รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลึซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส

Screening of anti-lipid metabolism of medicinal plants in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn by measuring the inhibitory activity of pancreatic lipase enzyme

อ. ภญ. ดร. ทักษิณา ชวนอาษา

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลีซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส

Screening of anti-lipid metabolism of medicinal plants in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn by measuring the inhibitory activity of pancreatic lipase enzyme

อ. ภญ. ดร. ทักษิณา ชวนอาษา

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ หน่วยบัญชาการทหารพัฒนา และ การไฟฟ้าฝ่ายผลิต ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ รศ. ภญ. ธาตรี ผดุงเจริญ และ รศ. ภญ. ดร. สุรัตนา อำนวยผล ที่ได้ช่วยเก็บตัวอย่างและจำแนกพืชสมุนไพรในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

บทคัดย่อ

ในการวิจัยนี้ได้ทำการคัดกรองพืชสมุนไพรจำนวน 49 ต้น (54 ตัวอย่าง) จากในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพสธ.) บริเวณหมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลีซึมของไขมันโดยวัดการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส จากการทดสอบเบื้องต้นพบว่า พืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสมากกว่า 70% มีจำนวน 11 ตัวอย่าง ซึ่งมี 6 ตัวอย่างที่ทดสอบพบแทนนินซึ่งเป็นตัวตกตะกอนโปรตีนแบบไม่เจาะจง และสามารถเรียงลำดับความแรงของตัวอย่างที่ทดสอบจากมากไปน้อย โดยพิจารณาจากค่า IC_{50} ได้ดังนี้ ขันทองพยาบาท(ใบ) 0.14 mg/ml ช้ามะขามป้อม(ใบ) 0.16 mg/ml เกด(ใบ) 0.44 mg/ml มะค่าแต้(ใบ) 0.49 mg/ml พรวด(ใบ) 0.53 mg/ml ถอบแถบเครือ(ใบ) 0.54 mg/ml พะวา(ใบ) 0.58 mg/ml ฝาดดอกขาว(ใบ) 0.67 mg/ml แจง(เปลือก) 0.69 mg/ml ลำบิดดง(ใบ) 0.76 mg/ml พลองใบเล็กหนา(ใบ) 0.92 mg/ml

คำสำคัญ: เมตาบอลีซึม แพนครีเอติกไลเปส พืชสมุนไพร

Abstract

Thai plants growned in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn, Samae-San Island, Chonburi were collected to screen for their anti-lipid metabolism by measuring anti-pancreatic lipase activity. In this study, methanol crude extract of 49 plants (54 samples) with 1 mg/mL concentration were investigated. The preliminary screening showed that 11 samples exhibited anti-pancreatic lipase over 70%. In addition, tannins, which are known to be non-specific protein precipitating substances, were found in 6 out of 11 samples. The activity potency (IC_{50}) of the 11 samples was further examined. It was found that the leaf extract of Kun Thong Payabat was found to be the most potent sample (IC_{50} 0.14 mg/mL), followed by Cha Makham Pom leaf extract (IC_{50} 0.16 mg/mL), Kade leaf extract (IC_{50} 0.44 mg/mL), Ma Kha Tae leaf extract (IC_{50} 0.49 mg/mL), Prued leaf extract (IC_{50} 0.53 mg/mL), Tob Tab Kreu leaf extract (IC50 0.54 mg/mL), Pawa leaf extract (IC50 0.58 mg/mL), Phad Dok Kaw leaf extract (IC50 0.67 mg/mL), Jang bark extract (IC50 0.69 mg/mL), Lum Bid Dong (IC50 0.76 mg/mL), and Plong Bai Lek Na leaf extract (IC50 0.92 mg/mL).

Keywords: metabolism, anti-pancreatic lipase, medicinal plants

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วิธีดำเนินการศึกษา	5
ผลการศึกษา	9
สรุปและวิจารณ์ผล	14
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	18
ประวัตินักวิจัย	35

เลขหมู่
เลขทะเบียน 015904
วัน, เดือน, ปี 17 พ.ค. 56

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 รายชื่อพืชและหมายเลขตัวอย่างของพืชที่นำมาทดลอง..... 5

ตารางที่ 2 สารสกัดพืชสมุนไพรที่มีค่า % inhibition $\geq$ 70% และผลการทดสอบแทนนิน..... 9

ตารางที่ 3 ผลการยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปส และการตรวจพบสารประกอบแทนนินของสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีค่า % inhibition < 70%..... 10

ตารางที่ 4 ค่า IC_{50} ของสารสกัดพืชสมุนไพรจำนวน 11 ตัวอย่าง..... 12

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบสารมาตรฐาน Orlistat (Positive control) ในความเข้มข้นสุดท้ายต่างๆ.. 13

ตารางที่ 6 น้ำหนักแห้งพืชสมุนไพร และสารสกัดพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ..... 18

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบสารกลุ่มแทนนินในสารสกัดพืชสมุนไพรตัวอย่างจำนวน 54 ตัวอย่าง..... 21

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดแจง – เปลือก..... 24

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดลำบิดดง – ใบ..... 25

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดช้ามะขามป้อม – ใบ..... 26

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดถอบแถบเครือ – ใบ.... 27

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดพะวา – ใบ..... 28

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดพรวด – ใบ..... 29

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดเกด – ใบ..... 30

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดพลองใบเล็กหนา – ใบ 31

ตารางที่ 16 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดฝาดดอกขาว – ใบ..... 32

ตารางที่ 17 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดขันทองพยาบาท – ใบ. 33

ตารางที่ 18 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดมะค่าแต้ – ใบ..... 34

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของสารมาตรฐาน Orlistat กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 13

รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดแจง – เปลือก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 24

รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดลำบิดดง – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 25

รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดช้ามะขามป้อม – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 26

รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดถอบแถบเครือ – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 27

รูปที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดพะวา – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 28

รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดพรวด – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 29

รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดเกด – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 30

รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดพลองใบเล็กหนา – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 31

รูปที่ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดฝาดดอกขาว – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 32

รูปที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดขันทองพยาบาท – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 33

รูปที่ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดมะค่าแต้ – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 34

การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลึซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส

Screening of anti-lipid metabolism of medicinal plants in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn by measuring the inhibitory activity of pancreatic lipase enzyme

ทักษิณา ชวนอาษา

Taksina Chuanasa

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันมีผู้ป่วยโรคไขมันในเลือดสูงเป็นจำนวนมาก ซึ่งโรคไขมันในเลือดสูงนี้เป็นสาเหตุของโรคร้ายแรงอื่นๆอีกมากมาย ได้แก่ โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง เป็นต้น และจำนวนผู้ป่วยโรคไขมันโลหิตสูงมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น สาเหตุหนึ่งอาจมาจากการประทานอาหารจานด่วนที่มีปริมาณไขมันสูง และไขมันนั้นเข้าไปสะสมในร่างกายเป็นปริมาณมาก กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกตินี้คือ กระบวนการเมตาบอลึซึมของไขมัน ซึ่งโดยปกติต้องการเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงไตรกลีเซอไรด์ให้อยู่ในรูปของกรดไขมันก่อน เนื่องจากไตรกลีเซอไรด์มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะนำเข้าสู่ mucosal ของ intestinal villi ในลำไส้เล็กได้ แล้วจึงดูดซึมกรดไขมันนั้นเข้าสู่กระแสเลือด

ในปัจจุบันมียาที่ใช้รักษาภาวะไขมันในเลือดสูงอยู่หลายชนิด แต่การรักษาจะต้องใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน และผู้ป่วยบางคนก็ไม่สามารถควบคุมระดับไขมันในเลือดได้ จากอุปนิสัยในการรับประทานอาหารของตนเอง จึงทำให้มีความสนใจในการพัฒนายาที่มีกลไกไปยับยั้งเอนไซม์ไลเปส ซึ่งจะทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการดูดซึมไตรกลีเซอไรด์ผ่านผนังลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือด และทำให้เกิดการขับไขมันออก

จากร่างกาย ซึ่งจะช่วยลดระดับไขมันในเลือดได้ ซึ่งผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงจำเป็นจะต้องรับประทานยาอย่างต่อเนื่อง จึงมีค่าใช้จ่ายด้านยาค่อนข้างสูง รวมไปถึงปัญหาความเป็นพิษของยาต่อตับของผู้ป่วย จึงเกิดความพยายามในการวิจัยศึกษาหาพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ลดระดับไขมัน มาพัฒนาเป็นยาลดไขมันจากสมุนไพรที่มีราคาถูก และปลอดภัย เพื่อช่วยเหลือผู้ป่วย

ประเทศไทยถือได้ว่าเป็นแหล่งของพืชสมุนไพรหลากหลายชนิด รวมทั้งมีการนำพืชบางชนิดมาใช้ในการช่วยลดระดับไขมันในการแพทย์พื้นบ้านด้วย เช่น กระเจี๊ยบแดง ดอกคำฝอย เสาวรส ซึ่งส่วนใหญ่ยังไม่มีการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่ชัด และในส่วนกลไกยับยั้งเอนไซม์ไลเปส มีพืชสมุนไพรที่ได้รับการวิจัย เช่น ชาต่างๆ คือ ชาอู่หลง ชาดำ ชาเขียว(*Camellia sinensis*) (Han et al., 2001) ถั่วเหลือง (*Glycine max*) (Satouchi et al., 1998) ข้าวฟ่างหางกระรอก (*Setaria italic*) (Sherma et al., 2005) sage (*Mussaenda flava*) (Ninomiya et al., 2004) กีวี (*Actinidia arguta*) (Jang et al., 2008) เป็นต้น ซึ่งเห็นได้ว่าการวิจัยส่วนใหญ่มักเป็นการดำเนินการในต่างประเทศ แต่อย่างไรก็ดีมีพืชหลากหลายชนิดที่สามารถเพาะปลูกได้ในประเทศไทยที่อาจมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสได้

โครงการนี้จึงดำเนินการศึกษาและคัดกรอง พืชสมุนไพรในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ที่หมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี (อพ.สธ.) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เพื่อเป็นแนวทางในการส่งเสริมการใช้สมุนไพรเพื่อช่วยลดระดับไขมันในเลือดต่อไปในอนาคต

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

โรคเกี่ยวกับเมตาบอลีซึมหรือเมตาบอลึกซินโดรม (metabolic syndrome) เป็นกลุ่มโรคที่ประกอบด้วยความผิดปกติ ที่มักพบร่วมกันได้แก่ อ้วนลงพุง ความดันโลหิตสูง ระดับน้ำตาลในเลือดสูงและระดับไขมันในเลือดที่ผิดปกติ จากสถิติข้อมูลของ สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุขพบว่า ในระยะ 10 ปีย้อนหลัง ตั้งแต่ปี พ.ศ.2542 - 2552 มี ผู้ป่วยนอกที่เป็นโรคเกี่ยวกับต่อมไร้ท่อ โภชนาการ และ เมตาบอลีซึมมีอัตราสูงขึ้นจาก 76.01 เป็น 230.31 คนต่อ1000คน และ ผู้ป่วยในก็มีอัตราสูงขึ้นโดยมีแนวโน้มเดียวกัน

โรคอ้วนลงพุงถือว่าเป็นโรคทางเมตาบอลึกที่สังเกตเห็นได้ชัดเจน ผู้ป่วยกลุ่มนี้มักมีการสะสมไขมันที่หน้าท้อง และมีเส้น รอบเอวเกินเกณฑ์มาตรฐาน ระดับ HDL ต่ำ แต่มี LDL และ ไตรกลีเซอไรด์ สูงกว่าเกณฑ์กำหนด นอกจากนี้ก็จะทำให้มีปัจจัยเสี่ยงที่จะเป็นโรคที่เกี่ยวข้องต่างๆด้วย เช่น โรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคหลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือด (จุฑามณี, 2539) ปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะอ้วน คือ การรับประทานอาหารไม่ถูกส่วน ได้รับมากเกินความต้องการของร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งคืออาหารประเภทไขมันซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปไตรกลีเซอไรด์ประมาณ 90% และ ไขมันอื่นๆ ประมาณ 10% กระบวนการเมตาบอลีซึมของไขมัน (lipid metabolism) เริ่มขึ้นเมื่อไขมันเข้าสู่ร่างกายโดยการบริโภคแล้วน้ำย่อยจะถูกหลั่งออกมาเพื่อทำการย่อยให้ได้ไขมันที่มีขนาดเล็กลงโดยเอนไซม์หลักในการเกิดเมตาบอลีซึมของไขมันคือเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อน หรือเรียกว่าเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส (pancreatic lipase) ซึ่งจะย่อยไตรกลีเซอไรด์ ให้ได้เป็น กลีเซอรอล (glycerol) และกรดไขมัน (fatty acid) ซึ่งจะถูกดูดซึมเข้าไปในเซลล์บุลำไส้ จากนั้นจะถูกประกอบขึ้นใหม่เป็นโมเลกุลไขมันและอาจมีการรวมกับโปรตีนบางชนิดได้ (วิทยา ศรีมาดา และคณะ, 2544)

สำหรับยาแผนปัจจุบันที่นิยมใช้ลดไขมันที่มีใช้ในมีหลายกลุ่ม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นยาลดระดับไขมันในเลือด กล่าวคือ ยาเหล่านี้จะออกฤทธิ์กำจัดหรือลดปริมาณไขมันที่ผ่านกระบวนการย่อยจากทางเดินอาหารและถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดแล้ว เช่น statins, fibric acid derivatives, niacin, bile acid binding resins และ probucol (วิทยา ศรีดามาและคณะ, 2544) ส่วนยาที่ลดหรือต้านการดูดซึมไขมันเข้าสู่กระแสเลือดโดยที่ไม่มีผลต่อความอยากอาหาร คือ orlistat ซึ่งยานี้ถูกพัฒนามาจากสารต้นแบบ lipstatin ที่ได้จากการคัดกรองกรองฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces toxytricini* (Hochuli et al., 1987; Weibel et al., 1987; Ballinger and Peikin, 2002) กลไกการออกฤทธิ์ของ orlistat คือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสแบบไม่ย้อนกลับ จึงทำให้ triglyceride ไม่ถูกย่อยเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง และถูกขับออกไปจากร่างกายทางอุจจาระ

มีงานวิจัยจากจำนวนหนึ่งพบว่าสารสกัดจากพืชที่พบในประเทศไทยหลายชนิดมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เช่น ทับทิม (*Punica granatum)* (Lei et al., 2007; Jurenka, 2008), มะระขี้นก (*Momordica charantia*) (Oishi et al., 2007), ชา (*Camellia sinensis*) (Nakai et al.,2005), เบญกานี (*Quercus infectoria*) (Gholamhoseinian et al., 2010) รวมทั้งมีการวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดจากพืชที่มีผลยับยั้ง pancreatic lipase ด้วย ตัวอย่างสารเช่น สารกลุ่ม saponins, polyphenolics (McDougall et al., 2009) และ terpenes (Birari and Bhutani, 2007)

ในการวิจัยครั้งนี้จะนำสารสกัดจากพืชในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส หากโครงการนี้สามารถค้นพบพืชหรือสมุนไพรที่มีฤทธิ์ดังกล่าวและค้นพบสารสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นยาต่อไป ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งไม่ว่ากับประชาชนโดยทั่วไป เนื่องจากโอกาสในการเข้าถึงยาจะสูงขึ้นเพราะเป็นยาจากประเทศไทยซึ่งอาจส่งผลถึงการลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศและเพิ่มการใช้สมุนไพรไทย รวมทั้งอาจจะช่วยสนับสนุนการปลูกสมุนไพรไทยเพิ่มการสร้างงานให้แก่เกษตรกรไทยอีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อคัดกรองพืชสมุนไพรในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส

วิธีดำเนินการศึกษา

1. ช่วงเวลาและสถานที่เก็บตัวอย่าง

ในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2555 เก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี และนำกลับมาตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ พร้อมกับ ทำ herbarium เพื่อสามารถนำมาตรวจสอบซ้ำได้ และกำหนดหมายเลขตัวอย่างเพื่อความสะดวกในการบันทึกข้อมูล ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รายชื่อพืชและหมายเลขตัวอย่างของพืชที่นำมาทดลอง

ลำดับที่	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	หมายเลขตัวอย่างดิบ
1	แจง	*Maerua siamensis*	ใบ	A1 ใบ
2	แจง	*Maerua siamensis*	เปลือก	A1 เปลือก
3	กระเจียน	*Polyalthia cerasoides*	ใบ	A2 ใบ
4	กระเจียน	*Polyalthia cerasoides*	กิ่ง	A2 กิ่ง
5	ผกากรอง	*Lantana camara*	เถา	A3
6	มะลิวัลย์ดง	*Jasminum nobile*	ใบ	A4 ใบ
7	มะลิวัลย์ดง	*Jasminum nobile*	กิ่ง	A4 กิ่ง
8	หนามพรม/ พรม / ขี้แฮด	*Carissa cochinchinensis*	ใบ , กิ่ง	A5
9	ลำบิดดง	*Diospyros filipendula*	ใบ	A6
10	ก้างปลา	*Cleistanthus hirsutulus*	ใบ	A7
11	จำปีแขก/ขนาน/ลำป้าง/จำปาเทศ	*Pterospermum littorale*	ใบ	A8
12	พลับพลา	*Microcos tomentosa*	ใบ	A9
13	ข้ามะขามป้อม/แขนงพร้อย/ค่างเต้น	*Phyllanthus collinsae*	ใบ	A10
14	ขำมะเลียงป่า	*Lepisanthes fruticosa*	ใบ	A11
15	ถอบแถบเครือ/จำเพาะ/ขางขาว	*Connarus semidecandrus*	ใบ	A12
16	สวองตีนนก/ตีนนก/สมอตีนนก/กาสามปีก	*Vitex pinnata*	ใบ	A13
17	ข้างน้าว/กระแจะ/ตาลเหลือง	*Ochna integerrina*	ใบ	A14

ลำดับที่	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	หมายเลขตัวอย่างดิบ
19	มะเกลือกา/มะเกือกา/สล้างตัวผู้/ดำดง	*Diospyros rubra*	ใบ	A17
20	นมแมวป่า/น้ำเต้าน้อย	*Cyathostemma micranthum*	เถา	A18 เถา
21	นมแมวป่า/น้ำเต้าน้อย	*Cyathostemma micranthum*	ใบ	A18 ใบ
22	มวกกอ/คำไก่/แดงเขา	*Olea salicifolia*	ใบ	A19
23	พะวา/ขวาด/วาน้ำ	*Garcinia speciosa*	ใบ	A20
24	โปร่งกิ่ว/ติดต่อ	*Dasymaschalon lomentaceum*	ใบ	A21
25	พรวด/พลองแก้มอ้น	*Memecylon lilacinum*	ใบ	A23/A24
26	เขยตาย	*Glycosmis pentaphylla*	ใบ	A25
27	หญ้าหวาน	*Stevia rebandiana*	ใบ	A26
28	หมอน้อย/สามโสก/อ้อยช้าง/หัสคุณ	*Clausena excavate*	ใบ	A27
29	แสม	*Avicennia marina*	ใบ	A28
30	ข่อยหิน/พุดผา	*Gardenia collinsae*	ใบ	A29
31	ยอป่า	*Morinda coreia*	ใบ	A30
32	คันทรง	*Colubrina asiatica*	ใบ	A31
33	ขี้หนอน	*Zolling dongnaiensis*	ผล	A32
34	เกด	*Manilkara hexandra*	ใบ	A33
35	มะกา	*Bridelia ovate*	ผล	A34
36	ประยงค์ใบใหญ่	*Aglaia odorata*	ใบ	A35
37	ตำลึง	*Coccinia grandis*	เถา	A36
38	สำมะงา/สำมะง่า/เขี้นวงู/สำปันนา/สักขรีย่าน	*Clerodendrum inerme*	ใบ	A37
39	พลองใบใหญ่	*Memecylon ovatum*	ใบ	B4
40	พลองใบเล็กบาง/พลองขี้ใต้	*Memecylon panciflorum*	ใบ	B5
41	ตะแบกเกรียบ	*Lagerstroemia balansae*	ใบ	B9

ลำดับที่	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	หมายเลขตัวอย่างดิบ
42	เม่าเหล็ก/ข้าวเม่าเหล็ก	*Diospyros toposia*	ใบ	B12
43	พลองใบเล็กหนา	*Memecylon edule*	ใบ	B151
44	แข้งไก่	*Megalaspis cordyla*	ใบ	B162
46	ปอแดง	*Sterculia guttata*	ใบ	B19
47	ฝาดดอกขาว	*Lumninitzera racemosa*	ใบ	B20
48	มะพลับใหญ่	*Diospyros malabarica*	ใบ	B21
49	เขลง/หยี	*Dialium cochinchinense*	แก่น	B22 แก่น
50	เขลง/หยี	*Dialium cochinchinense*	ใบ	B22 ใบ
51	ขันทองพยาบาท	*Suregada multiflorum*	ใบ	B23
52	มะกล่ำตาหนู	*Abrus precatorius*	ใบ	B24
53	มะค่าแต้	*Sindora siamensis*	ใบ	B25
54	พ้อ/กะพ้อ/กะพ้อหนาม	*Licuala spinosa*	ใบ	B26

2. เตรียมตัวอย่าง

2.1 เตรียมตัวอย่างให้มีขนาดที่พอเหมาะ เพื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม (Ethanol 95%)

2.2 ระเหยสารสกัดที่ได้ให้แห้ง เพื่อเตรียมทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเมตาบอลีซึมของไขมัน

3. การตรวจสอบ Tannins ในสารสกัด

นำสารสกัดจากพืช มาทดสอบสารกลุ่มแทนนิน โดยนำตัวอย่างมาละลายน้ำแล้วแบ่งตัวเพื่อทดสอบกับ reagents ต่างๆ คือ

- สารละลาย Gelatin solution ผลบวกคือเกิดตะกอนขุ่นขาว
- สารละลาย 1% $FeCl_3$ ผลบวกคือ สีน้ำเงินเป็น Hydrolysed tannins*
  สีเขียวเป็น Condense tannins**
- สารละลาย Lead acetate ผลบวกคือเกิดตะกอนขาว
- สารละลาย Bromine water ผลบวกคือตะกอนสีเหลืองอ่อน

*Hydrolysed tannins เป็นแทนนินที่สามารถสลายตัวได้ด้วยน้ำ และสามารถถูก hydrolyzed ด้วยกรดหรือเอนไซม์ Tannase ได้กรดและน้ำตาล

**Condense tannins เป็นแทนนินที่สลายตัวและละลายน้ำได้ยากกว่า Hydrolysed tannins เนื่องจากในโครงสร้างไม่มีน้ำตาล เมื่อ Condense tannins ถูกกรดจะเกิดการ polymerized ได้สารสีแดงที่ไม่ละลายน้ำชื่อ Phlobaphenes/Tannin red

การตัดสินว่าตัวอย่างใดมี Tannins จะต้องเกิดผลบวกกับ reagents ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านเมตาบอลีซึมของไขมันโดยวัดการยับยั้งการทำงานเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส

ในเบื้องต้นคัดเลือกเพื่อคัดเลือกตัวอย่างที่สามารถยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสได้เท่ากับหรือมากกว่า 70 % โดยใช้ orlistat เป็น positive control ซึ่งทำการทดสอบโดยใช้ *p*-nitrophenyl laurate เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยา และบ่มด้วยเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส หรือมีการผสมสารสกัด (ความเข้มข้นสุดท้ายคือ 1mg/ml) ที่ต้องการทดสอบฤทธิ์ร่วมด้วย ที่ 37 องศา เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 405 nm.

5. เปรียบเทียบความแรงของฤทธิ์ในการต้านเมตาบอลีซึมของไขมัน

ตัวอย่างที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสที่มากกว่าหรือเท่ากับ 70 % ถูกนำมาเตรียมให้มีความเข้มข้นต่างๆเพื่อหาค่า IC_{50} โดยพิจารณาจากกราฟที่แสดงความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาและ %การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสที่ความเข้มข้นนั้น

6. วิเคราะห์ผลเพื่อคัดเลือกพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพนำไปค้นหาสารสำคัญในการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสต่อไป

ผลการศึกษา

การยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดพืชสมุนไพรตัวอย่าง

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดพืชสมุนไพรตัวอย่างจำนวน 54 ตัวอย่าง โดยการนำสารสกัดพืชตัวอย่างความเข้มข้น 21 mg/ml ใน 20% DMSO (ความเข้มข้นสุดท้าย 1 mg/ml) มาทดสอบ พบว่า สารสกัดพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) เมื่อใช้สารละลายมาตรฐาน Orlistat เป็นตัวควบคุมผลบวก ดังตารางที่ 7 และ 8 โดยสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีค่า % inhibition มากกว่าหรือเท่ากับ 70% มีจำนวน 11 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 2 และสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีค่า % inhibition น้อยกว่า 70% มีจำนวน 43 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 3

การตรวจสอบสารประกอบแทนนินในสารสกัดพืชสมุนไพรตัวอย่าง

ทำการทดสอบหาสารประกอบแทนนินในสารสกัดพืชสมุนไพรตัวอย่างจำนวน 54 ตัวอย่าง โดยนำมาทดสอบกับสารรีเอเจนต์ 4 ชนิด คือ Gelatin solution, Bromine water, 1% Ferric chloride ($FeCl_3$) และ Lead acetate ($Pb(OAc)_2$) เนื่องจากสารประกอบแทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ จึงอาจมีผลทำให้เอนไซม์ไลเปสในปฏิกิริยาเสื่อมสภาพไป จึงได้ผลการทดสอบที่เป็นผลบวกลวง (False positive)

ตารางที่ 2 สารสกัดพืชสมุนไพรที่มีค่า % inhibition ≥ 70% และผลการทดสอบแทนนิน

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	% inhibition		แทนนิน
				average	SD	
2	แจง	*Maerua siamensis*	เปลือก	84.60	3.60	-
9	ลำบิดดง	*Diospyros filipendula*	ใบ	73.56	7.18	-
13	ข้ามะขามป้อม	*Phyllanthus collinsae*	ใบ	93.71	1.43	+
15	ถอบแถบเครือ	*Connarus semidecandrus*	ใบ	89.30	0.55	+
23	พะวา	*Garcinia speciosa*	ใบ	93.91	0.46	+
25	พรวด	*Memecylon lilacinum*	ใบ	94.10	1.78	+
34	เกด	*Manilkara hexandra*	ใบ	100.14	0.31	+
43	พลองใบเล็กหนา	*Memecylon edule*	ใบ	90.41	2.26	-
47	ฝาดดอกขาว	*Lumnnitzera racemosa*	ใบ	98.70	1.14	+
51	ขันทองพยาบาท	*Suregada multiflorum*	ใบ	84.41	4.48	-
53	มะค่าแต้	*Sindora siamensis*	ใบ	88.76	1.98	-

ตารางที่ 3 ผลการยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปส และการตรวจพบสารประกอบแทนนินของสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีค่า % inhibition < 70%

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	% inhibition		แทนนิน
				average	SD	
1	แจง	*Maerua siamensis*	ใบ	-77.49	2.41	-
3	กระเจียน	*Polyalthia cerasoides*	ใบ	11.74	5.87	-
4	กระเจียน	*Polyalthia cerasoides*	กิ่ง	63.75	37.17	-
5	ผกากรอง	*Lantana camar*	เถา	-131.89	18.95	-
6	มะลิวัลย์ดง	*Jasminum nobile*	ใบ	-161.23	13.08	-
7	มะลิวัลย์ดง	*Jasminum nobile*	กิ่ง	-83.10	10.26	-
8	หนามพรม	*Carissa cochinchinensis*	ใบ,กิ่ง	-319.16	10.34	-
10	ก้างปลา	*Cleistanthus hirsutulus*	ใบ	54.65	3.09	-
11	จำปีแขก	*Pterospermum littorale*	ใบ	32.45	7.69	+
12	พลับพลา	*Microcos tomentosa*	ใบ	-158.20	12.99	-
14	ชำมะเลียงป่า	*Lepisanthes fruticosa*	ใบ	-141.77	52.83	-
16	สวองตีนนก	*Vitex pinnata*	ใบ	-142.34	5.41	-
17	ช้างน้าว	*Ochna integerrina*	ใบ	69.43	2.02	+
18	มะนาวผี	*Atalantia monophylla*	ใบ	-133.18	3.61	-
19	มะเกลือกา	*Diospyros rubra*	ใบ	-182.94	15.94	-
20	นมแมวป่า	*Cyathostemma micranthum*	เถา	-41.78	0.63	+
21	นมแมวป่า	*Cyathostemma micranthum*	ใบ	-28.11	2.24	-
22	มวกกอ	*Olea salicifolia*	ใบ	-59.00	9.85	-
24	โปร่งกิ่ว	*Dasymaschalon lomentaceum*	ใบ	-91.57	9.19	-
26	เขยตาย	*Glycosmis pentaphylla*	ใบ	-46.22	8.92	+
27	หญ้า Stevia	*Stevia rebandiana*	ใบ	-124.09	17.98	-
28	หมอน้อย	*Clausena excavate*	ใบ	-96.27	4.37	-
29	แสม	*Avicennia marina*	ใบ	-127.80	15.18	-
30	ข่อยหิน	*Gardenia collinsae*	ใบ	-114.79	7.42	-
31	ยอป่า	*Morinda coreia*	ใบ	-99.56	4.60	-

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	% inhibition		แทนนิน
				average	SD	
32	คันทรง	*Colubrina asiatica*	ใบ	-41.56	7.11	-
33	ขี้หนอน	*Zolling dongnaiensis*	ผล	-173.07	12.23	+
35	มะกา	*Bridelia ovate*	ผล	64.83	6.58	+
36	ประยงค์ใบใหญ่	*Aglaia odorata*	ใบ	-185.82	25.55	-
37	ตำลึง	*Coccinia grandis*	เถา	-51.50	7.72	-
38	สำมะงา	*Clerodendrum inerme*	ใบ	39.15	7.89	+
39	พลองใบใหญ่	*Memecylon ovatum*	ใบ	-221.28	32.22	-
40	พลองใบเล็กบาง	*Memecylon panciflorum*	ใบ	-200.55	7.07	-
41	ตะแบกเกรียบ	*Lagerstroemia balansae*	ใบ	-83.31	13.11	+
42	เม่าเหล็ก	*Diospyros toposia*	ใบ	-56.12	14.99	-
44	แข้งไก่	*Megalaspis cordyla*	ใบ	34.17	5.23	+
45	พลับดง	*Diospyros bejaudii*	ใบ	-22.70	15.09	-
46	ปอแดง	*Sterculia guttata*	ใบ	-60.64	6.73	-
48	มะพลับใหญ่	*Diospyros malabarica*	ใบ	20.33	16.15	-
49	เขลง	*Dialium cochinchinense*	แก่น	-88.85	3.71	-
50	เขลง	*Dialium cochinchinense*	ใบ	-174.45	3.92	-
52	มะกล่ำตาหนู	*Abrus precatorius*	ใบ	-65.79	13.40	-
54	กะพ้อ	*Licuala spinosa*	ใบ	-104.35	5.49	-

หมายเหตุ

\+ หมายถึง ให้ผลบวกในการทดสอบแทนนิน

\- หมายถึง ให้ผลลบในการทดสอบแทนนิน

การตรวจสอบหาความแรงของการยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดพืชสมุนไพร

จากการทดสอบหาค่า IC_{50} ของสารสกัดพืชสมุนไพรจำนวน 11 ตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสได้มากกว่าหรือเท่ากับ 70 % ในความเข้มข้นของสารสกัด 21 mg/ml (ความเข้มข้นสุดท้าย

1 mg/ml) โดยการนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายต่างๆ และนำมาทดสอบ พบว่า สารสกัดพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ มีค่า IC_{50} ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่า IC_{50} ของสารสกัดพืชสมุนไพรจำนวน 11 ตัวอย่าง

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	IC_{50} (mg/ml)
2	แจง	*Maerua siamensis*	เปลือก	0.69
9	ลำบิดดง	*Diospyros filipendula*	ใบ	0.76
13	ข้ามะขามป้อม	*Phyllanthus collinsae*	ใบ	0.16
15	ถอบแถบเครือ	*Connarus semidecandrus*	ใบ	0.54
23	พะวา	*Garcinia speciosa*	ใบ	0.58
25	พรวด	*Memecylon lilacinum*	ใบ	0.53
34	เกด	*Manilkara hexandra*	ใบ	0.44
43	พลองใบเล็กหนา	*Memecylon edule*	ใบ	0.92
47	ฝาดดอกขาว	*Lumninitzera racemosa*	ใบ	0.67
51	ขันทองพยาบาท	*Suregada multiflorum*	ใบ	0.14
53	มะค่าแต้	*Sindora siamensis*	ใบ	0.49

หมายเหตุ

ค่า IC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นที่สารสกัดพืชสมุนไพรสามารถยับยั้งเอนไซม์ไลเปสได้ 50% โดยในที่นี้เป็นค่าความเข้มข้นสุดท้าย

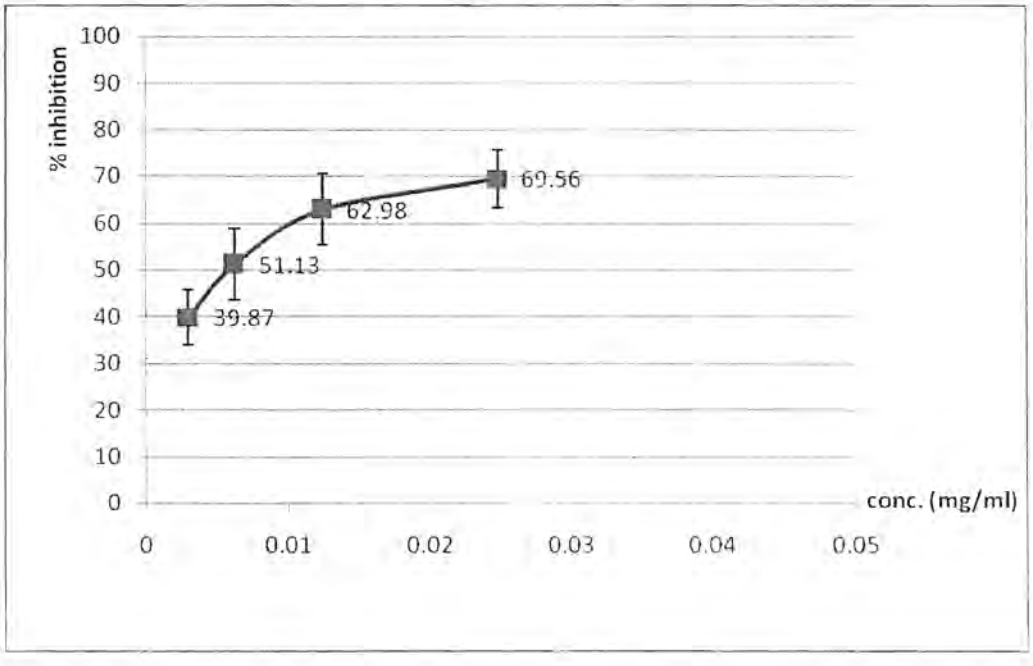
ผลการหา IC_{50}ของสารมาตรฐาน Orlistat (Positive control)

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสของสารมาตรฐาน Orlistat ซึ่งใช้เป็นกลุ่มควบคุมผลบวก (Positive control) โดยการนำสารมาตรฐาน Orlistat มาเจือจางให้ได้เป็นความเข้มข้นต่างๆ เพื่อหาค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่ยับยั้งได้ 50% (IC_{50}) ได้ผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบสารมาตรฐาน Orlistat (Positive control) ในความเข้มข้นสุดท้ายต่างๆ

% inhibition / ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	1	2	3	4	average	SD
0.00298	56.39	46.37	34.77	38.46	39.87	5.93
0.00619	65.77	59.80	48.02	45.56	51.13	7.61
0.01238	74.76	68.03	66.76	54.16	62.98	7.67
0.02476	77.61	68.59	76.16	63.93	69.56	6.17

รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของสารมาตรฐาน Orlistat กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ความเข้มข้นสุดท้ายของสาร Orlistat ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไลเปสได้ 50% (IC_{50}) คือ 0.006 mg/ml หรือ 6 µg/mL

สรุปและวิจารณ์ผล

การคัดกรองฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสจากสารสกัดพืชสมุนไพรใน 95% เอทานอลทั้งหมด 54 ตัวอย่างได้ใช้ *p*-nitrophenyl laurate เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยา ซึ่งในปฏิกิริยา เอนไซม์ไลเปสทำหน้าที่เปลี่ยนแปลง *p*-nitrophenyl laurate ให้เป็น *p*-nitrophenol และ laurate ซึ่ง *p*-nitrophenol เป็นสารที่มีสีเหลือง ฉะนั้นจึงทำให้สารละลายมีสีเหลืองเข้มขึ้นอันเป็นผลมาจากปริมาณของ *p*-nitrophenol ในปฏิกิริยา และ *p*-nitrophenol ยังสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 405 nm ได้ จึงสามารถวัดความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดได้ โดยการนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปที่ความยาวคลื่น 405 nm และมีการควบคุมการรบกวนจากสีของสารสกัดพืชสมุนไพรด้วย

ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสใช้สารสกัดพืชสมุนไพรที่ความเข้มข้น 21 mg/ml หรือความเข้มข้นสุดท้าย 1 mg/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงเพียงพอที่จะสามารถพบฤทธิ์การยับยั้งได้ ถึงแม้ความเข้มข้นที่เลือกใช้ในการคัดกรองเบื้องต้นนี้ค่อนข้างสูงแต่เป็นความเข้มข้นที่สามารถทำให้แน่ใจได้ว่าผลการทดสอบที่เป็นลบนั้น (% inhibition ต่ำกว่า 70) ไม่ได้เกิดจากการที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์ไม่เพียงพอ

Tannins เป็นสารประกอบที่สามารถทำให้โปรตีนเสียสภาพได้ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นปฏิกิริยาแบบไม่จำเพาะเจาะจง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ Tannins ในสารสกัดอาจจะไปทำลายเอนไซม์ไลเปสในปฏิกิริยา จึงได้ทำการทดสอบหาสารประกอบกลุ่มแทนนินในสารสกัดพืชสมุนไพรตัวอย่างด้วย โดยทดสอบด้วยสารรีเอเจนท์ 4 ชนิด คือ gelatin solution, bromine water, 1%$FeCl_3$ และ $Pb(OAc)_2$ และใช้ gallic acid เป็นตัวควบคุมผลบวก

สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกประการคือ ความเข้มข้นของตัวทำละลายสารสกัดก่อนนำไปทดลองหาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เนื่องจากมีการใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย ซึ่ง DMSO หากใช้ในปริมาณสูงจะมีผลทำลายชีวโมเลกุล โดยสารสกัดพืชสมุนไพรที่ใช้ทดสอบจะมีความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO น้อยกว่า 1% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดพิษในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และมีการควบคุมสภาพในการทดสอบฤทธิ์อื่นๆให้เหมาะสมและใกล้เคียงกับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์สิ่งมีชีวิตด้วย ได้แก่ การบ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37°C และการควบคุม pH ของปฏิกิริยา โดยใช้ Tris buffer

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดความเข้มข้นสุดท้าย 1 mg/ml ของพืชสมุนไพรตัวอย่างในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี บริเวณหมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี จำนวน 49 ต้น 54 ตัวอย่าง พบว่าสารสกัดจากพืชต้นเดียวกัน แต่สกัดมาจากส่วนของต้นที่ต่างกันอาจให้ผลการทดสอบฤทธิ์ที่แตกต่าง

กันไปได้ เช่น ต้นแจง (*Maerua siamensis*) ซึ่งสารสกัดส่วนเปลือกอยู่ในกลุ่มที่มีค่า % inhibition มากกว่าหรือเท่ากับ 70% ส่วนสารสกัดส่วนใบอยู่ในกลุ่มที่มีค่า % inhibition น้อยกว่า 70% เป็นต้น

นอกจากนี้ในสารสกัดบางตัวอย่างพบว่ามีค่า % inhibition น้อยกว่าศูนย์ อาจเนื่องมาจากว่าในสารสกัดมีสารประกอบอื่นที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 405 nm ได้เช่นเดียวกับ *p*-nitrophenol ร่วมกับความคลาดเคลื่อนในการทำการทดลอง หรือ อาจมีการเสื่อมสลายของสารเคมีในสารสกัดตัวอย่าง จึงทำให้ปริมาณของสารประกอบดังกล่าวในกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบ (Blank) มีมากกว่าในกลุ่มทดสอบ เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาค่า % inhibition จึงได้ค่าออกมาน้อยกว่าศูนย์

เมื่อนำสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีค่า % inhibition มากกว่าหรือเท่ากับ 70% ทั้ง 11 ตัวอย่างมาทำการหาค่า IC_{50} เพื่อทำการเปรียบเทียบความแรงในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปส พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 11 ตัวอย่างอยู่ในช่วง 0.1-1.0 mg/ml และเรียงลำดับตามความแรงในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสจากน้อยไปมากได้ ดังนี้ พลองใบเล็กหนา (ใบ) 0.92 mg/ml, ลำบิดดง (ใบ) 0.76 mg/ml, แจง (เปลือก) 0.69 mg/ml, ฝาดดอกขาว (ใบ) 0.67 mg/ml, พะวา (ใบ) 0.58 mg/ml, ถอบแถบเครือ (ใบ) 0.54 mg/ml, พรวด (ใบ) 0.53 mg/ml, มะค่าแต้ (ใบ) 0.49 mg/ml, เกด (ใบ) 0.44 mg/ml, ข้ามะขามป้อม (ใบ) 0.16 mg/ml และขันทองพยาบาท (ใบ) 0.14 mg/ml ซึ่งค่า IC_{50} ของสารละลายมาตรฐาน orlistat มีค่าเท่ากับ 0.006 mg/ml แสดงให้เห็นว่าสารสกัดพืชสมุนไพรเหล่านี้มีความแรงน้อยกว่าสารละลายมาตรฐาน orlistat แต่อย่างไรก็ตามพืชสมุนไพรเหล่านี้ยังคงมีความน่าสนใจในการนำไปศึกษา หรือสกัดหาสารสำคัญในพืชที่ออกฤทธิ์ดังกล่าวต่อไป โดยการทำ bioassay-guided fractionation จากนั้นจึงนำส่วน fraction ที่ทดสอบได้ว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสมาสกัดสารให้ได้เป็นสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Ballinger, A. and Peikin, S,R. (2002). Orlistat: its current status as an anti-obesity drug. *Eur. J. Pharmacol.* 404: 109 – 117.
2. Birari, R.B. and Bhutani, K.K. (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discov. Today.* 12: 879 – 889.
3. Gholamhoseinian, A., Shahouzehi, B. and Sharifi-far, F. (2010). Inhibitory effect of some plant extracts on pancreatic lipase. *Int. J. Pharmacol.* 6: 18 – 24.
4. Han, L.K., Kimura, Y., Kawashima, M., Takaku, T., Taniyama, T., Hayashi, T., Zheng, Y.N. and Okuda, H. (2001). Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. *Int. J. Obesity.* 25: 1459 – 1464.
5. Hochuli, E., Kupfer, E., Maurer, R., Meister, W., Mercadal, Y. and Schmidt, K. (1987). Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase produced by streptomyces toxytricini. II. Chemistry and structure elucidation. *J. Antibiot.* 40: 1086 – 1091.
6. 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*. *Arch. Pharm. Res.* 31: 666 – 670.
7. Jurenka, J. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): A review. *Altern. Med. Rev.* 13: 128 – 144.
8. Lei, F., Zhang, X.N., Wang, W., Xing, D.M., Xie, W.D., Su, H. and Du, L.J. (2007). Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. *Int. J. Obesity.* 31: 1023 – 1029.
9. McDougall, G.J., Kulkarni, N.N. and Stewart, D. (2009). Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chem.* 115: 193 – 199.
10. 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. *J Agr. Food Chem.* 53: 4593 – 4598.

11. Ninomiya, K., Matsuda, H., Shimoda, H., Nishida, N., Kasajima, N., Yoshino, T., Morikawa, T. and Yoshikawa M. (2004). Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14: 1943 – 1946.
12. Oishi, Y., Sakamoto, T., Udagawa, H., Taniguchi, H., Kobayashi-Hattori, K., Ozawa, Y. and takita, T. (2007). Inhibition of increases in blood glucose and serum neutral fat by *Momordica charantia* saponin fractions. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71: 735 – 740.
13. Satouchi, K., Hirano, K., Fujino, O., Ikoma, M., Tanaka, T. and Kitamura, K. (1998) Lipoxygenase-1 from soybean seed inhibiting the activity of pancreatic lipase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 1498 – 1503.
14. Sharma, N., Sharma, V.K. and Seo, S.Y. (2005). Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. *J. Ethnopharmacol.* 97: 453 – 456.
15. Weibel, E.K., Hadvary, P., Hochuli, E., Kupfer, E. and Lengsfeld, H. (1987). Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase produced by streptomyces toxytricini. I. Producing organism, fermentation, isolation and biological activity. *J. Antibiot.* 40: 1081 – 1085.
16. จุฑามณี สุทธิสีสังข์, เภสัชวิทยา เล่ม1. กรุงเทพ: นิวไทยมิตรการพิมพ์ จำกัด. 2539. 121-132.
17. นายแพทย์วิทยา ศรีดามา และ คณะ. โรคอ้วนและไขมันในเลือดผิดปกติ. *โรคต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม.* พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2544. 425 – 476.

ภาคผนวก

น้ำหนักสารสกัดพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ

ตารางที่ 6 น้ำหนักแห้งพืชสมุนไพร และสารสกัดพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	น้ำหนักแห้ง (g)	น้ำหนักสารสกัดแห้ง (g)
1	แจง	*Maerua siamensis*	ใบ	33.25	25.14
2	แจง	*Maerua siamensis*	เปลือก	48.51	29.93
3	กระเจียน	*Polyalthia cerasoides*	ใบ	22.21	30.66
4	กระเจียน	*Polyalthia cerasoides*	กิ่ง	51.95	28.82
5	ผกากรอง	*Lantana camarฟ*	เถา	17.29	23.21
6	มะลิวัลย์ดง	*Jasminum nobile*	ใบ	54.57	45.56
7	มะลิวัลย์ดง	*Jasminum nobile*	กิ่ง	111.62	17.13
8	หนามพรม	*Carissa cochinchinensis*	ใบ , กิ่ง	31.99	29.33
9	ลำบิดดง	*Diospyros filipendula*	ใบ	15.22	17.2
10	ก้างปลา	*Cleistanthus hirsutulus*	ใบ	22.37	27.71
11	จำปีแขก	*Pterospermum littorale*	ใบ	33.14	38.53
12	พลับพลา	*Microcos tomentosa*	ใบ	22.26	22.01
13	ข้ามะขามป้อม	*Phyllanthus collinsae*	ใบ	21.35	30.30
14	ชำมะเลียงป่า	*Lepisanthes fruticosa*	ใบ	25.63	26.69
15	ถอบแถบเครือ	*Connarus semidecandrus*	ใบ	175.74	59.90
16	สวองตีนนก	*Vitex pinnata*	ใบ	19.31	32.94
17	ช้างน้าว	*Ochna integerrina*	ใบ	25.46	40.54
18	มะนาวผี	*Atalantia monophylla*	ใบ	22.40	21.74
19	มะเกลือกา	*Diospyros rubra*	ใบ	16.02	32.67
20	นมแมวป่า	*Cyathostemma micranthum*	เถา	81.30	27.10
21	นมแมวป่า	*Cyathostemma micranthum*	ใบ	10.99	17.54
22	มวกกอ	*Olea salicifolia*	ใบ	32.50	34.95
23	พะวา	Garcinia speciosa	ใบ	93.50	48.88

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	น้ำหนักแห้ง (g)	น้ำหนักสารสกัดแห้ง (g)
24	โปร่งกิ่ว	*Dasymaschalon lomentaceum*	ใบ	16.65	26.94
25	พรวด	*Memecylon lilacinum*	ใบ	45.60	31.51
26	เขยตาย	*Glycosmis pentaphylla*	ใบ	34.18	44.95
27	หญ้า Stevia	*Stevia rebandiana*	ใบ	41.60	23.20
28	หมอน้อย	*Clausena excavate*	ใบ	41.98	32.00
29	แสม	*Avicennia marina*	ใบ	75.95	49.62
30	ข่อยหิน	*Gardenia collinsae*	ใบ	53.94	48.85
31	ยอป่า	*Morinda coreia*	ใบ	101.27	45.56
32	คันทรง	*Colubrina asiatica*	ใบ	43.74	48.56
33	ขี้หนอน	*Zolling dongnaiensis*	ผล	19.00	31.59
34	เกด	*Manilkara hexandra*	ใบ	105.45	80.38
35	มะกา	*Bridelia ovate*	ผล	145.91	66.33
36	ประยงค์ใบใหญ่	*Aglaia odorata*	ใบ	120.37	42.43
37	ตำลึง	*Coccinia grandis*	เถา	324.91	86.80
38	สำมะงา	*Clerodendrum inerme*	ใบ	57.90	40.38
39	พลองใบใหญ่	*Memecylon ovatum*	ใบ	53.99	26.58
40	พลองใบเล็กบาง	*Memecylon paniflorum*	ใบ	30.91	29.99
41	ตะแบกเกรียบ	*Lagerstroemia balansae*	ใบ	12.01	19.57
42	เม่าเหล็ก	*Diospyros toposia*	ใบ	22.20	42.34
43	พลองใบเล็กหนา	*Memecylon edule*	ใบ	407.62	205.91
44	แข้งไก่	*Megalaspis cordyla*	ใบ	20.39	38.81
45	พลับดง	*Diospyros bejaudii*	ใบ	27.19	29.94
46	ปอแดง	*Sterculia guttata*	ใบ	86.62	56.20
47	ฝาดดอกขาว	*Lumninitzera racemosa*	ใบ	231.98	80.75
48	มะพลับใหญ่	*Diospyros malabarica*	ใบ	38.99	30.59
49	เขลง	*Dialium cochinchinense*	แก่น	127.50	39.93

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	น้ำหนักแห้ง (g)	น้ำหนักสารสกัดแห้ง (g)
50	เขลง	*Dialium cochinchinense*	ใบ	24.73	34.76
51	ขันทองพยาบาท	*Suregada multiflorum*	ใบ	440.37	116.34
52	มะกล่ำตาหนู	*Abrus precatorius*	ใบ	7.40	15.07
53	มะค่าแต้	*Sindora siamensis*	ใบ	74.60	36.36
54	กะพ้อ	*Licuala spinosa*	ใบ	59.30	65.02

ผลการทดสอบสารกลุ่มแทนนิน (Tannins) ในสารสกัดพืชสมุนไพร

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบสารกลุ่มแทนนินในสารสกัดพืชสมุนไพรตัวอย่างจำนวน 54 ตัวอย่าง

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ส่วนที่ใช้	การทดสอบ Tannins				
			Gelatin solution	Bromine water	1%$FeCl_3$	$Pb(OAc)_2$	สรุป
1	แจง	ใบ	-	-	-	-	-
2	แจง	เปลือก	-	-	-	+	-
3	กระเจียน	ใบ	-	-	+	-	-
4	กระเจียน	กิ่ง	-	-	+	-	-
5	ผกากรอง	เถา	-	-	+	-	-
6	มะลิวัลย์ดง	ใบ	-	-	+	-	-
7	มะลิวัลย์ดง	กิ่ง	-	-	-	-	-
8	หนามพรม	ใบ,กิ่ง	-	-	+	-	-
9	ลำบิดดง	ใบ	-	-	+	-	-
10	ก้างปลา	ใบ	-	-	+	-	-
11	จำปีแขก	ใบ	+	-	+	+	+
12	พลับพลา	ใบ	-	-	-	-	-
13	ข้ามะขามป้อม	ใบ	+	-	+	+	+
14	ชำมะเลียงป่า	ใบ	-	-	-	-	-
15	ถอบแถบเครือ	ใบ	+	-	-	+	+
16	สวองตีนนก	ใบ	-	-	-	-	-
17	ช้างน้าว	ใบ	-	-	+	+	+
18	มะนาวผี	ใบ	-	-	-	-	-
19	มะเกลือกา	ใบ	-	-	-	-	-
20	นมแมวป่า	เถา	+	-	-	+	+
21	นมแมวป่า	ใบ	-	-	-	-	-
22	มวกกอ	ใบ	-	-	-	-	-
23	พะวา	ใบ	+	-	-	+	+
24	โปร่งกิ่ว	ใบ	-	-	-	-	-

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ส่วนที่ใช้	การทดสอบ Tannins				
			Gelatin solution	Bromine water	1%$FeCl_3$	$Pb(OAc)_2$	สรุป
25	พรวด	ใบ	+	-	-	+	+
26	เขยตาย	ใบ	+	-	-	+	+
27	หญ้า Stevia	ใบ	+	-	-	-	-
28	หมอน้อย	ใบ	+	-	-	-	-
29	แสม	ใบ	-	-	-	-	-
30	ข่อยหิน	ใบ	+	-	-	-	-
31	ยอป่า	ใบ	+	-	-	-	-
32	คันทรง	ใบ	-	-	-	-	-
33	ขี้หนอน	ผล	+	-	+	+	+
34	เกด	ใบ	+	-	+	+	+
35	มะกา	ผล	+	-	+	+	+
36	ประยงค์ใบใหญ่	ใบ	+	-	-	-	-
37	ตำลึง	เถา	-	-	-	-	-
38	สำมะงา	ใบ	+	-	+	+	+
39	พลองใบใหญ่	ใบ	-	-	-	-	-
40	พลองใบเล็กบาง	ใบ	+	-	-	-	-
41	ตะแบกเกรียบ	ใบ	+	-	+	+	+
42	เม่าเหล็ก	ใบ	-	-	-	-	-
43	พลองใบเล็กหนา	ใบ	-	-	-	-	-
44	แข้งไก่	ใบ	-	-	+	+	+
45	พลับดง	ใบ	-	-	-	-	-
46	ปอแดง	ใบ	-	-	-	-	-
47	ฝาดดอกขาว	ใบ	+	-	+	-	+
48	มะพลับใหญ่	ใบ	-	-	-	-	-
49	เขลง	แก่น	-	-	-	-	-

หมายเลข	ชื่อสามัญ	ส่วนที่ใช้	การทดสอบ Tannins				
			Gelatin solution	Bromine water	1%$FeCl_3$	$Pb(OAc)_2$	สรุป
50	เขลง	ใบ	-	-	-	-	-
51	ขันทองพยาบาท	ใบ	-	-	-	-	-
52	มะกล่ำตาหนู	ใบ	-	-	-	-	-
53	มะค่าแต้	ใบ	+	-	-	-	-
54	กะพ้อ	ใบ	-	-	-	-	-
Control	Gallic acid	-	+	-	+	+	+

หมายเหตุ

\+ หมายถึง ให้ผลบวกในการทดสอบ

\- หมายถึง ให้ผลลบในการทดสอบ

การสรุปผล สรุปว่ามีสารประกอบกลุ่มแทนนิน เมื่อได้ผลบวกในการทดสอบมากกว่าหรือเท่ากับ 2 ใน 3 ของการทดสอบ โดยตัดผลการทดสอบด้วย Bromine water ออก เนื่องจากไม่พบการเกิดการเปลี่ยนแปลงของ Reagent แม้จะเป็น Gallic acid ที่เป็น Positive control

ผลบวกของการทดสอบด้วย Gelatin solution คือ เกิดตะกอนสีขาว

ผลบวกของการทดสอบด้วย Bromine water คือ เกิดตะกอนสีเหลืองอ่อน

ผลบวกของการทดสอบด้วย 1% $FeCl_3$ คือ เกิดสารละลาย หรือตะกอนสีเขียว หรือน้ำเงิน

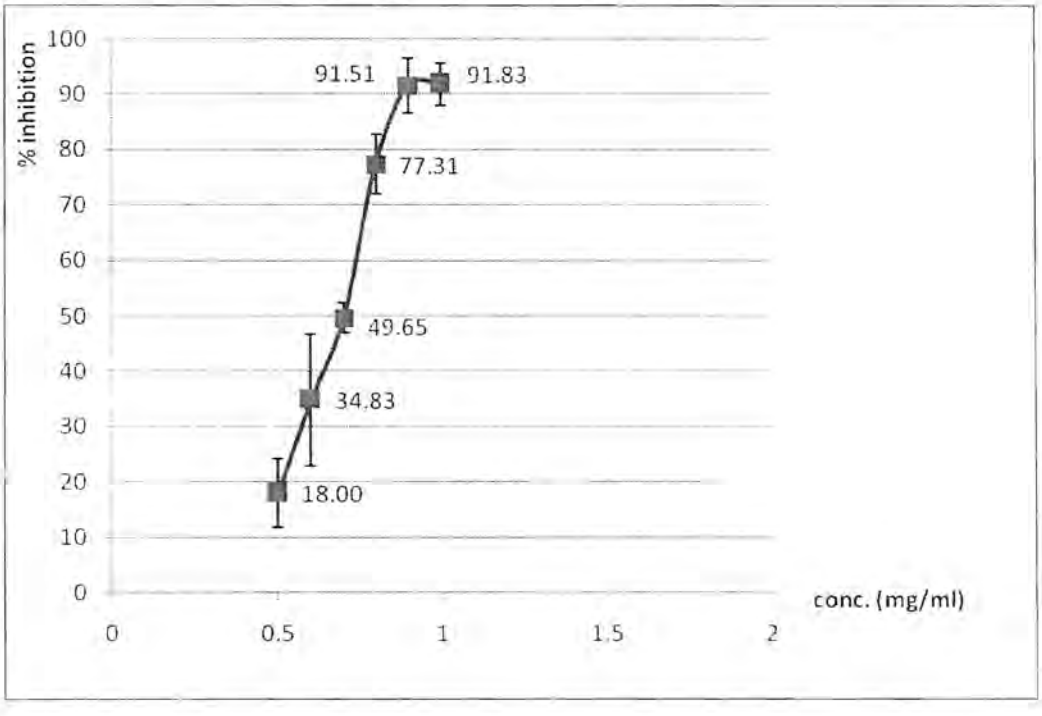
ผลบวกของการทดสอบด้วย $Pb(OAc)_2$ คือ เกิดตะกอนสีขาว

ผลการทดสอบหาค่า IC_{50} ของสารสกัดพืชสมุนไพร

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (2) สารสกัดแจง – เปลือก

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
1	93.42	87.52	94.56	91.83	3.78	0.69
0.9	86.53	96.57	91.43	91.51	5.02	
0.8	73.52	74.96	83.45	77.31	5.37	
0.7	47.83	52.79	48.32	49.65	2.73	
0.6	22.68	35.41	46.40	34.83	11.87	
0.5	17.68	11.89	24.43	18.00	6.28	

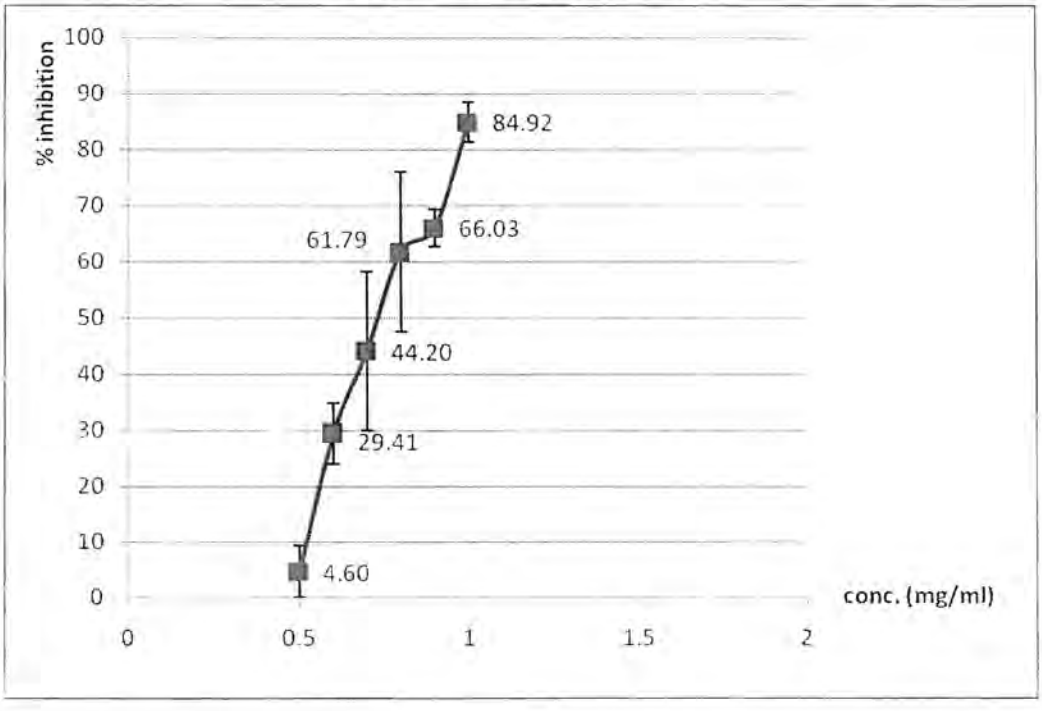
รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (2) สารสกัดแจง – เปลือก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (9) สารสกัดลำบิดดง – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition							IC_{50}
	1	2	3	4	5	average	SD	
1	84.23	80.25	88.69	86.50	93.45	84.92	3.56	0.76
0.9	41.33	72.97	75.06	74.77	80.77	66.03	3.38	
0.8	51.73	82.80	48.51	64.13	76.94	61.79	14.24	
0.7	46.16	61.38	42.35	26.91	55.07	44.20	14.10	
0.6	30.81	58.94	18.70	9.21	18.37	29.41	5.39	
0.5	22.92	19.52	-7.36	-16.70	-11.17	4.60	4.70	

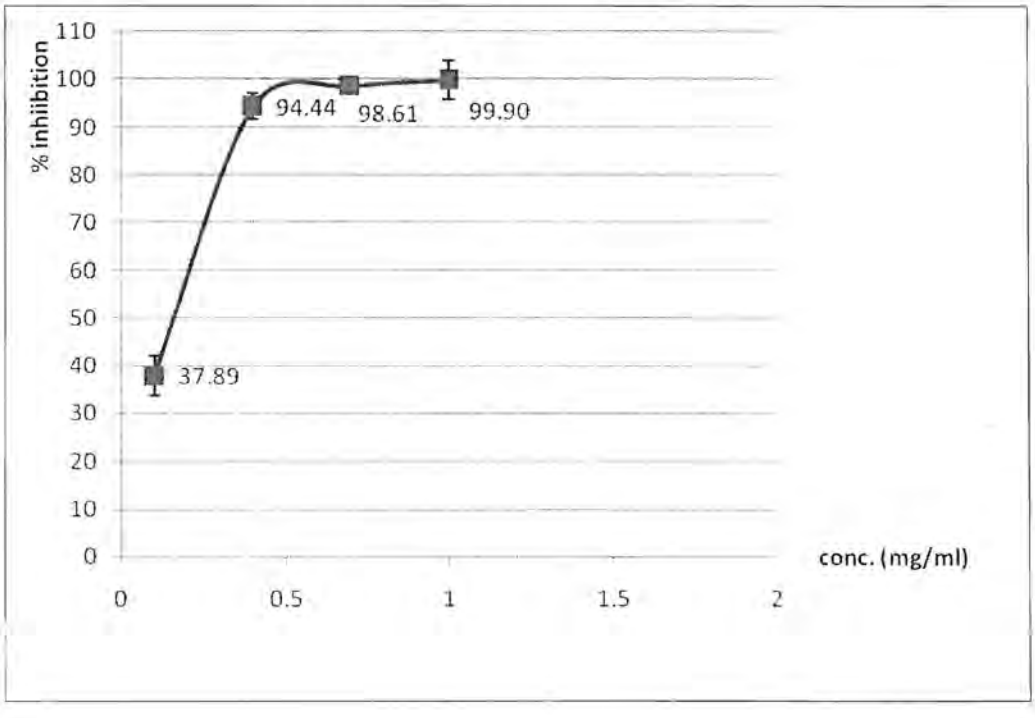
รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (9) สารสกัดลำบิดดง – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (13) สารสกัดข้ามะขามป้อม – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
1	96.78	98.54	104.37	99.90	3.97	0.16
0.7	97.24	100.21	98.37	98.61	1.50	
0.4	95.93	96.16	91.22	94.44	2.79	
0.1	36.76	34.39	42.51	37.89	4.18	

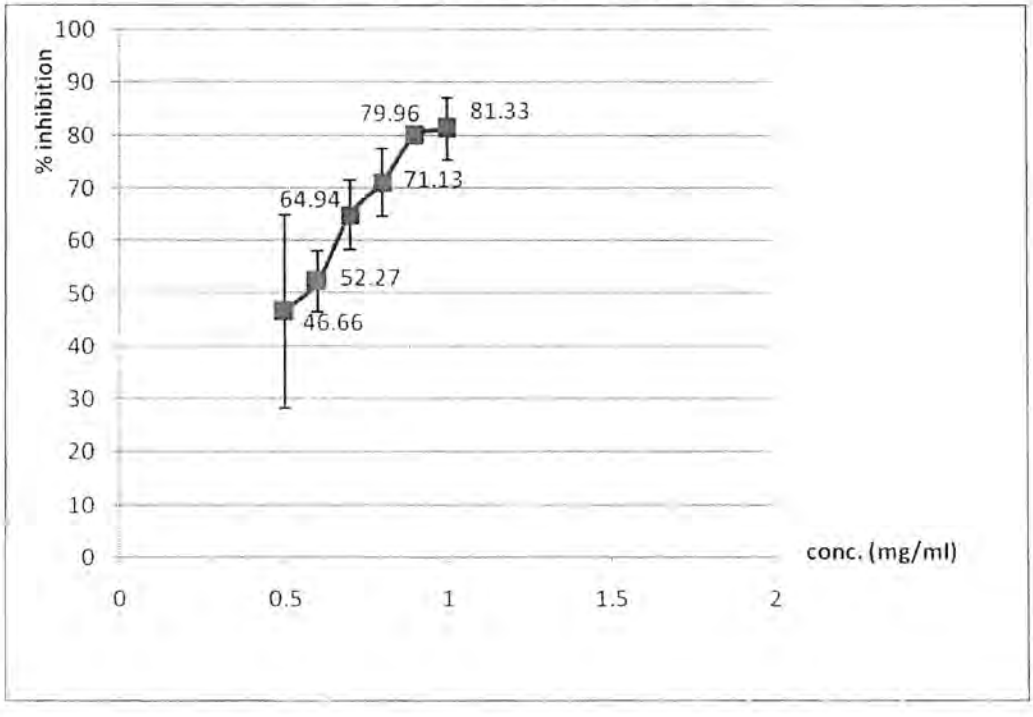
รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (13) สารสกัดข้ามะขามป้อม – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (15) สารสกัดถอบแถบเครือ – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
1	74.61	84.45	84.93	81.33	5.83	0.54
0.9	78.59	80.84	80.46	79.96	1.20	
0.8	72.47	64.21	76.72	71.13	6.36	
0.7	72.02	58.98	63.81	64.94	6.59	
0.6	56.76	45.70	54.34	52.27	5.82	
0.5	25.54	57.81	56.64	46.66	18.30	

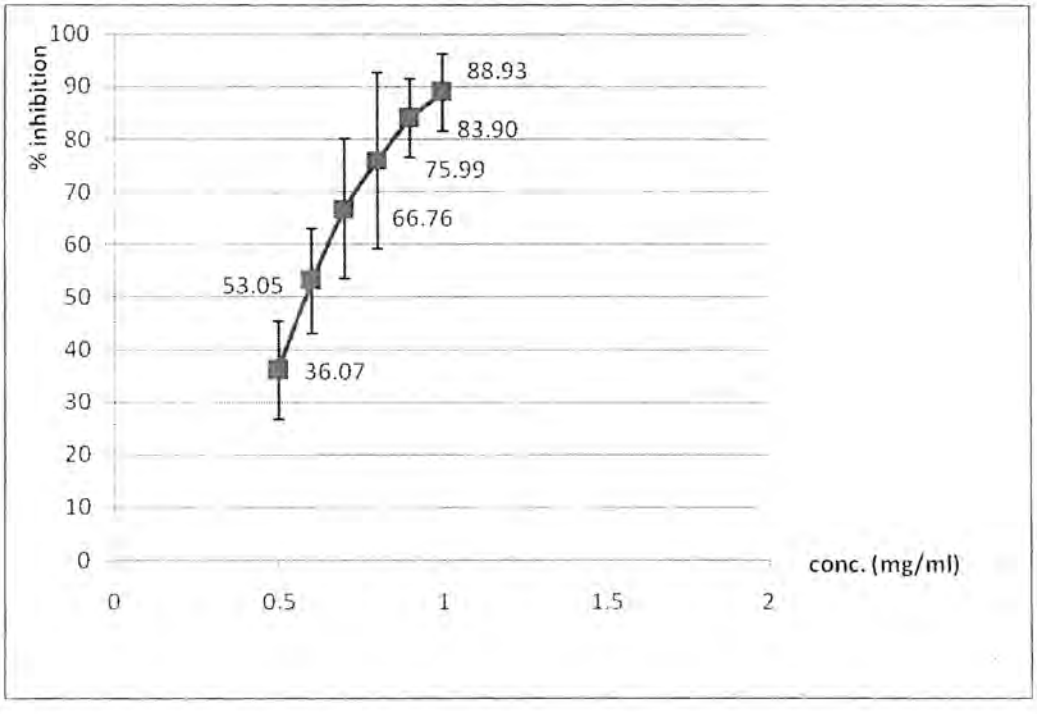
รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (15) สารสกัดถอบแถบเครือ – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 22 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (23) สารสกัดพะวา – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
1	81.52	89.00	96.25	88.93	7.36	0.58
0.9	76.28	84.18	91.24	83.90	7.48	
0.8	57.25	81.24	89.49	75.99	16.75	
0.7	51.37	73.99	74.92	66.76	13.34	
0.6	44.44	63.83	50.89	53.05	9.88	
0.5	25.47	39.85	42.89	36.07	9.30	

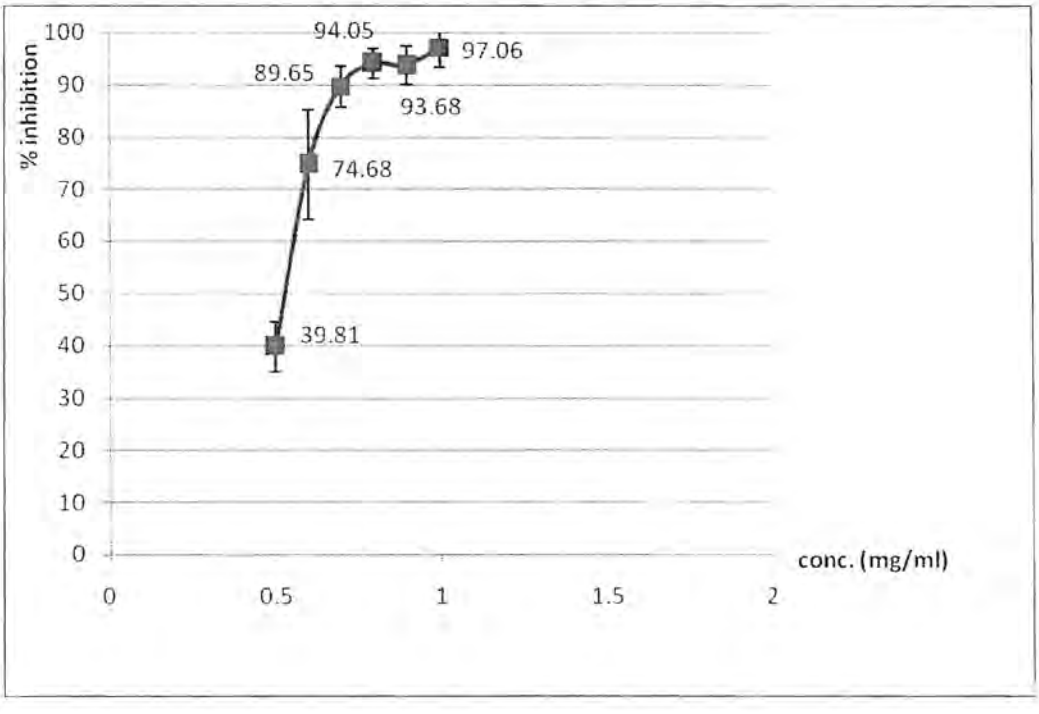
รูปที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (23) สารสกัดพะวา – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (25) สารสกัดพรวด – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
1	95.35	101.24	94.60	97.06	3.64	0.53
0.9	90.70	97.97	92.37	93.68	3.81	
0.8	96.99	93.66	91.50	94.05	2.77	
0.7	91.77	92.02	85.16	89.65	3.89	
0.6	68.47	86.74	68.84	74.68	10.45	
0.5	40.01	34.90	44.51	39.81	4.81	

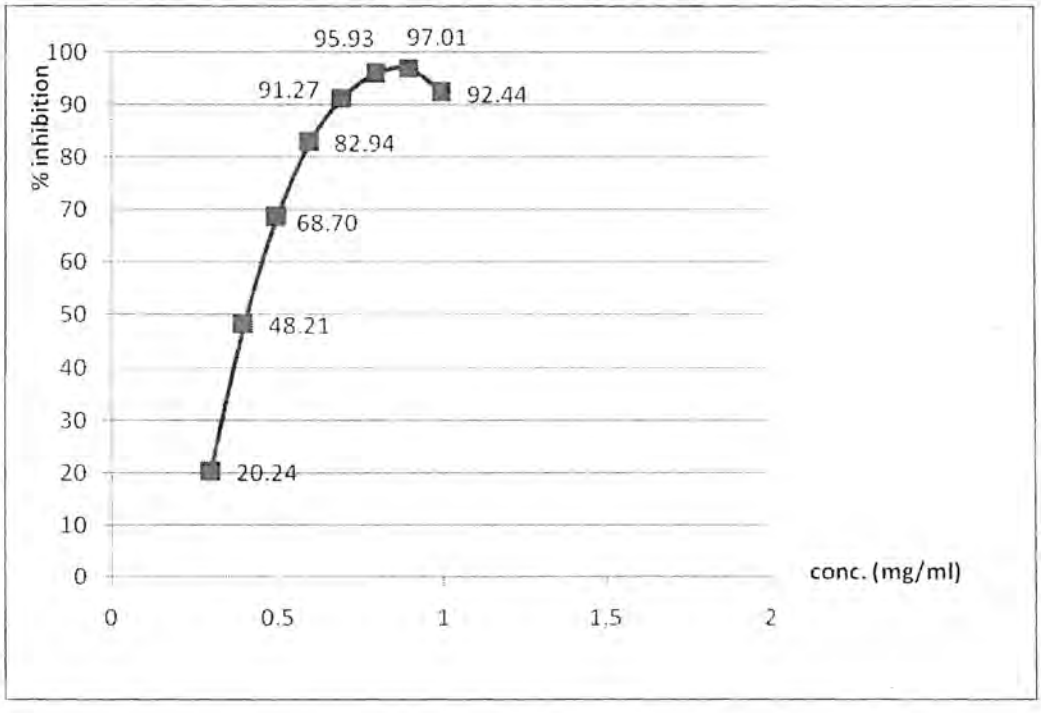
รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (25) สารสกัดพรวด – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (34) สารสกัดเกด – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition			IC_{50}
	1	2	average	
1	89.53	95.36	92.44	0.44
0.9	96.17	97.85	97.01	
0.8	94.27	97.59	95.93	
0.7	91.23	91.31	91.27	
0.6	81.27	84.60	82.94	
0.5	68.23	69.16	68.70	
0.4	38.96	57.47	48.21	
0.3	32.12	8.35	20.24	

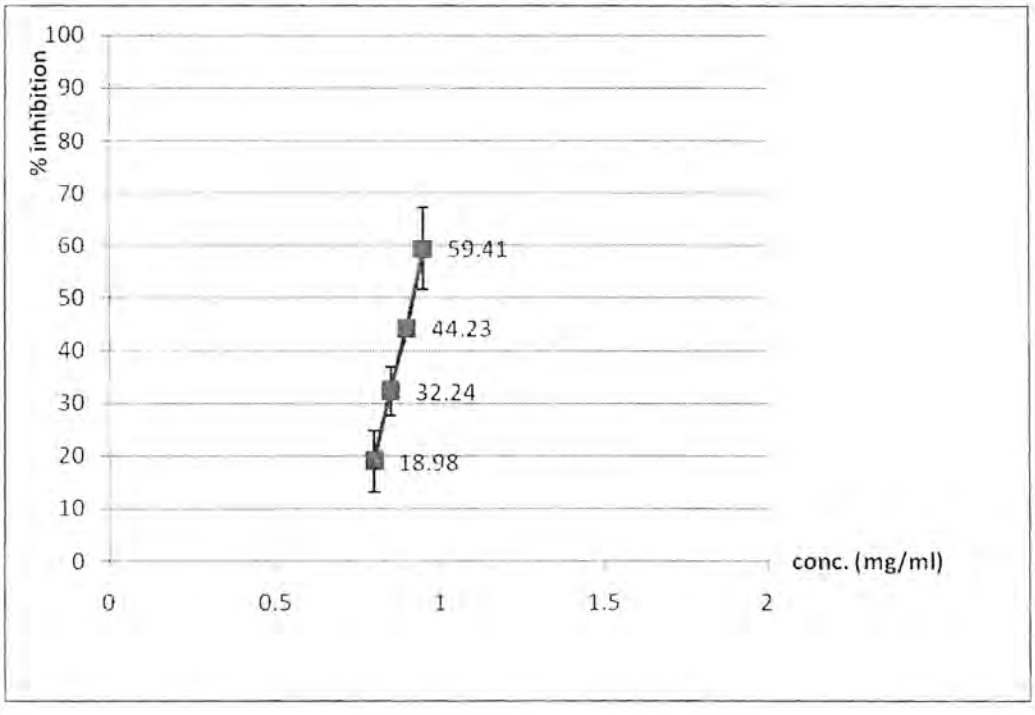
รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (34) สารสกัดเกด – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (43) สารสกัดพลองใบเล็กหนา – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
0.95	50.88	61.11	66.25	59.41	7.82	0.92
0.9	43.99	45.22	43.48	44.23	0.89	
0.85	29.51	29.72	37.49	32.24	4.55	
0.8	25.35	14.29	17.29	18.98	5.72	

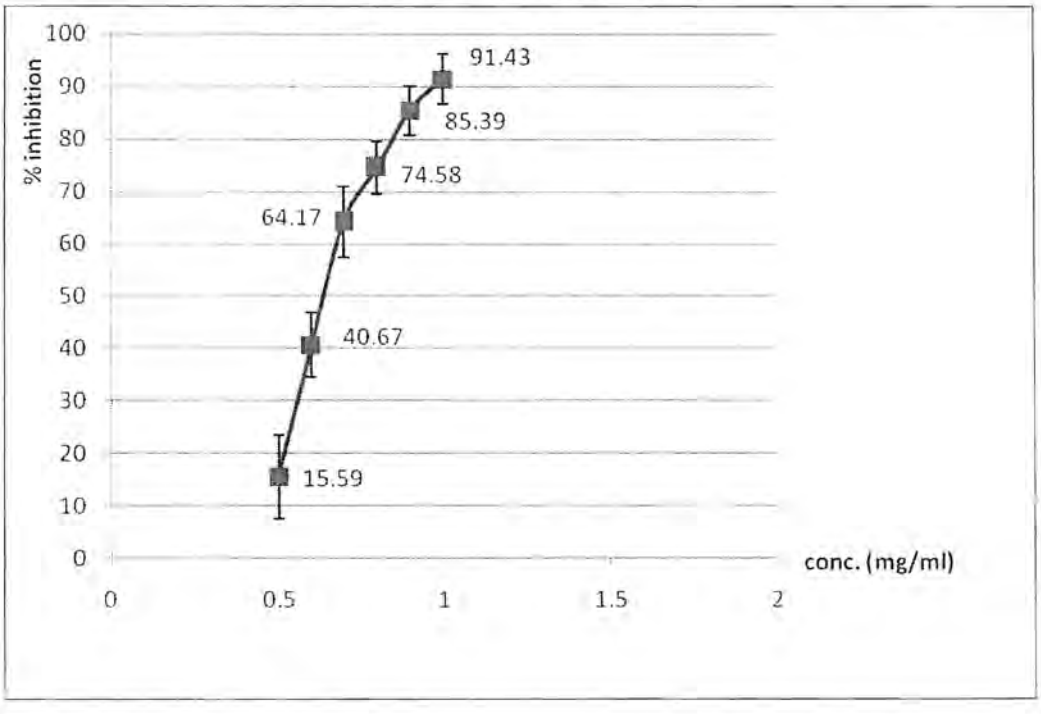
รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (43) สารสกัดพลองใบเล็กหนา – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 16 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (47) สารสกัดฝาดดอกขาว – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
1	85.82	93.97	94.50	91.43	4.87	0.67
0.9	81.01	85.05	90.11	85.39	4.56	
0.8	70.04	80.00	73.72	74.58	5.04	
0.7	56.59	66.23	69.69	64.17	6.79	
0.6	34.09	46.58	41.34	40.67	6.27	
0.5	16.27	23.13	7.36	15.59	7.91	

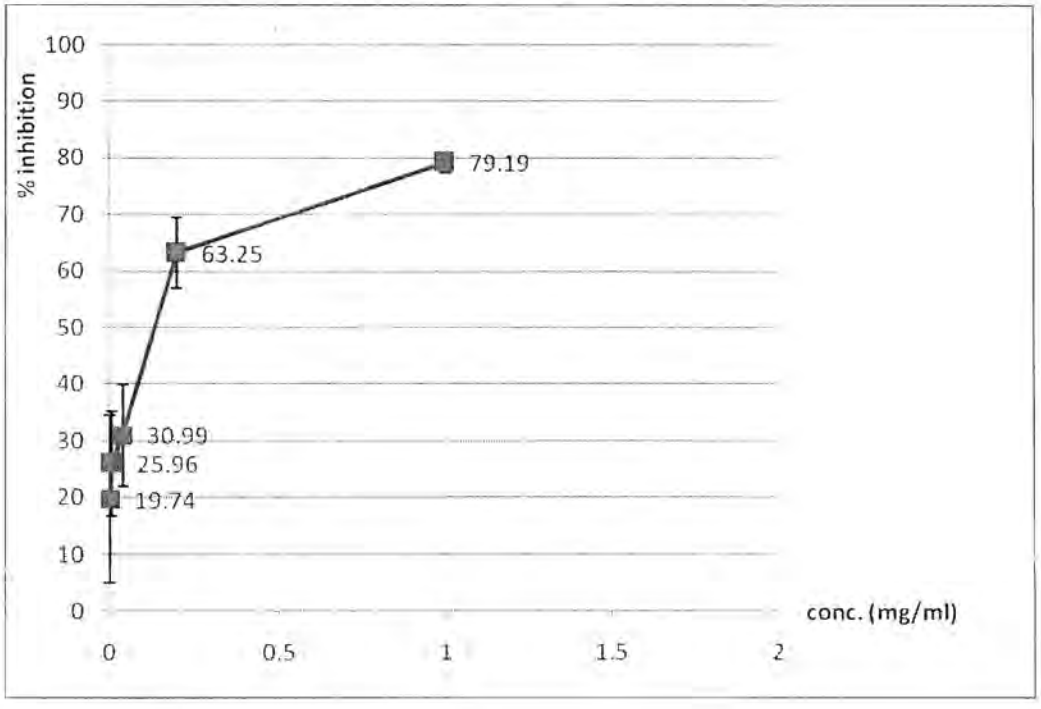
รูปที่ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (47) สารสกัดฝาดดอกขาว – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (51) สารสกัดขันทองพยาบาท – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
1	77.97	78.51	81.10	79.19	1.68	0.14
0.2	56.44	64.81	68.49	63.25	6.18	
0.04	23.11	29.09	40.79	30.99	8.99	
0.008	15.27	30.43	32.16	25.96	9.29	
0.0016	3.83	32.88	22.50	19.74	14.72	

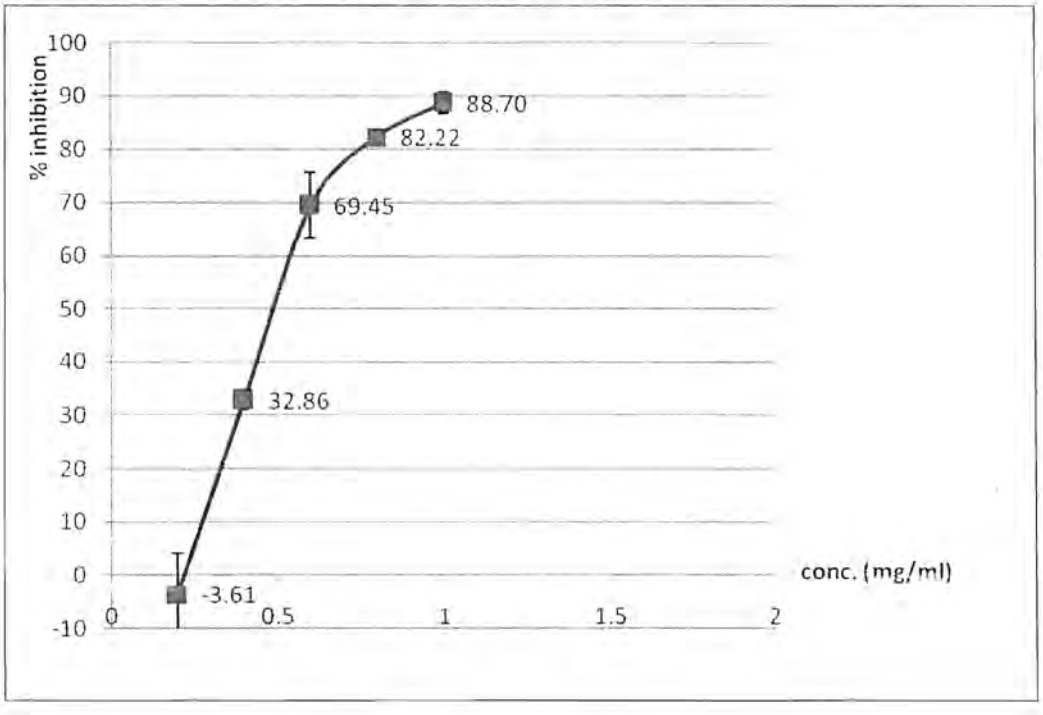
รูปที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (51) สารสกัดขันทองพยาบาท – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และค่า IC_{50} ของ (53) สารสกัดมะค่าแต้ – ใบ

ความเข้มข้นสุดท้าย (mg/ml)	% inhibition					IC_{50}
	1	2	3	average	SD	
1	86.66	88.83	90.60	88.70	1.97	0.49
0.8	83.11	81.38	82.18	82.22	0.87	
0.6	75.88	63.38	69.08	69.45	6.26	
0.4	33.64	30.98	33.97	32.86	1.64	
0.2	-12.72	0.88	1.02	-3.61	7.89	

รูป 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายของ (53) สารสกัดมะค่าแต้ – ใบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส



ประวัติคณะวิจัย

1. อ.ภญ.ดร. ทักษิณา ชวนอาษา

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางทักษิณา ชวนอาษา
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Taksina Chuanasa
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1021 01661 23 7
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ ดร.
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
   ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   โทรศัพท์ 02-218-8362
   โทรสาร 02-218-8357
   E-mail s_taksina@yahoo.com
5. ประวัติการศึกษา
   2540 ภ.บ. มหาวิทยาลัยศิลปากร
   2549 Ph.D. (Biochemistry) Purdue University ประเทศอเมริกา
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ เทคโนโลยีชีวภาพของพืช (Plant Biotechnology)
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ
   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: ชื่อแผนงานวิจัย -
   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย
   7.2.1 การคัดกรองสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ปกป้องดีเอ็นเอ ได้รับการสนับสนุนจาก ทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษก ประจำปี 2550
   7.2.2 การคัดกรองเบื้องต้นเพื่อหาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับชีวสังเคราะห์ของสาร renieramycins จากฟองน้ำทะเลสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ได้รับทุนนักวิจัยใหม่ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี 2551
   7.2.3 การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลีซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส" ได้รับการสนับสนุนจาก โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ประจำปี 2554

7.3 ผู้ร่วมวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

7.3.1 การศึกษาสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านไวรัส ได้รับทุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ประจำปี 2548

7.3.2 ศูนย์ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตในทะเลและราเอนโดไฟท์ ได้รับทุนจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปี 2549

7.3.3 การศึกษาพืชสมุนไพรไทยที่สร้างอัลคาลอยด์ต้านมะเร็ง: แคมโททีซิน ได้รับทุนวิจัยเชเรบอส ประจำปี 2551

7.3.4 การพัฒนาสารสกัดมาตรฐานจากสมุนไพรในพิกัดนวโกฐ ได้รับทุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2552 - 2554

7.3.5 ฐานประเมินที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อมุ่งเป้าหาสารที่มีฤทธิ์ทางยาจากพืชสมุนไพร" ได้รับการสนับสนุนจาก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษก ประจำปี 2554

7.4 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว (ผลงานวิจัย)

7.4.1 Journal articles

(1) **Chuanasa, T.**, Chatsumpun, M., Sritularak, B. and Likhitwitayawuid, K.: Screening of Thai medicinal plants for free radical scavenging and DNA protective properties. Journal of Health Research 25(2), 91-96, 2011.

(2) Viraporm, V., Yamazaki, M., Saito, K., Denduangboripant, J., Chayamarit, K., **Chuanasa, T.**, Sukrong, S. Correlation of camptothecin-producing ability and phylogenetic relationship in the genus *Ophiorrhiza*. Planta Medica 70(7), 759-764, 2011.

(3) Chatsumpun, M., **Chuanasa, T.**, Sritularak, B. and Likhitwitayawuid. Oxyresveratrol protects against DNA damage induced by photosensitized riboflavin. Natural Product Communication 6(1), 41-44, 2011.

(4) **Chuanasa, T.**, Phromjai, J., Lipipun, V., Likhitwitayawuid, K., Suzuki, M., Pramyothin, P., Hattori, M., and Shiraki, K.: Anti-herpes simplex virus (HSV-1) activity of oxyresveratrol derived from Thai medicinal plant: Mechanism of action and therapeutic efficacy on cutaneous HSV-1 infection in mice. Antiviral Research 80(1): 62-70, 2008.

(5) **Sinlapadech, T.**, Stout, J. Ruegger, M.O., Deak, M., and Chapple, C.: The hyper-fluorescent trichome phenotype of the *brt1* mutant of Arabidopsis is the result of a defect in a sinapic acid:UDPG glucosyltransferase. The Plant Journal 49(4): 655-668, 2007.

(6) Fraser, C.M., Thompson, M.G., Shirley, A.M., Ralph, J., Schoenherr, J.A., **Sinlapadech, T.**, Hall, M.C. and Chapple, C.: Related serine carboxypeptidase-like sinapoylglucose

acyltransferases display distinct but overlapping substrate specificity. Plant Physiology 144(4) : 1986-1999, 2007.