P (จ) และM4 (ฉ) หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง81
ภาพที่ 4.15	แสดงสเปกตรัมสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ 3 มิติของ แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส (ก1) แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสกับกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ก2), M4P (ก3) และM4 (ก4) และแอลฟา-กลูโคซิเดส (ข1) แอลฟา-กลูโคซิเดสกับกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ข2), M4P (ข3) และM4 (ข4) หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง82
ภาพที่ 4.16	แสดงการจับกันระหว่างโอเลอไมด์ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส (ก) และ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (ข)85
ภาพที่ 4.17	แสดงการจับกันระหว่างกรดเฮกซะเดคาโนอิกที่บริเวณเร่งของ เอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส (ก) และเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (ข).....87



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Non-Communicable Diseases : NCDs) เป็นปัญหาสุขภาพอันดับหนึ่งของไทยเฉพาะในปี พ.ศ.2566 มีผู้ป่วยนอกสะสมถึง 230,415 ราย [1] โดยโรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus) และ โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) จัดอยู่ในกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง ที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยและครอบครัวโดยตรง รวมไปถึงค่าใช้จ่ายของรัฐในการจัดหาทรัพยากรบุคคลและเวชภัณฑ์สำหรับผู้ป่วยจนทำให้เสียโอกาสทางเศรษฐกิจของประเทศ

ในปี พ.ศ.2567 ประเทศไทยมีผู้สูงอายุหรือประชากรที่มีอายุมากกว่า 60 ปี โดยข้อมูลของกรมกิจการผู้สูงอายุ กระทรวงการพัฒนาสังคมและความมั่นคงของมนุษย์ พบว่ามีผู้สูงอายุจำนวนมากกว่าร้อยละ 20 ของจำนวนประชากรทั้งประเทศ [2] ซึ่งเข้าเกณฑ์การเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุโดยสมบูรณ์ขององค์การอนามัยโลก [3] มีการรายงานการพบจำนวนผู้ป่วยมีอาการการบกพร่องทางสติปัญญาในระดับเล็กน้อยซึ่งนับเป็นอาการเริ่มต้นของโรคอัลไซเมอร์ในผู้สูงอายุที่มีอายุเกิน 65 ปี ที่ร้อยละ 74 [4-6] ซึ่งโรคอัลไซเมอร์มีการรักษาในทางการแพทย์ปัจจุบันเป็น 2 ประเภท คือการไม่ใช้ยาที่ต้องอาศัยความร่วมมือร่วมและความรู้ความเข้าใจของคนในครอบครัวรวมถึงสังคมที่ตัวผู้ป่วยอยู่อาศัย และการรักษาโดยใช้ยา เช่น กลุ่มแอซิติลโคลีนเอสเทอเรส อินฮิบิเตอร์ (Acetylcholinesterase inhibitors (AChEI)) เช่น ทาคริน เป็นต้น ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่ทำลายแอซิติลโคลีนที่เป็นสารสื่อประสาท ณ รอยต่อประสาท คือ เอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase (AChE)), กลุ่มเอนเอ็มดีเอรีเซพเตอร์ แอนตาโกนิสต์ (NMDA receptor antagonist) ออกฤทธิ์ต่อระบบกลูตาเมต (Glutamate system) เช่น กลุ่มยาปรับพฤติกรรม เป็นต้น แต่เนื่องจากกลุ่มยาที่กล่าวทั้งหมดมีราคาที่สูงกว่าค่อนข้างสูง ด้วยจากการนำเข้า กระบวนการผลิตที่ยาก ซึ่งส่งผลกระทบต่อสถานะทางเศรษฐกิจของครอบครัวผู้ป่วยและประเทศในระยะยาว [6-8]

นอกจากนี้ผู้สูงอายุมักจะมีอาการของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังอื่นๆ เช่น โรคเบาหวานโดยเฉพาะโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งในปัจจุบันมีการรักษาทางแพทย์แผนปัจจุบันด้วยยาสังเคราะห์ ที่พบได้โดยทั่วไป โดยมียา 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มยาที่กระตุ้นการทำงานของตับอ่อนให้สร้างอินซูลิน กลุ่มยาที่เสริมการทำงานของอินซูลิน เช่น รีพาไกลนด์ เป็นต้น และกลุ่มยาขัดขวางการดูดซึมน้ำตาลจากทางเดินอาหาร (α -Glucosidase inhibitors) เช่น อะคาร์โบส เป็นต้น โดยกลุ่มยาขัดขวางการดูดซึมน้ำตาลจากทางเดินอาหารที่ทำหน้าที่ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่เป็นตัวการหนึ่งที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวานได้เนื่องจากจะไปทำการย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลและดูดซึมเข้าสู่

กระแสน้ำทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงจนนานวันจะก่อให้เกิดโรคเบาหวาน [9, 10] ซึ่งกลุ่มยาดังกล่าวเป็นยาที่มีต้นทุนต่อคนไข้อย่างสูง และจำเป็นต้องใช้องค์ความรู้ เงินทุน เวลา บุคลากร ยังไม่รวมถึงโครงสร้างพื้นฐานที่เกี่ยวข้อง ด้วยปัจจัยดังกล่าวทำให้ไม่สามารถทำให้ผลิตยาภายใต้เองภายในประเทศได้ในปัจจุบัน [8, 11, 12] การใช้สารสกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติที่คนในท้องถิ่นใช้เป็นวัตถุดิบอาหารหรือสมุนไพร จึงเป็นทางเลือกที่ดีในการศึกษาเนื่องจากง่ายต่อการเข้าถึงและยังสามารถสร้างมูลค่าของวัตถุดิบหรือสมุนไพรเหล่านั้นให้มีมูลค่าที่มากขึ้นในอนาคตทั้งยังเป็นทางเลือกของอาหารเพื่อสุขภาพให้กับคนในท้องถิ่นและภูมิภาคได้

การใช้วัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อการดูแลสุขภาพและยารักษาโรคพบได้มากขึ้น โดยเฉพาะ ผลิตภัณฑ์จากเห็ดทั้งในรูปแบบของอาหารและยารักษาโรคในการแพทย์แผนโบราณ [13] โดยมีการคาดการณ์ว่าเห็ดทั่วโลกมีจำนวนสายพันธุ์มากกว่า 5 ล้านสายพันธุ์ มีทั้งชนิดที่กินได้และกินไม่ได้เนื่องจากมีพิษ [14] ซึ่งเห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตจัดอยู่ในอาณาจักรไมโคตา (Kingdom Mycota) [15] เป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่สำคัญต่อระบบนิเวศในฐานะผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ [15, 16] และมีการการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร [14, 17] และการแพทย์ [18, 19] โดยการบริโภคเห็ดที่กินได้มีการพบได้โดยทั่วไปของประชากรทั่วโลกเพราะเป็นอาหารที่มีราคาไม่สูง เข้าถึงได้ง่าย [14, 18] ซึ่งผลผลิตเห็ดดังกล่าวมีทั้งในรูปแบบของ วัตถุดิบ เช่น ดอกเห็ด ก้านเห็ด เป็นต้น จนไปถึงรูปแบบสารสกัดและอาหารเสริม ซึ่งเห็ดเหล่านั้นมีการผลิตทั้งในเชิงเกษตรอุตสาหกรรมและการเก็บเกี่ยวจากระบบนิเวศในธรรมชาติที่ปราศจากสารปนเปื้อนและยาฆ่าแมลง [20] ซึ่งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ไทย เนการาบรูไนดารุสซาลาม (บรูไน) กัมพูชา อินโดนีเซีย ลาว มาเลเซีย พม่า ฟิลิปปินส์ สิงคโปร์ เวียดนาม และติมอร์ตะวันออก) มีการใช้ประโยชน์เห็ดจากธรรมชาติทั้งในรูปแบบอาหารและสมุนไพร [21-23] ซึ่งเห็ดตามธรรมชาติมักจะมีสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ แอลคาลอยด์ โพลีแซคคาไรด์ กรดไขมัน เปปไทด์ สเตอรอล [24-28] ที่การรายงานการยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งเซลล์มะเร็ง [29, 30] ไปจนถึงเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส [31-34] และเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรส [35, 36] ดังนั้นเห็ดจึงมีคุณสมบัติเป็นอาหารที่มีโภชนาการที่ดี [37, 38] ซึ่งสารกลุ่มกรดไขมันเป็นสารที่พบได้ในเห็ดทั่วไป [39] เป็นสารที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมและทางการแพทย์ [40] โดยกรดไขมันที่การรายงานการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสโดยซุนฮันซุนและคณะ ค.ศ. 2013 โดยพบว่ากรดโอเลอิก ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีผลการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดี [41] และมีการรายงานจากอัยมัน เดิร์กและคณะใน ค.ศ. 2023 ได้รายงานการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากสารสกัดจากเห็ดมอร์เชลล่า [42] และยังมีรายงานการยับยั้งเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรส ของกรดไขมันโดย เมห์เมต เบิร์ก อากายและคณะใน ค.ศ. 2023 ได้รายงานการยับยั้งเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรส โดยกรดกรดลิโนเลอิก [43] รวมถึงใน ค.ศ. 2019 โดยไทโว โอลาเอมี เอลูฟีโอเยและคณะได้รายงานการยับยั้งเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรส

จากสารสกัดใบต้นแมโครสพิรา ลองจิสติลา โดยพบว่ามีความมีกรดเตคาโนอิกซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัวมาก ถึงร้อยละ 24.303 ของสารสกัด [44]

ในงานวิจัยนี้ได้สนใจสารสกัดเห็ดป่ากินได้จำนวน 5 ชนิด โดยประกอบด้วย เห็ดตับเต่า (*Phlebopus portentosus* (Berk. & Broome) Boedijn) ที่มีการรายงานการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด การยับยั้งอนุมูลอิสระ เอนไซม์ไทโรซิเนส [45] และ AChE [46] เห็ดแครง (*Schizophyllum commune* Fr.) ที่เคยพบรายงานการยับยั้งอนุมูลอิสระ [47] เช่นเดียวกับ เห็ดผึ้งแดงคราม (*Boletus aemilii* Barbier) เห็ดผึ้งหวาน (*Boletus edulis* Bull) และ เห็ดผึ้งแดง (*Heimiella japonica* (Hongo) E. Horak) ที่เคยมีการรายงานการยับยั้งอนุมูลอิสระเช่นเดียวกัน [48-51] เพื่อนำมายับยั้ง เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน คือ เอนไซม์-แอลฟา-กลูโคซิเดส และ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์คือเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส เพื่อเป็นองค์ความรู้พื้นฐานในการวิจัยพัฒนาสารสำหรับรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคอัลไซเมอร์ได้ในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาหาปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเห็ดป่ากินได้
- 1.2.2 เพื่อศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดป่ากินได้
- 1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสจากสารสกัดเห็ดป่ากินได้
- 1.2.4 เพื่อศึกษาประเภทจลนพลศาสตร์ของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสจากสารสกัดเห็ดป่ากินได้

1.3 กรอบแนวคิดในการวิจัย

สารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ มีปริมาณของกรดไขมันที่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ นอกจากนี้สารสกัดจากเห็ดป่ากินได้และชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ ยังมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน เช่น เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์คือ เอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดเห็ดป่ากินได้ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและแอซิติลโคลีนเอสเทอเรส ที่สามารถนำไปพัฒนา และเป็นองค์ความรู้ในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคอัลไซเมอร์ ได้ในอนาคต

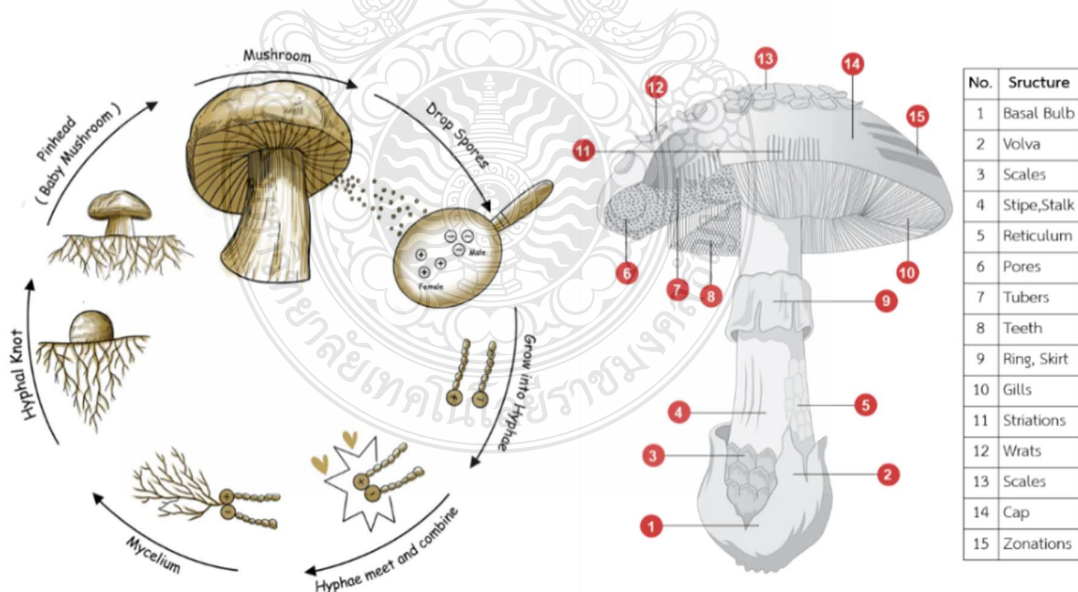
บทที่ 2

วรรณกรรมหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ด

เห็ดคือกลุ่มสิ่งมีชีวิตถูกจัดในอาณาจักรไมโคตา (Kingdom Mycota) [15, 52] มีลักษณะโดยทั่วไปเป็นเซลล์ยูคาริโอต (Eukaryotic cell) หลากหลายเซลล์รวมกันเป็นเส้นใย [53] แบ่งเป็นสองประเภทสไฟล์มคือ ประเภท ราชั้นต่ำ คือ ไคทริดีโอไมโคตา (Chytridiomycota) ไฮโกไมโคตา (Zygomycota) และราชั้นสูงคือ แอสโคไมโคตา (Ascomycota) เบสิดีโอไมโคตา (Basidiomycota) [54] โดยทั่วไปเห็ดจะมีวงจรชีวิตที่คล้ายกัน [55] และโครงสร้างที่ซับซ้อน [15] เห็ดสามารถพบได้ทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศ [56] และทั่วโลกแม้แต่ในเขตอาร์กติกที่มีอากาศเย็นจัด [57]

เห็ดมีโครงสร้างและวงจรชีวิตที่ซับซ้อนดังภาพที่ 2.1 [55, 58] มีความสำคัญในการรักษาสมดุลของระบบนิเวศในฐานะของผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์กลับลงสู่ในดิน โดยใช้วิธีการสร้างเส้นใยแทรกเข้าไปในวัสดุอินทรีย์ เห็ดมีการใช้ประโยชน์ในหลายอุตสาหกรรมโดยส่วนใหญ่มักใช้เป็นวัตถุดิบในการประกอบอาหารและส่วนประกอบของยารักษาโรค [15, 20, 21, 37, 54] โดยเฉพาะเห็ดป่าที่ปราศจากยาฆ่าแมลงและสารเคมีที่อันตราย โดยในงานวิจัยฉบับนี้จะกล่าวเฉพาะ ไฟล์มเบสิดีโอไมโคตา (Basidiomycota)) ที่ใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษา



ภาพที่ 2.1 ภาพวงจรชีวิตและโครงสร้างของเห็ดโดยดัดแปลงจาก มัลโดนาโด ค.ศ. 2019

2.1.1 เบสิดิโอไมโคตา

เป็นกลุ่มเห็ดราที่มีการสร้างใยอัดแน่นจนเป็นลำที่เป็นกระบองและดอก สามารถสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยหากไม่อาศัยเพศจะสร้างสปอร์เรียกว่า โคดิโอสปอร์ (Codispore) ในโคนิเดีย (Conidia) ในขณะที่แบบอาศัยเพศจะสร้างสปอร์ที่สร้างโดยอาศัยเพศสร้างบนอวัยวะคล้ายกระบองหรือ เบสิดิเทียม (Basidium) เรียกว่า เบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) ตัวเห็ดที่ผู้วิจัยสนใจจัดอยู่ในไฟลัมเบสิดิโอไมโคตา (Basidiomycota) ซึ่งมีการรายงานการพบในประเทศไทยแล้วเข้าถึงได้ง่าย และการยับยั้งอนุมูลอิสระและสารสำคัญ เช่น ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น [25, 47, 51, 59] โดยสายพันธุ์ที่พบได้ในไทยและนำมาศึกษามีทั้งหมด 5 สายพันธุ์ดังนี้

2.1.1.1 เห็ดตับเต่า (*Phlebopus portentosus* (Berk. & Broome) Boedijn)

เห็ดตับเต่าพบกระจายพันธุ์ได้ทุกภาคของไทยรวมถึงมาเลเซีย สามารถนำมาประกอบอาหารได้ [60, 61] ยังมีชื่อเรียกอื่นๆ อาทิ ตับเต่าดำ ห้า ผังคำ ผังทอง ผังทามคาม ผังไตไก่ ผังอันตัน ซึ่งตัวเห็ดมีลักษณะหมวกเห็ด (Cap) เป็นขามหรือกระทะคว่ำ มีเส้นผ่านศูนย์กลางราว 12 – 30 เซนติเมตร ก้านอวบใหญ่ สีน้ำตาลอมเหลืองยาวประมาณ 4-8 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของก้านราว 3-4 เซนติเมตร โคนก้านเป็นกระเปาะ ซึ่งมีเชลและคณะมีการรายงานการพบสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ใน ค.ศ. 2023 [59] และการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด การยับยั้งสารอนุมูลอิสระ โดยแก้วนรินทร์และคณะใน ค.ศ. 2016 [45] รวมถึงการยับยั้งเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสโดยเชาฮุยและคณะใน ค.ศ. 2018 [46]



ภาพที่ 2.2 เห็ดตับเต่า (*Phlebopus portentosus* (Berk. & Broome) Boedijn)

2.1.1.2 เห็ดแครง (*Schizophyllum commune* Fr.)

มีชื่อสามัญว่า Common Split Gill หรือ Split Gill Fungus ในไทยมักเรียกว่าตีนตุ๊กแก แครง (ภาคใต้) แค้น ตามอด แต่บ แก้น (ภาคเหนือ) เห็ดชนิดนี้พบได้ทั่วไปตามกิ่งไม้หรือตอไม้ในเขตป่าชื้นทั่วเขตร้อนทุกภาคของไทย ตัวดอกเห็ดจะออกข้างเดียวกันเป็นรูปพัด กว้างราว 1-3 เซนติเมตร ยาว 1-4 เซนติเมตรหนา 0.2-0.3 เซนติเมตร ก้านดอกสั้น ยาว 0.5-2 เซนติเมตร เป็นเห็ดที่รับประทานได้ [54, 56, 62, 63] มีการรายงานการการยับยั้งอนุมูลอิสระโดย อติราชและคณะใน ค.ศ. 2014 [47] และยังมีรายงานการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยเจเลน่าและคณะใน ค.ศ. 2021 [31] รวมถึงมีการรายงานการยับยั้งการอักเสบโดย บินดู และคณะใน ค.ศ. 2016 [64]



ภาพที่ 2.3 เห็ดแครง (*Schizophyllum commune* Fr.)

2.1.1.3 เห็ดผึ้งแดงคราม (*Boletus aemilii* Barbier)

เห็ดผึ้งแดงคราม มีชื่อท้องถิ่นอื่น เช่น ผึ้งไฟคราม เป็นต้น พบแพร่กระจายได้ทั่วไปในป่าโคก ป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรังในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ [65] และมีการรายงานการพบที่บริเวณยุโรปแถบสแกนดิเนเวีย [66] มีลักษณะหมวกมีสีแดงถึงสีน้ำตาลแดงเข้มจนดำ มีขนอ่อนปกคลุม มีความกว้างของหมวกเห็ด 5-18 เซนติเมตร ก้านมีความหนา 2-5 เซนติเมตร ก้านยาวประมาณ 5-15 เซนติเมตร โคนเป็นกระเปาะ ก้านมีสีเหลืองจากโคนหมวกไล่จนเป็นสีแดงที่โคน และเมื่อฉีกตัวเนื้อเห็ดทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่งจะมีสีน้ำเงินครามบริเวณเนื้อที่ถูกฉีก [61, 67] มีการรายงานการยับยั้งสารอนุมูลอิสระในเห็ดกลุ่มเดียวกัน โดยวิโดวิชและคณะใน ค.ศ. 2014 [48] ยังพบว่าการรายงานความสามารถในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดโดย พุนดิสและคณะ ค.ศ. 2021 [32]



ภาพที่ 2.4 เห็ดผึ้งแดงคราม (*Boletus aemilii* Barbier)

2.1.1.4 เห็ดผึ้งหวาน (*Boletus edulis* Bull)

เห็ดชนิดนี้มีชื่อเรียกอื่นเช่น ผึ้งตับควาย ตับเต่าราชา ตับเต่าขนมปังหัวกะโหลก ผึ้งตอง ผึ้งข้าว พอร์ซินี (ยุโรป) เพนนินัน (ยุโรป) เป็นต้น กระจายพันธุ์ได้ทั่วโลกในป่าเขตอบอุ่น ป่าสนเขตหนาว ป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง ทางภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของไทย เจริญเติบโตได้ดีในที่มีอากาศค่อนข้างเย็น [54, 56, 68] ลักษณะหมวกเป็นกระทะคว่ำ สีน้ำตาลอ่อนอมเหลืองไปจนถึงแดง ผิวเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางหมวก 5- 15 เซนติเมตร ก้านมีสีน้ำตาลขาวนวลหรือออกไปทางน้ำตาลอ่อน โคนโป่งเป็นกระเปาะ [54] มีรายงานการพบสารพิษอลิกและฟลาโวนอยด์โดย ปาลาซิวอสและคณะใน ค.ศ. 2011 [69] และการยับยั้งสารอนุมูลอิสระโดย อับดุลเราะห์มาน ดันดาร์ และคณะใน ค.ศ. 2015 [70]



ภาพที่ 2.5 เห็ดผึ้งหวาน (*Boletus edulis* Bull)

2.1.1.5 เห็ดผึ้งแดง (*Heimioporus japonicus* (Hongo) E. Horak)

เห็ดชนิดนี้พบได้ภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของไทย มีชื่ออื่นๆเช่น ผึ้งแดงหวาน ผึ้งแดงขาลาย ปอดม้า ปอดม้าแดง และมีการรายงานพบได้ที่ มาเลเซีย ญี่ปุ่น เกาหลี เกาะไต้หวัน [54, 71, 72] ลักษณะหมวกเป็นกระแฉะกว่าแต่จะแบนลงเมื่อบาน ผิวหมวกมีสีแดงเลือดหมู ผิวค่อนข้างเรียบ ใต้หมวกมีสีเหลือง ตัวหมวกมีความกว้าง 3-10 เซนติเมตร ก้านมีสีแดงเลือดหมูตรงโคนหมวกและจางลงจนเป็นสีเหลืองตรงโคน ก้านยาว 5 -15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางก้าน 1-2 เซนติเมตร มีการรายงานการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ โดย สุภัทญาและคณะใน ค.ศ. 2015 [51]



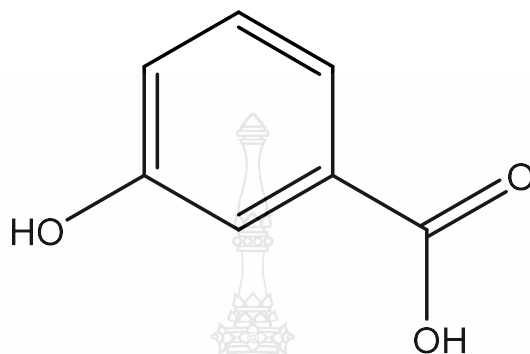
ภาพที่ 2.6 เห็ดผึ้งแดง (*Heimioporus japonicus* (Hongo) E. Horak)

2.2 กลุ่มสารออกฤทธิ์ที่พบได้ในเห็ด

2.2.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีหมู่ไฮดรอกซิลหนึ่งหมู่ขึ้นไปเชื่อมกับวงแหวนอะโรมาติก [73] โดยพบมากในสารสกัดจากพืชทั่วไป มีสมบัติละลายน้ำ มีกลไกการออกฤทธิ์ที่หลากหลายทั้งการดักจับอนุมูลอิสระ การดักจับอนุมูลโลหะ[74] ปัจจุบันพบมากถึงแปดพันโครงสร้าง [17, 69, 73, 75] ใน ค.ศ. 2010 มุสตาฟาและคณะ ได้ทำการทดสอบสารฟีนอลิกที่สกัดจากผักก้านก่อง (*Cosmos caudatus*) ให้ค่า IC_{50} ที่ 21.3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในการทดลองการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยมีค่าฟีนอลิกรวม (Phenolic content) ที่ 704.21 ± 0.95 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด[76] ยังมีงานวิจัยรายงานการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส อาทิ รายงานสารสกัดฟีนอลิกจากเห็ดหางไก่วงศ์เห็ดเมื่อ ค.ศ. 2021 พบการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสโดยพบสารสำคัญคือ กรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิก (*p*-Hydroxybenzoic acid) โดยโจวาน่าและคณะ [35]

ใน ค.ศ. 2018 ยองซอนและคณะ ได้รายงานการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสโดย คาคาว่าเป็นสารฟีนอลิกจากสารสกัดพริกชี้หนูเหาะหลี่ สายพันธุ์“มีอิน”และ สายพันธุ์“ดีดาโกตีดูดีดาโก” ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์เดียวกันคือ *Capsicum annuum* L. โดยรายงานว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เกือบทั้งหมด [77]



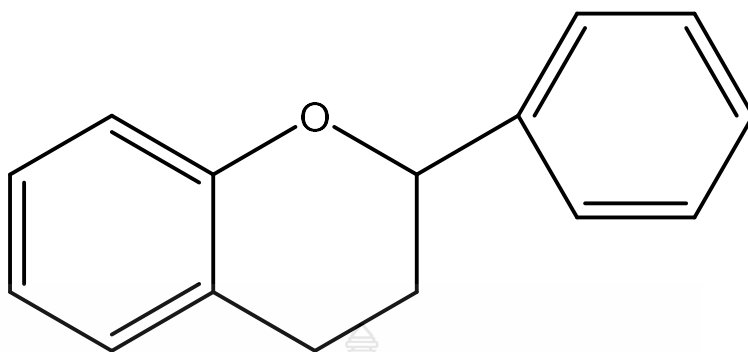
ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกทั่วไป

2.2.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์

สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลที่มีวงแหวนอะโรมาติกตั้งแต่สองวงขึ้นไป มีสมบัติละลายน้ำเช่นเดียวกับสารประกอบฟีนอลิก มีกลไกดักจับอนุมูลอิสระ และพบได้ในพืชผักผลไม้เช่นเดียวกับสารประกอบฟีนอลิก [74, 76, 78] ยังมีงานวิจัยที่มีรายงานการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลิโนเอสเทอเรส อาทิ

ใน ค.ศ. 2013 โดย อาลี ได้รายงานผลรายงานสารฟลาโวนอยด์จากข้าวฟ่างสามง่าม (*Eleusine coracana* L.) ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดี โดยมีค่า IC_{50} ที่ 16.9 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยคาดการณ์ว่าเป็นสารสำคัญเป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์ [79]

อูรีอาร์เตและคาลโว ใน ค.ศ. 2011 ได้รวบรวมข้อมูลสารฟลาโวนอยด์สามารถยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลิโนเอสเทอเรส ได้กว่า 128 ชนิด เช่น โอสาจิน (Osajin) จากต้นสมอชิง (Maclura pomifera) ทามาริซิติโน (Tamarixetin) จากดอกตูมของต้นหว่าเขา (*Cleistocalyx operculatus*) ริโลน (Rilone) จากเหง้าต้นไอริส พูมิลา (*Iris pseudopumila*) เป็นต้น [80]



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั่วไป

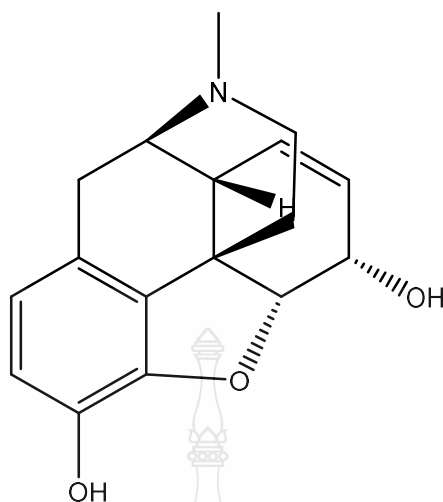
2.2.3 แอลคาลอยด์

แอลคาลอยด์ (Alkaloid) เป็นกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ ในโครงสร้าง ส่วนใหญ่พบในพืชและบางชนิดในสัตว์ สารแอลคาลอยด์มักมีฤทธิ์ทางสรีรวิทยาที่รุนแรง และถูกนำมาใช้เป็นยาได้หลายประเภท โดยทั่วไปโครงสร้างทางเคมีของแอลคาลอยด์มีหลากหลาย โครงสร้าง แต่ที่มีลักษณะที่เหมือนกันคือการมีไนโตรเจนในรูปของวงแหวนของโมเลกุล [81] แอลคาลอยด์สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ฝิ่น (*Lachryma papaveris*) ที่มีมอร์ฟิน (Morphine) [82] และโคเคน (Cocaine) ที่พบในใบโคคา (*Erythroxylum coca*) [83] นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบในเห็ดหลายชนิดเช่น 4-(เมทิลไฮโอ)แคนทีน-6-วัน(5) เห็ดในกลุ่มเห็ดตับเต่า (*Boletus*) เป็นต้น [84] แอลคาลอยด์มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น

ใน ค.ศ. 2016 เทียนเพ่งยีนและคณะได้ทำการทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารกลุ่มแอลคาลอยด์ที่สกัดจากรากต้นอะโคไนต์ (*Aconitum handelianum*) โดยพบว่ามีความ IC_{50} ต่อ DPPH อยู่ที่ 7.70 ± 0.21 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรและ IC_{50} ต่อ ABTS อยู่ที่ 2.12 ± 0.09 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร[85]

หยางหลิวและคณะใน ค.ศ. 2020 ได้รวบรวมข้อมูลฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มแอลคาลอยด์หลายชนิด เช่น วินบลาสติน (Vinblastine) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็งที่หลากหลายชนิด อาทิ มะเร็งเย็บยัง้ม มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นต้น [86]

ใน ค.ศ. 2021 อัญญาและคณะได้รวบรวมสารข้อมูลสารกลุ่มแอลคาลอยด์จากพืชสมุนไพรที่มีผลต่อโรคเบาหวาน เช่น โคโนฟิลลีน (Conophylline) จากใบต้นพุดน้อย (*Ervatamia microphylla*) จาโตรไรซิน (Jateorrhizine) จากเหง้าต้นอึ่งน้อย (*Coptis chinensis*) เป็นต้น



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างของมอร์ฟิน ที่เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มของแอลคาลอยด์

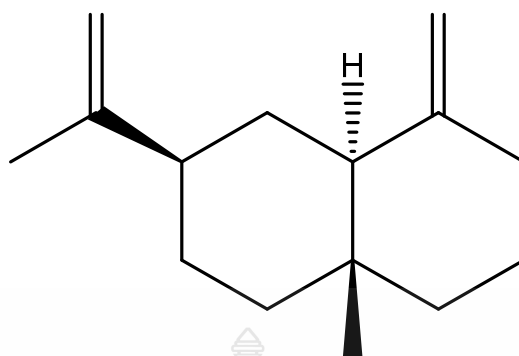
2.2.4 เทอร์พีน

เทอร์พีน (Terpenes) โครงสร้างทางเคมีของเทอร์พีน (Terpenes) มีพื้นฐานจากหน่วยเคมีที่เรียกว่าไอโซพรีน (Isoprene) ซึ่งมีสูตรโมเลกุลคือ C_5H_8 หน่วยไอโซพรีนเหล่านี้สามารถรวมตัวกันเป็นโครงสร้างใหญ่ขึ้นได้ ทำให้เกิดเทอร์พีนหลายชนิด หน่วยไอโซพรีนเหล่านี้สามารถรวมตัวกันเป็นโครงสร้างใหญ่ขึ้นได้ ทำให้เกิดเทอร์พีนหลายชนิด [87]

เทอร์พีนเป็นสารประกอบที่พบมากในพืชและสัตว์บางชนิด โดยเฉพาะในพืชที่มีกลิ่นหอม เช่น สมุนไพรและดอกไม้ เทอร์พีนมีหน้าที่ในการให้กลิ่นและรสชาติแก่พืช และยังมีบทบาทในการเป็นสารฆ่าแมลง[88] นอกจากนี้เทอร์พีนยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น

ใน ค.ศ. 2012 เอเลน่าและคณะได้รวบรวมข้อมูลของสารกลุ่มเทอร์พีนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ออคิวบิน (Aucubin) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งโรคเบาหวาน โลกานิน (Loganin) และ มอร์โรนิไซด์ (Morroneiside) จากผลของชันจุกหวี (*Cornus officinalis*) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งโรคเบาหวานเช่นกัน [89]

เจียรลิลาและคณะใน ค.ศ. 2021 ได้รวบรวมข้อมูลสารกลุ่มเทอร์พีนจากน้ำมันหอมระเหยจากโธจูฬาลัมพา (*Artemisia nakaii*) ที่มีฤทธิ์เป็นยาฆ่าแมลงและยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้โดยพบว่า เบต้า-เซลินีน (β -selinene) มี ฤทธิ์ในการฆ่าแมลงและยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส



ภาพที่ 2.10 โครงสร้างของเบต้า-สเตอริน ซึ่งเป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มของเทอร์พีน

2.2.5 ลิพิด

ลิพิดเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติที่ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น แอลกอฮอล์ เบนซิน และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น ลิพิดเป็นสารประเภทเอสเทอร์ที่เกิดจากกรดไขมันชนิดโมเลกุลยาวกับแอลกอฮอล์หรือพอลิออล โดยลิพิดสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ คือ ลิพิดอย่างง่าย (Simple lipid) เช่น ไขมันและน้ำมัน (Fat&Oil) ไข (Waxes) เป็นต้น ลิพิดเชิงประกอบ (Compound lipid) เช่น ฟอสโฟลิพิด (Phospholipids) เป็นต้น อนุพันธ์ของลิพิด (Derived lipid) เช่น กรดไขมัน (Fatty acid) โมโนเอซิลกลีเซอรอล (Monoacylglycerol) เป็นต้น และลิพิดอื่นๆ (Miscellaneous lipid) โดยงานวิจัยนี้กล่าวเฉพาะ กรดไขมัน (Fatty acid) ที่ใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษา

2.2.5.1 กรดไขมัน

กรดไขมัน คือ กรดคาร์บอกซิลิกอะลิฟาติก ที่มีสายไฮโดรคาร์บอนสายยาว โดยมีสูตรโดยทั่วไปคือ $R-COOH$ โดย R คือสายไฮโดรคาร์บอน โดยตามปกติอยู่ในรูปแบบของเอสเทอร์ โดยกรดไขมันแบ่งได้เป็นสองกลุ่มใหญ่คือ กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) และ กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) [90, 91]

กรดไขมันอิ่มตัวเป็นกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่ระหว่างอะตอมของคาร์บอนในสายไฮโดรคาร์บอน พันธะเคมีทั้งหมดระหว่างอะตอมของคาร์บอนจึงเป็นพันธะเดี่ยว ส่งผลให้โครงสร้างของกรดไขมันเหล่านี้มีความเสถียรทางเคมีสูง ในสภาวะอุณหภูมิห้องมักอยู่ในรูปของแข็ง กรดไขมันอิ่มตัวมีความสำคัญในชีวเคมีและโภชนาการ เนื่องจากมีบทบาทในการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์และเป็นแหล่งพลังงานให้กับร่างกาย อย่างไรก็ตาม การบริโภคกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณสูงอาจสัมพันธ์กับความเสี่ยงที่เพิ่มขึ้นของโรคหัวใจและหลอดเลือด [92] ตัวอย่างกรดไขมันอิ่มตัว คือ กรดบิวทิริก (Butyric Acid)

กรดไมริสติก (Myristic acid) กรดเฮกซาเดคาโนอิก (Hexadecanoic acid) หรือกรดปาล์มมิก (Palmitic Acid) เป็นต้น

กรดเฮกซาเดคาโนอิก หรือที่รู้จักกันในชื่อ กรดปาล์มมิก เป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในสัตว์และพืช มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น $C_{16}H_{32}O_2$ มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวหรือเหลืองอ่อน จัดเป็นกรดไขมันอิ่มตัว พบในไขมันและน้ำมัน เช่น น้ำมันมะกอก น้ำมันปาล์ม และไลปิดในร่างกายมนุษย์ ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และยา [93, 94] มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ เช่น

ใน ค.ศ. 2022 อาเบียร์ มูซา อัลโคบาร์และคณะได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งยั้งแบคทีเรียและปรสิต ของ เฮกซาเดคาโนอิก จากน้ำมันหอมระเหยจากต้นแคปเปอร์ (*Capparis spinosa*) โดยมีการรายงานว่ามีความเข้มข้นที่ยับยั้ง 50% (IC_{50}) ต่อเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม (*Plasmodium falciparum*) ที่ความเข้มข้น 19.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นที่ยับยั้ง 50% ต่อปรสิตเลิชมาเนีย (*Leishmania*) ที่ความเข้มข้น 23.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [95]

ธีวานัย กาเนศน์และคณะ ใน ค.ศ. 2022 ได้ศึกษากรดเฮกซาเดคาโนอิกจากใบผักบุ้งฝรั่ง (*Pomoea eriocarpa*) ในการยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้งแบคทีเรียโดยมีการรายงานว่ากรดเฮกซาเดคาโนอิกจากใบผักบุ้งฝรั่งความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ที่ 89.13% และ 83.86% ตามลำดับในขณะที่สามารถยับยั้งเชื้อเคลบเซลลา นิวโมเนีย (*Klebsiella Pneumoniae*) ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [96]



ภาพที่ 2.11 โครงสร้างกรดเฮกซาเดคาโนอิก

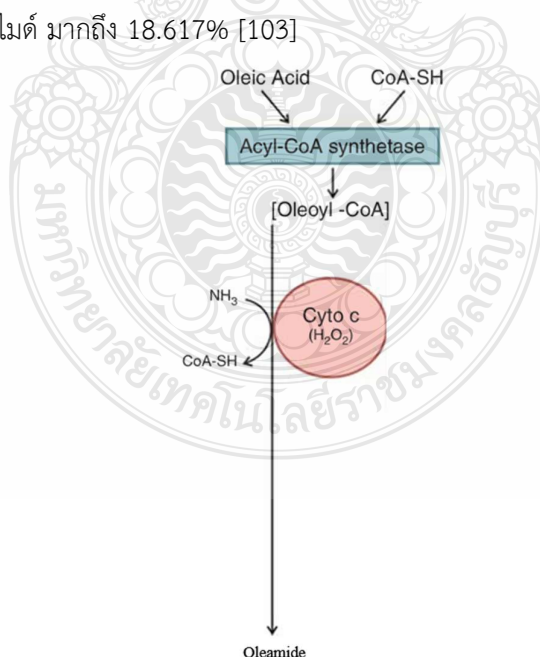
กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่ระหว่างอะตอมของคาร์บอนในสายโซ่ไฮโดรคาร์บอน ตรงตำแหน่งพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีโครงสร้าง 2 แบบ คือ แบบ *cis* และ *trans* ส่วนใหญ่กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีพันธะคู่อยู่ในรูปแบบ *cis* [97] โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีสองประเภทคือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ตำแหน่งเดียว (Monounsaturated fatty acids) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่เพียงพันธะเดียวในโซ่คาร์บอน เช่น กรดโอเลอิก (Oleic acid) ซึ่งพบมากในน้ำมันคาโนลา[98] เป็นต้น กรดไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่หลายตำแหน่ง

(Polyunsaturated fatty acids) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่หลายพันธะในโซ่คาร์บอน เช่น กรดไลโนเลอิก [99] เป็นต้น

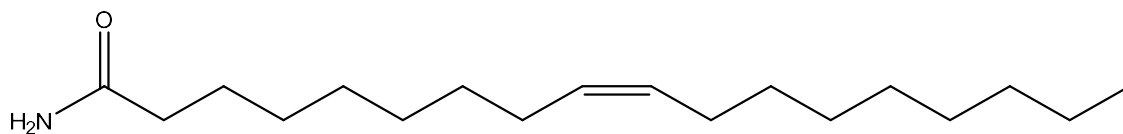
โอเลอเอไมด์ เป็นกรดไขมันเอไมด์ (Fatty acid amide) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของกรดไขมันที่ได้จากกรดโอเลอิก โดยมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น $C_{18}H_{35}NO$ โอเลอเอไมด์เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดโอเลอิกกับโคเอนไซม์เอจนได้ โอเลอิล-โคเอ (Oleoyl-CoA) จากนั้นไซโตโครมซี (Cytochrome c: Cyto c) จะเร่งการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโอเลอิล-โคเอกับแอมโมเนียจนเกิดหมู่อไมด์ในโครงสร้างและได้โอเลอเอไมด์เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย[100] ดังแสดงในภาพที่ 12 โอเลอเอไมด์มีลักษณะเป็นของแข็งคล้ายขี้ผึ้งไม่มีสีและพบในธรรมชาติ มีบทบาทสำคัญในกระบวนการของการนอนหลับและยังมีผลต่อการลดความเจ็บปวดและการผ่อนคลายของกล้ามเนื้อ[101] และยังมีผลมีการศึกษาอื่นๆ เช่น

ใน ค.ศ. 2023 อัลตาลีบีและคณะ ได้ทดสอบสารสกัดจากบรอกโคลี (*Brassica oleracea*) ในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระซึ่งได้ผลถึงร้อยละ 68.01 และการยับยั้งแบคทีเรียชนิดซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*) และจากการหาชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยวิธี GC-MS โดยพบว่ามีส่วน โอเลอเอไมด์ มากถึง 35.217% [102]

โอโมทาโย มูเทีย อาเดตาโย ใน ค.ศ. 2023 ได้รายงานฤทธิ์การยับยั้งปฏิกิริยาไกลเคชั่น การยับยั้งสารอนุมูลอิสระและ ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน จากสารสกัดจากต้นเลอดมังกกร (*Harungana madagascariensis*) และได้หาชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยวิธี GC-MS โดยพบว่ามีส่วน โอเลอเอไมด์ มากถึง 18.617% [103]



ภาพที่ 2.12 ปฏิกิริยาการเกิดโอเลอเอไมด์จากกรดไขมันโอเลอิกดัดแปลงจากมูลเลอร์และคณะ ค.ศ. 2009



ภาพที่ 2.13 โครงสร้างโอเลอิกแอซิด

2.3 โรคเบาหวาน

โรคเบาหวานคือภาวะที่มีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงอย่างต่อเนื่องและเรื้อรังซึ่งเป็นผลจากความบกพร่องในการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนได้ไม่เพียงพอหรือร่างกายตอบสนองต่ออินซูลินได้น้อยกว่าปกติ จึงส่งผลให้น้ำตาลเกิดการสะสมในเลือดในปริมาณสูง เมื่อร่างกายอยู่ในสภาวะเหล่านี้ เป็นเวลานาน ส่งผลให้อวัยวะในร่างกายเสื่อมสภาพจนเกิดโรค และอาการแทรกซ้อนขึ้น โดยแบ่งโรคเบาหวานได้อีกสองประเภทคือ [104]

2.3.1 โรคเบาหวานชนิดที่ 1

เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ต้องพึ่งพาอินซูลินเนื่องจากตับอ่อนไม่สร้างอินซูลินหรือสร้างได้น้อยเนื่องจากเบต้าเซลล์ในตับอ่อนถูกทำลาย ทำให้ร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลในเลือดเข้าสู่เซลล์เพื่อเป็นพลังงานได้ ส่งผลให้ร่างกายเข้าสู่ภาวะการนำไขมันมาใช้เป็นพลังงานจนมีภาวะคั่งคั่งคั่งจนอาจทำให้ร่างกายช็อกได้ [105]

2.3.2 โรคเบาหวานชนิดที่ 2

เป็นเบาหวานชนิดไม่ต้องพึ่งอินซูลินเป็นชนิดที่พบได้บ่อยมีมากถึงร้อยละ 95 ของผู้ป่วยโรคเบาหวานทั้งหมด มีความรุนแรงของอาการน้อยกว่าชนิดแรก เกิดจากความผิดปกติหรือความเสื่อมของเบต้าเซลล์ในตับอ่อนจนทำให้สร้างอินซูลินได้น้อยกว่าปกติจนส่งผลให้น้ำตาลตกค้างในกระแสเลือด เมื่อไม่มีอินซูลินมากพอที่จะนำพาน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ได้ จะส่งผลให้ตับปล่อยกลูโคสออกมาเพิ่มขึ้นเพื่อให้มีน้ำตาลจนเข้าสู่เซลล์มากเพียงพอ จึงทำให้มีน้ำตาลในเลือดมีปริมาณสูงขึ้นจนเกิดโรคเบาหวาน [106]

2.3.3 การรักษาอาการโรคเบาหวาน

ปัจจุบันการรักษาอาการโรคเบาหวานแพทย์มักจ่ายยาเพื่อลดน้ำตาลภายในเลือดหรือเพิ่มการทำงานของอินซูลิน โดยมี 3 กลุ่ม คือ กลุ่มยาที่กระตุ้นการทำงานของตับอ่อนให้สร้างอินซูลิน กลุ่มยาที่เสริมการทำงานของอินซูลิน และกลุ่มยาขัดขวางการดูดซึมน้ำตาลจากทางเดินอาหาร [9] โดยงานวิจัยนี้จะสนใจเฉพาะกลุ่มสารที่ขัดขวางการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลโดยในกระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลโดยมีเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคสที่เกี่ยวข้อง [107]

2.3.3.1 กลุ่มยาที่กระตุ้นการทำงานของตับอ่อนให้สร้างอินซูลินหรือซัลโฟนิลยูเรีย มักเป็นยาที่ใช้ในการเริ่มรักษาในช่วงแรก โดยกลไกของยากลุ่มนี้จะไปกระตุ้นการทำงานของเบต้าเซลล์ให้หลั่งอินซูลิน ซึ่งจะได้ผลในช่วง 3-6 เดือนแรกของการใช้ยา ยาในกลุ่มนี้เช่น คลอร์โพรพาไมด์ ไกลเบนคลาไมด์ ไกลพิไซด์ ไกลคลาไซด์ ไกลควิโดน ไกลเมพิไรด์ และ เรพากลิไนด์ [106, 108]

2.3.3.2 กลุ่มยาที่เสริมการทำงานของอินซูลิน ยาในกลุ่มนี้ คือ เมตฟอร์มิน และ ไรอะโซลิดีนไดโอน โดยเมตฟอร์มินจะยับยั้งการสร้างกลูโคสจากตับ จะทำให้อินซูลินสามารถจับกลูโคสที่เหลือนในเลือดได้ดีขึ้นและ ไรอะโซลิดีนไดโอน จะกระตุ้นให้ร่างกายตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลินจากตับอ่อนได้ดีขึ้น ทำให้อินซูลินสามารถนำน้ำตาลในกระแสเลือดไปใช้ได้ดีขึ้น ซึ่งยาทั้งสองตัวจะเน้นการลดระดับน้ำตาลในเลือดเป็นหลักเพื่อให้อินซูลินทำงานได้ดีขึ้น [106]

2.3.3.3 กลุ่มยาขัดขวางการดูดซึมน้ำตาลจากทางเดินอาหาร แบ่งได้อีกสองกลุ่มย่อย คือ ยายับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -Glucosidase inhibitors) ซึ่งทำให้การดูดซึมน้ำตาลกลูโคสที่ย่อยได้จากคาร์โบไฮเดรตเข้าสู่ร่างกายได้ช้าลง ได้แก่ อะคาร์โบส (Acarbose) วากลิบอส (Voglibose) เป็นต้น และ ไดเพปทิديلเพปติเดส-4 อินฮิบิเตอร์ (Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor ย่อว่า DPP-4 Inhibitor) โดยยานี้จะไปลดระดับฮอร์โมนที่มีชื่อว่า กลูคากอน (Glucagon) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่คอยทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น อีกด้านหนึ่งจะคอยเพิ่มการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน ที่ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายใช้น้ำตาลในเลือดได้มากยิ่งขึ้น [109]

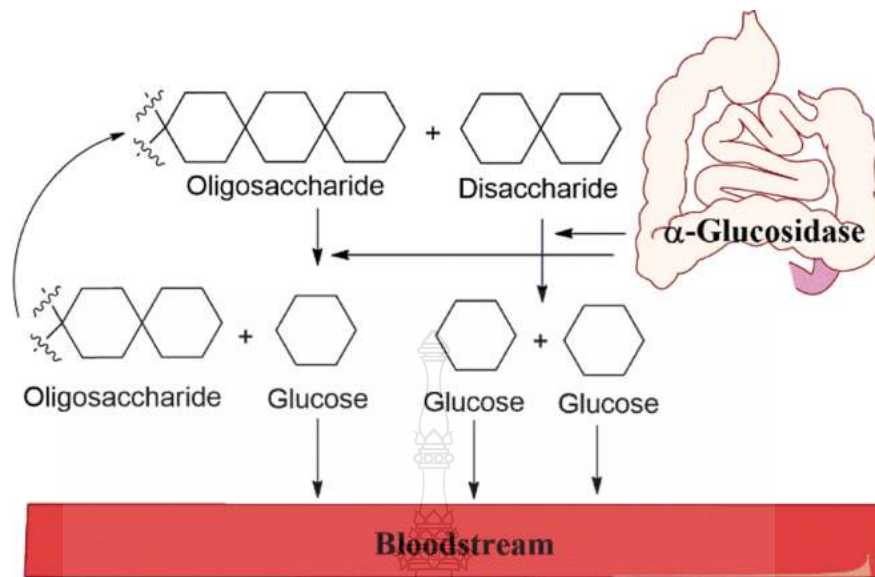
โดยเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส จัดเป็นกลุ่มไฮโดรเลส ซึ่งอยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก [110] โดยสามารถแบ่งได้เป็นอีกสามประเภทคือแอลฟา-กลูโคซิเดสชนิดที่หนึ่ง (α -Glucosidase I) มักจะพบพบใน แบคทีเรีย ยีสต์ และ แมลง โดยมีหมู่กรดอะมิโนเร่งปฏิกิริยาได้แก่หมู่ แอสพาราจีน (Asn) ฮีสทีดีน (His) และ ไทโรซีน (Tyr) จะมีความจำเพาะต่อซับสเตรตชนิดเฮเทอโรจีเนียส (Heterogeneous) และแอลฟา-กลูโคซิเดสชนิดที่สอง (α -Glucosidase II) จะพบได้ใน เชื้อรา พืช และ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยมีหมู่กรดอะมิโนเร่งปฏิกิริยาได้แก่ ทริปโตเฟน (Trp) และ แอสพาราจีน (Ans) จะมีความจำเพาะต่อซับสเตรตชนิดโฮโมจีเนียส (Homogeneous) [111, 112] และชนิดที่สาม มอลเทส-กลูโคอะไมเลส (Aaltase-glucoamylase) ซึ่งเป็นเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่พบได้ในมนุษย์จะเป็นลักษณะของมอลเทส-กลูโคอะไมเลส ที่มีความจำเพาะต่อ มอลโตส (Maltose) ไอโซมอลโทส (Isomaltose) ซูโครส (Sucrose) ไดแซ็กคาไรด์ (Disaccharide) และโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharide) เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจะทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส (Glucose) ด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ เพื่อให้ร่างกายสามารถดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดและนำไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆของร่างกายต่อไป ดังนั้นถ้าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ก็เป็นอีกวิธีหนึ่ง ในการชะลอหรือยับยั้งการดูดซึม

กลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งส่งผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดจะลดลง ทำให้ผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 เกิดภาวะการคั่งของน้ำตาลในเลือดลดลงด้วยเช่นกัน [108, 113, 114]

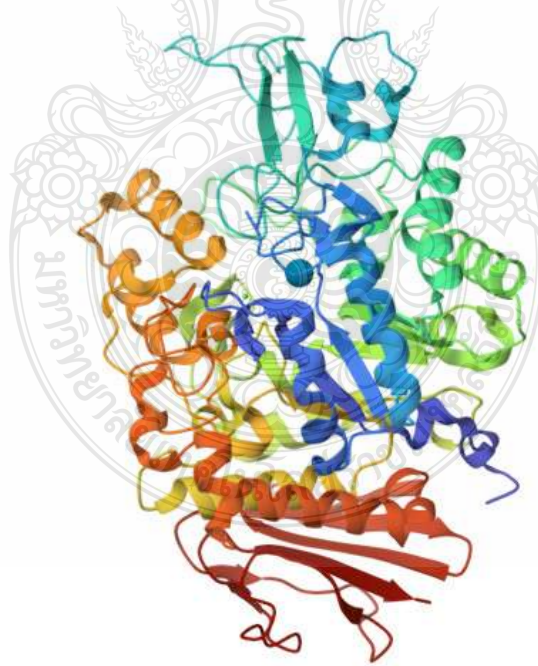
ปัจจุบันมีการใช้ยาสมุนไพรสำหรับในการรักษาโรคเบาหวาน เช่น ตำหรับยามธุระเมหะ ซึ่งคือ ยาสมุนไพรชนิดแคปซูลที่ประกอบด้วยผงยาสมุนไพรทั้งหมด 26 ชนิด ได้แก่ กำแพงเจ็ดชั้น ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้ สมอไทย สมอภิกษุ โคกกระสุน บอระเพ็ด ฟาทะลายโจร มะแว้งเครือ หย้า หนวดแมว หัวหมู อิทินน้ำ คนทา ชะเอมไทย เต่าเกิด เต่าร้าง ทองพันชั่ง มวกขาว มวกแดง ลำเจียก สมอเทศ ส้มตำทะเล หว้าร้อยรู เหงือกปลาหมอ หญ้าคา หนังก้างปลา 1 ส่วน ครอบจักรวาล หนังก 3 ส่วน โดยมีการศึกษาประสิทธิผลและความปลอดภัยเชิงคลินิก โดย ภริตาใน ค.ศ. 2015 ซึ่งการทดลอง แบ่งเป็น 4 กลุ่มตัวอย่าง คือกลุ่มที่ 1 รับประทานธุระเมหะอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 รับประทานธุระเมหะร่วมกับยาเมทฟอร์มิน กลุ่มที่ 3 รับประทานธุระเมหะ ร่วมกับยากกลุ่มซัลโฟนิลยูเรีย และกลุ่มที่ 4 รับประทานธุระเมหะ ร่วมกับทั้งเมทฟอร์มินและยากกลุ่มซัลโฟนิลยูเรีย ซึ่งผลการทดลองระบุว่ากลุ่มที่รับประทานธุระเมหะร่วมกับทั้งยาเมทฟอร์มินและยากกลุ่มซัลโฟนิลยูเรียมีแนวโน้มที่ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงมากกว่ากลุ่มอื่น [115]

ใน ค.ศ. 2023 โดยอัยมัน เดิร์กและคณะได้รายงานสารสกัดจากเห็ดมอร์เชลลา(*Morchella fluvialis*) โดยพบสารกลุ่มกรดไขมันเป็นส่วนประกอบหลัก ที่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส โดยพบว่าค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาไปครั้งหนึ่ง (IC_{50}) ที่ 1.2 ไมโครโมลาร์ [42]

การใช้เห็ดในการรักษาโรคเบาหวานโดยตรงในมนุษย์โดยเฉพาะเบาหวานชนิดที่ 2 ยังไม่พบรายงานการทดลองในมนุษย์แต่การรายงานการทดลองในหนูทดลองโดยใช้สารสกัดจากเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ซึ่งมีการรายงานโดย ซามาร์และคณะใน ค.ศ. 2021 ว่ามีผลในการฟื้นตัวของเบตาเซลล์ในตับอ่อนซึ่งทำหน้าที่ในการสร้างอินซูลินของหนูทดลอง ซึ่งมีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดโดยตรง [116]



ภาพที่ 2.14 แสดงกลไกการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -Glucosidase) ดัดแปลงจากอาลี ยาวารี ค.ศ. 2021



ภาพที่ 2.15 ลักษณะโครงสร้าง ของ α -Glucosidase (PDB No. 3A4A) ดัดแปลงจาก เคอิโด้ ยามาโมโตะและคณะ ค.ศ. 2010

2.4 โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease)

โรคอัลไซเมอร์เป็นโรคที่เกิดจากความเสื่อมของสมองมีการรายงานการพบโรคครั้งแรกเมื่อปี ใน ค.ศ. 1901 และมีการยืนยันการอุบัติของโรคใน ค.ศ. 1907 [5, 117] อาการที่พบได้บ่อยจะเป็นปัญหาด้านความจำโดยเฉพาะความจำระยะสั้น และความจำระยะยาวในรายที่เป็นมาก โดยมีการดำเนินโรคที่ค่อยเป็นค่อยไปโดยที่ผู้ป่วยไม่รับรู้ถึงอาการ มีอาการที่สำคัญคือ ความจำเสื่อมร่วมกับพฤติกรรม อารมณ์ที่ไม่คงที่ อาการสมาธิสั้น ในทางพยาธิสภาพจะพบการตายของเซลล์ประสาทพร้อมกับการเกิดรอยโรคที่สำคัญคือ แอมิลอยด์พลาแก (Amyloid plaques) และนิวโรไฟบิลลารีแทงเกิล (Neurofibrillary tangles) โดยพลาแก (Plaques) คือ โปรตีนที่เรียกว่า เบตาแอมิลอยด์ (Beta amyloid) จับตัวกันเป็นมากผิดปกติ ส่วนแทงเกิล คือกลุ่มใยของโปรตีนที่เรียกว่า เทา (Tau) เกาะเป็นปม ซึ่งทั้งสองสิ่งนี้เป็นตัวขัดขวางการทำงานของระบบประสาทภายในสมอง

ปัจจุบันมีการรักษาโรคอัลไซเมอร์สองรูปแบบคือ การรักษาโดยไม่ใช้ยาและการรักษาโดยใช้ยา ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

2.4.1 การรักษาโรคอัลไซเมอร์โดยไม่ใช้ยา

ในปัจจุบันการรักษาโดยไม่ใช้ยามักใช้ในรายที่การดำเนินของโรคยังไม่รุนแรงมากมีการประคองโรคได้ดี โดยจะแบ่งเป็นการรักษาตามกลุ่มอาการที่พบได้บ่อยในทางเวชปฏิบัติดังนี้

2.4.1.1 การรักษาที่เน้นด้านการรู้คิด (Cognition) เป็นการรักษาโดยใช้กิจกรรม เกม หรือกิจวัตรประจำวันในการปรับพฤติกรรมและการกระตุ้นการใช้สมอง ความจำ ซึ่งสามารถใช้กิจกรรมได้หลายรูปแบบ เช่น อ่านจับใจความหนังสือหรือบทความ การเรียนดนตรี วาดภาพ โดยการสื่อสารควรเป็นการใช้คำศัพท์ง่ายๆหรือที่ผู้ป่วยคุ้นเคย แต่ทั้งนี้ผู้ป่วยกลุ่มนี้มักจะมีอาการสมาธิสั้น ควรทำกิจกรรมเป็นช่วงสลับกับการพัก ควรสร้างแรงจูงใจเช่น การชื่นชม การให้รางวัล เป็นต้น

2.4.1.2 การรักษาปัญหาทางพฤติกรรมและอาการทางจิต เป็นการรักษาความผิดปกติของอารมณ์ รวมถึงอาการทางจิตซึ่งมักพบได้บ่อยในกลุ่มโรคสมองเสื่อม อาจต้องมีการรักษา ร่วมกับทางจิตเวช

2.4.2 การรักษาโรคอัลไซเมอร์โดยใช้ยา

การรักษาด้วยยาในโรคอัลไซเมอร์ในปัจจุบันมีการใช้อยู่ 2 กลุ่ม [6] คือ กลุ่มแรกยาจำเพาะโรค ซึ่งได้แก่ แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส อินฮิบิเตอร์ (Acetylcholinesterase inhibitors (AChEI)) เอนเอ็มดีเอ รีเซพเตอร์ แอนตาโกนิสต์ (NMDA receptor antagonist) และกลุ่มที่สองยาในกลุ่มอื่นๆ เช่น สารยับยั้งอนุมูลอิสระ (Antioxidants) สารยับยั้งการอักเสบ (Anti-inflammatory drug) การภูมิคุ้มกันบำบัด (Immunotherapy)

2.5.2.1 แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส อินฮิบิเตอร์ (Acetylcholinesterase inhibitors (AChEI)) เป็นยาที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเป็นตัวที่ทำลายสารสื่อประสาทแอซิติลโคลีน เนื่องด้วยผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์มักจะมีการสูญเสียเซลล์ที่สร้างสารแอซิติลโคลีน ทำให้การสื่อประสาทได้น้อยลง ในปัจจุบันมีการใช้ยากลุ่มนี้อยู่ 3 ชนิดคือ โดเนพีซิล (Donepezil) ริวาสติกมิน (Rivastigmine) ทาครีน (Tacrine) และ กาแลนตามีน (Galantamine) แต่ยากลุ่มนี้มีราคาต่อโดสที่ค่อนข้างสูงจึงเป็นภาระทางการเงินแก่ผู้ป่วยและครอบครัวพอสมควร [7]

2.4.2.1 เอนเอ็มดีเอ รีเซพเตอร์ แอนตาโกนิสต์ (NMDA receptor antagonist) เป็นยาที่มีผลต่อระบบกลูตาเมต (Glutamate system) ซึ่งมีผลต่อความจำนึกคิด โดยตัวยาคจะทำหน้าที่เป็นเอนเอ็มดีเอ รีเซพเตอร์ แอนตาโกนิสต์ (NMDA receptor antagonist) หรือเข้าไปขัดขวางการทำงานของเอนเอ็มดีเอ รีเซพเตอร์ เพื่อลดการสื่อประสาทในระบบกลูตาเมตของสมองลง ทำให้ลดการกระวนกระวาย ลดอาการปวดโดยใช้กลไกการกดประสาท และยังใช้ลดอาการโรคลมชัก อาการติดยาเสพติด โดยมีผลข้างเคียงที่มากคือทำให้วังงงซึม อาเจียน กดการหายใจ ยาในกลุ่มนี้ เช่น มีแมนทีน (Memantine) เป็นต้น [6]

2.4.2.2 สารยับยั้งอนุมูลอิสระ (Antioxidants) โดยส่วนใหญ่ที่ใช้ในรายที่เป็นโรคอัลไซเมอร์มักจะใช้วิตามินอี (Alpha tocopherol) กรดไขมันชนิดโอเมกา-3 (Omega-3 fatty acid) เป็นต้น แต่ทั้งนี้ยังไม่มีผลการวิจัยที่มากพอในการแสดงผลการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ดังนั้นในปัจจุบันมักให้เป็นการควบคู่กับยาสองกลุ่มแรก [6]

2.4.2.3 สารยับยั้งการอักเสบ (Anti-inflammatory drug) ส่วนใหญ่มักจะใช้ในกลุ่มนเอ็นเสด (NSAIDs) หรือยายับยั้งการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (Non-steroidal Anti-inflammatory drugs) โดยพบว่าสามารถลดความเสี่ยงการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้แต่ไม่มีผลต่อผู้ป่วยที่เป็นโรคอัลไซเมอร์แล้ว [118]

2.4.2.4 ภูมิคุ้มกันบำบัด (Immunotherapy) เป็นแนวทางใหม่ที่เป็นที่สนใจในปัจจุบันซึ่งมีเป้าหมายการพัฒนาเป็นวัคซีน โดยมีวัตถุประสงค์ในการลดหรือยับยั้งการก่อตัวของโปรตีนอะไมลอยด์ในสมองซึ่งเป็นอาการทางพยาธิสภาพของโรคอัลไซเมอร์โดยมีการให้แอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนอะไมลอยด์ แต่ในปัจจุบันการทดลองในมนุษย์ยังมีผลข้างเคียงที่รุนแรงคือ อาการโรคสมองอักเสบ [6]

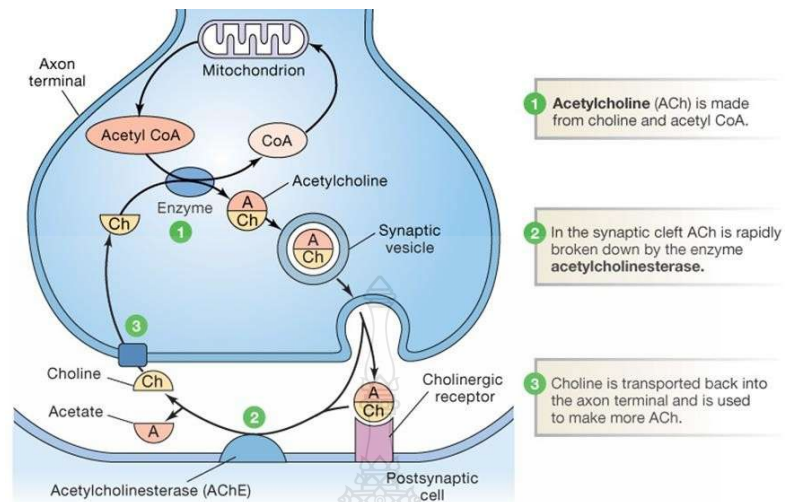
ปัจจุบันมีการใช้ยาสมุนไพรในการรักษาโรคอัลไซเมอร์มากขึ้นโดยตรง แต่พบว่ามีผลการใช้สมุนไพร เช่น พรหมมิ (*Bacopa monnieri*) ซึ่งมีการรายงานการใช้ในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ในอินเดียเมื่อ ค.ศ. 2018 โดยชิชีร์และคณะ ซึ่งพบว่า กลุ่มทดลองจำนวน 39 ราย อายุเฉลี่ยที่ 65.23 ปี มีผลการทดลองโดยผ่านแบบทดสอบสภาพสมอง (Mini-mental state examination : MMSE)

หลังการใช้ พรมมัสกัต 300 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 20 วัน ที่คะแนนเฉลี่ย 23.85 คะแนน เทียบกับก่อนการใช้ที่ได้เพียง 19.15 คะแนนจากคะแนนเต็ม 30 คะแนน [119]

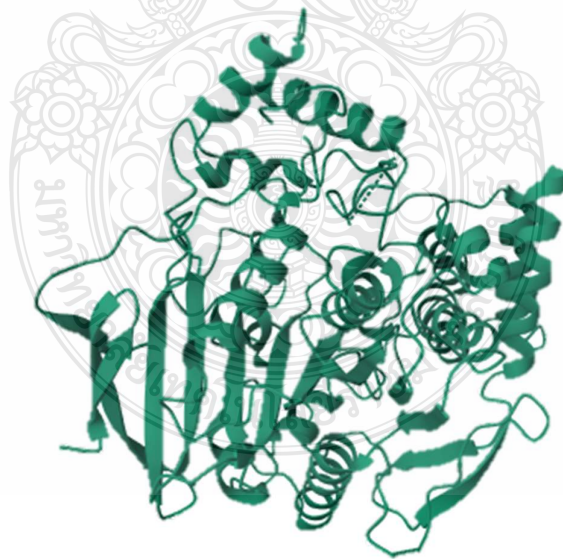
ในปัจจุบันยังไม่มีการใช้เห็ดเป็นยาการรักษาโรคอัลไซเมอร์โดยตรง แต่พบรายงานการรวบรวมผลการทดลองที่เกี่ยวข้องกับ เห็ดสมอลิง (*Hericium erinaceus*) โดย ยันศรีและคณะใน ค.ศ. 2022 ซึ่งพบว่ามีผลในสัตว์ทดลอง คือ พบว่าสมองส่วนฮิปโปแคมปัสที่มีบทบาทในการจดจำมีการเจริญของเส้นประสาทที่มากขึ้นและมีแอมัยลอยด์พลาไกที่ลดลง [120] และมีผลการทดลองโดยยูสุเกะและคณะเมื่อ ค.ศ. 2019 ได้ทดลองในกลุ่มอาสาสมัครสองกลุ่ม กลุ่มแรกได้ทานเห็ดสมอลิงผง 0.8 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ กลุ่มที่ 2 ทานยาหลอกโดยทั้งสองกลุ่มจะทดสอบผลผ่านแบบทดสอบสภาพสมอง พบว่ากลุ่มแรกมีผลการประเมินที่ดีขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนทาน [121]

ซึ่งงานวิจัยนี้จะสนใจในการค้นหาแอซิติลโคลีนเอสเทอเรส อินฮิบิเตอร์ เนื่องจากแอซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของสารสื่อประสาทภายในสมอง หรือแอซิติลโคลีนที่ขัดขวางการสื่อสารระหว่างเซลล์ประสาทและมีผลข้างเคียงที่ต่ำกว่า ยาเอนเอ็มดีเอ รีเซพเตอร์ แอนตาโกนิสต์ (NMDA receptor antagonist)

แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของเซอรีนไฮโดรเลสทำหน้าที่หลักคือสลายแอซิติลโคลีนเป็นกรดแอซิติลและโคลีนด้วยปฏิกิริยาไฮโดรลิซิส (Hydrolysis) ซึ่งปกติปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดในบริเวณเร่งที่มีขนาดเล็ก โดยบริเวณเร่งจะแบ่งเป็นสามส่วนคือ Esteratic ที่จะประกอบไปด้วยกรดอะมิโนสามตัวคือ ฮิสติดีน (HIS447), เซอรีน (SER200) และกลูตามิก (GLU237) Anionic ที่จะประกอบไปด้วยกรดอะมิโนหนึ่งตัวคือ ทรีปโตแฟน (TRP84) Peripheral anionic sites (PAS) จะประกอบไปด้วยกรดอะมิโนห้าตัวคือ ไทโรซีน (TYR70), แอสพาราจีน (ASP74), ไทโรซีน (TRY121), ทรีปโตแฟน (TRP279) และ ไทโรซีน (TRY334) [122] [123]แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสจะสามารถแบ่งเป็นได้สองชนิดคือ แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสชนิดซินแนปส์ (Synaptic Acetylcholinesterase) พบได้ในบริเวณจุดต่อระหว่างกล้ามเนื้อและประสาทและที่ซินแนปส์ในสมอง หน้าที่หลักคือแอซิติลโคลีนเป็นกรดแอซิติลและโคลีน [124] และแอซิติลโคลีนเอสเทอเรสชนิดเอริthrocytic (Erythrocytic Acetylcholinesterase) ที่พบได้ในกระแสเลือด [125]



ภาพที่ 2.16 กลไกการทำงานของแอซิติลโคลีนเอสเทอเรส ดัดแปลงจาก เดเซนเนส ค.ศ. 2019



ภาพที่ 2.17 ลักษณะโครงสร้างของแอซิติลโคลีนเอสเทอเรส (PDB No.1W76)
ดัดแปลงจาก เฮนรี่และคณะ ค.ศ. 2004

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ

- 3.1.1 ปิเปตทิป ขนาด 10 ไมโครลิตร
- 3.1.2 ปิเปตทิป ขนาด 200 ไมโครลิตร
- 3.1.3 ปิเปตทิป ขนาด 1000 ไมโครลิตร
- 3.1.4 หลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 3.1.5 หลอดเซ็นติฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร
- 3.1.6 หลอดเซ็นติฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร
- 3.1.7 กระจกชกรอง
- 3.1.8 โซริงค์ฟิลเตอร์ไนลอน ขนาด รูพรุน 0.45 ไมครอน

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.2.1 ไมโครปิเปต ขนาด 0.1-2.5 ไมโครลิตร (Micro pipet; BOECO, Germany)
- 3.2.2 ไมโครปิเปต ขนาด 0.5-10 ไมโครลิตร (Micro pipet; BOECO, Germany)
- 3.2.3 ไมโครปิเปต ขนาด 2-20 ไมโครลิตร (Micro pipet; BOECO, Germany)
- 3.2.4 ไมโครปิเปต ขนาด 20-200 ไมโครลิตร (Micro pipet; BOECO, Germany)
- 3.2.5 ไมโครปิเปต ขนาด 100-1000 ไมโครลิตร (Micro pipet; BOECO, Germany)
- 3.2.6 เครื่องเขย่า
- 3.2.7 เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนขนาดเล็ก
- 3.2.8 เครื่องกวนสารละลายพร้อมเตาให้ความร้อน
- 3.2.9 แท่งแม่เหล็กกวนสาร
- 3.2.10 กรวยกรอง
- 3.2.11 กรวยบุชเนอร์
- 3.2.12 แหวนยางกรวยบุชเนอร์
- 3.2.13 ขวดกรองสาร ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 3.2.14 ปัมสุญญากาศ พร้อมท่อสายยาง
- 3.2.15 ขวดปรับปริมาณ
- 3.2.16 ปีกเกอร์

- 3.2.17 ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrometer; SHANGHAI MAPADA INSTRUMENTS, China)
- 3.2.18 เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter; SPER SCIENTIFIC, China)
- 3.2.19 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียดทศนิยมสี่ตำแหน่ง (Analytical balance; SARTORIUS AG, Germany)
- 3.2.20 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath; DAIHAN SCIENTIFIC, Korea)
- 3.2.21 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatography – Mass Spectrometry; Agilent Technologies, United States)

3.3 สารเคมี

- 3.3.1 เมทิลแอลกอฮอล์ (Methyl Alcohol, RCI Labscan)
- 3.3.2 4-ไนโตรฟีนิล-แอลฟา-D-กลูโคไพราโนไซด์ หรือ 4-พีเอ็นพีจี (4-Nitrophenyl α -D-glucopyranoside; 4-pNPG, Sigma-Aldric)
- 3.3.3 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ หรือ ดีเอ็มเอสโอ (Dimethyl sulfoxide; DMSO, RCI Labscan)
- 3.3.4 2,2-ไดฟีนิล-พิกริลไฮดราซิล หรือ ดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH, Sigma-Aldrich)
- 3.3.5 2,2'-อซิโน-บิซ (3-เอทิลเบนไทเอโซลีน-6-ซัลโฟนิค แอซิด) หรือ เอบีทีเอส (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid); ABTS, Sigma-Aldrich)
- 3.3.6 โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (KPS)
- 3.3.7 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc.Sulfuric acid; conc.H₂SO₄, RCI Labscan)
- 3.3.8 โพลิน-ซีโอแคลทู รีเอเจนต์ (Folin & Ciocalteu's phenol reagent, Sigma-Aldric)
- 3.3.9 โซเดียมอะซิเตต
- 3.3.10 อะลูมิเนียม คลอไรด์
- 3.3.11 โซเดียมไฮดรอกไซด์
- 3.3.12 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol, RCI Labscan)
- 3.3.13 เอลล์มารีเอเจนต์ หรือ ดีทีเอนบี (Ellman's reagent DTNB : 5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoic acid), Sigma-Aldric)
- 3.3.14 แอซีทิลโคลีนไอโอไดด์ หรือ เอทีซีแอล หรือ เอซีเอชแอล (Acetylthiocholine iodide; ATCL, Sigma-Aldric)

3.4 เอนไซม์

3.4.1 แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -Glucosidase enzyme from *Saccharomyces cerevisiae*, Sigma-Aldrich)

3.4.2 แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus* (electric eel), Sigma-Aldrich)

3.5 ตัวอย่าง

3.5.1 เห็ดตับเต่าดำ

3.5.2 เห็ดแคร้ง

3.5.3 เห็ดผึ้งแดงคราม

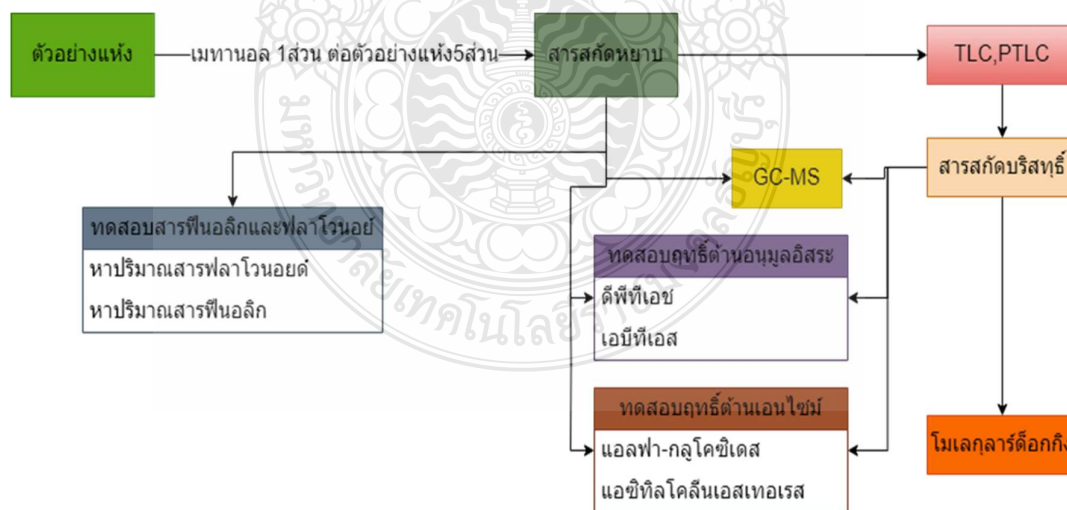
3.5.4 เห็ดผึ้งหวาน

3.5.5 เห็ดผึ้งแดง

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 แผนการดำเนินการวิจัย

ภาพการดำเนินการวิจัยดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 แผนการดำเนินการวิจัย

3.6.2 การเตรียมตัวอย่าง

3.6.2.1 นำเห็ดป่าสดจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดแครง เห็ดตับเต่าดำ เห็ดผึ้งแดงคราม เห็ดผึ้งหวานและ เห็ดผึ้งแดงขาลาย มาทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาดเพื่อนำสิ่งเจือปนออก

3.6.2.2 จากนั้นนำไปสะอาดน้ำและอบด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิทแล้วนำตัวอย่างที่แห้งไปบดและเก็บไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียสเพื่อสกัดในภายหลัง

3.6.3 การสกัดตัวอย่าง

3.6.3.1 นำผงเห็ดแห้งจากข้อ 3.6.2.2 ไปสกัดด้วยเมทานอล ในอัตราตัวอย่างแห้ง 1 กรัม ต่อตัวทำละลาย 5 มิลลิลิตร โดยสกัดในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมงในภาชนะปิด

3.6.3.2 นำสารละลายที่ได้จากข้อ 3.6.3.1 มากรองด้วยกระดาษกรองแล้วนำส่วนใสที่ได้ไประเหยตัวทำละลายในเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งจะได้สารสกัดหยาบและกำหนดรหัสสำหรับการทดสอบดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างสำหรับการทดสอบ

ตัวอย่าง	ชื่อวิทยาศาสตร์	รหัส
เห็ดตับเต่าดำ	<i>Phlebopus portentosus</i> (Berk. & Broome) Boedijn	M1
เห็ดแครง	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	M2
เห็ดผึ้งแดงคราม	<i>Boletus aemilii</i> Barbier	M3
เห็ดผึ้งหวาน	<i>Boletus edulis</i> Bull	M4
เห็ดผึ้งแดงขาลาย	<i>Heimioporus japonicus</i> (Hongo) E. Horak	M5

3.6.4 การหาชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์โดยใช้วิธีของ กรรณิการ์และคณะ ค.ศ. 2021 [126] ใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์รุ่น 7890A GC-7000 Mass Triple Quad และคอลัมน์นาปาลารี DW-Wax (60 เมตรx0.25 มิลลิเมตรx0.25 ไมโครเมตร) ในการจำแนกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและคำนวณหาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งทำได้โดยเปรียบเทียบกับสเปกตรัมที่พบกับสเปกตรัมของสถาบันมาตรฐานและเทคโนโลยีแห่งชาติ รุ่น 2011

3.6.5 การแยกสารสกัดหยาบและทำสารให้บริสุทธิ์

3.6.5.1 นำสารสกัดในที่นี้คือ M1 M2 M3 M4 และ M5 โดยทำการแยกองค์ประกอบด้วยเทคนิค Preparative Thin-layer Chromatography (PTLC) โดยดัดแปลงวิธีของ สมพงษ์และคณะ ค.ศ. 2019 [127] โดยเริ่มจากจุดสารสกัดตัวอย่างความเข้มข้นที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรละลายด้วยเมทานอล ปริมาตร 1 ไมโครลิตรด้วยไมโครปิเปต และจุดซ้ำ 10 ครั้ง บนแผ่น PTLC

3.6.5.2 นำแผ่น PTLC ที่เตรียมจากข้อ 3.6.4.1 ใส่ในแท่งที่มีระบบตัวทำละลายเคลื่อนที่ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (5:5 ปริมาตร/ปริมาตร) และระบบตัวทำละลาย เมทานอล : คลอโรฟอร์ม : น้ำปราศจากไอออน (51:42:7 ปริมาตร/ปริมาตร/ปริมาตร) หลังจากนั้นนำไปส่องดูภาพได้แสงยูวีความยาวคลื่นที่ 254 นาโนเมตรและทำการจุดสารสกัดที่แยกได้ของแต่ละแถบ

3.6.5.3 นำสารที่จุดได้แต่ละแถบมาสกัดต่อด้วยเมทานอลเป็นเวลา 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องจากนั้นนำส่วนสกัดมารองผ่านไซริงค์ฟิลเตอร์ในลอน ขนาด รูพรุน 0.45 ไมครอน

3.6.5.4 นำส่วนสกัดที่กรองได้จากข้อ 3.6.4.3 มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสจนแห้งจะได้สารบริสุทธิ์เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

3.6.6 การหาปริมาณของโอลีเอไมด์และกรดเฮกซะเดคาโนอิก

การหาปริมาณของโอลีเอไมด์ และกรดเฮกซะเดคาโนอิกโดยจะใช้วิธีเดียวกันกับการหาชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์เตรียมตัวอย่างละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์และกรองผ่านไซริงค์ฟิลเตอร์ในลอน ขนาด รูพรุน 0.45 ไมครอน และหาปริมาณด้วยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโอลีเอไมด์ที่ความเข้มข้น 10, 25, 50 และ 100 ส่วนในล้านส่วน และกราฟมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิกที่ความเข้มข้น 10, 25, 50, 100, 200, 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน

3.6.7 การทดสอบปริมาณสารฟีนอลิก

การหาปริมาณสารฟีนอลิกจากตัวอย่าง เริ่มจากเตรียมสารสกัด M1-M5 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และเตรียมสารตั้งตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาตรสารที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิก

หลอด	10% โพลิน-ซีโอแคลทูรีเอ เจนต์ (ไมโครลิตร)	ตัวอย่างสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	100% ไดเมทิลซัลฟอก ไซด์ (ไมโครลิตร)
Blank	200	-	200
M1	200	200	-
M2	200	200	-
M3	200	200	-
M4	200	200	-
M5	200	200	-

บ่มเป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง เติม 1 โมลาร์ โซเดียมคาร์บอเนต หลอดละ 600 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 60 นาทีในที่มืดไม่มีแสงหลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาความเข้มข้นของสารฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก โดยวิธีนี้ดัดแปลงจาก กรรณิการ์และคณะ ค.ศ. 2021 [126]

3.6.8 การทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์

หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์นั้นใช้วิธีอัลูมินิเยมคลอไรด์ เริ่มจากเตรียมสารสกัด M1-M5 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และเตรียมสารดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์

หลอด	ตัวอย่างสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	100% ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (ไมโครลิตร)	1 โมลาร์ดี โซเดียมอะซิเตต (ไมโครลิตร)
Blank	-	740	30
M1	740	-	30
M2	740	-	30
M3	740	-	30
M4	740	-	30
M5	740	-	30

จากนั้นบ่มเป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิห้องจากนั้นเติมสารละลาย 1 โมลาร์ อะลูมิเนียมคลอไรด์ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ทุกหลอด บ่มต่ออีก 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติม 2 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ทุกหลอด บ่มอีก 5 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานแควอซิทิน โดยวิธีนี้ตัดแปลงจาก กรรณิการ์และคณะ ค.ศ. 2021 [126]

3.6.9 การศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชของสารสกัดจากเห็ด

เตรียมสารละลายดีฟิฟิเอชความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล หลังจากนั้นเติมสารดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอช

หลอด	สารละลายดีฟิฟิเอชความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ (ไมโครลิตร)	ตัวอย่างสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร (ไมโครลิตร)
Blank	1000	-
M1	700	300
M2	700	300
M3	700	300
M4	700	300
M5	700	300

บ่มในที่มืดที่เป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณร้อยละการยับยั้งดังสมการ ตัดแปลงวิธีจาก กรรณิการ์และคณะ ค.ศ. 2021 [126]

$$\text{ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอช (\%)} = \left(\frac{A-B}{A} \right) \times 100$$

หมายเหตุ

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดีฟิฟิเอชที่ไม่มีสารสกัดตัวอย่าง

B = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง+สารละลายดีฟิฟิเอช

3.6.10 การศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระเอปีทีเอสของสารสกัดจากเห็ด

การศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระเอปีทีเอส เริ่มจากเตรียมสารละลายเอปีทีเอสความเข้มข้น 0.7 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 บ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางสารละลายเอปีทีเอสแรดิคัลด้วยเอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.7 ± 0.02 ที่คลื่นความยาว 734 นาโนเมตร จากนั้นเติมสารดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเอปีทีเอส

หลอด	สารละลายเอปีทีเอสแรดิคัลความเข้มข้น 0.7 มิลลิโมลาร์ (ไมโครลิตร)	ตัวอย่างสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร (ไมโครลิตร)
Blank	1000	-
M1	700	300
M2	700	300
M3	700	300
M4	700	300
M5	700	300

บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรนำค่าที่ได้มาคำนวณร้อยละการยับยั้งดังสมการ ดัดแปลงมาจาก กรรณิการ์และคณะ ค.ศ. 2021 [126]

$$\text{ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเอปีทีเอส (\%)} = \left(\frac{A-B}{A} \right) \times 100$$

หมายเหตุ

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเอปีทีเอสที่ไม่มีสารสกัดตัวอย่าง

B = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง+สารละลายเอปีทีเอส

3.6.11 การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดเห็ด

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดเห็ด โดยใช้ 4-ไนโตรฟีนอล-แอลฟา-D-กลูโคไพราโนไซด์ หรือ 4-พีเอ็นพีจี เป็นสารตั้งต้น เริ่มจากเตรียมสารสกัด M1-M5 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ เตรียมสารดังตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

หลอด	20 มิลลิโมลาร์ โซเดียมฟอสเฟต พี เอช 6.8 (ไมโครลิตร)	5 มิลลิโมลาร์ 4-พีเอ็นพีจี (ไมโครลิตร)	ตัวอย่างสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	แอลฟา-กลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร)
A	95	5	-	-
B	90	5	-	5
C	55	5	40	-
D	50	5	40	5

บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ 100 ไมโครลิตรเพื่อหยุดปฏิกิริยา วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 405 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณดังสมการ โดยดัดแปลงวิธีจากเกศินีและคณะ ค.ศ. 2020 [128]

$$\text{ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (\%)} = \left(\frac{[(B-A)-(D-C)]}{(B-A)} \right) \times 100$$

หมายเหตุ

A = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อไม่มีสารทดสอบและไม่มีเอนไซม์

B = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อไม่มีสารทดสอบแต่มีเอนไซม์

C = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อมีสารทดสอบแต่ไม่มีเอนไซม์

D = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อมีสารทดสอบและมีเอนไซม์

3.6.12 การศึกษาจลนพลศาสตร์การยับยั้งของสารสกัดต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

การทดสอบชนิดการยับยั้งของสารสกัดด้วยการพล็อตกราฟของไลน์วีเวอร์-เบิร์ก (Lineweaver-Burk plot) เพื่อหาชนิดการยับยั้งของตัวอย่าง และใช้กราฟระหว่างค่าความชันกับความเข้มข้นของตัวอย่าง [I] เพื่อหาค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) โดยการทดลองใช้ 4-พีเอ็นพีจี เป็นสารตั้งต้นสำหรับการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

3.6.13 การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีจะดัดแปลงวิธีของปรีชาและคณะ ค.ศ. 2024 [129] สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ถูกวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Jasco FP-850 (JASCO Corporation, Tokyo, Japan) โดยใช้เซลล์ควอตซ์ขนาด 3 มิลลิเมตรและกำหนดความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.00 ไมโครโมลาร์ ถึง 1.00 ไมโครโมลาร์ (0.00, 0.30, 0.50, 0.70, และ 1.00 ไมโครโมลาร์) สารบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.00 ถึง 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (0.00, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.00 ถึง 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (0.00, 0.40, 0.60, 0.80, และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ จากนั้นบ่มสารผสมเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ถึงจุดสมดุลของปฏิกิริยาก่อนการวัดสเปกตรัมในแต่ละครั้ง สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์จะถูกวัดในช่วงสเปกตรัมความยาวคลื่นระหว่าง 295 ถึง 450 นาโนเมตร และสเปกตรัมการกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร โดยตั้งความกว้างของช่องแสงไว้ที่ 5 นาโนเมตรทั้งสเปกตรัมการปลดปล่อยและสเปกตรัมการกระตุ้น โดยใช้ 20 มิลลิโมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ถูกใช้เป็นสารละลายที่ไม่มีตัวอย่างที่ต้องการวัด

3.6.14 การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดเห็ด

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดเห็ดจะดัดแปลงวิธีของปรีชาและคณะ ค.ศ. 2024 [129] โดยเริ่มจากเตรียมสารสกัด M1-M5 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรละลายด้วยไดเมทิลซัลโฟไซด์ และเติมสารละลายปริมาณดังตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส

หลอด	50 มิลลิโมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอริก พีเอช 8.0 (ไมโครลิตร)	เอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	ตัวอย่างสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร)
A	80	-	-
B	70	10	-
C	50	-	30
D	40	10	30

บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลายเอลล์มารีเอเจนต์ ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ และ แอซิติลไทโอโคลีนไอโอไดด์ ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ ปริมาณอย่างละ 10 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 405 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณดังสมการ

$$\text{ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส (\%)} = \left(\frac{[(B-A)-(D-C)]}{(B-A)} \right) \times 100$$

หมายเหตุ

A = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อไม่มีสารทดสอบและไม่มีเอนไซม์

B = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อไม่มีสารทดสอบแต่มีเอนไซม์

C = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อมีสารทดสอบแต่ไม่มีเอนไซม์

D = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อมีสารทดสอบและมีเอนไซม์

3.6.15 การศึกษาจลนพลศาสตร์การยับยั้งของสารสกัดต่อเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส

การทดสอบชนิดการยับยั้งของสารสกัดด้วยการพล็อตกราฟของไลน์วีเวอร์-เบิร์ก (Lineweaver-Burk plot) เพื่อหาชนิดการยับยั้งของตัวอย่าง และใช้กราฟระหว่างค่าความชันกับความเข้มข้นของตัวอย่าง [I] เพื่อหาค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) โดยการทดลองใช้แอซิติลโคลีนไอโอไดด์เป็นสารตั้งต้นสำหรับการยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส

3.6.16 การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอสซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอสซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีจะดัดแปลงวิธีของปรีชาและคณะ ค.ศ. 2024 [129] สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ถูกวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Jasco FP-850 (JASCO Corporation, Tokyo, Japan) โดยใช้เซลล์ควอตซ์ขนาด 3 มิลลิเมตรและกำหนดความเข้มข้นของเอนไซม์แอสซิติลโคลีนเอสเทอเรส 40.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.00 ไมโครโมลาร์ ถึง 1.00 ไมโครโมลาร์ (0.00, 0.30, 0.50, 0.70, และ 1.00 ไมโครโมลาร์) สารบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.00 ถึง 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (0.00, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.00 ถึง 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (0.00, 0.40, 0.60, 0.80, และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ จากนั้นบ่มสารผสมเป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้ถึงจุดสมดุลของปฏิกิริยาก่อนการวัดสเปกตรัมในแต่ละครั้ง สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์จะถูกวัดในช่วงสเปกตรัมที่ความยาวคลื่นระหว่าง 295 ถึง 450 นาโนเมตร และสเปกตรัมการกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร โดยตั้งความกว้างของช่องแสงไว้ที่ 5 นาโนเมตรทั้งสเปกตรัมการปลดปล่อยและสเปกตรัมการกระตุ้น โดยใช้ 50 มิลลิโมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอริก บัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 ถูกใช้เป็นสารละลายที่ไม่มีตัวอย่างที่ต้องการวัด

3.6.17 การจำลองการจับกันเชิงโมเลกุล (Molecular docking) ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสซิติลโคลีนเอสเทอเรส

การจำลองการจับกันเชิงโมเลกุล จะใช้วิธีของ ปรีชาและคณะ 2024 [129] โครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากฐานข้อมูล PubChem และโครงสร้างของเอนไซม์จาก Protein Data Bank คือ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (PDB 3A4A) และ เอนไซม์แอสซิติลโคลีนเอสเทอเรส (PDB 1W76) แล้วนำชุดข้อมูลทั้งหมดมาเตรียมโครงสร้างโดยตัดโมเลกุลของน้ำและโมเลกุลของลิแกนด์ (Ligand) ออกด้วยโปรแกรม AutoDockTools จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปทำการคำนวณเพื่อจำลองการจับกันโดยโปรแกรม AutoDock VINA และแสดงผลผลลัพธ์การจำลองด้วยโปรแกรม VMD

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

4.1 สารสกัดหยาบจากเห็ด

จากการสกัดสารสกัดเห็ดป่าสดจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดแครง เห็ดตับเต่าดำ เห็ดผึ้งแดงคราม เห็ดผึ้งหวานและ เห็ดผึ้งแดงขาลาย ด้วยวิธีการแช่ (Macerating extraction) ในเมทานอลและนำไประเหยแห้งเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนแห้งจะได้สารสกัดเห็ดทั้งห้าชนิดที่เป็นสารผสมชนิดสีน้ำตาลเข้มดังภาพที่ 4.1 โดยมีน้ำหนักสารสกัดแห้งและร้อยละของผลผลิต ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงถึงลักษณะของสารสกัด รหัสดสอบ น้ำหนักสารสกัดแห้งและร้อยละของผลผลิต (%Yield)

ตัวอย่าง	ลักษณะของสารสกัด	รหัสดสอบ	สารสกัดแห้ง(กรัม)	ร้อยละของผลผลิต
เห็ดตับเต่าดำ	สารผสมชนิดสีน้ำตาลเข้ม	M1	2.76	13.78
เห็ดแครง	สารผสมชนิดสีน้ำตาลเข้ม	M2	0.50	2.79
เห็ดผึ้งแดงคราม	สารผสมชนิดสีน้ำตาลเข้ม	M3	1.49	14.94
เห็ดผึ้งหวาน	สารผสมชนิดสีน้ำตาลเข้ม	M4	1.04	10.43
เห็ดผึ้งแดงขาลาย	สารผสมชนิดสีน้ำตาลเข้ม	M5	0.68	13.70



ภาพที่ 4.1 แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบ ของ เห็ดตับเต่าดำ (ก) เห็ดแครง (ข) เห็ดผึ้งแดงคราม (ค) เห็ดผึ้งหวาน (ง) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (จ)

4.2 การหาชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์

จากการวิเคราะห์หาชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในตัวอย่าง เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้งแดงคราม (M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์จะพบว่ามีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายกลุ่ม เช่น กรดคาร์บอกซิลิก ฟีนอล กรดไขมัน อนุพันธ์กรดไขมัน โดยมีกรดไขมันที่น่าสนใจพบได้ในเห็ดทั้งห้าชนิด เช่น กรดเฮกซาเดคาโนอิก หรือกรดปาล์มติกที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลชีพ [96] เป็นต้น และยังพบอนุพันธ์กรดไขมันที่พบได้ในเห็ดทั้งห้าชนิดที่น่าสนใจ เช่น โอลีโอไมด์ที่มีความสามารถยับยั้งแบคทีเรีย ยับยั้งสารอนุมูลอิสระ [102, 103] ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้งแดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) โดย + แสดงถึงการพบ - แสดงถึงการไม่พบ

สารประกอบ	ชนิดของสาร	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
(E)-tert-Butylsulfinyl-2-phenylethene	ซัลโฟนส์	ไม่พบ	-	-	-	-	+	-
		รายงาน						
(S)-5-Hydroxymethyl-2[5H]-furanone	เฮทเทอโรไซคลิก	ยับยั้งโรคลูคีเมีย	+	-	-	-	-	[130, 131]
		ยับยั้งเนื้องอก						
2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	เฮทเทอโรไซคลิก	ยับยั้งจุลชีพ	-	-	+	-	-	[132]
1,2-Benzenediol	แคททีคอล	ยับยั้งอนุมูลอิสระ	-	-	+	+	+	[133-135]
		ยับยั้งการอักเสบ						
1,2-Cyclopentanedione	สารประกอบอินทรีย์	ยับยั้งอนุมูลอิสระ	+	-	-	-	-	[136]
1,3-Methyl-3-butenic acid	กรดคาร์บอกซิลิก	ไม่พบ	-	+	-	-	-	-
		รายงาน						

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
1-Phenethyl-pyrrolidin-2,4-dione	แอลกอฮอล์	ยับยั้ง มาลาเรีย	-	-	-	+	-	[137]
2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-	สารประกอบ อินทรีย์	ไม่พบ รายงาน	-	-	+	+	+	-
2(5H)-Furanone	บูทีโนไลด์	ยับยั้งจุลชีพ ยับยั้งการ อักเสบ	-	+	-	-	-	[138- 140]
2(5H)-Furanone, 5-methyl-	สารประกอบ อินทรีย์	ยับยั้งมะเร็ง	-	-	-	-	+	[141]
2,9-Diazabicyclo [4.4.0] decane, trans-	-	ไม่พบ รายงาน	-	+	-	-	-	-
2-Butenoic acid, 3-methyl-	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งโบทูลิ ซึม ยับยั้งจุลชีพ	-	+	-	-	-	[142, 143]
2-Furanone, 3,4-dihydroxytetrahydro	ไนไตรล์	ไม่พบ รายงาน	-	-	+	+	+	-
2H-Pyran-2,6(3H)-dione	ไพโรน	ไม่พบ รายงาน	+	-	+	-	+	-
2-Piperidinone	เฮทเทอโรไซ คลิก	ยับยั้งการ อาการโรค หอบหืด	-	-	-	-	+	[144]
2-Propanol, 1-(1,3-dimethylbutoxy)-	โพรพานอล	ไม่พบ รายงาน	-	+	-	-	-	-

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
2-Pyrrolidinone	ไพโรลิโดน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งจุลชีพ	+	+	+	+	+	[145- 147]
3-(1H-Pyrrol-3-yl) propionic acid, methyl ester	กรดคาร์บอก ซิลิก	ไม่พบ รายงาน	-	-	-	+	+	-
3,4-Methylpropylsuccinimide	สารประกอบ อินทรีย์	ไม่พบ รายงาน	-	-	+	-	-	-
3-Acetamido-5-acetylfuran	สารประกอบ อินทรีย์	ไม่พบ รายงาน	-	-	+	-	-	-
3-Acetamidofuran	สารประกอบ อินทรีย์	ไม่พบ รายงาน	-	-	+	-	+	-
3-Heptenoic acid	กรดไขมัน	ไม่พบ รายงาน	-	-	+	-	-	-
3-Mercaptopropionic acid	กรดคาร์บอก ซิลิก	ยับยั้งมะเร็ง	-	-	-	-	+	[148]
3-Methoxy-hexane-1,6-diol	ไกลคอล	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งจุลชีพ	-	-	-	+	-	[149]
3-Pyridinemethanol, 5-hydroxy-4,6- dimethyl-	ไพรีดีน	ยับยั้งมะเร็ง ยับยั้งการ อักเสบ	+	-	-	-	-	[150]
3- Thietanol	ไทเอทาน	ยับยั้งพิษ สุรา ยับยั้งจุลชีพ	+	-	-	-	-	[151, 152]
4,5-Dimethyl-ortho- phenylenediamine	สารประกอบ อินทรีย์	ไม่พบ รายงาน	-	-	-	+	-	-

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้งแดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของสาร	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
4-Heptanone,3-methyl-	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งมะเร็ง	+	-	-	-	+	[153, 154]
4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	ไพโรน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งมะเร็ง	+	-	-	-	-	[155, 156]
4-Vinyl-imidazole	มอนอเมอร์	ไม่พบรายงาน	-	+	+	+	+	-
5-Hexenoic acid	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งเบาหวาน	-	-	+	-	-	[157]
9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-	กรดไขมัน	ยับยั้งมะเร็ง ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งโรคอ้วน	+	+	+	+	+	[158-161]
9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-, methyl ester	กรดไขมัน	ยับยั้งมะเร็ง	+	+	+	+	+	[162, 163]
9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ	+	-	-	-	-	[157]
9-Octadecenamide, (Z)-	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งการหื่น ยับยั้งจุลชีพ	+	+	+	+	+	[102, 103]

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งการอักเสบ	+	-	-	-	-	[164-166]
9-Octadecenoic acid, (E)-	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งมะเร็ง	+	-	+	+	-	[167, 168]
Acetamide	สารประกอบอินทรีย์	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งการอักเสบ ยับยั้งจุลชีพ	-	-	+	+	+	[169, 170]
Benzeneacetic acid	กรดคาร์บอกซิลิก	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งจุลชีพ	-	+	+	+	+	[171, 172]
Benzeneacetic acid, 4-hydroxy-	กรดคาร์บอกซิลิก	ยับยั้งจุลชีพ ยับยั้งอนุมูลอิสระ	-	-	-	-	+	[173, 174]
Benzeneethanol, 4-hydroxy-	สารประกอบอินทรีย์	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งจุลชีพ ยับยั้งการอักเสบ ยับยั้งมะเร็ง	-	-	-	-	+	[175-177]

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
Benzoic acid	กรดคาร์บอก ซิลิก	ยับยั้งจุลชีพ ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งการ อักเสบ	+	+	-	+	+	[178- 181]
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	กรดคาร์บอก ซิลิก	ยับยั้งจุลชีพ ยับยั้งโรคโลหิต เมีย ยับยั้งการก่อ กลายพันธุ์ ยับยั้งฤทธิ์ แอนโดรเจน ยับยั้งฤทธิ์ เอสโตรเจน	+	-	-	-	-	[182- 185]
Butanamide, 2-hydroxy-N,2,3,3- tetramethyl-	เอไมด์	ยับยั้งการหืน ของไขมัน	+	-	-	-	-	[186]
Butanedioic acid, monomethyl ester	กรดซกซินิก	ยับยั้งการหืน ของไขมัน ยับยั้งการ อักเสบ	+	-	+	-	+	[187- 189]
Butanoic acid, hexyl ester	กรดไขมัน	ยับยั้งการ อักเสบ, ยับยั้งจุลชีพ	-	-	+	+	-	[190, 191]
cis-11-Eicosenamide	กรดไขมัน	ไม่พบ รายงาน	+	+	+	+	+	-

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
Dehydroergosterol 3,5- dinitrobenzoate	-	ไม่พบ รายงาน	+	-	-	-	-	-
Dianhydromannitol	น้ำตาล แอลกอฮอล์	ยับยั้งการหืน ของไขมัน, ยับยั้งมะเร็ง	+	+	+	+	+	[192, 193]
Dihydroxy maleic acid	สารประกอบ อินทรีย์	ยับยั้งอนุมูล อิสระ, ยับยั้ง การแพ้	+	+	+	+	+	[194, 195]
DL-Proline, 5-oxo-, methyl ester	เอสเทอร์	ยับยั้งจุลชีพ	-	+	+	+	+	[196]
Dodecanamide	เอไมด์	ไม่พบ รายงาน	+	-	-	-	-	-
Glycerin	ไตรโกลีซิน	ยับยั้งจุลชีพ ยับยั้งอนุมูล อิสระ	+	+	+	+	+	[197, 198]
Heptadecanoic acid	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งจุลชีพ	-	-	-	+	-	[199, 200]
Hexadecanoic acid, methyl ester	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้ง ไลหิตจาก ยับยั้งภาวะ ไขมันต่ำ ยับยั้งฤทธิ์ แอนโดรเจน ยับยั้งจุลชีพ	+	+	+	+	-	[201- 203]

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้งแดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของสาร	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
Hexadecanamide	กรดไขมัน	ยับยั้งการอักเสบ, ยับยั้งการปวด	+	+	+	+	+	[204, 205]
Indole	สารประกอบอินทรีย์	ยับยั้งมะเร็ง, ยับยั้งการกลายพันธุ์, ยับยั้งจุลชีพ	-	-	-	+	-	[206-208]
Isopropyl linoleate	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ, ยับยั้งเบาหวาน, ยับยั้งการอักเสบ	+	-	+	+	+	[209]
Isosorbide	ไดออล	ยับยั้งการอักเสบ, ยับยั้งจุลชีพ, ยับยั้งโรคหัวใจ	-	+	-	-	-	[210-212]
L-Homoserine lactone, N-acetyl-	กรดคาร์บอกซิลิก	ไม่พบรายงาน	-	-	-	+	-	-
Linoleic acid ethyl ester	กรดไขมัน	ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, ยับยั้งการอักเสบ	+	-	-	-	-	[213, 214]

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
L-Lactic acid	กรดไฮดรอก ซี	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งการ อักเสบ กระตุ้นการ สร้างเส้น เลือด ยับยั้งจุลชีพ	-	-	-	+	-	[215, 216]
Malic Acid	กรดคาร์บอก ซิลิก	ยับยั้งมะเร็ง, ยับยั้งภาวะ เลือดเป็นลิ่ม ยับยั้งอนุมูล อิสระ	-	-	+	+	+	[217- 219]
Malic acid, L-	กรดคาร์บอก ซิลิก	ยับยั้ง โรคหัวใจ ยับยั้งอนุมูล อิสระยับยั้ง โรคเบาหวาน ยับยั้งโรค อ้วน	-	-	+	-	-	[220, 221]
Methyl stearate	กรดไขมัน	ยับยั้งโรคอัล ไซเมอร์ ยับยั้งโรค อ้วน ยับยั้งจุลชีพ	+	-	-	-	-	[222, 223]

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
Morpholine, 4-(4-methyl-1-cyclohexen-1-yl)-	สารประกอบอินทรีย์	ไม่พบ รายงาน	+	-	-	-	-	-
N-Methyl-4-pyridinecarboxamide	กรดนิโคตินิก	ไม่พบ รายงาน	-	-	-	-	+	-
n-Hexadecanoic acid	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งการอักเสบ อีกเสบ ยับยั้งจุลชีพ ยับยั้ง มาลาเรีย ยับยั้งภาวะไขมันต่ำ ยับยั้งแอนโดรเจน ยับยั้งอาการทางจิต	+	+	+	+	+	[96, 224-227]
Niacinamide	คาร์บอกซิลิกเอไมด์	ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งมะเร็ง ยับยั้งจุลชีพ ยับยั้งการอักเสบ	+	+	+	+	+	[228-231]

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
Nicotinic acid	ไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้ง เอนไซม์ไทโร ซิเนส ยับยั้งการ อักเสบ	-	-	+	+	+	[232, 233]
Octadecanamide	กรดไขมัน	ยับยั้งควา ก้างวล ยับยั้งมะเร็ง	+	+	+	+	+	[234- 236]
Octadecanoic acid	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ	+	-	-	+	+	[237]
Oleic Acid	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งการ อักเสบ ยับยั้งจุลชีพ, ยับยั้งมะเร็ง, ยับยั้งหลอด เลือดแข็งตัว	-	+	+	-	+	[238- 241]
Palmitic acid vinyl ester	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งจุลชีพ	+	-	-	-	-	[242]

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้ง
แดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

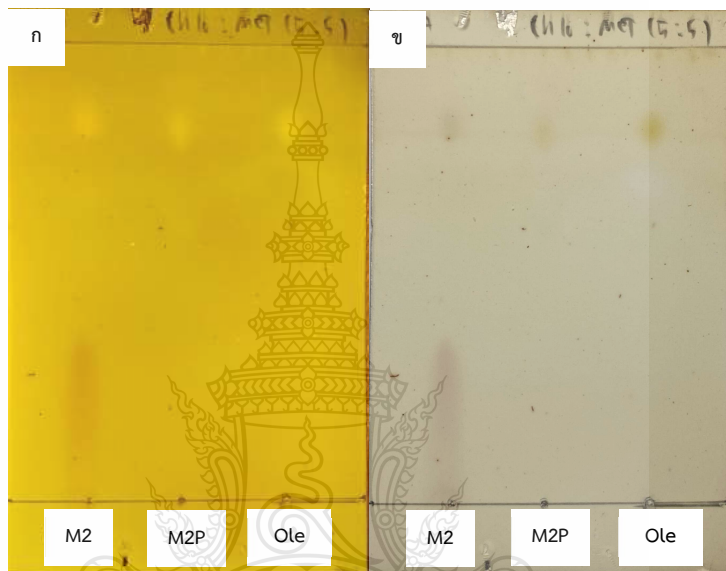
สารประกอบ	ชนิดของ สาร	ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
Palmitoleic acid	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งการ อักเสบ	-	-	-	+	-	[243, 244]
Pantolactone	คาร์บอกซี ลิแกไมด์	ยับยั้งไขมัน ในเลือดสูง ยับยั้งแลค โตน	-	+	-	+	-	[245- 247]
Pentadecanoic acid	กรดไขมัน	ยับยั้งอนุมูล อิสระ ยับยั้งจุลชีพ	-	-	-	+	+	[248]
Phenol	ฟีนอล	ยับยั้งอนุมูล อิสระ	-	+	+	-	-	[249- 251]
Phenol, 3-(ethylamino)-4-methyl-	ฟีนอล	ไม่พบ รายงาน	-	+	-	-	-	-
Phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester	เอสเทอร์	ไม่พบ รายงาน	-	+	-	-	-	-
Propanenitrile, 3-(methylthio)-	สารประกอบ อินทรีย์	ไม่พบ รายงาน	-	+	-	-	-	-
Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	แลคเตท	ยับยั้งการ อักเสบ ยับยั้งมะเร็ง ยับยั้งจุลชีพ	-	-	-	-	+	[252- 254]
Pyrazine,2-methyl-3-(methylthio)-	สารประกอบ อินทรีย์	ไม่พบ รายงาน	-	+	-	-	-	-

ตารางที่ 4.2 แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพในตัวอย่างเห็ด เห็ดตับเต่าดำ (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้งแดงคราม(M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดงขาลาย (M5) (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของสาร	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	M1	M2	M3	M4	M5	อ้างอิง
Pyrrolidine, N-(1-cyclohexen-3-one-1-yl)-2-hydroxymethyl)-Shyobunone	สารประกอบอินทรีย์	ไม่พบรายงาน	+	-	-	-	-	-
	เทอร์ปีนอยด์	ยับยั้งอนุมูลอิสระ, ยับยั้งแมลง, ยับยั้งโรคอัลไซเมอร์	+	-	-	-	-	[255]
Stellasterin	ลาโนสเตียรอยด์	ยับยั้งจุลชีพ	-	+	-	-	+	[256]
Succinimide	สารประกอบอินทรีย์	ยับยั้งอนุมูลอิสระ, ยับยั้งโรคอัลไซเมอร์, ยับยั้งเบาหวาน	-	-	-	+	+	[257, 258]
Tetradecanoic acid	กรดไมริสติก	ยับยั้งมะเร็ง	-	-	-	+	-	[259]
trans-13-Octadecenoic acid	กรดไขมัน	ไม่พบรายงาน	-	-	-	+	-	-
β -D-Glucopyranoside, methyl	เมทิลไกลโคไซด์	ยับยั้งจุลชีพ	+	-	-	-	-	[260]
Uracil	ไพริมิดีน	ยับยั้งจุลชีพยับยั้งมะเร็ง	+	-	+	+	+	[261]

4.3 การแยกสารสกัดหยาบและทำสารให้บริสุทธิ์จากเห็ดแครง

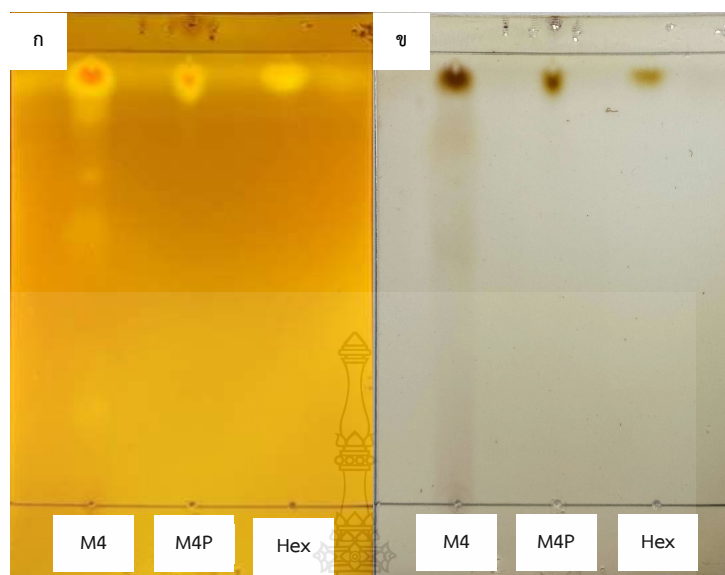
จากการนำสารสกัดหยาบ เห็ดแครง (M2) มาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค PTCL พบว่าลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้ (M2P) เป็นผงสีขาวโดยมีร้อยละผลผลิตที่ 20.15 จากนั้นทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร M2P ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ พบว่ามีระยะทางการเคลื่อนที่ของสาร M2P เท่ากับ สารมาตรฐานโอลีเอไมด์ ดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 TLC ของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P และสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ (Ole) ระบบคลอโรฟอร์ม: เมทานอล (5:5 ปริมาตร/ปริมาตร) รูป ก ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร รูป ข หลังแช่ 10% กรดซัลฟิวริก

4.4 สารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวาน

จากการนำสารสกัดหยาบ เห็ดผึ้งหวาน (M4) มาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค PTCL พบว่าลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้ (M4P) เป็นผงสีขาวโดยมีร้อยละผลผลิตที่ 15.09 จากนั้นทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร M4P ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก พบว่ามีระยะทางการเคลื่อนที่ของสาร M4P เท่ากับ สารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก ดังภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 TLC ของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P และกรดเฮกซะเดคาโนอิก (Hex) ระบบ คลอโรฟอร์ม: เมทานอล (5:5 ปริมาตร/ปริมาตร) รูป ก ภายใตแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร รูป ข หลัง แช่ 10% กรดซัลฟิวริก

4.5 ปริมาณสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบจากเห็ด

จากการทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกจะพบว่าเห็ดตับเต่าดำ (M1), เห็ดแครง (M2), เห็ดผึ้งแดงคราม (M3), เห็ดผึ้งหวาน (M4) และ เห็ดผึ้งแดงชาลาย (M5) มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 22,000, 415, 5,725, 473 และ 5,468 ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 2,682, 389, 2,059, 108 และ 831 ไมโครกรัมสมมูลเคอเวอซิดินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์สารสกัดหยาบจากเห็ด

ตัวอย่าง	ปริมาณฟีนอลิกรวม (ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้ง)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (ไมโครกรัมสมมูลเคอเวอซิดินต่อกรัมน้ำหนัก แห้ง)
M1	22,000	2,682
M2	415	389
M3	5,725	2,059
M4	473	108
M5	5,468	831

4.6 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของ สารสกัดหยาบ และสารบริสุทธิ์จากเห็ดแครง

การศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของสารสกัดหยาบ M2 สารบริสุทธิ์ M2P ดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่า สาร M2 มีประสิทธิภาพของการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและเอบีทีเอสเท่ากับ 53.86 ± 3.46 (%) และ 53.01 ± 1.41 (%) ลำดับ ในขณะที่เดียวกันสารบริสุทธิ์ M2P มีประสิทธิภาพของการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและเอบีทีเอสเท่ากับ 23.35 ± 0.66 (%) และ 22.69 ± 1.27 (%) นอกจากนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบ M2 มีประสิทธิภาพของการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอสดีกว่าสารบริสุทธิ์ M2P

4.7 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของ สารสกัดหยาบ และ สารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวาน

การศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของสารสกัดหยาบ M4 สารบริสุทธิ์ M4P ดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่า สาร M4 มีประสิทธิภาพของการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและเอบีทีเอสเท่ากับ 41.75 ± 3.45 (%) และ 52.27 ± 0.71 (%) ลำดับ ในขณะที่เดียวกันสารบริสุทธิ์ M4P มีประสิทธิภาพของการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและเอบีทีเอสเท่ากับ 21.82 ± 0.97 (%) และ 64.03 ± 1.62 (%) นอกจากนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบ M4 มีประสิทธิภาพของการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชดีกว่าสารบริสุทธิ์ M4P แต่ในทางกลับกันสารบริสุทธิ์ M4P มีประสิทธิภาพของการยับยั้งอนุมูลอิสระเอบีทีเอสที่ดีกว่าสารสกัดหยาบ M4

ตารางที่ 4.4 ร้อยละการยับยั้งของสารสกัดและสารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและเห็ดผึ้งหวานต่ออนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชและอนุมูลอิสระเอบีทีเอส

ตัวอย่าง	ร้อยละการยับยั้งที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	
	DPPH [•]	ABTS ^{•+}
M2	53.86 ± 3.46	53.01 ± 1.41
M2P	23.35 ± 0.66	22.69 ± 1.27
M4	41.75 ± 3.45	52.27 ± 0.71
M4P	21.82 ± 0.97	64.03 ± 1.62

4.8 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์ จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P และสารมาตรฐาน อะคาร์โบส และโอลิเอไมด์ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6 พบว่า สาร M2 และสารบริสุทธิ์ M2P มีประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเท่ากับ 38.73 ± 0.37 (%) และ 88.44 ± 0.97 (%) ตามลำดับและพบว่าประสิทธิภาพของการยับยั้งของสารบริสุทธิ์ M2P มีค่ามากกว่าสารสกัด M2 ประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอะคาร์โบส และโอลิเอไมด์มีค่าเท่ากับ 71.23 ± 0.32 (%) และ 50.92 ± 0.69 (%) ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารมาตรฐานโอลิเอไมด์มีประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์น้อยกว่าสารมาตรฐานอะคาร์โบส

4.9 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์ จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐาน

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P และสารมาตรฐาน อะคาร์โบส และกรดเฮกซะเดคาโนอิก ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6 พบว่า สาร M4 และสารบริสุทธิ์ M4P มีประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเท่ากับ 77.59 ± 1.13 (%) และ 89.17 ± 1.93 (%) ตามลำดับและพบว่าประสิทธิภาพของการยับยั้งของสารบริสุทธิ์ M4P มีค่ามากกว่าสารสกัด M4 ประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอะคาร์โบส และกรดเฮกซะเดคาโนอิกมีค่าเท่ากับ 71.23 ± 0.32 (%) และ 21.77 ± 1.24 (%) ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิกมีประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์น้อยกว่าสารมาตรฐานอะคาร์โบส

ตารางที่ 4.5 ร้อยละการยับยั้งของสารสกัดและสารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและเห็ดผึ้งหวานต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ตัวอย่างสารสกัด	ร้อยละการยับยั้งที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
M2	38.73 ± 0.37
M2P	88.44 ± 0.97
M4	77.59 ± 1.13
M4P	89.17 ± 1.93

ตารางที่ 4.6 ร้อยละการยับยั้งของสารมาตรฐานต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

สารมาตรฐาน	ร้อยละการยับยั้งที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์
อะคาร์โบส	71.23±0.32
โอลีเอไมด์	50.92±0.69
กรดเฮกซะเดคาโนอิก	21.77±1.24

4.10 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P และสารมาตรฐาน ทาครีน และโอลีเอไมด์ ตารางที่ 4.7 และตารางที่ 4.8 พบว่า สาร M2 และสารบริสุทธิ์ M2P มีประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ 74.43±1.15 (%) และ 92.31±1.20 (%) ตามลำดับและพบว่าประสิทธิภาพของการยับยั้งของสารบริสุทธิ์ M2P มีค่ามากกว่าสารสกัด M2 ประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานทาครีน และโอลีเอไมด์มีค่าเท่ากับ 94.52±0.38 (%) และ 82.14±1.80 (%) ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารมาตรฐานโอลีเอไมด์มีประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์น้อยกว่าสารมาตรฐานทาครีน

4.11 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐาน

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P และสารมาตรฐาน ทาครีน และกรดเฮกซะเดคาโนอิก ตารางที่ 4.7 และตารางที่ 4.8 พบว่า สาร M4 และสารบริสุทธิ์ M4P มีประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ 76.03±0.59 (%) และ 89.33±1.93 (%) ตามลำดับและพบว่าประสิทธิภาพของการยับยั้งของสารบริสุทธิ์ M4P มีค่ามากกว่าสารสกัด M4 ประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารมาตรฐานทาครีน และกรดเฮกซะเดคาโนอิกมีค่าเท่ากับ 94.52±0.38 (%) และ 32.92±1.62 (%) ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิกมีประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์น้อยกว่าสารมาตรฐานทาครีน

ตารางที่ 4.7 ร้อยละการยับยั้งของสารสกัดและสารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและเห็ดผึ้งหวานต่อเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส

ตัวอย่างสารสกัด	ร้อยละการยับยั้งที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
M2	74.43±1.15
M2P	92.31±1.20
M4	76.03±0.59
M4P	89.33±1.93

ตารางที่ 4.8 ร้อยละการยับยั้งของสารมาตรฐานต่อเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส

สารมาตรฐาน	ร้อยละการยับยั้งที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์
ทาครีน	94.52±0.38
โอสีเอไมด์	82.14±1.80
กรดเฮกซะเดคาโนอิก	32.92±1.62

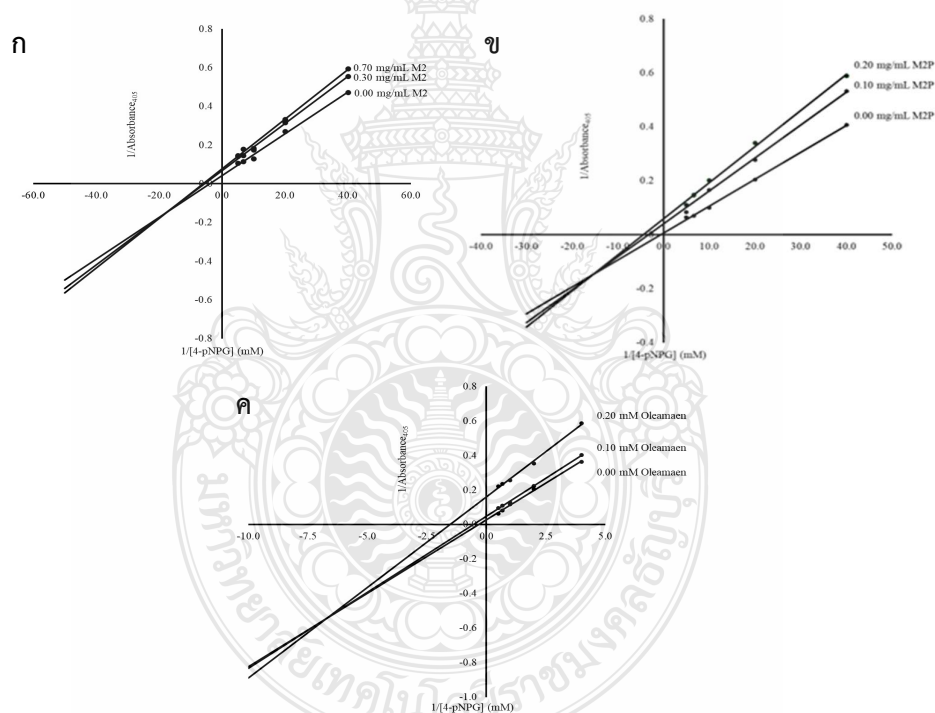
4.12 จลนพลศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน

จากกราฟ Lineweaver–Burk และกราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้ง (ภาพที่ 4.4 และ 4.5) พบว่าชนิดของการยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดแครง M2 สารบริสุทธิ์ M2P และสารมาตรฐานโอสีเอไมด์ มีชนิดของการยับยั้งเป็นแบบผสม และมีค่าคงที่ของการยับยั้งเท่ากับ 3.80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาร M2 และ 0.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาร M2P และค่าคงที่ของการยับยั้งของสารมาตรฐานโอสีเอไมด์เท่ากับ 0.81 มิลลิโมลาร์ ดังตารางที่ 4.9

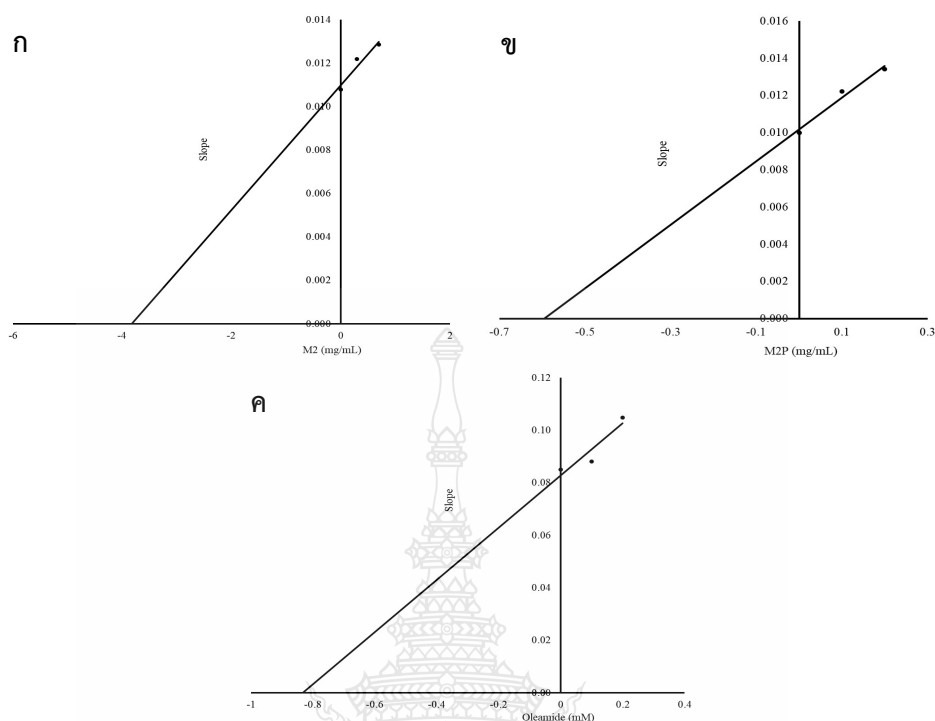
ตารางที่ 4.9 ชนิดของการยับยั้งและค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P จากเห็ดแครงและสารมาตรฐานโอเลอีไนด์ ต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ตัวอย่าง	เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	
	ชนิดการยับยั้ง	ค่าคงที่การยับยั้ง(K_i)*
M2	แบบผสม	3.80
M2P	แบบผสม	0.21
โอเลอีไนด์	แบบผสม	0.81

*ค่าความเข้มข้นของ K_i ของ M2, M2P แสดงเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ความเข้มข้นของ K_i ของ โอเลอีไนด์แสดงเป็นมิลลิโมลาร์



ภาพที่ 4.4 กราฟ Lineweaver-Burk ต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัด M2 (ก) สารบริสุทธิ์ M2P (ข) และ สารมาตรฐาน โอเลอีไนด์ (ค) ตามลำดับ



ภาพที่ 4.5 กราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้ง ของสารสกัด M2 (ก) สารบริสุทธิ์ M2P (ข) และ สารมาตรฐาน โอเลอไมด์ (ค) ตามลำดับ

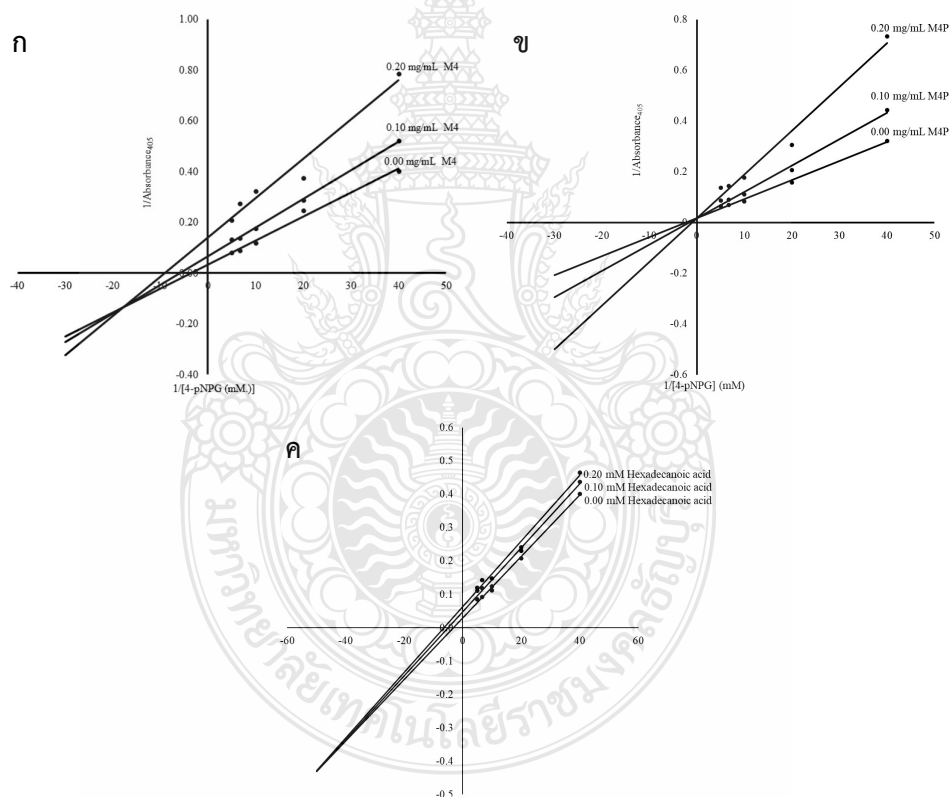
4.13 จลนพลศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐาน

จากกราฟ Lineweaver-Burk และกราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้ง (ภาพที่ 4.6 และ 4.7) พบว่าชนิดของการยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4 สารบริสุทธิ์ M4P และ สารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก มีชนิดของการยับยั้งเป็นแบบผสม แบบแข่งขันและ แบบไม่แข่งขัน ชนิด non-competitive ตามลำดับ โดยมีค่าคงที่ของการยับยั้งเท่ากับ 0.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาร M4 และ 0.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาร M4P และค่าคงที่ของการยับยั้งของสาร มาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิกเท่ากับ 6.09 มิลลิโมลาร์ ดังตารางที่ 4.10

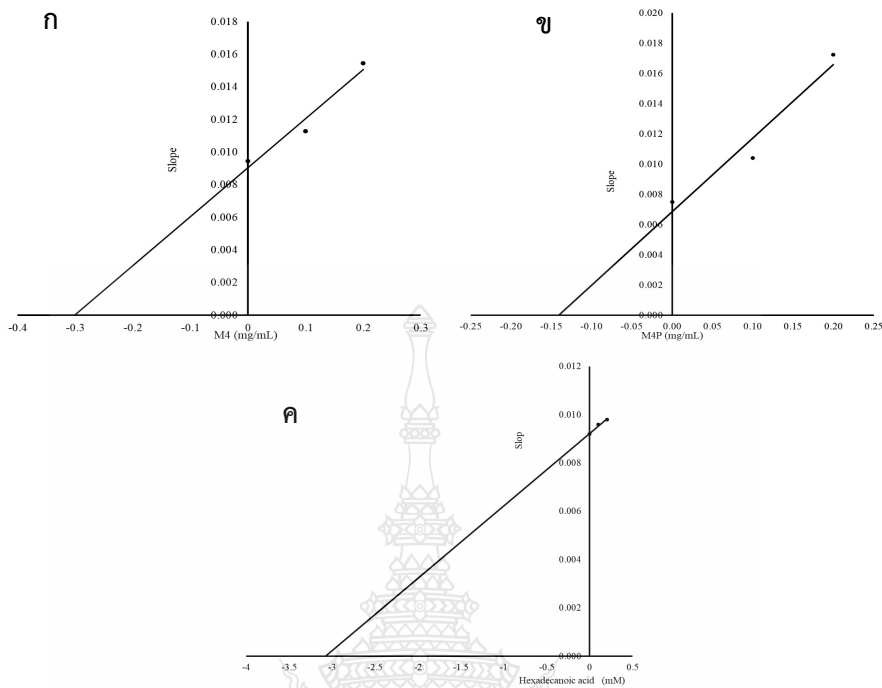
ตารางที่ 4.10 ชนิดของการยับยั้งและค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก ต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ตัวอย่าง	เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	
	ชนิดการยับยั้ง	ค่าคงที่การยับยั้ง(K_i)*
M4	แบบผสม	0.28
M4P	แบบแข่งขัน	0.13
กรดเฮกซะเดคาโนอิก	แบบไม่แข่งขันชนิด non-competitive	2.96

*ค่าความเข้มข้นของ K_i ของ M4, M4P แสดงเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ความเข้มข้นของ K_i ของ กรดเฮกซะเดคาโนอิกแสดงเป็นมิลลิโมลาร์



ภาพที่ 4.6 กราฟ Lineweaver-Burk ต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัด M4 (ก) สารบริสุทธิ์ M4P (ข) และ สารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ค) ตามลำดับ



ภาพที่ 4.7 กราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้ง ของสารสกัด M4 (ก) สารบริสุทธิ์ M4P (ข) และ สารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ค) ตามลำดับ

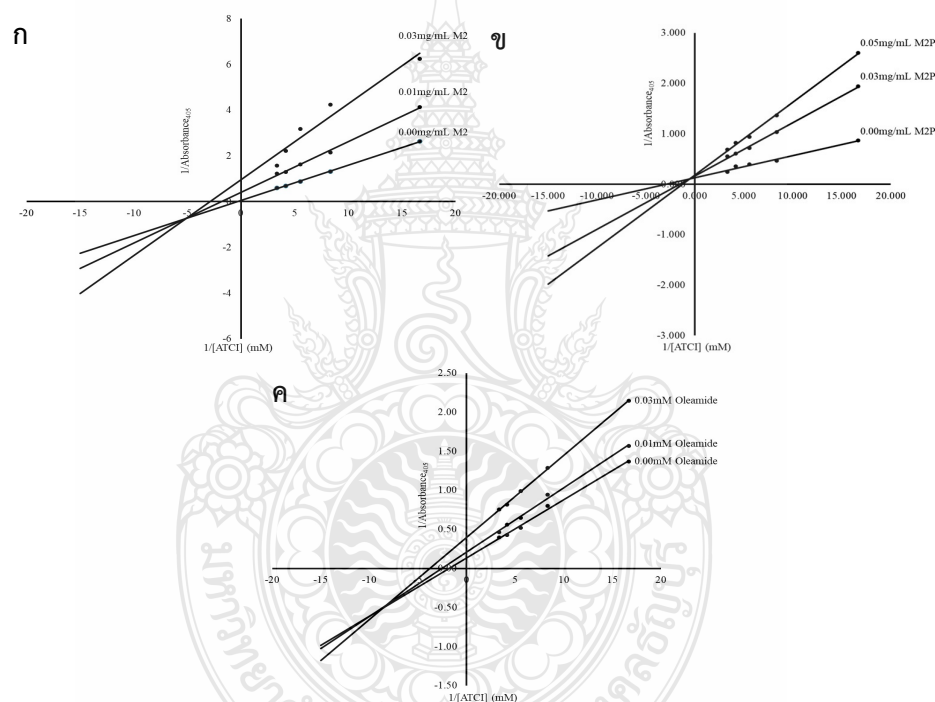
4.14 จลนพลศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน

จากกราฟ Lineweaver-Burk และกราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้ง (ภาพที่ 4.8 และ 4.9) พบว่าชนิดของการยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดแครง M2 สารบริสุทธิ์ M2P และ สารมาตรฐานโอเลอไมด์ มีชนิดของการยับยั้งเป็นแบบผสม และมีค่าคงที่ของการยับยั้งเท่ากับ 0.016 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาร M2 และ 0.022 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาร M2P และค่าคงที่ของการยับยั้งของสารมาตรฐานโอเลอไมด์เท่ากับ 0.070 มิลลิโมลาร์ ดังตารางที่ 4.11

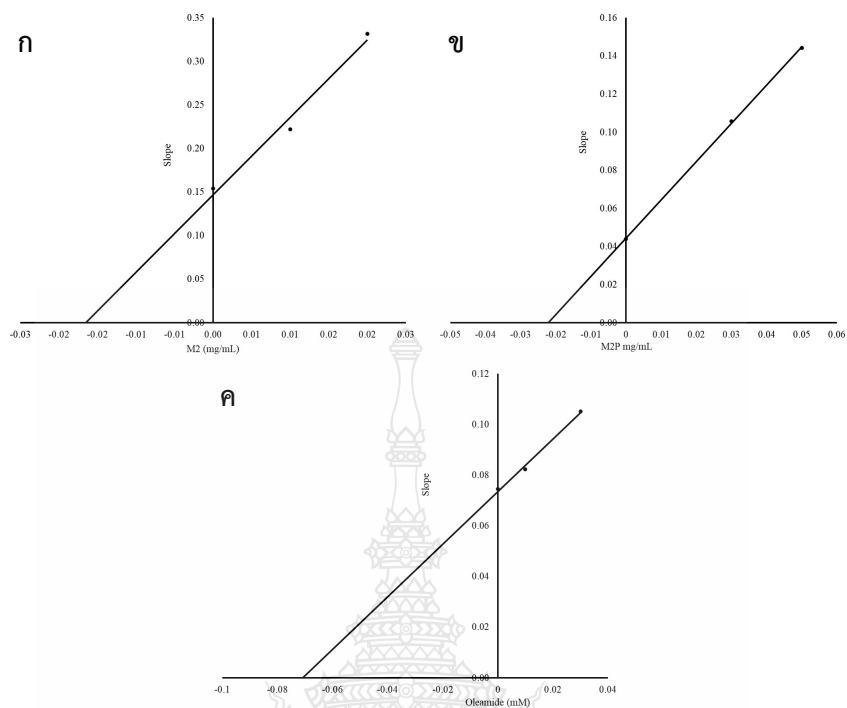
ตารางที่ 4.11 ชนิดของการยับยั้งและค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P จากเห็ดแครงและสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ ต่อเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส

ตัวอย่าง	เอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส	
	ชนิดการยับยั้ง	ค่าคงที่การยับยั้ง(K_i)*
M2	แบบผสม	0.016
M2P	แบบผสม	0.022
โอลีเอไมด์	แบบผสม	0.070

*ค่าความเข้มข้นของ K_i ของ M2, M2P แสดงเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ความเข้มข้นของ K_i ของโอลีเอไมด์ แสดงเป็นมิลลิโมลาร์



ภาพที่ 4.8 กราฟ Lineweaver-Burk ต่อการทำงานของเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด M2 (ก) สารบริสุทธิ์M2P (ข) และสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ (ค) ตามลำดับ



ภาพที่ 4.9 กราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้งของสารสกัด M2 (ก) สารบริสุทธิ์ M2P (ข) และสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ (ค) ตามลำดับ

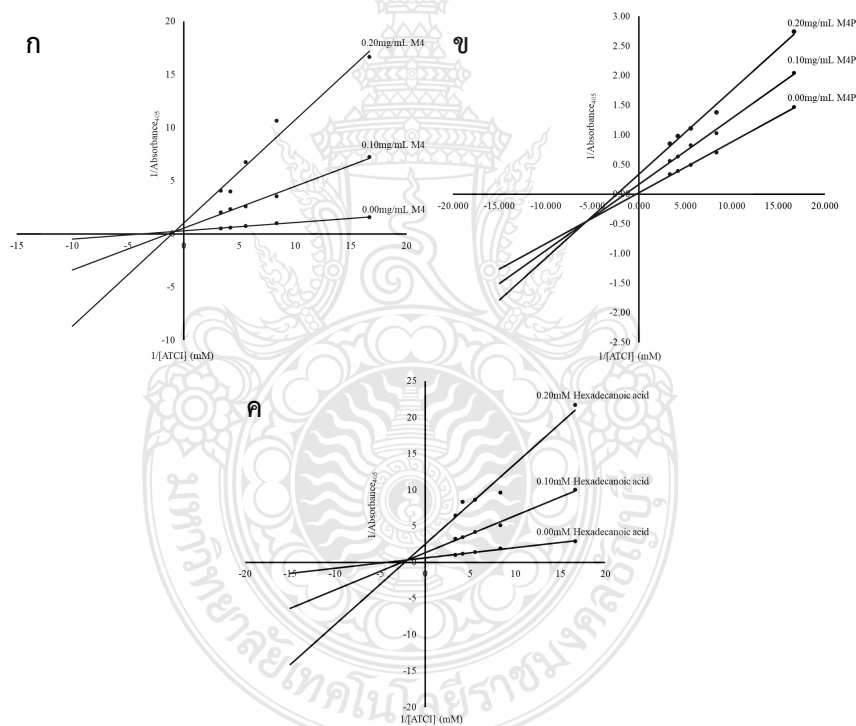
4.15 จลนพลศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากฝัองหวานและสารมาตรฐาน

จากกราฟ Lineweaver-Burk และกราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวยับยั้ง (ภาพที่ 4.10 และ 4.11) พบว่าชนิดของการยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดฝัองหวาน M4 สารบริสุทธิ์ M4P และสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก มีชนิดของการยับยั้งเป็นแบบผสม และมีค่าคงที่ของการยับยั้งเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาร M4 และ 0.304 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาร M4P และค่าคงที่ของการยับยั้งของสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิกเท่ากับ 0.019 มิลลิโมลาร์ ดังตารางที่ 4.12

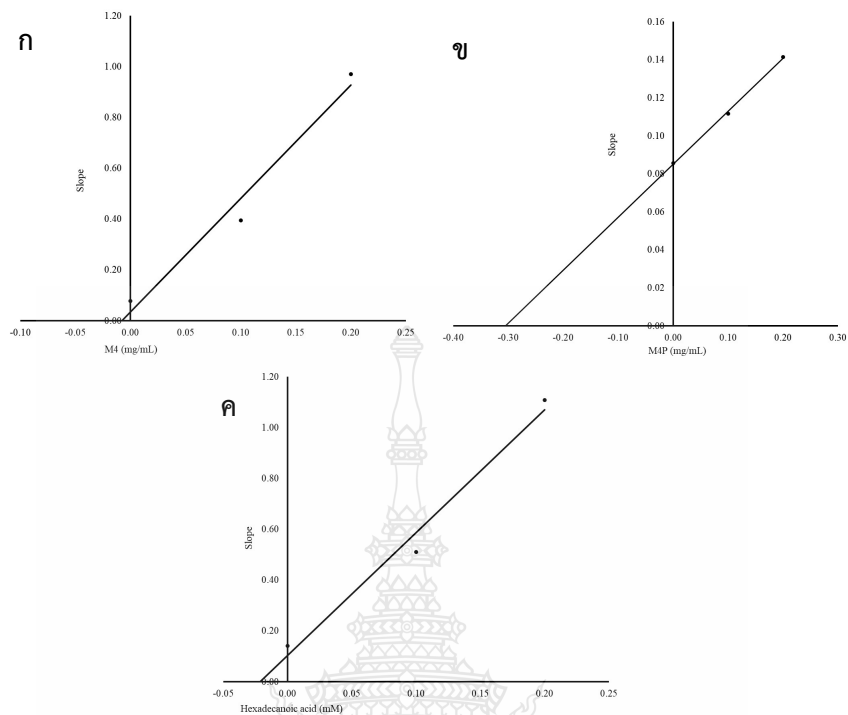
ตารางที่ 4.12 ชนิดของการยับยั้งและค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P จากเห็ดผึ้งหวานและและสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิกต่อเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส

ตัวอย่าง	เอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส	
	ชนิดการยับยั้ง	ค่าคงที่การยับยั้ง(K_i)*
M4	แบบผสม	0.005
M4P	แบบผสม	0.304
กรดเฮกซะเดคาโนอิก	แบบผสม	0.019

*ค่าความเข้มข้นของ K_i ของ M4, M4P แสดงเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ความเข้มข้นของ K_i ของกรดเฮกซะเดคาโนอิก แสดงเป็นมิลลิโมลาร์



ภาพที่ 4.10 กราฟ Lineweaver-Burk ต่อการทำงานของเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด M4 (ก) สารบริสุทธิ์ M4P (ข) และสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ค) ตามลำดับ

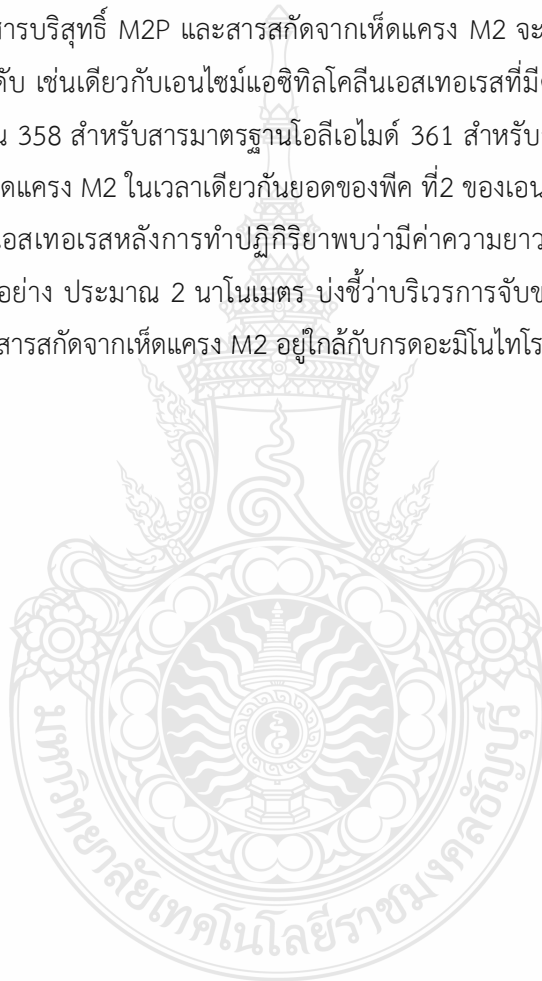


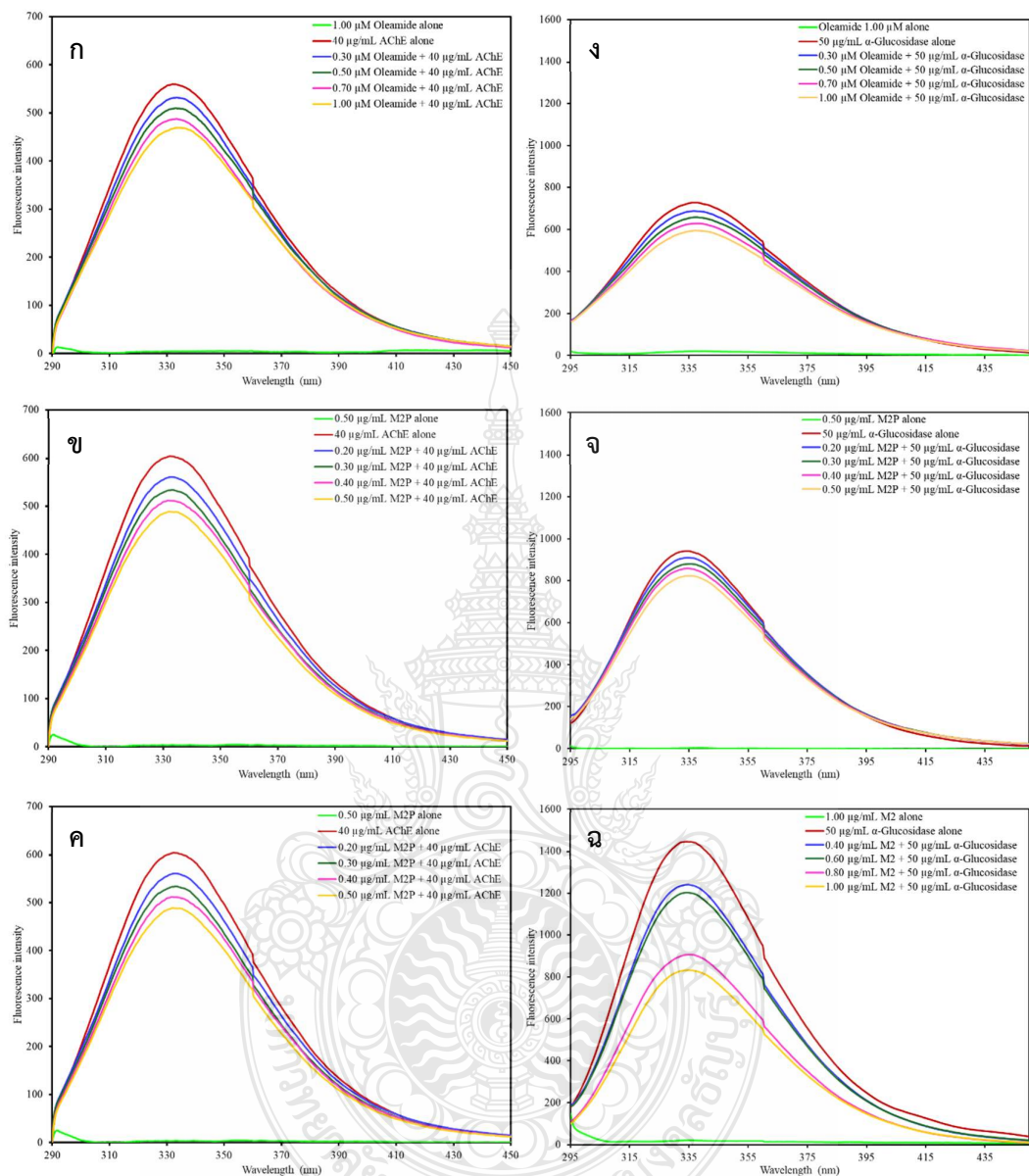
ภาพที่ 4.11 กราฟระหว่างค่าความชันและความเข้มข้นของตัวบ่งชี้ของสารสกัด M4 (ก) สารบริสุทธิ์ M4P (ข) และสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ค) ตามลำดับ

4.16 การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบ สารบริสุทธิ์จากเห็ดแครงและสารมาตรฐาน ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโคปี

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ สารบริสุทธิ์ M2P และสารสกัดจากเห็ดแครง M2 ค่าความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence intensity:FI) ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสจะมีค่าที่ลดลงอย่างต่อเนื่อง (ภาพที่ 4.12) แสดงให้เห็นว่าสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ สารบริสุทธิ์ M2P และสารสกัดจากเห็ดแครง M2 มีการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ทั้งสอง โดยพบว่าค่า FI ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ สารบริสุทธิ์ M2P และสารสกัดจากเห็ดแครง M2 โดยลดลงจาก 729.0 เป็น 595.0, 941.3 เป็น 822.6 และ 1,444.1 เป็น 831.6 ตามลำดับ เช่นเดียวกับเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสที่มีค่า FI ลดลงหลังทำปฏิกิริยาจาก 559.4 เป็น 468.8 สำหรับสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ 604.1 เป็น 448.5 สำหรับสารบริสุทธิ์ M2P และ 525.5 เป็น 323.8 สำหรับสารสกัดจากเห็ดแครง M2

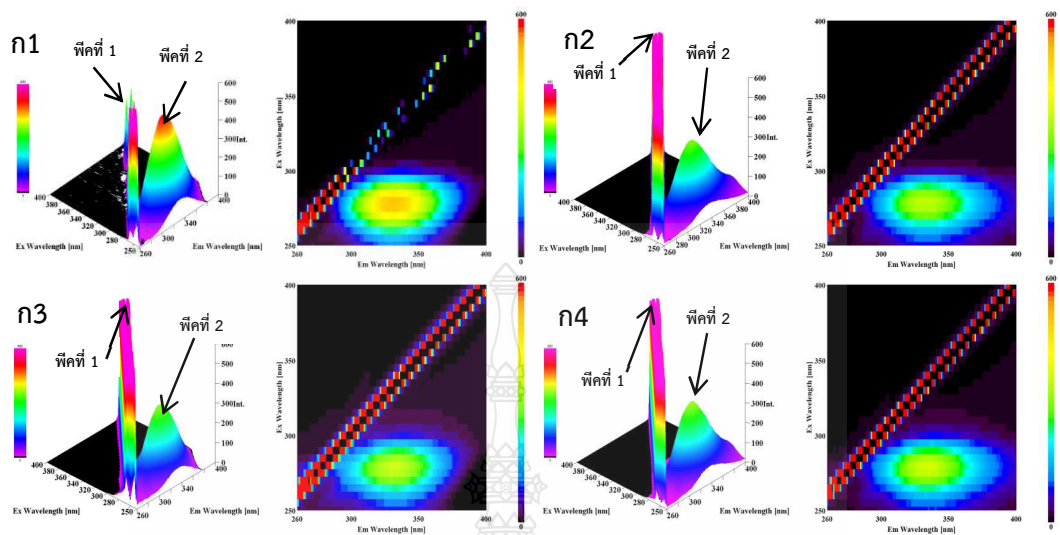
สเปกตรัมการเรืองแสงสามมิติจะถูกวิเคราะห์เพื่อศึกษาโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงในเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสที่ทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ สารบริสุทธิ์ M2P และสารสกัดจากเห็ดक्रम M2 โดยแสดงเป็นรูปแบบสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์สามมิติ และความสูงของค่า FI ดังในภาพที่ 31 ซึ่งสเปกตรัมที่มีค่า FI สูงที่สุด (พีคที่1) ถูกกำหนดให้เป็นพีค การกระเจิงของเรย์ลีห์ ($\lambda_{ex} = \lambda_{em}$) และ พีคที่2 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 280/334 \text{ nm}$) แสดงพฤติกรรมสเปกตรัม ของกรดอะมิโนไทโรซีนและทริปโตเฟน โดยค่า FI ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสทำปฏิกิริยากับสาร มาตรฐานโอลีเอไมด์ สารบริสุทธิ์ M2P และสารสกัดจากเห็ดक्रम M2 จะลดลงจาก 1143 เป็น 994, 882 และ320 ตามลำดับ เช่นเดียวกับเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสที่มีค่า FI ลดลงหลังจากการทำ ปฏิกิริยาจาก 509 เป็น 358 สำหรับสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ 361 สำหรับสารบริสุทธิ์ M2P และ 371 สำหรับสารสกัดจากเห็ดक्रम M2 ในเวลาเดียวกันยอดของพีค ที่2 ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและ เอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสหลังการทำปฏิกิริยาพบว่ามีความยาวคลื่นขยับไปทางคลื่นสีแดง (Redshift) ทั้งสามตัวอย่าง ประมาณ 2 นาโนเมตร บ่งชี้ว่าบริเวณการจับของสารมาตรฐานโอลีเอไมด์ สารบริสุทธิ์ M2P และสารสกัดจากเห็ดक्रम M2 อยู่ใกล้กับกรดอะมิโนไทโรซีนและทริปโตเฟน



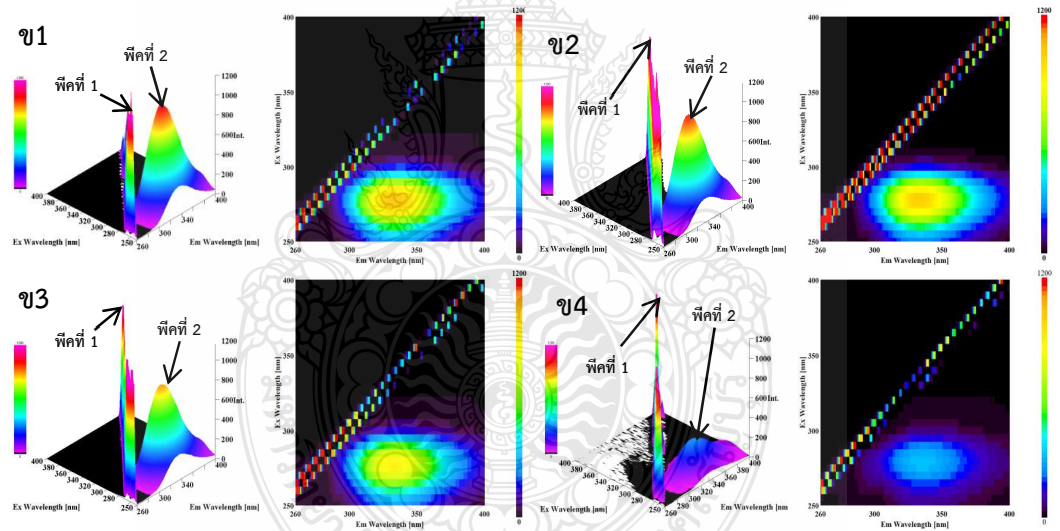


ภาพที่ 4.12 แสดงสเปกตรัมของฟลูออเรสเซนซ์ ระหว่างเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสต่อโอลีเอไมด์ (ก), M2P (ข) และ M2 (ค) และระหว่างเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสต่อโอลีเอไมด์ (ง), M2P (จ) และ M2 (ฉ) หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง

แอซิทิลโคลีนเอสเทอร์



แอลฟา-กลูโคไซด์

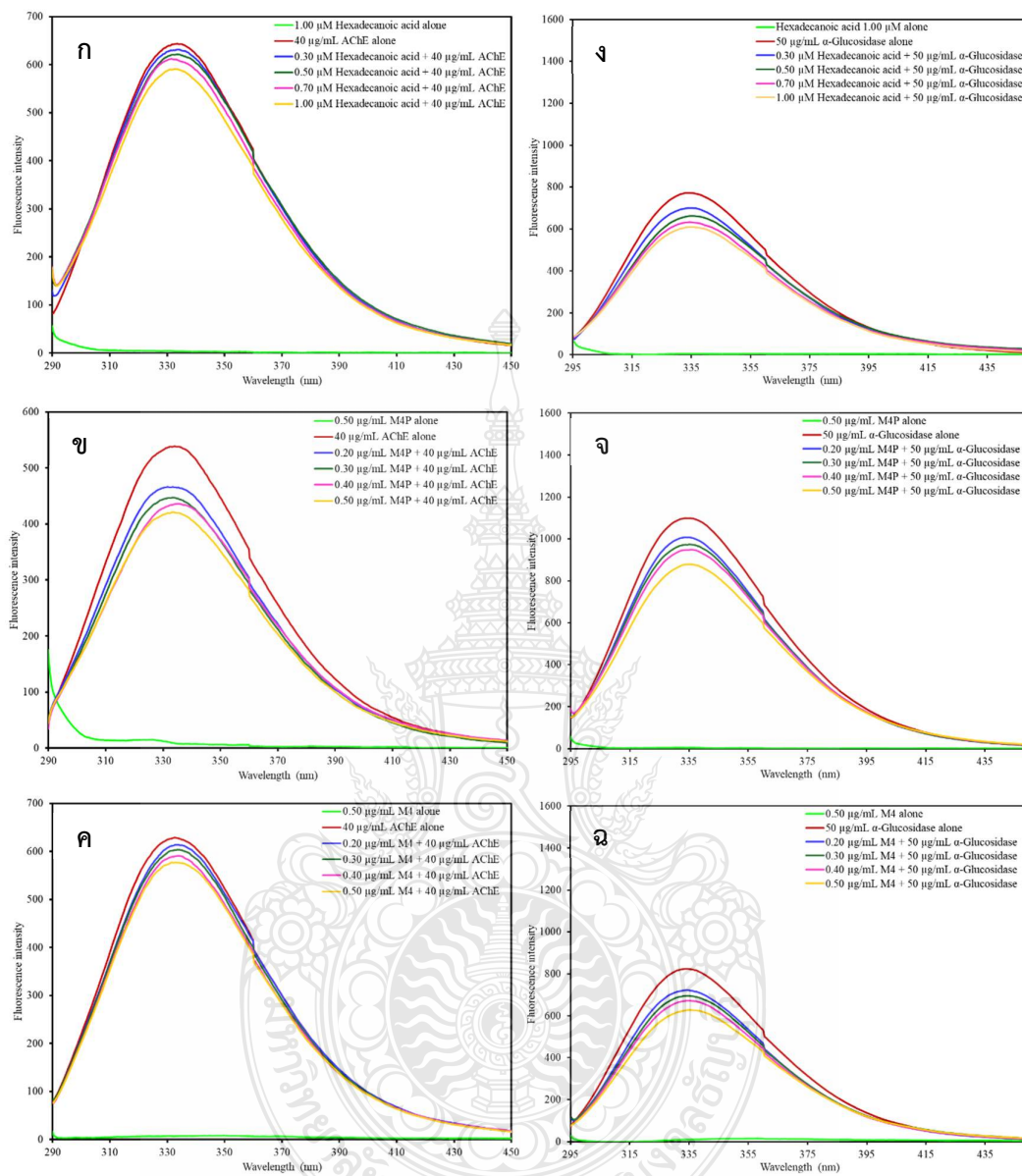


ภาพที่ 4.13 แสดงสเปกตรัมสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ 3 มิติของ แอซิทิลโคลีนเอสเทอร์ (ก1) แอซิทิลโคลีนเอสเทอร์กับโอลิเอไมด์ (ก2), M2P (ก3) และM2 (ก4) และแอลฟา-กลูโคไซด์ (ข1) แอลฟา-กลูโคไซด์กับโอลิเอไมด์ (ข2), M2P (ข3) และM2 (ข4) หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง

4.17 การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบสารบริสุทธิ์จากเห็ดผึ้งหวานและสารมาตรฐาน ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโคปี

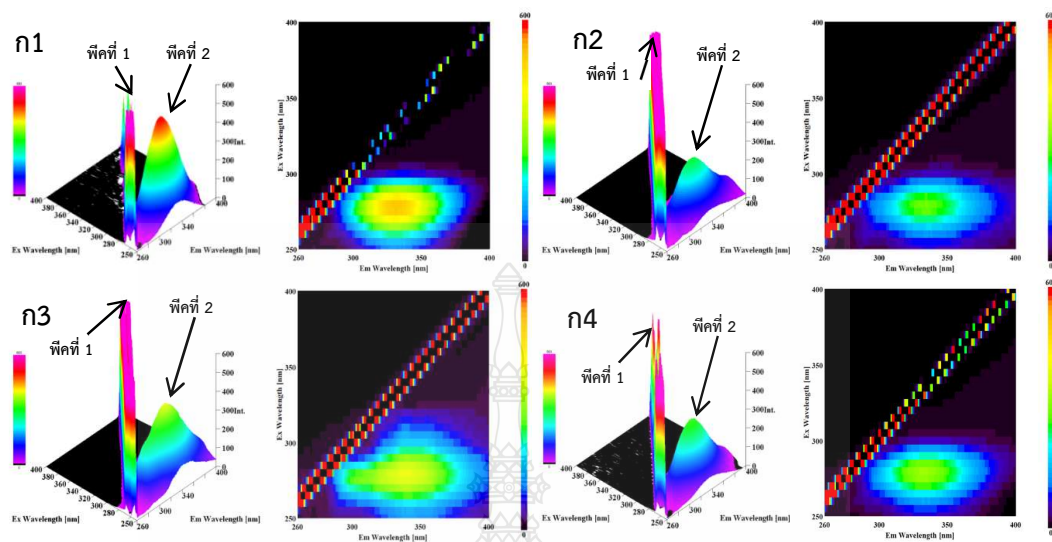
จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก สารบริสุทธิ์ M4P และสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4 ค่าความเข้มของการเรืองแสง (Fluorescence intensity:FI) ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสมีค่าที่ลดลงอย่างต่อเนื่อง (ภาพที่ 4.14) แสดงให้เห็นว่าสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก สารบริสุทธิ์ M4P และสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4 มีการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ทั้งสอง โดยพบว่าค่า FI ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก สารบริสุทธิ์ M4P และสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4 โดยลดลงจาก 7721.9 เป็น 609.2, 1098.9 เป็น 876.8 และ 824.6 เป็น 626.1 ตามลำดับ เช่นเดียวกับเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสที่มีค่า FI ลดลงหลังจากการทำปฏิกิริยาจาก 643.4 เป็น 590.0 สำหรับสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก 537.8 เป็น 419.5 สำหรับสารบริสุทธิ์ M4P และ 626 เป็น 575.996 สำหรับสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4

สเปกตรัมการเรืองแสงสามมิติจะถูกวิเคราะห์เพื่อศึกษาโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงในเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสที่ทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก สารบริสุทธิ์ M4P และสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4 โดยแสดงเป็นสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์สามมิติและความสูงของค่า FI ดังในภาพที่ 33 ซึ่งสเปกตรัมที่มีค่า FI สูงที่สุด (พีคที่1) ถูกกำหนดให้เป็นพีคการกระเจิงของเรย์ลีห์ ($\lambda_{ex} = \lambda_{em}$) และ พีคที่2 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 280/334$ nm) แสดงพฤติกรรมสเปกตรัมของกรดอะมิโนไทโรซีนและทรีโตนิน โดยค่า FI ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก สารบริสุทธิ์ M4P และสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4 ลดลงจาก 1268.5 เป็น 882,913.5 และ 538.9 ตามลำดับ เช่นเดียวกับเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสที่มีค่า FI ลดลงหลังจากการทำปฏิกิริยาจาก 464.5 เป็น 248 สำหรับสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก 295.8 สำหรับสารบริสุทธิ์ M4P และ 326.4 สำหรับสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4 ในขณะเดียวกันยอดของพีคที่2 ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสหลังการทำปฏิกิริยาพบว่ามีค่าความยาวคลื่นขยับไปทางคลื่นสีแดง (Redshift) ทั้งสามตัวอย่าง ประมาณ 2 นาโนเมตร บ่งชี้ว่าบริเวณการจับของสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก สารบริสุทธิ์ M4P และสารสกัดจากเห็ดผึ้งหวาน M4 อยู่ใกล้กับกรดอะมิโนไทโรซีนและทรีโตนิน

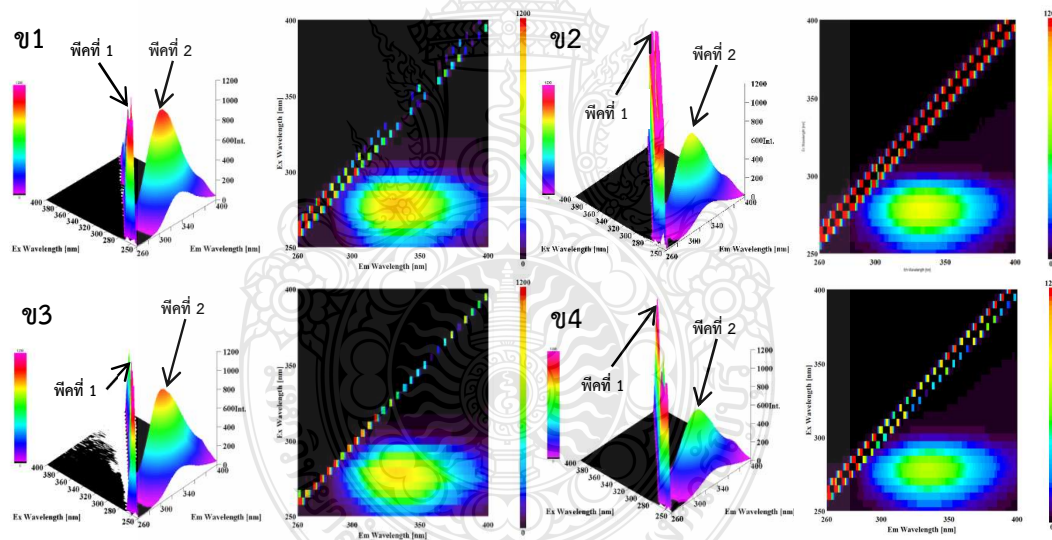


ภาพที่ 4.14 แสดงสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ ระหว่างเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเตอเรสต่อกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ก), M4P (ข) และ M4 (ค) และระหว่างเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสต่อกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ง), M4P (จ) และ M4 (ฉ) หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง

แอซิติลโคลีนเอสเทอร์



แอลฟา-กลูโคไซด์



ภาพที่ 4.15 แสดงสเปกตรัมสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ 3 มิติของ แอซิติลโคลีนเอสเทอร์ (ก1) แอซิติลโคลีนเอสเทอร์กับกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ก2), M4P (ก3) และ M4 (ก4) และแอลฟา-กลูโคไซด์ (ข1) แอลฟา-กลูโคไซด์กับกรดเฮกซะเดคาโนอิก (ข2), M4P (ข3) และ M4 (ข4) หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง

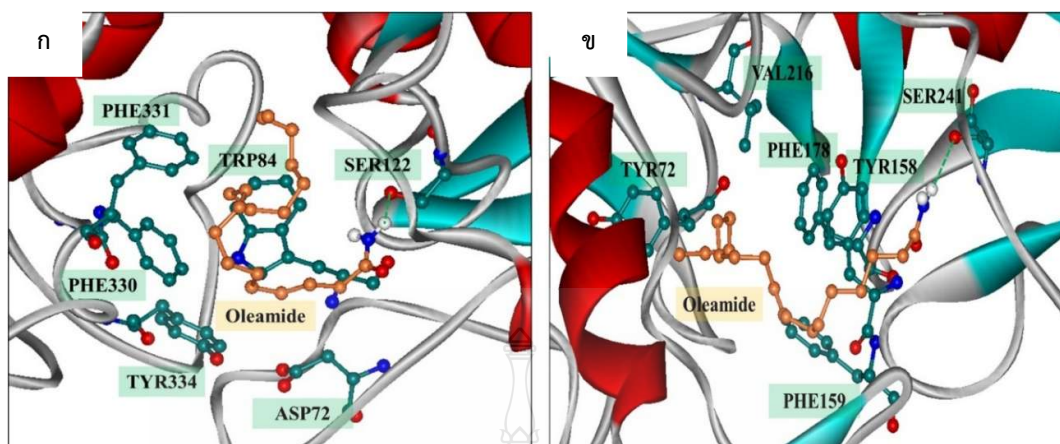
4.18 การจำลองการจับกันเชิงโมเลกุล (Molecular docking) ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส ต่อโอลิโกไมด์

จากตารางที่ 4.13 และภาพที่ 4.16 พบว่าโอลิโกไมด์จับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส โดยโอลิโกไมด์จับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วย พันธะไฮโดรเจนหนึ่งพันธะ (SER122) และแรงไฮโดรโฟบิกประกอบด้วย ASP72, TRP84, PHE330, PHE331 และ TYR334 และโอลิโกไมด์ยังมีค่าประสิทธิภาพของการจับ (Binding affinity) และค่าคงที่ของการยับยั้ง (K_i) กับเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เท่ากับ -5.9 กิโลแคลอรีต่อโมล และ 47 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ นอกจากนี้โอลิโกไมด์จับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสด้วยพันธะไฮโดรเจนหนึ่งพันธะ (SER241) และแรงไฮโดรโฟบิกประกอบด้วย TYR72, TYR158, PHE159, PHE178 และ VAL216 และโอลิโกไมด์ยังมีค่าประสิทธิภาพของการจับ และ ค่าคงที่ของการยับยั้ง กับเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ -6.6 กิโลแคลอรีต่อโมล และ 14 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ



ตารางที่ 4.13 ผลของการจำลองการจับกันเชิงโมเลกุลของโอสีเอไมด์ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส

ตัวอย่าง	เอนไซม์	ค่าประสิทธิภาพ ของการจับ (กิโลแคลอรีต่อโมล)	ค่าคงที่การ ยับยั้ง K_i (ไมโครโม ลาร์)	กรด อะมิโน	ความยาว พันธะ (อังสตรอม)	ชนิดของ พันธะ
โอสีเอ ไมด์	แอลฟา-กลูโคซิ เดส	-5.9	47	TYR72	3.65	ไฮโดรโฟบิก
				TYR158	3.55	ไฮโดรโฟบิก
				PHE159	3.84	ไฮโดรโฟบิก
				PHE178	3.61	ไฮโดรโฟบิก
				VAL216	3.48	ไฮโดรโฟบิก
				SER241	3.19	พันธะ ไฮโดรเจน
แอซิติลโคลีน เอสเทอเรส		-6.6	14	ASP72	3.62	ไฮโดรโฟบิก
				TRP84	3.44	ไฮโดรโฟบิก
				PHE330	3.68	ไฮโดรโฟบิก
				PHE331	3.47	ไฮโดรโฟบิก
				TYR334	3.67	ไฮโดรโฟบิก
				SER122	3.09	พันธะ ไฮโดรเจน



ภาพที่ 4.16 แสดงการจับกันระหว่างโอเลอไมด์ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส (ก) และ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (ข)

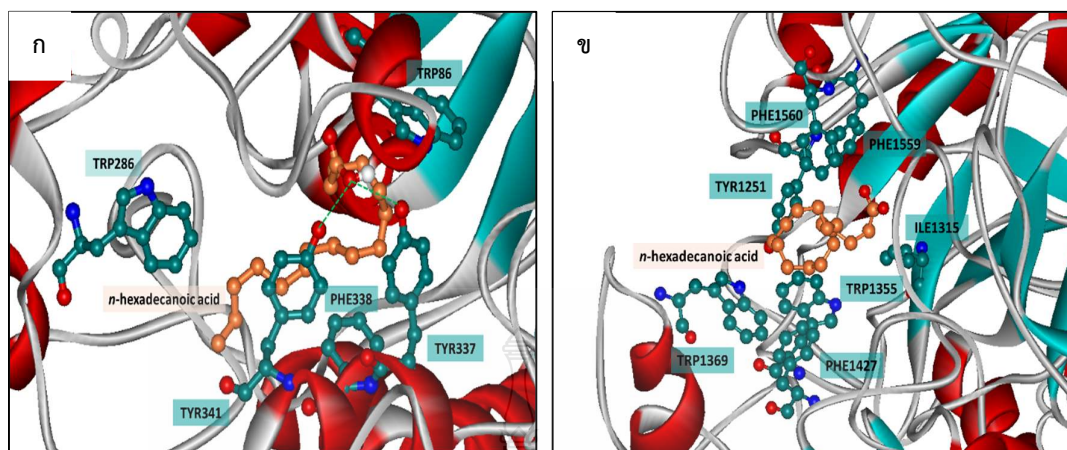
4.19 การจำลองการจับกันเชิงโมเลกุล (Molecular docking) ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส ต่อกรดเฮกซะเดคาโนอิก

จากตารางที่ 4.14 และภาพที่ 4.17 พบว่ากรดเฮกซะเดคาโนอิกจับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส โดยกรดเฮกซะเดคาโนอิกจับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วยแรงไฮโดรโฟบิกประกอบด้วย TYR1251 ILE1315 TRP1355 TRP1369

PHE1427 และ PHE1559 และกรดเฮกซะเดคาโนอิกยังมีค่าประสิทธิภาพของการจับ (Binding affinity) และค่าคงที่ของการยับยั้ง (K_i) กับเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เท่ากับ -5.4 กิโลแคลอรีต่อโมล และ 43 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ นอกจากนี้กรดเฮกซะเดคาโนอิกจับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยพันธะไฮโดรเจนสองพันธะ (TYR337และ TYR341) และแรงไฮโดรโฟบิกประกอบด้วย TRP86 TRP286 TYR337 PHE338และ TYR341 และกรดเฮกซะเดคาโนอิกยังมีค่าประสิทธิภาพของการจับ และ ค่าคงที่ของการยับยั้ง กับเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ -6.5 กิโลแคลอรีต่อโมล และ 41 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.14 ผลของการจำลองการจับกันเชิงโมเลกุลของกรดเฮกซะเดคาโนอิกที่บริเวณเร่งของ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรส

ตัวอย่าง	เอนไซม์	ค่าสามารถในการ เข้าจับของลิแกนด์ (กิโลแคลอรีต่อ โมล)	ค่าคงที่การ ยับยั้ง K_i (ไมโครโม ลาร์)	กรด อะมิโน	ความยาว พันธะ (อังสตรอม)	ชนิดพันธะ
กรดเฮกซะเด คาโนอิก	แอลฟา-กลูโค ซิเดส	-5.4	43	TYR1251	3.68	ไฮโดรโฟบิก
				ILE1315	3.39	ไฮโดรโฟบิก
				TRP1355	3.55	ไฮโดรโฟบิก
				TRP1369	3.69	ไฮโดรโฟบิก
				PHE1427	3.90	ไฮโดรโฟบิก
				PHE1559	3.71	ไฮโดรโฟบิก
แอสทิลโคลีน เอสเทอเรส	แอสทิลโคลีน เอสเทอเรส	-6.5	41	TRP86	3.45	ไฮโดรโฟบิก
				TRP286	3.71	ไฮโดรโฟบิก
				TYR337	3.68	ไฮโดรโฟบิก
				PHE338	3.62	ไฮโดรโฟบิก
				TYR341	3.71	ไฮโดรโฟบิก
				TYR337	3.04	พันธะ ไฮโดรเจน
				TYR341	2.93	พันธะ ไฮโดรเจน



ภาพที่ 4.17 แสดงการจับกันระหว่างกรดเฮกซะเดคาโนอิกที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส (ก) และ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (ข)

บทที่ 5

สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 5 ชนิด ประกอบด้วย เห็ดตับเต่า (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้งแดงคราม (M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) เห็ดผึ้งแดง (M5) และหาปริมาณสารโอสตีเอไมด์จากเห็ดแครง และปริมาณสารกรดเฮกซะเดคาโนอิกจากเห็ดผึ้งหวาน นอกจากนี้ยังได้ศึกษาหน้าที่ทางชีวภาพของสารโอสตีเอไมด์ และกรดเฮกซะเดคาโนอิก ในการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวานคือเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์คือเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส

ผลการทดลองพบว่า ปริมาณฟีนอลิก และปริมาณฟลาโวนอยด์ของเห็ดทั้ง 5 ชนิดมีค่าปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 22,000, 415, 5,725, 473 และ 5,468 ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 2,682, 389, 2,059, 108 และ 831 ไมโครกรัมสมมูลเควอิตินต่อกรัม น้ำหนักแห้งสำหรับ เห็ดตับเต่า (M1) เห็ดแครง (M2) เห็ดผึ้งแดงคราม (M3) เห็ดผึ้งหวาน (M4) และเห็ดผึ้งแดง M5 ตามลำดับ

เมื่อนำสารสกัดจากเห็ดแครง (M2) และเห็ดผึ้งหวาน (M4) ไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (PTLC) โดยใช้ตัวทำละลาย คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (5:5 v/v) และ เมทานอล:คลอโรฟอร์ม:น้ำปราศจากไอออน (51:42:7 v/v/v) จะได้สารบริสุทธิ์ M2P สำหรับเห็ดแครง และ M4P สำหรับเห็ดผึ้งหวานและ เมื่อเปรียบเทียบสารบริสุทธิ์ M2P กับสารมาตรฐานโอสตีเอไมด์ และ M4P ไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิกด้วยเทคนิค TLC พบว่ามีระยะทางการเคลื่อนที่เท่ากัน

นำสารสกัด M2 และ M4 และสารบริสุทธิ์ M2P และ M4P ไปทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระ พบว่าการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดทั้งสองชนิด M2 และ M4 มีประสิทธิภาพที่สูงกว่าสารบริสุทธิ์ M2P และ M4P นอกจากนี้ยังได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด M2 และ M4 และสารบริสุทธิ์ M2P และ M4P สารมาตรฐานโอสตีเอไมด์ สารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก รวมถึงยามาตรฐานอะคาร์โบส และทาครีน ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส ผลการทดลองพบว่าสารบริสุทธิ์ M2P และ M4P มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และ เอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสมากกว่าสารสกัด M2 และ M4 แต่อย่างไรก็ตามสารมาตรฐานโอสตีเอไมด์ และ กรดเฮกซะเดคาโนอิก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และ เอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสน้อยกว่ายามาตรฐานอะคาร์โบส และทาครีนตามลำดับ และเมื่อศึกษาชนิดของการยับยั้งของสารสกัด M2 สารบริสุทธิ์ M2P และสารมาตรฐานโอสตีเอไมด์ ต่อ

เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และ เอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรส เป็นแบบผสม โดยมีค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ 3.80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 0.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.81 มิลลิโมลาร์ตามลำดับ และต่อเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสที่ 0.016 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 0.022 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.070 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P และ สารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก ต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เป็นแบบผสม แบบแข่งขัน และ แบบไม่แข่งขันชนิด non-competitive ตามลำดับ โดยมีค่าคงที่การยับยั้งของ M4 ที่ 0.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของ M4P ที่ 0.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กรดเฮกซะเดคาโนอิกที่ 6.09 มิลลิโมลาร์และ เมื่อทดสอบกับเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด M4 สารบริสุทธิ์ M4P และสารมาตรฐานกรดเฮกซะเดคาโนอิก มีชนิดของการยับยั้งแบบผสม โดยมีค่าคงที่การยับยั้งเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 0.304 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 0.019 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ

จากการจำลองการจับกันเชิงโมเลกุลของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสต่อโอลีเอไมด์พบว่ามีการจับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสโดยมีค่าประสิทธิภาพของการจับและ ค่าคงที่ของการยับยั้งเท่ากับ -5.9 กิโลแคลอรีต่อโมล และ 47 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ และเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสโดยมีค่าประสิทธิภาพของการจับ -6.6 กิโลแคลอรีต่อโมลและ ค่าคงที่ของการยับยั้ง 14 ไมโครโมลาร์ เช่นเดียวกับกรดเฮกซะเดคาโนอิกมีการจับกับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสโดยมีค่าประสิทธิภาพของการจับและ ค่าคงที่ของการยับยั้งเท่ากับ -5.4 กิโลแคลอรีต่อโมล และ 43 ไมโครโมลาร์ตามลำดับและเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรส โดยมีค่าประสิทธิภาพของการจับ -6.5 กิโลแคลอรีต่อโมลและค่าคงที่ของการยับยั้ง 41 ไมโครโมลาร์ ซึ่งผลการจำลองการจับกันเชิงโมเลกุลจะแสดงให้เห็นว่าโอลีเอไมด์และกรดเฮกซะเดคาโนอิกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีว่าเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ซึ่งจากผลการศึกษาดังกล่าวจะพบว่า โอลีเอไมด์ จากเห็ดแครงและ กรดเฮกซะเดคาโนอิก จากเห็ดผึ้งหวานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอสติลโคลีนเอสเทอเรสที่ดี ที่สามารถนำไปพัฒนา และเป็นองค์ความรู้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้ในอนาคต

บรรณานุกรม

- [1] Digital Government Development Agency Thailand. *Number of non communicable outpatient patients (online)*, 2023, Available: <https://data.go.th/en/dataset/gdpublish-dms-05-01> (7 December).
- [2] Department of Older Persons. *Statistics on the Elderly in April 2024 (online)*, 2024, Available: https://www.dop.go.th/th/statistics_page?cat=1&id=2552 (6 December).
- [3] Elderly Potential Promotion Division. *Current aging society and economy in Thailand (online)*, 2023, Available: <https://www.dop.go.th/th/know/15/926> (23 December).
- [4] J. Griffiths, L. Thaikruea, N. Wongpakaran, & P. Munkhetvit, "Prevalence of mild cognitive impairment in rural thai older people, associated risk factors and their cognitive characteristics," *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra*, vol. 10, no. 1, pp. 38-45, January-April 2020.
- [5] J. A. Soria Lopez, H. M. González, & G. C. Léger, "Chapter 13 - Alzheimer's disease," in *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 167, S. T. Dekosky and S. Asthana Eds.: Elsevier, 2019, pp. 231-255.
- [6] K. Kulkantrakorn, "Dementia and alzheimer's disease (Thai)," *Thammasat Medical Journal*, vol. 18, no. 3, pp. 442-468, 19 October 2018.
- [7] K. Vichaichanakul & I. Kanchanaphibool, "PND2 - Economic Burden of Drug use in Patients with Alzheimer's Disease at Phramongkutklo Hospital and Medical College, Thailand: A 5-Year Trend Analysis," *Value in Health*, vol. 17, no. 7, p. A809, 1 November 2014.
- [8] K. Kongpakwattana, C. Dejthevaporn, O. Krairit, P. Dilokthornsakul, D. Mohan, & N. Chaiyakunapruk, "A Real-World Evidence Analysis of Associations Among Costs, Quality of Life, and Disease-Severity Indicators of Alzheimer's Disease in Thailand," *Value in Health*, vol. 22, no. 10, pp. 1137-1145, October 2019.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [9] D. M. Nathan *et al.*, "Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes," *Diabetes care*, vol. 29, no. 8, pp. 1963-1972, August 2006.
- [10] R. A. DeFronzo, "Pharmacologic Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus," *Annals of Internal Medicine*, vol. 131, no. 4, pp. 281-303, 17 August 1999.
- [11] A. Riewpaiboon, P. Pornlertwadee, & K. Pongsawat, "Diabetes Cost Model of a Hospital in Thailand," *Value in Health*, vol. 10, no. 4, pp. 223-230, Jul-Aug 2007.
- [12] C. Deerochanawong & A. Ferrario, "Diabetes management in Thailand: a literature review of the burden, costs, and outcomes," *Globalization and Health*, vol. 9, no. 1, p. 11, 14 Mar 2013.
- [13] M. E. Valverde, T. Hernández-Pérez, & O. Paredes-López, "Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life," *International Journal of Microbiology*, vol. 2015, pp. 1-14, 2015.
- [14] P. Zięba, A. Sękara, K. Sułkowska-Ziaja, & B. Muszyńska, "Culinary and Medicinal Mushrooms: Insight into Growing Technologies," *Acta Mycologica*, vol. 55, no. 2, 2021.
- [15] P. Ruksawong & T. W. Flege, S. Iamthanamat and A. Siriaothar, Eds. *THAI MASHROOMS AND OTHER FUNGI*. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), 2001.
- [16] L. Lange, "The importance of fungi and mycology for addressing major global challenges," *IMA Fungus*, vol. 5, pp. 463-471, December 2014.
- [17] P. C. K. Cheung, "The nutritional and health benefits of mushrooms," *Nutrition Bulletin*, vol. 35, no. 4, pp. 292-299, 2010.
- [18] D. J. Royse, J. Baars, & Q. Tan, "Current Overview of Mushroom Production in the World," in *Edible and Medicinal Mushrooms*, 2017, pp. 5-13.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [19] C. Hobbs, "The chemistry, nutritional value, immunopharmacology, and safety of the traditional food of medicinal split-gill fungus *Schizophyllum commune* Fr.: Fr.(Schizophyllaceae). A literature review," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 7, no. 1&2, pp. 127-140, 2005.
- [20] K. Mori, "Cultivated Mushrooms in Japan," in *Developments in Crop Science*, vol. 10, P. J. Wuest, D. J. Royse, and R. B. Beelman Eds., (Developments in Crop Science: Elsevier, 1987, pp. 455-459.
- [21] G. M. Halpern & A. P. Miller, *Medicinal mushrooms: Ancient remedies for modern ailments*. Rowman & Littlefield, 2002.
- [22] U. Klinhom, *Clarification Traditional Medicine in Palm Manuscript, Northeastern Thailand: Mak Mai Fever Case Study* vol. 52-029. Health Systems Research Institute, 2009.
- [23] S. Chiba, "Molecular Mechanism in α -Glucosidase and Glucoamylase," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 61, no. 8, pp. 1233-1239, August 1997.
- [24] S. W. You, R. T. Hoskin, S. Komarnytsky, & M. Moncada, "Mushrooms as Functional and Nutritious Food Ingredients for Multiple Applications," *ACS Food Science & Technology*, vol. 2, no. 8, pp. 1184-1195, 2022.
- [25] G. Deng, J. Li, H. Liu, & Y. Wang, "Volatile compounds and aroma characteristics of mushrooms: a review," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp. 1-18, 3 October 2023.
- [26] K. Kumar *et al.*, "Edible Mushrooms: A Comprehensive Review on Bioactive Compounds with Health Benefits and Processing Aspects," *Foods*, vol. 10, no. 12, p. 2996, 4 December 2021.
- [27] S. Sornkhwan, S. Sansenya, S. Chumanee, & C. Sricheewin, "Evaluation of biological activity and amino acid profile of protein from Thai edible insects," *Food Research*, vol. 8, pp. 301-308, 8 July 2024.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [28] J. A. Vaz, L. Barros, A. Martins, C. Santos-Buelga, M. H. Vasconcelos, & I. C. F. R. Ferreira, "Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions," *Food Chemistry*, vol. 126, no. 2, pp. 610-616, 15 May 2011.
- [29] S. C. Punitha & M. Rajasekaran, "Free radical scavenging activity of fruiting body extracts of an edible mushroom, *Volvariella volvacea* (Bull. ex Fr.) Singer: an in vitro study," *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, vol. 4, no. 30, pp. 6-11, April 2014.
- [30] G. Anusiya *et al.*, "A review of the therapeutic and biological effects of edible and wild mushrooms," *Bioengineered*, vol. 12, no. 2, pp. 11239-11268, 28 October 2021.
- [31] J. A. Jovanović, M. Mihailović, A. Uskoković, N. Grdović, S. Dinić, & M. Vidaković, "The Effects of Major Mushroom Bioactive Compounds on Mechanisms That Control Blood Glucose Level," *Journal of Fungi*, vol. 7, no. 1, p. 58, 16 January 2021.
- [32] R. Tundis *et al.*, "In Vitro Hypolipidemic and Hypoglycaemic Properties of Mushroom Extracts," in *The 2nd International Electronic Conference on Foods "Future Foods and Food Technologies for a Sustainable World"*, A. Durazzo, Ed., 2021, vol. 6, no. 61: MDPI, doi: 10.3390/foods2021-10925. [Online]. Available: <https://dx.doi.org/10.3390/foods2021-10925>
- [33] T. M. Costa *et al.*, "Kinetics Analysis of the Inhibitory Effects of Alpha-Glucosidase and Identification of Compounds from *Ganoderma lipsiense* Mycelium," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 191, no. 3, pp. 996-1009, 17 January 2020.
- [34] E. Deveci, F. Çayan, G. Tel-Çayan, & M. E. Duru, "Inhibitory activities of medicinal mushrooms on α -amylase and α -glucosidase-enzymes related to type 2 diabetes," *South African Journal of Botany*, vol. 137, pp. 19-23, 1 March 2021.
- [35] J. Mišković *et al.*, "Mushroom Species *Stereum hirsutum* as Natural Source of Phenolics and Fatty Acids as Antioxidants and Acetylcholinesterase Inhibitors," *Chemistry & Biodiversity*, vol. 18, no. 11, p. e2100409, 1 September 2021.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [36] P. J. Houghton, Y. Ren, & M. J. Howes, "Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi," *Natural Product Reports*, 10.1039/B508966M vol. 23, no. 2, pp. 181-199, August 2006.
- [37] S. Zhao *et al.*, "Immunomodulatory Effects of Edible and Medicinal Mushrooms and Their Bioactive Immunoregulatory Products," *Journal of Fungi*, vol. 6, no. 4, p. 269, 8 November 2020.
- [38] G. Ma, W. Yang, L. Zhao, F. Pei, D. Fang, & Q. Hu, "A critical review on the health promoting effects of mushrooms nutraceuticals," *Food Science and Human Wellness*, vol. 7, no. 2, pp. 125-133, 1 June 2018.
- [39] T. Mizuno, "Bioactive biomolecules of mushrooms: Food function and medicinal effect of mushroom fungi," *Food Reviews International*, vol. 11, no. 1, pp. 5-21, 2 January 1995.
- [40] A. P. Desbois, "Potential Applications of Antimicrobial Fatty Acids in Medicine, Agriculture and Other Industries," *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, vol. 7, no. 2, pp. 111-122, August 2012.
- [41] C.-H. Su, C.-H. Hsu, & L.-T. Ng, "Inhibitory potential of fatty acids on key enzymes related to type 2 diabetes," *BioFactors*, vol. 39, no. 4, pp. 415-421, 7 January 2013.
- [42] A. Turk *et al.*, " α -Glucosidase inhibitory fatty acids from *Morchella fluvialis* mushroom," *Folia Horticulturae*, vol. 35, no. 2, pp. 369-379, 31 December 2023.
- [43] M. B. Akay, K. Şener, S. Sari, & E. Bodur, "Inhibitory Action of Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids Alpha-Linolenic, Arachidonic and Linoleic acid on Human Erythrocyte Acetylcholinesterase," *The Protein Journal*, vol. 42, no. 2, pp. 96-103, April 2023.
- [44] T. O. Elufioye, C. G. Chinaka, & A. Oyedeji, "Antioxidant and Anticholinesterase Activities of *Macrosphyra Longistyla* (DC) Hiern Relevant in the Management of Alzheimer's Disease," *Antioxidants*, vol. 8, no. 9, p. 400, 16 September 2019.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [45] K. Kaewnarin, N. Suwannarach, J. Kumla, & S. Lumyong, "Phenolic profile of various wild edible mushroom extracts from Thailand and their antioxidant properties, anti-tyrosinase and hyperglycaemic inhibitory activities," *Journal of Functional Foods*, vol. 27, pp. 352-364, 10 September 2016.
- [46] Z. Sun *et al.*, "Pyrrole Alkaloids from the Edible Mushroom *Phlebopus portentosus* with Their Bioactive Activities," *Molecules*, vol. 23, no. 5, p. 1198, 17 May 2018.
- [47] L. S. Devi, A. Dasgupta, M. Chakraborty, S. Borthakur, & N. I. Singh, "Chemical composition and antioxidant activity of *Schizophyllum commune*," *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, vol. 27, no. 2, pp. 173-177, 31 August 2014.
- [48] S. S. Vidović, I. O. Mujić, Z. P. Zeković, Ž. D. Lepojević, V. T. Tumbas, & A. I. Mujić, "Antioxidant Properties of Selected *Boletus* Mushrooms," *Food Biophysics*, vol. 5, no. 1, pp. 49-58, 5 December 2010.
- [49] A. Luo, A. Luo, J. Huang, & Y. Fan, "Purification, Characterization and Antioxidant Activities in Vitro and in Vivo of the Polysaccharides from *Boletus edulis* Bull," *Molecules*, vol. 17, no. 7, pp. 8079-8090, 5 July 2012.
- [50] L. Guo, N. Lan, H. Li, P. Xiang, & H. Kan, "Effect of hot air drying temperature on the quality and antioxidant activity of *Boletus edulis* Bull.: Fr," *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 45, no. 6, p. e15540, 30 March 2021.
- [51] S. Jiamworanunkul & P. Chomcheon, "Screening of antimicrobial and antioxidant properties of ethyl acetate extracts from wild edible mushrooms," *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences (TJPS)*, vol. 43, no. 3, 30 September 2015.
- [52] J. W. Taylor & C. E. Ellison, "Mushrooms: Morphological complexity in the fungi," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 107, no. 26, pp. 11655-11656, 29 January 2010.
- [53] ชูลี ชัยศรีสุข, พันธุศาสตร์ของเชื้อรา. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.
- [54] ราชบัณฑิตยสถาน, เห็ดกินได้และเห็ดมีพิษในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: ราชบัณฑิตยสถาน, 2539.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [55] E. Maldonado, "The Mushroom Life Cycle," (2019), Forest_origins_mushroom_life_cycle_copyright_1100x.png, Ed., ed. Kansas: Forest Origins Limited Liability Company.
- [56] A. Chandrasrikul *et al.*, *Checklist of Mushrooms (Basidiomycetes) in Thailand* ONEP Biodiversity Series vol. ONEP Biodiversity. Bangkok: Biodiversity Management Division, 2011.
- [57] E. P. Feofilova, "The Kingdom Fungi: Heterogeneity of Physiological and Biochemical Properties and Relationships with Plants, Animals, and Prokaryotes (Review)," *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 37, no. 2, pp. 124-137, 2001.
- [58] N. Sanoamuang, *Things to know about mold*. Khon Kaen, Thailand: Khon Kaen University, 2000.
- [59] M. Campi *et al.*, "Biochemical, nutritional, and toxicological properties of the edible species *Phlebopus beniensis* with ethnomycological notes from Paraguay," *Brazilian Journal of Food Technology*, vol. 26, 2023.
- [60] Biodiversity Management Division. *Phlebopus portentosus* (online), 2020, Available: <https://thbif.onep.go.th/taxons/detail/31621#> (20 October).
- [61] อุษา กลิ่นหอม & วินัย กลิ่นหอม, มุลนิธิรักษ้อีสาน, Ed. ความหลากหลายของกลุ่มเห็ดผึ้งในภาคอีสาน. มหาสารคาม: อภิชาติการพิมพ์, 2550.
- [62] วินัย กลิ่นหอม, อุษา กลิ่นหอม, & อภิญญา ต้นทวิวงศ์, 57 เห็ดเป็นยาแห่งป่าอีสาน. กรุงเทพฯ: มุลนิธิสุขภาพไทย, 2548.
- [63] Biodiversity Management Division. *Schizophyllum commune* (online), 2023, Available: <https://thbif.onep.go.th/taxons/detail/45398> (20 November).
- [64] B. Du, H. Zeng, Y. Yang, Z. Bian, & B. Xu, "Anti-inflammatory activity of polysaccharide from *Schizophyllum commune* as affected by ultrasonication," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 91, pp. 100-105, 10 January 2016.
- [65] Biodiversity Management Division. *Boletus aemilii* (online), 2020, Available: <https://thbif.onep.go.th/taxons/detail/5493> (20 November).

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [66] Global Biodiversity Information Facility. *Boletus aemilii* Barbier (online), 1915, Available: <https://www.gbif.org/species/6016174> (29 October 2023).
- [67] Centre of Studies for Rambouillet and its forest. *Boletus aemilii* Barbier (online), 2018, Available: <http://www.mycobident.eu/Pages/Boletus/BoletusAemilii/BoletusAemilii.php> (29 October).
- [68] S. Seehanan & V. Phetcharat, "Some species of wild Boletes in Thailand," *International Journal of Agricultural Technology*, vol. 4, no. 1, pp. 109-118, June 2008.
- [69] I. Palacios *et al.*, "Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms," *Food Chemistry*, vol. 128, no. 3, pp. 674-678, 01 October 2011.
- [70] A. Dundar *et al.*, "Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and anticholinesterase activities of seven mushroom species with their phenolic acid composition," *J Hortic*, vol. 2, no. 4, pp. 1-7, 30 September 2015.
- [71] Global Biodiversity Information Facility. *Heimioporus japonicus* (Hongo) E.Horak (online), 2004, Available: <https://www.gbif.org/species/2524662> (29 October).
- [72] Biodiversity Management Division. *Heimioporus japonicus* (online), 2023, Available: <https://thbif.onep.go.th/taxons/detail/19520> (20 October).
- [73] J. B. Harborne, "Phenolic Compounds," in *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1973, ch. Chapter 2, pp. 33-88. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*.
- [74] S. Sheng, T. Li, & R. Liu, "Corn phytochemicals and their health benefits," (2018) in *Food Science and Human Wellness* vol. 7, ed, pp. 185-195.
- [75] P. Mattila *et al.*, "Contents of Vitamins, Mineral Elements, and Some Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, no. 5, pp. 2343-2348, 26 May 2001.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [76] R. A. Mustafa, A. A. Hamid, S. Mohamed, & F. A. Bakar, "Total Phenolic Compounds, Flavonoids, and Radical Scavenging Activity of 21 Selected Tropical Plants," *Journal of Food Science*, vol. 75, no. 1, pp. C28-C35, 01 January 2010.
- [77] Y.-C. Kim, D. Choi, J. H. Lee, & S. Lee, "Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity in Different Pepper Cultivars (*Capsicum annuum* L.)," *Horticultural Science and Technology*, vol. 36, no. 3, pp. 444-450, 26 January 2018.
- [78] A. N. Panche, A. D. Diwan, & S. R. Chandra, "Flavonoids: an overview," *Journal of Nutritional Science*, vol. 5, p. e47, 5 October 2016.
- [79] M. Ali Asgar, "Anti-Diabetic Potential of Phenolic Compounds: A Review," *International Journal of Food Properties*, vol. 16, no. 1, pp. 91-103, 2 November 2013.
- [80] I. Uriarte-Pueyo & M. I. Calvo, "Flavonoids as Acetylcholinesterase Inhibitors," *Current Medicinal Chemistry*, vol. 18, no. 34, pp. 5289-5302, 20 July 2011.
- [81] J. Ziegler & P. J. Facchini, "Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking," *Annual Review of Plant Biology*, vol. 59, no. Volume 59, 2008, pp. 735-769, 2008.
- [82] M. Heinrich, J. Mah, & V. Amirkia, "Alkaloids Used as Medicines: Structural Phytochemistry Meets Biodiversity—An Update and Forward Look," *Molecules*, vol. 26, no. 7, p. 1836, 2021.
- [83] E. L. Johnson & S. D. Emche, "Variation of Alkaloid Content in *Erythroxylum coca* Leaves from Leaf Bud to Leaf Drop," *Annals of Botany*, vol. 73, no. 6, pp. 645-650, 6 January 1994.
- [84] J. G. Zorrilla & A. Evidente, "Structures and Biological Activities of Alkaloids Produced by Mushrooms, a Fungal Subgroup," *Biomolecules*, vol. 12, no. 8, p. 1025, 24 July 2022.
- [85] T.-P. Yin *et al.*, "Alkaloids with antioxidant activities from *Aconitum handelianum*," *Journal of Asian Natural Products Research*, vol. 18, no. 6, pp. 603-610, 6 February 2016.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [86] Y. Liu, Y. Cui, L. Lu, Y. Gong, W. Han, & G. Piao, "Natural indole-containing alkaloids and their antibacterial activities," *Archiv der Pharmazie*, vol. 353, no. 10, p. 2000120, 10 January 2020.
- [87] P. Shagufta, "Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids," in *Terpenes and Terpenoids*, P. Shagufta and A.-T. Areej Eds. Rijeka: IntechOpen, 2018, p. Ch. 1.
- [88] S. D. Tetali, "Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use," *Planta*, vol. 249, no. 1, pp. 1-8, 22 November 2019.
- [89] E. Gonzalez-Burgos & M. P. Gomez-Serranillos, "Terpene Compounds in Nature: A Review of Their Potential Antioxidant Activity," *Current Medicinal Chemistry*, vol. 19, no. 31, pp. 5319-5341, 2012.
- [90] K. Papoutsis, J. Zhang, M. C. Bowyer, N. Brunton, E. R. Gibney, & J. Lyng, "Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review," *Food Chemistry*, vol. 338, p. 128119, 15 February 2021.
- [91] A. H. Lichtenstein, "Lipids (fats and oils)," in *Encyclopedia of Human Nutrition (Fourth Edition)*, B. Caballero Ed. Oxford: Academic Press, 2023, pp. 291-300.
- [92] C. C. Akoh & D. B. Min, *Food Lipids*, D. B. M. Casimir C. Akoh, ed., 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2002. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1201/9780203908815>. Accessed on: 17 April 2024.
- [93] A. T. James, "The biosynthesis of long-chain saturated and unsaturated fatty acids in isolated plant leaves," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Specialized Section on Lipids and Related Subjects*, vol. 70, pp. 9-19, 1 January 1963.
- [94] A. Sansone, M. Melchiorre, C. Chatgililoglu, & C. Ferreri, "Hexadecenoic Fatty Acid Isomers: A Chemical Biology Approach for Human Plasma Biomarker Development," *Chemical Research in Toxicology*, vol. 26, no. 11, pp. 1703-1709, 18 November 2013.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [95] A. M. Alkhaibari & A. D. Alanazi, "Chemical Composition and Insecticidal, Antiplasmodial, and Anti-Leishmanial Activity of *Capparis spinosa* Essential Oil and Its Main Constituents," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2022, pp. 1-9, 1 February 2022.
- [96] T. Ganesan, M. Subban, D. B. Christopher Leslee, S. B. Kuppannan, & P. Seedevi, "Structural characterization of n-hexadecanoic acid from the leaves of *Ipomoea eriocarpa* and its antioxidant and antibacterial activities," *Biomass Conversion and Biorefinery*, 16 November 2022.
- [97] A.-B. Oteng & S. Kersten, "Mechanisms of action of trans fatty acids," *Advances in nutrition*, vol. 11, no. 3, pp. 697-708, May 2020 2020.
- [98] X. Liu *et al.*, "Effects of canola and high-oleic-acid canola oils on abdominal fat mass in individuals with central obesity," *Obesity*, vol. 24, no. 11, pp. 2261-2268, 2 November 2016.
- [99] B. Choque, D. Catheline, V. Rioux, & P. Legrand, "Linoleic acid: Between doubts and certainties," *Biochimie*, vol. 96, pp. 14-21, 1 January 2014.
- [100] G. P. Mueller & W. J. Driscoll, "Chapter 3 Biosynthesis of Oleamide," in *Vitamins & Hormones*, vol. 81: Academic Press, 2009, pp. 55-78.
- [101] M. K. McKinney & B. F. Cravatt, "Structure and function of fatty acid amide hydrolase," *Annual Review of Biochemistry*, vol. 74, no. Volume 74, 2005, pp. 411-432, July 2005.
- [102] Z. Al Talebi, M. M. Karhib, M. M. Taki, E. Salaam Abood, H. A. Mubarak, & C. Sahar Ahmed Ibrahim, "Chemical Analysis, Antioxidant, and Antibacterial Potential of Aqueous Extract of Broccoli (*Brassica oleracea*) Using GC-ms," *Arch Razi Inst*, vol. 78, no. 2, pp. 593-599, April 2023.
- [103] O. M. Adetayo, A. S. Modupe, A. Sunday, O. O. Cecilia, A. A. Aminat, & O. I. Bola, "GC-MS Analysis, Antiglycation, Antioxidant and Anti-lipid Peroxidation Activities of *Harungana madagascariensis* Methanolic Stem Bark Extract," *Trends in Sciences*, vol. 20, no. 9, p. 5633, 31 May 2023.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [104] N. Phiantha, "Factors Affecting Hypoglycemia in Diabetes Patients Requiring Phayao Hospital Admission," University of Phayao, Phayao, 2013.
- [105] J. L. Chiang, M. S. Kirkman, L. M. B. Laffel, & A. L. Peters, "Type 1 Diabetes Through the Life Span: A Position Statement of the American Diabetes Association," *Diabetes Care*, vol. 37, no. 7, pp. 2034-2054, July 2014.
- [106] T. Zhang, M. Shaw, & N. Cherbuin, "Association between Type 2 Diabetes Mellitus and Brain Atrophy: A Meta-Analysis," *Diabetes & Metabolism Journal*, vol. 46, no. 5, pp. 781-802, September 2022.
- [107] A. Moongngarm, N. Daomukda, & S. Khumpika, "Chemical Compositions, Phytochemicals, and Antioxidant Capacity of Rice Bran, Rice Bran Layer, and Rice Germ," *APCBEE Procedia*, vol. 2, pp. 73-79, 1 January 2012.
- [108] A. Yavari *et al.*, " α -Glucosidase and α -amylase inhibition, molecular modeling and pharmacokinetic studies of new quinazolinone-1,2,3-triazole-acetamide derivatives," *Medicinal Chemistry Research*, vol. 30, no. 3, pp. 702-711, 09 January 2021.
- [109] T. Fujisawa, H. Ikegami, K. Inoue, Y. Kawabata, & T. Ogihara, "Effect of two α -glucosidase inhibitors, voglibose and acarbose, on postprandial hyperglycemia correlates with subjective abdominal symptoms," *Metabolism*, vol. 54, no. 3, pp. 387-390, 1 March 2005.
- [110] K. Yamamoto, H. Miyake, M. Kusunoki, & S. Osaki, "Crystal structures of isomaltase from *Saccharomyces cerevisiae* and in complex with its competitive inhibitor maltose," *The FEBS Journal*, vol. 277, no. 20, pp. 4205-4214, 5 August 2010.
- [111] D. L. Zechel & S. G. Withers, "Glycosidase Mechanisms: Anatomy of a Finely Tuned Catalyst," *Accounts of Chemical Research*, vol. 33, no. 1, pp. 11-18, January 2000.
- [112] A. Anji, H. Miller, C. Raman, M. Phillips, G. Ciment, & M. Kumari, "Expression of α -subunit of α -glucosidase II in adult mouse brain regions and selected organs," *Journal of Neuroscience Research*, vol. 93, no. 1, pp. 82-93, January 2015.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [113] H. E. Lebovitz, "ALPHA-GLUCOSIDASE INHIBITORS," *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, vol. 26, no. 3, pp. 539-551, 1 September 1997.
- [114] K. J. M. Abesundara, T. Matsui, & K. Matsumoto, " α -Glucosidase Inhibitory Activity of Some Sri Lanka Plant Extracts, One of Which, *Cassia auriculata*, Exerts a Strong Antihyperglycemic Effect in Rats Comparable to the Therapeutic Drug Acarbose," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, no. 9, pp. 2541-2545, 31 March 2004.
- [115] P. Permpol, "Efficacy and Safety of Mathurameha (Nirund Pongsoiphet and Foundation for the promotion of Thai Traditional Medicine Formula) for type 2 diabetes mellitus treatment.," Master of Sciences, Faculty of Medicine, Thammasat University, 2025.
- [116] S. Elsemelawy, M. Gharib, & Y. Elhassaneen, "Reishi Mushroom (*Ganoderma lucidum*) Extract Ameliorate Hyperglycemia and Liver/Kidney Functions in Streptozotocin-induced Type 2 Diabetic Rats," *Bulletin of the National Nutrition Institute of the Arab Republic of Egypt*, vol. 57, no. 1, pp. 74-107, June 2021.
- [117] V. H. Finder, "Alzheimer's Disease: A General Introduction and Pathomechanism," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 22, pp. S5-S19, 20 July 2010.
- [118] P. S. Aisen *et al.*, "Effects of Rofecoxib or Naproxen vs Placebo on Alzheimer Disease ProgressionA Randomized Controlled Trial," *JAMA*, vol. 289, no. 21, pp. 2819-2826, 4 June 2003.
- [119] S. Goswami, A. Saoji, N. Kumar, V. Thawani, M. Tiwari, & M. Thawani, "Effect of *Bacopa monnieri* on cognitive functions in Alzheimer's disease patients," *Int J Collaborat Res Int Med Public Health*, vol. 3, pp. 285-293, April 2011.
- [120] Yanshree, W. S. Yu, M. L. Fung, C. W. Lee, L. W. Lim, & K. H. Wong, "The Monkey Head Mushroom and Memory Enhancement in Alzheimer's Disease," *Cells*, vol. 11, no. 15, p. 2284, 24 July 2022.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [121] Y. Saitsu, A. Nishide, K. Kikushima, K. Shimizu, & K. Ohnuki, "Improvement of cognitive functions by oral intake of *Heridium erinaceus*," *Biomedical Research*, vol. 40, no. 4, pp. 125-131, 19 March 2019.
- [122] H. Dvir, I. Silman, M. Harel, T. L. Rosenberry, & J. L. Sussman, "Acetylcholinesterase: From 3D structure to function," *Chemico-Biological Interactions*, vol. 187, no. 1-3, pp. 10-22, 6 September 2010.
- [123] H. M. Greenblatt *et al.*, "The Complex of a Bivalent Derivative of Galanthamine with Torpedo Acetylcholinesterase Displays Drastic Deformation of the Active-Site Gorge: Implications for Structure-Based Drug Design," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, no. 47, pp. 15405-15411, 9 June 2004.
- [124] M. R. Deschenes, "Adaptations of the neuromuscular junction to exercise training," *Current Opinion in Physiology*, vol. 10, pp. 10-16, 21 April 2019.
- [125] R. R. Kaizer *et al.*, "Effect of Long-Term Exposure to Aluminum on the Acetylcholinesterase Activity in the Central Nervous System and Erythrocytes," *Neurochemical Research*, vol. 33, no. 11, pp. 2294-2301, 21 April 2008.
- [126] K. Archanachai, S. Teepoo, & S. Sansenya, "Effect of gamma irradiation on growth, proline content, bioactive compound changes, and biological activity of 5 popular Thai rice cultivars," *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 132, no. 4, pp. 372-380, 1 October 2021.
- [127] S. Sansenya & K. Nanok, " α -glucosidase, α -amylase inhibitory potential and antioxidant activity of fragrant black rice (Thai coloured rice)," *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 35, no. 4, pp. 376-386, 12 March 2020.
- [128] K. Nanok & S. Sansenya, " α -Glucosidase, α -amylase, and tyrosinase inhibitory potential of capsaicin and dihydrocapsaicin," *Journal of Food Biochemistry*, vol. 44, no. 1, p. e13099, 28 October 2019.
- [129] P. Mansalai, N. Intanon, A. Payaka, S. Wattanalaorsomboon, C. Chinvongamorn, & S. Sansenya, "Inhibition potential against acetylcholinesterase of commercial and extracts of capsaicin and dihydrocapsaicin by in vitro and in silico studies," *Process Biochemistry*, vol. 136, pp. 341-350, 11 December 2024.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [130] K. Tomioka, T. Ishiguro, & K. Koga, "Asymmetric total synthesis of the antileukaemic lignans (+)-trans-burseran and (–)-isostegane," *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 10.1039/C39790000652 no. 15, pp. 652-653, 1 January 1979.
- [131] K. Tomioka, T. Ishiguro, Y. Iitaka, & K. Koga, "Asymmetric total synthesis of natural (–)-and unnatural (+)-steganacin: Determination of the absolute configuration of natural antitumor steganacin," *Tetrahedron*, vol. 40, no. 8, pp. 1303-1312, 1 January 1984.
- [132] W. S. Sung, H. J. Jung, K. Park, H. S. Kim, I.-S. Lee, & D. G. Lee, "2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone (DMHF); antimicrobial compound with cell cycle arrest in nosocomial pathogens," *Life Sciences*, vol. 80, no. 6, pp. 586-591, 16 January 2007.
- [133] H.-J. Kim *et al.*, "Lipid Lowering and Antioxidant Effects of Newly Synthesized 4-[(Butylsulfinyl)methyl]-1,2-benzenediol (SMBD) in Diet-induced Hypercholesterolemic Rabbits," *Bulletin of the Korean Chemical Society*, vol. 31, no. 11, pp. 3327-3332, 20 November 2010.
- [134] S. Mathew, Z. A. Zakaria, & N. F. Musa, "Antioxidant property and chemical profile of pyroligneous acid from pineapple plant waste biomass," *Process Biochemistry*, vol. 50, no. 11, pp. 1985-1992, 9 July 2015.
- [135] G.-H. Jo *et al.*, "Anti-Inflammatory Potential of Newly Synthesized 4-[(Butylsulfinyl)methyl]-1,2-benzenediol in Lipopolysaccharide-Stimulated BV2 Microglia," *Molecules*, vol. 19, no. 10, pp. 16609-16623, 5 October 2014.
- [136] Z. Li, Z. Zhang, L. Wu, H. Zhang, & Z. Wang, "Characterization of Five Kinds of Wood Vinegar Obtained from Agricultural and Forestry Wastes and Identification of Major Antioxidants in Wood Vinegar," *Chemical Research in Chinese Universities*, vol. 35, no. 1, pp. 12-20, 9 January 2019.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [137] O. A. Olalubi, A. T. Ajiboye, H. T. Abdulameed, & N. N. S. N. M. Kamal, "Gas Chromatography – Mass Spectrometry Analysis and in Silico Antimalarial Activity Studies of Compounds from Leaves Extracts of *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze," *Journal of Complementary and Alternative Medical Research*, vol. 25, no. 9, pp. 18-32, 17 August 2024.
- [138] A. M. Khabibrakhmanova *et al.*, "The Novel Chiral 2(5H)-Furanone Sulfones Possessing Terpene Moiety: Synthesis and Biological Activity," *Molecules*, vol. 28, no. 6, p. 2543, 10 March 2023.
- [139] A. Byczek-Wyrostek, R. Kitel, K. Rumak, M. Skonieczna, A. Kasprzycka, & K. Walczak, "Simple 2(5H)-furanone derivatives with selective cytotoxicity towards non-small cell lung cancer cell line A549 – Synthesis, structure-activity relationship and biological evaluation," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 150, pp. 687-697, 25 April 2018.
- [140] I. S. Sharafutdinov *et al.*, "Increasing Susceptibility of Drug-Resistant *Candida albicans* to Fluconazole and Terbinafine by 2(5H)-Furanone Derivative," *Molecules*, vol. 25, no. 3, p. 642, 2020.
- [141] J. M. Calderón-Montaña *et al.*, "Alpha, beta-unsaturated lactones 2-furanone and 2-pyrone induce cellular DNA damage, formation of topoisomerase I- and II-DNA complexes and cancer cell death," *Toxicology Letters*, vol. 222, no. 1, pp. 64-71, 5 July 2013.
- [142] C. N. Huhtanen, H. Trenchard, & L. Milnes-McCaffrey, "Inhibition of *Clostridium botulinum* in Comminuted Bacon by Short-Chain Alkynoic and Alkenoic Acids and Esters," *Journal of Food Protection*, vol. 48, no. 7, pp. 570-573, 4 September 1985.
- [143] K. Benlembarek, T. Lograd, M. Ramdani, G. Figueredo, & P. Chalard, "Chemical composition, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of *Taxus baccata* essential oil from Algeria," *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, vol. 22, no. 12, December 2021.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [144] V. Mamillapalli, A. R. Shaik, & P. R. Avula, "Antiasthmatic activity of 2-piperidone by selective animal models," *Journal of Research in Pharmacy*, vol. 24, no. 3, pp. 334-340, 3 February 2020.
- [145] R. Thangam *et al.*, "Antioxidant and In Vitro Anticancer Effect of 2-Pyrrolidinone Rich Fraction of *Brassica oleracea* var. *capitata* Through Induction of Apoptosis in Human Cancer Cells," *Phytotherapy Research*, vol. 27, no. 11, pp. 1664-1670, 4 January 2013.
- [146] S. Poyraz, H. A. Döndaş, N. Y. Döndaş, & J. M. Sansano, "Recent insights about pyrrolidine core skeletons in pharmacology," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 14, 6 September 2023.
- [147] P. Moutevelis-Minakakis *et al.*, "Synthesis, in silico docking experiments of new 2-pyrrolidinone derivatives and study of their anti-inflammatory activity," *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 19, no. 9, pp. 2888-2902, 18 March 2011.
- [148] S.-B. Ghaffari, M.-H. Sarrafzadeh, Z. Fakhroueian, S. Shahriari, & M. R. Khorrarnizadeh, "Functionalization of ZnO nanoparticles by 3-mercaptopropionic acid for aqueous curcumin delivery: Synthesis, characterization, and anticancer assessment," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 79, pp. 465-472, 10 May 2017.
- [149] A. Kumar, B. Mahanty, R. C. D. Goswami, P. K. Barooah, & B. Choudhury, "In vitro antidiabetic, antioxidant activities and GC-MS analysis of *Rhynchosyris Retusa* and *Euphorbia Neriifolia* leaf extracts," *3 Biotech*, vol. 11, no. 7, 6 June 2021.
- [150] S. Fridas, A. Trakatellis, E. Karagouni, E. Dotsika, C. Himonas, & P. Conti, "4-Deoxypyridoxine inhibits chronic granuloma formation induced by potassium permanganate in vivo," *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 136, no. 1, pp. 59-63, 2 March 1994.
- [151] M. Rodler, "Microwave spectrum, dipole moment, and structure of anti-vinyl alcohol," *Journal of Molecular Spectroscopy*, vol. 114, no. 1, pp. 23-30, 23 April 1985.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [152] S. Francis, V. A. Gideon, & S. J. Britto, "Antibacterial and GC-MS analysis of stem and leaf of *Premna paucinervis* (CB Clarke) gamble (*Lamiaceae*)—An endemic and rediscovered species," *International Journal of Botany Studies*, vol. 6, pp. 282-292, 23 March 2021.
- [153] K. Byju *et al.*, "DPPH Scavenging Property of Active Principles from Soft Coral *Sarcophyton Flexuosum* Tixier-Durivault," *Pharmaceutical Chemistry Journal*, vol. 49, no. 3, pp. 178-182, June 2015.
- [154] E. H. O. Moglad, M. S. Alhassan, E. A. Abdalkareem, A. N. Abdalla, & M. Kuse, "Ethyl acetate fraction of *Solanum nigrum* L.: Cytotoxicity, induction of apoptosis, cell cycle in breast cancer cells, and gas chromatography-mass spectrometry analysis," *Asian Journal of Pharmaceutics*, vol. 13, no. 3, pp. 246-251, 4 July 2019.
- [155] Z. Chen *et al.*, "Effect of hydroxyl on antioxidant properties of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one to scavenge free radicals," *RSC Advances*, vol. 11, no. 55, pp. 34456-34461, 12 October 2021.
- [156] J. O. Ban *et al.*, "Anti-proliferate and pro-apoptotic effects of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyranone through inactivation of NF- κ B in Human Colon Cancer Cells," *Archives of Pharmacal Research*, vol. 30, no. 11, pp. 1455-1463, 7 June 2007.
- [157] M. Lavanya, S. K. R. Namasivayam, A. Praveena, S. Priyanka, M. Kavisri, & M. Meivelu, "In silico analysis of plants biomass phytochemicals against β 2 adrenergic receptor," *Biomass Conversion and Biorefinery*, 17 April 2023.
- [158] I. B. Momodu, E. S. Okungbowa, B. O. Agoreyo, & M. M. Maliki, "Gas Chromatography – Mass Spectrometry Identification of Bioactive Compounds in Methanol and Aqueous Seed Extracts of *Azanza garckeana* Fruits," *Nigerian Journal of Biotechnology*, vol. 38, no. 1, pp. 25-38, May 2022.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [159] M. Sayuti, I. Supriatna, I. B. Hismayasari, I. G. A. Budiadyani, A. Yani, & S. Siti Asma, "Antioxidant Potentials and Fatty Acid Composition of Extracts *Sterculia Tragacantha* Lindl. Leaves from Raja Ampat West Papua Province Indonesia," *International Research Journal Of Pharmacy*, vol. 9, no. 10, pp. 58-63, 5 September 2018.
- [160] M. J. Kolar *et al.*, "Linoleic acid esters of hydroxy linoleic acids are anti-inflammatory lipids found in plants and mammals," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 294, no. 27, pp. 10698-10707, 31 May 2019.
- [161] J.-J. Li, C. J. Huang, & D. Xie, "Anti-obesity effects of conjugated linoleic acid, docosahexaenoic acid, and eicosapentaenoic acid," *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 52, no. 6, pp. 631-645, 16 November 2008.
- [162] C. A. Ukwubile, A. Ahmed, U. A. Katsayal, J. Ya'u, & S. Mejida, "GC-MS analysis of bioactive compounds from *Melastomastrum capitatum* (Vahl) Fern. leaf methanol extract: An anticancer plant," *Scientific African*, vol. 3, p. e00059, 18 April 2019.
- [163] M. Masendra, B. A. V. Purba, R. Arisandi, & G. Lukmandaru, "Chemical investigation of methanol extracts of *Swietenia mahagoni* leaves and its antioxidant activity," *Wood Research Journal*, vol. 5, no. 2, pp. 51-56, 2024.
- [164] Y. Y. Zhang, H. D. Wang, T. H. Ren, & M. R. Yi, "A comparative study of phenol-type antioxidants in methyl oleate with quantum calculations and experiments," *Lubrication Science*, vol. 16, no. 4, pp. 385-392, August 2004.
- [165] L. Zhang *et al.*, "Predicting the Pro-Inflammatory Effects of Oxidized Methyl Oleate Based on the Volatile Compounds," *Journal of Oleo Science*, vol. 73, no. 7, pp. 1001-1013, 30 April 2024.
- [166] O. D. DAILEY, X. WANG, F. CHEN, & G. HUANG, "Anticancer Activity of Branched-chain Derivatives of Oleic Acid," *Anticancer Research*, vol. 31, no. 10, pp. 3165-3169, October 2011.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [167] O. A. Eseyin *et al.*, "Phytochemical analysis and antioxidant activity of the seed of *Telfairia occidentalis* Hook (Cucurbitaceae)," *Natural Product Research*, vol. 32, no. 4, pp. 444-447, 11 Mar 2018.
- [168] Y.-C. Yoo *et al.*, "Isolation of fatty acids with anticancer activity from *Protaetia brevitarsis* Larva," *Archives of Pharmacal Research*, vol. 30, no. 3, pp. 361-365, 1 November 2007.
- [169] G. Autore *et al.*, "Acetamide Derivatives with Antioxidant Activity and Potential Anti-Inflammatory Activity," *Molecules*, vol. 15, no. 3, pp. 2028-2038, 23 March 2010.
- [170] P. S. Nayak, B. Narayana, B. K. Sarojini, K. Hegde, & K. S. Shashidhara, "Design and synthesis of novel heterocyclic acetamide derivatives for potential analgesic, anti-inflammatory, and antimicrobial activities," *Medicinal Chemistry Research*, vol. 23, no. 9, pp. 4280-4294, 17 March 2014.
- [171] M. Balaji, D. Thamilvanan, S. C. Vinayagam, & B. Balakumar, "Anticancer, antioxidant activity and GC-MS analysis of selected micro algal members of chlorophyceae," *Int. J. Pharm. Sci. Res*, vol. 8, pp. 3302-3314, 1 August 2017.
- [172] A. Hamed, M. Elawady, G. Ghada Abdel-Razik, M. Battah, & M. Hassan, "Bioactive metabolites from *Streptomyces* sp. RSE with potential anticancer and antioxidant activity," *Egyptian Journal of Chemistry*, vol. 64, no. 4, pp. 115-125, 03 October 2023.
- [173] V. L. Sparnins, P. J. Chapman, & S. Dagley, "Bacterial Degradation of 4-Hydroxyphenylacetic Acid and Homoprotocatechuic Acid," *Journal of Bacteriology*, vol. 120, no. 1, pp. 159-167, October 1974.
- [174] H. Zhao, Z. Jiang, X. Chang, H. Xue, W. Yahefu, & X. Zhang, "4-Hydroxyphenylacetic Acid Prevents Acute APAP-Induced Liver Injury by Increasing Phase II and Antioxidant Enzymes in Mice," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 9, 19 June 2018.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [175] R. Casadey, C. Challier, M. Altamirano, M. B. Spesia, & S. Criado, "Antioxidant and antimicrobial properties of tyrosol and derivative-compounds in the presence of vitamin B2. Assays of synergistic antioxidant effect with commercial food additives," *Food Chemistry*, vol. 335, p. 127576, 12 July 2021.
- [176] T. C. Yadav *et al.*, "Exploration of interaction mechanism of tyrosol as a potent anti-inflammatory agent," *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, vol. 38, no. 2, pp. 382-397, 19 Mar 2020.
- [177] R. Khosravi, B. Jamali, & M. Heidari, "Anti-Cancer Effects of Tyrosol on Breast Cancer Cell Line- Exploring the Action Mechanisms," *Human Genetics and Genomics*, vol. 7, no. 1, pp. 0-0, 27 June 2023.
- [178] B.-E. Amborabé, P. Fleurat-Lessard, J.-F. Chollet, & G. Roblin, "Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure–activity relationship," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 40, no. 12, pp. 1051-1060, 24 June 2002.
- [179] B. Velika & I. Kron, "Antioxidant properties of benzoic acid derivatives against Superoxide radical," *Free Radicals and Antioxidants*, vol. 2, no. 4, pp. 62-67, 8 November 2012.
- [180] J.-J. Chen, J.-Y. Cho, T.-L. Hwang, & I.-S. Chen, "Benzoic Acid Derivatives, Acetophenones, and Anti-inflammatory Constituents from *Melicope semecarpifolia*," *Journal of Natural Products*, vol. 71, no. 1, pp. 71-75, 29 December 2008.
- [181] S. Panga, N. K. Podila, K. Asres, & V. Ciddi, "Synthesis and anticancer activity of new isatin-benzoic acid conjugates," *Ethiop Pharm J*, vol. 31, no. 2, pp. 75-92, 19 July 2016.
- [182] M. R. Habib & M. R. Karim, "Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Di-(2-ethylhexyl) Phthalate and Anhydrosophoradiol-3-acetate Isolated from *Calotropis gigantea* (Linn.) Flower," *Mycobiology*, vol. 37, no. 1, p. 31, 18 February 2009.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [183] K. H. Lee, J. H. Kim, D. S. Lim, & C. H. Kim, "Anti-Leukaemic and Anti-mutagenic Effects of Di(2-ethylhexyl)phthalate Isolated from *Aloe vera* Linne," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 52, no. 5, pp. 593-598, 11 January 2010.
- [184] T. Stroheker, N. Cabaton, G. Nourdin, J.-F. Régnier, J.-C. Lhuguenot, & M.-C. Chagnon, "Evaluation of anti-androgenic activity of di-(2-ethylhexyl)phthalate," *Toxicology*, vol. 208, no. 1, pp. 115-121, 8 November 2005.
- [185] K. Eun-Joo, "Study on anti-estrogenic activity of DEHP as an endocrine disruption chemical," *Journal of Environmental Health Sciences*, vol. 29, no. 2, pp. 7-15, 30 May 2003.
- [186] R. R. Das *et al.*, "The Antioxidative Role of Natural Compounds from a Green Coconut Mesocarp Undeniably Contributes to Control Diabetic Complications as Evidenced by the Associated Genes and Biochemical Indexes," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2021, no. 1, pp. 1-22, 5 July 2021.
- [187] R. Saravanan & L. Pari, "Succinic Acid Monoethyl Ester Prevents Oxidative Stress In Streptozotocin-Nicotinamide-Induced Type2 Diabetic Rats," *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, vol. 17, no. 2, pp. 115-132, 1 June 2006.
- [188] L. Pari & R. Saravanan, "Beneficial effect of succinic acid monoethyl ester on erythrocyte membrane bound enzymes and antioxidant status in streptozotocin–nicotinamide induced type 2 diabetes," *Chemico-Biological Interactions*, vol. 169, no. 1, pp. 15-24, 20 April 2007.
- [189] N. F. Kirillov, R. R. Makhmudov, P. M. Kashkin, E. A. Nikiforova, & L. G. Mardanova, "Synthesis and Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activity of Monomethyl Esters of Oxodicarboxylic Acids," *Pharmaceutical Chemistry Journal*, vol. 52, no. 5, pp. 408-410, August 2018.
- [190] G. M. Kennedy *et al.*, "Inactivation of the bacterial pathogens *Staphylococcus pseudintermedius* and *Acinetobacter baumannii* by butanoic acid," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 126, no. 3, pp. 752-763, 15 December 2019.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [191] L. K. Gerunova *et al.*, "Butyric acid and prospects for creation of new medicines based on its derivatives: a literature review," *Journal of Veterinary Science*, vol. 25, no. 2, 4 Mar 2024.
- [192] M. M. Amer, A. Kader, S. Ahmad, & S. P. Varda, "The Autoxidation of Tensides I: The Autoxidation, Toxicity and Reclamation of Dianhydro Mannitol Mono-Oleate," *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, vol. 71, no. 9, pp. 783-785, 1969.
- [193] I. P. Horváth, S. Somfai-Relle, L. Hegedüs, & M. Jarman, "Toxicity, antitumour and haematological effects of 1,2-anhydro-6-bromogalactitol and d-mannitol: A comparison with the related dibromo- and dianhydro-derivatives," *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, vol. 18, no. 6, pp. 573-577, 18 January 1982.
- [194] J. P. Ley, K. Engelhart, J. Bernhardt, & H.-J. Bertram, "3,4-Dihydroxymandelic Acid, a Noradrenalin Metabolite with Powerful Antioxidative Potential," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, no. 21, pp. 5897-5902, 17 September 2002.
- [195] N. Shad, A. Javaid, & Q. Kanwal, "Antifungal and other bioactive constituents in roots of a halophytic weed *Suaeda fruticosa*," *JOURNAL OF WEED SCIENCE RESEARCH*, vol. 28, p. in press, 30 September 2022.
- [196] V. E. Amala & M. Jeyaraj, "Determination of antibacterial, antifungal, bioactive constituents of triphala by FT-IR and GC-MS analysis," *Int J Pharm Pharm Sci*, vol. 6, no. 8, pp. 123-126, 21 July 2014.
- [197] M. S. Owain, K. I. Oleiwi, A. G. Atiyah, & M. S. Hasan, "Evaluation the Antimicrobial Effect of Glycerin Magnesia on Some Bacteria, in-Vitro Study," *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, vol. 14, no. 2, pp. 2193-6, June 2020.
- [198] R. d. S. Araujo *et al.*, "Effect of glycerin supplementation on the expression of antioxidant and mitochondrial genes in broilers," *Animal Production Science*, vol. 59, no. 3, pp. 408-415, 16 March 2018.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [199] Z. A. Elagbar, R. R. Naik, A. K. Shakya, & S. K. Bardaweel, "Fatty Acids Analysis, Antioxidant and Biological Activity of Fixed Oil of *Annona muricata* L. Seeds," *Journal of Chemistry*, vol. 2016, pp. 1-6, 3 January 2016.
- [200] M. Deyab, A. El-Sayed, & S. Abu Ahmed, "Characterization and Antibacterial Effects of *Microcystis aeruginosa* Extracts," *Egyptian Journal of Botany*, vol. 59, no. 3, pp. 667-677, 21 April 2019.
- [201] T. Tyagi & M. Agarwal, "GC-MS analysis of invasive aquatic weed, *Pistia stratiotes* L. and *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms," *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, vol. 9, no. 3, p. 111, 31 April 2017.
- [202] M. T. Shaaban, M. F. Ghaly, & S. M. Fahmi, "Antibacterial activities of hexadecanoic acid methyl ester and green-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria," *Journal of Basic Microbiology*, vol. 61, no. 6, pp. 557-568, 27 March 2021.
- [203] D. Sheela & F. Uthayakumari, "GC-MS analysis of bioactive constituents from coastal sand dune taxon-*Sesuvium portulacastrum* (L.)," *Bioscience discovery*, vol. 4, no. 1, pp. 47-53, January 2013.
- [204] L. Bao *et al.*, "Hexadecanamide alleviates *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice by inhibiting inflammatory responses and restoring blood-milk barrier integrity," *PLoS Pathog.*, vol. 19, no. 11, p. e1011764, 10 November 2023.
- [205] Rozirwan *et al.*, "Insecticidal Activity and Phytochemical Profiles of *Avicennia marina* and *Excoecaria agallocha* Leaves Extracts," *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences*, Article vol. 28, no. 2, pp. 148-160, 24 June 2023.
- [206] Y. Wan, Y. Li, C. Yan, M. Yan, & Z. Tang, "Indole: A privileged scaffold for the design of anti-cancer agents," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 183, p. 111691, 1 December 2019.
- [207] D. F. Birt, B. Walker, M. G. Tibbels, & E. Bresnick, "Anti-mutagenesis and anti-promotion by apigenin, robinetin and indole-3-carbinol," *Carcinogenesis*, vol. 7, no. 6, pp. 959-963, June 1986.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [208] N. D. Franz *et al.*, "Design, synthesis and evaluation of indole-2-carboxamides with pan anti-mycobacterial activity," *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 25, no. 14, pp. 3746-3755, 15 July 2017.
- [209] A. Manhas & V. Kaul, "Metabolomics of Above and Below Ground Parts of *Commelina benghalensis* an Amphicarpic Weed Using GC-MS," *National Academy Science Letters*, vol. 47, no. 2, pp. 187-193, 18 August 2023.
- [210] W. R. Swindell, K. Bojanowski, & R. K. Chaudhuri, "Isosorbide Fatty Acid Diesters Have Synergistic Anti-Inflammatory Effects in Cytokine-Induced Tissue Culture Models of Atopic Dermatitis," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 22, p. 14307, 18 November 2022.
- [211] Y. Zhang *et al.*, "Effects of isosorbide mononitrate loaded nanoparticles conjugated with anti-Staphylococcus aureus α -toxin on Staphylococcus aureus biofilms," *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19 November 2019.
- [212] G. Döring, "Antianginal and Anti-Ischemic Efficacy of Nicorandil in Comparison with Isosorbide-5-Mononitrate and Isosorbide Dinitrate: Results from Two Multicenter, Double-Blind, Randomized Studies with Stable Coronary Heart Disease Patients," *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, vol. 20, pp. S74-81, 1992.
- [213] Gyeong-A Ko & Somi Kim Cho, "Ethyl linoleate inhibits α -MSH-induced melanogenesis through Akt/GSK3 β / β -catenin signal pathway," *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, vol. 22, no. 1, p. 53, 8 September 2018.
- [214] S. Y. Park *et al.*, "Ethyl linoleate from garlic attenuates lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokine production by inducing heme oxygenase-1 in RAW264.7 cells," *International Immunopharmacology*, vol. 19, no. 2, pp. 253-261, 17 January 2014.
- [215] F. Iñiguez-Franco, H. Soto-Valdez, E. Peralta, J. F. Ayala-Zavala, R. Auras, & N. Gámez-Meza, "Antioxidant Activity and Diffusion of Catechin and Epicatechin from Antioxidant Active Films Made of Poly(l-lactic acid)," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 60, no. 26, pp. 6515-6523, 8 June 2012.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [216] H. Yu *et al.*, "Multifunctional porous poly (L-lactic acid) nanofiber membranes with enhanced anti-inflammation, angiogenesis and antibacterial properties for diabetic wound healing," *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 21, no. 1, 27 March 2023.
- [217] Z. W. Huang *et al.*, "New functional degradable and bio-compatible nanoparticles based on poly(malic acid) derivatives for site-specific anti-cancer drug delivery," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 423, no. 1, pp. 84-92, 14 February 2012.
- [218] Q.-C. Zhang, Y. Zhao, & H.-M. Bian, "Anti-Thrombotic Effect of a Novel Formula from Corni Fructus with Malic Acid, Succinic Acid and Citric Acid," *Phytotherapy Research*, vol. 28, no. 5, pp. 722-727, 2 August 2014.
- [219] L. Zhang, P. Zhang, C. Xia, Y. Cheng, X. Guo, & Y. Li, "Effects of malic acid and citric acid on growth performance, antioxidant capacity, haematology and immune response of *Carassius auratus gibelio*," *Aquaculture Research*, vol. 51, no. 7, pp. 2766-2776, 16 March 2020.
- [220] X. Tang *et al.*, "The Cardioprotective Effects of Citric Acid and L-Malic Acid on Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2013, pp. 1-11, 14 May 2013.
- [221] A. G. A. W. Alakolanga, N. S. Kumar, L. Jayasinghe, & Y. Fujimoto, "Antioxidant property and α -glucosidase, α -amylase and lipase inhibiting activities of *Flacourtia inermis* fruits: characterization of malic acid as an inhibitor of the enzymes," *Journal of Food Science and Technology*, vol. 52, no. 12, pp. 8383-8388, 10 July 2015.
- [222] M. E. A. Pinto *et al.*, "Antifungal and antioxidant activity of fatty acid methyl esters from vegetable oils," *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, vol. 89, no. 3, pp. 1671-1681, 2017.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [223] G. Göger *et al.*, "Phytochemical characterisation of *Phlomis linearis* Boiss. & Bal and screening for anticholinesterase, anti-amylase, antimicrobial, and cytotoxic properties," *Turkish Journal of Chemistry*, vol. 45, no. 2, pp. 387-399, 28 April 2021.
- [224] F. I. D. Afolayan, R. A. Odeyemi, & R. A. Salaam, "In silico and in vivo evaluations of multistage antiplasmodial potency and toxicity profiling of n-Hexadecanoic acid derived from *Vernonia amygdalina*," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 15, 21 August 2024.
- [225] V. Aparna, K. V. Dileep, P. K. Mandal, P. Karthe, C. Sadasivan, & M. Haridas, "Anti-Inflammatory Property of *n*-Hexadecanoic Acid: Structural Evidence and Kinetic Assessment," *Chemical Biology & Drug Design*, vol. 80, no. 3, pp. 434-439, 10 May 2012.
- [226] R. Purushothaman, M. G. Vishnuram, & D. T. Ramanathan, "Isolation and Identification of N-Hexadecanoic Acid from *Excoecaria Agallocha* L. and its Antibacterial and Antioxidant Activity," *Journal of emerging technologies and innovative research*, vol. 11, no. 1, pp. 332-342, January 2024.
- [227] T. Tyagi & M. Agarwal, "Gas chromatography-mass spectrometry analysis of bioactive constituents in the ethanolic extract of *pistia stratiotes* L.," *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences*, vol. 7, no. 1, pp. 14-21, April 2017.
- [228] B. Kim *et al.*, "N-Nicotinoyl dopamine, a novel niacinamide derivative, retains high antioxidant activity and inhibits skin pigmentation," *Experimental Dermatology*, vol. 20, no. 11, pp. 950-952, 6 July 2011.
- [229] H. ERTEK & K. SAYIN, "Synthesis, Characterization of New Niacinamide Compounds and Investigation of Anticancer and Antibacterial Activity by Computationally and Experimentally," *Indian Journal of Chemistry*, vol. 63, no. 7, 28 June 2024.
- [230] W. Gehring, "Nicotinic acid/niacinamide and the skin," *Journal of Cosmetic Dermatology*, vol. 3, no. 2, pp. 88-93, 19 August 2004.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [231] D. S. Berson, R. Osborne, J. E. Oblong, T. Hakoziaki, M. B. Johnson, & D. L. Bissett, "Niacinamide," in *Cosmeceuticals and Cosmetic Practice*: John Wiley & Sons, Ltd., 2013, pp. 103-112.
- [232] Y.-S. Lin *et al.*, "Effects of nicotinic acid derivatives on tyrosinase inhibitory and antioxidant activities," *Food Chemistry*, vol. 132, no. 4, pp. 2074-2080, 15 June 2012.
- [233] J. E. Digby *et al.*, "Anti-Inflammatory Effects of Nicotinic Acid in Human Monocytes Are Mediated by GPR109A Dependent Mechanisms," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 32, no. 3, pp. 669-676, 19 January 2012.
- [234] C. R. Hiley & P. M. Hoi, "Oleamide: a fatty acid amide signaling molecule in the cardiovascular system?," *Cardiovasc Drug Rev*, vol. 25, no. 1, pp. 46-60, 13 April 2007.
- [235] S. M. Moon, S. A. Lee, J. H. Hong, J. S. Kim, D. K. Kim, & C. S. Kim, "Oleamide suppresses inflammatory responses in LPS-induced RAW264.7 murine macrophages and alleviates paw edema in a carrageenan-induced inflammatory rat model," *Int Immunopharmacol*, vol. 56, pp. 179-185, March 2018.
- [236] H. Nojima, Y. Ohba, & Y. Kita, "Oleamide derivatives are prototypical anti-metastasis drugs that act by inhibiting Connexin 26," *Curr Drug Saf*, vol. 2, no. 3, pp. 204-11, September 2007.
- [237] A. Muflihunna, A. Mu'Nisa, Y. Hala, & Hasri, "Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis and Antioxidant Activity of Sea-Cucumber (Holothurian atra and Holothurian edulis) From Selayar Island," *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 1752, no. 1, p. 012057, 10 October 2019.
- [238] Á. Perdonés, M. Vargas, L. Atarés, & A. Chiralt, "Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan–cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid," *Food Hydrocolloids*, vol. 36, pp. 256-264, May 2014.
- [239] C. Santa-Maria *et al.*, "Update on Anti-Inflammatory Molecular Mechanisms Induced by Oleic Acid," *Nutrients*, vol. 15, no. 1, p. 224, 1 January 2023.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [240] B. Fang, M. Zhang, M. Tian, L. Jiang, H. Y. Guo, & F. Z. Ren, "Bovine lactoferrin binds oleic acid to form an anti-tumor complex similar to HAMLET," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, vol. 1841, no. 4, pp. 535-543, April 2014.
- [241] K.-H. Cho, J.-H. Hong, & K.-T. Lee, "Monoacylglycerol (MAG)-Oleic Acid Has Stronger Antioxidant, Anti-Atherosclerotic, and Protein Glycation Inhibitory Activities than MAG-Palmitic Acid," *Journal of Medicinal Food*, vol. 13, no. 1, pp. 99-107, 5 February 2010.
- [242] B. Zieniuk, E. Białecka-Florjańczyk, K. Wierchowska, & A. Fabiszewska, "Recent advances in the enzymatic synthesis of lipophilic antioxidant and antimicrobial compounds," *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 38, no. 1, 7 December 2022.
- [243] E. Zadeh Hashem *et al.*, "The Antioxidant Activity of Palmitoleic Acid on the Oxidative Stress Parameters of Palmitic Acid in Adult Rat Cardiomyocytes," *Annals of Military and Health Sciences Research*, vol. 14, no. 3, November 2016.
- [244] C. O. De Souza, C. A. Valenzuela, E. J. Baker, E. A. Miles, J. C. Rosa Neto, & P. C. Calder, "Palmitoleic Acid has Stronger Anti-Inflammatory Potential in Human Endothelial Cells Compared to Oleic and Palmitic Acids," *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 62, no. 20, p. 1800322, 13 August 2018.
- [245] J. A. Rumberger, J. Napolitano, I. Azumano, T. Kamiya, & M. Evans, "Pantethine, a derivative of vitamin B₅ used as a nutritional supplement, favorably alters low-density lipoprotein cholesterol metabolism in low- to moderate-cardiovascular risk North American subjects: a triple-blinded placebo and diet-controlled investigation," *Nutrition Research*, vol. 31, no. 8, pp. 608-615, August 2011.
- [246] M. Evans, J. Rumberger, I. Azumano, J. Napolitano, D. Citrolo, & T. Kamiya, "Pantethine, a derivative of vitamin B₅, favorably alters total, LDL and non-HDL cholesterol in low to moderate cardiovascular risk subjects eligible for statin therapy: a triple-blinded placebo and diet-controlled investigation," *Vascular Health and Risk Management*, p. 89, 30 December 2014.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [247] M.-R. Yu & T.-W. Tan, "Optical resolution of racemic pantolactone by *Fusarium* sp. BU-011 with high lactonohydrolase activity," *Process Biochemistry*, vol. 40, no. 8, pp. 2609-2614, July 2005.
- [248] P. Lupoae, V. Cristea, D. Borda, M. Lupoae, G. Gurau, & R. M. Dinica, "Phytochemical Screening: Antioxidant and Antibacterial Properties of *Potamogeton* Species in Order to Obtain Valuable Feed Additives," *Journal of Oleo Science*, vol. 64, no. 10, pp. 1111-1123, 1 July 2015.
- [249] S. A. Heleno, A. Martins, M. J. R. P. Queiroz, & I. C. F. R. Ferreira, "Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review," *Food Chemistry*, vol. 173, pp. 501-513, 15 April 2015.
- [250] R. Wigglesworth *et al.*, "Analogues of Capsaicin with Agonist Activity as Novel Analgesic Agents: Structure-Activity Studies. 4. Potent, Orally Active Analgesics," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 39, no. 25, pp. 4942-4951, 6 December 1996.
- [251] B. D. Craft, A. L. Kerrihard, R. Amarowicz, & R. B. Pegg, "Phenol-Based Antioxidants and the In Vitro Methods Used for Their Assessment," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 11, no. 2, pp. 148-173, 29 February 2012.
- [252] M. Hollenbach *et al.*, "Ethyl pyruvate and ethyl lactate down-regulate the production of pro-inflammatory cytokines and modulate expression of immune receptors," *Biochemical Pharmacology*, vol. 76, no. 5, pp. 631-644, 1 September 2008.
- [253] C. PROTTEY, D. GEORGE, R. W. LEECH, J. G. BLACK, D. HOWES, & C. F. H. VICKERS, "The mode of action of ethyl lactate as a treatment for acne," *British Journal of Dermatology*, vol. 110, no. 4, pp. 475-485, 1 April 1984.
- [254] R. Slevén, E. Lanckacker, P. Delputte, L. Maes, & P. Cos, "Evaluation of topical antifungal products in an *in vitro* onychomycosis model," *Mycoses*, vol. 59, no. 5, pp. 327-330, 9 February 2016.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [255] F. Tosun, F. Göger, G. İşcan, M. Kürkçüoğlu, F. K. Kuran, & M. Miski, "Biological Activities of the Fruit Essential Oil, Fruit, and Root Extracts of *Ferula drudeana* Korovin, the Putative Anatolian Ecotype of the Silphion Plant," *Plants*, vol. 12, no. 4, p. 830, 13 February 2023.
- [256] B. Han, J. Luo, & B. Xu, "Insights into the Chemical Compositions and Health Promoting Effects of Wild Edible Mushroom *Chroogomphus rutilus*," *Nutrients*, vol. 15, no. 18, p. 4030, 17 September 2023.
- [257] O. M. Alshehri *et al.*, "Succinimide Derivatives as Antioxidant Anticholinesterases, Anti- α -Amylase, and Anti- α -Glucosidase: In Vitro and In Silico Approaches," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2022, pp. 1-12, 30 July 2022.
- [258] S. Arya, S. Kumar, R. Rani, N. Kumar, P. Roy, & S. M. Sondhi, "Synthesis, anti-inflammatory, and cytotoxicity evaluation of 9,10-dihydroanthracene-9,10- α,β -succinimide and bis-succinimide derivatives," *Medicinal Chemistry Research*, vol. 22, no. 9, pp. 4278-4285, 5 January 2013.
- [259] M. D. Swantara, W. S. Rita, N. Suartha, & K. K. Agustina, "Anticancer activities of toxic isolate of *Xestospongia testudinaria* sponge," *Veterinary World*, vol. 12, no. 9, pp. 1434-1440, 18 September 2019.
- [260] K. A. Shaheed, M. A. Alsirraj, S. A. Allaith, N. A. Noori, M. H. Obaid, & Z. M. Mouhsan, "The biological activities of seeds extracts for fenugreek and black cumin and its inhibitory influences towards some pathogens," *Iraq Medical Journal*, vol. 2, no. 2, 26 June 2018.
- [261] I. F. Nassar, A. F. E. Farargy, F. M. Abdelrazek, & Z. Hamza, "Synthesis of new uracil derivatives and their sugar hydrazones with potent antimicrobial, antioxidant and anticancer activities," *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, vol. 39, no. 7, pp. 991-1010, 4 Mar 2020.



ภาคผนวก
ผลงานเผยแพร่ทางวิชาการ

ตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสาร International Journal of Biological
Macromolecules เล่มที่ 308 (2025) เมื่อวันที่ 30 มีนาคม พ.ศ. 2568 ใน

หัวข้อเรื่อง The inhibition effect of oleamide for
acetylcholinesterase and α -glucosidase from edible wild
mushroom by in vitro, in silico and fluorescence analysis





Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Biological Macromolecules

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijbiomac

The inhibition effect of oleamide for acetylcholinesterase and α -glucosidase from edible wild mushroom by *in vitro*, *in silico* and fluorescence analysis

Sukrit Wattanalaorsomboon^a, Preecha Mansalai^a, Apirak Payaka^b, Supaporn Baiya^c, Sompong Sansenya^{a,*}

^a Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand

^b School of Science, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80160, Thailand

^c Department of Resource and Environment, Faculty of Science at Sriracha, Kasetsart University at Sriracha Campus, Chonburi, Thailand

ARTICLE INFO

Keywords:

Edible wild mushroom
Alzheimer's disease
Acetylcholinesterase and α -glucosidase

ABSTRACT

Lipid compounds from edible wild mushrooms have been reported for their biological activities related to Alzheimer's disease (AD) and diabetes mellitus (DM) treatment. This research investigated purified oleamide (PEWM) from edible wild mushroom and determined its antioxidant activity and inhibition potential against acetylcholinesterase (AChE) and α -glucosidase. The PEWM was purified by preparative thin-layer chromatography (PTLC) with methanol: chloroform: water (6:6:1 v/v). The antioxidant activity against ABTS⁺ and DPPH[•] radical of crude extracts (CEWM) had higher potent than PEWM. On the other hand, the inhibition potential of PEWM against AChE and α -glucosidase had higher potency than CEWM. Moreover, the inhibition potency of PEWM and oleamide against AChE was higher than α -glucosidase. The inhibition mode of CEWM, PEWM and oleamide exhibited mixed-type inhibition on AChE and α -glucosidase. Inhibition constant (K_i) also supported that CEWM, PEWM and oleamide have the highest potent on AChE. CEWM, PEWM and oleamide showed fluorescence quenching by increasing the inhibitors' concentration against AChE and α -glucosidase. Docking analysis revealed that oleamide was located in peripheral anionic sites of AChE. The results suggest that edible wild mushrooms as the source of lipids related to AChE and α -glucosidase inhibitory activity might be applied for AD and DM management.

1. Introduction

Edible mushrooms have been used as an ingredient in traditional medicine in many countries [1]. They are rich in micro and macronutrients such as minerals, vitamins, protein and fiber. Moreover, edible mushrooms are a good dietary food source because they are low in calories, carbohydrates and fat [2]. A variety of bioactive compounds have been reported in edible mushrooms, such as polyphenols, terpenoids, acids, alkaloids, polysaccharides, peptides and sterols [3–5]. These bioactive compounds have shown various biological activities such as antioxidant, anti-diabetic, anti-cancer, anti-neurodegenerative, antimicrobial and anti-ageing activities. Unsaturated fatty acids and saturated fatty acids have also been reported in edible mushrooms, and these fatty acids have also been reported for their biological activity related to human health [6].

Non-communication diseases (NCDs) are chronic conditions that have characteristics that are not transmissible from person to person.

NCDs comprise Parkinson's disease, autoimmune diseases, diabetes mellitus (DM), heart diseases, cancer and Alzheimer's disease (AD) [7]. DM and AD diseases have health challenges globally, in ageing countries, especially in Asia. One of the treatments for the management of DM and AD has focused on inhibiting enzymes related to these diseases [8,9]. Inhibition of carbohydrate digestive enzymes (α -glucosidase and α -amylase) is involved in DM treatment [10]. While acetylcholinesterase (AChE) is delayed in acetylcholine hydrolysis and is related to AD management [11]. Acarbose and tacrine are the standard inhibitors for inhibiting carbohydrate digestive enzymes and AChE, respectively. However, these inhibitors have many harmful side effects. Thus, the finding of new natural inhibitors and less harmful side effects from plants, animals, and mushrooms might be the candidate for inhibiting α -glucosidase, α -amylase and AChE.

The present study investigated oleamide, an unsaturated fatty acid from edible wild mushrooms (*Schizophyllum commune* Fr.). The oleamide is a fatty acid amide synthesized by oleic acid and urea [12]. The fatty

* Corresponding author.

E-mail address: sompong_s@rmutt.ac.th (S. Sansenya).

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.142681>

Received 1 January 2025; Received in revised form 9 March 2025; Accepted 28 March 2025

Available online 30 March 2025

0141-8130/© 2025 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

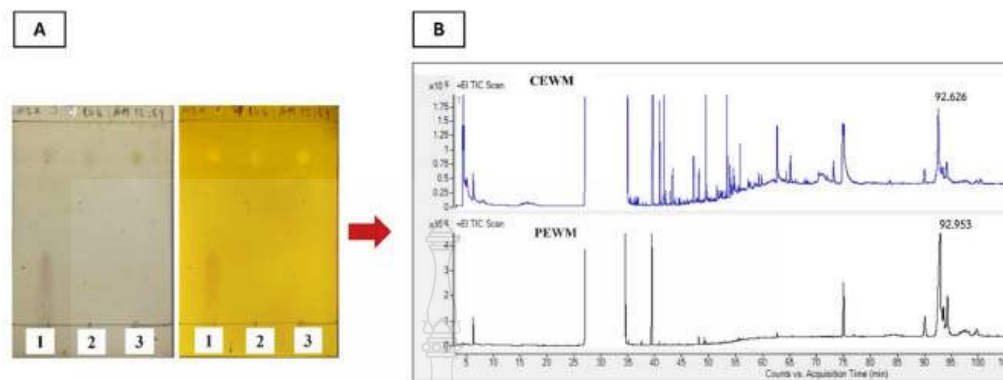


Fig. 1. TLC and GC-MS analysis of CEWM and PEWM.

A; TLC analysis of lanes 1, 2 and 3 were CEWM, PEWM and standard oleamide, respectively. B; GC-MS analysis of CEWM and PEWM and the target compound oleamide was identified at a retention time of approximately 92.626 and 92.953 min for CEWM and PEWM, respectively.

Table 1

The antioxidant potential by ABTS and DPPH assay and inhibition potential against AChE and α -glucosidase of CEWM and PEWM.

Samples	% Inhibition at 0.30 mg/mL			
	ABTS	DPPH	α -Glucosidase	AChE
CEWM	53.01 $\pm$ 1.41	53.86 $\pm$ 3.46	38.73 $\pm$ 0.37	74.43 $\pm$ 1.15
PEWM	28.93 $\pm$ 1.96	31.16 $\pm$ 1.64	89.37 $\pm$ 0.15	92.31 $\pm$ 1.20

All data were expressed in triplicate as the mean $\pm$ standard deviation (SD).

Table 2

Inhibition potential against AChE and α -glucosidase of oleamide and standard inhibitor tacrine and acarbose.

Samples	% Inhibition at 0.20 mM	
	α -Glucosidase	AChE
Oleamide	50.92 $\pm$ 0.70	82.14 $\pm$ 1.80
Acarbose	71.23 $\pm$ 0.32	NM
Tacrine	NM	94.52 $\pm$ 0.38

All data were expressed in triplicate as the mean $\pm$ standard deviation (SD).

Table 3

Inhibition type and inhibition constant of oleamide against AChE and α -glucosidase.

Samples	Inhibition type		Inhibition constant (K_i) ^a	
	α -Glucosidase	AChE	α -Glucosidase	AChE
CEWM	Mixed	Mixed	3.80	0.016
PEWM	Mixed	Mixed	0.210	0.035
Oleamide	Mixed	Mixed	0.013	0.070

^a The K_i concentration of CEWM and PEWM were expressed as mg/mL. While the K_i concentration of oleamide was showed as mM.

acid amide has been found in various species, such as plants [13] and animals [14]. Oleamide has shown various biological activities, such as anti-inflammatory effects, immune response, antioxidant activity, and atopic dermatitis treatment [14]. However, the study of oleamide related to DM and AD treatment has not been investigated, especially for the kinetic analysis of this compound against α -glucosidase and AChE. The *S. commune* Fr. is an edible wide mushroom grown in Thailand and other Asian countries. Moreover, this mushroom is the local people's

source of micro- and macronutrients, especially protein. However, the study of bioactive compounds that have biological activities related to human health, especially for inhibition of α -glucosidase and AChE, has not been investigated in this mushroom. Identifying one compound from this mushroom with two inhibition potentials against two enzymes (α -glucosidase and AChE) might be important for the application to DM and AD management. Thus, the study of purification and identification of oleamide from *S. commune* Fr were investigated by preparative thin-layer chromatography (PTLC) and GC-MS. Then, the inhibition potential of oleamide against AChE and α -glucosidase was also performed by *in vitro*, *in silico* and fluorescence analysis.

2. Material and method

2.1. Chemical

The chemical reagent for enzyme inhibitory assay were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Acarbose, *p*-nitrophenyl- α -glucopyranoside (4-pNPG) and α -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae* were used for α -glucosidase inhibitory assay. Tacrine hydrochloride, 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB), acetylthiocholine iodide (ATCI) and AChE from *Electrophorus electricus* (electric eel, type VI) were used for AChE inhibitory assay. Oleamide, tacrine and acarbose were also purchased from Sigma-Aldrich.

2.2. Material and extraction

Edible wild mushroom (EWM) (*S. commune* Fr.) (Fig. S1) was harvested in the Northeast part of Thailand (harvested season 2023). The EWM samples were washed with deionized water and dried in a hot air oven at 50 °C until the moisture content was less than 13 %. The dried samples were ground to powder by mortar. The powder samples were extracted by using methanol with a ratio of 1:5 (gram of sample: mL of methanol) for 5 days. The extraction was centrifuged at 6000 rpm for 15 min, and the supernatant was collected. The solvent was evaporated at 50 °C to produce the crude extracts (CEWM). The CEWM was kept at -20 °C for further experiments.

2.3. Analysis of volatiles compounds in CEWM extract

The CEWM was dissolved in DMSO solvent and filtered with 0.22 μ m PTFE syringe filters. An Agilent GC-MS (Agilent 7890A GC-7000 Mass

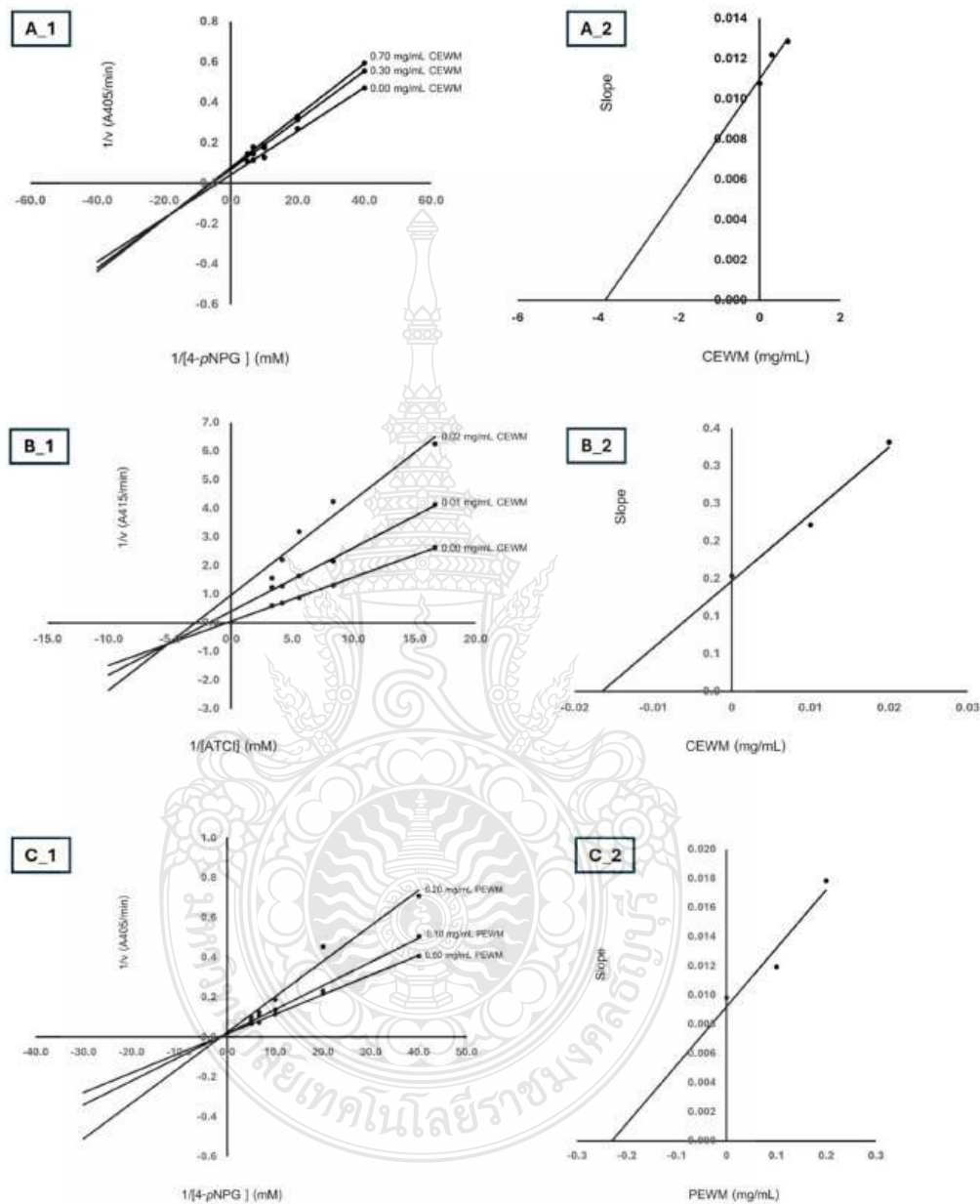


Fig. 2. Lineweaver-Burk plot and secondary plot of slope vs $[I]$ of the CEWM, PEWM and oleamide against AChE and α -glucosidase. A_1, B_1, C_1, D_1, E_1 and F_1 the inhibition type of CEWM, PEWM and oleamide against AChE and α -glucosidase, respectively. A_2, B_2, C_2, D_2, E_2 and F_2 the secondary plot for determining the inhibition constant (K_i) of CEWM, PEWM and oleamide against AChE and α -glucosidase, respectively.

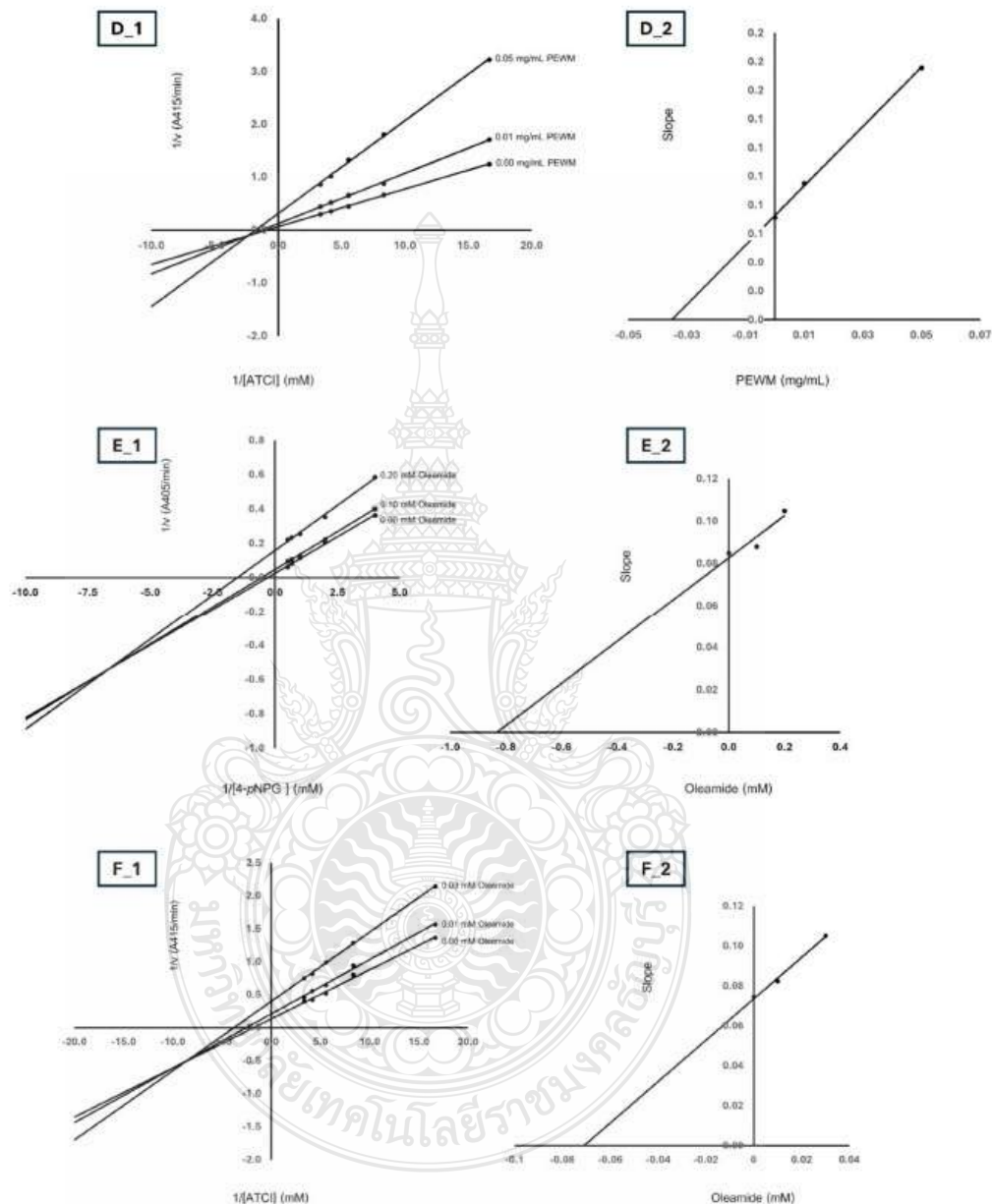


Fig. 2. (continued).

Triple Quad) was used for this analysis. A 4 μ L portion of the extract was injected into a DB-Wax (60 m $\times$ 0.25 mm i.d. $\times$ 0.25 μ m film thickness) fused silica capillary column (J&W Scientific, Folsom, CA). The injector

port was set at 250 $^{\circ}$ C, and the split mode was applied with a split ratio of 5:1. Helium gas was used as the carrier gas with a constant flow rate of 1.0 mL/min. The GC oven temperature started at 60 $^{\circ}$ C, increased to

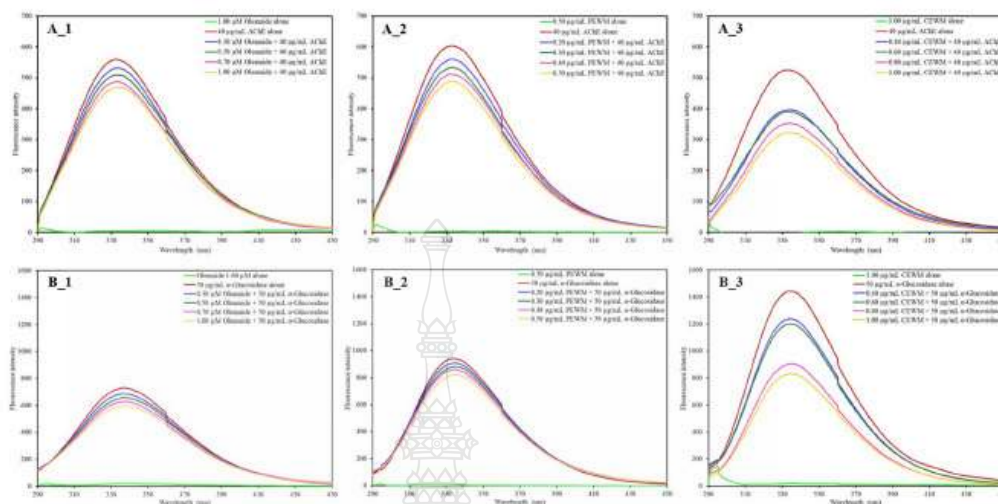


Fig. 3. Fluorescence emission spectra (290–450 nm) of AChE and α -glucosidase complexed with CEWM, PEWM and oleamide in Tris-HCl buffer (pH 8) at 298 K with excitation at 280 nm.

160 °C at 3 °C/min, then increased to 250 °C at 4 °C/min and held for 85 min. The total run time was 141 min. The mass spectrometer was working at the electron ionization mode with the ion source temperature set at 230 °C and ionization energy set at 70 eV. The scan mode was used, and the scan range was 30 to 500 m/z . The Agilent MassHunter Qualitative Analysis B.04.00 software was used for data analysis. Identification of volatile compounds was performed by comparing mass spectra with NIST mass spectral libraries (National Institute of Standards, 2011 version). The content of the volatile compound was calculated from the peak area.

2.4. Oleamide purification

Oleamide was the major compound in the CEWM (Table S1). The oleamide in the CEWM extract was purified by preparative thin-layer chromatography (PTLC) with the mobile phase of methanol: chloroform: water (6:6:1 v/v). The target compound in the CEWM extract on the PTLC was compared to the standard oleamide. After that, the target compound (oleamide) on the PTLC was extracted from the PTLC powder using ethanol (95 % v/v). The solvent of the extraction solution was removed by a hot air oven (40 °C) to produce the purified oleamide (PEWM). Finally, the PEWM sample was analyzed by GC-MS to confirm as oleamide.

2.5. Analysis of oleamide in the CEWM and PEWM sample

The CEWM and PEWM were dissolved in DMSO and filtered with 0.22 μ m PTFE syringe filters. The oleamide standard stock solution was prepared in DMSO first, then diluted to 10, 25, 50 and 100 ppm with DMSO. Analyses of oleamide content in CEWM and PEWM were followed by the above method. The target compound oleamide was identified at a retention time of 92.5 min, and ion m/z 59.1 was used to quantify oleamide. The peak area of m/z 59.1 in the standard solutions was measured to create a calibration curve, and the peak area of m/z 59.1 in the samples was measured, and oleamide's concentration was calculated based on its calibration curve ($y = 57,569x + 449,483$; $R^2 =$

0.9974) (Fig. S2).

2.6. Antioxidant activity by ABTS and DPPH assay

The antioxidant activity of CEWM and PEWM was performed according to the method of Sansenya and Payaka; Karagecili et al. [15,16] with slightly modifications. The antioxidant potential of the samples was expressed as the percentage inhibition at the concentration of 0.30 mg/mL. The reaction of DPPH assay has included 700 μ L of 1 mM DPPH solution and 300 μ L of samples (CEWM or PEWM). The reaction mixture was incubated at the dark condition for 30 min at 37 °C. The absorbance of the final product was measured at 517 nm with a UV/Vis spectrophotometer. For the ABTS assay, the reaction included 700 μ L of ABTS⁺ and 300 μ L of samples. The reaction mixture was incubated at the dark condition for 20 min at 37 °C. The absorbance of the final product was measured at 734 nm with a UV/Vis spectrophotometer.

2.7. Enzyme inhibition

The inhibition potential of CEWM, PEWM and oleamide against AChE and α -glucosidase were followed by Masoongnoen et al. and Marinaccio et al. [17,18]. For the α -glucosidase inhibition assay, the reaction including 4-pNPG (0.25 mM), α -glucosidase (0.025 mg/mL) and the samples concentration of 0.30 mg/mL for CEWM and PEWM and 0.20 mM for oleamide. The yellow colour of *p*-nitrophenyl was measured at 405 nm by a spectrophotometer. The inhibition percentage of the reactions was calculated according to $[(Ac - As)/Ac] \times 100$, where Ac is absorbance without the sample and As is absorbance with the sample.

For the AChE inhibition assay, the reaction included 3 mM of DTNB and ATCI, 0.001 mg/mL of AChE and a sample concentration of 0.30 mg/mL for CEWM and PEWM and 0.20 mM for oleamide. The final product was measured at 415 nm by a spectrophotometer. The inhibition percentage of reactions was calculated the same as the α -glucosidase assay. Tacrine and acarbose were used as the positive control at 0.20 mM for AChE and α -glucosidase assay, respectively.

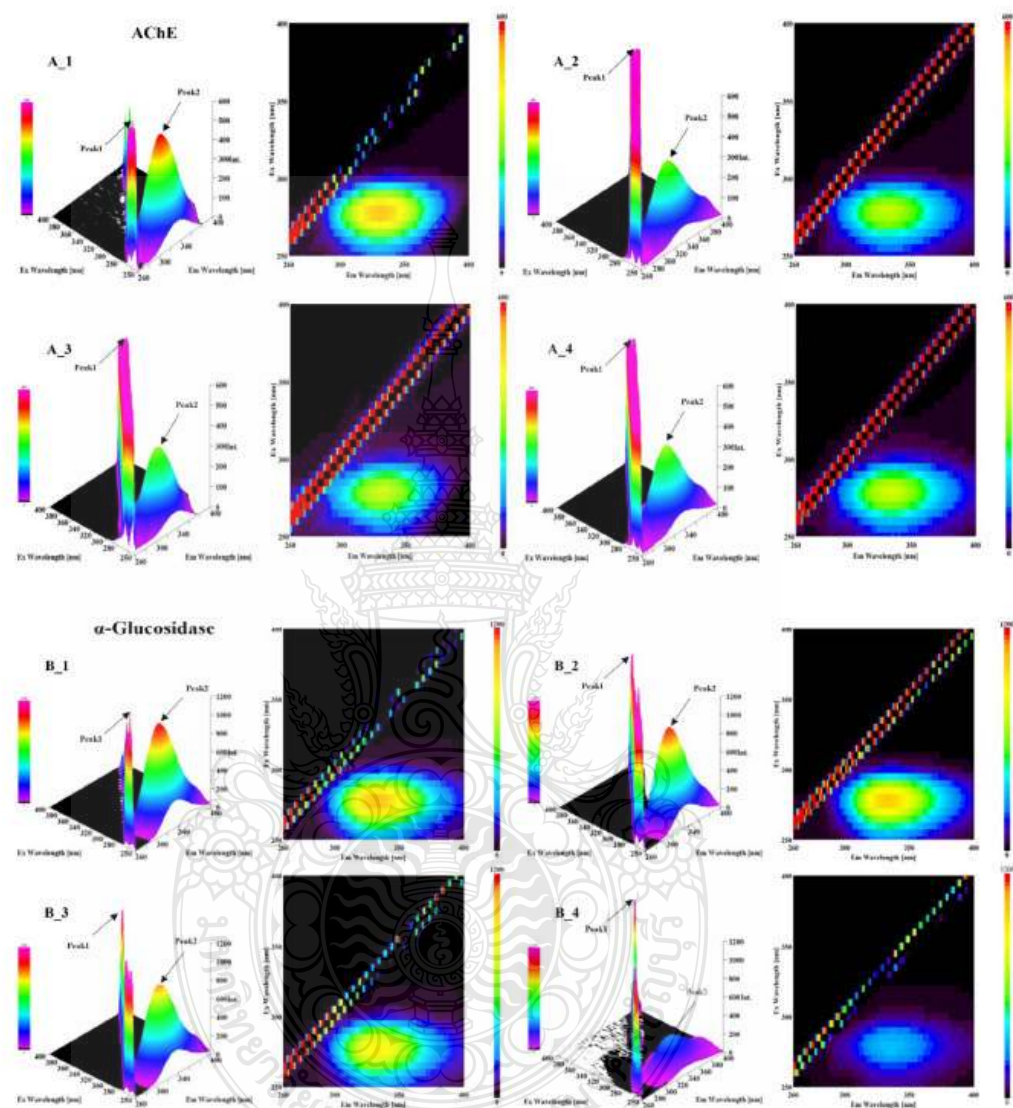


Fig. 4. 3D fluorescence spectra of AChE and α -glucosidase complexed with CEWM, PEWM and oleamide in Tris-HCl buffer (pH 8) at 298 K. AChE alone (40 μ g/mL) (A_1) and AChE with oleamide (0.50 μ M) (A_2), PEWM (0.50 μ g/mL) (A_3), and CEWM (0.60 μ g/mL) (A_4). α -Glucosidase alone (50 μ g/mL) (B_1) and α -glucosidase with oleamide (0.50 μ M) (B_2), PEWM (0.20 μ g/mL) (B_3), and CEWM (0.60 μ g/mL) (B_4). The excitation and emission wavelength range of 260–400 nm.

2.8. Kinetic analysis

Lineweaver-Burk plot in double reciprocal form was used to determine the inhibition mode of CEWM, PEWM and oleamide. Meanwhile, the secondary plot of slope vs $[I]$ was used to determine the inhibition constant (K_i). The CEWM concentrations of 0.00 to 0.02 mg/mL and

0.00 to 0.70 mg/mL were used for AChE and α -glucosidase, respectively. The PEWM concentrations of 0.00 to 0.05 mg/mL and 0.00 to 0.20 mg/mL were used for AChE and α -glucosidase, respectively. The oleamide concentration of 0.00 to 0.03 mM and 0.00 to 0.20 mM for AChE and α -glucosidase, respectively. The inhibition reactions of CEWM, PEWM and oleamide against AChE and α -glucosidase were determined to be the

Table 4
Docking analysis of oleamide in the active site of AChE and α -glucosidase.

Enzymes	Binding affinity (kcal/mol)	Inhibition constant K_i (μ M)	Residue	Distance ($\text{\AA}$)	Interaction type
AChE	−6.6	14	ASP72	3.62	Hydrophobic
			TRP84	3.44	Hydrophobic
			PHE330	3.68	Hydrophobic
			PHE331	3.47	Hydrophobic
			TYR334	3.67	Hydrophobic
			SER122	3.09	Hydrogen bond
α -Glucosidase	−5.9	47	TYR72	3.65	Hydrophobic
			TYR158	3.55	Hydrophobic
			PHE159	3.84	Hydrophobic
			PHE178	3.61	Hydrophobic
			VAL216	3.48	Hydrophobic
			SER241	3.19	Hydrogen bond

same as previously described.

2.9. Intrinsic fluorescence spectroscopy measurements

Fluorescence quenching was performed according to the previous method with a few

modifications [19]. The fluorescence spectra were measured by a Jasco FP-850 fluorescence spectrophotometer (JASCO Corporation, Tokyo, Japan) using quartz cells (3 mm in length). The concentrations of α -glucosidase (50.00 μ g/mL) and AChE (40.00 μ g/mL) were fixed while treated with different concentrations of oleamide, PEWM and CEWM. The oleamide concentrations varied from 0.00 to 1.0 μ M (0.00, 0.30, 0.50, 0.70, and 1.00 μ M), while the concentrations of PEWM ranged from 0.00 to 0.50 μ g/mL (0.00, 0.20, 0.30, 0.40, and 0.50 μ g/mL), and the concentrations of CEWM ranged from 0.00 to 1.00 μ g/mL (0.00, 0.40, 0.60, 0.80, and 1.00 μ g/mL). The mixed solution was allowed to stand for 15 min to reach reaction equilibrium before each measurement. The fluorescence emission spectra were recorded in the wavelength range of 295 to 450 nm following excitation at 280 nm, using 5 nm slit widths for both excitation and emission. The Tris-HCl buffer at pH 8 was used as blank and subtracted to correct background fluorescence.

2.10. Three-dimensional fluorescence spectrum analysis

The three-dimensional fluorescence spectra of AChE and α -glucosidase treated with different concentrations of oleamide, PEWM and CEWM were recorded in both the excitation wavelength and emission wavelength range of 260–400 nm using a Jasco FP-850 fluorescence spectrophotometer. Scanning mode was selected as 3D mode, and the excitation and emission bandwidths were set at 10 nm and 5 nm, respectively.

2.11. Docking methods and inhibition constant analysis

In this study, the initial geometry of oleamide was obtained from PubChem database. The structure was optimized by means of density functional theory (B3LYP) with basis split valence basis set of 6-311++G(d,p) using Gaussian 03 program suit. After that, the optimized structure of oleamide was converted into pdbqt format for the docking calculation by AutoDockTools [20].

The enzyme targets of this work were composed of AChE and α -glucosidase. Their three-dimension structures were collected from Protein Data Bank (PDB) with the PDB code of 1 W76 for AChE and 3A4A for α -glucosidase. These crystal structures were cleaned by removing crystal water molecules and complex ligands using AutoDockTools. Additionally, the polar hydrogen atoms of the crystals were added.

For docking calculations, the grid box was set at 40 $\text{\AA}$ $\times$ 40 $\text{\AA}$ $\times$ 40 $\text{\AA}$ with space points of 0.375 $\text{\AA}$. All docking calculations were performed by AutoDock Vina [21]. The visualizations of molecular docking results were created using VMD program [22].

To calculate the inhibition constant (K_i) at the temperature (T) of 298 K, the binding affinity (ΔG) values obtained from docking calculations were applied to the formula: $K_i = \exp(\Delta G/RT)$, where R is the gas constant (1.985×10^{-3} kcal/mol/K).

3. Results and discussion

3.1. Bioactive compounds profile

The bioactive compounds profile of CEWM was shown in Table S1, by the abundant bioactive compounds were found to be fatty acids. The major compounds were oleamide (42.23 %) followed by hexadecanamide (3.78 %), stellersterin (6.46 %), 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)- (5.49 %), octadecanamide (3.99 %), n-hexadecanoic acid (3.46 %)

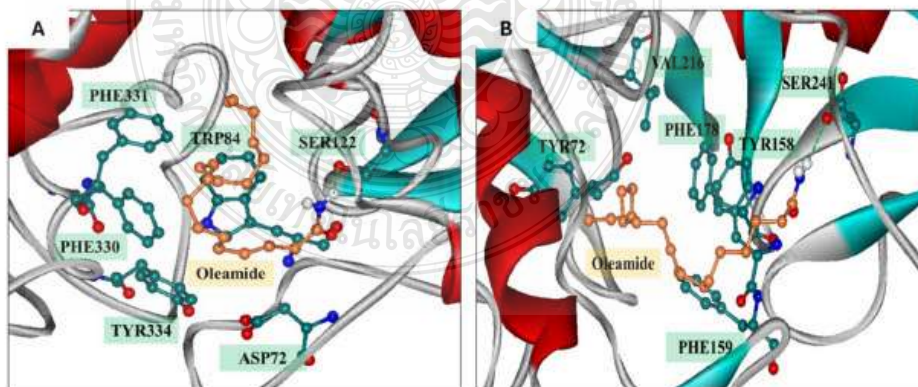


Fig. 5. Docking analysis of oleamide with AChE and α -glucosidase. The binding interaction between oleamide in the active site pocket of AChE (A) and α -glucosidase (B). The hydrogen bonds are indicated by green dot line.

and oleic acid (3.28 %). The polar compounds such as glycerin (4.92 %), niacinamide (2.71 %), dianhydromannitol (1.90 %), DL-proline, 5-oxo-methyl ester (1.81 %), benzenecetic acid (1.72 %) and 2-pyrrolidinone (1.46 %) were also identified in the CEWM. Totally, twenty-two bioactive compounds were identified in the CEWM sample. These compounds have been reported for broad biological activity such as anticancer, antibacterial, antifungal, antioxidant, antitoxin, anti-hypercholesterolemia, anti-inflammatory, anti-allergic, anti-atherosclerotic and anti-lipid peroxidation (Table S1). Seventeen mushroom species have been identified for their bioactive compounds by GC-MS [23]. The bioactive compounds are mainly identified as fatty acids such as oleic (6.76–59.25 %), linoleic (6.45–61.63 %), palmitic (3.57–28.09 %) and stearic (0.90–19.77 %). However, these 17 mushroom species were extracted by n-hexane. For more reports, the group of bioactive compounds, including proteins, terpenes, unsaturated fatty acids, and phenolic compounds, were identified in several species of mushrooms by using polar and non-polar solvents [24]. Our results and previous reports indicated that the bioactive compounds identified in mushrooms have a variety and include polar and non-polar compounds.

3.2. Purification and analysis of oleamide

Oleamide is the major compound identified in the CEWM. PTLC was used to purify this compound with the solvent system of methanol:chloroform: water (6:6:1 v/v) (Fig. 1). The concentration of oleamide in CEWM and PEWM was 3.70 ± 0.11 and 166.05 ± 7.01 $\mu\text{g}/\text{mg}$, respectively. Oleamide has polar and non-polar molecular structures. The oleamide in the CEWM and PEWM was identified at a retention time of 92.626 and 92.953 min, respectively (Fig. 1). Taberkhani and Shojaei [25] reported that the oleamide purification from the synthesis reaction (oleic acid and urea) was done by increasing solvent polarity (n-hexane, ethanol and acetonitrile). Moreover, Kwon et al. [26] also reported that oleamide was produced and purified from *Streptomyces* sp. by using PTLC with a solvent system of chloroform:methanol (98:2) and hexane/ethyl acetate (4:1). Our results and previous reports suggest that the purification of oleamide from the samples was succeed by using the increasing polarity of the solvent.

3.3. Antioxidant potential of CEWM and PEWM

The antioxidant potential of CEWM and PEWM were determined by ABTS and DPPH assay (Table 1). The antioxidant potential of CEWM was 53.01 ± 1.41 (%) and 53.86 ± 3.46 (%) on ABTS^{•+} and DPPH[•] radical, respectively. While the antioxidant potential of PEWM was 28.93 ± 1.96 (%) and 31.16 ± 1.64 (%) against ABTS^{•+} and DPPH[•] radical, respectively. The results reveal that the antioxidant of CEWM has a higher potential than PEWM. PEWM is the purified fraction by PTLC, which removes the most bioactive compounds and the remaining major peak for oleamide (retention time of 92.953) (Fig. 1). Moreover, the compounds including 2-butenic acid, 3-methyl-, phenol, 2-pyrrolidinone, hexadecanoic acid, methyl ester, glycerin, benzoic acid, 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester, benzenecetic acid, dihydroxy maleic acid, n-hexadecanoic acid, niacinamide and oleic acid seem to have removed from the purified fraction of PEWM. These compounds have been reported for their antioxidant activities (Table S1). Thus, the loss of antioxidant potential of PEWM compared to CEWM was caused by the loss of bioactive compounds that contained their antioxidant activity. Previous research reported that many edible and medicinal mushrooms have been reported to be responsible for antioxidant activity through a variety of activities such as ABTS, DPPH, OH, nitrite, metals, and lipid peroxidation [27]. Our results support the previous research that edible mushrooms are a good source of bioactive compounds contributing to antioxidant activity.

3.4. Inhibition potential of CEWM and PEWM against AChE and α -glucosidase

The inhibition potential of CEWM and PEWM against AChE and α -glucosidase was also investigated and shown in Table 1. The percentage inhibition of CEWM against α -glucosidase and AChE were 38.73 ± 0.37 (%) and 74.43 ± 1.15 (%), respectively. While PEWM have the inhibition on α -glucosidase and AChE of 89.37 ± 0.15 (%) and 92.31 ± 1.20 (%), respectively. Moreover, the inhibition percentage of CEWM and PEWM against AChE had higher potent than against α -glucosidase. The results indicate that the inhibition potential of PEWM had a higher potent than CEWM against AChE and α -glucosidase. CEWM is the compounds' mixture, while many compounds were removed, and oleamide was the major component of PEWM (Fig. 1). The synergic effect of the main component oleamide with some compounds in the PEWM might explain the potent inhibition against AChE and α -glucosidase of PEWM. Moreover, some compounds had the antagonist effect with the oleamide and have affected the lower inhibition potent of CEWM against AChE and α -glucosidase, which these compounds might be removed by PTLC, resulting in the inhibition potential against AChE and α -glucosidase of PEWM had higher than CEWM. The mushroom extract has been reported for its anti-diabetes properties, especially against α -glucosidase. The mushroom species, including *S. nigrum*, *S. surattense*, *A. americana* and *C. procera*, extracted by methanol, and these crude extracts showed a high inhibition potential on α -glucosidase with an inhibition percentage ranging from 46.65 ± 1.1 (%) to 90.90 ± 1.2 (%) [28]. The lipids, including suillin, linoleic acid, ergosterol peroxide and ergosterol, were isolated as the major compounds in the *Suillus luteus*. This mushroom extract has a strong inhibition potential on AChE with the IC₅₀ of 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [29]. Our results and previous research supported that edible mushrooms are the source of bioactive compounds related to α -glucosidase and AChE inhibitors, especially for the group of fatty acids.

3.5. Inhibition potential of oleamide against AChE and α -glucosidase

The inhibition potential of oleamide against AChE and α -glucosidase is shown in Table 2. Tacrine and acarbose were used as standard control against AChE and α -glucosidase. The results revealed that the inhibitory activity of oleamide against AChE (82.14 ± 1.80 (%)) had higher potent than α -glucosidase (50.92 ± 0.70 (%)). Besides, the inhibition potential of oleamide was lower than that of acarbose and tacrine for inhibiting α -glucosidase and AChE. However, the trend of inhibitory efficiency against AChE and α -glucosidase of oleamide is similar to the PEWM, which can confirm that the inhibitory activity of PEWM was a function by oleamide itself in the sample. The oleamide is a primary fatty acid amide, and this compound has been reported against AD by reducing the accumulation of amyloid β (A β) [30]. Moreover, the oleamide from Korean traditional natural plants showed a 65 % activation effect on choline acetyltransferase, which this enzyme transfers the acetyl group from acetyl-CoA to choline, producing acetylcholine [31]. The high inhibition potent of oleamide and PEWM against AChE of our results and prevention A β accumulation and activated acetylcholine production of oleamide by previous research suggests that oleamide is one of the candidate compounds for the prevention of AD.

3.6. Kinetic analysis of CEWM, PEWM and oleamide against AChE and α -glucosidase

Kinetic analysis of CEWM, PEWM and oleamide were shown in Table 3 and Fig. 2. The results reveal that CEWM, PEWM and oleamide inhibition modes were displayed as mixed-type inhibition on AChE and α -glucosidase. The inhibition constant (K_i) of CEWM, PEWM and oleamide against AChE were 0.016 (mg/mL), 0.035 (mg/mL) and 0.070 (mM), respectively. In comparison, the K_i of CEWM, PEWM and oleamide against α -glucosidase were 3.80 (mg/mL), 0.210 (mg/mL) and

0.813 (mM), respectively. The K_i of CEWM and PEWM indicate that inhibitory activity on AChE of these samples had higher potent than α -glucosidase. In addition, the K_i of oleamide on AChE and α -glucosidase showed a similar trend to that of PEWM by its higher potent on AChE than α -glucosidase. Moreover, the inhibition constant of CEWM, PEWM and oleamide also supported that the percentage inhibition of these samples had higher inhibition potent against AChE than α -glucosidase. The inhibition potential and kinetic parameters indicated that CEWM, PEWM and oleamide were more suitable inhibitors for AChE than α -glucosidase.

3.7. Fluorescence analysis of CEWM, PEWM and oleamide against α -glucosidase and AChE

The conformational and micro environmental changes in the region near the fluorophore caused by the interaction with various molecules were studied in detail by fluorescence measurements [32]. Protein intrinsic fluorescence mainly results from the excitation of tryptophan and tyrosine amino acid residues, and this emission of light is a useful indicator of binding interactions. Due to the low quantum yield of phenylalanine, the fluorescence intensity of these enzymes is primarily affected by variations in the tryptophan residue. Fluorescence quenching is a process that involves a fall in the fluorophore intensity upon adding a quencher. Consequently, examining the binding interactions between oleamide and the enzymes AChE and α -glucosidase is vital. During the quenching analysis, the concentrations of AChE and α -glucosidase were maintained at 40 μ g/mL and 50 μ g/mL, respectively. The oleamide concentrations ranged from 0.00 to 1.00 μ M, while PEWM varied from 0.00 to 0.50 μ g/mL, and CEWM ranged from 0.00 to 1.00 μ g/mL. The fluorescence spectra of AChE and α -glucosidase with oleamide, PEWM, and CEWM at different concentrations are presented in Fig. 3. The results indicated that α -glucosidase and AChE both exhibited an excitation peak at 280 nm and an emission peak at 344 nm, while oleamide did not exhibit a fluorescence signal under the same conditions. Furthermore, as the concentrations of oleamide, PEWM, and CEWM increased, the endogenous fluorescence intensity of AChE and α -glucosidase also steadily decreased, suggesting that the oleamide interacted with the enzyme and quenched its fluorescence. The fluorescence intensity of α -glucosidase decreased significantly after interacting with oleamide, PEWM, and CEWM, decreasing from 729.0 to 595.0, 941.3 to 822.6, and 1444.1 to 831.6, respectively. Similarly, AChE exhibited a notable reduction in fluorescence intensity, declining from 559.4 to 468.8 for oleamide, 604.1 to 448.5 for PEWM, and 525.5 to 323.8 for CEWM. A slight red shift in the fluorescence peak position was also observed at higher concentration of samples, suggesting that the presence of oleamide, PEWM, and CEWM alters the microenvironment and conformation of enzyme. The reduction in the fluorescence quantum yield of AChE and α -glucosidase is due to intermolecular interactions, which include ground state complex formation, excited state processes, energy transfer, molecular rearrangements, and collisional quenching [33].

The three-dimensional fluorescence spectrum was analyzed to study the conformational changes that occurred in the enzyme molecule following its interaction with oleamide. The three-dimensional fluorescence spectra and their corresponding contour maps for the α -glucosidase/AChE-oleamide complexes are presented in Fig. 4. The highest intensity signal (peak 1) was assigned to the Rayleigh scattering peak ($\lambda_{ex} = \lambda_{em}$) and peak 2 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 280/344$ nm) reflects spectral behavior of tyrosine and tryptophan residues. The fluorescence intensity of peak 2 for α -glucosidase and AChE decreased from 1143 to 320 and 509 to 372 in presence of oleamide, PEWM, and CEWM, respectively. Meanwhile, peak 2 showed a small red shift at about 2 nm, suggesting that the binding site of oleamide is close to tyrosine and tryptophan residues in the enzymes, and the microenvironment was slightly altered following interaction.

3.8. Docking study of oleamide in the active site of AChE and α -glucosidase

The interaction between oleamide and AChE and α -glucosidase is shown in Table 4 and Fig. 5. Oleamide interacted with one hydrogen bonding (SER122) and five hydrophobic interactions (ASP72, TRP84, PHE330, PHE331 and TYR334) of AChE. Oleamide also interacted in the active site of α -glucosidase by one hydrogen bonding (SER241) and five hydrophobic interactions (TYR72, TYR158, PHE159, PHE178 and VAL216). The binding affinity indicated that oleamide had a stronger interaction on AChE (-6.6 kcal/mol) than α -glucosidase (-5.9 kcal/mol). The inhibition constant, which was calculated from docking binding energy results, also showed that the oleamide interacted with AChE ($K_i = 14$ (μ M)) and had higher affinity than α -glucosidase ($K_i = 47$ (μ M)). The binding affinity also supported the inhibition percentage of oleamide against AChE, which had higher potent than α -glucosidase. The trend of the inhibition constant calculated from the docking study was similar to that of the *in vitro* study (Table 3). Oleamide is the better inhibitor for AChE than α -glucosidase. The active site pocket of AChE had devised three subsites, including esteric, anionic and peripheral anionic sites (PAS) subsites. The amino acids, including HIS447 and SER200, are involved in esteric subsites, while TRP84 is located in the anionic subsites. Another subsite is PAS, including TYR70, ASP74, TRY121, TRP279, and TRY334 [34]. Oleamide was located between the anionic and PAS subsites due to its hydrophobic interactions with TRP84 (anionic subsites) and Tyr334 (PAS subsite). Previous research reported that the inhibitor bound at the esteric subsite acts as the competitive inhibition and is mostly found as the alkaloid group [35]. While non-alkaloids are likely bound at the PAS subsite, they seem to act as non-competitive and mixed-type inhibitors [19,34]. However, our results show the oleamide bound at the active site of AChE between the anionic and PAS subsites acts as a mixed-type inhibitor.

4. Conclusion

The research investigated the chemical composition of edible wild mushroom extract (CEWM) by GC-MS. The purified oleamide (PEWM) was succeed purify by PTLC and determined by GC-MS. Then, the antioxidant activity and inhibition potential of CEWM and PEWM against AChE and α -glucosidase were investigated by using *in vitro*, *in silico* and fluorescence analysis. The results reveal that twenty-two compounds were identified in CEWM, and oleamide was the major compound. The purified oleamide in the EWM was purified by PTLC with the solvent system of methanol: chloroform: water (6:6:1 v/v). The amount of oleamide in the CEWM and PEWM were 3.70 ± 0.11 and 166.05 ± 7.01 μ g/mg, respectively. The antioxidant potential by the ABTS and DPPH assay of CEWM was higher than that of PEWM. At the same time, the inhibition potential of PEWM against AChE and α -glucosidase was higher than CEWM. In addition, the inhibition potential of PEWM against AChE was higher than α -glucosidase. The standard oleamide was also shown the inhibition potential similar to PEWM by its higher inhibition potency on AChE than α -glucosidase. The inhibition mode of CEWM, PEWM and oleamide against AChE and α -glucosidase displayed mixed-type inhibition for both enzymes. The inhibition constant (K_i) of PEWM also supported the inhibition potential on AChE, which is higher than α -glucosidase. Moreover, the K_i of PEWM against AChE and α -glucosidase showed higher potency than CEWM. The K_i of oleamide had shown a similar trend to PEWM by higher potency on AChE than α -glucosidase. The CEWM, PEWM and oleamide showed fluorescence quenching by increasing the concentration of inhibitors against AChE and α -glucosidase. Thus, the results indicate that the inhibition activity of CEWM and PEWM against AChE and α -glucosidase was displayed by oleamide. The docking study of oleamide was located in the PAS site of AChE, which supported the display of this compound as a mixed-type inhibition. The binding affinity and K_i (calculated from docking binding energy results) also show that

oleamide's inhibition potential on AChE is higher than α -glucosidase. Our results suggest that oleamide had potent inhibitors for AChE, and it might be a candidate compound for Alzheimer's disease treatment.

CRediT authorship contribution statement

Sukrit Wattanalaorsomboon: Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis. Preecha Mansalal: Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis. Apirak Payaka: Validation, Investigation, Formal analysis. Somporn Sansanya: Validation, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization, Writing – review & editing, Writing – original draft. Supaporn Balya: Writing – original draft.

Funding

This research was supported by the National Science, Research and Innovation Fund, Thailand Science Research and Innovation (TSRI), through Rajamangala University of Technology Thanyaburi (FRB67E0628) (Grant No.: FRB670027/0168).

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

We would like to thank Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.142681>.

Data availability

The authors do not have permission to share data.

References

- [1] E. Mahfuz, T. Ibrahim, O. Lokman, G. Ilhami, I. Omer, Y.A.-R. Hassan, Antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculenta*) from North Turkey, *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 9 (6) (2006) 443–448, <https://doi.org/10.2174/15662670677690854>.
- [2] M.E. Valverde, T. Hernández-Pérez, O. Paredes-López, Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life, *International Journal of Microbiology* 2015 (2015) 1–14, <https://doi.org/10.1155/2015/376387>.
- [3] J.A. Vaz, L. Barros, A. Martins, C. Santos-Buelga, M.H. Vasconcelos, I.C.F. R. Ferreira, Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions, *Food Chem.* 126 (2) (2011) 610–616, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.063>.
- [4] K. Kumar, R. Mehra, R.P.F. Guine, M.J. Lima, N. Kumar, R. Kaulik, N. Ahmed, A. N. Yadav, H. Kumar, Edible mushrooms: a comprehensive review on bioactive compounds with health benefits and processing aspects, *Food* 10 (12) (2021) 2996, <https://doi.org/10.3390/foods10122996>.
- [5] S. Sornkhwan, S. Sansanya, S. Chumanee, C. Srichewin, Evaluation of biological activity and amino acid profile of protein from Thai edible insects, *Food Res.* 8 (2024) 301–308, [https://doi.org/10.26656/fr.2017.8\(4\).295](https://doi.org/10.26656/fr.2017.8(4).295).
- [6] G. Anusiya, U. Gowthama Prabu, N.V. Yamini, N. Sivrajasekar, K. Rambabu, G. Bharath, F. Banat, A review of the therapeutic and biological effects of edible and wild mushrooms, *Bioengineered* 12 (2) (2021) 11239–11268, <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2001183>.
- [7] R. Horton, Non-communicable diseases: 2015 to 2025, *Lancet* 381 (9866) (2013) 509–510, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60100-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60100-2).
- [8] I. Gulcin, R. Kaya, A.C. Goren, H. Akincioglu, M. Topal, Z. Bingol, K. Cetin Çakmak, S.B. Öztürk Sarikaya, L. Durmaz, S. Alwaseel, Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (*cinnamomum verum*) bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS, *Int. J. Food Prop.* 22 (1) (2019) 1511–1526, <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1656232>.
- [9] P. Taslimi, E. Köksal, A.C. Goren, E. Bursal, A. Atas, Ö. Kılıç, S. Alwaseel, I. Gulcin, Anti-Alzheimer, antidiabetic and antioxidant potential of *Satureja cuneifolia* and analysis of its phenolic contents by LC-MS/MS, *Arab. J. Chem.* 13 (3) (2020) 4528–4537, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.10.002>.
- [10] W. Parklak, S. Ounjaijean, K. Kulprachakarn, K. Boonyapranai, In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects, antioxidant activities, and lutein content of nine different cultivars of marigold flowers (*Tagetes* spp.), *Molecules* 28 (8) (2023) 3314, <https://doi.org/10.3390/molecules28083314>.
- [11] P. Rezende, D.S. Santos, A.C. Coelho, G.P. de Oliveira, M.A. Soaveventura, J. A. Takahashi, Edible flowers as innovative ingredients for future food development: anti-Alzheimer, antimicrobial and antioxidant potential, *Chem. Eng. Trans.* (2019), <https://doi.org/10.3303/CET1975057>.
- [12] A. Roostiana, S. Sutrisno, A.A. Aulanni'am, P.N. Muthiah, Enzymatic synthesis of oleamide using lipase immobilized in chitosan, *AIP Conf. Proc.* 2513 (1) (2022), <https://doi.org/10.1063/5.0099005>.
- [13] U. Amesamari, A. Chaveerach, R. Sudmoon, T. Tanee, S. Peigneur, J. Tytgat, Oleamide in *Ipomoea* and *Dillenia* species and inflammatory activity investigated through Ion Channel inhibition, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 22 (2) (2021) 254–261, <https://doi.org/10.2174/1389201021666200607185250>.
- [14] K. Naumoka, U. Jug, V. Metikar, I. Vovk, Oleamide, a bioactive compound, unwittingly introduced into the human body through some plastic food/beverages and medicine containers, *Food* 9 (5) (2020) 549, <https://doi.org/10.3390/foods9050549>.
- [15] S. Sansanya, A. Payaka, Inhibition potential of volatile compounds from Thai rice cultivars against acetylcholinesterase through in vitro and docking studies, *J. Food Process. Preserv.* 46 (12) (2022) e17249, <https://doi.org/10.1111/jfpp.17249>.
- [16] H. Karagöç, M.A. Yılmaz, A. Ertürk, H. Kızılas, L. Gülsen, S.H. Alwaseel, I. Gulcin, Comprehensive metabolite profiling of Berdar Propolis using LC-MS/MS: determination of antioxidant, anticholinergic, Antiglaucoma, and antidiabetic effects, *Molecules* 28 (4) (2023) 1739, <https://doi.org/10.3390/molecules28041739>.
- [17] J. Manoonpong, S. Sansanya, K. Wechakorn, Gas chromatography-mass spectrometry profiling, bioactive compounds and cytotoxicity of edible-cricket extracts as inhibitors for alpha-glucosidase, alpha-amylase, tyrosinase, and acetylcholinesterase, *Agric. Nat. Resour.* 57 (6) (2023) 917–932, <https://doi.org/10.34044/aj-anres.2023.57.6.92>.
- [18] L. Marinaccio, G. Gentile, E.J. Llorent-Martínez, G. Zengin, D. Masci, F. Flammini, A. Stefanucci, A. Mollica, Valorization of grape pomace extracts against cranberry, elderberry, rose hip berry, goji berry and tain extracts: phytochemical profile and in vitro biological activity, *Food Chem.* 463 (2025) 141323, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141323>.
- [19] P. Mansalal, N. Intanon, A. Payaka, S. Wattanalaorsomboon, C. Chinvoanorn, S. Sansanya, Inhibition potential against acetylcholinesterase of commercial and extracts of capsaicin and dihydrocapsaicin by in vitro and in silico studies, *Process Biochem.* 136 (2024) 341–350, <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.12.012>.
- [20] G.M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M.P. Sanner, R.K. Belew, D.S. Goodsell, A. J. Olson, AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility, *J. Comput. Chem.* 30 (16) (2009) 2785–2791, <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.
- [21] O. Trotti, A.J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading, *J. Comput. Chem.* 31 (2) (2010) 455–461, <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
- [22] W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, VMD: visual molecular dynamics, *J. Mol. Graph.* 14 (1) (1996) 33–38, [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).
- [23] F. Çayan, B. Deveci, G. Tel-Çayan, M.E. Duru, Chemometric approaches for the characterization of the fatty acid composition of seventeen mushroom species, *Anal. Lett.* 53 (17) (2020) 2784–2796, <https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1759062>.
- [24] P.V. Devi, J. Islam, P. Narzary, D. Sharma, P. Sultana, Bioactive compounds, nutraceutical values and its application in food product development of oyster mushrooms, *Journal of Future Foods* 4 (4) (2024) 335–342, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.11.005>.
- [25] Z. Taberikhami, O. Shojaei, Synthesis and characterization of oleamide slip agent, *Int. J. New Chem.* 8 (4) (2021) 442–452, <https://doi.org/10.22034/ijnc.2020.138604.1134>.
- [26] J.-H. Kwon, S.-E. Hwang, J.-T. Han, C.-J. Kim, J.-R. Rho, J.-E. Shin, Production of oleamide, a functional lipid, by *Streptomyces* sp. KR90379, *J. Microbiol. Biotechnol.* 11 (6) (2001) 1018–1023.
- [27] R.W. Mwangi, J.M. Macharia, I.N. Wagara, R.L. Bence, The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms, *Biomed. Pharmacother.* 147 (2022) 112621, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112621>.
- [28] P.S. Aldughayli, M.A. Raza, S. Naeem, H. Rafi, M.W. Alam, B. Souayeh, M. Farhan, M. Aamir, N. Zaidi, T.A. Mir, Extraction of bioactive compounds for antioxidant, antimicrobial, and antidiabetic applications, *Molecules* 27 (18) (2022) 5935, <https://doi.org/10.3390/molecules27185935>.
- [29] J.M. Andrade, P. Pachar, L. Trujillo, L. Cartuche, Suillina: a mixed-type acetylcholinesterase inhibitor from *Suilla lutea* which is used by Saraguro indigenous, southern Ecuador, *PLoS One* 17 (5) (2022) e0268292, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268292>.
- [30] Y. Ano, M. Ozawa, T. Kutsukake, S. Sugiyama, K. Uchida, A. Yoshida, H. Nakayama, Preventive effects of a fermented dairy product against Alzheimer's disease and identification of a novel Oleamide with enhanced microglial phagocytosis and anti-inflammatory activity, *PLoS One* 10 (3) (2015) e0118512, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118512>.

- [31] H.-J. Heo, Y.-J. Park, Y.-M. Suh, S.-J. Choi, M.-J. Kim, H.-Y. Cho, Y.-J. Chang, B. Hong, H.-K. Kim, E. Kim, C.-J. Kim, B.-G. Kim, D.-H. Shin, Effects of Oleamide on choline acetyltransferase and cognitive activities, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67 (6) (2003) 1284–1291, <https://doi.org/10.1271/bbb.67.1284>.
- [32] B.K. Sahoo, V.M. Velavalapalli, Assessing partial inhibition of ribonuclease A activity by curcumin through fluorescence spectroscopy and theoretical studies, *J. Fluoresc.* (2023), <https://doi.org/10.1007/s10895-023-03474-y>.
- [33] Z. Chen, Y. Liu, D. Wang, N. Wu, K. Wang, Y. Zhang, Preparation, chemical structure and α -glucosidase inhibitory activity of sulfated polyaaccharide from *Grifola frondosa*, *J. Funct. Foods* 98 (2022) 105289, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105289>.
- [34] T.C.D. Santos, T.M. Gomes, B.A.S. Pinto, A.L. Canara, A.M.D.A. Paes, Naturally occurring acetylcholinesterase inhibitors and their potential use for Alzheimer's disease therapy, *Front. Pharmacol.* 9 (2018) 1192, <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01192>.
- [35] H. Dvir, I. Silman, M. Harel, T.L. Rosenberry, J.L. Susman, Acetylcholinesterase: from 3D structure to function, *Chem. Biol. Interact.* 187 (1–3) (2010) 10–22, <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.042>.



อนุสิทธิบัตรเรื่อง กระบวนการทำให้บริสุทธิ์ของสารโอสีเอไมด์จากเห็ดแครง

COPY

แบบ สป/สม/อสป/001-ก
หน้า 1 ของจำนวน 2 หน้า


คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐ การประดิษฐ์
☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์
☒ อนุสิทธิบัตร

ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้
ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535
และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542

สำหรับเจ้าหน้าที่	
วันรับคำขอ 18 ต.ค. 2567	เลขที่คำขอ 2403003494
วันยื่นคำขอ 18 ต.ค. 2567	
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ กระบวนการทำให้บริสุทธิ์ของสารโอสีเอไมด์จากเห็ดแครง

2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่
ในจำนวน _____ คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน

3. ผู้รับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ บุคคลธรรมดา ☐ นิติบุคคล ☒ หน่วยงานราชการ ☐ อื่นๆ

ชื่อ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ที่อยู่ 39 หมู่ 1 ถนนรังสิต-นครนายก

ตำบล/แขวง คลองหก อำเภอ/เขต ัญบุรี จังหวัด ปทุมธานี รหัสไปรษณีย์ 12110 ประเทศ ไทย

อีเมล mayuree_j@rmutt.ac.th

☐ เลขประจำตัวประชาชน ☐ เลขทะเบียนนิติบุคคล ☒ เลขประจำตัวผู้เสียภาษี ☐ เลขประจำตัวนิติบุคคล

ในกรณีที่มีนาม สurname/นามสกุล ชื่อ/ชื่อตัว ชื่อ/ชื่อตัวแทน ☒ ชื่อและชื่อ ☐ ชื่อตัวแทน

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ☐ ผู้รับโอน ☐ ผู้ขอรับสิทธิโดยผู้สืบทอด

5. ตัวแทน (ถ้ามี)

ชื่อ _____

ที่อยู่ _____

ตำบล/แขวง _____ อำเภอ/เขต _____ จังหวัด _____ รหัสไปรษณีย์ _____ ประเทศ _____

อีเมล _____

เลขประจำตัวประชาชน _____ ☐ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ ☐ ชื่อและที่อยู่ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ

ชื่อ นายสมพงษ์ แสนสนายา

ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี 39 หมู่ 1 ถนนรังสิต-นครนายก

ตำบล/แขวง คลองหก อำเภอ/เขต ัญบุรี จังหวัด ปทุมธานี รหัสไปรษณีย์ 12110 ประเทศ ไทย

อีเมล sompong_s@rmutt.ac.th

เลขประจำตัวประชาชน 3 4 5 0 1 0 0 5 8 2 4 8 7 ☒ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม

ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อำนาจในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในอันเดียวกับการขอรับสิทธิบัตร
เลขที่ _____ วันยื่น _____ เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ

☐ คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ☐ ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ☐ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม่อาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบฟอร์มนี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและข้อที่เปลี่ยนแปลงเพิ่มเติมดังต่อไปนี้

สำหรับเจ้าหน้าที่			
จำนวนประเภทสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	สิทธิบัตรการออกแบบ	อนุสิทธิบัตร	
☐ กลุ่มวิศวกรรม	☐ กลุ่มเคมี	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 1)	☐ อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (วิศวกรรม)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เคมี/เภสัช)	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 2)	☐ อนุสิทธิบัตร (เคมี)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ไฟฟ้า)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เทคโนโลยีชีวภาพ)	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 3)	
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (สิ่งประดิษฐ์)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เภสัชภัณฑ์)		

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายสุกฤษฎี วัฒนลออสมบุญ
วัน-เดือน-ปีเกิด	04 พฤศจิกายน 2536
ที่อยู่	477/9 หมู่10 ตำบลในคลองบางปลากด อำเภอสุมทรีบุรีรัมย์
การศึกษา	การแพทย์แผนไทยประยุกต์บัณฑิต วิทยาลัยการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
เบอร์โทรศัพท์	085-130-1311
อีเมล	sukrit_w@mail.rmutt.ac.th

