

Research article

ผลของส่วนสกัดดอกและใบซีเหล็กต่อการลดน้ำตาลในเลือดแบบ *in vitro*

Effect of *in vitro* Anti-diabetic Activity of *Cassia siamea* Flowers and Leaves Extract

ธนากรณ ดำสุด^{1*}, เพ็ญศรี เพ็ญประไพ¹, เปรมจิต รongสวัสดิ์²
Thanakorn Damsud^{1*}, Pensri Penprapai¹, Premjit Rongsawat²

¹หน่วยวิจัยนวัตกรรมและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

¹Innovation and Natural Product Research Unit, Faculty of Science and Technology,
Rajamangala University of Technology Srivijaya

²สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

²Program of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya

*Corresponding Author, e-mail: Thanakorn Damsud (Thanakorn.d@rmutsv.ac.th)

Received: 16 November 2019; Revised: 26 December 2019; Accepted: 14 January 2020

บทคัดย่อ

ภูมิหลัง: โรคเบาหวานคือโรคเรื้อรังที่เกิดจากความผิดปกติของเมแทบอลิซึม ที่เกิดจากความผิดปกติของการหลั่งอินซูลิน นอกจากนี้โรคเบาหวานมีความเสี่ยงต่อการพัฒนาไปสู่การเกิดโรคแทรกซ้อนเนื่องจากการมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นระยะเวลายาวนาน **วัตถุประสงค์:** งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการลดระดับน้ำตาลในเลือดจากดอกและใบซีเหล็ก ผ่านการยับยั้งไดเปปทิเดส เปปทิเดส (Dipeptidyl Peptidase IV, DPP-IV) แอลฟาไกลูโคซิเดส การดูดซับกลูโคส และการแพร่กลูโคสในหลอดทดลอง **วิธีการศึกษา:** ส่วนสกัดเมทานอลของดอกและใบซีเหล็ก โดยประเมินการยับยั้ง DPP-IV แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู (มอลเทส และซูเครส) การดูดซับกลูโคส การแพร่ของกลูโคสในหลอดทดลอง และการทดสอบสารพิษทุกชนิดเบื้องต้น **ผลการศึกษา:** การศึกษาพิษทุกชนิดเบื้องต้นพบสารฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกในส่วนสกัดดอกและใบ การศึกษาส่วนสกัดเมทานอลของใบพบว่ามีการยับยั้ง DPP-IV และแอลฟาไกลูโคซิเดส ชนิด มอลเทส และซูเครส ที่สูงสุด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.40, 3.77 และ 3.64 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับซึ่งมากกว่าส่วนสกัดของดอก วิลดาเกลปตินและอะคาร์โบสเป็นสารมาตรฐาน สำหรับการศึกษาการยับยั้ง DPP-IV และแอลฟาไกลูโคซิเดส ชนิด มอลเทส และซูเครส โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.32, 0.36 และ 0.97 ตามลำดับ นอกจากนี้ส่วนสกัดเมทานอลของดอกและใบมีประสิทธิภาพในการดูดซับและชะลอการแพร่ของกลูโคสในหลอดทดลอง **บทสรุป:** ผลการศึกษาส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบ สามารถนำไปพัฒนาเป็นตำรายาลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสำหรับการรักษาโรคเบาหวาน

คำสำคัญ: ซีเหล็ก การต้านโรคเบาหวาน การยับยั้ง DPP-IV การยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส การแพร่กลูโคส การดูดซับกลูโคส

Abstract

Background: Diabetes is a chronic metabolic disease usually caused by defects in insulin secretion. In addition, diabetes is a potential risk of developing the initiation of its complications, as a result of prolonged high blood glucose level. **Objective:** The aim of this work was to reduce blood glucose level potential of flowers and leaves extract from *Cassia siamea* through dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitor, α -glucosidase inhibitory activity, glucose adsorption and glucose diffusion *in vitro*. **Methods:** The methanol crude extracts of flowers and leaves extract from *C. siamea* were evaluated for DPP-IV inhibitor, α -glucosidase inhibitory activity from rat intestinal (matase and sucrase), glucose adsorption, glucose diffusion *in vitro* and preliminary of phytochemical screening. **Results:** Preliminary, phytochemical screening showed the presence of flavonoids, alkaloids, and phenolic compounds in flowers and leaves extract. In this study, the methanol extract of leaves showed stronger DPP-IV inhibitor and α -glucosidase inhibitory activity (maltase and sucrase) with the IC₅₀ values of 0.40, 3.77 and 3.64 mg/mL, respectively than flowers extract. Vildagliptin and acarbose, based on standard reference for DPP-IV and α -glucosidase (maltase and sucrase) inhibitory activity, has IC₅₀ values of 0.32, 0.36 and 0.97 mg/mL, respectively. In addition, the methanol extract of flowers and leaves showed most potent glucose adsorption and glucose diffusion retardation. **Conclusion:** Thus, the results from the studied methanol extracts flowers and leaves could be developed as the anti-hyperglycemic remedy for diabetes therapy.

Keywords: *Cassia siamea*, Anti-diabetic, DPP-IV inhibitor, α -Glucosidase inhibitor, Glucose diffusion, Glucose adsorption

บทนำ (Introduction)

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) คือสภาวะที่ร่างกายมีระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูง เกิดเนื่องจากความผิดปกติของร่างกายในการไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลิน หรือปริมาณฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอต่อร่างกาย จากการศึกษาทางระบาดวิทยาทั่วโลกในปี ค.ศ. 2000 มีประชากรทุกช่วงอายุเป็นโรคเบาหวานประมาณ 2.8 เปอร์เซ็นต์ และมีการประมาณการว่าในปี ค.ศ. 2030 จะมีผู้ป่วยเพิ่มขึ้นเป็น 4.4 เปอร์เซ็นต์¹ จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าอัตรา

การเพิ่มขึ้นของโรคเบาหวานมีเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุก ๆ ปี การเกิดโรคเบาหวานนำไปสู่อัตราการตายที่เพิ่มสูงขึ้น เกิดจากสภาวะของโรคแทรกซ้อนที่รุนแรง เช่น ตา ไต หัวใจและหลอดเลือด² ปัจจุบันพบว่าประชากรส่วนใหญ่มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดเบาหวานชนิดที่ไม่พึ่งอินซูลิน (Non-insulin dependent diabetes) หรือโรคเบาหวานชนิดที่ 2 กันมากขึ้น เกิดจากการใช้ชีวิต และพฤติกรรมกรรมการบริโภคที่เปลี่ยนแปลงไป³ แนวทางการรักษาโรคเบาหวานนั้นมุ่งเน้นการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือด เช่น

กระบวนการยับยั้งไดเปปทิติว เพปติเดส IV (Dipeptidyl Peptidase IV, DPP-IV) ที่มีผลทำให้ระดับฮอร์โมนกลุ่มอินครีติน (incretin) 2 ชนิด คือ glucagon-like peptide-1 (GLP-1) และ glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) เพิ่มขึ้นในกระแสเลือด ส่งผลต่อการหลั่งอินซูลินจากเบต้าเซลล์ และลดการหลั่งกลูคากอนจากแอลฟาเซลล์ของตับอ่อน⁴ นอกจากนี้กระบวนการยับยั้งเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยโพลิโกและไดแซ็กคาไรด์ ก็เป็นอีกวิธีที่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลหลังรับประทานอาหาร (postprandial glucose) โดยยับยั้งเอนไซม์ที่อยู่ในบริเวณผนังลำไส้เล็ก ส่งผลให้การดูดซึมกลูโคสในลำไส้บริเวณทางเดินอาหารช้าลง⁵ และจากการศึกษาผู้สูงอายุรักษาเบาหวาน เพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดเป็นระยะเวลายาวนานจะเกิดผลกระทบต่อร่างกายของผู้ป่วย เช่น ตัวยาในกลุ่มยับยั้ง DPP-IV (DPP-IV inhibitor) มีการศึกษาว่าส่งผลต่อการทำงานของตับอ่อน หรือทำให้เกิดสภาวะตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน มีปัจจัยเสี่ยงต่อสภาวะหัวใจวาย และมีราคาค่อนข้างสูง ในขณะที่ตัวยากลุ่มยับยั้งการย่อยโพลิโกและไดแซ็กคาไรด์ (glucosidase inhibitor) ก็มีผลกระทบต่อผู้ป่วย เช่น อาการท้องอืด แน่นท้อง ผายลมบ่อย ถ่ายเหลว และปวดท้อง⁶ ดังนั้นการค้นคว้าหาสารจากธรรมชาติในกลุ่มพืช สมุนไพรที่รับประทานได้ ที่มีความปลอดภัย นับเป็นทางเลือกสำหรับผู้ป่วยเพื่อใช้ในการรักษา นำไปสู่การลดการใช้ยา ลดอาการแทรกซ้อนต่าง ๆ และลดค่าใช้จ่าย ต่อไปในอนาคต

ขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) จัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae (Fabaceae) เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงกลาง ลำต้นเป็นปุ่ม ใบประกอบย่อยคู่ ใบย่อยรูปขอบขนาน ด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขนนุ่ม ดอกช่อสีเหลืองอยู่ปลายกิ่ง ผลเป็นฝักแบนยาวขนเกลี้ยงเป็นร่องมีสีคล้ำ เมล็ดรูปไข่ ยาวแบนสีน้ำตาลอ่อน เรียงตัว

ตามแนวขวาง⁷ ในประเทศไทยขี้เหล็กจัดเป็นพืชที่พบได้ง่ายในท้องถิ่น โดยทั่วไปนิยมนำส่วนต่าง ๆ ของขี้เหล็กมาประกอบอาหาร และใช้ในการรักษาโรคต่างๆ เนื่องจากมีความปลอดภัย อีกทั้งไม่มีความเป็นพิษทั้งในระยะสั้นและระยะยาว ซึ่งกระทรวงสาธารณสุขได้จัดขี้เหล็กอยู่ในกลุ่มของสมุนไพรสาธารณสุขมูลฐาน โดยมุ่งเน้นให้ประชาชนได้ใช้ประโยชน์จากพืชที่เป็นได้ทั้งอาหารและยาไปพร้อม ๆ กัน จากการศึกษาสารพฤกษเคมีของขี้เหล็กพบสารหลายกลุ่ม เช่น แอลคาลอยด์ (alkaloids) โพลีฟีนอล (polyphenol) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ไตรเทอพีน ไกลโคไซด์ (triterpenes glycoside) คาโรทีนอยด์ (carotenoids) แทนนิน (tannins) และซาโปนิน (saponins) เป็นต้น โดยเฉพาะสารกลุ่มแอลคาลอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบหลักจะพบสารในกลุ่มโครโมนแอลคาลอยด์ ชนิด cassiarin A และ cassiarin B สารในกลุ่มสารโครโมน ชนิด anhydrobarakol นอกจากนั้นพบสารในกลุ่มของ anthraquinones, bianthraquinones และ bichromones เป็นต้น⁸ โดยสารกลุ่มดังกล่าวสามารถแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย เช่น รักษาโรคมะเร็ง อาการไข้ แก้อาการท้องผูก ลดความดันโลหิตสูง อีกทั้งสามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้อีกด้วย⁹ การนำส่วนของขี้เหล็กมาใช้ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด เช่น การศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์จากใบขี้เหล็ก จากนั้นให้หนูทดลองที่เป็นเบาหวานกินสารสกัด พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูปกติ¹⁰ อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวไม่ได้ระบุกลไกการลดระดับน้ำตาลในหนูทดลอง ทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาส่วนสกัดเมทานอลของดอกและใบขี้เหล็กที่มีฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลโดยผ่านการยับยั้งไดเปปทิติว เพปติเดส และแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู

(มอลโทส และซูโครส) ศึกษาการดูดซับ และการแพร่ ของกลูโคสในหลอดทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการ จับน้ำตาลที่หลงเหลือจากกระบวนการย่อยที่ลำไส้เล็ก ลดอัตราการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสในร่างกาย อีกทั้ง ทดสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น เพื่อเป็นข้อมูลสู่การ ศึกษาวิจัยต่อไป นำไปสู่การพัฒนาและส่งเสริมการ บริโภคชีเห็ด เพิ่มคุณค่าของการเป็นทั้งอาหารและยา เพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นตัวยาค่อยต่อไป

วิธีการศึกษา (Method)

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษา

เมทานอล (Methanol), ปีโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) สั่งซื้อจาก RCI Labscan, เอนไซม์ DPP-IV, แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของ หนู (Rat intestinal acetone power), Gly-pro-p-nitroanilide (GPPN) วิลดากลิปทิน (Vildagliptin), อะคาร์โบส (Acarbose) สั่งซื้อจาก Sigma สหรัฐอเมริกา, เจลาติน (Gelatin), ไตรคลอโรมีเทน (trichloromethane), กรดไฮโดรคลอริก (HCl), เฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3) ทรिसไฮโดรคลอไรด์ (Tris-HCl), กรดอะซิติก (acetic acid), ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO), มอลโทส (maltose), ซูโครส (Sucrose), โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4), ไดโซเดียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4), ถุงไตอะไลซิส (Dialysis tube), โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) สั่งซื้อจาก บริษัท A&A reagent ประเทศไทย, Glucose-kit (Human) สั่งซื้อจาก บริษัท S.E. Supply ประเทศไทย

การเตรียมส่วนสกัดหยาดจากดอกและใบชีเห็ด

ดอกและใบชีเห็ด เก็บมาจาก อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง เมื่อวันที่ 19 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 ทำ ความสะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างพืช มาบดให้ละเอียดจำนวน 800 กรัม แช่แบบหมัก

(maceration) ด้วยตัวทำละลายเมทานอล ด้วย ปริมาตร 3 ลิตร แช่เป็นเวลา 3 วัน และสกัด 3 ครั้ง จะได้เป็นส่วนสกัดหยาดออกมา นำส่วนสกัดหยาดมา กรองด้วยผ้าขาวบาง และกรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหย สุญญากาศ (rotary evaporator) เก็บส่วนสกัดไว้ใน ขวดสีชา เพื่อป้องกันไม่ให้ถูกแสงและเก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทดสอบ ต่อไป

การตรวจสอบพิษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบพิษเคมีเบื้องต้นดัดแปลงวิธีมา จาก Iqbal¹¹ ของส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบ ศึกษาถึงสาร 6 กลุ่ม ได้แก่ แทนนิน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ ซาโปนิน และ สารประกอบฟีนอลิก โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะให้สี และตะกอน

การตรวจสอบแทนนิน

เตรียมส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร อุ่นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กรองส่วนสกัด แล้วนำไปทดสอบกับ สารละลายเจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ ผลบวกจะเกิด ตะกอนขาวขุ่น

การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์

เตรียมส่วนสกัด 0.5 กรัม สกัดด้วยปีโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) โดยใช้ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จำนวน 2-3 ครั้ง เดิมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร ค่อยๆ เหย้า แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ($\text{conc. H}_2\text{SO}_4$) ผลบวกให้สีน้ำตาลระหว่างรอยต่อของสารละลาย

การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

เตรียมส่วนสกัด 0.5 กรัมละลายใน 50 เปอร์เซ็นต์เมทานอล (50% $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 3 มิลลิลิตร ใส่ ลวดแมกนีเซียม (Mg) 3-4 ชิ้นแล้วหยดกรดไฮโดรคลอริก (conc. HCl) จำนวน 3 หยด ผลบวกให้สารละลาย

สีแดง เหลือง หรือส้ม

การตรวจสอบแอลคาลอยด์

เตรียมส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายในสารละลาย 2 เปอร์เซ็นต์กรดไฮโดรคลอริก (2 % HCl) จำนวน 15 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 20 นาที ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองส่วนสกัด แล้วหยดด้วยน้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) ผลบวกจะปรากฏสีส้มแดง

การตรวจสอบซาโปนิน

เตรียมส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำเดือดจำนวน 5 มิลลิลิตร ตั้งให้เย็นทิ้งไว้ 5 นาที เขย่าสารละลาย ผลบวกจะเกิดฟองคล้ายกับสบู่

การตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิก

ชั่งส่วนสกัด 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น จำนวน 5 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กรองส่วนสกัด แล้วหยดด้วยสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3) จำนวน 2-3 หยด ผลบวกจะให้สีเขียว ดำ หรือน้ำเงินดำ

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไดเปปทิเดส เปปทิเดส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง DPP-IV ดัดแปลงจากการศึกษาของ Al-Masri ¹² เตรียมส่วนสกัดเมทานอลของดอกและใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น (0.5, 1, 1.5, 2 และ 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่ละลายในสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ จำนวน 10 ไมโครลิตร เติมสารละลายเอนไซม์ Dipeptidyl Peptidase IV (DPP-IV) มีค่าความจำเพาะ (specific activity) เท่ากับ 0.05 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ในสารละลายทริสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 7.5 จำนวน 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมซับสเตรต โดยใช้ gly-pro-p-nitroanilide (GPPN) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายทริสบัฟเฟอร์ จำนวน 100 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30

นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 25 เปอร์เซ็นต์กรดอะซิติก จำนวน 30 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร โดยใช้วิลดากลิปทิน (Vildagliptin) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยใช้สูตรที่กล่าวข้างต้น และการคำนวณ IC_{50} ของการยับยั้ง โดยใช้โปรแกรม Graph Pad Prism 6.05

$$\% \text{ inhibition} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู ดัดแปลงจากการศึกษาของ Damsud ¹³ โดยเตรียมจากเอนไซม์อย่างหยาบ (Rat intestinal acetone power Sigma-Aldrich. (St. Louis, MO, USA)) ที่ประกอบด้วยมอลโทส และซูโครส มีค่าความจำเพาะ (specific activity) เท่ากับ 0.09 และ 0.45 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ เตรียมเอนไซม์อย่างหยาบจำนวน 1 กรัม ละลายด้วย 0.9% NaCl จำนวน 30 มิลลิลิตร สกัดสารละลายเอนไซม์โดยใช้เครื่องสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก (sonicator) เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที แล้วดูดสารละลายส่วนบนเก็บแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่านำมาวิเคราะห์ เตรียมส่วนสกัดเมทานอลของดอกและใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น (0.5, 1, 1.5, 2 และ 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่ละลายในสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ จำนวน 10 ไมโครลิตร เติมสารละลายเอนไซม์ 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมซับสเตรตโดยใช้ มอลโทส ความเข้มข้น 0.58 มิลลิโมลาร์ และ ซูโครส ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่ละลายใน

สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.9 จำนวน 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที วัดความเข้มข้นของกลูโคส โดยการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส glucose-kit (Human) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้อะคาร์โบส (Acarbose) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยใช้สูตรดังที่กล่าวในหัวข้อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไดเปปติดีว เพปติเดส IV และค่า IC₅₀ ของการยับยั้ง โดยใช้โปรแกรม Graph Pad Prism 6.05

การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับกลูโคส

การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับกลูโคสจากส่วนสกัดเมทานอลดอกและใบขี้เหล็ก ดัดแปลงจากการศึกษาของ Ou¹⁴ โดยเตรียมส่วนสกัด จำนวน 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 10-100 มิลลิโมลาร์ จำนวน 20 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มในอ่างแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากการบ่ม นำส่วนที่เกิดปฏิกิริยาไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,800 rpm เป็นเวลา 20 นาที และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม จากนั้นวัดปริมาณกลูโคสคงค้าง (residual glucose) โดยใช้ glucose-kit (Human) คำนวณโดยใช้สูตรดังสมการ

$$\text{ปริมาณกลูโคสคงค้าง} = [(G1-G6)/\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}] \times \text{ปริมาตรของกลูโคส}$$

เมื่อ G1 คือ ค่าความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้น

G6 คือ ค่าความเข้มข้นของกลูโคสหลัง 6 ชั่วโมง

การศึกษาการแพร่ของกลูโคส

การศึกษาการแพร่ของกลูโคสจากส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบขี้เหล็ก ศึกษาโดยวิธีการแพร่ผ่าน

ถุงไดอะไลซิส (dialysis model) ดัดแปลงจากการศึกษาของ Edwards¹⁵ โดยการเตรียมส่วนสกัดเมทานอล 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร และ สารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ในโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตร ในถุงไดอะไลซิส (12,000 MW) จากนั้นนำถุงไดอะไลซิส บรรจุลงในบีกเกอร์ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ จำนวน 45 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม วิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที จากนั้นวัดปริมาณกลูโคสโดยใช้ glucose-kit (Human)

สถิติที่ใช้ในการศึกษา

ค่าข้อมูลของค่า IC₅₀ วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม Graph Pad Prism 6.05 (Graph Pad Software ประเทศสหรัฐอเมริกา) ของการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง DPP-IV การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิλάสเอนไซม์ของหนู การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับกลูโคส และ การศึกษาการแพร่ของกลูโคสแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทดลองจำนวน 3 ครั้ง

ผลการศึกษา (Results)

การตรวจสอบพิษเฉียบพลัน

การศึกษาการสกัดจากดอกและใบขี้เหล็ก โดยการใช้ตัวทำละลายเมทานอล จากนั้นนำส่วนสกัดไปทดสอบพิษเฉียบพลัน ซึ่งศึกษาสารทั้งหมด 6 กลุ่ม ได้แก่ แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ ซาโปนิน และสารประกอบฟีนอลิก ดังแสดงรายละเอียดตามตารางที่ 1 โดยส่วนสกัดดอกพบสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก ในขณะที่ส่วนสกัดใบพบสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์

ตารางที่ 1 การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นจากส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบขี้เหล็ก

สารพิษเคมี	ส่วนสกัดดอก	ส่วนสกัดใบ
แทนนิน	-	-
เทอร์ปีนอยด์	-	-
ฟลาโวนอยด์	+	+
แอลคาลอยด์	+	+
ซาโปนิน	-	-
สารประกอบฟีนอลิก	+	-

หมายเหตุ - หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ, + หมายถึง ตรวจสอบพบ

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง DPP-IV

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง DPP-IV โดยใช้ความเข้มข้นของส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 และ 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าทุกส่วนสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งไดเปปทิดิว เพปติเดส IV โดยส่วนสกัดใบมีประสิทธิภาพการ

ยับยั้งดีที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีฤทธิ์เทียบเท่ากับยาวิลดากลิปทิน ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.32 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองมาคือส่วนสกัดดอกที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 4.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เพอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPP-IV จากส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบขี้เหล็ก และวิลดากลิปทิน

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง	IC_{50} (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
ส่วนสกัดดอก	0.1	2.66±1.55	4.15
	0.25	13.03±2.47	
	0.5	26.69±2.72	
	0.75	45.47±4.35	
	5	68.02±3.09	
ส่วนสกัดใบ	0.1	34.27±3.23	0.40
	0.25	48.76±1.66	
	0.5	54.65±3.10	
	0.75	64.18±2.61	
	5	74.95±3.51	
วิลดากลิปทิน	0.065	19.72±0.12	0.32
	0.125	36.65±0.51	
	0.25	58.61±1.08	
	0.50	67.87±1.61	
	1.00	87.21±0.81	

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูที่ประกอบด้วยมอลเทส และ ซูเครส โดยการใช้มอลโทสและซูเครสเป็นซับสเตรต ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5, 2 และ 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

พบว่าส่วนสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู โดยส่วนสกัดของใบมีประสิทธิภาพการยับยั้งสูงที่สุดทั้งมอลเทส และซูเครส ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 3.77 และ 3.64 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ รองมาคือส่วนสกัดดอก ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 10.05 และ 9.70 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

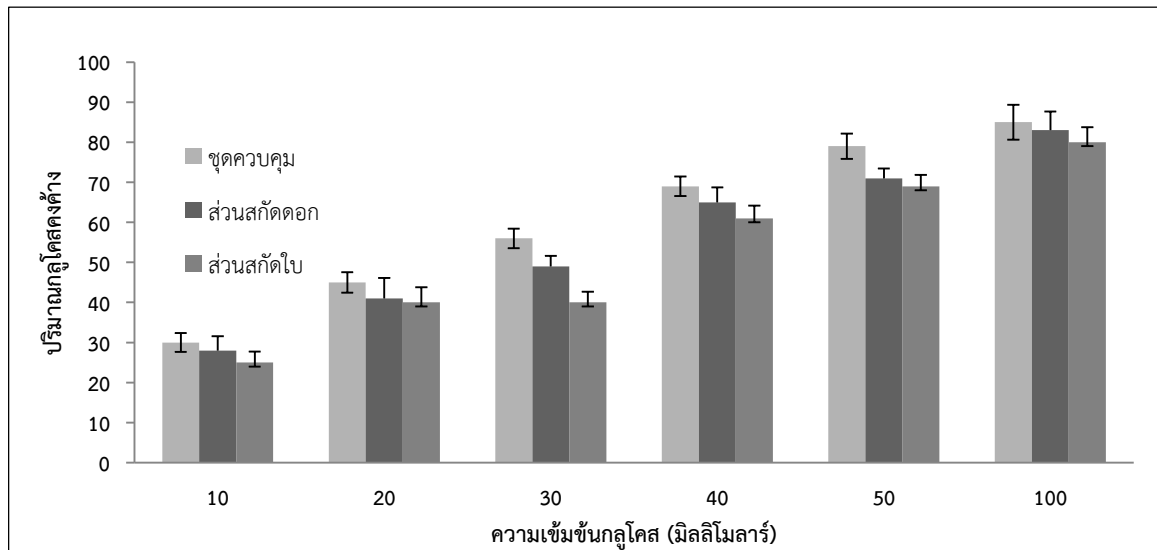
ตารางที่ 3 เพอร์เซ็นต์การยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูจากส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบชี้หลัก และอะคาร์โบส

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	มอลเทส		ซูเครส	
		เปอร์เซ็นต์ การยับยั้ง	IC_{50} (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์ การยับยั้ง	IC_{50} (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)
ส่วนสกัดดอก	0.5	0.57±0.13	10.05	0.55±0.32	9.70
	1	1.92±0.55		1.41±0.17	
	1.5	8.62±1.47		8.35±2.36	
	2	14.55±3.55		14.19±2.62	
	5	23.19±1.95		23.96±2.92	
ส่วนสกัดใบ	0.5	0.55±0.12	3.77	1.61±0.07	3.64
	1	2.26±0.23		2.55±0.28	
	1.5	18.66±1.54		25.28±4.42	
	2	34.62±3.66		44.55±3.55	
	5	64.85±1.53		63.19±1.95	
อะคาร์โบส	0.05	1.58±0.10	0.36	0.62±0.22	0.97
	0.1	2.41±0.08		1.70±0.29	
	0.15	25.36±4.29		9.28±0.62	
	0.2	44.67±3.52		15.59±0.54	
	0.5	63.55±2.11		23.99±2.89	

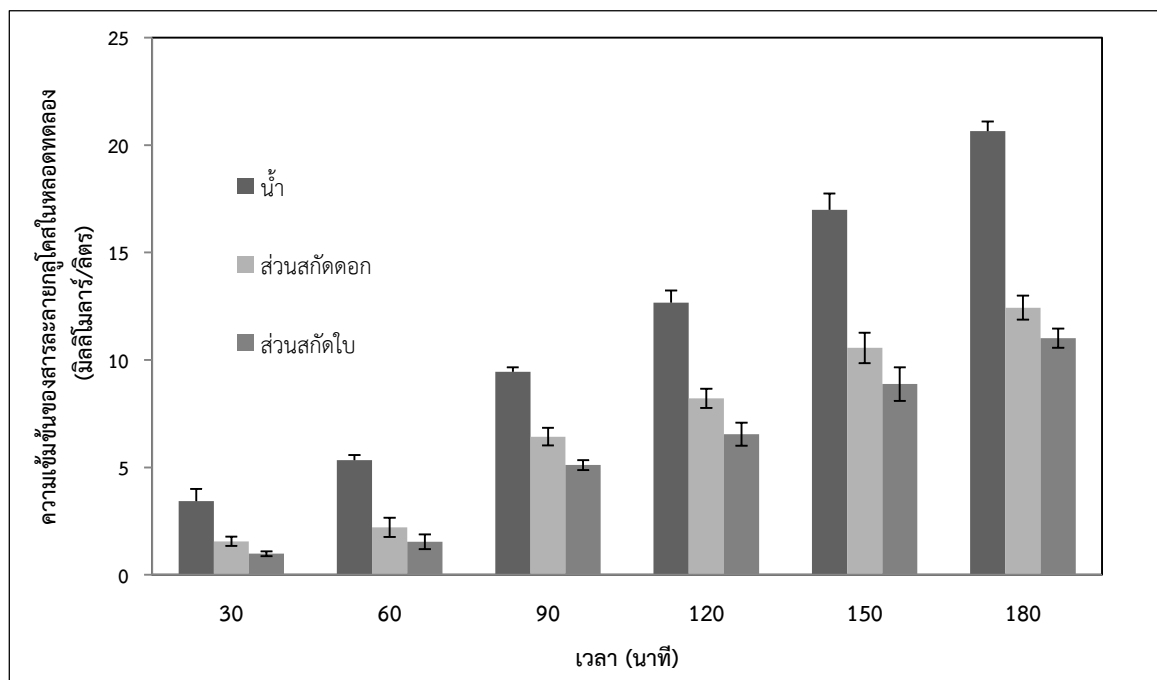
การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับกลูโคส

การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับกลูโคสศึกษาโดยการบ่มส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบชี้หลักกับบ่มกับสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 10-100 มิลลิ

โมลาร์ จากนั้นวัดปริมาณกลูโคสคงค้าง (residual glucose) พบว่าส่วนสกัดใบมีประสิทธิภาพการดูดซับกลูโคส มากกว่าส่วนสกัดดอกเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ประสิทธิภาพการดูดซับกลูโคสจากส่วนสกัดเมทานอลของดอก และใบชี้หลัก



รูปที่ 2 การแพร่ของกลูโคสจากส่วนสกัดเมทานอลของดอก และใบชี้หลัก

การศึกษาการแพร่ของกลูโคส

การศึกษาการแพร่ของกลูโคส ใช้วิธีการแพร่ผ่านถุงไดอะไลซิส (dialysis model) วิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที หลังจากเวลา 3 ชั่วโมง พบความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสของตัวควบคุม 20.65 ± 0.45 มิลลิโมลาร์ จากการศึกษาใช้ส่วนสกัดของดอกและใบที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าทุกส่วนสกัดมีประสิทธิภาพการยับยั้งการแพร่ของกลูโคสในหลอดทดลอง (รูปที่ 2)

อภิปรายผล (Discussion)

จากการศึกษาส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบขี้เหล็ก และเมื่อนำส่วนสกัดไปทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น ในส่วนของดอกพบสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของดอกขี้เหล็ก ที่ใช้ตัวทำละลายเมทานอลในการสกัดพบสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ชนิด rutin, myricetin, quercetin และ kaempferol¹⁶ ในส่วนของสารกลุ่มแอลคาลอยด์ จะพบสาร cassiadine¹⁷ และส่วนของสารประกอบฟีนอลิก พบสารหลายชนิด เช่น gallic acid, protocatechuic, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid และ sinapic acid เป็นต้น¹⁶ ในขณะที่ส่วนสกัดใบพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ โดยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ จะพบลักษณะเดียวกับที่พบส่วนของดอก และสารแอลคาลอยด์พบในกลุ่มโครโมแอลคาลอยด์ ชนิด cassiarin A และ cassiarin B¹⁸ และพบอีกว่าสารที่เป็นองค์ประกอบหลักที่ได้จากใบที่สกัดด้วยเมทานอลจะเป็นสารในกลุ่มสารโครโมน ชนิด anhydrobarakol นอกจากนั้นพบสารในกลุ่มของ anthraquinones, bianthraquinones

และ bichromones เป็นต้น¹⁹ จากการตรวจวิเคราะห์พืชเคมีเห็นได้ว่าสารที่พบในดอกและใบของขี้เหล็กนั้น จะประกอบด้วยสารหลายชนิด บางชนิดสามารถวิเคราะห์กลุ่มสารได้ในเบื้องต้น และมีอีกหลายชนิดที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ โดยจะต้องผ่านกระบวนการแยกให้มีความบริสุทธิ์พร้อมทั้งพิสูจน์โครงสร้างต่อไป จากการศึกษาสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในส่วนต่าง ๆ ของขี้เหล็กนั้น พบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น สามารถรักษาโรคมะเร็ง มะเร็งด้านการอักเสบ ช่วยในการผ่อนคลาย อีกทั้งสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานได้อีกด้วย

การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้ง DPP-IV เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการรักษาเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งการยับยั้ง DPP-IV มีผลทำให้ระดับฮอร์โมนกลุ่ม incretin 2 ชนิด คือ GLP-1 และ GIP เพิ่มขึ้นในกระแสเลือด ฮอร์โมนกลุ่ม incretin มีหน้าที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด โดยเพิ่มการหลั่งอินซูลินจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อน และลดการหลั่งกลูคากอนจากแอลฟาเซลล์ของตับอ่อน แต่ฤทธิ์ดังกล่าวจะไม่ปรากฏหากระดับน้ำตาลในเลือดลดต่ำลง การไปยับยั้ง DPP-IV จะไปเพิ่มให้ GLP-1 และ GIP มีการทำงานที่ยาวนานขึ้น เพื่อให้มีระดับของอินซูลินในกระแสเลือด นำไปสู่การนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์⁴ จากส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบขี้เหล็กพบว่าทุกส่วนสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้ง DPP-IV โดยส่วนสกัดใบมีประสิทธิภาพการยับยั้งดีที่สุดและมีฤทธิ์เทียบเท่ากับยาวิลาโดลีน ดังค่า IC_{50} ในตารางที่ 2 ส่วนของดอกและใบนั้นมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันจึงส่งผลต่อฤทธิ์การยับยั้งที่แตกต่างกัน ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบนั้นจะเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และ โครโมน มีรายงานการศึกษาถึงประสิทธิภาพสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ประเภท ฟลาโวนอล (flavonol) เช่น

quercetin และ kaempferol ที่พบในดอกและใบ
ขี้เหล็ก มีประสิทธิภาพการยับยั้ง DPP-IV ที่ IC_{50}
เท่ากับ 21.75 ± 5.81 และ 45.93 ± 5.81 ไมโครกรัมต่อ
มิลลิกรัม ตามลำดับ และยังมีภาวะวิเคราะห์ถึงจำนวน
หมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) บนโครงสร้าง
ของฟลาโวนอยด์ พบว่าจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลมี
ปัจจัยต่อฤทธิ์การยับยั้ง DPP-IV ที่สูงขึ้น²⁰ อาจ
สอดคล้องกับส่วนสกัดเมทานอลของ ดอกและใบ ซึ่ง
ส่วนใหญ่เป็นสารที่มีขั้วสูง ที่แสดงศักยภาพการยับยั้ง
ที่ดี นอกจากนี้ยังพบว่าสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และส
ทิลบินอยด์ก็สามารถยับยั้ง DPP-IV ได้เช่นกัน²¹

การควบคุมระดับน้ำตาลอีกวิธีหนึ่งที่ศึกษาถึงการ
ยับยั้งการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตในระบบย่อยอาหาร
บริเวณลำไส้ คือการยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิ
เดส เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการลดระดับน้ำตาลใน
กระแสเลือดหลังมื้ออาหารที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้น
การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาการยับยั้งแอลฟา
ไกลูโคซิเดสที่มาจากลำไส้เล็กของหนูซึ่งเป็นสารสกัด
หยาบเอนไซม์ (crude enzyme) ที่ประกอบด้วย
มอลเทส และซูเครส โดยมีกลไกการทำงานคล้ายกับ
การทำงานในร่างกายของมนุษย์ พบว่าส่วนสกัดเมทา
นอลของใบมีศักยภาพสูงที่สุดในการยับยั้ง รองลงมา
คือส่วนสกัดดอก โดยทั้งสองส่วนสกัดมีประสิทธิภาพ
ในซูเครสมากกว่ามอลเทส และมีฤทธิ์การยับยั้ง
เทียบเท่ายาอะคาร์โบส ดังค่า IC_{50} ในตารางที่ 3
การศึกษาสารออกฤทธิ์จาก พืช สมุนไพร พบว่ามีสาร
หลายกลุ่มที่มีศักยภาพในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส
แต่ประสิทธิภาพการยับยั้งจะแตกต่างกันออกไป ทั้ง
ชนิดของสาร และประเภทของเอนไซม์ มีการศึกษา
สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารกลุ่มแอลคาลอยด์ และ
สารประกอบฟีนอลิก โดยกลุ่มสารดังกล่าวมี
ประสิทธิภาพการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสทั้งจากยีสต์
(Baker's yeast) และลำไส้เล็กของหนู ทั้งชนิดมอล

เทส และซูเครส และสามารถพบได้ทั้งในส่วนของดอก
และใบขี้เหล็กเช่นกัน เช่นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มาก
ถึง 103 ชนิด ได้แก่ กลุ่มของ xanthones,
flavanones, flavans, anthocyanins และ chalcones
ตัวอย่างสารที่พบในดอกและใบขี้เหล็กเช่น rutin,
myricetin, quercetin และ kaempferol ตัวอย่าง
การศึกษา quercetin พบว่ามีประสิทธิภาพในการ
ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากยีสต์ และลำไส้เล็กของหนู
ชนิดซูเครส โดยมีค่า ค่า IC_{50} เท่ากับ 8.86 และ 216
ไมโครโมล/มิลลิลิตร ตามลำดับ อีกทั้งมีการศึกษา
รูปแบบการเข้าจับกับเอนไซม์ทั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสทั้ง
จากยีสต์ (Baker's yeast) และลำไส้เล็กของหนู ทั้ง
ชนิดมอลเทส และซูเครส นอกจากนี้ยังพบ
สารประกอบฟีนอลิก และแอลคาลอยด์ ที่มี
ประสิทธิภาพการยับยั้งได้เช่นเดียวกัน²²

การศึกษาการดูดซับและการแพร่ของกลูโคส เป็น
การศึกษาถึงสภาวะกลูโคสโฮมีโอสเตซิส (Glucose-
homeostasis) ที่เกิดขึ้นในบริเวณลำไส้เล็ก โดย
การศึกษาถึงความสามารถของส่วนสกัดในการดูดซับ
และการแพร่โดยการใช้วิธีแพร่ผ่านถุงไดอะไลซิส ซึ่ง
เป็นการศึกษาการแพร่แบบฟาซิลิเทต (facilitated
diffusion) ต่อโครงสร้างของกลูโคสที่เกิดขึ้นหลังจาก
กระบวนการย่อยของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร
ซึ่งจะพบกลูโคสอิสระมากในลำไส้เล็กก่อนที่จะเข้าสู่
มีการดูดซึมไปตามกระแสเลือดเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่ง
พลังงานต่อไป จากการศึกษาการดูดซับและการแพร่
ของกลูโคส พบว่าส่วนสกัดใบมีประสิทธิภาพการดูด
ซับกลูโคส มากกว่าส่วนสกัดดอกเมื่อเปรียบเทียบกับ
ตัวควบคุม จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าพืชที่มี
ความสามารถในการดูดซับและส่งผลให้การแพร่ของ
กลูโคสช้าลง จะเป็นพืชที่มีโครงสร้างที่เป็น
องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่แยกได้จาก กัม
(gum), เทียนเกล็ดหอย (Psyllium Husk) และข้าว

โอ๊ต (oats) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble) โดยกลูโคสจะถูกกักเก็บอยู่ภายในโครงสร้างของเส้นใย²³ แต่ในส่วนสกัดเมทานอล ของดอกและใบ น่าจะไม่ใช่สารที่มีโครงสร้างเป็นเส้นใย ชนิดโพลีแซคคาไรด์เหมือนกับที่พบในงานวิจัยก่อนหน้านี้ และการที่ส่วนสกัดดังกล่าวสามารถดูดซับและควบคุมการแพร่ของกลูโคสได้นั้น อาจเกิดจากโครงสร้างของกลูโคสเกิดปฏิกิริยา หรืออาจเกิดปฏิสัมพันธ์ต่าง ๆ กับสารที่อยู่ในส่วนสกัดเมทานอล เช่น ฟลาโวนอยด์ หรือสารประกอบฟีนอลิก แล้วส่งผลให้โครงสร้างของกลูโคสมีการเปลี่ยนแปลงไป อาจนำไปสู่การดูดซึมของกลูโคสที่ช้าลง

จากผลวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดเมทานอลของดอกและใบข้า้เหล็ก พบสารพฤษเคมีหลายกลุ่ม อีกทั้งมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์แบบหลากหลาย (multi-function) ที่มีผลต่อฤทธิ์การยับยั้ง DPP-IV แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู ทั้งมอลเทส และซูเครส รวมทั้งความสามารถในการดูดซับ และชะลอการแพร่ของกลูโคสในหลอดทดลอง แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น ซึ่งจะต้องมีการแยก และพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ รวมทั้งศึกษากลไกการยับยั้ง เพื่อเป็นข้อมูลที่ใช้สนับสนุนการวิจัยและพัฒนา สู่การเป็นยารักษาโรคเบาหวาน เพื่อใช้เป็นตัวเลือกในการรักษา และใช้ป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนของผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ต่อไปในอนาคต

บทสรุป (Conclusion)

ส่วนสกัดเมทานอลของดอกข้า้เหล็กพบสารพฤษเคมี 3 ชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก ในขณะที่ส่วนสกัดเมทานอลของใบพบสารพฤษเคมี 2 ชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ ซึ่งสารดังกล่าวคือกลุ่มสารที่มีผลต่อการ

ยับยั้ง DPP-IV แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู ทั้งมอลเทส และซูเครส ทั้งความสามารถในการดูดซับ และชะลอการแพร่ของกลูโคสในหลอดทดลอง โดยสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ที่มีการศึกษาการนำข้า้เหล็กไปใช้ลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือด แต่การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น ทั้งชนิดกลุ่มของสารออกฤทธิ์และฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในหลอดทดลอง จึงต้องมีการศึกษาในสัตว์ทดลองจนนำไปสู่การพัฒนาเป็นพืชทางเลือก และตัวยาในการรักษาโรคเบาหวานต่อไป

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณรายได้ ปีงบประมาณ 2561 จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย (วิทยาเขตนครศรีธรรมราช)

เอกสารอ้างอิง

1. Acharjee S, Ghosh B, Al-Dhubiab BE, Nair AB. (2013). Understanding type 1 diabetes: etiology and models. *Can J Diabetes*. 2013;37(4):269-276. doi:10.1016/j.cjcd.2013.05.001
2. Lopez-Candales, A. (2001). Metabolic syndrome X: a comprehensive review of the pathophysiology and recommended therapy. *J Med*. 2011;32(5-6):283-300. doi:10.1155/2014/943162
3. Perfetti R, Barnett PS, Mathur R, Egan JM. Novel therapeutic strategies for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Rev*. 1998;14(3):207-225. doi: 10.1002/(sici)1099-0895(199809)14:3<207::aid-dmr214>3.0.co;2-j

4. Singh AK. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: Novel mechanism of actions. *Indian J Endocrinol Metab.* 2014;18(6):753-759. doi:10.4103/2230-8210.141319
5. Franco OL, Rigden DJ, Melo FR, Grossi-De-Sa MF. Plant alpha-amylase inhibitors and their interaction with insect alpha-amylases. *Eur J Biochem.* 2002;269(2):397-412. doi:10.1046/j.0014-2956.2001.02656.x
6. Rengasamy KR, Aderogba MA, Amoo SO, Stirk WA, Van Staden J. Potential antiradical and alpha-glucosidase inhibitors from *Ecklonia maxima* (Osbeck) Papenfuss. *Food Chem.* 2013;141(2):1412-1415. doi:10.1016/j.foodchem.2013.04.019
7. Jensen M. Trees Commonly Cultivated in Southeast Asia-an illustrated field guide. FAO, Bangkok, Thailand; 1995:38-93. <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/005/ac775e/AC775E00.pdf>
8. Kamagate M, Camille K, Mathieu K, Akoubet A, Yao A, Die-Kakou HM. Ethnobotany, phytochemistry, pharmacology, and toxicology profiles of *Cassia siamea* Lam. *J Phytopharmacol.* 2014;3:57-76. doi:10.2174/2210315507666170509125800
9. Ravi KJ, Ganga RB, Lakshmi NM, Mallikarjun RT. Evaluation of antidiabetic activity of *Cassia siamea* leaves in alloxan induced diabetic rats. *Int J Phytopharm.* 2013;4:237-240. doi:10.3923/crcpaj.2012.10.17
10. Kumar S, Kumar V, Prakash O. Antidiabetic and anti-lipemic effects of *Cassia siamea* leaves extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Med.* 2010;3:871-873. doi:10.1016/S1995-7645(10)60209-X
11. Iqbal E, Kamariah AS, Lim L. Phytochemical screening, Total phenolics and Antioxidant Activities of Bark and Leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *J King Saud Univ Sci.* 2015;27:224-232. doi:10.1016/j.jksus.2015.02.003
12. Al-Masri IM, Mohammad MK, MO Tahaa. Inhibition of dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) is one of the mechanisms explaining the hypoglycemic effect of berberine. *J Enzym Inhib Med Chem.* 2009;24:1061-1066. doi:10.1080/14756360802610761
13. Damsud T, Adisakwattana S, Phuwapraisirisan P. Three new phenylpropanoyl amides from the leaves of *Piper sarmentosum* and their α -glucosidase inhibitory activities. *Phytochem Lett.* 2013;6(3):350-354. doi:10.1016/j.phytol.2013.04.001
14. Ou S, Kwok K, Li Y, Fu L. In vitro study of possible role dietary fibre in lowering postprandial serum glucose. *J Agric Food Chem.* 2001;49(2):1026-1029. doi:10.1021/jf000574n
15. Edwards CA, Johnson IT, Read NW. Do viscous polysaccharides slow absorption by inhibiting diffusion or convection? *Eur J Clin Nutr.* 1988;42(4):307-312. doi:10.1590/S0100-879X1997001200009
16. Onanong K, Sirithon S, Natthida W, Naret M. Phenolic compound and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *J Funct Foods.* 2011;3(2):88-99. doi:10.1016/j.jff.2011.03.002
17. Shahriar K, Robin JM. Chromone and Flavonoid Alkaloids: Occurrence and Bioactivity. *MOLECULES.* 2012;17(1):191-206. doi:10.3390/molecules17010191

18. Morita H, Oshimi S, Hirasawa Y, Koyama K, Honda T, Ekasari W, Indrayanto GC. Cassiarins A and B, novel antiplasmodial alkaloids from *Cassia siamea*. *Org Lett*. 2007;9(18):3691-3693. doi:10.1021/ol701623n
19. Padumanonda T, Suntornsuk L, Gritsanapan W. A quantitative analysis of barakol content in *Senna siamea* leaves and flowers by CCM-densitometry. *Med Princ Pract*. 2007;16(1):47-52. doi:10.1159/000096140
20. Sarian MN, Ahmed QU, Mat So'ad SZ, et al. Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study. Chevalot I, ed. *BioMed Research International*. 2017;2017:8386065. doi:10.1155/2017/8386065
21. Kumar S, Krishnan S, Kumar A, Kishore K, Murari K, Kumar B, et al. Antihyperglycemic activity with DPP-IV inhibition of alkaloids from seed extract of *Castanospermum australe*: Investigation by experimental validation and molecular docking. *Asian Pac J Trop Med*. 2012;20(1):24-31. doi:10.1016/S1995-7645(10)60209-X
22. Yin Z, Zhang W, Feng F, Zhang Y, Kang W. α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*. 2014;3(3-4):136-174. doi:10.1016/j.fshw.2014.11.003

สัญญาอนุญาต ไฟล์ข้อมูลเสริม และ ลิขสิทธิ์

บทความนี้เผยแพร่ในรูปแบบของบทความแบบเปิดและสามารถเข้าถึงได้อย่างเสรี (open-access) ภายใต้เงื่อนไขของสัญญาอนุญาตครีเอทีฟคอมมอนส์สากล ในรูปแบบที่ ต้องอ้างอิงแหล่งที่มา ห้ามใช้เพื่อการค้า และห้ามแก้ไขดัดแปลง เวอร์ชัน 4.0 (CC BY NC ND 4.0) ท่านสามารถ

แจกจ่ายและนำบทความไปใช้ประโยชน์เพื่อการศึกษาได้ แต่ต้องระบุการอ้างอิงถึงบทความนี้จากเว็บไซต์วารสารวิชาการราชวิทยาลัยจุฬาภรณ์ โดยการระบุข้อมูลบทความและลิงก์ URL บนเอกสารอ้างอิงของท่าน ท่านไม่สามารถนำบทความไปใช้เพื่อการพาณิชย์ใด ๆ ได้เว้นแต่ได้รับอนุญาตจากบรรณาธิการวารสารวิชาการราชวิทยาลัยจุฬาภรณ์ และกรณีการนำบทความไปเรียบเรียงใหม่ เปลี่ยนแปลงเนื้อหา หรือเสริมเติมแต่งเนื้อหาของบทความนี้ ท่านไม่สามารถนำบทความที่ปรับแต่งไปเผยแพร่ได้ในทุกกรณี

หากมีวัสดุเอกสารข้อมูลวิจัยเสริมเพิ่มเติมใด ๆ ที่ใช้อ้างอิงในบทความ ท่านสามารถเข้าถึงได้บนหน้าเว็บไซต์ของวารสาร

บทความนี้เป็นลิขสิทธิ์ของราชวิทยาลัยจุฬาภรณ์ (Chulabhorn Royal Academy) พ.ศ.2563

การอ้างอิง

Damsud T, Penprapai P, Rongsawat PR. Effect of in vitro Anti-diabetic Activity of *Cassia siamea* Flowers and Leaves Extract. *J Chulabhorn Royal Acad* 2020;2(1):36-49. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/225064>

ธนาภรณ์ คำสุด, เพ็ญศรีรี เพ็ญประไพ, เปรมจิต ร่องสวัสดิ์. ผลของส่วนสกัดดอกและใบพืชเห็กต่อการลดน้ำตาลในเลือดแบบ in Vitro. *วารสารวิชาการราชวิทยาลัยจุฬาภรณ์* 2563;2(1):36-49. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/225064>

Online Access

<https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/225064>

