

## ABSTRACT

**209232**

The medicines used traditionally by Thai native people for the treatment of diabetes are herbs and plants that are grown locally. Many of these medicines are used without adequate scientific knowledge about how they might work. This research aimed to study whether extracts from these plants could reduce blood glucose levels by inhibition of gastrointestinal amylase activity. Fifty local plants that have been cited in Thai traditional medicine books for their potency in reducing high levels of blood glucose were extracted with water (W) and ethanol at 4°C. Those extracted with ethanol were evaporated at 60°C until dry and the residue was dissolved in cold water (Et W) to prevent any effect of ethanol on the enzymes during the assay procedures. Two types of assay procedures were used to determine the action of the plant extracts on amylase activity. One was a qualitative assay using 1% starch-1% agar plates that was based on visualization of the different colors obtained after adding iodine to the plates following an incubation of the plates with amylases in the presence or absence of the plant extracts. The extracts that inhibited amylase activity produced a smaller clear zone with a diameter of less than the plate containing only the enzyme (amylase inhibition index, or AI index > 1). The other (quantitative method) was based on an increase in the amount of maltose from the action of amylase on starch hydrolysis using the 3, 5-dinitrosalicylic acid reagent. The percentage inhibition of amylase activity (%AI) was calculated from the absorbance of the brown products reading at 540 nm after the subtraction of any false positive values that may occur. From this study the results accounted for different types of reactions that could be involved in decreasing amylase activity including enzyme precipitation by tannins since they would also provide benefits by lowering glucose absorption.

From the qualitative assay it was found that 45 species of the water extract (W) and 43 of the Et W extract had an AI above 1 for both the salivary and pancreatic amylase. Correlation plots of the salivary and pancreatic amylase AI indices showed that 47 species of both the W and Et W extracts possessed equivalent inhibitory activity against both enzymes. The quantitative investigation determined that 40 species of the plant extracts either W or Et W possessed inhibitory activity in the range from above zero to 100% for both amylases and amongst these there were 9 species that produced a similar % inhibition of above 50 and an AI index above 1. These plants were *Nelumbo multiflora Gaertn.*, *Psidium guajava Linn.*, *Azadirachta indica A. Juss.*, *Hibiscus sabdariffa Linn.*, *Cassia fistula Linn.*, *Terminalia Linn.*, *Mimosa pudica L.*, *hispidabrenan*, *Phyllanthus amarus Schum&Thonn.* and *Lagerstroemia speciosa (L.) Pers.* These scientific findings have supported the traditional use of these plant preparations to reduce blood glucose through the inhibition of both salivary and pancreatic amylases.

The antioxidative activity of the extracts was determined using the 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazilic (DPPH) test for free radical scavenging. This probably reflected their ability to reduce problems associated

**209232**

with oxidative stress that result from high blood sugar levels in patients. The antioxidant property of extracts with percentage DPPH scavenging values of more than 50 were produced by 20 species of plants and amongst these were the 9 species that had possessed inhibitory activity of both amylases greater than 50%. Preliminary characterizations of the inhibitory compounds present in these extracts showed that they were mainly phenolic compounds, because the extracts produced a positive color in the  $\text{FeCl}_3$  test and they were able to determine for their total phenolic content. Attempts to characterize these compounds are in progress.

## บทคัดย่อ

209232

ยารักษาโรคเบาหวานตามความเชื่อพื้นบ้านเป็นพืชและสมุนไพรหลายชนิดที่ปลูกในพื้นที่ และการใช้ ทั้งยังขาดข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับการทำงานของพืช งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาว่า สารสกัดของพืชเหล่านี้ ลดระดับน้ำตาลในเลือด จากการยับยั้งการทำงานของอะไมเลส ในทางเดินอาหารหรือไม่ พืช 50 ชนิด ที่ปลูกในพื้นที่ และได้รับการอ้างอิงในเอกสารแพทย์แผนไทย ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด เป็น พืชที่น่าสนใจ โดยนำมาสกัดด้วยน้ำ (W) และ แอทานอล ที่ 4°ซ สารที่สกัดด้วยแอทานอล ต้องระเหย แอทานอล ที่ 60°ซ จนแห้งแล้วละลายคืนกากเหลือด้วยน้ำเย็น (Et W) เพื่อป้องกันการตกตะกอนเอนไซม์จาก แอทานอลระหว่างการวิเคราะห์ ผลของสารสกัดพืชต่อการทำงานของ อะไมเลส ใช้ 2 วิธี ในการทดสอบ คือ การทดสอบเชิงคุณภาพในถาดวุ้น 1%-แป้ง 1% ซึ่งใช้การดูสีที่เกิดขึ้นจากการเติมไอโอดีนลงในเพลท ภายหลัง การบ่มเพลทที่มีเอนไซม์กับสารสกัดพืช หรือ ที่ไม่มีสารสกัดพืช สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง อะไมเลส จะมี เส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส่น้อยกว่าถาดที่มีเอนไซม์อย่างเดียว (ดัชนีการยับยั้งอะไมเลส หรือ AI index > 1) วิธี ที่สอง (การทดสอบเชิงปริมาณ) ใช้หลักการตรวจปริมาณน้ำตาลมอลโตส ที่เกิดขึ้นจากการย่อยแป้งโดย อะไมเลส ด้วยสารละลาย 3, 5-dinitrosalicylic acid ร้อยละการยับยั้งอะไมเลส (%AI) คำนวณจากค่าการ ดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ของสารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น หลังการหักลบค่าลวงบวกที่อาจมี การศึกษานี้เน้น ปฏิบัติการทุกชนิดที่มี ผลลดการทำงานของ อะไมเลส รวมการตกตะกอนเอนไซม์ จากสารแทนนิน เนื่องจากให้ ประโยชน์ลดการดูดซึมของกลูโคส

ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ พบสารสกัดน้ำ (W) ของพืช 45 ชนิด และ สารสกัด Et W ของพืช 43 ชนิด มี ค่า AI มากกว่า 1 ในการยับยั้งอะไมเลส จากน้ำลายและตับอ่อน กราฟความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีการ ยับยั้งอะไมเลส แสดงว่า สารสกัด W และ Et W ของพืช 47 ชนิด มีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ทั้งสองเท่ากัน การทดสอบเชิงปริมาณพบ สารสกัดพืชทั้ง W และ Et W จำนวน 40 ชนิด มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ทั้งสอง ชนิดในช่วงค่า มากกว่า ศูนย์ ถึง 100 โดยมีพืช 9 ชนิดที่มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ทั้งสองมากกว่า 50 และ AI index มากกว่า 1 พืชเหล่านี้ได้แก่ บัว (*Nelumbo nufera Gaerth*) ฝรั่ง (*Psidium guajava Linn.*) สะเดา (*Azadirachta indica A. Juss*) กระเจี๊ยบ (*Hibicus sabdariffa Linn.*) ถุน (*Cassia fistula Linn.*) พูกวาง (*Terminalia Linn.*) ไมยราบ (*Mimosa pudica L. hispidabrenan*) ใต้ใบ (*Phyllanthus amarus Schum&Thonn.*) และ อินทนิลน้ำ (*Lagerstroemia speciosa (L.) Pers.*) การค้นพบทางวิทยาศาสตร์นี้สนับสนุนการใช้พืชเหล่านี้ตามความ เชื่อพื้นบ้าน ว่าลดระดับน้ำตาลด้วยการยับยั้งการทำงานของอะไมเลส จากน้ำลาย และ ตับอ่อน

การทดสอบคุณสมบัติต้านออกซิเดชั่น ของสารสกัดพืช ด้วยสาร 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil (DPPH) เพื่อดูผลของสารสกัดพืชในการช่วยลดปัญหาแทรกซ้อนจากภาวะเครียดออกซิเจน จากระดับน้ำตาล ที่สูงในผู้ป่วย พบพืช 20 ชนิด มีร้อยละ DPPH scavenging มากกว่า 50 โดยมีพืช 9 ชนิด ทั้งสารสกัด W และ Et W มีศักยภาพยับยั้งอะไมเลส จากน้ำลาย และตับอ่อนมากกว่าร้อยละ 50 ร่วมด้วย การศึกษาเบื้องต้น เกี่ยวกับการจำแนกกลุ่มสารยับยั้งอะไมเลส ในสารสกัดของพืชที่ทดสอบ พบว่าเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิก

เป็นหลัก เนื่องจากให้ผลทดสอบบวกกับสารละลาย  $\text{FeCl}_3$  และสามารถตรวจวัดปริมาณ ฟีนอลดีกรวมได้  
การจำแนกชนิดของสารออกฤทธิ์เหล่านี้ อยู่ในระหว่างการดำเนินการ