

ผลของการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟโดยไม่ใช้ตัวทำละลายต่อสารสำคัญบางชนิดจากใบกัญชง  
ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพและยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs)

Effects of Solvent-free Microwave Extraction on the Active Substances  
from Hemp Leaves of Bioactive Compounds and Inhibitions of Enzymes Relevant  
to Non-communicable Diseases (NCDs)

ศรัณญา สุวรรณอังกู<sup>1</sup> ปังกร ส่างสวัสดิ์<sup>2</sup> นักรบ นาคประสม<sup>3</sup> และกาญจนา นาคประสม<sup>3\*</sup>  
Saranya Suwanangul<sup>1</sup>, Papungkorn Sangsawad<sup>2</sup>, Nukrob Narkprasom<sup>3</sup>  
and Kanjana Narkprasom<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>2</sup>สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา 30000

<sup>3</sup>สาขาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>1</sup>Program of Food Science and Technology, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University  
Chiang Mai, Thailand 50290

<sup>2</sup>School of Animal Technology and Innovation, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology  
Nakhon Ratchasima, Thailand 30000

<sup>3</sup>Program in Food Engineering, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

\*Corresponding author: kanjana\_n@mju.ac.th

Received: June 13, 2023

Revised: October 12, 2023

Accepted: November 01, 2023

## Abstract

Non-communicable diseases (NCDs) pose a significant public health challenge in Thailand and globally, resulting in economic burdens and side effects from pharmaceutical treatments. To mitigate these issues, the use of plant extracts as preventive measures has gained attention. This research investigated the effects of solvent-free microwave extraction of hemp leaves on bioactive compounds. Hemp leaf extracts were obtained using microwave power settings of 150, 250 and 350 W for durations of 15 and 30 minutes. The study evaluates the antioxidant activity through assays including DPPH, FRAP, metal chelating activity, and hydroxyl radical scavenging, as well as the inhibitory effects on enzymes related to various health conditions, including ACE (hypertension), DPP-IV (type 2 diabetes),  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase (type 2 diabetes and obesity), and HMG-CoA reductase (hyperlipidemia). The valuable compounds in hemp leaves were extracted using microwave-assisted extraction at 350 W for 15 minutes. This extraction method yielded the highest DPPH, FRAP, and hydroxyl radical scavenging

activities, with respective  $EC_{50}$  values of 0.75, 0.39 and 1.16 mg/ml. Furthermore, it exhibited the most potent inhibitory effects on ACE,  $\alpha$ -amylase, and  $\alpha$ -glucosidase enzymes, with  $IC_{50}$  values of 0.35, 0.14 and 0.23 mg/ml, respectively. Furthermore, the valuable compounds extracted from hemp leaves using microwave-assisted extraction at 250 W for 30 minutes were identified as the most effective in inhibiting DPP-IV ( $IC_{50}$ =0.37 mg/ml) and HMG-CoA reductase ( $IC_{50}$ =1.18 mg/ml). This study highlights the nutritional potential of hemp leaf extracts as a promising strategy for preventing NCDs.

**Keywords:** solvent-free microwave extraction, hemp leaves, non-communicable diseases  
bioactive compounds

### บทคัดย่อ

โรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs) เป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขของประเทศไทยและทั่วโลก ก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ และการใช้ยารักษาโรค NCDs ส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ ดังนั้นการใช้สารสกัดจากพืชจึงเป็นทางเลือกที่ดีที่จะใช้ป้องกันการเกิดโรคเหล่านี้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟ โดยไม่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญจากใบกัญชงต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ทั้งนี้ สารสกัดจากใบกัญชงถูกสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟฟ้า 150, 250 และ 350 วัตต์ เป็นระยะเวลา 15 และ 30 นาที เพื่อทดสอบการออกฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, FRAP, การดักจับอนุมูลอิสระของโลหะ การกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิล และการยับยั้งเอนไซม์ ACE (โรคความดันโลหิตสูง) เอนไซม์ DPP-IV (โรคเบาหวานชนิดที่ 2) เอนไซม์  $\alpha$ -amylase เอนไซม์  $\alpha$ -glucosidase (โรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคอ้วน) และเอนไซม์ HMG-CoA reductase (ภาวะไขมันในเลือดสูง) สารสำคัญจากใบกัญชงที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 350 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที มีประสิทธิภาพขจัดอนุมูลอิสระ DPPH, FRAP มีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.75, 0.39 และ 1.16 มก./มล ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพยับยั้งเอนไซม์ ACE,

$\alpha$ -amylase และ  $\alpha$ -glucosidase สูงที่สุด มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.35, 0.14 และ 0.23 มก./มล ตามลำดับ นอกจากนี้ สารสำคัญจากใบกัญชงที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 250 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที มีประสิทธิภาพในยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV ( $IC_{50}$ =0.37 มก./มล.) และ HMG-CoA Reductase ( $IC_{50}$ =1.18 มก./มล.) สูงที่สุด การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบกัญชงมีศักยภาพทางโภชนเภสัชซึ่งสามารถใช้ป้องกันการสูญเสียจากโรค NCDs ได้

**คำสำคัญ:** การสกัดด้วยไมโครเวฟโดยไม่ใช้ตัวทำละลาย ใบกัญชง โรคไม่ติดต่อเรื้อรัง ฤทธิ์ทางชีวภาพ

### คำนำ

อุบัติการณ์ของโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Non-Communicable Diseases: NCDs) เป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขทั้งระดับโลกและระดับประเทศ และยังเป็นสาเหตุสำคัญในแง่ภาระโรคและอัตราการเสียชีวิต ซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกี่ยวข้องกับภาระค่าใช้จ่ายสำหรับการรักษาพยาบาล และคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยและผู้ดูแล โดยมีการคาดการณ์ไว้ว่าระหว่าง พ.ศ. 2554 ถึง 2573 ต้นทุนการรักษาผู้ป่วยกลุ่มโรค NCDs จะมีมูลค่าสูงถึง 46.7 ล้านล้านดอลลาร์สหรัฐ หรือคิดเป็น

ประมาณ 1,401 ล้านล้านบาท สำหรับประเทศไทยโรค NCDs ก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจสูงถึงร้อยละ 2.2 ของผลิตภัณฑ์มวลรวมประชาชาติ หรือมีมูลค่าทั้งสิ้น 198,512 ล้านบาท ซึ่งเกิดจากโรค NCDs ใน 4 กลุ่มโรคหลัก ได้แก่ โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง และโรคทางเดินหายใจเรื้อรัง (Rojanapithayakorn, 2019) การเกิดโรคเหล่านี้ส่วนใหญ่มีสาเหตุจากภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ซึ่งเกิดจากความไม่สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ในร่างกาย และในทางกลับกันภาวะโรคสามารถส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันที่รุนแรงขึ้น และชักนำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นซึ่งส่งผลให้การทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระของเซลล์ลดลง ตลอดจนซ้ำเติมให้โรคมีการพัฒนาที่รุนแรงเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน (Camps *et al.*, 2014) จากสถานการณ์ข้างต้นจะเห็นได้ว่ากลุ่มโรค NCDs ยังเป็นปัญหาสุขภาพอันดับหนึ่งของประเทศไทยและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้โรค NCDs ยังเป็นโรคที่รักษาไม่หายขาด การจะทำให้ประเทศไทยบรรลุเป้าหมายการลดโรคและลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ จึงถือว่ามีความสำคัญและท้าทายอย่างมาก

จากแนวคิดการส่งเสริมสุขภาพด้วยโภชนาการที่ดีตามหลักการอาหารเป็นยา เป็นหนึ่งในวิธีการที่สามารถป้องกันการเกิดโรคและสร้างความสมดุลของร่างกายได้ (Panutat *et al.*, 2017) การนำสารสกัดสำคัญมาใช้ประโยชน์นั้น นอกจากสายพันธุ์และกระบวนการเพาะปลูก กระบวนการสกัดและการทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์ตรงต่อความต้องการนำไปใช้งานเป็นหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญ การเลือกใช้เทคโนโลยีการสกัดที่ไม่เหมาะสมทำให้ได้สารสกัดคุณภาพต่ำ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพรวมของคุณภาพของสินค้า และผลิตภัณฑ์ที่นำไปประยุกต์ใช้ในเชิงอาหารเสริม อันเนื่องมาจากวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมมีการใช้ความร้อนเป็นระยะเวลาานาน ซึ่งมีผลทำลายสารสำคัญที่ไม่ทนความร้อน (Thermolabile

substances) รวมทั้งส่งผลให้มีปริมาณหรือความเข้มข้นลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compound) (Kurtulbas *et al.*, 2022) ดังนั้นการเลือกใช้เทคโนโลยีการสกัดสารสำคัญที่ให้ประสิทธิภาพสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Eco-friendly technology) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ไม่ใช้ตัวทำละลาย (Solvent-free Microwave Extraction; SFME) จึงเป็นหนึ่งในเทคโนโลยีสมัยใหม่ที่น่าสนใจ

สารประกอบพอลิฟีนอล (Polyphenol) ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสารพิษเคมีที่พบในกัญชง (*Cannabis sativa* L.) ซึ่งช่วยทำให้อนุมูลอิสระที่สร้างความเสียหายให้แก่เซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ อยู่ในสภาพที่เป็นกลาง หยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ของอนุมูลอิสระที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอันนำไปสู่การตายของเซลล์ และในสารสกัดจากใบกัญชงยังพบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน อนุมูลไฮดรอกซิล อนุมูลเปอร์ออกไซด์ การจับกับโลหะเหล็ก ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเอนไซม์ (Acetylcholinesterase Enzyme; AChE) ซึ่งเกี่ยวข้องกับอาการของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อม และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (Monoaminooxidase A; MAO-A) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าในการทำลายสารสื่อประสาทในสมอง (Casedas, 2022) จากประโยชน์และความสำคัญของสารสกัดสำคัญดังกล่าว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกระบวนการสกัดสารสำคัญจากใบกัญชงด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ไม่ใช้ตัวทำละลายร่วมต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรค NCDs เพื่อเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากใบกัญชงที่มีประโยชน์ในป้องกันการเกิดโรค NCDs

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การสกัดสารสำคัญจากใบกล้วยขงด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ไม่ใช้ตัวทำละลายร่วม

นำใบกล้วยขงแห้ง (ใบแก่) ที่ได้จากบริษัท ซีดีเอฟ ดีเวลลอปเม้นท์ จำกัด แชน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำ DI ในอัตราส่วน 1:3 โดยน้ำหนัก เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นสะเด็ดน้ำให้พอมืด และนำใบกล้วยขงใส่ลงในโหลแก้วทนความร้อนที่มากับเครื่อง MGE สกัดสารสำคัญจากใบกล้วยขงด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ETHOS X, Milestone, Italy) ด้วยเทคนิค Solvent-free extraction โดยควบคุมกำลังไฟของไมโครเวฟเท่ากับ 150, 250 และ 350 วัตต์ (W) เป็นระยะเวลา 15 และ 30 นาที (m) ตามลำดับ ทำการสกัดซ้ำ 3 รอบ โดยแต่ละรอบหยุดพักเป็นเวลาเท่ากับเวลาที่ได้รับคลื่นไมโครเวฟ จากนั้นนำสารสกัดไปทำแห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง

### ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ)

การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงวิธีจาก Girgih *et al.* (2011) เตรียมสารละลาย DPPH รีเอเจนต์ โดยละลาย DPPH 0.0040 กรัม ในเมทานอล ปริมาตร 100 มล. และละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ใน 0.1 โมลาร์ของโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ที่มี Triton X-100 ทดสอบการออกฤทธิ์ด้วยการปิเปต สารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม 96 หลุม จากนั้นเติมรีเอเจนต์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกลูตาไรโอน และใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวอย่างควบคุม สามารถคำนวณจากสมการดังนี้

$$\% \text{Inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ดัดแปลงวิธีจาก Girgih *et al.* (2011) เตรียมสารละลาย FRAP รีเอเจนต์ โดยผสมสารละลาย 300 มิลลิโมลาร์ของ

โซเดียมอะซิเตท pH 3.6 สารละลาย 20 มิลลิโมลาร์ของเพอร์ริกคลอไรด์ และสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ของ TPTZ ใน 40 มิลลิโมลาร์ของกรดไฮโดรคลอริก ในอัตราส่วน 10:1:1 ตามลำดับ จากนั้นเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม 96 หลุม จากนั้นเติมสาร 200 ไมโครลิตรของ FRAP รีเอเจนต์ จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร ที่อุณหภูมิ 37°C. โดยเปรียบเทียบกับค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Ferrous sulfate (ความเข้มข้น 0.0625-1 มิลลิโมลาร์)

การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลไฮดรอกซิล ดัดแปลงวิธีจาก Girgih *et al.* (2011) ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ถูกละลายด้วย 0.1 โมลาร์ของโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ทดสอบการออกฤทธิ์ด้วยการปิเปตตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม 96 หลุม จากนั้นเติมสาร 3 มิลลิโมลาร์ของ 1,10-phenanthroline ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และ 3 มิลลิโมลาร์ของเพอร์รัสซัลเฟต ปริมาตร 50 ไมโครลิตร รวมทั้ง 0.01% Hydroperoxide ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร และอ่านค่าการดูดกลืนแสงทุก ๆ 10 นาที จนครบ 1 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับกลูตาไรโอนและใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวอย่างควบคุม สามารถคำนวณจากสมการ ดังนี้

$$\% \text{Inhibition} = [(\Delta A / \text{min})_{\text{control}} - (\Delta A / \text{min})_{\text{sample}}] / (\Delta A / \text{min})_{\text{control}} \times 100$$

การเกิดคีเลชันของโลหะดัดแปลงวิธีจาก Girgih *et al.* (2011) ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ถูกละลายในน้ำกลั่น ทดสอบการออกฤทธิ์ด้วยการปิเปตตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม 96 หลุม จากนั้นเติมสาร 5 มิลลิโมลาร์ของ Ferrozene ปริมาตร 50 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 925 ไมโครลิตร และ 2 มิลลิโมลาร์ของเพอร์สคลอไรด์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกลูตาไรโอนและใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอย่างควบคุม คำนวณจากสมการ ดังนี้

$$\%Inhibition = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control}] \times 100$$

ทั้งนี้การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงเป็นค่า EC<sub>50</sub> คือ ความเข้มข้นของตัวอย่างที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% โดยคำนวณจากกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างกับค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

### ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโรค NCDs

การยับยั้ง Angiotensin-converting enzyme (ACE) ทดสอบด้วย ACE activity assay kit เติมตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นที่ละลายใน 50 มิลลิโมลาร์ ของ Tris-HCl buffer pH 7.5 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม 96 หลุม จากนั้นเติมเอนไซม์ ACE ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และ 0.5 มิลลิโมลาร์ของ FAPGG ปริมาตร 170 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 345 นาโนเมตร โดยอ่านค่าการดูดกลืนแสงทุก ๆ 1 นาที จนครบ 30 นาที โดยเปรียบเทียบกับแคปโตพริลและใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวอย่างควบคุม คำนวณการยับยั้งจากสมการ

$$\%Inhibition = [(slop_{control} - slop_{sample})/slop_{control}] \times 100$$

การยับยั้ง Dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) ทดสอบด้วย DPP-IV activity assay kit เติมตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นที่ละลายใน 100 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl buffer pH 8.0 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม 96 หลุม จากนั้นเติมเอนไซม์ DPP-IV ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และซับสเตรท (0.75 มิลลิโมลาร์ ของ Gly-Pro-p-NA) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37°C. เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับ Tripeptide diprotin A (Ile-Pro-Ile) และใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวอย่างควบคุม คำนวณการยับยั้งจากสมการ

$$\%Inhibition = 1 - [(A_{test\ sample} - A_{test\ sample\ blank}) / (A_{positive\ control} - A_{negative\ control})] \times 100$$

เมื่อ A<sub>test sample</sub> คือ ตัวอย่าง+ซับสเตรท+เอนไซม์ DPP-IV

A<sub>test sample blank</sub> คือ ตัวอย่าง+ซับสเตรท+บัฟเฟอร์

A<sub>positive control</sub> คือ บัฟเฟอร์+ซับสเตรท+เอนไซม์ DPP-IV

A<sub>negative control</sub> คือ บัฟเฟอร์+สารตั้งต้น

การยับยั้งเอนไซม์  $\alpha$ -amylase ตัดแปลงจากวิธีของ Awosika and Aluko (2019) ตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นที่ละลายใน 0.02 โมลาร์ของโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37°C. เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมเอนไซม์ Alpha-amylase ที่ความเข้มข้น 1 มก./มล. ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และละลายแป้ง 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 25°C. เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 200 ไมโครลิตร (96 มิลลิโมลาร์ของ DNS 2 โมลาร์ของ Sodium potassium tartrate tetrahydrate และ 2 โมลาร์ของ NaOH) และนำไปต้มเป็นเวลา 5 นาที เมื่อสารละลายเย็นตัวเติมน้ำกลั่น 3 มล. และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับอะคาโบสและคำนวณการยับยั้งจากสมการ

$$\%Inhibition = [A_{control} - (A_{sample} - A_{sample\ blank}) / A_{control}] \times 100$$

เมื่อ A<sub>control</sub> คือ เติมบัฟเฟอร์แทนตัวอย่าง

A<sub>sample</sub> คือ การไม่เติมบัฟเฟอร์

A<sub>sample blank</sub> คือ การเติมบัฟเฟอร์แทนเอนไซม์

การยับยั้งเอนไซม์  $\alpha$ -glucosidase ตัดแปลงวิธีจาก Awosika and Aluko (2019) เตรียมเอนไซม์อย่างหยาบ (Rat intestinal acetone power) 300 มก. ละลายใน 0.9% โซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 9 มล. จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารละลายส่วนใสและเก็บแช่แข็งรอจนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ ปิเปตตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นที่ละลายใน 0.1 โมลาร์ของโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม 96 หลุม และเติมเอนไซม์อย่างหยาบ 50 ไมโครลิตร บ่มที่ 37°C. เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติบซับสเตรต 5 มิลลิโมลาร์ ของ PNP-glycoside ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร โดยอ่านค่าการดูดกลืนแสงทุก ๆ

30 วินาที จนครบ 30 นาที โดยเปรียบเทียบกับอะคาโบส และคำนวณการยับยั้งจากสมการ

$$\% \text{Inhibition} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{control blank}}) / (A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}})}{\times 100}$$

เมื่อ  $A_{\text{control}}$  คือ บัฟเฟอร์+เอนไซม์+ซับสเตรต

$A_{\text{control blank}}$  คือ บัฟเฟอร์+ซับสเตรต

$A_{\text{sample}}$  คือ ตัวอย่าง+เอนไซม์+ซับสเตรต

$A_{\text{sample blank}}$  คือ ตัวอย่าง+บัฟเฟอร์+ซับสเตรต

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ด้วยวิธี Colorimetric โดยใช้ชุดทดสอบ HMG-CoA reductase assay kit (Sigma) ซึ่งมี HMG-CoA เป็นสารตั้งต้น และประเมินการลดลงของ NADPH โดยวัดการดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ที่อุณหภูมิ 37°C. ซึ่งอ่านค่าทุก ๆ 1 นาที เป็นเวลา 15 นาที และใช้พรอวาสแตติน (Pravastatin) เป็นสารควบคุมบวกความเข้มข้นของสารสกัดที่ทดสอบ คือ 25-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลที่ได้แสดงเป็นค่าเป็นการทำงานของเอนไซม์ (Units/mg protein) และแปลงค่าการทำงานของเอนไซม์ให้เป็นร้อยละของการยับยั้ง โดยเทียบกับกลุ่มที่เกิดปฏิกิริยาโดยสมบูรณ์ คำนวณการยับยั้งจากสมการ

$$\% \text{Inhibition} = \frac{[(\text{slop}_{\text{control}} - \text{slop}_{\text{sample}}) / \text{slop}_{\text{control}}] \times 100}$$

ทั้งนี้การออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ต่าง ๆ แสดงด้วยค่า  $IC_{50}$  คือ ความเข้มข้นของตัวอย่างที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ 50% โดยคำนวณจากกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างกับค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 20

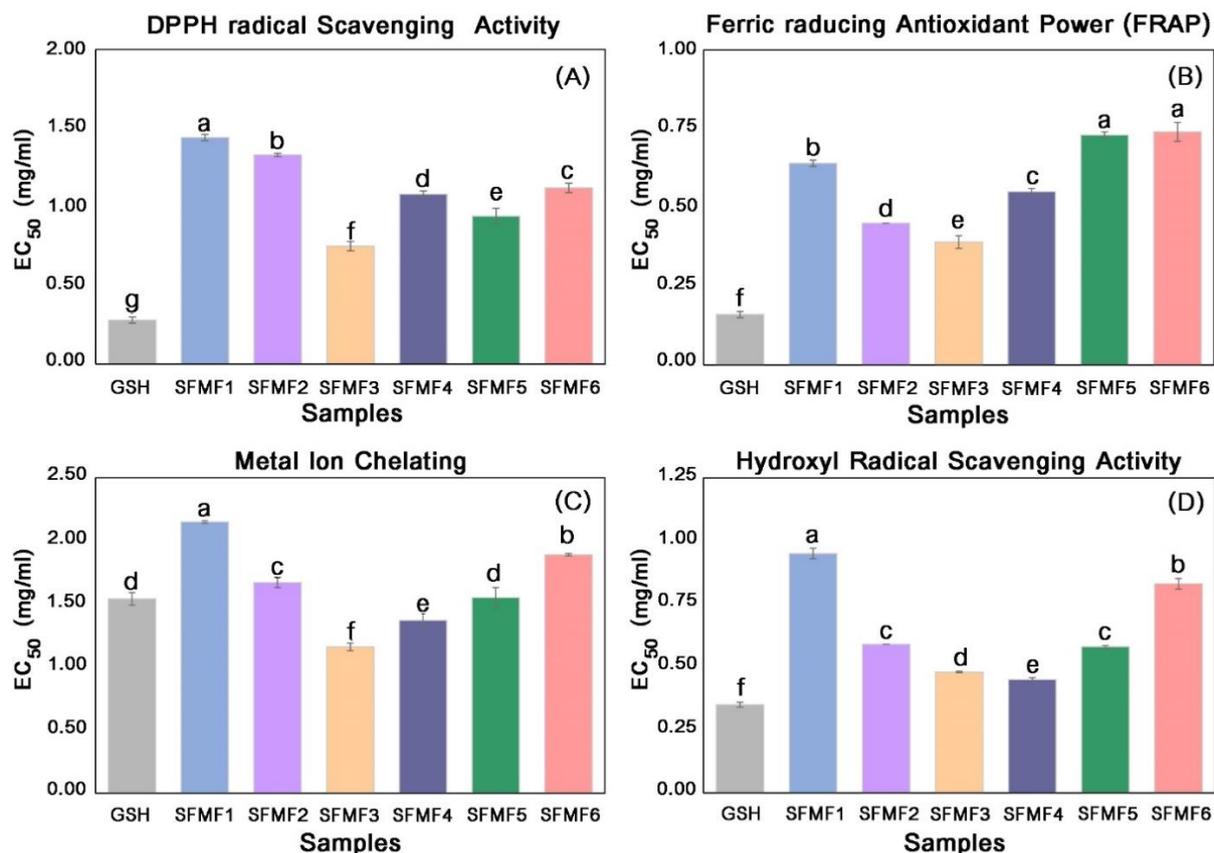
## ผลการวิจัยและวิจารณ์

### ผลของสารสกัดสำคัญจากใบกัญชงต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ไม่ใช้ตัวทำละลายร่วม (SFME) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ได้ โดยพลังงานไมโครเวฟถูกส่งตรงไปยังเซลล์พืชด้วยอันตรกิริยาระดับโมเลกุล (Molecular interaction) ของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าผ่านการเปลี่ยนแปลงพลังงานแม่เหล็กไฟฟ้าไปเป็นพลังงานความร้อน เมื่อน้ำในเซลล์พืชดูดซับพลังงานไมโครเวฟจะเกิดปรากฏการณ์ Superheating โดยโมเลกุลของน้ำหรือความชื้นที่มีอยู่ในเซลล์พืชเกิดการสั่นสะเทือนและเกิดแรงดันขึ้นภายในเซลล์ทำให้เซลล์แตก จึงปล่อยสารสำคัญที่อยู่ภายในออกมา (Suedee, 2017) จากการศึกษาผลของการใช้เทคนิค SFME ที่สภาวะแตกต่างกันในการสกัดสารสำคัญจากใบกัญชงที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 350 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที ให้ค่าสูงสุดในการตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ( $EC_{50}$  เท่ากับ 0.72 มก./มล.) FRAP assay ( $EC_{50}$  เท่ากับ 0.39 มก./มล.) และความสามารถดักจับไอออนของโลหะ ( $EC_{50}$  เท่ากับ 1.16 มก./มล.) โดยแตกต่างกับสภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (Figure 1A-C) เมื่อใช้คลื่นไมโครเวฟพลังงานสูง จะทำให้อุณหภูมิของระบบเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลทำให้ผนังเซลล์ของใบกัญชงได้รับความเสียหายและปลดปล่อยสารสำคัญที่อยู่ภายในออกมามากขึ้น อย่างไรก็ตามความร้อนที่เกินขึ้นอาจส่งผลต่อกลุ่มของสารออกฤทธิ์ โดยเฉพาะสารที่เสื่อมสภาพเมื่อได้รับความร้อนสูงหรือนานเกินไป (Tatke and Jaiswal, 2011) ดังนั้นการสกัดสารสำคัญจากใบกัญชงด้วยคลื่นไมโครเวฟพลังงาน 350 วัตต์ เป็นระยะเวลา 15 นาที จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารสำคัญจากใบกัญชง

ในขณะที่การสกัดสารสำคัญจากใบกัญชงด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 150 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมลไฮดรอกซิลสูงที่สุด ด้วยค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.45 มก./มล. (Figure D) สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใบกัญชงคล้ายกับการสกัดพืชสมุนไพรหลายชนิด ดังการศึกษาของ Sahin *et al.* (2017) ที่ใช้เทคนิค SFME สกัดใบมะกอก เมื่อตรวจวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดของสารแต่ละชนิดแตกต่างกัน คือ ใช้กำลังไฟอยู่ในช่วง 350 วัตต์ มีประสิทธิภาพดีกว่าการสกัดกำลังไฟในช่วง 250 วัตต์ ขณะที่ Othman *et al.* (2020) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เทคนิค SFME ในการสกัดใบพญาขอ (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) คือ ใช้กำลังไฟของไมโครเวฟ 400 วัตต์เป็นเวลา 15 นาที นอกจากนี้การแช่ตัวอย่างก่อนการสกัดยังส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดเช่นกัน ซึ่งงานวิจัยมีขั้นตอนการแช่ใบกัญชงเป็นระยะเวลา 30 นาที

ก่อนสกัดด้วยเทคนิค SFME จากการศึกษาของ Ismail-Suhaimy *et al.* (2021) พบว่าการแช่สมุนไพรในตัวทำละลายก่อนทำการสกัดด้วยเทคนิค SFME ช่วยให้การสกัดที่ได้มีปริมาณสารสำคัญเพิ่มขึ้น และ Dhobi *et al.* (2009) พบว่าการแช่ดอกมิลค์ ทิสเซิล (*Silybum marianum*) เป็นเวลา 20 นาที ก่อนสกัดสามารถเพิ่มปริมาณ Silybinin ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อย่างไรก็ตามอนุมูลอิสระมีความสำคัญต่อกระบวนการเสื่อมของเซลล์และการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของสมอง โรคเบาหวาน โรคกล้ามเนื้อหัวใจ และโรคหลอดเลือดหัวใจ (Lepping *et al.*, 2011) ดังนั้นการสร้างอนุมูลอิสระจำนวนมากจะก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดสำคัญจากใบกัญชงสามารถช่วยลดปริมาณอนุมูลอิสระและช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคได้ เป็นต้น



**Figure 1** Antioxidant activity of hemp leaves by different extraction methods (SFME1=150 W/15 m, SFME2=250 W/15 m, SFME3=350 W/15 m, SFME4=150 W/30 m, SFME5=250 W/30 m and SFME6=350 W/30 m). (A) DPPH radical scavenging activity, (B) ferric reducing antioxidant power and (C) metal ion chelating and (D) hydroxyl radical scavenging activity. Bars (mean±standard deviation) with different letters have mean values that are significantly different at  $p < 0.05$ .

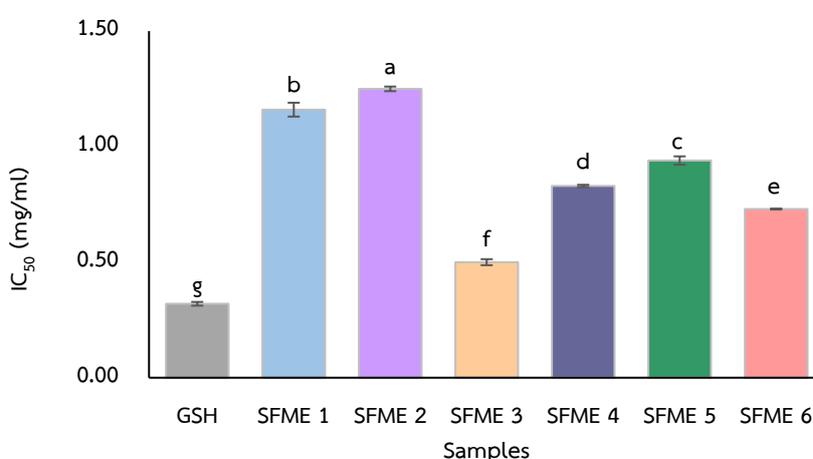
### ผลของสารสกัดสำคัญจากใบกัญชงต่อการยับยั้ง เอนไซม์ ACE

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ ACE ใน สารสกัดสำคัญจากใบกัญชงด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 350 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง ACE ( $IC_{50}=0.35$  มก./มล.) สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แสดงดัง Figure 2 จากงานวิจัยของ Mun'im *et al.* (2017) พบว่าสารสกัดใบกระสัง (*Peperomia pellucida* L.) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ ACE ร้อยละ 54.73 ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มก./มล. เมื่อใช้คลื่น

ไมโครเวฟที่ระดับพลังงานร้อยละ 30 ขณะที่ Deo *et al.* (2016) พบว่าสารสกัดจากใบมะขามป้อมที่ ผ่าน กระบวนการสกัดสามารถยับยั้งเอนไซม์ ACE ด้วยค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.27 มก./มล. ทั้งนี้สารสกัดจากพืชมีฤทธิ์ลดความดันโลหิตเกิดจากหลายกลไกที่สำคัญ ได้แก่ ด้านการทำงานของระบบ Renin-angiotensin ซึ่งเป็นระบบที่สำคัญในการควบคุมความดันโลหิตของร่างกาย โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ ACE ทำให้ Angiotensin I ไม่สามารถเปลี่ยนเป็น Angiotensin II และไม่เกิดการกระตุ้น Angiotensin receptor จึงลดการบีบตัวของ

หลอดเลือด (Hoe and Lam, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากพืชสามารถต้านการออกฤทธิ์ของ Angiotensin II Tun endothelium-dependent pathway ซึ่งเกี่ยวกับการปลดปล่อย Nitric oxide และ Prostaglandin (Poh *et al.*, 2013) ทั้งนี้สารสกัดจากพืชยังออกฤทธิ์กระตุ้น Cholinergic receptor (Hoe and Lam, 2005) ทำงานของเอนไซม์ cyclo-oxygenase ที่เยื่อบุผนังหลอดเลือดทำให้ระดับ Prostaglandins

เพิ่มขึ้น (Poh *et al.*, 2013) ออกฤทธิ์ต่อ Voltage-gated calcium channels ปิดกั้นการไหลแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ (Hoe *et al.*, 2007) เปิด Potassium channels และ กระตุ้นการหลั่ง Prostacyclin (Ng *et al.*, 2013) ลดเอนไซม์ Lactate dehydrogenase, Creatinine, Phosphate kinase และเพิ่มฤทธิ์ของ Bradykinin ซึ่งฤทธิ์ของ สารสกัดจากพืชดังกล่าวจะส่งผลให้หลอดเลือด ขยายตัวและความดันโลหิตลดลง (Poh *et al.*, 2013)

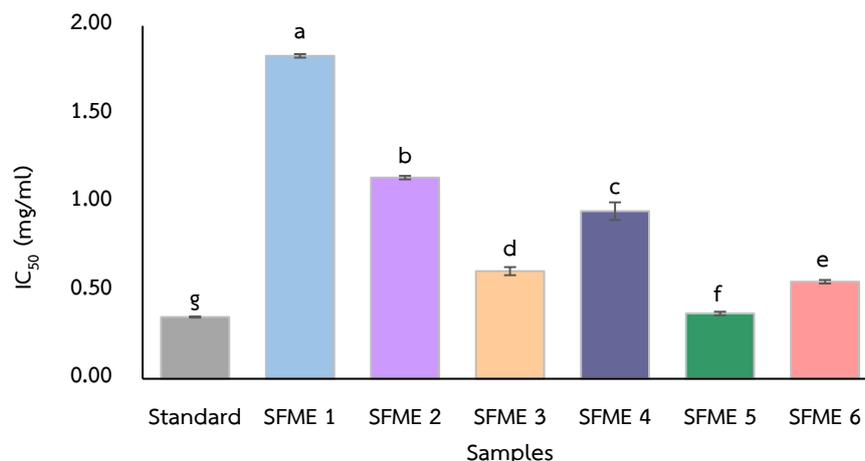


**Figure 2** Angiotensin converting enzyme inhibition of hemp leaves by different extraction methods (SFME1=150 W/15 m, SFME2=250 W/15 m, SFME3=350 W/15 m, SFME4=150 W/30 m, SFME5=250 W/30 m and SFME6=350 W/30 m). Bars (mean±standard deviation) with different letters have mean values that are significantly different at p<0.05.

#### ผลของสารสกัดใบกัญชงต่อการยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV ของสารสกัดสำคัญจากใบกัญชง พบว่าการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 250 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV สูงที่สุด ค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.37 มก./มล. รองลงมา คือ การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 350 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที มีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.61 มก./มล. (Figure 3) ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV ของสารสกัดจากใบฝรั่งมีค่า

IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.38 มก./มล. (Eidenberger *et al.*, 2013) อย่างไรก็ตามสารสกัดจากใบกัญชงที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 250 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV มากกว่าสารสกัดจากใบฝรั่ง (IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.80 มก./มล.) (Ansari *et al.*, 2021) ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV ดังกล่าวอาจเกิดจากสารประกอบกลุ่ม flavonoids และสารประกอบในกลุ่ม Phenolics (Algariri *et al.*, 2014)

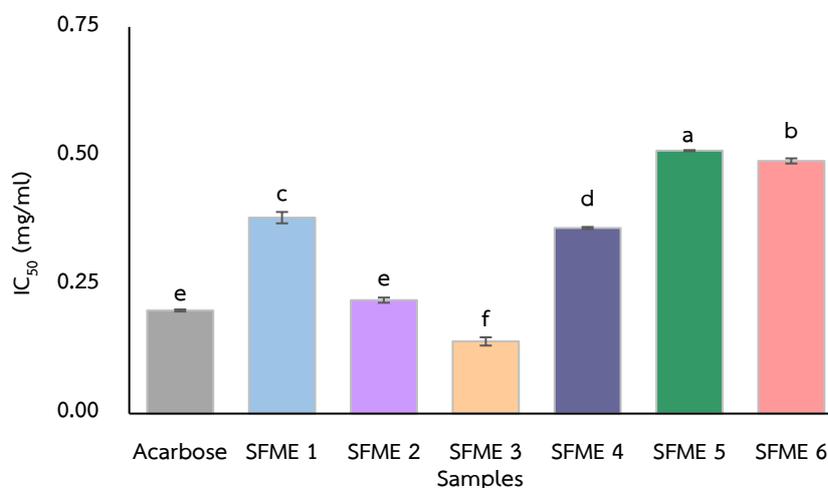


**Figure 3** DPP-IV Inhibition of hemp leaves by different extraction methods (SFME1=150 W/15 m, SFME2=250 W/15 m, SFME3=350 W/15 m, SFME4=150 W/30 m, SFME5=250 W/30 m and SFME6=350 W/30 m). Bars (mean  $\pm$  standard deviation) with different letters have mean values that are significantly different at  $p < 0.05$ .

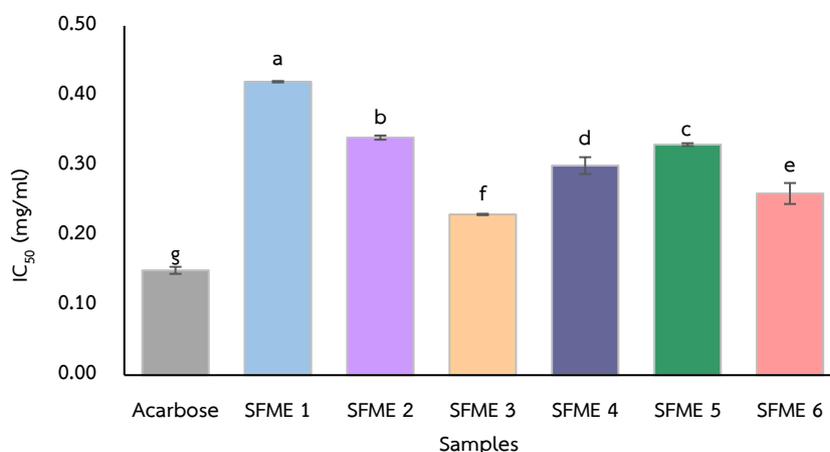
### ผลของสารสกัดใบกัญชงต่อการยับยั้งเอนไซม์ $\alpha$ -amylase และ $\alpha$ -glucosidase

ผลการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสด้วยสารสกัดจากใบกัญชง พบว่าการสกัดใบกัญชงด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 350 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีที่สุด ( $IC_{50}$  เท่ากับ 0.14 และ 0.23 มก./มล.) (Figure 4-5) ประสิทธิภาพของสารสกัดใบกัญชงมีผลใกล้เคียงกับสารสกัดจากฝางซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.08 และ 0.18 มก./มล. ตามลำดับ (Chalopagorn and Klomsakul, 2017) กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดต่อการลดระดับกลูโคสในพลาสมา คือ การเพิ่มความไวของ

อินซูลิน และเพิ่มการนำกลูโคสเข้าสู่เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ ซึ่งเป็นกลไกการลดระดับกลูโคสในพลาสมาโดยตรง (Hassan *et al.*, 2010) ในขณะที่กลไกการยับยั้งทางอ้อมของสารสกัด สามารถทำได้โดยกระตุ้นเมตาบอลิซึมของกลูโคสผ่าน Glycolytic pathway และยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคส (Gluconeogenesis) (Choi *et al.*, 2016) นอกจากนี้การค้นพบสารที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสจากพืช เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการส่งเสริมคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยเบาหวาน และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของอินซูลิน รวมถึงสามารถสร้างความสมดุลของระดับน้ำตาลในเลือดได้



**Figure 4** Alpha-amylase inhibition of hemp leaves by different extraction methods (SFME1=150 W/15 m, SFME2=250 W/15 m, SFME3=350 W/15 m, SFME4=150 W/30 m, SFME5=250 W/30 m and SFME6=350 W/30 m). Bars (mean ± standard deviation) with different letters have mean values that are significantly different at  $p < 0.05$ .

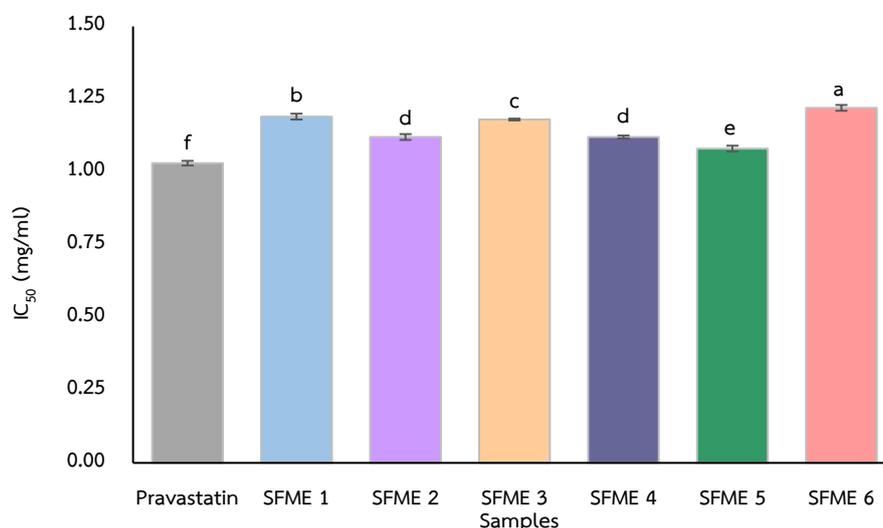


**Figure 5** Alpha-glucosidase inhibition of hemp leaves by different extraction methods (SFME1=150 W/15 m, SFME2=250 W/15 m, SFME3=350 W/15 m, SFME4=150 W/30 m, SFME5=250 W/30 m and SFME6=350 W/30 m). Bars (mean ± standard deviation) with different letters have mean values that are significantly different at  $p < 0.05$ .

### ผลของสารสกัดใบกัญชงต่อการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA Reductase

ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารสกัดใบกัญชงต่อการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ตามความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ พบว่าการสกัดใบกัญชงด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ใช้กำลังไฟ 150-350 วัตต์ เป็นเวลา 15-30 นาที มีค่า IC<sub>50</sub> ระหว่าง 1.18-1.22 มก./มล. ขณะที่ยาราวาสแตตินซึ่งเป็นสารควบคุมบวมมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 1.03 มก./มล. (Figure 6) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบกัญชงมีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ใกล้เคียงกับ

ยามาตรฐาน แม้ว่าการศึกษานี้เป็นการทำงานของเอนไซม์ภายนอกร่างกาย (*In Vitro*) ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าวอาจจะเหมือนหรือแตกต่างจากการศึกษาในร่างกายสัตว์ทดลองหรือมนุษย์ แต่อย่างน้อยผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบกัญชงอาจลดไขมันได้โดยยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็น Rate limiting step ในกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล เช่นเดียวกับยาลดไขมันในเลือดกลุ่ม Statin ทำให้ระดับไขมันในเลือดลดลง (Hajar, 2017)



**Figure 6** HMG-CoA reductase inhibition of hemp leaves by different extraction methods (SFME1=150 W/15 m, SFME2=250 W/15 m, SFME3=350 W/15 m, SFME4=150 W/30 m, SFME5=250 W/30 m and SFME6=350 W/30 m). Bars (mean ± standard deviation) with different letters have mean values that are significantly different at p<0.05.

### สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดจากใบกัญชงในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า การใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 350 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที มีประสิทธิภาพขจัดอนุมูลอิสระ DPPH, FRAP และ

มีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการสกัดอื่น ๆ ในขณะที่การสกัดใบกัญชงด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 150 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิลสูงที่สุด นอกจากนี้สารสกัดจากใบกัญชงยังมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรค NCDs

ต่าง ๆ พบว่าการสกัดใบกล้วยงด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 350 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที มีประสิทธิภาพยับยั้งเอนไซม์ ACE,  $\alpha$ -amylase และ  $\alpha$ -glucosidase สูงที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.35, 0.14 และ 0.23 มก./มล ตามลำดับ และการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 250 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที มีประสิทธิภาพในยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV ( $IC_{50}$ =0.37 มก./มล.) และ HMG-CoA Reductase ( $IC_{50}$ =1.18 มก./มล.) สูงที่สุด อาจกล่าวได้ว่าสารสกัดจากใบกล้วยงสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาสูตรอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ และยังสามารถนำสารสกัดไปใช้ทดแทนยาสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์จะดำเนินการในลำดับต่อไป เพื่อสร้างโอกาสในการพัฒนารักษาโรคในอนาคต

### กิตติกรรมประกาศ

คณะนักวิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ในการสนับสนุนทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ภายใต้ทุนสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund) รหัสโครงการ มจ.1-66-05-001 และขอขอบคุณบริษัท ซีดีเอฟ ดีเวลลอปเม้นท์ จำกัด บริษัท เฟิร์สสตีเทค จำกัด และบริษัท ดีซีพี เวิลด์ จำกัด ตลอดจนสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร สาขาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำหรับการสนับสนุนด้านสถานที่และอุปกรณ์ในการวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

- Algariri, K., I.J. Atangwho, K.Y. Meng, M.Z. Asmawi, A. Sadikun and V. Murugaiyah. 2014. Antihyperglycemic and toxicological evaluations of extract and fractions of *Gynura procumbens* leaves. **Tropical Life Sciences Research** 25(1): 75-93.
- Ansari, P., M.P. Hannon-Fletcher, P.R. Flatt, Y.H.A. Abdel-Wahab. 2021. Effects of 22 traditional anti-diabetic medicinal plants on DPP-IV enzyme activity and glucose homeostasis in high-fat fed obese diabetic rats. **Bioscience Reports** 41(1): BSR20203824.
- Awosika, T.O. and R.E. Aluko. 2019. Inhibition of the *In Vitro* activities of  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase by yellow field pea (*Pisum sativum* L.) protein hydrolysates. **International Journal of Food Science and Technology** 54(6): 2021-2034.
- Camps, J., E. Rodríguez-Gallego, A. García-Heredia, I. Triguero, M. Riera-Borrull, A. Hernández-Aguilera, F. Luciano-Mateo, S. Fernández-Arroyo and J. Joven. 2014. Paraoxonases and chemokine (C-C Motif) ligand-2 in noncommunicable diseases. **Advances in Clinical Chemistry** 63: 247-308.

- Casedas, G., C. Moliner, F. Maggi and E. Mazzara. 2022. Evaluation of two different *Cannabis sativa* extracts as antioxidant and neuroprotective agents. **Frontiers in Pharmacology** 13(2022): 1-11. DOI:10.3389/fphar.2022.1009868.
- Chalopagorn, P. and P. Klomsakul. 2017.  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of *Ceasalpinia sappan*, *Ficus foveolata* and *Eurycoma longifolia* extracts. **Research Journal Phranakhon Rajabhat: Science and Technology** 12(1): 63-73.
- Choi, S.I., H.A. Lee and J.S. Han. 2016. *Gynura procumbens* extract improves insulin sensitivity and suppresses hepatic gluconeogenesis in C57BL/KsJ-db/db mice. **Nutrition Research and Practice** 10(5): 507-515.
- Deo, P., E. Hewawasam, A. Karakoulakis, D.J. Claudie, R. Nelson, B.S. Simpson, N.M. Smith and S.J. Semple. 2016. *In Vitro* inhibitory activities of selected Australian medicinal plant extracts against protein glycation, angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes linked to type II diabetes. **BMC Complementary and Alternative Medicine** 16(1): 1-11.
- Dhobi, M., V. Mandal and S. Hemalatha. 2009. Optimization of microwave assisted extraction of bioactive flavonolignan-silybinin. **Journal of Chemical Metrology** 3(1): 13-23.
- Eidenberger, T., M. Selg and K. Krennhuber. 2013. Inhibition of dipeptidyl peptidase activity by flavonol glycosides of guava (*Psidium guajava* L.): a key to the beneficial effects of guava in type II diabetes mellitus. **Fitoterapia** 89: 74-79.
- Girgih, A.T., C.C. Udenigwe and R.E. Aluko. 2011. *In Vitro* antioxidant properties of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysate fractions. **Journal of the American Oil Chemists' Society** 88(3): 381-389.
- Hajar, R. 2017. Risk factors for coronary artery disease: historical perspectives. **Heart Views**. 18(3): 109-114.
- Hassan, Z., M.F. Yam, M. Ahmad and A.P.M. Yusof. 2010. Antidiabetic properties and mechanism of action of *Gynura procumbens* water extract in streptozotocin-induced diabetic rats. **Molecule** 15(12): 9008-9023.
- Hoe, S.Z. and S.K. Lam. 2005. Hypotensive activity of an aqueous fraction of *Gynura procumbens* and possible mechanisms of action (Hypertension, Basic 1 (H), The 69th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society). **Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society** 69: 348.

- Hoe, S.Z., M.Y. Kamaruddin and S.K. Lam. 2007. Inhibition of angiotensin-converting enzyme activity by a partially purified fraction of *Gynura procumbens* in spontaneously hypertensive rats. **Medical Principles and Practice** 16(3): 203-208.
- Ismail-Suhaimy, N.W., S.S.A. Gani, U.H. Zaidan, M.I.E. Halmi and P. Bawon. 2021. Optimizing conditions for microwave-assisted extraction of polyphenolic content and antioxidant activity of *Barleria lupulina* Lindl. **Plants** 10(4): 682. [Online]. Available <https://doi.org/10.3390/plants10040682>.
- Kurtulbas, E., S. Sevgen, R. Samli and S. Sahin. 2022. Microwave-assisted extraction of bioactive components from peach waste: Describing the bioactivity degradation by polynomial regression. **Biomass Conversion and Biorefinery** DOI:10.1007/s13399-022-02909-z
- Lepping, P., J. Delieu, R. Mellor, J.H.H. Williams, P.R. Hudson and C. Hunter-Lavin. 2011. Antipsychotic medication and oxidative cell stress: a systematic review. **Journal of Clinical Psychiatry** 72(3): 273-285.
- Mun'im, A., S. Nurpriantia, R. Setyaningsih and R.R. Syahdi. 2017. Optimization of microwave-assisted extraction of active compounds, antioxidant activity and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity from *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. **Journal of Young Pharmacists** 9(1):73-78.
- Ng, H.K., T.F. Poh, S.K. Lam and S.Z. Hoe. 2013. Potassium channel openers and prostacyclin play a crucial role in mediating the vasorelaxant activity of *Gynura procumbens*. **BMC Complementary and Alternative Medicine** 13: 1-11.
- Othman, S.N., A.N. Mustapa and K.H.K. Hamid. 2020. Total phenol content of *Clinacanthus nutans* Lindau (*C. nutans*) medicinal plant extracted using vacuum solvent-free microwave extraction (SFME). **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering** 736(2020): 1-9. DOI:10.1088/1757-899X/736/2/022054
- Panutat, S., C. Chuto, C. Nuntawan, A. Pumsrisawat and T. Pruksacheva. 2017. Caring for the elderly with malnutrition. **Journal of Ratchathani Innovative Health Sciences** 1: 1-13.
- Poh, T.F., H.K. Ng, S.Z. Hoe and S.K. Lam. 2013. *Gynura procumbens* causes vasodilation by inhibiting angiotensin II and enhancing bradykinin actions. **Journal of Cardiovascular Pharmacology** 61(5): 378-384.
- Rojanapithayakorn, W. 2019. Health situation and trends in Thailand, 2018-2020. **Journal of Health Science** 28(2): 185-186.

Sahin, S., R. Samli, A.S.B. Tan, F.J. Barba, F. Chemat, G. Cravotto and J.M. Lorenzo. 2017. Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from olive tree leaves: antioxidant and antimicrobial properties. **Molecules** 22(7): 1056. DOI: 10.3390/molecules22071056.

Suedee, A. 2017. Microwave-assisted extraction of active compounds from medicinal plants. **EAU Heritage Journal Science and Technology** 11(1): 1-14.

Tatke, P. and Y. Jaiswal. 2011. An overview of microwave assisted extraction and its applications in herbal drug research. **Research Journal of Medicinal Plant** 5: 21-31.