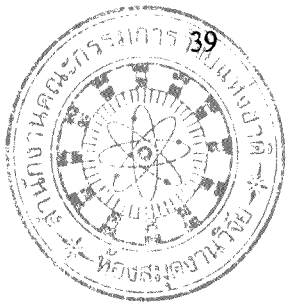

บทที่ 5

สรุป และเสนอแนะ

ผลการศึกษาความเกี่ยวข้องในการลดระดับน้ำตาลในเลือดตามคติชาวบ้านของพืชไทยจำนวน 50 ชนิด โดยใช้ฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส จากน้ำลาย และตับอ่อน เอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตหลักในทางเดินอาหาร เป็นตัวชี้วัดทางวิทยาศาสตร์ในการตอบข้อสงสัยถึงผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดของพืชเหล่านั้น แก่ผู้ประสพปัญหาโรคอ้วน และผู้ป่วยโรคเบาหวาน ตลอดจนงานประยุกต์ด้านอื่นที่เกี่ยวข้อง พบว่า

1. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพพืชที่แสดงศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และตับอ่อน ได้ดีใน 10 อันดับแรก (ค่าในวงเล็บ เป็น ค่าAI index > 1) ของพืชที่วิเคราะห์มีผลสรุปดังนี้

W **สารสกัดน้ำ**		**Et W** **สกัดแอลกอฮอล์-ทำให้แห้งละลายคืนด้วยน้ำ**	
อะไมเลส จากน้ำลาย	**อะไมเลส จากตับอ่อน**	**อะไมเลส จากน้ำลาย**	**อะไมเลส จากตับอ่อน**
ไมยราบ(1.38)	ไมยราบ (1.37)	ไมยราบ (1.44)	ไมยราบ (1.42)
กระเจี๊ยบ(1.37)	กระเจี๊ยบ (1.35)	สะเดา (1.41)	สะเดา (1.38)
อินทนิลน้ำ(1.37)	หูกวาง (1.33)	อินทนิลน้ำ (1.38)	กระเจี๊ยบ (1.38)
สะเดา(1.35)	อินทนิลน้ำ (1.33)	บัว (1.37)	หูกวาง (1.32)
ถั่วเหลือง(1.30)	สะเดา (1.30)	หูกวาง (1.34)	อินทนิลน้ำ (1.23)
ฝรั่ง (1.28)	ฝรั่ง (1.27)	กระเจี๊ยบ (1.31)	ฝรั่ง (1.20)
คูน (1.23)	ถั่วเหลือง (1.25)	ฝรั่ง (1.28)	คูน (1.20)
หูกวาง (1.23)	คูน (1.15)	คูน (1.27)	บัว (1.18)
บัว (1.22)	บัว (1.13)	ต้นลูกใต้ใบ (1.26)	ต้นลูกใต้ใบ (1.17)
ต้นลูกใต้ใบ (1.17)	ต้นลูกใต้ใบ (1.10)	ขี้เหล็ก (1.10)	กุยช่าย (1.09)

สมการเส้นแนวโน้ม จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง AI index ของการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย และตับอ่อน ($y = 0.8626x + 0.1457$; R^2 0.8976 และ $y = 0.8033x + 0.1909$; R^2 0.8608) พบว่า สารสกัดน้ำของพืช จำนวน 45 ชนิด และ Et W จำนวน 43 ชนิด ยับยั้งเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ด้วยศักยภาพที่พอๆ กัน

2. การวิเคราะห์เชิงปริมาณพืชที่แสดงศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และตับอ่อน ได้ดีใน 10 อันดับแรก (ค่าในวงเล็บคือ % Inhibition of amylase activity) ของพืชที่วิเคราะห์ มีผลสรุปดังนี้

W **สารสกัดน้ำ**		**Et W** **สกัดแอลกอฮอล์-ทำให้แห้ง-ละลายคืนด้วยน้ำ**	
อะไมเลส จากน้ำลาย	**อะไมเลส จากตับอ่อน**	**อะไมเลส จากน้ำลาย**	**อะไมเลส จากตับอ่อน**
สะเดา (98.4)	กระเจี๊ยบ (97.6)	ไมยราบ (98.2)	กระเจี๊ยบ (99.3)
กระเจี๊ยบ (97.5)	สะเดา (92.9)	สะเดา (97.1)	ไมยราบ (97.4)
อินทนิลน้ำ (96.3)	ไมยราบ (91.3)	อินทนิลน้ำ (97.0)	สะเดา (96.4)
ไมยราบ (95.8)	หูกวาง (89.0)	กระเจี๊ยบ (96.6)	หูกวาง (89.7)
ฝรั่ง (82.3)	อินทนิลน้ำ (88.1)	บัว (93.3)	คูน (72.9)
ถั่วเหลือง (81.6)	ฝรั่ง (84.9)	หูกวาง (93.2)	อินทนิลน้ำ (69.9)
หูกวาง (80.5)	คูน (78.1)	คูน (84.3)	บัว (65.6)
คูน (74.9)	ถั่วเหลือง (73.2)	ฝรั่ง (79.6)	ฝรั่ง (62.4)
บัว (73.9)	บัว (62.3)	ต้นลูกใต้ใบ (76.1)	ต้นลูกใต้ใบ (52.2)
ต้นลูกใต้ใบ (61.4)	ต้นลูกใต้ใบ (48.3)	ผักชี (29.3)	หอมใหญ่ (18.4)

สมการเส้นแนวโน้มกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % Inhibition of amylase activity จาก น้ำลาย และตับอ่อน ($y = 0.9437x - 0.2714$; R^2 0.9406 และ $y = 0.8634x - 0.4202$; R^2 0.9405) พบว่าสารสกัดน้ำ และ Et W ของพืชจำนวน 47 ชนิด มีศักยภาพยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายและตับอ่อนที่พอๆ กัน ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณให้ผลการวิเคราะห์ที่ละเอียดกว่าจึงเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่แสดงศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ทั้งสองได้มากกว่าวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

3. การวิเคราะห์เชิงปริมาณพบพืช 47 ชนิด ทั้งสารสกัดน้ำ และ Et W นั้นพบว่า สารสกัดน้ำของพืช 10 ชนิด ยับยั้งเอนไซม์จากน้ำลาย และ 9 ชนิด ยับยั้งเอนไซม์จากตับอ่อน สูงกว่าร้อยละ 50 ด้วย ค่าความเบี่ยงเบนในการวิเคราะห์ของตัวอย่างที่เก็บจาก 3 แหล่งต่ำ ส่วนสารสกัด Et W พบพืช 9 ชนิด ยับยั้งเอนไซม์จากน้ำลายและตับอ่อน สูงกว่าร้อยละ 50 ด้วย ค่าความเบี่ยงเบนในการวิเคราะห์ของตัวอย่างที่เก็บจาก 3 แหล่งต่ำ ดังสรุปในตารางข้างล่าง

ค่ามิลลิกรัม/มล.ที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ร้อยละ 50 ที่แสดงในวงเล็บ สะเดา และอินทนิลน้ำ ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยมากในการยับยั้ง แสดงว่ามีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ได้ดีมาก ไมยราบ รองลงมา คูนใช้ปริมาณตัวอย่างมากในการยับยั้งให้ได้ร้อยละ 50 เช่นเดียวกับ ต้นลูกใต้ใบ คือ ใช้ตัวอย่างที่สกัดในการยับยั้งเอนไซม์โดย เจือจางมากไม่ได้ สารสกัด Et W ของถั่วเหลืองมีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์น้อยกว่าที่สกัดน้ำโดยต้องใช้ตัวอย่างมากกว่า 200 มิลลิกรัม/มิลลิตร ขึ้นไปในการยับยั้งให้ได้ร้อยละ 50

		W สารสกัดน้ำ		Et W สกัดแอลกอฮอล์-ทำให้แห้ง-ละลายคืนด้วยน้ำ	
		ร้อยละการยับยั้งอะไมเลส		ร้อยละการยับยั้งอะไมเลส	
	ชื่อสามัญไทย	น้ำลาย	ตับอ่อน	น้ำลาย	ตับอ่อน
1	สะเดา	98.42±3.04 (1.7)	92.89±11.50 (2.9)	97.05±1.00 (1.7)	96.39±3.82 (2.1)
2	กระเจี๊ยบ	97.50±3.71 (43)	97.59±4.18 (74.5)	96.59±1.58 (43)	99.28±2.47 (71)
3	อินทนิลน้ำ	96.26±2.91 (0.97)	88.08±8.67 (0.55)	97.04±3.05 (2.4)	69.88±7.50 (1.10)
4	ไมยราบ	95.77±14.25 (13)	91.32±11.21 (14.3)	98.18±4.35 (12.5)	97.39±5.50 (12.8)
5	ฝรั่ง	82.33±1.66 (90)	84.98±2.74 (68)	79.61±13.96 (78)	62.44±10.29 (110)
6	ถั่วเหลือง	81.59 ±21.90 (96)	73.21±12.54 (39)	9.09±2.44 (>200)	9.91±3.02 (>200)
7	หูกวาง	80.51±14.97 (39)	89.00±15.04 (34)	93.18±8.65 (1.4)	89.70±6.91 (1.82)
8	คูน	74.86±30.97 (115)	78.07±4.78 (116)	84.26±19.27 (110)	72.95±1.73 (116)
9	บัว	73.87±10.58 (40)	62.26 ±18.32 (23.2)	93.26±7.18 (22.3)	65.59±3.54 (18)
10	ลูกใต้ใบ	61.41±13.29 (160)	48.25±8.07 (>200)	76.11±14.81 (77.5)	52.18±5.04 (.>200)

± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; ในวงเล็บ คือ ค่ามิลลิกรัม/มล.ที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ร้อยละ 50

ผลการศึกษาความเกี่ยวข้องในการลดระดับน้ำตาลในเลือดตามคติชาวบ้านของพืชไทยทั้งเชิงคุณภาพ และ เชิงปริมาณ โดยใช้ฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการยับยั้งการทำงานของอะไมเลส จากน้ำลาย และตับอ่อน ที่ได้นี้ ใช้เป็นข้อมูลบ่งชี้ (evidence) ทางวิทยาศาสตร์ในการตอบ ข้อสงสัยถึงผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดของพืชได้ว่าพืช ที่ศึกษา ตามรายการในตารางที่ 1 พบว่า มีจำนวน กว่า 40 ชนิดที่ยับยั้งอะไมเลสเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตหลักในทางเดินอาหารได้ และน่าที่จะช่วย ลดปริมาณการดูดซึมน้ำตาลจากทางเดินอาหารสู่เลือดได้ ตามทฤษฎีที่ผู้วิจัยตั้งข้อสันนิษฐานไว้ โดยในพืชกว่า 40 ชนิดนั้น มีศักยภาพที่แตกต่างกันไปตามที่วิเคราะห์ผลได้ในเชิงปริมาณ และ มีพืชที่มีศักยภาพเด่นสูงกว่าร้อยละ 50 อยู่ 10 ชนิด คือ สะเดา กระเจี๊ยบ อินทนิลน้ำ ไมยราบ ฝรั่ง ถั่วเหลือง คูน บัว ต้นลูกใต้ใบ

4. การวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชั่น

ผลการทดลองคุณสมบัติต้านออกซิเดชั่นของพืชทั้ง 50 ชนิด ในการใช้เป็นปัจจัยเสริมลดอาการแทรกซ้อน จากภาวะ oxidative stress จากน้ำตาลสูงในผู้ป่วยเบาหวาน พบว่าเมื่อใช้น้ำในการสกัดแตงกวาเป็นพืชชนิดเดียว ที่ไม่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชั่น (%DPPH scavenging) ส่วนพืชอื่น แสดงคุณสมบัติต้านออกซิเดชั่นมากน้อยแตกต่างกันไป โดย เตย มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชั่นเพียงร้อยละ 3.1 และมีพืชจำนวน 20 ชนิดที่มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการต้านออกซิเดชั่นสูงกว่า 50 คือ กระเจี๊ยบ ฝรั่ง ดอกคำฝอย ขี้เหล็ก พญาสัตบรรณ หูกวาง อินทนิลน้ำ ต้นลูกใต้ใบ ไมยราบ ยอ โหรพา หญ้าหนวดแมว กระชายดำ มะแว้งเครือ มะละกอ สะเดา คูน เหงือกปลาหมอ ถั่วเหลือง และ กระเพรา ที่เหลือมีค่าเฉลี่ย

ร้อยละ การต้านออกซิเดชั่นต่ำกว่า 50 จำนวน 29 ชนิดไม่รวมแตงกวา ได้แก่ แมงลัก ตะไคร้ สัก ผักชี มะเขือพวง บัวบก บัว ฝอยข้าวโพด โทงเทง ทองพันชั่ง ชะพลู หอมใหญ่ ผักหวาน ผักบุ้ง เดือย กระเทียม กุยช่าย ว่านหางจรเข้ ฟ้าทะลายโจร แตงโม พริกขี้หนู มะระขี้นก ยอดมะระขี้นก ฟักทอง กล้วย ตำลึง มะระจีน กะหล่ำปลี และเตย พืช 10 ชนิด ที่มีศักยภาพในการยับยั้งอะไมเลสสูงกว่าร้อยละ 50 และมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชั่นที่ดี ทั้งสารสกัดด้วยน้ำ หรือสารสกัด Et W คือ สะเดา กระเจี๊ยบ อินทนิลน้ำ ไมยราบ ฝรั่ง ถั่วเหลือง หูกวาง คูน บัว และ ลูกใต้ใบ เหมาะที่จะใช้แนะนำเพื่อการลดน้ำตาลในเลือด และลดภาวะ oxidative stress ไปพร้อมกัน

5. จำแนกชนิดสารยับยั้งอะไมเลสว่า เป็น ชนิดที่เป็นโปรตีน หรือ ชนิดที่ไม่เป็นโปรตีน

สารสกัดน้ำ และสารสกัด Et W ของ ถั่วเหลือง (#14) บัว (#15) ฝรั่ง (#20) สะเดา (#30) กระเจี๊ยบ (#34) คูน (#37) หูกวาง (#43) ไมยราบ (#44) ลูกใต้ใบ (#45) และ อินทนิลน้ำ (#50) ซึ่งมีศักยภาพในการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย และ ตับอ่อนสูงกว่า ร้อยละ 50 และมีฤทธิ์ต้านภาวะ oxidative stress น่าจะจัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบที่ไม่เป็นโปรตีนในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลลิกเป็นหลัก การศึกษาด้านโครงสร้างที่จำเพาะของสารออกฤทธิ์ของสารสกัดพืชแต่ละชนิด ต้องการงานศึกษาวิจัยเชิงลึกด้านเคมีในลำดับต่อไป

6. ผลการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส ของตัวอย่างเกิดจากสารกลุ่มแทนนิน ตกตะกอนเอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนหรือไม่

บทความรวบรวม (review) ผลงานวิจัยเกี่ยวกับสารยับยั้งอะไมเลสจากพืชของ De Sales และคณะ (2012) ได้รวบรวมชนิดและสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มแทนนินที่มีผลในการยับยั้งอะไมเลสไว้ และบรรยายไว้ว่า แทนนินเป็นสารในกลุ่ม polyphenol ซึ่งพบได้ทั่วไปในพืชที่เป็นผลอ่อน และจะหายไประหว่างกระบวนการสุก (riping) มีน้ำหนักโมเลกุลสูง และแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ hydrolysable tannins และ condensed tannins โดยกลุ่มแรกแบ่งเป็นกลุ่มย่อยคือ gallotannins ซึ่งเป็นสารประกอบของกรดแกลลิก (gallic acid) กับน้ำตาล กลุ่มที่สองเป็นสารประกอบ (complex polymers) ที่มี catechins และ flavonoids เป็นหน่วยหลัก (building blocks) ของโครงสร้าง ตัวอย่างแทนนิน ที่ยับยั้งอะไมเลส ได้แก่

Natural compounds under tannins group with α-amylase inhibition		
Tannins	**Source**	**α-amylase inhibitory Activity**
Gallotannin	Gall nut	EI and ESI complexes
Pedunculagin	Rubus suavissimus S. LEE	14% of inhibitory activity
1-*O*-Galloyl pedunculagin	Rubus suavissimus S. LEE	56% of inhibitory activity
Strictinin	Rubus suavissimus S. LEE	52% of inhibitory activity
Rubusuaviin A	Rubus suavissimus S. LEE	60% of inhibitory activity
Tannic acid	-	EI and ESI complexes

งานวิจัยของ Gin และคณะ (1999) ซึ่งทำการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานแบบพึ่งอินซูลิน พบว่า tannic acid และ tannin-rich nonalcoholic components ใน red wine ลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยหลังรับอาหารที่อุดมด้วยแป้งได้ เนื่องจากกลไกในการลดระดับน้ำตาลยังไม่ทราบชัด ผู้วิจัยได้วิจารณ์ว่า ผลยับยั้งกิจกรรมอะไมเลส *in situ* อาจเกิดจากกลไกการยับยั้งกิจกรรมอะไมเลส หรือ อาจเกิดจากการจับกับเอนไซม์เป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำและย่อยไม่ได้ เช่น ที่ประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง และการรักษาท้องร่วง เป็นต้น และได้อ้างถึงข้อคิดเห็นของ Kandra และคณะ (2004) ว่า tannins เช่น galloylated quinic acid ยับยั้งอะไมเลส ด้วยหมู่ OH ของแทนนินซึ่งทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนกับโปรตีนและตกตะกอน

อนึ่งในการวิจัยครั้งนี้ การวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสของสารสกัดตัวอย่างพืช แบบเชิงปริมาณ ซึ่งทำในหลอดทดลอง *(in vitro)* ได้มีการทำหลอดควบคุม ตัดการเกิดผลลวงบวกจากการตกตะกอนหรืออื่นๆระหว่างเอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนกับแทนนิน หรือสารอื่นในตัวอย่าง โดยในหลอดควบคุมประกอบด้วยสารสกัดตัวอย่างผสมกับเอนไซม์ เช่นชุดทดสอบ แต่ไม่เติมน้ำแป้ง ดังนั้นหากมีการตกตะกอนของเอนไซม์เกิดขึ้นจากแทนนินในตัวอย่างหรือสารอื่น ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะถูกนำไปหักลบกับชุดทดสอบและหลอดควบคุมยังตัดปัญหาผลลวงบวกที่เกิดจากสารในสารสกัดพืชที่มีคุณสมบัติริดิวซ์สารทดสอบ 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) ด้วย ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับการตกตะกอน นอกจากนั้นการศึกษานี้ผู้วิจัยนับ ปฏิกิริยาทุกชนิดที่มีผลลดการทำงานของอะไมเลสรวมการตกตะกอนเอนไซม์จากสารแทนนิน หรือ สารอื่นในสารสกัดพืชที่ทดสอบเป็นผลบวก เนื่องจากให้ประโยชน์ลดการดูดซึมของกลูโคสมีผลดีต่อการประยุกต์ใช้ในการลดน้ำตาลในเลือดได้ ดังงานวิจัยของ Gin และคณะ (1999)