

การสกัดสารอัลคาลอยด์ด้วยวิธีการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคตามด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลาย
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากใบขี้เหล็ก

ประกิต ไชยธาดา^{1*}, อาริรัตน์ จันทรมาศ¹, รัตนพร คำแท้¹ และ เสาวณีย์ เมืองจันทร์บุรี²

¹สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80280

²ภาควิชาชีวเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา 90100

*prakitch0106@gmail.com

บทคัดย่อ

ขี้เหล็กจัดเป็นพืชที่สามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่นที่ชาวบ้านนำมารับประทานจำนวนมาก โดยจะนำในส่วนของยอดอ่อนและดอกมาประกอบเป็นอาหาร ขี้เหล็กเป็นพืชที่มีรสขม นอกจากการนำมารับประทาน ก็ไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ เลย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการสกัดสารอัลคาลอยด์จากใบขี้เหล็ก โดยใช้วิธีการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และการสกัดด้วยตัวทำละลาย และนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH รวมทั้งฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส จากการหาค่าความเข้มข้นของใบขี้เหล็กพบว่ามีความเท่ากับร้อยละ 53.10 เปอร์เซ็นต์ การสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และการสกัดด้วยตัวทำละลายและการสกัดด้วยตัวทำละลาย มีค่าผลผลิตร้อยละเท่ากับ 58.88 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบหาสารอัลคาลอยด์ โดยการหยด Wagner's reagent พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปจะได้ตะกอนซึ่งมีลักษณะเป็นตะกอนขุ่น สีน้ำตาลแดง จากนั้นเมื่อนำสารสกัดอัลคาลอยด์จากใบขี้เหล็กที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า สารสกัดจากใบขี้เหล็กมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดีมาก โดยมีร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ $85.43 \pm 0.78\%$ ที่ความเข้มข้น 1000 ppm เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ($95.83 \pm 0.16\%$) และมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ดีมาก โดยมีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับ $86.12 \pm 2.42\%$ ที่ความเข้มข้น 1000 ppm ซึ่งดีกว่าสารมาตรฐาน Acarbose ที่มีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับ $58.62 \pm 1.32\%$ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

คำสำคัญ: สารอัลคาลอยด์ วิธีการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

บทนำ

อนุมูลอิสระ (Free radicals) เกิดขึ้นจากทั้งกระบวนการต่างๆ ในร่างกาย และสิ่งกระตุ้นจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดความเสื่อมของร่างกาย ความเจ็บป่วย และโรคภัยต่างๆ ปกติภายในร่างกายมีกลไกป้องกันตัวเองจากอนุมูลอิสระ โดย อาศัยการทำงานของสารต้านออกซิเดชันที่ร่างกายสร้างขึ้น เช่น เอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT) และ Peroxidase (POX) เป็นต้น (Wu et al. 2013) โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus) เป็นความผิดปกติของร่างกายที่มีการผลิตฮอร์โมน อินซูลินไม่เพียงพอ อันส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูงเกินปกติ โรคนี้มีความรุนแรงสืบเนื่องมาจากการที่ร่างกายไม่สามารถใช้น้ำตาลได้อย่างเหมาะสม โดยปกติน้ำตาลจะเข้าสู่เซลล์ร่างกาย เพื่อใช้เป็นพลังงานภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนอินซูลิน ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลที่เกิดขึ้นทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) เป็นเอนไซม์ที่พบมากที่ผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก มีหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้จะช่วยลดการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด และช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดลงได้ การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส จึงเป็นวิธีการเบื้องต้นในการทดสอบพืชสมุนไพรได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Narender et al. 2007)

อัลคาลอยด์ เป็นสารเมแทบอลิไทต์ทุติยภูมิ มีฤทธิ์เป็นด่าง ในโมเลกุลประกอบด้วยธาตุไนโตรเจนอย่างน้อย 1 อะตอม พบมากในพืช แต่อาจพบได้บ้างในแบคทีเรีย รา และสัตว์ เป็นสารที่มีทั้งจะมีพิษและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในหลายระบบ อัลคาลอยด์จึงถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง (ศิริพร หมาดหล้า และ พจนพร ไกรดิษฐ์, 2560) สารอัลคาลอยด์เป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีผลกระทบสำคัญเกี่ยวกับเศรษฐกิจ การแพทย์ การเมือง และสังคมของมนุษย์ สารเหล่านี้มีผลทางสรีรวิทยาต่อระบบต่าง ๆ ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และเป็นสารบางชนิดถูกใช้ในกระบวนการรักษาทางการแพทย์ที่สำคัญ เช่น atropine, morphine, quinine และ vincristine เป็นกลุ่มสารอัลคาลอยด์ที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง และโรคเมเร็ง (Al-Fartosy et.al. 2013) สารสกัดจากพืชในกลุ่มอัลคาลอยด์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี เช่น สารสกัดจากพืชในสกุล *Fumaria* พบสารประกอบอัลคาลอยด์หลายชนิด ได้แก่ protopine, cryptonine, stylophine, phtalidiisoquinoline, fumariline, fumaritine, fumarafne และ dehydrobenzophenanthridine และมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH จึงสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติเพื่อความต้องการทางการแพทย์และการค้า (Maiza et al. 2007) สารอินโดลอัลคาลอยด์ที่แยกได้จากต้นพญาสัตบรรณซึ่งเป็นพืชสังเคราะห์ของทริปโตเฟนมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งและต้านเนื้องอก (ประไพรัตน์ สัฟโลกร, 2555)

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นที่มีความหลากหลายทางพรรณพฤษชาติ (flora) และสภาพสังคมพืช (vegetation) ประเทศหนึ่ง พรรณพฤษชาติของไทยมีพืชที่มีท่อลำเลียง (vascular plant) ไม่น้อยกว่า 10,000 ชนิด โดยมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องลงพิมพ์ในหนังสือพรรณพฤษชาติของประเทศไทย (Flora of Thailand) ปัจจุบันประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทั้งในเรื่องของพืชและสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะความหลากหลายของพืชแต่ละท้องถิ่น ซึ่งจะมีชนิด คุณสมบัติ และลักษณะเฉพาะตัวที่แตกต่างในพื้นที่ภาคใดคนจะนิยมใช้ประโยชน์จากพืชที่มีอยู่ทุก ๆ ด้าน เช่น นำมารับประทาน การรักษาโรค การนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เป็นต้น ซึ่งจากการสังเกตผู้คนในท้องถิ่น ได้มีการนำพืชมาใช้ประโยชน์หลากหลายชนิด เช่น มะรุม ย่านาง มะระขี้นก พาโหม มะเดื่อ และขี้เหล็ก ซึ่งพืชเหล่านี้มีคุณสมบัติในการนำมารักษาโรคได้ตามภูมิปัญญาท้องถิ่น สารสกัดเมทานอลจากมะเดื่อพบสารอัลคาลอยด์ คอนเดนส์แทนนิน ฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์ปีน สเตอรอยด์ และแอนทราควิโนนส์ และพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด (อุดม เดชาพลเยี่ยม, 2556) สารสกัดเมทานอลจากพืชสมุนไพร 6 ชนิด ได้แก่ มะระขี้นก แป๊ะตำปึง พญาวัน อินทนิลน้ำ มะตูม และกระดุมทองเลื้อย มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (วิมลพรรณ รุ่งพรหม และคณะ, 2553) จากที่กล่าวมาข้างต้นพบว่าพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่นที่ชาวบ้านนำมารับประทานจำนวนมาก คือ ขี้เหล็ก โดยจะนำในส่วนของยอดอ่อน และดอกมาประกอบเป็นอาหาร ซึ่งขี้เหล็กนี้จะมีรสขม นอกจากการนำมารับประทาน ก็ไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ เลย

ดังนั้นในการวิจัยในครั้งนี้ มีจุดมุ่งหมายที่จะสกัดสารอัลคาลอยด์ในใบขี้เหล็กที่สามารถหาได้ง่ายภายในท้องถิ่น ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส สารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชส่วนใหญ่จะมีคุณสมบัติในทางการแพทย์ งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญที่จะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ได้จริงในอนาคตต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การหาความชื้น

นำใบขี้เหล็กสดมาชั่งน้ำหนักจำนวน 2 กรัม จากนั้นนำไปใส่ในภาชนะเพื่ออบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง แล้วจึงนำพืชออกมาชั่งน้ำหนัก เพื่อตรวจสอบความคงที่ของน้ำหนักของพืช ถ้าน้ำหนักของพืชยังไม่คงที่ให้นำไปอบต่ออีก 3 ชั่วโมง แล้วนำพืชออกมาชั่งน้ำหนักของพืชคงที่

2. การสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous Two-Phase Extraction: ATPE) ตามด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction: SE)

ขั้นตอนการสกัดสารอัลคาลอยด์จากใบขี้เหล็ก ดัดแปลงเล็กน้อยจากวิธีของ Federico และคณะ (2012) โดยนำใบขี้เหล็กสด 700 กรัม นำมาตากจนแห้ง แล้วบดละเอียดด้วยโกรนบดสาร หลังจากนั้นนำมาชั่งให้ได้น้ำหนัก 10 กรัม ซึ่งการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (ATPE) ในขั้นตอนแรกเตรียมระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous Two-Phase System: ATPs) คือ นำ 28% w/w เอทานอล มาผสมกับ 18% w/v แอมโมเนียมซัลเฟต ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารที่เตรียมไว้ในมาผสมกับพืช (ในอัตราส่วน 50:1) แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 วัน สารที่ตั้งทิ้งไว้จะแยกออกเป็นสองเฟส จะนำไปหา %yield จากการนำสารที่แยกเป็นสองเฟสมา

กรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อนำสารชั้นที่เป็นของแข็ง (Bottom phase) ออก และนำสารที่เป็นของเหลว (Top phase) ไประเหยตัวทำละลาย แล้วนำสารที่ได้ในชั้นบนมาระเหยตัวทำละลาย ด้วยเครื่อง Rotary Evaporator เมื่อตัวทำละลายระเหยหมดแล้ว ก็นำสารสกัดที่อยู่ในขวดกันกลออกมา โดยการชะสารด้วยอะซิโตน แล้วนำสารที่ได้ใส่ไว้ในบีกเกอร์นำตั้งไว้ในตู้อบ เพื่อรอให้อะซิโตนระเหยหมด จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาเติมกรดไฮโดรคลอริก ($\text{pH} = 2$) และเติมคลอโรฟอร์มลงไปผสมกันในบีกเกอร์ แล้วเติม 0.001 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อเป็นการปรับให้ $\text{pH} > 10$ และนำมาใส่ในกรวยแยกแล้วเขย่า จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ลงไปกรวยแยก แล้วตั้งไว้ 15 นาที เพื่อรอให้สารแยกชั้น (สารที่อยู่ในกรวยแยกจะแยกออกเป็นสองชั้น คือ ด้านบนจะเป็นชั้นของน้ำส่วนด้านล่างจะเป็นชั้นของคลอโรฟอร์ม) แล้วทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำสารชั้นบนเทใส่บีกเกอร์ แล้วเติม 0.001 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อเป็นการปรับให้ $\text{pH} > 10$

3. การทดสอบสารอัลคาลอยด์

เริ่มจากการเตรียมสารละลายแวกเนอร์ (Wagner's reagent) คือ ละลายไอโอดีน 2 กรัม และโพแทสเซียมไอโอไดด์ 6 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร โดยมีวิธีการทดสอบ คือ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำ 1.5% v/v กรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร แล้วเขย่าสารให้เข้ากัน แล้วนำสารไปอุ่นบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) 5 นาที แล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปหยดสารละลายแวกเนอร์ จำนวน 2 หยด แล้วเขย่าถ้าปรากฏตะกอนสีน้ำตาลแดง แสดงว่าพบสารอัลคาลอยด์

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

นำสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (50-1000 ppm) ปริมาตร 2 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำ 0.3 mM DPPH ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร และเติมเมทานอลปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปเขย่าสารให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixture นำไปเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้สารละลายเมทานอลเป็น blank และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

นำสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (50-1000 ppm) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมสารละลาย 0.1 U/mL แอลฟาไกลูโคซิเดส ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และสารละลาย 50 mM Phosphate buffer ($\text{pH} = 6.8$) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม 96-well plate จากนั้นนำสารละลายผสมที่ได้ไปอุ่นที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเติมน้ำ 2 mM 4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำสารละลายไปอุ่นที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย 1 mM Na_2CO_3 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Acarbose

ผลและอภิปรายผล

1. ร้อยละความชื้นของใบขี้เหล็ก

จากการนำใบขี้เหล็กสดมาชั่งจำนวน 2 กรัม นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง แล้วจึงนำฟီชออกมาชั่งน้ำหนัก เพื่อตรวจสอบว่าน้ำหนักของฟชีที่หายไป และนำมาคำนวณหาค่าความชื้น พบว่าร้อยละความชื้นของใบขี้เหล็กเท่ากับ 53.10 โดยมีรายละเอียดต่าง ๆ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละความชื้นของใบขี้เหล็ก

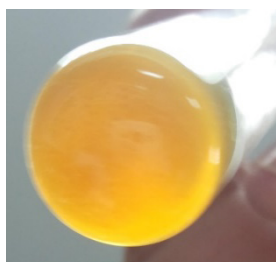
น้ำหนักก่อนตากแห้ง (g)	น้ำหนักหลังการอบ (g)			ร้อยละความชื้นที่ได้ (%)
	ครั้งที่ 1 (g)	ครั้งที่ 2 (g)	ค่าเฉลี่ย	
700.00	1.0227	0.9380	0.98035	53.10

2. ค่าผลผลิตร้อยละของใบขี้เหล็ก (%yield) จากการการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และการสกัดด้วยตัวทำละลาย

จากการเริ่มต้นการสกัด โดยการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค โดยใช้สารตัวอย่าง 10 กรัม ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 28% (w/w) และแอมโมเนียมซัลเฟต 18% (w/v) ต่อด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลาย ซึ่งจะนำสารที่แยกเป็นสองเฟสในการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมากรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อนำสารชั้นที่เป็นของเหลว (Top phase) ไประเหยตัวทำละลายแล้วชั่งน้ำหนักสารที่ได้ คือ 5.88 กรัม คิดเป็นร้อยละ 58.88

3. การทดสอบหาสารอัลคาลอยด์

จากการทดสอบหาสารอัลคาลอยด์โดยการหยดสารละลายแวกเนอร์ พบว่าเมื่อนำสารตัวอย่างที่ได้จากการสกัดใส่ลงไปในหลอดทดลองปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วหยด Wagner's reagent จำนวน 2 หยด เมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที จะได้ตะกอน ซึ่งมีลักษณะเป็นตะกอนขุ่น สีน้ำตาลแดง ดังรูปที่ 1



ก)



ข)

รูปที่ 1 ลักษณะของสารสกัดที่ได้จากการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคและการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ก) ก่อนและหลังหยด Wagner's reagent

ข) หลังหยด Wagner's reagent เมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง พบว่าสารสกัดจากใบขี้เหล็กมีร้อยละของการยับยั้งสูงสุดที่ความเข้มข้น 1,000 ppm มีค่าเท่ากับ $85.43 \pm 0.78\%$ ซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ($95.83 \pm 0.16\%$) ดังตารางที่ 2

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

จากการนำสารสกัดจากใบขี้เหล็กมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Acarbose พบว่า สารสกัดจากใบขี้เหล็กแสดงฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 1000 ppm โดยยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสคิดเป็นร้อยละ 86.12 ± 2.42 ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ดี

กว่าสารมาตรฐาน Acarbose ที่แสดงผลการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสคิดเป็นร้อยละ 58.62 ± 1.32 ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ร้อยละของการยับยั้ง (%inhibition) ต่อนอนุมูลอิสระ DPPH และเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารสกัดจากใบขี้เหล็กและสารมาตรฐาน

ความเข้มข้น (ppm)	ร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH		ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส	
	สารสกัดใบขี้เหล็ก	Trolox	สารสกัดใบขี้เหล็ก	Acarbose
50	8.18 ± 1.26	18.21 ± 2.23	2.15 ± 0.98	4.15 ± 0.78
100	23.34 ± 0.80	74.79 ± 1.40	16.42 ± 1.28	10.25 ± 1.12
200	54.42 ± 0.86	89.30 ± 0.86	64.78 ± 1.84	14.78 ± 1.24
500	78.84 ± 0.96	95.40 ± 0.12	82.26 ± 2.12	30.26 ± 1.43
1000	85.43 ± 0.78	95.83 ± 0.16	86.12 ± 2.42	58.62 ± 1.32

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสารสกัดสารอัลคาลอยด์จากใบขี้เหล็ก โดยการสกัดแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยเริ่มจากการเก็บตัวอย่างใบขี้เหล็กมาหรร้อยละความชื้น ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 53.10 จากนั้นทำการสกัดโดยวิธีแบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคตามด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายซึ่งจะได้ร้อยละของการสกัดเท่ากับร้อยละ 58.88 เมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบหาสารอัลคาลอยด์ โดยการหยด Wagner's reagent จำนวน 2 หยด เมื่อเวลาผ่านไปจะได้ตะกอน ซึ่งมีลักษณะเป็นตะกอนขุ่น สีน้ำตาลแดง แสดงว่าพบสารอัลคาลอยด์จากใบขี้เหล็ก และเมื่อนำสารสกัดอัลคาลอยด์จากใบขี้เหล็กไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า สารสกัดจากใบขี้เหล็กมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดีมาก โดยมีร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ $85.43 \pm 0.78\%$ ที่ความเข้มข้น 1000 ppm เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ($95.83 \pm 0.16\%$) และมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ดีกว่าสารมาตรฐาน Acarbose โดยมีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับ $86.12 \pm 2.42\%$ ที่ความเข้มข้น 1000 ppm ในขณะที่ Acarbose มีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเท่ากับ $58.62 \pm 1.32\%$ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ (อาคาร 13) และห้องปฏิบัติการเคมี อาคาร 10 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราชในการอำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่และอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัย

บรรณานุกรม

- Al-Fartosy, A.J.M., Sameerah, A.Z., & Alwan, N. (2013). Total Antioxidant Capacity and Antihyperlipidemic Activity of Alkaloid Extract from Aerial Part of *Anethum Graveolens* L. Plant. European Scientific Journal, 9, 413-423.
- Federico, R., Jorge, B., Oscar, A., & Marco, R.P. (2012). Aqueous two-phase affinity partitioning systems: Current applications and trends. Journal of Chromatography. 1244, 10-13.
- Maiza, F., Sabiha, K., Khalida, B., Mohamed, C., Sandrine, A., Yves, C., Henry, M., & Laurain-Mattar, D. (2007). Antioxidant activities of alkaloid extracts of two Algerian species of *Fumaria*: *Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardii*. Records of Natural Products. 1, 28-35.

Narender, T., Shweta, S., Tiwari, P., Papi Reddy, K., Khaliq, T., Prathipati, P., Puri, A., Srivastava, A.K., Chander, R., Agarwal, S.C., & Raj, K., 2007, Antihyperglycemic and Antidyslipidemic Agent From Aegle marmelos, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 17: 1808-1811.

Wu, J.Q., Kosten, T.R., & Zhang, X.Y. (2013). Free Radicals, Antioxidant Defense Systems, and Schizophrenia. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 46, 200-206.

ประไพรัตน์ สีสกุลไกร. (2555). สารอินโดลอัลคาลอยด์และฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นพญาสัตบรรณ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 14, 54-65.

วิมลพรรณ รุ่งพรหม, ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาล, สัญญา เขียวไสว และ มุกดา ทรงไตรย์. (2553). สารยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากพืชสมุนไพรเพื่อใช้บำบัดโรคเบาหวาน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 41, 301-304.

ศิริพร หมดหล้า และ พจนพร ไกรดิษฐ์. (2560). สารอัลคาลอยด์จากพืช และกลไกการออกฤทธิ์ระดับโมเลกุลในการต้านมะเร็ง. สงขลานครินทร์เวชสาร, 35, 83-94.

อุดม เดชาพลเยี่ยม. (2556). การศึกษาโครงสร้างโมเลกุลของสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการสกัดจากมะเดื่อ. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร:ม.ป.ท.