

นิพนธ์ต้นฉบับ

**การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัด
สมุนไพรรพีบ้านในจังหวัดสกลนคร**

**ทัศนิกา แก้วสูงเนิน^{1*} ฉัตรชนก นุกุลกิจ¹ เพ็ญศิริ จันท์แอ¹ ภานิชา พงศ์นราทร¹
นฤวัตร ภัคดี¹ พิเชษฐ เวชวิฐาน¹ ศรัณย์ ฉวีรักษ์² อนรรฆอร จิตต์เจริญธรรม¹
ภาววินี ณะแดนนอก¹ และฉัตรลดา หงษ์วิสัย¹**

¹มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

²คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: Thanthika.ksn@gmail.com

Received date: May 19, 2020; Revised date: September 28, 2020; Accepted date: March 5, 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส โดยใช้สารสกัดจากสมุนไพรรพีบ้านที่มีบันทึกข้อมูลการใช้รักษาโรคเบาหวานทั้งหมด 8 ชนิด คือ ผักเม็ก ผักต้ว กระโดน มะเดื่อชุมพร บอระเพ็ด ยอบ้าน ชี่เหล็ก และติปลาช่อน เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ในลำไส้เล็กที่ทำหน้าที่ย่อยสารอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตในชั้นตอนสุดท้ายให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว พืชทั้งหมดถูกนำมาสกัดโดยใช้วิธีการสกัดทั้งหมด 4 วิธี คือ ต้มเดือด ต้มเคี้ยว สกัดด้วยตัวทำละลาย 50%ethanol (EtOH) และ 95%EtOH จากนั้นนำสารที่ได้สกัดมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส โดยใช้เทคนิค colorimetric method ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงของ p-nitrophenol ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาระหว่างสารตั้งต้นคือ P-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside และเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ผลการวิจัยพบว่าการสกัดทั้งสี่วิธี ให้สารสกัดที่มีลักษณะและปริมาณของสารสกัดที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดติปลาช่อนด้วยวิธีต้มเคี้ยวให้ปริมาณ %yield สูงที่สุด เท่ากับ 14.7% ขณะที่สารสกัดบอระเพ็ดที่สกัดด้วยวิธีการต้มเคี้ยวให้ปริมาณ %yield ต่ำที่สุด คือเท่ากับ 1.2% สารสกัดสมุนไพรรพีบ้านที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีคือ สารสกัดกระโดนที่สกัดด้วย 95%EtOH สารสกัดเม็กที่สกัดด้วย 50%EtOH และสารสกัดต้วที่สกัดด้วย 50%EtOH โดยมีค่า %inhibition เท่ากับ 98.5 \pm 1.3, 70.9 \pm 2.5 และ 67.3 \pm 1.8 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกระโดนมีฤทธิ์ที่ดีกว่าอะคาร์โบส ซึ่งเป็นยาแผนปัจจุบันที่ใช้รักษาโรคเบาหวาน ดังนั้นสารสกัดกระโดนที่สกัดด้วย 95%EtOH จึงเหมาะสมแก่นำไปพัฒนาวิจัยเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรรักษาโรคเบาหวานต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : แอลฟาไกลูโคซิเดส, สมุนไพรรพีบ้าน, จังหวัดสกลนคร

Inhibitory effect on alpha glucosidase of herbs and local vegetables in Sakon Nakhon province

Thanthika Kaewsoongnern^{1*}, Chatchanok Nukulkit¹, Pensiri Chan-ae¹, Panicha Pongnaratorn¹, Naruwat Pakdee¹, Pichet Wechvitan¹, Saran Chaweerak², Anunkaorn Jitcharoentharn¹, Prapawinee Padannok¹ and Chatlada Hongwilai¹

¹Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus

²Faculty of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ubon Ratchathani Rajabhat University

*Corresponding Author E-mail: Thanthika.ksn@gmail.com

Abstract

The objective of this research was to investigate the inhibitory effect of herbs local vegetables and herbs on alpha-glucosidase activity which was the final step of carbohydrate digestion to produce monosaccharide. Vegetables and herbs were selected by Thai Traditional used for anti-diabetic applications such as *Syzygium gratum* (SG), *Cratoxylum formosum* (CF), *Careya sphaerica* (CS), *Ficus racemosa* (FR), *Tinospora crispa* (TC), *Morinda citrifolia* (MC), *Senna siamea* (SS) and *Phlogacanthus pulcherrimus* (PP). Four extraction methods such as boiling, simmer, 50% ethanol (EtOH) and 95%EtOH were performed in order to get the plant extracts. The plant extracts were tested for alpha-glucosidase activity using colorimetric method of p-nitrophenol which is the product from the reaction between alpha-glucosidase and P-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside. The results showed that plant extracts had different characteristic and quantity. The %yield of PP extract was maximum (14.6%) while TC extract was minimum (1.2%). The maximum inhibitory effect on alpha-glucosidase was CS extract with 95%EtOH (98.5 \pm 1.3). While SG and CF extract showed strongly inhibitory effect, (70.9 \pm 2.5 and 67.3 \pm 1.8, respectively). Moreover, CS extract had significantly more inhibitory effect than acarbose which is anti-diabetic drug in modern medicine. Therefore, CS extract with 95%EtOH is suitable for further development as anti-diabetic herbal product in the future.

Keywords: alpha-glucosidase, local vegetables, Sakon Nakhon

บทนำ

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทย ก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่อระบบต่าง ๆ ภายในร่างกาย ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิต การรักษาโรคเบาหวานมีเป้าหมายที่สำคัญคือ การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และปัจจัยเสี่ยงอื่น ๆ เพื่อป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ ตามมา โดยมีการแบ่งโรคเบาหวานเป็น 4 ชนิดแก่ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (type 1 diabetes mellitus) โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (type 2 diabetes mellitus) โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus) และโรคเบาหวานที่มีสาเหตุจำเพาะ (specific types of diabetes due to other causes)^(1,8,9) ปัจจุบันพบว่ามีทางเลือกในการรักษาโรคเบาหวานหลายวิธี ทั้งทางด้านการแพทย์แผนปัจจุบันและการแพทย์ทางเลือกอื่น ๆ เช่น การใช้ยาสมุนไพร ปัจจุบันยาที่นำมาใช้รักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานนั้นส่วนใหญ่จะเป็นยาแผนปัจจุบัน และมีการนำเข้ามาจากต่างประเทศ โดยมีการแบ่งยาที่ใช้รักษาเบาหวานออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ประเภทยาเม็ดรับประทาน เช่น Metformin, Glibenclamide เป็นต้น และประเภทฉีดอินซูลิน เช่น Lispro, Aspart และ Glulisine เป็นต้น จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่า ยาแผนปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นยาที่นำเข้ามาจากต่างประเทศและมีราคาสูง ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาในเรื่องยาสมุนไพรที่มีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลในเลือดเพื่อจะนำมาเป็นผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรต่อไป

มีรายงานการศึกษาการใช้สมุนไพรเดี่ยว สมุนไพรตำรับ และการบริโภคผักเพื่อใช้รักษาและป้องกันโรคมาเป็นระยะเวลาอันยาวนาน มีการสืบทอดภูมิปัญญาพื้นบ้านต่อกันมาจากรุ่นบรรพบุรุษ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาและพิสูจน์ตัวยานสมุนไพรพื้นบ้าน กลุ่มหมอบ้านจังหวัดสกลนครนิยมรักษาผู้ป่วยโดยการแนะนำให้ผู้ป่วยรับประทานสมุนไพรพื้นบ้านที่มีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลโดยกล่าวว่า “กินผักเป็นยา” ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงได้สนใจศึกษาสรรพคุณของสมุนไพรพื้นบ้านกลุ่มดังกล่าว เพื่อที่จะได้มีผลวิจัยทางวิทยาศาสตร์เพื่อยืนยันประสิทธิภาพ และเป็นการสืบทอดความรู้จากสมุนไพรพื้นบ้าน โดยในการวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกสมุนไพร ทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ ผักเม็ก ผักต้ว กระโดนน้ำ มะเดื่อชุมพร บอระเพ็ด ยอบ้าน ชีเหล็ก และตีปลาช่อน^(2,5)

ดังนั้นงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้มีความสนใจที่จะศึกษาทดสอบฤทธิ์การทำงานของยบยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดส ในยาหมอบ้านในจังหวัดสกลนคร เพื่อเป็นการศึกษาว่ายาสมุนไพรที่ใช้รักษาผู้ป่วยนั้นสามารถใช้รักษาโรคเบาหวานและลดระดับน้ำตาลในเลือดได้⁽⁵⁻⁶⁾

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดสในยาสมุนไพรพื้นบ้าน จังหวัดสกลนคร
2. เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดสในยาสมุนไพรพื้นบ้านกับยาแผนปัจจุบันที่ใช้รักษาโรคเบาหวาน

ระเบียบวิธีการศึกษา

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (Experimental research)

1. การเตรียมตัวอย่าง

ศึกษาดำรงยาลดระดับน้ำตาลจากกลุ่มหมอบ้านจังหวัดสกลนคร จากการศึกษาข้อมูล พบว่าสมุนไพรพื้นบ้านที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคเบาหวานมีจำนวน 8 ชนิดได้แก่ ผักเม็ก ผักต้ว กระจับปี่ มะเดื่อชุมพร บอระเพ็ด ยอบ้าน ชี้เหล็ก และติปลาช่อน จากนั้นนำตัวอย่างสมุนไพรมาตากแห้งในโรงเรือน 3 วัน และทำการบด และทำการสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการดังนี้

การต้มเดือด นำผงสมุนไพรไปทำการชั่งปริมาณ 500 กรัม จากนั้นนำไปห่อด้วยผ้าฝ้ายดิบ เติมน้ำลงในหม้อต้มโดยสัดส่วน 1:5 ทำการต้มสมุนไพรจนเดือดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการกรองผ่านกระดาษ Whatman No. 1 ระเหยแห้งด้วยวิธีการ Evaporation ด้วยเครื่อง Rotary Evaporator นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธี Freeze dry หลังจากนั้น นำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (%yield)

การต้มเคี้ยว นำผงสมุนไพรไปทำการชั่งปริมาณ 500 กรัม จากนั้นนำไปห่อด้วยผ้าฝ้ายดิบ เติมน้ำใส่ลงในหม้อต้ม โดยใช้สัดส่วน 1:5 ทำการต้มให้เดือดและทำการเคี้ยวสมุนไพรจนน้ำระเหยเหลือ 1 ใน 3 ส่วน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการกรองผ่านกระดาษ Whatman No. 1 ระเหยแห้งด้วยวิธีการ Evaporation ด้วยเครื่อง Rotary Evaporator นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธี Freeze dry หลังจากนั้น นำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหา %yield

สกัดด้วย 50% Ethanol (EtOH) นำผงสมุนไพรไปทำการชั่งปริมาณ 500 กรัม จากนั้นเติม 50%EtOH โดยใช้สัดส่วน 1:5 เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการกรองผ่านกระดาษ Whatman No.1 ระเหยแห้งด้วยวิธีการ Evaporation ด้วยเครื่อง Rotary Evaporator นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธี Freeze dry หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหา %yield

สกัดด้วย 95%EtOH นำผงสมุนไพรไปทำการชั่งปริมาณ 500 กรัม จากนั้นเติม 95%EtOH โดยใช้สัดส่วน 1:5 เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการกรองผ่านกระดาษ Whatman No.1 ระเหยแห้งด้วยวิธีการ Evaporation ด้วยเครื่อง Rotary Evaporator นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธี Freeze dry หลังจากนั้น นำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหา %yield

2. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสในสมุนไพรพื้นบ้าน 8 ชนิด

การทดสอบ %inhibition แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วยวิธี p-nitrophenol colorimetric โดยใช้อะคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐานเชิงบวก (positive control) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร จากการทดสอบฤทธิ์ %inhibition เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของอะคาร์โบส และสารสกัดหยาบของสมุนไพรพื้นบ้านที่คัดเลือก ได้แก่ ผักเม็ก ผักต้ว กระจับปี่ มะเดื่อชุมพร บอระเพ็ด ยอบ้าน ชี้เหล็ก และติปลาช่อน จากการสกัดด้วยวิธีต้มเดือด ต้มเคี้ยว 50%EtOH และ 95%EtOH จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส และทำการเปรียบเทียบกับอะคาร์โบส โดยผลการทดลองจะรายงานค่า %inhibition เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งมีวิธีการเตรียมสารละลายดังนี้

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานอะคาร์โบสใน Phosphate Buffer pH 6.5 ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 50, 100, 200, 400, 500 µg/ml

2.2 เตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้น 0.5 unit/ml ใน Phosphate Buffer pH 6.5

2.3 เตรียมสารละลาย p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG) ที่ความเข้มข้น 5 mM ใน Phosphate Buffer pH 6.5

2.4 เตรียมสารละลายสารสกัดนำสารสกัดตีปลาช่อน ซีเหล็ก เม็ก ตั้ว กระโดน มะเดื่อชุมพร ยอบระพีที่สกัดวิธีสกัด 4 วิธี ได้แก่ 1) ต้มเดือด 2) ต้มเคี้ยว 3) สกัดด้วย 50%EtOH 4) สกัดด้วย 95%EtOH ชนิดละ 10 mg นำมาละลายด้วย 2% dimethyl sulfoxide (DMSO) และ Phosphate buffer โดยทำการเจือจาง และนำไปกรองด้วย syringe filters

2.5 วิธีการทดสอบ %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสตามวิธีของ Kumar และคณะ⁽³⁻⁴⁾ เติมนสารมาตรฐานอะคาร์โบส ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200, 400, 500 µg/ml หรือสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500 µg/ml ปริมาณ 50 µl ลงใน 96-well plate แล้วเติมนสารละลายเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 5 unit/ml จำนวน 25 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมนสารละลาย pNPG ความเข้มข้น 5mM ปริมาณ 25 µl นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 15 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย 1 M Sodium carbonate (Na₂CO₃) ปริมาณ 100 µl จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer

วิธีคำนวณหาค่า %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ดังสมการ

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

A₀ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาระหว่าง pNPG กับเอนไซม์เมื่อไม่มีสารสกัด

A₁ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาระหว่าง pNPG กับเอนไซม์เมื่อมีสารสกัด

3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ข้อมูลการวิเคราะห์ที่ได้จากการวัดค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard deviation) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วย Tukey's test กำหนดระดับนัยสำคัญที่ ค่า p < 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 19

ผลการศึกษา

ผลการสกัดสมุนไพรพื้นบ้าน ทั้ง 8 ชนิด ผักเม็ก ผักตั้ว กระโดนน้ำ มะเดื่อชุมพร บอระพีเตี้ย ยอบ้าน ซีเหล็ก และตีปลาช่อน ที่สกัดต่างกัน 4 วิธี ได้แก่

1. ผลการสกัดด้วยน้ำโดยวิธีต้มเดือด เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหา %yield ดังแสดงผลในตารางที่ 1 โดยสารสกัดด้วยวิธีต้มเดือดของมะเดื่อชุมพร ซีเหล็ก และตีปลาช่อน มีค่าสูงที่สุด คือ 14.6% 12.6% และ 12.2% ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดด้วยวิธีต้มเดือดของบอระพีเตี้ยมีค่าต่ำที่สุดเพียง 1.17%

2. ผลการสกัดด้วยน้ำด้วยวิธีต้มเคี้ยว เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหา %yield แสดงผลดังตารางที่ 2 สกัดด้วยวิธีต้มเคี้ยวของตีปลาช่อน ซีเหล็ก และยอบ้านมีค่า %yield คือ 14.6% 11.6% และ 11.4% ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดด้วยวิธีต้มเคี้ยวของบอระพีเตี้ยมีค่าต่ำที่สุดเพียง 2.5%

3. ผลการสกัดด้วย 50%EtOH เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหา %yield ดังแสดงผลในตารางที่ 3 สารสกัดด้วย 50%EtOH ของตีปลาช่อน ซีเหล็ก และยอบ้านมีค่า %yield ได้แก่ 14.4% 11.1% และ 10.8% ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดด้วย 50%EtOH ของบอระพีเตี้ยมีค่าต่ำที่สุดเพียง 3.7%

4. ผลการสกัดด้วยสกัดด้วย 95%EtOH เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหา %yield ดังแสดงผลในตารางที่ 4 โดยสารสกัดด้วย 95%EtOH ของตีปลาช่อน ชี้เหล็ก และเม็ก มี %yield สูง คือ 8.9% 8.2% และ 7.2% ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดด้วยด้วย 95%EtOH ของบอระเพ็ดมีค่า %yield ต่ำที่สุดเพียง 3.4%

ผลการทดสอบ %inhibition ของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสมุนไพรพื้นบ้าน 8 ชนิด ด้วยวิธี p-nitrophenol colorimetric โดยใช้อะคาร์โบส เป็นสารมาตรฐานเชิงบวก (positive control) พบว่าสารสกัดของสมุนไพรพื้นบ้านที่คัดเลือกมาได้แก่ ผักเม็ก ผักต้ว กระโดนน้ำ มะเดื่อชุมพร บอระเพ็ด ยอบ้าน ชี้เหล็ก และตีปลาช่อน ซึ่งสกัดด้วย 4 วิธี ได้แก่ ต้มเดือด ต้มเคี้ยว สกัดด้วย 50%EtOH และสกัดด้วย 95%EtOH ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 5 โดยสมุนไพรที่มี %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสูง คือ กระโดน เม็ก และต้ว ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml โดยมี %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ซึ่งพืชที่มีฤทธิ์สูงสุดคือ สารสกัดกระโดนที่สารสกัดด้วย 95%EtOH มีค่า %inhibition เท่ากับ 98.5 ± 1.3 ขณะที่สมุนไพรที่มีฤทธิ์รองลงมาคือ สารสกัดเม็กที่สกัดด้วย 50%EtOH มีค่า %inhibition เท่ากับ 70.9 ± 2.5 และถัดมาคือ สารสกัดต้วที่สกัดด้วย 50%EtOH มีค่า %inhibition เท่ากับ 67.3 ± 1.8 ในทางกลับกันสมุนไพรที่เหลืออีกห้าชนิดมีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำมากจนถึงไม่มีฤทธิ์คือ ตีปลาช่อน ชี้เหล็ก มะเดื่อชุมพร ยอบ และบอระเพ็ด เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเชิงบวก คือ อะคาร์โบส ที่เป็นยารักษาโรคเบาหวาน พบว่า ที่ความเข้มข้น 500µg/ml มีค่า %inhibition เท่ากับ 65.9 ± 3.26 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากพืชที่นำมาทดสอบคือ เม็ก กระโดน ต้ว มีค่า %inhibition สูงกว่าหรือใกล้เคียงอะคาร์โบส ซึ่งสารสกัดกระโดนที่ได้จากวิธีการสกัดทั้ง 4 วิธี มี %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ต่ำกว่าอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

อภิปรายผล

เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสร้างจากลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการสุดท้ายจนกลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ น้ำตาลกลูโคส และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นหากสามารถมี %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ จะส่งผลต่อการย่อยและดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่ร่างกาย ทำให้น้ำตาลในกระแสเลือดลดลงได้ ดังนั้นสารที่มีฤทธิ์ดีจึงถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคเบาหวาน ตัวอย่างเช่น acarbose voglibose และ miglibose⁽¹⁰⁾ ซึ่งอะคาร์โบสถูกนำมาใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก เพื่อใช้เปรียบเทียบผล %inhibition ของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสกับสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้าน สมุนไพรพื้นบ้านทั้ง 8 ชนิด คือ เม็ก ผักต้ว กระโดนน้ำ มะเดื่อชุมพร บอระเพ็ด ยอบ้าน ชี้เหล็ก และตีปลาช่อน ผลการทดสอบ %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสพบว่า สารสกัดกระโดน เม็ก และต้ว มี %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดี ซึ่งองค์ประกอบหลักทางเคมีหลักของพืชทั้ง 3 ชนิดนี้ คือ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) กระโดนและเม็กมีสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีเป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก คือ ferulic acid และ p-hydroxybenzoic acid ขณะที่ต้วมีองค์ประกอบหลักทางเคมี คือ chlorogenic acid และ ferulic acid^(11,12) มีการศึกษาพบว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำจะได้สารสกัดที่ดีจะมีองค์ประกอบของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกสูงกว่าการสกัดด้วย EtOH และยังพบว่า สารสกัดจากพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง มักพบว่ามี %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดี⁽¹³⁻¹⁵⁾

วิธีการสกัดในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยเลือกใช้วิธีการสกัดที่ทางการแพทย์แผนไทยใช้กันมาอย่างยาวนาน คือ การต้มเดือด และต้มเคี้ยว เพื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบสมัยใหม่ด้วยตัวทำละลาย EtOH จากผลการทดลองพบว่าค่า %yield ของการสกัดด้วยวิธีการต้มและการสกัดด้วย EtOH มีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่า %yield ของ

วิธีสกัดแยกตามชนิดของพืช สารสกัดกระโดนที่สกัดด้วย 95%EtOH จะให้ค่า %yield สูงที่สุด รองลงมาคือ การต้มเคี่ยว การสกัดด้วย 95%EtOH และการต้มเคี่ยวตามลำดับ

จากผล %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้าน พบว่าวิธีการสกัดส่งผลต่อ %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดที่ได้จากพืชแต่ละชนิด โดยฤทธิ์ของสารสกัดกระโดน เม็ก และตัว มีฤทธิ์ที่ดีกว่าสารควบคุมเชิงบวก คืออะคาร์โบส ดังนั้น กระโดน เม็ก และตัว จึงเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่น่าสนใจในการนำไปต่อยอดการศึกษาเพื่อหาข้อมูลเพิ่มเติมในเรื่องขนาดการใช้ที่เหมาะสม ความเป็นพิษ และฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านอื่น ๆ รวมถึงการนำไปพัฒนาต่อเป็นตำรับยาหรืออาหารเพื่อสุขภาพที่มีความปลอดภัยสำหรับใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณค่าและมูลค่าให้กับสมุนไพรพื้นบ้านของไทย

บทสรุป








จากผลการวิจัยพบว่าชนิดของพืชสมุนไพรพื้นบ้านและวิธีการสกัดได้แก่ การต้มเคี่ยว ต้มเคี่ยว และการสกัดด้วย 50%EtOH และ 95%EtOH มีผลต่อ %inhibition เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส โดยสรุปได้ว่า สารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านที่สกัดด้วยวิธีต้มเคี่ยว และการสกัดด้วย EtOH ทุกความเข้มข้น มีค่า %inhibition สูงที่สุดได้แก่ กระโดน เม็ก และตัว ตามลำดับ และสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยวิธีต้มเคี่ยว มีค่า %inhibition สูงที่สุดได้แก่ กระโดน ตัว และเม็ก ตามลำดับ โดยสารสกัดสมุนไพรกระโดนที่สกัดด้วย 95%EtOH มีค่า %inhibition สูงที่สุดคือ 98.5 ± 1.3 ซึ่งสูงกว่าสารมาตรฐานเชิงบวกคือ อะคาร์โบส พบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน (500 $\mu\text{g/ml}$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้น สมุนไพรทั้งสามชนิดนี้จึงเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่น่าสนใจในการนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน

กิตติกรรมประกาศ






งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความร่วมมือและช่วยเหลือในการปฏิบัติงานจาก คณะอาจารย์ผู้ร่วมโครงการวิจัย ผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ นอกจากนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร และ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือที่ในการวิจัย ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ปีงบประมาณ 2562

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ลักษณะของสารสกัดหยาบและร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดสมุนไพรสกัดด้วยวิธีต้มเดือด

ลำดับที่	ชื่อสมุนไพร	ส่วนที่ใช้	ลักษณะสารสกัด	น้ำหนักผงสมุนไพร (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	%yield
1	ดีปลาค้อน	ใบ กิ่ง		500	63	12.6
2	ขี้เหล็ก	ใบ		500	61	12.2
3	เม็ก	ใบ กิ่ง		500	30	6
4	ติ้ว	ใบ กิ่ง		500	30	6
5	กระโดน	ใบ กิ่ง		500	26	5.2
6	มะเดื่อชุมพร	ใบ		500	73	14.6
7	ยอ	ใบ		500	29	5.8
8	บอระเพ็ด	เถา		500	1.95	1.17

ตารางที่ 2 ลักษณะของสารสกัดหยาบและร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดสมุนไพรสกัดด้วยวิธีต้มเคี่ยว

ลำดับที่	ชื่อสมุนไพร	ส่วนที่ใช้	ลักษณะสารสกัด	น้ำหนักผงสมุนไพร (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	%yield
1	ดีปลาช่อน	ใบ กิ่ง		500	73	14.6
2	ขี้เหล็ก	ใบ		500	58	11.6
3	เม็ก	ใบ กิ่ง		500	19	3.8
4	ตีว	ใบ กิ่ง		500	28	5.6
5	กระโดน	ใบ กิ่ง		500	36	7.2
6	มะเดื่อชุมพร	ใบ		500	39	7.8
7	ยอ	ใบ		500	57	11.4
8	บอระเพ็ด	เถา		500	5	2.5

ตารางที่ 3 ลักษณะของสารสกัดหยาบและร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วย 50%EtOH^a

ลำดับที่	ชื่อสมุนไพร	ส่วนที่ใช้	ลักษณะสารสกัด	น้ำหนักผงสมุนไพร (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	%yield
1	ติปลาช่อน	ใบ กิ่ง		500	72	14.4
2	ขี้เหล็ก	ใบ		500	55.5	11.1
3	เม็ก	ใบ กิ่ง		500	26.5	5.3
4	ต้ว	ใบ กิ่ง		500	35.55	7.11
5	กระโดน	ใบ กิ่ง		500	51	10.2
6	มะเดื่อชุมพร	ใบ		500	27	5.4
7	ยอ	ใบ		500	54	10.8
8	บอระเพ็ด	เถา		500	18	3.7

^a 50%EtOH หมายถึง Ethanol ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร

ตารางที่ 4 ลักษณะของสารสกัดหยาบและร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วย 95%EtOH^a

ลำดับที่	ชื่อสมุนไพร	ส่วนที่ใช้	ลักษณะสารสกัด	น้ำหนักผงสมุนไพร (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	%yield
1	ดีปลาช่อน	ใบ กิ่ง		500	44.51	8.9
2	ซีเหล็ก	ใบ		500	41.03	8.2
3	เม็ก	ใบ กิ่ง		500	36.1	7.22
4	ตีว	ใบ กิ่ง		500	24.22	4.844
5	กระโดน	ใบ กิ่ง		500	28.56	5.712
6	มะเดื่อชุมพร	ใบ		500	26	5.2
7	ยอ	ใบ		500	25.38	5.076
8	บอระเพ็ด	เถา		500	17	3.404

^a 95%EtOH หมายถึง Ethanol ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในสารสกัดจากสมุนไพรพื้นบ้าน

ลำดับที่	ชื่อพืช (500 µg/ml)	%inhibition ^a ±SD ^b			
		ต้มเดือด	ต้มเคี่ยว	50%EtOH ^c	95%EtOH ^d
1	ดีปลาค้อน	3.2±0.4	5.6±0.2	7.9±0.2	7.6±0.2
2	ขี้เหล็ก	4.7±0.3	0.3±0.6	2.8±0.3	1.3±0.1
3	เม็ก	68.4±1.5	35.4±4.8	70.9±2.5	56.6±1.4
4	กระโดน	95.7±2.3 ^e	97.6±2.3 ^e	88.4±2.0 ^e	98.5±1.3 ^e
5	ติ้ว	18.4±1.9	40.3±1.6	67.3±1.8	44.9±2.7
6	มะเดื่อชุมพร	12.0±1.6	13.5±0.8	0.3±0.1	42.7±2.0
7	ยอ	0.6±0.3	0.2±0.1	0.6±0.1	0.1±0.0
8	บอระเพ็ด	0.4±0.2	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1
10	อะคาร์โบส	65.9±3.3			

^a %inhibition หมายถึง ค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

^b SD หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^c 50%EtOH หมายถึง Ethanol ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร

^d 95%EtOH หมายถึง Ethanol ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร

^e ค่าเฉลี่ยของ %inhibition มีค่าสูงกว่าอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารอ้างอิง

1. สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. 2560. **แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน 2560**. บริษัท รมย์นมีเดีย จำกัด.
2. เต็ม สมิตินันท์. 2544. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย**. บริษัท ประชาชน จำกัด.
3. Kumar, D., Ghosh, R., Bikas, C. P. (2013). α -Glucosidase inhibitory terpenoids from *Potentilla fulgens* and their quantitative estimation by validated HPLC method. **Journal of Functional Foods**, 5(3), 1135-1141.
4. Kumar, D., Gupta, N., Ghosh, R., Raghuvir, H. G., Bikas, C. P. (2013). α -Glucosidase and α -amylase inhibitory constituent of *Carex baccans*: Bio-assay guided isolation and quantification by validated RP-HPLC–DAD. **Journal of Functional Foods**, 5(1), 211-218.
5. พิเชษฐ์ เวชวิฐาน. 2561. **สมุนไพรในป่าครอบครัวสกุลนคร**. บริษัท สามเจริญพาณิชย์.
6. Wongsu, P., Chaiwarit, J., Zamaludien, A. (2012). In vitro screening of phenolic compounds, potential inhibition against α -amylase and α -glucosidase of culinary herbs in Thailand. **Food Chemistry**, 131, 964–971.
7. สมศักดิ์ นวลแก้ว. การเปรียบเทียบวิธีการผลิตยาน้ำด้วยวิธีทางการแพทย์แผนไทย 4 วิธี (การฝน การขง การต้มแบบไทย และ การต้มแบบจีน). **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม**, 29(1); 2553.
8. กุลภา ศรีสวัสดิ์, สุทิน ศรีอัฐภาพร. การดูแลรักษาและป้องกันผลที่เท่าในผู้ป่วยเบาหวาน ใน: สุทินศรี อัฐภาพร, วรณิ นิธิยานันท์, บรรณาธิการ. **โรคเบาหวาน Diabetes Mellitus**. 2548. กรุงเทพมหานคร: เรือนแก้วการพิมพ์. 1: 583-608.
9. Schaper, N. C., Van, N. J., Apelqvist, J., Lipsky, B. A., Bakker, K. (2017) International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). Prevention and management of foot problems in diabetes: A Summary Guidance for Daily Practice 2015, based on the IWGDF guidance documents. **Diabetes Research and Clinical Practice**. 124: 84-92.
10. Derosa, G., Maffioli, P. (2012). α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. **Archives of Medical Science**. 9;8(5):899–906.
11. Maisuthisakul, P., Pongsawatmanit, R, Gordon, M. H. (2007). Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). **Food Chemistry**. 1(4):1620–1625.
12. Sriket, P. (2014). Chemical Components and Antioxidant Activities of Thai Local Vegetables. **Current applied science and technology**. 14(1):18–23.

13. Settharaksa, S., Madaka, F., Sueree, L., Kittiwisut, S., Sakunpak, A., Monton, C., et al. (2014). Effect of solvent types on phenolic, flavonoid contents and antioxidant activities of *Syzygium Gratum* (Wight) S.N. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 1(6), 114–116.
14. Ramkumar, K. M., Thayumanavan, B., Palvannan, T., Rajaguru, P. (2010). Inhibitory effect of *Gymnema Montanum* leaves on α -glucosidase activity and α -amylase activity and their relationship with polyphenolic content. **Medicinal Chemistry Research**. 19(8):948–961.
15. Wu, H., Xu, B. (2014). Inhibitory Effects of Onion Against α -Glucosidase Activity and its Correlation with Phenolic Antioxidants. **International Journal of Food Properties**. 17(3):599–609.