

สารสกัดด้วยน้ำจากวัชพืชเถาเลื้อยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงและภาวะอ้วน

Aqueous Extracts from Climbing Weeds with Antioxidants and Inhibitory Activities of Enzymes Related to Hyperglycemia and Obesity

จำเนียร ชมภู* บุญขวัญ คิตสม วราภรณ์ ทิพย์โกศลวงศ์ และ มนสิชา คำกองแก้ว
Jamnian Chompoo*, Boonkhwan Kidsom, Waraporn Tipkasonwong and Monsicha Kumkongkeaw

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University,

Kamphaeng Campus,

Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: Email: agrjnc@ku.ac.th

(Received: 9 January 2023; Accepted: 27 July 2023)

Abstract: Nowadays, some weeds are used as medicinal plants, because they contain phytochemicals that have been reported to have therapeutic effects on the human body. The aim of this study was to investigate the effects of water extracts from leaves of 9 climbing weeds including *Passiflora foetida* L., *Oxystelma esculentum* (L.f.) Sm., *Ipomoea pes-tigridis* L., *Cardiospermum halicacabum* L., *Coccinia grandis* (L.) Voigt, *Centrosema pubescens* Benth., *Macroptilium atropurpureum* (DC.) Urban, *Momordica charantia* L. and *Ipomoea gracilis* R.Br. on antioxidant properties (viz. DPPH, ABTS, NO radical scavenging and ox-LDL) and to determine the inhibitory activities on hyperglycemia- (viz. α -amylase and α -glucosidase) and obesity-related enzymes (viz. pancreatic lipase and 15-lipoxygenase). The results showed that the water extract from leaves of *P. foetida*, *C. pubescens*, *M. charantia* and *C. halicacabum* had the best antioxidant efficacy on DPPH[•], ABTS^{•+}, NO[•] and ox-LDL, respectively. Moreover, the extracts of all weeds showed a high ABTS^{•+} inhibitory effect of more than 79 %. In the case of inhibiting hyperglycemia- and obesity-related enzymatic activities, the water extract from leaves of *C. grandis* presented a high effect on inhibiting α -glucosidase and pancreatic lipase activities, while the water extract of *C. halicacabum* had a strong inhibitory activity of α -amylase. These results suggested that local weeds such as *C. grandis*, *C. halicacabum*, *P. foetida*, *C. pubescens* and *M. charantia* can be processed into food or herbal drinks. The identification of phytochemicals in the water extracts from leaves of these weeds need to be further conducted.

Keywords: *Passiflora foetida*, *Cardiospermum halicacabum*, *Coccinia grandis*, *Momordica charantia*

บทคัดย่อ: ปัจจุบันวัชพืชบางชนิดได้รับความสนใจนำมาใช้ประโยชน์เป็นพืชสมุนไพร เนื่องจากมีสารพฤกษเคมีที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์รักษาความผิดปกติของร่างกายมนุษย์ได้ การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากใบวัชพืชเถาเลื้อย จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ กะทกรก กระพังโหม ขยี้มตินหมา โศกกระออม ตำลึง ถั่วเซบโตร ถั่วเซอร่าได้ มะระขี้นก และสะอึก ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยปฏิกิริยา DPPH, ABTS, NO radical scavenging และ LDL oxidation และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (ได้แก่ α -amylase และ α -glucosidase) และภาวะอ้วน (ได้แก่ pancreatic lipase และ 15-lipoxygenase) ผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากใบกะทกรก ถั่วเซบโตร มะระขี้นก และโศกกระออมมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH[•], ABTS^{•+}, NO[•] และ ox-LDL ได้สูงที่สุด ตามลำดับ นอกจากนี้ สารสกัดด้วยน้ำจากใบวัชพืชทุกชนิดยังแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ ABTS^{•+} ได้มากกว่า 79 เปอร์เซ็นต์ ส่วนฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและภาวะอ้วนนั้น สารสกัดด้วยน้ำจากใบของตำลึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase และ pancreatic lipase ได้สูง ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำจากใบโศกกระออมมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ได้สูง จากผลการทดลองวัชพืชท้องถิ่น เช่น ตำลึง โศกกระออม กะทกรก ถั่วเซบโตร และมะระขี้นก สามารถนำมาแปรรูปเพื่อประกอบอาหารหรือเครื่องดื่มสมุนไพรได้ ทั้งนี้จะทำการศึกษาการจำแนกชนิดของสารพฤกษเคมีในสารสกัดด้วยน้ำจากวัชพืชดังกล่าวต่อไป

คำสำคัญ: กะทกรก โศกกระออม ตำลึง มะระขี้นก

บทนำ

โรคอ้วน (obesity) เกิดขึ้นเมื่อร่างกายมีการสะสมไขมันมากเกินไปจนเกินกว่าปกติ เป็นผลมาจากร่างกายได้รับอาหารเกินกว่าที่จะเผาผลาญได้ จึงสะสมไว้ในรูปไขมันในอวัยวะต่าง ๆ เป็นปัญหาสุขภาพของมนุษย์มายาวนาน โดยที่ Finkelstein *et al.* (2012) ได้ทำการรวบรวมข้อมูลและคาดการณ์ว่า ในปี พ.ศ. 2573 ประชากรโลกจะประสบปัญหาจากภาวะโรคอ้วน คิดเป็น 51 เปอร์เซ็นต์ของประชากรโลก ซึ่งอาจเป็นโรคอ้วนที่ไม่รุนแรงประมาณ 42 เปอร์เซ็นต์ และมีอาการรุนแรง 11 เปอร์เซ็นต์ ความอ้วนไม่เพียงแต่ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านความงามเท่านั้น ยังเป็นสาเหตุปัญหาทางจิตใจและสังคม นอกจากนี้ โรคอ้วนยังเป็นปัจจัยเสี่ยงสำหรับโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง เบาหวาน และมะเร็ง (Bjerregaard *et al.*, 2018) ความอ้วนเกิดที่เซลล์ไขมัน (adipocytes) พร้อมกับเซลล์อื่น ๆ เนื่องจากความไม่สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาร่วมระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยารีดักชันที่มีการให้และรับอิเล็กตรอน มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดและสะสมอนุมูลอิสระ reactive oxygen

species (ROS) นอกจากนี้ low-density lipoprotein (LDL) ที่ถูกออกซิไดซ์ด้วยอนุมูลอิสระเกิดเป็น oxidized-LDL (ox-LDL) ก็เป็นสาเหตุของความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับโรคอ้วน โดยในร่างกายของคนอ้วนมักเกิด ox-LDL สูง ดังนั้นการกำจัดอนุมูลอิสระจึงเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยต้านโรคอ้วนได้ ส่วนการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยและการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตและไขมันในอาหาร สามารถช่วยให้น้ำหนักตัวลดลง (Garza *et al.*, 2011) นอกจากนี้ เอนไซม์ 15-lipoxygenase (15-LOX) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวพบมากในเนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนังช่องท้อง การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนี้จึงเป็นอีกช่องทางหนึ่งที่เหมาะสมในการรักษาโรคอ้วน (Sadeghian and Jabbari, 2016) ส่วนเอนไซม์ pancreatic lipase เป็นเอนไซม์หลักในระบบทางเดินอาหาร ทำหน้าที่ย่อยอาหารและดูดซึมไขมันในอาหาร มีรายงานเกี่ยวข้องกับภาวะที่เกิดจากการเผาผลาญอาหารของร่างกายที่ผิดปกติ (metabolic syndrome) ทำให้เกิดภาวะอ้วนลงพุง ความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง และเบาหวาน (Yakaiah *et al.*, 2021) สำหรับเอนไซม์ α -amylase

และ α -glucosidase เกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) โดยที่เอนไซม์ α -amylase ในน้ำลายและตับอ่อนเป็นเอนไซม์เริ่มแรกในกระบวนการย่อยคาร์โบไฮเดรต ด้วยการไฮโดรไลซิส 1,4-glycosidic linkages ของ polysaccharides (แป้ง และไกลโคเจน) ได้เป็น disaccharides หลังจากนั้นถูกย่อยด้วยเอนไซม์ α -glucosidase ได้เป็น monosaccharides นำไปสู่ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hara and Honda, 1990; Matsui *et al.*, 2007) การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase ส่งผลให้การดูดซึมคาร์โบไฮเดรตจากลำไส้เล็กถูกยับยั้ง ซึ่งการชะลอการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตช่วยลดการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดภายหลังรับประทานอาหารในเวลากลางวัน (Kajaria *et al.*, 2013)

แนวคิดในการนำส่วนประกอบหรือส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรไทยมาใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ หรือบำรุงร่างกาย จากการศึกษาค้นคว้าของ Phumthum *et al.* (2019) ได้รวบรวมข้อมูลชนิดของพืชที่มีรายงานนำมาใช้เป็นสมุนไพรในประเทศไทย จากผลงานตีพิมพ์ในช่วงปี พ.ศ. 2534 - 2557 จำนวน 64 บทความ พบว่า มีพืชทั้งหมด 2,187 ชนิด จาก 19 วงศ์ ที่มีสรรพคุณทางยาและถูกนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร โดยพืชสมุนไพรที่สำคัญอยู่ในวงศ์ Asteraceae, Leguminosae, Rutaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Solanaceae, Apocynaceae, Euphorbiaceae, Araliaceae และ Anacardiaceae โดยทั่วไปพืชผักมักถูกมองว่าเป็นพืชที่เจริญเติบโตรบกวนพืชปลูก ดังนั้น พืชจึงถูกละเลยและถูกกำจัดออกจากระบบนิเวศเกษตร เนื่องจากมีผลกระทบทางลบต่อการผลิตพืชทำให้ปริมาณและคุณภาพผลผลิตพืชปลูกลดลง แต่ในปัจจุบันพบว่า พืชบางชนิดเป็นแหล่งยาสมุนไพรที่ได้รับการยอมรับ เนื่องจากมีสารพฤกษเคมีทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ alkaloids, flavonoids, phenols, terpenes และ saponin ที่มีฤทธิ์ในการรักษาความผิดปกติของร่างกาย และได้รับความพึงพอใจสูง เนื่องจากเข้าถึงได้ง่าย และราคาถูก (Hassan, 2020) การรับประทานอาหารเป็นยาเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ส่งเสริมภูมิคุ้มกันในร่างกายและช่วยลดความเสี่ยงหรือป้องกันการเกิดโรคได้ โดยทั่วไปการประกอบอาหารอาจใช้เป็นผักสด ลวก

ดอง ต้ม ผัด หรือใช้เป็นเครื่องปรุงอาหาร การนำพืชสมุนไพรมาต้มเป็นวิธีที่ใช้ได้ทั้งสมุนไพรแห้งและสด ซึ่งสารสกัดจากการต้มสามารถนำมาใช้ได้ทันที เหมาะสำหรับพืชที่มีสารสำคัญที่สามารถละลายน้ำและทนต่อความร้อนได้เป็นอย่างดี สำหรับข้อเสียของสารสกัดด้วยการต้ม คือ สารสำคัญไม่สามารถเก็บไว้ได้นาน และมักเกิดการเน่าเสีย (Neelapong *et al.*, 2019)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและภาวะอ้วนของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชเถาเลื้อย เพื่อเป็นข้อมูลในการนำพืชมาใช้ประโยชน์พัฒนาเป็นยาสมุนไพรป้องกันโรคในอนาคต และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชจากเดิมที่ต้องเสียค่าใช้จ่ายหรือต้นทุนในการกำจัดออกจากพื้นที่เพาะปลูกพืช

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดด้วยน้ำจากใบของพืช

เก็บตัวอย่างใบของพืชเถาเลื้อยบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ กะทกรก (*Passiflora foetida* L.) กระพังโหม (*Oxystelma esculentum* (L.f.) Sm.) ขยี้มดินหมา (*Ipomoea pes-tigridis* L.) โศกกระออม (*Cardiospermum halicacabum* L.) ตำลึง (*Coccinia grandis* (L.) Voigt) ถั่วเซนโตร (*Centrosema pubescens* Benth.) ถั่วเซอราโต้ (*Macroptilium atropurpureum* (DC.) Urban) มะระขี้นก (*Momordica charantia* L.) และ สะอึก (*Ipomoea gracilis* R.Br.) (Figure 1) นำพืชตัวอย่างมาตรวจพิสูจน์ชนิดพืชเปรียบเทียบกับหนังสือพืชในประเทศไทย (Suwanagul and Suwanketnikom, 2002) และ Major Weeds in Thailand (Noda *et al.*, 1994) ล้างให้สะอาด ใส่ตะกร้าไปผึ่งในที่ร่มให้แห้งหาคานำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กและบดให้ละเอียดด้วยโกรบดยา แล้วนำตัวอย่างที่บดละเอียดไปต้มในน้ำให้เดือดอัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1 : 20 กรัมต่อมิลลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษ

ก

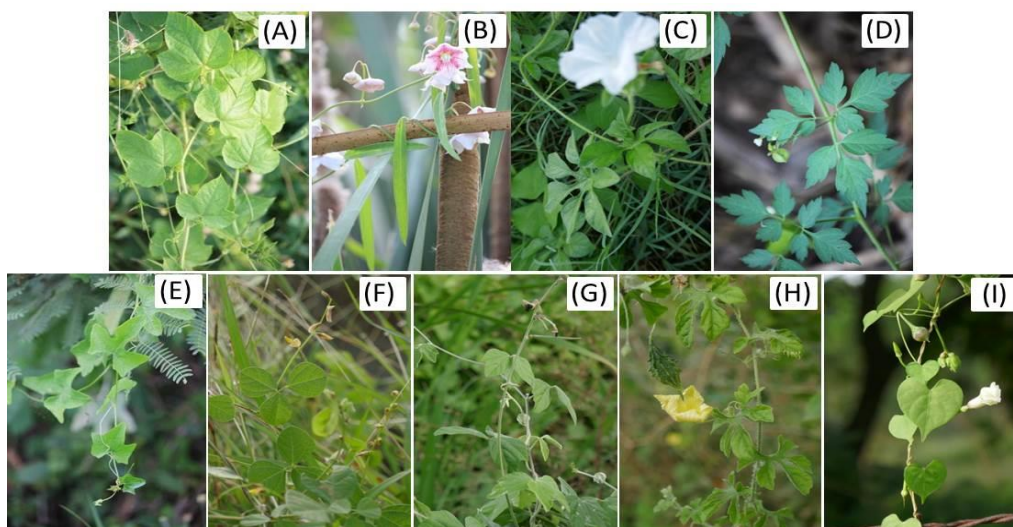


Figure 1. Characteristics of weeds in this study including *Passiflora foetida* L. (A), *Oxystelma esculentum* (L.f.) Sm. (B), *Ipomoea pes-tigridis* L. (C), *Cardiospermum halicacabum* L. (D), *Coccinia grandis* (L.) Voigt (E), *Centrosema pubescens* Benth. (F), *Macroptilium atropurpureum* (DC.) Urban (G), *Momordica charantia* L. (H) and *Ipomoea gracilis* R.Br. (I).

Whatman No. 1 ได้เป็นสารสกัดด้วยน้ำจากใบของ
วัชพืช แล้วเจือจางสารสกัดด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น
500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. วิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี

2.1 ปริมาณ total flavonoids

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Zhishen *et al.* (1999) นำสารสกัดด้วยน้ำจากใบวัชพืช ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96-well plate หลังจากนั้นเติม สารละลาย aluminium chloride (ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มไว้ในที่ อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (รุ่น Multiskan Go บริษัท Thermo Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา) คำนวณปริมาณ total flavonoids จากกราฟมาตรฐานของ rutin equivalent (RUE) (บริษัท Thermo Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา) เมื่อ $Y = 0.0316X + 0.078$ ($R^2 = 0.998$) มีหน่วยเป็น mg RUE/ g fresh sample (FW)

2.2 ปริมาณ total phenolics

วิเคราะห์ตามวิธีของ Siddhuraju and Becker (2003) นำสารสกัดด้วยน้ำจากใบวัชพืช ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96-well plate เติมน้ำ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติม Folin-Ciocalteu's reagent (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี) (อัตราส่วน1:1; reagent: water) และสารละลาย sodium carbonate (ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 50 และ 80 ไมโครลิตร ตามลำดับ เขย่าสารละลายให้เข้ากัน นำไป บ่มไว้ในที่มืด นาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณปริมาณ total phenolic จากกราฟ มาตรฐานของ gallic acid equivalent (GAE)(บริษัท Thermo Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา) เมื่อ $Y = 0.0014X + 0.067$ ($R^2 = 0.996$) มีหน่วยเป็น mg GAE/ g fresh sample (FW)

3. ทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

3.1 ปฏิกริยา DPPH radical scavenging

วิเคราะห์ตามวิธีของ Boskou *et al.* (2006) นำสารสกัดด้วยน้ำจากใบวชิพพืช หรือชุดควบคุม (น้ำกลั่น) หรือ positive control (butylated hydroxyl toluene; BHT) (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรใส่ลงใน 96-well plate เติมน้ำละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) (ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และสารละลาย sodium acetate (pH 5.5, ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระตามสมการ (1)

3.2 ปฏิกริยา ABTS radical scavenging

วิเคราะห์ตามวิธีของ Hsu *et al.* (2011) เตรียมสารละลาย 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) กับ potassium persulfate (ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์) ด้วย phosphate buffer (0.1 โมลาร์, pH 7.4) นำไปไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง นาน 16 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา oxidation อย่างสมบูรณ์ ได้เป็น $ABTS^{\bullet+}$ เจือจางสารละลายด้วย phosphate buffer และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.700 ± 0.050 ใส่สารสกัดตัวอย่าง หรือน้ำกลั่น หรือ BHT ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในสารผสม $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระตามสมการ (1)

3.3 ปฏิกริยา nitric oxide radical scavenging

วิเคราะห์ตามวิธีของ Pandey *et al.* (2005) นำสารละลายผสมของ sodium nitroprusside (ความ-

เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร กับ phosphate-buffered saline ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และสารสกัดจากตัวอย่างวชิพพืช หรือน้ำกลั่น หรือ BHT ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำละลาย sulfanilic acid (ความเข้มข้น 0.33 เปอร์เซ็นต์ ละลายใน 20 เปอร์เซ็นต์ ของ glacial acetic acid) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที เติมน้ำละลาย *N*-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระตามสมการ (1)

3.4 ปฏิกริยา LDL oxidation

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Rattan and Arad (1998) และ Steinbrecher *et al.* (1984) นำตัวอย่างสารสกัดของวชิพพืช หรือน้ำกลั่น หรือ positive control (quercetin) (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) ผสมกับสารละลาย low density lipoprotein (LDL) (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) (ความเข้มข้น 222 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลาย copper (II) sulfate (ความเข้มข้น 55 ไมโครโมลาร์) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บ่มสารผสมไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาด้วย ethylenediaminetetraacetic acid (ความเข้มข้น 1 โมลาร์) 50 ไมโครลิตร นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส หลังจาก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปฏิกิริยา oxidation ของ LDL ด้วยการเติมสารผสมของ thiobarbituric acid (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) (ความเข้มข้น 0.67 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมกับ trichloroacetic acid (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี) (ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปไว้ที่อุณหภูมิ

25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ดูดสารละลายใส่ส่วนบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร เปรียบเทียบปฏิกิริยากับกราฟมาตรฐานของ malonyldialdehyde (MDA) (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) เมื่อ $Y = 0.0425X + 0.1201$ ($R^2 = 0.998$) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมของ MDA หลังจากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระตามสมการ (1)

4. ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูง

4.1 กิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Kwon *et al.* (2006) เติมสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.9 ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ที่มีส่วนผสมของเอนไซม์ α -amylase จาก *Bacillus sp.* (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) (ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในสารสกัดด้วยน้ำจากวัชพืชหรือน้ำกลั่นหรือ positive control (catechin) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำสารละลายตัวอย่างไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 10 นาที ใส่สารละลายแป้ง (ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์) วางไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย dinitrosalicylic acid ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ต้มเดือดสารละลายตัวอย่างใน water bath นาน 5 นาที แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และคำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ตามสมการ (1)

4.2 กิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Ahmad *et al.* (2011) นำสารสกัดด้วยน้ำจากวัชพืช หรือน้ำกลั่น หรือ positive control (catechin) ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลายเอนไซม์ α -glucosidase จาก *Saccharomyces cerevisiae* (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา)

(ความเข้มข้น 0.0073 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ใน sodium phosphate buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์) ที่มีส่วนผสมของ NaCl) วางสารผสมไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลาย *p*-nitrophenyl- α -D-glucoside (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) (pH 6.8 ความเข้มข้น 0.7 มิลลิโมลาร์) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร และคำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ตามสมการ (1)

5. ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะอ้วน

5.1 กิจกรรมของเอนไซม์ pancreatic lipase

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Kim *et al.* (2007) นำสารละลายผสมเอนไซม์ ปริมาตร 30 ไมโครลิตร (ที่มีส่วนผสมของเอนไซม์ porcine pancreatic lipase (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) 10 ยูนิต ในสารละลายผสม MOPS 10 มิลลิโมลาร์ และ EDTA 1.0 มิลลิโมลาร์ ปรับค่า pH ให้ได้ 6.8) เติมลงใน Tris buffer (ที่มีส่วนผสมของ Tris-HCl 100 มิลลิโมลาร์ และ CaCl_2 5 มิลลิโมลาร์ ปรับค่า pH ให้ได้ 7.0) ปริมาตร 850 ไมโครลิตร หลังจากนั้นใส่สารสกัดด้วยน้ำจากวัชพืช หรือน้ำกลั่น หรือ positive control (curcumin) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำสารผสมไปตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเติมสารละลาย substrate (*p*-nitrophenyl butyrate (บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา) 10 มิลลิโมลาร์ ใน dimethyl formamide) หลังจากนั้นนำสารผสมไปตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อีกครั้ง นาน 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร และคำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ตามสมการ (1)

5.2 กิจกรรมของเอนไซม์ 15-lipoxygenase (15-LOX)

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Lyckander and Malterud (1996) นำสารสกัดด้วยน้ำจากวัชพืช หรือน้ำกลั่น หรือ positive control (caffeic acid) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมลงในสารละลายเอนไซม์ 15-

lipoygenase จากถั่วเหลือง (บริษัท Cayman Chemical ประเทศสหรัฐอเมริกา) ความเข้มข้น 500 ยูนิต ต่อมิลลิลิตร (ที่ละลายใน borate buffer (pH 9.0) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์) ปริมาตร 480 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลาย linoleic acid ความเข้มข้น 134 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำสารผสมปมไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร และคำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ตามสมการ (1)

คำนวณประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ จากสูตรดังนี้

การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระหรือกิจกรรมของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{(A_{\text{ชุดควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}})}{A_{\text{ชุดควบคุม}}} \times 100$...สมการ (1)

เมื่อ $A_{\text{ชุดควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอล (80 เปอร์เซ็นต์)

$A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง หรือ positive control

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 8 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's new multiple rang test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS for window version 15.0 (บริษัท SPSS Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์

จากการวิเคราะห์ปริมาณ total flavonoids ในสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชเถาเลื้อย 9 ชนิด (Table 1) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากถั่วเซอร่าได้มีปริมาณของสารนี้มากที่สุด เท่ากับ 395.72 ± 16.47 mg RUE/g FW แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น

รองลงมาคือ สารสกัดจากมะระขี้นก ขมิ้นดินหมา และกระพังโหม เท่ากับ 317.94 ± 13.69 , 299.59 ± 17.45 และ 286.02 ± 18.66 mg RUE/ g FW ตามลำดับ ส่วนปริมาณ total phenolics ในสารสกัดด้วยน้ำจากใบของพืชเถาเลื้อย 9 ชนิด (Table 1) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากถั่วเซอร่าและขมิ้นดินหมาที่มีปริมาณ total phenolics สูงที่สุด แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 325.03 ± 9.78 และ 323.56 ± 9.31 mg GAE/ g FW ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัดด้วยน้ำจากกระพังโหม กระทกรก และสะอึก มีปริมาณเท่ากับ 256.72 ± 25.58 , 240.25 ± 4.99 และ 238.53 ± 18.39 mg GAE/ g FW ตามลำดับ ฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่สุดในพืช มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี พบได้ในผักและผลไม้ เป็นสารที่ได้รับความสนใจในการศึกษาสรรพคุณทางด้านเภสัชวิทยามากมาย มีรายงานว่า สารกลุ่มนี้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ป้องกันการเกิดการกลายพันธุ์ และต้านมะเร็ง (Kumar and Goel, 2019) ส่วน flavonoids เป็นสารประกอบ phenolics ประเภท polyphenol มีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายในน้ำได้ มักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบ glycosides เป็นสารธรรมชาติซึ่งเป็นที่รู้จักและนิยมนำมาใช้รักษาสุขภาพ มีความสำคัญมากทางด้านการแพทย์ เป็นยารักษาโรคและนำมาทำเป็นเครื่องสำอางหลากหลาย โดยมีรายงานว่าสารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ด้านโรคเบาหวาน ด้านการก่อมะเร็ง และยับยั้งการกลายพันธุ์ด้วยการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง (Panche *et al.*, 2016)

ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำจากใบของพืชเถาเลื้อย 9 ชนิด ด้วยปฏิกิริยา DPPH radical scavenging (Figure 2A) พบว่า สารสกัดจากใบกระทกรก สามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ DPPH $\cdot$ ได้สูงที่สุด เท่ากับ 66.34 ± 1.09 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติเมื่อ

Table 1. The amounts of phytochemicals in water extracts from leaves of 9 climbing weeds

Weed species	Total flavonoids	Total phenolics
	(mg RUE/ g FW) ¹	(mg GAE/ g FW) ¹
<i>Passiflora foetida</i> L.	107.17 ± 6.94 ^d	240.25 ± 4.99 ^b
<i>Oxystelma esculentum</i> (L.f.) Sm.	286.02 ± 18.66 ^b	256.72 ± 25.58 ^b
<i>Ipomoea pes-tigridis</i> L.	299.59 ± 17.45 ^b	323.56 ± 9.31 ^a
<i>Cardiospermum halicacabum</i> L.	208.47 ± 8.12 ^c	100.69 ± 6.44 ^d
<i>Coccinia grandis</i> (L.) Voigt	96.56 ± 2.69 ^d	105.34 ± 4.98 ^d
<i>Centrosema pubescens</i> Benth.	196.16 ± 10.9 ^c	325.03 ± 9.78 ^a
<i>Macroptilium atropurpureum</i> (DC.) Urban	395.72 ± 16.47 ^a	148.00 ± 4.75 ^c
<i>Momordica charantia</i> L.	317.94 ± 13.69 ^b	174.78 ± 17.89 ^{bc}
<i>Ipomoea gracilis</i> R.Br.	138.27 ± 8.02 ^{cd}	238.53 ± 18.39 ^b
C.V. (%)	40.05	45.62

The data represent mean ± standard deviation of eight replication. Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT ($P < 0.05$)

เปรียบเทียบกับสารสกัดจากวัชพืชอื่น รองลงมาคือ สารสกัดจากใบโคกกระออม กระพังโหม และถั่วเซอรดาได้ เท่ากับ 57.24 ± 3.01 , 54.60 ± 3.38 และ 50.00 ± 0.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้ง ปฏิกริยา ABTS radical scavenging (Figure 2B) พบว่า สารสกัดจากใบของวัชพืชเถาเลื้อยทั้ง 9 ชนิด มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} สูงและไม่ แตกต่างกันทางสถิติ อยู่ในช่วง 79 - 90 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ปฏิกริยา NO radical scavenging (Figure 2C) พบว่า สารสกัดจากมะระขี้นกมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล ออิสระ NO ได้สูงที่สุด เท่ากับ 43.21 ± 2.05 เปอร์เซ็นต์ โดยที่สารสกัดจากใบวัชพืชเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการ ต้านอนุมูลอิสระ DPPH[•], ABTS^{•+} และ NO[•] ต่ำกว่า positive control คือ BHT ซึ่งสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้ 86.35 ± 6.35 , 93.96 ± 3.96 และ 79.25 ± 4.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การทดสอบประสิทธิภาพ ในการยับยั้งปฏิกริยา oxidation ของ LDL (ox-LDL) (Figure 2D) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากโคกกระออม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดปฏิกริยา ox-LDL

ได้สูงที่สุด โดยสามารถยับยั้งปฏิกริยา ox-LDL ได้ 30.5 ± 5.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำกว่า quercetin ที่สามารถยับยั้งปฏิกริยานี้ได้ 90.25 ± 1.25 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาของ Asir *et al.* (2014) พบว่า สารสกัดจากกะทกรกมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล ออิสระสูงและมีความสัมพันธ์กับปริมาณ o-diphenol และ catechin ที่พบในสารสกัด ส่วน Bendini *et al.* (2006) รายงานว่า การบริโภคใบกะทกรกสดสามารถลดการเกิด อนุมูลอิสระและป้องกันการเกิดออกซิเจนเป็นพิษในคน ที่เป็นโรคเบาหวาน ส่วน Kubola and Siriamornpun (2008) พบว่า สารสกัดจากใบมะระขี้นกมีประสิทธิภาพสูง ในการต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกริยา DPPH[•] radical scavenging และ ferric reducing power โดยมี สารประกอบ phenolics ได้แก่ caffeic acid และ catechin เป็นส่วนประกอบทางเคมี สำหรับ Sudharameshwari *et al.* (2018) รายงานว่า สารสกัดด้วยน้ำจากใบ โคกกระออมมีองค์ประกอบของสาร alkaloids, tannins, terpenoids, flavonoids, phenol และ ascorbic acid ดังนั้นสารสกัดจากใบโคกกระออมจึงสามารถยับยั้งการ เกิดอนุมูลอิสระได้ดี

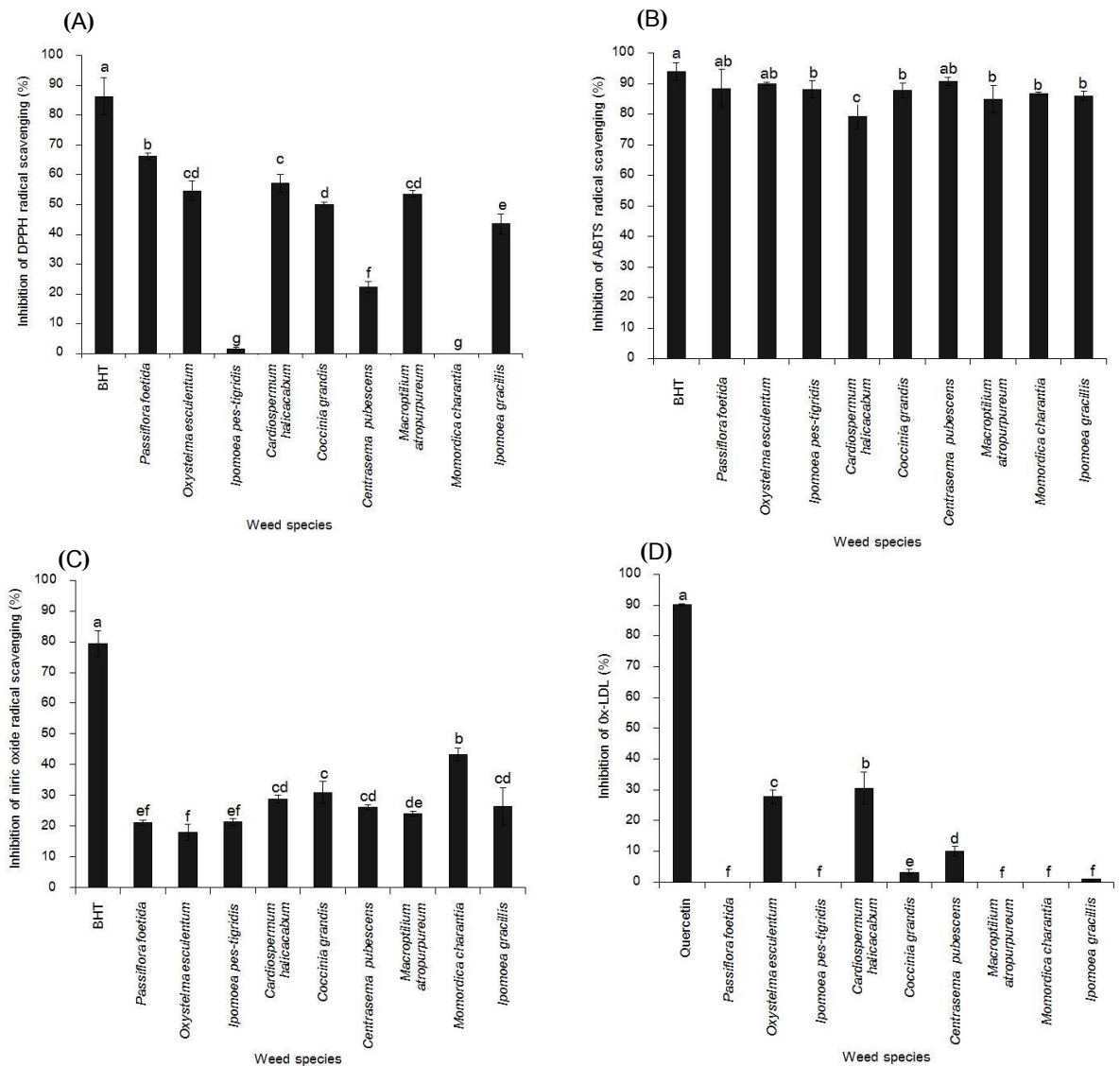


Figure 2. Inhibitory effects of water extract from leaves of 9 climbing weeds and positive controls at concentration of 500 µg/mL on DPPH (A), ABTS (B), NO (C) radical scavenging and oxidation of LDL (D). Values followed by different letters are significantly different with DMRT, n=8, P < 0.05.

ฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงและภาวะอ้วน

จากการทดสอบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบของวัชพืชเถาเลื้อยต่อกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase (Figure 3A) พบว่า สารสกัดจากใบของวัชพืชส่วนใหญ่

ที่ใช้ในการทดลองไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ยกเว้นสารสกัดจากใบของถั่วเซนต์โรส และโคกกระออม ที่สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ได้ในระดับต่ำ เท่ากับ 7.38 ± 1.13 , 9.43 ± 0.87 และ 14.75 ± 2.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ส่วนผลของสารสกัดจากวัชพืชเถาเลื้อยในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase (Figure 3B) พบว่า สารสกัดจากวัชพืชเถาเลื้อยทั้งหมดในการทดลองนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ได้ โดยที่สารสกัดจากใบของตำลึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ได้สูงที่สุด เท่ากับ 62.14 ± 9.78 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบของวัชพืชชนิดอื่น รองลงมาคือ สารสกัดจากใบขมิ้นดินหมาและสะอึก เท่ากับ 50.77 ± 5.41 และ 45.80 ± 2.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยสารสกัดจากใบของวัชพืชดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase ต่ำกว่า catechin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง 78.52 ± 3.52 และ 92.10 ± 2.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับ 9 ชนิด ต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ pancreatic lipase (Figure 3C) พบว่า สารสกัดจากใบของวัชพืชเถาเลื้อยสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ดีที่สุด เท่ากับ 19.93 ± 1.68 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบถั่วเซนโตร

โคกกระออม และถั่วเซอรดาได้ ซึ่งสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นี้ได้เพียง 9.46 ± 0.79 , 6.49 ± 1.23 และ 4.46 ± 0.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่สารสกัดจากใบวัชพืชมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำกว่า curcumin ที่สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ 92.53 ± 2.53 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารสกัดจากใบกระทกรก กระพังโหม ขี้กาแดง ขมิ้นดินหมา มะระขี้นก และสะอึก ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนี้ สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบวัชพืชเถาเลื้อย 9 ชนิด ต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ 15 - lipoxygenase พบว่า สารสกัดจากใบของวัชพืชที่นำมาศึกษาครั้งนี้ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าว (ไม่แสดงข้อมูล)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นได้ว่าสารสกัดจากใบโคกกระออมสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ได้สูง ส่วนสารสกัดจากใบตำลึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase และ pancreatic lipase ได้สูง ซึ่งจากรายงานของ Menichini *et al.* (2014) พบว่า น้ำคั้นสดจากใบโคกกระออมสามารถรักษาอาการหอบหืดและ

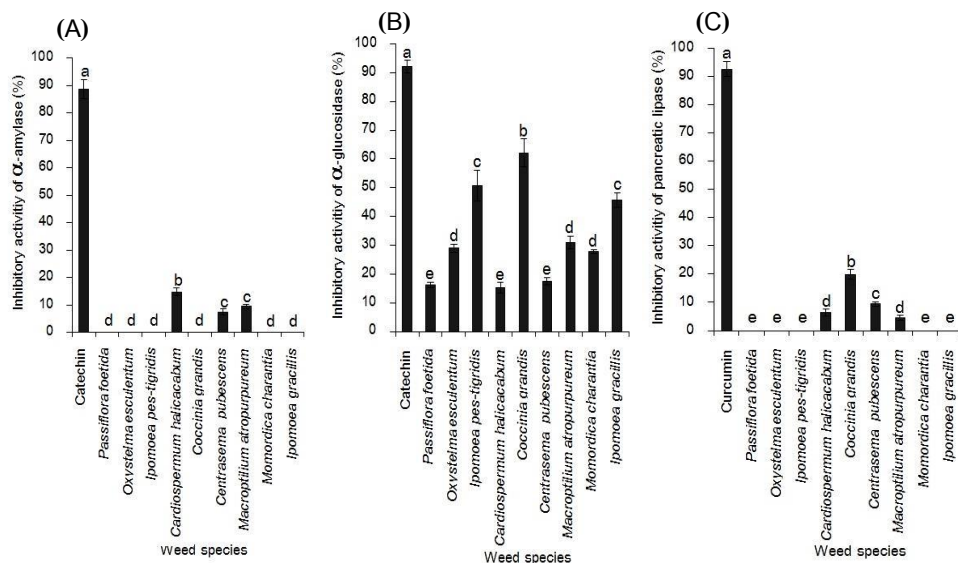


Figure 3. Inhibitory activities of water extract from leaves of 9 climbing weeds and positive controls at concentration of 500 μ g/ mL on α -amylase (A), α -glucosidase (B) and pancreatic lipase (C). Values followed by different letters are significantly different with DMRT, n=8, $P < 0.05$.

ยังมีประสิทธิภาพลดความอ้วนได้อีกด้วย โดยสาร
พฤษเคมีที่พบในใบโคกกระออม ได้แก่ flavones,
aglycones, triterpenoids และ glycosides นอกจากนี้
Annadurai *et al.* (2013) รายงานว่า สารสกัดด้วยน้ำจาก
ใบโคกกระอ้อมมีสารประกอบ tannins, flavonoids,
terpenoids และ cardiac glycoside ซึ่ง Vinodhini *et al.*
(2015) พบว่า ฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์
 α -amylase ของ *Tragia involucrate* น่าจะเกิดจาก
สารพฤษเคมีที่สำคัญ คือ steroids และ terpenoids
ส่วน Khan *et al.* (2014) รายงานว่า *Melia azedarach*
มีฤทธิ์ในการต้านโรคเบาหวาน เนื่องจากมีสาร tannins
และ terpenoids เป็นองค์ประกอบหลัก โดยที่สาร tannins
ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ด้วยการจับ
กับคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน สำหรับ Capasso *et al.*
(1992) พบว่า สาร cardiac glycoside สามารถป้องกัน
ระดับน้ำตาลในเลือดสูงได้ สำหรับสารสำคัญที่พบ
ในสารสกัดด้วยน้ำจากใบของตำลึง มักพบสาร caffeic
acid และ *p*-coumaric acid ซึ่งมีรายงานว่า สารที่พบ
ในใบตำลึงและมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์
 α -amylase ได้แก่ β -sitosterol, botulin, saponins,
flavonoids และ caffeic acid โดย Pulbutr *et al.* (2017)
พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากใบตำลึงมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรม
ของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase มีค่า IC_{50}
เท่ากับ 8.08 ± 0.72 และ 77.66 ± 9.16 μ g/mL ตามลำดับ
นอกจากนี้สารสกัดจากใบตำลึงยังมีฤทธิ์ในการยับยั้ง
กิจกรรมของเอนไซม์ pancreatic lipase ซึ่งเป็นเอนไซม์
สำคัญในกระบวนการไฮโดรไลซิส triacylglycerols
เปลี่ยนเป็น fatty acid และ diacylglycerols ทำให้เกิดการ
สะสมไขมันส่วนเกินในหลอดเลือด จากรายงานของ
Likitdacharote and Chaicharoenpong (2015) พบว่า
สาร β -sitosterol มีฤทธิ์ปานกลางในการยับยั้งกิจกรรม
ของเอนไซม์ pancreatic lipase มีค่า IC_{50} เท่ากับ
82.56 mg/mL ส่วน Martinez-Gonzalez *et al.* (2017)
พบว่า สาร caffeic acid สามารถยับยั้งกิจกรรม
ของเอนไซม์ pancreatic lipase โดยเข้าจับกับพันธะ
ไฮโดรเจนและเกิดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบ
น้ำในโครงสร้างทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้

สรุป

ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ
ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบของพืชเถาเลื้อยที่ความ-
เข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าแตกต่างกัน
โดยสารสกัดจากใบกระทกรก ถั่วเซนโตร มะระขี้นก และ
โคกกระอ้อมมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการต้านอนุมูล
อิสระด้วยปฏิกิริยา DPPH, ABTS, NO radical
scavenging และ ox-LDL ตามลำดับ นอกจากนี้ สารสกัด
จากใบของพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล
อิสระด้วยปฏิกิริยา ABTS ได้สูงกว่าปฏิกิริยาอื่น
ส่วนฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง
กับโรคอ้วนนั้น สารสกัดจากใบตำลึงมีฤทธิ์ในการยับยั้ง
กิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase และ pancreatic
lipase ได้สูงที่สุด และสารสกัดจากใบโคกกระอ้อมมีฤทธิ์ใน
การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ได้สูงที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad, R., H.M. Hashim, Z.M. Noor, N.H. Ismail,
F. Salim, N.H. Lajis and K. Shaari. 2011.
Antioxidant and antidiabetic potential of
Malaysian *Uncaria*. Research Journal of
Medicinal Plant 5: 587-595.
- Annadurai, A., V. Elangovan, S. Velmurugan and
R. Ravikumar. 2013. Preliminary phytochemical
screening and antibacterial of *Cardiospermum*
halicacabum L. Advances in Applied Science
Research 4(5): 302-308.
- Asir, P.J., S. Priyanga, S. Hemmalakshmi and K. Devaki.
2014. *In vitro* free radical scavenging activity
and secondary metabolites in *Passiflora*
foetida L. Asian Journal of Pharmaceutical
Research and Health Care 6(2): 3-11.
- Bendini, A., L. Cerretani, L. Pizzolante, T.G. Toschi, F.
Guzzo, S. Ceoldo, A.M. Marconi, F. Andreetta
and M. Levi. 2006. Phenol content related to
antioxidant and antimicrobial activities of

- Passiflora* spp. extracts. European Food Research and Technology 223(1): 102-109.
- Bjerregaard, L.G, B.W Jensen, L. Ängquist, M. Osler, T.I.A. Sørensen and J.L. Baker. 2018. Change in overweight from childhood to early adulthood and risk of type 2 diabetes. The New England Journal of Medicine 378: 1302-1312.
- Boskou, G., F.N. Salta, S. Chrysostomou, A. Mylona, A. Chiou and N.K. Andrikopoulos. 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. Food Chemistry 94(4): 558-564.
- Capasso, J.M., E.M. Puntillo, B.R. Halpryn, G.I. Olivetti, P.E. Li and P.I. Anversa. 1992. Ameloration of effects of hypertension and diabetes on myocardium by cardiac glycoside. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 262(3): 734-742.
- Finkelstein, E.A., O.A. Khavjou, H. Thompson, J.G. Trogon, L. Pan, B. Sherry and W. Dietz. 2012. Obesity and severe obesity forecasts through 2030. American Journal of Preventive Medicine 42(6): 563-570.
- Garza, A.L., F.I. Milagro, N. Boque, J. Campión and J.A. Martínez. 2011. Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. Planta Medica 77(8): 773-785.
- Hara, Y. and M. Honda. 1990. The inhibition of α -amylase by tea polyphenol. Agricultural and Biological Chemistry 54(8): 1939-1945.
- Hassan, S. 2020. Positive aspects of weeds as herbal remedies and medicinal plants. Journal of Research in Weed Science 3(1): 57-70.
- Hsu, C.F., H. Peng, C. Basle, J. Travas-Sejdic and P.A. Kilmartin. 2011. ABTS⁺ scavenging activity of polypyrrole, polyaniline and poly (3,4- ethylenedioxythiophene) . Polymer International 60(1): 69-77.
- Kajaria, D.R., J. Tripathi, Y.B. Tripathi and S. Tiwari. 2013. *In-vitro* α amylase and glucosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug-*Shirishadi*. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research 4(4): 206-210.
- Khan, M.F., A.K. Rawat, B. Pawar, S. Gautam, A.K. Srivastava and D.S. Negi. 2014. Bioactivity-guided chemical analysis of *Melia azedarach* L. (Meliaceae), displaying antidiabetic activity. Fitoterapia 98: 98-103.
- Kim, J.H., H.J. Kim, H.W. Park, S.H. Youn, D-Y. Choi and C.S. Shin. 2007. Development of inhibitors against lipase and alpha- glucosidase from derivatives of monascus pigment. FEMS Microbiology Letters 276(1): 93-98.
- Kubola, J. and S. Siriamornpun. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts *in vitro*. Food Chemistry 110(4): 881-890.
- Kumar, N. and N. Goel. 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. Biotechnology Reports 24: e00370, doi: 10.1016/j.btre. 2019.e00370.
- Kwon, Y.-I., H.-D. Jang and K. Shetty. 2006. Evaluation of *Rhodiola crenulata* and *Rhodiola rosea* for management of type II diabetes and hypertension. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 15(3): 425-432.
- Likitdacharote, P. and C. Chaicharoenpong. 2015. Chemical constituents and lipase

- inhibitory activity of *Solanum torvum* fruit. pp. 1035-1042. In: Proceeding of the Burapha University International Conference, Bangsaen, Chonburi, Thailand.
- Lyckander, I.M. and K.E. Malterud. 1996. Lipophilic flavonoids from *Orthosiphon spicatus* prevent oxidative inactivation of 15-lipoxygenase. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 54(4): 239-246.
- Martinez-Gonzalez, A.I., E. Alvarez-Parrilla, Á.G. Díaz-Sánchez, L.A. de la Rosa, J.A. Núñez-Gastélum, A.A. Vazquez-Flores and G.A. Gonzalez-Aguilar. 2017. *In vitro* inhibition of pancreatic lipase by polyphenols: A kinetic, fluorescence spectroscopy and molecular docking study. Food Technology and Biotechnology 55(4): 519-530.
- Matsui, T., T. Tanaka, S. Tamura, A. Toshima, K. Tamaya, Y. Miyata, K. Tanaka and K. Matsumoto. 2007. α -glucosidase inhibitory profile of catechins and theaflavins. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55(1): 99-105.
- Menichini, F., L. Losi, M. Bonesi, A. Pugliese, M.R. Loizzo and R. Tundis. 2014. Chemical profiling and *in vitro* biological effects of *Cardiospermum halicacabum* L. (Sapindaceae) aerial parts and seeds for applications in neurodegenerative disorders. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 29(5): 677-685.
- Neelapong, W., B. Phonyotin and W. Sittikijyothin. 2019. Extraction of active compounds from Thai herb: Power and extract. The Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok 29(1): 157-166. (in Thai)
- Noda, K., M. Teerawatsakul, C. Prakongvongs and L. Chaiwiratnukul. 1994. Major Weeds in Thailand. 3rd ed. Mass & Medias Co., LTD., Bangkok. 164 p.
- Panche, A.N., A.D. Diwan and S.R. Chandra. 2016. Flavonoids: An overview. Journal of Nutritional Science 5: e47, doi: 10.1017/jns.2016.41.
- Pandey, M.M., R. Govindarajan, A.K.S. Rawat and P. Pushpangadan. 2005. Free radical scavenging potential of *Saussurea costus*. Acta Pharmaceutica 55(3): 297-304.
- Phumthum, M., H. Balslev and A.S. Barfod. 2019. Important medicinal plant families in Thailand. Frontiers in Pharmacology 10: 1125, doi: 10.3389/fphar.2019.01125.
- Pulbutr, P., N. Saweeram, T. Ittisan, H. Intrama, A. Jaruchotikamol and B. Cushnie. 2017. *In vitro* α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of *Coccinia grandis* aqueous leaf and stem extract. Journal of Biological Sciences 17(2): 61-69.
- Rattan, A.K. and Y. Arad. 1998. Inhibition of LDL oxidation by new estradiol receptor modulator compound LY- 139478, comparative effect with other steroids. Atherosclerosis 136(2): 305-314.
- Sadeghian, H. and A. Jabbari. 2016. 15-Lipoxygenase inhibitors: A patent review. Expert Opinion on Therapeutic Patents 26(1): 65-88.
- Siddhuraju, P. and K. Becker. 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(8): 2144-2155.
- Steinbrecher, U.P., S. Parthasarathy, D.S. Leake, J. L. Witztum and D. Steinberg. 1984.

- Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 81(12): 3883-3887.
- Sudharameshwari, K., I. Rekha and R. Salini. 2018. Bioactive potential of *Cardiospermum halicacabum* and *Butea monosperma* leaf extract in combination. The Pharma Innovation Journal 7(11): 252-256.
- Suwanagul, D. and R. Suwanketnikom. 2002. Weeds in Thailand. 1st ed. Kasetsart University Press, Bangkok. 440 p. (in Thai)
- Vinodhini, V., M. Himaja, V.S. Saraswathi and D. Poppy. 2015. *In vitro* antidiabetic activity of *Tragia involucrate* Linn. leaf extracts. International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy 6(1): 1-3.
- Yakaiah, V., A. Dakshinamoorthi and T.Y.S. Sudha. 2021. Novel aspects in inhibiting pancreatic lipase with potential new compound from nutmeg in connection with obesity-*in vitro*, *in silico*, *in vivo* and *ex vivo* studies. Maedica-a Journal of Clinical Medicine 16(3): 445-452.
- Zhishen, J., T. Mengcheng and W. Jianming. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry 64(4): 555-559.
-