โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ประจำปี 2563
เรื่อง ฤทธิ์ทางชีวภาพของชาสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase
(Biological activity of Thai herbal teas to inhibit α-amylase and α-glucosidase enzymes)

โดย

นสภ. หทัยภัทร	อ่อนฉ่ำ	รหัสนิสิต	59210075
นสภ. SOTH	ROTHEA	รหัสนิสิต	59210139
นสภ. วีระเกียรติ์	ตันฮวด	รหัสนิสิต	59210202

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับบนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ประจำปี 2563
เรื่อง ฤทธิ์ทางชีวภาพของชาสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase
(Biological activity of Thai herbal teas to inhibit α-amylase and α-glucosidase enzymes)

โดย

นสภ. หทัยภัทร	อ่อนฉ่ำ	รหัสนิสิต	59210075
นสภ. SOTH	ROTHEA	รหัสนิสิต	59210139
นสภ. วีระเกียรติ์	ตันฮวด	รหัสนิสิต	59210202

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับบนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

งานวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ทางชีวภาพของชาสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase ฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของชาสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ชาขลู่ ชาช้าพลู ชาย่านาง และชาหญ้าหนวดแมวที่มีข้อมูลการใช้ประโยชน์ สำหรับลดระดับน้ำตาลในเลือด ตลอดจนทดสอบหาปริมาณน้ำและเวลาที่เหมาะสมของการสกัดชา เพื่อให้ได้สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว ซึ่งข้อมูลจากการศึกษานี้คาดว่า สามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากสมุนไพร และใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกสมุนไพร เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และยังใช้เป็นแนวทางสำหรับการศึกษาต่อยอดการพัฒนาสมุนไพรในอนาคตได้

คณะผู้จัดทำ
นสภ. หทัยภัทร อ่อนฉ่ำ
นสภ. SOTH ROTHEA
นสภ. วีระเกียรติ์ ตันฮวด

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ประจำปี 2563

เรื่อง ฤทธิ์ทางชีวภาพของชาสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase

ผู้จัดทำโครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. นสภ. หทัยภัทร	อ่อนฉ่ำ	รหัส	59210075
2. นสภ. SOTH	ROTHEA	รหัส	59210139
3. นสภ. วีระเกียรติ์	ตันฮวด	รหัส	59210202

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. อ.ดร. สุดารัตน์ หาดเพชร (ที่ปรึกษาหลัก)
2. ผศ.ดร. ณิชกานต์ ภีระคำ (ที่ปรึกษาร่วม)

บทคัดย่อ

ชาสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ขลู่ ช้าพลู ย่านาง และหญ้าหนวดแมวที่สามารถหาได้ง่ายตามท้องตลาดในประเทศไทยมีข้อมูลภูมิปัญญาถึงการใช้เพื่อช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ซึ่งในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบปริมาตรน้ำและเวลาที่เหมาะสมสำหรับชงชาสมุนไพร รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase ที่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยตัวอย่างชาทั้งหมด ได้แก่ ขลู่ ช้าพลู ย่านาง และหญ้าหนวดแมวถูกนำมาสกัดด้วยน้ำร้อน 95-100 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่า ปริมาตรน้ำ และเวลาที่เหมาะสมสำหรับสกัดชา คือ 100 มิลลิลิตร และเวลา 5 นาที นอกจากนี้สมุนไพรทั้งหมดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase โดยชาช้าพลูแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งสูงที่สุด คือ 10.10% รองลงมา คือ ชาขลู่ (8.68%) ชาหญ้าหนวดแมว (6.50%) และชาย่านาง (4.37%) ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase พบว่า ชาหญ้าหนวดแมว และชาขลู่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง α-glucosidase ได้สูงที่สุด คือ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว 97.65% และ 90.08% ตามลำดับ จากผลการศึกษาทั้งหมดสามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้สมุนไพรที่ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด และยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาต่อยอดสมุนไพรเหล่านี้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

อ.ดร. สุดารัตน์ หาดเพชร
อาจารย์ที่ปรึกษา

Senior Project for Academic Year 2020

Title Biological activity of Thai herbal teas to inhibit α-amylase and α-glucosidase enzymes

By

1. Miss. Hathaipat Orn-cham ID 59210075
2. Mr. Soth Rothea ID 59210139
3. Mr. Wirakiat Tanhuad ID 59210202

Advisors

1. Dr. Sudarat Hadpech
2. Asst. Prof. Dr. Nichakan Peerakam

ABSTRACT

Thai herbal teas, *Pluchea indica, Piper sarmentosum, Tiliacora triandra, and Orthosiphon aristatus,* are widely used in folk wisdom for blood sugar levels controlling. Tea products are also commonly found on the market. This study aimed to determine the optimal volume and duration of the herbal tea extraction using 95-100 ℃ of hot boiling water. Furthermore, evaluate the inhibitory activities as oppose to α-amylase and α-glucosidase enzymes. The results indicated that the 100 ml of water and the duration of 5 minutes were the optimal conditions for herbal teas extraction. All Thai herbal teas presented the ability to inhibit α-amylase in which the highest one was *P. sarmentosum* (10.10%) followed by *P. indica* (8.68%), *O. aristatus* (6.50%), and *T. triandra* (4.37%), respectively. For the α-glucosidase inhibition effect, only *O. aristatus* and *P. indica* showed the highest and the second inhibition activity at 97.65% and 90.08%, respectively.

The research finding can be used to support the utilization of Thai herbal teas for reducing blood sugar levels. Moreover, the study provided basic information which valuable for further research development to increase the value of these medicinal herbs.

Dr. Sudarat Hadpech
Major Advisor

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก อ.ดร. สุดารัตน์ หาดเพชร อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ ผศ.ดร. ณิชกานต์ ภีระคำ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้ให้ข้อเสนอแนะ แนวคิด ตลอดจนการแก้ไขปัญหา และข้อบกพร่องต่าง ๆ มาโดยตลอดจนโครงงานวิจัยสำเร็จ และสมบูรณ์ คณะผู้ดำเนินงานวิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัย คุณกนกพร ก้อนทรัพย์ ที่ได้ให้คำแนะนำระหว่างการทำปฏิบัติการ และสุดท้ายขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ได้สนับสนุนทุนสำหรับวิจัย และได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำปฏิบัติการจนสำเร็จ

สารบัญ

หัวข้อ **หน้า**

คำนำ ข

บทคัดย่อ ค

Abstract ง

กิตติกรรมประกาศ จ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ 2

สมมติฐาน 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

กรอบแนวคิด 2

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม 3

1. สมุนไพร 3

2. ทฤษฎีการชงชาและวัฒนธรรมการชงชาของแต่ละประเทศ 11

3. เอนไซม์ (Enzyme) 13

4. หลักการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase ของสมุนไพร 24

5. โรคเบาหวาน 25

6. การวินิจฉัยโรคเบาหวาน 27

7. ภาวะแทรกซ้อน 27

8. ยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือด 28

บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย 30

1. การเลือกซื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพร 30

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ 30

3. สารเคมี 31

4. การทดสอบหาปริมาตรของน้ำและระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการสกัดชาสมุนไพรสำหรับทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 32

5. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของชาสมุนไพร 34

บทที่ 4 ผลการวิจัย 36

1. การทดสอบหาสัดส่วนความเหมาะสมระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้นสำหรับใช้ในการทดสอบ 36

2. การทดสอบหาปริมาตรน้ำที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดชาสมุนไพรเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 38

3. การทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดชาสมุนไพรสำหรับทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 41

4. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ของชาสมุนไพร 44

บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง และสรุปผล 47

1. อภิปรายผลการทดลอง 47

2. สรุปผลการทดลอง 49

เอกสารอ้างอิง 50

ภาคผนวก 60

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

ภาพที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดของการวิจัย 2

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะ ใบ และดอก ของขลู่ 5

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะ ใบ ดอก และผล ของช้าพลู 7

ภาพที่ 4 แสดงลักษณะ ใบ และผล ของย่านาง 9

ภาพที่ 5 แสดงลักษณะ ใบ และดอก ของหญ้าหนวดแมว 10

ภาพที่ 6 แสดงการทำงานร่วมกันของ apoenzyme และ cofactor 14

ภาพที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบความจำเพาะในการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองทฤษฎี 17

ภาพที่ 8 แสดงอุณหภูมิที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ 18

ภาพที่ 9 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ 18

ภาพที่ 10 แสดงกลไกแต่ละชนิดของตัวยับยั้งของเอนไซม์ 20

ภาพที่ 11 แสดงโครงสร้างของคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน 22

ภาพที่ 12 แสดงกลไกการย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 23

ภาพที่ 13 แสดงการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของ Coloured starch 24

ภาพที่ 14 แสดงการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของ PNPG 25

ภาพที่ 15 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ
ของเอนไซม์ α-amylase กับค่าการดูดกลืนแสง 36

ภาพที่ 16 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์ α-amylase
กับ %inhibition ของสารมาตรฐาน acarbose 37

ภาพที่ 17 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของ PNPG กับค่าการดูดกลืนแสง 38

ภาพที่ 18 แสดงการสกัดน้ำชาสมุนไพรโดยใช้ปริมาตรน้ำที่แตกต่างกัน 43

ภาพที่ 19 แสดงการสกัดน้ำชาสมุนไพรโดยใช้เวลาที่แตกต่างกัน 43

ภาพที่ 20 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาสมุนไพร 4 ชนิด และสารมาตรฐาน acarbose 46

ภาพที่ 21 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ของชาสมุนไพร 4 ชนิด และสารมาตรฐาน acarbose 46

ภาพที่ 22 แสดงผลิตภัณฑ์และลักษณะผงชาสมุนไพรต่าง ๆ 63

ภาพที่ 23 แสดงการตรวจอักขราวิสุทธิ์ 75

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดสมุนไพรที่มีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลในเลือด 4

ตารางที่ 2 แสดงยาที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน 28-29

ตารางที่ 3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาขลู่กับปริมาตรน้ำในการสกัดที่แตกต่างกัน 39

ตารางที่ 4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาช้าพลูกับปริมาตรน้ำในการสกัดที่แตกต่างกัน 39

ตารางที่ 5 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาย่านางกับปริมาตรน้ำในการสกัดที่แตกต่างกัน 40

ตารางที่ 6 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาหญ้าหนวดแมวกับปริมาตรน้ำในการสกัดที่แตกต่างกัน 40

ตารางที่ 7 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาขลู่กับระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน 41

ตารางที่ 8 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาช้าพลูกับระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน 41

ตารางที่ 9 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาย่านางกับระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน 42

ตารางที่ 10 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาหญ้าหนวดแมวกับ

ระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน 42

ตารางที่ 11 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาสมุนไพร และสารมาตรฐาน acarbose 44

ตารางที่ 12 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ของชาสมุนไพร และสารมาตรฐาน acarbose 45

ตารางที่ 13 แสดงกลุ่มสารสำคัญที่พบในตัวอย่างสมุนไพร 4 ชนิด 73

ตารางที่ 14 แสดงค่าน้ำหนักผงชาสมุนไพรเฉลี่ยต่อซอง 65

ตารางที่ 15 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบหาปริมาตรน้ำที่เหมาะสมต่อยับยั้งเอนไซม์ α-amylase 67

ตารางที่ 16 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase 68

ตารางที่ 17 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase 69

ตารางที่ 18 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase 70-71

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ตั้งแต่อดีตกาล พืชถือเป็นสิ่งที่พบตามธรรมชาติที่มนุษย์ได้นำมาใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ทั้งการประกอบอาหาร ที่อยู่อาศัย เสื้อผ้านุ่งห่ม รวมไปถึงยารักษาโรค ซึ่งล้วนถือเป็นปัจจัย 4 ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ ถ้ากล่าวถึงในด้านของการรักษาโรคภัยไข้เจ็บด้วยสมุนไพร ในอดีตมีการนำสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคเริ่มขึ้นจากการสังเกตพฤติกรรมของสัตว์ และใช้การลองผิดลองถูกเพื่อให้เข้าใจถึงประโยชน์ของสมุนไพรมากขึ้นจนเกิดเป็นองค์ความรู้ใหม่ที่สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นยารักษาโรค สำหรับในประเทศไทยคนสมัยก่อนเมื่อรู้สึกว่าตนเองป่วยจะใช้สมุนไพรที่หาได้ตามท้องถิ่นมาบรรเทาอาการผิดปกติที่เกิดขึ้น เพื่อให้หายจากอาการป่วยซึ่งในกรณีที่รักษาอาการป่วยด้วยตนเองไม่หายก็จะไปหาหมอยา และหมอพื้นบ้าน หรือบางทีเรียกกันว่า “แพทย์แผนไทย” ซึ่งเป็นผู้มีประสบการณ์ความรู้ในการปรุงยาสมุนไพรที่ช่วยรักษาโรคให้หายจากอาการป่วยได้(1) ต่อมาในศตวรรษที่ 20 สมุนไพรเริ่มมีการใช้ลดลง เนื่องจากเป็นยุคที่มีความก้าวหน้าในด้านการแพทย์เพิ่มมากขึ้นจึงทำให้ในปัจจุบันมีการคิดค้นพัฒนายาเคมีสังเคราะห์ที่ถูกใช้เป็นยาหลัก และใช้สมุนไพรเป็นเป็นยาทางเลือกแทน แต่ยาเคมีสังเคราะห์มีจำนวนมากก็ยังมีราคาสูง รวมถึงสิทธิ์ในการเข้าถึงยาของประชาชนแต่ละคนมีความแตกต่างกันจึงเกิดปัญหาในการเข้าถึงยา ปัจจุบันจะเห็นได้ว่า โรคที่ทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการรักษามากที่สุดในประเทศนั้น คือ โรคเรื้อรัง โดย 1 ใน 3 ของโรคเรื้อรังพบว่า โรคเบาหวานเกิดมากในคนไทยวัยผู้ใหญ่ และอุบัติการณ์ของโรคเบาหวานก็ยังสามารถพบได้ทั่วโลกซึ่งจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอีกเรื่อย ๆ (ข้อมูลจากสหพันธ์โรคเบาหวานนานาชาติ (International Diabetes Federation : IDF))(2) นอกจากนี้ผู้คนส่วนใหญ่หันมาใช้สมุนไพรเพื่อช่วยบรรเทา และลดภาวะของโรคเบาหวาน โดยสมุนไพรที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นสมุนไพรในกลุ่มที่ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ ดังนั้นกลุ่มผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสมุนไพรที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดภายหลังรับประทานอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต โดยกลุ่มสมุนไพรที่ที่สนใจนำมาศึกษา ได้แก่ ชลู่ ช้าพลู ย่านาง และหญ้าหนวดแมว ซึ่งเป็นสมุนไพรที่สามารถเข้าถึงได้ง่าย อีกทั้งยังสามารถหาซื้อได้ตามท้องตลาดในรูปแบบชาสมุนไพร ซึ่งข้อมูลจากการศึกษาสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรและสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการตัดสินใจในการใช้สมุนไพร ตลอดจนใช้เป็นแนวทางสำหรับการศึกษาต่อยอดการพัฒนาสมุนไพรในอนาคตได้

วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบฤทธิ์ของชาสมุนไพรในการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase

สมมติฐาน

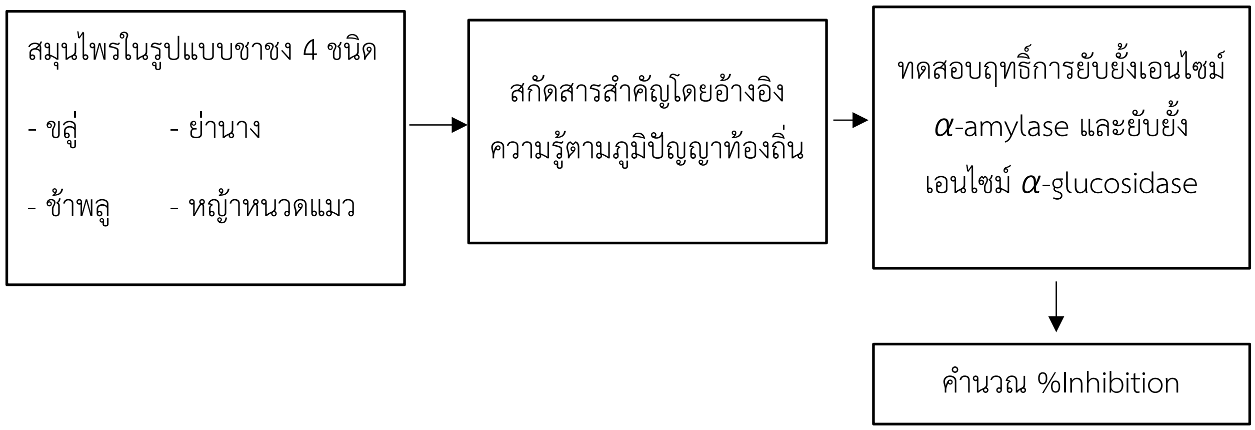
สมุนไพรบางชนิดมีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลในเลือด ดังนั้นสมุนไพรเหล่านี้น่าจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase ที่มีบทบาทต่อการย่อยคาร์โบไฮเดรต

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และเอนไซม์ α-glucosidase ของชาสมุนไพร
2. ข้อมูลจากงานวิจัยนี้สามารถเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดสมุนไพร และใช้เป็นข้อมูลแก่ผู้สนใจใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกใช้สมุนไพรสำหรับช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้

กรอบแนวคิด

ทางกลุ่มผู้วิจัยสนใจศึกษาความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และเอนไซม์ α-glucosidase ของสมุนไพรแต่ละชนิดในรูปแบบชาที่มีขายตามท้องตลาดทั่วไป จึงได้ทำการคัดเลือกสมุนไพร 4 ชนิด มาทำการศึกษา ซึ่งกรอบแนวคิดของการศึกษามีดังต่อไปนี้


สมุนไพรในรูปแบบชาชง 4 ชนิด
- ขลู่
- ย่านาง
- ช้าพลู
- หญ้าหนวดแมว
สกัดสารสำคัญโดยอ้างอิงความรู้ตามภูมิปัญญาท้องถิ่น
ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase
คำนวณ %Inhibition

รูปที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดของการวิจัย

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

1. สมุนไพร

สมุนไพร หมายถึง ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ได้มาจากพืช สัตว์ และแร่ธาตุ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ หรือใช้บำรุงร่างกายได้(3) โดยการใช้ยาสมุนไพรถือเป็นการแพทย์พื้นบ้านแขนงหนึ่งที่เกิดจากการเรียนรู้สะสมจากประสบการณ์ ความเชื่อ และส่งต่อองค์ความรู้กันจากรุ่นสู่รุ่น ตัวอย่างเช่น เชื่อว่าสมุนไพรที่มีส่วนที่เป็นสีแดงสามารถรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับโรคเลือดได้ หรือเชื่อว่าสมุนไพรที่มีสีเหลืองสามารถรักษาโรคที่เกี่ยวกับผิวหนังได้ เป็นต้น(4) และการใช้สมุนไพรให้ได้ผลดีที่สุดจะต้องใช้โดยยึดหลักดังนี้ คือ ใช้ถูกต้น ใช้ถูกส่วน ใช้ให้ถูกขนาด ใช้ให้ถูกวิธี และใช้ให้ถูกโรค เป็นต้น(5)

ยาที่ใช้กันในอดีต ก่อนที่ยาแผนปัจจุบันจะเข้ามามีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคต่าง ๆ จะรู้จักกันในชื่อ “ยาสมุนไพร” ซึ่งยาสมุนไพรในตำราแผนโบราณใน 1 ตำรับ ประกอบด้วยสมุนไพรมากกว่า 1 ชนิด โดยสมุนไพรบางชนิดมีสรรพคุณที่หลากหลาย เช่น ขลู่ ในคู่มือสมุนไพร ไทย-จีน ใช้ส่วนรากเป็นยาบรรเทาอาการไข้ แก้อาการปวดหัวตัวร้อน ใช้ส่วนต้น ใบ และเมล็ด เป็นยาขับปัสสาวะหรือแก้อาการปัสสาวะไม่ปกติ รวมถึงใช้รักษาโรคเบาหวาน ลดน้ำตาลในเลือด(6) แต่ในบางตำรับจะใช้สมุนไพรหลายชนิดรวมกันเป็น 1 สูตร เพื่อรักษาโรคเพียงโรคเดียว ยกตัวอย่างเช่น ยาธาตุอบเชยเป็นยาน้ำในยาแผนไทยบัญชียาหลักแห่งชาติจะประกอบไปด้วยเปลือกอบเชยเทศ เปลือกสมุลแว้ง ลูกกระวาน ดอกกานพลู รากชะเอมเทศ เกล็ดสะระแหน่ และการบูร โดยมีสรรพคุณเป็นยาขับลม บรรเทาอาการท้องอืดท้องเฟ้อ(7)

สำหรับสมุนไพรที่น่าสนใจในงานวิจัยนี้ คือ สุมนไพรที่มีความสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยมีรายละเอียดข้อมูล ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดสมุนไพรที่มีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลในเลือด

ตัวอย่างพืช	ส่วนที่ใช้	วงศ์	เอกสารอ้างอิง
รางจืด	ใบ	Acanthaceae	8
ผักเชียงดา	ใบ	Apocynaceae	9
โสม	ลำต้นใต้ดิน	Araliaceae	10
คำฝอย	เกสรดอก	Asteraceae	11
หญ้าหวาน	ใบ		12
ขลู่	ใบ		13
คาโมมายด์	ดอก	Asteraceae	14
มะระขี้นก	ผล	Cucurbitaceae	15
ตำลึง	ใบ		16
ขี้เหล็ก	ใบ	Fabaceae	17
หญ้าฝรั่น	เกสรตัวเมีย	Iridaceae	18
หญ้าหนวดแมว	ใบ	Lamiaceae	19
อบเชย	เปลือกชั้นใน	Lauraceae	20
อินทนิลน้ำ	ใบ	Lythraceae	21
กระเจี๊ยบแดง	ดอก	Malvaceae	22
สะเดา	ใบ	Meliaceae	23
ย่านาง	ใบ	Menispermaceae	24
ใบหม่อน	ใบ	Moraceae	25
บัวหลวง	ลำต้นใต้ดิน	Nelumbonacaea	26
เตยหอม	ใบ	Pandanaceae	27
ช้าพลู	ใบ	Piperaceae	28
เทียนเกล็ดหอย	เมล็ด	Plantaginaceae	29
โกจิเบอร์รี่	ผล	Solanaceae	30
ชาเขียว	ใบ	Theaceae	31
ขิง	ลำต้นใต้ดิน	Zingiberaceae	32

ซึ่งจากข้อมูลทั้งหมด ทางกลุ่มผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกสมุนไพรที่มีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลในเลือด และมีการแปรรูปให้อยู่ในรูปแบบชาชงทั้งหมด 4 ชนิด โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.1. ขลู่ (*Pluchea indica* (L.) Less.)

ขลู่อยู่ในวงศ์ Asteraceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Pluchea indica* (L.) Less. ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก (shrub) เติบโตได้ดีในดินหลายชนิด และบริเวณที่มีความชื้น ต้นสูง 0.5–2 เมตร ลำต้นแข็งกลม ใบเดี่ยว (simple leaf) ใบเรียงตัวแบบสลับ (alternate) ใบมีลักษณะเป็นรูปวงรี (elliptic) ปลายใบมน (obtuse) ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย (serrate) โคนใบรูปสอบเรียว (attenuate) ขนาดใบยาว 2.5-9 เซนติเมตร กว้าง 1.5-5 เซนติเมตร(33, 35, 36, 37) ออกดอกเป็นช่อ (inflorescence flower) แบบซี่ร่มเชิงประกอบ (compound umbel)(38) ดอกมีสีขาว หรือสีขาวอมม่วง สมบูรณ์เพศ (perfect flower) กลีบดอกวงนอกยาว 3-3.5 มิลลิเมตร วงในยาว 4-6 มิลลิเมตร(33)

รูปที่ 2 แสดงลักษณะ ใบ และดอก ของขลู่(33)

กลุ่มสารสำคัญที่พบในใบขลู่ คือ กลุ่ม phenolic acids, flavonoids และ phytosterols ได้แก่ chlorogenic acid, 3-(2,3-diacetoxy-2-methyl butyryl) catechin, stigmasterol, stigmasterol glucoside, สารอนุพันธ์ของ eudesmane ที่อยู่ในของกลุ่ม cauhtemone, caffeic acid, quercetin และ sodium chloride(39)

จากหนังสือ “คู่มือสมุนไพร ไทย-จีน” ได้ระบุไว้ว่า การนำส่วนประกอบของขลู่ ได้แก่ ราก ต้น และใบ (สดหรือแห้ง) ต้มในน้ำร่วมกับสมุนไพรอื่นจะช่วยบรรเทาอาการโรคเบาหวาน(33) หรือนำใบขลู่ที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งมาชงเป็นน้ำชาช่วยรักษาโรคเบาหวานได้เช่นกัน(34)

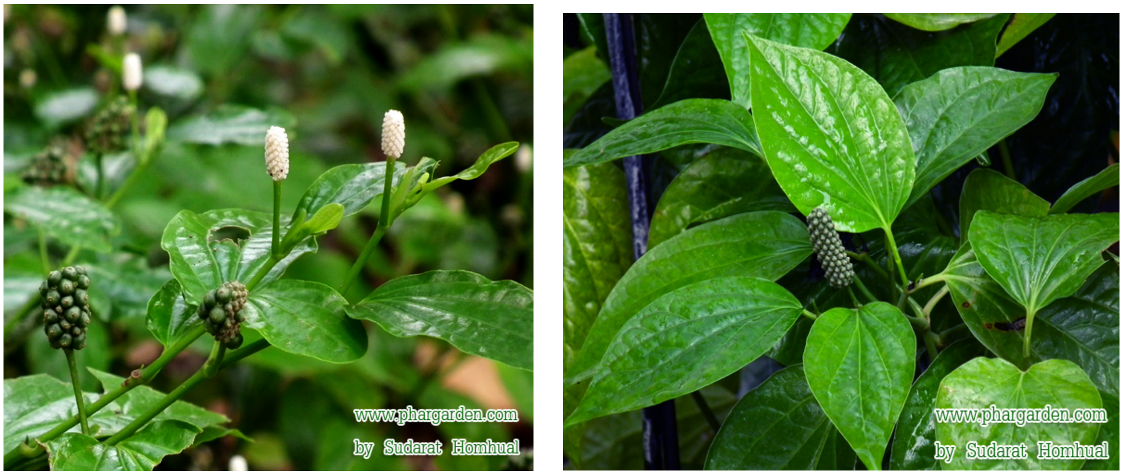
จากงานวิจัยของ Arsiningtyas และคณะ มหาวิทยาลัย Hokkaido ประเทศญี่ปุ่น ได้ศึกษาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ของสารสกัดใบขลู่ โดยนำใบขลู่อบแห้งไปหมัก (maceration) ด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 50% จากนั้นนำไปสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท และน้ำ พบว่าสารในชั้นของเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ดีกว่าสารชั้นน้ำ จึงนำสารชั้นเอทิลอะซิเตทไปแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ด้วยเทคนิค column chromatography จากนั้นนำสารที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC, mass spectrometry และ H-NMR spectroscopy พบสารประกอบ 5 ชนิด ได้แก่ 3,5-di-O-caffeoylquinic acid, 4,5-di-O-caffeoylquinic acid methyl ester, 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid methyl ester, 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid และ 1,3,4,5-tetra-O-caffeoylquinic acid ซึ่งสารที่พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase สูงที่สุดคือ 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid methyl ester มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2 µM(40)

นอกจากนี้งานวิจัยของ Widyawati และคณะ มหาวิทยาลัย Widya mandala catholic ประเทศอินโดนีเซีย ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการลดเบาหวานของสารสกัดใบขลู่และใบชาเขียวในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดยเริ่มจากการนำใบขลู่สดไปอบแห้ง แล้วนำไปบดเป็นผงให้มีขนาดใกล้เคียงกับขนาดผงของใบชาสำเร็จรูป จากนั้นนำผงของพืชทั้งสองผสมกันในถุงชาให้มีน้ำหนักรวมเท่ากับ 2 กรัม ในอัตราส่วนของ ใบขลู่ : ใบชาเขียว คือ 100 : 0, 75 : 25, 50 : 50, 25 : 75 และ 0 : 100 โดยนำตัวอย่างในแต่ละอัตราส่วนนี้ไปแช่ในน้ำแร่ที่มีอุณหภูมิ 95 องศาสเซลเซียส คนด้วยแท่งแก้วอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 5 นาที แล้วกรอง จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase พบว่าสารสกัดใบขลู่ และใบชาเขียวในอัตราส่วนที่ 100 : 0, 75 : 25, 50 : 50, 25 : 75 และ 0 : 100 มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ได้ 28.79%, 25.52%, 46.21%, 52.27% และ 56.06% ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase เท่ากับ 67.86%, 55.35%, 91.07%, 78.57% และ 76.43% ตามลำดับ ซึ่งอัตราส่วนของใบขลู่ : ใบชาเขียวที่ 50 : 50 สามารถยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ได้สูงที่สุด(41)

1.2. ช้าพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.)

ช้าพลู อยู่ในวงศ์ Piperaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Piper sarmentosum* Roxb. เป็นพืชไม้เลื้อย (climber) ลำต้นสูง 0.3-0.8 เมตร ลำต้นอ่อนกลม ใบเดี่ยวเรียงตัวแบบสลับ ใบมีลักษณะเป็นรูปหัวใจ (cordate) ปลายใบแหลม (acute) ขอบใบเรียบ (entire) โคนใบเบี้ยว (oblique) ใบยาว 7-15 เซนติเมตร กว้าง 5-10 เซนติเมตร(35, 36, 37, 42) ดอกออกแบบช่อเชิงลดมีกาบหุ้ม (spadix)(38) ช่อดอกออกตามซอก หรือยอดใบ ช่อดอกมีความยาว 6-8 เซนติเมตร ดอกย่อยขนาดเล็กออกเรียงตัวกันบนช่อเป็นรูป

ทรงกระบอก ไม่สมบูรณ์เพศ (imperfect flower) แต่ละดอกย่อยแยกเพศกัน กลีบดอกย่อยมีสีขาว ดอกย่อยมีขนาดเล็ก ผลมีสีเขียว ลักษณะกลม และผิวมัน อัดแน่นบนแกนช่อดอก(42)



รูปที่ 3 แสดงลักษณะ ใบ ดอก และผล ของช้าพลู(42)

สารสำคัญที่พบในใบช้าพลู ได้แก่ aromatic alkene, pellitorine, guineensine, horsfieldin, 2-pyrrolidine amides, brachystamide B, sarmentamide A, B, และ C, sitosterol, pyrrole amide, (+) sesamin, sarmentosine, 1-allyl-2-methoxy-4,5-methylenedioxybenzene และ sarmentine(43)

จากข้อมูลบัญชียาหลักแห่งชาติในส่วนบัญชียาจากสมุนไพรได้ระบุว่า รากช้าพลูใช้เป็นส่วนผสมหนึ่งของยาหอมอินทจักร์ เป็นยาแผนโบราณในรูปของยาผงหรือยาเม็ด ประกอบไปด้วย เถาสะค้าน รากช้าพลู เหง้าขิง ดอกดีปลี รากเจตมูลเพลิงแดง ลูกผักชีลา โกฐสอ โกฐเขมา โกฐก้านพร้าว โกฐพุงปลา โกฐจุฬาลัมพา โกฐเชียง โกฐกักกรา โกฐน้ำเต้า โกฐกระดูก เทียนดำ เทียนขาว เทียนแดง เทียนข้าวเปลือก เทียนเยาวพาณี แก่นจันทน์แดง แก่นจันทน์เทศ เถามวกแดง เถามวกขาว รากย่านาง เปลือกชะลูด เปลือกอบเชย เปลือกสมุลแว้ง กฤษณา กระลำพัก เถาบอระเพ็ด ลูกกระดอม กำยาน ขอนดอก ลูกจันทน์ ดอกจันทน์ ลูกกระวาน ดอกกานพลู ลำพันแดง ดอกสารภี ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกจำปา ดอกกระดังงา ดอกมะลิ ดอกคำไทย แก่นฝาง ดีวัว และพิมเสน ใช้บรรเทาอาการคลื่นไส้อาเจียน และจุกเสียดท้อง(7) และจาก “คัมภีร์ยาสมุนไพรไทย ตำรับหมอพร กรมหลวงชุมพรเขตรอุดมศักดิ์” และหนังสือ “101 ยอดสมุนไพรเป็นยา” ระบุว่า เมื่อนำส่วนประกอบของช้าพลูทั้ง 5 ส่วน ได้แก่ ลำต้น ราก ใบ ดอก และผล ต้มกับน้ำในหม้อดินจนเคี่ยวมีสรรพคุณในการรักษาโรคเบาหวานได้(44-45)

จากงานวิจัยของ Thanakorn และคณะ จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α-glucosidase ของสารสกัดใบช้าพลู พบว่าสารสกัดใบช้าพลูที่สกัดด้วยเฮกเซน และเมทานอล แล้วนำไปแยกต่อด้วยวิธี liquid extraction ด้วยไดคลอโรมีเทน และน้ำ จากนั้นนำไปแยกองค์ประกอบด้วยวิธี vacuum column chromatography พบว่าสารประกอบที่แยกได้เป็นสารกลุ่ม phenylpropanoyl amides ได้แก่ chaplupyrrolidone A, chaplupyrrolidone B และ deacetylsarmentamide B ซึ่งสารที่พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase มากที่สุด คือ chaplupyrrolidone B มีค่า IC_{50} เท่ากับ 430±1.2 μM ซึ่งมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับยา acarbose มีค่า IC_{50} เท่ากับ 404 μM(46)

1.3. ย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels)

ย่านาง อยู่ในวงศ์ Menispermaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Tliacora triandra* (Colebr.) Diels เป็นไม้เลื้อย เถามีลักษณะกลมเล็ก เหนียว สีเขียว ยาวประมาณ 5-10 เมตร ใบเดี่ยวเรียงตัวแบบสลับ ใบมีลักษณะเป็นรูปไข่ (ovate) ปลายใบเรียว (acuminate) ขอบใบเรียบ โคนใบมน ใบยาว 5-10 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร(35, 36, 37, 47) ผิวใบมีลักษณะเป็นมัน ใบอ่อนมีสีเขียวอ่อนออกเหลือง และจะเข้มเมื่ออายุมากขึ้น ดอกเป็นช่อ ไม่สมบูรณ์เพศ (imperfect flower) แต่ละดอกย่อยแยกเพศกัน ไม่มีกลีบดอก (incomplete flower) หนึ่งช่อมีดอกย่อยประมาณ 35 ดอก แต่ละดอกยาว 2-5 เซนติเมตร ดอกเพศผู้มีสีน้ำตาล อับเรณู (anther) สีเหลืองอ่อน ก้านช่อดอกมีขนสั้น ๆ ปกคลุม ส่วนดอกเพศเมียมีสีเหลืองอ่อนหรือเหลืองแกมเขียว ขนาดเล็กมาก ผลมีขนาดเล็กลักษณะเป็นรูปไข่ ผลอ่อนมีสีเขียวอ่อน และเมื่อแก่สีเขียวจะเข้มขึ้น และเมื่อสุกได้ที่ผลจะเปลี่ยนเป็นสีส้มแดง ผลมีขนาด กว้าง 6-7 มิลลิเมตร ยาว 7-10 มิลลิเมตร(47)

WWW.PHARGARDEN.COM
BY SUDARAT HOMHUAL
WWW.PHARGARDEN.COM
BY SUDARAT HOMHUAL

รูปที่ 4 แสดงลักษณะ ใบ และผล ของย่านาง(47)

สารสำคัญที่พบในใบย่านางส่วนมากจะเป็นสารในกลุ่ม phenolic compounds ได้แก่ minecoside, *p*-hydroxy benzoic acid และสารในกลุ่ม flavonoid glycosides ได้แก่ moncepoxy-betacarotene และอนุพันธ์ของสาร flavonoid glycosides, cinnamic acid นอกจากนี้ยังพบสาร alkaloids ได้แก่ tiliacorine, tiliacorinine, nor-tiliacorinine และ tiliacorinin 2, N-oxide ในส่วนราก และใบ(48)

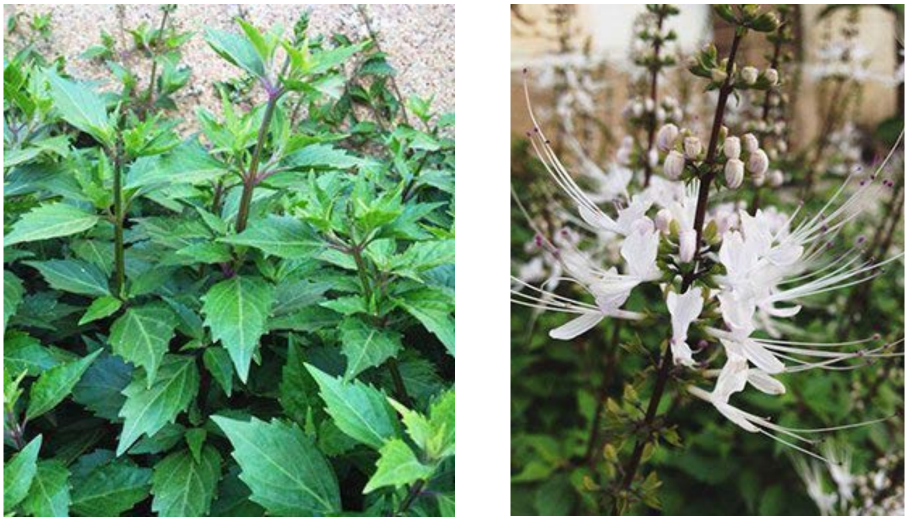
จากข้อมูลบัญชียาหลักแห่งชาติในส่วนบัญชียาจากสมุนไพรได้ระบุว่า รากย่านางใช้เป็นส่วนผสมของตำรับ ยาห้าราก ซึ่งเป็นยาแผนโบราณในรูปของยาแคปซูล ยาผง หรือยาเม็ด ประกอบด้วย รากย่านาง รากคนทา รากมะเดื่อชุมพร รากชิงชี่ และรากเท้ายายม่อม ช่วยบรรเทาอาการไข้(7) อีกทั้งคนโบราณนิยมนำใบย่านางมาใช้ประโยชน์ในการทำอาหาร โดยเฉพาะส่วนของใบที่นิยมนำมาตำ หรือบดเพื่อคั้นน้ำใช้สำหรับเพิ่มรสชาติอาหารให้มีรสหวานตามธรรมชาติ และสีอาหารจะมีสีเขียวเข้มออกดำ และมีลักษณะข้นเป็นยาง(48)

จากงานวิจัยของ Makinde และคณะ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประเทศไทย ศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีจากย่านางที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase โดยนำส่วนใบและกิ่งย่านางหมักด้วยเอทานอล 95% จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แล้วนำสารสกัดที่ได้มาแยกต่อด้วยวิธี liquid extraction ด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตท จากนั้นนำสารสกัดทั้งสองไปแยกต่อด้วยเทคนิค column chromatography จนได้สารบริสุทธิ์แล้วไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเครื่อง NMR spectroscopy ซึ่งแยกสารสารประกอบได้ 6 ชนิด ได้แก่ 5,7-dihydroxy-6-oxoheptadecanoic acid, ethyl linoleate, dioctyl 2-hydroxybutanedioate, ethyl linolenate, ethyl pheophorbide A และ pheophorbide A ซึ่งสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase สูงที่สุดคือ 5,7-dihydroxy-6-oxoheptadecanoic acid มีค่า IC_{50} เท่ากับ

26.27±1.11 μM และ 11.58±0.32 μM ตามลำดับ โดยฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวสูงกว่ายา acarbose ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 177.65±0.88 μM และ 500.91±10.26 μM ตามลำดับ(49)

1.4. หญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq)

หญ้าหนวดแมว อยู่ในวงศ์ Lamiaceae/Labiatae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq มีลักษณะเป็นไม้ล้มลุก ลำต้นสูงประมาณ 0.3-0.8 เมตร ลำต้น และกิ่งก้านค่อนข้างเป็นสี่เหลี่ยมเห็นได้ชัดเจน ใบเดี่ยวเรียงตัวแบบตรงข้าม ลักษณะใบรูปไข่ ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย โคนใบลิ่ม (cuneate) ใบยาว 5-12 เซนติเมตร กว้าง 2-4.5 เซนติเมตร(35, 36, 37, 50) ดอกออกเป็นช่อแบบช่อฉัตร (verticillate)(38) ดอกมีสีขาวอมม่วงอ่อน และสีฟ้าสมบูรณ์เพศ กลีบดอกยาว 2.5-4.5 มิลลิเมตร(50)



รูปที่ 5 แสดงลักษณะ ใบ และดอก ของหญ้าหนวดแมว(50)

สารสำคัญที่พบในหญ้าหนวดแมว ได้แก่ glucoside orthosiphonin, myoinositol, essential oil, saponins, alkaloids, phytosterols, tannins และสารในกลุ่ม flavones ได้แก่ sinensetin, 3’-hydroxy-5,6,7,4’-tetramethoxy flavones นอกจากนี้ยังพบ potassium ปริมาณสูงในใบหญ้าหนวดแมวจึงควรเลี่ยงการใช้ในผู้ป่วยโรคหัวใจ โรคไต และสตรีมีครรภ์(51)

จากข้อมูลบัญชียาหลักแห่งชาติในส่วนบัญชียาจากสมุนไพรระบุว่า ยาหญ้าหนวดแมวเป็นยาที่พัฒนาจากสมุนไพรใช้รักษากลุ่มอาการระบบทางเดินปัสสาวะ อยู่ในรูปยาชงช่วยขับปัสสาวะ รักษาโรคขัดเบา (กระเพาะปัสสาวะอักเสบ) และช่วยขับนิ่วขนาดเล็กได้(7) และจากหนังสือ “สมุนไพรต้าน

เบาหวาน” ระบุว่า การนำส่วนใบ และก้านของหญ้าหนวดแมวที่ผ่านการทำให้แห้งไปต้มกับน้ำดื่มมีสรรพคุณเป็นยาบรรเทาอาการโรคเบาหวานได้(52)

จากงานวิจัยของ Mohamed และคณะ ประเทศมาเลเซีย ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase จากสารสกัดใบหญ้าหนวดแมว โดยนำใบหญ้าหนวดแมวอบแห้งที่ผ่านการปั่นด้วยเครื่อง milling machine ไปหมักด้วยเอทานอล 50% เป็นเวลา 7 วัน นำไปกรองแล้วระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องสุญญากาศ จากนั้นทำให้แห้งด้วยวิธี lyophilization จากนั้นได้ทำการศึกษาโดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรกนำสารสกัดที่ได้มาตรวจสอบด้วยเครื่อง HPLC พบสารประกอบ 3 ชนิด ได้แก่ 3-hydroxy-5,6,7,4-tetramethoxy flavone, sinensetin และ eupatorin ในส่วนที่สองนำสารสกัดมาแยกต่อด้วยเทคนิค liquid extraction ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท บิวทานอล และน้ำ นำสารสกัดในชั้นของเอทิลอะซิเตทมาแยกต่อด้วยเทคนิค column chromatography ซึ่งแยกได้ 2 fractions คือ ESF-1 (non-active) และ ESF-2 (active) จากนั้นนำ ESF-2 ไปพิสูจน์โครงสร้างด้วยเครื่อง NMR พบว่าเป็นสาร sinensetin มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.13±0.026 mg/ml และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.66±0.025 mg/ml ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวสูงกว่ายา acarbose ที่ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase มีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.89±0.397 mg/ml และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.93±0.281 mg/ml(53)

2. ทฤษฎีการชงชาและวัฒนธรรมการชงชาของแต่ละประเทศ

ชาสมุนไพร คือ เครื่องดื่มสมุนไพรรูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ของพืช ไม่ว่าจะเป็น ราก ใบ ดอก เหง้าหรือเปลือก ซึ่งบรรจุอยู่ในซองชา จากนั้นนำไปแช่ในน้ำร้อน ทิ้งไว้ตามเวลาที่กำหนด แล้วปรุงแต่งรสชาติได้ตามชอบ จะได้น้ำชาพร้อมดื่มที่ประกอบไปด้วยสรรพคุณต่าง ๆ ตามแต่ละส่วนและชนิดสมุนไพร(54) ซึ่งในปัจจุบันชาสมุนไพรเริ่มเป็นที่นิยมมากขึ้น ยกตัวอย่างเช่น น้ำขิงที่มีสรรพคุณช่วยสร้างภูมิคุ้มกันจากสารต้านอนุมูลอิสระ(55) หรือชาคาโมมายล์ที่ช่วยให้ผู้ดื่มรู้สึกผ่อนคลาย(56) อีกทั้งในปัจจุบันการบริโภคชาสมุนไพรเข้าถึงได้ง่าย และสะดวกต่อผู้บริโภคเป็นอย่างมาก

คุณลักษณะสำคัญของน้ำ และชาสมุนไพรที่ดีควรเลือกใช้น้ำสะอาดที่ผ่านการกรอง เลี่ยงการใช้น้ำประปาเนื่องจากอาจมีระดับตะกอนของคลอรีน ฟลูออไรด์ หรือคราบหินปูนที่อาจส่งผลเสียต่อสารสำคัญ และรสชาติของน้ำชาได้(57) และควรศึกษาถึงสรรพคุณทางยาในแต่ละส่วนของสมุนไพรที่จะใช้

เนื่องจากหากใช้สมุนไพรไม่ถูกส่วนจะส่งผลให้การดื่มชานั้นไม่ได้สรรพคุณทางยา รวมถึงหม้อต้มยาที่ใช้ควรเป็นหม้อดินเคลือบ ไม่ควรใช้หม้ออะลูมิเนียมในการต้มชา เพราะหม้ออะลูมิเนียมมีโลหะที่ส่งผลต่อกลิ่น และรสของสมุนไพรได้ โดยสมุนไพรที่ใช้ควรเป็นพืชที่มีกลิ่นหอม เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดื่ม และผ่อนคลายจิตใจด้วยกลิ่น (aromatherapy) ให้แก่ผู้บริโภค(58)

อุณหภูมิของน้ำ และระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการชงชาขึ้นอยู่กับชนิดของสมุนไพร ซึ่งตามตำราฉาชู จากแผ่นดินหมิง (ประเทศจีนในสมัยก่อน) กล่าวไว้ว่า “หากต้มน้ำในหม้อดินก็จะต้องรีบต้มเพียงชั่วครู่ น้ำจะกระเพื่อมเล็กน้อย นับว่าต้มได้ที่แล้ว หากน้ำเดือดเดือดเกินไปจะทำให้น้ำชาซีด และไม่หอมกรุ่น ใช้ไม่ได้เด็ดขาด” ดังนั้นควรใช้น้ำในอุณหภูมิที่เหมาะสมในการชงชา ไม่ควรใช้น้ำที่มีอุณหภูมิสูงเกินไป เพื่อให้น้ำชาที่ได้มีรสชาติ และกลิ่นที่ดี รวมถึงสารสำคัญในสมุนไพรไม่ถูกทำลาย(59) จากการศึกษาเพิ่มเติมพบว่า สารสำคัญกลุ่ม flavonoids และ phenolic จะเริ่มสลายตัวเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที(60) ส่วนสารในกลุ่ม fatty acids จะเริ่มสลายตัวเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 140-160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง(61) อีกทั้งงานวิจัยของ Cleverdon และ Yang พบว่าเมื่อชงชาด้วยน้ำที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จะทำให้ได้สารสำคัญจากใบชาในปริมาณสูงถึง 80-90% ด้วยระยะเวลาอันสั้น(62-63)

แรกเริ่มชาสมุนไพรเกิดจากคำว่า “การชงชา” เริ่มต้นขึ้นจากการใช้ใบชา (*Camellia sinensis*) ต้มกับน้ำได้เป็นน้ำชา จัดเป็นเป็นเครื่องดื่มที่นิยมในสมัยก่อนของประเทศจีน และอังกฤษ ต่อมาคนจีนได้คิดค้นพัฒนาการนำใบชาไปอบแห้งเพื่อเพิ่มความสะดวกในการขนส่ง จากนั้นนำใบชาอบแห้งมาชงด้วยน้ำร้อนทำให้เกิดคำว่า “ชงชา” ต่อมามีการใช้สมุนไพรอื่น ๆ อบแห้งต้มกินกับน้ำเช่นกันจึงเรียกว่า “ชาสมุนไพร” และมีการพัฒนาสมุนไพรอบแห้งบรรจุในซองเพื่อให้ง่ายต่อการใช้ชงจึงเกิดเป็นรูปแบบของชาสมุนไพรในปัจจุบัน(58)

วัฒนธรรมการดื่มชาของแต่ละประเทศนั้นแตกต่างกัน สำหรับในประเทศจีน ชาถือเป็นเครื่องดื่มชนิดหนึ่งที่พบได้ในชีวิตประจำวัน การเลี้ยงน้ำชาแก่แขกถือเป็นประเพณีหนึ่งของชาวจีน(64) ส่วนในประเทศญี่ปุ่น ชาเขียวเป็นเครื่องดื่มที่พบได้ในชีวิตประจำวัน ซึ่งการเลี้ยงน้ำชาแก่แขกถือเป็นประเพณีหนึ่งของชาวญี่ปุ่นเช่นกัน(65) ในประเทศอังกฤษ ชาถือเป็นสิ่งที่ขาดไม่ได้ หนึ่งในประเพณีที่นิยม คือ tea break เป็นการพักดื่มน้ำชาจากการทำงานในช่วงเช้าด้วยชุดถ้วยชาสไตล์อังกฤษ เสิร์ฟพร้อมกับขนมสโคน (scones) แต่ในปัจจุบันไม่นิยมชงในชุดถ้วยชาแต่จะชงในแก้วน้ำธรรมดาเพื่อให้สะดวกต่อการดื่มชาในแต่ละวันมากที่สุด ซึ่งชุดถ้วยชาจะใช้ในวันสำคัญทางศาสนาสำหรับการชงชาเพื่อความเป็นทางการเท่านั้น(66)

3. เอนไซม์ (Enzyme)

เอนไซม์ (Enzyme) เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาต่าง ๆ ในกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ซึ่งมีอยู่ 2 ส่วน คือ แคแทบอลิซึม (catabolism) ที่เป็นกระบวนการสลายโมเลกุลเป็นหน่วยขนาดเล็กเพื่อให้ได้พลังงาน และแอนาบอลิซึมซึ่งเป็นกระบวนการสร้างหรือสังเคราะห์สารที่มีโมเลกุลเล็กให้เป็นโมเลกุลใหญ่ โดยกระบวนการในการเร่งปฏิกิริยาเริ่มขึ้นจากเอนไซม์เข้าไปจับกับโมเลกุลของสารตั้งต้น และมีการทำหน้าที่ตามแต่ละชนิดของเอนไซม์ ซึ่งหลังจากปฏิกิริยาเสร็จสิ้นจะได้เอนไซม์ในรูปแบบเดิมกลับคืนมา

3.1. คำศัพท์ที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์(67)

3.1.1 Holoenzyme คือ เอนไซม์ที่มีโคแฟคเตอร์ (cofactor) รวมอยู่ด้วย

3.1.2. Apoenzyme คือ เอนไซม์ที่เป็นโปรตีนทั้งหมด

3.1.3. Coenzyme, cofactor และ prosthetic group ทั้ง 3 คำ ใช้แทนกันได้ หมายถึง ส่วนที่ไม่ใช่โปรตีน แต่ทำหน้าที่ร่วมกับ apoenzyme ในการเร่งปฏิกิริยา แต่ก็มีส่วนที่ต่างกัน คือ

3.1.3.1. Coenzyme คือ โมเลกุลที่เป็นสารประกอบอินทรีย์

3.1.3.2. Cofactor คือ ส่วนของเอนไซม์ที่ไม่ใช่โปรตีน

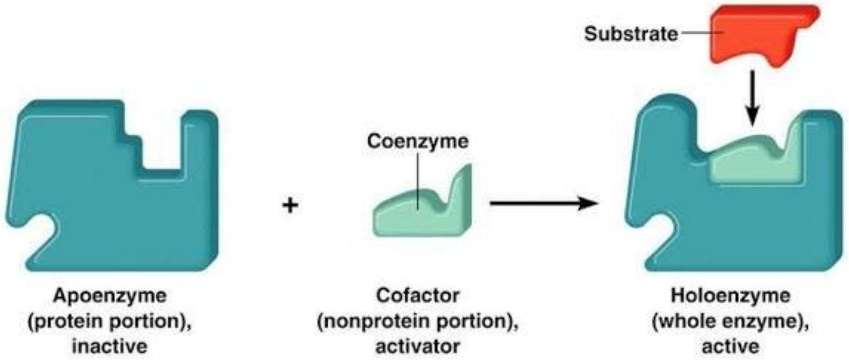
3.1.3.3. Prosthetic group คือ coenzyme ที่จับกับโปรตีนด้วย covalent bond

3.1.4. Isoenzyme หรือ Isozyme คือ เอนไซม์ที่เป็นโปรตีนที่มีองค์ประกอบในโมเลกุลแตกต่างกัน (multiple form) แต่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาเดียวกัน

3.2. ประเภทของเอนไซม์(67)

3.2.1. Simple protein หมายถึง เอนไซม์ที่สามารถเร่งกิจกรรมทางชีวภาพ (biological activity) ได้โดยไม่ต้องมี cofactor เข้ามาจับ

3.2.2. Conjugated protein หรือ holoenzyme หมายถึง เอนไซม์ที่สามารถเร่งกิจกรรมทางชีวภาพ ซึ่งมีอยู่ 2 ส่วน คือ apoenzyme ที่อยู่ในรูป inactive และ cofactor



รูปที่ 6 แสดงการทำงานร่วมกันของ apoenzyme และ cofactor(68)

3.3. การจัดจำแนกชนิดของเอนไซม์(67)

การจัดหมวดหมู่ของเอนไซม์จะเป็นไปตามลักษณะในการทำงานนั้น ๆ ซึ่งสหพันธ์ชีวเคมีนานาชาติ (The International Union of Biochemistry หรือ IUB) ได้จัดระเบียบการเรียกชื่อเอนไซม์ และจัดกลุ่มเอนไซม์ โดยแบ่งเอนไซม์ออกเป็น 6 กลุ่ม (classes) ซึ่งเอนไซม์แต่ละตัวจะมีหมายเลขเฉพาะ เรียกว่า รหัส (Enzyme Code, EC) แล้วตามด้วยชื่อของเอนไซม์นั้น ๆ โดยแต่ละชนิดจะประกอบด้วยเลข 4 ตัวที่มีจุดคั่นระหว่างเลขแต่ละตัว ซึ่งลำดับของตัวเลขมีความหมาย คือ เลขตัวแรก หมายถึง classes ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มตามลักษณะของปฏิกิริยา เลขตัวที่สอง หมายถึง subclasses ซึ่งจำแนกเอนไซม์ให้เป็นกลุ่มเฉพาะลงไปอีก เลขตัวที่สาม หมายถึง ประเภทของปฏิกิริยาที่เอนไซม์ทำหน้าที่เร่ง และเลขตัวที่สี่ หมายถึง serial number ของเอนไซม์ที่อยู่ในแต่ละ subclasses ดังต่อไปนี้

3.3.1. ออกซิโดรีดักเตส (oxidoreductases) หมายถึง เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชัน (oxidation-reduction) ซึ่งมีการเติมหรือดึงไฮโดรเจนอะตอม ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ เช่น dehydrogenases, oxidases, peroxidases, catalases, oxygenases และ hydroxylases ตัวอย่างชนิดเอนไซม์ เช่น alcoholdehydrogenase (EC 1.1.1.1) จะทำการเร่งการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ ethanol เพื่อให้ได้ acetaldehyde

3.3.2. ทรานสเฟอเรส (transferases) หมายถึง เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย้ายหรือแลกเปลี่ยนตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชัน (functional group) ในโมเลกุลของสาร ตัวอย่างกลุ่มเอนไซม์ เช่น aminotransferase ทำหน้าที่ย้ายหมู่อะมิโน ตัวอย่างชนิดเอนไซม์ เช่น

glucokinase (EC 2.7.1.2) ซึ่งจะเร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่ฟอสเฟตจาก ATP ไปยังกลูโคส จึงได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคส-6-ฟอสเฟต

3.3.3. ไฮโดรเลส (hydrolases) หมายถึง เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) หรือเร่งปฏิกิริยาที่มีการเติมน้ำ ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ esterases, glycosidases, peptidases, phosphatases, thiolases, phospholipases, amidases, deaminases, และ ribonucleases ตัวอย่างชนิดเอนไซม์ ได้แก่ carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) จะเร่งปฏิกิริยาการตัดพันธะเพปไทด์บนเส้นโพลี่เพปไทด์ (polypeptide) ด้วยน้ำ

3.3.4. ไลเอส (lyases) หมายถึง เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเติมน้ำ แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ตรงพันธะคู่ หรือเร่งการกำจัดน้ำ แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ ให้ออกจากโมเลกุลแล้วทำให้เกิดพันธะคู่ ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ aldolases, hydratases, dehydratases, synthases, และ lyases ตัวอย่างชนิดเอนไซม์ที่พบ ได้แก่ pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) ซึ่งทำหน้าที่เร่งการกำจัดหมู่คาร์บอกซิลออกไปจากไพรูเวต

3.3.5. ไอโซเมอเรส (isomerases) หมายถึง เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการเปลี่ยนไอโซเมอร์ (isomer) ของสาร ได้แก่ cis-trans isomerase เร่งการเปลี่ยน D- และ L-isomer ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ racemases, isomerases และ mutases บางชนิด ยกตัวอย่างเช่น maleate isomerase (EC 5.2.1.1) เร่งการย้ายหมู่คาร์บอกซิลภายในโมเลกุลของมาลีเอต

3.3.6. ไลเกส (ligases) หรือซินเทส (synthase) หมายถึง เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการรวมตัวกันของโมเลกุลด้วยการสร้างพันธะใหม่ ได้แก่ พันธะ C-C, C-S, C-O และ C-N ซึ่งจำเป็นต้องใช้พลังงานจาก ATP ได้แก่ pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1) จะเร่งการรวมไพรูเวตกับคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ได้ oxaloacetate โดยการเรียกชื่อเอนไซม์ด้วยการใช้เลขรหัสสำหรับเอนไซม์ เช่น alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1)

3.4. คุณสมบัติของเอนไซม์(67)

3.4.1. เอนไซม์มีความจำเพาะสูง (high specificity) ต่อสารตั้งต้น (substrate หรือ reactant) ของการเร่งปฏิกิริยา ซึ่งทำให้เอนไซม์หนึ่งตัวมักจะเร่งเพียงปฏิกิริยาเดียว หรือหลายปฏิกิริยาที่ต่อเนื่องกัน โดยเอนไซม์มีความจำเพาะสูงทำให้เกิดผลพลอยได้ (by-product) น้อยมากเมื่อเทียบกับปฏิกิริยาที่ไม่ใช้เอนไซม์

3.4.2. เอนไซม์เกือบทั้งหมดเป็นโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ ตั้งแต่ 12,000 ถึง 1 ล้านดาลตันที่มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาขึ้นกับโครงรูปธรรมชาติ (native conformation) ที่ถูกต้อง ถ้าสูญเสียสภาพธรรมชาติ (denature) หรือแยกออกจากกัน (dissociate) เป็นหน่วยย่อย (subunit) ซึ่งความสามารถดังกล่าวจะลดลง หรือหมดไป ดังนั้นโครงสร้างปฐมภูมิ (primary structure) โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) โครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) และโครงสร้างจตุรภูมิ (quaternary structure) จึงมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์เป็นอย่างมาก

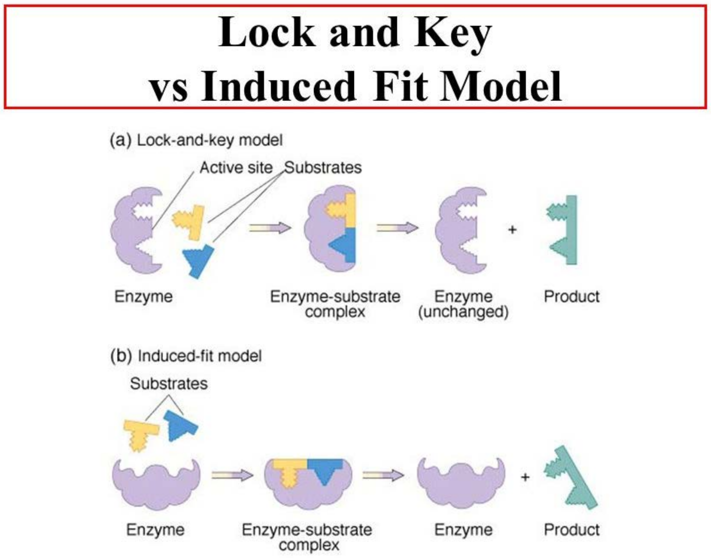
3.4.3. เอนไซม์หลายชนิดทำงานได้ด้วยตัวของมันเอง โดยใช้สมบัติของกรดอะมิโน (amino acid) ชนิดต่าง ๆ ที่มีในโมเลกุล แต่บางชนิดจะต้องอาศัยโมเลกุลอื่นช่วย ซึ่งเรียกโมเลกุลที่เข้าช่วยนี้ว่า cofactor โดยบางโมเลกุลเหล่านี้มักเปลี่ยนรูปมาจากวิตามินชนิดต่าง ๆ ที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า coenzyme สำหรับเอนไซม์บางชนิดต้องการทั้ง coenzyme และ metal ion จึงจะสามารถทำงานได้ ซึ่งจะยึดติดอยู่กับเอนไซม์ด้วย covalent bond เรียกว่า หมู่พร็อสเทติก (prosthetic group) และเรียกเอนไซม์ที่มีหมู่พร็อสเทติกติดอยู่แล้วทำงานได้ว่า holoenzyme ส่วนเอนไซม์ที่หมู่พร็อสเทติกหลุดออกไปแล้วจะไม่สามารถทำงานได้ เรียกว่า apoenzyme หรือ apoprotein นอกจากนี้เอนไซม์บางชนิดจำเป็นต้องถูกดัดแปลงด้วยการเติมหมู่ฟอสเฟตผ่านกระบวนการ phosphorylation หรือการเติมหมู่คาร์โบไฮเดรตผ่านกระบวนการ glycosylation หรือวิธีการอื่น ๆ จึงจะสามารถทำงานได้

3.5. ความจำเพาะในการทำงานของเอนไซม์(67)

3.5.1. ทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ (the lock and key theory) เสนอโดย Emil Fischer อธิบายว่า โมเลกุลของเอนไซม์จะมีบริเวณที่จำเพาะ (specific) กับ substrate ซึ่งทำให้ substrate เข้ามาจับได้พอดีเหมือนกับการที่ลูกกุญแจสวมเข้าพอดีกับแม่กุญแจ โดยบริเวณเร่งของเอนไซม์นั้นมีโครงสร้างตายตัว

3.5.2. ทฤษฎีเหนี่ยวนำให้เหมาะสม (induced-fit theory) เสนอโดย Koshland อธิบายว่า เมื่อ substrate เข้าจับที่บริเวณเร่งของเอนไซม์จะเกิดการเหนี่ยวนำให้เอนไซม์เปลี่ยนรูปร่างให้เหมาะสมซึ่งทำให้การจับกันระหว่างเอนไซม์กับ substrate ดีขึ้น แล้วจึงทำให้เกิดผลผลิต นอกจากนี้สารที่ไม่ใช่ substrate แต่มีลักษณะคล้าย substrate ก็สามารถเข้าจับที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ได้ แต่ไม่สามารถชักนำให้เอนไซม์เปลี่ยนรูปร่างที่เหมาะสม ซึ่งทำให้ไม่เกิดเป็น

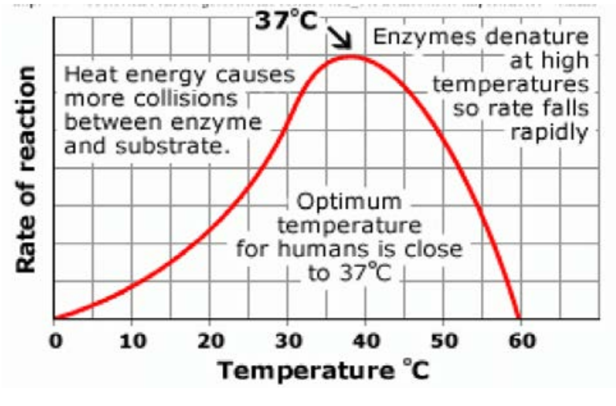
ผลผลิต โดยทฤษฎีนี้สามารถอธิบายได้กว้างกว่าทฤษฎีแรก เพราะแสดงถึงความยืดหยุ่น และลักษณะโครงสร้างที่ไม่ตายตัวบริเวณเร่งของเอนไซม์


Lock and Key
vs Induced Fit Model
(a) Lock-and-key model
Active site
Substrates
Enzyme
Enzyme-substrate complex
Enzyme (unchanged)
+
Product
(b) Induced-fit model
Substrates
Enzyme
Enzyme-substrate complex
Enzyme
+
Product

รูปที่ 7 แสดงถึงการเปรียบเทียบความจำเพาะในการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองทฤษฎี(69)

3.6. ปัจจัยมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์(67)

3.6.1. อุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการเร่งของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงจุดสูงสุด (temperature optimum) แล้วจะลดลง ซึ่งความจำเพาะของเอนไซม์ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 25–40 องศาเซลเซียสและถ้าอุณหภูมิสูงกว่าจุดนี้มาก ๆ เอนไซม์จะเสียการเร่งทางชีวภาพ

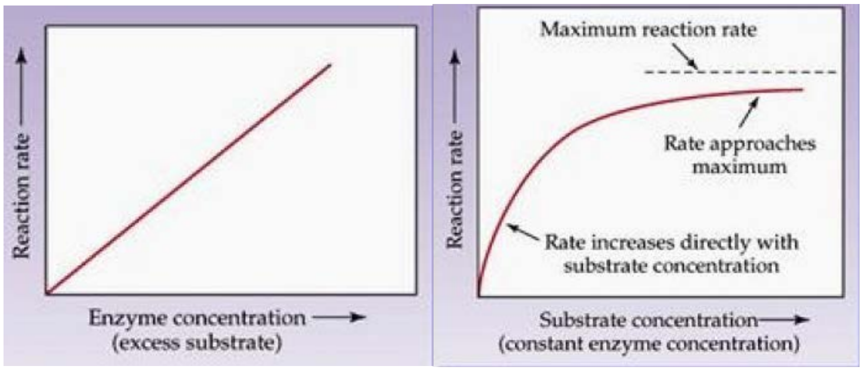


รูปที่ 8 แสดงถึงอุณหภูมิที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์(70)

3.6.2. ค่า pH จุดที่ทำให้เอนไซม์มีการเร่งสูงสุด เรียกว่า pH optimum ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในช่วง pH 6-7.5 ถ้า pH สูง หรือต่ำเกินไปจะทำให้เกิดการสูญเสียการเร่งทางชีวภาพ

3.6.3. ความเข้มข้นของเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นของ substrate มากเกินพอ (excess) จะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น

3.6.4. ความเข้มข้นของ substrate เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่ ที่ความเข้มข้นของ substrate น้อย ๆ ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นด้วยอัตราเร็วมากจนกระทั่งถึงความเข้มข้นของ substrate ที่จุดหนึ่งที่อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะคงที่ โดยความเร็วของปฏิกิริยาที่สูงสุด เรียกว่า ความเร็วสูงสุด (V_{max})



รูปที่ 9 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์(70)

3.7. การควบคุมการทำงานของเอนไซม์(67)

3.7.1. การสร้างเอนไซม์ในรูปที่ทำงานไม่ได้ (nonactive form) เรียกว่า zymogen หรือ proenzyme ซึ่งจะทำงานได้ก็ต่อเมื่อมีการสลายส่วน peptide ที่ทำให้โมเลกุลไม่ทำงานออกไปด้วย โดยเอนไซม์ที่จำเพาะ เช่น pepsin ที่สร้างในรูป pepsinogen ก่อน

3.7.2. การดัดแปรแบบโควาเลนต์ (covalent modification) เป็นการเติมหมู่ขนาดเล็ก ๆ เข้าไปในโมเลกุลของเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) เช่น การเติมหมู่ฟอสโฟริล (phosphoryl) เข้าไปในส่วนกรดอะมิโนซีรีนของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการสลายไกลโคเจน

3.7.3. ผลผลิตสุดท้าย สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ตัวแรกจากปฏิกิริยา ซึ่งปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องเรียกว่า การยับยั้งแบบป้อนกลับ (feedback inhibition หรือ retro inhibition) เช่น การสังเคราะห์กรดอะมิโนชนิด isoleucine ในแบคทีเรีย

3.7.4 โปรตีนควบคุม (regulatory protein) ซึ่งสามารถยับยั้งหรือกระตุ้นเอนไซม์ได้ เช่น แคลโมดูลิน (calmodulin) สามารถควบคุมการเร่งของเอนไซม์หลายชนิด

3.8. ตัวยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor)(67)

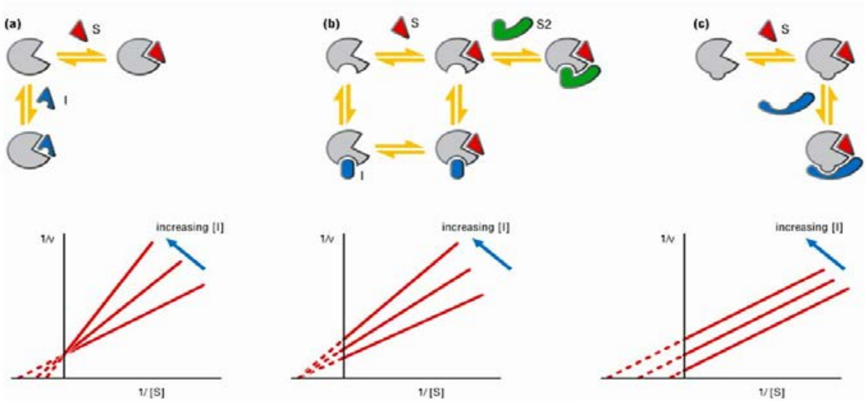
3.8.1. ตัวยับยั้งแบบผันกลับไม่ได้ (irreversible inhibitor) เกี่ยวกับการทำลายหรือเปลี่ยนแปลง functional group 1 หมู่หรือมากกว่า ซึ่งจำเป็นต่อการเร่งบนโมเลกุลของเอนไซม์ ซึ่งตัวยับยั้งแบบนี้จะจับกับเอนไซม์ได้ทั้งแบบ covalent และ noncovalent เช่น iodoacetamide จะทำปฏิกิริยากับ หมู่ -SH ของ cysteine โดยการเกิด covalent bond

3.8.2. ตัวยับยั้งแบบผันกลับได้ (reversible inhibitor)

3.8.2.1. ตัวยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibitor) หมายถึง สารที่สามารถเข้าไปแย่งจับกับ substrate โดยจับที่บริเวณเร่งบนโมเลกุลของเอนไซม์แล้วทำให้การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลง เช่น malonic acid สามารถจับเอนไซม์ succinic dehydrogenase ในปฏิกิริยาการออกซิไดซ์ succinic acid ไปเป็น fumaric acid เพราะมีโครงสร้างคล้ายกับ succinic acid

3.8.2.2. ตัวยังยั้งแบบไม่แข่งขัน (noncompetitive inhibitor) หรือตัวยับยั้งแบบผสม (mixed inhibitor) โดยตัวยับยั้งชนิดนี้จะเข้าไปจับที่บริเวณอื่นบนโมเลกุลของเอนไซม์ที่ไม่ใช่บริเวณเร่ง แต่ทำให้บริเวณเร่งเปลี่ยนแปลงไปจึงทำให้เอนไซม์ทำงานไม่ได้

3.8.2.3. การยับยั้งแบบอันคอมเพติตีฟ (uncompetitive inhibition) การยับยั้งแบบนี้จะเกิดขึ้นเมื่อตัวยับยั้งเข้ารวมเฉพาะกับเอนไซม์ substrate complex เท่านั้น แบบไม่ผันกลับจึงทำให้เกิดเป็น ESI complex ซึ่งผลผลิตจะไม่เกิดขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ substrate



competitive noncompetitive uncompetitive

รูปที่ 10 แสดงกลไกแต่ละชนิดของตัวยับยั้งของเอนไซม์(71)

3.9. การทำหน้าที่ของเอนไซม์บางชนิดที่มีความสำคัญต่ออาหาร(72)

3.9.1. อะไมเลส (amylase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม glycoside hydrolase มี 2 ชนิด ได้แก่

α-amylase และ *β*-amylase โดย *α*-amylase เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคไซด์ภายในสายพอลิเมอร์ของโมเลกุลสตาร์ช (starch) และไกลโคเจน (glycogen) ทำให้โมเลกุลของสตาร์ช และไกลโคเจนถูกไฮโดรไลซ์ได้น้ำตาล เช่น น้ำตาลมอลโทส (maltose) พบทั่วไปในระบบการย่อยอาหาร (digestive system) ของมนุษย์ และสัตว์ เช่น ในน้ำลายและน้ำย่อยจากตับอ่อน ส่วน *β*-amylase เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์สตาร์ช (starch) เฉพาะส่วนปลายสายด้านที่เป็นนอนรีดิวส์ (non reducing end) เข้ามาทีละ 2 หน่วย ทำให้ได้น้ำตาลมอลโทส (maltose) ซึ่งเอนไซม์นี้ไม่พบในน้ำย่อยของมนุษย์ แต่พบในรา (mold) แบคทีเรีย (bacteria) และพบในผลไม้ระหว่างการสุก (ripe)

3.9.2. แล็กเทส (lactase หรือ *β*-galactozidase) ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา hydrolysis

3.9.3. เซลลูเลส (cellulase) และเฮไมเซลลูเลส (hemicellulase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายโมเลกุลของ cellulose และ hemicellulose โดยปกติจะพบที่ผนังเซลล์ของพืชที่ถือว่าเป็นเส้นใยและมีความแข็งแรง ปกติแล้วสัตว์จะไม่สามารถย่อยสลายได้ แต่จะอาศัยการย่อยสลายของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ใน rumen ในการปลดปล่อย cellulase หรือ hemicellulase ออกมา

3.9.4. เพกติเนส (pectinase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสารพวก pectin ที่พบในพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ ซึ่งไม่พบในสัตว์ชั้นสูง ยกเว้นหอยทาก

3.9.5. โปรติเอส (protease) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการสลาย peptide bond ซึ่งการทำงานของเอนไซม์จะต่างกันโดยขึ้นกับหมู่ R1 และ R2 group ว่าเป็นกรดอะมิโนชนิดใด และยังขึ้นอยู่กับ configuration ของกรดอะมิโน

3.9.6. กลูโคส ออกซิเดส (glucose oxidase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม oxidoreductase สามารถออกซิไดซ์ D–glucose เป็น gluconic acid โดยทั่วไปแล้วการนำ glucose oxidase ไปใช้ในงานต่าง ๆ ที่มักใช้ร่วมกับเอนไซม์ catalase และ glucose oxidase

3.9.7. คาลาเตส (calatase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ hydrogen peroxide เป็นน้ำและออกซิเจน ซึ่งจะพบเอนไซม์นี้ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ที่ไม่ทนความร้อน

3.9.8. ลิโพออกซิจิเนส (lipoxygenase) เดิมเรียก lipoxidase เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา oxidation ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว พบเฉพาะในพืช เช่น ถั่วต่าง ๆ โดยเฉพาะถั่วเหลือง

3.10. เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว(72)

มนุษย์มีเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งหลังจากนั้น ลำไส้เล็กจะทำการดูดซึมน้ำตาลที่ถูกย่อยเสร็จสิ้นแล้วเข้าสู่กระแสเลือดจึงทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้น โดยเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องมีอยู่ 2 ชนิดคือ α-amylase และ α-glucosidase

3.10.1. α-amylase เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่สามารถไฮโดรไลซ์ที่ตำแหน่งพันธะ α-(1,4) ในโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน (polysaccharides) ให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงแต่ α-amylase ยังไม่สามารถย่อยโมเลกุล polysaccharides ให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) ได้โดย α-amylase ในร่างกายมีอยู่ 2 บริเวณ คือ

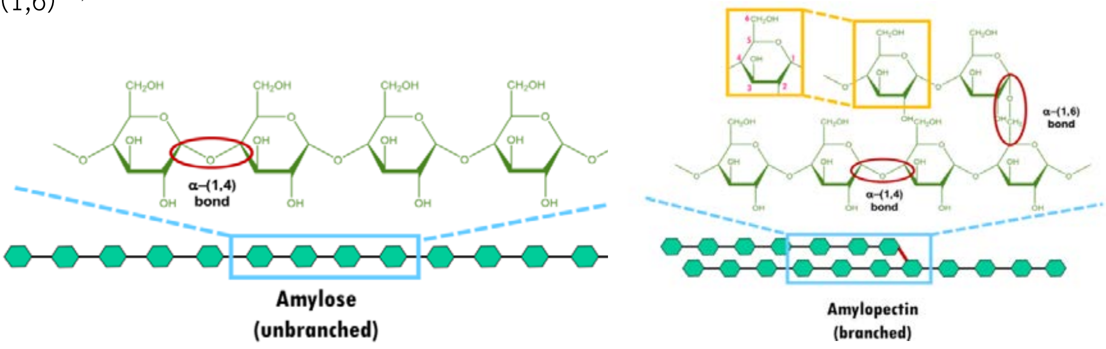
3.10.1.1. α-amylase ในน้ำลายบริเวณปาก ผลิตโดยต่อมน้ำลาย ซึ่งทำการไฮโดร-ไลซ์ที่ตำแหน่งพันธะ α-(1,4) ที่เชื่อมอยู่ในโมเลกุลของ polysaccharides ให้เปลี่ยนจากโมเลกุล polysaccharides เป็น oligosaccharides

3.10.1.2. α-amylase ในลำไส้เล็ก ผลิตโดยตับอ่อน ซึ่งทำหน้าที่ในการย่อย oligosaccharides ที่ถูกย่อยมาแล้วจาก α-amylase ในน้ำลายบริเวณปาก โดยทำการไฮโดรไลซ์ที่ตำแหน่งพันธะ α-1,4 ต่อจึงทำให้ oligosaccharides มีขนาดเล็กลง ซึ่งได้เป็น disaccharides และ dextrin

3.10.2. α-glucosidase เป็นเอนไซม์ที่เรียกรวมระหว่าง 2 เอนไซม์ คือ maltase-glucoamylase (MGAM) และ sucrase-isomaltase (SI) ที่อยู่เพียงแต่ในลำไส้เล็ก เป็นเอนไซม์ผลิตโดยตับอ่อนซึ่งสามารถไฮโดรไลซ์พันธะในโมเลกุลที่ไม่สามารถถูกดูดซึมได้ในลำไส้เล็ก เช่น disaccharides และ dextrin ด้วยการไฮโดรไลซ์ที่ตำแหน่งพันธะ α-(1,4) และ α-(1,6) ให้กลายเป็น monosaccharides ได้อย่างสมบูรณ์ เช่น กลูโคส กาแลคโตส และฟรุกโตส เป็นต้น ซึ่ง monosaccharides จะถูกดูดซึมภายในลำไส้เล็กให้เข้าสู่กระแสเลือดต่อไป

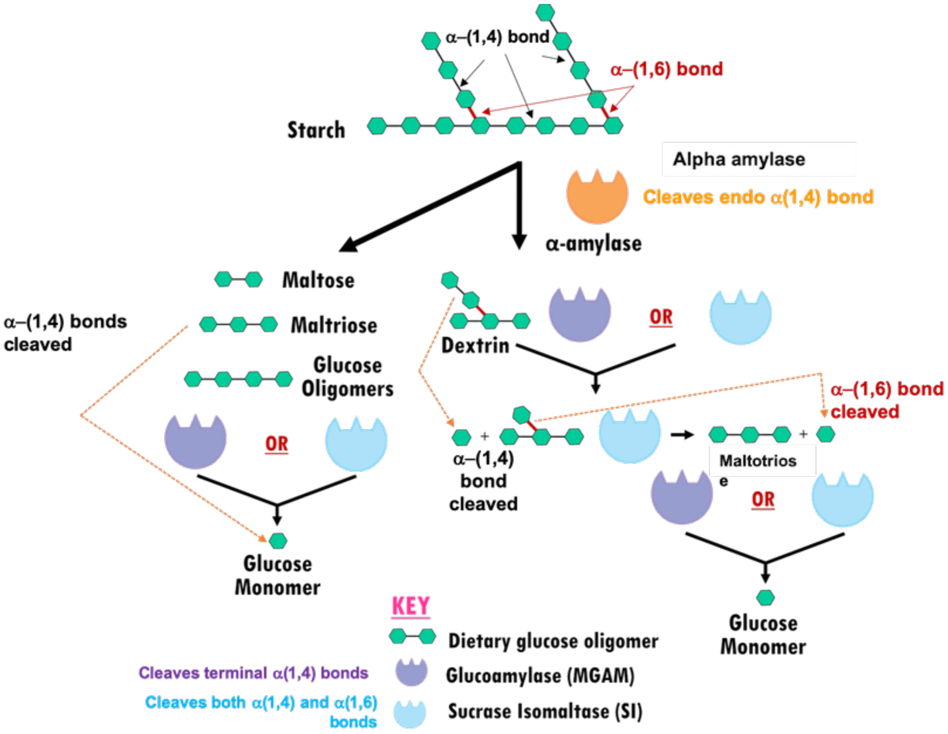
3.11. โครงสร้างคาร์โบไฮเดรต และกลไกการย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว

โครงสร้างของอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ อะไมโลส (amylose) โมเลกุลคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน (polysaccharide) ประเภทมอโนแซ็คคาไรด์ชนิดเดียวกัน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลแป้งที่เรียงต่อกัน (starchgranule) เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส (glucose) ที่จัดเรียงตัวเป็นสายตรงต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ชนิด α-(1,4) และอะไมโลเพกทิน (amylopectin) คือ โมเลกุลคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส เช่นเดียวกับอะไมโลส แต่มีการจัดเรียงตัวทั้งสายตรง และสายกิ่งด้วยพันธะไกลโคไซด์สองแบบเข้าไว้ด้วยกัน ส่วนที่เป็นพันธะสายตรงเชื่อมต่อด้วยพันธะชนิด α-(1,4) และส่วนที่เป็นสายแขนงจะเชื่อมด้วยพันธะชนิด α-(1,6)(73,74)



รูปที่ 11 แสดงโครงสร้างของคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน(74)

เมื่อรับประทานจำพวกคาร์โบไฮเดรตเข้าสู่ร่างกาย ระบบย่อยอาหารของร่างกายจะเริ่มทำงานทันที ในขั้นแรกเมื่ออาหารผ่านเข้าสู่ปาก เอนไซม์ α-amylase ที่อยู่ในน้ำลายจะเข้าตัดสายพันธะ α-(1,4) ทำให้โมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตมีขนาดเล็กลงและเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ oligomers หลังจากนั้นเมื่ออาหารจะเข้าสู่ทางเดินอาหารแล้ว α-amylase จากตับอ่อนจะเข้ามามีบทบาทในการตัดสายพันธะไกลโคไซด์ชนิด α-(1,4) ในรูปของ oligomer ให้คาร์โบไฮเดรตมีขนาดลดลงอยู่ในรูปของ oligosaccharides ได้แก่ maltose (disaccharide), maltotriose (trisaccharide) และ α-limit dextrin (ส่วนผสมของ polymers ที่ประกอบไปด้วยพันธะไกลโคไซด์ทั้งสองชนิด) ซึ่งโมเลกุลแป้งในรูปของ oligosaccharides ยังไม่สามารถถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายผ่านลำไส้ได้ ดังนั้นเอนไซม์ α-glucosidase ที่พบในลำไส้เล็กซึ่งประกอบไปด้วย MGAM และ SI จึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแป้งในรูปของ oligosaccharides ให้อยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น glucose, galactose และ fructose เป็นต้น ส่งผลให้ลำไส้สามารถดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่ร่างกายได้(74)

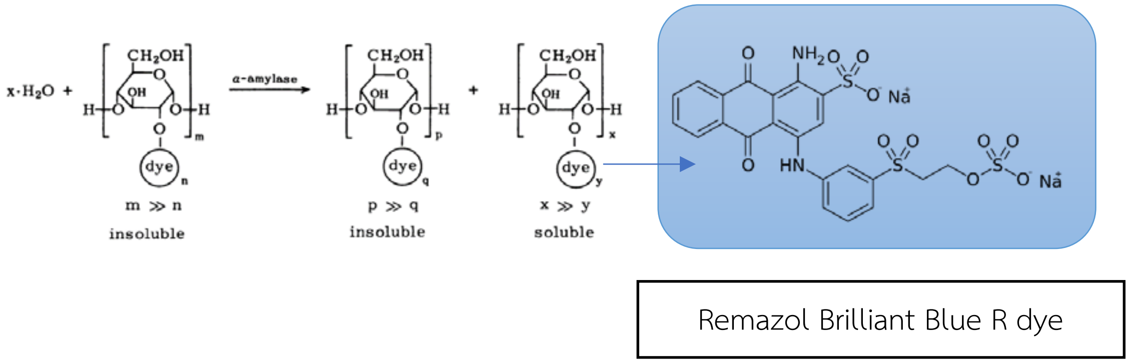

α–(1,4) bond
α–(1,6) bond
Starch
Alpha amylase
Cleaves endo α(1,4) bond
α-amylase
Maltose
Maltriose
Glucose Oligomers
α–(1,4) bonds cleaved
OR
Dextrin
OR
α–(1,6) bond cleaved
α–(1,4) bond cleaved
Maltriose
OR
Glucose Monomer
Glucose Monomer
KEY
Dietary glucose oligomer
Glucoamylase (MGAM)
Sucrase Isomaltase (SI)
Cleaves terminal α(1,4) bonds
Cleaves both α(1,4) and α(1,6) bonds

รูปที่ 12 แสดงกลไกการย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว(74)

4. หลักการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase ของสมุนไพร

4.1. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของสมุนไพร (principle of α-amylase inhibition assay)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α-amylase ของน้ำชาสมุนไพรแต่ละชนิด โดยการใช้ starch azure เป็นสารตั้งต้น ซึ่งเป็นโมเลกุลแป้งขนาดใหญ่ที่เกิด crosslinking กับสีย้อม Remazol Brilliant Blue R ด้วยพันธะโคเวเลนต์ ทำให้คุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถพองตัวในน้ำได้ (สารละลายมีสีน้ำเงินเข้ม) และเมื่อ starch azure เกิดปฏิกิริยา hydrolysis กับ α-amylase ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลขนาดเล็ก ๆ ที่ทำพันธะกับสีที่ละลายน้ำได้ โดยสามารถทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ของ supernatant (สีน้ำเงินเข้ม) ได้หลังจากหยุดปฏิกิริยา และปั่นเหวี่ยงสาร ซึ่งถ้าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากการทดลองมีค่ามากแสดงว่า α-amylase ทำงานได้ดี แต่ถ้าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าน้อยแสดงว่าน้ำชาสมุนไพรมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α-amylase(75-76)

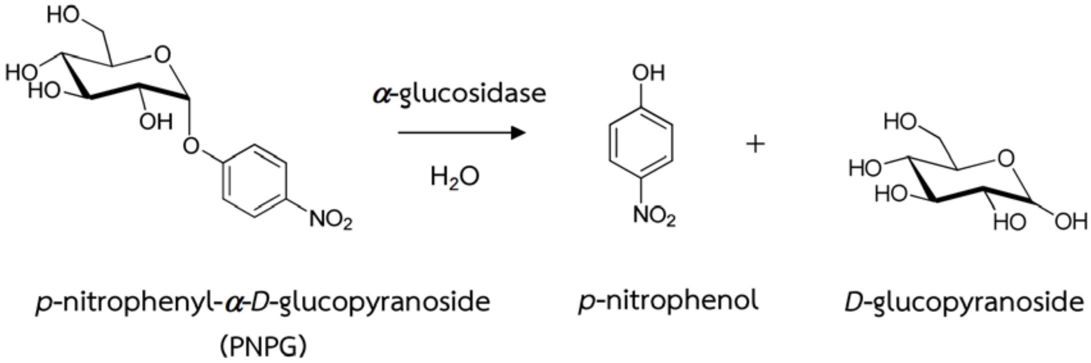


รูปที่ 13 แสดงการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของ Colored starch(77)

4.2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ของสมุนไพร (principle of α-glucosidase inhibition assay)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α-glucosidase ของน้ำชาสมุนไพรแต่ละชนิด โดยการใช้ *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (PNPG) เป็นสารตั้งต้น (สารละลายใสไม่มีสี) และเมื่อ PNPG เกิดปฏิกิริยา hydrolysis กับ α-glucosidase จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็น *p*-nitrophenol (สารละลายใสสีเหลือง) และน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสามารถติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ด้วย microplate reader ถ้าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากการ

ทดลองมีค่ามากแสดงว่า α-glucosidase ทำงานได้ดี แต่ถ้าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าน้อยแสดงว่าน้ำชาสมุนไพรมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α-glucosidase(78)



รูปที่ 14 แสดงการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของ PNPG(78)

5. โรคเบาหวาน(79)

โรคเบาหวาน คือ โรคที่เซลล์ร่างกายมีความผิดปกติในกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลในเลือดให้เป็นพลังงาน ซึ่งเมื่อใดก็ตามที่น้ำตาลไม่ได้ถูกใช้จะทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นกว่าระดับปกติ จึงทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ตามมา โดยโรคเบาหวานสามารถแบ่งออกเป็น 4 ชนิดดังนี้

5.1. โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (T1DM)

เป็นผลจากการทำลายเบต้าเซลล์ที่ตับอ่อนจากภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยผ่านกระบวนการ Cell-mediated immunity (CMI) ซึ่งส่วนใหญ่พบในคนอายุน้อย รูปร่างไม่อ้วน มีอาการปัสสาวะมาก กระหายน้ำ ดื่มน้ำมาก อ่อนเพลียน้ำหนักลด อาจจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว และรุนแรง มักพบในวัยเด็ก ซึ่งในบางกรณีพบภาวะเลือดเป็นกรดจากสารคีโตน เรียกภาวะนี้ว่า ketoacidosis เป็นอาการแสดงแรกของโรค การตรวจพบ autoantibody ต่าง ๆ ในญาติพี่น้องของผู้ป่วย แต่ยังไม่เกิดภาวะเบาหวานสามารถทำนายการเกิดโรคในบุคคลนั้น ได้ว่ามีโอกาสที่จะเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ได้(79)

5.2. โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (T2DM)

เบาหวานชนิดที่ 2 พบเป็นจำนวน 90-95% ของจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานทุกชนิด ซึ่งเกิดจากการที่เซลล์ของร่างกายตอบสนองต่ออินซูลินได้ไม่ดีหรือที่เรียกว่า ภาวะดื้อต่ออินซูลิน ส่งผลให้ร่างกายเหมือนขาดอินซูลินไประดับหนึ่ง จึงทำให้ร่างกายต้องทดแทนด้วยการสร้างอินซูลินออกมามาก จนตับอ่อนทำงานมากขึ้น ทำให้ระดับอินซูลินไม่พอเพียงแก่ความต้องการ โดยปัจจัยเสี่ยงของเบาหวานประเภทนี้ ได้แก่ อายุที่มากขึ้น ความอ้วน บุคคลในครอบครัวมีประวัติเป็นเบาหวาน ประวัติการเป็นเบาหวานขณะตั้งครรภ์ ความต้านทานต่อกลูโคสต่ำ ร่างกายไม่เคลื่อนไหว เชื้อชาติ ความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ มีประวัติเคยเป็นโรคเกี่ยวกับหลอดเลือด เป็นต้น(79)

5.3. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (Gestational Diabetes Mellitus : GDM)

โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์เกิดจากการที่มีภาวะดื้อต่ออินซูลินมากขึ้นในระหว่างตั้งครรภ์ ซึ่งมีปัจจัยมาจากรกของทารกในครรภ์หรืออื่น ๆ และตับอ่อนของมารดาไม่สามารถผลิตอินซูลินให้เพียงพอกับความต้องการได้ ซึ่งสามารถตรวจพบได้จากการทำ oral glucose tolerance test (OGTT) ในหญิงมีครรภ์ในไตรมาสที่ 2 หรือ 3 โดยจะตรวจที่อายุครรภ์ 24-28 สัปดาห์ด้วยวิธี "one-step" ซึ่งเป็นการทำการตรวจครั้งเดียวโดยการใช้ oral glucose challenge test (OGT) 75 กรัม หรือ "two-step" ซึ่งจะใช้การตรวจคัดกรองด้วย oral glucose challenge test 50 กรัม แล้วตรวจยืนยันด้วย oral glucose challenge test 100 กรัม โดยโรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์นี้มักจะหายไปหลังคลอด สำหรับหญิงตั้งครรภ์ที่พบระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร 2,126 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หรือมีค่าฮีโมโกลบิน A1C 26.5% ในไตรมาสที่ 1 จะจัดอยู่ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานอยู่เดิมแล้วก่อนการตั้งครรภ์(79)

5.4. โรคเบาหวานที่มีสาเหตุจำเพาะเป็นโรคเบาหวานที่มีสาเหตุชัดเจน

โรคเบาหวานที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมเช่น Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) ที่เป็นโรคเบาหวานที่เกิดจากโรคของตับอ่อน ซึ่งมีความผิดปกติของต่อมไร้ท่อจากยา จากการติดเชื้อ จากปฏิกิริยาภูมิคุ้มกัน หรือโรคเบาหวานที่พบร่วมกับกลุ่มอาการต่าง ๆ โดยผู้ป่วยจะมีลักษณะจำเพาะของโรคหรือกลุ่มอาการนั้น ๆ และมีอาการแสดงของโรคที่ทำให้เกิดเบาหวาน(79)

6. การวินิจฉัยโรคเบาหวาน

การวินิจฉัยโรคเบาหวาน ทำได้โดยวิธีใดวิธีหนึ่งใน 4 วิธี ดังต่อไปนี้

6.1. ผู้ที่มีอาการของโรคเบาหวานชัดเจน คือ หิวน้ำบ่อย ปัสสาวะบ่อย น้ำหนักตัวลดลงโดยที่ไม่มีสาเหตุ ซึ่งสามารถตรวจระดับพลาสมากลูโคส ณ เวลาใดก็ได้ ไม่จำเป็นต้องงดอาหาร โดยถ้ามีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 200 mg/dl ให้วินิจฉัยว่า เป็นโรคเบาหวาน(79)

6.2. การตรวจระดับพลาสมากลูโคสตอนเช้าหลังอดอาหารข้ามคืน (Fasting plasma glucose, FPG) นานกว่า 8 ชั่วโมง มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 126 mg/dl วิธีนี้เหมาะสำหรับคนทั่วไปที่มาตรวจสุขภาพ และผู้ที่ไม่มีอาการ(79)

6.3. การตรวจความทนต่อกลูโคส (75 กรัม Oral glucose tolerance test, OGTT) ถ้าพบระดับพลาสมากลูโคส 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลมากกว่าหรือเท่ากับ 140-199 mg/dl ให้วินิจฉัยว่า เป็นโรคเบาหวาน ซึ่งวิธีนี้มักใช้ในงานวิจัย เนื่องจากผลการตรวจมีความไว (sensitivity) แต่ความจำเพาะ (specificity) ไม่ค่อยดีนัก อาจคลาดเคลื่อนได้(79)

6.4. การตรวจวัดระดับฮีโกลบิน A1C ถ้าค่าเท่ากับหรือมากกว่า 6.5% ให้การวินิจฉัยว่า เป็นโรคเบาหวาน โดยวิธีนี้นิยมใช้กันมากขึ้นในปัจจุบัน เพราะไม่จำเป็นต้องงดอาหาร แต่จะต้องตรวจวัดในห้องปฏิบัติการที่มีมาตรฐาน ดังกล่าวข้างต้นเท่านั้น แต่สำหรับผู้ที่ไม่มีอาการของโรคเบาหวานชัดเจน ควรตรวจเลือดซ้ำด้วยวิธีเดิมอีกครั้งหนึ่ง โดยต่างวันกันเพื่อยืนยัน และป้องกันความผิดพลาดจากการตรวจห้องปฏิบัติการ(79)

7. ภาวะแทรกซ้อน(79)

ผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นโรคมานานและ/หรือควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ได้ดี จะเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังจากเบาหวานได้ ดังนั้นจึงจำเป็นที่แพทย์ควรมีแนวทางการตรวจค้น การป้องกันและดูแลรักษาภาวะแทรกซ้อนอย่างเหมาะสม เช่น ตั้งแต่ในระยะเริ่มต้นเพื่อลดการสูญเสียการทำงานของอวัยวะที่สำคัญ ลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สูงมากในการดูแลรักษาโรคในระยะสุดท้ายและลดการเสียชีวิตจากภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน เป็นต้น

7.1. ภาวะจอตาผิดปกติจากเบาหวาน (diabetic retinopathy)

7.2. โรคไตจากเบาหวาน (diabetic nephropathy)

7.3. ผู้ป่วยเบาหวานมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงตีบตัน

7.4. แผลที่เท้า

8. ยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือด(79)

ตารางที่ 2 แสดงยาที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน

กลุ่มยา	กลไกการออกฤทธิ์	ระยะเวลาออกฤทธิ์	มีผลต่อระดับน้ำตาล	การเกิด Hypoglycemic
Biguanides - Metformin (Glucophage)	- ลดการสร้างกลูโคสจากตับ - เพิ่มการดูดซึมกลูโคสที่กล้ามเนื้อ	ไม่มีระบุ	อดอาหาร	โอกาสเกิดน้อย
Sulfonylureas - Glibenclamide (Daoni) - Glimepirde (Amary) - Glidazide (Diamicron)	- กระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน - น้ำหนักเพิ่ม	ไม่มีระบุ	ตามแต่ชนิดของยา และเวลาที่ใช้	โอกาสเกิดสูง
- Glipizide (minidiab)		30 นาที		
Meglitinide - Repaglinide (Prandin)	- กระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน ดังนั้นจึงไม่ทำงานในผู้ที่ตับอ่อนไม่สามารถทำงานได้อีกแล้ว	30 - 60 นาที	หลังอาหาร	โอกาสเกิดสูง
Thiazolidinediones - Pioglitazone (Actos)	- ลด Insulin resistance - ลดการสร้างน้ำตาลจากตับ	ไม่มีระบุ	ทั้งน้ำตาลอดอาหารและน้ำตาลหลังอาหาร	โอกาสเกิดน้อย

Alpha-glucosidase inhibitors - *Acarbose (Glucobay) - Voglibose (Basen)	- ลดการย่อยแป้งในระบบทางเดินอาหาร	30 นาที	หลังอาหาร	โอกาสเกิดน้อยมาก
DPP-4 inhibitors - Saxagliptin (Onglyza) - Sitagliptin (Januvia) - Vildagliptin (Galvus)	- ลดการทำลายฮอร์โมน Incretin ทำให้มีการกระตุ้นการสร้างอินซูลินเพิ่มขึ้น	ไม่มีระบุ	ทั้งน้ำตาลอดอาหารและน้ำตาลหลังอาหาร	โอกาสเกิดน้อย
Incretin mimetics - Exernatide (Byetta) - Liraglutide (Victoza)	- ฮอร์โมน GLP-1 ซึ่งเป็นกลุ่ม Incretin ออกฤทธิ์คล้าย DD4-inhibitors	ไม่มีระบุ	ทั้งน้ำตาลอดอาหารและน้ำตาลหลังอาหาร	โอกาสเกิดน้อย
SGLT2 inhibitors - Gliflozin	- ยับยั้งการดูดกลับของกลูโคสที่หน่วยไต	ไม่มีระบุ	ทั้งน้ำตาลอดอาหารและน้ำตาลหลังอาหาร	โอกาสเกิดน้อย

*Acarbose เป็น complex oliglosaccharide ซึ่งเกิดจากกระบวนการ fermentation ของแบคทีเรีย *Actinoplanes utahensis* ซึ่ง acarbose มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับ oligosaccharide ของแป้ง อาจเรียกได้ว่าเป็น pseudotetrasacchaide โดยยานี้จะออกฤทธิ์โดยจะแย่งจับกับเอนไซม์ α-glucosidase ที่บริเวณ brushed border ของผนังลำไส้เล็กมีการยับยั้งเป็นชนิดแข่งขัน และผันกลับได้ (reversible and competitive inhibition) โดยจะช่วยชะลอการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตส่งผลให้ระดับน้ำตาลหลังรับประทานอาหารลดลง และเมื่อเอนไซม์ถูกยับยั้งจะส่งผลทำให้ไม่มีเอนไซม์ไปย่อยแป้ง (polysaccharide) ไปเป็น monosaccharide ได้ ซึ่ง เอนไซม์ที่ถูกยับยั้งการทำงานโดยยากลุ่มนี้ ได้แก่ pancreatic amylase, glucoamylase, maltase, sucrase และ dextrinase และยานี้จะไม่มีผลต่อ lactase จึงไม่มีผลต่อ lactose intolerance ซึ่งส่วนที่สำคัญของยากลุ่มนี้ไม่มีผลต่อการดูดซึมของกลูโคสและฟรุคโตสที่เป็น monosaccharide(80)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเลือกซื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพร

เกณฑ์คัดเข้า

1. สมุนไพรต้องอยู่ในรูปแบบผลิตภัณฑ์ในซองชา
2. ผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรมีการขึ้นทะเบียน หรือเป็นสินค้า OTOP หรือผลิตภัณฑ์ที่สามารถหาซื้อได้ตามท้องตลาด
3. ผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรไม่จำเป็นต้องมีการรับรองที่ผลิตภัณฑ์ว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ แต่มีข้อมูลของสรรพคุณที่ปรากฏถึงการใช้รักษาหรือป้องกันโรคเบาหวาน รวมถึงมีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด

เกณฑ์คัดออก

1. ผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรที่มีส่วนผสมของสมุนไพรชนิดอื่นเกิน 5%
2. ผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรที่ไม่ทราบส่วนประกอบอย่างชัดเจน

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. เครื่องกวนสาร (magnetic stirrer)
2. เครื่องจับเวลา (stopwatch)
3. เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (centrifuge)
4. เครื่องวัดค่า กรด-ด่าง (pH meter)
5. เครื่องวัดอุณหภูมิ (glass thermometer)
6. เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (microplate reader)
7. เตาให้ความร้อน (hot plate)
8. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
9. กระจกนาฬิกา (watch glass)

10. กระบอกตวง (cylinder)
11. ขวดแก้ววัดปริมาตร (volumetric flask)
12. ขวดฉีดน้ำกลั่น (wash bottle)
13. แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)
14. แท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar)
15. แท่นใส่หลอดไมโครทิวป์ (microtube rack)
16. บีกเกอร์ (beaker)
17. ไมโครปิเปตต์ (micropipette)
18. ไมโครปิเปตต์ทิป (micropipette tip)
19. ไมโครเวลเพลท (micro well plate)
20. หลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ (microcentrifuge tube)
21. หลอดหยดสาร (dropper)

3. สารเคมี

1. Acarbose
2. Acetic acid
3. α-amylase
4. α-glucosidase
5. Distilled water (DW)
6. *p*-nitrophenyl glucopyranoside (PNPG)
7. Sodium carbonate
8. Sodium phosphate buffer (pH 6.9)
9. Starch azure
10. Tris-HCl buffer (pH 6.9)

4. การทดสอบหาปริมาตรของน้ำ และระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการสกัดชาสมุนไพรสำหรับทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.1. การทดสอบหาปริมาตรของน้ำที่เหมาะสม(81-83)

1. ต้มน้ำให้ได้อุณหภูมิ 95±5 องศาเซลเซียส
2. นำซองชาสมุนไพรที่ต้องการทดสอบใส่ลงในบีกเกอร์
3. แบ่งปริมาตรของน้ำที่ต้มใส่ลงในบีกเกอร์ที่ปริมาตร 10, 25, 50 และ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ
4. จับเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดยกซองชาขึ้นออกจากบีกเกอร์
5. ปิเปตน้ำชาสมุนไพร 100 µl และสารละลายเอนไซม์ α-amylase (40 units/ml) ปริมาตร 100 µl ผสมกันใน microcentrifuge tube จากนั้นนำไป preincubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
6. เติม 1% starch azure solution (ที่ละลายอยู่ใน 50 mM Tris HCl buffer (pH 6.9)) ปริมาตร 100 µl จากนั้นนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา
7. 10 นาที
8. เติม 50% acetic acid ปริมาตร 250 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา
9. นำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3000 rpm อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
10. ปิเปตสารชั้นบน (supernatant) ใส่ลงใน microplate 96-well แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร
11. นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณร้อยละของการยับยั้ง ดังสมการ

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ sample

หมายเหตุ : ทำการทดสอบทำ 3 ครั้ง

4.2. การทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสม(81-83)

1. ต้มน้ำให้ได้อุณหภูมิ 95±5 องศาเซลเซียส
2. นำซองชาสมุนไพรที่ต้องการทดสอบใส่ลงในบีกเกอร์
3. เติมน้ำที่ต้มตามปริมาตรที่เหมาะสมจากตอนที่ 4.1.
4. เติมน้ำร้อน จับเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เมื่อครบเวลาที่กำหนด ยกซองชาขึ้นจากบีกเกอร์แล้วทิ้งไว้ให้เย็น
5. ปิเปตน้ำชาสมุนไพร 100 µl และสารละลายเอนไซม์ α-amylase (40 units/ml) ปริมาตร 100 µl ผสมกันใน microcentrifuge tube จากนั้นนำไป preincubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
6. เติม 1% starch azure solution (ที่ละลายอยู่ใน 50 mM Tris HCl buffer (pH 6.9)) ปริมาตร 100 µl จากนั้นนำไป incubate อีกครั้ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
7. เติม 50% acetic acid ปริมาตร 250 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา
8. นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3000 rpm อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
9. ปิเปตสารส่วน supernatant ใส่ลงใน microplate 96-well แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร
10. นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณร้อยละของการยับยั้ง ดังสมการ

$$\%\text{inhibition} = [\,(A-B)/A\,] \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ sample

หมายเหตุ : ทำการทดสอบทำ 3 ซ้ำ

5. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของชาสมุนไพร

5.1. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase(81-83)

1. ต้มน้ำให้ได้อุณหภูมิ 95±5 องศาเซลเซียส
2. นำซองชาสมุนไพรที่ต้องการทดสอบใส่ลงในบีกเกอร์
3. เติมน้ำต้มลงในบีกเกอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีซองชาสมุนไพรอยู่ด้วย
4. จับเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดยกซองชาขึ้นออกจากบีกเกอร์
5. ปิเปตน้ำชาสมุนไพร 100 µl และสารละลายเอนไซม์ α-amylase (40 units/ml) ปริมาตร 100 µl ผสมกันใน microcentrifuge tube จากนั้นนำไป preincubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
6. เติม 1% starch azure solution (ที่ละลายอยู่ใน 50 mM Tris HCl buffer (pH 6.9)) ปริมาตร 100 µl แล้วนำไป incubate อีกครั้ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
7. เติม 50% acetic acid ปริมาตร 250 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา
8. นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3000 rpm อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
9. ปิเปตสารส่วน supernatant ใส่ลงใน microplate 96-well แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร
10. นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณร้อยละของการยับยั้ง ดังสมการ

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ sample

หมายเหตุ : ทำการทดสอบ 5 ซ้ำ

5.2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase(81-83)

1. ต้มน้ำให้ได้อุณหภูมิ 95±5 องศาเซลเซียส
2. นำซองชาสมุนไพรที่ต้องการทดสอบใส่ลงในบีกเกอร์
3. เติมน้ำต้มลงในบีกเกอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
4. จับเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดยกซองชาขึ้นออกจากบีกเกอร์
5. ปิเปตน้ำชาสมุนไพรปริมาตร 40 µl สารละลายเอนไซม์ α-glucosidase (1 unit/ml) ปริมาตร 40 µl และ 50 mM phosphate buffer ปริมาตร 100 µl ผสมกันใน microcentrifuge tube จากนั้นนำไป preincubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
6. เติม 1 mM p-nitrophenyl glucopyranoside (PNPG) (ที่ละลายอยู่ใน 50 mM phosphate buffer (pH 6.9)) ปริมาตร 40 µl แล้วนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
7. เติม 0.1 M sodium carbonate ปริมาตร 100 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา
8. ปิเปตสารตัวอย่างที่ทำการทดสอบใส่ลงใน microplate 96-well แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร
9. นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณร้อยละของการยับยั้ง ดังสมการ

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ sample

C = ค่าการดูดกลืนแสงของเอนไซม์ที่ทำงาน 100%

หมายเหตุ : ทำการทดสอบทำ 5 ซ้ำ

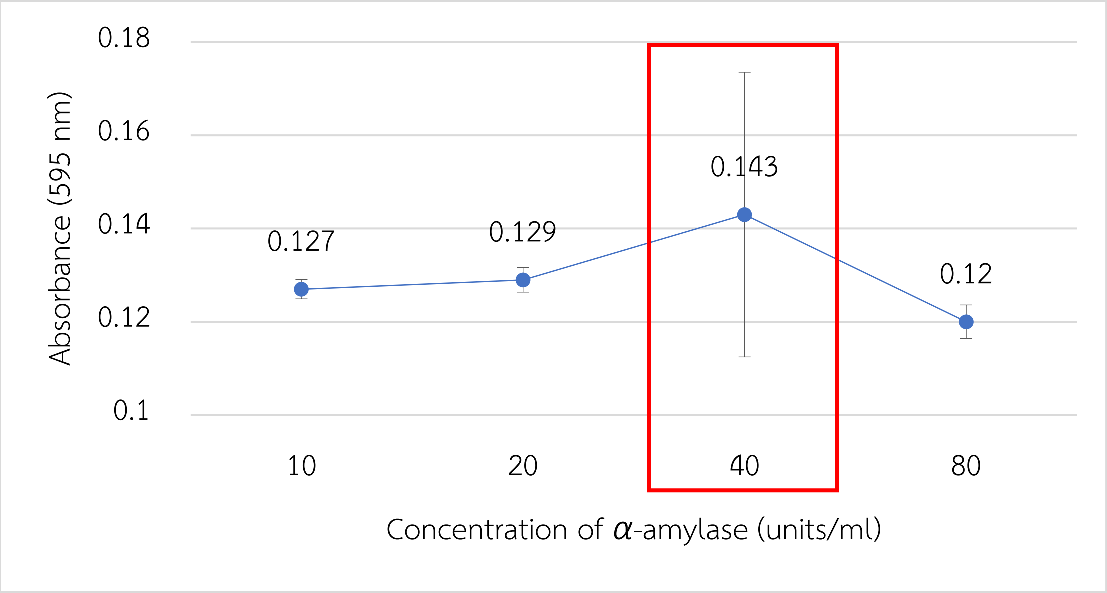
บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. การทดสอบหาสัดส่วนความเหมาะสมระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้น สำหรับใช้ในการทดสอบ

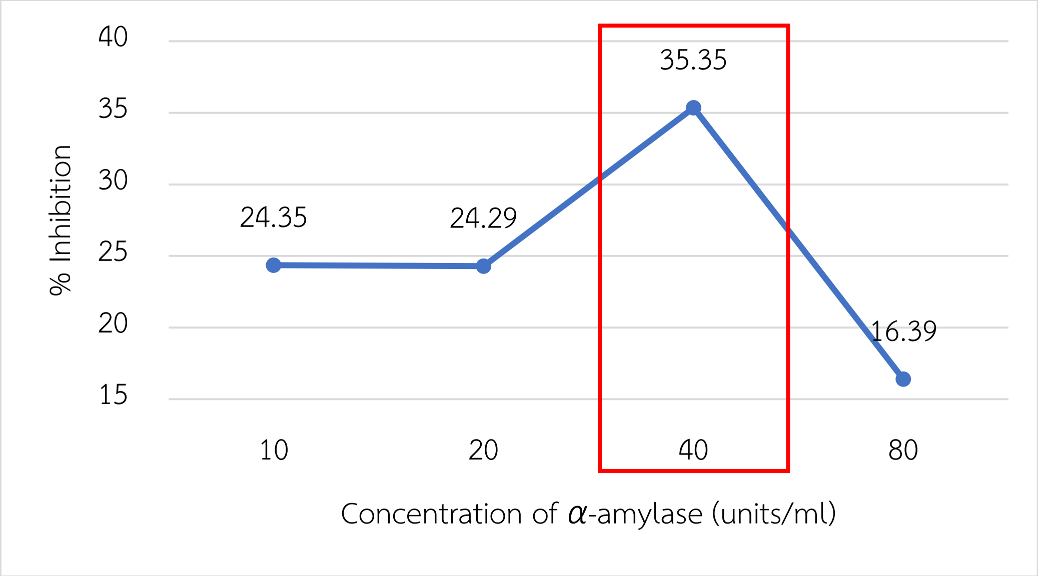
1.1. เอนไซม์ α-amylase กับสารตั้งต้น

ในการทดลองนี้ได้ควบคุมความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ 1 mM แล้วทำการเตรียมสัดส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ในช่วง 20-80 units/ml สำหรับใช้ในการทดสอบ จากผลการศึกษา พบว่า ค่าความของเอนไซม์ 40 units/ml มีความเหมาะสมสำหรับการทดสอบสารตั้งต้น 1 mM ดังแสดงในรูปที่ 15



รูปที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์ α-amylase กับค่าการดูดกลืนแสง

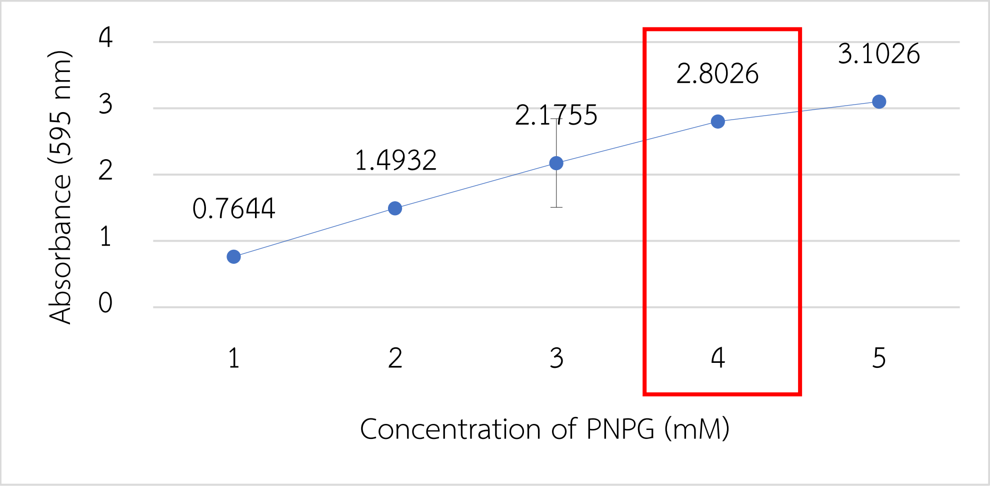
นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบหา %inhibition ของสารมาตรฐาน acarbose 1 mM กับความเข้มข้นของเอนไซม์ในช่วง 20-80 units/ml ซึ่งผลการทดสอบพบว่า ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 40 units/ml ให้ %inhibition สูงที่สุด คือ 35.35% แสดงในรูปที่ 16



รูปที่ 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์ α-amylase กับ %inhibition ของสารมาตรฐาน acarbose

1.2. เอนไซม์ α-glucosidase กับสารตั้งต้น

ในการทดลองนี้ได้ควบคุมความเข้มข้นของเอนไซม์ 1 unit/ml แล้วทำการเตรียมสัดส่วนความเข้มข้นของสารตั้งต้นในช่วง 1-5 mM สำหรับใช้ในการทดสอบ โดยผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารตั้งต้น สำหรับใช้ในการทดสอบกับเอนไซม์ α-glucosidase 1 unit/ml คือ 4 mM ผลการทดสอบ ดังแสดงในรูปที่ 17



รูปที่ 17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของ PNPG กับค่าการดูดกลืนแสง

2. การทดสอบหาปริมาตรน้ำที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดชาสมุนไพรเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

การสกัดชาสมุนไพรในการศึกษานี้ได้ใช้วิธีการสกัดตามรูปแบบภูมิปัญญาหรือการชงชาทั่วไป ซึ่งจากงานวิจัยของ Cleverdon, Riley และคณะ รายงานถึงอุณหภูมิของน้ำสำหรับใช้ในการชงชา (*Camellia sinensis* L.) คือ 95-100 องศาเซลเซียส และเวลาที่เหมาะสม คือ 5 นาที(84) โดยตัวอย่างชาสมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบนี้ ได้แก่ ชาชงสมุนไพรขลู่ ช้าพลู ย่านาง และหญ้าหนวดแมว เพื่อสกัดสารสำคัญ โดยเปรียบเทียบปริมาตรน้ำที่แตกต่างกัน คือ 10, 25, 50 และ 100 มิลลิลิตร จากนั้นทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ได้ผลดังนี้

2.1. **ชาขลู่** จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาตรน้ำที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดชาขลู่ คือ 100 มิลลิลิตร ซึ่งให้ % inhibition สูงที่สุด เท่ากับ 9.30% รองลงมา คือ ปริมาตรน้ำ 10 มิลลิลิตร ได้ %inhibition เท่ากับ 8.14% ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาขลู่กับปริมาตรน้ำในการสกัดที่แตกต่างกัน

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	**%inhibition (±SD)**
10	8.14 ± 0.00
25	2.33 ± 0.01
50	2.91 ± 0.03
100	9.30 ± 0.01

หมายเหตุ : น้ำหนักตัวอย่างชาขลู่ที่ใช้อยู่ในช่วง 0.64-0.71 g และทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

2.2. ชาช้าพลู จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาตรน้ำที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดชาช้าพลู คือ 100 มิลลิลิตร ซึ่งให้ % inhibition สูงที่สุด เท่ากับ 17.30% รองลงมา คือ ปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร ได้ %inhibition เท่ากับ 14.30% ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาช้าพลูกับปริมาตรน้ำในการสกัดที่แตกต่างกัน

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	**%inhibition (±SD)**
10	ND
25	7.70 ± 0.00
50	14.30 ± 0.00
100	17.30 ± 0.00

หมายเหตุ : น้ำหนักตัวอย่างชาช้าพลูที่ใช้อยู่ในช่วง 1.15-1.25 g และทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

*ND = Not detected

2.3. ชาย่านาง จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาตรน้ำที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดชาย่านาง คือ 100 มิลลิลิตร ซึ่งให้ %inhibition สูงที่สุด เท่ากับ 6.8% รองลงมา คือ ปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร ได้ %inhibition เท่ากับ 3.4% ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาย่านางกับปริมาตรน้ำในการสกัดที่แตกต่างกัน

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	**%inhibition (±SD)**
10	0.56 ± 0.00
25	2.8 ± 0.00
50	3.4 ± 0.00
100	6.8 ± 0.00

หมายเหตุ : น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้อยู่ในช่วง 0.65-0.81 g และทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

2.4. ชาหญ้าหนวดแมว จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาตรน้ำ 10 มิลลิลิตร ให้ % inhibitionสูงที่สุด เท่ากับ 6.45% รองลงมา คือ ปริมาตรน้ำ 25 มิลลิลิตร ได้ %inhibition เท่ากับ 5.38% ซึ่งปริมาตรทั้ง 2 ดังกล่าวมีปริมาตรน้ำที่น้อยเกินไปในการชงชา และ % inhibition มีความแตกต่างจากปริมาตรน้ำ 100 มิลลิลิตร ไม่มากนัก ดังนั้นจึงได้ปริมาตรที่ใช้ในการสกัดชาหญ้าหนวดแมว คือ 100 มิลลิลิตร ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 6 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาหญ้าหนวดแมวกับปริมาตรน้ำในการสกัดที่แตกต่างกัน

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	**%inhibition (±SD)**
10	6.45 ± 0.00
25	5.38 ± 0.00
50	0.54 ± 0.00
100	4.30 ± 0.00

หมายเหตุ : น้ำหนักตัวอย่างชาหญ้าหนวดแมวที่ใช้อยู่ในช่วง 1.25-1.33 g และทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

3. การทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดชาสมุนไพรสำหรับทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

การสกัดชาสมุนไพรใช้วิธีการสกัดตามรูปแบบภูมิปัญญา และการชงชาทั่วไป รวมทั้งใช้ข้อมูลปริมาตรน้ำที่เหมาะสมจากการทดสอบข้อ 2 โดยอุณหภูมิของน้ำในช่วง 95-100 องศาเซลเซียส$^{(84)}$ สำหรับใช้ในการสกัดชา ซึ่งกำหนดเวลาที่แตกต่างกันในการทดสอบ คือ 5, 10 และ 15 นาที ได้ผลดังนี้

3.1. ชาขลู่ ผลการศึกษาพบว่า เวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด คือ 5 นาที ซึ่งให้ % inhibition เท่ากับ 8.64% ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาขลู่กับระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน

เวลา (นาที)	%inhibition (±SD)
5	8.64 ± 0.00
10	ND
15	ND

หมายเหตุ : น้ำหนักตัวอย่างชาขลู่ที่ใช้อยู่ในช่วง 0.74-0.75 g และทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

*ND = Not detected

3.2. ชาช้าพลู จากผลการศึกษาพบว่า เวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด คือ 5 นาที ซึ่งให้ % inhibition สูงที่สุด เท่ากับ 14.40% โดยผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาช้าพลูกับระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน

เวลา (นาที)	%inhibition (±SD)
5	14.40 ± 0.01
10	9.00 ± 0.01
15	13.20 ± 0.01

หมายเหตุ : น้ำหนักตัวอย่างชาช้าพลูที่ใช้อยู่ในช่วง 1.30-1.31 g และทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

3.3. ชาย่านาง จากผลการศึกษาพบว่า เวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด คือ 5 นาที ซึ่งให้ %inhibition เท่ากับ 14.20% ถึงแม้ว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ช่วงเวลาดังกล่าวจะเท่ากับที่เวลา 10 นาที และต่ำกว่าเล็กน้อยที่เวลา 15 นาที แต่เวลาดังกล่าวถือว่าเหมาะสมเนื่องจากไม่ต้องเสียเวลารอนานเกินไป ซึ่งอาจจะส่งผลถึงรสชาติของชาสมุนไพรได้ โดยผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาย่านางกับระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน

เวลา (นาที)	%inhibition (±SD)
5	14.20 ± 0.00
10	14.20 ± 0.00
15	19.50 ± 0.00

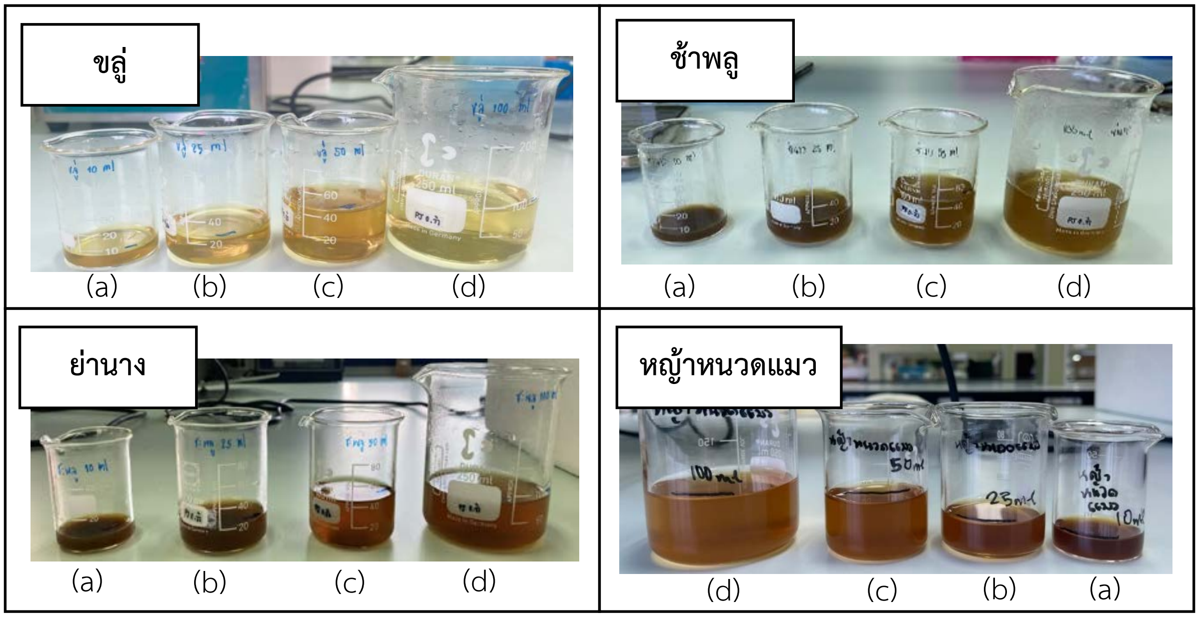
หมายเหตุ : น้ำหนักตัวอย่างชาย่านางที่ใช้อยู่ในช่วง 0.87-0.97 g และทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

3.4 หญ้าหนวดแมว จากผลการศึกษาพบว่า น้ำชาจากทุกช่วงเวลาที่ใช้ในการสกัดให้ค่าการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase เท่ากับคือ 4.24% ดังนั้นการเลือกใช้เวลาที่ 5 นาทีน่าจะเป็นผลดีสำหรับใช้สกัดชาสมุนไพร ซึ่งไม่ต้องเสียเวลาในการรอนาน และไม่น่าจะทำให้ชาเสียรสชาติ ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 10

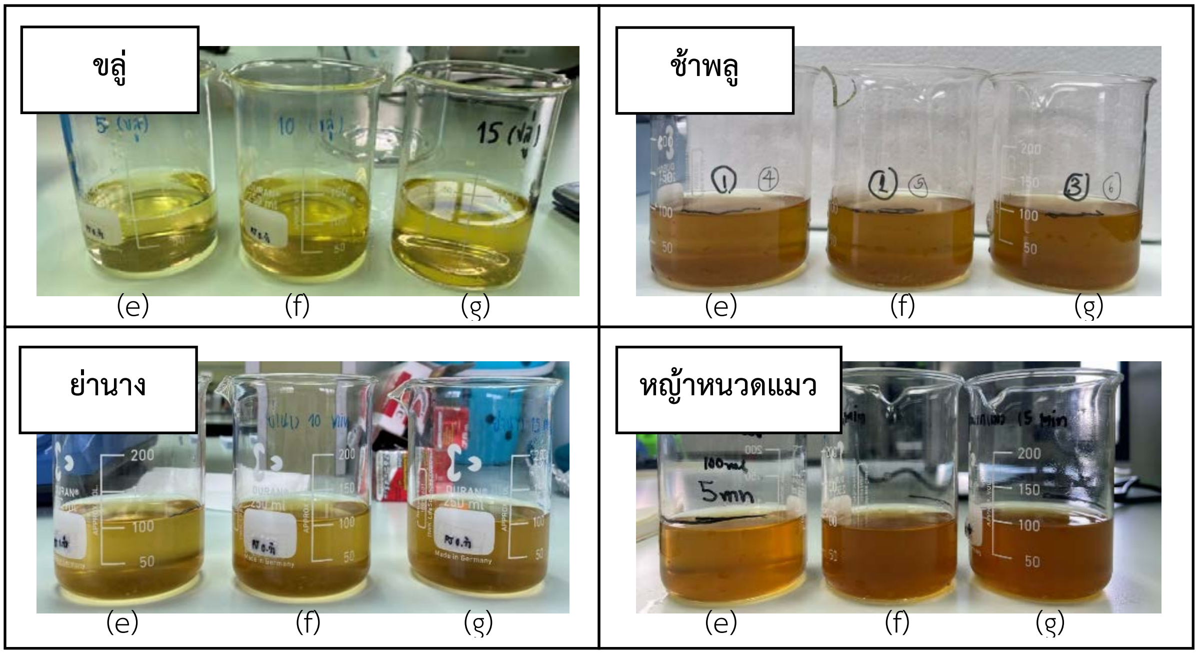
ตารางที่ 10 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาหญ้าหนวดแมวกับระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน

เวลา (นาที)	%inhibition (±SD)
5	4.24 ± 0.00
10	4.24 ± 0.00
15	4.24 ± 0.00

หมายเหตุ : น้ำหนักตัวอย่างชาหญ้าหนวดแมวที่ใช้อยู่ในช่วง 1.24-1.26 g และทำการทดสอบทำ 3 ซ้ำ


ขลู่
(a) (b) (c) (d)
ช้าพลู
(a) (b) (c) (d)
ย่านาง
(a) (b) (c) (d)
หญ้าหนวดแมว
(d) (c) (b) (a)

รูปที่ 18 แสดงการสกัดน้ำชาสมุนไพรต่าง ๆ ปริมาตรน้ำ 10 (a), 25 (b), 50 (c) และ 100 (d) มิลลิลิตร ตามลำดับ


ขลู่
(e) (f) (g)
ช้าพลู
(e) (f) (g)
ย่านาง
(e) (f) (g)
หญ้าหนวดแมว
(e) (f) (g)

รูปที่ 19 แสดงการสกัดน้ำชาสมุนไพรต่าง ๆ เวลาที่ 5 (e), 10 (f) และ 15 (g) นาที ตามลำดับ

จากข้อมูลทั้งหมดการใช้น้ำต้มที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส สำหรับสกัดชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ซึ่งปริมาตรน้ำร้อน 100 มิลลิลิตร และเวลา 5 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมสำหรับสกัดชาสมุนไพรดังกล่าว

4. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ของชาสมุนไพร

4.1 เอนไซม์ α-amylase

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ผลการศึกษาพบว่า ชาสมุนไพร ทั้งหมดแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase โดยชาช้าพลูมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวสูงที่สุด คือ 10.1% รองลงมา คือ ชาขลู่ (8.68%) ชาหญ้าหนวดแมว (6.50%) และชาย่านาง (4.37%) ตามลำดับดังผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาสมุนไพร และสารมาตรฐาน acarbose

	ครั้งที่	**% Inhibition**	**เฉลี่ย % Inhibition (±SD)**
ชาขลู่	1	10.52	8.68 ± 1.78
	2	8.58	
	3	6.96	
ชาช้าพลู	1	11.20	10.1 ± 0.92
	2	9.60	
	3	9.60	
ชาย่านาง	1	4.37	4.37 ± 0.55
	2	3.83	
	3	4.92	
ชาหญ้าหนวดแมว	1	5.7	6.5 ± 0.86
	2	7.4	
	3	6.3	
Acarbose		30.97	30.97 ± 0.00

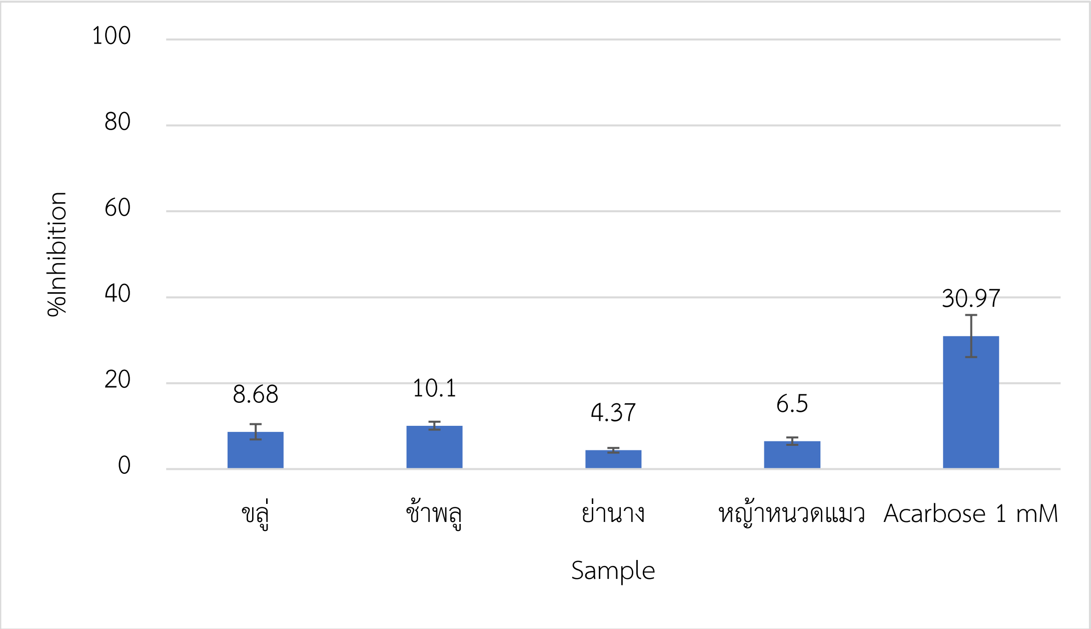
4.2 เอนไซม์ α-glucosidase

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ของชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ผลการศึกษาพบว่า จากชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด พบเพียงชาขลู่ และชาหญ้าหนวดแมวที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase โดย % inhibition ของชาสมุนไพรดังกล่าว คือ 97.65% และ 90.08% ดังผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 12

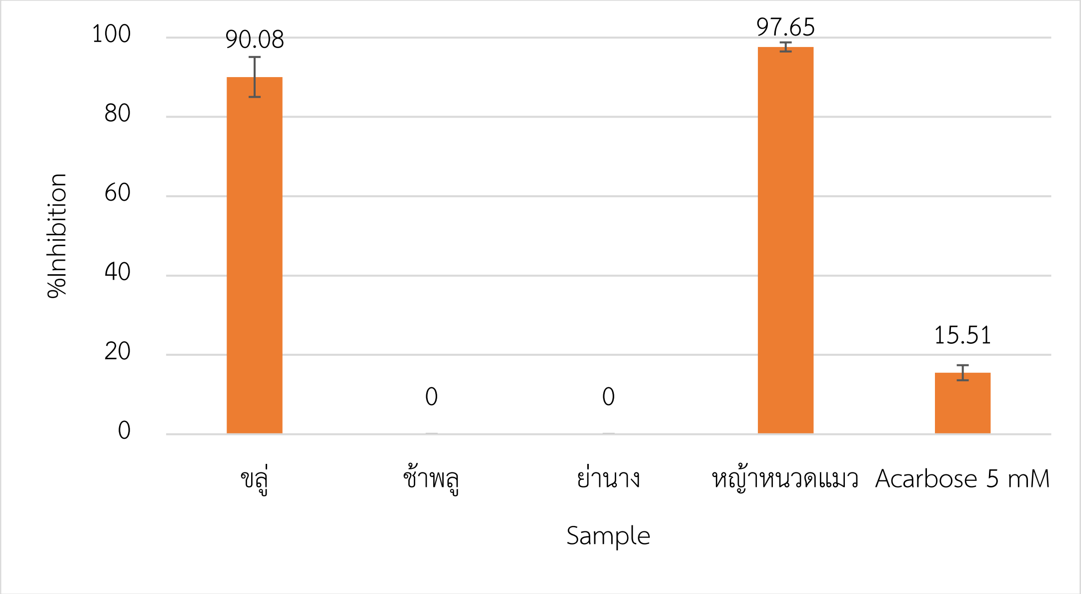
ตารางที่ 12 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ของชาสมุนไพร และสารมาตรฐาน acarbose

	ครั้งที่	**%inhibition**	**เฉลี่ย %inhibition**
ชาขลู่	1	95.47	90.08 ± 5.04
	2	89.28	
	3	85.49	
ชาช้าพลู	1	ND	-
	2		
	3		
ชาย่านาง	1	ND	-
	2		
	3		
ชาหญ้าหนวดแมว	1	96.65	97.65 ± 1.15
	2	97.39	
	3	98.90	
Acarbose		15.51	15.51 ± 0.02

*ND = Not detected



รูปที่ 20 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ของชาสมุนไพร 4 ชนิด และสารมาตรฐาน acarbose



รูปที่ 21 แสดงฤทธิ์ยับยั้ง α-glucosidase ของชาสมุนไพร 4 ชนิด และสารมาตรฐาน acarbose

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง และสรุปผล

1. อภิปรายผลการทดลอง

ผลการศึกษาความเหมาะสมของปริมาตรน้ำ และเวลาที่ใช้ในการสกัดชาชงสมุนไพร โดยน้ำที่ใช้ในการสกัด คือ น้ำเดือดที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่า ปริมาตรที่เหมาะสม คือ 100 มิลลิลิตร และเวลาที่ใช้ในการสกัดชาสมุนไพร คือ 5 นาที ซึ่งเป็นไปตามข้อมูลของวิธีการชงชาทั่วไป ตามที่ Cleverdon, Riley และคณะ ได้รายงานไว้ว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการชงชาอยู่ในช่วง 95-100 องศาเซลเซียส และเวลาที่เหมาะสม คือ 5 นาที(84)

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ผลการศึกษาพบว่า ชาช้าพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวสูงสุด คือ 10.10% รองลงมา คือ ชาขลู่ (8.68%) ชาหญ้าหนวดแมว (6.50%) และชาย่านาง (4.37%) ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 20 ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Widyawati และคณะ ที่มีการรายงานว่า ใบขลู่ และใบชาเขียวอบแห้ง ที่นำไปแช่น้ำแร่ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase พบว่า อัตราส่วนของใบขลู่ : ใบชาเขียวที่ 100 : 0 สามารถยับยั้งเอนไซม์ α-amylase เท่ากับ 28.79% นอกจากนี้ Makinde และคณะ ได้รายงานว่า ใบ และกิ่งย่านางที่หมักด้วยเอทานอล 95% แล้วทำการแยกจนได้สารบริสุทธิ์ คือ 5,7-dihydroxy-6-oxoheptadecanoic acid มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase(49) และจากงานวิจัยของ Mohamed และคณะ ได้รายงานว่า ใบหญ้าหนวดแมวที่นำไปหมักเอทานอล 50% แล้วนำไปแยกต่อจนได้สารบริสุทธิ์ คือ สาร sinensetin ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase(53) ดังนั้นจากข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สมุนไพรชาชงทั้ง 4 ชนิด คือ ขลู่ ช้าพลู ย่านาง และหญ้าหนวดแมว น่าจะมีสารสำคัญออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์เหมือนกับที่มีการรายงานมาก่อนหน้านี้จึงแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ดังกล่าว

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase พบว่า ชาหญ้าหนวดแมวแสดงฤทธิ์ยับยั้งสูงสุด คือ 97.65% รองลงมาเป็นชาขลู่ (90.08%) และยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งสูงกว่าสารมาตรฐาน acarbose (15.51%) ส่วนชาช้าพลู และชาย่านางไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการรายงานของ Thanakorn และคณะ ที่มีการรายงานว่า ใบชาขลู่ที่สกัดด้วยเฮกเซน และ

เมทานอล พบสารกลุ่ม phenylpropanoyl amides ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase มากที่สุด(46) นอกจากนี้ Mohamed และคณะ ได้รายงานว่า ใบหญ้าหนวดแมวที่นำไปหมักด้วยเอทานอล 50% แล้วนำไปแยกต่อด้วยเทคนิค column chromatography จนได้สาร sinensetin ซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.66 ± 0.025 mg/ml(53)และจากรายงานของ Papoutsis, Konstantinos และคณะ ได้พบกลุ่มสารสำคัญที่มีบทบาทในการยับยั้ง α-amylase และ α-glucosidase คือ flavonoids, phenolic acids, anthocyanins, saponins, terpenoids และ tannins(85) นอกจากนี้ยังมีการรายงานถึงกลุ่มสาร total polyphenol ที่สามารถทนความร้อนในช่วงอุณหภูมิน้ำเดือด คือ 95 ± 5 องศาเซลเซียส(84) ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สอดคล้องกับข้อมูลของกลุ่มสารที่พบในพืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ ดังแสดงในตารางที่ 13 ดังนั้นชาสมุนไพรเหล่านี้น่าจะมีกลุ่มสารสำคัญดังที่มีการรายงานจึงแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว หลังจากสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส

จากข้อมูลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว สามารถใช้สนับสนุนการกล่าวอ้างถึงสรรพคุณที่นำสมุนไพรเหล่านี้มาทำให้แห้งแล้วนำไปต้มกับน้ำดื่ม เพื่อช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้นั่นเอง

อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้มีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการศึกษา ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรที่ใช้ทดสอบพบว่า ลักษณะของผลิตภัณฑ์ชาแต่ละยี่ห้อมีความแตกต่างกัน เช่น มีการใช้ส่วนต่าง ๆ ของสมุนไพรสำหรับทำเป็นชา ซึ่งแตกต่างจากข้อมูลทางภูมิปัญญาที่ระบุถึงส่วนที่ใช้จริง นอกจากนี้ยังพบน้ำหนักของชาสมุนไพรแต่ละซองมีความแตกต่างกัน รวมทั้งลักษณะความหนา-บางของซองชา เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อปริมาณสารสำคัญในน้ำชาสมุนไพรที่ส่งผลถึงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase และนอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ เช่น แหล่งปลูก ฤดูกาลต่าง ๆ ของการเก็บเกี่ยวตลอดจนวิธีการเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษา รวมทั้งขั้นตอนต่าง ๆ ในการเตรียมวัตถุดิบก็มีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในสมุนไพรได้ ดังนั้นถ้ามีการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรก่อนการทำเป็นผลิตภัณฑ์ชา เพื่อวางจำหน่ายจะทำให้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรมีคุณภาพ และสร้างความเชื่อมั่นถึงการใช้ประโยชน์ เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาชาชงสมุนไพร ได้แก่ ชาขลู่ ชาช้าพลู ชาย่านาง และชาหญ้าหนวดแมว สำหรับทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด ได้แก่ α-amylase และ α-glucosidase ผลการศึกษาพบว่า ปริมาตรน้ำร้อน (95-100 องศาเซลเซียส) และเวลาที่เหมาะสมในการใช้สำหรับชงชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด คือ 100 มิลลิลิตร และเวลา 5 นาที ซึ่งสอดคล้องกับวิธีการชงชาทั่วไป นอกจากนี้ชาชงสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ได้ และที่น่าสนใจมาก คือ ชาขลู่ และชาหญ้าหนวดแมวแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ได้สูงกว่าสารมาตรฐาน acarbose

ดังนั้นผลการศึกษาเหล่านี้สามารถใช้สนับสนุนข้อมูลการใช้สมุนไพรที่มีการกล่าวอ้างถึงสรรพคุณที่ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดของชาชงสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดได้ และยังสามารถใช้เป็นแนวทางประกอบการตัดสินใจเลือกใช้สมุนไพรสำหรับควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดตลอดจนสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาพัฒนาต่อยอดสมุนไพรเหล่าสำหรับเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพในอนาคตได้

เอกสารอ้างอิง

1. วิกรม ฉันทรางกูร. เปิดตำรายาโบราณหลวงปู่สุข วัดปากคลองมะขามเฒ่า อริยสงฆ์แห่งกรุงรัตนโกสินทร์ [Internet]. 2019 [Cited 2020 Sep 7]. Available from: http://www.culture.go.th/culture_th/ewt_news.php?nid=4603&filename=index
2. International Diabetes Federation. IDF Western Pacific members [Internet]. 2020 [Cited 2020 Jun 23]. Available form: https://www.idf.org/our-network/regions-members/western-pacific/members/115-thailand.html
3. คณะแพทย์ศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล. สมุนไพร [Internet]. [Cite 2020 Jul 9]. Available from: https://med.mahidol.ac.th/poisoncenter/th/pois-cov/Herbal
4. คณะแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. พืชสมุนไพร:ความเชื่อในการเลือกใช้ตามภูมิปัญญาชาวใต้ [Internet]. 2013 [Cite 2020 Jul 9]. Available from: http://www.ttmed.psu.ac.th/blog.php?p=144
5. นายบดินทร์ ชาตะเวที. ใช้สมุนไพรอย่างไรให้ปลอดภัย [Internet]. 2013 [Cite 2020 Jul 9]. Available from: http://www.ttmed.psu.ac.th/blog.php?p=218
6. สันติ แซ่ฉั่ว. ขลู่ (Indain Marsh Fleabane). คู่มือ สมุนไพร ไทย-จีน โดย สันติ แซ่ฉั่ว. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: Sunti group. หน้า 39.
7. บัญชียาหลักแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข. กลุ่มนโยบายแห่งชาติด้านยา บัญชียาจากสมุนไพร [Internet] [Cite 2020May 25]. Available from: http://ndi.fda.moph.go.th/uploads/main_drug_file/20171021185635.pdf
8. Kosai P, Jiraungkoorskul K, Jiraungkoorskul W. Review of antidiabetic activity of “Rang Jeud” *Thunbergia laurifolia*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015;5(2):099-103.
9. Chiabchalard A, Tencomnao T, Santiyanont R. Effect of *Gymnema inodorum* on postprandial peak plasma glucose levels in healthy human. African Journal of Biotechnology. 2010;9(7):1079-85.

10. Bhat ZA, Ansari SH, Mukhtar HM, Naved T, Siddiqui JI, Khan NA. Effect of *Aralia cachemirica* Decne. root extracts on blood glucose level in normal and glucose loaded rats. Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences. 2005 Sep 1;60(9):712-3.
11. Qazi N, Khan RA, Rizwani GH, Feroz Z. Effect of *Carthamus tinctorius* (Safflower) on fasting blood glucose and insulin levels in alloxan induced diabetic rabbits. Pak. J. Pharm. Sci. 2014 Mar 1;27(2):377-80.
12. Misra H, Soni M, Silawat N, Mehta D, Mehta BK, Jain DC. Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bert.(Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 2011 Apr;3(2):242.
13. Sirichaiwetchakoon K, Lowe GM, Kupittayanant S, Churproong S, Eumkeb G. *Pluchea indica* (L.) Less. Tea Ameliorates Hyperglycemia, Dyslipidemia, and Obesity in High Fat Diet-Fed Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2020 Jun 3;2020.
14. Hajizadeh-Sharafabad F, Varshosaz P, Jafari-Vayghan H, Alizadeh M, Maleki V. Chamomile (*Matricaria recutita* L.) and diabetes mellitus, current knowledge and the way forward: A systematic review. Complementary therapies in medicine. 2020 Jan 1;48:102284.
15. Joseph B, Jini D. Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2013 Apr 1;3(2):93-102.
16. Attanayake AP, Jayatilaka KA, Mudduwa LK. Anti-diabetic potential of ivy gourd (*Coccinia grandis*, family: Cucurbitaceae) grown in Sri Lanka: A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2016;5(6):286-9.
17. Patil R, Patil R, Ahirwar B, Ahirwar D. Current status of Indian medicinal plants with antidiabetic potential: a review. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011 Oct 1;1(2):S291-8.

18. Yaribeygi H, Zare V, Butler AE, Barreto GE, Sahebkar A. Antidiabetic potential of saffron and its active constituents. Journal of cellular physiology. 2019 Jun;234(6):8610-7.
19. Ashraf K, Sultan S, Adam A. *Orthosiphon stamineus* Benth. is an outstanding food medicine: Review of phytochemical and pharmacological activities Journal of pharmacy & bioallied sciences. 2018 Jul;10(3):109.
20. Boudiaf F, Chouba I, Amri N, Tahraoui A. Anti-diabetic role of quercetin and cinnamon on neurobehavioral alterations and biochemical parameters of induced diabetics rats. Journal of Animal Behaviour and Biometeorology. 2020 Oct 19;8(3):190-5.
21. Patel Anar J, Shah M. A Systematic review on Banaba.
22. Bule M, Albelbeisi AH, Nikfar S, Amini M, Abdollahi M. The antidiabetic and antilipidemic effects of *Hibiscus sabdariffa*: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. Food Research International. 2020 Apr 1;130:108980.
23. Yarmohammadi F, Mehri S, Najafi N, Salar Amoli S, Hosseinzadeh H. The protective effect of *Azadirachta indica* (neem) against metabolic syndrome: A review. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2021 Jan 11.
24. Thiantongin P, Thammaporn C. ภูมิปัญญา การ รักษา โรค เบาหวาน ของ หมอ พื้นบ้าน ใน จังหวัด อุบลราชธานี. Journal of Humanities and Social Sciences Surin Rajabhat University. 2020 Jun 27;22(1):1-8.
25. Kumar S, Singh B. Medicinal & traditional uses of Shahtoot (*Morus indica* Linn.): A review.
26. Zhang Y, Lu X, Zeng S, Huang X, Guo Z, Zheng Y, Tian Y, Zheng B. Nutritional composition, physiological functions and processing of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds: a review. Phytochemistry Reviews. 2015 Jun;14(3):321-34.
27. Chiabchalard A, Nooron N. Antihyperglycemic effects of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaf extract. Pharmacognosy magazine. 2015 Jan;11(41):117.

28. Rahman SF, Sijam K, Omar D. *Piper sarmentosum* Roxb.: A mini review of ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. Journal of Analytical & Pharmaceutical Research. 2016;2(5):00031.
29. Harlev E, Nevo E, Mirsky N, Ofir R. Antidiabetic attributes of desert and steppic plants: a review. Planta medica. 2013 Apr;79(06):425-36.
30. Kulczyński B, Gramza-Michałowska A. Goji berry (*Lycium barbarum*): composition and health effects–a review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2016 Jun 1;66(2):67-76.
31. Alam F, Shafique Z, Amjad ST, Bin Asad MH. Enzymes inhibitors from natural sources with antidiabetic activity: A review. Phytotherapy Research. 2019 Jan;33(1):41-54.
32. Otunola GA, Afolayan AJ. A Review of the Antidiabetic Activities of Ginger Cultivation and Its Antimicrobial and Pharmacological Potentials. 2019 Nov 27.
33. Medthai. ขลู่ สรรพคุณและประโยชน์ของขลู่ ต้นขลู่ ใบขลู่ 38 ข้อ [Internet]. 2014 [Updated 2017 Aug 4; cite 2020 May 20]. Available from: https://medthai.com/ขลู่/
34. ไพบูลย์ แพงเงิน. ขลู่ สมุนไพรดีจากป่าชายเลน. ใน: สุภาชัย สุชาติสุธาธรรม. สมุนไพร รู้ใช้ ไกลโรค. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มติชน; 2013. หน้า 117-120.
35. น.ส.มิตราภรณ์ วัชโรทัย. พฤกษศาสตร์สำหรับเยาวชน ใบ (Leaf) [Internet]. [cite 2020 May 9]. Available from: http://www.dnp.go.th/botany/BFC/leaf.htมิลลิลิตร#vanation
36. น.ส.มิตราภรณ์ วัชโรทัย. พฤกษศาสตร์สำหรับเยาวชน ดอกไม้ (Flower) [Internet]. [cite 2020 May 9]. Available from: http://www.dnp.go.th/botany/BFC/leaf.html#vanation
37. สถาบันนวัตกรรมการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. สัญฐานวิทยาของใบ [Internet]. [cite 2020 May 9]. Available from : https://il.mahidol.ac.th/emedia/plants/webcontent3 /interactive_key/key/leaf.htm
38. โรงเรียนราชวินิตบางแก้ว ในพระบรมราชูปถัมภ์. ประเภทของดอกไม้ [Internet]. [cite 2020 May9].Available from: http://www.usanee.rwb.ac.th/Biology/Unit01/02/01/1_1.htm
39. Disthai. ขลู่ งานวิจัยและสรรพคุณ 23 ข้อ [Internet]. [cite 2020 Aug 21]. Available from: https://www.disthai.com/17075710/ขลู่

40. Arsiningtyas IS, Gunawan-Puteri MD, Kato E, Kawabata J. Identification of α-glucosidase inhibitors from the leaves of *Pluchea indica* (L.) Less., a traditional Indonesian herb: promotion of natural product use. Natural product research. 2014 Sep 2;28(17):1350-3.
41. Widyawati PS, Werdani YD, Setiokusumo C, Kartikasari A. In Vitro Antioxidant Capacities and Antidiabetic Properties of Pluchea Leaves and Green Tea Mixtures at Various Proportions. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2017;9(8):203-8.
42. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ช้าพลู [Internet]. [cite 2020 Aug 19]. Available from: http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=221
43. Disthai. ช้าพลู งานวิจัยและสรรพคุณ 17 ข้อ [Internet]. [cite 2020 Aug 21]. Available from: https://www.disthai.com/16488297/ช้าพลู
44. ธรรมนิตย์ ชำนาญ. โรคเบาหวาน คืออะไร. คัมภีร์ยาสมุนไพรไทย ตำรับหมอพร กรมหลวงชุมพรเขตรอุดมศักดิ์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ไทยควอลิตี้บุ๊คส์. 2006 หน้า 66.
45. สรกมล ถมยาจิตรเจริญ. 101 ยอดสมุนไพรเป็นยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ อักษรทรัพย์; 2011. หน้า 48-50.
46. Damsud T, Adisakwattana S, Phuwapraisirisan P. Three new phenylpropanoyl amides from the leaves of *Piper sarmentosum* and their α-glucosidase inhibitory activities. Phytochemistry Letters. 2013 Aug 1;6(3):350-4.
47. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ย่านาง [Internet] [Cite 2020 May 25]. Available from: http://phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=148
48. ฐานข้อมูลส่งเสริมและยกระดับคุณภาพสินค้า OTOP 2020. ใบย่านาง [Internet] [Cite 2020 May 25]. Available from: http://otop.dss.go.th/attachments/article/150/CF72(C5).pdf

49. Makinde EA, Ovatlarnporn C, Sontimuang C, Herbette G, Olatunji OJ. Chemical Constituents from the Aerial Part of *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels and Their α-Glucosidase and α-Amylase Inhibitory Activity. Natural Product Communications. 2020 Jan;15(1):1934578X19899595.
50. Medthai. หญ้าหนวดแมว สรรพคุณและประโยชน์ของหญ้าหนวดแมว 20 ข้อ [Internet]. 2013 [Updated 2017 Aug 4; Cite 2020 May 25]. Available from: https://medthai.com/หญ้าหนวดแมว
51. ฐานข้อมูลสมุนไพร.คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. หญ้าหนวดแมว [Internet] [Cite 2020 May 25]. Available from: http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=298
52. ภญ.จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก. สมุนไพร ต้านเบาหวาน. สมุนไพรบำบัดเบาหวาน 150 ชนิด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ เซเว่น พริ้นติ้ง กรุ๊ป จำกัด; 2009. หน้า 156-157.
53. Mohamed EA, Siddiqui MJ, Ang LF, Sadikun A, Chan SH, Tan SC, Asmawi MZ, Yam MF. Potent α-glucosidase and α-amylase inhibitory activities of standardized 50% ethanolic extracts and sinensetin from *Orthosiphon stamineus* Benth as anti-diabetic mechanism. BMC complementary and alternative medicine. 2012 Dec 1;12(1):176.
54. ธนิษฐา แดนศิลป์. ดื่มสมุนไพรในรูปแบบชา. ใน: อรุณรัตน์ อนุภาโส. เสน่หาแห่งชา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: อีกหนึ่งสำนักพิมพ์; 2002. หน้า 157-163.
55. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส.). ขิง กินดีมีประโยชน์ [Internet]. [cite 2020 Aug 21]. Available from: https://www.thaihealth.or.th/Content/52812-ขิง%20กินดี%20มีประโยชน์.html
56. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ดอกคาโมมายล์ [Internet]. 2016 May 15 [cite 2020 Aug 21]. Available from: https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/321/ดอกคาโมมายล์/
57. Krisi smith. การชงและดื่มชา. World atlas of tea. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: Blue sky books; 2016. หน้า 73-77.
58. นพ.บรรจบ ชุณหสวัสดิกุล. ชาและน้ำต้มสมุนไพร. ใน: พญ.ลลิตา ธีระสิริ. ล้อมวงชงชา ตั้งกาต้มสมุนไพร เครื่องสุขภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์รวมทรรศน์; 2001. หน้า 69-71.

59. ธนิษฐา แดนศิลป์. น้ำดีมีไว้ชงชา. ใน: อรุณรัตน์ อนุภาโส. เสน่หาแห่งชา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: อีกหนึ่งสำนักพิมพ์; 2002. หน้า 103-106
60. Sharma K, Ko EY, Assefa AD, Ha S, Nile SH, Lee ET, Park SW. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. Journal of food and drug analysis. 2015 Jun 1;23(2):243-52.
61. Charuwat P, Boardman G, Bott C, Novak JT. Thermal Degradation of Long Chain Fatty Acids: Charuwat et al. Water Environment Research. 2018 Mar;90(3):278-87.
62. Cleverdon R, Elhalaby Y, McAlpine MD, Gittings W, Ward WE. Total polyphenol content and antioxidant capacity of tea bags: comparison of black, green, red rooibos, chamomile and peppermint over different steep times. Beverages. 2018 Mar;4(1):15.
63. Yang DJ, Hwang LS, Lin JT. Effects of different steeping methods and storage on caffeine, catechins and gallic acid in bag tea infusions. Journal of Chromatography A. 2007 Jul 13;1156(1-2):312-20.
64. ชลธิชา หน่อริน. วัฒนธรรมการดื่มชาของจีน [Internet]. [cite 2020 Jul 9]. Available from: https://sites.google.com/site/chonthicha47035/wathnthrrm-kar-dum-cha-khxng-cin
65. ชลธิชา หน่อริน. วัฒนธรรมการดื่มชาของญี่ปุ่น [Internet]. [cite 2020 Jul 9]. Available from: https://sites.google.com/site/chonthicha47035/wathnthrrm-kar-dum-cha-khxng-yipun
66. ชลธิชา หน่อริน. วัฒนธรรมการดื่มชาของอังกฤษ [Internet]. [cite 2020 Jul 9]. Available from: https://sites.google.com/site/chonthicha47035/wathnthrrm-kar-dum-cha-khxng-xangkvs
67. ดร.อนุสรณ์ เชิดทอง. บทที่ 6 เอนไซม์ [Internet]. [cite 2020 Jul 5]. Available from: https://ag2.kku.ac.th/eLearning/137748/Doc/Chapter%206%20Enzymes.pdf
68. VladimÍra Kvasnicová. Enzymy [internet]. [cite 2020 Jul 5]. Available from: https://www.slideserve.com/hester/enzymy

69. E. Mcintyre. Enzymes: Organic catalysts [internet]. [cite 2020 Jul 5]. Available from: https://www.slideserve.com/iorwen/enzymes-organic-catalysts
70. Joleen Poole. Enzymes practical [internet]. [cite 2020 Jul 5]. Available from: https://slideplayer.com/slide/8985270/
71. Enzymology. Jayme Irwin [internet]. [cite 2020 Jul 5]. Available from: https://www.slideserve.com/jayme/lecture-15
72. วิราสิณี จันทร์เป็ง และนพพล เล็กสวัสดิ์. Amylase [Internet]. [cite 2020 Jul 5] Available from: http://www.agro.cmu.ac.th/absc/data/57/57-025.pdf
73. สถาบันนวัตกรรมและพัฒนากระบวนการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. คาร์โบไฮเดรต [Internet]. [cite 2020 Sep 7]. Available from: https://il.mahidol.ac.th/e-media/biomolecule/chapter2_4.html
74. PDB-101: Educational portal of RCSB PDB. Alpha [internet].2019 [cited 2020 May 25]. Available from: https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/alpha-glucosidase-inhibitors/alpha-glucosidase
75. Wahlefeld AW. Detemination with Coloured Insoluble Substrates. In Methods of Enzymatic Analysis 1974 Jan 1 (pp. 894-898). Academic Press.
76. Sigma-Aldrich. Suitability Assay for Starch Azure as a Substrate for a-AMYLASE [Internet]. [cite 2021 Jan 3]. Available from: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/General_Information/a-amylase_suit.pdf
77. Wahlefeld AW. Determination with Coloured Insoluble Substrates. In Methods of Enzymatic Analysis 1974 Jan 1 (pp. 894-898). Academic Press.
78. ปนัดดา ทินบุตร, จินดารัตน์พิมพ์สมาน ฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดจากพืชตระกูลเฟินเพื่อใช้บำบัดโรคเบาหวาน [Internet]. [cited 2020 Nov 15] Available from: https://chem.eng.psu.ac.th/tiche2011/TCHE/data/paper/thai/tsp/poster/tsp014.pdf
79. สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย. แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน [Internet]. [cited 2020 Nov 15] Available from: https://www.dmthai.org/index.php/knowledge/healthcare-providers/cpg/443-guideline-diabetes-care-2017

80. ศริญญา อัครไชยสิทธิ์. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และฤทธิ์ลดระดับกลูโคสในพลาสมาของไซยานิดินและอนุพันธ์ [Internet]. [cited 2020 Nov 2] Available from: https://cuir.car.chula.ac.th/xui/bitstream/handle/123456789/31306/sarinya_ak.pdf?sequence=1&isAllowed=y
81. Thao NP, Binh PT, Luyen NT, Hung TM, Dang NH, Dat NT. α-Amylase and α-glucosidase inhibitory activities of chemical constituents from *Wedelia chinensis* (Osbeck.) Merr. leaves. Journal of analytical methods in chemistry. 2018 May 9;2018
82. Mumtaz MW, Al-Zuaidy MH, Abdul Hamid A, Danish M, Akhtar MT, Mukhtar H. Metabolite profiling and inhibitory properties of leaf extracts of *Ficus benjamina* towards α-glucosidase and α-amylase. International Journal of Food Properties. 2018 Jan 1;21(1):1560-74
83. Christianty FM, Holidah D, Yasokmu Y. In vitro α-glucosidase inhibitory activity of various tea (*Camellia sinensis* L.) extracts. UNEJ e-Proceeding. 2017 Jan 27:10
84. Cleverdon R, Elhalaby Y, McAlpine MD, Gittings W, Ward WE. Total polyphenol content and antioxidant capacity of tea bags: comparison of black, green, red rooibos, chamomile and peppermint over different steep times. Beverages. 2018 Mar;4(1):15.
85. Papoutsis K, Zhang J, Bowyer MC, Brunton N, Gibney ER, Lyng J. Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α-amylase and α-glucosidase inhibition properties: A review. Food Chemistry. 2020 Sep 17:128119.
86. Widyawati PS, Budianta TD, Gunawan DI, Wongso RS. Evaluation antidiabetic activity of various leaf extracts of *Pluchea indica* Less. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 2015 May 23;7(3):597-603.
87. Fernandez L, Daruliza K, Sudhakaran S, Jegathambigai R. Antimicrobial activity of the crude extract of *Piper sarmentosum* against methicilin-resistant. European Review for Medical & Pharmacological Sciences. 2012;16(3):105-11.
88. Phadungkit M, Somdee T, Kangsadalampai K. Phytochemical screening, antioxidant and antimutagenic activities of selected Thai edible plant extracts. Journal of Medicinal Plants Research. 2012 Feb 9;6(5):662-6.

89. Sivakumar C, Jeganathan K. Phytochemical profiling of cat whisker's (*Orthosiphon stamineus*) tea leaves extract. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2018;7(6):1396-402.
90. Widyawati PS, Budianta TD, Kusuma FA, Wijaya EL. Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indicia* less leaves extracts. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 2014 Nov 22;6(4):850-5.
91. Yusof H, Radzi NA, Richard RL. Qualitative phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Piper sarmentosum* leaves extract against selected pathogens. Jurnal Sains Kesihatan Malaysia (Malaysian Journal of Health Sciences). 2018 Dec 31;17(1).
92. Me RB, Ayob NL, Amran IM, Sahariman N. PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KADUK (*Piper sarmentosum*). Gading Journal of Science and Technology (e-ISSN: 2637-0018). 2020 Oct 5;3(02):169-77.
93. Rattana S, Padungkit M, Cushnie B. Phytochemical screening, flavonoid content, and antioxidant activity of *Tiliacora triandra* leaf extracts. In Proceedings of the 2nd Annual International Conference of Northeast Pharmacy Research 2010 Feb (pp. 60-63).
94. Rahman MM, Shamsuzzaman M, Khatun M, Rahman MM, Hossain AS, Alam AM, Mosaddik A, Wahed MI. Phytochemical and Antimicrobial Properties of *Tiliacora triandra* Stem Bark. Journal of Pharmaceutical Research International. 2017 Jun 16:1-9.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาพผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรและลักษณะผงชาสมุนไพรต่าง ๆ

มังมีชาใบขลู่
ขลู่
ยาชงสมุนไพร
ช้าพลู(ชะพลู)
ช้าพลู
ย่านาง
Tiliacora triandra Diels
เครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ
Herbal Tea for Health
ย่านาง
ชาชงหญ้าหนวดแมว
หญ้าหนวดแมว

ภาพที่ 22 แสดงผลิตภัณฑ์และลักษณะผงชาของสมุนไพรต่าง ๆ

ภาคผนวก ข

น้ำหนักผงชาเฉลี่ยต่อซอง

ตารางที่ 14 ค่าน้ำหนักผงชาสมุนไพรเฉลี่ยต่อซอง

ชาซองที่	**น้ำหนักผงชา (g)**			
	ขลู่	**ย่านาง**	**ชะพลู**	**หญ้าหนวดแมว**
1	0.65	0.67	1.21	1.28
2	0.64	0.76	1.18	1.28
3	0.64	0.77	1.19	1.30
4	0.69	0.80	1.23	1.32
5	0.78	0.67	1.17	1.24
6	0.75	0.76	1.16	1.26
7	0.80	0.77	1.14	1.25
8	0.97	0.80	1.17	1.25
9	0.96	0.96	1.10	1.25
10	0.96	0.90	1.21	1.26
11	0.92	0.87	1.24	1.26
12	0.86	0.61	1.24	1.28
13	0.92	0.61	1.25	1.29
14	0.71	0.62	1.25	1.29
เฉลี่ย	0.80 ± 0.13	0.76 ± 0.11	1.20 ± 0.05	1.27 ± 0.02

ภาคผนวก ค

ค่าของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบโดยละเอียด

ตารางที่ 15 ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบหาปริมาตรน้ำที่เหมาะสมต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase

	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	**Abs 595 nm/ครั้งที่**			**%inhibition**	**เฉลี่ย %inhibition ± SD**
		1	2	3		
ขลู่	10	0.161	0.159	0.158	14.2	8.9 ± 7.1
	25	0.171	0.176	0.165	0.8	
	50	0.211	0.170	0.165	ND	
	100	0.155	0.156	0.145	11.6	
	blank	0.184	0.168	0.165	-	
ช้าพลู	10	0.193	0.199	0.200	ND	12.6 ± 3.6
	25	0.181	0.180	0.175	8.7	
	50	0.168	0.168	0.173	13.3	
	100	0.172	0.160	0.163	15.8	
	blank	0.222	0.180	0.185	-	
ย่านาง	10	0.174	0.168	0.177	4.4	5.6 ± 2.0
	25	0.170	0.173	0.180	3.9	
	50	0.168	0.156	0.173	8.3	
	100	0.167	0.182	0.163	5.6	
	blank	0.178	0.175	0.190	-	
หญ้าหนวดแมว	10	0.172	0.177	0.173	6.5	4.2 ± 2.6
	25	0.172	0.179	0.177	5.4	
	50	0.192	0.176	0.186	0.5	
	100	0.165	0.175	0.194	4.3	
	blank	0.173	0.209	0.177	-	

ตารางที่ 16 ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase

	เวลา (นาที)	**Abs 595 nm/ครั้งที่**			**%inhibition**	**เฉลี่ย %inhibition ± SD**
		1	2	3		
ขลู่	5	0.153	0.147	0.148	8.0	8.0
	10	0.170	0.162	0.165	ND	
	15	0.165	0.171	0.170	ND	
	blank	0.160	0.163	0.163	-	
ช้าพลู	5	0.148	0.139	0.141	14.4	12.2 ± 2.8
	10	0.150	0.161	0.144	9.0	
	15	0.140	0.151	0.144	13.2	
	blank	0.156	0.188	0.157	-	
ย่านาง	5	0.167	0.148	0.153	10.3	9.8 ± 4.3
	10	0.151	0.148	0.150	13.8	
	15	0.213	0.144	0.139	5.2	
	blank	0.176	0.170	0.176	-	
หญ้าหนวดแมว	5	0.158	0.158	0.179	ND	0.625
	10	0.159	0.161	0.157	0.63	
	15	0.169	0.159	0.157	ND	
	blank	0.149	0.162	0.168	-	

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-amylase

	ซองที่	**Abs 595 nm/ครั้งที่**					**%inhibition**	**เฉลี่ย %inhibition ± SD**
		1	2	3	4	5		
ขลู่	1	0.186	0.191	0.186	0.181	0.180	9.9	7.8 ± 2.0
	2	0.191	0.193	0.188	0.207	0.180	5.9	
	3	0.190	0.193	0.192	0.188	0.186	7.5	
	blank	0.204	0.197	0.211	0.206	0.208	-	
ช้าพลู	1	0.158	0.156	0.163	0.159	0.148	11.8	8.8 ± 2.6
	2	0.160	0.163	0.172	0.169	0.161	7.3	
	3	0.157	0.164	0.172	0.169	0.163	7.3	
	blank	0.178	0.164	0.215	0.170	0.164	-	
ย่านาง	1	0.180	0.199	0.174	0.177	0.175	ND	2.2 ± 0.0
	2	0.153	0.186	0.196	0.176	0.167	2.2	
	3	0.200	0.185	0.175	0.168	0.179	ND	
	blank	0.187	0.181	0.181	0.171	0.178	-	
หญ้าหนวดแมว	1	0.181	0.165	0.167	0.191	0.167	1.6	3.6 ± 1.8
	2	0.187	0.165	0.171	0.164	0.160	4.3	
	3	0.180	0.168	0.163	0.168	0.163	4.9	
	blank	0.176	0.173	0.178	0.187	0.171	-	

ตารางที่ 18 ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase

	ซองที่	**Abs 595 nm/ครั้งที่**					**%inhibition**	**เฉลี่ย %inhibition ± SD**
		1	2	3	4	5		
ขลู่	1	0.298	0.407	0.234	0.257	0.331	86.3	85.6 ± 5.9
	Blank 1	0.234	0.236	0.249	0.237	0.237		
	2	0.258	0.302	0.3	0.295	0.252	91.1	
	Blank 2	0.248	0.235	0.237	0.233	0.238		
	3	0.288	0.323	0.273	0.265	0.297	79.4	
	Blank 3	0.19	0.188	0.192	0.183	0.191		
	Blank 100%	0.298	0.546	0.543	0.398	0.655	-	
ช้าพลู	1	1.157	1.017	1.009	0.928	0.919	-68.1	ND
	Blank 1	0.119	0.112	0.112	0.108	0.105		
	2	1.048	1.039	1.474	1.235	1.396	-110.0	
	Blank 2	0.144	0.114	0.118	0.114	0.113		
	3	1.243	1.179	1.107	1.048	1.146	-92.7	
	Blank 3	0.129	0.123	0.116	0.114	0.114		
	Blank 100%	0.713	0.538	0.430	0.500	0.480	-	

ตารางที่ 18 ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และ %inhibition ของชาสมุนไพรต่าง ๆ ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase

	ซองที่	**Abs 595 nm/ครั้งที่**					**%inhibition**	**เฉลี่ย %inhibition ± SD**
		1	2	3	4	5		
ย่านาง	1	0.551	0.495	0.421	0.604	0.628	-9.0	ND
	Blank 1	0.094	0.099	0.094	0.096	0.098		
	2	0.739	0.658	0.72	0.691	0.783	-47.9	
	Blank 2	0.119	0.114	0.107	0.127	0.114		
	3	1.026	1.116	1.064	1.167	0.644	-117.6	
	Blank 3	0.127	0.116	0.109	0.12	0.116		
	Blank 100%	0.459	0.396	0.537	0.345	0.298	-	
หญ้าหนวดแมว	1	0.18	0.179	0.169	0.186	0.185	96.8	97.5 ± 1.1
	Blank 1	0.145	0.126	0.146	0.191	0.151		
	2	0.17	0.163	0.158	0.176	0.158	96.9	
	Blank 2	0.131	0.132	0.146	0.131	0.149		
	3	0.168	0.162	0.164	0.158	0.166	98.8	
	blank	0.167	0.156	0.148	0.141	0.152		
	Blank 100%	0.465	0.946	1.167	0.664	1.145	-	

หมายเหตุ : ในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase ค่า Abs ที่ได้มีค่าต่ำกว่า 0.2000 ซึ่งไม่เป็นไปตามค่าที่ยอมรับได้ตามกฎของ Beer-Lambert เนื่องจากผู้ทำการทดสอบเกิดความผิดพลาดในการปิเปต

สารทดสอบที่ใช้ในการวัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งปิเปตมาเพียง 100 µl จึงทำให้ได้ค่า Abs ต่ำกว่าค่าการยอมรับดังกล่าว แต่ผู้ทดสอบได้ทำการพิสูจน์โดยลองปิเปตสารที่ใช้ทดสอบ 2 เท่าของปริมาตรที่เคยใช้ (100 µl) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่า ค่า Abs เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของค่าที่ได้จากปริมาตรเดิมที่ทดสอบ ดังนั้นผู้ทดสอบจำเป็นต้องยึดปริมาตรที่ 100 µl สำหรับวัดค่า Abs เพื่อให้การทดสอบทั้งหมดเป็นไปในแนวทางเดียวกัน

ภาคผนวก ง

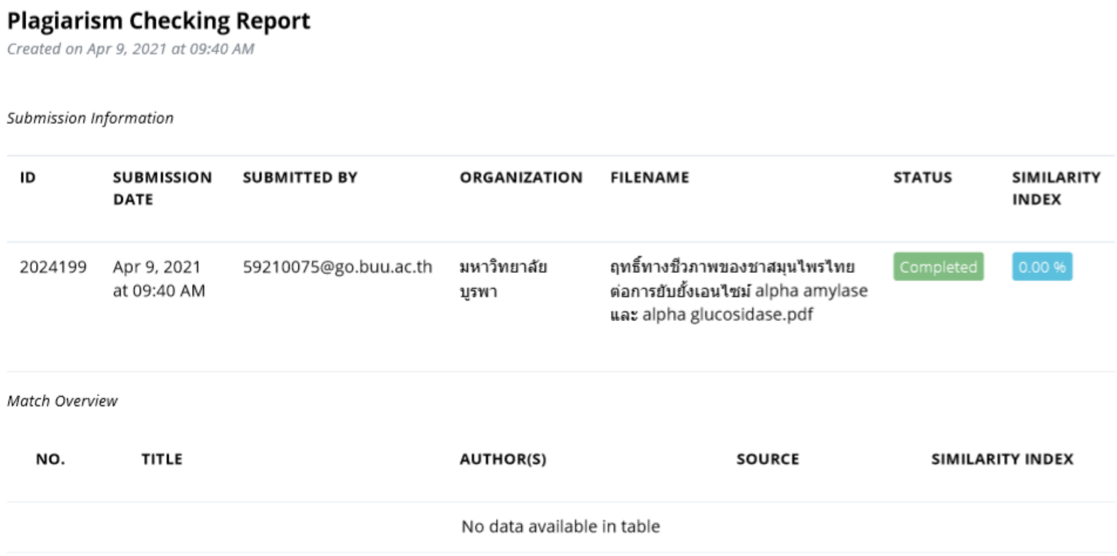
กลุ่มสารสำคัญที่พบในตัวอย่างสมุนไพร 4 ชนิด

ตารางที่ 13 กลุ่มสารสำคัญที่พบในตัวอย่างสมุนไพร 4 ชนิด

กลุ่มสาร	Alkaloids	Anthraquinones	Cardiac glycosides	Glycosides	Condensed tannins	Tannins	Flavonoids	Phenolics	Reducing sugars	Saponins	Steroids	Sterols	Terpenoids	**เอกสารอ้างอิง**
ขลู่	✓	-	✓	-	-	✓	✓	✓	-	✓	-	✓	-	86, 90
ช้าพลู	✓	✓	-	✓	-	✓	✓	✓	-	✓	-	-	✓	87, 91, 92
ย่านาง	✓	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	-	✓	88, 93, 94
หญ้าหนวดแมว	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	-	✓	✓	✓	-	✓	89

ภาคผนวก จ

การตรวจอักขราวิสุทธิ์



Plagiarism Checking Report

Created on Apr 9, 2021 at 09:40 AM

Submission Information

ID	SUBMISSION DATE	SUBMITTED BY	ORGANIZATION	FILENAME	STATUS	SIMILARITY INDEX
2024199	Apr 9, 2021 at 09:40 AM	59210075@go.buu.ac.th	มหาวิทยาลัยบูรพา	ฤทธิ์ทางชีวภาพของชาสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเอนไซม์ alpha amylase และ alpha glucosidase.pdf	Completed	0.00 %

Match Overview

NO.	TITLE	AUTHOR(S)	SOURCE	SIMILARITY INDEX
		No data available in table		

ภาพที่ 23 แสดงการตรวจอักขราวิสุทธิ์

ภาคผนวก ฉ

รายงานสรุปการเงิน

รายงานสรุปการเงิน

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ ฤทธิ์ทางชีวภาพของชาสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเอนไซม์ α-amylase และ α-glucosidase
ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน อ.ดร.สุดารัตน์ หาดเพชร
รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 เมษายน 2563 **ถึงวันที่** 2 เมษายน 2564

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี - เดือน **ตั้งแต่วันที่** 1 เมษายน 2563 **ถึงวันที่** 2 เมษายน 2564

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 9,000 บาท **เมื่อวันที่** 1 กุมภาพันธ์ 2564

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1.ค่าสารเคมี	7,500 บาท	7,892 บาท	0 บาท
2.ค่าตัวอย่างชาสมุนไพร	1,000 บาท	658 บาท	0 บาท
3.ค่าพิมพ์เอกสาร	300 บาท	300 บาท	0 บาท
4.ค่าโปสเตอร์	200 บาท	150 บาท	0 บาท
รวม	9,000 บาท	9,000 บาท	0 บาท

(..)

อ.ดร.สุดารัตน์ หาดเพชร

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัย