รหัสโครงการ SUT1-104-55-12-23

รายงานการวิจัย

ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส

Effects of some medicinal plant extracts in the area of Suranaree University of Technology on the activities of lipase, amylase and glucosidase enzymes

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT1-104-55-12-23

รายงานการวิจัย

ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส

Effects of some medicinal plant extracts in the area of Suranaree University of Technology on the activities of lipase, amylase and glucosidase enzymes

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์

สาขาวิชาสรีรวิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2555

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ตุลาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความร่วมมือและช่วยเหลือในการปฏิบัติงานวิจัยจากนางสาวอารีย์ ทินกระโทก รวมทั้งนักศึกษาบัณฑิตศึกษาในห้องปฏิบัติการชีววิทยาระบบประสาทและฮอร์โมน อาคารเฉลิมพระเกียรติ 72 พรรษา บรมราชินีนาถ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ช่วยเก็บตัวอย่างใบขี้เหล็กและชะพลู ผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

นอกจากนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (F2 F3 และ F9) ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยและในการสกัดสาร

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) งานวิจัยในครั้งนี้จะไม่สามารถสำเร็จได้หากไม่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2555 งบประมาณที่ได้รับการสนับสนุนเท่ากับ 200,000.00 บาท ซึ่งโครงการวิจัยนี้อยู่ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาไทย

โรคอ้วนและโรคเบาหวานเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขของโลกรวมทั้งประเทศไทย การใช้ยาลดความอ้วนและโรคเบาหวานที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด เช่น ยาออริสแตท และยาอะคาโบส ส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ ดังนั้นการใช้สารสกัดจากพืชน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีที่จะใช้ทดแทนยาลดความอ้วนและยารักษาโรคเบาหวาน และยาที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ ใบขี้เหล็กและใบชะพลูประกอบไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดสในหลอดทดลอง วิธีการทดลองในการศึกษาครั้งนี้จะวิเคราะห์หา total phenolic content โดยใช้วิธีการ Folin-Ciocalteu method การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจะศึกษาการวัดอัตราของการปลดปล่อย oleic acid จาก triolein ด้วยวิธี titrimetric method ส่วนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสจะใช้วิธี colorimetric method โดยใช้แป้งเป็น substrate และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสจะศึกษาการวัดอัตราของการปลดปล่อย *p*-nitrophenol จาก 4-Nitrophenyl-alpha-D-glucopyranoside ด้วยวิธี colorimetric method จากผลการทดลอง พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูมี total phenolic content ในปริมาณสูง (174.04 ± 0.002 mg gallic acid/g dry weight และ 171.75 ± 0.005 mg gallic acid/g dry weight ตามลำดับ) ส่วนการศึกษาในหลอดทดลอง พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดสได้ ซึ่งสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 80, 34 และ 0.66 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 35.35%, 97.79% และ 98.37% ตามลำดับ และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 20, 185 และ 51.22 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 26.77%, 96.68% และ 93.69% ตามลำดับ จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู สามารถลดการย่อยและลดการดูดซึมของอาหารที่เป็นไขมันและคาร์โบไฮเดรตได้ ซึ่งจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูจะเป็นประโยชน์ในการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ อย่างไรก็ตามยังต้องทำการศึกษาฤทธิ์ในการลดความอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในสัตว์ทดลองและในคนต่อไป

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Obesity and diabetes mellitus have become important public health problems in many parts of the world including Thailand. The use of commercial drugs used to treat obesity and diabetes mellitus that can control blood glucose levels, such as orlistat and acarbose, can cause unpleasant side effects. To overcome these problems, the use of plant extracts is probably a better way to replace these drugs. Leaves of *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. contain phenolic compounds that have antioxidant activity, can help to prevent obesity and diabetes mellitus, and promote a reduction of blood glucose. Therefore, this experiment aimed to study the effect of the *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. leave extracts on activities of lipase, amylase, and glucosidase, *in vitro*. Total phenolic content in the *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. leave extracts were determined by Folin-Ciocalteu method. Assay for the inhibitory effects of the *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. leave extracts on pancreatic lipase activity were determined by measuring the rate of the release of oleic acid from triolein using titrimetric method, on alpha-amylase activity were determined by colorimetric method using starch as the substrate, and on alpha-glucosidase activity were determined by measuring the rate of the release of *p*-nitrophenol from PNPG using colorimetric method. The *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. leave extracts contained high amount of total phenolic content (174.04 ± 0.002 mg gallic acid/g dry weight and 171.75 ± 0.005 mg gallic acid/g dry weight, respectively). *In vitro* studies, the *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. leave extracts could inhibit the activities of pancreatic lipase, alpha-amylase, and alpha-glucosicdase. Maximum percent inhibition of pancreatic lipase (35.35%), alpha-amylase (97.79%), and alpha-glucosidase (98.37%) activities were demonstrated at 80, 34, and 0.66 mg/ml of the *Cassia siamea* Lam. leave extract, respectively. Maximum percent inhibition of pancreatic lipase (26.77%), alpha-amylase (96.68%), and alpha-glucosidase (93.69%) activities were demonstrated at 20, 185, and 51.22 mg/ml of the *Piper sarmentosum* Roxb. leave extract, respectively. The present findings suggested that the *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. leave extracts could reduce digestion and absorption of lipid and carbohydrate. The *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. leave extracts displayed beneficial effects in prevention and treatment of obesity, and diabetes mellitus and reduction of blood glucose levels possibly by lipase, alpha-amylase, and alpha-glucosidase activities inhibition. However, further investigations are needed to study the effects of the *Cassia siamea* Lam. and *Piper sarmentosum* Roxb. leave extracts on prevention and treatment of obesity and diabetes mellitus, and reduction of blood glucose levels, *in vivo* studies in both animals and in human.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 สถานการณ์โรคอ้วนและโรคเบาหวาน.....	3
2.2 โรคอ้วน	4
2.3 โรคเบาหวาน.....	9
2.4 เอนไซม์เกี่ยวกับการย่อยอาหาร.....	12
2.5 สารประกอบฟีนอลิก.....	13
2.6 ขี้เหล็ก.....	14
2.7 ชะพลู.....	16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 การเตรียมสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู.....	18
3.2 วิธีการทดลองการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และ เอนไซม์กลูโคซิเดสของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในหลอดทดลอง..	19
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล	22
3.4 สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล.....	22

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการทดลองการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดสของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในหลอดทดลอง…. 23

4.2 วิจารณ์ผลการทดลอง…….……. 29

บทที่ 5 บทสรุป

5.1 ข้อสรุปและเสนอแนะ…….……. 32

บรรณานุกรม ……... 34

ประวัติผู้วิจัย ……. 48

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 การจำแนกประเภทดัชนีมวลกาย (BMI)…….. …… 5

ตารางที่ 4.1 แสดงค่า Total phenolic content ของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู……. 23

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 4.1 แสดงผลของสารสกัดจากใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในหลอดทดลอง…… 24
ภาพที่ 4.2 แสดงผลของสารสกัดจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในหลอดทดลอง…….. . 25
ภาพที่ 4.3 แสดงผลของสารสกัดจากใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสในหลอดทดลอง……. 26
ภาพที่ 4.4 แสดงผลของสารสกัดจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสในหลอดทดลอง ……. 27
ภาพที่ 4.5 แสดงผลของสารสกัดจากใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสในหลอดทดลอง…….. 28
ภาพที่ 4.6 แสดงผลของสารสกัดจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสในหลอดทดลอง …….. 29
ภาพที่ 5.1 กลไกการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในหลอดทดลอง ……. 33

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เนื่องด้วยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ร่วมสนองโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ซึ่งทางโครงการได้เล็งเห็นความสำคัญในการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืชในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัย ทางผู้วิจัยจึงได้มุ่งเน้นที่จะศึกษากรอบการใช้ประโยชน์ ในกิจกรรมอนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืช โดยมีแนวทางการดำเนินกิจกรรมเพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากสารสกัดจากพืชสมุนไพรในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ช่วยรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน โดยจะทำการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส

จากการสำรวจเบื้องต้นของอรรณพ วราอัศวปติ สมพงษ์ ธรรมถาวร และพอล เจ โกรดิ (2545) พบว่ามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เป็นพื้นที่ที่มีพรรณไม้หลากหลายพันธุ์ รวมถึงสมุนไพรหลากหลายชนิด ซึ่งมีสรรพคุณมากมาย และจากการสำรวจเบื้องต้นของผู้วิจัยพบว่ามีพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณคือ ช่วยลดระดับน้ำตาลได้ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้แก่ ชะพลู ขี้เหล็ก อินทนิลน้ำ และสัก (http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_27.htm) ซึ่งยังไม่ได้มีผู้ใดทำการศึกษาว่าสมุนไพรเหล่านั้นมีฤทธิ์ในการช่วยในการลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดได้ได้จริงหรือไม่ จึงมีความน่าสนใจอย่างยิ่งที่จะนำมาทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยไขมัน) เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส (ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยแป้ง) หากสารสกัดจากพืชสมุนไพรสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวได้จริง สารสกัดจากสมุนไพรจะช่วยลดระดับไขมันและน้ำตาลในเลือดได้ และจะสามารถใช้ในการรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวานได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะสำรวจสมุนไพรที่อยู่ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่มีสรรพคุณในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรจำนวน 2 ชนิด (ใบขี้เหล็กและใบชะพลู) ที่พบในบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดส

1.2.3 เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนายาจากสมุนไพรในอนาคต

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 สำรวจพืชสมุนไพรที่พบในบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยเกี่ยวกับการลดไขมันและระดับน้ำตาลในเลือดและคัดเลือกพืชสมุนไพรมา 2 ชนิด แล้วนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์

1.3.2 เก็บตัวอย่างสมุนไพรที่ได้คัดเลือกไว้ทั้ง 2 ชนิด จาก 4 ชนิดที่มีสรรพคุณช่วยในการลดระดับน้ำตาลในเลือด (ชะพลู ขี้เหล็ก อินทนิลน้ำ และสัก) แล้วทำการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด

1.3.3 ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการแบบ *in vitro* experiment เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดส

1.3.4 วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้มาและสรุปผลการทดลอง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร ซึ่งสามารถขายพืชสมุนไพรได้จำนวนมากขึ้นเพราะมีความเป็นไปได้ที่ผู้ซื้อจะซื้อไปบริโภคหรือสกัดสาร

1.4.2 เป็นการพัฒนาความรู้ในการนำพืชสมุนไพรที่พบในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

1.4.3 จากการนำเอาพืชสมุนไพรที่พบในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมาใช้ให้เกิดประโยชน์แล้ว ยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่พืชสมุนไพรที่นำมาศึกษาได้อีก

1.4.4 นำความรู้จากงานวิจัยในครั้งนี้ไปพัฒนาในการศึกษาต่อถึงคุณสมบัติของสารสกัดในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ต่อการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือด เพื่อนำความรู้ที่ได้มาประยุกต์ใช้เป็นยาหรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมต่อไปในอนาคต

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สถานการณ์โรคอ้วนและโรคเบาหวาน

โรคอ้วนและโรคเบาหวานเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขของโลก ซึ่งทั้ง 2 โรคนี้จัดเป็นปัจจัยเสี่ยงทางสุขภาพที่สำคัญอันดับต้นๆ ของประชากรโลกรวมทั้งในประเทศไทย ซึ่งในปัจจุบันพบว่าประชากรทั่วโลกประมาณ 300 ล้านคนกำลังเผชิญปัญหาโรคอ้วน และประชากรประมาณ 346 ล้านคนเป็นโรคเบาหวาน (World Health Organization, 2011) ในปี 2015 องค์การอนามัยโลก (World Health Organization) คาดการณ์ว่า เด็กที่มีอายุต่ำกว่า 5 ปี ประมาณ 43 ล้านคน และผู้ใหญ่ประมาณ 2.3 พันล้านคน จะมีน้ำหนักเกิน (overweight) และผู้ใหญ่ ประมาณ 700 ล้านคนจะเป็นโรคอ้วน ขณะที่ประชากรทั่วโลก ประมาณ 80% ที่เป็นโรคเบาหวานจะอาศัยอยู่ในประเทศที่มีรายได้ต่ำและปานกลาง และมีโอกาสที่จะเป็นโรคเบาหวานมากกว่าคนที่อยู่ในประเทศที่มีรายได้สูง โดยพบมากในวัยทำงาน และองค์การอนามัยโลก ได้คาดการณ์ว่าจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานจะเพิ่มเป็น 2 เท่าในปี ค.ศ. 2030 (WHO, 2011) โรคอ้วนและโรคเบาหวาน สร้างผลกระทบทางสุขภาพมากมายทั้งผลกระทบเฉียบพลันและปัญหาเรื้อรัง ทั้งปัญหาสุขภาพกายและสุขภาพจิต มีการประมาณการว่าร้อยละ 44 ของโรคเบาหวาน ร้อยละ 21 ของโรคหลอดเลือดหัวใจ และร้อยละ 42 ของโรคมะเร็งเกี่ยวข้องกับภาวะโรคอ้วน (WHO, 2011) ดังนั้นการป้องกันและการรักษาโรคอ้วน โรคเบาหวานจึงมีความสำคัญต่อสุขภาพของประชาชนเป็นอย่างยิ่ง

ในปัจจุบันมีการรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวานด้วยหลายวิธี เช่น การเลือกรับประทานอาหาร การออกกำลังกาย และการใช้ยา เป็นต้น แต่ยาบางตัวส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงเมื่อมีการใช้ยา เช่น หัวใจเต้นเร็วผิดปกติ ใจสั่น ความดันโลหิตสูง ปวดหัว อาเจียน ปากแห้ง ท้องอืด ท้องเสีย มีอาการซึมเศร้าและวิตกกังวล เนื้องอกที่ไต เป็นต้น (Adan, Vanderschuren and La Fleur, 2008; Bray, 2001; Davidson *et al*., 1999; Fujisawa *et al*., 2005; Gadde *et al*., 2001; Hiroyuki, Tomohide, and Kazunori, 2001; James *et al*., 2000; Shobana, Sreerama and Malleshi, 2009; Van Gaal *et al*., 2005) นอกจากนี้การศึกษาในปัจจุบันเปิดเผยว่า มีพืชสมุนไพรบางชนิดสามารถป้องกันความอ้วนหรือลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ เช่น *Garcinia cambogia* (ยับยั้งการสังเคราะห์ไขมัน) *Eriochloa villosa*, *Orixa japonica* และ *Setaria italic* ยับยั้งเอนไซม์ไลเปส (Heymsfield *et al*., 1998; Mangal and Sharma, 2009) สารสกัดจากเมล็ด *Syzygium cumini* ยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส (Karthic *et al*., 2008) และ สารสกัดจากพืช *Syzygium zeylanicum, Cleistocalyx oerculatus, Horsfieldia amygdalina* และ *Careya arbonea* ยับยั้งเอนไซม์กลูโคซิเดส เป็นต้น ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

ไลเปส เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดสจากสารสกัดสมุนไพรได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย และมีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์ที่ดี เหมาะที่จะนำมาพัฒนาเป็นยา แต่ยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสและกลูโคซิเดสของพืชสมุนไพรที่ได้จากสำรวจในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จะเป็นโครงการแรกที่ได้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดสของพืชสมุนไพรที่สำรวจได้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จากการสำรวจพื้นที่ในบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีพบว่ามีพืชสมุนไพรที่มีการนำมาใช้เป็นตัวยาตามภูมิปัญญาพื้นบ้านหลายชนิด (อรรณพ วราอัศวปติ สมพงษ์ ธรรมถาวร และพอล เจ โกรดิ, 2545) จึงมีความน่าสนใจอย่างยิ่งที่จะนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ซึ่งงานวิจัยในครั้งนี้จะคัดเลือกพืชสมุนไพรมา 2 ชนิดที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยเกี่ยวกับการลดไขมันและระดับน้ำตาลในเลือด โดยอิงสรรพคุณของพืชสมุนไพรจากสารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย (วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) และจากการสำรวจเบื้องต้นของผู้วิจัยพบว่ามีพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณคือ ช่วยลดระดับน้ำตาลได้ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้แก่ ชะพลู ขี้เหล็ก อินทนิลน้ำ และสัก (http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_27.htm) ทางผู้วิจัยจะคัดเลือกพืช 2 ชนิด คือ ใบขี้เหล็กและใบชะพลู เพื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส

2.2 โรคอ้วน (Obesity)

โรคอ้วน (Obesity) หมายถึงสภาวะที่มีปริมาณไขมันอยู่ในร่างกายมากกว่าเกณฑ์ปกติ (Knecht, Ellger and Levine, 2008) โรคอ้วนแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

2.2.1 การอ้วนทั้งตัว (Overall Obesity) คือการอ้วนที่มีไขมันในร่างกายมากกว่าปกติ และไขมันที่เพิ่มขึ้นไม่ได้จำกัดอยู่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งโดยเฉพาะ

2.2.2 การอ้วนลงพุง (Visceral Obesity: Abdominal Obesity) คือการอ้วนที่มีไขมันของอวัยวะภายในช่องท้องมากกว่าปกติ โดยอาจมีไขมันใต้ผิวหนังบริเวณหน้าท้องเพิ่มขึ้นด้วย

2.2.3 การอ้วนทั้งตัวร่วมกับการอ้วนลงพุง (Combined Overall and Abdominal Obesity) คือการอ้วนที่มีไขมันมากทั้งตัวและไขมันมากที่อวัยวะในช่องท้องร่วมด้วย ซึ่งวิธีการประเมินหาไขมันในร่างกายที่นิยมใช้ในการคำนวณคือ ดัชนีมวลกาย (Body Mass Index, BMI) ดังนี้

$$\mathbf{BMI} = \left(\frac{\text{น้ำหนัก (กิโลกรัม)}}{\text{ส่วนสูง}^2 \text{ (เมตร)}} \right)$$

ตารางที่ 2.1 การจำแนกประเภทดัชนีมวลกาย (BMI) (Bagchi and Preuss, 2007).

ประเภท	ดัชนีมวลกาย (BMI)	ความเสี่ยงต่อการเกิดการเจ็บป่วย
น้ำหนักตัวต่ำกว่าเกณฑ์	< 18.50	เสี่ยงต่อภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ
น้ำหนักตัวปกติ	18.50 - 24.99	ปกติ
น้ำหนักตัวเกิน	≥ 25.00	เพิ่มกว่าปกติ
โรคอ้วนขั้นที่ 1	30.00 - 34.99	เพิ่มขึ้นมาก
โรคอ้วนขั้นที่ 2	35.00 - 39.99	เพิ่มขึ้นอย่างมาก
โรคอ้วนขั้นที่ 3	≥ 40.00	เพิ่มขึ้นถึงขั้นรุนแรง

จากตารางข้างบนจะพบว่าผู้มีน้ำหนักตัวเกิน ค่า BMI มากกว่า 25 และผู้ที่เป็นโรคอ้วน ค่า BMI มากกว่า 30 จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดการเจ็บป่วยอย่างมาก หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าการที่มีน้ำหนักตัวเกินหรือความอ้วนนั้นสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลายชนิด และมีผลต่อระบบการทำงานในร่างกายหลายระบบ

วิชัย ตันไพจิตร และปรียา ลีพหกุล (2541); Bouchard (1991) อธิบายว่า การที่มนุษย์จะอ้วนหรือมีน้ำหนักมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับสมดุลของพลังงาน (Energy Balance) ซึ่งประกอบด้วยพลังงานที่ร่างกายได้รับ (Energy Intake) และพลังงานที่ร่างกายใช้ไป (Energy Expenditure) คือ ปริมาณพลังงานทั้งหมดที่บริโภค (Total Energy Intake) โดยทั่วไปแล้ว พลังงานที่ร่างกายได้รับ คือ พลังงานที่เกิดจากการรับประทานอาหารเข้าไป สามารถแบ่งสารอาหารที่ให้พลังงานเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่ โปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรต และพลังงานที่ร่างกายใช้ไป เมื่อพิจารณาตามรูปแบบการใช้พลังงาน จะแบ่งได้เป็น อัตราการผลิตพลังงานในภาวะพื้นฐาน (Basal Metabolic Rate, BMR) คิดเป็น 60-70% การสร้างความร้อน (Thermogenesis) คิดเป็น 5-15% และพลังงานที่ใช้ในการทำงานและการเคลื่อนไหวร่างกาย (Physical Activity) คิดเป็น 20-30% ปัจจัยที่ควบคุมสมดุลของพลังงาน คือ พันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาทางระบาดวิทยาในประชากรโลกหลายเชื้อชาติ พบว่าปัจจัยทางพันธุกรรม ปัจจัยทางชีวภาพ และปัจจัยส่วนตัวอื่นๆ ล้วนมีความสัมพันธ์ต่อกัน ทำให้ความไวของแต่ละบุคคลต่อการเพิ่มน้ำหนักต่างกัน บางเชื้อชาติไวต่อการเกิดโรคอ้วนเมื่อมีวิถีแบบมั่งคั่ง นอกจากนี้ยังมีการศึกษา ที่พบว่าพ่อแม่ที่ไม่อ้วนมีลูกอ้วนเพียง 20% พ่อหรือแม่ที่อ้วนมีลูกอ้วนเพียง 40% ส่วนพ่อแม่ที่อ้วนทั้งคู่มีลูกอ้วนถึง 80% (Kaplan, Sallis and Patterson, 1993) ในคนอ้วนจะมีสมดุลของพลังงานเป็นบวก (พลังงานที่ร่างกายได้รับมากกว่าพลังงานที่ร่างกายใช้ไป) คนผอมจะมีสมดุลของพลังงานเป็นลบ(พลังงานที่ร่างกายได้รับน้อยกว่าพลังงานที่ร่างกายใช้ไป) ส่วนคนที่มี

น้ำหนักปกติจะมีสมดุลของพลังงานเป็นศูนย์ (พลังงานที่ร่างกายได้รับเท่ากับพลังงานที่ร่างกายใช้ไป)

นอกจากการควบคุมการใช้พลังงานแล้ว ร่างกายยังสามารถควบคุมการกินของเราโดยการควบคุมความอยากอาหาร สภาวะต่างๆ ของร่างกาย เช่น อ้วน หรือผอม สามารถส่งสัญญาณกลับไปบอกสมองได้ โดยอาศัยฮอร์โมนหรือสารต่างๆ ที่สร้างขึ้นจากเซลล์ต่างๆ ของร่างกายหลายชนิด เซลล์ไขมันสร้างและหลั่งฮอร์โมนเลปติน (Leptin) โดยเลปตินสร้างจาก gene ที่ชื่อว่าโอบีส (Obese) ตัวย่อคือ โอบี (*ob*) ซึ่งมีการค้นพบในปี ค.ศ. 1994 (Zhang *et al*., 1994) เมื่อให้เลปตินเข้าไปในหนูเม้าส์ (Mouse) พบว่าหนูมีน้ำหนักตัวและเปอร์เซ็นต์ไขมันลดลง (Halaas *et al*., 1995) โดยเลปตินทำหน้าที่ส่งสัญญาณจากร่างกายไปยังสมองส่วนไฮโปธาลามัส (Hypothalamus) เพื่อควบคุมความอยากอาหาร ทำให้ความอยากอาหารลดลง มีผลทำให้น้ำหนักลดลง ลดปริมาณไขมัน และเพิ่มการใช้พลังงานมากขึ้น (Campfield *et al*., 1995; Halaas *et al*., 1995; Hwa *et al*., 1996; Kolaczynski *et al*., 1996; Ormseth *et al*., 1996; Pelleymounter *et al*.,1995; Seeley *et al*., 1996; Van Dijk *et al*., 1996) ระดับเลปตินในเลือด จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณไขมันในร่างกายและค่า BMI (Valle *et al*., 2003) เลปตินจะจับกับตัวรับ (Leptin Receptor) โดยเฉพาะที่ไฮโปธาลามัส บริเวณ arcuate nucleus (ARC) ในบริเวณดังกล่าวจะมีเซลล์ประสาท (Neuron) ที่ทำหน้าที่รับสัญญาณจากร่างกายโดยตรง (First Order Neuron) ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือ neuron ที่เพิ่มความอยากอาหาร (Orexigenic Neuron) ที่สำคัญ คือ neuropeptide Y/agouti-related peptide neurons (NPY/AgRP Neurons) และกลุ่มที่สองคือ neuron ที่ลดความอยากอาหาร (Anorexigenic Neuron) ที่สำคัญคือ pro-opiomelanocortin/cocaine and amphetamine regulated transcript neurons (POMC/CART Neurons) โดย first order neuron จะส่งสัญญาณต่อไปยังเซลล์ประสาทกลุ่มที่สอง (Second Order Neuron) ที่บริเวณ lateral hypothalamus (LHA), perifonical nucleus (PFA) และ paraventricular nucleus (PVN) เพื่อเพิ่มและลดความอยากอาหาร และควบคุม sympathetic activity (Schwartz *et al*., 1996a, 1996b; Schwartz *et al*., 2000; Zigman and Elmquist *et al*., 2003) ซึ่งเลปตินจะไปเพิ่มการทำงานของ anorexigenic neuron และยับยั้งการทำงานของ orexigenic neuron ส่วนอินซูลิน (Insulin) เป็นฮอร์โมนที่สร้างจากเซลล์เบต้าของตับอ่อน ทำหน้าที่ลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ อินซูลินมีฤทธิ์เหมือนเลปติน ในการส่งสัญญาณความอิ่ม (Satiety Signal) ไปที่สมองส่วนไฮโปธาลามัส (Bruning *et al*., 2000; Obici *et al*., 2002; Saad *et al*., 2002; Schwartz *et al*., 2000) และออกฤทธิ์เหมือนกัน คือยับยั้ง orexigenic neuron ในขณะเดียวกันจะกระตุ้น anorexigenic neuron ทำให้ลดความอยากอาหารและลดน้ำหนัก (Menegon *et al*., 2008; Schwartz *et al*., 1992; Shiraishi *et al*., 2008; Sipols, Baskin and Schwartz, 1995) โดยระดับอินซูลินในเลือดจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณไขมันในร่างกาย ค่า BMI และระดับเลปติน (Leal-Cerro *et al*., 1996; Valle *et al*., 2003) ใน

ภาวะอ้วนซึ่งมีเซลล์ไขมันมาก และ/หรือระดับน้ำตาลในเลือดสูง ทำให้ระดับเลปตินและอินซูลินเพิ่มสูงขึ้น ยับยั้งความอยากอาหาร ทำให้กินน้อยลง สามารถรักษาสมดุลของร่างกายไว้ได้ แต่ในคนอ้วนมากๆ มีระดับเลปตินและอินซูลินสูงอยู่เป็นเวลานาน ทำให้ตัวรับของเลปตินและอินซูลินทำงานน้อยลง และเกิดภาวะดื้อต่อเลปตินและอินซูลิน (Leptin Resistance/Insulin Resistance) ทำให้ฤทธิ์ยับยั้งความอยากอาหารลดลง และรับประทานอาหารเพิ่มมากขึ้น (Zigman and Elmquist *et al*., 2003)

ถึงแม้ว่าร่างกายมีกลไกควบคุมการกินและการใช้พลังงานให้อยู่ในสมดุล เช่น เมื่อผอมลง ไขมันลดลง ทำให้เลปตินน้อยลง ไปยับยั้งความอยากอาหารได้น้อยลง ทำให้เกิดความอยากอาหารในคนผอมได้มากขึ้น และมีน้ำหนักตัวกลับมาเป็นปกติ ในทางตรงกันข้าม เมื่ออ้วนขึ้นก็จะทำให้เกิดความอยากอาหารลดลง และมีน้ำหนักคงที่ อย่างไรก็ตาม ภาวะน้ำหนักเกินและน้ำหนักน้อยเกินไปยังพบเห็นได้ทั่วไป เนื่องจากมีปัจจัยหรือมีภาวะอื่นที่มีผลต่อการรับประทานอาหารอยู่เหนือไปจากกลไกของสมดุลร่างกาย เช่น เมื่ออิ่มแล้ว ก็ไม่หยุดรับประทานอาหาร ยังคงรับประทานต่อไป เนื่องจากหลายสาเหตุ เช่น อร่อย หรือค่านิยมการรับประทานอาหารบุฟเฟต์ หรือบางครั้งแม้ไม่หิว แต่มีสิ่งจูงใจให้รับประทาน จากการมองเห็น การได้กลิ่น การรับรู้จากสื่อต่างๆ ก็สามารถเอาชนะความอยากอาหารตามปกติของเราได้ และภาวะต่างๆ เหล่านี้ล้วนทำให้เสียสมดุลการควบคุมความอยากอาหารและพลังงาน ทำให้เกิดสมดุลพลังงานใหม่ที่ต่างไปจากเดิม และร่างกายก็จะรักษาสมดุลใหม่จนกว่าจะเสียสมดุลไปอีกครั้ง ดังนั้นถ้าอยากรักษาน้ำหนักให้คงที่ ก็ต้องรับประทานอาหารเมื่อหิวและหยุดรับประทานอาหารเมื่ออิ่ม ไม่ทำให้การควบคุมสมดุลปกติของร่างกายเสียไป

2.2.4 ยาลดความอ้วน

การใช้ยาลดความอ้วนได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลายและมีการใช้มานานแล้ว โดยปกติ แพทย์มักพิจารณาให้ใช้ยาลดน้ำหนักในผู้ป่วยโรคอ้วนที่มีค่า BMI 25-30 และมีโรคต่างๆ ร่วมด้วย เช่น ความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน ภาวะหยุดหายใจขณะหลับ เป็นต้น ซึ่งโรคเหล่านี้อาจก่ออันตรายต่อผู้ป่วยมากขึ้นได้ หรือพิจารณาให้ยากรณีที่อ้วนมาก เช่น ค่า BMI มากกว่า 30 ซึ่งยาที่ใช้ลดความอ้วน แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

2.2.4.1 Appetite Suppressants เป็นยากลุ่มที่ออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลาง เพื่อควบคุมความหิว ทำให้รู้สึกอิ่ม ได้แก่

- Phentermine มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับ amphetamine ยาจะออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลาง บริเวณไฮโปธาลามัส โดยการกระตุ้นการหลั่ง norepinephrine จาก synaptic granules ทำให้ความอยากอาหารลดลง (Bray, 1993)

- **Phenylpropanolamine** เป็น alpha-adernergic agonist ของ propanolamine group ออกฤทธิ์โดยตรงที่ adrenergic receptors โดยกระตุ้นการหลั่ง norepinephrine ให้มีฤทธิ์ลดความอยากอาหาร (Bray, 1993)

- **Sibutramine** เป็นยาที่ออกฤทธิ์ทั้ง serotoninergic และ adrenergic โดยการลด reuptake ของ serotonin และ norepinephrine พบว่าได้ผลดีมากในการลดน้ำหนัก นอกจากนี้ยังพบว่า sibutramine ที่ให้นานถึง 1 ปี ทำให้น้ำหนักลดลง สัดส่วนของเอว สะโพกลดลงด้วย รวมทั้งระดับไขมันในเลือดทั้ง triglyceride, low-density lipoprotein cholesterol และน้ำตาลในเลือดดีขึ้นด้วย (Finer *et al*., 2002; Wirth and Krause, 2001; McNeely and Goa, 1998)

2.2.4.2 Thermogentic Agents เป็นยาที่ช่วยทำให้ความอยากอาหารลดลงร่วมกับการเพิ่มการเผาผลาญพลังงานได้แก่

- **Ephedrine** เป็นสารที่พบในสมุนไพร และ **Caffeine** เป็นสารที่พบในกาแฟ สารทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ในการเพิ่มอัตราการใช้พลังงานในร่างกายและลดความอยากอาหาร ephedrine สามารถเพิ่มการหลั่ง norepinephrine และอาจออกฤทธิ์เช่นเดียวกับ sympathomimetic agents ทำให้เพิ่มกระบวนการ thermogenesis เพิ่มขึ้น (Toubro *et al*., 1993) มีรายงานจาก Astrup *et al*. (1992) พบว่าฤทธิ์ร่วมของการให้ยาทั้ง 2 ชนิดร่วมกับการควบคุมอาหาร 1 ปี มีผลทำให้น้ำหนักลดลงจากฤทธิ์เพิ่มกระบวนการ thermogenesis และพบว่าร้อยละ75 น้ำหนักลดลงจากฤทธิ์เบื่ออาหาร

2.2.4.3 Digestion Inhibitors เป็นยาที่ช่วยยับยั้งการดูดซึมอาหารโดยเฉพาะอาหารพวกไขมัน ได้แก่

- **Orlistat** เป็น derivative ของ lipstatin ซึ่งสร้าง*โดย Streptomyces toxytrivini* ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase ในระบบทางเดินอาหาร โดยยับยั้งการดูดซึมของอาหารไขมันได้ประมาณร้อยละ 30 ของอาหารไขมันที่รับประทานเข้าไป (Bray, 2000; Bray and Tartaglia, 2000)

2.2.4.4 Hormonal Manipulation เป็นยาใหม่ที่เริ่มนำมาใช้ในการรักษา เพื่อลดน้ำหนัก ได้แก่

- **Neuropeptid Y Antagonist** Neuropeptid Y (NPY) เป็นตัวกระตุ้นให้ทานอาหารมากขึ้น โดยการออกฤทธิ์ที่ Y-5 receptors จึงได้มีการผลิต NPY antagonist เพื่อยับยั้งการทำงานของ NPY ทำให้ความอยากลดลง (Heymsfield *et al*., 1999)

โรคอ้วน ส่งผลเสียทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ ตามมา เช่น โรคหัวใจ โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันในเลือดสูง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคข้อกระดูกเสื่อม โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร โรคมะเร็งบางชนิด (มะเร็งเต้านม มะเร็งเยื่อบุมดลูก มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งลำไส้ใหญ่) ปัญหาประจำเดือนไม่สม่ำเสมอ รวมทั้งปัญหาทาง

สุขภาพจิตและสังคม ซึมเศร้า เกิดปมด้อย ทำให้แยกตัวออกจากสังคม เป็นต้น (Devlin *et al*., 2000; Kopelman, 2000; Roth *et al*., 2004; Wickelgren, 1998)

2.3 โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus)

โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus) เป็นความผิดปกติของร่างกายที่มีการผลิตฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอ อันส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูงเกินปกติ โรคนี้มีความรุนแรงสืบเนื่องมาจากการที่ร่างกายไม่สามารถใช้น้ำตาลได้อย่างเหมาะสม โดยปกตินำ้ตาลจะเข้าสู่เซลล์ร่างกายเพื่อใช้เป็นพลังงานภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนอินซูลิน ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลที่เกิดขึ้นทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ในระยะยาวจะมีผลในการทำลายหลอดเลือด ถ้าหากไม่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสม อาจนำไปสู่สภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงได้

อินซูลิน (Insulin) เป็นฮอร์โมนที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เป็นปกติ ผลิตโดยเบต้าเซลล์ (β-Cell) ของไอส์เล็ทออฟลังเกอร์ฮันส์ (Islets of Langerhans) ในตับอ่อน ตับอ่อนเป็นอวัยวะที่อยู่ในช่องท้องด้านหลังของกระเพาะอาหาร อินซูลินสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เป็นปกติ โดยเป็นตัวนำกลูโคส กรดอะมิโน และกรดไขมันเข้าสู่เซลล์ ช่วยให้เซลล์ต่างๆ ใช้กลูโคสเป็นพลังงานได้ ช่วยให้มีการเปลี่ยนแปลงกลูโคสเป็นไกลโคเจนเก็บสะสมไว้ในตับและกล้ามเนื้อ ช่วยให้มีการสังเคราะห์ไขมันจากกลูโคส เพื่อเก็บไว้เป็นพลังงานสำรองโดยสะสมไว้ตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย และช่วยให้มีการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกาย

เมื่อร่างกายขาดอินซูลินหรืออินซูลินที่มีอยู่ออกฤทธิ์ไม่ได้จะมีผลให้การเผาผลาญโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันในร่างกายผิดปกติ มีการสลายมากกว่าการสร้าง กล่าวคือ กลูโคสจะเข้าสู่เซลล์ไม่ได้ ทำให้ร่างกายไม่สามารถใช้กลูโคสเป็นพลังงานหรือเปลี่ยนกลูโคสเป็นไกลโคเจนหรือไขมันสะสมเพื่อเก็บไว้เป็นพลังงานสำรองในร่างกาย ระดับน้ำตาลในเลือดจึงสูง และถูกขับออกมาทางปัสสาวะ มีการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อมาใช้เป็นพลังงานเพื่อการดำรงชีวิต ทำให้กล้ามเนื้อเหี่ยวลีบ น้ำหนักลด และเมื่อมีการสลายไขมันที่สะสมไว้ในร่างกายเป็นพลังงานเพิ่มขึ้นทำให้เกิดสารคีโตนเพิ่มมากขึ้นด้วย ในภาวะปกติ ผู้ที่ไม่ได้เป็นโรคเบาหวานร่างกายสามารถใช้กลูโคสเป็นพลังงานได้จึงมีสารคีโตนเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย และร่างกายสามารถใช้กลูโคสเป็นพลังงานได้หมด แต่สำหรับผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน เมื่อมีการเผาผลาญไขมันเป็นพลังงานมากๆ จะเกิดสารคีโตนเพิ่มขึ้น จนเกินความสามารถของร่างกายที่จะใช้เป็นพลังงานได้ทัน ทำให้เกิดการคั่งของสารคีโตนในเลือด เรียกว่า คีโตซีส (Ketosis) ผู้ป่วยมีอาการอ่อนเพลีย กระหายน้ำ หากเป็นมากก็จะหอบและหมดสติถึงตายได้

องค์การอนามัยโลกได้แบ่งโรคเบาหวานตามสาเหตุเป็น 4 ชนิด แต่ที่เป็นปัญหามากและมีผู้สนใจศึกษามากมี 2 ชนิด คือ

- โรคเบาหวานชนิดที่ 1 หรือ โรคเบาหวานพึ่งฮอร์โมนอินซูลิน (Type 1 Diabetes Mellitus หรือ Insulin Dependent Diabetes Mellitus, IDDM) เกิดจากตับอ่อนไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินหรือผลิตได้ไม่เพียงพอ เนื่องจากเซลล์บีตาถูกทำลายจากระบบภูมิคุ้มกันที่ทำงานผิดปกติ มักพบในเด็ก และพบประมาณร้อยละ 5-10 อาการของโรคที่มักพบ ได้แก่ ปัสสาวะบ่อย กระหายน้ำบ่อย น้ำหนักลด และอ่อนเพลีย

- โรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือ โรคเบาหวานไม่พึ่งฮอร์โมนอินซูลิน (Type 2 Diabetes Mellitus หรือ Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus, NIDDM) เซลล์บีตาในตับอ่อนสามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินได้ แต่ฮอร์โมนไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ เซลล์ไม่ตอบสนองต่อฮอร์โมน เกิดภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin Resistance) เป็นโรคเบาหวานชนิดที่พบได้มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 90 ของเบาหวานที่พบทั่วโลก อาการในระยะแรกๆ ไม่เด่นชัด ผู้ป่วยทราบว่าตนเป็นโรคก็ต่อเมื่อมีอาการของภาวะแทรกซ้อนเกิดขึ้น

- โรคเบาหวานชนิดอื่นๆ ได้แก่

- โรคเบาหวานที่เกิดจากเบต้าเซลล์ทำงานบกพร่องจากความผิดปกติทางพันธุกรรม
- โรคเบาหวานที่เกิดจากความบกพร่องในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของอินซูลินจากความผิดปกติทางพันธุกรรม
- โรคเบาหวานที่เกิดจากโรคของตับอ่อน
- โรคเบาหวานที่เกิดจากโรคต่อมไร้ท่อต่างๆ
- โรคเบาหวานที่เกิดจากยาและสารเคมี
- โรคเบาหวานที่เกิดจากภาวะติดเชื้อ
- โรคเบาหวานที่เกิดจากกระบวนการออโตอิมมูนแบบอื่นๆ
- โรคเบาหวานที่เกิดจากโรคพันธุกรรมอื่นๆ

- โรคเบาหวานที่เกิดขึ้นขณะตั้งครรภ์ (Gestational Diabetes Mellitus) หมายถึง ความผิดปกติในความทนต่อกลูโคสทุกระดับ ซึ่งเกิดขึ้นหรือวินิจฉัยได้ครั้งแรกในขณะตั้งครรภ์ โดยไม่ต้องคำนึงว่าผู้ป่วยจะได้รับการรักษาโดยวิธีใด (การคุมอาหารหรือการฉีดอินซูลิน) และโรคเบาหวานจะหายไปหลังจากการตั้งครรภ์สิ้นสุด

2.3.1 เกณฑ์ในการวินิจฉัยโรคเบาหวาน ที่ปรับปรุงจากเกณฑ์ของ National Diabetes Data Group และองค์การอนามัยโลก แบ่งการวินิจฉัยออกเป็น 3 วิธี คือ

2.3.1.1 มีอาการของโรค เช่น ปัสสาวะบ่อย ดื่มน้ำมาก น้ำหนักลดโดยไม่ทราบสาเหตุ ร่วมกับระดับกลูโคสในพลาสมาปกติ มากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

2.3.1.2 ระดับพลาสมาหลังอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง มากกว่าหรือเท่ากับ 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หรือ

2.3.1.3 ระดับกลูโคสในพลาสมาหลังป้อนสารละลายกลูโคส 75 กรัม ที่ 2 ชั่วโมง มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

หากผลการวินิจฉัยแต่ละวิธีอยู่ในเกณฑ์ของโรค เช่นหากมีอาการของโรคร่วมกับระดับกลูโคสปกติในพลาสมามากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร แล้ววันถัดไปทำการตรวจระดับกลูโคสหลังอดอาหาร หรือทดสอบความทนกลูโคส ได้ค่ากลูโคสในเลือดมากกว่าที่กำหนดไว้ สามารถวินิจฉัยได้ว่าเป็นโรคเบาหวาน

2.3.2 ยาที่ใช้ลดระดับกลูโคสในเลือด

ยาที่ใช้ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ใช้ระดับกลูโคสในพลาสมาหลังอดอาหาร ร่วมกับอาการ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (วิทยา ศรีดามา, 2545) คือ

2.3.2.1 ยากระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin Secretogogues) แบ่งเป็นกลุ่ม sulfonylurea เช่น glipizide, glibenclamide และ glicazide ออกฤทธิ์โดยจับกับตัวรับของยาที่เยื่อหุ้มเซลล์บีตาและทำให้เกิดการผ่านของแคลเซียมอิออนเข้าเซลล์เพิ่มขึ้น มีผลกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน และกลุ่ม non-sulfonylurea เช่น repaglinide และ nateglinide เป็นยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนกับกลุ่มแรกและออกฤทธิ์เร็ว ค่าครึ่งชีวิต 1 ชั่วโมง แต่มีราคาแพง เหมาะสำหรับผู้ป่วยเบาหวานที่แพ้ยาซัลฟา หรือผู้ป่วยสูงอายุที่เสี่ยงต่อภาวะระดับกลูโคสในเลือดต่ำ

2.3.2.2 ยาเพิ่มความไวต่อฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin Sensitizer) แบ่งเป็น biguanide ได้แก่ metformin ออกฤทธิ์ลดการสร้างกลูโคสจากตับ เพิ่มการสลายไกลโคเจนแบบไม่ใช้ออกซิเจน เพิ่มการใช้กลูโคสของเซลล์กล้ามเนื้อ ลดการดูดซึมกลูโคสจากทางเดินอาหาร และกลุ่ม thiazolidinedione ได้แก่ troglitazone, rosiglitazone และ pioglitazone ออกฤทธิ์โดยเพิ่มการใช้กลูโคสของเซลล์กล้ามเนื้อ และลดการสร้างกลูโคสจากตับ ยาในกลุ่มนี้แนะนำให้ใช้สำหรับผู้ป่วยที่แพ้ metformin

2.3.2.3 ยาลดการดูดซึมกลูโคส (Glucose Inhibitor) ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสที่ผนังลำไส้ทำให้ลดการดูดซึมกลูโคส ได้แก่ acarbose และ voglibose โดย voglibose มีผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหารน้อยกว่า

โรคเบาหวาน ส่งผลเสียทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ ตามมา เช่น

- ภาวะเป็นกรดในเลือดสูง เป็นภาวะที่มีอันตรายมาก ผู้ป่วยจะมีอาการอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ปัสสาวะมาก กระหายน้ำ ตัวแห้ง ปากแห้ง มีไข้ หอบมาก ซึม และมักหมดสติ

- ความพิการของตา ผู้ป่วยที่มีน้ำตาลในเลือดสูง มักมีอาการตามัว และมีการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดฝอยไปเลี้ยงที่ตามีผนังหนาขึ้น และแรงดันเลือดสูง ทำให้หลอดเลือดฝอยที่จอรับภาพโป่งพองและแตก เกิดความเสื่อมของตา ประสาทตาและตาบอดได้

- การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ประสาท ผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีน้ำตาลในเลือดสูงนานๆ มักมีอาการอักเสบของเซลล์ประสาท ทำให้มีอาการชาที่ปลายนิ้วมือ ปลายเท้า โดยเฉพาะที่เท้าทั้ง 2 ข้าง เมื่อเกิดแผลจึงไม่รู้สึกเจ็บ เมื่อไม่ได้ดูแลรักษา แผลจึงลุกลามและติดเชื้อได้ง่าย หากผู้ป่วยมีหลอดเลือดตีบแข็งด้วยเลือดจะไปเลี้ยงได้น้อยลง อาจทำให้แผลที่เป็นอยู่เน่า

- ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง เป็นอาการแทรกซ้อนที่เป็นอันตรายต่อระบบต่างๆของร่างกายมาก โดยเฉพาะหัวใจ สมอง และไต พบมากในผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการควบคุมดูแลรักษาโรคเบาหวานอย่างถูกต้อง มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นเวลานานหรือผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานมานานกว่า 10 ปี ผู้ป่วยจะมีการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด ผนังหลอดเลือดหนา มีไขมันจับพอกตามผนังหลอดเลือด ทำให้รูหลอดเลือดมีขนาดเล็ก เลือดไหลไปเลี้ยงอวัยวะต่างๆได้น้อย ทำให้อวัยวะต่างๆ เหล่านั้นเสื่อมสมรรถภาพลง ถ้าเป็นหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงสมองผู้ป่วยอาจมีอาการอัมพาตของอวัยวะต่างๆ และหากเป็นหลอดเลือดที่เลี้ยงไตตีบจะทำให้ไตเสื่อมสมรรถภาพ และเกิดไตวายได้ โรคแทรกซ้อนทางไตจึงเป็นสาเหตุของการตายที่พบมากที่สุดในผู้ป่วยเบาหวานที่จบชีวิตก่อนอายุ 45 ปี (ศรีจิตรา บุนนาค, 2526)

2.4 เอนไซม์เกี่ยวกับการย่อยอาหาร

2.4.1 เอนไซม์ไลเปส (Lipase)

เอนไซม์ไลเปส (Lipase) เป็นเอนไซม์ที่ช่วยย่อยไขมัน เพื่อให้ไขมันเข้าสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ภายในเซลล์ได้ เอนไซม์ไลเปสพบในทางเดินอาหาร การย่อยเริ่มต้นที่กระเพาะอาหารโดยมีเอนไซม์แก๊สติกไลเปส (Gastric Lipase) ย่อยไขมันให้กลายเป็นกรดไขมันประมาณ 15 % หลังจากนั้น ไขมันจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ไลเปสที่หลั่งจาก pancreatic acinar cells อย่างสมบูรณ์ที่ลำไส้เล็กส่วนต้น (Lowe, 1997) ปัจจุบันมีการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสได้หลายวิธี เพื่อป้องกันโรคอ้วน เช่น การใช้ยา orlistat เพื่อยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปสและช่วยลดน้ำหนัก นอกจากนี้ยังมีการศึกษาโดยใช้สมุนไพรยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เช่น *Glycyrrhiza glabra* roots (Birari *et al*., 2011), *Theobroma cacao* (Gu *et al*., 2011), *Panax japonicus* rhizomes (Han *et al*., 2005), *Cassia nomame*

(Hatano *et al*., 1997), *Actinidia arguta* roots (Jang *et al*., 2008), green tea leaves (Juhel *et al*., 2000), *Dioscorea nipponica* Makino (Kwon *et al*., 2003), *Panax quinquefolium* leaves (Liu *et al*., 2008), berries (McDougall, Kulkarni and Stewart, 2009), *Cuminum cyminum* (Milan *et al*., 2008), grape seed (Moreno *et al*., 2003), peanut shell (Moreno *et al*., 2006), *Mangifera indica* (Moreno et al., 2006), oolong tea (Nakai et al., 2005), *Nelumbo nucifera* (Ono *et al*., 2006), apple (Sugiyama *et al*., 2007), *Glycyrrhiza uralensis* (Won *et al*., 2007), *Cassia minosoides* (Yamamoto *et al*., 2000), *Salacia reticulata* (Yoshikawa *et al*., 2002) และ Chinese herbal medicines (Zheng *et al*., 2010).

2.4.2 เอนไซม์อะไมเลส (Amylase) และเอนไซม์กลูโคซิเดส (Glucosidase)

เอนไซม์อะไมเลส (Amylase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยตำแหน่งพันธะ α-1,4-glucan ของแป้ง การย่อยคาร์โบไฮเดรตเริ่มต้นที่ปาก โดยเอนไซม์ salivary amylase ย่อยแป้งให้เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้น ถัดจากนั้นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pancreatic α-amylase กลายเป็น maltose และ maltotriose (Ferey-Roux *et al*., 1998) จากนั้นเอนไซม์กลูโคซิเดส (Glucosidase) จะย่อย oligo-saccharides ให้กลายเป็น glucose (Kalla *et al*., 1997) ปัจจุบันมีการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสและกลูโคซิเดสได้หลายวิธี เพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดและรักษาโรคเบาหวาน เช่น การใช้ยา acarbose หรือ ใช้พืชสมุนไพร เช่น soybeans (Ademiluyi and Oboh, 2011), *Bergenia ciliata* rhizomes (Bhandari *et al*., 2008), *Terminalia chenula* Retz. Fruits (Gao *et al*., 2007), *Theobroma cacao* (Gu *et al*., 2011), *Lagerstroemia speciosa* leaves (Hou *et al*., 2009), sorghum, foxtail millet, and proso millet (Kim, Hyun, and Kim, 2011), pine (Kim *et al*., 2005), *Grateloupia elliptica* (Kim et al., 2008), *Ecklonia cava* (Lee *et al*., 2010), *Carpesium abrotanoides* (Mayur *et al*., 2010), *Tournefortia hartwegiana* (Ortiz-Andrade *et al*., 2007), *Mormodica balsamina* L., *Senna italica* Mill., *Cassia abbreviata* Oliv., *Tinospora fragosa*, *Waltheria indica* L., *Gymnosporia buxifolia* (Shai *et al*., 2010), *Syzygium cumini* seed kernel (Shinde *et al*., 2008), *Andrographis paniculata* (Subramanian, Asmawi, and Sadikun, 2008), chestnut astringent skin (Tsujita and Takaku, 2008), tea fruits peel (Wang *et al*., 2012) และ soybean leaves (Yuk *et al*., 2011) เพื่อยับยั้งการทำงานเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส

2.5 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds) เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้น เพื่อประโยชน์ในกระบวนการเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบฟีนอลิกในพืชแต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันไป โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิกจะเกิดจากการ

รวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปรวมกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharides) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharide) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ก็ได้ แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก คือ กลูโคส (Glucose) นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอก-ซิลิก (Carboxylic Acid) กรดอินทรีย์ (Organic Acid) อะมีน (Amine) และไขมันอีกด้วย สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติมากมายหลายอย่าง คือ antioxidant, anti-allergenic, anti-artherogenic, anti-inflammatory, anti-microbial, anti-thrombotic, anti-obesity, cardioprotective, anti-hypoglycemic, anti-diabetic และ vasodilatory effects (Aberoumand and Deokule, 2008; Balasundram *et al*., 2006) โดยสารประกอบฟีนอลิก จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเหล่านั้นลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า สารประกอบฟีนอลิกที่ถูกพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระนั้น สามารถพบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น เมล็ด ผล ใบ และหนึ่งในสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นที่รู้จักกันดีก็คือ flavonoids (flavones, flavonols, isoflavones, catechins, flavonones และ chalcones) และ cinnamic acid derivatives (caffeic acid, ferulic acid, chlorogenic acid และ อื่นๆ) โดยสามารถพบได้ในเกือบทุกส่วนของพืชแต่จะมีความแตกต่างกันออกไปในด้านของชนิดและปริมาณ (Bagchi and Preuss, 2007)

2.6 ขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.)

ขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Leguminosae (Fabaceae) เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงกลาง ลำต้นมักคดงอเป็นปุ่ม เปลือกสีเทาถึงน้ำตาลดำ กิ่งอ่อนมีลายตามยาวและมีขนละเอียดนุ่ม ใบประกอบยอดคู่ ใบย่อยรูปขอบขนาน ด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขนนุ่ม ดอกช่อสีเหลืองอยู่ปลายกิ่ง ผลเป็นฝักแบนยาวขนเกลี้ยงเป็นร่องมีสีคล้ำ เมล็ดรูปไข่ ยาวแบนสีน้ำตาลอ่อน เรียงตัวตามแนวขวาง ในประเทศไทยนิยมนำใบอ่อนและดอกไปแกง หรือนำใบอ่อนลวกเป็นผักจิ้มน้ำพริก เพราะหาได้ง่ายในท้องถิ่น ขี้เหล็กมีสรรพคุณทางยา เป็นยาขมเจริญอาหาร

- แก่นและใบ รักษาโรคเบาหวาน รักษาโรคบิด ขับปัสสาวะ รักษานิ่ว เป็นยาระบาย รักษาแผลฝี รักษาโรคเหน็บชา ลดความดันโลหิตสูง

- ราก รักษาไข้ ไข้กลับ แก้ไข้บำรุงธาตุ รักษาโรคเหน็บชา

- ดอก รักษาเส้นประสาท นอนไม่หลับ รักษาโรคหืด รักษาโรคโลหิตพิการ รักษารังแค ขับพยาธิ

- ฝัก แก้พิษไข้ ขับเสมหะ เปลือกแก้ริดสีดวง แก้ริดสีดวงทวาร รักษาโรคหิด แก้กระพี้ แก้ร้อนกระสับกระส่ายเพราะพิษไข้ แก้กระษัย ถ่ายพิษ ขับถ่ายโลหิตเสีย บำรุงโลหิต

- ลำต้นและกิ่ง เป็นยาระบาย รักษาโรคผิวหนัง แก้โรคกระษัย แก้นิ่ว ขับปัสสาวะ ขับระดูขาว

ในเมล็ดและใบ จะพบสารสำคัญ คือ alkaloids ซึ่งจะออกฤทธิ์กดระบบประสาทส่วนกลาง สมอง ไขสันหลัง ทำให้มีอาการซึมในสัตว์ทดลอง (พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2537) ใบอ่อนและดอก พบสารบาราคอล (Barakol) เป็นสารที่ทำให้มีรสขม ซึ่งมีฤทธิ์กดประสาท คลายเครียด (Thongsaard *et al.*, 1996, 1997) กระตุ้นการนอนหลับ และสามารถลดการชัก (Sukma *et al.*, 2002) ลดความดันเลือดทั้งในแมวและหนูทดลองได้ (กิจจา สุวรรณ, 2534) โดย Thongsaard *et al.* (1996) ได้นำสารสกัดใบและดอกขี้เหล็กด้วยน้ำ นำไปทดสอบกับผู้ป่วย โดยให้ดื่มในขนาด 1, 6 และ 12 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ได้รับสารบาราคอลขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าได้ผลคล้ายกันและให้ผลเหมือนกับผู้ป่วยที่ได้รับยากดประสาท diazepam 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ส่วนในใบ เปลือก และแก่น พบ anthraquinone ซึ่งมีฤทธิ์เป็นยาระบาย (สมภพ ประธานธุรารักษ์ และพร้อมจิต ศรลัมพ์, 2547) Koyama *et al.* (2001) ได้ใช้สาร anthraquinone และ bianthraquinone ที่สกัดจากแก่นของต้นขี้เหล็กมาทดสอบกับหนูเมาส์ที่ชักนำให้เป็นมะเร็งผิวหนังด้วย Epstein-Bar virus พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งได้ โดย anthraquinone ได้ผลดีกว่า bianthraquinone ในตำรายาไทยมีการใช้แก่นต้นขี้เหล็กต้มน้ำแก้เบาหวาน (นันทวัน บุญยะประภัศร, 2539) ส่วนชาวบ้านในจังหวัดเลยใช้ใบอ่อนตำผสมน้ำสุกคั้นน้ำดื่ม แก้โรคเบาหวาน (โอภาส เชฎฐากุล, 2540) และ Wahjoedi (1999) ได้ทดสอบความเป็นพิษระยะปานกลางของสารสกัดจากใบขี้เหล็ก โดยให้สารสกัดใบขี้เหล็กด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 ที่ให้หนูแรทขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าไม่มีผลที่มีพิษต่อ ตับ ปอด หัวใจ ม้าม ไต และทางเดินอาหารของหนูทดลองแต่อย่างใด เมื่อตรวจระดับเอนไซม์ที่เป็นดัชนีที่บ่งชี้การถูกทำลายของตับ เช่น เอนไซม์ SGOT (Serum Glutamic Oxaloacetic Acid Transaminase) และ SGPT (Serum Glutamic Pyruvic Acid Transaminase) พบว่าไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม Chanwitheesuk *et al.* (2005) ได้นำพืชที่รับประทานได้ 43 ชนิด ที่พบได้ในประเทศไทยมาทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งรวมไปถึงการวิเคราะห์หา total phenolic content ในสารสกัดจากใบขี้เหล็กโดยวิธี Folin-Denis reagent ผลการทดลองพบว่า ในสารสกัดจากใบขี้เหล็กมีปริมาณของ total phenolic 384 ± 0.11 mg

pyrocatechal/g dry weight นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Kaur *et al*. (2006) ทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกขี้เหล็กโดย Folin-Ciocalteu reagent method พบว่ามีปริมาณของ total phenolic ในสารสกัดจากดอกขี้เหล็ก 257 ± 5.6 mg GAE/g dry weight

2.7 ชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.)

ชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Piperaceae ชะพลูแพร่กระจายอยู่ในประเทศเขตร้อน และกึ่งร้อน เป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น ดินร่วนปนทรายระบายน้ำได้ดี ต้องการความชื้นสูง เจริญเติบโตได้ดีในที่ร่ม ขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนของลำต้นปักชำในดินร่วนซุย เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก เป็นเถาเลื้อยไปตามพื้นดิน ปลายยอดตั้งขึ้น สูงประมาณ 30 เซนติเมตร ลำต้นสีเขียว มีข้อเป็นปม และมีไหลงอกยาวเป็นต้นใหม่ ก้านใบยาว 1.0-2.5 เซนติเมตร ใบเรียงแบบสลับ เนื้อใบบางถึงหนา ผิวเป็นมัน กว้าง 5-10 เซนติเมตร ยาว 7-15 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ใบสีเขียวเข้มเห็นเส้นใบชัดเจน เส้นใบมีจำนวน 7 เส้น ออกจากฐานใบ ช่อดอกรูปทรงกระบอกตั้งขึ้น ดอกมีสีขาว ผลมีสีเขียวสด ลักษณะกลมผิวมัน ออกดอกและติดผลตลอดปีแต่พบมากในฤดูฝน (อรุณรัตน์ ฉวีราช, 2548)

สารสกัดจากเมทธานอลของใบชะพลูสามารถยับยั้งการทำงานของระบบประสาทในกล้ามเนื้อของหนู (Ridtitid *et al*., 1998) สารสกัดจากใบชะพลูที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และเมทธานอล สามารถต่อต้านเชื้อมาลาเรียที่เกิดจากเชื้อ *Plasmodium falciparum* และ *P. berghei* (Rahman *et al*., 1999) สาร Sarmentine และ 1-piperettyl pyrrolidine ในชะพลูมีผลในการต่อต้านวัณโรค (Rukachaisirikul *et al*., 2004) flavonoid component ที่พบในใบชะพลู สามารถต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) และสามารถลดการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว (Atherosclerosis) ในกระต่ายที่ถูกชักนำให้เกิดไขมันสูงในเลือด (Hypercholesterolemic) (Amran *et al*., 2010; Subramaniam *et al*., 2003) Peungvicha *et al*. (1998) ศึกษาฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดของชะพลู เมื่อทดลองให้สารสกัดด้วยน้ำของต้นชะพลูความเข้มข้น 0.125 และ 0.25 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวแก่หนูขาวปกติ พบว่ามีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด แต่สารสกัดที่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวที่เป็นเบาหวาน (Streptozotocin-diabetic rats) แต่เมื่อให้สารสกัดดังกล่าวในขนาด 0.125 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว โดยการกินติดต่อกันนาน 7 วัน พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของหนูขาวที่เป็นโรคเบาหวานได้

Chanwitheesuk *et al*. (2005) ได้นำพืชที่รับประทานได้ 43 ชนิด ที่พบได้ในประเทศไทยมาทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งรวมไปถึงการวิเคราะห์หา total phenolic content ในสารสกัดจากใบชะพลู โดยวิธี Folin-Denis reagent จากผลการศึกษาพบว่า ในสารสกัดจากใบชะพลูมีปริมาณของ total phenolic 123 ± 0.12 mg

pyrocatechal/g dry weight งานวิจัยในปี 2010 ทำการทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกโดย Folin-Ciocalteu reagent method พบว่าในสารสกัดจากใบชะพลู มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 90.86 ± 0.37 mg/g dry weight (Hafizah *et al.*, 2010) ในปีเดียวกัน Wan-Ibrahim *et al.* ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของ total phenolic จากสารสกัดจากพืช 20 ชนิดในประเทศมาเลเซีย ซึ่งพืชหนึ่งในนั้นคือ ชะพลูที่พบได้ในประเทศไทย จากการวิเคราะห์หาปริมาณของ total phenolic content โดย Folin-Ciocalteu reagent method พบว่า total phenolic ที่พบในสารสกัดจากใบชะพลูมีปริมาณสูง คือ 430 ± 3.1 mg gallic acid/g dry weight และจากงานวิจัยล่าสุดในปี 2011 Sulaiman *et al.* ได้ทำการทดสอบผลของตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดพืช เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของ total phenolic content และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งวิเคราะห์หาปริมาณของ total phenolic content โดย Folin-Ciocalteu's method จากตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ 70% Acetone, 70% Ethanol และ 70% Methanol พบว่าในสารสกัดจากใบชะพลูมีปริมาณของ total phenolic content ต่างกันในตัวทำละลายที่ต่างกัน คือ 5.3 ± 0.6 mg gallic acid /g dry weight, 5.1 ± 0.2 mg gallic acid /g dry weight และ 2.8 ± 0.9 mg gallic acid/g dry weight ในตัวทำละลาย 70% Acetone, 70% Ethanol และ 70% Methanol ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู

3.1.1 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากใบขี้เหล็กและใบชะพลู

นำตัวอย่างของใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่เก็บมา ล้างให้สะอาดแล้วผึ่งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3วัน เพื่อให้หยดน้ำที่ติดอยู่ตามใบระเหยออกจนหมด จากนั้นนำใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่ผึ่งเรียบร้อยแล้วเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน และนำใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่อบจนแห้งแล้วมาเข้าเครื่องบดให้เป็นผงละเอียด แล้วนำผงของใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่ได้มาเข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลาย 80% เอทานอล ด้วยวิธี maceration ในอัตราส่วน 1:5 แล้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากครบ 1 สัปดาห์ ทำการกรองสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้กระดาษกรอง No.1 (Whatman Internation Ltd., Maidstone, England) เพื่อกรองเอากากของพืชทิ้งไป จากนั้นนำสารที่ได้จากการกรองมาเข้าเครื่อง rotary evaporator (Rotavapor® model R-205, Buchi, Switzerland) เพื่อระเหยเอทานอลออกให้หมดให้เหลือเฉพาะสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาเข้าเครื่อง freeze dryer (Labconco Corporation Ltd., Missouri, USA) โดยสารสกัดที่ได้จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ตลอดการทดลอง (Kähkönen *et al*., 1999; Tachakittirungrod, Okonogi and Chowwannapoonpohn, 2007)

3.1.2 วิธีการวิเคราะห์หา Total Phenolic Content จากใบขี้เหล็กและใบชะพลู

Total phenolic content จะวิเคราะห์โดยใช้วิธีการ Folin-Ciocalteu method (Minussi *et al*., 2003) โดยวิธีการเริ่มจาก นำสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูมาละลายใน 10% เอทานอล จากนั้นปิเปตสารสกัดจากใบชะพลูและใบขี้เหล็กอย่างละ 200 µl ผสมกับสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 2% (Na_2Co_3, BDH Ltd., UK) จำนวน 4 ml ใส่ในหลอดทดลองแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 นาที จากนั้นเติม สารละลาย Folin Reagent หลอดละ 200 µl ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer (CECIL 1011, England) และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid เพื่อหา total phenolic content ในสารสกัดจากใบชะพลูและใบขี้เหล็ก

3.2 วิธีการทดลองการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดสของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในหลอดทดลอง

3.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (*In Vitro* Assay for Measuring the Inhibition of Porcine Pancreatic Lipase Enzyme)

ศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส โดยการวัดอัตราของการปลดปล่อย oleic acid จาก triolein ด้วยวิธี Titrimetric method (Huerta *et al*., 2007; Sharma *et al*., 2005; Wrolstad *et al*., 2005) ซึ่งจำนวนของ oleic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจะอยู่ในช่วงปฏิกิริยาที่เกิดจุดยุติ (end point) โดยการไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, Carlo Erba Reagents, Italy) และใช้ phenolphthalein เป็นตัว indicator ในการไตเตรท การทดลองจะเริ่มจากนำสารสกัดจากใบขี้เหล็ก ใบชะพลู และ orlistat (Xenical, Roche Diagnostics GmbH., Germany) ที่ vary ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.3125-80 mg/ml, 0.3125-20 mg/ml และ 40 mg/ml ตามลำดับ นำมาละลายใน DDD water (Double Deionized Distilled, DDD) จากนั้นนำตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่ vary ความเข้มข้นแล้ว ปริมาณ 2.5 ml, 1% triolein in tween 40 ปริมาณ 3 ml และ 50 mM sodium phosphate buffer (pH 8.0) ปริมาณ 1 ml ใส่ลงบีกเกอร์ทุกบีกเกอร์ เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไป incubation ที่ 37 องศาเซลเซียส ใน water bath (Model WB-22, WiseBath, Korea) เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำออกมาจาก water bath แล้วใส่ pancreatin porcine enzyme ปริมาณ 1 ml (ยกเว้น blank ใส่ 50 mM sodium phosphate buffer) ทุกบีกเกอร์ เขย่าให้เข้ากัน นำไป incubation ที่ 37 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำออกมาจาก water bath แล้วใส่ 95% เอทานอล ปริมาณ 3 ml ในแต่ละบีกเกอร์ เขย่าให้เข้ากัน เพื่อหยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นนำไปไตเตรทด้วย 0.025 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, Carlo Erba Reagents, Italy) จนกระทั่งมีสีชมพูปรากฏขึ้นมา แสดงว่าเกิดจุดยุติแล้ว จากนั้นบันทึกค่าปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท เพื่อให้เกิดจุดยุติของแต่ละตัวอย่าง ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดจากจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูจะเปรียบเทียบกับ positive control คือ orlistat ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการลดความอ้วนที่นิยมกันมากในปัจจุบัน พบว่า orlistat เป็น potent inhibitor สำหรับ gastric lipase, pancreatic lipase และ carboxylester lipase (Hadvay, Lengsfeld and Wolfer, 1988) และได้รับการพิสูจน์ว่ามีผลในการรักษาโรคอ้วนในคนที่ดีมาก (Hauptman, Jeunt and Hartmann, 1992; Drent *et al*., 1995; Sjostrom *et al*., 1998) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส คำนวณตามสูตรนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส (\%)} = \left[\frac{(A-a) - (B-b)}{(A-a)} \right] X\ 100$$

เมื่อ A และ B คือ ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท เพื่อให้เกิดจุดยุติของ control (DDD water) และตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่มี pancreatin porcine enzyme

a และ b คือ ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท เพื่อให้เกิดจุดยุติของ blank (DDD water) และตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่ไม่มี pancreatin porcine enzyme

3.2.2 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส (*In Vitro* Assay for Measuring the Inhibition of Amylase Enzyme)

ศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสด้วยวิธี Colorimetric method (Nickavar, Abolhasani, and Izadpanah, 2008) โดยใช้แป้ง(Starch) เป็น substrate การทดลองจะเริ่มจากนำสารสกัดจากใบขี้เหล็ก ใบชะพลู และ acarbose (Glucobay® 50, PT Bayer Indonesia, Jakarta, Indonesia) ที่ vary ความเข้มข้นตั้งแต่ 18-320 mg/ml, 36-185 mg/ml และ 10 mg/ml ตามลำดับ นำมาละลายใน DDD water จากนั้นใส่ 0.01% alpha-amylase enzyme (0.01 g of alpha-amylase in 100 ml of 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.9) containing 6.7 mM sodium choride) ปริมาณ 100 µl ในแต่ละหลอด (ยกเว้น blank ใส่ 20 mM sodium phosphate buffer) และตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่ vary ความเข้มข้น ปริมาณ 100 µl เขย่าให้เข้ากัน นำไป incubation ที่ 25 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม 1% starch solution ปริมาณ 100 µl ในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน นำไป incubation ที่ 25 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเติม color reagent solution (ประกอบด้วย 96 mM 3,5-dinitrosalicylic acid (20 ml), 5.31 M sodium potassium tartrate in 2 M sodium hydroxide (8 ml) and DDD water (12 ml)) ปริมาณ 100 µl ในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากันและปิดด้วย parafilm นำไป incubation ที่ 85 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำออกมาจาก water bath แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งทันที เพื่อหยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ และเติม DDD water ปริมาณ 900 µl ในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 540 nm ด้วยเครื่อง Benchmark Plus Microplate Spectrophotometer (BIO-RAD Laboratories Ltd., Japan) ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ

เอนไซม์อะไมเลสของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูจะศึกษาเปรียบเทียบกับ positive control คือ acarbose ซึ่งเป็น potent inhibitor สำหรับ α-amylase และ α-glucose oxidase (Kim, *et al*., 2005; Kim, *et al*., 2011) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส คำนวณตามสูตรนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส (\%)} = \left[\frac{(\Delta A_{Control} - \Delta A_{Sample})}{\Delta A_{Control}} \right] X\ 100$$

$$\Delta A_{control} = A_{Test1} - A_{Blank1}$$
$$\Delta A_{sample} = A_{Test2} - A_{Blank2}$$

เมื่อ A_{Test1} และ A_{Test2} คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของ DDD water และตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่มี alpha-amylase enzyme

A_{Blank1} และ A_{Blank2} คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของ DDD water และตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่ไม่มี alpha-amylase enzyme

3.2.3 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดส (*In vitro* assay for measuring the inhibition of glucosidase enzyme)

ศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดส โดยการวัดอัตราของการปลดปล่อย *p*-nitrophenol จาก 4-Nitrophenyl-alpha-D-glucopyranoside (PNPG) ด้วยวิธี Colorimetric method (Si *et al*., 2010) การทดลองจะเริ่มจากนำสารสกัดจากใบขี้เหล็ก ใบชะพลู และ acarbose (Glucobay® 50, PT Bayer Indonesia, Jakarta, Indonesia) ที่ vary ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.06-5 mg/ml, 5.50-100 mg/ml และ 10 mg/ml ตามลำดับ นำมาละลายใน DDD water จากนั้นใส่ 3 mM glutathione (GSH) ปริมาณ 25 µl, 0.067 M potassium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาณ 250 µl, 0.3 Unit/ml ของ alpha-glucosidase enzyme ปริมาณ 25 µl (ยกเว้น blank ใส่ DDD water) และตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่ vary ความเข้มข้นแล้ว ปริมาณ 100 µl ใส่ทุกหลอด เขย่าให้เข้ากัน นำไป incubation ที่ 37 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำออกมาจาก water bath แล้วใส่ 10 mM PNPG ปริมาณ 25 µl ในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน นำไป incubation ที่ 37 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำออกมาจาก water bath แล้วใส่ 0.1 M sodium carbonate ปริมาณ 400 µl ในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน เพื่อหยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 400 nm ด้วยเครื่อง Benchmark Plus

Microplate Spectrophotometer (BIO-RAD Laboratories Ltd., Japan) ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูจะศึกษาเปรียบเทียบกับ positive control คือ acarbose ซึ่งเป็น potent inhibitor สำหรับ α-amylase และ α-glucose oxidase (Kim, *et al*., 2005; Kim, *et al*., 2011) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ alpha-glucosidase คำนวณตามสูตรนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์กลูโคซิเดส (\%)} = \left[\frac{(\Delta A_{Control} - \Delta A_{Sample})}{\Delta A_{Control}} \right] X\ 100$$

$$\Delta A_{control} = A_{Test1} - A_{Blank1}$$
$$\Delta A_{sample} = A_{Test2} - A_{Blank2}$$

เมื่อ A_{Test1} และ A_{Test2} คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของ DDD water และตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่มี alpha-glucosidase enzyme

A_{Blank1} และ A_{Blank2} คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของ DDD water และตัวอย่างสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูที่ไม่มี alpha-glucosidase enzyme

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จะแสดงเป็นค่า mean ± S.E.M.

3.4 สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

ห้องปฏิบัติการชั้น 4 อาคารเฉลิมพระเกียรติ 72 พรรษาบรมราชินีนาถ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีและอาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองในครั้งนี้ ได้แบ่งการทดลองออกเป็นดังนี้ การวิเคราะห์หา total phenolic content ของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู และทำการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดสของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในหลอดทดลอง ซึ่งจากผลการวิเคราะห์หา total phenolic content ของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ(Antioxidant) พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กมี total phenolic content เท่ากับ 174.04 ± 0.002 mg gallic acid/g dry weight และใบชะพลูมี total phenolic content เท่ากับ 171.75 ± 0.005 mg gallic acid/g dry weight ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่า Total Phenolic Content ของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู

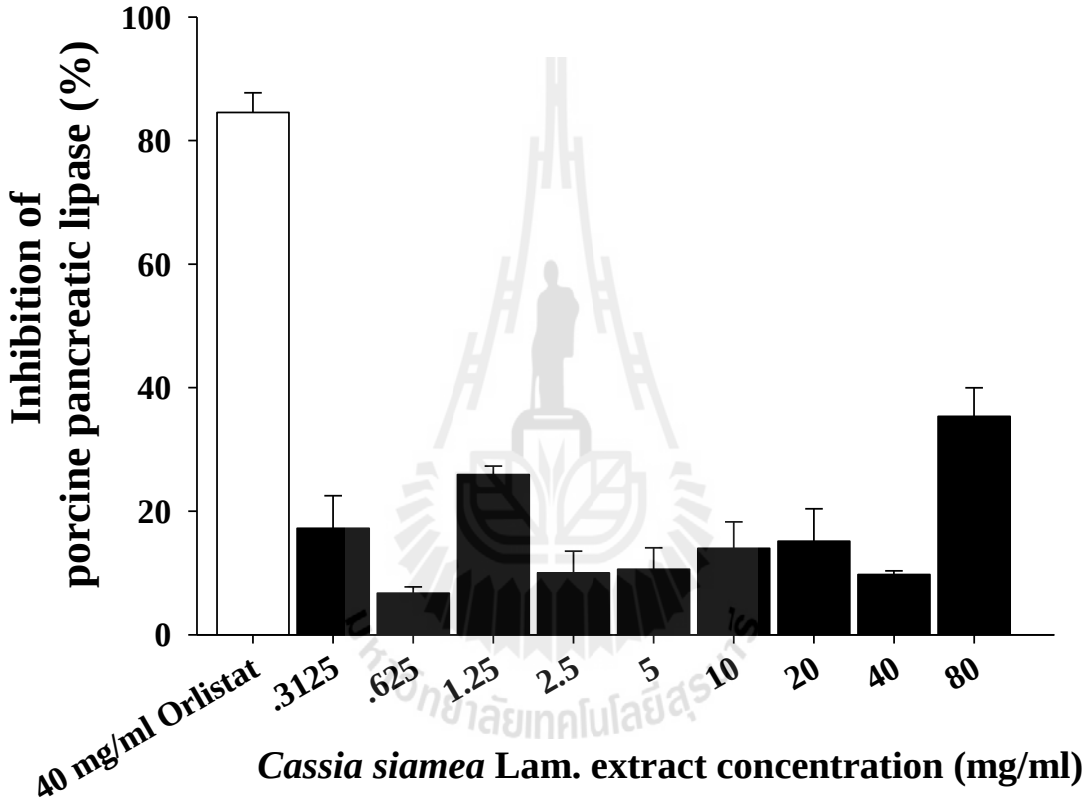
สารสกัดจากพืช	Total phenolic content (mg gallic acid/g dry weight)
ใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.)	174.04 ± 0.002
ใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.)	171.75 ± 0.005

4.1 ผลการทดลองการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดสของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในหลอดทดลอง

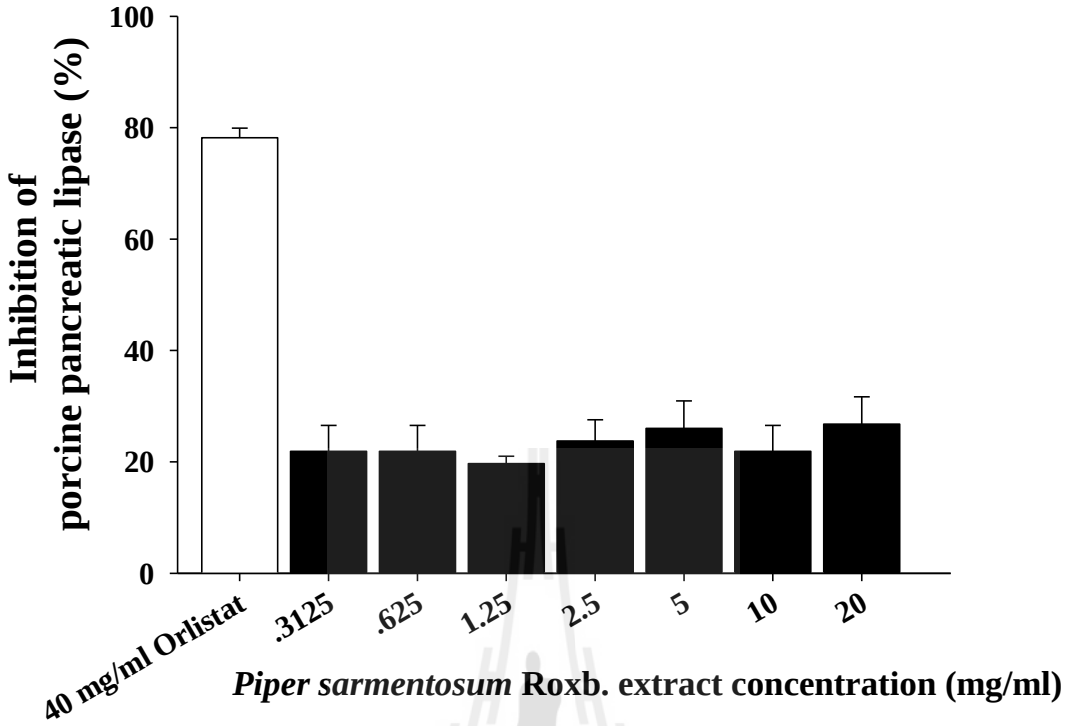
4.1.1 ผลการทดลองการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (*In Vitro* Assay for Measuring the Inhibition of Porcine Pancreatic Lipase Enzyme)

จากการศึกษาผลของสารกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส โดยการวัดอัตราของการปลดปล่อย oleic acid จาก triolein ซึ่งใช้ triolein เป็นสารตั้งต้น (Substrate) พบว่า orlistat 40 mg/ml (Positive Control) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้เท่ากับ 84.55% และ 78.20% ดังแสดงในภาพที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 และ 80 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้เท่ากับ 17.23%, 6.74%, 25.93%, 10%, 10.61%,

13.98%, 15.15%, 9.76% และ 35.35% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1) ส่วนสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้เท่ากับ 21.88%, 21.88%, 19.70%, 23.74%, 26.01%, 21.88% และ 26.77% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2) ซึ่งสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 80 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดคือ 35.35% และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 20 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดคือ 26.77%



ภาพที่ 4.1 แสดงผลของสารสกัดจากใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในหลอดทดลอง

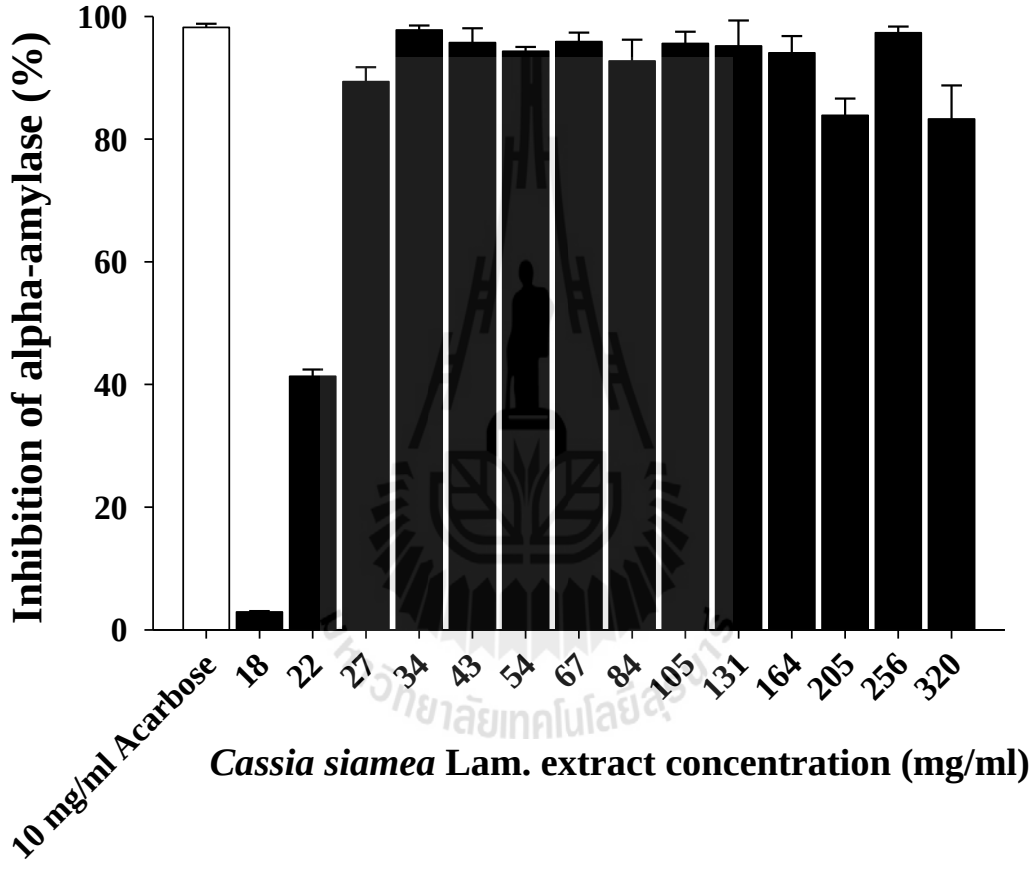


ภาพที่ 4.2 แสดงผลของสารสกัดจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในหลอดทดลอง

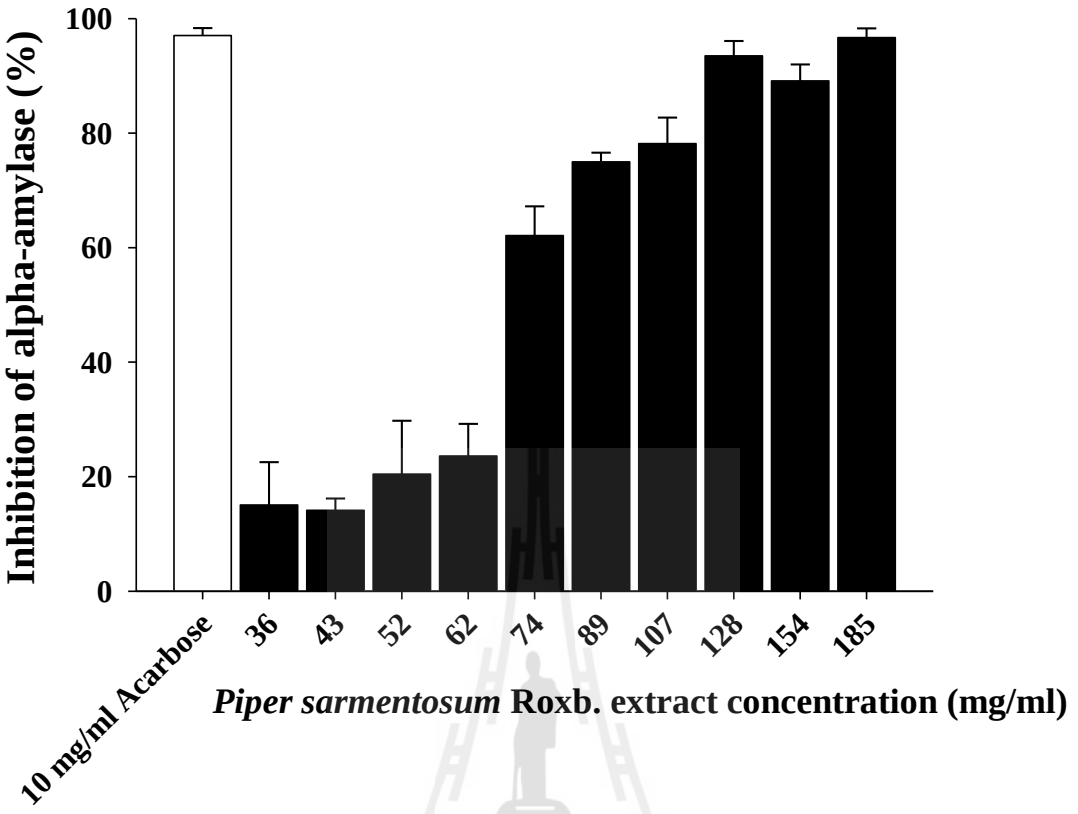
4.1.2 ผลการทดลองการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส (*In Vitro* Assay for Measuring the Inhibition of Amylase Enzyme)

จากการศึกษาผลของสารกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โดยใช้แป้ง(Starch) เป็นสารตั้งต้น (Substrate) พบว่า สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 18, 22, 27 และ 34 mg/ml และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 36, 43, 52, 62, 74, 89, 107, 128, 154 และ 185 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสเป็นแบบ dose dependent ขณะที่สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 43, 54, 67, 84, 105, 131, 164, 205, 256 และ 320 mg/ml ค่อยๆ ลดความสามารถการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสลงไปเรื่อยๆ นอกจากนี้ acarbose 10 mg/ml (positive control) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้เท่ากับ 98.22% และ 97.05% ดังแสดงในภาพที่ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 18, 22, 27, 34, 43, 54, 67, 84, 105, 131, 164, 205, 256 และ 320 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้เท่ากับ 2.92%, 41.34%, 89.38%, 97.79%, 95.73%, 94.30%, 95.89%, 92.74%, 95.58%, 95.18%, 94.07%, 83.86%, 97.34% และ 83.28%

ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3) และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 36, 43, 52, 62, 74, 89, 107, 128, 154 และ 185 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้เท่ากับ 15.05%, 14.14%, 20.45%, 23.61%, 62.12%, 74.99%, 78.16%, 93.49%, 89.11 และ 96.68% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4) ซึ่งสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 34 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดคือ 97.79% และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 185 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดคือ 96.68%



ภาพที่ 4.3 แสดงผลของสารสกัดจากใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสในหลอดทดลอง

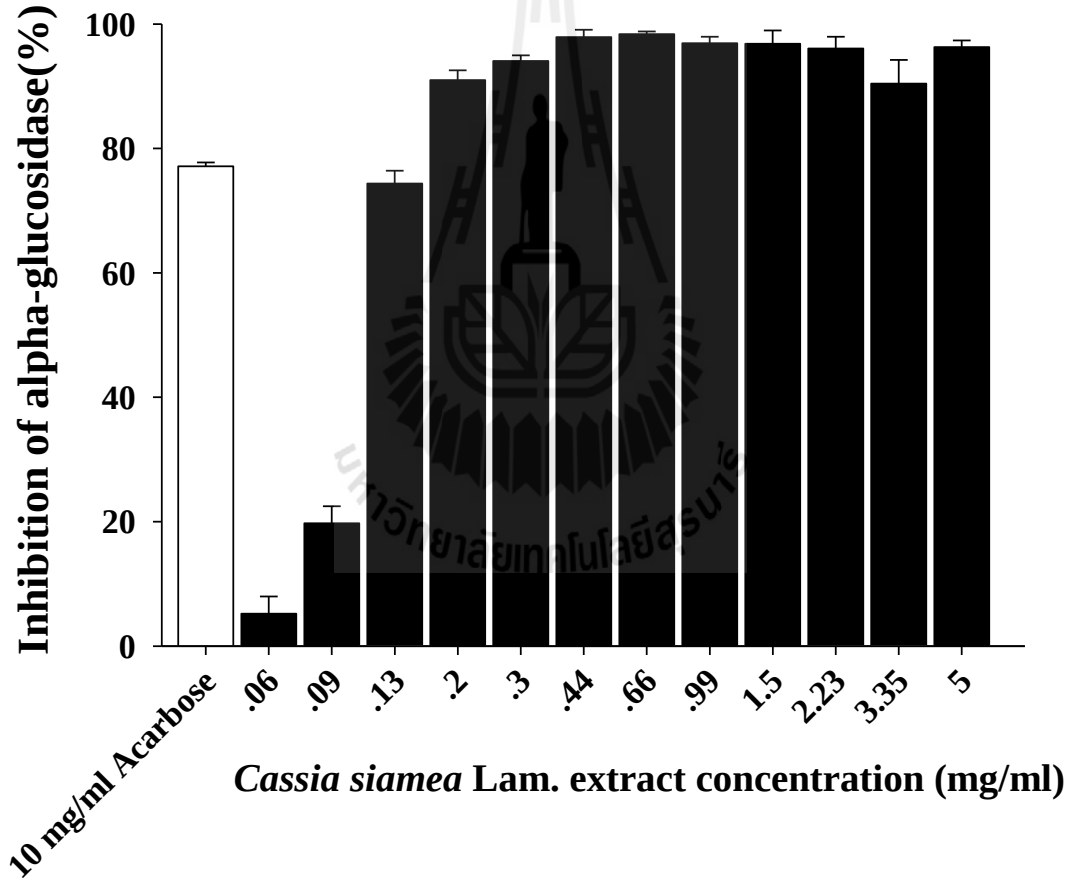


ภาพที่ 4.4 แสดงผลของสารสกัดจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสในหลอดทดลอง

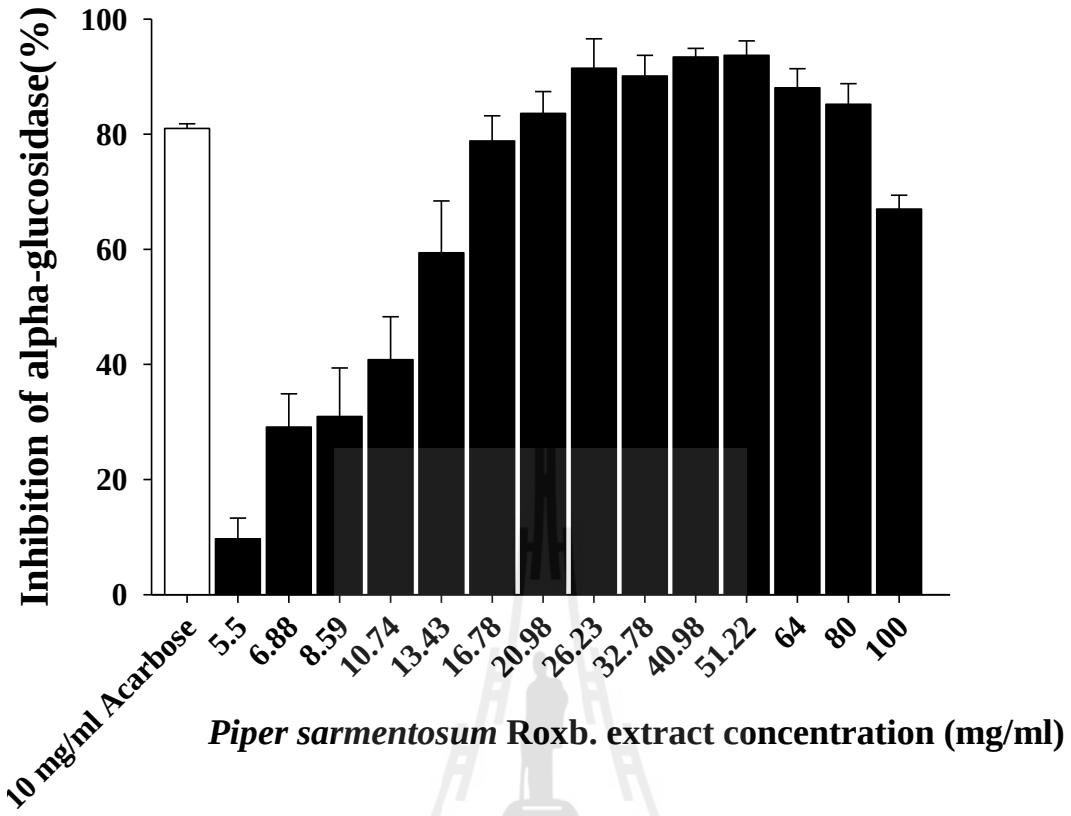
4.1.3 ผลการทดลองการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดส (*In Vitro* Assay for Measuring the Inhibition of Glucosidase Enzyme)

จากการศึกษาผลของสารกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดส โดยการวัดอัตราของการปลดปล่อย *p*-nitrophenol จาก PNPG ซึ่งใช้ PNPG เป็นสารตั้งต้น (Substrate) พบว่า สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 0.06, 0.09, 0.13, 0.20, 0.29, 0.44 และ 0.66 mg/ml และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 5.50, 6.88, 8.59,10.74, 13.43, 16.78, 20.98, 26.23, 32.78, 40.98 และ 51.22 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสเป็นแบบ dose dependent ขณะที่สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 0.99, 1.49, 2.23, 3.34 และ 5 mg/ml และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 64, 80 และ 100 mg/ml ค่อยๆ ลดความสามารถการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสลงไปเรื่อยๆ นอกจากนี้ acarbose 10 mg/ml (positive control) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 77.11% และ 80.98% ดังแสดงในภาพที่ 4.5 และ 4.6 ตามลำดับ สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 0.06,

0.09, 0.13, 0.20, 0.29, 0.44, 0.66, 0.99, 1.49, 2.23, 3.34 และ 5 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 5.20%, 19.74%, 74.35%, 90.99%, 94.05%, 97.89%, 98.37%, 96.90%, 96.83%, 96.06%, 90.43% และ 96.30% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5) และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 5.50, 6.88, 8.59, 10.74, 13.43, 16.78, 20.98, 26.23, 32.78, 40.98, 51.22, 64, 80 และ 100 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 9.69%, 29.11%, 30.95%, 40.82%, 59.39%, 78.82%, 83.61%, 91.45%, 90.11%, 93.40%, 93.69%, 88.05%, 85.20% และ 66.99% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6) ซึ่งสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 0.66 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 98.37% และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 51.22 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 93.69%



ภาพที่ 4.5 แสดงผลของสารสกัดจากใบขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสในหลอดทดลอง



ภาพที่ 4.6 แสดงผลของสารสกัดจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสในหลอดทดลอง

4.2 วิจารณ์ผลการทดลอง

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้น เพื่อประโยชน์ในกระบวนการเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด เป็นสารกลุ่มที่สำคัญซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ในผัก ผลไม้ และสมุนไพร จากผลการตรวจสอบวิเคราะห์หา total phenolic content ของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กมี total phenolic content เท่ากับ 174.04 ± 0.002 mg gallic acid/g dry weight และใบชะพลูมี total phenolic content เท่ากับ 171.75 ± 0.005 mg gallic acid/g dry weight ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hafizah *et al.* (2010), Wan-Ibrahim *et al*. (2010) และ Kaur *et al*. (2006) ดังนั้น total phenolic content ที่พบในสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู จึงช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ (Auger *et al*., 2004; Bagchi *et al*., 2006)

โรคอ้วน คือสภาวะที่มีปริมาณไขมันอยู่ในร่างกายมากกว่าเกณฑ์ปกติ (Knecht, Ellger และ Levine, 2008) และเป็นปัญหาที่สำคัญด้านสาธารณสุขของโลก รวมทั้งในประเทศไทย หนึ่งในวิธีที่

ใช้ในการรักษาโรคอ้วน คือการยับยั้งการย่อยและดูดซึมไขมันในระบบย่อยอาหารผ่านเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการย่อยไขมัน เช่น เอนไซม์ไลเปส ซึ่งเอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยอาหารโดยเฉพาะอาหารที่เป็นไขมัน (Mukherjee, 2003; Shi and Burn, 2004; Thomson *et al*., 1997) ยา orlistat มีคุณสมบัติในการยับยั้ง gastric, pancreatic และ carboxylester lipase (Sharma *et al*., 2005) ซึ่งในการศึกษาในครั้งนี้ใช้ยา orlistat เป็น positive control ยา orlistat สามารถยับยั้งการดูดซึมไขมันและเพิ่มการขับถ่ายของไขมัน ทำให้น้ำหนักลดลง (Shi *et al*., 2005) จากการศึกษาของ Zhang *et al*. (2008) พบว่ายา orlistat 250 μg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้เท่ากับ 95.70% โดยใช้วิธี colorimetric method และ ยา orlistat 45 mg/ml สามารถลดระดับ triglyceride ในพลาสมาได้ หลังจากป้อนยา orlistat ที่ 2 ชั่วโมง ในหนูแรทที่ชักนำให้เกิดภาวะไขมันสูงด้วย lipid emulsion (Han *et al*., 2005) แต่ข้อเสียของการใช้ยา orlistat มีผลข้างเคียงต่อร่างกาย คือ อาเจียน ท้องอืด ท้องเสีย อุจจาระเป็นเมือกหรือมัน และกั้นอุจจาระไม่อยู่ (Ioannides-Demos *et al*., 2006; Rucker *et al*., 2007; Padwal, Li and Lau, 2004; Padwal and Majumdar, 2007) ปัจจุบันมีการศึกษาพืช สมุนไพรหลายชนิดที่มีสารประกอบฟีนอลิกและสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้ เช่น *Glycyrrhiza glabra* roots (Birari *et al*., 2011), green tea leaves (Juhel *et al*., 2000), *Dioscorea nipponica* Makino (Kwon *et al*., 2003), *Panax quinquefolium* leaves (Liu *et al*., 2008), *Salacia reticulata* (Yamamoto *et al*., 2002), berries (McDougall, Kulkarni, และ Stewart, 2009), *Theobroma cacao* (Gu *et al*., 2011), grape seed (Moreno, *et al*., 2003) และ apple (Sugiyama *et al*., 2007) เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้เช่นเดียวกัน ยา orlistat ความเข้มข้น 40 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เท่ากับ 84.55% และ 78.20% (ภาพที่ 4.1และ 4.2) ซึ่งมีค่ามากกว่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสโดยสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 80 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดคือ 35.35% และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 20 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดคือ 26.77% ดังนั้นสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูมีศักยภาพในการควบคุมน้ำหนักได้ โดยการยับยั้งการย่อยและการดูดซึมของไขมันในอาหารได้เช่นเดียวกับ orlistat แต่มีประสิทธิภาพในการการยับยั้งการย่อยและการดูดซึมของไขมันในอาหารที่น้อยกว่า orlistat

โรคเบาหวาน เป็นความผิดปกติของร่างกายที่มีการผลิตฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอ ส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูงเกินปกติ และโรคเบาหวานเป็นปัญหาที่สำคัญด้านสาธารณสุขของโลก รวมทั้งในประเทศไทย หนึ่งในวิธีที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานคือ การยับยั้งการย่อยและดูดซึมคาร์โบไฮเดรตในระบบย่อยอาหารผ่านเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการย่อยคาร์โบไฮเดรต เช่น

เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส ซึ่งเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยอาหารที่เป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่ง ยา acarbose มีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดส (Fujisawa *et al*., 2005; Hiroyuki, Tomohide and Kazunori, 2001; Shobana *et al*., 2009). ซึ่งในการศึกษาในครั้งนี้ใช้ยา acarbose เป็น positive control ซึ่งจากการศึกษาของ Tucci, Boyland and Halford (2010) อ้างถึง Samulitis *et al*. (1987) พบว่า ยา acarbose 4 μM สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์ sucraseได้เท่ากับ 98% และ 63% ตามลำดับ Subramanian *et al*. (2008) ได้ทำการศึกษา ยา acarbose 10 μg/ml ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดสในหลอดทดลอง พบว่ายา acarbose 10 μg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 50.10% และ 70% ตามลำดับ นอกจากนี้ ผู้หญิงที่มีอาการรังไข่ทำงานผิดปกติ (Polycystic Ovary Syndrome) ที่ได้รับยา acarbose 150 mg/day สามารถลดน้ำหนักและลดค่า BMI ได้ (Penna *et al*., 2005; Sönmez *et al*., 2005; Tuğrul *et al*., 2008) แต่ข้อเสียของการใช้ยา acarbose มีผลข้างเคียงต่อร่างกาย คือ ปวดท้อง ท้องเสีย กั้นอุจจาระไม่อยู่ มีปัญหาเกี่ยวกับตับ และเนื้องอกที่ไต (Fujisawa *et al*., 2005; Hiroyuki, Tomohide and Kazunori, 2001; Shobana *et al*., 2009) ในปัจจุบันมีการศึกษาพืช สมุนไพรหลายชนิดที่มีสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน และสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดส เช่น such as soybeans (Ademiluyi and Oboh, 2011), *Bergenia ciliata* rhizomes (Bhandari *et al*., 2008), *Terminalia chenula* Retz. Fruits (Gao *et al*., 2007), *Theobroma cacao* (Gu *et al*., 2011), *Lagerstroemia speciosa* leaves (Hou *et al*., 2009), sorghum, foxtail millet, and proso millet (Kim, Hyun and Kim, 2011), pine (Kim *et al*., 2005) เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้ ยา acarbose ความเข้มข้น 10 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้มากกว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู (98.22% และ 97.05%) และสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 34 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดคือ 97.79% และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 185 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดคือ 96.68% ขณะที่การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดส พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 0.66 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 98.37% และสารสกัดจากใบชะพลูที่ความเข้มข้น 51.22 mg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดส ได้สูงสุดคือ 93.69% ดังนั้นสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูมีศักยภาพในการควบคุมน้ำหนักได้ โดยการยับยั้งการย่อยและการดูดซึมของคาร์โบไฮเดรตในอาหารได้เช่นเดียวกับ acarbose สารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูมีประสิทธิภาพในการการยับยั้งการย่อยและการดูดซึมของคาร์โบไฮเดรตในอาหารที่สูงกว่า acarbose

บทที่ 5
บทสรุป

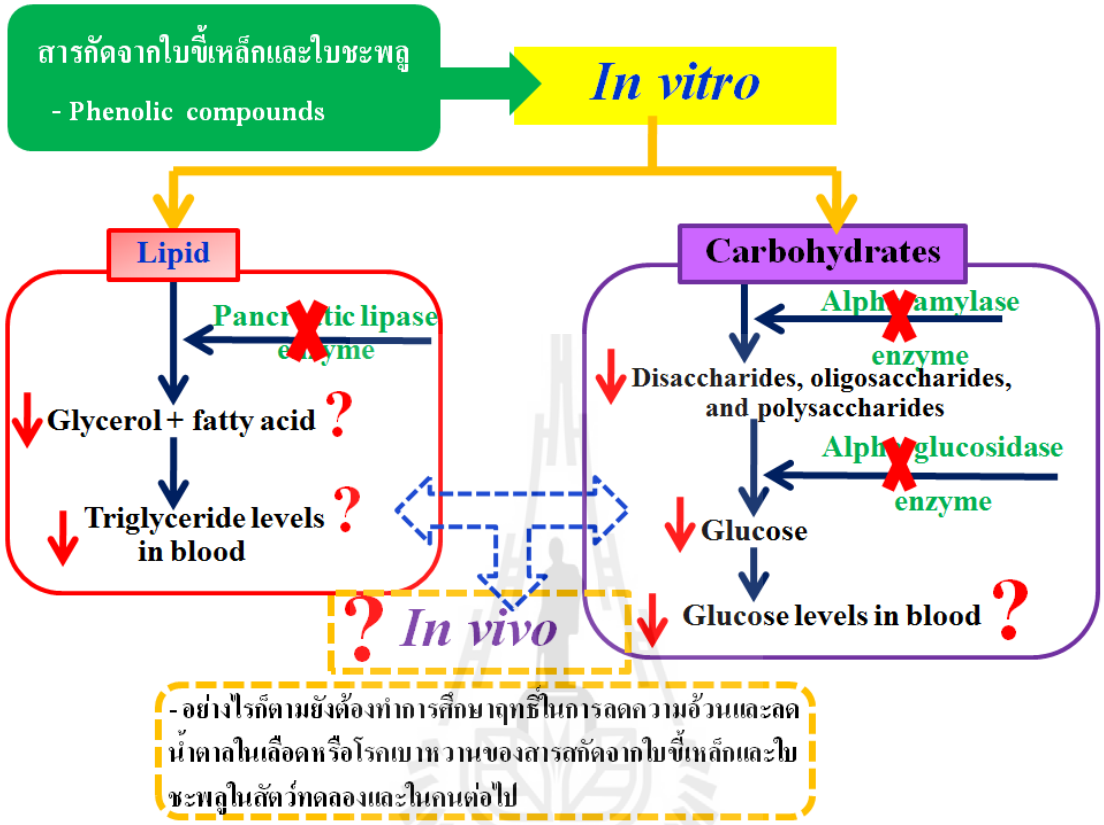
5.1 ข้อสรุปและเสนอแนะ

งานวิจัยในครั้งนี้ มุ่งศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชธรรมชาติที่ปลอดภัยและให้ผลในการรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยผู้วิจัยได้คัดเลือกพืช 2 ชนิดเพื่อทำการศึกษาคือ ใบขี้เหล็กและใบชะพลูซึ่งเป็นพืชสวนครัวที่รับประทานกันในทุกครัวเรือนและหาได้ง่าย อีกทั้งพืชทั้ง 2 ชนิดนี้ถูกพบในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารอินทรีย์ที่พบมากในพืช ผักและผลไม้ ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ในใบขี้เหล็กและใบชะพลูพบปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูง จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กมี total phenolic content เท่ากับ 174.04 ± 0.002 mg gallic acid/g dry weight และใบชะพลูมี total phenolic content เท่ากับ 171.75 ± 0.005 mg gallic acid/g dry weight นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์กลูโคซิเดสในหลอดทดลองได้ ดังนั้นสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลู สามารถลดการย่อยและลดการดูดซึมของอาหารที่เป็นไขมันและคาร์โบไฮเดรตได้ ซึ่งจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูจะเป็นประโยชน์ในการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ กลไกการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในหลอดทดลองแสดงในภาพที่ 5.1

สารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูมีศักยภาพในการถูกนำมาใช้ทดแทนยาที่ใช้ในการรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือดในปัจจุบันได้ ซึ่งยาเหล่านี้มีผลข้างเคียงที่ไม่ต้องการมากมาย ในการนำเอาสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูซึ่งมีสารต่อต้านอนุมูลอิสระอยู่มากมาใช้ให้เกิดประโยชน์ นอกจากจะช่วยให้การป้องกัน ยับยั้งและรักษาการเกิดโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือดแล้วยังเป็นการรักษาที่ไม่แพง นอกจากนี้ยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ใบขี้เหล็กและใบชะพลูได้ด้วย อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ทำการศึกษาในครั้งนี้เป็นงานวิจัยที่ทำให้เกิดองค์ความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวกับคุณสมบัติของใบขี้เหล็กและใบชะพลู ดังนั้นควรทำการวิจัยต่อไปในระดับสัตว์ทดลอง (*in vivo*) เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูต่อการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือด

ตลอดจนทำการศึกษาความเป็นพิษต่ออวัยวะต่างๆ เพื่อนำความรู้มาพัฒนาและผลิตสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูให้เป็นผลิตภัฑ์เสริมอาหารหรือเป็นยาได้ในอนาคต



ภาพที่ 5.1 กลไกการป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน และการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและใบชะพลูในหลอดทดลอง (*in vitro*)

บรรณานุกรม

กิจจา สุวรรณ. 2534. ฤทธิ์การลดความดันเลือดของบาราคอลที่สกัดจากใบขี้เหล็กในหนูแรทและแมว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สหสาขาวิชาสรีรวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามบรมราชกุมารี. กลุ่มยารักษาเบาหวาน (ออนไลน์). ที่มา: http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_27.htm

นันทวัน บุณยะประภัศร. (2539). สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. บริษัท ประชาชน จำกัด: กรุงเทพมหานคร.

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. (2537). สมุนไพรก้าวใหม่. ที.พี.พริ้นท์: กรุงเทพมหานคร.

วิชัย ตันไพจิตร และปรียา ลีพหกุล. (2541). โรคอ้วนกับภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง. ใน ณัฐ ภมรประวัติ, ไกรสิทธิ์ ตันติศรินทร์ และเยาวรัตน์ ปรปักษ์ขาม, แผนกลยุทธการวิจัยสุขภาพ. สภาวิจัยแห่งชาติ คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ: กรุงเทพมหานคร.

วิทยา ศรีดามา. (2545). ยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือด. ใน วิทยา ศรีดามา, การดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวาน. หน้า 67-73. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพมหานคร.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. โอเดียนสโตร์: กรุงเทพมหานคร.

ศรีจิตรา บุนนาค. (2526). โรคเบาหวานและการรักษา. ห้างหุ้นส่วนจำกัดพิทักษ์การพิมพ์: กรุงเทพมหานคร.

สมภพ ประธานธุรารักษ์ และพร้อมจิต ศรลัมพ์. (2547). สมุนไพร:การพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. พิมพ์ครั้งที่ 2. เฟื่องฟ้า: กรุงเทพมหานคร.

อรรณพ วราอัศวปติ, สมพงษ์ ธรรมถาวร และพอล เจ โกรดิ. (2545). พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. (อัดสำเนา).

อรุณรัตน์ ฉวีราช. (2548). พืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย. ขอนแก่นการพิมพ์: ขอนแก่น.

โอภาส เชฎฐากุล. (2540). สมุนไพรต้านเบาหวาน. สุขภาพไทย: กรุงเทพมหานคร.

Aberoumand, A., and Deokule, S. S. (2008). Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. Journal of Nutrition. 7(4). 582-585.

Adan, R. A. H., Vanderschuren, L. J. M. J., and La Fleur, S. E. (2008). Anti-obesity drugs and neural circuits of feeding. Trends in Pharmacological Sciences. 29(4). 208-221.

Ademiluyi, A. O., and Oboh, G. (2011). Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes (α-amylase and α-glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) *in vitro*. Experimental and Toxicologic Pathology. *in press*.

Amran, A. A., Zakaria, Z., Othman, F., Das, S., Raj, S., and Nordin, N-A. M. M. (2010). Aqueous extract of *Piper sarmentosum* decreases atherosclerotic lesions in high cholesterolemic experimental rabbits. Lipids in Health and Disease. 9. 44.

Astrup, A., Breum, L., Toubro, S., Hein, P., and Quaade, F. (1992). The effect and safety of an ephedrine/caffeine compound compared to ephedrine, caffeine and placebo in obese subjects on an energy restricted diet. A double blind trial. International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders. 16(4). 269-277.

Auger, C., Gerain, P., Laurent-Bichon, F., Portet, K., Bornet, A., and Caporiccio, B., Cros, G., Teissédre, P-L., and Rouanet, J-M. (2004). Phenolics from commercialised grape extracts prevent early atherosclerotic lesions in hamsters by mechanisms other than antioxidant effect. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52(16). 5297-5302.

Bagchi, D., and Preuss, H. G. (2007). Obesity: epidemiology, pathophysiology and prevention. New York. CRC Press Taylor & Francis Group.

Bagchi, D., Roy, S., Patel, V., He, G., Khanna, S., Ojha, N., Phillips, C., Ghosh, S., Bagchi, M., and Sen, C. K. (2006). Safety and whole-body antioxidant potential of a novel anthocyaninrich formulation of edible berries. Molecular and Cellular Biochemistry. 281(1-2). 197-209.

Balasundram, N., Sundram, K., and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 99. 191-203.

Bhandari, M. R., Jong-Anurakkun, N., Hong, G., and Kawabata, J. (2008). Alpha-glucosidase and α-amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). Food Chemistry. 106(1). 247-252.

Birari, R. B., Gupta, S., Mohan, C. G., and Bhutani, K. K. (2011). Antiobesity and lipid lowering effects of *Glycyrrhiza chalcones*: Experimental and computational studies. Phytomedicine. 18(8-9). 795-801.

Bouchard, C. (1991). Current understanding of etiology of obesity: Genetic and nongenetic factor. The American Journal of Clinical Nutrition. 53. 1561-1565.

Bray, G. A. (1993). Use and abuse of appetite-suppressant drugs in the treatment of obesity. Annal Internal of Medicine. 119. 707-713.

Bray, G. A. (2000). A concise review on the therapeutics of obesity. Nutrition. 16. 953-960.

Bray, G. A. (2001). Drug treatment of obesity. Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders. 2. 403-418.

Bray, G. A., and Tartaglia, L. A. (2000). Medicinal strategies in the treatment of obesity. Nature. 404: 672-677.

Bruning, J. C., Gautam, D., Burks, D. J., Schubert, M., Orban, P. C., Klein, R., Krone, W., Muller-Wieland, D., and Kahn, C. R. (2000). Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. Science. 289. 2122-2125.

Campfield, L. A., Smith, F. J., Guisez, Y., Devos, R., and Burn, P. (1995). Recombinant mouse OB protein: Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. Science. 269(5223). 546-549.

Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., and Rakariyatham, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. Food Chemistry. 92. 491-497.

Davidson, M. H., Hauptman, J., DiGirolamo, M., Foreyt, J. P., Halsted, C. H., Heber, D., Heimburger, D. C., Lucas, C. P., Robbins, D. C., Chung, J., and Heymsfield, S. B. (1999). Weight control and risk factor reduction in obese subjects treated for 2 years with orlistat: a randomized controlled trial. The Journal of the American Medical Association. 281(3). 235-242.

Devlin, M. J., Yanovski, S. Z., and Wilson, G. T. (2000). Obesity: What mental health professionals need to know. The American Journal of Psychiatry. 157. 854-866.

Drent, M. L., Larsson, I., William-Olsson, T., Quaade, F., Czubayko, F., Von Bergmann, K., Strobel, W., Sjostrom, L., and Van der Veen, E.A. (1995). Orlistat (RO 18-0647), a lipase inhibitor, in the treatment of human obesity: A multiple dose study. International Journal of Obesity. 19: 221-226.

Ferey-Roux, G., Perrier, J., Forest, E., Marchis-Mouren, G., Puigserver, A., and Santimone, M. (1998). The human pancreatic α-amylase isoforms: Isolation, structural studies and kinetics of inhibition by acarbose. Biochimica et Biophysica Acta. 1388. 10-20.

Finer, N., Bloom, S. R., Frost, G. S., Banks, L. M., and Griffiths, J. (2000). Sibutramine is effective for weight loss and diabetic control in obesity with type 2 diabetes: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. Diabetes, Obesity and Metabolism. 2(2).105-112.

Foster, L.A., Ames, N. K., and Emery, R. S. (1991). Food intake and serum insulin responses to intraventricular infusions of insulin and IGF-I. Physiology and Behavior. 50(4). 745-749.

Fujisawa, T., Ikegami, H., Inoue, K., Kawabata, Y., and Ogihara, T. (2005). Effect of two α-glucosidase inhibitors, voglibose and acarbose, on postprandial hyperglycemia correlates with subjective abdominal symptoms. Metabolism. 54(3). 387-390.

Gadde, K. M., Parker, C. B., Maner, L. G., Wagner, H. R., Logue, E. J., Drezner, M. K., and Krishnan, K. R. R. (2001). Bupropion for weight loss: An investigation of efficacy and tolerability in overweight and obese women. Obesity Research. 9(9). 544-551.

Gao, H., Huang, Y-N., Xu, P-Y., and Kawabata, J. (2007). Inhibitory effect on α-glucosidase by the fruits of *Terminalia chebula* Retz. Food Chemistry. 105(2). 628-634.

Gu, Y., Hurst, W. J., Stuart, D. A., and Lambert, J. D. (2011). Inhibition of key digestive enzymes by cocoa extracts and procyanidins. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59(10). 5305-5311

Hadvay, P., Lengsfeld, H., and Wolfer, H. (1988). Inhibition of pancreatic lipase *in vitro* by covalent inhibitor tetrahydrolipstatin. Biochemical Journal. 256. 357-361.

Hafizah, A. H., Zaiton, Z., Zulkhairi, A., Ilham, A. M., Anita, M. M. N. N., and Zaleha, A. M. (2010). *Piper sarmentosum* as an antioxidant on oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells induced by hydrogen peroxide. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology). 1(5). 357-365.

Halaas, J. L., Gajiwala, K. S., Maffei, M., Cohen, S. L., Chait, B. T., Rabinowitz, D., Lallone, R. L, Burley, S. K., and Friedman, J. M. (1995). Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. Science. 269(5223). 543-546.

Han, L. K., Zheng, Y. N., Yoshikawa, M., Okuda, H., and Kimura, Y. (2005). Anti-obesity effects of chikusetsusaponins isolated from *Panax japonicus* rhizomes. BMC Complementary and Alternative Medicine. 5(1). 9.

Hatano, T., Yamashita, A., Hashimoto, T., Ito, H., Kubo, N., Yoshiyama, M., Shimura, S., Itoh, Y., Okuda, T., and Yoshida, T. (1997). Flavan dimers with lipase inhibitory activity from *Cassia nomame*. Phytochemistry. 46(5). 893-900.

Hauptman, J. B., Jeunt, F. S., and Hartmann, D. (1992). Initial studies in humans with the novel gastrointestinal lipase inhibitor Ro 18-0647 (tetrahydrolipstatin). American Journal of Clinical Nutrition. 55. 309-313.

Heymfield, S. B., Allison, D. B., Vasselli, J. R., Pietrobelli, A., Greenfield, D., and Nunez, C. (1998). *Garcinia cambogia* (Hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent: A randomized controlled trial. The Journal of American Medical Association. 280. 1596-1600.

Heymsfield, S. B., Greenberg, A. S., Fujioka, K., Dixon, R. M., Kushner, R., Hunt, T., Lubina, J. A., Patane, J., Self, B., Hunt, P., and McCamish, M. (1999). Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: A randomized, controlled, dose-escalation trial. The Journal of the American Medical Assocation. 282(16). 1568-75.

Hiroyuki, F., Tomohide, Y., and Kazunori, O. (2001). Efficacy and safety of Touchi extract, an α-glucosidase inhibitor derived from fermented soybeans, in noninsulin-dependent diabetic mellitus. Journal of Nutritional Biochemistry. 12. 351-356.

Hou, W., Li, Y., Zhang, Q., Wei, X., Peng, A., Chen, L., and Wei, Y. (2009). Triterpene acids isolated from *Lagerstroemia speciosa* leaves as α-glucosidase inhibitors. Phytotherapy Research. 23(5). 614-618.

Huerta, V., Mihalik, K., Maitin, V., Crixell, S. H., and Vattem, D. A. (2007). Effect of central/south American medicinal plants on energy harvesting ability of the mammalian GI tract. Journal of Medicinal Plants Research. 1(2). 38-49.

Hwa, J. J., Ghibaudi, L., Compton, D., Fawzi, A. B., and Strader, C. D. (1996). Intracerebroventricular injection of leptin increases thermogenesis and mobilizes fat metabolism in ob/ob mice. Hormone and Metabolic Research. 28(12). 659-663.

Ioannides-Demos, L. L., Proietto, J., Tonkin, A. M., and McNeil, J. J. (2006). Safety of drug therapies used for weight loss and treatment of obesity. Drug Safety. 29(4). 277-302.

James, W. P., Astrup, A., Finer, N., Hilsted, J., Kopelman, P., Rössner, S., Saris, W. H., and Van Gaal, L. F. (2000). Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: A randomised trial. Lancet. 356. 2119-2125.

Jang, D. S., Lee, G. Y., Kim, J., Lee, Y. M., Kim, J. M., Kim, Y. S., and Kim, J. S. (2008). A new pancreatic lipase inhibitor isolated from the roots of *Actinidia arguta*. Archives of Pharmacal Research. 31(5). 666-670.

Juhel, C., Armand, M., Pafumi, Y., Rosier, C., Vandermander, J., and Lairon, D. (2000). Green tea extract (AR25®) inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium *in vitro*. The Journal of Nutritional Biochemistry. 11(1). 45-51.

Kalla, N. R., Kaur, S., Ujwul, N., Mehta, U., H. Joos, H., and Frick, J. (1997). Alpha-glucosidase activity in the rat epididymis under different physiological conditions. International Journal of Andrology. 20. 92-95.

Kaplan, R. M., Sallis, Jr. J. F., and Patterson, T. L. (1993). Health and human behavior. Singapore. McGraw Hill.

Karthic, K., Kirthiram, K. S., Sadasivam, S., Thayumanavan, B., and Palvannan, T. (2008). Identification of α-amylase inhibitors from *Syzygium cumini* Linn seeds. Indian Journal of Experimental Biology. 46. 677-680.

Kaur, G., Alamb, M. S., Jabbar, Z., Javed, K., and Athar, M. (2006). Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers. Journal of Ethnopharmacology. 108. 340-348.

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47. 3954-3962.

Kim, J-S., Hyun, T. K., and Kim, M-J. (2011). The inhibitory effects of ethanol extracts from sorghum, foxtail millet and proso millet on α-glucosidase and α-amylase activities. Food Chemistry. 124(4). 1647-1651.

Kim, K., Nam, K., Kurihara, H., and Kim, S. (2008). Potent α-glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. Phytochemistry. 69(16). 2820-2825.

Kim, Y. M., Jeong, Y. K., Wang, M. H., Lee, W. Y., and Rhee, H. I. (2005). Inhibitory effect of pine extract on α-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. Nutrition. 21(6). 756-761.

Knecht, S., Ellger, T., and Levine, J. A. (2008). Obesity in neurobiology. Progress in Neurobiology. 84. 85-103.

Kolaczynski, J. W., Considine, R. V., Ohannesian, J., Marco, C., Opentanova, I., Nyce, M. R., Myint, M., and Caro, J. F. (1996). Responses of leptin to short-term fasting and refeeding in humans: a link with ketogenesis but not ketones themselves. Diabetes. 45(11). 1511-1515.

Kopelman, P. G. (2000). Obesity as a medical problem. Nature. 404. 635-643.

Koyama, J., Morita, I., Tagahara, K., Ogata, M., Mukainaka, T., Tokuda, H., and Nishino, H. (2001). Inhibitory effects of anthraquinones and bianthraquinones on Epstein-Barr virus activation. Cancer Letters. 170. 15-18.

Kwon, C. S., Sohn, H. Y., Kim, S. H., Kim, J. H., Son, K. H., Lee, J. S., Lim, J. K., and Kim, J. S. (2003). Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase inhibitory activity in rodents. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 67(7). 1451.

Leal-Cerro, A., Considine, R. V., Peino, R., Venegas, E., Astorga, R., Casanueva, F. F., and Dieguez, C. (1996). Serum immunoreactive-leptin levels are increased in patients with Cushing's syndrome. Hormone and Metabolic Research. 28(12). 711-713.

Lee, S-H., Park, M-H., Heo, S-J., Kang, S-M., Ko, S-C., Han, J-S., and Jeon, Y-J. (2010). Dieckol isolated from *Ecklonia cava* inhibits α-glucosidase and α-amylase *in vitro* and alleviates postprandial hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. Food and Chemical Toxicology. 48(10). 2633-2637.

Liu, W., Zheng, Y., Han, L., Wang, H., Saito, M., Ling, M., Kimura, Y., and Feng, Y. (2008). Saponins (Ginsenosides) from stems and leaves of *Panax quinquefolium* prevented high-fat diet-induced obesity in mice. Phytomedicine. 15(12). 1140-1145.

Lowe, M. E. (1997). Structure and function of pancreatic lipase and colipase. Annals Review Nutrition. 17. 141-158.

Mangal, A., and Sharma, M. C. (2009). Evaluation of certain medicinal plants for antiobesity properties. Indian Journal of Traditional Knowledge. 8(4). 602-605.

Mayur, B., Sandesh, S., Shruti, S., and Sung-Yum, S. (2010). Antioxidant and α-glucosidase inhibitory properties of *Carpesium abrotanoides* L. Journal of Medicinal Plants Research. 4(15). 1547-1553.

McDougall, G. J., Kulkarni, N. N., and Stewart, D. (2009). Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. Food Chemistry. 115(1). 193-199.

McNeely, W., and Goa, K. L. (1998). Sibutramine. A review of its contribution to the management of obesity. Drugs. 56(6).1093-124.

Menegon, L. F., Zaparolli, A., Boer, P. A., De Almeida, A. R., and Gontijo, J. A. (2008). Long-term effects of intracerebroventricular insulin microinjection on renal sodium handling and arterial blood pressure in rats. Brain Research Bulletin. 76(4). 344-348.

Milan, K., Dholakia, H., Tiku, P. K., and Vishveshwaraiah, P. (2008). Enhancement of digestive enzymatic activity by cumin (*Cuminum cyminum* L.) and role of spent cumin as a bionutrient. Food Chemistry. 110(3). 678-683.

Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordib, L., Rotilioc, D., Pastorea, G. M., and Durán, N. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. Food Chemistry. 82(3). 409-416.

Moreno, D. A., Ilic, N., Poulev, A., Brasaemle, D. L., Fried, S. K., and Raskin, I. (2003). Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. Nutrition. 19(10). 876-879.

Moreno, D. A., Ilic, N., Poulev, A., and Raskin, I. (2006). Effects of *Arachis hypogaea* nutshell extract on lipid metabolic enzymes and obesity parameters. Life Sciences. 78. 2797-2803.

Moreno, D. A., Ripoll, C., Ilic, N., Poulev, A., Aubin, C., and Raskin, I. (2006). Inhibition of lipid metabolic enzymes using *Mangifera indica* extracts. International Journal of Food, Agriculture and Environment. 4(1). 21-26.

Mukherjee, M. (2003). Human digestive and metabolic lipases-a brief review. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 22. 369-376.

Nakai, M., Fukui, Y., Asami, S., Toyoda-Ono, Y., Iwashita, T., Shibata, H., Mitsunaga, T., Hashimoto, F., and Kiso, Y. (2005). Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase *in vitro*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(11). 4593-4598.

Nickavar, B., Abolhasani, L., and Izadpanah, H. (2008). Alpha-amylase inhibitory activities of six *Salvia* species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 7(4). 297-303.

Obici, S., Feng, Z., Karkanias, G., Baskin, D. G., and Rossetti, L. (2002). Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. Nature Neuroscience. 5(6). 566-572.

Ono, Y., Hattori, E., Fukaya, Y., Imai, S., and Ohizumi, Y. (2006). Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. Journal of Ethnopharmacology. 106(2). 238-244.

Ormseth, O. A., Nicolson, M., Pelleymounter, M. A., and Boyer, B. B. (1996). Leptin inhibits prehibernation hyperphagia and reduces body weight in arctic ground squirrels. The American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 271(6). 1775-1779.

Ortiz-Andrade, R. R., García-Jiménez, S., Castillo-España, P., Ramírez-Ávila, G., Villalobos-Molina, R., and Estrada-Soto, S. (2007). Alpha-glucosidase inhibitory activity of the

methanolic extract from *Tournefortia hartwegiana*: An anti-hyperglycemic agent. Journal of Ethnopharmacology. 109(1). 48-53.

Padwal, R., Li, S., and Lau, D. (2004). Long-term pharmacotherapy for obesity and overweight. Cochrane Database of Systematic Reviews. 4(4).

Padwal, R. S., and Majumdar, S. R. (2007). Drug treatments for obesity: Orlistat, sibutramine, and rimonabant. Lancet. 369. 71-77.

Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J., Baker, M. B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T., and Collins, F. (1995). Effects of the obese gene product on body weight regulation in *ob/ob* mice. Science. 269(5223). 540-543.

Penna, I. A., Canella, P. R., Reis, R. M., Silva De Sa, M. F., and Ferriani, R. A. (2005). Acarbose in obese patients with polycystic ovarian syndrome: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. Human Reproduction. 20. 2396-401.

Peungvicha, P., Thirawarapan, S. S., Temsiririrkkul, R., Watanabe, H., Prasain, J. K., and Kadota, S. (1998). Hypoglycemic effect of the water extract of *Piper sarmentosum* in rats. Journal of Ethnopharmacology. 60. 27-32.

Porte, D. Jr., and Woods, S. C. (1981). Regulation of food intake and body weight in insulin. Diabetologia. 20. 274-280.

Rahman, N. N. N. A., Furuta, T., Kojima, S., Takane, K., and Ali Mohd, M. (1999). Antimalarial activity of extracts of Malaysian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology. 64(3). 249-254.

Ridtitid, W., Rattanaporn, W., Thaina, P., Chittrakarn, S., and Sunbhanich, M. (1998). Neuromuscular blocking activity of methanolic extract of *Piper sarmentosum* leaves in the rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation. Journal of Ethnopharmacology. 61. 135-142.

Roth, J., Qiang, X., Marbán, S. L., Redelt, H., and Lowell, B. C. (2004). The obesity pandemic: Where have we been and where are we going. Obesity Research. 12. 88-101.

Rucker, D., Padwal, R., Li, S. K., Curioni, C., and Lau, D. C. W. (2007). Long term pharmacotherapy for obesity and overweight: Updated meta-analysis. British Medical Journal. 335(7631). 1194-1199.

Rukachaisirikul, T., Siriwattanakit, P., Sukcharoenphol, K., Wongvein, C., Ruttanaweang, P., Wongwattanavuch, P., and Suksamrarn, A. (2004). Chemical constituents and bioactivity of *Piper sarmentosum*. Journal of Ethnopharmacology. 93 (2-3). 173-176.

Saad, M. F., Bernaba, B., Hwu, C. M., Jinagouda, S., Fahmi, S., Kogosov, E., and Boyadjian, R. (2002). Insulin regulates plasma ghrelin concentration. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 87(8). 3997-4000.

Schwartz, M. W., Baskin, D. G., Bukowski, T. R., Kuijper, J. L., Foster, D., Lasser, G., Prunkard, D. E., Porte, D. Jr., Woods, S. C., Seeley, R. J., and Weigle, D. S. (1996a). Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in *ob/ob* mice. Diabetes. 45(4). 531-535.

Schwartz, M. W., R. Seeley, J., L. Campfield, A., Burn, P., and Baskin, D. G. (1996b). Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. The Journal of Clinical Investigation. 98(5). 1101-1106.

Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D. J., Seeley, R. J., and Baskin, D. C. (2000). Central nervous system control of food intake. Nature. 404. 661-671.

Schwartz, M. W., Sipols, A. J., Marks, J. L., Sanacora, G., White, J. D., Scheurink, A., Kahn, S. E., Baskin, D. G., Woods, S. C., Figlewicz, D. P., and Porte, D. Jr. (1992). Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin. Endocrinology. 130(6). 3608-3616.

Seeley, R. J., Van Dijk, G., Campfield, L. A., Smith, F. J., Burn, P., Nelligan, J. A., Bell, S. M., Baskin, D. G., Woods, S. C., and Schwartz, M. W. (1996). Intraventricular leptin reduces food intake and body weight of lean rats but not obese Zucker rats. Hormone and Metabolic Research. 28(12). 664-668.

Shai, L. J., Masoko, P., Mokgotho, M. P., Magano, S. R., Mogale, A. M., Boaduo, N., and Eloff, J. N. (2010). Yeast α-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of six medicinal plants collected in Phalaborwa, South Africa. South African Journal of Botany. 76(3). 465-470.

Sharma, N., Sharma, V. K., and Seo, S-Y. (2005). Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. Journal of Ethnopharmacology. 97(3). 453-456.

Shi, Y., and Burn, P. (2004). Lipid metabolic enzymes: Emerging drug targets for the treatment of obesity. Nature Reviews Drug Discovery. 3(8). 695-710.

Shi, Y. F., Pan, C. Y., Hill, J., and Gao, Y. (2005). Orlistat in the treatment of overweight or obese Chinese patients with newly diagnosed type 2 diabetes. Diabetes Medicine. 22(12). 1737-1743.

Shinde, J., Taldone, T., Barletta, M., Kunaparaju, N., Hu, B., Kumar, S., Placido, J., and Zito, S. W. (2008). Alpha-glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel *in vitro* and in Goto-Kakizaki (GK) rats. Carbohydrate Research. 343(7). 1278-1281.

Shiraishi, J., Yanagita, K., Fujita, M., and Bungo, T. (2008). Central insulin suppresses feeding behavior via melanocortins in chicks. Domestic Animal Endocrinology. 34(3). 223-228.

Shobana, S., Sreerama, Y. N., and Malleshi, N. G. (2009). Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of α-glucosidase and pancreatic amylase. Food Chemistry. 115. 1268-1273.

Si, M-M., Lou, J-S., Zhou, C-X., Shen, J-N., Wu, H-H., Yang, B., He, Q-J., and Wu, H-S. (2010). Insulin releasing and α-glucosidase inhibitory activity of ethyl acetate fraction of *Acorus calamus in vitro* and *in vivo*. Journal of Ethnopharmacology. 128(1). 154-159.

Sipols, A. J., Baskin, D. G., and Schwartz, M. W. (1995). Effect of intracerebroventricular insulin infusion on diabetic hyperphagia and hypothalamic neuropeptide gene expression. Diabetes. 44(2). 147-151.

Sjostrom, L., Rissanen, A., Andersen, T., Boldrin, M., Golay, A., Koppeschaar, H. P. F., and Krempf, M. (1998). Randomised placebocontrolled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients. Lancet. 352. 167-172.

Sönmez, A. S., Yasar, L., Savan, K., Koç, S., Ozcan, J.,Toklar1, A., Yazicioğlu1, F., Akgün, A., and Sut, N. (2005). Comparison of the effects of acarbose and metformin use on ovulation rates in clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome. Human Reproduction. 20. 175-179.

Subramaniam, V., Adenan, M. I., Ahmad, A. R., and Sahdan, R. (2003). Natural Antioxidants: *Piper sarmentosum* (Kadok) and *Morinda elliptica* (Mengkudu). Malaysian Journal of Nutrition. 9(1). 41-51.

Subramanian, R., Asmawi, M. Z., and Sadikun, A. (2008). *In vitro* α-glucosidase and α-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. Acta Biochimica Polonica. 55(2). 391-398.

Sugiyama, H., Akazome, Y., Shoji, T., Yamaguchi, A., Yasue, M., Kanda, T., and Ohtake, Y. (2007). Oligomeric procyanidins in apple polyphenol are main active components for inhibition of pancreatic lipase and triglyceride absorption. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55(11). 4604-4609.

Sukma, M., Chaichantipyuth, C., Murakami, Y., Michihisa, T., Matsumoto, K., and Watanabe, H. (2002). CNS inhibitory effects of barakol, a constituent of *Cassia Siamia* Lamk. Journal of Ethnopharmacology. 83. 87-94.

Sulaiman, S. F., Sajak, A. A. B., Ooi, K. L., and Seow, E. M. (2010). Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. Journal of Food Composition and Analysis. 24(4-5). 506-515.

Tachakittirungrod, S., Okonogi, S., and Chowwanapoonpohn, S. (2007). Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. Food Chemistry. 103. 381-388.

Thomson, A. B., De Pover, A., Keelan, M., Jarocka-Cyrta, E., and Clandinin, M. T. (1997). Inhibition of lipid absorption as an approach to the treatment of obesity. Methods in Enzymology. 286. 3-44.

Thongsaard, W., Deachapunya, C., Pongsakorn, S., Boyd, E. A., Bennett, G. W., and Marsden, C. A. (1996). Barakol: A potential anxiolytic extracted from *Cassia siamea*. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 53. 753-758.

Thongsaard, W., Pongsakorn, S., Sudsuang, R., Bennet, G. W., Kendall, D. A., and Mardens, A. (1997). Barakol, a natural anxiolytic inhibits striatal dopamine release but not uptake *in vitro*. EuropeanJournal of Pharmacology. 319. 157-164.

Toubro, S., Astrup, A., Breum, L., and Quaade, F. (1993). The acute and chronic effects of ephedrine/caffeine mixtures on energy expenditure and glucose metabolism in humans. International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders. 17(3). 73-77.

Tsujita, T., Takaku, T., and Suzuki, T. (2008). Chestnut astringent skin extract, an α-amylase inhibitor, retards carbohydrate absorption in rats and humans. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 54(1). 82-88.

Tucci, S. A., Boyland, E. J., and Halford, J. C. G. (2010). The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: A revies of current and

emerging therapeutic agents. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy. 3. 125-143.

Tuğrul, S., Kutlu, T., Pekin, O., Bağlam, E., Kiyak, H., and Oral, O. (2008). Clinical, endocrine, and metabolic effects of acarbose, a α-glucosidase inhibitor, in overweight and nonoverweight patients with polycystic ovarian syndrome. Fertility and Sterility. 90(4). 1144-1148.

Valle, M., Gascón, F., Martos, R., Bermudo, F., Ceballos, P., and Suanes, A. (2003). Relationship between high plasma leptin concentrations and metabolic syndrome in obese pre-pubertal children. International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders. 27(1). 13-18.

Van Dijk, G., Thiele, T. E., Donahey, J. C., Campfield, L. A., Smith, F. J., Burn, P., Bernstein, I. L., Woods, S. C., and Seeley, R. J. (1996). Central infusions of leptin and GLP-1-(7-36) amide differentially stimulate c-FLI in the rat brain. The American Journal of Physiology. 271(4). 1096-1100.

Van Gaal, L. F., Rissanen, A. M., Scheen, A. J., Ziegler, O., and Rössner, S. (2005). Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. Lancet. 365. 1389-1397.

Wahjoedi, B. (1999). The subchronic toxicity study of the ethanolic extract of *Cassia siamea* Lamk. Leaf (daun johar) on albino rats. Bulletin Penelitian Kesehatan (Bulletin of Health Studies). 27. 325-332.

Wang, Y., Huang, S., Shao, S., Qian, L., and Xu, P. (2012). Studies on bioactivities of tea (*Camellia sinensis* L.) fruit peel extracts: antioxidant activity and inhibitory potential against α-glucosidase and α-amylase *in vitro*. Industrial Crops and Products. 37(1). 520-526.

Wan-Ibrahim, W. I., Sidik, K., and Kuppusamy, U. R. (2010). A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties. Food Chemistry. 122. 1139-1144.

Wickelgren, J. (1998). Obesity: How big a problem. Science. 280. 1364-1367.

Wirth, A., and Krause, J. (2001). Long-term weight loss with Sibutramine: A randomized controlled trial. The Journal of the American Medical Assocation. 286(11). 1331-1339.

Won, S. R., Kim, S. K., Kim, Y. M., Lee, P. H., Ryu, J. H., Kim, J. W., and Rhee, H. I. (2007). Licochalcone A: a lipase inhibitor from the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. Food Research International. 40(8). 1046-1050.

World Health Organization. 2011. Obesity and overweight (Online). Available: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html.

Wrolstad, R. E., Acree, T. E., Decker, E. A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F., Smith, D. M., and Sporns, P. (2005). Handbook of food analytical chemistry, water, proteins, enzymes, lipids, and carbohydrates. New Jersey: John Wiley & Sons.

Yamamoto, M., Shimura, S., Itoh, Y., Ohsaka, T., Egawa, M., and Inoue, S. (2000). Anti-obesity effects of lipase inhibitor CT-II, an extract from edible herbs, Noname herba, on rats fed a high-fat diet. International Journal of Obesity. 24(6). 758-764.

Yoshikawa, M., Shimoda, H., Nishida, N., Takada, M., and Matsuda, H. (2002). *Salacia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats. The Journal of Nutrition. 132(7). 1819-1824.

Yuk, H. J., Lee, J. H., Curtis-Long, M. J., Lee, J. W., Kim, Y. S., Ryu, H. W., Park, C. G., Jeong, T-S., and Park, K. H. (2011). The most abundant polyphenol of soy leaves, coumestrol, displays potent α-glucosidase inhibitory activity. Food Chemistry. 126(3). 1057-1063.

Zhang, J., Kang, M. J., Kim, M. J., Kim, M. E., Song, J. H., Lee, Y. M., and Kim, J-I. (2008). Pancreatic lipase inhibitory activity of *Taraxacum officinale in vitro* and *in vivo*. Nutrition Research and Practice. 2(4). 200-203.

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., and Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature. 372(6505). 425-432.

Zheng, C. D., Duan, Y. Q., Gao, J. M., and Ruan, Z. G. (2010). Screening for anti-lipase properties of 37 traditional Chinese medicinal herbs. Journal of the Chinese Medical Association. 73(6). 319-324.

Zigman, J. M., and Elmquist, J. K. (2003). Minireview: From anorexia to obesity--the yin and yang of body weight control. Endocrinology. 144(9). 3749-56.

ประวัตินักวิจัย

ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์

วันเดือนปี 13 ตุลาคม 2511 **สถานที่เกิด** จังหวัดอุดรธานี

การศึกษา/คุณวุฒิ:

ปริญญาเอก:	2543	Ph.D. (Physiology) University of Edinburgh, UK
ปริญญาโท:	2538	วท.ม. (ประสาทวิทยาศาสตร์) มหาวิทยาลัยมหิดล
ปริญญาตรี:	2533	วท.บ. (กายภาพบำบัด) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ที่อยู่ สาขาวิชาสรีรวิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
111 ถ. มหาวิทยาลัย ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000
Telephone: 044-224631, Fax: 044-224185 และ 044-224650, E-mail: srisawat@sut.ac.th

ประวัติการทำงาน:

2005-ปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาสรีรวิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2000-2005: อาจารย์ สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รางวัลและเกียรติประวัติ:

2004: International Brain research organization (IBRO) Fellowship for the 4th IBRO School of Neuroscience, Hong Kong, China.

1989-1994: Postdoctoral researcher: Division of Biomedical and Clinical Laboratory Science, The University of Edinburgh, UK.

1996- 2000: The Royal Thai Government Scholarship for Ph.D. Program at Division of Biomedical and Clinical Laboratory Science, The University of Edinburgh, UK

ผลงานวิจัย:

- Johnstone LE, **Srisawat R**, Kumarnsit E, Leng G (2005). Hypothalamic expression of NPY mRNA, vasopressin mRNA and CRF mRNA in response to food restriction and central administration of the orexigenic peptide GHRP-6. **Stress** 8: 59-67.
- **Srisawat R**, Bishop VR, Bull PM, Douglas AJ, Russell JA, Ludwig M, Leng G (2004). Regulation of neuronal nitric oxide synthase mRNA expression in the rat magnocellular neurosecretory system. **Neuroscience Letters** 369: 191-196.
- **Srisawat R**, Ludwig M, Bull PM, Douglas AJ, Russell JA, Leng G (2000). Nitric oxide and the oxytocin system in pregnancy. **The Journal of Neuroscience** 20: 6721-6727.
- **Srisawat R**, Srikiatkhachorn A, Kotchabhakdi N, Meksuriyen D (1994). Optimization of ion-pair high performance liquid chromatography for separation of endogenous amines and their metabolites in rat brain tissue. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences** 18: 118-134.