บทที่ 1
ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เบาหวาน ยังเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศอยู่ในปัจจุบัน ทั้งประเภทที่ 1 ซึ่งเกิดจากการมีแอนติบอดี้ต่อเบต้าเซลล์ เซลล์ผลิตอินซูลินในตับอ่อน จนเกิดปัญหาการหยุดผลิตอินซูลินไปโดยสิ้นเชิง หรือลดต่ำลงจนไม่เพียงพอต่อการทำงานตามปกติ และประเภทที่ 2 ซึ่งเกิดจากการที่ร่างกายดื้อต่ออินซูลินร่วมกับการตายของเบต้าเซลล์ เบาหวานประเภทที่ 2 นี้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความอ้วน โดยมีรายงานว่าคนอ้วนแทบทุกคนมีระดับอินซูลินในเลือดสูง ผลการสำรวจสุขภาพคนไทยวัย 15 ปีขึ้นไปทั่วประเทศ ในปี 2547 พบว่ามีผู้ชายร้อยละ 23 และผู้หญิงร้อยละ 34 มีน้ำหนักตัวเกินมาตรฐาน หรือรูปร่างท้วมนั่นเอง นอกจากนั้นนักวิจัยทางระบาดวิทยาจากประเทศออสเตรเลียยังได้ทำนายจากข้อมูลที่ศึกษาไว้เมื่อปี ค.ศ. 1999 ว่าจะมีผู้ที่เป็นโรคเบาหวานในโลกในปีค.ศ. 2003 จำนวน 189 ล้านคน และจะเพิ่มสูงขึ้นเป็น 324 ล้านคนในปี ค.ศ. 2025 ในปี 2550 กระทรวงสาธารณสุขได้ออกคำขวัญไว้ว่า " ปีใหม่คนไทยไม่อ้วน " เอาไว้ให้คนไทยได้คิด (กรุณา จีนถนอม 2007) ลักษณะการบริโภค ค่านิยมในการกินเลี้ยง ตลอดจนวิถีชีวิตออกกำลังน้อย ของคนไทยในปัจจุบันเป็นที่รู้กันดีว่าเป็นปัจจัยส่งเสริมความอ้วนเป็นอย่างยิ่ง

การลดระดับน้ำตาลในเลือด มีผลลดความอ้วนจากการนำน้ำตาลส่วนเกินไปสะสมเป็นคาร์โบไฮเดรตและไขมันไทรกลีเซอไรด์ ตามร่างกายตามกลไกทางชีวเคมี ความอ้วนก่อความเสี่ยงต่อการพัฒนาเป็นโรคเบาหวาน การลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวานช่วยลดอาการแทรกซ้อน เช่น ความดันโลหิตสูง และอื่นๆ ปริมาณน้ำตาลในเลือดสูงมีผลเหนี่ยวนำให้ร่างกายอยู่ใต้ภาวะ oxidative stress ส่งผลเสียต่อร่างกาย เช่น เซลล์ดื้อต่ออินซูลิน เกิดการทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ เกิด autoxidation ของน้ำตาลเป็นอนุพันธ์ต่างๆ การเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกับโปรตีนในเลนส์ตา เกิดเป็นต้อขึ้น (ได้แก่ ปฏิกิริยา glycosylated lysine residues) และ การทำลายโปรตีนโครงสร้างคอลลาเจน เป็นต้น (Endoa และคณะ 2006, Ahmad and Ahmad 2006) สารยับยั้งอะไมเลสชนิดที่ไม่เป็นโปรตีนส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งมีความสามารถในการต้านออกซิเดชั่น การได้รับสารที่มีคุณสมบัติทั้งการยับยั้งอะไมเลส และต้านออกซิเดชั่นด้วยจึงเป็นผลดีต่อร่างกายในผู้ป่วยเบาหวาน

อะไมเลส เป็นเอนไซม์ที่พบได้ในน้ำลาย และที่ลำไส้เล็กโดยการสังเคราะห์มาจากตับอ่อน มีหน้าที่ย่อยพันธะอัลฟา-ไกลโคซิดิก ในแป้งให้เป็นน้ำตาลมอลโตส กับโอลิโกแซคคาไรด์ นักวิจัยพบว่า สารยับยั้งอะไมเลส (amylase inhibitor, AI) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสในน้ำลายและตับอ่อนของคนได้ ด้วยความสามารถนี้สารยับยั้งอะไมเลสจึงมีผลลด การย่อยแป้งภายในทางเดินอาหารจนนำไปสู่การลดการดูดซึมปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากแป้งผ่านลำไส้เล็ก ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดลดต่ำลงได้ เพื่อบรรเทาปัญหาความอ้วนต้นเหตุสำคัญในการก่อโรคต่างๆ ได้มีบริษัท หรือ กลุ่มบุคคลนำเสนอโปรแกรมลดความอ้วนในรูปแบบต่างๆ โดยหนึ่งในนั้นคือ การนำเสนอการใช้สารยับยั้งอะไมเลสที่สกัดได้จากพืชหลายชนิด เช่น Alpha Trim-W (www.nutricepts.com/ATW.htm)

สำหรับผู้ป่วยเบาหวาน นอกจากการใช้ยาลดระดับน้ำตาลในเลือด เช่น ยากลุ่ม Sulfonylurea ยากลุ่ม Biguanide ยากลุ่มยับยั้งเอนไซม์กลูโคลซิเดสในลำไส้เล็ก และยากลุ่ม Thiazolidinedion (วิทยา และศักดิ์ชัย 2541) แล้ว ปัจจุบันทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยได้ให้ความสนใจในการใช้ ผลิตพันธ์ธรรมชาติเพิ่มขึ้น เช่น การใช้สมุนไพร และพืชที่ใช้เป็นอาหาร เนื่องจากมีข้อมูลสนับสนุนว่าให้ผลดีกว่าการรักษาด้วยยาอย่างเดียว (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน 2541; Lankisch และคณะ 1998) จึงมีการวิจัยความสามารถในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของพืช และสมุนไพรอย่างกว้างขวางทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย

เมื่อสืบค้นจากหนังสือแสดงสรรพคุณทางยาของพืชไทยต่างๆ ไม่ว่าที่ใช้ในการรับประทานสด สุก เป็นอาหารหรือเป็นผลไม้ น้ำผัก/ผลไม้ หรือที่เป็นยาสมุนไพร ได้รับการอ้างอิงเขียนไว้ว่าช่วยในการรักษาโรคเบาหวาน (antidiabetes) เช่น หญ้าหนวดแมว มะแว้งต้น มะระขี้นก กระเจี๊ยบ ตะไคร้ ผักชี ฟักทอง เป็นต้น พืชต่างๆที่ได้รับการบันทึกไว้หลายชนิดได้รับการค้นคว้าฤทธิ์ทางชีวภาพในการลดระดับน้ำตาลในหลายวิธีทั้งใช้สัตว์ทดลอง และไม่ใช้สัตว์ทดลอง โดยนักวิจัยไทยและต่างประเทศ แต่อย่างไรก็ตามยังมีรายงานการวิจัยของพืชเหล่านี้อยู่น้อย ที่บอกผลของสารสกัดจากพืช ผักอาหารไทยว่าสามารถลดน้ำตาลในเลือดได้อย่างไร มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตในทางเดินอ เหาร เช่น อะไมเลส จากน้ำลาย หรือ ตับอ่อน หรือไม่ อย่างไร ตลอดจนการระบุชนิดของสารชีวโมเลกุลที่ออกฤทธิ์ ความสัมพันธ์กับปัจจัยเสริมอื่น เช่นคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

ด้วยเหตุผลที่กล่าวข้างต้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาความเกี่ยวข้องในการลดระดับน้ำตาลในเลือดตามคติชาวบ้านของพืชไทย โดยใช้ฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส จากน้ำลาย และตับอ่อน เอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตหลักในทางเดินอาหาร เป็นตัวชี้วัดทางวิทยาศาสตร์ในการตอบข้อสงสัย ถึงผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดของพืชเหล่านั้น แก่ผู้ประสพปัญหาโรคอ้วน และผู้ป่วยโรคเบาหวาน ตลอดจนงานประยุกต์ด้านอื่นที่เกี่ยวข้อง

<u>ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย</u>

ทฤษฎี ความอ้วน และโรคเบาหวานโดยเฉพาะชนิดที่ 2 มีความสัมพันธ์กันตามทฤษฎีของกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารอาหารคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน ปริมาณอาหารที่ร่างกายได้รับเกินกว่าที่ใช้ไปโดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นอาหารให้พลังงานหลักในแต่ละวันเมื่อรับไปมากๆ จะถูกเปลี่ยนไปเก็บสะสมไว้ในร่างกายมากขึ้นเรื่อยๆ ปริมาณน้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้นซ้ำๆ บ่อยๆ มีผลนำไปสู่การสูญเสียความสามารถในการทำงานของอินซูลินหรือที่เรียกว่าดื้อต่ออินซูลิน ร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลไปใช้ภายในเซลล์ได้ เกิดภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงของอาการ โรคเบาหวาน และถ้ายังดำเนินต่อไปเรื่อยๆ ภาวะแทรกซ้อนต่างๆจะเกิดขึ้นร่างกายเข้าสู่อันตรายมากขึ้นเช่น เกิดภาวะความดันโลหิตสูง

กรอบแนวคิด อาหารคาร์โบไฮเดรตต้องถูกย่อยเป็นน้ำตาลเชิงเดี่ยวกลูโคส ก่อนจึงจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายตามผนังลำไส้เล็กผ่านเส้นเลือด เอนไซม์หลักในการย่อยคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่

มอลโตส (ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคสต่อด้วยเอนไซม์กลูโคซิเดส) และโมเลกุลเดี่ยว กลูโคส ในทางเดินอาหารก่อนการดูดซึมคือ อะไมเลสจากน้ำลายบริเวณช่องปาก และที่ลำไส้เล็กซึ่งผลิตจากตับอ่อน การมีสารไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสอง จะช่วยลดปริมาณกลูโคสที่จะถูกดูดซึมลงไปได้มาก ปริมาณน้ำตาลในเลือดจึงไม่สูง และคาร์โบไฮเดรตส่วนที่ไม่ดูดซึมจะถูกขับถ่ายออกไปจากร่างกายในที่สุด ผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้จะช่วยบ่งบอก พืชตัวอย่างตามความรู้ของภูมิปัญญาชาวบ้านที่มีศักยภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลายและตับอ่อน และสารชีวโมเลกุลชนิดใดที่เป็นองค์ประกอบของตัวอย่างที่มีฤทธิ์นั้น (bioactive component)

<u>*การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง*</u>

พืชลดระดับน้ำตาลในเลือดตามภูมิปัญญาชาวบ้าน

การสำรวจเอกสารภูมิปัญญาชาวบ้านที่ได้รับการบอกเล่า และจดบันทึกไว้ พืชที่มีผลลดน้ำตาลในเลือดมีหลายชนิดได้แก่ บอระเพ็ด (*Tinospora crispa*) ใช้เถา; ตำลึง (*Coccinia grandis*) ใช้ใบ; ชา (*Thea sinensis*) ใช้ใบ (แห้ง); หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa*) ใช้น้ำคั้นสดจากหัว; มะม่วง (*Mangifera indica*) ใช้ใบ; บวบหอม (*Luffe cylindrice*) ใช้เมล็ด; ว่านหางจระเข้ (*Aloe barbadensis*) ใช้วุ้นจากกาบใบ; ชะพลู (*Piper sarmentosum*) ใช้ใบ; หญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon aristatus*) ใช้ใบ; มะระขี้นก (*Momordica charantia*) ใช้น้ำคั้นจากผล; สะเดา (*Azadirachta indica*) ใช้เมล็ด,ใบ; สะตอ (*Parkia speciosa*) ใช้เมล็ด, เปลือก; โทงเทง (*Physalia pubescens*) กินทั้งราก; อินทนิลน้ำ (*Lagerstroemia flos-reginae*) ใบ, เมล็ด; ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus*) ใช้ใบสด ราก เป็นต้น (ภูมิพิชญ์ และปรีชา 2535; วุฒิ 2541; มาโนช และเพ็ญนภา 2537; พเยาว์ 2534) นอกจากนี้ยังพืชอีกหลายชนิดรวมทั้งที่อยู่ในรายการตัวอย่างที่วิเคราะห์ในโครงการวิจัยนี้ ที่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์และลงตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติถึงความสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ซึ่งรวบรวมอยู่ใน www.progenebio.in/DMP

สารยับยั้งเอนไซม์อัลฟา-อะไมเลส

อัลฟา-อะไมเลส เป็นเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตที่พบในทางเดินอาหาร ที่ช่องปากซึ่งเป็นเอนไซม์จากต่อมน้ำลาย และ ที่ลำไส้เล็กซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ตับอ่อนแล้วส่งมาทำงานที่ลำไส้เล็ก มีหน้าที่ย่อยพันธะอัลฟา-ไกลโคลซิดิก ในแป้งเป็นน้ำตาลมอลโตสกับพวกโอลิโกแซคคาไรด์ ยารักษาเบาหวานของการแพทย์แผนปัจจุบันกลุ่มยับยั้งเอนไซม์กลูโคลซิเดสในลำไส้เล็ก (Intestinal glucosidase inhibitors) ได้แก่ อะคาร์โบส (acarbose) มีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตโดยแย่งจับกับเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต ซูเครส กลูโคอะไมเลส มอลเตส บริเวณลำไส้เล็ก (Martin และ Montgomery 1996) ทำให้การย่อยคาร์โบไฮเดรตน้ำตาลโมเลกุลคู่ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นโมเลกุลเดี่ยวได้ การดูดซึมกลูโคสเข้ากระแสเลือดลดน้อยลง (วิทยา และศักดิ์ชัย 2541) อะคาร์โบส ตัวยารักษาเบาหวานนี้ สามารถยับยั้งเอนไซม์อัลฟา-อะไมเลสได้เช่นกัน (Brunkhorst และคณะ 1999) โดยเป็นแบบแข่งขัน (Cha และคณะ1998) อะคาร์โบสเป็นสารประกอบ pseudotetrasaccharide ที่มี unsaturated cyclitol moiety ในโมเลกุล การสำรวจเอกสารพบว่านอกจากอะคาร์โบสแล้ว สารยับยั้งเอนไซม์ อัลฟา-อะไมเลส ยังเป็นสารพวกโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนตั้งแต่ 47-246 ตัว พบในธัญญพืช พืชหัว เช่นเผือก มัน และถั่ว (Chagalla-Lopez และคณะ1994)

มีผลช่วยลดน้ำตาลในเลือดได้เช่นกัน โดยการจับกันกับเอนไซม์อะไมเลสเป็นแบบแข่งขัน (Sidenius และคณะ 1995) ส่งผลให้เอนไซม์อะไมเลส ย่อยแป้ง เป็นน้ำตาลมอลโตส และกลูโคสลดลง สารยับยั้งชนิดโปรตีนนี้ สามารถจำแนกชนิดได้โดยใช้วิธีการทำบริสุทธิ์ทางโครมาโตกราฟีในแบบของโปรตีน (Yamagata และคณะ 1998) การตรวจกิจกรรมของเอนไซม์อัลฟา-อะไมเลส ทำได้โดยการใช้แป้ง (starch) เป็นสับสเตรท แล้วตรวจจับมอลโตสที่เกิดขึ้นโดยวิธีของ Bernfeld (1955)

ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวกับพืชลดน้ำตาลในเลือด กลุ่มสารยับยั้งอะไมเลสและเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตอื่น

Shibib และคณะ (1993) สกัดใบตำลึงด้วย 60% เอทานอลแล้วทำการทดลองในหนูเพศผู้ การวิเคราะห์กลูโคสในเลือด, เอนไซม์ hepatic glucose-6-phosphatase, fructose-1, 6-bisphosphatase, และ glucose–6-phosphate dehydrogenase พบว่าน้ำตาลในเลือดลดลง, การทำงาน hepatic glucose-6-phosphatase, fructose-1, 6-bisphosphatase ลดลง ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากใบตำลึงสามารถลดน้ำตาลในเลือดได้โดยการลดการสังเคราะห์กลูโคสแต่เพิ่มการออกซิเดชั่นของกลูโคสแทน

Jamaiuddin และคณะ (1994) ศึกษา ผลการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยเมล็ดสะตอ จากสารเบต้า-ไซโทสเตอรอล (beta-sitosterol) และสติกมาสเตอรอล (stigmasterol)

Hara และคณะ (1996) ศึกษาประโยชน์ของสารยับยั้งเอนไซม์อัลฟา-กลูโคลซิเดสในการควบคุมระดับน้ำตาลของผู้ป่วยโรคเบาหวานประเภทที่ 2 พบว่า สารยับยั้งเอนไซม์อัลฟา-กลูโคลซิเดส มีประโยชน์สำหรับการควบคุมน้ำตาลในผู้ป่วยโรคเบาหวานประเภทที่ 2 และ เปอร์เซ็นต์ของคาร์โบไฮเดรตในแหล่งพลังงานทั้งหลายเป็นปัจจัยที่สำคัญในการแสดงออกของสารยับยั้งเหล่านี้

Cheah (1998) ทำการศึกษาแบบ cohort ในคนไข้เบาหวาน 314 คนในประเทศสิงค์โปร์ พบว่าการจัดการผู้ป่วยเบาหวานไม่ให้มีโรคอ้วนร่วมได้ผลน้อยในคนไข้ที่ได้รับการรักษาด้วยอินซูลินอย่างเดียว แต่การรักษาโดยการให้สารลดน้ำตาลในเลือดพวกสารยับยั้งเอนไซม์ อัลฟา-กลูโคซิเดส มีผลช่วยลดการเพิ่มของน้ำหนักไปพร้อมกับการลดระดับน้ำตาล

ส่วน Lankisch และคณะ (1998) ทำงานวิจัยสนับสนุนการใช้สารสกัดพืช wheat ซึ่งมีสารยับยั้งอะไมเลส (WAI) อยู่ ในการรักษาผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 และโรคอ้วน ผลการศึกษาพบว่า WAI มีผลต่อ postprandial ของการดูดซึมคาร์โบไฮเดรต ระดับกลูโคสในเลือด และระดับของฮอร์โมน

Nakamura และคณะ (1998) ศึกษาผลของสารยับยั้งเอนไซม์อัลฟา-กลูโคลซิเดสต่อการเพิ่มระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดภายหลังการรับประทานอาหารในผู้ป่วยโรคเบาหวาน พบว่า ระดับน้ำตาลของผู้ป่วยที่ได้รับสารยับยั้งเอนไซม์อัลฟา-กลูโคลซิเดสลดลงอย่างมีนัยสำคัญโดยการกินยากลุ่มนี้เพียงแค่วันละหนึ่งครั้ง

Noor และ Ashcroft (1998) ทำการศึกษาผลของสารสกัดบอระเพ็ด ต่อการดูดซึมกลูโคสที่ลำไส้เล็กและการเอากลูโคสเข้าสู่เซลล์ไขมัน ต่อเนื่องจากงาน "การศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากบอระเพ็ด"ในปี 1989 (Noor และ Ashcroft 1989) พบว่าผลการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากบอระเพ็ดไม่ได้รบกวนการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่เซลล์ แต่กระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน

Matsuda และคณะ (1999) ศึกษาสารสกัดจากรากของ Salacia oblonga Wall (Celastraceae) พบว่ายับยั้งการเพิ่มขึ้นของระดับกลูโคสในซีรัมในหนูที่ให้ซูโครสและมอลโตส และพบว่าส่วนที่ละลายน้ำ จากสารสกัดในเมทานอลแสดงผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลฟา-กลูโคลซิเดส ซึ่งได้แก่พวก อะลาซินอล (alacinol) และ โคตาลานอล (kotalanol) ซึ่งถูกแยกออกมาพร้อมๆกับน้ำตาลอีก 9 ชนิดที่มีส่วนประกอบที่สัมพันธ์กัน

Yuasa และคณะ (2000) พบสารยับยั้งเอนไซม์อัลฟา-กลูโคลซิเดสตัวใหม่ ให้ชื่อว่า ซาลาซินอล (salacinol) ซึ่งค้นพบจากสมุนไพรบำบัดโรคเบาหวาน โดยสามารถสังเคราะห์ได้เป็นครั้งแรก

ส่วนHansawasdi และคณะ (2000) พบว่า กระเจี๊ยบยับยั้งอะไมเลสได้

Sharma และ Gupta (2001) ทำบริสุทธิ์ สารสองหน้าที่ ยับยั้งอะไมเลส/โปรตีเอส (bifunctional protease/amylase inhibitor) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ได้มีขนาด 21kDa เช่นที่พบในwheat ทั่วไป

ในปี 2002 Lajolo และ Genovese (2002) เขียน review แสดงความสำคัญของ lectin amylase และ trypsin inhibitors ต่างๆ ที่มีในพืชตระกูลถั่ว (legume) ต่อโภชนาการ Sawada และคณะ (2002) ศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างปฐมภูมิ (1° structure) ของ α- และ β-subunits ของสารยับยั้งอะไมเลสจากเมล็ด Phaseolus beans จาก 3 แหล่งปลูก (three cultivars)

Lee และ คณะ (2002) ศึกษาโครงสร้างของสารยับยั้งอะไมเลสจาก white และ black kidney beans โดยการหาลำดับ nucleotide ของยีนสร้าง และหา % ความเหมือนเทียบกับ red kidney bean

Kim และคณะ (2002a) พบ สารยับยั้งที่ไม่เป็นโปรตีน ตัวใหม่ α-D-glucopyranosyl-α-acarviosinyl-D-glucopyranose ที่จำเพาะต่อเอนไซม์ maltose-producing amylaseเช่น Thermus amylase, maltogenase และamylolytic enzymes เช่น maltase, sucrase, α-amylase และมีความสามารถในการยับยั้ง (potency) สูงกว่าอะคาร์โบส หลายเท่า ในปีเดียวกัน นักวิจัย CKD Research Institue, Chonan ประเทศเกาหลี ตีพิมพ์งานในวารสาร Journals of Antibiotics 55 (5) ต่อเนื่อง 3 ฉบับเพื่อรายงานผลการ ค้นพบ novel alpha-glucosidase inhibitors, CKD-711 และ CKD-711a จาก Streptomyces sp. CK-4416 เกี่ยวกับทำ taxonomy fermentation และisolationในฉบับที่ 1 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพ ด้านการยับยั้งเอนไซม์มอลเตส ซูเครส ทั้ง *in vitro* และ *in vivo* โดยใช้หนู rat เทียบกับอะคาร์โบสในฉบับที่ 2 และศึกษาคุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ (physio-chemical properties) และโครงสร้างของสารยับยั้ง ในฉบับที่ 3 (Kim และคณะ 2002b, Kwon และคณะ 2002, Chang และคณะ 2002) Ye และคณะ (2002) รายงานผลการลดระดับกลูโคสในเลือดของสารสกัดพืชยาสมุนไพรจีน *Ramulus mori* เมื่อใช้หนู rat และ mice ปกติ ทำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan หลังให้ซูโครส หรือแป้ง และอดอาหาร เทียบกับอะคาร์โบส จากผลที่เหมือนกัน ผู้วิจัยสรุปว่ายาจีนนี้มีคุณสมบัติของสารยับยั้ง α-Glucosidase เช่นอะคาร์โบส

Sevenson และคณะ (2004) ทบทวนเอกสารเกี่ยวกับสารยับยั้งอะไมเลสที่เป็นโปรตีน ชี้ให้เห็นถึงความจำเพาะของสารยับยั้งอะไมเลสต่อเอนไซม์เป้าหมายในระดับ isozymesหรือเอนไซม์จากสิ่งมีชีวิตที่ต่างสายพันธ์ (speices) สารยับยั้งอะไมเลสที่มี affinity ต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และแมลงสูง มีลำดับกรดอะมิโน 35% identity ในขณะที่บางชนิดยับยั้งเอนไซม์จากแมลง แต่ไม่มีผลต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และกล่าวถึง

การนำสารยับยั้งอะไมเลสมาใช้ประโยชน์ทางโภชนาการเพื่อลดความอ้วน และรักษาเบาหวาน พร้อมสรุปถึงความก้าวหน้าด้านการค้นพบสารยับยั้งใหม่ๆตลอดจน การสร้างฐานข้อมูลพันธุศาสตร์ 2 families ที่สัมพันธ์กับสารยับยั้งอะไมเลสคือ Cereal trypsin /α-AI และ Soybean trypsin inhibitors (Kunitz)

Kluh และคณะ (2005) ตีพิมพ์ผลการศึกษาความจำเพาะ (specificity) ในระดับโครงสร้างสารยับยั้งอะไมเลส รูป α-AI -1 จาก *Phaseolus vulgaris* c.v. Magna กับอะไมเลสจากสิ่งมีชีวิต 30 สายพันธุ์ที่เป็นศัตรูพืช เช่น insect, mites, fungus เพื่อหาศักยภาพในการประยุกต์ใช้กำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพ ในปีเดียวกันนี้ Heidari และคณะ (2005) รายงานกิจกรรมสารยับยั้งอะไมเลส จากข้าวสาลีสายพันธ์ที่ปลูกในประเทศอิหร่าน (*Triticum aestivum* var. *Zarrin*) ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์แล้ว ว่าสามารถยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายได้ 97.0% และจากBacillus subtilis ได้ 89.9%

ส่วน Correia และคณะ (2005) ค้นพบว่า น้ำหมักชีวภาพที่ได้จากการบ่มเชื้อ R. oligosporus จำนวน 9 กรัม กับเศษสับปะรด (pineapple waste) นาน 2 วัน (P 9 treatment) สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส กระบวนการทำแห้งด้วย Freeze dryer การต้มเดือด หรือการ autoclave ไม่มีผลทำลายคุณสมบัติดังกล่าว ประสิทธิภาพการยับยั้งนี้ผู้วิจัยพบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณของสารฟีนอลิก (phenolic compound) ซึ่งวัดในรูปของแทนนิน แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

McCue และคณะ (2005) ได้รายงานว่าสารสกัดด้วยน้ำของอาหารอเมริกันและเอเชีย สามารถยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส และกลูโคซิเดสได้โดยมีความสัมพันธ์บวกกับคุณสมบัติต้านออกซิเดชั่น และไม่ใช่โปรตีน

Ali และคณะ (2006) ทำการวิจัยเกี่ยวกับพืชในประเทศมาเลเซียที่ได้รับความนิยมใช้รักษาเบาหวานจำนวน 6 ชนิดเกี่ยวกับการยับยั้งอะไมเลส และได้ค้นพบว่าสารกลุ่ม lipophilic compound คือ triterpenes, oleanolic acid และ ursolic acid ที่ได้จากการสกัด *Phyllanthus amaras* ด้วยเฮกซ์เซน (hexane extract) สามารถยับยั้งอะไมเลสได้ สารผสมระหว่างoleanolic acid และ ursolic acid ในสัดส่วน 2:1 แสดงค่าการยับยั้งที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) = 2.01 μg/ml (4.41 μm) ส่วนพืชอื่นๆ ได้แก่ *Anacardium occidentale, Lagerstroemia speciosa, Averrhoa bilimbi, Pithecellobium jiringa* และ *Parkia speciosa* ไม่พบคุณสมบัติในการยับยั้งอะไมเลส

Farias และคณะ (2007) ประกาศการค้นพบ สารยับยั้งอะไมเลส ชนิดโปรตีน ขนาด 4562 ดาลตัน ใน เมล็ดมะละกอ ว่า ยับยั้งอะไมเลสของแมลงศัตรูพืช *Callosobruchus maculatus* ได้ร้อยละ 61.5 และยับยั้งอะไมเลสจากตับอ่อนหมูได้ ร้อยละ 12 แต่ไ ม่ยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายคน

<u>วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย</u>

ศึกษาผลของสารสกัดจากพืชลดระดับน้ำตาลในเลือดตามคติชาวบ้าน ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส จากน้ำลาย และตับอ่อน

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1). สำรวจฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากพืช ต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และจากตับอ่อนเชิงคุณภาพ ควบคู่กับเชิงปริมาณ

2). ศึกษาศักยภาพเชิงปริมาณในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และจากตับอ่อน ในหลอดทดลองที่ค่าการยับยั้งร้อยละ 50 (IC_{50}) ของพืชที่แสดงผลบวกเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

3). จำแนกชนิดสารในพืชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ทดสอบว่าเป็น ชนิดที่เป็นโปรตีน หรือชนิดที่ไม่เป็นโปรตีน

4). ระบุชนิดสารกลุ่มที่ไม่เป็นโปรตีนว่าเป็นสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตหรือกลุ่มฟีนอลิกและคุณสมบัติต้านออกซิเดชั่น