วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine
ปีที่ ๘ ฉบับที่ ๒-๓ พฤษภาคม-ธันวาคม ๒๕๕๓ Vol. 8 Nos. 2-3 May-December 2010

นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเอนไซม์ pancreatic lipase และ HMG-CoA reductase

สมจิตร์ เนียมสกุล*
ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก*
นันทีทิพ ลิ้มเพียรชอบ†
กรกนก อิงคนินันท์†
ประไพ วงศ์สินคงมั่น*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อคัดกรองสมุนไพรที่อาจมีศักยภาพในการลดระดับไขมันในเลือด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรในหลอดทดลอง ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ๒ ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ pancreatic lipase ที่ทำหน้าที่ในการย่อยไขมัน และเอนไซม์ HMG-CoA reductase ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบของสมุนไพรไทย จำนวน ๕ ชนิด ได้แก่ ใบบัวหลวง ใบฝรั่ง ใบย่านาง ใบมะรุม ใบตะลิงปลิง เหง้าข่า ใบชะมวง ใบยอ และส่วนใต้ดินปัญจขันธ์ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ในความแรงที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถเปรียบเทียบด้วยค่า 50% inhibitory concentration (IC_{50}) โดยใช้ orlistat เป็นสารควบคุมบวก (positive control) จากนั้น สารสกัดหยาบถูกนำมาสกัดแยกส่วนต่อให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยใช้เทคนิคการพาทิชันและคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งเมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวมาทดสอบฤทธิ์ พบว่าส่วนสกัดแยกส่วนของสารสกัดเอทานอลของบัวหลวง (Nn-E3) มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ ๓๖.๘๐ มคก./มล. ส่วนการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ของสารสกัดหยาบและส่วนสกัดที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ขึ้นจากสารสกัดสมุนไพรไทย จำนวน ๕ ชนิด ได้แก่ ใบบัวหลวง ใบฝรั่ง ใบชะมวง ใบยอ และใบตะลิงปลิง โดยใช้ pravastatin เป็นสารควบคุมบวก พบว่าส่วนสกัดแยกส่วนของสารสกัดเอทานอลของชะมวง (GC2) และส่วนสกัดแยกส่วนของสารสกัดเอทานอลของบัวหลวง (Nn-E4) มีฤทธิ์ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ได้อย่างสมบูรณ์ (๑๐๐%) ที่ความเข้มข้น ๑๐ มคก./มล. ผลจากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง ๒ ชนิดนี้ มีประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อคัดกรองสมุนไพรที่อาจมีศักยภาพในการใช้ลดระดับไขมันในเลือด โดยอาจนำไปศึกษาวิจัยต่อในการแยกหาสารออกฤทธิ์ และอาจนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะไขมันสูงต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : **ลดไขมัน, สมุนไพร**

ภูมิหลังและเหตุผล

จากการศึกษาข้อมูลทางวิทยาศาสตร์และการแพทย์พื้นบ้านของสมุนไพรของสารสกัดจากสมุนไพร พบว่ามีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการลดไขมัน ได้แก่ พืชที่มีสารกลุ่มแซโพนิน[๑] เช่น ปัญจขันธ์ (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) วงศ์ Cucurbitaceae สารกลุ่มเฟลโวนอยด์[๒] เช่น ยอ (*Morinda citrifolia* L.) วงศ์ Rubiaceae พืชที่มีสารกลุ่มแอลคาลอยด์[๒,๓] เช่น ย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels) วงศ์ Menispermaceae

* *สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี ๑๑๐๐๐*
** *คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก ๖๕๐๐๐*

เป็นต้น โรคไขมันในเลือดสูง (hyperlipidemia) หรือโรคไขมันในเลือดผิดปกติ (dyslipidemia) เป็นภาวะที่ร่างกายมีระดับไขมันในเลือดสูงผิดปกติ ไขมันในเลือดที่สำคัญ ๒ ชนิดที่เป็นปัญหามากที่สุดของภาวะไขมันในเลือดสูง คือ คอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์[๔,๕]

ยาที่มีฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดมีหลายกลุ่ม แต่กลุ่มที่ได้รับความนิยมและมีการใช้มากที่สุดคือ ยากลุ่ม statins ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) ซึ่งพบว่ามีผลข้างเคียงต่อการทำงานของตับและกล้ามเนื้อ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง HMG-CoA reductase โดยการใช้สมุนไพรอาจส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงดังกล่าวน้อยกว่ายาแผนปัจจุบัน นอกจากนี้ ยังทำการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้ง pancreatic lipase มีหน้าที่ในการย่อยไขมัน ซึ่งปัจจุบันยาที่ใช้ในการยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ ได้แก่ orlistat แม้ว่าจะเป็นยาที่ไม่ได้ใช้รักษาภาวะไขมันในเลือดสูง แต่การยับยั้งการย่อยไขมันจากทางเดินอาหารอาจมีบทบาทต่อการดูดซึมไขมันได้ ดังนั้นหากสมุนไพรมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ดีกว่าหรือเทียบเท่ายาแผนปัจจุบัน จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดกรองสมุนไพรที่มีศักยภาพเพื่อศึกษาวิจัยต่อเพื่อแยกหาสารออกฤทธิ์หรือวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ลดไขมันในสัตว์ทดลอง การศึกษาทางพิษวิทยา และการวิจัยทางคลินิก ซึ่งอาจพัฒนาต่อจนเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะไขมันสูงได้ต่อไปในอนาคต

วัสดุและวิธีการ

สารเคมี

๑. Anisaldehyde-Sulfuric Acid TS, เตรียมตาม Thai Pharmacopoeia เล่มที่ ๑ ส่วนที่ ๒, ๒๕๓๖, หน้า ๑๕๑๑.

๒. Phosphomolybdic Acid TS, เตรียมตาม Thai Pharmacopoeia เล่มที่ ๑ ส่วนที่ ๒, ๒๕๓๖, หน้า ๑๕๑๔.

๓. แผ่นเคลือบซิลิกาเจล GF254 ขนาด ๒๐ × ๒๐ เซนติเมตร และหนา ๐.๒๕ มิลลิเมตร

๔. 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate)

๕. HMG-CoA reductase Assay kit (Sigma)

๖. ตัวทำละลายทุกชนิด รวมทั้งกรดกำมะถันเข้มข้นและกรดเกลือเข้มข้น ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นชนิดที่ใช้กับงานวิเคราะห์ และน้ำบริสุทธิ์ที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำที่ได้จากการกรองเอาอนุภาคที่มีประจุออก

ระเบียบวิธีศึกษา

๑. การเตรียมวัตถุดิบสมุนไพร ได้แก่

นำสมุนไพร จำนวน ๙ ชนิด มาล้างด้วยน้ำให้สะอาด ยกเว้นมะรุม หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และอบให้แห้งด้วยเตาอบร้อนไฟฟ้า จากนั้นนำไปบดละเอียดผ่านแร่ง

๒. การเตรียมสารสกัดสมุนไพร ได้แก่

๒.๑ สารสกัดบัวหลวง

นำผงใบบัวหลวงน้ำหนัก ๑.๒๕ กิโลกรัม มาสกัดด้วย ๙๕% เอทานอล ด้วยวิธี soxhlet extraction จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ได้สารสกัดเอทานอล (Nn-Ec) น้ำหนัก ๓๒๗.๐๗ กรัม (คิดเป็น% yield เท่ากับ ๒๖.๑๖ เมื่อเทียบกับน้ำหนักใบบัวหลวงแห้ง) นำสารสกัดเอทานอล น้ำหนัก ๑๐๐ กรัม มาทำ column chromatography ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับและชะด้วยส่วนผสมของ hexane กับ ethyl acetate โดยแยกได้ ๔ ส่วน ดังนี้ Fr.1, Fr.2, Fr.3 และ Fr.4 นำสารสกัดแต่ละส่วนที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้สารสกัด Nn-E1, Nn-E2, Nn-E3 และ Nn- E4 น้ำหนัก ๓.๒๙๖๑, ๑๐.๓๙๕๒, ๒๙.๐๙๓๐ และ ๔๕.๖๖๕๘ กรัม (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๓.๒๙, ๑๐.๓๙, ๒๙.๐๙ และ ๔๕.๖๖ เมื่อเทียบกับน้ำหนักสารสกัดเอทานอล)

๒.๒ สารสกัดฝรั่ง

นำผงใบฝรั่งมาสกัดด้วย ๙๕% เอทานอล ด้วยวิธี soxhlet extraction จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้สารสกัดเอทานอล (PG-Ec) น้ำหนัก ๓๔.๗๘ กรัม (คิดเป็น% yield เท่ากับ ๒๓.๑๘ เมื่อเทียบกับน้ำหนักใบฝรั่งแห้ง) นำสารสกัด PG-Ec น้ำหนัก ๓๓.๐ กรัม มาละลายด้วยเอทานอล จากนั้นทำการแยกส่วน (partition) ด้วย $CHCl_3$ นำสารสกัดแต่ละส่วนที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้สารสกัด PG-E1 และสารสกัดน้ำ PG-E2 น้ำหนัก ๒๙.๗๒ และ ๔.๑๒ กรัม ตามลำดับ (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๑๙.๘๑ และ ๒.๗๔ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำหนักใบฝรั่งแห้ง)

ตารางที่ ๑ แสดงการเตรียมสมุนไพร จำนวน ๙ ชนิด

ลำดับที่	สมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์	น้ำหนัก (สด) กิโลกรัม	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการอบ (ชั่วโมง)	น้ำหนัก (แห้ง) กิโลกรัม	คิดเป็นร้อยละของผลผลิต (% yield) เท่ากับเมื่อเทียบกับน้ำหนักสมุนไพรสด
๑	บัวหลวง	*Nelumbo nucifera* Gaertn.	Nelumbonaceae[๗]	๗.๐	๔๕-๕๐	๗๒	๑.๒๕	๑๗.๘
๒	ฝรั่ง	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae[๗]	๐.๓	๔๕-๕๐	๔๘	๐.๑๕	๕๐.๐
๓	ย่านาง	*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels	Menispermaceae[๗]	๒.๑	๔๕-๕๐	๗๒	๐.๔๖	๒๑.๙
๔	มะรุม	*Moringa oleifera* Lamk.	Moringaceae[๗]	-	-	-	๐.๑๐	-
๕	ตะลิงปลิง	*Averrhoa bilimbi* L.	Oxalidaceae[๗]	๒.๐	๔๕-๕๐	๔๘	๐.๓๑	๑๕.๕
๖	ข่า	*Alpinia galanga* (L) Willd.	Zingiberaceae[๗]	๔.๐	๔๕-๕๐	๗๒	๐.๔๓	๑๐.๗
๗	ชะมวง	*Garcinia cowa* Roxb. ex DC.	Clusiaceae[๗]	๑๐.๐	๔๕-๕๐	๔๘	๑.๙๐	๑๙.๐
๘	ยอ	*Morinda citrifolia* L.	Rubiaceae[๗]	๐.๙๐	๔๕-๕๐	๔๘	๐.๑๗	๑๘.๘
๙	ปัญจขันธ์	*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Maniko.	Cucurbitaceae[๘,๙]	๑๐.๐	๔๕-๕๐	๔๘	๑.๐๐	๑๐.๐

หมายเหตุ ๑. ส่วนที่ใช้ของสมุนไพรทั้ง ๙ ชนิดคือ ใบ ยกเว้น ข่า ใช้ส่วนเหง้า
๒. - หมายถึง เตรียมวัตถุดิบใบมะรุมแห้ง

๒.๓ สารสกัดย่านาง

นำผงใบย่านางที่บดละเอียดน้ำหนัก ๒๘๖ กรัม มาสกัดด้วย ๙๕% เอทานอล ด้วยวิธี soxhlet extraction จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ได้สารสกัดน้ำหนัก ๕๗.๙๕ กรัม (TT1) (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๒๑.๙ เมื่อเทียบกับน้ำหนักย่านางแห้ง)

นำผงใบย่านางที่บดละเอียดน้ำหนัก ๑๐๐ กรัม มาสกัดด้วยการรีฟลักซ์ จำนวน ๒ ครั้ง นำส่วนใสที่ได้จากการกรองไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ และทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer ได้น้ำหนักสารสกัด ๒๓.๕๕ กรัม (TTW) (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๒๓.๕๕ เมื่อเทียบกับน้ำหนักย่านางแห้ง)

๒.๔ สารสกัดมะรุม

สารสกัด MO-1

นำผงใบมะรุมแห้ง น้ำหนัก ๑๐๐ กรัม สกัดด้วย ๙๕% เอทานอลโดยวิธี soxhlet extraction นำสารสกัดที่ได้มาระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้สารสกัดเอทานอล (MO-1) น้ำหนัก ๓๒.๒๗ กรัม (คิดเป็น% yield เท่ากับ ๓๒.๒๗ เทียบน้ำหนักผงใบมะรุมแห้ง)

สารสกัด MO-2

นำผงใบมะรุมแห้ง น้ำหนัก ๑๐๐ กรัม สกัดด้วยน้ำโดยวิธีรีฟลักซ์ (reflux) กรองสารสกัดที่ได้ ระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศให้สารสกัดเข้มข้นขึ้น แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำความเย็นได้สารสกัดด้วยน้ำ (MO-2) น้ำหนัก ๓๘.๖๗ กรัม (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๓๘.๖๗ เมื่อเทียบกับน้ำหนักผงใบมะรุมแห้ง)

๒.๕ สารสกัดตะลิงปลิง

นำผงใบตะลิงปลิงแห้ง น้ำหนัก ๒๐๐ กรัม มาสกัดด้วยน้ำ โดยวิธีรีฟลักซ์ กรองสารสกัดที่ได้และระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศให้สารสกัดเข้มข้นขึ้น แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer ได้สารสกัดน้ำ (Ab-W) น้ำหนัก ๕๓.๓๕ กรัม (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๒๖.๖๘ เมื่อเทียบกับน้ำหนักใบตะลิงปลิงแห้ง)

นำผงใบตะลิงปลิงแห้งน้ำหนัก ๓๒๘ กรัม มาสกัดด้วย ๙๕% เอทานอล โดยวิธีการ soxhlet extraction จากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ ๔๐-๕๐ °ซ ได้สารสกัดเอทานอล (Ab-E) น้ำหนัก ๕๓.๓๕ กรัม (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๓๙.๔๔ เมื่อเทียบกับน้ำหนักใบตะลิงปลิงแห้ง)

นำสารสกัด Ab-E น้ำหนัก ๒๐ กรัม มาแยกโดย column chromatography โดยวัฏภาคคงที่ (stationary phase) คือ silica gel G60 ขนาด ๐.๐๔๐-๐.๐๖๓ มม. และวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ ส่วนผสมของ acetone กับ

ethyl acetate ได้สารสกัดแยกส่วน Ab-E1, Ab-E2, Ab-E3, Ab-E4, และ Ab-E5 น้ำหนัก ๔.๐๑๕๓, ๐.๙๓๘๕, ๐.๖๖๐๔, ๐.๕๓๓๖ และ ๑๐.๒๖๒๑ กรัม (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๒๐, ๔, ๓, ๒ และ ๕๑.๓๑ เมื่อเทียบกับน้ำหนักสารสกัดเอทานอล)

๒.๖ สารสกัดข่า ด้วยวิธี supercritical fluid extractor (SFE)

นำผงข่าแห้ง น้ำหนัก ๒๓๐ กรัม มาสกัดด้วยวิธีเครื่องสกัดสารแบบอัตโนมัติ โดยใช้ตัวทำละลายคือ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) สกัดเป็นเวลาประมาณ ๖ ชั่วโมง ที่ความดัน ๓๐๐ psi อุณหภูมิ ๔๕°ซ โดยใช้ระบบไดนามิค ได้สารสกัดน้ำหนัก ๑๒.๕ กรัม (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๕.๔๓ เมื่อเทียบกับน้ำหนักข่าแห้ง) จากนั้นเก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ ๒-๔°ซ ก่อนนำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพหรือเตรียมสารสกัดเพื่อการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase และ HMG-CoA reductase

วิธีการแยกสารบริสุทธิ์ข่า แสดงดังแผนภูมิที่ ๑

๒.๗ สารสกัดชะมวง

สกัดผงใบชะมวงด้วย ๙๕% เอทานอล ด้วยวิธี soxhlet extraction จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้สารสกัดเอทานอล (GC-1)

นำสารสกัดเอทานอล (GC-1) มาละลายด้วย ๖๐% เอทานอล จากนั้นแยกเป็นสารสกัดย่อยโดยการ partition ด้วย hexane, dichloromethane (CH_2Cl_2) และ n-butanol, (BuOH) ตามลำดับ นำสารสกัดแต่ละส่วน ที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้สารสกัด hexane (GC-2), สารสกัด CH_2Cl_2 (GC-3), สารสกัด BuOH (GC-4) และสารสกัดน้ำ (GC-5) น้ำหนัก ๖๙.๒๐, ๘๕.๖๗, ๑๙๖.๗๕ และ ๔๓.๐๙ กรัม ตามลำดับ (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๑๗.๕๓, ๒๑.๗๐, ๔๙.๘๕ และ ๑๐.๙๑ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำหนักสารสกัดเอทานอลและคิดเป็น %yield เท่ากับ ๓.๖๔, ๔.๕๑, ๑๐.๓๖ และ ๒.๒๗ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำหนักใบชะมวงแห้ง)

๒.๘ สารสกัดยอ

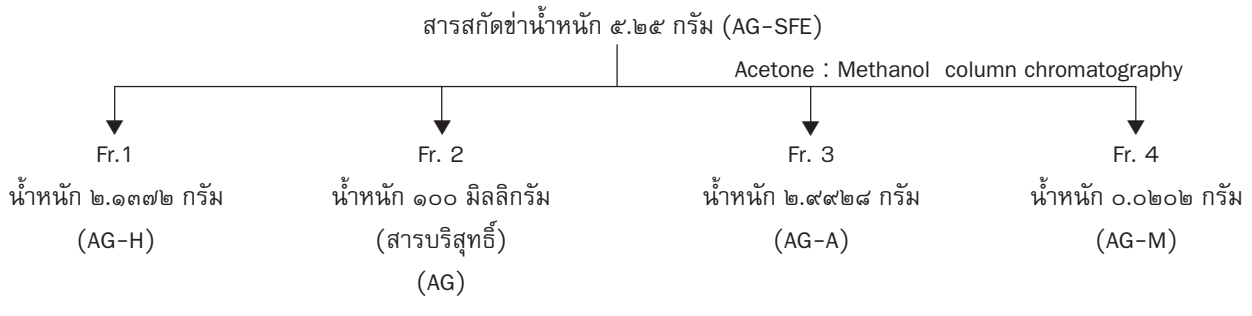
นำผงใบยอแห้งมาสกัดด้วย ๙๕% เอทานอล โดยวิธี soxhlet extraction นำสารสกัดที่ได้มาระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้สารสกัดเอทานอล (MC-EC) น้ำหนัก ๓๖.๘๕ กรัม (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๒๑.๖๘ เมื่อเทียบน้ำหนักใบยอแห้ง)

๒.๙ สารสกัดปัญจขันธ์

นำผงแห้งของส่วนใต้ดินปัญจขันธ์ น้ำหนัก ๒.๗ กิโลกรัม มาสกัดด้วย ๙๕% เอทานอล โดยวิธี soxhlet extraction จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ ๔๐-๔๕°ซ ได้สารสกัดเอทานอล (GP-E) น้ำหนัก ๑๕๐.๙๙ กรัม (คิดเป็น %yield เท่ากับ ๕.๕๙ เมื่อเทียบกับน้ำหนักปัญจขันธ์แห้ง)

๓. การเตรียมสารสกัดเพื่อการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase และเอนไซม์ HMG-CoA reductase

เตรียมสมุนไพร ๙ ชนิด ได้แก่ บัวหลวง ฝรั่ง ย่านาง มะรุม ตะลิงปลิง ข่า ชะมวง ปัญจขันธ์ และยอ (รวมเป็นสารสกัดจำนวน ๒๐ ตัวอย่าง) เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase และเตรียมสมุนไพร ๕ ชนิด ได้แก่ บัวหลวง ฝรั่ง ตะลิงปลิง ชะมวง และยอ (รวมเป็นสารสกัดจำนวน ๑๖ ตัวอย่าง) ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ โดย



แผนภูมิที่ ๑ การแยกสารบริสุทธิ์ข่า

ตารางที่ ๒ ชนิดของสารสกัดสมุนไพร ที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase (จำนวน ๒๐ ชนิด) และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase (จำนวน ๑๖ ชนิด)

ลำดับที่	รหัสตัวอย่าง	อัตราส่วนสารสกัด : PVP	ชนิดสารสกัด	ตัวทำละลายที่ใช้ในการทดสอบ	ปริมาณสารสกัด (%)
๑	Nn-Ec	๑ : ๔	ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๒	Nn-E1	๑ : ๔	hexane extract	น้ำ	๒๐%
๓	Nn-E2	๑ : ๔	hexane : ethyl acetate extract	น้ำ	๒๐%
๔	Nn-E3	๑ : ๔	ethyl acetate : ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๕	Nn-E4	๑ : ๓	ethyl acetate : methanol extract	น้ำ	๒๕%
๖	PG-Ec	๑ : ๓	ethanol extract	น้ำ	๒๕%
๗	PG-E1	๑ : ๓	chloroform extract	น้ำ	๒๕%
๘	PG-E2	๑ : ๔	ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๙	TT1	๑ : ๔	ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๑๐	TTW	-	water extract	น้ำ	๑๐๐%
๑๑	MO-1	๑ : ๔	ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๑๒	MO-2	-	water extract	น้ำ	๑๐๐%
๑๓	Ab-E1	๑ : ๙	acetone : ethyl acetate	น้ำ	๑๐%
๑๔	Ab-E2	๑ : ๙	acetone : ethyl acetate	น้ำ	๑๐%
๑๕	Ab-E3	๑ : ๙	acetone : ethyl acetate	น้ำ	๑๐%
๑๖	Ab-E4	๑ : ๙	acetone : ethyl acetate	น้ำ	๑๐%
๑๗	Ab-E5	๑ : ๔	acetone : ethyl acetate	น้ำ	๒๐%
๑๘	AG	-	acetone : methanol	DMSO	๙๙%
๑๙	AG-SFE	๑ : ๙	CO_2 extract	น้ำ	๑๐%
๒๐	GP-E	๑ : ๔	ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๒๑	GC1	๑ : ๔	ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๒๒	GC2	๑ : ๖	hexane extract	น้ำ	๑๔.๒๘%
๒๓	GC3	๑ : ๕	CH_2Cl_2 extract	น้ำ	๑๖.๖๖%
๒๔	GC4	๑ : ๒	BuOH extract	น้ำ	๓๓.๓๓%
๒๕	GC5	-	Water extract	น้ำ	๑๐๐%
๒๖	MC-EC	๑ : ๔	ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๒๗	PG-Ec	๑ : ๓	ethanol extract	น้ำ	๒๕%
๒๘	PG-E1	๑ : ๓	CHCl3 extract	น้ำ	๒๕%
๒๙	PG-E2	๑ : ๔	ethanol extract	น้ำ	๒๐%
๓๐	Ab-E	๑ : ๙	ethanol extract	น้ำ	๑๐%
๓๑	Ab-W	-	water extract	น้ำ	๑๐๐%

หมายเหตุ ๑. สารสกัด TTW, MO-2, GC5 และ Ab-W สามารถละลายน้ำได้จึงไม่ต้องเตรียมเป็น PVP complex
๒. สาร AG ละลายได้ดีใน DMSO
๓. สารสกัดลำดับที่ ๖-๒๐ ไม่ได้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase
๔. สารสกัดลำดับที่ ๒๑-๓๑ ไม่ได้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase

การเตรียมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารสกัดสมุนไพรและ polyvinylpyrrolidone 40000 (PVP complex) ส่วนสารสกัด AG ละลายใน ๑% DMSO โดยแสดงดังตารางที่ ๒

๔. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของสารสกัดตัวอย่าง

เตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นปิเปตสารสกัดมา ๒๕ ไมโครลิตร แล้วเติม buffer (Tris-HCl, NaCl, $CaCl_2$) ที่มีค่า pH 8.0 แล้วจึงใส่เอนไซม์ pancreatic lipase ลงไป ๒๕ ไมโครลิตร และขั้นตอนสุดท้ายจึงเติม 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate) ซึ่งเป็น substrate ลงไป ๑๐ ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่ ๒๕°ซ ประมาณ ๓๐ นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase โดยวิธี fluorometrically ที่ excitation ๓๖๐ นาโนเมตร และ emission ๔๓๕ นาโนเมตร ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้ orlistat เป็น positive control

๕. การวัดการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase

การทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase วัดโดยใช้ HMG-CoA reductase assay kit. HMG-CoA ใช้เป็นสารตั้งต้น ส่วนการลดลงของ NADPH ประเมินโดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๓๔๐ นม. และอุณหภูมิ ๓๗°ซ โดยวัดเป็น kinetic โดยการทดลองนี้ใช้ยา pravastatin เป็น positive control

ผลการทดลอง

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ในหลอดทดลอง (*in vitro* enzymatic assay) ของสารสกัดสมุนไพรจำนวน ๒๐ ชนิดสารสกัด โดยใช้ความเข้มข้นที่ต่าง ๆ กัน แล้วนำค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทำซ้ำ ๓ ครั้ง ในแต่ละความเข้มข้นมาคำนวนค่า IC_{50} จาก dose-response curve ของสารสกัดแต่ละชนิดโดยใช้ Prism program และใช้ orlistat เป็น positive control โดยใช้ 4-MU oleate เป็น substrate และผลที่ได้จากปฏิกิริยา คือ 4-methylumbelliferone ที่ปลดปล่อยออกมาโดยการวัดเป็นปริมาณ ค่า fluorescence

ผลการทดลอง แสดงในตารางที่ ๓ พบว่า Nn-E3 สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดที่ ๓๖.๘ มคก./มล. รองลงมาคือ MO-1, TT1, Nn-E1, Ab-E2, Ab-E1, PG-E1, Ab-E3, PG-Ec, Ab-E5, Nn-E4, Nn-Ec, TTW, Nn-E2, GP-E, PG-E2, MO-2 และ AG-SFE สารที่ไม่สามารถหาค่ามี ๒ ชนิด ได้แก่ Ab-E4 พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง pancreatic lipase ได้ต่ำมากต้องใช้สารในความเข้มข้นสูงมากกว่า ๒,๐๐๐ มคก./มล. ส่วนสารสกัด AGซึ่งมีปริมาณไม่เพียงพอในการเตรียมในความเข้มข้นที่สูงขึ้น แต่จากข้อมูลที่มีสามารถประมาณค่า IC_{50} ว่าอยู่ระหว่าง ๑๐๐-๒๐๐ มคก./มล.

ตารางที่ ๓ ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase

ลำดับที่	สารสกัด	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase {IC_{50} (มคก./มล.)}
๑	Nn-E3	๓๖.๘
๒	MO-1	๕๘.๓
๓	TT1	๑๒๓.๑
๔	Nn-E1	๑๓๑.๐
๕	Ab-E2	๑๓๘.๔
๖	Ab-E1	๑๕๔.๓
๗	AG	๑๐๐-๒๐๐*
๘	PG-E1	๒๐๘.๑
๙	Ab-E3	๒๓๑.๓
๑๐	PG-Ec	๒๔๑.๙
๑๑	Ab-E5	๓๕๑.๑
๑๒	Nn-E4	๓๘๐.๖
๑๓	Nn-Ec	๓๙๘.๓
๑๔	TTW	๔๐๔.๒
๑๕	Nn-E2	๕๑๑.๒
๑๖	GP-E	๖๑๘.๐
๑๗	PG-E2	๘๐๗.๘
๑๘	MO-2	๘๔๓.๗
๑๙	AG-SFE	๑๐๒๙.๐
๒๐	Ab-E4	> ๒,๐๐๐.๐

หมายเหตุ ๑. * เป็นค่า IC_{50} โดยประมาณ เนื่องจากสารมีปริมาณไม่เพียงพอจึงไม่สามารถเพิ่มความเข้มข้นได้อีก
๒. ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Mean ± SEM) จาก ๓ การทดสอบโดยแต่ละครั้งทำซ้ำ ๓ ครั้ง
๓. สารสกัด AG ละลายใน DMSO สารสกัดอื่นๆ ละลายในน้ำ
๔. Positive control คือ ๐.๐๒๕ mM Orlistat

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ของสารสกัดสมุนไพรจำนวน ๑๖ ชนิดสารสกัดในหลอดทดลอง โดยใช้ enzyme assay kit ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ ๔ พบว่า สารสกัดแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น ๑๐ มคก./มล. สามารถยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase ได้แตกต่างกัน โดย Nn-E4 และ GC2 มีฤทธิ์ดีที่สุดโดยสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้สมบูรณ์ (๑๐๐%) สารสกัด GC1 และ MC-EC ก็มีฤทธิ์ดีเช่นกัน แต่สารสกัด Nn-E1, PG-Ec, PG-E1, Ab-E และAb-W ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ที่ความเข้มข้นนี้

วิจารณ์

จากการเตรียมสารสกัดสมุนไพรเพื่อทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase จำนวน ๙ ชนิด ๒๐ สารสกัด ให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ โดยการเตรียมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารสกัดสมุนไพร และ PVP complex แล้วนำมาทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase จากผลการทดสอบในหลอดทดลองนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดกรองสารสกัดสมุนไพรในการศึกษาวิจัยต่อไป และเลือกใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองระดับที่สูงขึ้นต่อไป อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์ที่ได้จากผลการทดลองในหลอดทดลองอาจเหมือนหรือแตกต่างจากฤทธิ์ที่เกิดขึ้นในร่างกายได้ โดยการทดลองนี้ใช้ orlistat เป็น positive control ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase และมีผลในการยับยั้งการย่อยไขมันและส่งผลให้ลดการดูดซึมไขมันจากทางเดินอาหาร จึงเพิ่มการขับไขมันออกมาทางอุจจาระ ดังนั้น สารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวอาจมีผลลดการดูดซึมไขมันจากทางเดินอาหารเช่นเดียวกับ orlistat ได้

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดสมุนไพรทุกชนิด มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ในความแรงที่แตกต่างกัน และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ขึ้นกับความเข้มข้นที่ใช้ (dose-dependent manner) ซึ่งความแรง (potency) สามารถเปรียบเทียบกันได้ด้วยค่า IC_{50} (ตารางที่ ๓)

ตารางที่ ๔ ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ที่ความเข้มข้น ๑๐ มคก./มล.

ลำดับที่	สมุนไพร	สารสกัด	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ที่ความเข้มข้น ๑๐ มคก./มล. (%)*
๑	บัวหลวง	Nn-Ec	๔๐.๒๒
๒		Nn-E1	-๒๓.๕๗ ± ๙.๑๙
๓		Nn-E2	๖๕.๕๗ ± ๑๒.๓๖
๔		Nn-E3	๖๕.๘๗ ± ๙.๗๔
๕		Nn-E4	๑๐๐.๒๙ ± ๖.๙๖
๖	ชะมวง	GC1	๙๗.๐๖ ± ๙.๓๑
๗		GC2	๑๑๔.๓๔ ± ๒๔.๔๓
๘		GC3	๘๐.๕๕ ± ๑๖.๖๕
๙		GC4	๘๐.๒๗ ± ๔๐.๖๓
๑๐		GC5	๕๖.๑๘ ± ๑๑.๖๔
๑๑	ยอ	MC-EC	๙๘.๐๒ ± ๑๓.๑๑
๑๒	ฝรั่ง	PG-Ec	๓.๓๖ ± ๑.๗๕
๑๓		PG-E1	-๒๗.๕๗ ± ๕.๓๔
๑๔		PG-E2	๑๒.๕๓
๑๕	ตะลิงปลิง	Ab-E	-๑๗.๙๐ ± ๑๐.๑๙
๑๖		Ab-W	-๖๘.๗๕

*ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Mean ± SEM) จากผลการทดสอบอย่างน้อย ๓ ครั้ง

โดยส่วนสกัดของสารสกัดใบบัวหลวง (Nn-E3) มีฤทธิ์ดีที่สุด และจากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีของสารสกัดใบบัวหลวง เมื่อทดสอบด้วยแผ่นแมกนีเซียม และกรดเกลือเข้มข้น[๑๐] พบว่าสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเขียวอมน้ำตาลแดง ดังนั้นสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์pancreatic lipase ได้ดี คือ สารกลุ่มเฟลโวนอยด์[๑๑] จากผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase จำนวน ๑๖ สารสกัด พบว่า ส่วนสกัดของสารสกัดใบบัวหลวง (Nn-E4) และชะมวง (GC2) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์นี้ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำ

จากผลการทดลองทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากสมุนไพรมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพได้ โดยฤทธิ์ในการยับยั้งการย่อยไขมันนั้น อาจจะมีประโยชน์สำหรับผู้ที่มีความเสี่ยงต่อภาวะไขมันในเลือดสูงหรือผู้ที่นิยมรับประทานอาหารไขมันสูง โดยสมุนไพรดังกล่าวอาจช่วยยับยั้งการย่อยไขมันจากอาหารและในที่สุดจะลดการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ นอกจากนี้ สมุนไพรอาจออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลที่ตับได้เช่นเดียวกับยากลุ่ม statins และคาดว่าจะมีผลข้างเคียงที่ต่ำกว่า เนื่องจากผลการศึกษานี้เป็นผลการทดลองในหลอดทดลองไม่สามารถตอบได้ถึงผลโดยรวมที่อาจเกิดขึ้นจากการได้รับสารที่ทดสอบนั้นเข้าสู่ร่างกายของสัตว์ทดลอง เนื่องจากการทำงานของร่างกายไม่ได้เป็นการทำงานของระบบอวัยวะอย่างใดอย่างหนึ่งแต่เป็นผลจากการทำงานร่วมกันของระบบอวัยวะหลาย ระบบจึงมีความสลับซับซ้อนมากกว่า ดังนั้นไม่สามารถบอกได้ว่าในขนาดในหลอดทดลองปริมาณเท่าไรที่สามารถนำมาปรับใช้ในสัตว์หรือคนได้ จำเป็นต้องมีการทดสอบในร่างกายของสัตว์ทดลองก่อนที่จะนำไปทดสอบในคนเสมอ โดยการศึกษาวิจัยฤทธิ์ลดไขมันในสัตว์ทดลอง การศึกษาด้านพิษวิทยา และการวิจัยทางคลินิกก็อาจต้องดำเนินการต่อไป นอกจากนี้ การศึกษาวิจัยในด้านการแยกสารและพิสูจน์สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญ รวมทั้งการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์ดังกล่าว ก็อาจต้องดำเนินการต่อไปในอนาคตเพื่อประโยชน์ต่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพ

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดสมุนไพรทุกชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase และ HMG-CoA reductase ในหลอดทดลองได้ในความแรงที่แตกต่างกัน และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวขึ้นกับความเข้มข้น ซึ่งการทดสอบนี้เป็นการทดสอบในหลอดทดลองอาจเหมือนหรือแตกต่างจากฤทธิ์ที่เกิดขึ้นในร่างกายได้ โดยผลที่ได้จากการทดลองนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกสารสกัดและความเข้มข้นของสมุนไพรที่มีศักยภาพที่จะใช้ในการทดลองระดับที่สูงขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

๑. สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. สมุนไพรน่ารู้ (๒) ปัญจขันธ์. นนทบุรี: โรงพิมพ์การศาสนา; ๒๕๔๘.

๒. นันทวัน บุญยะประภัศร อรนุช โชคชัยเจริญพร. ๒๕๓๔. สมุนไพร...ไม้พื้นบ้าน พิมพ์ครั้งที่ ๑. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ; ๒๕๓๔. หน้า ๑-๕ และ ๙-๑๑.

๓. Dechatiwongse T, Chavalittumrong P, Nutakul W. Isolation of the In vitro antimalarial principles from Tiliacora triandra diels. Bull Dept Med Sci 1987;29:33-38.

๔. Bhutani KK, Gohil VM. Natural products drug discovery research in India: status and appraisal. 2010;48:199-207.

๕. Nabekura T, Yamaki T, Ueno K, Kitagawa S. Effect of plant sterols on human multidrug transportors ABCB1 and ABCC1. Biochem Biophys Res Commun 2008;369:363-8.

๖. Moreno DA, Ilic N, Poulev A, Brasaemle DL, Fried SK, Raskin I. inhibitory effects of grape seed extract on lipases. Nutrition 2003;19 (10):876-9.

๗. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. เต็ม สมิตินันทน์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. ๒๕๔๔. กรุงเทพมหานคร: ประชาชน; ๒๕๔๔. หน้า ๓๗๔, ๔๓๕, ๕๒๗, ๓๖๖, ๖๒, ๒๖, ๒๔๗, และ ๓๖๕.

๘. Backer CA, Bakhuizen van den Brick RC. Cucurbitaceae. Flora of Java. 1963;1:292-306.

๙. Ohwi J. Cucurbitaceae. Flora of Japan. 1965;1:846-8.

๑๐. วันดี กฤษณพันธ์. พฤกษเคมีเบื้องต้น. ใน: วีณา จิรัจฉริยากูล, บรรณาธิการ. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ. พิมพ์ครั้งที่ ๑. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; ๒๕๓๔. หน้า ๔๓.

๑๑. รัตนา อินทรานุปกรณ์. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: บริษัท แอคทีฟ พริ้นท์ จำกัด; ๒๕๔๗.

Abstract

Effects of Medicinal Plant Extracts on Pancreatic Lipase and HMG-CoA reductase

Somchit Niumsakul*, Duangpen Pattamadilok*, 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 present study was conducted to screen the potential lipid-lowering effect of medicinal plants. The aim of this research was to perform *in vitro* assay to determine the inhibitory activity of plant extracts on two enzymes of pancreatic lipase and HMG-CoA reductase that are important for lipid digestion and cholesterol synthesis, respectively. The pancreatic lipase inhibitory activities were tested with nine Thai medicinal plants, namely *Nelumbo nucifera* Gaertn. leaves, *Psidium guajava* L. leaves, *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels leaves, *Moringa oleifera* Lamk. leaves, *Averrhoa bilimbi* L. leaves, *Garcinia cowa* Roxb. ex DC. leaves, *Morinda citrifolia* L. leaves, and *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. roots, and *Alpinia galanga* (L) Willd rhizomes. The results showed that each crude extract demonstrated different potency inhibitory activities against pancreatic lipase represented by 50 percent inhibitory concentration (IC_{50}). Then, these crude extracts were further purified using partition and column chromatography techniques. It was found that the partial purified portion of the ethanolic extract of lotus leaves, *N. nucifera* Gaertn. (Nn-E3), showed the best activity against the pancreatic lipase enzyme with IC_{50} at 36.80 μg/ml. Orlistat was used as a positive control as a pancreatic lipase inhibitor. Crude and partial purified extracts from five Thai medicinal plants, namely *N. nucifera* leaves, *G. cowa* leaves, *M. citrifolia* leaves, *P. guajava* leaves, and *A. bilimbi* leaves, showed inhibitory activity against HMG-CoA reductase where pravastatin was used as a positive control. Among these extracts, the most potent ones were the partial purified portion of the ethanolic extract of *G. cowa* leaves (GC2) and the partial purified portion of the ethanolic extract of *N. nucifera* leaves (Nn-E4), which completely inhibited HMG-CoA reductase enzyme (100% inhibition) at 10 μg/ml concentration. The results of this study will be useful to further investigate and identify the active compounds from the potential herbs. Development of herbal products for treatment of patients with hyperlipidemia may be possible in the future.

Key words: **Lipid lowering, pancreatic lipase, HMG-CoA reductase**