

พฤษทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส  
และแอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดคະນ້າเม็กซีโก

PHYTOCHEMICAL SCREENING ANTIOXIDANT ACTIVITIES  
 $\alpha$ -AMYLASE AND  $\alpha$ -GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITIES  
OF *Cnidoscolus aconitifolius* EXTRACTS

ณพัจฐอร บัวจูน

หลักสูตรเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์  
ปทุมธานี 13180

Napattaorn Buachoon

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University  
under the Royal Patronage, Pathum Thani, 13180

E-mail: napattaorn@vru.ac.th

Received: 2019-01-01

Revised: 2019-04-23

Accepted: 2019-07-08

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤษทางเคมีเบื้องต้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดคະນ້າเม็กซีโกทั้งแบบสด และแบบแห้ง จากการศึกษาสารพฤษทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดใบคະນ້าเม็กซีโกทั้งแบบสดและแบบแห้งพบ สารพฤษทางเคมี คือ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนิน โพลบาแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และ คาร์ดิแอกคโกลโคไซด์ สารสกัดใบคະນ້าเม็กซีโกแบบแห้งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด สูงสุดที่ 79.34 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด ที่ 35.61 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด และจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH free radical scavenging พบว่าสารสกัดใบคະน້าเม็กซีโกแบบแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สูงสุดโดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $11.58 \pm 2.19$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้พบว่า สารสกัดใบคະน້าเม็กซีโก แบบแห้งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ได้ดีที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $10.24 \pm 2.45$  และ  $9.28 \pm 1.09$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากผลการทดลองดังกล่าว สามารถที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการรักษาเบาหวานหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

**คำสำคัญ:** พฤษกษทางเคมี; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ; แอลฟา-อะไมเลส; แอลฟา-กลูโคซิเดส; คະน้ำเม็กชิโก

## ABSTRACT

The aim of present study is to screen the phytochemical, antioxidant,  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities of *Cnidoscolus aconitifolius* extract from both fresh and dried. In this study, the Phytochemical screening of *Cnidoscolus aconitifolius* leaves extracts from both fresh and dried were flavonoids, coumarins, tannins, phlobatannins, terpenoids, steroids, and cardiac glycosides. The extracts of dried *Cnidoscolus aconitifolius* leaves showed the highest total phenolic content and total flavonoid content which was of about 79.34 mg GAE/g extract and of about 35.61 mg QE/g extract, respectively. The antioxidant activity using DPPH free radical scavenging method extracts of *Cnidoscolus aconitifolius* leaves from dried extracts is the highest antioxidant activity with  $IC_{50}$  values of  $11.58 \pm 2.19$  mg/mL. In addition, the extracts of *Cnidoscolus aconitifolius* leaves from dried showed most anti- $\alpha$ -glucosidase and anti- $\alpha$ -amylase activities activity with  $IC_{50}$  values of  $10.24 \pm 2.45$  and  $9.28 \pm 1.09$  mg/mL, respectively. These results suggest the potential of *Cnidoscolus aconitifolius* leaves as diabetic mellitus medicine or food supplement.

**Keyword:** Phytochemical Screening; Antioxidant activities;  $\alpha$ -Amylase;  $\alpha$ -Glucosidase; *Cnidoscolus aconitifolius*

## บทนำ

คะน้ำเม็กชิโก (*Cnidoscolus aconitifolius*) หรือ ผักชงายา หรือต้นผงชูรส เป็นไม้ยืนต้นทรงพุ่ม ที่จัดเป็นพืชในวงศ์เดียวกับขิงข่าและสับปะรด มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของประเทศเม็กชิโก ลำต้นมีลักษณะอวบน้ำ ลักษณะของใบคล้ายกับใบเมเปิ้ล ขอบใบแยกออกเป็น 3-4 แฉก ออกดอกเป็นช่อบริเวณปลาย คะน้ำเม็กชิโกถึงแม้ว่าจะได้เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย แต่ปัจจุบันพบว่ากำลังเป็นที่นิยมและเริ่มมีการปลูกกันอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้เนื่องจากเป็นผักที่มีรสชาติดีและเนื้อสัมผัสนุ่ม และมีคุณค่าทางอาหาร เช่น โปรตีน, วิตามินซีสูง (Kuti & Kuti, 1999)

แคลเซียม โฟแทสเซียม เหล็ก เส้นใย และยังพบว่าในคะแน็กซีโกพบสารสำคัญได้แก่ สารกลุ่ม Flavonoids Phenolic acids Saponins และ Alkaloids และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (García-Rodríguez et al., 2014) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ นอกจากนี้ยังพบว่าคะแน็กซีโกยังมีสรรพคุณทางยาที่ช่วยให้โลหิตหมุนเวียนได้ดี ช่วยให้ระบบขับถ่ายเป็นปกติ ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในร่างกาย ใช้ควบคุม ป้องกันการเกิดภาวะโลหิตจาง บำรุงสมองให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ ป้องกันการเกิดโรคไขข้ออักเสบ รักษาตับอักเสบและโรคเบาหวาน (Kuti & Konoru, 2006)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (Outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (Unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุล ทำให้โมเลกุลไม่เสถียรทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมของสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อที่จะทำให้ตัวของมันมีความเสถียร ส่งผลให้โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ซึ่งอนุมูลอิสระใหม่ก็จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นลูกโซ่ การที่อนุมูลอิสระ เกิดขึ้นในปริมาณมากกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด ซึ่งเกี่ยวข้องกับ การเกิดโรคต่าง ๆ โรคหลอดเลือดอุดตัน เป็นสาเหตุร่วมกับการเกิดโรคมะเร็ง ทำให้ผิวหนังเกิดรอยเหี่ยวย่น เป็นต้น (Kaewamatawong & Jounmunkong, 2006) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อช่วยป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ ซึ่งกลไกในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ดักจับ(Scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (Chelate) กับโลหะ เพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติ เช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (Nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์(Catotinoid)

โรคเบาหวาน เป็นโรคเรื้อรังที่เกิดขึ้นเพราะมีการเสียสมดุลของการใช้น้ำตาลในเลือด กระเพาะอาหารและลำไส้ จะย่อยอาหาร ออกเป็นส่วนประกอบต่าง ๆ ที่เล็กลง หนึ่งในนั้นคือน้ำตาลกลูโคส ที่เข้าสู่กระแสเลือดและไปเลี้ยงเซลล์ทั่วร่างกาย ฮอร์โมนอินซูลินเป็นฮอร์โมนที่ถูกสร้างขึ้นที่ตับอ่อน มีหน้าที่คอยช่วยให้ร่างกายเผาผลาญน้ำตาลมาใช้เป็นพลังงาน เมื่อร่างกายสร้างฮอร์โมนอินซูลินได้น้อยหรือไม่สร้างเลยจึงเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเบาหวานขึ้น ซึ่งในปัจจุบันพบว่า มีนักวิจัยได้ให้ความสนใจที่จะศึกษาสมุนไพรเพื่อใช้ในการรักษาโรคเบาหวานกันมากขึ้น โดยเฉพาะการศึกษาสารที่ได้จากสารสกัดหยาดและสารบริสุทธิ์จากสมุนไพร เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีผลต่อการเกิดโรคเบาหวาน ได้แก่ แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase) และ แอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะทำหน้าที่ในการย่อยแป้ง หากสารสกัดหยาดและสารบริสุทธิ์จากสมุนไพรสามารถที่จะช่วยในการชะลอ การย่อยน้ำตาลโมเลกุลคู่ ให้เป็นโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ การรักษาด้วยแอลฟา-กลูโคซิเดส และ แอลฟา-

อะไมเลส จึงส่งผลให้การดูดซึมน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดเกิดขึ้นได้ช้าลง และมีผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงภายหลังจากการรับประทานอาหารได้ นอกจากนี้สารยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส และแอลฟา-อะไมเลส ยังช่วยลดระดับอินซูลิน ลดไตรกลีเซอไรด์และสามารถต้านโรคมะเร็ง รวมถึงช่วยต้านโรคที่เกิดกับไลโซไซม์ ปัจจุบันยาในกลุ่มนี้มีหลายชนิด เช่น อะคาโบส (Acarbose) โวกิล โบส (Voglibose) และ มิททอล (Miglitol) โดยจะมีผลในการลดระดับน้ำตาลหลังอาหาร (postprandial glucose) เป็นส่วนใหญ่ (Borges de Melo et al., 2006)

ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาทดสอบสารพิษทางเคมีเบื้องต้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดคະນ້າເມັກຊີໂກ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจะนำคະນ້າເມັກຊີໂກมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน และส่งเสริมให้มีการปลูกคະນ້າເມັກຊີໂກเพิ่มมากขึ้น

## วิธีการ

### 1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบคະນ້າເມັກຊີໂກ

คະນ້າເມັກຊີໂກที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ได้เก็บรวบรวมจากแหล่งเพาะปลูกในจังหวัดสระแก้ว โดยเลือกเฉพาะใบ นำมาทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างพืชมาบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักแห้งที่ได้ อีกส่วนเป็นแบบสดชั่งน้ำหนัก จะได้ใบคະນ້າເມັກຊີໂກทั้งแบบแห้งและแบบสด หลังจากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีการแช่หมัก (Maceration) ปิดภาชนะทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดนำไปกรอง ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ นำสารที่สกัดได้มาระเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยสารภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้เป็นส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล (Ethanol extract) แล้วชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ และเก็บตัวอย่างไว้

2. การตรวจสอบพิษเคมี (Phytochemical screening) ทำการตรวจสอบสารพิษเคมีของสารสกัดหยาบใบคະນ້າເມັກຊີໂກทั้งแบบแห้งและแบบสด โดยทดสอบสารทั้งหมด 10 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลีฟีนอล เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกโคไลโคไซด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอนดังนี้ (Ayoola et al.,2008)

2.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์ (Alkaloids) ชั่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัมทั้งแบบสดและแบบแห้ง เติมน้ำละลาย 10 เปอร์เซ็นต์  $H_2SO_4$  ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ (Water bath) 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปหยดสารละลายดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏตะกอน สีส้มแดง แสดงว่าพบแอลคาลอยด์

2.2 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัมทั้งแบบสดและแบบแห้ง ละลายด้วย 50 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่ากรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 1 ชิ้น และหยด Conc. HCl จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม แสดงว่าพบ ฟลาโวนอยด์

2.3 การตรวจสอบแอนทราควิโนน (Anthraquinones) ซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัมทั้งแบบสดและแบบแห้ง เติมสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์  $H_2SO_4$  ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ไปเติมสารละลายแอมโมเนีย (10%  $NH_3$ ) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีชมพูแดงเกิดขึ้น แสดงว่าพบ แอนทราควิโนน

2.4 การตรวจสอบคูมาริน (Coumarin) ซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัมทั้งแบบสดและแบบแห้ง ละลายด้วย 50 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรองเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6 M NaOH) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม แสดงว่าพบคูมาริน

2.5 การตรวจสอบซาโปนิน (Saponins) ใช้การทดสอบแบบการเกิดฟอง โดยซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที เขย่าอย่างแรง ถ้าปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลอง แสดงว่าพบซาโปนิน

2.6 การตรวจสอบแทนนิน (Tannins) ซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัมทั้งแบบสดและแบบแห้ง เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (1%  $FeCl_3$ ) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำ หรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบแทนนิน

2.7 การตรวจสอบโพลบาแทนนิน (Phlobatannins) ซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัมทั้งแบบสดและแบบแห้ง เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (10% HCl) จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำ หรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบโพลบาแทนนิน

2.8 การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids) ซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัมทั้งแบบสดและแบบแห้ง ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.  $H_2SO_4$ ) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดหยาบกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบ เทอร์ปีนอยด์

2.9 การตรวจสอบสเตียรอยด์ (Steroids) ซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัม ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมกรดแกลเซียลแอซีติก (Glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc.  $H_2SO_4$ ) จำนวน 3 หยด ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียว แสดงว่าพบ สเตียรอยด์

2.10 การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides) ซึ่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัม ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (1%  $FeCl_3$ ) จำนวน 5 หยด เขย่า เติมกรดแกลเซียลแอซีติก (glacial acetic acid) จำนวน 5 หยด เขย่า และค่อย ๆ เติม กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.  $H_2SO_4$ ) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดหยาบกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์

3. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Majhenic Skerget และ Knez (Majhenic et al., 2007) ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน โดยผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ หรือสารตัวอย่างทั้งแบบสดและแบบแห้งที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ที่ความเข้มข้น 10% (v/v) ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้น เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $Na_2CO_3$ ) ความเข้มข้น 2.5% (w/v) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำและทำการหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

4. การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoids content) ด้วยวิธี Aluminium trichloride ( $AlCl_3$ ) colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat, and Legret (Arvouet-Grand et al., 1994) โดยใช้เคอร์ซีติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน เมื่อทำการผสมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ หรือสารตัวอย่างทั้งแบบสดและแบบแห้งที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ ( $AlCl_3$  reagent) ความเข้มข้น 1.0% (w/v) ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca, Sortino, Politi, Morelli, and Mendez (Braca et al. 2002) โดยผสม

สารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ หรือสารตัวอย่างทั้งแบบสดและแบบแห้ง ที่ต้องการ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition)

$$\% \text{ DPPH radical inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

#### 6. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti- $\alpha$ -glucosidase assay)

โดยผสมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือสารตัวอย่าง ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ความเข้มข้น 1.0 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ใน Sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม (96-well plate) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside ความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องต่อเป็นเวลา 5 นาที สุดท้ายเติม สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (%  $\alpha$ -glucosidase inhibition) จากสูตร

$$\% \alpha\text{-glucosidase inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

#### 7. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Anti- $\alpha$ -amylase assay)

โดยผสมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือสารตัวอย่าง ที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับ สารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 300.0 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ใน sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม (96-well plate) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 2-chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriose ความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องต่อ

เป็นเวลา 10 นาที สูดทำยเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (%  $\alpha$ -amylase inhibition) จากสูตร

$$\% \alpha\text{-amylase inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

### ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการสกัดใบคະน้ำเม็กชิโกทั้งแบบสดและแบบแห้งโดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 267.01 และ 225.31 ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละของสารสกัดหยาบ เท่ากับ 26.70 และ 22.53 นำส่วนของสารสกัดมาการตรวจสอบสารฟฤกษเคมีเบื้องต้นทั้ง 10 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลบาแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ โดยดูปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการเกิดตะกอน แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า สารสกัดหยาบใบคະน้ำเม็กชิโกทั้งแบบสดและแบบแห้งพบสารฟฤกษเคมี 7 กลุ่ม คือ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนิน โพลบาแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และตรวจไม่พบ แอลคาลอยด์ แอนทราควิโนน และซาโปนิน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Mordi & Akanji (2012) และ García-Rodríguez et al. (2014) ที่ได้ทำการสกัดใบคະน้ำเม็กชิโกด้วยเอทานอล พบว่า ฟลาโวนอยด์ โพลบาแทนนิน และแทนนิน และยังคงสอดคล้องกับรายงานของ Musa et al.(2008) และ Mordi & Akanji (2012) ที่ทำการสกัดใบคະน้ำเม็กชิโกด้วยน้ำและพบแทนนิน โพลบาแทนนิน และฟลาโวนอยด์

ตารางที่ 1 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบใบคะน้าเม็กซิโก

สารพฤกษเคมี	สารสกัดหยาบใบคะน้าเม็กซิโก
แอลคาลอยด์	×
ฟลาโวนอยด์	✓
แอนทราควิโนน	×
คูมาริน	✓
ซาโปนิน	×
แทนนิน	✓
โพลีฟีนอล	✓
เทอร์ปีนอยด์	✓
สเตียรอยด์	✓
คาร์ดิแอก์ไกลโคไซด์	✓

หมายเหตุ: × หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ    ✓ หมายถึง ตรวจสอบพบ

จากการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดใบคะน้าเม็กซิโกทั้งแบบสดและแบบแห้งด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยใช้สารละลายมาตรฐานเป็น กรดแกลลิก พบว่า สารสกัดใบคะน้าเม็กซิโกแบบแห้งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าแบบสด เท่ากับ  $79.34 \pm 2.93$  และ  $69.81 \pm 2.56$  มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัด ( $\text{mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ ) ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2 ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ García-Rodríguez et al. (2014) ที่พบว่า สารสกัดใบคะน้าเม็กซิโกที่สกัดด้วยเอทานอลพบ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด  $35.7 \text{ mg GAE/g extract}$  และเมื่อนำมาตรวจหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ด้วยวิธี Aluminium trichloride ( $\text{AlCl}_3$ ) Colorimetric โดยใช้สารละลายมาตรฐานเป็นเคอร์ซีติน (quercetin) พบว่า สารสกัดใบคะน้าเม็กซิโกแบบแห้งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากกว่าแบบสด เท่ากับ  $35.61 \pm 2.06$  และ  $33.28 \pm 1.56$  มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Loarca-Piña et al. (2010) ที่พบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด  $71.3 \text{ mg GAE/g extract}$  และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ  $42.7 \text{ mgQE/g extract}$  เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging โดยใช้สารละลายมาตรฐานคือ เคอร์ซีติน (Quercetin)

และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัด ใบคะน้ำเม็กซีโกแบบแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าแบบสดโดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $11.58 \pm 2.19$  และ  $12.91 \pm 2.22$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Loarca-Piña et al. (2010) ที่ทำการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH radical inhibition พบว่า สารสกัดใบคะน้ำเม็กซีโกมีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 45.5 และมีค่า  $IC_{50}$  ที่  $1693 \mu\text{g/mL}$  และสอดคล้องกับรายงานของ Ramos-Gómez et al. (2017) โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $255 \mu\text{g/mL}$

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ สารสกัดใบคะน้ำ

สารสกัดใบคะน้ำ เม็กซีโก	ปริมาณฟีนอลิก ทั้งหมด (mg GAE/g extract)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ ทั้งหมด (mgQE/g extract)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical inhibition) $IC_{50}$
แบบแห้ง	$79.34 \pm 2.93$	$35.61 \pm 2.06$	$11.58 \pm 2.19$
แบบสด	$69.81 \pm 2.56$	$33.28 \pm 1.56$	$12.91 \pm 2.22$

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่ถูกสร้างขึ้น เพื่อประโยชน์ในกระบวนการเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิดและเป็นกลุ่มสารที่สำคัญซึ่งมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ทั้งในผักผลไม้และสมุนไพร จากผลการตรวจสอบวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กซีโกแบบสดและแบบแห้งพบว่า สารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กซีโกแบบสดมีปริมาณฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าแบบแห้ง จึงช่วยในการยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้โดยให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pourmorad et al. (2006) ที่พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมในปริมาณที่สูงจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงด้วย และในการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และเชื่อถือได้ เนื่องจากอนุมูล DPPH มีความเสถียร เหมาะกับการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในหลอดทดลอง (Koleva et al., 2002)

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ด้วยวิธี *p*-nitrophenol colorimetric โดยเลือกใช้สารละลายมาตรฐานคือ อคาร์โบส (Acarbose) ในการทดลองจะใช้ *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside ซึ่งเป็นสารละลายที่ใสไม่มีสีและทำหน้าที่เป็นสับสเตรทในปฏิกิริยา โดยเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับ *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-

glucopyranoside และได้เป็นน้ำตาลกลูโคส และจะทำให้ *p*-nitrophenol ที่เป็นสารละลายใสสีเหลือง ผลการทดสอบอคาร์โบส (Acarbose) และสารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกทั้งแบบสดและแบบแห้งจะพบว่า สารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกแบบแห้งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงกว่าแบบสดที่ร้อยละ  $89.65 \pm 0.14$  ในขณะที่สารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกแบบสดมีร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเท่ากับ  $86.21 \pm 0.09$  เมื่อนำมาหาค่า  $IC_{50}$  พบว่า สารสกัดใบคะน้ำเม็กชิโกแบบแห้งและแบบสดมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $10.24 \pm 2.45$  และ  $11.68 \pm 3.28$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 3

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี *p*-nitrophenol colorimetric โดยเลือกใช้สารละลายมาตรฐานคือ อคาร์โบส (Acarbose) ในการทดลองจะใช้ 2-chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotrioside ซึ่งเป็นสารละลายที่ใสไม่มีสีและทำหน้าที่เป็นสับสเตรทในปฏิกิริยาโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส จะเข้าทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับ 2-chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotrioside และได้เป็นน้ำตาลมอลโทส และ *p*-nitrophenol ที่เป็นสารละลายสีเหลือง ผลการทดสอบอคาร์โบส (Acarbose) และสารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกทั้งแบบสดและแบบแห้งจะพบว่า สารสกัดใบคะน้ำเม็กชิโกแบบแห้งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงกว่าแบบสดที่ร้อยละ  $95.34 \pm 0.09$  ในขณะที่สารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกแบบสดมีร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเท่ากับ  $94.58 \pm 0.11$  เมื่อนำมาหาค่า  $IC_{50}$  พบว่า สารสกัดใบคะน้ำเม็กชิโกแบบแห้งและแบบสดมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $9.28 \pm 1.09$  และ  $11.68 \pm 2.49$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ดังตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และ เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของสารมาตรฐานอคาร์โบสและสารสกัดใบคะน้ำเม็กชิโก

สารสกัด ใบคะน้ำเม็กชิโก	เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส		เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส	
	% $\alpha$ -glucosidase inhibition	$IC_{50}$	% $\alpha$ -amylase inhibition	$IC_{50}$
แบบสด	$86.21 \pm 0.09$	$11.68 \pm 3.28$	$95.34 \pm 2.09$	$11.68 \pm 2.49$
แบบแห้ง	$89.65 \pm 0.14$	$10.24 \pm 2.45$	$94.58 \pm 0.11$	$9.28 \pm 1.09$

จากผลการทดลองพบว่าสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส มาจากสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์สอดคล้องกับรายงานของที่ได้รวบรวมสารเทอร์พีนอยด์จากพืชสมุนไพรมากกว่า 61 ชนิด ที่มีศักยภาพในการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส (Yin et al., 2014) และมีรายงานศึกษาและแยกสาร limonene ซึ่งเป็นสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ชนิดหนึ่ง (Zhao et al., 2009) ที่ให้หนูที่เป็นเบาหวานรับประทาน พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้ และให้ผลสอดคล้องกับปริมาณ ฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบในสารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกทั้งแบบสดและแบบแห้ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารกลุ่มฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ที่พบในสารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโก (Yin et al., 2014) นอกจากจะมีสมบัติในการต้านทานปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้ว ยังสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ได้อีกด้วย จากรายงานของ Li et al.(2009) พบว่าเคอร์ซีติน, ไอโซเคอร์ซีติน และรูทีน มีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส นอกจากนี้ยังมีการพบสารในกลุ่มฟีนอลิก กลุ่มฟลาโวนอยด์ ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในพืชสมุนไพรอีกหลายชนิด (Yin et al., 2014)

## สรุป

ผลจากการศึกษาสารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกทั้งแบบสดและแบบแห้ง มีสารพฤษเคมี 7 ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนิน โพลีฟีนอล แทนนิน เทอร์พีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิออลไกลโคไซด์ จากการตรวจสอบพฤษเคมีดังกล่าวจะช่วยยืนยันฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด โดยแทนนิน ฟลาโวนอยด์ และโพลีฟีนอล อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ พบว่าเมื่อปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นปริมาณฟีนอล และฟลาโวนอยด์จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกทั้งแบบแห้งมีปริมาณสูงสุด ( $79.34 \pm 2.93$  mg GAE/g extract และ  $35.61 \pm 2.06$  mgQE/g extract) เมื่อนำไปหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดใบคะน้ำเม็กชิโกทั้งแบบแห้งมีปริมาณสูงกว่าแบบสด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $9.28 \pm 1.09$  และ  $11.68 \pm 2.49$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส พบว่า สารสกัดหยาบใบคะน้ำเม็กชิโกทั้งแบบแห้งมีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $10.24 \pm 2.45$  และ  $9.28 \pm 1.09$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการทดลองเบื้องต้นทำให้ทราบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของสารสกัดคະນ້າເມັກສີโก ผู้วิจัยเห็นว่าควรจะมีการศึกษาสารสกัดในขั้นต่อไปคือ ได้แก่ การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ความเป็นพิษของสารสกัด รวมทั้งการหาโครงสร้างทางเคมีของคະນ້າເມັກສີโก

### เอกสารอ้างอิง

- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. & Legret, P., 1994, Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. **Journal de pharmacie de Belgique**. 49: 462–468.
- Ayoola, G.A., Coker, H.A.B., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., & Atangbayila, T.O., 2008, Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. 7(3): 1019–1024.
- Borges de Melo, E., da Silveira Gomes, A., and Carvalho, I., 2006,  $\alpha$ - and  $\beta$ -Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. **Tetrahedron**. 62(44): 10277-10302.
- Braca, A., Sortion, C., Politi, M., Morelli, I., & Meddez, J., 2002, Antioxidant activity of flavonoids from *Liccania licaniaeflora*. **Journal of Ethnopharmacology**. 79(3): 379–381
- García-Rodríguez RV, Gutiérrez-Rebolledo GA, Méndez-Bolaina E, Sánchez-Medina A, Maldonado-Saavedra O, Domínguez-Ortiz MA, Vázquez-Hernández M, Muñoz-Muñiz OD, Cruz-Sánchez JS (2014). *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh, an important antioxidant, antiinflammatory and cardio protective plant used in Mexico. **Journal of Ethnopharmacol**. 151:937-943.
- García-Rodríguez RV, Gutiérrez-Rebolledo GA, Méndez-Bolaina E, Sánchez-Medina A, Maldonado-Saavedra O, Domínguez-Ortiz MA, Vázquez-Hernández M, Muñoz-Muñiz OD, Cruz-Sánchez JS, 2014, *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh, an important antioxidant, anti-inflammatory and cardio protective plant used in Mexico. **Journal of Ethnopharmacol**. 151: 937-943.

- Kaewamatawong, R., & Jounmunkong, Z., 2006, DPPH free radical scavenging activity and total phenol compounds content of some thai medicinal plant extracts. **Journal of Ubon Ratchathani University**. 2(8): 76-88.
- Koleva, I.I., BeeK, T., Linseen, J.P.H., Groot, A., and Evstatieva, L.N., 2002, Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**.13(1): 817-821
- Kuti JO and Konoru HB, 2006, Cyanogenic glycosides content in two edible leaves of tree spinach (*Cnidoscolus* spp). **Journal of Food Comp. Anal**. 19(6-7): 556-561.
- Kuti, J. O.; Kuti. H. O., 1999, Proximate composition and mineral content of two edible species of *Cnidoscolus* (tree spinach). **Plant food human nutr**. 54: 275-283.
- Li, Y.Q., Zhou, F.C., Gao, F., Bian, J.S. and Shan, F., 2009, Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of alpha-glucosidase. **Journal of Agric. Food Chem**. 23(24): 11463-11468.
- Loarca-Piña MG, Mendoza S, Ramos-Gómez M, Reynoso R (2010). Antioxidant, antimutagenic, and antidiabetic activities of edible leaves from *Cnidoscolus chayamansa* Mc. Vaugh. **Journal of Food Sci**. 75(2):H68H72.
- Majhenic, L., Skerget, M., & Knez, Z., 2007, Antioxidant and antimicrobial activity of quarana seed extracts. **Food Chemistry**. 104(3): 1258-1268.
- Mordi JC, Akanji MA (2012). Phytochemical screening of the dried leaf extract of *Cnidoscolus aconitifolius* and associated changes in liver enzymes induced by its administration in Wistar rats. **Curr. Res. Journal of Biol. Sci**. 4(2):153-158.
- Musa TY, Musbau AA, Adenike TO, Abdul WO, Olatinwo, Abdulfatai AA, Monsurat OY, Bamidele VO, Taofik OS, Moyosore SA (2008). Effect of *Cnidoscolous aconitifolius* (Miller) I.M. Johnston leaf extract on reproductive hormones of female rats. **Iran Journal of Reprod. Med**. 6(3):149-155
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., and Shahabimajd, N., 2006, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**. 5(11): 1142-1145.
- Ramos-Gómez M, Figueroa-Pérez M, Guzmán-Maldonado H, LoarcaPina G, Mendoza S, Quezada-Tristan T, Reynoso-Camacho R (2017). Phytochemical profile, antioxidant properties and hypoglycemic effect of chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) in stzinduced diabetic rats. **Journal of Food Biochem**. 41:e12281.

Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y. & Kang, W. (2014).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. **Food Science and Human Wellness**. 3(3-4), 136-174.

Zhao, J., Zhou, X.W., Chen, X.B. & Wang, Q.X. (2009).  $\alpha$ -glucosidase inhibitory constituents from *Toona sinensis*. **Chemistry of Natural Compounds**. 45, 244-246.

.....