

นิพนธ์ต้นฉบับ

**ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน**

สุภัทสร วันสุทะ¹ และอรณิชา ครองยุติ^{1*}

¹ สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี จังหวัดอุดรธานี 41000

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: Ornnicha.k@udru.ac.th

Received date: October 23, 2023; Revised date: December 05, 2023; Accepted date: December 14, 2023

บทคัดย่อ

เบาหวานเป็นกลุ่มโรคเกี่ยวข้องกับการเผาผลาญอาหารเนื่องจากร่างกายผลิตอินซูลินไม่เพียงพอหรือมีภาวะดื้อต่ออินซูลิน ส่งผลให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งมีวิธีการรักษาโรคเบาหวาน เช่น การลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการยับยั้งเอนไซม์ย่อยอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต คือ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase enzyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากสมุนไพรรวม 3 ชนิด ได้แก่ หมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำให้แห้งเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH การหาปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu การหาปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chloride และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) โดยมีอะคาร์โบสเป็นยามาตรฐานผลการวิจัยพบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ สารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน ตามลำดับ โดยสารสกัดหมากเฒ่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีที่สุด (%inhibition = 49.25 ± 0.86 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาปลีกกล้วยน้ำว้า (%inhibition = 42.72 ± 1.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และลูกหม่อน (%inhibition = 32.10 ± 0.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อเทียบกับอะคาร์โบส (%inhibition = 69.59 ± 0.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังนั้น คาดว่าสารสกัดหมากเฒ่า น่าจะมีแนวโน้มในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวาน และเป็นสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานในพื้นถิ่นที่มีศักยภาพในการพัฒนาต่อยอดวิจัยเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันและรักษาโรคเบาหวานในอนาคต

คำสำคัญ: โรคเบาหวาน, แอลฟาอะไมเลส, ต้านอนุมูลอิสระ

Effect of inhibition of alpha-amylase enzyme activities and antioxidation of *Antidesma velutinsum* Blume, *Musa sapientum* Linn and *Morus alba* Linn Extracts

Supasson Wansutha¹ and Ornnicha Krongyut^{1*}

¹ Thai Traditional Medicine Program, Faculty of Science, Udon Thani Rajabhat University,
Udon Thani 41000, Thailand

*Corresponding Author E-mail: Ornnicha.k@udru.ac.th

Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic disorder caused by insufficient or inefficient insulin secretion that is characterized by hyperglycemia. One of the therapeutic approaches for decreasing the concentration of glucose in the blood is to inhibition of carbohydrate digesting enzymes is α -amylase, in the gastrointestinal tract. In this research, the aimed to evaluate the antioxidant activity and Inhibition of Alpha-Amylase Activities of makmao (*Antidesma velutinsum* Blume), banana blossom (*Musa sapientum* Linn.) and mulberry (*Morus alba* Linn.) extracts. Herbal traditional plants were extracted with 70% of ethanol for 24 hours and dried before the evaluation of anti-oxidant activity using the DPPH method, total phenolics content (TPC) using Folin-Ciocalteu method, total flavonoids content (TFC) using Aluminum chloride method, and alpha-amylase enzyme using dinitrosalicylic acid (DNS) with acarbose as the standard inhibitor. The results showed that among three plant extracts had the effect of inhibiting the alpha-amylase enzyme in descending order: makmao, banana blossom and mulberry extracts respectively. The makmao extract had the effect to inhibit the alpha-amylase enzyme. best (%Inhibition = 49.25 ± 0.86 $\mu\text{g/mL}$), followed by banana blossom (%Inhibition = 42.72 ± 1.01 $\mu\text{g/mL}$) and mulberry (%Inhibition = 32.10 ± 0.12 $\mu\text{g/mL}$) compared to Acarbose (%Inhibition = 69.59 ± 0.13 $\mu\text{g/mL}$). Therefore, makmao extract is a local Thai herb that has the potential for further research and development as anti-diabetic herbal product in the future.

Keywords: Diabetes, Alpha-amylase enzyme, Antioxidant

บทนำ

โรคเบาหวาน (Diabetes) เป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขของโลกรวมทั้งประเทศไทยและเป็นภาวะเรื้อรังของการมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งเกิดจากความบกพร่องของการหลั่งอินซูลินหรือการออกฤทธิ์ของอินซูลิน ส่งผลให้เกิดความผิดปกติกับอวัยวะหลายส่วน เช่น ตา ไต ระบบประสาท ระบบหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น⁽¹⁾ ปัจจุบันจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วโดยคาดว่าจะเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนถึง 592 ล้านคน ในปี ค.ศ. 2035⁽²⁾ ทำให้องค์การอนามัยโลก (World Health Organization) ตระหนักถึงปัญหาดังกล่าว เนื่องจากผู้ป่วยเบาหวานจะเพิ่มปัจจัยเสี่ยงนำไปสู่ภาวะโรคแทรกซ้อนที่รุนแรงขึ้น เช่น โรคหัวใจ (Heart disease) ภาวะไตวาย (Kidney failure) และเบาหวานขึ้นจอตา (Diabetic retinopathy)⁽³⁾ โรคเบาหวานแบ่งออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 diabetes mellitus) โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes mellitus) โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (Gestational Diabetes) และโรคเบาหวานที่มีสาเหตุจำเพาะ (Specific types of diabetes due to other causes) วิธีการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานโดยทั่วไปใช้วิธีการควบคุมอาหารและออกกำลังกายร่วมกับการฉีดอินซูลิน ในรายที่เป็นมากแพทย์จะให้การรักษาโดยการให้รับประทานยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์ในการลดหรือป้องกันการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคส เช่น อะคาร์โบส (Acarbose) ไมกลิทอล (Miglitol) และวอลิโบส (Voglibose) เป็นต้น โดยจะออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของแป้งได้เป็นน้ำตาลกลูโคส ทำให้การดูดซึมน้ำตาลกลูโคสจากลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือดลดลงลดภาวะการมีน้ำตาลในเลือดสูงแต่ในการรักษาโดยใช้ยาในกลุ่มนี้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดผลข้างเคียง เช่น ภาวะตับเป็นพิษ ท้องอืดท้องเฟ้อ ท้องเสียและคลื่นไส้⁽⁴⁾

อนุมูลอิสระ (Free radical) เป็นสารที่ไม่เสถียรทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ว่องไว ดังนั้นสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆในร่างกายได้ เช่น ไขมัน โปรตีน หรือ สารพันธุกรรม ภาวะที่อนุมูลอิสระมากเกินไปจะก่ออันตรายแก่ร่างกาย เรียกว่าภาวะนี้ว่า ภาวะเครียด (Oxidative stress) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ร่างกายจะผลิตสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาเองแต่อาจจะไม่เพียงพอต่อการกำจัดอนุมูลอิสระประกอบกับปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อสภาวะผิดปกติของเซลล์ โดยเฉพาะความเครียด รังสี และสารพิษต่าง ๆ ส่งผลให้อนุมูลอิสระมีปริมาณมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ จึงเกิดสภาวะไม่สมดุล ทำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันขึ้น ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างอนุมูลอิสระกับโรคเบาหวานหากอนุมูลอิสระหรือ Reactive oxygen species (ROS) ในร่างกายจะถูกกระตุ้นด้วยปัจจัยต่าง ๆ เช่น ควันบุหรี่ ยา และความเครียด เป็นต้น ทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นและสะสมมากขึ้นในเซลล์ก่อให้เกิดการอักเสบในเซลล์ จากนั้นเซลล์จะหลั่งสารไซโตไคน์ออกมากระตุ้นให้อนุมูลอิสระในร่างกายเพิ่มขึ้นส่งผลทำให้ NADPH oxidase (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase) ทำงานเพิ่มขึ้นและส่งผลให้เอนไซม์ที่ใช้ในการต้านอนุมูลอิสระเช่น ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Superoxide dismutase; SOD) แคทาเลส (Catalase) และกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidases) สร้างไม่เพียงพอต่อการต้านอนุมูลอิสระส่งผลให้เกิดการอักเสบภายในเซลล์จะนำไปสู่ภาวะเครียดและการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดภาวะเมตาบอลิกซินโดรมและโรคเรื้อรัง เช่น ภาวะดื้ออินซูลิน โรคเบาหวาน โรคอ้วน และโรคหัวใจ เป็นต้น⁽⁵⁾

กระบวนการย่อยและดูดซึมแป้งและคาร์โบไฮเดรต เมื่อรับประทานอาหารจำพวกแป้งและคาร์โบไฮเดรตเข้าสู่ร่างกาย เซลล์จะผลิตอินซูลินเพื่อกระตุ้นให้ร่างกายใช้หรือสะสมน้ำตาลที่ได้รับจากอาหารจะต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์จึงทำให้การดูดซึมของกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดลดลง และช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือด หากมีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จะยับยั้งการถูกดูดซึมแป้งและคาร์โบไฮเดรตเข้าสู่ร่างกายได้⁽⁶⁾ ด้วยเหตุนี้จึงมีการค้นหาสารประกอบจากธรรมชาติ เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อใช้ในการควบคุมรักษาโรคเบาหวาน และยังส่งเสริมสุขภาพแบบองค์รวมได้อย่างมีประสิทธิภาพพืชสมุนไพรท้องถิ่น คือ การใช้สมุนไพรร่วมกับภูมิปัญญาท้องถิ่นใช้รักษาอาการเจ็บป่วยของคนในท้องถิ่นซึ่งเป็นองค์ความรู้ที่ได้รับการสืบทอดกันมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันโดยผ่านการคิดค้นและปรับปรุงเปลี่ยนแปลงจนได้แนวทางการใช้สมุนไพรที่

เหมาะสมสอดคล้องกับสภาพสังคมและเป็นที่ยอมรับของคนในท้องถิ่นนั้น⁽⁷⁾ หมากเฒ่า (*Antidesma velutinsum* Blume) เป็นผลไม้พื้นถิ่นพบทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีสรรพคุณ ผลสุกมีรสเปรี้ยวฝาดหวานใช้แก้ไข้ ทำยาพอก แก้อาการปวดศีรษะ แก้กึ่งแคะและแก้ท้องบวม⁽⁸⁾ ซึ่งพบสารสำคัญ เช่น แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) และ สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและลดไขมัน⁽⁹⁾ ปลีกกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* Linn) มีรสฝาดสรรพคุณแก้โรคกระเพาะอาหารลำไส้ แก้อาการท้องอืด บำรุงโลหิตและลดน้ำตาลในเลือด พบสารสำคัญ เช่น วิตามินแคโรทีนอยด์ สารกลุ่มฟีนอลิก ลิกนิน ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง และลดระดับน้ำตาลในเลือด⁽¹⁰⁾ และลูกหม่อน (*Morus alba* Linn) มีรสเปรี้ยวหวานเย็น สรรพคุณทำให้ชุ่มคอ บำรุงไต ดับร้อน⁽⁸⁾ พบสารสำคัญ ได้แก่ สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และวิตามิน ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ลดระดับน้ำตาลในเลือด บำรุงระบบประสาทและสมอง⁽¹¹⁾ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาศึกษาภาพพิษสมุนไพรท้องถิ่น 3 ชนิด ได้แก่ หมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เพื่อให้ได้ข้อมูลในการพิจารณาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์และเพิ่มทางเลือกในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวาน

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบพฤกษเคมีกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน

ระเบียบวิธีศึกษา

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองทางห้องปฏิบัติการ (Experimental research) โดยมีการทดสอบ 5 ขั้นตอนดังนี้

1. เก็บตัวอย่างสมุนไพร

การเก็บตัวอย่างและคัดเลือกสมุนไพรผู้วิจัยได้คัดเลือกสมุนไพรทั้งหมดสามชนิด ได้แก่ หมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน ซึ่งสมุนไพรทั้งสามชนิดนี้มีรายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและลดระดับน้ำตาลในเลือดได้^(9,10,11) นอกจากนี้ยังเป็นสมุนไพรที่นิยมปลูกและพบได้ง่ายในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนผู้วิจัยได้ลงพื้นที่สำรวจและเก็บตัวอย่าง ได้แก่หมากเฒ่า เก็บจากพื้นที่อำเภอเมืองจังหวัดเลย ในเดือนสิงหาคม 2564 ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน เก็บจากพื้นที่อำเภอน้ำโสม จังหวัดอุดรธานี ในเดือนสิงหาคม 2564 ภายหลังจากการเก็บตัวอย่างสมุนไพรทั้งสามชนิด ผู้วิจัยจะนำสมุนไพรล้างทำความสะอาด 1 รอบ ผึ่งให้แห้งสนิท และเก็บในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อให้สมุนไพรคงความสดใหม่ก่อนนำไปทำงานสกัดสมุนไพรต่อไป

2. การเตรียมสมุนไพรและการสกัดสมุนไพร

การเตรียมสมุนไพร โดยนำสมุนไพรทั้งสามชนิดที่เก็บไว้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสมาล้างทำความสะอาด 2 รอบ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 1 รอบ จากนั้นอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมักด้วยวิธี Maceration โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 70% อัตราส่วน 1:2 ส่วน (สมุนไพร 1 กิโลกรัมต่อตัวทำละลาย 70% เอทานอล 2 ลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมารองด้วยผ้าขาวบางหรือผ้ากรองที่สะอาดและกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แยกส่วนกากแล้วนำมาสกัดซ้ำอีก 2 รอบ แล้วนำส่วนสารสกัดที่ละลายออกมากับตัวทำละลายที่แยกได้จากการกรองไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) เพื่อระเหยแห้งตัวทำละลาย นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) คำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัด (%yield) แล้วเก็บสารสกัดที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และนำไปทำการศึกษาฤทธิ์ต่อไป

3.การทดสอบสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้น

3.1 ทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมด (Total phenolic content)

วิธีหาปริมาณสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-ciocalteu reagent ดัดแปลงจาก Singleton และคณะ⁽¹²⁾ โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เตรียมสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนในความเข้มข้นต่าง ๆ (62.5-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสม 50% ฟอลินรีเอเจน (Folin reagent) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 20% โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) ปริมาตร 125 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกับความเข้มข้น แล้วจึงหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น และค่าสัมประสิทธิ์เชิงเส้น (R^2) เพื่อให้ได้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดแทนค่าในสมการเส้นตรงและคำนวณหาปริมาณของฟีนอลิกรวมทั้งหมด โดยรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลกับกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

3.2 ทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมด (Total flavonoid content)

วิธีหาปริมาณสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric ดัดแปลงจาก Chang และคณะ⁽¹³⁾ โดยใช้เคอร์ซีติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เตรียมสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน (ความเข้มข้น 62.5-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับ 5% อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum chloride) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากทำปฏิกิริยาแล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 437 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกับความเข้มข้น แล้วจึงหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น และค่าสัมประสิทธิ์เชิงเส้น (R^2) เพื่อให้ได้กราฟมาตรฐานของเคอร์ซีตินจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดแทนค่าในสมการเส้นตรงและคำนวณหาปริมาณของฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมด โดยรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลกับเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด (mg QE/g extract)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ดัดแปลงจาก Chu และคณะ⁽¹⁴⁾ โดยใช้วิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 5-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นเตรียมสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน (ความเข้มข้น 500-2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากทำปฏิกิริยาแล้วจากนั้นจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร คำนวณหาค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้สร้างกราฟความสัมพันธ์เส้นตรง คำนวณ และรายงานผลเป็นค่าการยับยั้งร้อยละ 50 (50% inhibition concentration; IC_{50})

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของมอลโทส (Maltose) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยารีดักชันของ 3,5-Dinitrosalicylic reagent (DNS reagent) ดัดแปลงจาก Worsztynowicz และคณะ⁽¹⁵⁾ ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยใช้ยาอะคาร์โบสเป็นยามาตรฐาน (ความเข้มข้น 12.5-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เตรียมสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน ในตัวทำละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 (phosphate buffered saline; PBS) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (ความเข้มข้น 1.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เติมน้ำ 1% แป้งข้าวโพด ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำ DNS reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นให้ได้ 200 ไมโครลิตรลงในหลุม Microplate เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของมอลโทสที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction reaction) ของ DNS reagent และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและร้อยละการยับยั้งคำนวณหาร้อยละการยับยั้ง (% inhibition)

การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

ผลการทดลองทำซ้ำในแต่ละตัวอย่าง จำนวน 3 ซ้ำ ($n = 3$) แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบกับความแตกต่างทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแต่ละกลุ่มโดยใช้สถิติ One-Way ANOVA (SPSS) โดยพิจารณานัยสำคัญทางสถิติ เมื่อ $p\text{-value} < 0.001$

ผลการศึกษา

1. ลักษณะทางกายภาพและผลผลิตของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน

จากการสกัดสมุนไพรทั้งสามชนิดด้วยวิธีการหมักโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 70 พบว่าสารสกัดหมากเฒ่ามีลักษณะเหนียวหนืด มีสีม่วงเข้ม และมีกลิ่นเฉพาะตัว (ร้อยละผลผลิต 0.91 ± 0.12) สารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้ามีลักษณะเป็นผงแห้ง และสีเหลืองอ่อน (ร้อยละผลผลิต 0.56 ± 0.04) และสารสกัดลูกหม่อนมีลักษณะเป็นผงแห้ง สีน้ำตาลอ่อน และมีกลิ่นเฉพาะตัว (ร้อยละผลผลิต 5.66 ± 0.16) (ตารางที่ 1)

2. ปริมาณพฤกษเคมีเบื้องต้น (กลุ่มฟีนอลิกและกลุ่มฟลาโวนอยด์)

การหาปริมาณสารพฤกษเคมีในกลุ่มฟีนอลิกและกลุ่มฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน พบว่า สารสกัดหมากเฒ่ามีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (ปริมาณสารฟีนอลิก $22.56 \pm 0.02 \text{ mg GAE/g extract}$ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ $1.35 \pm 0.06 \text{ mg QE/g extract}$) รองลงมาได้แก่ สารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้า (ปริมาณสารฟีนอลิก $16.35 \pm 0.65 \text{ mg GAE/g extract}$ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ $0.18 \pm 0.03 \text{ mg QE/g extract}$) และสารสกัดลูกหม่อน (ปริมาณสารฟีนอลิก $12.13 \pm 0.26 \text{ mg GAE/g extract}$ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ $0.06 \pm 0.04 \text{ mg QE/g extract}$) ตามลำดับแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหมากเฒ่ามีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.001$) (ตารางที่ 2)

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนโดยใช้วิตามินซี (ascorbic) เป็นสารมาตรฐาน ($IC_{50} = 12.95 \pm 0.01$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่า สารสกัดหมากเฒ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ($IC_{50} = 21.81 \pm 3.50$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาได้แก่ปลีกกล้วยน้ำว้า ($IC_{50} = 42.82 \pm 0.47$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และลูกหม่อน $IC_{50} = 35.76 \pm 0.35$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดหมากเฒ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานวิตามินซี และดีกว่าสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.001$) (ตารางที่ 2)

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน

จากผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนโดยใช้ยาอะคาร์โบสเป็นยามาตรฐานพบว่า สารสกัดหมากเฒ่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดี ($\%inhibition = 49.25 \pm 0.86$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 0.52 ± 0.06 ไมโครกรัมสมมูลกับอะคาร์โบสต่อมิลลิลิตรสารสกัด) ใกล้เคียงกับยาอะคาร์โบส ($\%inhibition = 69.59 \pm 0.13$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาได้แก่ ปลีกกล้วยน้ำว้า ($\%inhibition = 42.72 \pm 1.01$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และลูกหม่อน ($\%inhibition = 32.10 \pm 0.12$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหมากเฒ่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.001$) (ตารางที่ 3)

อภิปรายผล

งานวิจัยนี้มิได้ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยได้แก่หมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อนในหลอดทดลอง เพื่อเป็นอีกทางเลือกในการรักษาและลดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ในการศึกษาได้ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกกลุ่มฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสระหว่างสารสกัดพืชทั้งสามชนิดกับตัวควบคุมบวกได้แก่ อะคาร์โบสซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน โดยมีกลไกในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในระดับอ่อน เพื่อลดอัตราการสลายคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลกลูโคสเป็นผลให้ระดับของน้ำตาลในเลือดลดลง⁽¹⁷⁾

1. การสกัดสารจากหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน

จากการสกัดสารจากหมากเฒ่าปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนโดยใช้วิธีการหมักด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 70 สารสกัดทั้งสามชนิดมีลักษณะและร้อยละผลผลิตที่แตกต่างกัน พบว่า สารสกัดลูกหม่อนให้ร้อยละผลผลิตมากที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดหมากเฒ่า และสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้า ตามลำดับ ซึ่งการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเป็นการแยกสารโดยอาศัยหลักการละลายระหว่างตัวทำละลายกับสารสำคัญในสมุนไพร ทั้งนี้จะอาศัยหลักการของการละลายความมีขั้ว (Polarity) ของทั้งตัวทำละลายและสารสำคัญ โดยสารสำคัญจะสามารถละลายในตัวทำละลายได้ก็ต่อเมื่อความขั้วของตัวสารสำคัญกับตัวทำละลายมีค่าใกล้เคียงกัน (Like dissolves like) ซึ่งเอทานอลเป็น all-purpose solvent สามารถละลายสารที่มีขั้วและกึ่งมีขั้ว เช่น สารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ อีกทั้งมีคุณสมบัติในการละลายได้ดีและไม่ทำให้สารสำคัญสลายตัว⁽¹⁹⁾

2. ปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกและกลุ่มฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน

จากการหาปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chlorideของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน พบว่า สารสกัดหมากเฒ่ามีปริมาณสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิก และสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อน อาจจะเป็นผลจากปัจจัยแหล่งที่มาของสมุนไพรส่งผลต่อปริมาณของสารสำคัญ ซึ่งหมากเฒ่าได้วัตถุดิบจากพื้นที่จังหวัดเลย เป็นพื้นที่ที่เหมาะสมต่อการปลูกหมากเฒ่าและช่วงเวลาเก็บเกี่ยวเป็นช่วงเวลาที่ผลผลิตมีปริมาณของสารสำคัญ จึงส่งผลให้สารสกัดหมากเฒ่ามีปริมาณของสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jorjong และคณะ⁽²⁰⁾ ทำการศึกษาสารสกัดเอทานอลของผลหมากเฒ่าหลวงทั้ง 14 ชนิดจากอำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสกลนคร พบว่าสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในผลหมากเฒ่าหลวงทั้ง 14 ชนิด ได้แก่ gallic acid epicatechin catechin และ cyanidin-3-O-glucoside เป็นต้น และพบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน⁽²¹⁾ ฤทธิ์ต้านมะเร็งและฤทธิ์ต้านโรคเบาหวาน⁽²²⁾ และในส่วนของสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อนมีการรายงานสารฟลาโวนอยด์ก่อนหน้า พบว่า มีสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนินชาโพนินแอนโทไซยานิน และแคมเฟอร์อล^(24,25) ซึ่งสารกลุ่มนี้อาจจะเป็นสารที่ออกฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดได้⁽²³⁾

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนพบว่า สารสกัดหมากเฒ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนตามลำดับ คาดว่าเป็นผลจากสารสกัดหมากเฒ่าที่มีปริมาณของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากกว่าสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและสารสกัดลูกหม่อน ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมปริมาณสารสำคัญในสมุนไพรมีความสัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลอิสระและสอดคล้องกับงานวิจัยของ ศิริพรรณ สุขขังและคณะ (2560) ได้ศึกษาผักพื้นบ้านรสเปรี้ยวฝาดและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า ผักพื้นบ้านที่มีรสเปรี้ยวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁽²⁶⁾ จากข้อมูลงานวิจัยช่วยสนับสนุนว่าสมุนไพรที่มีรสเปรี้ยวฝาด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีกลุ่มสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบทางฟลาโวนอยด์ ซึ่งปริมาณสารมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระและโรคเบาหวาน หากร่างกายเกิดอนุมูลอิสระเพิ่มและไปสะสมในร่างกายมากขึ้นจนทำให้เกิดการอักเสบของเซลล์ จะหลัง

สารไซโตไคน์ส่งผลต่อกระบวนการของเซลล์ไขมัน (ปริมาณกรดไขมัน กลูโคส และอินซูลิน) ก่อให้เกิดเมตาบอลิกซินโดรม^(27,28) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดหมากเฒ่า ที่มีรสเปรี้ยวฝาดและมีปริมาณสารพฤกษเคมีในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงส่งผลให้สารสกัดหมากเฒ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี ดังนั้น สารสกัดหมากเฒ่า น่าจะมีแนวโน้มช่วยลดความเสี่ยงในการพัฒนาโรคเบาหวานโดยการยับยั้งภาวะลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน และยับยั้งการสะสมน้ำตาลในเลือดได้⁽²⁹⁾

4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อน

จากผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้า และลูกหม่อนพบว่า สารสกัดทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ โดยเรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ สารสกัดหมากเฒ่าปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อน ตามลำดับ จากการทดสอบสารสกัดหมากเฒ่า มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ใกล้เคียงกับยาอะคาร์โบส และมีร้อยละการยับยั้งได้ดีกว่าสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อน ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยที่ผ่านมาพบว่า มีสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ได้แก่ สารสกัดใบบัวหลวง (*Numbo nucifera*) มีสารฟลาโวนอยด์เป็นสารสำคัญและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ($IC_{50} = 0.82$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)⁽¹⁶⁾ ประกอบกับผลการทดลองในสัตว์ทดลองของสารสกัดใบบัวหลวง สามารถลดน้ำหนักตัวของหนู ลดปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ในตับ และเพิ่มปริมาณของกลีเซอรอล⁽³⁰⁾ และสารสกัด chokeberry (Black chokeberry) มีปริมาณกลุ่มสารโพลีฟีนอลฟีนอลิก และแอนโทไซยานิน ได้แก่ neochlorogenic, chlorogenic acid, chlorogenic acid, cyanidin-3-galactoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-arabinoside และ cyanidin-3-xyloside ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสปริมาณสารที่สามารถยับยั้งได้ดีที่สุด คือ Chlorogenic acid ความเข้มข้นที่ 0.63 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 53.43%⁽¹⁵⁾ สำหรับสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อนมีการรายงานก่อนหน้านี้ พบว่า ปลีกกล้วยน้ำว้า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูที่เป็นเบาหวานได้⁽³¹⁾ และสารสกัดลูกหม่อนพบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส⁽³²⁾ จากการรายงานที่สนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดสมุนไพรทั้งสามชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้แตกต่างกันโดยเรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ สารสกัดหมากเฒ่าปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อน ตามลำดับ แต่จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า สารสกัดหมากเฒ่า มีปริมาณสารพฤกษเคมีในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสารสกัดปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อน ดังนั้น สารสกัดหมากเฒ่า น่าจะมีแนวโน้มในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวานได้อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นจึงต้องมีการศึกษาเพื่อหาข้อมูลเพิ่มเติมในเรื่องการทดสอบทางห้องปฏิบัติการเชิงลึก ขนาดการใช้ที่เหมาะสม ความเป็นพิษ และฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านอื่น ๆ รวมถึงการศึกษาในสัตว์ทดลองและทางคลินิกก่อนนำไปพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์ในการรักษาโรคเบาหวาน

ข้อสรุป

จากผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยสามชนิด ได้แก่ หมากเฒ่า ปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อนพบว่า สารสกัดทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ สารสกัดหมากเฒ่าปลีกกล้วยน้ำว้าและลูกหม่อน ตามลำดับดังนั้นคาดว่าสารสกัดหมากเฒ่า น่าจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวานได้ดีกว่าสมุนไพรอีกสองชนิด แต่อย่างไรก็ตามการวิจัยนี้ยังเป็นเพียงการทดลองในหลอดทดลอง (*In vitro*) จึงจะต้องทำการศึกษาในเชิงลึกต่อไป เช่น การทดลองในสัตว์ทดลอง การทดลองทางคลินิก เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาพัฒนาต่อยอดเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่ป้องกันและรักษาโรคเบาหวานได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากผู้วิจัยได้รับความร่วมมือและช่วยเหลือในการปฏิบัติงานจากผู้ร่วมโครงการวิจัย ผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิจัย

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพ และร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบ ปลิกล้วยน้ำว่าและลูกหม่อน

ตัวอย่างสมุนไพร	ร้อยละผลผลิตของสารสกัด	ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด
หยาบ	0.91 ± 0.12	เหนียวหนืด มีสีม่วงเข้ม และมีกลิ่นเฉพาะตัว
ปลิกล้วยน้ำว่า	0.56 ± 0.04	เป็นผงแห้ง และสีเหลืองอ่อน
ลูกหม่อน	5.66 ± 0.16	เป็นผงแห้ง สีน้ำตาลอ่อน และมีกลิ่นเฉพาะตัว

ตารางที่ 2 ผลการหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ ปลิกล้วยน้ำว่าและลูกหม่อน

ลำดับที่	สารสกัด	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ IC ₅₀ (µg/mL)	สารฟลาโวนอยด์	
			สารกลุ่มฟีนอลิก (mgGAE/g extract)	สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (mg QE/g extract)
1	หยาบ	21.81±3.50**	22.56±0.02**	1.35±0.06**
2	ปลิกล้วยน้ำว่า	35.76±0.35**	16.35±0.65**	0.18±0.03**
3	ลูกหม่อน	42.82±0.47**	12.13±0.26**	0.06±0.04**
4	Ascorbic acid	12.95±0.01**	-	-

**แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.001)

GAE=Gallic acid, QE= Quercetin

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบ ปลิกล้วยน้ำว่าและลูกหม่อน

ลำดับที่	สารสกัด	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	
		% Inhibition (Conc.1000 µg/mL)	µg acarbose eq/mg extract
1	หยาบ	49.25±0.86**	0.52±0.06**
2	ปลิกล้วยน้ำว่า	42.72±1.01**	0.46±0.08**
3	ลูกหม่อน	32.10±0.12**	0.38±0.02**
4	ยาอะคาร์โบส(Conc.100 µg/mL)	69.59±0.13**	-

**แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.001)

Conc. = Concentration

เอกสารอ้างอิง

1. American diabetes association (2013). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, 36, 67-74.
2. Guariguata, L., et al. (2014). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 103(2), 137-149.
3. สุปรียา เสี่ยงดัง (2560). พฤติกรรมการดูแลสุขภาพตนเองของผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ได้. **วารสารเครือข่ายวิทยาลัยพยาบาลและการสาธารณสุขภาคใต้**, 4(1), 191-204
4. Gerich, J. E., et al. (2001). Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. **Diabetes Care**, 24(2), 382-391.
5. Lao-ong, T., et al. (2012). Alteration of hepatic glutathione peroxidase and superoxide dismutase expression in streptozotocin-induced diabetic mice by berberine. **Pharmaceutical Biology**, 50(8), 1007-1012.
6. Raptis, S.A. and Dimitriadis, G.D. (2001). Oral hypoglycemic agents: insulin secretagogues, α -glucosidase inhibitors and insulin sensitizers. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**. 109(Suppl. 2), S265-S287.
7. มูลนิธิโครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน (2560). สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เรื่องที่ 7 พฤกษศาสตร์พื้นบ้าน. **มูลนิธิโครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน**, กรุงเทพฯ, 21, 222-232.
8. วุฒิ วุฒิธรรมเวช (2564). ย่อเภสัชกรรมไทยและสรรพคุณสมุนไพร. **ศิลป์สยามบรรจุกัญท์และการพิมพ์จำกัด**, กรุงเทพฯ, 75.
9. Krongyut O., and Sutthanut K. (2019). Phenolic profile, antioxidant activity, and anti-obesogenic bioactivity of maoluang fruits (*Antidesma bunius* L.). **Molecules**, 24(22), 4109.
10. Ahmad B.A., et al. (2018). Pharmacological activities of banana. **Banana Nutrition - Function and Processing Kinetics**, 18(216), 114.
11. Chen C., et al. (2021). *Morus alba* L. plant: bioactive compounds and potential as a functional food Ingredient. **Foods**, 10(3), 689.
12. Singleton, V.L., and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, 144.
13. Chang, Q., et al. (2002). Hawthorn. **Journal of Clinical Pharmacology**, 42(6), 605-612.
14. Chu, Y.H., et al. (2000). Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80, 561-566.
15. Worsztynowicz, P., et al. (2014). Pancreatic α -amylase and lipase inhibitory activity of polyphenolic compounds present in the extract of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.). **Process Biochemistry**, 49(9), 1457-1463.
16. Ono, Y., et al. (2006). Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 106(2), 238-244.
17. Raman, S. T., et al. (2016). *In vitro* and *In vivo* antioxidant activity of flavonoid extracted from mulberry fruit (*Morus alba* L.). **Pharmacognosy Magazine**, 12(46), 128-133.
18. Ellappan, V., et al. (2015). Interaction of digestive enzymes with tunable light emitting quantum dots: a thorough spectroscopic investigation. **Luminescence**, 30(7), 978-989.

19. รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. **สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**, กรุงเทพมหานคร.
20. Jorjong, S., et al. (2015). Phytochemicals and antioxidant capacities of mao-luang (*Antidesmabunius* L.) cultivars from northeastern Thailand. **Food Chemistry**, 181, 248-255.
21. Belina-Aldemita, M. D., et al. (2013). Antioxidant properties of bignay (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) wine at different stages of processing. **Philippine Agricultural Scientist**, 96(3), 308-313.
22. Pan, A., et al. (2011). Red meat consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 94(4), 1088-1096.
23. Lawag, I. L., et al. (2012). α -glucosidase inhibitory activity of selected Philippine plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 144(1), 217-219.
24. Pari, L., and Umamaheswari, J. (2000). Anti-hyperglycaemic activity of *Musa sapientum* flowers: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. **Phytotherapy Research**, 14(2), 136-138.
25. อรัญญา ศรีบุศราคม (2557). ใบหม่อนกับโรคเบาหวาน. **จุลสารข้อมูลสมุนไพร**, 32(1), 3-9.
26. ศิริพรรณ สุขขังและคณะ (2560). เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55 สาขาพืช สาขาสัตว์ สาขาสัตวแพทย์ สาขาประมง สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55 กรุงเทพฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**.
27. Koya, D., et al. (2003). Effects of antioxidants in diabetes-induced oxidative stress in the glomeruli of diabetic rats. **Journal of the American Society of Nephrology**, 14 (suppl 3), S250-S253.
28. Lao-ong, T., et al. (2013). Impacts of antioxidative system and oxidative stress on progression of diabetic mellitus. **Isan Journal of Pharmaceutical Sciences**, 9(1), 1-14.
29. Kanlayavattanukul, M., et al. (2021). Valorization of spent coffee grounds as the specialty material for dullness and aging of skin treatments. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, 8, 55.
30. Ahn, J., et al. (2008). The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 373, 545-549.
31. Vilhena, R. O., et al. (2020). Antidiabetic activity of *Musa x paradisiaca* extracts in streptozotocin-induced diabetic rats and chemical characterization by HPLC-DAD-MS. **Journal of Ethnopharmacology**, 254, 112666.
32. Yang Z, et al. (2012). Bioassay-guided screening and isolation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitors from leaves of *Morus alba* Linn. **Food Chemistry**, 131, 617-625.