รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

คุณสมบัติต้านการอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน

Anti-inflammation and cytotoxic properties in medical plants for diabetes treatment

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผศ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ.ดร.สุวรรณา เสมศรี

อ.ดร.สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

จากเงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 60267

สัญญาเลขที่ 46.3/2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

คุณสมบัติต้านการอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน

Anti-inflammation and cytotoxic properties in medical plants for diabetes treatment

ผศ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผศ.ดร.สุวรรณา เสมศรี

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

อ.ดร.สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

มีนาคม 2563

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

(Executive Summary)

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากมหาวิทยาลัยบูรพาประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 โครงการวิจัยเรื่อง คุณสมบัติต้านการอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน (Anti-inflammation and cytotoxic properties in medical plants for diabetes treatment) รหัสโครงการ 60267 สัญญาเลขที่ 46.3/2562 ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 943,000 บาท (เก้าแสนสี่หมื่นสามพันบาทถ้วน)

ระยะเวลาดำเนินงาน 1 ปี ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2561 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2562

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดข่า (*Alpinia galanga*) และสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน ในการศึกษาได้นำเหง้าข่าสด และกากของเหง้าข่าสดหลังจากคั้นน้ำ มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน เมทานอล เอทานอล และต้มกับน้ำเดือด จากผลการทดลอง พบว่าสารสกัดเหง้าข่าสด และกากเหง้าข่าสดหลังจากคั้นน้ำ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ได้ 50% (IC_{50}) ที่ความเข้มข้น 10.8 ± 1.15 และ 9.0 ± 2.28 μg/mL ตามลำดับ อีกทั้งสารสกัดดังกล่าวไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero อีกด้วย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรในกลุ่มรักษาเบาหวาน จำนวน 45 ชนิด พบว่า สารสกัดสะแง (*Coriandrum* sp.) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล แสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ 50% ที่ความเข้มข้น 7.3 ± 5.95 และ 29.2 ± 3.12 μg/mL ตามลำดับ และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero เช่นกัน จากผลการศึกษาคาดว่า ข่า และ สะแง น่าจะสามารถที่จะนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นยาหรือส่วนประกอบทางยาที่ใช้สำหรับการรักษาและป้องกันภาวะการอักเสบ และช่วยบรรเทาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ ของโรคเบาหวานได้

Output / Outcome

1. Anan Athipornchai*, Suwanna Semsri, Sureeporn Homvisasevongsa. Anti-inflammatory potential of galangal rhizome extracts for the prevention and treatment of Diabetes and related diseases (Manuscript in preparation).
2. ได้เทคโนโลยี กรรมวิธี และกระบวนการใหม่ในการเตรียมสารสกัดหยาบ และสารออกฤทธิ์จากข่า ที่สามารถ ช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวาน โดยการยับยั้งตัวกลางในกระบวนการอักเสบที่สำคัญ คือยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS
3. ได้อนุสิทธิบัตร และผลิตภัณฑ์ใหม่จากข่า ที่สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวาน โดยการยับยั้งตัวกลางในกระบวนการอักเสบที่สำคัญ คือยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS
4. ได้ผลิตนักวิทยาศาสตร์ และนักวิจัยไทย ให้มีความสามารถและเชี่ยวชาญในงานวิจัยด้านสมุนไพรขึ้น
5. ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่จะช่วยยืนยันภูมิปัญญาไทยจากพืชสมุนไพรไทยผักพื้นบ้านที่สามารถนำมารับประทานได้ที่ออกฤทธิ์ต้านเบาหวาน และภาวะต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้พบว่า สารสกัดข่าและสมุนไพรในกลุ่มรักษาเบาหวานสามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวาน โดยการยับยั้งตัวกลางในกระบวนการอักเสบที่สำคัญ คือยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ได้เป็นอย่างดี แต่ข้อมูลดังกล่าวเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านกลไกของสารสกัดข่าและสมุนไพรในกลุ่มรักษาเบาหวานที่มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบในระดับอณูโมเลกุล และศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดที่มีส่วนในการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ ก่อนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของอาหารเสริม ยา หรือส่วนประกอบทางยาที่ใช้สำหรับการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ ของโรคเบาหวานซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ รหัสโครงการ 60267 เลขที่สัญญา 46.3/2562

โครงการวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือด้านต่างๆ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับความอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับเงินทุนอุดหนุนการวิจัยในโครงการวิจัยนี้

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดข่า (*Alpinia galanga*) และสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน ในการศึกษาได้นำเหง้าข่าสด และกากของเหง้าข่าสดหลังจากคั้นน้ำ มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน เมทานอล เอทานอล และต้มกับน้ำเดือด จากผลการทดลอง พบว่าสารสกัดเหง้าข่าสด และกากเหง้าข่าสดหลังจากคั้นน้ำ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ได้ 50% (IC_{50}) ที่ความเข้มข้น 10.8 ± 1.15 และ 9.0 ± 2.28 μg/mL ตามลำดับ อีกทั้งสารสกัดดังกล่าวไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero อีกด้วย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรในกลุ่มรักษาเบาหวาน จำนวน 45 ชนิด พบว่า สารสกัดสะแงะ (*Coriandrum* sp.) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล แสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ 50% ที่ความเข้มข้น 7.3 ± 5.95 และ 29.2 ± 3.12 μg/mL ตามลำดับ และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero เช่นกัน จากผลการศึกษาคาดว่า ข่า และ สะแงะ น่าจะสามารถที่จะนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นยาหรือส่วนประกอบทางยาที่ใช้สำหรับการรักษาและป้องกันภาวะการอักเสบ และช่วยบรรเทาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ ของโรคเบาหวานได้

Abstract

This research is to study the anti-inflammatory and cytotoxic properties of galangal and medicinal plants extracts for diabetes treatment. For this study, the fresh rhizomes and the residue of the fresh rhizomes after separating the water of *Alpinia galanga* were extracted with acetone, methanol, ethanol and boiling water. From the results it was found that the 95% ethanol extracts from these materials showed the most potent inhibition of nitric oxide (NO) production in LPS stimulated RAW264.7 macrophage cell lines, with half maximal inhibitor concentration (IC_{50}) values of 10.8 ± 1.15 and 9.0 ± 2.28 μg/mL, respectively. Moreover, these extracts showed no cytotoxic activity against normal cells (Vero cell). In addition, the forty-five medicinal plants for diabetes treatment were also evaluated the anti-inflammatory and cytotoxic properties. The methanol and 95% ethanol extracts of *Coriandrum* sp. showed strongest anti-inflammatory activity with IC_{50} values of 7.3 ± 5.95 and 29.2 ± 3.12 μg/mL, respectively and they also showed no cytotoxicity against Vero cell. Therefore, the *Alpinia galangal* and *Coriandrum* sp. should be able to develop into drugs or pharmaceutical components used for the treatment and prevention of inflammatory effects and it helps to alleviate the pharmacological effects of diabetes.

สารบัญ

		หน้า
1. บทนำ (Introduction)		**1**
1.1	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2	วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3	ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4	วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี และแนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	2
1.5	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	10
1.6	แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	10
2. วิธีดำเนินการวิจัย (Material & Method)		**11**
2.1	อุปกรณ์และสารเคมี	11
2.2	ตัวอย่างพืชที่ศึกษา (Plant materials)	11
2.3	การเตรียมสารสกัดหยาบ (Preparation of extracts)	13
2.4	การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammation activity)	13
2.5	การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity)	14
3. ผลการทดลองและอภิปรายผล (Results & Discussion)		**15**
3.1	การเตรียมสารสกัดหยาบ (Preparation of extracts)	15
3.2	ฤทธิ์การต้านการอักเสบ (Anti-inflammation activity)	17
3.3	ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดข่า และสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน	20
4. สรุปผลการทดลอง (Conclusion)		**23**
	ข้อเสนอแนะ การทำวิจัยในขั้นตอนต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้	24
บรรณานุกรม		25
ผลผลิตของโครงการวิจัย (Output)		28
ภาคผนวก : ประวัติคณะผู้วิจัย		29

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1-1	กลุ่มของสารเคมีและจำนวนสารที่ออกฤทธิ์รักษาโรคเบาหวาน	3
2-1	ตัวอย่างพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดที่ใช้ในการศึกษา	11
3-1	น้ำหนัก ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบเหง้าข่า	15
3-2	ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด	16
3-3	ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดข่าเหง้าสดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	17
3-4	ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดกากเหง้าข่าสดหลังคั่นน้ำออก และสารสกัดเหง้าข่าแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	18
3-5	ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน	19
3-6	ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยตัวทำลายชนิดต่าง ๆ	20
3-7	ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน	21

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1-1	การเกิดกระบวนการอักเสบ	5

1. บทนำ (Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคเบาหวาน คือ สภาวะที่ร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติเกิดขึ้นเนื่องมาจากร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลในเลือดไปใช้ได้ตามปกติ ร่างกายของคนเราจำเป็นต้องใช้พลังงานในการดำรงชีวิตพลังงานเหล่านี้ได้มาจากอาหารต่างๆ ที่รับประทานเข้าไป โดยเฉพาะอาหารประเภทแป้งซึ่งจะถูกย่อยสลายกลายเป็นน้ำตาลกลูโคสในกระเพาะอาหารและถูกดูดซึมเข้าไปในกระแสเลือดเพื่อส่งผ่านไปเลี้ยงเยื่อส่วนต่างๆของร่างกาย แต่การที่ร่างกายจะนำกลูโคสไปใช้เป็นพลังงานได้นั้นมีความจาเป็นต้องอาศัยฮอร์โมนจากตับอ่อนชื่ออินซูลิน (Insulin) เป็นตัวพาน้ำตาลกลูโคสในเลือดเข้าไปในเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ หากขาดฮอร์โมนอินซูลินแล้วก็จะทาให้น้ำตาลไม่สามารถเข้าไปในเนื้อเยื่อได้และจะมีน้ำตาลในเลือดเหลือค้างอยู่มากกว่าปกติซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อนไม่สามารถสร้างฮอร์โมนอินซูลินออกมาได้เพียงพอ หรือสร้างไม่ได้เลย หรือสร้างได้แต่อินซูลินนั้นออกฤทธิ์ได้ไม่ดี ความผิดปกติ เหล่านี้ล้วนแต่เป็นสาเหตุที่ทำให้ร่างกายนำน้ำตาลไปใช้ได้ไม่ดี ส่งผลให้น้ำตาลในเลือดเหลือค้างอยู่มากและมีระดับสูงกว่าคนปกติ (ในคนปกติก่อนรับประทานอาหารเช้าจะมีระดับน้ำตาลในเลือดประมาณ 70-115 mg/dL และหลังรับประทานอาหารแล้ว 2 ชั่วโมงระดับน้ำตาลในเลือดไม่เกิน 140 mg/dL)[1]

โรคเบาหวานเป็นโรคที่อยู่ในกลุ่มโรค NCDs (Non-Communicable diseases) หรือเรียกว่า กลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรังสามารถรักษาได้แต่ไม่หายขาดทั้งนี้เกิดจากสาเหตุของโรค คือ การสืบทอดทางกรรมพันธุ์ และปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวานได้อีกหลายประการ เช่น ความอ้วน ร่างกายเสื่อมสภาพในผู้สูงอายุ ตับอ่อนได้รับความกระทบกระเทือน การติดเชื้อไวรัสบางชนิด เช่น คางทูม หัดเยอรมัน เกิดจากการใช้ยาบางชนิด เช่น ยาขับปัสสาวะ ยาคุมกำเนิด ทาให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นได้ และเกิดจากการตั้งครรภ์ เนื่องจากฮอร์โมนหลายชนิดที่สังเคราะห์ขึ้นมีผลยับยั้งการทำงานของอินซูลิน การเป็นโรคเบาหวานหากไม่ดูแลรักษาตัวเองให้ดีแล้วจะนำมาซึ่งโรคแทรกซ้อนกับระบบต่างๆ ของร่างกายได้มาก เช่น โรคแทรกซ้อนเฉียบพลัน คือ ฝีฝักบัว แผลที่เท้า วัณโรคปอด ไตอักเสบ เป็นต้น และโรคแทรกซ้อนเรื้อรัง คือ โรคหัวใจ หลอดเลือดหัวใจตีบแข็ง เป็นต้น ในระหว่างมีชีวิตอยู่หากไม่ควบคุมระดับน้ำตาล ผลที่เกิดขึ้นคือ ไม่มีคุณภาพชีวิตที่ดี การรักษาเบาหวานแบบการแพทย์แผนปัจจุบัน ทั้งการฉีดฮอร์โมน การใช้ยาต่างๆ แล้ว ยังมีการรักษาแบบทางเลือกที่ได้รับความสนใจ ทั้งเรื่องของสมุนไพร โยคะหรือการออกกาลังกายก็อาจช่วยบรรเทาอาการเจ็บป่วยและส่งผลต่อคุณภาพชีวิตที่ดีของผู้ป่วยเบาหวานอีกด้วย พืชที่ใช้เป็นอาหารหลายชนิดมีประสิทธิภาพในการลดน้ำตาลในเลือดในสัตว์ทดลองได้ เช่น หัวหอมใหญ่ (*Allium cepa*)[2] น้ำต้มปลีกล้วย (*Musa sapeintum*)[3] น้ำคั้นผลมะระ (*Momordica charatia*)[4] หัวกระเทียม (*Allium sativum*)[5] และใบ-ลำต้นตำลึง (*Coccinia indica*)[6] อย่างไรก็ตามในการใช้สมุนไพรรักษาโรคเบาหวานนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องมีการทดสอบความเป็นพิษของสารออกฤทธิ์ชนิดนั้น และควรทดสอบฤทธิ์ทางด้านการต้านการอักเสบด้วยเพื่อเป็นทางเลือกในการคัดเลือกสมุนไพรที่จะนำมาใช้ในการลดน้ำตาลในเลือดและมีฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วย เพื่อที่จะป้องกันและลดภาวะแทรกซ้อนที่เกี่ยวกับการอักเสบซึ่งพบได้บ่อยในผู้ป่วยเบาหวาน ดังนั้นกลุ่มผู้จึงได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเหง้าข่าซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการปรุงอาหารและสารสกัดในกลุ่มที่ลดน้ำตาลในเลือดได้ โดยได้ทำการศึกษาด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติและการต้านการอักเสบ เพื่อนำมาใช้เป็นต้นแบบในการผลิตอาหารเสริมหรือยาในการลดระดับน้ำตาลในเลือดที่ใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อค้นหาฤทธิ์การต้านการอักเสบของสารสกัดข่าและพืชสมุนไพรกลุ่มที่ลดระดับน้ำตาลในเลือด
2. เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดข่าและพืชสมุนไพรกลุ่มที่ลดระดับน้ำตาลในเลือด
3. เป็นการค้นหาสารสกัดสมุนไพรที่มีทั้งฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดและต้านการอักเสบเพื่อใช้เป็นต้นแบบในการผลิตเป็นอาหารเสริมหรือยาลดระดับน้ำตาลในเลือดที่ใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดข่าและสารสกัดพืชสมุนไพรในกลุ่มที่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการวัดการลดลงของระดับไนตริกออกไซด์ในเลี้ยงเซลล์แมคโคฟาจชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS
2. ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดข่าและสารสกัดพืชสมุนไพรในกลุ่มที่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดในเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงต้นแบบชนิด vero ด้วยวิธี MTT

1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี และแนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

การรักษาเบาหวานแบบการแพทย์แผนปัจจุบัน ทั้งการฉีดฮอร์โมน การใช้ยาต่าง ๆ แล้ว ยังมีการรักษาแบบทางเลือกที่ได้รับความสนใจ ทั้งเรื่องของสมุนไพร โยคะหรือการออกกาลังกายก็อาจช่วยบรรเทาอาการเจ็บป่วยและส่งผลต่อคุณภาพชีวิตที่ดีของผู้ป่วยเบาหวานอีกด้วย ตามตาราแพทย์แผนโบราณที่เป็นการสืบต่อความรู้ผ่านคำบอกเล่าระบุว่า สมุนไพรหลายชนิดช่วยรักษาโรคเบาหวานได้ แต่ถึงปัจจุบันก็ยังไม่มีผลวิจัยหรือบทพิสูจน์ระบุได้อย่างชัดเจน นั่นอาจจะเนื่องมาจากกระบวนการควบคุมปริมาณสารออกฤทธิ์ในสมุนไพรที่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ดินที่ปลูก สภาพอากาศ สายพันธุ์ ต่างมีผลต่อสมุนไพรนั้นๆ รวมถึงวิธีการสกัด ไม่ว่าจะเป็นการต้ม บด หรือ นำมาประกอบอาหาร เหล่านี้ต่างให้ประสิทธิภาพของสมุนไพรต่างๆ เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ทั้งสิ้น อย่างไรก็ตามมีการทดลองสมุนไพรหลายกลุ่ม พบว่า บางกลุ่มมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดจริง การศึกษาการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคเบาหวานในทางวิทยาศาสตร์ส่วนมากจะทำการหาชนิดของสารออกฤทธิ์ในสมุนไพรชนิดนั้น นำมาหาปริมาณ และรูปแบบการใช้ เพื่อให้ได้รูปแบบที่เหมาะสมแล้วศึกษาการรักษาโรคเบาหวานโดยอาจจะเริ่มใช้จากหนูทดลอง แล้วจึงนำมาใช้กับคน จากรายงานการศึกษาวิจัยต่างๆเกี่ยวกับการใช้พืช และสมุนไพรต่างๆในการป้องกัน บำบัด รักษาเฉพาะโรคเบาหวาน พบว่ามีสารประกอบชีวโมเลกุลมากกว่า 200 ชนิดที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ดังแสดงในตารางที่ 1-1 โดยสารประกอบชีวโมเลกุลที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในตารางบางชนิดหรือบางส่วนอาจจะมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นยารักษาโรคเบาหวานได้แต่ถึงแม้ว่าสารชีวโมเลกุลดังกล่าวจะสามารถลดน้ำตาลในเลือดได้แต่ก็อาจมีผลกระทบจากความความเป็นพิษที่เกิดจากตัวของสารเหล่านั้นเองหรือสารชนิดอื่นที่มีอยู่ในพืชสมุนไพร ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิดอาจจะประกอบด้วยชนิดและปริมาณของสารประกอบชีวโมเลกุลไม่เหมือนกันโดยและอาจจะมีไม่ครบทุกชนิดดังตารางแต่ก็จะมีสารสำคัญเหล่านี้ประกอบอยู่ดังตัวอย่างที่พบในพืช ได้แก่

ตารางที่ 1-1 กลุ่มของสารเคมีและจำนวนสารที่ออกฤทธิ์รักษาโรคเบาหวาน[7]

กลุ่มสารเคมี	จำนวนสารที่ออกฤทธิ์	กลุ่มสารเคมี	จำนวนสารที่ออกฤทธิ์
alkaloids	38	Peptides and amine	15
carbohydrates	66	Phenolics (simple)	4
Coumias	4	Phenolpropanoids	1
Cyanogenic glycosides	1	Steroids	7
Flavonoids	7	Stilbenes	1
Glycopeptides	20	Sufur compounds	2
Inorganic salts	3	Terpenoids	17
Iridois	4	Vitamins	2
Lipid	6	Xanthenes	1

1. อัลคาลอยด์ (alkaloids) ส่วนใหญ่จะเป็นส่วนประกอบของพืชเช่น อัลคาลอยด์ที่สกัดได้จากดอกแพงพวย (*Catharanthus roseus*) เมื่อสกัดออกมาจะพบว่าเป็น อัลคาลอยด์ที่เป็น กรดอะมิโน เช่น Ornithine, Lisine, Phenylalanine, Tyrosine, Histidine, Aspartic acid และอัลคาลอยด์ เช่น anonitine, anisodamine และcarantine ซึ่งอัลคาลอยด์เหล่านี้ได้รับการทดสอบว่ามีผลต่อการรักษาโรคเบาหวานได้[8] ซึ่งในอนาคตอัลคาลอยด์มีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาเพื่อให้เป็นยารักษาโรคเบาหวานได้

2. คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates) เป็นที่ทราบกันแน่ชัดกันแล้วว่าคาร์โบไฮดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลใหญ่ๆสามารถเป็นสารอาหารที่มีผลทำให้น้ำตาลในเลือดต่ำลงเนื่องจากร่างกายย่อยคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้ได้น้อยหรือไม่สามารถย่อยได้คาร์โบไฮเดรตเหล่านี้พบในพืชต่าง ๆ เช่น คารอบ กัม (carob gum) และกัวกัม (guar gum) ซึ่งเป็น คาร์โบไฮเดรตประเภทกาแลคโตแมนแนน (galactomannans) จากที่ได้มาจากพืช *Ceratonia siliqua* L. และ *Cyamopsis tetragon* โดยคาร์โบไฮเดรตทั้งสองชนิดนี้จะทำให้การย่อยคาร์โบไฮเดรตในระบบการย่อยอาหารลดลง ในปี 1981 จากรายงานของ Leeds พบว่าคาร์โบไฮเดรตที่ไปเกาะกับโปรตีน เช่น เลคติน (lectins) ซึ่งพบอยู่ในพืชตระกลูถั่ว โปรตีนชนิดนี้จะทำให้สารอาหารในระบบย่อยอาหารเคลื่อนที่ได้เร็วขึ้นส่งผลทำให้การดูดซึมน้ำตาลกลูโคสลดลง คาร์โบไฮเดรต อะคาร์โบส (acarbose) มีคุณสมบัติในการลดการเปลี่ยนเป็นกลูโคสของคาร์โบไฮเดรตและเพิ่มฮอร์โมนอินซูลินที่สังเคราะห์จากกล้ามเนื้อ นอกจากนี้พบว่าคาร์โบไฮเดรตชนิด คาสตาโนสเปอร์มีน (castanospermine) ซึ่งเป็น อินโดลิสซิดีนอัลคาลอยด์ที่มาจากพืช สามารถยับยั้งไม่ให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้นได้ เป็นต้น ดังนั้นองค์ประกอบของพืชสมุนไพรที่เป็นคาร์โบไฮเดรตจะนำมาใช้ในการรักษาโรคเบาหวานโดยคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้จะมีคุณสมบัติเป็นสารที่ช่วยลดการย่อยคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กๆที่สามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ยากขึ้น บางชนิดช่วยให้อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตผ่านกระบวนการดูดซึมไปเร็วขึ้นทำให้ดูดซึมน้ำตาลกลูโคสน้อยลง บางชนิดมีคุณสมบัติในการช่วยส่งเสริมการสังเคราะห์ฮอร์โมนอินซูลินจากกล้ามเนื้อ

3. วิตามิน (vitamins) กรดนิโคตินนิก (nicotinic acid) เป็นวิตามินที่ได้จากพืชที่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดโดยกลไกการลดระดับน้ำตาลในเลือดของกรดนิโคตินนิกจะเป็นไปค่อนข้างช้าและมีอัตราการลดระดับเพียงเล็กน้อยโดยกรดนิโคตินนิกเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะเปลี่ยนไปเป็น นิโคตินาไมด์ (nicotinamide) เพื่อจะไปยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ poly (ADP-ribose) ที่จะทำให้ NAD จากเบต้าเซลล์ถูกทำลายหรือทำลายอนุมูลอิสระของไฮดรอกซิลเมื่อ NAD ลดลงจะมีผลต่อการสังเคราะห์น้ำตาลทำให้ปริมาณน้ำตาลในเลือดก็จะลดน้อยลงวิตามินอี (α-tocopherol) ซึ่งจะพบมากในเมล็ดถั่วและในใบของพืชโดยปริมาณของ

วิตามินอีประมาณ 600-1200 mg/day จะสามารถลดระดับของ glycosylate hemoglobin (ตัวบ่งชี้ระดับกลูโคสในเลือด) ซึ่งหมายถึงวิตามินอีสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ [9,10]

4. คูมารินส์ (coumarins) มีโครงสร้างโดยทั่วไปคือ 2-α-benzopyrone พบในธรรมชาติทั้งรูปแบบไกลโคไซด์และอะไกลโคน เป็นสารจำพวกแลกโตนไกลโคไซด์ด้วย มีการจำแนกคูมารินส์ตามลักษณะโครงสร้างออกเป็น simple coumarins, furanocoumarins, pyrocoumarins, phenyl coumarins และ bicoumarins พบได้ทั้งในพืชและจุลินทรีย์ โดยสารสำคัญที่กระจายตัวมากที่สุดคือคูมารินในพืชประมาณ 150 ต้นกว่า 30 วงศ์ มีชีวสังเคราะห์ผ่านวิถีชิกิเมตโดยมีสารตั้งต้นเป็นคาร์โบไฮเดรต สามารถทดสอบด้วยแสงฟลูออเรสเซนต์ภายใต้รังสียูวี คูมารินส์ได้นำมาใช้ประโยชน์ทางการรักษาโรคเบาหวาน โดยคูมารินส์ในรูปของไฮดรอกซีคูมารินส์จะไปขัดขวางการทำงานของควิโนน (quinone) ทำให้การย่อยสลายสารอาหารให้เป็นน้ำตาลกลูโคสได้ยากขึ้น และทำให้อาหารไหลผ่านระบบการย่อยได้เร็วขึ้น จึงไม่สามารถดูดซึมกลูโคสได้ทำให้น้ำตาลกลูโคสลดลงได้

5. สเตอรอยด์ (steroids) สเตอรอยด์ที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานที่พบมาก ได้แก่ ที่เป็นสารสกัดจากต้นไม่รู้ล้ม คือ สเตอรอยด์ชนิด 28Nor-22(R)Witha-2,6,23-trienolide ซึ่งจากการศึกษาพบว่าใช้เป็นสเตอรอยด์ในการรักษาโรคเบาหวานได้ เป็นต้น [11]

6. เบปไทด์ (peptides) และ เทอร์ปินอยด์ (terpenoids) จากรายงานการศึกษาสารสกัดผลไม้ เมล็ดพืช และเนื้อเยื่อจากเมล็ด พบว่า โพลิเปบไทด์ กรดอะมิโนบางชนิดมีผลทำให้ภาวการณ์ดื้ออินซูลินลดลง ทำให้เกิดความทนทานจากกลูโคสมากขึ้น [12]

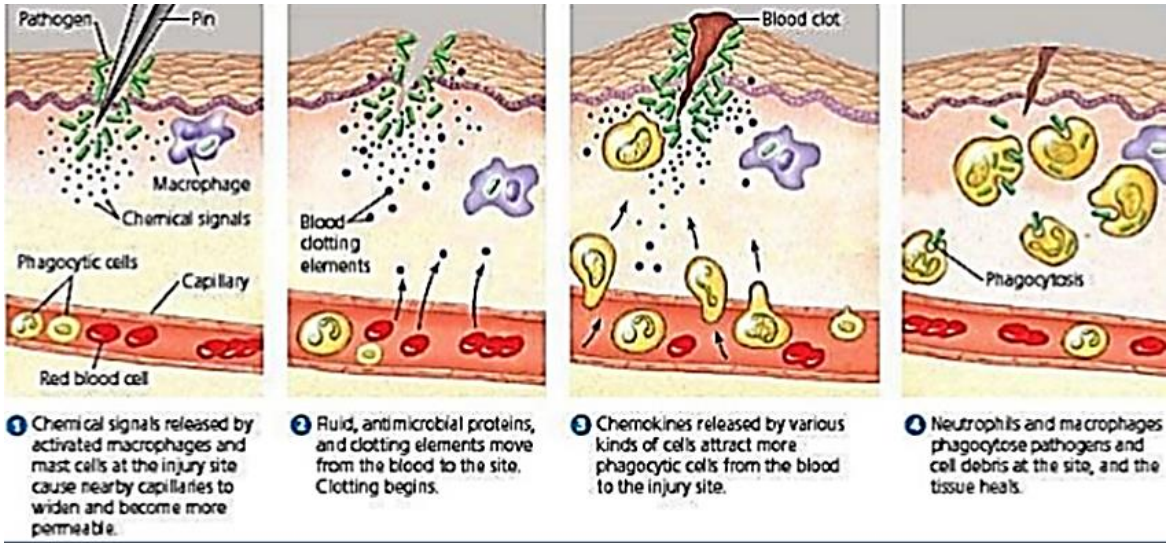
7. สารประกอบซัลเฟอร์ ในหัวหอมและกระเทียมที่มีกำมะถัน ซึ่งอยู่ในรูปสารประกอบซัลไฟด์จะทำหน้าที่โดยเหมือนกับฮอร์โมนอินซูลินซึ่งจากการทดลองสามารถลดน้ำตาลในเลือดของสัตว์ทดลองได้ [13]

ในรายงานการศึกษาการใช้สมุนไพรรักษาโรคเบาหวานของไทย พบว่า การใช้สมุนไพรไทยที่หาได้ง่าย เช่น มะระไทย ตำลึง กระเทียม ฝรั่ง ลูกใต้ใบ มะแว้งทั้งต้นและเครือ มาทำการทดลองในสัตว์ทดลองส่วนกลุ่มที่ทำการทดลองในคนแล้วให้ผลดี ได้แก่ เม็ดแมงลัก ว่านหางจระเข้ หอมหัวใหญ่ และหญ้าหนวดแมว [14] จะเห็นได้ว่าเมื่อนำสมุนไพรที่มีประโยชน์ในการรักษาโรคเบาหวาน เช่น กระเทียม ตำลึง มะแว้งต้น แมงลัก ว่านหางจระเข้ หญ้าหนวดแมว มาทดลองใช้กับหนูหรือกับผู้ป่วยเบาหวานแล้วส่วนมากจะทำให้น้ำตาลในเลือดลดลง [14] แต่บางชนิดออกฤทธิ์ไม่สม่ำเสมอทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณน้อยเกินไปหรือออกฤทธิ์อยู่ไม่นานทำให้ผลการรักษาไม่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นการใช้สมุนไพรเป็นตัวช่วยในการรักษาโรคเบาหวานเป็นเรื่องที่สามารถทำได้ แต่ต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และใช้ระยะเวลาในการใช้นานพอที่จะทำให้สารที่ออกฤทธิ์มีการสะสมจนถึงระดับที่สามารถออกฤทธิ์ต่อกลไกการรักษา เช่น ตัวอย่างจากการศึกษาของ Lee et al.[15] และ Liu[16] พบว่าการใช้กรดยูโซลิก และกรดโอลีนโนลิก ในปริมาณต่ำ คือร้อยละ 0.01 และร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักของอาหาร มีผลทำให้สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ควบคุมความเข้มข้นของระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด เกิดความทนทานต่อกลูโคส ความทนทานต่ออินซูลิน ตับอ่อนสามารถสร้างฮอร์โมนอินซูลินสูงขึ้น และเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูเบาหวานได้ ซึ่งกรดยูโซลิก และกรดโอลีนโนลิกเป็นสารออกฤทธิ์ต่อการรักษาโรคเบาหวานที่มีอยู่มากในสมุนไพรในวงศ์ Lamiaceae โดยสมุนไพรในวงศ์นี้จะพบในพืชผักพื้นบ้าน เช่น กระเพราแดง กระเพราขาว โหระพา หญ้าหนวดแมว เป็นต้น [17] ดังนั้นการใช้สมุนไพรเพื่อการรักษาโรคเบาหวานจึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาทดลองหาชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์และการใช้ในคนเพื่อที่ได้ปริมาณการใช้สมุนไพรที่เหมาะสม รวมทั้งศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารออกฤทธิ์ในสมุนไพรดังกล่าวต่อไป การใช้สมุนไพรรักษาโรคเบาหวานนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องมีการทดสอบความเป็นพิษของสารออกฤทธิ์ชนิดนั้น ตลอดจนสมุนไพรชนิดนั้นด้วย ซึ่งจากตัวอย่างข้างต้น เมื่อนำสารออกฤทธิ์ในสมุนไพร คือ

กรดโอลีนโนลิกและ กรดยูโซลิก มาทำการทดลองทางพิษวิทยากับหนู และคน พบว่าการใช้กรดทั้งสองไม่มีความเป็นพิษ และแม้ว่าจากการศึกษากรดยูโซลิกจะไม่มีประวัติความเป็นพิษในคน แต่พบว่ามีผลต่อการเป็นหมันในหนูและสามารถทำลาย DNA ได้[16] ดังนั้นจึงต้องคำนึงถึงการใช้หากมีการใช้อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน และเมื่อศึกษาสมุนไพรที่มีกรดทั้งสองนี้ เช่น กะเพรา โหระพา สะระแหน่ ชะพลู พบว่าเป็นสมุนไพรที่ใช้กันโดยทั่วไปไม่มีประวัติในการเป็นพิษต่อคน ดังนั้นการใช้สมุนไพรที่เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่รับประทานเป็นประจำ และไม่มีประวัติความเป็นพิษ อีกทั้งยังมีสารออกฤทธิ์ต่อการรักษาโรคเบาหวานอยู่ในปริมาณสูง เช่น กะเพราแดง กระเพราขาว ชะพูล โหระพา[17] นอกจากนี้ยังมีพืชในสวนครัวที่มีสรรพคุณในการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ คือ ข่า ซึ่งเป็นพืชสวนครัวเรือนที่นำมาใช้ในการปรุงอาหารโดยพบว่าจะมีข่าเป็นองค์ประกอบอยู่ในเกือบทุกสูตรของตำรับอาหารไทย ข่ามีชื่อภาษาอังฤกษว่า Galanga, Creater Galanga และ False Galanga) มีชื่อวิทยาสาสตร์คือ *Alpinia galanga* (L.) Willd. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นนตระกูลเดียวกับขิง ข่ามีสารประกอบที่สำคัญคือ cineole, camphor และ eugenol ลดการบีบตัวของลำไส้, 1'-acetoxychavicol acetate, 1'-acetoxyeugenol acetate และ eugenol ช่วยลดการอักเสบ, 1'-acetoxychavicol acetate และ 1'-acetoxyeugenol acetate ช่วยยับยั้งการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร และฆ่าเชื้อรา eugenol มีฤทธิ์ขับน้ำดี ช่วยย่อยอาหาร และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

การอักเสบ (inflammation)

การอักเสบ คือ กระบวนการตอบสนองเฉพาะที่ของร่างกายที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในเนื้อเยื่อนั้นๆ ซึ่งปฏิกิริยาการตอบสนองเฉพาะที่นี้ ถ้าเป็นมากอาจส่งผลกระทบต่อร่างกายทั้งระบบได้



รูปที่ 1-1 การเกิดกระบวนการอักเสบ
ที่มา: https://images.app.goo.gl/zaKK9qRJ5iPtjPVJ9

การอักเสบนั้นมีสาเหตุได้จากหลายๆ สาเหตุ ได้แก่

1. สาเหตุจากภายนอกร่างกาย (exogenous)
   1.1 Mechanical injury คือ การบาดเจ็บมาจากแรงธรรมชาติประเภทต่างๆ ที่กระทำต่อเนื้อเยื่อให้บาดเจ็บโดยตรง เช่น การผ่าตัด, แทง, ตี, ยิง, ชน เป็นต้น
   1.2 Thermal injury คือ การบาดเจ็บมาจากอันตรายของความร้อน เช่น น้ำร้อน, ไฟไหม้, น้ำมันลวก เป็นต้น
   1.3 Electrical injury คือ การบาดเจ็บมาจากอันตรายของกระแสไฟฟ้า เช่น ฟ้าผ่า, ไฟฟ้าลัดวงจร, ไฟดูด เป็นต้น
   1.4 Radiation injury คือ การบาดเจ็บมาจากอันตรายจาการแผ่รังสีและสารกัมมันตภาพรังสี เช่น ultraviolet rays, X rays, radium เป็นต้น
   1.5 Chemical injury คือ การบาดเจ็บจากสารเคมีภายนอกร่างกาย เช่น กรดหรือด่างอย่างแรง สารเหล่านี้ทำอันตรายให้เนื้อเยื่อบาดเจ็บได้มาก
   1.6 Microbiologic injury การบาดเจ็บจากการกระทำของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น ไวรัส, แบคทีเรีย, โปรโตซัว, พยาธิ เป็นต้น

2. สาเหตุจากภายในร่างกาย (endogenous)
   2.1 การบาดเจ็บจากสารเคมีภายในร่างกาย เช่น น้ำดี (bile), น้ำย่อยจากตับอ่อน (pancreatic juice), น้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร (gastric juice) และปัสสาวะ (urine) สารเหล่านี้หากรั่วไหลเข้าไปในช่องท้องหรืออวัยวะอื่นๆ อาจทำให้เนื้อเยื่อบาดเจ็บได้
   2.2 Immune mechanism injury คือ การบาดเจ็บจากปฏิกิริยาภูมิคุ้มกัน เช่น โรคภูมิคุ้มกันไวเกิน (hypersensitivity)
   2.3 สาเหตุอื่นๆ เช่น การขาดเลือดไปเลี้ยง (ischemia) ทำให้เกิด myocardial infarction หรือการลอกตัวของผนังมดลูกระหว่างมีระดู (menstruation) เป็นต้น

ประเภทของการอักเสบแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. การอักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute inflammation) เป็นการอักเสบที่เกิดขึ้นทันทีและรวดเร็ว ใช้ระยะเวลาในการเกิดสั้น แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับสาเหตุชักนำด้วยว่าจะคงอยู่นานเท่าใด โดยทั่วไปพยาธิสภาพประกอบด้วยการขยายขนาดของหลอดเลือดเล็ก พร้อมกับการคั่งของเม็ดเลือดแดง เกิดการบวมทั่วไปของเนื้อเยื่อบริเวณอักเสบ และเซลล์อักเสบที่พบเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด polymorphonuclear cells เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้อาจพบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณที่อักเสบร่วมด้วย

2. การอักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic inflammation) เป็นการอักเสบที่เกิดขึ้นช้าและใช้ระยะเวลานาน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสาเหตุชักนำและระยะเวลาของการอักเสบด้วย อาจพบพยาธิสภาพร่วมของการซ่อมแซมส่วนสึกหรอ เช่น เกิดการพอกของเยื่อพังผืด (fibrosis) และสารหินปูน (calcification) หรือบางรายอาจพบการสร้างเซลล์เนื้อเยื่อใหม่ขึ้นทดแทนเซลล์ที่ตายไป หรือในบางครั้งอาจเกิดจากการอักเสบชนิดเฉียบพลันและต่อมากลายเป็นชนิดเรื้อรังถ้าหากว่าสาเหตุชักนำยังไม่ถูกกำจัดออกไป พยาธิสภาพของการอักเสบชนิดเรื้อรังประกอบด้วยเซลล์อักเสบเม็ดเลือดขาวชนิด Mononuclear cells เช่น Lymphocytes, Histiocytes หรือ Macrophages เป็นต้น

อาการแสดงสำคัญที่บ่งบอกถึงภาวะอักเสบ ได้แก่

1. แดง (redness)
2. บวม (swelling)
3. ร้อน (heat)
4. เจ็บปวด (pain)
5. สูญเสียหน้าที่ (loss of function)

กระบวนการอักเสบเกิดขึ้นจากการปลดปล่อยสารสื่อกลางทางเคมี (Chemical mediators) ในบริเวณที่เกิดการอักเสบนั้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่หลอดเลือด และทำให้เกิดอาการสำคัญดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

สารสื่อกลางทางเคมี (chemical mediators) ของการอักเสบ แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. สารชักนำการอักเสบที่ได้มาจากเซลล์

1.1 กลุ่มที่มีอยู่ดั้งเดิมในเซลล์ ไม่ต้องสร้างขึ้นใหม่ ได้แก่

1.1.1 Vasoactive amine เช่น

- ฮีสตามีน (histamine) พบได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อ โดยพบมากใน mast cells ซึ่งพบอยู่ตามเนื้อเยื่อรอบๆ หลอดเลือด นอกจากนี้สารฮีสตามีนยังพบใน basophils และ platelets สารฮีสตามีนทำให้เกิดการขยายหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (arterioles) และเพิ่ม vascular permeability ของหลอดเลือดดำขนาดเล็ก (venule) ทำให้เกิดการหดตัวของผนังหลอดเลือดดำ (venule) และขยายช่องว่างระหว่างเซลล์บุผนังหลอดเลือด (interendothelial cell junction) สาร ฮีสตามีนหลั่งออกจาก mast cells ได้หลายกรณี คือ จากการบาดเจ็บ (trauma) ความร้อนและความเย็น จากระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system) เช่น กรณี antibody จับกับ mast cells จาก anaphylatoxins เช่น C3a และ C5a จากโปรตีนที่หลั่งจากเม็ดเลือดขาวที่เรียกว่า histamine-releasing proteins จาก neuropeptides และจากสารไซโตไคน์ (cytokines) เช่น IL-1 และ IL-8

- Serotonin (5-Hydroxytryptamine) เช่นเดียวกับสารฮีสตามีนพบได้ใน platelets และ enterochromaffin cells

1.1.2 สารประกอบไลโซโซม (lysosomal compounds) เป็นสารเคมีที่พบในเม็ด lysosomes ของเม็ดเลือดขาว และเซลล์ monocytes สารเหล่านี้เมื่อปล่อยออกมานอกเซลล์มีผลชักนำให้เกิดการอักเสบได้ สารเคมีในไลโซโซมเหล่านี้มีหลายชนิดที่สำคัญรวมเรียกว่า proteases เช่น elastase, collagenase, proteinase เป็นต้น สารต่างๆ เหล่านี้ทำลายเนื้อเยื่อในร่างกาย ในขณะเดียวกัน ร่างกายก็ได้สร้างสารต่อต้านสารเคมีเหล่านี้เรียกว่า antiproteases สารเหล่านี้ที่สำคัญได้แก่ สาร alpha1-antitrypsin ซึ่งปกติจะคอยต้านตัวทำลาย (proteases) ที่สำคัญคือ elastase

1.2 กลุ่มที่ไม่มีอยู่เดิมภายในเซลล์ ต้องสร้างขึ้นใหม่

1.2.1 โพรสตาแกลนดินส์ (prostaglandins) และ ลิวโคไตรอีน (leukotrienes) สารโพรสตาแกลนดินส์ และ ลิวโคไตรอีน เรียกรวมว่า เอโคซานอยด์ (eicosanoids) เป็นผลิตผลจากกรดไขมัน arachidonic acid (AA) ที่เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) อยู่ในรูปของ phospholipids กรด arachidonic acid ถูกย่อยต่อไปด้วย เอนไซม์ ต่างชนิดกัน ทำให้ได้สาร 2 กลุ่ม คือ ถ้าถูกย่อยด้วยเอนไซม์ cyclooxygenase ได้สารโพรสตาแกลนดินส์และเมื่อถูกย่อยด้วย เอนไซม์ lipoxygenase ได้สารพวก leukotrienes สารพวกโพรสตาแกลนดินส์ถูกย่อยต่อไปได้สารต่างๆ กัน ตามแต่ชนิดของเอนไซม์

ที่พบ เช่น ถูกย่อยด้วยเอนไซม์บนเกล็ดเลือด (platelets) ได้ thromboxane (TxA_2) เป็นสารช่วยให้เกล็ดเลือดเกาะติดกัน (platelet aggregation promotor) และทำให้เส้นเลือดหดตัว ส่วนที่เซลล์บุผนังหลอดเลือดมีเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งเปลี่ยนโพรสตาแกลนดินส์ เป็นโพรสตาไซคลิน (prostacyclin; PGI_2) ทำให้หลอดเลือดขยายตัว และยับยั้งการจับกันของเกล็ดเลือด (platelet aggregation inhibitor) นอกจากนี้มีสารโพรสตาแกลนดินส์ชนิดอื่นๆอีก เช่น PGD_2 PGE_2 และ PGF_2 สารเหล่านี้มีส่วนร่วมทำให้เกิดการอักเสบ เช่น ทำให้หลอดเลือดขยายตัวและส่งเสริมการบวม เป็นต้น สารลิวโคไตรอีนมีหลายชนิด เช่น LTA4 LTB4 ทำให้เม็ดเลือดขาวเกาะติดกัน ส่วน LTC4 LTD4 และ LTE4 ทำให้หลอดเลือดหดตัว และเพิ่มการซึมผ่านผนังหลอดเลือด รวมทั้งทำให้หลอดลมบีบตัว (bronchospasm) อีกด้วย

1.2.2 Platelet activating factor (PAF) เป็นสารชักนำการอักเสบ มีแหล่งกำเนิดมาจากสาร phospholipid ในเยื่อหุ้มเซลล์ มีคุณสมบัติทำให้เกล็ดเลือดเกาะติดกัน (aggregation) และเร่งการปลดปล่อยเกล็ดเลือดเข้าสู่กระแสเลือด (platelet release) นอกจากนี้ยังมีผลทำให้หลอดเลือดและหลอดลมหดตัว (vasoconstriction and bronchoconstriction) ในกรณีที่พบมีปริมาณเล็กน้อยในเลือด กลับช่วยให้หลอดเลือดขยายตัว และเพิ่มคุณสมบัติการซึมผ่านของผนังหลอดเลือดดำขนาดเล็ก (increased venular permeability) ในขณะเดียวกันสาร PAF ยังช่วยการเกาะติดผนังหลอดเลือดของเม็ดเลือดขาว และช่วยเร่งการสร้างสาร eicosanoids ในเซลล์อีกด้วย

1.2.3 ไซโตไคน์ (cytokines) เป็นสารพวก polypeptides สร้างในเซลล์หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเซลล์ lymphocyte และ macrophage สาร cytokines ที่สำคัญได้แก่ interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor (TNF) และ interleukin-8 (IL-8) มีบทบาทสำคัญ ในการเกิดการอักเสบโดยเฉพาะต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือด ในการช่วยสร้าง adhesion molecules เพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเกาะติดกับผนังหลอดเลือด ช่วยสร้างไซโตไคน์ และ growth factors ตัวอื่นๆ อีกทั้งยังช่วยการสร้างสารเอโคซานอยด์ และ ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide; NO) นอกจากนี้ยังเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาของเซลล์อื่นๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์ fibroblasts และทำให้เกิดอาการทางคลินิกอื่นๆ เมื่อเกิดการอักเสบ เช่น ไข้ เป็นต้น

1.2.4 ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide; NO) เป็นก๊าซอนุภาคอิสระที่ละลายในน้ำ (soluble free radical gas) ปกติผลิตจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด จากเซลล์กินสิ่งแปลกปลอม และเซลล์ประสาทในสมอง ทำให้เกิดการขยายหลอดเลือด (vasodilation) เนื่องจากไนตริกออกไซด์ไปเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณของ cyclic guanosine monophosphate (cGMP) ผลทำให้เซลล์กล้ามเนื้อในหลอดเลือดผ่อนคลายและเกิดการขยายหลอดเลือด นอกจากนั้นไนตริกออกไซด์ยังทำให้เกล็ดเลือดจับกันเป็นก้อนและติดแน่นกับผนังหลอดเลือด และ ไนตริกออกไซด์ยังทำปฏิกิริยากับ superoxide ได้สาร oxidant ที่สำคัญคือ nitrogen dioxide กับสาร hydroxyl radical

1.2.5 Oxygen-derived free radicals (อนุภาคอิสสระจาก oxygen) กลุ่มอนุภาคอิสสระเหล่านี้ถูกปลดปล่อยออกจากเซลล์เม็ดเลือดขาว สารเหล่านี้เกิดจากปฏิกิริยาต่อเนื่อง oxidation ของสาร NADPH ได้สาร superoxide ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อไปเป็น H_2O_2, OH และสารพิษอื่นๆที่ เกิดจากการทำปฏิกิริยากับไนตริกออกไซด์ในร่างกายมีสารคอยต้านอนุภาคอิสสระเหล่านี้เรียกว่า antioxidant ซึ่งเป็นกลไกคอยปกป้องร่างกายจากอันตรายที่เกิดจากอนุภาคอิสสระ อันตรายที่ได้รับจะมากน้อยขึ้นกับความสมดุลของสารทั้งสองจำพวกนี้

2. สารชักนำการอักเสบที่มีอยู่ในพลาสมา (plasma)

2.1 พวกที่ได้จากกระบวนการ complement activation สารในกลุ่มนี้ได้แก่ C3a, C5a และ C5b-9

2.2 พวกที่ได้จากกระบวนการที่เกี่ยวเนื่องกับการแข็งตัวของเลือด (hageman factor activation)

2.2.1 Kinin system ได้แก่ bradykinin ช่วยเพิ่มการซึมผ่านผนังหลอดเลือด ทำให้ เซลล์กล้ามเนื้อที่ผนังหลอดเลือดหดตัว เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด และมีส่วนร่วมทำให้เกิดการปวด (pain)

2.2.2 Coagulation system สารที่ได้จากระบบการแข็งตัวของเลือดมีคุณสมบัติ และบทบาทสำคัญ ชักนำให้เกิดการอักเสบในขั้นตอนสุดท้ายของระบบสารทรอมบิน (thrombin) เปลี่ยนสารไฟบริโนเจน (fibrinogen) ไปเป็นไฟบริน (fibrin) ทำให้ได้สาร fibrinopeptides หลายชนิดซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มการซึมผ่านผนังหลอดเลือดและชักนำเม็ดเลือดขาว นอกจากนี้สารทรอมบินเองยังมีคุณสมบัติกระตุ้นการสร้างอนุภาคเกาะติด (adhesion molecules) และเร่งการสร้างเยื่อเกี่ยวพัน (fibroblast proliferation)

2.2.3 Fibrinolysis system สำหรับระบบทำลายการแข็งตัวของเลือดจะละลายก้อนไฟบรินที่เกิดจากระบบการแข็งตัวของเลือด ได้สารที่แตกกระจายออกมาหลายชนิดที่เรียกว่า fibrin degradation products (FDP) ซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มการซึมผ่านผนังหลอดเลือด สารสำคัญของระบบนี้ได้แก่ พลาสมิน (plasmin) ซึ่งเป็นผลิตผลจากพลาสมิโนเจน (plasminogen) โดยอาศัยเอนไซม์ที่เรียกรวมว่า plasminogen activator พบได้ในผนังหลอดเลือด เม็ดเลือดขาว และเนื้อเยื่ออื่นๆ สารพลาสมินเป็นตัวการสำคัญที่ละลายก้อนไฟบรินเพื่อทำลายการแข็งตัวของเลือด[18-21]

จากข้อมูลข้างต้น เนื่องจากสารกลุ่มเอโคซานอยด์ (eicosanoids) มีบทบาทเป็นหลักสำคัญในกระบวนการอักเสบ จึงได้มีการสังเคราะห์ยาต่างๆ ที่สามารถยับยั้งการสร้างสารเอโคซานอยด์ ได้แก่ ยากลุ่มต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs; Nonsteroidal anti-inflammatory drugs) เช่น ยา aspirin, ibuprofen ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิต prostaglandins จึงสามารถบรรเทาอาการปวดและอาการไข้ได้ ในปัจจุบันเอนไซม์ cyclooxygenase (COX) มี 2 ชนิด คือ COX-1 และ COX-2 โดยที่เอนไซม์ COX-1 มีบทบาทในการรักษาสมดุลของร่างกาย เช่น การปกป้องการทำลายเยื่อบุกระเพาะอาหารจากน้ำย่อย ในขณะที่ COX-2 มีบทบาทในการอักเสบ ยาในกลุ่ม NSAIDs ปกติแล้วจะมีฤทธิ์ยับยั้งทั้ง COX-1 และ COX-2 ดังนั้นจึงอาจเกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่กระเพาะอาหารด้วยการเกิดอาการปวดท้อง ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์จากยาได้มาก[21] ดังนั้น ในปัจจุบันจึงมีการค้นหายาสมุนไพรพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ เพื่อที่ยาสมุนไพรพื้นบ้านจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกทำที่จะนำมาใช้ลดการอักเสบ แทนการใช้ยาต้านการอักเสบในผู้ป่วยที่มีการอักเสบเกิด ทั้งนี้เพื่อลดค่าใช้จ่ายสูงในนำเข้ายาต้านการอักเสบเหล่านี้มาจากต่างประเทศ และช่วยลดอาการที่ไม่พึงประสงค์จากยาต้านการอักเสบในผู้ป่วยได้อีกด้วย

ดังนั้นกลุ่มผู้จึงได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเหง้าข่าซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการปรุงอาหารและสารสกัดในกลุ่มที่ลดน้ำตาลในเลือดได้ โดยได้ทำการศึกษาด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติและการต้านการอักเสบ เพื่อนำมาใช้เป็นต้นแบบในการผลิตอาหารเสริมหรือยาในการลดระดับน้ำตาลในเลือดที่ใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดและมีฤทธิ์ในการต้านอักเสบ ซึ่งนำไปใช้ต้นแบบในการผลิตเป็นอาหารเสริมหรือยาในการลดระดับน้ำตาลในเลือดสำหรับรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน
2. สามารถยกระดับพืช ผัก และสมุนไพรของประเทศให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น
3. สามารถนำไปสู่การตีพิมพ์งานวิจัย ในวารสารที่ยอมรับ หรือจดทะเบียนสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร หรือนาไปใช้ในการเรียนการสอนในรายวิชาที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยได้อีกด้วย ทั้งนี้เพื่อปกป้องพืช ผัก และสมุนไพรของประเทศไทย ให้อยู่กับคนไทยและคนไทยได้ใช้ประโยชน์สูงที่สุด
4. หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยดังกล่าวนี้ไปใช้ได้แก่ สถาบันการศึกษาวิจัย ทั้งในด้านเคมี ชีวเคมี เภสัชเคมี เช่น คณะวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ ในการนำผลการศึกษาไปศึกษาต่อยอด และองค์การเภสัชกรรม หรือหน่วยงาน บริษัทอุตสาหกรรมยา ในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยาต่อไป

1.6 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

ประสานงานกับหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งในภาครัฐและเอกชน เพื่อการนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ไปใช้ประโยชน์ หรือต่อยอดโครงการวิจัย หรือเพื่อนำมาปรับปรุงและพัฒนาเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุดต่อกลุ่มเป้าหมาย และเพื่อประโยชน์สูงสุดต่อการยกระดับพืชสมุนไพรไทยที่ออกฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น หรือการนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมระดับชาติ/นานาชาติ หรือตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารระดับชาติ/นานาชาติ

2. วิธีดำเนินการวิจัย (Material & Method)

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator)
2. เครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum pump)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
4. กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)
5. เครื่อง UV-Vis spectrophotometer
6. อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)
7. อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Minimum Essential Medium (MEM)
8. Fetal bovine serum (FBS)
9. Dimethyl sulfoxide (DMSO)
10. Penicillin/streptomycin
11. เครื่อง ELISA spectrophotometer
12. จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96 wells-plate)
13. จานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 35 และ 60 mm
14. ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น Hexane, Dichloromethane, Chloroform, Ethyl acetate, Acetone, Methanol, Ethanol, Dimethylsulfoxide, น้ำกรอง และน้ำกลั่น

2.2 ตัวอย่างพืชที่ศึกษา (Plant materials)

ตัวอย่างเหง้าข่า (*Alpinia galanga* Rhizomes) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ซื้อมาจากตลาดหนองมน อ.เมือง จ.ชลบุรี ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2560 และตัวอย่างพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดได้มาจากตลาดท้องถิ่น อ.บ้านแพง จ. ครพนม และ อ.บางพลี จ. สมุทรการการ ในช่วงเดือนมกราคม ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2562 แต่ละชนิดใช้ส่วนต่างๆ แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2-1 โดยพืชดังกล่าวได้ทำการยืนยันชื่อวิทยาศาสตร์และเก็บตัวอย่างพืชไว้ที่ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131 และ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 18/18 ถ.บางนา-ตราด ก.ม.18 ต.บางโฉลง อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ 10540

ตารางที่ 2-1 ตัวอย่างพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดที่ใช้ในการศึกษา

รหัสสาร	รหัสตัวอย่าง	ชื่อพืช	แหล่งที่มา	ส่วนที่นำมาใช้*
GI(AR)	SH-AA(62)-1	เชียงดา	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
PP(L)	SH-AA(62)-2	ดีปลากั้ง	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ใบ
PF(L)	SH-AA(62)-3	กระแยงญวน	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ใบและก้านอ่อน
PO(AR)	SH-AA(62)-4	แพว	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
LF(AR	SH-AA(62)-5	พายใหญ่	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
HZ(AR)	SH-AA(62)-6	บีเอี่ยน	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
LA(L)	SH-AA(62)-7	กระแยงนา	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
AL(AR)	SH-AA(62)-8	จิงจูฉ่าย	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ลำต้นเหนือดิน

ตารางที่ 2-1 ตัวอย่างพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดที่ใช้ในการศึกษา (ต่อ)

รหัสสาร	รหัสตัวอย่าง	ชื่อพืช	แหล่งที่มา	ส่วนที่นำมาใช้*
SE(AR)	SH-AA(62)-9	แม้ว	เขตประเวศ กรุงเทพ	ลำต้นเหนือดิน
EF(L)	SH-AA(62)-10	ชีฝรั่ง	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ใบ
AV(AR)	SH-AA(62)-11	โขมเขียว	เขตประเวศ กรุงเทพ	ลำต้นเหนือดิน
SA(L)	SH-AA(62)-12	หวานป่า	เขตประเวศ กรุงเทพ	ยอดใบและก้านอ่อน
WG(Wh)	SH-AA(62)-13	ผำ	อ.กลางดง จ.สระบุรี	ทั้งหมด
PS(L)	SH-AA(62)-14	ชะพลู	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ใบ
MC(Wh)	SH-AA(62)-15	แว่น	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ทั้งต้น
AG(AR)	SH-AA(62)-17	ตำลึงหวาน	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
SS(L)	SH-AA(62)-18	ขี้เหล็ก	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ยอดใบและก้านอ่อน
GO(AR)	SH-AA(62)-19	ดางขม	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
AR(AR)	SH-AA(62)-20	ชีช้าง(ชีล้อม)	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
CA(L)	SH-AA(62)-21	บัวบก	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ใบ
MC(AR)	SH-AA(62)-22	มะระขี้นก	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
BA(L)	SH-AA(62)-23	กระโดน	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ใบ
CAD(L)	SH-AA(62)-24	กุ่ม	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ใบ
CC(L)	SH-AA(62)-25	คะน้าเม็กซิกัน	อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ใบ
TT(L)	SH-AA(62)-27	ย่านาง	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ใบ
AI(L)	SH-AA(62)-28	สะเดา	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ยอด (ใบและก้านอ่อน)
CS(AR)	SH-AA(62)-29	ชีหอม	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
CO(AR)	SH-AA(62)-31	สะแงะ	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
AT(AR)	SH-AA(62)-32	แป้น	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
AG(AR)	SH-AA(62)-33	ชีลาว	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
AO(L)	SH-AA(62)-34	มะม่วงหิมพานต์	อ.บ้านแพง จ.นครศรีธรรมราช	ใบและยอดอ่อน
GG(L)	SH-AA(62)-36	เหรียง	เขตประเวศ กรุงเทพ	ใบ
CF(L)	SH-AA(62)-38	ติ้ว	เขตประเวศ กรุงเทพ	ใบและยอดอ่อน
CAS(L)	SH-AA(62)-39	ก้านตง	อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ใบและยอดอ่อน
GL(L)	SH-AA(62)-40	มันปู	อ.บ้านแพง จ.นครศรีธรรมราช	ใบและยอดอ่อน
AOL(L)	SH-AA(62)-41	เผ็ด	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ใบและก้านอ่อน
DE(L)	SH-AA(62)-42	กูด	อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ใบและยอดอ่อน
HD(AR)	SH-AA(62)-43	ตับเต่า	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ลำต้นเหนือดิน
SM(AR)	SH-AA(62)-44	ชะคราม	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ลำต้นเหนือดิน
AT(AR)	SH-AA(62)-45	โขมใบแดง	อ.บ้านแพง จ.นครพนม	ลำต้นเหนือดิน
BA(AR)	SH-AA(62)-46	ปลัง	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ลำต้นเหนือดิน
ST(L)	SH-AA(62)-47	มะตูมแขก	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ใบและยอดอ่อน
LS(AR)	SH-AA(62)-49	หนาม	อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ลำต้นเหนือดิน
TP(AR)	SH-AA(62)-50	โสมไทย	อ.สามพราน จ.นครปฐม	ลำต้นเหนือดิน
LL(L)	SH-AA(62)-51	กระถิน	อ.บางกะปิ กรุงเทพ	ใบและยอดอ่อน

*ส่วนที่นำมาใช้เป็นส่วนของพืชสดทั้งหมด

2.3 การเตรียมสารสกัดหยาบ (Preparation of extracts)

นำพืชตัวอย่างเหง้าข่า (*Alpinia galanga* Rhizomes) ที่ศึกษา 200 กรัม ล้างทำความสะอาดและผึ่งลมให้หมาด จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า นำส่วนที่บดละเอียดมาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นน้ำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยทำการสกัดเรียงลำดับตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่หมัก (Maceration) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการกรองสารละลายโดยใช้กรวยแก้วและสำลี นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบ ชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง เก็บส่วนสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C จนกว่าจะนำมาทำการทดลองและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

นำตัวอย่างพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดที่ใช้ในการศึกษาส่วนต่างๆ ตามการนิยมนำไปบริโภคเช่น ใบยอดอ่อน ใบอ่อน ทั้งต้น (ดังตารางที่ 2-1) ปริมาณ 300 กรัม ล้างทำความสะอาด และผึ่งลมให้หมาด จากนั้นนำมาหั่นให้ละเอียดและนำไปบดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า นำส่วนที่บดละเอียดแล้ว นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์คือเมทานอล เอทานอล ด้วยวิธีการหมัก (maceration) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ทำการแช่หมัก 4 ครั้ง หลังจากนั้นกรองสารละลายโดยใช้กระดาษกรอง กรวยแก้ว นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเมทานอล (Methanol extract) จะได้สารสกัดหยาบเอทานอล (Ethanol extract) ชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง เก็บส่วนสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะนำมาใช้ทดลองและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

2.4 การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammation activity)

เลี้ยงเซลล์แมคโคฟาจชนิด RAW264.7 ในจานอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-wells plates) มีจำนวนเซลล์เท่ากับ 1x105 เซลล์/หลุม โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์ คือ DMEM ที่ประกอบด้วย 10% ของ fetal bovine serum (FBS), penicillin (100 หน่วย/มิลลิลิตร; U/mL) และ streptomycin (100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร; μg/mL) โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ในตู้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (°C) ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูดสารละลาย เก่าออก เติม lipopolysaccharide (LPS) 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ลงไปหลุมละ 100 ไมโครลิตร (μL) (เพื่อกระตุ้นการสร้าง nitric oxide; NO จากเอนไซม์ iNOS และ COX-2) เฉพาะหลุม control และ sample ส่วน blank จะใส่ DMEM จากนั้นเติมสารสกัด จำนวน 100 ไมโครลิตร ในหลุมของ sample และ blank of sample ส่วนหลุม control และ blank of control ให้เติม DMEM แล้วนำไปบ่มเพาะที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูด supernatant แต่ละหลุมมา 100 ไมโครลิตร ใส่ใน 96-wells plates เติม Griess's reagent หลุมละ 100 ไมโครลิตร วัดค่าดูดกลืนแสง (optical density; OD) ที่ 540 นาโนเมตร (nm) ส่วน supernatant ที่เหลือใน plate แรก เติม MTT หลุมละ 10 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มเพาะ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง คว่ำจานเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก และเติม DMSO ปริมาตร 150 ไมโครลิตร เขย่าแล้ว วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 และ 620 นาโนเมตร เพื่อดูความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์ถ้าเซลล์รอดมากกว่า 70% ในความเข้มข้นนั้นจึงจะวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ในการทดสอบนี้ใช้สาร apigenin ความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ (μM) เป็น positive control และใช้ Nitrate เป็นสารมาตรฐานในการทำกราฟมาตรฐาน

การคำนวณ % inhibition of NO production มีดังนี้ % inhibition = [(A – B)/(A – C)] x 100 โดยที่ A – C: NO_2- concentration (μM), A: LPS (+), sample (-), B: LPS (+), sample (+) และ C: LPS (-), sample (-)

2.5 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity)

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดข่าและสารสกัดกลุ่มที่ลดระดับน้ำตาลในเลือดต่อเซลล์เพาะเลี้ยงปกติชนิด vero โดยทำการเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่มี fetal bovine serum ความเข้มข้นร้อยละ 10 (10% FBS), 100 ยูนิต/มิลลิลิตร ของ penicillin, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ของ streptomycin และมี pH 7.2-7.4 โดยทำการเพาะเลี้ยงในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 95% ทำการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณเซลล์ ให้ได้ปริมาณ 80% ของ confluence จากนั้นทำการปั่นล้างเซลล์ทั้งหมด ด้วย sterile PBS ด้วยความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 2 ครั้ง ปริมาตรครั้งละ 10 มิลลิลิตร ทำการนับจำนวนเซลล์ด้วย hemocytometer โดยคำนวณ จากสูตรดังนี้คือ ปริมาตรเซลล์ = N x Cv x Cd (เซลล์/ไมโครลิตร) โดยที่ N คือ จำนวนเซลล์ที่นับได้ Cv คือ ค่า correction factor ของปริมาตร และ Cd คือ ค่า correction factor ของ dilution

โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นของเซลล์ เท่ากับ 5x104 เซลล์/หลุม หลังจากนั้นเติมลงในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ทำการเลี้ยงในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ (CO2 incubator)5 % ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 95% นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเตรียมสารสกัดข่าและสารสกัดสมุนไพรกลุ่มลดระดับน้ำตาลในเลือดที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำมาเติมลงในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงอยู่ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุมข้างต้น หลุมละ 100 ไมโครลิตร และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ dimethyl sulfoxide (DMSO) ลงไปในหลุมของชุดควบคุม (vehicle control) หรือหลุมที่ไม่มีสารทดสอบผสมอยู่ ให้เท่ากับชุดทดสอบ โดยร้อยละของ DMSO ไม่ควรเกินร้อยละ 2 และนำไปบ่มที่ตู้ซึ่งมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ ที่อยู่ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ออกทุกหลุม ๆ ละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติม MTT dye ลงไปทุกหลุมๆ ละ 10 ไมโครลิตร และนำไปบ่มต่อในตู้อบที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการคว่ำจานอาหาเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ และ MTT ส่วนเกิน ที่อยู่ในหลุมออกให้หมดและให้เหลือแต่เพียงผลึก formazan ที่ก้นหลุมเท่านั้น จากนั้นเติม DMSO ลงไปทุกหลุม ๆ ละ150 ไมโครลิตร เพื่อทำการละลายผลึก formazan หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาทำการคำนวณหาร้อยละของการมีชีวิตรอดของเซลล์ (%cell viability) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\%\text{Cell viability} = \frac{\text{OD ของหลุมทดสอบ x 100}}{\text{OD ของหลุม vehicle control}}$$

ทำการหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ %cell viability ในสารที่ทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำมาสร้างเป็นเส้นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %cell viability กับปริมาณความเข้มข้นของสาร แล้วทำการวัดค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายไปร้อยละ 50 (inhibitory concentration หรือ IC_{50})

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล (Results & Discussion)

3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ (Preparation of extracts)

เมื่อนำเหง้าข่า (*Alpinia galanga* Rhizomes) ที่ศึกษา 200 กรัม ล้างทำความสะอาดและผึ่งลมให้หมาด จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า นำส่วนที่บดละเอียดมาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นน้ำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยทำการสกัดเรียงลำดับตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่หมัก (Maceration) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการกรองสารละลายโดยใช้กรวยแก้วและสำลี นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเหง้าข่า 6 สารสกัดหยาบ ซึ่งน้ำหนัก ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบที่ได้แสดงดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 น้ำหนัก ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบเหง้าข่า

ส่วนสกัดหยาบ	รหัสสาร	น้ำหนัก[a]	ร้อยละผลผลิต[b]	ลักษณะทางกายภาพ
เหง้าข่าสด				
Acetone extract	AG(RH)-A	5.92	2.96	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
Methanol extract	AG(RH)-M	6.84	3.42	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
Ethanol extract	AG(RH)-95E	7.72	3.86	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
เหง้าข่าคั้นน้ำ				
Methanol extract	AG(RH1)-M	5.28	2.64	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
Ethanol extract	AG(RH1)-95E	5.78	2.89	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
เหง้าข่าแห้ง				
Water extract	AG(RHD)-BW	7.84	3.92	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล

[a] น้ำหนักสารสกัดที่ได้มีหน่วยเป็นกรัม (g); [b] ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

เมื่อนำตัวอย่างพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดที่ใช้ในการศึกษาส่วนต่างๆ ตามการนิยมนำไปบริโภคเช่น ใบ ยอดอ่อน ใบอ่อน ทั้งต้น (ดังตารางที่ 2-1) ปริมาณ 300 กรัม ล้างทำความสะอาด และผึ่งลมให้หมาด จากนั้นนำมาหั่นให้ละเอียดและนำไปบดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า นำส่วนที่บดละเอียดแล้ว นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์คือเมทานอล เอทานอล ด้วยวิธีการหมัก (maceration) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ทำการแช่หมัก 4 ครั้ง หลังจากนั้นกรองสารละลายโดยใช้กระดาษกรอง กรวยแก้ว นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเมทานอล (Methanol extract) และเอทานอล (Ethanol extract) รวมทั้งสิ้น 90 สารสกัดหยาบ โดยร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบที่ได้จากพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดแสดงดังตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-2 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากพืชที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด

ลำดับที่	ชื่อพืชสามัญ	รหัสสารสกัด	ร้อยละผลผลิต (%yield)[a]		ลักษณะทางกายภาพ	
			ชั้นเมทานอล	ชั้นเอทานอล	ชั้นเมทานอล	ชั้นเอทานอล
1	ผักเชียงดา	SH-AA(62)-0001	4.17	4.09	ของแข็งสีเขียวเข้ม	ของแข็งสีเขียวเข้ม
2	บีปลากั้ง	SH-AA(62)-0002	9.56	7.63	ของแข็งสีดำ	ของแข็งสีดำ
3	กระแยงญวณ	SH-AA(62)-0003	2.09	3.98	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
4	ผักแผว	SH-AA(62)-0004	5.86	3.86	ของแข็งสีเขียวเข้ม	ของแข็งสีเขียวเข้ม
5	พายใหญ่	SH-AA(62)-0005	2.83	3.22	ของแข็งสีน้ำตาล	ของแข็งสีน้ำตาล
6	บีเอียน	SH-AA(62)-0006	3.20	2.91	ของแข็งเขียวน้ำตาล	ของแข็งเขียวน้ำตาล
7	กระแยงนา	SH-AA(62)-0007	1.37	1.43	ของแข็งสีเขียวเข้ม	ของแข็งสีเขียวเข้ม
8	จิงจูฉ่าย	SH-AA(62)-0008	3.11	2.41	ของแข็งสีเขียวเข้ม	ของแข็งสีเขียวเข้ม
9	ฟักแม้ว	SH-AA(62)-0009	2.84	2.45	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
10	ผักชีฝรั่ง	SH-AA(62)-0010	5.71	5.10	ของแข็งสีเขียวเข้ม	ของแข็งสีเขียวเข้ม
11	ผักโขมเขียว	SH-AA(62)-0011	2.08	2.53	ของแข็งสีเขียว	ของแข็งสีเขียว
12	ผักหวาน	SH-AA(62)-0012	3.83	4.19	ของแข็งสีเขียว	ของแข็งสีเขียว
13	ผักผำ	SH-AA(62)-0013	1.12	1.12	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
14	ชะพลู	SH-AA(62)-0014	3.10	3.71	ของแข็งหนืดสีดำ	ของแข็งหนืดสีดำ
15	แว่นใหญ่	SH-AA(62)-0015	2.05	1.97	ของแข็งสีเขียวเข้ม	ของแข็งสีเขียวเข้ม
16	อ่อมแซ่บ	SH-AA(62)-0017	6.14	2.82	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
17	ใบขี้เหล็ก	SH-AA(62)-0018	8.36	4.18	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
18	ดางขม	SH-AA(62)-0019	2.33	2.92	ของแข็งสีน้ำตาล	ของแข็งสีน้ำตาล
19	ชีช้าง	SH-AA(62)-0020	2.44	2.34	ของแข็งหนืดน้ำตาล	ของแข็งหนืดน้ำตาล
20	บัวบก	SH-AA(62)-0021	4.62	3.63	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
21	มะระขี้นก	SH-AA(62)-0022	2.42	4.22	ของแข็งสีน้ำตาลดำ	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
22	กระโดน	SH-AA(62)-0023	3.33	3.24	ของแข็งสีเขียว	ของแข็งสีเขียว
23	ผักกุ่ม	SH-AA(62)-0024	4.28	4.40	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
24	คะน้าเม็กซิโก	SH-AA(62)-0025	4.73	4.69	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
25	ย่านาง	SH-AA(62)-0027	4.04	4.59	ของแข็งสีเขียว	ของแข็งสีเขียว
26	สะเดา	SH-AA(62)-0028	4.36	3.81	ของแข็งสีเขียวเข้ม	ของแข็งสีเขียวเข้ม
27	ชีหอม	SH-AA(62)-0029	2.06	2.24	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
28	สะแงะ	SH-AA(62)-0031	2.24	2.73	ของแข็งสีเขียว	ของแข็งสีเขียว
29	ผักแป้น	SH-AA(62)-0032	3.01	1.92	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
30	ผักชีลาว	SH-AA(62)-0033	2.35	2.52	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
31	มะม่วงหิมพานต์	SH-AA(62)-0034	7.23	7.38	ของแข็งสีน้ำตาลวาว	ของแข็งสีน้ำตาลวาว
32	ผักเหรียง	SH-AA(62)-0036	4.93	5.05	ของหนืดสีน้ำตาลดำ	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
33	ผักติ้ว	SH-AA(62)-0038	9.30	6.43	ของแข็งหนืดสีเขียว	ของแข็งหนืดสีเขียว
34	มันปู	SH-AA(62)-0040	6.30	5.60	ของแข็งสีน้ำตาลดำ	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
35	ผักเผ็ด	SH-AA(62)-0041	2.78	2.54	ของหนืดสีน้ำตาลดำ	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
36	ผักกูด	SH-AA(62)-0042	2.90	3.85	ของแข็งสีเขียว	ของแข็งสีเขียว
37	ตับเต่า	SH-AA(62)-0043	1.36	1.23	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
38	ชะคราม	SH-AA(62)-0044	2.63	4.91	ของแข็งสีน้ำตาล	ของแข็งสีน้ำตาล
39	ผักโขมแดง	SH-AA(62)-0045	2.38	2.92	ของแข็งสีน้ำตาลดำ	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
40	ผักปลัง	SH-AA(62)-0046	2.05	1.93	ของแข็งน้ำตาลเขียว	ของแข็งน้ำตาลเขียว
41	มะตูมแขก	SH-AA(62)-0047	8.73	8.12	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน
42	ผักก้านตง	SH-AA(62)-0048	3.95	3.09	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
43	ผักหนาม	SH-AA(62)-0049	2.42	2.42	ของหนืดสีเขียวเข้ม	ของหนืดสีเขียวเข้ม
44	โสมไทย	SH-AA(62)-0050	1.90	1.83	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
45	กระถิน	SH-AA(62)-0051	2.40	2.46	ของแข็งสีน้ำตาล	ของแข็งสีน้ำตาล

[a] ร้อยละผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดที่ได้/น้ำหนักพืชตัวอย่างแห้งที่ใช้) X 100

3.2 ฤทธิ์การต้านการอักเสบ (Anti-inflammation activity)

การอักเสบ คือกระบวนการตอบสนองเฉพาะที่ของร่างกายที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในเนื้อเยื่อนั้น ๆ ซึ่งปฏิกิริยาการตอบสนองเฉพาะที่นี้ ถ้าเป็นมากอาจส่งผลกระทบต่อร่างกายทั้งระบบได้ โดยอาการที่ปรากฏของการอักเสบ คือ ปวด บวม แดง และร้อน[22] กระบวนการอักเสบประกอบด้วยการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด ทาให้เลือดมาเลี้ยงเพิ่มขึ้น มีการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวมายังเนื้อเยื่อที่ถูกรุกรานเพิ่มมากขึ้นเพื่อกาจัดสิ่งเร้าที่ทาให้เกิดการอักเสบ[23] ในขณะที่มีปฏิกิริยาการอักเสบเกิดขึ้นเซลล์แมคโครฟาจซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่งจะหลั่งสารสื่อกลางในการอักเสบชนิดต่าง ๆ เช่น ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide; NO) และ prostaglandins E2 (PGE2) และไซโตไคน์ (cytokine) เป็นต้น[24,25] เพื่อช่วยในการกำจัดสิ่งรุกรานที่เข้าสู่ร่างกาย การหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบต่างๆ ในปริมาณมากเกินไปจะทำให้มีการทำลาย เนื้อเยื่อและเป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ ภาวะช็อคจากการติดเชื้อ (septic shock) โรคพาร์กินสัน (parkinson's disease) โรคเบาหวาน และโรคอักเสบต่าง ๆ[24, 26, 27] เป็นต้น ดังนั้นการยับยั้งการหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบ เช่น ไนตริกออกไซด์ และ PGE2 ที่มากเกิน จัดเป็นทางหนึ่งที่จะช่วยป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบได้ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการศึกษาการต้านการอักเสบ ของสารสกัดหยาบข่าและสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงต้นแบบ คือเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 กระตุ้นให้มีการหลั่งสารไนตริกออกไซด์ ด้วยสาร LPS และวัดปริมาณไนตริกออกไซด์ ด้วยวิธี Griess's reaction

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งปริมาณการผลิตไนตริกออกไซด์ของสารสกัดข่าพบว่าเหง้าข่าสดที่ด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% (IC_{50}) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 10.8 ± 1.15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกากเหง้าข่าสดที่คั่นน้ำออกแล้วสกัดด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งไนตริกออกไซด์ที่ IC_{50} มีความเข้มข้นเท่ากับ 9.0 ± 2.88 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดเหง้าข่าสดที่สกัดด้วยทำละลาย 95% เอทานอล (ตารางที่ 3-2) นอกจากนี้ยังพบว่าเหง้าข่าแห้งที่สกัดด้วยน้ำต้มเดือดยังคงมีฤทธิ์ในการยับยั้งในการหลั่งไนตริกออกไซด์ที่ IC_{50} มีความเข้มข้นเท่ากับ 47.0 ± 7.45 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังผลการทดลองในตารางที่ 3-3 และตารางที่ 3-4

ตารางที่ 3-3 ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดข่าเหง้าสดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ความเข้มข้น	AG(RH)-A		AG(RH)-M		AG(RH)-95E	
(µg/mL)	% inhibition	% viability	% inhibition	% viability	% inhibition	% viability
6.25	12 ± 15.22	98 ± 4.31	21 ± 9.75	98 ± 7.63	20 ± 12.52	94 ± 5.51
12.5	32 ± 12.10	96 ± 5.57	20 ± 9.53	91 ± 6.45	50 ± 12.13	91 ± 1.82
25	42 ± 5.95	98 ± 7.30	19 ± 9.16	97 ± 8.53	82 ± 12.27	81 ± 9.64
50	55 ± 2.05	99 ± 9.80	26 ± 8.17	96 ± 9.22	98 ± 2.78	35 ± 9.91
100	71 ± 5.82	93 ± 5.98	42 ± 7.89	91 ± 6.16	98 ± 1.75	22 ± 9.38
IC_{50} (µg/mL)	**39.0 ± 7.94**		**>100 ± 0.00**		**10.8 ± 1.15**	

หมายเหตุ 1. Apigenin (positive control) ลดการหลั่ง nitric oxide ได้ 79% ± 6.03

2. LPS+DMSO คือ ภาวะที่กระตุ้นให้มีการหลั่ง nitric oxide = 26.1 ± 2.61 µM

ตารางที่ 3-4 ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดกากเหง้าข่าสดหลังคั่นน้ำออก และสารสกัดเหง้าข่าแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ความเข้มข้น (µg/mL)	AG(RH1)-M		AG(RH1)-95E		AG(RHD)-BW	
	% inhibition	% viability	% inhibition	% viability	% inhibition	% viability
6.25	13 ± 9.05	92 ± 7.78	27 ± 9.24	96 ± 9.62	30 ± 2.53	93 ± 6.46
12.5	22 ± 9.22	88 ± 8.05	72 ± 9.84	83 ± 2.97	30 ± 6.42	95 ± 8.90
25	28 ± 9.61	86 ± 6.59	85 ± 1.89	70 ± 5.23	37 ± 4.89	99 ± 5.33
50	49 ± 3.99	87 ± 5.04	98 ± 1.76	37 ± 9.62	52 ± 4.26	97 ± 9.96
100	83 ± 2.25	73 ± 9.25	98 ± 1.78	19 ± 9.14	71 ± 6.04	99 ± 2.65
IC_{50} (µg/mL)	**51.4 ± 4.51**		**9.0 ± 2.88**		**47.0 ± 7.45**	

หมายเหตุ 1. Apigenin (positive control) ลดการหลั่ง nitric oxide ได้ 79% ± 6.03

2. LPS+DMSO คือ ภาวะที่กระตุ้นให้มีการหลั่ง nitric oxide = 26.1 ± 2.61 µM

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ ด้วยการทดสอบการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงต้นแบบ คือเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 กระตุ้นให้มีการหลั่งสารไนตริกออกไซด์ด้วยสาร LPS และวัดปริมาณไนตริกออกไซด์ ด้วยวิธี Griess's reaction ของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเมทานอลและเอทานอล จำนวนอย่างละ 45 ตัวอย่าง พบว่าสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวานแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ทั้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล (Methanol and Ethanol extracts) โดยสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน 5 อันแรกที่สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% ได้แก่ สะแงะ (7.3 ± 5.95 และ 29.2 ± 3.12 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มะตูมแขก (7.8 ± 5.95 และ 22.6 ± 8.93 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ผักติ้ว (8.8 ± 4.71 และ 44.1 ± 5.84 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กระแยงญวณ (16.0 ± 6.07 และ 22.0 ± 4.99 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และจิงจูฉ่าย (17.0 ± 5.19 และ 22.0 ± 3.01 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดังผลการทดลองในตารางที่ 3-5
2. กลุ่มที่สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (Methanol extract) ของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน มีฤทธิ์ยับยั้งการหลังไนตริดออกไซด์ที่สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% ได้แก่ ผักเหรียง (20.7 ± 3.51 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ชีหอม (24.7 ± 4.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ยอดมะม่วงหิมพานต์ (29.2 ± 4.0) คะน้าเม็กซิโก (31.9 ± 3.77 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และ ผักปรัง (38.5 ± 4.62 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดังผลการทดลองในตารางที่ 3-5
3. กลุ่มที่สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol extract) ของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน มีฤทธิ์ยับยั้งการหลังไนตริดออกไซด์ ที่สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ 50% ได้แก่ พายใหญ่ (31.0 ± 2.57 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ผักผำ (66.0 ± 8.54 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ผักเผ็ด (23.9 ± 5.19 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดังผลการทดลองในตารางที่ 3-5
4. กลุ่มที่สารสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล (Methanol and Ethanol extracts) ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการหลังไนตริดออกไซด์ (>100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้แก่ ผักเชียงดาว ผักแผวตับเต่า ผักหนาม และโสมไทย ดังผลการทดลองในตารางที่ 3-5

ตารางที่ 3-5 ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน

ลำดับที่	ชื่อพืชสามัญ	รหัสสารสกัด	IC_{50} (μg/mL) (mean ± SD)	
			ชั้นเมทานอล	ชั้นเอทานอล
1	ผักเชียงดา	SH-AA(62)-0001	>100 ± 0.00	>100 ± 0.00
2	บีปลากั้ง	SH-AA(62)-0002	15.7 ± 9.57	42.0 ± 5.91
3	กระแยงญวณ	SH-AA(62)-0003	16.0 ± 6.07	22.0 ± 4.99
4	ผักแผว	SH-AA(62)-0004	>100 ± 0.00	>100 ± 0.00
5	พายใหญ่	SH-AA(62)-0005	>100 ± 0.00	31.0 ± 2.57
6	บีเอียน	SH-AA(62)-0006	30.9 ± 5.15	42.0 ± 0.80
7	กระแยงนา	SH-AA(62)-0007	35.0 ± 5.86	52.0 ± 4.10
8	จิงจูฉ่าย	SH-AA(62)-0008	17.0 ± 5.19	22.0 ± 3.01
9	ฟักแม้ว	SH-AA(62)-0009	39.0 ± 9.78	63.0 ± 6.24
10	ผักชีฝรั่ง	SH-AA(62)-0010	30.0 ± 7.31	17.0 ± 9.58
11	ผักโขมเขียว	SH-AA(62)-0011	44.0 ± 7.13	11.0 ± 4.85
12	ผักหวาน	SH-AA(62)-0012	26.0 ± 6.06	78.0 ± 4.87
13	ผักผำ	SH-AA(62)-0013	>100 ± 0.00	66.0 ± 8.54
14	ชะพลู	SH-AA(62)-0014	39.0 ± 4.25	25.0 ± 0.78
15	แว่นใหญ่	SH-AA(62)-0015	47.0 ± 7.32	37.0 ± 3.16
16	อ่อมแซ่บ	SH-AA(62)-0017	26.8 ± 2.59	64.1 ± 4.60
17	ใบขี้เหล็ก	SH-AA(62)-0018	27.7 ± 4.06	43.5 ± 4.73
18	ดางขม	SH-AA(62)-0019	47.6 ± 3.99	99.4 ± 3.00
19	ชีช้าง	SH-AA(62)-0020	53.8 ± 3.00	43.1 ± 4.48
20	บัวบก	SH-AA(62)-0021	21.3 ± 4.09	52.7 ± 1.44
21	มะระขี้นก	SH-AA(62)-0022	14.5 ± 5.30	49.7 ± 7.62
22	กระโดน	SH-AA(62)-0023	14.6 ± 4.83	61.6 ± 6.41
23	ผักกุ่ม	SH-AA(62)-0024	37.4± 1.84	33.5 ± 3.15
24	คะน้าเม็กซิโก	SH-AA(62)-0025	31.9 ± 3.77	>100 ± 0.00
25	ย่านาง	SH-AA(62)-0027	23.6 ± 5.07	67.1 ± 1.96
26	สะเดา	SH-AA(62)-0028	18.2 ± 4.09	29.3 ± 5.04
27	ชีหอม	SH-AA(62)-0029	24.7 ± 4.60	> 100 ± 0.00
28	สะแงะ	SH-AA(62)-0031	7.3 ± 5.95	29.2 ± 3.12
29	ผักแป้น	SH-AA(62)-0032	59.7 ± 3.27	> 100 ± 0.00
30	ผักชีลาว	SH-AA(62)-0033	29.2 ± 4.01	57.0 ± 4.25
31	ยอดมะม่วงหิมพานต์	SH-AA(62)-0034	29.2 ± 4.01	> 100 ± 0.00
32	ผักเหรียง	SH-AA(62)-0036	20.7 ± 3.51	> 100 ± 0.00
33	ผักติ้ว	SH-AA(62)-0038	8.8 ± 4.71	44.1 ± 5.84
34	มันปู	SH-AA(62)-0040	28.8 ± 6.92	14.3 ± 7.27
35	ผักเผ็ด	SH-AA(62)-0041	>100 ± 0.00	23.9 ± 5.19

หมายเหตุ 1. Apigenin (positive control) ลดการหลั่ง nitric oxide ได้ 81 ± 6.12% (25 μM)

2. LPS+DMSO คือ ภาวะที่กระตุ้นให้มีการหลั่ง nitric oxide 12.8 ± 4.50 μM

ตารางที่ 3-5 ฤทธิ์การต้านการอักเสบของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อพืชสามัญ	รหัสสารสกัด	IC_{50} (μg/mL) (mean ± SD)	
			ชั้นเมทานอล	ชั้นเอทานอล
36	ผักกูด	SH-AA(62)-0042	51.7 ± 5.78	87.9 ± 2.59
37	ตับเต่า	SH-AA(62)-0043	>100 ± 0.00	> 100 ± 0.00
38	ชะคราม	SH-AA(62)-0044	49.7 ± 6.62	48.5 ± 3.67
39	ผักโขมแดง	SH-AA(62)-0045	77.5 ± 6.79	58.4 ± 4.22
40	ผักปรัง	SH-AA(62)-0046	38.5 ± 4.62	> 100 ± 0.00
41	มะตูมแขก	SH-AA(62)-0047	7.8 ± 5.95	22.6 ± 8.93
42	ผักก้านตง	SH-AA(62)-0048	30.6 ± 6.24	22.4 ± 5.46
43	ผักหนาม	SH-AA(62)-0049	>100 ± 0.00	>100 ± 0.00
44	โสมไทย	SH-AA(62)-0050	>100 ± 0.00	>100 ± 0.00
45	กระถิน	SH-AA(62)-0051	22.7 ± 5.95	34.3 ± 5.55

หมายเหตุ 1. Apigenin (positive control) ลดการหลั่ง nitric oxide ได้ 81 ± 6.12% (25 μM)
2. LPS+DMSO คือ ภาวะที่กระตุ้นให้มีการหลั่ง nitric oxide 12.8 ± 4.50 μM

3.3 ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดข่า และสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน

งานวิจัยนี้นั้นเป็นการศึกษาและพัฒนาพืชผัก สมุนไพรที่นิยมรับประทานและเป็นองค์ประกอบอาหารอยู่เป็นประจำ ซึ่งรับประทานเป็นอาหารพร้อมกับเป็นยารักษาโรคได้อีกด้วย ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยในการบริโภคพืชผัก สมุนไพร ดังกล่าวเป็นประจำ จึงจำเป็นต้องมีการทดสอบความเป็นพิษของพืชผัก สมุนไพรเหล่านั้นด้วย ดังนั้นในการทดศึกษานี้จึงทำการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดข่าและสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน โดยการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด vero เป็นเซลล์ต้นแบบซึ่งเป็นเซลล์ไตของลิง (vero cells) ด้วยวิธี MTT ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบเท่ากับ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดข่าและสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน ไม่แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อปกติเพาะเลี้ยงชนิด Vero ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3-6 และตารางที่ 3-7 เมื่อเปรียบเทียบกับการทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบ พบว่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ 50% (ตารางที่ 3-3 ถึงตารางที่ 3-5) จากผลการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าข่าและสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวานไม่แสดงความเป็นพิษต่อผู้บริโภค

ตารางที่ 3-6 ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยตัวทำลายชนิดต่าง ๆ

พืชสมุนไพร	รหัสสารสกัด	ตัวทำละลาย	IC_{50} (μg/mL; mean ± SD)	
			cytotoxicity	anti-inflammatory
ข่าเหง้าสด	AG(RH)-A	อะซิโตน	>500 ± 0.00	39.0 ± 7.94
ข่าเหง้าสด	AG(RH)-M	เมทานอล	452.9 ± 9.58	>100 ± 0.00
ข่าเหง้าสด	AG(RH)-95E	95% เอทานอล	110.5 ± 10.18	10.8 ± 1.15
ข่าเหง้าสด	AG(RH)-40E	40% เอทานอล	386.8 ± 9.34	>100 ± 0.00
กากเหง้าข่าสด	AG(RH1)-M	เมทานอล	>500 ± 0.00	51.4 ± 4.51
กากเหง้าข่าสด	AG(RH1)-95E	95% เอทานอล	39.2 ± 6.7	9.0 ± 2.88
เหง้าข่าแห้ง	AG(RHD)-BW	น้ำต้มเดือด	341.7 ± 10.66	47.0 ± 7.45

ตารางที่ 3-7 ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน

ลำดับที่	ชื่อพืชสามัญ	รหัสสารสกัด	IC_{50} (µg/mL) (mean ± SD)	
			ชั้นเมทานอล	ชั้นเอทานอล
1	ผักเชียงดา	SH-AA(62)-0001	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
2	บีปลากั้ง	SH-AA(62)-0002	350.2 ± 3.47	361.1 ± 6.28
3	กระแยงญวณ	SH-AA(62)-0003	>500 ± 0.00	452.9 ± 3.57
4	ผักแผว	SH-AA(62)-0004	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
5	พายใหญ่	SH-AA(62)-0005	>500 ± 0.00	95.3 ± 8.18
6	บีเอียน	SH-AA(62)-0006	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
7	กระแยงนา	SH-AA(62)-0007	352.9 ± 11.41	415.5 ± 5.30
8	จิงจูฉ่าย	SH-AA(62)-0008	182.2 ± 8.40	119.0 ± 5.76
9	ฟักแม้ว	SH-AA(62)-0009	203.7 ± 16.92	426.7 ± 3.11
10	ผักชีฝรั่ง	SH-AA(62)-0010	369.6 ± 10.15	428.6 ± 5.58
11	ผักโขมเขียว	SH-AA(62)-0011	500 ± 1.02	342.1 ± 2.51
12	ผักหวาน	SH-AA(62)-0012	323.3 ± 9.37	>500 ± 0.00
13	ผักผำ	SH-AA(62)-0013	486.0 ± 15.83	324.9 ± 6.28
14	ชะพลู	SH-AA(62)-0014	329.1 ± 12.40	218.3 ± 5.26
15	แว่นใหญ่	SH-AA(62)-0015	295.9 ± 17.25	311.4 ± 7.39
16	อ่อมแซ่บ	SH-AA(62)-0017	402.1 ± 1.83	486.1 ± 3.94
17	ใบขี้เหล็ก	SH-AA(62)-0018	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
18	ดางขม	SH-AA(62)-0019	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
19	ชีช้าง	SH-AA(62)-0020	>500 ± 0.00	275.1 ± 2.93
20	บัวบก	SH-AA(62)-0021	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
21	มะระขี้นก	SH-AA(62)-0022	141.2 ±6.31	173.0 ± 1.95
22	กระโดน	SH-AA(62)-0023	>500 ± 0.00	218.0 ± 2.95
23	ผักกุ่ม	SH-AA(62)-0024	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
24	คะน้าเม็กซิโก	SH-AA(62)-0025	329.9 ± 5.37	>500 ± 0.00
25	ย่านาง	SH-AA(62)-0027	400.6 ± 7.15	434.0 ±3.25
26	สะเดา	SH-AA(62)-0028	400.6 ± 4.51	330.8 ± 3.17
27	ชีหอม	SH-AA(62)-0029	308.6 ± 10.18	>500 ± 0.00
28	สะแงะ	SH-AA(62)-0031	364.5 ± 9.31	474.8 ± 3.03
29	ผักแป้น	SH-AA(62)-0032	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
30	ผักชีลาว	SH-AA(62)-0033	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
31	ยอดมะม่วงหิมพานต์	SH-AA(62)-0034	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
32	ผักเหรียง	SH-AA(62)-0036	377.0 ± 6.90	>500 ± 0.00
33	ผักติ้ว	SH-AA(62)-0038	495.0 ± 5.02	407.7 ± 4.58
34	มันปู	SH-AA(62)-0040	270.2 ± 6.00	>500 ± 0.00
35	ผักเผ็ด	SH-AA(62)-0041	>500 ± 0.00	349.0 ± 7.24
36	ผักกูด	SH-AA(62)-0042	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
37	ตับเต่า	SH-AA(62)-0043	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00

ตารางที่ 3-7 ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อพืชสามัญ	รหัสสารสกัด	IC_{50} (µg/mL) (mean ± SD)	
			ชั้นเมทานอล	ชั้นเอทานอล
38	ชะคราม	SH-AA(62)-0044	>500 ± 0.00	470.0 ± 9.19
39	ผักโขมแดง	SH-AA(62)-0045	430.4 ± 4.60	>500 ± 0.00
40	ผักปรัง	SH-AA(62)-0046	393.0 ± 2.24	>500 ± 0.00
41	มะตูมแขก	SH-AA(62)-0047	374.3 ± 3.63	>500 ± 0.00
42	ผักก้านตง	SH-AA(62)-0048	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
43	ผักหนาม	SH-AA(62)-0049	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
44	โสมไทย	SH-AA(62)-0050	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00
45	กระถิน	SH-AA(62)-0051	>500 ± 0.00	>500 ± 0.00

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าสารสกัดข่า และสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีรายงานในกลุ่มที่ใช้รักษาเบาหวานที่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดตามตำราแพทย์แผนไทยต่าง ๆ นั้นพบว่า สารสกัดข่าและสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีรายงานในกลุ่มที่ใช้รักษาเบาหวานนั้น สามารถช่วยป้องกันและลดภาวะข้างเคียงของโรคเบาหวานที่เกิดขึ้นได้ อาทิ การลดการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซม์ ซึ่งเป็นสารสื่อกลางการเกิดการอักเสบที่สำคัญ อีกทั้งจากผลการทดลองยังสามารถยืนยันได้ว่า ข่า และพืชสมุนไพรที่มีรายงานในกลุ่มที่ใช้รักษาเบาหวานที่เป็นผักท้องถิ่นที่นิยมรับประทานไม่ว่าจะนำมาทำเป็นอาหารหรือนำมารับประทานในรูปแบบต่าง ๆ นั้นไม่ส่งผลต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ทดสอบ (vero cells) จึงคาดว่า ข่า และพืชสมุนไพรที่มีรายงานในกลุ่มที่ใช้รักษาเบาหวานน่าจะนำมารับประทานเพื่อช่วยป้องกันและรักษาภาวะข้างเคียงของโรคเบาหวานที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยได้

4. สรุปผลการทดลอง (Conclusion)

การใช้สมุนไพรเพื่อการรักษาโรค เป็นศาสตร์การแพทย์พื้นบ้านหรือแพทย์แผนไทย ซึ่งเป็นภูมิปัญญาที่ใช้ดูแลสุขภาพและรักษาโรคภัยของคนไทยมาช้านาน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาสมุนไพรข่า (*Alpinia galanga*) ส่วนที่เป็นเหง้า และสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน ในด้านการต้านการอักเสบ รวมถึงการทดสอบความเป็นพิษของสมุนไพร เพื่อสนับสนุนการใช้สมุนไพรพื้นบ้านในการดูแลรักษาสุขภาพในปัจจุบันที่เพิ่มมากขึ้น โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้มีวิธีการสกัดสารออกแบบให้อยู่บนพื้นฐานของการนำสมุนไพรในชีวิตประจำวัน คือการใช้สมุนไพรสดในการสกัดด้วยเมทานอล เอทานอล และน้ำต้มเดือด จากการศึกษาสมุนไพรข่า ซึ่งเป็นพืชสวนครัวเรือนที่นำมาใช้ในการปรุงอาหารโดยพบว่าจะมีข่าเป็นองค์ประกอบอยู่ในเกือบทุกสูตรของตำรับอาหารไทย ข่า มีชื่อภาษาอังฤกษว่า Galanga, Creater Galanga และ False Galanga) มีชื่อวิทยาสาสตร์คือ *Alpinia galanga* (L.) Willd. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นนตระกูลเดียวกับขิง ข่ามีสารประกอบที่สำคัญคือ Cineole, camphor และ eugenol ลดการบีบตัวของลำไส้, 1'-acetoxychavicol acetate, 1'-acetoxyeugenol acetate และ eugenol ช่วยลดการอักเสบ, 1'-acetoxychavicol acetate และ 1'-acetoxyeugenol acetate ช่วยยับยั้งการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร และฆ่าเชื้อรา eugenol มีฤทธิ์ขับน้ำดี ช่วยย่อยอาหาร และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดข่าเหง้าสดและกากข่าเหง้าสดที่คั่นน้ำออกที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิด 95% เอทานอล พบว่ามีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) โดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS มีฤทธิ์ต้านการอักเสบสูง แต่พบว่ากากข่าเหง้าสดที่คั่นน้ำออก แสดงความว่าเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์ปกติเพาะเลี้ยงชนิด vero มากกว่าข่าเหง้าสดที่ไม่ได้คั่นออก จากการทดสอบนี้อาจเป็นได้ว่าน้ำข่าที่ถูกคั่นออกไปนั้นน่าจะมีสารที่ช่วยความเป็นพิษของข่า นอกจากนี้ยังพบว่าข่าเหง้าสดที่สกัดด้วยน้ำต้ม ยังคงมีต้านการอักเสบ ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่าการดื่มน้ำต้มข่าแบบที่ชาวบ้านน้ำข่ามาต้มแล้วดื่มน้ำนั้นยังคงได้รับฤทธิ์การต้านการอักเสบ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการพัฒนาข่าเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบผงชาดื่มต่อไป

ส่วนสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวานจำนวน 45 ชนิด สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล และตัวทำละลายเอทานอล แบ่งอกเป็น 4 กลุ่ม คือ สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล แสดงฤทธิ์ในการต้านการอักเสบสูง ใน 5 อันดับแรกคือ สะแงะ มะตูมแขก ผักติ้ว กระแยงญวณ และ จิงจูฉ่าย และกลุ่มสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลเท่านั้น ที่แสดงฤทธิ์การต้านการอักเสบสูง 5 อันดับแรก คือ ผักเหรียงชีหอม ยอดมะม่วงหิมพานต์ คะน้าเม็กซิโก และ ผักปลัง และกลุ่มสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลแสดงฤทธิ์การต้านการอักเสบสูง คือ พายใหญ่ ผักผำ ผักเผ็ด และกลุ่มสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล ที่ไม่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ คือ ผักเชียงดาว ผักแผว ตับเต่า ผักหนาม และโสมไทย

จากผลการวิจัยที่ได้พบว่า ข่า และสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน สามารถต้านอาการอักเสบได้ และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ vero ดังนั้นข่าและสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน อาจจะถูกแปรรูปทำเป็นผลิตภัณฑ์ชาชง เพื่อดื่มในการลดการอักเสบ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของภาวะข้างเคียงในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานได้ อีกทั้งจากผลการศึกษาวิจัยดังกล่าวนี้เป็นการยกระดับและเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรของไทยให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งเป็นการลดการนำเข้ายาสังเคราะห์จากต่างประเทศ ประชากรมีโอกาสใช้ยาที่ราคาไม่แพง ปลอดภัย มีประสิทธิภาพในการรักษาที่แม่นยำ ไม่ส่งผลข้างเคียงต่อการรักษา และเพิ่มโอกาสให้ประชากรโดยเฉพาะประชากรผู้สูงอายุในประเทศมีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นอีกทางหนึ่งด้วย

ข้อเสนอแนะ การทำวิจัยในขั้นตอนต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้

งานวิจัยนี้พบว่า สารสกัดข่าและสมุนไพรในกลุ่มรักษาเบาหวานสามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวาน โดยการยับยั้งตัวกลางในกระบวนการอักเสบที่สำคัญ คือยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ได้เป็นอย่างดี แต่ข้อมูลดังกล่าวเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านกลไกของสารสกัดข่าและสมุนไพรในกลุ่มรักษาเบาหวานที่มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบในระดับอณูโมเลกุล และศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดที่มีส่วนในการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ ก่อนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของอาหารเสริม ยา หรือส่วนประกอบทางยาที่ใช้สำหรับการรักษาและป้องกันภาวะทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ ของโรคเบาหวานซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

บรรณานุกรม

1. เทพ หิมะทองคา และคณะ. 2547. ความรู้เรื่องเบาหวานฉบับสมบรูณ์. พิมพ์ครั้งที่ 3. วิทยพัฒน์ : กรุงเทพฯ.
2. Roman-Ramos, R., Flores-Saenz, J.L. and Alarcon-Aguilar, F.J. 1995. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 48: 25-32.
3. Alarcon-Aguilara, F.J., Roman-Ramos, R., Perez-Gutierrez, S., Aguilar-Contreras, A., Contreras-Weber, C.C. and Flores-Saenz, J.L. 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used in antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology*, 61: 101-110.
4. Sitasawad, S.L., Shewade, Y. and Bhonde, R. 2000. Role of bitter gourd fruit juice in STZ induced diabetic state in vivo and in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 71-79.
5. Patumraj, S., Tewit, S., Amatyakul, S., Jaryiapongskul, A., Maneesri, S., Kasantikul, V. and Shepro, D. 2000. Comparative effects of garlic and aspirin on diabetic cardio-vascular complications. *Drug Delivery*, 7: 91-96.
6. Kar, A., Choudhary, B.K. and Bandhopadhyay, N.G. 2003. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medical plants in alloxan diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 84: 105-108.
7. Marles, J.R. and Farnsworth R.N. 1995. Antidiabetic plants and their active constiuents. *Phytomedicine*, 2(2): 137-189.
8. Li, W.L., Zheng, H.C., Bukura, J. and Kimpe, N.D. (2004). Natural medicines used in traditional Chinese medicines for diabetes mellitus. *Journal of Ethnophamacology*, 92, 1-21.
9. Ozden, I., Deniz, G., Tasali, E., Ulusarac, A., Altu, T. and Buyukdevrim, S. 1989. The effect of vitamin E on glycosylated haemoglobin levels in diabetic rats: A preliminary report. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 12, 123-124.
10. Ceriello, A., Giugliano, D., Quatraro, A., Donzella, C., Dipalo, G. & Lefebvre, P. 1991. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. *Diabetes Care*, 14, 68-72.
11. Daisya, P., Jasminea, R., Ignacimuthu, S. and Murugan, E. 2009. A novel Steroid from *Elephantopus scaber* L. an Ethnomedicinal plant with antidiabetic activity. *Phytomedicine*, 16, 252–257.
12. Marles, R.J and Farnsworth, N.R. 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2), 137-189.

13. Swanston-Flatt, S.K., Day, e., Bailey, Ci, and Flatt, P.R. 1990. Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and Streptozotocin diabetic mice. *Diabetologia*, 33, 462-464.
14. กองบรรณาธิการนิตยสารใกล้หมอ. 2551. คู่มือเบาหวาน. พิมพ์ครั้งที่ 3. สถาบันโรคผิวหนัง : กรุงทพฯ.
15. Lee, J., Yee, S-T., Kim, J-J., Choi, M-S., Kwon, E-Y., Seo, K-I. and Lee, M-K. 2010. Ursolic acid ameliorates thymic atrophy and hyperglycemia in streptozotocin-nicotinaide-induced diabetic mice. *Chemical-Biological Interractions*, 188, 635-642.
16. Liu, J. 1995. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 49, 57-68.
17. แดนชัย เครื่องเงิน, อเนก หาลี และบุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2556. ชาสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า, 31(3).
18. Kindt, T.J., Osborne, B.A., Goldsby and R.A. Kuby. 2006. Immunology. W. H. Freeman & Company. 6: 7-9.
19. พีรยุทธ สิทธิไชยากุล. Acute and Chronic Inflammation. [วารสารออนไลน์] ม.ป.ป. [อ้างเมื่อ 4 เมษายน 2555]. จาก: http://www.meded.nu.ac.th/backoffice/attachments/ACUTE%20AND%20CHRONIC%20INFLAMMATION.pdf.
20. สรรเพชญ เบญจวงศ์กุลชัย. พยาธิวิทยาการอักเสบ [ออนไลน์] ม.ป.ป. [อ้างเมื่อ 4 เมษายน 2555]. จาก: http://cai.md.chula.ac.th/chulapatho/chulapatho/lecturenote/inflammation/idexinflam.html#s&s
21. อุษาศิริ ศรีสกุล. การอักเสบและการซ่อมแซม. [วารสารออนไลน์] ม.ป.ป. [อ้างเมื่อ 4 เมษายน 2555]. จาก: http://cyberclass.msu.ac.th/cyberclass/cyberclassuploads/libs/document/inflammation_healing_47_0f8d.doc.
22. Mequanint, W., Makonnen, E., and Urga, K. 2011. In vivo Anti-inflammatory activities of leaf extracts of *Ocimum lamiifolium* in mice model. *Journal of Ethnopharmacology*, 134, 32–36.
23. Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., and Mitchell, R.N. 2007. Robbins Basic Pathology (8th ed.). United States of America, Elsevier Saunders.
24. Van der Vliet, A., Eiserich, J.P., and Cross, C.E. 2000. Nitric oxide: a proinflammatory mediator in lung disease. *Respiratory Research*, 1, 67–72.

25. Jung, H.W., Seo, U.K., Kim, J.H., Leem, K.H., and Park, Y.K. 2009. Flower extract of *Panax notoginseng* attenuates lipopolysaccharide induced inflammatory response via blocking of NF-kB signaling pathway in murine macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 313–319.
26. Coleman, J.W. 2001. Nitric oxide in immunity and inflammation. *International Immunopharmacology*, 1, 1397–1406.
27. Guzik, T.J., Korbut, R., and Adamek-Guzik, T. 2003. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 54, 469–487.

ผลผลิตของโครงการวิจัย (Output)

1. Anan Athipornchai*, Suwanna Semsri, Sureeporn Homvisasevongsa. Anti-inflammatory potential of galangal rhizome extracts for the prevention and treatment of Diabetes and related diseases (Manuscript in preparation).
2. ได้เทคโนโลยี กรรมวิธี และกระบวนการใหม่ในการเตรียมสารสกัดหยาบ และสารออกฤทธิ์จากข่า ที่สามารถ ช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวาน โดยการยับยั้งตัวกลางในกระบวนการอักเสบที่สำคัญ คือยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS
3. ได้อนุสิทธิบัตร และผลิตภัณฑ์ใหม่จากข่า ที่สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดเบาหวาน โดยการยับยั้งตัวกลางในกระบวนการอักเสบที่สำคัญ คือยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโคฟาจเพาะเลี้ยงชนิด RAW264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS
4. ได้ผลิตนักวิทยาศาสตร์ และนักวิจัยไทย ให้มีความสามารถและเชี่ยวชาญในงานวิจัยด้านสมุนไพรขึ้น
5. ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่จะช่วยยืนยันภูมิปัญญาไทยจากพืชสมุนไพรไทยผักพื้นบ้านที่สามารถนำมารับประทานได้ที่ออกฤทธิ์ต้านเบาหวาน และภาวะต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน

ภาคผนวก : ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าคณะวิจัย

1. ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) นายอนันต์ อธิพรชัย
   ชื่อ – นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Anan Athipornchai
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 5140100002609
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก
   ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131
   โทรศัพท์ 0-3810-3055 มือถือ 08-9740-6293 โทรสาร 0-3839-3494
   E-mail: anana@buu.ac.th, anana@go.buu.ac.th, anan_athi@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี	เคมี	มหาวิทยาลัยศิลปากร	พ.ศ. 2549
ปริญญาโท	เคมีอินทรีย์	มหาวิทยาลัยศิลปากร	พ.ศ. 2552
ปริญญาเอก	เคมีประยุกต์	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	พ.ศ. 2556

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
   สาขาที่ชำนาญ: การวิจัยด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและสมุนไพรเพื่อการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่ใช้ในเครื่องสำอาง อาหารเสริมสุขภาพ และใช้เป็นยา

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวของกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

2558-2559	แหล่งทุนทุน	งบประมาณแผ่นดินจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
	สถานภาพ	หัวหน้าโครงการวิจัย
	หัวข้อโครงการวิจัย	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Tabernaemontana*
2558	แหล่งทุนทุน	ทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี พ.ศ. 2556 มหาวิทยาลัยบูรพา
	สถานภาพ	หัวหน้าโครงการวิจัย
	หัวข้อโครงการวิจัย	เคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของมะพร้าว

ผลงานทางวิชาการ

- บทความวิจัยที่ตีพิมพ์ระดับนานาชาติ

1. Pancharoen, O.; **Athipornchai, A.**; Panthong A.; Taylor, W. C. “Isoflavones and rotenoids from the leaves of *Millettia brandisiana*”, *Chem. Pharm. Bull*., **2008**, *56*(6), 835-838.
2. Arunkhamkaew, S.; **Athipornchai, A.**; Suksamrarn, A.; Ajavakom, V. “Novel tetrahydro-curcuminoid dihydropyrimidinone analogues as potent acetyl-cholinesterase inhibitors”, *Bioorg. Med. Chem. Lett*., **2013**, *23*, 2880-2882.
3. Srikittiwanna, K.; **Athipornchai, A.**; Niyomdecha, M. “Synthesis of oseltamivir derivatives with anti-tyrosinase activity”, *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, **2016**, *6*, 835-845.

4. Zibareva, L.; **Athipornchai, A.**; Wonganan, O.; Suksamrarn, A. "Application of ultrasound to extraction of biologically active substances of some *Serratula* species*", International Journal of Food and Biosystems Engineering*, **2017**, *5*, 31-37.
5. Utaipan, T.; **Athipornchai, A.**; Suksamrarn, A.; Jirachotikoon, C.; Yuan, X.; Lertcanawanichakul, M.; Chunglok, W. "Carbazole alkaloids from *Murraya koenigii* trigger apoptosis and autophagic flux inhibition in human oral squamous cell carcinoma cells", *Journal of Natural Medicine*, **2017**, *71*, 158-169.
6. Utaipan, T.; **Athipornchai, A.**; Suksamrarn, A.; Chunsrivirot, S.; Chunglok, W. "Isomahanine induces endoplasmic reticulum stress and simultaneously triggers p38 MAPK-mediated apoptosis and autophagy in multidrug-resistant human oral squamous cell carcinoma cells", *Oncology Report*, **2017**, *37*, 1243-1252.
7. Nooron, N.; **Athipornchai, A.**; Suksamrarn, A.; Chiabchalard, A. "Mahanine enhances the glucose-lowering mechanisms in skeletal muscle and adipocyte cells*", Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2017**, *494*, 101-106.
8. Namdaung, U.; **Athipornchai, A.**; Khammee, T.; Kuno, M.; Suksamrarn, S.; "2-Aryl-benzofurans from *Artocarpus lakoocha* and methyl ether analogs with potent cholinesterase inhibitory activity*", European Journal of Medicinal Chemistry*, **2018**, *143*, 1301-1311.
9. Apisornopas, J.; Silalai, P.; Kasemsuk, T.; **Athipornchai, A.**; Sirion, U.; Suksen, K.; Piyachaturawat, P.; Suksamrarn, A.; Saeeng, R. "Synthetic analogues of durantoside I from *Citharexylum spinosum* L. and their cytotoxic activity*", Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter*, **2018**, *28*, 1558-1561.
10. Piyanan, T.; **Athipornchai, A.**; Henry, C.S.; Sameenoi, Y. "An instrument free detection of antioxidant activity using paper-based analytical devices coated with nanoceria*", Analytical Sciences*, **2018**, *34*, 97-102.
11. **Athipornchai, A.**; Jullapo, N. (2018). Tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of Orchid (*Dendrobium* spp.). *South African Journal of Botany*, *119*, 188-192.

- บทความวิจัยที่ตีพิมพ์ระดับชาติ

1. Khammee, T.; **Athipornchai, A.**; Upamaia, W.; Jaisin, Y. and Suksamrarn, S. "Synthesis of hydroxyxanthones and evaluation for their acetylcholinesterase inhibitory and neurotoxicity activities", *KKU Sci. J.*, **2014**, *42*, 212-220.
2. Thungtong, S.; Sattayakhom, A.; Charong, N.; Jankrajang, P.; Panatsako, N.; Utaipan, T.; **Athipornchai, A.**; Suksamrarn, A. and Chunglok, W. "Effect of mahanine in combination with MG132 and cisplatin on growth inhibition of multidrug resistant human oral squamous cell carcinoma cells", *Journal of Science and Technology Ubon Ratchathani University*, **2017**, 173-179.

- บทความวิชาการที่ตีพิมพ์ระดับนานาชาติ

1. **Athipornchai, A.** "A review on *Tabernaemontana* spp.: Multipotential medicinal plant", *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **2018**, *114*, 45-53.

- สิทธิบัตร

1. Suksamrarn, A.; **Athipornchai, A.** Phenolic alkanoids with anti-acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities. *Thai Patent Application*, No. 1301000786, 15 February 2013.

- รายงานสืบเนื่องจากการประชุม (Proceeding) ระดับนานาชาติ

1. Thatavong, X.; **Athipornchai, A.** "Phytochemical analysis and antioxidant evaluation from Ceylon Oak (*Schleichera oleosa*) fruits", Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2015), 21-23 January **2015**, Bangkok, Thailand, pp. 497-500.
2. Sreeprasert, J.; **Athipornchai, A.** "Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Dolichandrone serrulata*", 7th RMUTCON & 6th RMUTIC. **2015**, 1-3 September 2015, Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasima. Thailand.
3. Khumhom, R.; **Athipornchai, A.** "Phytochemical analysis and antioxidant evaluation of Indian Cork tree (*Millingtonia hortensis* Linn.)", 7th RMUTCON & 6th RMUTIC. **2015**, 1-3 September 2015, Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasima. Thailand.
4. Dangnoi, T.; **Athipornchai, A.** "Phytochemical screening and antioxidant evaluation of Sacred Lotus", 7th RMUTCON & 6th RMUTIC. **2015**, 1-3 September 2015, Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasima. Thailand.
5. Jullapo N.; Techasauvapak, P.; **Athipornchai, A.** "Phytochemical screening and antioxidant activity of *Dendrobium* Species", 7th RMUTCON & 6th RMUTIC. **2015**, 1-3 September 2015, Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasima. Thailand.
6. Huayhongthong, N.; Techasauvapak, P.; **Athipornchai, A.** "Phytochemical screening and antioxidant activity of some Thai medicinal plants using in the diabetes", 7th RMUTCON & 6th RMUTIC. **2015**, 1-3 September 2015, Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasima. Thailand.
7. Traiboon, W.; **Athipornchai, A.**; Suntornwat, O.; Rayanil, K. "Glucosidase inhibitors from the rhizomes of *Curcuma aromatica* Salisb", Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2016), 9-11 February **2016**, Bangkok, Thailand, pp. 1065-1068.

รายงานสรุปการเงิน

สัญญาเลขที่ 46.3/2562
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจาปีงบประมาณ พ.ศ. 2562
มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) คุณสมบัติต้านการอักเสบและความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรในกลุ่มที่รักษาเบาหวาน
(ภาษาอังกฤษ) Anti-inflammation and cytotoxic properties in medical plants for diabetes treatment

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน อ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย
รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2561 **ถึงวันที่** 20 สิงหาคม พ.ศ. 2562
ระยะเวลาดาเนินการ 1 ปี - เดือน **ตั้งแต่วันที่** 1 ตุลาคม พ.ศ. 2561

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50 % มหาวิทยาลัยหัก 10% ออกแล้ว)	424,350 บาท	เมื่อวันที่ 4 เมษายน พ.ศ. 2562
งวดที่ 2 (40 % มหาวิทยาลัยหัก 10% ออกแล้ว)	339,480 บาท	เมื่อวันที่ 13 กรกฎาคม พ.ศ. 2562
งวดที่ 3 (10 %)	-	
รวม	**763,830 บาท**	

รายจ่าย

รายการ	**งบประมาณที่ตั้งไว้**	**งบประมาณที่ใช้จริง**	**จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน**
1. ค่าตอบแทน	60,000 บาท	60,000 บาท	-
2. ค่าจ้าง	54,000 บาท	54,000 บาท	-
3. ค่าวัสดุ	660,000 บาท	660,000 บาท	-
4. ค่าใช้สอย	74,700 บาท	74,700 บาท	-
5. ค่าครุภัณฑ์	-	-	-
6. ค่าใช้จ่ายอื่นๆ -ค่าธรรมเนียมอุดหนุนสถาบัน	94,300 บาท	94,300 บาท	-
รวม	**943,000 บาท**	**943,000 บาท**	-

(อ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย)
หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน