



พฤกษเคมี ปริมาณสารฟีนอลิกรวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเบาหวานของต้นแล้

Phytochemical, Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and Antidiabetic Activity of *Dapsilanthus disjunctus* (Mast.) B.G.Briggs & L.A.S.Johnson

สุพัตรา พรหมอินทร์^{1*}, ศรสวรรค์ คงภักดี¹, กุสุมาลย์ น้อยผา¹, ชรินทร์น แซ่ซิ่น²

¹สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์สุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

²คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

Supattra Prom-in^{1*}, Sornsawan Kongpakdee¹, Kusumarn Noipha¹, Charinrat Saechan²

¹Program in Thai Traditional Medicine, Faculty of Health and Sport Science, Thaksin University, Phatthalung 93210

²Faculty of Medical Technology, Prince of Songkla University, Songkhla 90110

Received 12 April 2024; Received in revised 30 November 2024; Accepted 4 December 2024

GRAPHICAL ABSTRACT



Procedure and results of *Dapsilanthus disjunctus* (Mast.) B.G.Briggs & L.A.S.Johnson

ABSTRACT

Diabetes is a disease characterized by elevated blood sugar levels, caused by insufficient insulin secretion or abnormal insulin function. One approach to treating diabetes is to lower blood sugar levels by inhibiting carbohydrate-digesting enzymes, such as α -amylase and α -glucosidase. In this study, a 95% alcohol extract of *D. disjunctus* was found to contain important phytochemicals, including flavonoids, coumarins, tannins, terpenoids, and steroids such as vanillin, trans-squalene, and phytosterol. Antioxidant activity was assessed using

the DPPH method, with an IC_{50} value of 15.7 μ g/mL, indicating strong antioxidant potential. The total phenolic content was measured at 287.54 mg GAE per gram of extract. The α -glucosidase inhibition activity of the *D. disjunctus* extract showed significantly higher efficacy than the positive control (acarbose). The α -amylase inhibition effect of the extract was 74.55 ± 1.80 μ g/mL, which is lower than that of acarbose (416.16 ± 3.10 μ g/mL). Therefore, *D. disjunctus* extract shows potential for development as a functional food ingredient or as a complementary treatment for diabetes in the future.

คำสำคัญ

ต้นแล้;
สารพฤกษเคมีเบื้องต้น;
ปริมาณฟีนอลิกรวม;
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ;
ฤทธิ์ต้านเบาหวาน

Keywords

D. disjunctus;
Phytochemical screening;
Total phenolic;
Antioxidant activity;
Antidiabetic activity

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานเป็นโรคที่เกิดจากร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเกินกว่าระดับปกติ มีสาเหตุจากตับอ่อนหลั่งฮอร์โมนอินซูลินที่ไม่เพียงพอและมีการทำงานที่ผิดปกติ เป้าหมายอย่างหนึ่งในการรักษาโรคเบาหวานได้แก่การลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการยับยั้งเอนไซม์ย่อยอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตซึ่งได้แก่ แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดส การศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดต้นแล้ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% สารพฤกษเคมีสำคัญพบว่าเป็นกลุ่ม Flavonoids Coumarins Tannins Terpenoid และ Steroids เช่น Vanillin Trans-Squalene และ Phytosterol ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่าการต้านที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) คือ 15.7 μ g/ml สารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) มีค่า 287.54 mgGAE/ 1 g of extract ผลการยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase ของสารสกัดต้นแล้มีประสิทธิภาพดีเมื่อเทียบกับ Acarbose ที่เป็น positive control คือมีค่าเท่ากับ 416.16 ± 3.10 μ g/mL อย่างมีนัยสำคัญ และผลการยับยั้งเอนไซม์ α -amylase ของสารสกัดต้นแล้มีค่าเท่ากับ 74.55 ± 1.80 μ g/mL ซึ่งน้อยกว่า Acarbose ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดต้นแล้ต่อเซลล์ Caco-2 ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารพบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 4 mg/ml ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นสารสกัดต้นแล้จึงมีคุณประโยชน์และศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพทางเลือกและใช้กับผู้ป่วยเบาหวานในอนาคตได้

*ผู้รับผิดชอบบทความ: Supatchula@gmail.com

DOI: 10.14456/tstj.2025.24

1. บทนำ

โรคเบาหวานเป็นปัญหาที่สำคัญในหลายประเทศของโลก ประชากรโลกมีแนวโน้มการเกิดโรคเบาหวานเพิ่มมากขึ้น เป็นปัญหาที่สำคัญทางระบบสาธารณสุขในหลายประเทศ ส่งผลกระทบต่อการพัฒนาสังคมและเศรษฐกิจ จากรายงานแนวโน้มจำนวนผู้ป่วยเบาหวานมีมากขึ้น โดยทั่วโลกมีผู้ป่วยเบาหวานมากกว่า 425 ล้านคน และจำนวนยังเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยคาดในปีพ.ศ. 2590 จะมีจำนวนมากถึง 629 ล้านคน [1]

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่เกิดจากระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นเวลายาวนาน เกิดจากความผิดปกติ มีสาเหตุจากการหลั่งอินซูลินหรือการทำงานที่ผิดปกติของอินซูลิน หากผู้ป่วยเบาหวานไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องเพื่อลดระดับน้ำตาลที่สูงในเลือดนั้น จะส่งผลกระทบต่อความผิดปกติของระบบโครงสร้างและอวัยวะอื่นๆ ตามมา ได้แก่ ไต ตา ระบบหลอดเลือดและหัวใจ ระบบประสาท เป็นต้น นอกจากนี้ภาวะออกซิเดชัน (Oxidative stress) ซึ่งเป็นกระบวนการที่เซลล์ถูกทำลายโดยสารอนุมูลอิสระ เช่น กระบวนการ เกิดสารกลุ่ม Reactive oxygen species (ROS) and Reactive nitrogen species (RNS) เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ ตามมาในผู้ป่วยเบาหวาน [2,3] ในผู้ป่วยเบาหวานที่อาการรุนแรงแพทย์จะให้รับประทานยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์ในการลดหรือป้องกันการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคส เช่น อะคาร์โบส ไมกลิทอล และวอกลิโบส เป็นต้น โดยยาจะออกฤทธิ์ในการยับยั้งของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) [4] ซึ่งมีบทบาทในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของแป้งได้เป็นน้ำตาลกลูโคส โดยยาส่งผลให้การดูดซึมน้ำตาลกลูโคสจากลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือดลดลง ภาวะการมีน้ำตาลในเลือดสูงโดยใช้ยาในกลุ่มนี้ติดต่อกันเป็นเวลานานทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย เช่น ภาวะตับเป็นพิษ (liver toxicity) และเกิดอาการไม่พึงประสงค์ในระบบทางเดินอาหาร (Adverse gastrointestinal symptoms) เช่น ท้องอืด ท้องเฟ้อ

ท้องเสียและคลื่นไส้ [3,5] ดังนั้นการใช้สมุนไพรที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ในร่างกาย จึงมีความจำเป็นในการป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ของร่างกายและอาการหรือโรคแทรกซ้อนที่ตามมาจากการเป็นโรคเบาหวาน และมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) ก็จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีส่วนช่วยในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน [6]

หัวแสหรือแสหรือแสหรือแสหรือมีชื่อวิทยาศาสตร์ *D. disjunctus* อยู่ในวงศ์ Restionaceae เป็นพืชพื้นบ้านทางภาคใต้ พบได้มากในจังหวัดพัทลุง สงขลา และจังหวัดตรัง มักปลูกตามร่องสวนยางหรือพื้นที่ที่มีน้ำอุดมสมบูรณ์ ใช้รับประทานสดเป็นผักหรือประกอบอาหาร สามารถรับประทานได้ทั้งต้น ลักษณะต้นแสคล้ายต้นหอมมีกลิ่นฉุนแรง รสเผ็ดร้อน ตามคำบอกเล่าของผู้สูงอายุและแพทย์พื้นบ้านกล่าวว่าหัวหรือรากมีสรรพคุณขับลม แก้อืดท้องเฟ้อ รักษาเบาหวาน ทำให้หลับสบาย มีการทดลองในหนูขาว หนูถีบจักรและแมลงหวี่พบว่าสามารถเพิ่มระยะเวลาในการหลับของหนูได้มากขึ้นและหลับลึกขึ้น จากการรายงานทางโภชนาการพบว่าในหัวแสมีวิตามินซีสูงและแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส เป็นต้น [7,8]

ต้นแสยังไม่มีข้อมูลยืนยันทางวิทยาศาสตร์ถึงไม่มีข้อมูลกลุ่มสารระเหยหรือสารที่มีกลิ่น การต้านอนุมูลอิสระของต้นแส และศักยภาพในการรักษาโรคเบาหวาน คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาถึงสารสำคัญ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) และความเป็นพิษต่อเซลล์ในทางเดินอาหารของต้นแส ซึ่งการศึกษาดังกล่าวนี้อาจใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์ในการยืนยันถึงฤทธิ์และสรรพคุณที่เกี่ยวข้องกับเบาหวานของต้นแสและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางสุขภาพต่อไปในอนาคต

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมและการสกัดต้นแห้ง

นำต้นแห้งทั้งต้นที่เก็บจาก อำเภอบ้านพะยอม จังหวัดพัทลุง โดยได้รับการตรวจสอบและยืนยันความถูกต้องทางพฤกษศาสตร์โดย สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง โดยอ้างอิงจาก Herbarium specimen voucher รหัสคือ BioSciTSU 3 (R1) โดยนำต้นแห้งล้างทำความสะอาดแล้วหั่นให้มีขนาดเล็ก นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 hr บดด้วยเครื่องบดละเอียด ทำการสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ด้วย 95% เอทานอล เป็นเวลา 7 days โดยทำการเขย่าทุกวันแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator คำนวณค่าร้อยละของผลผลิตที่ได้ต่อน้ำหนักแห้งของพืช (% yield)

2.2 การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดต้นแห้ง

การศึกษาพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดต้นแห้ง โดยทดสอบสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ทั้งหมด 9 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์พีนอยด์ สเตอรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน โดยแต่ละการทดสอบทำ 3 ซ้ำ [9] ดังนี้

2.2.1 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัดต้นแห้ง 0.2 g เติมน้ำกลั่น 1 ml เติมน้ำกรดคลอริก (10% H_2SO_4) ปริมาตร 1.0 ml เขย่านำไปอุ่นเป็นเวลา 5 min กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วทิ้งให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปเติมน้ำกลั่น 1 ml เติมน้ำกรดคลอริก (10% H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 ml เขย่า หากปรากฏสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูแดงเกิดขึ้นแสดงว่าพบแอนทราควิโนน

2.2.2 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

ชั่งสารสกัดต้นแห้ง 0.2 g เติมน้ำกลั่น 1 ml เติมน้ำกรดคลอริก (10% H_2SO_4) ปริมาตร 1 ml เขย่านำไปอุ่นเป็นเวลา 5 min กรองส่วนที่ไม่ละลายออกแล้วทิ้งให้สารละลาย

เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปหยดสารละลายตราเจนดอร์ฟ (Dragendroff's reagent) จำนวน 5 หยด เขย่า หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่า พบแอลคาลอยด์

2.2.3 การตรวจสอบสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

ชั่งสารสกัดต้นแห้ง 0.2 g เติมน้ำกลั่น 1 ml เติมน้ำกรดคลอริก (10% H_2SO_4) ปริมาตร 1 ml เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก น้ำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) เติมน้ำกลั่น 1 ml เติมน้ำกรดคลอริก (1% $FeCl_3$) ปริมาตร 5 หยด เขย่า เติมน้ำกรดกลacial (Glacial acetic acid) ปริมาตร 5 หยด เขย่า และค่อย ๆ เติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 ml ลงไป หากปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่า พบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

2.2.4 การตรวจสอบแทนนิน

ชั่งสารสกัดต้นแห้ง 0.2 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1 ml นำไปอุ่น 5 min ทำการกรองส่วนที่ไม่ละลายออก ของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมน้ำกลั่น 1 ml เติมน้ำกรดคลอริก (1% $FeCl_3$) ปริมาตร 5 หยด แล้วเขย่า หากปรากฏสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวดำ หรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบแทนนิน

2.2.5 การตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัดต้นแห้ง 0.2 g ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1 ml เขย่า ทำการกรองส่วนที่ไม่ละลายออก น้ำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 1 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Conc. HCl) ปริมาตร 5 หยด เขย่าแล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ 5 นาที หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

2.2.6 การทดสอบสารเทอร์พีนอยด์

ชั่งสารสกัดต้นแห้ง 0.2 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ปริมาตร 1 ml เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก น้ำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อย ๆ เติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 ml ลงไป หากปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบเทอร์พีนอยด์

2.2.7 การทดสอบสารเลดีรียรอยด์

ซังสารสกัดต้นไต้ 0.2 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ปริมาตร 1 ml เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วเติมกรดแกลเซียลแอซิดิก (Glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5 ml เขย่า แล้วเติมกรดซัลฟิวริก (conc. H_2SO_4) จำนวน 3 หยด หากปรากฏสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียวแสดงว่าพบสเตียรอยด์

2.2.8 การทดสอบสารซาโปนิน

ทำการทดสอบแบบการเกิดฟองโดยซังสารสกัดต้นไต้ 0.2 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5 ml นำไปอุ่น 5 min แล้วเขย่าอย่างแรง หากปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นหรือฟองคงอยู่ไม่หายไปเมื่อหลอดทดลองแสดงว่าพบซาโปนิน

2.2.9 การทดสอบสารคูมาริน

ซังสารสกัดต้นไต้ 0.2 g ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1 ml เขย่าแล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6M NaOH) ปริมาตร 1 ml แล้วเขย่า หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบคูมาริน

2.3 การตรวจสอบสารฟลักซ์เคมีด้วยวิธี Gas chromatography -Mass Spectrometry analysis (GC-MS)

ใช้ตัวอย่าง 10 μ g ละลายในเอทานอล 90% สภาพของเครื่อง GC (Agilent Technology, รุ่น GC6890 A, USA) ใช้ปริมาณตัวอย่างในการฉีด 3 μ l ในส่วนของคอลัมน์ที่ใช้คือ HP-5MS (ขนาดยาว 30 m x 0.25 mm, เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 mm) Film Thickness (Agilent Technology, HP-5MS, USA) ตั้งอัตราการไหลของก๊าซฮีเลียมเข้าคอลัมน์เป็น 1.0 ml/min ส่วนอุณหภูมิคอลัมน์ตั้งโปรแกรมโดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 50 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 1 min จากนั้นเพิ่มอัตราเร็ว 8 $^{\circ}$ C/min จนถึงอุณหภูมิ 180 $^{\circ}$ C และเพิ่มอัตราเร็ว 20 $^{\circ}$ C/min จนถึงอุณหภูมิ 325 $^{\circ}$ C คงที่อีก 3 min เวลาในการวิเคราะห์นาน 53.5 min ส่วนของ MS (Agilent Technology, MSP5975C, USA) เป็น MS single

quadrupole ที่ต่อกับส่วนของ GC โดยตรง ผ่านทางส่วนเชื่อมต่อ (Transfer Line) อุณหภูมิไว้ที่ 115 $^{\circ}$ C และอุณหภูมิของ Ion Source เป็น 250 $^{\circ}$ C ในระบบ Electron Impact Ionization (EI) โดยเทียบกับ NIST Research library สำหรับ match mass spectrum ของสารสกัดไต้ และมีโปรแกรมช่วยประมวลผลเพื่อแปลผลสารฟลักซ์เคมีที่พบในสารสกัดต้นไต้

2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดต้นไต้

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีดัดแปลงจาก Aryal et al. [10] ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน โดยการผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ความเข้มข้น 0.0001-0.1000 mg/ml หรือสารสกัดสมุนไพรที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 1 ml กับ Folin-Ciocalteu colorimetric ความเข้มข้น 20 % ปริมาตร 1 ml ให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 min จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.35 M ปริมาตร 2 ml เขย่าให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 min วัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer (SHIMADZU, Japan) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DDPH

การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดต้นไต้ ดัดแปลงจาก Aryal et al. [10] เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 mM ในเมทานอล ปิเปตสารสกัดสมุนไพร หรือสารมาตรฐาน แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 μ l ผสมให้เข้ากันกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 μ l ใส่ใน 96-Well plate ตั้งทิ้งไว้ที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 min แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 nm ในการทดสอบนี้โดยใช้สารมาตรฐาน Ascorbic acid เป็นกลุ่มควบคุมบวก ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำหาค่า % DDPH Scavenging จากสมการดังนี้

$$\% \text{ DDPH Scavenging} = A_0 - (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

โดยที่ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจะแสดงเป็นค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถ ยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้ 50%

2.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Alpha-glucosidase

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Alpha-glucosidase ของสารสกัดต้นเส้า วิธีการทดสอบฤทธิ์ได้ดัดแปลงจาก Kittiwisut et al. [11] ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งของสารควบคุมเชิงบวกหรือ Acarbose ก่อนเพื่อพิสูจน์ว่ากระบวนการดังกล่าวสามารถดำเนินไปอย่างถูกต้องหรือไม่ ในเบื้องต้นให้เตรียมสารละลาย Acarbose โดยละลายตัวอย่าง Acarbose ด้วย 5% DMSO ใน Phosphate buffer (pH 6.8) เมื่อทำการเตรียมสารละลาย Acarbose เป็นที่เรียบร้อยแล้วสามารถเริ่มทำการทดสอบได้โดยปิเปตสารละลายสารสกัด 50 μ l ของแต่ละความเข้มข้นผลกับ 50 μ l ของเอนไซม์ α -glucosidase (0.05 U/mL) หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 10 min แล้วปิเปต 50 μ l ของ 1 M สารตั้งต้น 4-nitrophenyl- α -Dglucopyranoside (p-NPG) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$ C อีกครั้ง เป็นเวลา 20 min เมื่อครบระยะเวลาแล้วให้ทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการปิเปต 50 μ l ของ 0.3 M Na_2CO_3 ในแต่ละหลุมของ 96-well plate จากนั้นให้ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งใช้สมการดังนี้

$$\text{ร้อยละการยับยั้ง} = [(A-B)-(C-D)] / (A-B) \times 100$$

โดยที่ A: ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายตัวควบคุมเชิงลบที่ประกอบด้วย 5% DMSO ใน Phosphate buffer และเอนไซม์

B: ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายตัวควบคุมเชิงลบที่ประกอบด้วย 5% DMSO ใน Phosphate buffer

C: ค่าดูดกลืนแสงของการเกิดปฏิกิริยาในตัวอย่างและที่ประกอบด้วยเอนไซม์

D: ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายตัวควบคุมของตัวอย่างประกอบด้วยสารละลายตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่ทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ที่ 50% (IC_{50}) จากกราฟและสมการเส้นตรงระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งและความเข้มข้นของตัวอย่าง เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์เอนไซม์ของสารควบคุมเชิงบวกหรือ Acarbose เป็นที่เรียบร้อยแล้วนั้นให้เริ่มทำการทดสอบกับสารตัวอย่าง โดยเริ่มจากเตรียมสารละลายตัวอย่างด้วย 5% DMSO ใน Phosphate buffer (pH 6.8) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วง 10-1000 mg/ml สำหรับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งนั้นสามารถดำเนินการได้โดยใช้ขั้นตอนเช่นเดียวกันกับการทดสอบสารละลาย Acarbose ข้างต้นที่กล่าวไว้ โดยเปลี่ยนจาก สารละลาย Acarbose เป็นสารละลายตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น โดยแต่ละตัวอย่างจะทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำและรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2.7 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Alpha-amylase

วิธีการทดสอบฤทธิ์ได้ดัดแปลงมาจาก Kusano, et al. [12] เตรียมสารละลายแป้งต้น โดยเตรียมแป้ง (Starch) จำนวน 50 mg ละลายด้วย 0.4 M NaOH 25 ml คนให้เข้ากันและต้มไว้ที่ 100 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 5 min หลังจากนั้น ทำให้สารละลายเย็นตัวลง โดยการแช่ภาชนะบรรจุสารละลายไว้ในอ่างน้ำแข็ง เมื่อสารละลายเย็นลงแล้ว ให้นำสารละลายมาปรับค่า pH ด้วย 2M HCl จนกระทั่งได้เท่ากับ 7 และปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml ด้วยน้ำ (Distilled water) เพื่อเตรียมใช้สำหรับการออกฤทธิ์การยับยั้ง ในเบื้องต้นให้ทำการออกฤทธิ์การต้านการ

ยั้งยั้งของสารควบคุมเชิงบวก หรือ Acarbose ก่อนเพื่อพิสูจน์ว่ากระบวนการดังกล่าวสามารถดำเนินไปอย่างถูกต้องหรือไม่

โดยละลายตัวอย่าง Acarbose ด้วย Acetate buffer (pH 6.5) จากนั้นเริ่มทำการทดสอบฤทธิ์ได้โดยเปิดสารตั้งต้น 120 μ l และละลาย Acarbose 60 μ l ผสมใน Microcentrifuge tubes แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 3 min หลังจากนั้นเปิดสารละลายเอนไซม์ α -amylase (1U/ml) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 15 min ให้ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยเปิด 240 μ l ของ 0.1 M HCl และ 300 μ l ของ 1 mM สารละลายไอโอดีนลงไปในแต่ละ Micro centrifuge tubes จากนั้นให้ทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาว 650 nm และคำนวณร้อยละการยับยั้งโดยสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละการยับยั้ง} = \{1 - (\text{Abs2} - \text{Abs1}) / (\text{Abs3} - \text{Abs4})\} \times 100\}$$

โดยที่ Abs1 คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วยตัวอย่าง สารละลายแป้งและเอนไซม์

Abs2 คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วยตัวอย่างและสารละลายแป้ง

Abs3 คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วยสารละลายแป้งและเอนไซม์

Abs4 คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ประกอบด้วยสารละลายแป้ง

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ของสารควบคุมเชิงบวกหรือ Acarbose เป็นที่เรียบร้อยแล้วนั้น ให้เริ่มทำการทดสอบตัวอย่าง โดยเริ่มจากเตรียมสารละลายตัวอย่างด้วย Acetate buffer (pH 6.5) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วง 10-1000 μ g/ml สำหรับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งนั้นสามารถดำเนินการได้โดยใช้ขั้นตอนเช่นเดียวกันกับการทดสอบสารละลาย Acarbose ข้างต้นที่กล่าวไว้ โดยเปลี่ยนจาก

สารละลาย Acarbose เป็นสารละลายตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น โดยแต่ละตัวอย่างจะทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำและรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2.8 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัด

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ใช้วิธี MTT assay เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ Caco-2 โดยด้วยอาหาร Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่มี 10% Fetal Bovine Serum, 100 U/ml Penicillin และ 100 U/ml Streptomycin ใน 96-well plate หลุมละ 5×10^4 cell บ่มที่ 5% CO₂ อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 hr จากนั้นเปลี่ยนอาหารเป็นอาหารผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 0-8 mg/ml แล้วบ่มต่อที่สภาวะเดิมเป็นเวลา 24 hr จึงเติม MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) เข้มข้น 0.5 mg/ml ปริมาตร 100 μ l บ่มในที่มืดเป็นเวลา 4 hr จึงดูดอาหารทิ้งและใส่ Dimethyl sulfoxide (DMSO) 100 μ l จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 570 nm ด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer (SHIMADZU, Japan) [13]

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การสกัดหยาบจากต้นเส้

จากการศึกษานี้ได้นำต้นเส้ที่เตรียมไว้ นำไปหมักด้วย 95% เอทานอล เป็นเวลา 7 วันแล้วกรองนั้น และได้ทำการเขย่าขวดทุกวันและระเหยให้เหนียวและหนืดแล้วคำนวณค่าผลผลิตที่ได้ (ค่า %Yield) ของสารสกัดต้นเส้ ดังแสดงใน Table 1 ซึ่งการสกัดสารสกัดด้วยสมุนไพรด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอลจะให้จำนวนสารสกัดที่สูงสอดคล้องกับงานวิจัยการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิดที่สกัดด้วยเอทานอล นำไปวิเคราะห์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง และสารสกัดที่ได้มีลักษณะหนืดข้นเช่นเดียวกันกับสารสกัดต้นเส้ [3,14]

Table 1 Percentage yield of *D. disjunctus* extracts

Solvent	% Yield (w/w)	Appearance
95% ethanol	2.475	Green and viscous

3.2 การศึกษาพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดต้นแส้

จากการศึกษาพฤษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดของต้นแส้นั้น พบว่ามีสารสกัดต้นแส้พบสารพฤษเคมีเบื้องต้น 5 ชนิด ได้แก่ Flavonoids, Coumarins, Tannins, Terpenoid และ Steroids ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Watchra, et al. [15] ที่ได้นำต้นแส้สดไปสกัดด้วยตัวทำละลายเดียวกันคือแอลกอฮอล์และพบสารพฤษเคมี Coumarins tannins terpenoid และ Steroids จากข้อมูลการรายงานที่ผ่านมาการศึกษาต้นแส้ ซึ่งเป็นพืชที่พบในได้มากในภาคใต้ของประเทศไทยมีข้อมูลการศึกษาน้อยมาก ส่วนสารพฤษเคมีในการศึกษาครั้งนี้ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Phytochemical constituents of *D. disjunctus* extract

Tests	Ethanol extract of <i>D. disjunctus</i>
Anthraquinones	-
Alkaloids	-
Cardiac glycoside	-
Tannins	+
Flavonoids	+
Terpenoid	+
Steroids	+
Saponins	-
Coumarins	+

Note: + = presence, - = absence

3.3 การตรวจสอบสารพฤษเคมีด้วยวิธี Gas chromatography -Mass Spectrometer analysis (GC-MS)

การวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดต้นแส้ด้วยวิธี Gas chromatography -Mass Spectrometer (GC-MS) พบสารสำคัญจำนวน 29 ชนิด ดังแสดงใน Table 3 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาพฤษเคมีเบื้องต้นที่พบสารสำคัญกลุ่ม Coumarins tannins terpenoid และ Steroids นอกจากนี้ Watchra, et al. [7,16] [15] ได้ศึกษาสารสกัดต้นแส้สด โดยสกัดด้วย 95% เอทานอลมีการตรวจสอบในทางโภชนาการพบว่าในสารสกัดต้นแส้สดมีวิตามินซีสูง และเป็นแหล่งของไขมันประเภทกรดไขมันอิ่มตัวหลายชนิด เช่น กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก ทั้งและประกอบด้วย แร่ธาตุโพแทสเซียมและฟอสฟอรัสสูง ซึ่งการตรวจสอบสารสกัดต้นแส้ในครั้งนี้พบว่ามีความสำคัญที่สามารถลดน้ำตาลในเลือดได้ ได้แก่ Vitamin E, Mequinol โดยที่จะไปขัดขวางการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือด [17] ซึ่งในการตรวจสอบโดยวิธี GC-MS มีข้อจำกัดในการตรวจสอบได้เฉพาะกลุ่มที่สารระเหยได้ ซึ่งอาจจะมีสารกลุ่มอื่น ๆ ที่ไม่ระเหยโดยจะทำการตรวจสอบต่อไปในการทดสอบครั้งต่อไป

Table 3 Bioactive compounds found in the ethanol extract of *D. disjunctus* by gas chromatography-mass spectrometer analysis

No.	RT (min)	Name of compound	Molecular formula
1	5.897	2-Furancarboxaldehyde,5-methyl-	$C_6H_6O_2$
2	7.497	Mequinol	$C_7H_8O_2$
3	9.960	Benzaldehyde,4-methyl-	C_8H_8O
4	10.950	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	$C_9H_{10}O_2$
5	11.458	2-Methoxy-4-vinylphenol	$C_9H_{10}O_2$
6	12.989	Vanillin	$C_8H_8O_3$
7	13.619	Trans-Isoeugenol	$C_{10}H_{12}O_2$
6	14.113	N-Ethyl-2-carbethoxyazetidine	$C_8H_{15}NO_2$
8	16.198	Dodecanoic acid, ethyl ester	$C_{14}H_{28}O_2$
9	16.256	Hexadecane	$C_{16}H_{34}$
10	19.751	Tetradecanoic acid	$C_{14}H_{28}O_2$
11	21.058	Neophytadiene	$C_{20}H_{38}$
12	21.490	1-Propanol,3-(diethylamino)-2,2-dimethyl-,p-aminobenzoate (ester)	$C_{16}H_{26}$
13	22.440	Hexadecanoic acid, ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$
14	25.334	Phytol	$C_{20}H_{40}$
15	26.666	Linoleic acid ethyl ester	$C_{20}H_{36}O_2$
16	27.695	Octadecanoic acid	$C_{18}H_{36}O_2$
17	32.910	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester	$C_{19}H_{38}O_4$
18	33.359	Bis (2-ethylhexyl) phthalate	$C_{24}H_{38}O_4$
19	33.691	Docosanoic acid	$C_{22}H_{44}O_2$
20	35.898	1,8,11,14-Heptadecatetraence	$C_{17}H_{28}$
21	37.409	Squalene	$C_{30}H_{50}$
22	37.935	Nanocos-1-ene	$C_{29}H_{58}$
23	38.197	1-decanol,2-hexyl-	$C_{16}H_{34}O$
24	39.930	Beta-Tocopherol	$C_{28}H_{48}O_2$
25	40.163	1-Hexadecanol	$C_{16}H_{34}O$
26	41.085	dl-.alpha.-Tocopherol (Vitamin E)	$C_{29}H_{50}O_2$
27	41.328	Phytyl dodecanoate	$C_{32}H_{62}O_2$
28	43.482	16-Hentriacontanone	$C_{31}H_{62}O$
29	44.102	Gamma.-Sitosterol (phytosterol)	$C_{29}H_{50}$

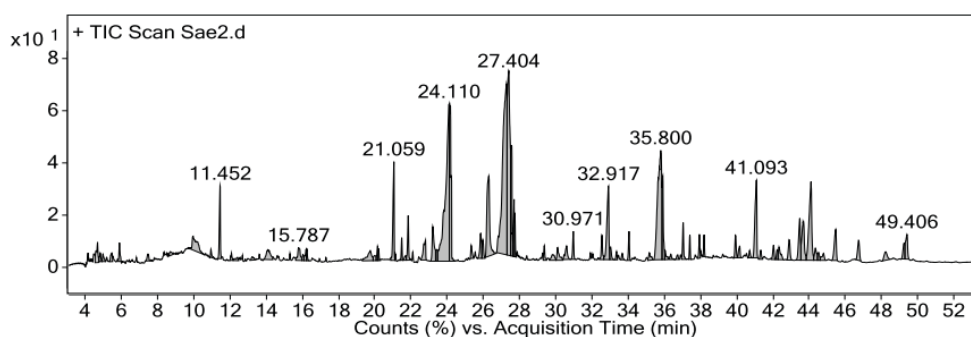


Figure 1 Chromatogram of *D. disjunctus* extract

3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดต้นแล้ว

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีดัดแปลงจาก Aryal et al. [10] ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน (Figure 1) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ 760 nm กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 14.567x + 0.0748$, $R^2 = 0.9973$) จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกนำไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดสมุนไพร โดยพบว่าในสารสกัดต้นแล้วนั้นมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 287.54 mg GAE/ g of extract (Table 4) พบว่าพืชหลายชนิดที่มีสารกลุ่มฟีนอลิกสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี และสามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานได้ [18,19]

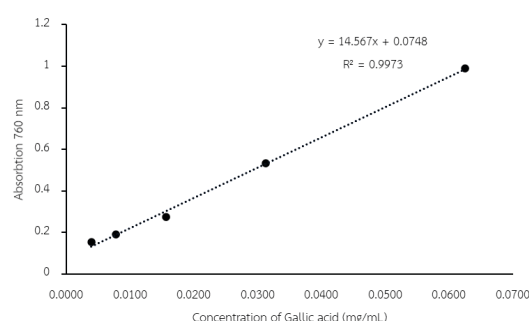


Figure 2 Standard curve of gallic acid absorbance at 760 nm for the total phenolic content evaluation for *D. disjunctus* extract

Table 4 Total phenolic content of *D. disjunctus* extract using the Folin-Ciocalteu colorimetric method

Sample	Concentration (mg/mL)	OD absorbance 760 nm	Total phenolic content mg GAE/1 g of extract
		mean $\pm$ SD	
<i>D. disjunctus</i> extract	1	0.494 $\pm$ 0.003	287.54

3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ผลจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยใช้วิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นสาร

มาตรฐาน โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm พบว่าวิตามินซี (Ascorbic acid) ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานในการทดสอบนั้นมีค่า IC_{50} เท่ากับ 15.7 μ g/ml สารสกัด

ต้นสดด้วย 95% เอทานอลนั้น มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.342 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งมีค่าแตกต่างกับค่า IC_{50} ของวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญ $p < 0.05$ DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (Scavenging activity) โดยสารละลายของสาร DPPH ที่ปรากฏเป็นสีม่วงในเอทานอลและเมื่อได้รับ H จะถูกเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง หากค่า IC_{50} ที่ได้ต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า สารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) คูมาริน (Coumarin) แทนนิน (Tannin) เทอปีนอยด์ (Terpenoid) และกลุ่มสเตอรอยด์ (Steroid) ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ [15,16] ตัวอย่างเช่น Squalene ที่พบในสารสกัดต้นสด มีการรายงานถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูง [18]

3.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Alpha-glucosidase และผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Alpha-amylase

การทดสอบทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Alpha-glucosidase ได้ใช้ Acarbose เป็นสารมาตรฐานในการทดสอบ จากการทดสอบพบว่าค่า IC_{50} ของการยับยั้งเอนไซม์ Alpha-glucosidase Acarbose คือ

119.39 $\pm$ 1.13 $\mu\text{g/ml}$ และสารสกัดต้นสด มีค่า IC_{50} ของการยับยั้งเอนไซม์ Alpha-glucosidase 416.16 $\pm$ 3.10 $\mu\text{g/ml}$ ส่วนการทดสอบทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Alpha-amylase ได้ใช้ Acarbose เป็นสารมาตรฐานในการทดสอบ จากการทดสอบพบว่าค่า IC_{50} ของการยับยั้งเอนไซม์ Alpha-amylase ของ Acarbose คือ 329.76 $\pm$ 4.19 $\mu\text{g/ml}$ และสารสกัดต้นสด มีค่า IC_{50} ของการยับยั้งเอนไซม์ Alpha-amylase 74.55 $\pm$ 1.80 $\mu\text{g/ml}$ ดังแสดงผลใน Table 5 โดยสารสำคัญที่พบในสารสกัดต้นสด ได้แก่ สารสำคัญกลุ่มคูมารินที่สามารถรักษาโรคเบาหวานได้ โดยที่คูมารินที่อยู่ในรูปของไฮดรอกซีคูมารินจะไป จะช่วยขัดขวางการทำงานของควิโนน (Quinone) ทำให้การย่อยสลายสารอาหารให้เป็นน้ำตาลกลูโคสได้ยากขึ้น ทำให้อาหารที่ผ่านระบบการย่อยได้เร็วขึ้น จึงไม่สามารถดูดซึมกลูโคสได้ทำให้น้ำตาลกลูโคสในเลือดลดลงได้ และยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α -glucosidase [19, 20] ส่วน Vitamin E พบในใบของพืชโดยปริมาณประมาณ 600-1200 mg/day ช่วยลดระดับของ Glycosylate hemoglobin (สารบ่งชี้ระดับกลูโคสในเลือด) ซึ่งหมายถึงวิตามินอีสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ [17]

Table 5 Result of alpha-glucosidase inhibitory activity and alpha-amylase inhibitory activity of *D. disjunctus* extract

Samples	Alpha-glucosidase inhibitory activity (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)	Alpha-amylase inhibitory activity (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)
Acarbose	119.39 $\pm$ 1.13	329.76 $\pm$ 4.19
<i>L. disjunctus</i> Mast extract	416.16 $\pm$ 3.10	74.55 $\pm$ 1.80

3.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสดต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Caco-2 cell line) ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 8 mg/ml พบว่าสารสกัดสดที่

ความเข้มข้น 4 mg/mL ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ เนื่องจากยังคงมีปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตเกินกว่า 80% ซึ่งสารสกัดต้นสดมีกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) อยู่ในปริมาณมาก สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic

compound) และคูมาริน (Coumarin) เป็นองค์ประกอบซึ่งสอดคล้องการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารจากพืชเหล่านี้สามารถทำลายหรือฆ่าเซลล์มะเร็งได้ เช่นเดียวกับรายงานเกี่ยวกับสารสกัดหยาบของต้นฮวานร็อกที่ฆ่าได้ทั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และเซลล์มะเร็งเต้านม [20, 21] ที่พบว่าในสารสกัดหยาบของต้นฮวานร็อกมีสารสำคัญกลุ่มดังกล่าวอยู่เช่นเดียวกัน ในการทดสอบนี้เพื่อยืนยันถึงความไม่เป็นพิษของสารสกัดของต้นแส้ในระบบทางเดินอาหาร สามารถบริโภคได้ตามปริมาณที่เหมาะสมที่ไม่ทำให้เกิดเป็นพิษ สำหรับสารสกัดจากต้นแส้นั้นยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับการทำลายหรือฆ่าเซลล์มะเร็งอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งจะมีการทดสอบต่อไปเพื่อให้ทราบผลที่ชัดเจนขึ้น

4. สรุป

งานวิจัยนี้ของการนำสารสกัดต้นแส้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน ได้แก่ฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส แอลฟา-กลูโคซิเดสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ลำไส้ใหญ่นั้น ผู้วิจัยได้นำสารสกัดจากต้นแส้ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% มีลักษณะสีเขียวเข้ม มีความหนืดมีกลิ่นฉุนเหมือนพืชจำพวกหอม มีค่าผลผลิตสารสกัดที่ได้ร้อยละ (%Yield) เท่ากับ 2.475 ของน้ำหนักแห้ง ทำการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical screening) พบว่ากลุ่มพฤกษเคมีที่พบดังนี้ Flavonoids, Coumarins, Tannins, Terpenoid และ Steroids ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์สารสำคัญเบื้องต้นโดยวิธี GC-MS โดยพบว่าในสารสกัดของต้นแส้พบสารพฤกษเคมีสำคัญจำนวนทั้งหมด 29 ชนิด โดยมีสารกลุ่ม Flavonoids Terpenoid Steroids และกลุ่มน้ำมันหอมระเหยด้วย เช่น Vanillin Squalene Gamma-Sitosterol (phytosterol) และ Trans-Isoeugenol เป็นต้น การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่าในการต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้น 0.0625-1 mg/ml สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ระหว่าง 2.08-

36.34% มีค่า IC_{50} คือ 15.7 $\mu\text{g/ml}$ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) มีค่า 287.54 mg GAE/1 g of extract ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดต้นแส้ต่อเซลล์ Caco-2 พบว่าที่ความเข้มข้น 4 mg/ml ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยยังคงมีปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตเกินกว่า 80% การยับยั้งเอนไซม์ Alpha-glucosidase มีค่า IC_{50} เท่ากับ $416.16 \pm 3.10 \mu\text{g/ml}$ ซึ่งมากกว่าการยับยั้งเอนไซม์ Alpha-glucosidase ของ Acarbose และการยับยั้งเอนไซม์ Alpha-amylase มีค่า IC_{50} เท่ากับ $74.55 \pm 1.80 \mu\text{g/ml}$ ซึ่งมีความแตกต่างและน้อยกว่าฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ Alpha-amylase ของ Acarbose แสดงได้ถึงว่าสารสกัดจากต้นแส้มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ Alpha-amylase ได้ดีเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากต้นแส้มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ มีสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวานหลายชนิด รวมถึงการยับยั้งเอนไซม์ที่ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นและไม่มีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ไม่เป็นพิษ ดังนั้นต้นแส้จึงเป็นอีกพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งทางภาคใต้ที่สามารถนำมาใช้เป็นบริโภคเพื่อดูแลร่างกายสำหรับป้องกันเบาหวาน โดยควรจะต้องศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเบาหวานในสัตว์ทดลองเพื่อที่จะสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางสุขภาพสำหรับผู้ป่วยเบาหวานที่ปลอดภัยได้ในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2566 ประเภททุนพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ สถาบันวิจัยและนวัตกรรมมหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณการทำวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงคณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา คณะอุตสาหกรรมและการเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง และคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับความอนุเคราะห์เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ สถานที่ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

6. References

- [1] Guariguata, L., Whiting, D. R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., and Shaw, J. E., 2014, Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract*, 103(2): 137-149.
- [2] Theangsakul, M. and Panprasert, S., 2019, Development of a diabetes mellitus care model at Somdet Phra Putthaloetla hospital, *J. of Health Sci.* 28(4): 696-710. (in Thai)
- [3] Thiantongin, P., Thanaporn, C. and Chaweerak, P., 2022, Alpha-glucosidase inhibitor and antioxidant activity of Thai herbal for anti-diabetes, *UDRU Sci. Tech.* J. 8(1):1-17. (in Thai)
- [4] Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O. and Silveira, D., 2012, α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source, *J. Pharm. Pharm. Sci.* 15(1): 141-83.
- [5] Sombutphoothorn, S., 2020, Antioxidant, Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase Inhibitory Activities of *Leersia Hexandra* and *Elephantopus scaber* Mixed Extracts, Master Thesis, Mahasarakham University, Mahasarakham, 131 p. (in Thai)
- [6] Chalopagorn, P. and Klomsakul, P. 2017, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Casapinia sappan*, *Ficus foveolate* and *Euroma Longifolia* extract, *PRRJ. Sci. Technol.* 12(1): 63-73. (in Thai)
- [7] Damjuti, W., 2016, Pharmacological Activity and Nutritional Compositions of *Leptocarpus Disjunctus*, Doctoral Dissertation, Chulalongkorn University. Bangkok, 256 p.
- [8] Damjuti, W., Palanuvej, C., Li, T. and Ruangrunsi, N., 2017, Potential of *Leptocarpus disjunctus* as hypnotic plant: study on *Drosophila Melanogaster* and Mice Models, *J Health Res.*31(3): 219.
- [9] Seekhaw, P., Chuaboonmee, R., Surayot, P., Chadpan, S. and Thurnkul, N., 2020, Evaluation of phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities from ethanolic extracts of the *Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr. fruits, *J. Appl. Res. Sci. Tech.* 19(1): 124-136. (in Thai)
- [10] Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R. and Koirala, N., 2019, Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from western nepal, *Plants.* 8 (4):1-12.
- [11] Kittiwisut, S., Amnuoyopol, S., Pathompak, P. and Setharaksa, S., 2021, α -Glucosidase and α -amylase inhibitory effects with anti-oxidative activity of *Tetracera loureiri* (Finet & Gagnep.) Pierre ex Craib leaf, extracts, *Pharm Sci Asia.* 48 (2): 175-184. (in Thai)

- [12] Kusano, R., Ogawa, S., Matsuo, Y., Tanaka, T., Yoshikazu Yazaki, Y. and Kouno, I., 2011, α -amylase and lipase inhibitory activity and structural characterization of acacia bark proanthocyanidins, J. Nat. Prod. 74:119-128.
- [13] Kaewprom, W., Lin, C. and Chiou, M., 2021, Cell viability and cytotoxic testing of seventeen Asian plant extracts toward MARC-145 cells by MTT Assay, Agric. Res. J. 13(1): 40-48.
- [14] Thiantongin, P., Thanaporn, C. and Chaweerak, S. 2020, Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activity of Thai herbal recipes for anti-diabetes, UDRU Sci. Tech. J. 8(1)1-17. (In Thai).
- [15] Thi, H.T., Nguyen, M. C., Le, H.T., Nguyen, T. L., Pham, T. B., Chau, V. M., Nguyen, H. N., and Nguyen, T. D., 2014, Inhibitors of α -glucosidase and α -amylase from *Cyperus rotundus*, Pharm Biol. 52(1): 74-77.
- [16] Damjuti, W., *In Vitro* and *In Vivo* Bioactivities of *Leptocarpus Disjunctus* Ethanolic Extract, Available Source: <https://rmutt.academia.edu/watcharaDamjuti>, December 28, 2023.
- [17] Ozden, I., Deniz, G., Tasali, E., Ulusarac, A., Altu, T. and Buyukdevrim, S. 1989. The effect of vitamin E on glycosylated haemoglobin levels in diabetic rats: A preliminary report. Diabetes. Res. Clin. Pract., 12: 123-124.
- [18] Saeed, N., Khan, M.R. and Shabbir., M. 2012, Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. BMC Complement. Med. Ther. 12:1-12.
- [19] Srisawat, S. and Kuppiriyanan S. 2015, Effect of Thai Pomegranate Seed Oil on Obesity in Ovariectomized Rats, Suranaree University. Nakhonratchasima, p 64. (in Thai)
- [20] Boonumpol, P. and Pluempanupat, W. 2023, α -glucosidase inhibitory activity of coumarin-3-carboxylates, Bull Dept Med Sci. 65 (4): 267-280. (in Thai)
- [21] Phasuk, S. and Meeratana, P. 2014, Cytotoxicity activity of *pseuderanthemum palatiferum* crude extracts against breast and colon cancer cells. Thai Sci. Technol. J. 22(6).848-860. (in Thai)