บทความวิจัย

ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสของส่วนสกัดจากผักสลัดน้ำ

IN VITRO α-GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITIES OF THE WATERCRESS (*Nasturtium officinale* R. Br.) EXTRACTS

ธนากรณ์ ดำสุด[1*] และชุติมา แก้วพิบูลย์[2]

[1] สาขาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย นครศรีธรรมราช 80110

[2] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93110

Thanakorn Damsud[1*] and Chutima Kaewpiboon[2]

[1] Program of Applied Biology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat, 80110

[2] Department of Biology, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93110

[*]Email: thanakorndamsud@yahoo.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสของผักสลัดน้ำ ซึ่งการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจะใช้ในการรักษาระดับน้ำตาลในกระแสเลือดหลังมื้ออาหารของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 หรือภาวะการทนต่อน้ำตาลบกพร่อง จากการศึกษาส่วนสกัด 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอลพบว่ามีศักยภาพยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูชนิดมอลเทส และซูเครส ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.32±5.21 และ 10.54±1.53 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในทางกลับกันส่วนสกัดเฮกเซน แสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 35.21±11.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ต่อการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส จากข้อมูลดังกล่าวพบว่าผักสลัดน้ำนั้นสามารถนำไปพัฒนาเป็นตัวยาลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสำหรับการรักษาโรคเบาหวาน

คำสำคัญ: ผักสลัดน้ำ การยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส สารพฤกษเคมี

ABSTRACT

The aim of present study is to examine inhibitory effects of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) extracts against α-glucosidase, which would be applied to treat postprandial hyperglycemia, especially in patients with type-2 diabetes or impaired glucose tolerance. In this study, the 10% H_2O-MeOH extract showed most potent inhibitory activity against rat intestinal maltase and sucrase with IC_{50} values of 12.32±5.21

and 10.54±1.53 mg/mL, respectively. On the other hand, the hexane extract exhibited the inhibitory activity against yeast α-glucosidase with an IC_{50} value of 35.21±11.44 mg/mL. In addition, phytochemical screening was also studied to preliminarily guide for the active components responsible for α-glucosidase inhibition. From overall results, the watercress could be developed as the anti-hyperglycemic remedy for diabetes therapy.

Keyword: *Nasturtium officinale* R. Br., α-Glucosidase inhibitors, phytochemicals

บทนำ

ภาวะน้ำตาลในกระแสเลือดสูง (Hyperglycemia) คือสภาวะที่เกิดจากความผิดปกติของร่างกายที่ไม่สามารถนำน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เซลล์ ซึ่งพบได้ทั้งในผู้ป่วยภาวะทนต่อน้ำตาลบกพร่อง (Impaired glucose tolerance) และเบาหวาน (ทั้งชนิดที่ 1 และ 2) โดยเบาหวานจัดเป็นโรคไม่ติดต่อ (Non-communication disease) ที่มีปัญหาต่อวงการสาธารณสุขทั่วโลก และนำไปสู่การเกิดโรคแทรกซ้อนตามมามากมาย (Sheen and Sheu, 2016) ซึ่งการใช้ตัวยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส (α-glucosidase inhibitor) มักเป็นการรักษาในลำดับแรกเพื่อจัดการภาวะน้ำตาลในกระแสเลือดสูง แอลฟากลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่อยู่บริเวณผนังลำไส้เล็กจะทำหน้าที่สลายออลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) ให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ การรักษาด้วยตัวยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจึงส่งผลให้การดูดซึมกลูโคสในลำไส้จากทางเดินอาหารเกิดขึ้นได้ช้าลง นอกจากนี้สารยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสยังช่วยลดระดับอินซูลิน ลดไตรกลีเซอไรด์ และสามารถต้านโรคมะเร็ง การติดเชื้อจากไวรัส HIV รวมถึงช่วยต้านโรคที่เกิดกับไลโซโซม ปัจจุบันยาในกลุ่มนี้มีหลายชนิด เช่น อะคาโบส (acarbose) โวกิลโบส (voglibose) และ มิกิทอล (miglitol) โดยจะมีผลในการลดระดับน้ำตาลหลังอาหาร (postprandial glucose) เป็นส่วนใหญ่ แต่อย่างไรก็ตามการรักษาด้วยตัวยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสก็มีอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์หลายอย่าง เช่น อาการท้องอืด แน่นท้อง ผายลมบ่อย ถ่ายเหลว ปวดท้อง (Borges de Melo and Carvalho, 2006) ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสของพืชสมุนไพรหรือพืชที่รับประทานได้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสและมีผลข้างเคียงน้อยหรือไม่มีเลย จึงนับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการศึกษา จากการศึกษาพบว่ามีพืชสมุนไพรมากมายที่สามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้ ซึ่งมีกลไกการลดน้ำตาลในกระแสเลือดที่แตกต่างกัน รวมถึงการลดระดับน้ำตาลผ่านการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส ดังนั้นจึงนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาตัวยาที่มีฤทธิ์เช่นเดียวกับยาในกลุ่มของแอลฟากลูโคซิเดสโดยสกัดและแยกมาจากพืชและสมุนไพร เพื่อส่งเสริมและลดการใช้ยาและเป็นแนวทางหนึ่งในการรักษาต่อผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ต่อไปในอนาคต

ผักสลัดน้ำ (*Nasturtium officinale* R. Br.) หรือ Watercress เป็นพืชน้ำที่จัดอยู่ในวงศ์ Brassicaceae เป็นราชินีผักน้ำที่นิยมปลูก และรับประทานกันมากในต่างประเทศ ในแถบประเทศฝรั่งเศสและประเทศจีน จากข้อมูลพบว่าเป็นแหล่งของวิตามินที่จำเป็น และแร่ธาตุ และสารพฤกษเคมี

เช่น ลูทีน (lutein) และ ซีเซนทีน (zeaxanthin) ฤทธิ์ทางด้านเภสัชวิทยามากมาย เช่นสามารถรักษาโรคหลอดลมอักเสบ ขับปัสสาวะ ต้านแบคทีเรีย วัณโรค และมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง (Palaniswamy et al., 2003) มีการศึกษาถึงสารสกัดที่แสดงว่าสารสกัดจากผักสลัดน้ำสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยศึกษาในหนูที่เป็นเบาหวาน โดยให้ส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิแตต พบว่าระดับน้ำตาลลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับหนูปกติ และสามารถลดระดับน้ำตาลในระยะยาวเมื่อเปรียบเทียบกับยา glybenclamide ที่ใช้รักษาเบาหวาน (Hadjzadeh et al., 2015) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวไม่ได้ระบุกลไกการลดระดับน้ำตาลในหนูทดลอง ทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาส่วนสกัดหยาบของผักสลัดน้ำที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ (Baker's yeast) และ ลำไส้เล็กของหนู (มอลเทส และซูเครส) พร้อมทั้งทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสู่การศึกษาวิจัยต่อไป และนำไปสู่การพัฒนาและส่งเสริมการบริโภคผักสลัดน้ำ เพิ่มคุณค่าของการเป็นทั้งอาหารและยา นำไปสู่การพัฒนาเป็นตัวยาต่อไป

วิธีการ

1. การเตรียมส่วนสกัดจากผักสลัดน้ำ

ผักสลัดน้ำนำมาจาก อำเภอเบตง จังหวัดยะลา เมื่อวันที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2558 ล้างทำความสะอาด แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างพืชมาบดให้ละเอียดแล้วสกัดด้วยการแช่ (maceration) ในเฮกเซน (Hexane) ในสัดส่วนตัวอย่างพืช 500 กรัม ต่อเฮกเซน 3 ลิตร เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำส่วนเฮกเซนมาระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) จนได้สิ่งสกัดเฮกเซน นำตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดเฮกเซนมาสกัดด้วยการแช่ต่อด้วยเมทานอลปริมาณ 3 ลิตร นาน 3 วัน หลังจากนั้นจึงกรองเมทานอลออกมา เติมน้ำบริสุทธิ์ลงไปให้ได้ความเข้มข้นของน้ำในเมทานอลเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาสกัดแบบ Liquid-liquid extraction ด้วยการเติมไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร หลังจากการสกัดนำส่วนไดคลอโรมีเทน และ 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอลที่แยกได้ ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนแห้ง หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักสิ่งสกัดทั้งสามชนิดที่ได้ และเก็บสิ่งสกัดที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยไม่ให้ถูกแสงเพื่อทำการทดสอบทางพฤษเคมีเบื้องต้น และฤทธิ์การยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสต่อไป

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส

2.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ดัดแปลงวิธีมาจาก Damsud และคณะ (Damsud et al., 2014) โดยเตรียมตัวอย่างของส่วนสกัดชั้นต่างๆ ที่ความเข้มข้น (0.1, 0.25 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ละลายสารตัวอย่างใน Dimethyl sulfoxide (DMSO) จำนวน 10 ไมโครลิตร สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ pH 6.9 จำนวน 50 ไมโครลิตร เอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสความเข้มข้น 0.1 ยูนิต จำนวน 40 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มปฏิกิริยาเบื้องต้นเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม *p*-Nitrophenyl-*α*-*D*-glucopyranosidease

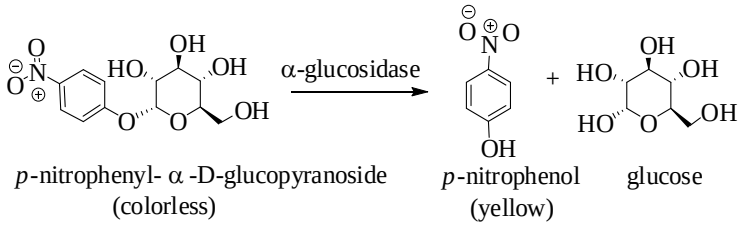
(PNPG) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ จำนวน 50 ไมโครลิตร แล้วบ่มปฏิกิริยาเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาให้หยุดกิจกรรมของแอฟากลูโคซิเดส โดยใช้โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นตรวจติดตามปริมาณของ *p*-Nitrophenol ที่เกิดขึ้นโดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร (รูปที่ 1) โดยใช้ยาอะคาโบส (acarbose) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์จากสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A0-A1)/A0] \times 100$$

เมื่อ A0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด

A1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด

คำนวณหาค่า IC_{50} (ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ได้ร้อยละ 50)

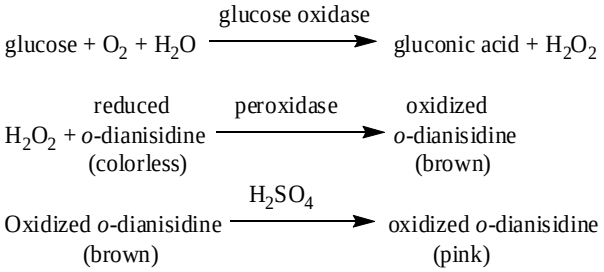


รูปที่ 1 *p*-Nitrophenol ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ จากปฏิกิริยาไฮโดรไลเซตของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์

2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูดัดแปลงวิธีมาจาก Damsud และคณะ (Damsud et al., 2014) การเตรียมเอนไซม์มอลเทส ซูเครส นั้นเตรียมได้จากสารสกัดเอนไซม์อย่างหยาบจากลำไส้เล็กของหนู เตรียมโดยชั่งเอนไซม์หยาบมา 1 กรัม เติม 0.9% โซเดียมคลอไรด์ (0.9% NaCl) จำนวน 30 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารละลายส่วนบนไปหาความจำเพาะ (specific activity) ต่อซับสเตรต (มอลโทส และซูโครส) ทุกครั้งก่อนการทดสอบ การวิเคราะห์เตรียมตัวอย่างของส่วนสกัดชั้นต่างๆ ที่ความเข้มข้น (0.1, 0.25, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ละลายสารตัวอย่างใน DMSO จำนวน 10 ไมโครลิตร เติมสารละลายเอนไซม์ (มอลเทส และ ซูเครส) จำนวน 20 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มปฏิกิริยาเบื้องต้นเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เติมซับสเตรต มอลโทส ที่ความเข้มข้น 0.58 มิลลิโมลาร์ และซูโครส ที่ความเข้มเข้ม 20 มิลลิโมลาร์ ที่ละลายในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.9 จำนวน 20 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์โดยการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวัดความเข้มข้นของกลูโคสซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ใน

ปฏิกิริยา โดยใช้ glu-kit (Sigma-Aldrich) (รูปที่ 2) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ยาโวกลิโบส (voglibose) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง และค่า IC_{50} โดยใช้สูตรดังที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อที่ 2.1



รูปที่ 2 การวัดปริมาณกลูโคส จากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase)

3. การตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นดัดแปลงวิธีมาจาก Iqbal และคณะ (Iqbal et al., 2015) ของส่วนสกัดชั้น 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ศึกษาถึงสาร 6 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ แทนนิน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก ซาโปนิน โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะให้สี และตะกอน

3.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

ชั่งส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายด้วยสารละลาย 2 เปอร์เซ็นกรดไฮโรคลอริก (2 % HCl) จำนวน 15 มิลลิลิตร อุ่นเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองส่วนสกัด แล้วหยดด้วยน้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) ผลบวกจะปรากฏสีส้มแดง

3.2 การตรวจสอบแทนนิน

ชั่งส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร อุ่นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กรองส่วนสกัด แล้วนำไปทดสอบกับสารละลายเจลลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ ผลบวกจะเกิดตะกอนขาวขุ่น

3.3 การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์

ชั่งส่วนสกัด 0.5 กรัม สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) โดยใช้ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จำนวน 2-3 ครั้ง เติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร ค่อยเขย่า แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.H_2SO_4) ผลบวกให้สีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย

3.4 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

ชั่งส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายใน 50 เปอร์เซ็นเมทานอล (50% CH_3OH/H_2O) 3 มิลลิลิตร ใส่ลวดแมกนีเซียม (Mg) 3-4 ชิ้นแล้วหยดกรดไฮโรคลอลิก (conc.HCl) 3 หยด ผลบวกให้สารละลายสีแดง เหลือง หรือส้ม

3.5 การตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิก

ชั่งส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร อุ่นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กรองส่วนสกัด แล้วหยดด้วยสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) 2-3 หยด ผลบวกจะให้สีเขียวหรือดำหรือน้ำเงินดำ

3.6 การตรวจสอบซาโปนิน

ชั่งส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำเดือด 5 มิลลิลิตร ตั้งให้เย็นทิ้งไว้ 5 นาที ผลบวกจะเกิดฟองคล้ายกับสบู่

4. การคำนวณและการรายงานข้อมูล

ค่าข้อมูลของค่า IC_{50} ของ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ และลำไส้เล็กของหนู แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงแบนมาตรฐาน โดยทดลองจำนวน 3 ครั้ง

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการสกัดแยกส่วนสกัดหยาบจากผักสลัดน้ำ โดยการใช้ตัวทำละลาย 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน มีค่าเท่ากับ 20.24, 85.25 และ 65.24 กรัม ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละผลได้เท่ากับ 4.04, 17.05 และ 13.04 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1 เมื่อนำส่วนสกัดมาทดสอบสารพฤกษเคมีทั้ง 6 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ แทนนิน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และซาโปนิน ดังแสดงรายละเอียดตามตารางที่ 2 โดยตรวจพบเทอร์พีนอยด์ จากส่วนสกัด ไดคลอโรมีเทน และส่วนสกัดเฮกเซน ในขณะที่ตรวจพบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก จากส่วนสกัด10เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล และ ไดคลอโรมีเทน จากส่วนสกัดเฮกเซนที่พบสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์นั้นสอดคล้องกับรายงานของ Amiri (2012) ได้ทำการสกัดผักสลัดน้ำด้วยเฮกเซน จากส่วนของ ใบ ก้าน และดอก พบสารเทอร์พีนอยด์หลายชนิด เช่น myristicin, *α*-terpinolene, limonene, caryophyllene oxide และ *p*-cymene-8-ol ส่วนใหญ่จะเป็นสารในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหย สำหรับส่วนสกัด 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล และไดคลอโรมีเทนที่พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Zeb (2015) ที่พบฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกหลากหลายถึง 14 ชนิดที่แตกต่างกัน ได้แก่ quercetin, kaempferol, gallic acid และอนุพันธ์ ferulic acid และอนุพันธ์ pro-anthocyanidin B1, *p*-coumaric acid, apigenie, *p*-hydroxybenzoic acid, sinapic acid, caftaric acid, quercetin-3-(caffeoyldiglucoside)-7-glucoside, caffeoylmalic acid, coumaric acid, caftaric acid และ sinapic acid โดยสกัดด้วยน้ำและเมทานอล จากส่วนของใบ ดอก และก้าน

ตารางที่ 1 น้ำหนักส่วนสกัดหยาบและร้อยละผลได้ของสารสกัด

ส่วนสกัด	น้ำหนักส่วนสกัด (กรัม)	ร้อยละผลได้
ส่วนสกัด 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล	20.24	4.04
ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	85.25	17.05
ส่วนสกัดเฮกเซน	65.24	13.04

ตารางที่ 2 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของส่วนสกัด 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน

สารพฤกษเคมี	ส่วนสกัดหยาบ		
	ส่วนสกัด 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล	ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	ส่วนสกัดเฮกเซน
แอลคาลอยด์	-	-	-
แทนนิน	-	-	-
เทอร์พีนอยด์	-	+	+
ฟลาโวนอยด์	+	+	-
สารประกอบฟีนอลิก	+	+	-
ซาโปนิน	-	-	-

หมายเหตุ – หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ, + หมายถึง ตรวจสอบพบ

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส เป็นการยับยั้งการสลายออลิโกแซคคาไรด์บริเวณลำไส้เล็ก ส่งผลให้น้ำตาลดูดซึมได้ช้าลง ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้ในการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดวิธีหนึ่ง จากการศึกษาพบว่าส่วนสกัดเฮกเซนมีฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์สูงสุด รองมาคือส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 35.21±11.44 และ 120.45±17.87 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับดังตารางที่ 3 สารเปรียบเทียบที่ใช้คือ อะคาโบส (acarbose) ที่เป็นตัวยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ ทีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.21±1.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดลองดังตารางที่ 2 นั้นพบว่าสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ มาจากสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์ สอดคล้องกับรายงานของที่ได้รวบรวมสารเทอร์พีนอยด์จากพืชสมุนไพรมากกว่า 61 ชนิดที่มีศักยภาพในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส (Yin et al., 2014) และมีรายงานศึกษาและแยกสาร limonene ซึ่งเป็นสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ในส่วนใบของผักสลัดน้ำ มีฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ (Zhou et al., 2009) นอกจากนั้นยังพบว่าสาร limonene ที่ให้หนูที่เป็นเบาหวานรับประทาน พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้ (Murali et al., 2012)

ตารางที่ 3 การยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส จากส่วนสกัดของผักสลัดน้ำและตัวควบคุม

สารทดสอบ	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	Yeast α-glucosidase	มอลเทส (Maltase)	ซูเครส (Sucrase)
ส่วนสกัด 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล	NI	12.32±5.21	10.54±1.53
ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	120.45±17.87	87.36±6.74	120.56±11.36
ส่วนสกัดเฮกเซน	35.21±11.44	NI	NI
อะคาโบส	7.21±1.21	1.21±0.87	3.23±1.54
โวกลิโบส	10.35±2.41	0.14±0.75	1.50±0.71

NI = No inhibition (ไม่สามารถยับยั้งได้ โดยที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ส่วนสกัด 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอลมีศักยภาพในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูทั้งชนิดมอลเทส และซูเครส ได้สูงที่สุดโดยค่า IC_{50} เท่ากับ 12.32±5.21 และ 10.54±1.53 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือส่วนสกัดไดคลอโรมีเทนโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 87.36±6.74 และ 120.56±11.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารเปรียบเทียบที่ใช้คือ โวลกิโบส (voglibose) ที่เป็นตัวยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากมอลเทส และซูเครส ทีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.14±0.75 และ 1.50±0.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการทดลองดังตารางที่ 2 นั้น พบว่าสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู ชนิดมอลเทส และซูเครส มาจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก โดยสอดคล้องกับรายงานของ Yin และคณะ (2014) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรที่เป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก มากกว่า 37 ชนิด ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสทั้งชนิดมอลเทส และซูเครส นอกจากนั้นรายงานของ Pereira และคณะ (2011) พบว่าสาร kaempferol และ quercetin ซึ่งเป็นสารฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู ทั้งชนิดมอลเทสและซูเครส โดยศึกษาทั้งแบบ *in vitro* และ *in vivo* รวมถึงศึกษากลไกการยับยั้งอีกด้วย และสาร quercetin และอนุพันธ์นั้นก็สามารถพบได้ในผักสลัดน้ำเช่นเดียวกัน (Zeb, 2015)

เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างส่วนสกัด และความสามารถในการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส พบว่าความมีขั้วของตัวทำละลายมีผลต่อการยับยั้ง โดยสารที่มีขั้วสูงขึ้นจะมีแนวโน้มการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสชนิดมอลเทส และซูเครส ไปในทิศทางเดียวกัน แต่จะผกผันกับการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดสจากยีสต์ แต่ยังไม่มีงานวิจัยใดที่สนับสนุนว่าการที่สารมีสภาพขั้วต่างกันจะส่งผลต่อการยับยั้งที่ต่างกันจากเอนไซม์ทั้งสองแหล่ง โดยการยับยั้งน่าจะเกิดจากการออกฤทธิ์เสริมกัน (synergistic compounds)

หรือการออกฤทธิ์ของสารองค์ประกอบหลัก (major compounds) ที่อยู่ในส่วนสกัดชั้นต่างๆ และในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการศึกษาว่าสารตัวใดที่เป็นตัวออกฤทธิ์การยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส บอกได้แค่กลุ่มของสารที่ออกฤทธิ์ จะต้องมีการแยก และพิสูจน์โครงสร้าง รวมถึงการศึกษากลไกการยับยั้งของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ และจากการทบทวนวรรณกรรม ยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส พบแต่การศึกษาการลดระดับน้ำตาลในสัตว์ทดลอง แต่ยังไม่ทราบกลไกการที่แท้จริง การศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นรายงานแรกที่พบว่า ส่วนสกัดผักสลัดน้ำสามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดผ่านการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส แต่ฤทธิ์การยับยั้งของส่วนสกัดทั้งสามมีค่าที่น้อยกว่าตัวควบคุมเชิงบวกทั้งยาอะคาโบส (acarbose) โวกลิโบส (voglibose) จากการทดลองดังตารางที่ 3 ซึ่งกลไกการลดระดับน้ำตาลอาจมาจากกลไกอื่นๆ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาถึงกลไกการลดระดับน้ำตาลในสัตว์ทดลองเพิ่มเติมต่อไป จากการวิจัยในครั้งนี้มีประโยชน์ต่อการสนับสนุนการบริโภคผักสลัดน้ำ ที่มีคุณค่าเป็นทั้งอาหารและสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดไปพร้อมๆ กัน

สรุป

ผลการศึกษาส่วนสกัดทั้งหมดจากผักสลัดน้ำพบสารพฤกษเคมี 3 ชนิด ได้แก่ เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก คือกลุ่มของสารที่ส่งผลต่อการยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส โดยส่วนสกัดเฮกเซนยับยั้งกลูโคซิเดสจากยีสต์ได้สูงสุด ในขณะที่ส่วนสกัด 10 เปอร์เซ็นต์น้ำในเมทานอล ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส ชนิดมอลเทส และซูเครส ซึ่งผลการวิจัยที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาว่าการบริโภคผักสลัดน้ำสามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ และการศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกว่าผักสลัดน้ำนั้นมีศักยภาพในการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดผ่านตัวยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส บริเวณลำไส้เล็กซึ่งเป็นกลไกหนึ่งที่ใช้ในการลดระดับน้ำตาลได้ในร่างกาย และจากข้อมูลที่ได้สามารถนำไปสู่การศึกษาในสัตว์ทดลองถึงกลไกการลดระดับน้ำตาล และการพัฒนาเป็นตัวยาเพื่อเป็นตัวเลือกต่อการรักษาเบาหวานต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนการวิจัย (งบประมาณเงินรายได้) จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย (วิทยาเขตนครศรีธรรมราช)

เอกสารอ้างอิง

Amiri, H. (2012). Volatile constituents and antioxidant activity of flowers, stems and leaves of *Nasturtium officinale* R. Br. **Natural Product Research**, **26**(2), 109-115.

Borges de Melo, E., da Silveira Gomes, A., and Carvalho, I. (2006). α- and β-Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. **Tetrahedron**, **62**(44), 10277-10302.

Damsud, T., Grace, M.H., Adisakwattana, S., and Phuwapraisirisan, P. (2014). Orthosiphol A from the aerial parts of *Orthosiphon aristatus* is putatively responsible for hypoglycemic effect via alpha-glucosidase inhibition. **Natural Product Communications**, **9**(5), 639-641.

Hadjzadeh, M.A., Rajaei, Z., Moradi, R. and Ghorbani, A. (2015). Effects of Hydroalcoholic Extract of Watercress (*Nasturtium Officinale*) Leaves on Serum Glucose and Lipid Levels in Diabetic Rats. **Indian Journal of Physiology Pharmacology**, **59**(2), 223-230.

Pereira, D.F., Cazarolli, L.H., Lavado, C., Mengatto, V., Figueiredo, M.S., Guedes, A., Pizzaolatti M.G. Silva, F.R. (2011). Effects of flavonoids on α-glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis. **Nutrition**, **27**(11–12), 1161-1167.

Murali, R., Karthikeyan, A., and Saravanan, R. (2013). Protective effects of D-limonene on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, **112**(3), 175-181.

Palaniswamy, U. R., McAvoy, R. J., Bible, B. B., and Stuart, J. D. (2003). Ontogenic variations of ascorbic acid and phenethyl isothiocyanate concentrations in watercress (*Nasturtium officinale* R.Br.) leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **51**(18), 5504-5509.

Sheen, Y.J., and Sheu, W. H. H. (2016). Association between hypoglycemia and dementia in patients with type 2 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 116, 279-287.

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

Zeb, A. (2015). Phenolic profile and antioxidant potential of wild watercress (*Nasturtium officinale* L.). **Springerplus**, 4, 714.

Zhao, J., Zhou, X.W., Chen, X.B., and Wang, Q.X. (2009). α-glucosidase inhibitory constituents from Toona sinensis. **Chemistry of Natural Compounds**, **45**(2), 244-246.