

นิพนธ์ต้นฉบับ

**ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอนดีโปรตีน และแอลฟา-กลูโคซิเดส
ของตำรับยาไทยที่รักษาโรคเบาหวาน**

**ธนากรณ ดำสุต^{1*} เพ็ญภา ราชมณี¹ สุนทรี เอกลักษณ์บุรุษ¹ จรินทร์ พุดงาม¹
และ กัญทร ยินเจริญ²**

¹สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
(วิทยาเขตนครศรีธรรมราช) อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช

²สาขาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
(วิทยาเขตนครศรีธรรมราช) อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: thanakorn.d@rmutsv.ac.th

Received date: May 4, 2023; Revised date: June 26, 2023; Accepted date: June 27, 2023

บทคัดย่อ

แอดวานซ์ไกลเคชันเอนดีโปรตีน (AGEs) จะถูกสร้างเมื่อร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดที่สูง และส่งผลไปสู่วิถีโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ มากมาย ดังนั้น การยับยั้งกระบวนการไกลเคชันจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ป้องกันโรคแทรกซ้อนได้ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอนดีโปรตีน และแอลฟา-กลูโคซิเดสของตำรับยาไทยที่รักษาโรคเบาหวาน จำนวน 6 ตำรับ ที่สกัดด้วยสองวิธี ได้แก่ วิธีการต้มเคี่ยว และ หมักด้วย 90% EtOH ผลการศึกษาพบว่า ตำรับ TFD-02 ที่สกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยว มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเกิดผลิตภัณฑ์แอดวานซ์ไกลเคชันเอนดีโปรตีน ตั้งแต่วันที่ 7-28 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับอะมิโนกวินิดีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ในขณะที่ตำรับ TFD-04 ที่สกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยวมีฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส ทั้งชนิดมอลเทส และซูเครสจากลำไส้เล็กของหนูสูงที่สุดที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 40.46 ± 0.02 และ 0.78 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.59 ± 0.02 และ 1.59 ± 0.02 ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นศักยภาพของตำรับยาไทยที่รักษาโรคเบาหวานเหมาะจะนำไปพัฒนาวิจัยเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรในการรักษาโรคเบาหวาน และโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: ตำรับยาไทยที่รักษาโรคเบาหวาน การยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอนดีโปรตีน การยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส

Anti-Advanced Glycation End-products (AGEs) and α -Glucosidase Activities of ThaiFolk Anti-Diabetes Remedy

Thanakorn Damsud^{1*}, Pennapa Ratmanee¹, Suntaree Aekkalakburut¹,
Jarín Poodngam¹ and Kanyatorn Yincharoen²

¹Program of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology
Srivijaya (Nakhon Si Thammarat campus), Thung Song, Nakhon Si Thammarat

²Program of Thai Medicine, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of
Technology Srivijaya (Nakhon Si Thammarat campus), Thung Song, Nakhon Si Thammarat

*Corresponding Author E-mail: thanakorn.d@rmutsv.ac.th

Abstract

Advanced glycation endproducts (AGEs) are formed when blood sugar levels remain high, leading to a variety of complications. Inhibiting the glycation process can be a viable alternative to prevent these complications. The objective of this study was to study the inhibitory effect of advanced glycation end products. and α -glucosidase of six diabetic Thai medicinal formulas extracted by decoction method and macerated with 90% EtOH. The study found that of TFD-02 extracted by decoction method, it has good efficacy in inhibiting the formation AGEs form 7-28 days when compared with aminoguanidine with statistical significance $P < 0.05$, while TFD-04 extracted by decoction method has α -glucosidase inhibitory activity (maltase and sucrase) with IC_{50} values of 40.46 ± 0.02 and 0.78 ± 0.04 mg/ml, respectively, when compared with acarbose with statistical significance ($P < 0.05$). The IC_{50} was 0.59 ± 0.02 and 1.59 ± 0.02 respectively. Based on the results of this study, it demonstrates the potential Thai folk remedies for anti-diabetes, which are suitable for future research and development of herbal products for treatment of diabetes and its complications.

Keywords: Thai folk anti-diabetes remedy, Anti-advanced glycation end-product, α -glucosidase inhibitory activity

บทนำ

เบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes) คือภาวะที่ร่างกายมีความผิดปกติของเมแทบอลิซึมระยะยาวส่งผลให้น้ำตาลในกระแสเลือดที่สูง (hyperglycemia) ส่วนใหญ่จะพบในผู้สูงอายุ และสาเหตุเกิดจากพฤติกรรมกรบริโภค ขาดการออกกำลังกาย และพันธุกรรม เป็นต้น หากผู้ป่วยไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลให้อยู่ในสภาวะปกติจะส่งผลให้เกิดโรคแทรกซ้อนมากมายที่เกิดขึ้นกับ ตา ไต หัวใจและหลอดเลือด⁽¹⁾ การควบคุมและรักษาระดับน้ำตาลมีด้วยกันหลายวิธี หนึ่งในนั้นก็คือการควบคุมและลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดหลังรับประทานอาหาร (postprandial glucose) โดยมุ่งเน้นการยับยั้งการทำงานของกลูโคซิเดสบริเวณลำไส้เล็ก ส่งผลให้น้ำตาลกลูโคสดูดซึมลดลงและช้าลง⁽²⁾ ด้วยยาที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว เช่น อะคาร์โบส (acarbose) วอกลีโบส (voglibose) และไมกลีทอล (miglitol) หากผู้ป่วยรับประทานยาในกลุ่มนี้อาจส่งผลข้างเคียงต่อระบบย่อย หรือระบบขับถ่าย เช่น อาการแน่นท้อง ถ่ายเหลว และปวดท้อง หากรับยาในปริมาณสูง⁽³⁾ มีการศึกษาพบว่าผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่สามารถคุมระดับน้ำตาลให้อยู่ในระดับปกติ หรือมีน้ำตาลในเลือดสูงเรื้อรัง จะนำไปสู่การเกิดกระบวนการไกลเคชัน ทำให้เกิดความเสื่อมของเซลล์ รวมถึงการพัฒนาไปสู่โรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยเบาหวานได้ ปริมาณน้ำตาลที่สูงอย่างต่อเนื่องสามารถเกิดการรวมตัวกับสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ ในเลือดกับโปรตีน ไขมัน และกรดนิวคลีอิก การรวมตัวจะเกิดอย่างช้า ๆ และสามารถสร้างผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่าแอดวานซ์ไกลเคชันเอนด์โปรดักส์ (advanced glycation end product (AGEs)) ที่มีความเสถียร ไม่สามารถกำจัดและสลายตัวได้ หากมีการสะสมเป็นระยะเวลานานจะเกิดภาวะเครียดของเซลล์และการอักเสบของเนื้อเยื่อส่งผลให้เกิดกระบวนการเสื่อมสภาพของเซลล์ (glycoxidation) นำไปสู่ความเสียหายที่เกิดกับเนื้อเยื่อและพยาธิสภาพในผู้ป่วยโรคเบาหวาน เช่น โรคหลอดเลือดแข็งตัว ต้อกระจก โรคไตเป็นต้น⁽³⁾ ปัจจุบันตัวยามีโนกวินดีน (aminoguanidine) คือยาที่มีประสิทธิภาพในการใช้ป้องกันการเกิดไกลเคชันแต่ก็มีรายงานพบว่ายาดังกล่าวมีความเป็นพิษและสามารถเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไตได้⁽⁴⁻⁵⁾ จะเห็นได้ว่าหากผู้ป่วยมีการใช้ในระยะยาวเวลายาวนาน ย่อมส่งผลเสียต่อร่างกาย อีกทั้งเป็นการเพิ่มภาระค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้น ดังนั้นการศึกษาและค้นคว้าสารที่มาจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอนด์โปรดักส์ และแอลฟา-กลูโคซิเดสนับเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ สู่การรักษาและลดการใช้ยา และโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยเบาหวานได้

การใช้สมุนไพรรักษาโรคเบาหวานของประเทศไทยนั้นมีการใช้กันมาอย่างยาวนานทั้งเป็นในรูปของสมุนไพรเดี่ยว และยาสมุนไพรตำรับ จากรายงานที่ผ่านมาพบว่ามีสมุนไพรกว่า 1,000 ชนิดมีการศึกษาทั้งในการพิสูจน์ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด เช่น ตำลึง แดงไทย หญ้าหนวดแมว ลูกใต้ใบ แดงกวา ข้าวหลาม้า มะระขี้นก อินทนิลน้ำอบเชย เป็นต้นการใช้สมุนไพรเดี่ยวจะนิยมใช้ร่วมหรือเสริมกับการใช้ยาแผนปัจจุบัน ส่วนรูปแบบที่นิยมใช้คือการต้ม (ยาต้ม) และมียาลูกกลอน ยาผง ในขณะที่สมุนไพรตำรับจะเป็นการใช้สมุนไพรมากกว่า 2 ชนิดร่วมกัน มีการใช้สมุนไพรลักษณะนี้ที่หลากหลายมากรูปแบบเช่น ยาต้ม ยาเม็ด ยาลูกกลอน ยาผง การต้มหรือยาต้มจะมีการใส่น้ำ 3 ส่วน ต้มจนกระทั่งเหลือ 1 ส่วน รับประทานวันละ 2 ครั้ง แต่สมุนไพรในรูปแบบอื่นจะมีความแตกต่างกันตามพื้นที่ หากพิจารณาถึงการศึกษาสมุนไพรตำรับยังมีการศึกษาที่น้อยและขาดข้อมูลของการศึกษากลไก การออกฤทธิ์ร่วมกันหรือเสริมกัน การลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดในสัตว์ทดลอง รวมทั้งความปลอดภัยต่อผู้ใช้ หากมีการวิจัยศึกษาที่มากขึ้นก็สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาและใช้สมุนไพรจากตำรับยาอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป⁽⁶⁾

ดังนั้นการศึกษานี้มุ่งเน้นการคัดเลือกตำรับยาไทยที่ใช้รักษาโรคเบาหวานจำนวน 6 ตำรับ ที่มีการใช้มาอย่างยาวนานและมีประสิทธิภาพจากหมอพื้นบ้านจำนวน 3 ท่าน คือ หมอสาเย็น ใหญ่กระโทก หมอบุญถม ชุมอักษระ

และหมोजิต บุญเลื่อง⁽⁶⁾ จำนวน 3 ตำรับ รวมทั้งตำรับยาแผนไทยของหมอปพร (กรมหลวงชุมพรเขตอุดมศักดิ์) จำนวน 3 ตำรับ โดยผ่านกระบวนการสกัดด้วย การต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90 เปอร์เซ็นต์เอทานอล (90% EtOH) จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอนดีโปรตีนส์และการชะลอการย่อยคาร์โบไฮเดรตผ่านการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูชนิดมอลเทส และซูเครส สู่การใช้ประโยชน์ และส่งผลให้ผู้ป่วยมีทางเลือกในการรักษาโรคเบาหวานต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาดำรับยาไทยที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานจำนวน 6 ตำรับจากหมอฟันบ้านจำนวน 3 ตำรับ (TFD-01 TFD-02 และTFD-03) และจากตำรับยาแผนไทยของหมอปพร (กรมหลวงชุมพรเขตอุดมศักดิ์) 3 ตำรับ (TFD-04 TFD-05 และTFD-06) ด้วยการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90 เปอร์เซ็นต์เอทานอล (90% EtOH) ต่อการยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอนดีโปรตีนส์ และการชะลอการย่อยคาร์โบไฮเดรตผ่านการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูชนิดมอลเทส และซูเครส

ระเบียบวิธีศึกษา

1. การเตรียมและสกัดตำรับยาไทย

การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรเป็นจากตำรับยาไทยที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานจากหมอฟันบ้านจำนวน 3 ตำรับ และจากตำรับยาแผนไทยของหมอปพร (กรมหลวงชุมพรเขตอุดมศักดิ์) 3 ตำรับ รวมทั้งสิ้น 6 ตำรับดังตารางที่ 1 สมุนไพรทั้งหมดซื้อจากร้านขายยาสมุนไพรในอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ระบุชนิด และส่วนที่นำไปใช้ของสมุนไพร โดยอาจารย์กัญทร ยินเจริญ สาขาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จากนั้นนำตัวอย่างสมุนไพรตัดเป็นชิ้นขนาดเล็กอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนเหลือปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 6 ซึ่งวิเคราะห์ความชื้น (Kett, FD610) โดยเครื่องอินฟราเรด (Kett, FD610, Laboratory Co. Ltd., Tokyo. Japan) นำสมุนไพรในแต่ละตำรับยาไทยมาสกัดด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

การสกัดแบบที่ 1 การต้มเคี่ยว⁽⁷⁾

การต้มเคี่ยว นำตำรับยาไทยซึ่งปริมาณ 300 กรัม จากนั้นใส่ผ้าดิบแล้วต้มในหม้อต้ม โดยต้มให้เดือดและทำการเคี่ยวจนน้ำระเหยเหลือ 1 ใน 3 ส่วน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสารสกัดเย็นลงให้กรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman® No.1) ระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยภายใต้ความดัน (rotary evaporator, RII, Buchi, Germany) นำสารสกัดตำรับยาไทยไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry, BOBASE®, Jinan Shandong, China) จากนั้นนำมาคำนวณหาร้อยละสารสกัดตำรับยาที่ได้ (%yield) เก็บสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทดสอบ

การสกัดแบบที่ 2 สกัดด้วยสารละลายเอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์⁽⁷⁾

การสกัดด้วย 90 เปอร์เซ็นต์เอทานอล นำตำรับยาไทยซึ่งปริมาณ 300 กรัม จากนั้นสกัดด้วยวิธีการแช่สกัด (maceration) ด้วย 90 เปอร์เซ็นต์เอทานอล เป็นเวลา 7 วัน จำนวน 3 ครั้ง ที่อุณหภูมิห้อง นำสารสกัดตำรับยาไทยไปทำให้เข้มข้นขึ้นโดยการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้ความดัน (rotary evaporator,

Rll, Buchi, Germany) จากนั้นคำนวณหาร้อยละสารสกัดตำรับยาที่ได้ (%yield) เก็บสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทดสอบ

2. การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents; TPC)⁽⁸⁾

การศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเตรียมสารสกัดตำรับยาไทยปริมาตร 125 ไมโครลิตรใส่ใน 96 well plate จากนั้นเติม 10% FolinCicalteu phenol reagent (Merck, Darmstadt, Germany) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีและเติม 7% Na₂CO₃ (LobaChemieTM, India) ปริมาตร 20 ไมโครลิตรเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง (spectrophotometer, Halo VIS-10, UK) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Merck, Darmstadt, Germany) ในรูป มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด

3. การทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid contents; TFC)⁽⁹⁾

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric assay โดยการเติมตัวอย่างสารสกัดตำรับยาไทยปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มี 10 % Aluminum chloride (LobaChemieTM, Mumbai, India) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร 1 โมลลาร์ของ Potassium acetate (LobaChemieTM, Mumbai, India) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 0.65 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง (spectrophotometer, Halo VIS-10, UK) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอซีทิน (Merck, Darmstadt, Germany) คำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมของเคอซีทิน/กรัมสารสกัด (mg QE/g extract)

4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอนด์โปรดักส์ (AGEs)⁽¹⁰⁾

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันโดยเตรียมสารสกัดตำรับยาไทยและด้วยอะมิโนกวานิดีน (aminoguanidine, (Smart Science, Pathum Thani, Thailand)) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) ที่ความเข้มข้น 0.25-2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 10 ไมโครลิตร ผสมกับ Bovine Serum Albumin (BSA) (St. Louis, Missouri, USA) ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และน้ำตาลฟรุกโตส ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ ที่ละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.4 ที่มี 0.02 เปอร์เซ็นต์ sodium azide (St. Louis, Missouri, USA) ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นตั้งปฏิกิริยาเป็นระยะเวลา 714 21 และ 28 วัน จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์โดยสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (fluorescence spectrophotometer DRAWELL DW-F96PRO, Chongqing, China) ที่ความยาวคลื่น excitation wavelength เท่ากับ 355 นาโนเมตร และ emission wavelength เท่ากับ 460 นาโนเมตรคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันโดยใช้สูตรดังสมการข้างล่าง และค่า IC₅₀ ของการยับยั้ง โดยใช้โปรแกรม Graph Pad Prism 6.05 (Graph Pad Software ,San Diego, California, USA)

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

เมื่อ A₀ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด

A₁ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด

คำนวณหาค่า IC₅₀ (ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งไกลเคชันได้ร้อยละ 50 โดยคำนวณจากกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดกับค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู⁽⁸⁾

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู (Intestinal acetone powders from rat จาก Sigma-Aldrich. (St. Louis, Missouri, USA)) ซึ่งเป็นเอนไซม์ผสม (crude enzyme) ที่ประกอบด้วยมอลเทส และซูโครส ที่มีกิจกรรมจำเพาะ (specific activity) เท่ากับ 0.1 และ 0.57 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน โดยวัดปฏิกิริยาการปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคสอิสระ ด้วยวิธี colorimetric method โดยเตรียมสารสกัดตำรับยาไทยและตัวยาอะคาร์โบส (acarbose, (Glucobay[®], Bayer pharma, German)) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ตั้งแต่ 0.03-30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จากนั้นเติมเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู จำนวน 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมซบสเตรต 2 ชนิด คือ มอลโทส (Merck, Darmstadt, Germany) ความเข้มข้น 0.58 มิลลิโมลาร์ และซูโครส (Merck, Darmstadt, Germany) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ จำนวน 20 ไมโครลิตร ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับมอลโทส 10 นาที และซูโครส 40 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที วัดความเข้มข้นของกลูโคส โดยการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส โดยใช้ glu-kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง (spectrophotometer, Halo VIS-10, UK) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร คำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้ง โดยใช้สูตรที่กล่าวมาแล้วในข้อที่ 4 และค่า IC₅₀ ของการยับยั้ง โดยใช้โปรแกรม Graph Pad Prism 6.05

6. การประเมินทางสถิติ

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชัน และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส จากลำไส้เล็กของหนู แสดงเป็นค่าข้อมูล IC₅₀ วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม Graph Pad Prism 6.05 (Graph Pad Software, San Diego, California, USA) ในรูปค่าเฉลี่ย mean±S.E.M โดยทดลองจำนวน 3 ครั้ง และวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS version 20.0 (IBM SPSS, IBM Corp., Armonk, New York)

ผลการศึกษา

1. การเตรียมและสกัดยาสมุนไพรตำรับพื้นบ้าน

จากการเตรียมและสกัดตำรับยาไทยที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานจำนวน 6 ตำรับทั้ง 2 วิธีที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดของทั้ง 6 ตำรับที่ได้มาสกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยวจะมีความเข้มข้นเป็นสีน้ำตาลจนถึงดำ มากกว่าการหมักด้วย 90% EtOH โดยตำรับ TFD-04 มีร้อยละสารสกัดที่ได้ (%yield) สูงที่สุดทั้งวิธีที่สกัดด้วยการต้มเคี่ยวหรือหมักด้วย 90% EtOH โดยมีค่าเท่ากับร้อยละสารสกัดที่ได้เท่ากับ 4.87 และ 6.23 ตามลำดับ ในขณะที่ตำรับ TFD-01 มีร้อยละสารสกัดที่ได้ (%yield) น้อยที่สุดเท่ากับ 1.26 และ 1.74 ของน้ำหนักแห้งของตำรับตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

2. การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากตำรับยาไทยจำนวน 6 ตำรับโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและสารสกัดแต่ละตำรับทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent จากนั้นคำนวณหาปริมาณกรดแกลลิกเมื่อเทียบสารสกัด 1 กรัมพบว่าตำรับ TFD-04 ที่สกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90% EtOH มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด

มีค่าเท่ากับ 76.83 ± 0.24 และ 75.32 ± 0.18 mg GAE/g ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากทั้งสองวิธีการสกัดที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ ในขณะที่ตำรับ TFD-03 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 29.53 ± 0.37 และ 31.54 ± 0.20 mg GAE/g ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากทั้งสองวิธีการสกัดที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ ดังตารางที่ 2

3. การทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากตำรับยาไทยจำนวน 6 ตำรับโดยใช้วิธี Aluminum chloride colorimetric assay เทียบกับสารมาตรฐานเคออสตินวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดยสารมาตรฐานเคออสติน และสารสกัดแต่ละตำรับทำปฏิกิริยากับอลูมิเนียมคลอไรด์ จากนั้นหาปริมาณเคออสตินเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัด 1 กรัม พบว่าตำรับ TFD-04 พบว่าการสกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90% EtOH มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 10.00 ± 0.27 และ 12.45 ± 0.21 mg QE/g ตามลำดับ ในขณะที่ตำรับ TFD-03 มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.63 ± 0.78 และ 2.14 ± 0.24 mg GAE/g ตามลำดับและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากทั้งสองวิธีการสกัดที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ ดังตารางที่ 2

4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชัน

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชัน จากตำรับยาไทยจำนวน 6 ตำรับ ที่เหนี่ยวนำโดยการใช้น้ำตาลฟรุกโทส โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2-2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าตำรับ TFD-02 ที่สกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90% EtOH มีฤทธิ์ยับยั้งได้ดีตั้งแต่วันที่ 7 ภายหลังการเริ่มปฏิกิริยาโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.12 ± 0.03 และ 0.21 ± 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับจากนั้นเมื่อปล่อยให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไป พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดไกลเคชันได้เช่นกัน แต่ประสิทธิภาพการยับยั้งลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาของการเกิดปฏิกิริยาในวันที่ 1421 และ 28 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.14 ± 0.05 0.13 ± 0.03 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในการสกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยวและ 0.21 ± 0.06 และ 0.31 ± 0.04 0.54 ± 0.07 และ 0.56 ± 0.08 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในการหมักด้วย 90% EtOH ตามลำดับและมีประสิทธิภาพการยับยั้งดีกว่าอะมิโนกวินิดีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.32 ± 0.08 0.55 ± 0.03 0.72 ± 0.01 และ 0.84 ± 0.04 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับดังตารางที่ 3

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนู มอลทอส และซูเครส จากตำรับยาไทยจำนวน 6 ตำรับ พบว่าตำรับ TFD-04 ที่สกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90% EtOH มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูทั้งชนิดมอลทอสและซูเครสโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.46 ± 0.02 0.78 ± 0.04 และ 1.38 ± 0.03 1.47 ± 0.05 ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพการยับยั้งที่ดีกว่าอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.59 ± 0.02 และ 1.59 ± 0.02 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

อภิปรายผล

การศึกษานี้มุ่งเน้นทดสอบตำรับยาไทยที่มีการใช้ในการรักษาโรคเบาหวานจำนวน 6 ตำรับ นำมาสกัดด้วยวิธีการที่ต่างกันโดยการใช้วิธีการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90% EtOH ซึ่งวิธีการที่เลือกมาเป็นวิธีการที่นิยมใช้ใน

การสกัดสมุนไพรในครัวเรือน เป็นวิธีที่สะดวก และรวดเร็ว พบว่าการสกัดทั้งสองรูปแบบนั้นมีความแตกต่างกันคือ การให้ความร้อนช่วยในการสกัด และการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ อย่างไรก็ตามสารที่สามารถสกัดได้จากทั้งสองวิธีนี้ จะเป็นสารในกลุ่มที่มีขั้วสูง (polar) ซึ่งจะเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolics) กลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และกลุ่มไกลโคไซด์ (glycoside) เป็นต้น ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ด้าน มะเร็ง ด้านอนุมูลอิสระ และด้านเบาหวาน เป็นต้น⁽¹¹⁾ ผลการศึกษาการสกัดสารจากตำรับยาไทยพบว่าการหมักด้วย 90% EtOH จะให้ร้อยละการสกัดตำรับยาที่ได้ (%yield) ที่ดีกว่าการสกัดแบบการต้มเคี่ยวซึ่งเกิดมาจากในระหว่าง กระบวนการสกัดจะมีการให้ความร้อนเป็นระยะเวลาที่ยาวนานเพื่อให้สารสกัดลดปริมาณลง และมีความเข้มข้น อาจส่งผลให้โครงสร้างของสารมีการเปลี่ยนแปลงไป (decomposition) ดังนั้นการต้มเคี่ยวมีความเหมาะสมกับสาร ที่สามารถละลายน้ำได้และทนต่อความร้อนได้ดี โดยเฉพาะสมุนไพรที่ใช้ส่วนของเปลือก รากไม้ เมล็ด หรือผลของ พืชสมุนไพรเป็นต้น⁽¹²⁾ ดังนั้นการสกัดสารจากพืชสมุนไพรไทย จะให้สารที่ออกฤทธิ์เฉพาะและบ่งบอกถึงสมุนไพรแต่ละชนิดได้ จึงส่งผลให้มีรูปแบบในการสกัดที่แตกต่างกัน ชนิดของสมุนไพร และการนำสารสำคัญไปใช้งาน ผู้ศึกษา ควรเลือกให้เหมาะสมเพื่อนำสารสกัดที่ได้ไปใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสม และมีประสิทธิภาพ

การศึกษายับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลฟรุกโตส พบว่าตำรับ TFD-02 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ดีกว่าด้วยอะมิโนกันดินตั้งแต่วันที่ 7 เป็นต้นไป และจะมีประสิทธิภาพการยับยั้งที่ เพิ่มขึ้นเมื่อปล่อยปฏิกิริยาดำเนินไปเรื่อย ๆ หากพิจารณาตำรับ TFD-02 จะพบว่ามีองค์ประกอบของสมุนไพร ทั้งหมด 11 ชนิด ดังตารางที่ 1 เมื่อทำการสกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90% EtOH สารที่ได้จากการสกัด จะอยู่ในกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ดังตารางที่ 2 เมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชัน ของสารสกัดจะประสิทธิภาพในการยับยั้งแบบเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) มีรายงานพบสารกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์หลายชนิดที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชัน เช่น pinostrobin pinocembrin alpinetin panduratin A⁽¹³⁾ epicatechin rutin theaflavin⁽¹⁴⁾ genistein vitein และ isovitein⁽¹⁵⁾ เป็นต้นหาก พิจารณาถึงสมุนไพรในตำรับมีรายการงานศึกษาว่าไบอินทินิน้ำ (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.) มี ประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันที่ IC₅₀ เท่ากับ 67.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรอีกทั้งลด กระบวนการเกิดไกลเคชันในหนูทดลองอีกด้วย⁽¹⁶⁾ และพบอีกว่าลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schumacher) ที่ สกัดด้วยน้ำมีประสิทธิภาพการยับยั้งไกลเคชันเท่ากับร้อยละ 65⁽¹⁷⁾ นอกจากนี้ได้มีการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้ง การสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 19 คนของโรงพยาบาลอุทอง จังหวัด สุพรรณบุรี ประเทศไทย โดยรับประทานผลของมะระขี้นก (*Momordica charantia* L.) ในรูปแบบแคปซูล ควบคู่ กับยาหลอก (placebo) ติดต่อกันเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดน้ำตาลที่สะสมในเลือดตลอดระยะเวลา 2-3 เดือน อีกทั้งลดการสะสมและยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันในเซรัมผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁽¹⁸⁾

การยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูทั้งชนิดมอลทอส และชูเครส ในตำรับ TFD-04 ซึ่งเป็น ตำรับที่ประกอบด้วยสมุนไพรเดี่ยว 1 ชนิดคือใบหูกวาง (*Terminalia catappa* L.) พบว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้ง ที่ดี และสูงกว่าด้วยอะคาร์โบสเมื่อสกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90% EtOH และมีปริมาณของฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับยาสมุนไพรตำรับในตำรับอื่น ๆ สารกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ที่พบจากใบหูกวางเช่น tectochrysin luteolin kaempferol 3,7,4'-trimethyl ether kaempferol และ gallic acid⁽¹⁹⁾ เป็นต้น มีรายงานถึงฤทธิ์การยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากยีสต์ของสารสกัดจากใบหูกวาง⁽²⁰⁾ และการ ลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดที่ศึกษาในสัตว์ทดลอง⁽²¹⁻²³⁾ แต่ยังไม่มีการศึกษาการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจาก ลำไส้เล็กของหนู ดังนั้นการศึกษานี้ใช้เอนไซม์ที่มาจากลำไส้เล็กของหนูซึ่งมีความคล้ายคลึงกับการทำงานของ

เอนไซม์ในระบบย่อยของมนุษย์ โดยพบว่าการยับยั้งที่ดีจะเกิดจากโครงสร้างของหมู่ไฮดรอกซี (Hydroxy group) ที่อยู่บนโครงสร้างของตัวยับยั้ง⁽²⁴⁾ ชนิดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ หรือโครงสร้างของไกลโคไซด์ สามารถจับกับโครงสร้างของเอนไซม์ได้ดี⁽²⁵⁾ ส่งผลให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ หรือมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไป ทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) กับซับสเตรตได้⁽²⁶⁾ หากต้องการศึกษาถึงรูปแบบการยับยั้งจะต้องมีการศึกษาถึงกลไกการยับยั้ง เพื่อไปสู่การออกแบบ และพัฒนารูปแบบตำรับยาต่อไปในอนาคตได้

จากผลวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่าตำรับยาไทยจำนวน 6 ตำรับ มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์แบบหลากหลาย (multi-function) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์กลีโคเคชั่นเอนด์โปรดักส์และแอลฟา-กลูโคซิเดส ชนิดมอลเทส และซูเครส อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาสารสกัดเบื้องต้นซึ่งจะต้องมีการศึกษาการออกฤทธิ์ร่วมหรือการเสริมฤทธิ์กันระหว่างสมุนไพรในแต่ละตำรับ จากนั้นนำไปสู่การศึกษาถึงการแยก สกัด พิสูจน์โครงสร้างทางเคมี และประสิทธิภาพการยับยั้งในเซลล์หรือสัตว์ทดลอง รวมทั้งความปลอดภัยในระยะสั้นและระยะยาวเพื่อเป็นข้อมูลในการใช้ประโยชน์สมุนไพรไทยที่มีการใช้อย่างช้านานที่สามารถลดค่าใช้จ่าย และป้องกันโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ การใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ข้อสรุป

จากผลการศึกษาตำรับยาไทยจำนวน 6 ตำรับโดยการสกัดด้วยวิธีการต้มเคี่ยว และหมักด้วย 90% EtOH พบว่าตำรับ TFD-02 มีประสิทธิภาพยับยั้งการสร้างเอนไซม์กลีโคเคชั่นที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลฟรุกโตสในขณะที่ตำรับ TFD-04 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส ชนิดมอลเทส และซูเครส แต่การศึกษารั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น จะต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพการนำไปใช้ในระดับคลินิกเพื่อให้มีประสิทธิภาพอย่างแท้จริง ในมนุษย์ก่อให้เกิดประโยชน์แก่วงการแพทย์แผนไทย แพทย์ทางเลือกและผู้ป่วยโรคเบาหวานต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบุคลากรสาขาวิทยาศาสตร์ และสาขาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย (วิทยาเขตนครศรีธรรมราช) และทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2562 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ตำรับยาไทยที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานจากหมอพื้นบ้านจำนวน 3 ตำรับ และจากตำรับยาแผนไทยของหมอพร (กรมหลวงชุมพรเขตอุดมศักดิ์) 3 ตำรับ รวมทั้งสิ้น 6 ตำรับ

No.	Herbal components		Part of use
	Scientific name	Thai name	
หมอสาयณ ใหญ่กระโทก (TFD-01)	<i>Lagerstroemia speciosa</i> (L.) Pers.	อินทนิลน้ำ	Leaves
	<i>Senna siamea</i> Lam.	ขี้เหล็ก	Heartwood
	<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach.	ลูกใต้ใบ	Whole plants
	<i>Tectona grandis</i> L.F.	สัก	Leaves
	<i>Smilax corbularia</i> Kunth.	ข้าวเย็นเหนือ	Rhizome
หมอบุญถม ชุมอักษร (TFD-02)	<i>Lagerstroemia speciosa</i> (L.) Pers.	อินทนิลน้ำ	Leaves
	<i>Tinosporacripa</i> (L.) Miers ex. Hook. F&Thomso.	บอระเพ็ด	Stem
	<i>Drynariaquercifolia</i> (L.) J. Sm.	กระแตไต่ไม้	Whole plants
	<i>Senna siamea</i> Lam.	ขี้เหล็ก	Heartwood
	<i>Senna alata</i> (L.) Roxb	ชุมเห็ดเทศ	Leaves
	<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach.	ลูกใต้ใบ	Whole plants
	<i>Acanthus ebracteatus</i> Vahl.	เหงือกปลาหมอ	Whole plants
	<i>Smilax corbularia</i> Kunth.	ข้าวเย็นเหนือ	Rhizome
	<i>Momordica charantia</i> L.	มะระขี้นก	Fruits
หมอจิต บุญเลื่อง (TFD-03)	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	อบเชย	Bark
	<i>Zea mays</i> L.	ข้าวโพด	Corn silk
	<i>Lagerstroemia speciosa</i> (L.) Pers.	อินทนิลน้ำ	Leaves
	<i>Pluchea indica</i> (L.) Less	ขลุ่	Leaves
	<i>Piper sarmentosum</i> Roxb.	ข้าพลุ	Leaves
	<i>Scoparia dulcis</i> L.	กรดน้ำ	Leaves
	<i>Drynariaquercifolia</i> (L.) J. Sm.	กระแตไต่ไม้	Whole plants
หมอพร (กรมหลวงชุมพรเขต อุดมศักดิ์) (TFD-04)	<i>Terminalia catappa</i> L.	หูกวาง	Leaves
หมอพร (กรมหลวงชุมพรเขต อุดมศักดิ์) (TFD-05)	<i>Tectona grandis</i> L.F.	สัก	Leaves
	<i>Pandanus amaryllofolius</i> Roxb.	เตยหอม	Leaves
หมอพร (กรมหลวงชุมพรเขต อุดมศักดิ์) (TFD-06)	<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach.	ลูกใต้ใบ	Whole plants
	<i>Smilax corbularia</i> Kunth.	ข้าวเย็นเหนือ	Rhizome
	<i>Smilax glabra</i> Roxb.	ข้าวเย็นใต้	Rhizome

ตารางที่ 2 ปริมาณสารสกัดและปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดตำรับยาไทยที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน

No.	Solvent	Yield (%)	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)
TFD-01	Decoction	1.26	62.22±0.25 ^a	11.23±0.47 ^a
	90% EtOH	1.74	51.34±0.14 ^b	10.31±0.35 ^a
TFD-02	Decoction	3.41	51.91±0.45 ^a	6.44±0.79 ^a
	90% EtOH	5.14	54.54±0.31 ^b	5.31±0.34 ^b
TFD-03	Decoction	2.54	29.53±0.37 ^a	3.63±0.78 ^a
	90% EtOH	4.65	31.54±0.20 ^b	2.14±0.24 ^b
TFD-04	Decoction	4.87	76.83±0.24 ^a	10.00±0.27 ^a
	90% EtOH	6.23	75.32±0.18 ^a	12.45±0.21 ^b
TFD-05	Decoction	2.31	42.57±0.45 ^a	4.42±0.78 ^a
	90% EtOH	3.37	31.74±0.35 ^b	3.78±0.65 ^b
TFD-06	Decoction	3.87	40.43±0.64 ^a	5.61±0.34 ^a
	90% EtOH	4.17	43.24±0.36 ^b	5.14±0.56 ^a

^{ab}ความแตกต่างทางสถิติภายในคอลัมน์, $P < 0.05$

ตารางที่ 3 ฤทธิ์การยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอนด์โปรตีนส์ (AGEs) และแอลฟา-กลูโคซิเดสจากลำไ้เล็กของหนุของตำรายาไทยที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานและตัวควบคุม

No.	Solvent	Anti-Glycation (AGEs)				α -Glucosidase inhibitory	
		IC ₅₀ (mg/mL)				Maltase	Sucrase
		Day 7	Day 14	Day 21	Day 28		
TFD-01	Decoction	1.21±0.04 ^b	1.87±0.03 ^b	1.34±0.07 ^a	>2.00 ^b	>2.00 ^d	1.44±0.03 ^c
	90% EtOH	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^d	>2.00 ^d
TFD-02	Decoction	0.12±0.03 ^a	0.14±0.05 ^a	0.13±0.03 ^a	0.21±0.06 ^a	1.65±0.05 ^d	1.32±0.07 ^c
	90% EtOH	0.21±0.01 ^a	0.31±0.04 ^a	0.54±0.07 ^a	0.56±0.08 ^a	>2.00 ^d	>2.00 ^d
TFD-03	Decoction	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^d	>2.00 ^d
	90% EtOH	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^d	>2.00 ^d
TFD-04	Decoction	0.23±0.03 ^a	0.25±0.04 ^a	1.45±0.06 ^b	3.21±0.08 ^b	0.46±0.02 ^c	0.78±0.04 ^c
	90% EtOH	1.25±0.07 ^b	1.78±0.03 ^b	>2.00 ^b	>2.00	1.38±0.03 ^d	1.47±0.05 ^c
TFD-05	Decoction	1.35±0.06 ^b	1.41±0.03 ^b	1.54±0.08 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^d	>2.00 ^d
	90% EtOH	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^d	>2.00 ^d
TFD-06	Decoction	0.95±0.05 ^b	1.25±0.07 ^b	1.65±0.03 ^b	>2.00 ^b	1.98±0.03 ^d	1.87±0.05 ^d
	90% EtOH	1.45±0.06 ^b	1.51±0.04 ^b	1.56±0.03 ^b	>2.00 ^b	>2.00 ^d	>2.00 ^d
Aminoguanidine	-	0.32±0.08	0.55±0.03	0.72±0.01	0.84±0.04	-	-
Acarbose	-	-	-	-	-	0.59±0.02	1.59±0.02

^aความแตกต่างทางสถิติของ IC₅₀ ที่ต่ำกว่าตัวควบคุมอะมิโนกวานิดีน, $P < 0.05$

^bความแตกต่างทางสถิติของ IC₅₀ ที่สูงกว่าตัวควบคุมอะมิโนกวานิดีน, $P < 0.05$

^cความแตกต่างทางสถิติของ IC₅₀ ที่ต่ำกว่าตัวควบคุมอะคาร์โบส, $P < 0.05$

^dความแตกต่างทางสถิติของ IC₅₀ ที่สูงกว่าตัวควบคุมอะคาร์โบส, $P < 0.05$

เอกสารอ้างอิง

1. อรุณทัย วรรณถาวรและคณะ. (2566). ความรอบรู้ทางสุขภาพของผู้มีภาวะ เสี่ยงและผู้ป่วยโรคเบาหวาน ชนิดที่ 2 ในประเทศไทย. *Journal of Social Sciences and Humanities Research in Asia*. 29(1), 55-73.
2. Chen S, et al. (2022). Binding interaction of betulinic acid to α -glucosidase and its alleviation on postprandial hyperglycemia. *Molecules*. 27(8), 2517.
3. Uuh Narvaez JJ, and Segura Campos MR. (2022). Combination therapy of bioactive compounds with acarbose: A proposal to control hyperglycemia in type 2 diabetes. *Journal of Food Biochemistry*, 46(10), e14268.
4. Steenbeke M, et al. (2022). The role of advanced glycation end products and its soluble receptor in kidney diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(7), 3439.
5. กัญญาณัฐ เปี่ยมงาม. (2563). การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต้านปฏิกิริยาไกลเคชั่นและต้านการอักเสบของ สมุนไพรไทยสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน. *วารสารเทคนิคการแพทย์*. 48(3), 7504-7518.
6. กองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย และ สำนักงานแพทย์พื้นบ้าน กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข. (2554). *การดูแลรักษาโรคเบาหวานด้วยภูมิปัญญาการแพทย์พื้นบ้าน*. กรุงเทพฯ: สามเจริญพาณิชย์ (กรุงเทพ) จำกัด.
7. ทัดติกา แก้วสูงเนินและคณะ. (2564). การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านในจังหวัดสกลนคร. *วารสารหมอยาไทยวิจัย*. 7(1), 15-28.
8. Damsud T, et al. (2021). Anti Diabetic Potential of Cashew Nut (*Anacardium occidentale*) Shoots and Leaves Extracts under Simulated *In Vitro* Digestion. *Science & Technology Asia*. 26(2), 138-144.
9. ขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล และคณะ. (2566). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์และแทนนินจากสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งทามและเห็ดผึ้งขมด้วยตัวทำละลายหลายชนิด. *วารสารวิจัย มข. (ฉบับบัณฑิตศึกษา)*. 23(1), 132-143.
10. ธนากรณ์ ดำสุด และคณะ. (2561). การยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอนดีโปรดักส์และแอลฟาไกลูโคซิเดส ของส่วนสกัดยอดมะม่วงหิมพานต์. *วารสารวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*. 4(2), 30-39.
11. Mutha RE, et al. (2021). Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: An overview. *Future journal of pharmaceutical sciences*. 25(7), 1-13.
12. วิภาวรรณ นิลพงษ์ และคณะ. (2562). การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร: แบบผงแห้งและแบบสกัด. *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*. 29(1), 157-166.
13. Pashikanti S, et al. (2010). Rutin metabolites: novel inhibitors of nonoxidative advanced glycation end products. *Free Radical Biology and Medicine*. 48(5), 656-663.
14. Wang Y, and Ho CT. (2012). Flavour chemistry of methylglyoxal and glyoxal. *Chemical Society Reviews*. 41(11), 4140-4149.

15. Anwar S, et al. (2021). A review on mechanism of inhibition of advanced glycation end products formation by plant derived polyphenolic compounds. **Molecular Biology Reports**. 48, 787-805.
16. Rao AR, et al. (2013). *In vitro* and *in vivo* inhibitory activities of four Indian medicinal plant extracts and their major components on rat aldose reductase and generation of advanced glycation endproducts. **Phytotherapy Research**. 27(5), 753-760.
17. Dinesha R, et al. (2021). Metal ion chelation and anti-glycation properties of polysaccharides of *Phyllanthus amarus* plant. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**. 15(3), 349-353.
18. Trakoon-osot W, et al. (2013). Pilot study: hypoglycemic and antiglycation activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) in type 2 diabetic patients. **Journal of pharmacy research**. 6(8), 859-864.
19. Duy TD, et al. (2022). Chemical constituents from the leaves of *Terminalia catappa* L.(Combretaceae). **Vietnam Journal of Science and Technology**. 60(4), 625-630.
20. Thengyai S, et al. (2020). α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of medicinal plants in Thai antidiabetic recipes and bioactive compounds from *Vitex glabrata* R. Br. stem bark. **Journal of herbal medicine**. 19, 100302.
21. Behl T, and Kotwani A. (2017). Proposed mechanisms of *Terminalia catappa* in hyperglycaemia and associated diabetic complications. **Journal of pharmacy and pharmacology**. 69(2), 123-134.
22. Iheagwam FN, et al. (2022). *Terminalia catappa* aqueous leaf extract reverses insulin resistance, improves glucose transport and activates PI3K/AKT signalling in high fat/streptozotocin-induced diabetic rats. **Scientific Reports**. 12(1), 10711.
23. Hayaza S, et al. (2019). Antidiabetic activity of ketapang (*Terminalia catappa* L.) leaves extract in streptozotocin-induced diabetic mice. **India veterinary journals**. 96(12), 11-13.
24. Qin Y, et al. (2023). Effects of hydroxylation at C3' on the B ring and diglycosylation at C3 on the C ring on flavonols inhibition of α -glucosidase activity. **Food Chemistry**. 406, 135057.
25. Şöhretoğlu D, and Sari S. (2020). Flavonoids as alpha-glucosidase inhibitors: Mechanistic approaches merged with enzyme kinetics and molecular modelling. **Phytochemistry Reviews**. 19(5), 1081-1092.
26. Barber E, et al. (2021). Flavonoids as human intestinal α -glucosidase inhibitors. **Foods**. 10(8), 1939.