



การคัดกรองสารยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล จากสารสกัดสมุนไพรไทย

ดวงเพ็ญ ปัทมติก*

สมจิตร เนียมสกุล*

นนท์ทิพ ลิมเพียรชอบ†

กรกนก อิงคนินันท์

ประไพ วงศ์สินคงมั้น*

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าวเป็นเป้าหมายหนึ่งในการรักษาภาวะไขมันในเลือดสูง จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล จำนวน ๑๔ ชนิดสารสกัด โดยประเมินระดับคอเลสเตอรอลที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสีที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ Caco-2 และใช้ ezetimibe เป็น positive control พบว่า ที่ความเข้มข้น ๑๐๐ มก./มล. สารสกัดเอทานอลจากโสมฝรั่ง (PG) มีฤทธิ์ดีที่สุด โดยยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ ๔๓% สารสกัดน้ำและเอทานอลจากใบตะลิงปลิง (ABL-1 และ ABL-2) และสารสกัดเอทานอลจากใบบัวหลวง (NN) ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ ๓๔-๓๖% สารสกัดเอทานอลจากโสมขจร (MO-1) โสมยอ (MC) โสมย่านาง (TT-1) และน้ำคั้นจากผลตะลิงปลิง (ABF) ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ ๒๐-๓๐% นอกจากนี้ ที่ความเข้มข้น ๕๐๐ มก./มล. สารสกัด MO-1 และ TT-1 สามารถยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นเป็น ๕๑% และ ๓๗% ตามลำดับ สารสกัดสมุนไพรที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตอรอลในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สารสกัดเอทานอลจากใบชะมวง (GC), โสมขจร (CH), ส่วนใต้ดินปัญญาจันทร์ (GP), สารสกัดน้ำจากโสมขจร (MO-2), โสมย่านาง (TT-2) และสารสกัดข่า (AG) ผลการวิจัยนี้สามารถคัดเลือกสมุนไพรที่มีศักยภาพในการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลเพื่อศึกษาถึงสารออกฤทธิ์ต่อไปได้

คำสำคัญ : การยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล, สมุนไพรไทย

บทนำ

ภาวะไขมันในเลือดสูง เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) โรคหัวใจขาดเลือด (ischemic heart disease) โรคหลอดเลือดสมอง (cerebrovascular disease) เป็นต้น ยาแผนปัจจุบันที่ใช้ในการรักษาภาวะดังกล่าวมีหลายกลุ่มซึ่งมีกลไก

การออกฤทธิ์แตกต่างกัน เช่น กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase เป็นต้น เป้าหมายใหม่ทางการรักษาภาวะไขมันในเลือดสูง คือ การยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลจากทางเดินอาหาร โดยปัจจุบันมียาเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่ออกฤทธิ์ด้วยกลไกดังกล่าวคือ ezetimibe^๑

เนื่องจากสมุนไพรไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง เป็นแหล่งของยาจากธรรมชาติที่สำคัญ และมีฤทธิ์ทางชีวภาพ

*สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จ.นนทบุรี ๑๑๐๐๐

†คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จ.พิษณุโลก ๖๕๐๐๐

ที่น่าสนใจมากมาย ในปัจจุบันมีหลายรายงานการวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase^{๒-๔} ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase^{๕-๗} ในขณะที่ฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลจากสมุนไพรไทยยังมีการศึกษาไม่มากนัก^๘ ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล (cholesterol uptake inhibition) เข้าสู่เซลล์ Caco-2 ของสารสกัดสมุนไพรไทย เพื่อส่งเสริมศักยภาพของสมุนไพรไทยให้เป็นทางเลือกในการรักษาหรือป้องกันการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูงต่อไปในอนาคต

ระเบียบวิธีศึกษา

สมุนไพร

เก็บตัวอย่างสมุนไพร จำนวน ๑๑ ชนิด ได้แก่ ใบบัวหลวง ใบชะมวง ใบตะลิงปลิง ผลตะลิงปลิง ใบมะรุ้ม ใบยอ ใบฝรั่ง เหง้าข่า ส่วนใต้ดินปัญญาจันทร์ ใบมะกรูด และใบย่านาง

นำสมุนไพร ยกเว้นใบมะกรูด และผลตะลิงปลิง ล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ ๔๕-๕๐ °ซ จากนั้นนำมาบดเป็นผงละเอียด

ส่วนใบมะกรูดและผลตะลิงปลิง เมื่อล้างให้สะอาดแล้วนำไปเตรียมสารสกัดสมุนไพรโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการทำให้แห้ง

วิธีการศึกษา

๑. การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

๑.๑ การสกัดสารจากสมุนไพร ในการวิจัยนี้มีวิธีการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร ๕ วิธี คือ

๑.๑.๑ การหมัก สำหรับเตรียมสารสกัดเอทานอลจากใบมะกรูดสด

๑.๑.๒ การสกัดแบบต่อเนื่อง โดยใช้ soxhlet apparatus สำหรับเตรียมสารสกัดเอทานอล จากใบบัวหลวง ใบชะมวง ใบตะลิงปลิง ใบมะรุ้ม ใบยอ ใบฝรั่ง ปัญญาจันทร์ และใบย่านาง

๑.๑.๓ การต้มสกัดด้วยน้ำ (reflux) สำหรับเตรียมสารสกัดน้ำจากใบตะลิงปลิงและใบมะรุ้ม

๑.๑.๔ การสกัดด้วยวิธี supercritical fluid extraction (SFE) โดยไม่ใช้ตัวทำละลายใด ๆ ช่วยในการสกัด

สำหรับเตรียมสารสกัดจากเหง้าข่า

๑.๑.๕ การคั้นน้ำ สำหรับเตรียมสารสกัดจากผลตะลิงปลิงสด

๑.๒ การทำแห้งสารสกัด สารสกัดเอทานอลจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ทำแห้งโดยวิธีระเหยภายใต้สุญญากาศด้วยเครื่อง Eyela NE rotary evaporator สารสกัดน้ำทำแห้งโดยวิธี freeze dry ส่วนสารสกัดที่ได้จากวิธี SFE ไม่ต้องผ่านกระบวนการทำให้แห้งข้างต้น

๑.๓ การเตรียมสารสกัดเพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล สารสกัดสมุนไพรที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ ต้องเตรียมให้อยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนกับ polyvinylpyrrolidone (PVP) 40,000 (Fluka, United State) โดยสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดจะมีอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่แตกต่างกัน

๒. การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ Caco-2

ใช้วิธี MTT assay เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อ cell viability ของเซลล์ Caco-2^๙

๒.๑ การเพาะเลี้ยงเซลล์ Caco-2

เลี้ยงเซลล์ Caco-2 ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM/F12 ที่มีส่วนผสมของ ๑๐% FBS และ ๑% penicillin-streptomycin บ่มใน incubator ที่อุณหภูมิ ๓๗ °ซ และ CO₂ ๕% เมื่อเซลล์ Caco-2 เจริญเติบโตทั่วจานเลี้ยง ทำการ subculture ทุก ๓-๔ วัน โดย detach เซลล์ด้วย ๐.๒๕% trypsin ใน Ca²⁺-, Mg²⁺-free phosphate buffer (PBS) ที่มี EDTA ๐.๒ ก./ล. เป็นส่วนประกอบ

๒.๒ Cell viability test (MTT assay)

เลี้ยงเซลล์ Caco-2 ใน ๙๖ well plate ที่ความหนาแน่น ๑๐,๐๐๐ cells/well โดยทำการเพาะเลี้ยงใน CO₂ incubator เป็นเวลา ๑ วัน จากนั้นนำเซลล์ Caco-2 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีและไม่มีสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมอยู่ เป็นเวลา ๑ วัน โดยในช่วงเวลาที่ ๒๒ เติมสารละลาย ๐.๕% MTT ๑๐ มคล. ลงไปใน medium และเมื่อครบ ๒๔ ชั่วโมง ดูอาหารเลี้ยงเซลล์ออกให้หมด แล้วเติมสารละลาย DMSO-EtOH (๑:๑ v/v) ปริมาตร ๒๐๐ µl/well บ่มไว้ที่อุณหภูมิ ๓๗ °ซ เป็นเวลา ๑๐ นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๕๕๕ นาโนเมตร

๓. การยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลของสารสกัด

สมุนไพร

ทำการวัดการดูดซึมคอเลสเตอรอลโดยประเมินระดับของคอเลสเตอรอลที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสีที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ใช้ ezetimibe เป็น positive control

๓.๑ การเตรียม cholesterol micelles

โดยเตรียม ๒ mM taurocholate, ๕๐ μM phosphatidylcholine, ๑ μM cholesterol และ ๑ μCi/ml [1,2-³H] cholesterol มาละลายใน chloroform แล้วนำมาผสมกันในหลอดแก้ว จากนั้น นำไประเหยภายใต้แก๊สไนโตรเจน และ

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -๒๐ °ซ จนกว่าจะนำมาใช้ในการทดสอบ เมื่อนำมาใช้ให้ละลายใน DMEM/F12 และ sonicate แล้วนำไปกรองผ่าน ๐.๒ μm filter membrane

๓.๒ การนำเข้าสู่คอเลสเตอรอล (cholesterol uptake)

ในเซลล์ Caco-2

เลี้ยงเซลล์ Caco-2 ใน ๒๔ well plate โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก ๒-๓ วัน เมื่อเซลล์มีอายุ ๒-๓ สัปดาห์ เซลล์ Caco-2 จะเกิดการ differentiation เป็น monolayer ซึ่งเลียนแบบเซลล์ที่ผนังลำไส้เล็ก เมื่อจะวัดการดูดซึมคอเล-

ตารางที่ ๑ การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

ลำดับที่	รหัสสาร	ชื่อวิทยาศาสตร์/วงศ์ ^๑	ชื่อไทย	ส่วนที่ใช้	ชนิดสารสกัด	วิธีการสกัด	สารสกัด : PVP
๑	NN	<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. วงศ์ Nelumbonaceae	บัวหลวง	ใบ	เอทานอล	Soxhlet extraction	๑:๔
๒	GC	<i>Garcinia cowa</i> Roxb. ex DC. วงศ์ Clusiaceae	ชะมวง	ใบ	เอทานอล	Soxhlet extraction	๑:๔
๓	ABL-1	<i>Averrhoa bilimbi</i> L. วงศ์ Oxalidaceae	ตะลิงปลิง	ใบ	เอทานอล	Soxhlet extraction	๑:๔
๔	ABL-2	<i>Averrhoa bilimbi</i> L. วงศ์ Oxalidaceae	ตะลิงปลิง	ใบ	น้ำ	reflux	-
๕	ABF	<i>Averrhoa bilimbi</i> L. วงศ์ Oxalidaceae	ตะลิงปลิง	ผล	น้ำ	คั้นน้ำ	-
๖	MO-1	<i>Moringa oleifera</i> Lamk. วงศ์ Moringaceae	มะรุม	ใบ	เอทานอล	Soxhlet extraction	๑:๔
๗	MO-2	<i>Moringa oleifera</i> Lamk. วงศ์ Moringaceae	มะรุม	ใบ	น้ำ	reflux	-
๘	MC	<i>Morinda citrifolia</i> L. วงศ์ Rubiaceae	ยอ	ใบ	เอทานอล	Soxhlet extraction	๑:๔
๙	PG	<i>Psidium guajava</i> L. วงศ์ Myrtaceae	ฝรั่ง	ใบ	เอทานอล	Soxhlet extraction	๑:๓
๑๐	AG	<i>Alpinia galanga</i> Sw. วงศ์ Zingiberaceae	ข่า	เหง้า	-	SFE	๑:๔
๑๑	GP	<i>Gynostemma pentaphyllum</i> Maniko. วงศ์ Cucurbitaceae	ปัญญาจันทร์	ส่วนใต้ดิน	เอทานอล	Soxhlet extraction	๑:๔
๑๒	CH	<i>Citrus hystrix</i> DC. วงศ์ Rutaceae	มะกรูด	ใบ	เอทานอล	หมัก	๑:๔
๑๓	TT-1	<i>Tiliacora triandra</i> Diels. วงศ์ Menispermaceae	ย่านาง	ใบ	เอทานอล	Soxhlet extraction	๑:๔
๑๔	TT-2	<i>Tiliacora triandra</i> Diels. วงศ์ Menispermaceae	ย่านาง	ใบ	น้ำ	reflux	-

เตอรอล (cholesterol uptake) ให้เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นชนิด serum free-medium ที่มี $[1,2-^3\text{H}]$ cholesterol micelles และสารสกัดสมุนไพรเป็นส่วนประกอบ นำไปบ่มใน CO_2 incubator เป็นเวลา ๓ ชั่วโมง จากนั้น ดูอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ทำการล้างเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์เย็น (ice-cold medium) แล้วทำให้เซลล์แตกด้วย ๐.๑ M NaOH และ ๑ g/L SDS แล้วนำไปวัดความเข้มข้นของโปรตีนด้วย BCA protein assay kit (Pierce) และวัดค่า radioactivity โดยใช้ ezetimibe เป็น positive control

ผลการศึกษา

๑. การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

เตรียมสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดให้อยู่ในรูปที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล ดังแสดงใน ตารางที่ ๑

๒. ความเป็นพิษต่อเซลล์ Caco-2

การศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลจำเป็นต้องทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพรในรูปของ PVP 40,000 complex ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2 เพื่อหาความเข้มข้นที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์และใช้ในการทดสอบต่อ ๆ ไป สารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดจะถูกนำมาทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อย่างน้อย ๓ ความเข้มข้น โดยความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดสอบไม่เกิน ๑,๐๐๐ มกค./มล. รายงานผลเป็นค่า % cell viability เมื่อเทียบกับ control ซึ่งก็คือไม่มีการให้ treatment ใด ๆ (คิดเป็น ๑๐๐% cell viability) ผลการทดลองดังแสดงใน ตารางที่ ๒ จากผลการทดลองของสารสกัดทั้ง ๑๔ ชนิด พบว่า สารสกัดส่วนใหญ่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์และไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2 โดยสารสกัดสมุนไพร ลำดับที่ ๑-๙ (ตารางที่ ๒) ที่ความเข้มข้น ๑,๐๐๐ มกค./มล. ให้ค่า cell viability มากกว่า ๘๐% ส่วนสารสกัด GC และ ABF มีผลต่อเซลล์มากกว่า ๙ ชนิดแรก โดยให้ค่า cell viability มากกว่า ๘๐% ที่ความเข้มข้น ๑๐๐ มกค./มล. ส่วนสารสกัด CH, AG และ PG มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2 มาก โดย CH ให้ค่า cell viability มากกว่า ๘๐% ที่ความเข้มข้น ๕๐ มกค./มล. ส่วนสารสกัด AG และ PG ให้ค่า cell viability มากกว่า ๘๐% ที่ความเข้มข้นต่ำที่ ๕ มกค./มล.

ตารางที่ ๒ ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2

ลำดับที่	สารสกัด	ความเข้มข้นของสารสกัด (มกค./มล.)	Cell viability (% of control)
๑	NN	๑,๐๐๐	๘๙.๕๐
๒	ABL-1	๑,๐๐๐	๑๑๒.๙๗
๓	ABL-2	๑,๐๐๐	๑๐๕.๐๙
๔	MC	๑,๐๐๐	๑๐๐.๑๑
๕	PG	๑,๐๐๐	๘๖.๓๖
๖	MO-1	๑,๐๐๐	๘๗.๒๖
๗	MO-2	๑,๐๐๐	๘๐.๒๒
๘	TT-1	๑,๐๐๐	๑๐๕.๓๔
๙	TT-2	๑,๐๐๐	๑๐๒.๔๗
๑๐	GC	๑๐๐	๘๔.๑๑
๑๑	ABF	๑๐๐	๙๑.๒๓
๑๒	CH	๕๐	๙๔.๓๘
๑๓	AG	๕	๘๘.๖๕
๑๔	GP	๕	๘๑.๔๒

๓. ฤทธิ์ของสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการนำเข้าสู่คอเลสเตอรอล

การศึกษาผลการดูดซึมคอเลสเตอรอล ทำโดยการวัดระดับคอเลสเตอรอลที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสีที่ผ่านเข้าไปในเซลล์ลำไส้เพาะเลี้ยง Caco-2 ถ้าสารสกัดสมุนไพรชนิดใดส่งผลให้เกิดการนำคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ได้มาก แสดงว่า สมุนไพรนั้นมีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลต่ำ ดังผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ ๓ สำหรับสารสกัดสมุนไพรที่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2 ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ที่ความเข้มข้น ๑๐๐ มกค./มล. สารสกัดที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2 มาก ได้ทำการทดสอบที่ความเข้มข้นที่ให้ cell viability มากกว่า ๘๐% จากตารางที่ ๓ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกัน (๑๐๐ มกค./มล.) สารสกัดสมุนไพรทุกชนิดสามารถยับยั้งการนำเข้าสู่คอเลสเตอรอลได้ในระดับที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยมีค่าการนำเข้าสู่คอเลสเตอรอลประมาณ ๖๐-๗๐% เมื่อเทียบกับ control ซึ่งหมายถึงมีฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าสู่หรือการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ประมาณ ๓๐-๔๐% สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าสู่ของ

ตารางที่ ๓ ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการนำเข้าคอเลสเตรอล

ลำดับที่	สารสกัด	ความเข้มข้น (มคก./มล.)	การนำเข้าคอเลสเตรอล (% of control)
๑	PG	๑๐๐	๕๗.๒๔ ± ๑๐.๘๑
๒	ABL-2	๑๐๐	๖๓.๘๑ ± ๔.๕๕
๓	ABL-1	๑๐๐	๖๔.๕๕ ± ๗.๕๔
๔	NN	๑๐๐	๖๕.๙๒ ± ๖.๘๑
๕	ABF	๑๐๐	๗๑.๒๗ ± ๔.๑๓
๖	MO-1	๑๐๐	๗๑.๕๗ ± ๒.๑๖
		๕๐๐	๔๘.๖๔ ± ๒.๗๔
๗	MC	๑๐๐	๗๓.๒๘ ± ๑.๒๐
๘	TT-1	๑๐๐	๗๗.๙๕ ± ๗.๕๕
		๕๐๐	๖๒.๕๖ ± ๒.๒๘
๙	GC	๑๐๐	๘๕.๖๐ ± ๒.๘๗
๑๐	MO-2	๑๐๐	๙๓.๔๓ ± ๓.๘๕
		๕๐๐	๙๗.๘๑ ± ๑.๒๘
๑๑	TT-2	๑๐๐	๙๓.๗๘ ± ๓.๘๗
		๕๐๐	๘๘.๘๕ ± ๙.๕๙
๑๒	CH	๕๐	๘๖.๗๔ ± ๔.๗๔
๑๓	GP	๕	๙๑.๔๓ ± ๙.๓๘
๑๔	AG	๕	๙๓.๖๒ ± ๑.๖๖

คอเลสเตรอลได้ดีที่สุด คือ PG โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งประมาณ ๔๓% สารสกัดบางชนิดได้ทำการทดสอบที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ที่ ๕๐๐ มคก./มล. พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตรอลเพิ่มขึ้น เช่น MO-1 และ TT-1 สารสกัดสมุนไพรที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตรอลใน ความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ได้แก่ GC, MO-2, TT-2, CH, GP และ AG โดย ezetimibe ที่ความเข้มข้น ๒๐๐ ไมโครโมลาร์ สามารถยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตรอลได้ ๔๒%

วิจารณ์ผล

การวิจัยนี้ทำให้ทราบถึงผลของสารสกัดสมุนไพรไทยในการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ซึ่งพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ที่ดีในสภาวะที่ทำการทดสอบ อย่างไรก็ตาม ผลที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการทดสอบในหลอดทดลอง ซึ่งอาจเหมือนหรือแตกต่างจากฤทธิ์ที่เกิดขึ้นในร่างกายมนุษย์หรือสัตว์ได้ จึงยังไม่สามารถนำมา

ปรับขนาดสำหรับใช้ในมนุษย์หรือสัตว์ ดังนั้น ข้อมูลที่ได้รับจากการวิจัยนี้จึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาเชิงลึกต่อไป

สรุป

จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพร จำนวน ๑๔ ชนิด สารสกัดจากสมุนไพรจำนวน ๑๐ ชนิด ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนกับ PVP 40,000 ต่อการดูดซึมคอเลสเตรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นของสารสกัด ๑๐๐ มคก./มล. สารสกัดเอทานอลจากใบฝรั่ง (PG) มีฤทธิ์ดีที่สุดที่สามารถทำให้เกิดการนำคอเลสเตรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ได้ ๕๗.๒๔% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่า ให้ผลการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตรอล เท่ากับ ๔๓% สารสกัดจากใบตะลิงปลิงซึ่งสกัดด้วยน้ำและเอทานอล (ABL-1 และ ABL-2) และสารสกัดเอทานอลจากใบบัวหลวง (NN) ที่ความเข้มข้น ๑๐๐ มคก./มล. ส่งผลให้เกิดการนำคอเลสเตรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ได้ใกล้เคียงกัน คือ อยู่ระหว่าง ๖๓.๘๑-๖๕.๙๒% กล่าวคือ ให้ผลการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตรอลในช่วง ๓๔-๓๖% สารสกัดเอทานอลจากใบมะรุ้ม (MO-1) ใบยอ (MC) ใบย่านาง (TT-1) น้ำคั้นจากผลตะลิงปลิง (ABF) สามารถยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตรอล ระหว่าง ๒๐-๓๐% เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น ๕๐๐ มคก./มล. พบว่า สารสกัด MO-1 และ TT-1 มีฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 เพิ่มขึ้น ส่วนสารสกัดเอทานอลจากใบชะมวง (GC) ใบมะกรูด (CH) ส่วนไม้ไผ่ดินปัญญาจันทร์ (GP) สารสกัดน้ำจากใบมะรุ้ม (MO-2) ใบย่านาง (TT-2) และสารสกัดจากข่า ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตรอลในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ

ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

การวิจัยนี้ เป็นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตรอลในหลอดทดลอง (cell-based assay) สามารถนำข้อมูลเบื้องต้นที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกชนิดสารสกัดสมุนไพรและความเข้มข้นที่ใช้ เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตรอลในระดับที่สูงขึ้นต่อไป เช่น การศึกษาฤทธิ์ในสัตว์ทดลอง การศึกษาชนิดสารออกฤทธิ์ การพัฒนาผลิตภัณฑ์สู่การใช้ประโยชน์ของประชาชน เป็นต้น เป็นข้อมูล

ทางวิทยาศาสตร์เพื่อสนับสนุนการใช้ยาจากสมุนไพรไทยต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

แหล่งทุนสนับสนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552-2553.

เอกสารอ้างอิง

๑. Wang DQH. New concepts of mechanisms of intestinal cholesterol absorption. *Ann Hepatol* 2003;2:113-21.
๒. Zheng C-D, DuanY-Q, Gao J-M, Ruan Z-G. Screening for anti-lipase properties of 37 traditional Chinese medicinal herbs. *J Chin Med Assoc* 2010;73:319-24.
๓. Bhutani KK., Gohil VM. Natural products drug discovery research in India: status and appraisal. *Indian J Experimental Biol* 2010;48:199-207.
๔. Moreno DA, Ilic N, Poulev A, Brasaemle DL, Fried SK, Raskin I. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. *Nutrition* 2003;19:876-9.
๕. Peffley DM, Gayen AK. Plant-derived monoterpenes suppress hamster kidney cell 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase synthesis at the post-transcriptional level. *J Nutr* 2003;133:38-44.
๖. Fuhrman B, Elis A, Aviram M. Hypocholesterolemic effect of lycopene and (-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biomed Biophys Res Commun* 1997;233:658-62.
๗. Tuansulong KA, Hutadilok-Towatana N, Mahabusarakam W, Pinkaew D, Fujise K. Morelloflavone from *Garcinia dulcis* as a novel biflavonoid inhibitor of HMG CoA reductase. *Phytother Res* 2011;25(3):424-8.
๘. Kirana C, Rogers PF, Bennett LE, Abeywardena MY, Patten GS. Naturally derived micelles for rapid in vitro screening of potential cholesterol-lowering bioactives. *J. Agric Food Chem* 2005;53:4623-7.
๙. Plumb JA, Milroy A, Kaye SB. Effect of the pH dependence of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide-formazan absorption on chemosensitivity determined by a novel tetrazolium-based assay. *Cancer Res* 1989;49:4435-40.
๑๐. เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม. กรุงเทพฯ: บริษัท ประชาชน จำกัด; ๒๕๔๔.

Abstract

Screening of cholesterol uptake inhibitor from Thai medicinal plant extracts

Duangpen Pattamadilok* Somchit Niumsukul* Nanteetip Limpeanchob†, Kornkanok Ingkaninan†, Prapai Wongsinkongman*

*Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000.

†Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok 65000.

The aim of this investigation is to screen Thai medicinal plant extracts for cholesterol uptake inhibitory activity, a new therapeutic target in treatment of hyperlipidemia. The effects of 14 plant extracts on cholesterol uptake inhibition was performed by determination the level of incorporated labelled cholesterol into Caco-2 cells. Ezetimibe was used as positive control. At the concentration of 100 µg/ml, the ethanol extract of *Psidium guajava* (PG) leaves showed the strongest activity at 43% cholesterol uptake inhibition. Water extract and ethanol extract of *Averrhoa bilimbi* leaves (ABL-1 and ABL-2) and ethanol extract of *Nelumbo nucifera* (NN) leaves displayed the inhibition between 34-36%. Ethanol extract from leaves of *Moringa oleifera* (MO-1), *Morinda citrifolia* (MC), *Tiliacora triandra* (TT-1) and water extract from fruits of *A. bilimbi* (ABF) exhibited the cholesterol uptake inhibition between 20-30%. At the concentration of 500 µg/ml, cholesterol uptake inhibitory effect of MO-1 and TT-1 were increased to 51% and 37%, respectively. The ethanol extract from leaves of *Garcinia cowa* (GC), *Citrus hystrix* (CH), underground part of *Gynostemma pentaphyllum* (GP), water extract from leaves of *M. oleifera* (MO-2), *T. triandra* (TT-2) and SFE extract of *Alpinia galanga* (AG) showed no inhibitory activity. The result of this investigation led to further isolation of cholesterol uptake inhibitor from potential Thai medicinal plants.

Key words: cholesterol uptake inhibition, Thai medicinal plants