

บทความวิจัย

ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดฝาง
ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก

**α -AMYLASE AND α -GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITIES OF
CEASALPINIA SAPPAN, FICUS FOVEOLATA AND EURYCOMA
LONGIFOLIA EXTRACTS**

พรชนก ชโลปกรณ์^{1*} และ พงศธร กล่อมสกุล²

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร กรุงเทพมหานคร 10220

²สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร กรุงเทพมหานคร 10220

Pornchanok Chalopagnorn^{1*} and Pongsathorn Klomsakul²

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology,
Phranakhon Rajabhat University, Bangkok, Bangkok, 10220

²Department of Biology, Faculty of Science and Technology,
Phranakhon Rajabhat University, Bangkok, Bangkok, 10220

*E-mail address: pornchanok585@gmail.com

บทคัดย่อ

เบาหวานเป็นกลุ่มโรคเกี่ยวข้องกับการเผาผลาญอาหารเนื่องจากร่างกายผลิตอินซูลินไม่เพียงพอหรือมีภาวะดื้อต่ออินซูลิน ส่งผลให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง หนึ่งในวิธีการรักษาโรคเบาหวานได้แก่การลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการยับยั้งเอนไซม์ย่อยอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตซึ่งได้แก่ แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก พบว่าที่ความเข้มข้น 0.01 ถึง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดเอทานอลถูกนำมาวัดกิจกรรมของเอนไซม์โดยมีอะคาร์โบสเป็นตัวยับยั้งมาตรฐาน ผลการทดลองแสดงให้เห็นการยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้แก่สารสกัดฝาง > ม้ากระทืบโรง > ปลาไหลเผือก โดยสารสกัดฝางสามารถยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 0.08 และ 0.18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาได้แก่สารสกัดม้ากระทืบโรง (IC_{50} เท่ากับ >1 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และปลาไหลเผือก (IC_{50} เท่ากับ >1 และ 0.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จากผลที่ได้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากฝางมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพและโภชนเภสัชในการบำบัดโรคเบาหวานได้

คำสำคัญ: แอลฟาอะไมเลส แอลฟาไกลูโคซิเดส ฝาง ม้ากระทืบโรง ปลาไหลเผือก

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a metabolic disorder caused by insufficient or inefficient insulin secretion that is characterized by hyperglycemia. One of the therapeutic approach for decreasing the concentration of glucose in the blood is to inhibition of carbohydrate digesting enzymes; α -amylase and α -glucosidase, in the gastrointestinal tract. In this research, the inhibitory effect against the digestive α -amylase and α -glucosidase was determined by using *C. sappan*, *F. foveolata* and *E. longifolia* extracts. At 0.01-1 mg/ml concentrations of ethanol extracts were measured the activity of enzymes inhibition. Acarbose was used as the standard inhibitor. The results showed that the α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of extracts were *C. sappan* > *F. foveolata* > *E. longifolia* extracts, respectively. The α -amylase and α -glucosidase with IC_{50} of *C. sappan* extract was 0.08 and 0.18 mg/ml, followed by *F. foveolata* extract (>1 and 0.20 mg/ml) and *E. longifolia* (>1 and 0.45 mg/ml). These results suggest that *C. sappan* extract has a potential which might be used as a functional food and nutraceutical for diabetes therapy.

Keywords: α -Amylase, α -Glucosidase, *C. sappan*, *F. foveolata*, *E. longifolia*

บทนำ

เบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน ส่งผลให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) (Deutschlander et al., 2009) ปัจจุบันจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยคาดว่าจะเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนถึง 592 ล้านคนในปี ค.ศ. 2035 (Guariguata et al., 2014) ทำให้องค์การอนามัยโลก (WHO) ตระหนักถึงปัญหาดังกล่าว เนื่องจากผู้ป่วยเบาหวานจะเพิ่มปัจจัยเสี่ยงนำไปสู่ภาวะโรคแทรกซ้อนที่รุนแรงขึ้น เช่น โรคหัวใจ (Heart disease) ภาวะไตวาย (Kidney failure) และเบาหวานขึ้นจอตา (Diabetic retinopathy) (Pantidos et al., 2014) วิธีการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานนั้น โดยทั่วไปใช้วิธีการควบคุมอาหารและออกกำลังกายร่วมกับการฉีดอินซูลิน ในรายที่เป็นมาก แพทย์จะให้การรักษาโดยการให้รับประทานยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์ในการลดหรือป้องกันการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคส เช่น อะคาร์โบส ไมกลิทอล และวอกลิโบส เป็นต้น โดยจะออกฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของแป้งได้เป็นน้ำตาลกลูโคส ทำให้การดูดซึมน้ำตาลกลูโคสจากลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือดลดลง ลดภาวะการมีน้ำตาลในเลือดสูง แต่ในการรักษาโดยใช้ยาในกลุ่มนี้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย เช่น ภาวะตับเป็นพิษ (liver toxicity) และเกิดอาการไม่พึงประสงค์ในระบบทางเดินอาหาร (adverse gastrointestinal symptoms) เช่น ท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องเสีย และคลื่นไส้ อีกทั้งผู้ป่วยเบาหวานโดยเฉพาะเบาหวานชนิดที่ 2 นั้น ต้องใช้ระยะเวลารักษานานและจำเป็นต้องใช้ตัวยาร่วมกันหลายชนิดในการรักษา (Gerich et al., 2001) ด้วยเหตุดังกล่าวจึงทำให้ต้องมีการค้นหายับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) จากธรรมชาติชนิดใหม่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาและลดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ต่อร่างกาย

ฝาง (*Ceasalpinia sappan* Linn.) เป็นพืชในวงศ์ Leguminasae จัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นมีหนามแข็ง พบได้ทั่วไปในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยส่วนต่างๆของฝางถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารและเครื่องดื่ม ในประเทศไทยมีการนำฝางมาใช้ในตำรับยาโบราณเพื่อรักษาวัณโรค ท้องเสีย โรคบิด โรคผิวหนัง และโลหิตจาง (Sireeratawong et al., 2010) อีกทั้งมีการนำส่วนต่างๆของฝางมาใช้ในตำรับยาโบราณตัวอย่างเช่น เนื้อไม้拿去ทำตำรับยาหอม แก้วร้อนใน แก่นไม้ออกฤทธิ์ต่อต้าน และหัวใจใช้เป็นยาขับโลหิต ยาแก้ปวด แก้วตัวร้อน ส่วนรากใช้ทำสีย้อมผ้า (ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี) พบรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของไม้ฝาง ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) แซนโทน (xanthone) คูมาลิน (coumarin) ชาลโคน (chalcones) ฟลาโวน (flavones) โฮโมไอโซฟลาโวนอยด์ (homoisoflavonoids) และบราซิลลิน (brazilin) เป็นต้น โดยบราซิลลินเป็นองค์ประกอบหลักในแก่นฝาง ทำให้เกิดสีแดงและถูกนำมาประยุกต์ใช้เป็นสีย้อมเนื้อเยื่อ (histological staining) (Bae et al., 2005) ในตำรับยาสมุนไพรจีนนั้น บราซิลลินถูกนำมาใช้ในการรักษาเพื่อกระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต ขับประจำเดือน ยาแก้ปวดและต้านการอักเสบ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ป้องกันการเสื่อมสภาพของผิวหนังจากแสงแดด ลดน้ำตาลในเลือด ต้านการแพ้ ป้องกันการเกิดสิว และต้านอนุมูลอิสระ (Nilesh et al., 2015) ม้ากระทืบโรง (*Ficus foveolata* Wall.) เป็นพืชในวงศ์ Moraceae มีลักษณะเป็นไม้พุ่มรอเลื้อย เปลือกสีน้ำตาล มีปุ่มคล้ายหนาม จัดเป็นพืชสมุนไพรที่หายาก พบได้ในภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พืชในสกุล *Ficus* มีจำนวนมากกว่า 800 สายพันธุ์โดยในงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ทำการศึกษาค้นคว้าองค์ประกอบของสารในพืชสกุลนี้ พบสารไตรเทอพีนอยด์ (triterpenoids) แอลคาลอยด์ (alkaloids) สติลบิน (stilbenes) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ 7-methoxycoumarin ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีบทบาทในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและกำจัดแมลง สารสกัดเมทานอลจากม้ากระทืบโรงซึ่งประกอบด้วย stilbenes และ gnetol สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์บีทิวรีโคลีนเอสเตอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Sermboonpaisarn & Sawasdee, 2012) ในตำรับยาสมุนไพรไทยนั้นพบว่าคนไทยพื้นบ้านมักนำม้ากระทืบโรงมาดองเหล้าหรือต้มดื่มบำรุงกำลัง บำรุงโลหิต แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย ช่วยย่อยอาหาร (Sudarat, 2016) ปลาไหลเผือก (*Eurycoma longifolia* Jack) เป็นพืชในวงศ์ Simaroubaceae เป็นไม้ต้นขนาดเล็ก พบได้ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งมีการศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ ควาสสินอยด์ (quassinoids) แอลคาลอยด์ (alkaloids) ไกลโคไซด์ (glycosides) ยูรีโคมานอล (eurycomanol) และยูรีโคมานอน (eurycomanone) เป็นต้น (Rashid et al., 2009) โดยพบว่าสารสกัดจากปลาไหลเผือกมีฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ ต้านมาลาเรีย กระตุ้นความต้องการทางเพศ รักษาโรคเบาหวาน ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ลดไข้ ยับยั้งเนื้องอก ยับยั้งมะเร็ง และระงับอาการวิตกกังวล (Rajeev & Karim, 2010; Rashid et al., 2009) ตำรับยาไทยพื้นบ้านนำปลาไหล

เพื่อมาต้มกับน้ำเพื่อถ่ายพิษ แก้ไข ขั้วพยาธิ (Sudarot, 2016) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดสด้วยสารสกัดฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก เพื่อนำมาใช้เป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานในรูปแบบของแพทย์ทางเลือก โดยอาศัยความรู้ในการใช้สมุนไพรจากภูมิปัญญาชาวบ้าน

วิธีการ

ตัวอย่างพืชและสารเคมี

ตัวอย่างพืช 3 ชนิดได้แก่แก่นฝาง เถาม้ากระทืบโรง และรากปลาไหลเผือกจากอำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์ ในช่วงเดือนกรกฎาคม-กันยายน 2556 แอลฟาอะไมเลส (α -amylase from hog pancrease) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*) จากบริษัท Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) ไนโตรฟีนิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ (*p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) จากบริษัท Calbiochem; Merck, Germany อะคาร์โบส (acarbose) ชื่อทางการค้า กลูโคเบย์ (Glucobay, Bayer Pharma AG, Germany) เอทานอล (ethanol absolute, AR grade) จากบริษัท Merck, Germany

การเตรียมสารสกัดจากพืช

นำส่วนของแก่นฝาง เถาม้ากระทืบโรง และรากปลาไหลเผือกมาทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของน้ำหนักแห้ง นำไปสกัดด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง (sonicator) ที่ความถี่ 80 KHz อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที 2 ครั้ง ทำการกรองเพื่อแยกสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหย (evaporator) (Zu et al., 2006) นำสารสกัดอย่างหยาบ (crude extracts) ที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์เพื่อยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตรและแอลฟาไกลูโคซิเดส ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

การวัดกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลส (α -amylase)

ทำการชั่งแป้งมันฝรั่ง 100 มิลลิกรัมใน 5 มิลลิลิตรของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 จากนั้นต้มให้ละลาย รอให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เตรียมสารสกัดฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก ที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารละลายแป้ง 50 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มไว้ 5 นาทีที่ 37 องศาเซลเซียส เติมน้ำ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของแอลฟาอะไมเลส 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย 1 โมลาร์ของกรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติมน้ำสารละลายไอโอดีน 50 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร (Nguyen et al., 2013)

การวัดกิจกรรมของแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase)

นำสารสกัดหยาบของฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรใน 100 มิลลิโมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9 เติมน้ำละลายไนโตรฟีนิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ (*p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) ในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9 ที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมน้ำละลายแอลฟาไกลูโคซิเดสปริมาตร 0.1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร (Wongsa et al., 2012)

การหาค่า IC_{50}

ในการหาค่า IC_{50} ของกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสนั้น ทำได้โดยการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดที่ 0.01-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการคำนวณเป็นร้อยละของกิจกรรมเอนไซม์ เท่ากับ $[(ABS_{blank} - ABS_{sample})/ABS_{blank}] \times 100$ โดยใช้อะคาร์โบส (acarbose) เป็นตัวควบคุมบวก

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ (mean $\pm$ standard derivation) ความแปรปรวน (analysis of variance (ANOVA)) Least significant difference (LSD) Duncan multiple range test (DMRT) และหาความสัมพันธ์ของข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS

ผลการทดลอง

การสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย

ทำการสกัดตัวอย่างฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือกด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทานอลของฝางและม้ากระทืบโรงมีผลผลิตร้อยละของการสกัด (% yield) เท่ากับ 16.75 และ 16.34 ตามลำดับ โดยสารสกัดฝางมีลักษณะเป็นผงแห้งสีแดง ส่วนสารสกัดม้ากระทืบโรงมีลักษณะเป็นผงแห้งสีน้ำตาลแดง สารสกัดปลาไหลเผือกมีผลผลิตร้อยละของการสกัดน้อยที่สุดเท่ากับ 3.22 มีลักษณะเป็นผงแห้งสีน้ำตาลเหลือง แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางกายภาพของสารสกัดของฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก

	สารสกัดเอทานอล		
	ฝาง	ม้ากระทืบโรง	ปลาไหลเผือก
ผลผลิตร้อยละของการสกัด (% yield)*	16.79 ± 6.25	16.34 ± 0.78	3.22 ± 0.01
สี	แดง	น้ำตาลแดง	น้ำตาลเหลือง
ลักษณะ	ผงแห้ง	ผงแห้ง	ผงแห้ง

*ผลผลิตร้อยละของการสกัด; % yield (w/w) คำนวณได้จาก (น้ำหนักแห้งของสารสกัด/น้ำหนักแห้งของพืชก่อนสกัด) × 100

ฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลส (α -amylase)

ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลสด้วยสารสกัดเอทานอลของพืช ได้แก่ ฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก ที่ความเข้มข้น 0.01 ถึง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลสมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดเอทานอลของพืชตัวอย่าง โดยที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดของฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเท่ากับร้อยละ 26.27 8.93 และ 9.83 ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมบวกคือ อะคาร์โบส (acarbose) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเท่ากับร้อยละ 32.15 แสดงให้เห็นว่าอะคาร์โบสสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา อะไมเลสได้ดีที่สุดแต่ไม่แตกต่างจากสารสกัดฝางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสารสกัดม้ากระทืบโรงและปลาไหลเผือกนั้นมีความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเท่ากับร้อยละ 51.81 19.49 และ 14.92 ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของอะคาร์โบสเท่ากับร้อยละ 46.1 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากฝางสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีที่สุดแต่ไม่แตกต่างจากอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสารสกัดม้ากระทืบโรงและปลาไหลเผือกนั้นมีความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดของฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือกมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเท่ากับร้อยละ 79.32 35.82 และ 24.01 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของอะคาร์โบสเท่ากับร้อยละ 84.52 แสดงให้เห็นว่าอะคาร์โบส สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีที่สุดแต่ไม่แตกต่างจากสารสกัดฝางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสารสกัดม้ากระทืบโรงมีความสามารถในการ

ยับยั้งเอนไซม์ และสารสกัดปลาไหลเผือกสามารถยับยั้งกิจกรรมของแอลฟา-อะไมเลสได้น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปรอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก

สารสกัดพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	0.01	0.1	1
ฝาง	26.27 ± 4.58 ^{ac}	51.81 ± 5.87 ^{ab}	79.32 ± 8.14 ^{aA}
ม้ากระทืบโรง	8.93 ± 4.78 ^{bc}	19.49 ± 4.11 ^{bb}	35.82 ± 3.32 ^{bA}
ปลาไหลเผือก	9.83 ± 1.45 ^{bc}	14.92 ± 2.22 ^{bb}	25.71 ± 1.04 ^{cA}
อะคาร์โบส	32.15 ± 3.31 ^{ac}	46.10 ± 3.99 ^{ab}	84.52 ± 5.19 ^{aA}

^{abc} ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase)

ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาไกลูโคซิเดสด้วยสารสกัดเอทานอลของฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก ที่ความเข้มข้น 0.01 ถึง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาไกลูโคซิเดสมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดเอทานอลของพืชตัวอย่าง โดยที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดเอทานอลของฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับร้อยละ 10.9 5.29 และ 3.17 ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมบวกคือ อะคาร์โบส ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับร้อยละ 15.03 แสดงให้เห็นว่าอะคาร์โบสสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดฝางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดม้ากระทืบโรงและปลาไหลเผือกนั้นมีความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากม้ากระทืบโรงและปลาไหลเผือก มีความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาไกลูโคซิเดสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (41.03 และ 30.59 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ส่วนสารสกัดจากฝางและอะคาร์โบสมีความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับ 55.68 และ 64.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากม้ากระทืบโรงมีความสามารถ

ในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสไม่แตกต่างจากอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่สารสกัดจากฝางและปลาไหลเผือกมีความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาไกลูโคซิเดสได้น้อยกว่าสารสกัดจากม้ากระทืบโรงและอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เพอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดพืชตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	0.01	0.1	1
ฝาง	10.9 ± 8.54^{abB}	55.68 ± 7.95^{aA}	63.2 ± 4.65^{bA}
ม้ากระทืบโรง	5.29 ± 4.98^{bC}	41.03 ± 1.14^{bB}	73.6 ± 3.5^{aA}
ปลาไหลเผือก	3.17 ± 2.10^{bC}	30.59 ± 3.09^{cB}	60.28 ± 1.38^{bA}
อะคาร์โบส	15.03 ± 1.61^{aC}	63.49 ± 4.05^{aB}	73.99 ± 7.50^{aA}

^{abc} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การหาความเข้มข้นของสารสกัดพืชตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสได้ร้อยละ 50 (IC_{50})

ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดพืชตัวอย่างเพื่อนำมาหาค่า IC_{50} พบว่า ค่าความเข้มข้นในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ร้อยละ 50 ของตัวควบคุมบวก ได้แก่ อะคาร์โบส เท่ากับ 0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากฝางมีค่าเท่ากับ 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดของม้ากระทืบโรงและปลาไหลเผือกนั้นมีค่ามากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อะคาร์โบสมีค่า IC_{50} ของแอลฟาอะไมเลสมีค่าต่ำที่สุดแต่ไม่แตกต่างจากสารสกัดฝางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในการหาค่าความเข้มข้นในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ร้อยละ 50 พบว่า อะคาร์โบสมีค่าเท่ากับ 0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือก เท่ากับ 0.18 0.20 และ 0.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าอะคาร์โบสมีค่า IC_{50} ของแอลฟาไกลูโคซิเดสมีค่าต่ำที่สุด รองลงมาได้แก่ สารสกัดฝางและม้ากระทืบโรงโดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดปลาไหลเผือกมีค่า IC_{50} ของแอลฟาไกลูโคซิเดสสูงที่สุด (แสดงดังตาราง 4)

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดพืชตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสได้ร้อยละ 50 (IC_{50})

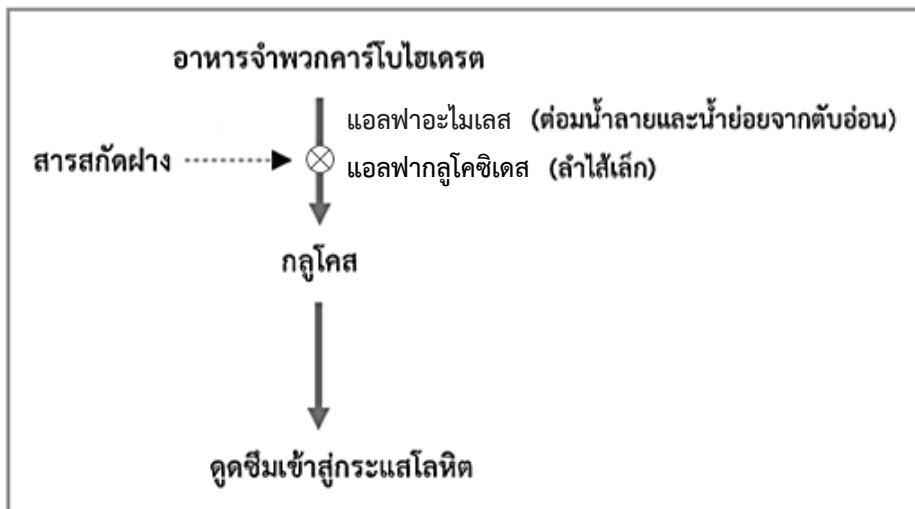
สารสกัดพืช	ความเข้มข้นของสารสกัดพืชตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ ร้อยละ 50 (IC_{50}) (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	แอลฟาอะไมเลส	แอลฟาไกลูโคซิเดส
ฝาง	0.08 ± 0.03^A	0.18 ± 0.07^B
ม้ากระทืบโรง	>1	0.2 ± 0.04^B
ปลาไหลเผือก	>1	0.45 ± 0.01^A
acarbose	0.07 ± 0.02^A	0.09 ± 0.01^C

^{ABC} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สรุปและวิจารณ์ผล

งานวิจัยนี้มิได้ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดสด้วยสารสกัดพืชสมุนไพรไทยได้แก่ ฝาง ม้ากระทืบโรง และปลาไหลเผือกในหลอดทดลอง เพื่อเป็นอีกทางเลือกในการรักษาและลดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ชนิดที่ 2 ในการศึกษานี้ได้ทำการเปรียบเทียบการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ระหว่างสารสกัดพืชทั้งสามชนิดกับตัวควบคุมบวกได้แก่ อะคาร์โบส ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน ชนิดที่ 2 โดยมีกลไกในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในลำไส้เล็กและแอลฟาอะไมเลสในตับอ่อน เพื่อลดอัตราการสลายคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลกลูโคส เป็นผลให้ระดับของน้ำตาลในกระแสโลหิตลดลง (Ellappan, et al., 2013) ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากฝางสามารถยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลสได้ดี ซึ่งใกล้เคียงกับอะคาร์โบส และสามารถยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาไกลูโคซิเดสได้แต่น้อยกว่าอะคาร์โบส ซึ่งจากรายงานก่อนหน้านี้ ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของฝางพบว่า ในสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ของฝางประกอบด้วย สเตอรอยด์และน้ำมัน ส่วนในตัวทำละลายคลอโรฟอร์มพบสเตอรอยด์และฟลาโวนอยด์ ในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทพบสารซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และไตรเทอร์พีนอยด์ ส่วนในตัวทำละลายเมทานอล ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต ไกลโคไซด์ ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และไตรเทอร์พีนอยด์ (Shrishailappa et al., 2003) โดยองค์ประกอบที่สำคัญในสารสกัด 95 เปอร์เซ็นต์เอทานอลของฝาง ได้แก่ บราซิลลิน (brazilin) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการทำให้เกิดสีแดง พบว่ามีฤทธิ์ที่สำคัญในทางเภสัชวิทยาได้แก่ ด้านอนุมูลอิสระ ด้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ด้านการอักเสบ ลดระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันโรคตับ และช่วยการขยายตัวของหลอดเลือด (Nilesh et al., 2015) สารสกัดน้ำของฝางที่ความ

เข้มข้น 5000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงให้เห็นว่าไม่พบความเป็นพิษเฉียบพลันในแง่ของการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรม อัตราการตาย และการเปลี่ยนแปลงขั้นต้นของอวัยวะภายในของหนูทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากฝางสามารถนำมาประยุกต์ใช้และนำไปพัฒนาในรูปแบบของแพทย์ทางเลือกในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยสามารถยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลสและแอลฟาไกลูโคซิเดสทำให้น้ำตาลกลูโคสถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตลดลงแสดงกลไกดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 กลไกการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดฝางในหลอดทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางสาวพิมล ไหลหาโคตร นางสาวพนิตนันท์ ทิพย์รัตน์ และนางสาวอุมพร โสลี ในการเก็บตัวอย่างพืช งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

REFERENCES

- Sudarat H. (2016). **Thai medicinal plants database**. Retrieved September 20, 2016, from <http://www.phargarden.com/main.php>.
- Bae, I.K., Min, H.Y., Han, A.R., Seo, E.K. & Lee, S.K. (2005). Suppression of lipopolysaccharide-induced expression of inducible nitric oxide synthase by brazilin in RAW 264.7 macrophage cells. **Eur J Pharmacol.** 513(3), 647-651.
- Cheng, Y.Y., & Fantus, G. (2005). Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. **CMAJ.** 172(2), 213-226.

- Deutschlander, M.S., van de Venter, M., Roux, S., Louw, J. & Lall, N. (2009). Hypoglycaemic activity of four plant extracts traditionally used in South Africa for diabetes. **Journal of Ethnopharmacol.** 124(3), 619-624.
- Ellappan, T., Balasubramaian, P., Chidambaram, K. & Subhash, C.M. (2013). α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activity of *Senna surattensis*. **J Acupunct Meridian Stud.** 6(1), 24-30.
- Gerich, J.E., Meyer, C., Woerle, H.J. & Stumvoll, M. (2001). Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. **Diabetes Care.** 24(2), 382-391.
- Guariguata, L., Whiting, D.R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U. & Shaw, J.E. (2014). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. **Diabetes Research Clinical Practice.** 103(2), 137-49.
- Matsuda, H., Morikawa, T. & Yoshikawa, M. (2002). Antidiabetogenic constituents from several natural medicines. **Pure Appl Chem.** 74(7), 1301-1308.
- Nguyen, Y.L., Le, H.T., Tran, T.H., Pham, T.B., Nguyen, H.D., Chau, V.M. & Nguyen T.D. (2013). Inhibitors of α -glucosidase, α -amylase and lipase from *Chrysanthemum morifolium*. **Phytochemistry Letters.** 6(3), 322-325.
- Nilesh, P.N., Mithun S.R., Rangabhatla G.S.V.P. & Mehraj, A. (2015). Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities: A review. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.** 8(6), 421-430.
- Pantidos, N., Boath, A., Lund, V., Conner, S. & McDougall, G.J. (2014). Phenolic-rich extracts from the edible seaweed, *ascophyllum nodosum*, inhibit α -amylase and α -glucosidase: Potential anti-hyperglycemic effects. **Journal of functional foods.** 10, 201-209.
- Rajeev, B. & Karim, A.A. (2010). Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack): A review on its ethnobotany and pharmacological importance. **Fitoterapia.** 81(7), 669-679.
- Rashid, M., Kumar, S. & Ahmad, B. (2009). Medical uses of *Eurycoma longifolia* Jack: a review. **Pharmaceut Res.** 2, 70-78.
- Sermboonpaisarn T. & Sawasdee P. (2012). Potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors from *Ficus foveolata*. **Fitoterapia.** 83, 780-784.
- Shrishailappa, B., Sujay, R., Raia, Sudheer, M., Rajan, S. & Suresh, B. (2003). Pharmacognostical Evaluation of *Caesalpinia sappan* Heartwood. **Ancient Science of Life.** 13, 100-107.
- Sireeratawong S., Piyabhan P., Singhalak T., Wongkrajang Y., Temsiririrkkul R. & Punsirat J. (2010). Toxicity evaluation of sappan wood extract in rats. **J Med Assoc Thai.** 93(7), S50-S57.
- Wongsa, P., Chaiwarit, J. & Zamaludien, A. (2012). *In vitro* screening of phenolic compounds, potential inhibition against α -amylase and α -glucosidase of culinary herbs in Thailand. **Food Chemistry.** 131(3), 964-971.
- Zu, Y., Li, C., Fu, Y. & Zhao, C. (2006). Simultaneous determination of catechin, rutin, quercetin, kaempferol and isorhamnetin in the extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves by RP-HPLC with DAD. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.** 41, 714-719.