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

นิพนธ์ต้นฉบับ

การคัดกรองสารยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลจากสารสกัดสมุนไพรไทย

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

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าวเป็นเป้าหมายหนึ่งในการรักษาภาวะไขมันในเลือดสูง จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล จำนวน ๑๔ ชนิดสารสกัด โดยประเมินระดับคอเลสเตอรอลที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสีที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ Caco-2 และใช้ ezetimibe เป็น positive control พบว่า ที่ความเข้มข้น ๑๐๐ มคก./มล. สารสกัดเอทานอลจากใบฝรั่ง (PG) มีฤทธิ์ดีที่สุด โดยยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ ๔๓% สารสกัดน้ำและเอทานอลจากใบตะลิงปลิง (ABL-1 และ ABL-2) และสารสกัดเอทานอลจากใบบัวหลวง (NN) ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ ๓๔-๓๖% สารสกัดเอทานอลจากใบมะรุม (MO-1) ใบยอ (MC) ใบย่านาง (TT-1) และน้ำคั้นจากผลตะลิงปลิง (ABF) ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ ๒๐-๓๐% นอกจากนี้ ที่ความเข้มข้น ๕๐๐ มคก./มล. สารสกัด MO-1 และ TT-1 สามารถยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นเป็น ๕๑% และ ๓๗% ตามลำดับ สารสกัดสมุนไพรที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตอรอลในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สารสกัดเอทานอลจากใบชะมวง (GC), ใบมะกรูด (CH), ส่วนใต้ดินปัญจขันธ์ (GP), สารสกัดน้ำจากใบมะรุม (MO-2), ใบย่านาง (TT-2) และสารสกัดข่า (AG) ผลการวิจัยนี้สามารถคัดเลือกสมุนไพรที่มีศักยภาพในการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลเพื่อศึกษาถึงสารออกฤทธิ์ต่อไปได้

คำสำคัญ : **การยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล, สมุนไพรไทย**

บทนำ

ภาวะไขมันในเลือดสูง เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) โรคหัวใจขาดเลือด (ischemic heart disease) โรคหลอดเลือดสมอง (cerebrovascular disease) เป็นต้น ยาแผนปัจจุบันที่ใช้ในการรักษาภาวะดังกล่าวมีหลายกลุ่มซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างกัน เช่น กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase เป็นต้น เป้าหมายใหม่ทางการรักษาภาวะไขมันในเลือดสูง คือ การยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลจากทางเดินอาหาร โดยปัจจุบันมียาเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่ออกฤทธิ์ด้วยกลไกดังกล่าว คือ ezetimibe[๑]

เนื่องจากสมุนไพรไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง เป็นแหล่งของยาจากธรรมชาติที่สำคัญ และมีฤทธิ์ทางชีวภาพ

*สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จ.นนทบุรี ๑๑๐๐๐
†คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร 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 ใบมะรุม ใบยอ ใบฝรั่ง เหง้าข่า ส่วนใต้ดินปัญจขันธ์ 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 ใบมะรุม ใบยอ ใบฝรั่ง ปัญจขันธ์ และใบย่านาง

๑.๑.๓ การต้มสกัดด้วยน้ำ (reflux) สำหรับเตรียมสารสกัดน้ำจากใบตะลิงปลิงและใบมะรุม

๑.๑.๔ การสกัดด้วยวิธี supercritical fluid extraction (SFE) โดยไม่ใช้ตัวทำละลายใด ๆ ช่วยในการสกัดสำหรับเตรียมสารสกัดจากเหง้าข่า

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) โดยสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดจะมีอัตราส่วนที่เหมาะในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่แตกต่างกัน

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 CO_2 ๕% เมื่อเซลล์ Caco-2 เจริญเติบโตทั่วจานเลี้ยง ทำการ subculture ทุก ๓-๔ วัน โดย detach เซลล์ด้วย ๐.๒๕% trypsin ใน Ca^{2+}-, Mg^{2+}-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 CO_2 incubator เป็นเวลา ๑ วัน จากนั้นนำเซลล์ Caco-2 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีและไม่มีสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมอยู่ เป็นเวลา ๑ วัน โดยในชั่วโมงที่ ๒๒ เติมสารละลาย ๐.๕% MTT ๑๐ มคล. ลงไปใน medium และเมื่อครบ ๒๔ ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกให้หมด แล้วเติมสารละลาย DMSO-EtOH (๑:๑% v/v) ปริมาตร ๒๐๐ μl/well บ่มไว้ที่อุณหภูมิ ๓๗ °ซ เป็นเวลา ๑๐ นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๕๙๕ 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-^{3}H] cholesterol มาละลายใน chloroform แล้วนำมาผสมกันในหลอดแก้ว จากนั้น นำไประเหยภายใต้แก๊สไนโตรเจน และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -๒๐ °ซ จนกว่าจะนำมาใช้ในการทดสอบ เมื่อจะนำมาใช้ให้ละลายใน DMEM/F12 และ sonicate แล้วนำไปกรองผ่าน ๐.๒ μm filter membrane

๓.๒ การนำเข้าคอเลสเตอรอล (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 เมื่อจะวัดการดูดซึมคอเลส-

ตารางที่ ๑ การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

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

เตอรอล (cholesterol uptake) ให้เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นชนิด serum free-medium ที่มี [1,2-^{3}H] cholesterol micelles และสารสกัดสมุนไพรเป็นส่วนประกอบ นำไปบ่มใน CO_2 incubator เป็นเวลา ๓ ชั่วโมง จากนั้น ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก 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 มคก./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 มคก./มล. ให้ค่า cell viability มากกว่า ๘๐% ส่วนสารสกัด GC และ ABF มีผลต่อเซลล์มากกว่า ๙ ชนิดแรก โดยให้ค่า cell viability มากกว่า ๘๐% ที่ความเข้มข้น ๑๐๐ มคก./มล. ส่วนสารสกัด CH, AG และ PG มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2 มาก โดย CH ให้ค่า cell viability มากกว่า ๘๐% ที่ความเข้มข้น ๕๐ มคก./มล. ส่วนสารสกัด AG และ PG ให้ค่า cell viability มากกว่า ๘๐% ที่ความเข้มข้นต่ำที่ ๕ มคก./มล.

ตารางที่ ๒ ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2

ลำดับที่	สารสกัด	ความเข้มข้นของสารสกัด (มคก./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. ฤทธิ์ของสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตอรอล

การศึกษาผลการดูดซึมคอเลสเตอรอล ทำโดยการวัดระดับคอเลสเตอรอลที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสีที่ผ่านเข้าไปในเซลล์ลำไส้เพาะเลี้ยง Caco-2 ถ้าสารสกัดสมุนไพรชนิดใดส่งผลให้เกิดการนำคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ได้มาก แสดงว่า สมุนไพรนั้นมีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลต่ำ ดังผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ ๓ สำหรับสารสกัดสมุนไพรที่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2 ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ที่ความเข้มข้น ๑๐๐ มคก./มล. สารสกัดที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ Caco-2 มาก ได้ทำการทดสอบที่ความเข้มข้นที่ให้ cell viability มากกว่า ๘๐% จากตารางที่ ๓ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกัน (๑๐๐ มคก./มล.) สารสกัดสมุนไพรทุกชนิดสามารถยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตอรอลได้ในระดับที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยมีค่าการนำเข้าคอเลสเตอรอลประมาณ ๖๐-๗๐% เมื่อเทียบกับ control ซึ่งหมายถึงมีฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าหรือการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ประมาณ ๓๐-๔๐% สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าของ

ตารางที่ ๓ ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการนำเข้าคอเลสเตอรอล

ลำดับที่	สารสกัด	ความเข้มข้น (มคก./มล.)	การนำเข้าคอเลสเตอรอล (% of control)
๑	PG	๑๐๐	๕๗.๒๔ ± ๑๐.๘๑
๒	ABL-2	๑๐๐	๖๓.๘๑ ± ๔.๔๕
๓	ABL-1	๑๐๐	๖๔.๔๕ ± 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	๘๘.๘๔ ± ๙.๕๙
๑๒	CH	๕๐	๘๖.๗๔ ± ๔.๗๔
๑๓	GP	๕	๙๑.๔๓ ± ๙.๓๘
๑๔	AG	๕	๙๓.๖๒ ± ๑.๖๖

คอเลสเตอรอลได้ดีที่สุด คือ PG โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งประมาณ ๔๓% สารสกัดบางชนิดได้ทำการทดสอบที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ที่ ๕๐๐ มคก./มล. พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น เช่น MO-1 และ TT-1 สารสกัดสมุนไพรที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตอรอลในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ได้แก่ GC, MO-2, TT-2, CH, GP และ AG โดย ezetimibe ที่ความเข้มข้น ๒๐๐ ไมโครโมลาร์ สามารถยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตอรอลได้ ๔๒%

วิจารณ์ผล

การวิจัยนี้ทำให้ทราบถึงผลของสารสกัดสมุนไพรไทยในการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ซึ่งพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ที่ดีในสภาวะที่ทำการทดสอบ อย่างไรก็ตาม ผลที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการทดสอบในหลอดทดลอง ซึ่งอาจเหมือนหรือแตกต่างจากฤทธิ์ที่เกิดขึ้นในร่างกายมนุษย์หรือสัตว์ได้ จึงยังไม่สามารถนำมาปรับขนาดสำหรับใช้ในมนุษย์หรือสัตว์ ดังนั้น ข้อมูลที่ได้รับจากการวิจัยนี้จึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาเชิงลึกต่อไป

สรุป

จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพร จำนวน ๑๔ ชนิด สารสกัดจากสมุนไพรจำนวน ๑๐ ชนิด ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนกับ PVP 40,000 ต่อการดูดซึมคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นของสารสกัด ๑๐๐ มคก./มล. สารสกัดเอทานอลจากใบฝรั่ง (PG) มีฤทธิ์ดีที่สุด สามารถทำให้เกิดการนำคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ได้ ๕๗.๒๔% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่า ให้ผลการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล เท่ากับ ๔๓% สารสกัดจากใบตะลิงปลิงซึ่งสกัดด้วยน้ำและเอทานอล (ABL-1 และ ABL-2) และสารสกัดเอทานอลจากใบบัวหลวง (NN) ที่ความเข้มข้น ๑๐๐ มคก./มล. ส่งผลให้เกิดการนำคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ได้ใกล้เคียงกัน คือ อยู่ระหว่าง ๖๓.๘๑-๖๕.๙๒% กล่าวคือ ให้ผลการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลในช่วง ๓๔-๓๖% สารสกัดเอทานอลจากใบมะรุม (MO-1) ใบยอ (MC) ใบย่านาง (TT-1) น้ำคั้นจากผลตะลิงปลิง (ABF) สามารถยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล ระหว่าง ๒๐-๓๐% เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น ๕๐๐ มคก./มล. พบว่า สารสกัด MO-1 และ TT-1 มีฤทธิ์ยับยั้งการนำเข้าคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 เพิ่มขึ้น ส่วนสารสกัดเอทานอลจากใบชะมวง (GC) ใบมะกรูด (CH) ส่วนใต้ดินปัญจขันธ์ (GP) สารสกัดน้ำจากใบมะรุม (MO-2) ใบย่านาง (TT-2) และสารสกัดจากข่า ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ

ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

การวิจัยนี้ เป็นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลในหลอดทดลอง (cell-based assay) สามารถนำข้อมูลเบื้องต้นที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกชนิดสารสกัดสมุนไพรและความเข้มข้นที่ใช้ เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลในระดับที่สูงขึ้นต่อไป 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 systhesis 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 determinated 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 Niumsakul* 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 was to screen Thai medicinal plant extracts for cholesterol uptake inhibitory activity, a new therapeutic target in the treatment of hyperlipidemia. The effects of 14 plant extracts on cholesterol uptake inhibition were observed by determining 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 percent 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 percent. 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 cholesterol uptake inhibition between 20 and 30 percent. At the concentration of 500 μg/ml, the cholesterol uptake inhibitory effect of MO-1 and TT-1 was increased to 51 and 37 percent, respectively. The ethanol extract from leaves of *Garcinia cowa* (GC), *Citrus hystrix* (CH), the 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 has led to further isolation of cholesterol uptake inhibitors from potential Thai medicinal plants.

Key words: **Cholesterol uptake inhibition, Thai medicinal plants**