

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส
อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคซิเดสของพืชสมุนไพรไทย
Antioxidant and *In Vitro* Lipase, Amylase and
 α -glucosidase Inhibitory Activities of
Selected Thai Medicinal Plants

ชุตินา แก้วพิบูลย์* และพฤทธิกร ศุภพล

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
ตำบลบ้านพร้าว อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง 93210

ธนากรณ์ ดำสุด

สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ตำบลทุ่งใหญ่ อำเภอทุ่งใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80240

ณวงศ์ บุณนาค

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ
วิทยาเขตสงขลา ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

Chutima Kaewpiboon* and Preuttiporn Supaphon

Department of Biology, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung campus,
Baan Prao, Papayom, Phatthalung 93210

Thanakorn Damsud

Department of Applied Biology, Faculty of Science and Technology,
Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakorn Sri Thammarat campus,
Thung Yai, Thung Yai, Nakhon Si Thammarat 80240

Nawong Boonnak

Department of Basic Sciences and Mathematics, Faculty of Science, Thaksin University,
Songkhla campus, Khoa Roob Chang, Muang, Songkhla 90000

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพ โดยเฉพาะพืชสมุนไพร อีกทั้งยังมีการสร้างสมภูมิปัญญาด้านการแพทย์แผนไทยมาช้านาน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรไทย 32

ชนิด โดยการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เนื่องจากกระบวนการดังกล่าวส่งผลต่อการย่อย และการดูดซึมไขมันและน้ำตาล ตามลำดับ จากผลการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยศึกษาฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระชนิด DPPH พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากใบลำแพนทะเลสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.92 ± 0.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ในการศึกษาการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคซิเดส พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากใบหญ้ารีแพร์ สักทอง และมะเเฒ่า แสดงผลการยับยั้งเอนไซม์ไลเปส อะไมเลส แอลฟา-กลูโคซิเดส สูงสุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.32 ± 0.04 , 3.42 ± 0.52 และ 0.12 ± 0.03 ตามลำดับ ดังนั้นจากผลการศึกษานี้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น สำหรับการศึกษารักษาและโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเป็นยาหรืออาหารเสริมสุขภาพต่อไป

คำสำคัญ : พืชสมุนไพร; ต้านอนุมูลอิสระ; ไลเปส; อะไมเลส; แอลฟา-กลูโคซิเดส

Abstract

Thailand is rich in biological diversity especially, medicinal plants. Moreover, Thai people have made use of these bioresources for traditional medicines for millennia. Therefore, the objective of this work is to study of antioxidant and enzyme (lipase amylase and α -glucosidase) inhibitory activities were to evaluate in 32 species of plant. One of the therapeutic approaches for obesity, inhibiting fat digestion, and type II diabetes, delaying disaccharides digestion to absorbable monosaccharides, leads to a reduction in glucose absorption and, subsequently, the rise of postprandial hyperglycemia is attenuated. The antioxidant activity was measured the scavenging activity of DPPH radicals. The result of crude methanol extract of *Solanum indicum* showed promising potential antioxidant activity with EC_{50} of 1.92 ± 0.38 $\mu\text{g/ml}$. Moreover, the extracts were studied for enzymes inhibitory activities. Crude methanol extracts of *Centotheca lappacea*, *Tectona grandis* and *Antidesma ghaesembilla* exhibited the highest lipase, amylase and α -glucosidase inhibitory activities with IC_{50} of 1.32 ± 0.04 3.42 ± 0.52 and 0.12 ± 0.03 , respectively. Thus, the results from the studied plant extracts can be applied as the guideline for the selection of medicinal plant species for further pharmacological and phytochemical investigations.

Keywords: medicinal plant; antioxidant; lipase; amylase; α -glucosidase

1. บทนำ

ยุทธศาสตร์การวิจัยด้านการพัฒนาสมุนไพร กำหนดวิสัยทัศน์ว่าวิจัยและพัฒนาสมุนไพร ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร และผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติของไทย

อย่างเป็นระบบ โดยใช้ภูมิปัญญาและการเรียนรู้ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพตามมาตรฐาน และมีศักยภาพสามารถการแข่งขันกับต่างประเทศ ซึ่งสอดคล้องกับทิศทางของแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ

ฉบับที่ 11 (พ.ศ. 2555-2559) เพื่อสามารถพัฒนาประเทศให้ก้าวหน้าต่อไป และประโยชน์สุขที่ยั่งยืนของสังคมไทยตามปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียง ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพเป็นอย่างมาก มีการนำพืชมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เนื่องจากพืชมีการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) สำหรับใช้ในการป้องกันตัวเองจากจุลินทรีย์แมลงและสัตว์ต่าง ๆ ที่มารบกวนหรือบุกรุก สารทุติยภูมิที่พบในพืชมีหลายชนิด ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา มีคุณค่าสำหรับใช้เป็นแหล่งของยารักษาโรค

ปัจจุบันโรคอ้วนเป็นปัญหาหลักทางสาธารณสุขของประเทศไทย [1] ซึ่งผู้ที่เป็นโรคอ้วนจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอื่น ๆ หลายชนิด และมีผลต่อระบบการทำงานในร่างกายหลายระบบ รวมถึงโรคเบาหวาน พบว่าผู้ป่วยโรคอ้วนมีความเสี่ยงที่จะเป็นโรคเบาหวานมากกว่าคนปกติถึง 10 เท่าในผู้หญิง และ 11.2 เท่าในผู้ชาย และยังพบว่าในผู้ป่วยที่เป็นโรคอ้วนหรือโรคเบาหวานจะพบว่าผู้ป่วยมีภาวะเป็นทั้ง 2 โรค นี้ถึงร้อยละ 60-90 [2] โรคเบาหวานเป็นภาวะที่ร่างกายมีน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติเกิดจากการขาดฮอร์โมนอินซูลินหรือจากการดื้อต่อฤทธิ์ของอินซูลินทำให้ร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลในเลือดไปใช้ตามปกติ นอกจากนี้ในผู้ป่วยเบาหวานส่วนใหญ่จะเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายปริมาณมาก ทำให้เกิดการเสื่อมของอวัยวะต่าง ๆ เร็วขึ้นจากภาวะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เป็นผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยโรคเบาหวาน วิธีหนึ่งที่ใช้สำหรับป้องกันและรักษาโรคอ้วน คือ การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ซึ่งมีหน้าที่ย่อยและดูดซึมไขมันเข้าสู่ร่างกาย ถ้าหากอัตราการใช้น้ำมันไม่สมดุลกับการสะสมไขมันจะทำให้เกิดโรคอ้วนขึ้น ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวจึงเป็นกลไกหนึ่งที่สำคัญในการต้านโรคอ้วนและสำหรับรักษาควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดสำหรับ

ผู้ป่วยโรคเบาหวาน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งเป็นหนึ่งในวิธีการรักษาที่เกี่ยวกับการดูดซึมคาร์โบไฮเดรต ช่วยชะลอการย่อยน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กระบวนการดังกล่าวช่วยลดการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสและมีผลให้ลดระดับน้ำตาลภายหลังรับประทาน (postprandial glucose) ได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาแหล่งของสารออกฤทธิ์ชนิดอื่น ๆ จากพืชสมุนไพร ในการยับยั้งเอนไซม์ที่กล่าวถึงข้างต้น เพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอ้วนลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

2. อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

2.1 เก็บตัวอย่างพืช เตรียมตัวอย่างพืช และสกัดสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

2.1.1 การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร

โดยคัดเลือกพืชที่มีรายงานการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านจำนวน 32 ชนิด และระบุชนิดของพืชสมุนไพรตัวอย่างให้ชัดเจน ดังนี้

2.1.2 การเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร

นำตัวอย่างใบพืชสดจำนวน 32 ชนิด (ตารางที่ 1) อบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นบดพืชตัวอย่างให้มีขนาดเล็กกลง เพื่อเหมาะสมต่อการสกัดในขั้นต่อไป โดยนำผงพืชสมุนไพรแห้งบดละเอียด แห้งสกัด (maceration) ด้วยเมทานอล เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำให้สารสกัดหยาบเข้มข้น โดยระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้ความดัน (rotary evaporator) และแยกสารสกัดหยาบบางส่วนด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (liquid-liquid extraction) โดยนำสารสกัดหยาบเมทานอลที่ได้มาละลายด้วยเมทานอลปริมาตร 7 มิลลิลิตร เติมน้ำ 3 มิลลิลิตร และใส่ในกรวยแยก จากนั้นเติมไดคลอโร

มีเทน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แยกสารสกัดหยาบเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของเมทานอลและไดคลอโรมีเทน จากนั้น นำสารสกัดหยาบทั้ง 2 ส่วน ทำให้เข้มข้นขึ้นโดยระเหย

ตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้ความดัน (rotary evaporator)

ตารางที่ 1 ชื่อวิทยาศาสตร์และชื่อพืชสมุนไพร จำนวน 32 ชนิด

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพืช
<i>Acrostichum aureum</i>	ปรังทะเล	<i>Garcinia cowa</i>	ชะมวง
<i>Acanthus ebracteatus</i>	เหงือกปลาหมอดอกขาว	<i>Lumnitzera littorea</i>	ผาดดอกแดง
<i>Annona muricata</i>	ทุเรียนเทศ	<i>Lumnitzera racemosa</i>	ผาดดอกขาว
<i>Antidesma punctulatum</i>	มะเมี	<i>Nypa fruticans</i>	จาก
<i>Avicennia alba</i>	แสมขาว	<i>Pluchea indica</i>	ขลุ้
<i>Avicennia officinalis</i>	แสมดำ	<i>Rhizophora apiculata</i>	โกงกางใบเล็ก
<i>Barringtonia asiatica</i>	จิกทะเล	<i>Rhizophora mucronata</i>	โกงกางใบใหญ่
<i>Bruquiera sexangula</i>	พังกาหัวส้มดอกขาว	<i>Sesuvium portulacastrum</i>	ผักเบี้ยทะเล
<i>Centotheca lappacea</i>	หญ้ารูปร่าง	<i>Sonneratia alba</i>	ลำพูทะเล
<i>Ceriops tagal</i>	โปรงแดง	<i>Sonneratia griffithii</i>	ลำแพนทะเล
<i>Clerodendrum inerme</i>	ลำมะง่า	<i>Solanum indicum</i>	มะแว้งต้น
<i>Cocoloba uvifera</i>	องุ่นทะเล	<i>Solanum triobatum</i>	มะแว้งเครือ
<i>Derris trifollata</i>	ถอบแถบน้ำ	<i>Spondias pinnata</i>	มะกอก
<i>Dolichandrone spathacea</i>	แคทะเล	<i>Suaeda maritima</i>	ชะคราม
<i>Excoecaria agallocha</i>	ตาตุ่มทะเล	<i>Tectona grandis</i>	สักทอง
<i>Flagellaria indica</i>	หวายลิง	<i>Thespesia populnea</i>	โพทะเล

2.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

2.2.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging assay)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่แยกเป็น 2 ส่วน สกัดจากพืชสมุนไพร จำนวน 32 ชนิด วิเคราะห์ด้วยวิธีการทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) [3] โดยเริ่มจากการเตรียมสารสกัดหยาบที่

ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเอทานอล (10, 50, 100, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นนำสารสกัดหยาบทุกความเข้มข้นใส่ลงใน 96 well plate ปริมาตร 25 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 75 ไมโครลิตร โดยทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสง คำนวณหาร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (%

DPPH radical scavenging) ดังสมการ DPPH radical scavenging (%) = $[(A_0 - A_s) \div A_0] \times 100$ (1) เมื่อ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH; A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ที่สามารถทำให้อนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (EC_{50})

2.2.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส

ศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส โดยการวัดอัตราของการปลดปล่อย *p*-nitrophenol จาก *p*-nitrophenylplamitate (*p*-NPP) ด้วยวิธี colorimetric method [3] เริ่มจากการเตรียมเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนหมู (L3126, Sigma-Aldrich, USA) โดยเตรียมสารผสมประกอบด้วย reagent A (ทริสไฮโดรคลอริก บัฟเฟอร์ pH 7.8 ปริมาตร 16.2 มิลลิลิตร เอนไซม์ไลเปส (50 ยูนิต) 10 มิลลิกรัม โซเดียมดีออกซีโคเลต 72 มิลลิกรัม และแคลเซียมคลอไรด์ 3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 800 ไมโครลิตร) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และตัวอย่างสารสกัดหยาบทั้ง 2 ส่วน สกัดจากพืชสมุนไพร 32 ชนิด ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมพาราไนโตรฟีนิลพาร์มีเตท (*p*-nitrophenylplamitate, *p*-NPP) เป็นสารตั้งต้นปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate spectrophotometer ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับตัวควบคุมการทดลองเชิงบวก (positive control) โดยใช้ออริสแตท [Orlistat (Tetrahydrolipstatin), Xenical, Switzerland] นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ (% enzyme inhibition) ดังสมการ % enzyme inhibition = $\{[Abs(\text{control})$

- $Abs(\text{extract})] \div Abs(\text{control})\} \times 100$ (2) เมื่อ $Abs(\text{control})$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด; $Abs(\text{extract})$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด ทั้งนี้เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ร้อยละ 50 (IC_{50})

2.2.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดส โดยการวัดอัตราของการปลดปล่อย *p*-nitrophenol จาก 4-nitrophenyl-alpha-D-glucopyranoside (PNPG) ด้วยวิธี colorimetric method โดยนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่แยก 2 ส่วนสกัดและอะคาร์โบส (acarbose) (Glucobay® 50, PT Bayer Indonesia, Jakarta, Indonesia) ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตรในลงใน 96 well plate จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส 0.3 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายโพแทสเซียม ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ pH 6.8 ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร โดยทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย PNPG ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมโบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate spectrophotometer เปรียบเทียบกับตัวควบคุมการทดลองเชิงบวก (positive control) คือ อะคาร์โบส นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ (% enzyme inhibition) ดังสมการ %

enzyme inhibition = $\frac{[Abs(\text{control}) - Abs(\text{extract})]}{Abs(\text{control})} \times 100$ (4) เมื่อ $Abs(\text{control})$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด; $Abs(\text{extract})$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด ทั้งนี้เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ร้อยละ 50 (IC_{50})

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

DPPH radical scavenging activity

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบของพืชสมุนไพร 32 ชนิด พบว่าในส่วนสกัดหยาบเมทานอลให้ผลการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าในส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน ในพืชเกือบทุกชนิด เนื่องจากเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าไดคลอโรมีเทน จึงสามารถสกัดสารขั้วสูงในพืชสมุนไพร มากกว่าด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ชีรวุฒิ และ รัชณี [5] ที่พบว่าเมทานอลสามารถสกัดสารในกลุ่มที่มี

ขั้วสูงในพืช ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสารดังกล่าวมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระดี [5] ตารางที่ 2 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 50 (EC_{50}) ผลการทดลองแสดงสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระดีกว่าหรือเทียบเท่ากับสารมาตรฐานแอสคอร์บิกแอซิด (ascorbic acid) โดยพบว่าอุนทะเล (*Cocoloba uvifera*) แคทะทะเล (*Dolichan-drone spathacea*) ฝาดดอกแดง (*Lumnitzera littorea*) ฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) ลำพูทะเล (*Sonneratia alba*) ลำแพนทะเล (*Sonneratia griffithii*) มีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.08 ± 1.01 , 5.17 ± 0.29 , 4.00 ± 0.25 , 7.50 ± 0.50 , 3.27 ± 0.53 และ 1.92 ± 0.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ อุไรวรรณ และคณะ [6] ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในการสกัดพืชป่าชายเลน พบว่าสารสกัดจากใบลำพูสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบพืชสมุนไพรที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 50 (EC_{50})

พืชตัวอย่าง	ชื่อวิทยาศาสตร์	EC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
		สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน	สารสกัดหยาบเมทานอล
อุนทะเล	<i>(Cocoloba uvifera)</i>	791.83±146.20	3.08±1.01
แคทะทะเล	<i>(Dolichandrone spathacea)</i>	381.67±11.55	5.17±0.29
ฝาดดอกแดง	<i>(Lumnitzera littorea)</i>	> 1000	4.00±0.25
ฝาดดอกขาว	<i>(Lumnitzera racemosa)</i>	98.33±18.43	7.50±0.50
ลำพูทะเล	<i>(Sonneratia alba)</i>	297.5±16.39	3.27±0.53
ลำแพนทะเล	<i>(Sonneratia griffithii)</i>	604.5±25.94	1.92±0.38
กรดแอสคอร์บิก		12.10±1.29	

3.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดหยาบจากใบพืชสมุนไพร 32 ชนิด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ออริสแตท พบว่าสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพร 3 ชนิด สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (ตารางที่ 3) โดยสารสกัดหยาบเมทานอลของหญ้ารูปร่างสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสดีที่สุดมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ร้อยละ 50 (IC_{50}) เท่ากับ 1.32 ± 0.04 รองลงมา คือ ชะมวง (2.45 ± 0.23) และสักทอง (3.30 ± 2.96) และส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนของสักทอง (3.82 ± 0.72) และชะมวง (4.96 ± 9.66) สามารถ

ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าในส่วนสกัดเมทานอลมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสดีกว่าส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน อาจเป็นไปได้ว่าสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสเป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มที่มีขั้วค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ อุทัยวรรณ และคณะ [7] ที่รายงานว่าส่วนสกัดหยาบเมทานอลจากขี้เหล็กสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสดีที่สุด นอกจากนั้นผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ อุทัยวรรณ และกัลยารัตน์ [8] ที่รายงานว่าผักใบเปรี้ยว เช่น ใบชะมวง ใบมะกอก มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งมีสมบัติทางชีวเคมีเป็นสารต้านการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ร้อยละ 50 (IC_{50})

พืชตัวอย่าง	ชื่อวิทยาศาสตร์	EC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
		สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน	สารสกัดหยาบเมทานอล
หญ้ารูปร่าง	(<i>Centotheca Lappacea</i>)	> 5	1.32 ± 0.04
ชะมวง	(<i>Garcinia cowa</i>)	2.45 ± 0.23	4.96 ± 9.66
สักทอง	(<i>Tectona grandis</i>)	3.82 ± 0.72	3.30 ± 2.96
หญ้ารูปร่าง	(<i>Centotheca Lappacea</i>)	> 5	1.32 ± 0.04
ออริสแตท		0.024 ± 0.005	

3.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส

การศึกษาความสามารถของสารสกัดหยาบจากใบพืชสมุนไพร 32 ชนิด ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอะคาร์โบส พบว่าสารสกัดหยาบจากพืช

สมุนไพร 2 ชนิด สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส (ตารางที่ 4) โดยที่สารสกัดหยาบเมทานอลจากสักทองมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ร้อยละ 50 (IC_{50}) เท่ากับ 3.42 ± 0.52 รองลงมา คือ ทูเรียนเทศ (4.98 ± 1.02) จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบเมทา

นอลจากใบสักทองสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสดีที่สุด และพบว่าในส่วนสกัดเมทานอลมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสดีกว่าส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน อาจเป็นไปได้ว่าสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสเป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มที่มีขั้วค่อนข้าง

สูง เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนสกัดของไดคลอโรมีเทน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ รุ่งฤดี [9] ที่พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบข้าวฟ่างที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสร้อยละ 98.22 และ 97.05 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส ร้อยละ 50 (IC₅₀)

พืชตัวอย่าง	ชื่อวิทยาศาสตร์	EC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
		สารสกัดหยาบ ไดคลอโรมีเทน	สารสกัดหยาบ เมทานอล
ทุเรียนเทศ	<i>(Annona muricata)</i>	4.98±1.02	> 5
สักทอง	<i>(Tectona grandis)</i>	> 5	3.42±0.52
อะคาร์โบส		0.032±0.005	

ตารางที่ 5 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ร้อยละ 50 (IC₅₀)

พืชตัวอย่าง	ชื่อวิทยาศาสตร์	EC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
		สารสกัดหยาบ ไดคลอโรมีเทน	สารสกัดหยาบ เมทานอล
มะเมี	<i>(Antidesma ghaesembilla)</i>	> 0.5	0.12±0.03
หญ้ารูปร่าง	<i>(Centotheca Lappacea)</i>	> 0.5	0.25± 0.11
ชะมวง	<i>(Garcinia cowa)</i>	0.38±0.16	0.31±0.14
มะกอก	<i>(Spondias pinnata)</i>	0.49±0.12	> 0.5
สักทอง	<i>(Tectonagrandis)</i>	> 0.5	0.40± 0.11
อะคาร์โบส		0.012±0.06	

3.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

การศึกษาความสามารถของสารสกัดหยาบจากใบพืชสมุนไพร 32 ชนิด ในการยับยั้งการทำงานของ

ของเอนไซม์อะไมเลส โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอะคาร์โบส พบว่าที่สารสกัดหยาบเมทานอลจากมะเมีสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงสุด (ตารางที่ 5) มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.12±

0.03 รองลงมา คือ ญี่วารีแพร์ (0.25±0.11) ชมวง (0.31±0.14) สารสกัดหยาบไคโคลโรมีทีนของใบ ชมวง (0.38±0.16) สักทอง (0.40±0.11) และสารสกัดหยาบไคโคลโรมีทีนของใบมะกอก (0.49±0.12) ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าในสารสกัดหยาบเมทานอลมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสดีกว่าไคโคลโรมีทีน อาจเป็นไปได้ว่าสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ รุ่งฤดี [8] ที่พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชาพลูที่สกัดด้วย เมทานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสดีที่สุด

4. สรุป

การศึกษาพืชสมุนไพรจำนวน 32 ชนิด โดยเน้นพืชในกลุ่มป่าชายเลน และผักพื้นบ้านที่มีสมบัติในการลดน้ำตาลในกระแสเลือด พบว่าสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลของพืชในกลุ่มป่าชายเลน 6 ชนิด ได้แก่ อุ่นทะเล แคทะเล ฝาดดอกแดง ฝาดดอกขาว ลำพูทะเล และลำแพนทะเล สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก นอกจากนั้นเมื่อนำสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันการเกิดโรคอ้วนและลดระดับน้ำตาลในเลือด พบว่าสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลของใบญี่วารีแพร์ สักทอง และมะเเมา ให้ผลการยับยั้งเอนไซม์ไลเพส อะไมเลส แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังนั้นพืชสมุนไพรดังกล่าวจึงมีความเหมาะสมที่จะคัดเลือกเพื่อนำมาศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อเป็นประโยชน์ในการศึกษาและพัฒนาเป็นยาแผนปัจจุบันในการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2558 (รหัสโครงการ 2558A10562002) และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

6. รายการอ้างอิง

- [1] กระทรวงสาธารณสุข, แผนพัฒนาสุขภาพแห่งชาติ ในช่วงแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 9 (2545-2549), 2544, กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.
- [2] Golay, A. and Ybarra, J., 2005, Link between obesity and type 2 diabetes, Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 19: 649-663.
- [3] Kaewpiboon, C., Lirdprapamongkol, K., Srisomsap, C., Winayanuwattikun, P., Yongvanich, T. and Puwaprisiran, P., 2012, Studies of the *in vitro* cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants, BMC Comp. Altern. Med. 12: 127.
- [4] Sindhu, S. and Nair, VKaAM., 2013, *in vitro* studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts, Pelagia. Res. Libr. 3: 128-132.
- [5] อีรุฒิ หวังอำนวยพร และรัชณี ไสยประจง, 2550, ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และ

- ด้านสารอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย, กรุงเทพฯ.
- [6] อุไรวรรณ วัฒนกุล, ชีรวิภา เลิศสุทธิชวาล และพิรพงษ์ พึ่งแย้ม, 2552, การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ในสารสกัดพืชป่าชายเลน บริเวณหาดราชมงคล จังหวัดตรัง, การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 19 ณ หอประชุม มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- [7] อุทัยวรรณ สุทธิคันสนีย์, พุทธชา สอนจันทร์ และกัลยารัตน์ เครือวัลย์, 2014, Potential diabetes prevention through key enzymes inhibition of Edible Sour Leaves from Thai local plants, Agric. Sci. J. 3: 13-16.
- [8] อุทัยวรรณ สุทธิคันสนีย์ และกัลยารัตน์ เครือวัลย์, 2013, Anti-lipase activities in Edible Sour Leaves of Thai Local Plants, Agric. Sci. J. 44: 604-606.
- [9] รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์, 2555, ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดส, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.