ฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลของสารสกัดจากกล้วยสุกในเซลล์ Caco-2
Inhibitory Effect of Banana Extract on Cholesterol Absorption in Caco-2 Cells

อนันต์ อุ่นอรุณ[1]* อัจฉราภรณ์ ดวงใจ[2] และ นันทีทิพ ลิ้มเพียรชอบ[2]
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
Anan Ounaroon[1]*, Acharaporn Duangjai[2], and Nanteetip Limpeanchob[2]
[1]Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University
[2]Department of Pharmaceutical Practice, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกล้วยเปรียบเทียบกับตัวยาลดระดับไขมัน ezetimibe ต่อการดูดซึม cholesterol เลือกใช้กล้วย 3 ชนิดที่แตกต่างกัน คือ กล้วยไข่ กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า เพื่อนำมาเตรียมสารสกัดด้วยน้ำ ด้วย gastric juice และด้วย gastric juice กับ intestinal juice เติมสารสกัดกล้วยที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 µg/ml พร้อมด้วย cholesterol micelle บ่มร่วมกับเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 ผลของการนำ cholesterol micelle เข้าเซลล์ วัดได้จากปริมาณ [1α, 2α(n)-^{3}H] cholesterol ซึ่งเป็นสารกัมมันตรังสี ผลจากการศึกษาพบว่าสารสกัดกล้วยทุกชนิดที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml สามารถลดการดูดซึม cholesterol ของเซลล์ Caco-2 ได้

คำสำคัญ : กล้วย การดูดซึม cholesterol เซลล์ Caco-2

Abstract

The present study aimed to investigate the effects of banana extracts compared with lipid lowering drug, ezetimibe on cholesterol absorption. Three varieties of banana (*Musa sapientum* L.); Kluai khai, Kluai hom and Kluai namwa were used to prepare as water extract, gastric juice extract and gastric juice-intestinal juice extract. Together with cholesterol micelle, the banana extracts at concentration 100, 500 และ 1000 µg/ml were added to Caco-2 cell cultures. The cholesterol uptakes by Caco-2 cells were investigated by measuring the level of radioactive [1α, 2α(n)-^{3}H] cholesterol. The result showed that all banana extracts at concentration 1000 µg/ml can reduce the cholesterol uptake into Caco-2 cells.

Keywords : *Musa sapientum* L., cholesterol absorption, Caco-2 cells

***Corresponding author.** E-mail: ananounaroon@yahoo.com

บทนำ

ภาวะหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) เป็นสาเหตุสำคัญของการเป็นโรคหัวใจขาดเลือด (ischemic heart disease) และโรคหลอดเลือดในสมอง (cerebrovascular disease) ภาวะหลอดเลือดแข็งเกิดขึ้นเนื่องจากมีการคั่งของไขมันบริเวณผนังหลอดเลือด ไขมันที่คั่งส่วนใหญ่อยู่ในรูป cholesterol การลดระดับ cholesterol ในกระแสเลือดจึงเป็นเป้าหมายหนึ่งในการป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง ยาที่มีฤทธิ์ลดระดับ cholesterol มีอยู่หลายกลุ่ม ที่นิยมใช้กันมากคือยากลุ่ม statins ซึ่งออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งการสังเคราะห์ cholesterol ที่ตับ ยากลุ่มนี้เป็นยาที่มีประสิทธิภาพดีและค่อนข้างปลอดภัยในการใช้ อย่างไรก็ตาม การใช้ยากลุ่ม statins ในขนาดสูง อาจทำให้เกิดพิษต่อตับและเกิดอาการปวดกล้ามเนื้อ (Garg *et al*, 2007; Bhatnagar *et al*., 2008) นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยบางกลุ่มไม่ตอบสนองต่อการใช้ยาเพียงชนิดเดียว แม้จะให้ในขนาดสูงแล้วก็ตาม ทำให้ต้องใช้ยามากกว่าหนึ่งชนิด เรียกว่าการใช้ยาแบบ combination drug therapy เช่น การใช้ยากลุ่ม statins ร่วมกับยากลุ่มที่ออกฤทธิ์ลดการดูดซึม cholesterol ในทางเดินอาหาร ข้อดีของการใช้ยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่างกันร่วมกัน คือ การเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน ทำให้สามารถลดขนาดที่ต้องใช้และอาการอันไม่พึงประสงค์ของยาแต่ละชนิด (Garg *et al*., 2007; Pollex *et al*., 2008)

นอกเหนือจากการใช้ยาเพื่อลดระดับ cholesterol แล้ว การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมในการดำเนินชีวิต อันได้แก่ พฤติกรรมในการรับประทานอาหารและการออกกำลังกาย ก็เป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมระดับ cholesterol ในเลือด การรับประทานอาหารที่มีปริมาณ cholesterol, กรดไขมันอิ่มตัว และ trans-fat ต่ำ ร่วมกับอาหารที่มีปริมาณกากใย, plant sterols และ กรดไขมันโอเมก้า-3 (เช่น eicosapentaenoic acid และ docosahexaenoic acid) สูง มีผลในการช่วยลดระดับ cholesterol ในเลือด (Garg *et al*., 2007) ปัญหาคือ การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการบริโภคของมนุษย์ทำได้ไม่ง่ายนัก คนส่วนใหญ่ไม่สามารถควบคุมการรับประทานอาหารที่มีระดับ cholesterol ต่ำได้อย่างสม่ำเสมอและต่อเนื่องเป็นเวลานาน อีกทั้งข้อมูลเกี่ยวกับผลจากชนิดของอาหารที่มีต่อระดับ cholesterol ก็ยังไม่มีการศึกษาอย่างจริงจัง อาศัยเพียงการสันนิษฐานและประเมินจากภาพรวม โดยการวัดค่า cholesterol ในร่างกาย ณ จุดเวลาต่างๆ เท่านั้น

คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาผลของการรับประทานผลไม้ต่อระดับของ cholesterol โดยมีสมมุติฐานเบื้องต้นว่า ผักหรือผลไม้บางชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งหรือลดการดูดซึม cholesterol เมื่อรับประทานพร้อมกับอาหารไขมันสูง คณะผู้วิจัยเลือกกล้วยเป็นผลไม้ต้นแบบในการศึกษา เนื่องจากกล้วยเป็นผลไม้ที่คนไทยนิยมรับประทาน มีให้รับประทานตลอดปี และมีราคาไม่สูง กล้วยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* L. เป็นพืชในวงศ์ Musaceae ชื่อหลักคือ กล้วยน้ำว้า (Kluai namwa) ส่วนกล้วยไข่ (Kluai khai) และ กล้วยหอม (Kluai hom) แม้ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์เดียวกัน แต่มีความแตกต่างในเรื่องรูปร่างและรสชาติ ประโยชน์ของการรับประทานกล้วยคือ (1) การได้รับเส้นใยอาหาร ซึ่งช่วยดูดซับไขมัน และช่วยระบาย (2) การได้รับสารกลุ่มเบต้าแคโรทีน วิตามินอี และ วิตามินซี ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตัน และ (3) การได้รับแร่ธาตุที่จำเป็นต่อเมแทบอลิซึมของร่างกาย (Aurore, *et al*., 2009) นอกจากนี้ในกล้วยยังมีสารอินนูลิน (inulin) ซึ่งเมื่อถูกย่อยด้วย *Lactobacillus* ในลำไส้ใหญ่จะได้กรดแลกติก (lactic acid) กรดกลัยโคลิก (glycolic acid) และ กรดบิวทัยริก (butyric acid) ส่งผลให้ภายในลำไส้มีสภาวะเป็นกรด ไม่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการท้องร่วง (Pompei, *et al*., 2008) ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของกล้วยในการลดระดับ cholesterol พบเพียงงานวิจัยจากประเทศญี่ปุ่น รายงานว่ากล้วยสามารถลดระดับ cholesterol ในเลือดของหนูทดลอง โดยยังไม่มีการศึกษาลึกลงไปถึงกลไกการออกฤทธิ์ (Horigome *et al*., 1992)

คณะผู้วิจัยเลือกทดสอบสารสกัดจากกล้วยสุก ทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการย่อย เพื่อเลียนแบบสภาวะในร่างกาย โดยจำลองกระบวนการย่อยอาหารในห้องปฏิบัติการตามวิธีของ Cabañero และคณะ (2004) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปศึกษาผลต่อการดูดซึม cholesterol ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 ซึ่งเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงที่นิยมใช้เพื่อศึกษาการขนส่งสารหรือการดูดซึมสารในลำไส้เล็ก เนื่องจากเซลล์ Caco-2 มีต้นกำเนิดมาจาก human colon adenocarcinoma เมื่อเพาะเลี้ยงแล้วสามารถเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างและการทำงานเลียนแบบเซลล์ enterocyte ของลำไส้เล็ก (Sambuy *et al*., 2005) ข้อดีของการทดสอบด้วยเซลล์ Caco-2 คือสามารถใช้ทดสอบสารสกัดได้หลายชนิด ในเวลาอันรวดเร็ว และให้ผลที่เชื่อถือได้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดกล้วยสุก

1.1 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำของกล้วยสุก

ชั่งกล้วย แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 เท่า ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นนาน 10 วินาที กรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อแยกกากออก นำส่วนของเหลวที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งเยือกแข็ง (freeze-drying)

1.2 การเตรียมสารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice

ดัดแปลงมาจากวิธีของ Cabañero และคณะ (2004) ชั่งกล้วย แล้วเติม gastric juice (0.6% w/v pepsin, 0.15 M NaCl, 0.01 M HCl) ปริมาตร 2 เท่า ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นนาน 10 วินาที แล้วนำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4 ชั่วโมง เพื่อจำลองสภาวะการย่อยในกระเพาะอาหาร จากนั้นนำไปต้มที่ 100 °C นาน 10 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์ กรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำของเหลวที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งเยือกแข็ง

1.3 การเตรียมสารสกัดจากกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice

เตรียมตามขั้นตอนการเตรียมสารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice แต่หลังจากผ่านการบ่ม 4 ชั่วโมงแล้ว ให้นำสารผสมมาปรับ pH เป็น 6.8 แล้วเติม intestinal juice (1.5% w/v pancreatin, 0.15% w/v bile extract, 0.15 M NaCl) ในปริมาตรที่เท่ากับ gastric juice นำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4 ชั่วโมง เพื่อจำลองสภาวะการย่อยในลำไส้ จากนั้นนำไปต้มที่ 100 °C นาน 10 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์ กรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำของเหลวที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งเยือกแข็ง

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์ Caco-2

เลี้ยงเซลล์ Caco-2 จากบริษัท American Type Culture Collection (ATCC) ใน erlenmayer flask ขนาด 75 ml ใช้อาหาร DMEM/F12 (Sigma) ที่เติม 10% FBS (Gibco) และ 1% penicillin–streptomycin (Gibco) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO_2 จากนั้น subculture ทุก 3-4 วัน ลอกเซลล์จากภาชนะใช้ด้วย 0.25% Trypsin/EDTA (Gibco) เซลล์ที่ใช้เพื่อการทดสอบอยู่ใน passage ที่ 20-40

3. การทดสอบผลของสารสกัดจากกล้วยสุกชนิดต่างๆ ต่อการอยู่รอดของเซลล์

ทดสอบการอยู่รอดของเซลล์ (cell viability) ด้วยวิธี 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide assay (MTT assay) (Mosmann, 1983) โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ใน 96-well microplate จำนวน 10,000 cells/well เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นเลี้ยงด้วยอาหารที่เติมสารสกัดกล้วยสุกชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 μg/ml นาน 2 ชั่วโมง แล้วจึงเติมสารละลาย MTT (Amresco) ความเข้มข้น 5 mg/ml จำนวน 10 μl บ่มต่ออีก 2 ชั่วโมง นำอาหารเลี้ยงเซลล์ออก แล้วเติม DMSO:ethanol (1:1 v/v) 200 μl นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ด้วยเครื่อง microplate autoreader (Multimode detector DTX 880, Beckmann Coulter) แต่ละการทดสอบทำ 3 ซ้ำ

4. การเตรียม cholesterol micelles

ใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Yamanashi และคณะ (2007) โดยเตรียม stock solution ของ phosphatidylcholine (Sigma), cholesterol (Sigma) และ [1α,2α(n)-3H] cholesterol (GE Healthcare) ใน chloroform และ stock solution ของ sodium taurocholate (Sigma) ใน methanol นำมาผสมกันในหลอดแก้วให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการคือ ประกอบด้วย 4 mM sodium taurocholate, 100 μM phosphatidylcholine, 2 μM cholesterol และ 2 μCi/ml [1α,2α(n)-3H] cholesterol นำไปทำให้แห้งโดยการเป่าด้วยกาซไนโตรเจน จากนั้นนำไปละลายใน DMEM/F12 ที่ไม่มี FBS แล้ว sonicate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สุดท้ายทำให้ปราศจากเชื้อโดยกรองผ่าน membrane ที่มีรูขนาด 2 μm เก็บสารละลายที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

5. การทดสอบการยับยั้งการดูดซึม cholesterol ในเซลล์ลำไส้เพาะเลี้ยงของสารสกัดจากกล้วยสุกชนิดต่างๆ

เลี้ยงเซลล์ Caco-2 ใน 24-well microplate จำนวน 50,000 cells/well เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 2-3 วัน เป็นเวลา 14-21 วัน เพื่อให้เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่างและทำหน้าที่คล้าย enterocytes หลังจากนั้น เปลี่ยนไปใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผสมสารสกัดกล้วยสุกชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 μg/ml ส่วนกลุ่มควบคุมใช้ ezetimibe (Scherling-Plough) ที่ความเข้มข้น 100 μM บ่มไว้ที่ 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติม cholesterol micelles 100 μl (0.2 μCi) แล้วบ่มต่ออีก 3 ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์แช่เย็น 2 ครั้ง ทำให้เซลล์แตกด้วยสารละลาย Triton-X 100 (Thermo Scientific) ความเข้มข้น 0.1% v/v ที่เติม NaOH ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 0.2 N แบ่ง cell lysate เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้ BCA protein assay kit (Pierce) อีกส่วนหนึ่งเติม scintillation cocktail (MicroScint™-20; PerkinElmer) แล้วนำไปวัดค่า radioactivity ด้วยเครื่อง Packard β-counter (Topcount NXTTM) แต่ละการทดสอบทำ 3 ซ้ำ

ค่า cholesterol uptake และ % cholesterol uptake เทียบกับกลุ่มควบคุม คำนวณได้จากสมการที่ (1) และ (2) ดังนี้

$$\text{Cholesterol uptake} = \frac{\text{Radioactivity } (\mu Ci)}{\text{Protein amount } (\mu g)} \quad (1)$$

$$\%\ \text{Cholesterol uptake} = \frac{\text{Cholesterol uptake of sample}}{\text{Cholesterol uptake of control}} \times 100 \quad (2)$$

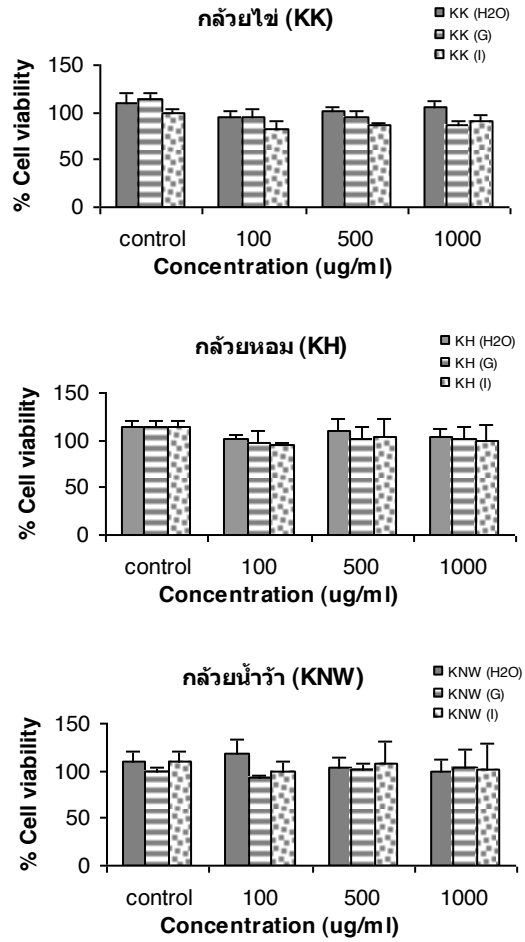
6. การเปรียบเทียบข้อมูลเชิงสถิติ

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทำโดยใช้ one-way ANOVA ตามด้วย post hoc multiple comparison tests (Tukey HSD หรือ Games-Howell test) โดยใช้ Levene's test for homogeneity of variances เป็นตัวกำหนด post hoc multiple comparison tests ที่ใช้ โดยใช้ Tukey HSD test ในกรณีที่ variances ไม่ต่างกัน และใช้ Games-Howell test ในกรณีที่ variances ต่างกัน เมื่อ $P < 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์ทางสถิติทำโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows (version 17.0: SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

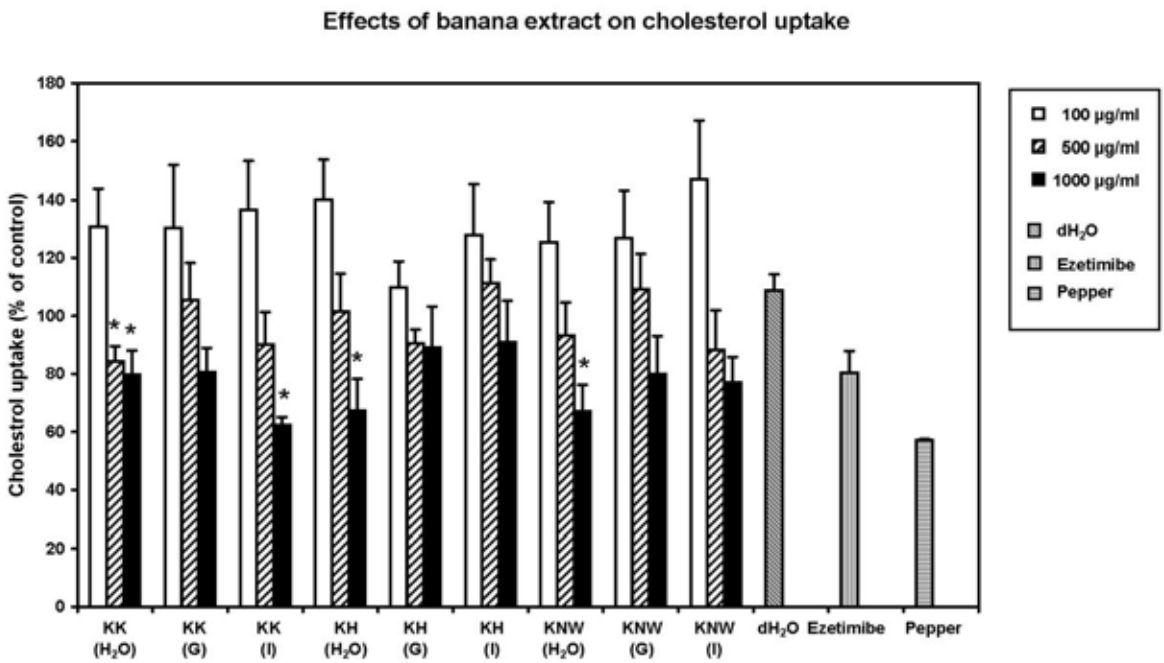
กล้วยสุก 3 ชนิด ได้แก่ กล้วยไข่ กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า ได้มาจากตลาดอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก จากการชั่งน้ำหนักกล้วย 10 ผล ได้ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของเนื้อกล้วยต่อผล เท่ากับ 39.49, 111.07 และ 60.65 กรัม ตามลำดับ และ %yield ของสารสกัดด้วยน้ำเท่ากับ 3.9, 4.1 และ 3.3 %w/w ตามลำดับ นำสารสกัดที่ได้มาทำ TLC fingerprint และ HPLC fingerprint เพื่อเก็บไว้เป็นข้อมูลพื้นฐาน (ข้อมูลไม่ได้แสดงไว้)

การทดสอบการอยู่รอดของเซลล์เป็นการทดสอบเพื่อดูผลของสารสกัดกล้วยสุกเมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 μg/ml ว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ Caco-2 หรือไม่ ผลการทดสอบ พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยสุก (H_2O) สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice (G) และ สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice (I) ของกล้วยไข่ (KK) กล้วยหอม (KH) และกล้วยน้ำว้า (KNW) ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยมีค่าร้อยละการอยู่รอดของเซลล์ Caco-2 อยู่ในช่วง 83.00-117.43% (ภาพที่ 1) แม้กล้วยจะเป็นอาหารและมีความปลอดภัยสูง แต่การทดสอบนี้ ทำขึ้นเพื่อให้แน่ใจว่าสภาวะแวดล้อมในการทดสอบนี้มีความเหมาะสมต่อการอยู่รอดของเซลล์ ก่อนทำการทดสอบขั้นต่อไป



ภาพที่ 1 ผลทดสอบการอยู่รอดของเซลล์ Caco-2 ที่เติมสารสกัดจากกล้วยสุก 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 μg/ml ลงในอาหารเพาะเลี้ยง โดย KK หมายถึง กล้วยไข่, KH หมายถึง กล้วยหอม, KNW หมายถึง กล้วยน้ำว้า, (H2O) หมายถึง สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยสุก, (G) หมายถึง สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice, (I) หมายถึง สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice, กราฟแต่ละแท่งแสดงค่า mean±SD

ผลจากการให้สารสกัดกล้วยที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 μg/ml ร่วมกับ cholesterol พบว่าการให้สารสกัดกล้วยที่ความเข้มข้น 100 μg/ml ยังไม่แสดงผลการยับยั้งการดูดซึม cholesterol เมื่อเพิ่มสารสกัดกล้วยสุกในปริมาณสูงขึ้น จึงเห็นแนวโน้มว่าเซลล์ Caco-2 ซึ่งเปลี่ยนแปลงเป็น enterocyte มีการดูดซึม cholesterol เข้าเซลล์ลดลง เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบด้วยวิธีการทางสถิติ จะเห็นว่าสารสกัดที่ให้ผลยับยั้งการดูดซึม



ภาพที่ 2 ผลการยับยั้งการดูดซึม cholesterol ในเซลล์ Caco-2 ของสารสกัดจากกล้วยสุกทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 µg/ml โดย KK หมายถึง กล้วยไข่, KH หมายถึง กล้วยหอม, KNW หมายถึง กล้วยน้ำว้า, (H_2O) หมายถึง สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยสุก, (G) หมายถึง สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice, (I) หมายถึง สารสกัดกล้วยสุกที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice, * $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากกล้วยสุกที่ความเข้มข้น 100 µg/ml สารเปรียบเทียบที่ให้ผลบวก คือ ยา ezetimibe และสารสกัดพริกไทย, กราฟแต่ละแท่งแสดงค่า mean±SD

cholesterol อย่างชัดเจน ได้แก่ สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยไข่ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 µg/ml, สารสกัดกล้วยไข่ที่ย่อยด้วย gastric juice และ intestinal juice ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml, สารสกัดด้วยน้ำของกล้วยหอมที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และสารสกัดด้วยน้ำของกล้วยน้ำว้าที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml

การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากกล้วยในงานวิจัยนี้ เลือกใช้ ezetimibe ที่ความเข้มข้น 100 µM เป็น positive control ซึ่ง ezetimibe นี้เป็นยาลดระดับไขมันในเลือดที่มีใช้อยู่ กลไกการออกฤทธิ์คือลดการดูดซึม cholesterol และอนุพันธ์ในกลุ่ม phytosterol นอกจากนี้ยังทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดจากกล้วยกับสารสกัดจากพริกไทยดำ เพื่อเป็นการเปรียบเทียบฤทธิ์ระหว่างสารสกัดจากธรรมชาติด้วยกันเอง สารสกัดพริกไทยดำที่ใช้เป็นสารสกัดด้วย 95% methanol ความเข้มข้นที่ใช้เท่ากับ 100 µg/ml เนื่องจากมีรายงานว่าสารสกัดพริกไทยดำที่ความเข้มข้นดังกล่าว มีฤทธิ์ลดการนำ cholesterol เข้าเซลล์ (Duangjai *et al*., 2011) พบว่าสารสกัดจากกล้วยมีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึม cholesterol ได้ดีเทียบเท่ากับ ezetimibe และสารสกัดพริกไทยดำ โดยภาพรวมดูเหมือนว่ากล้วยไข่จะมีผลลดการดูดซึม cholesterol ได้ดีกว่ากล้วยชนิดอื่น จึงมีความน่าสนใจที่จะทำการศึกษาในเชิงลึกเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดกล้วยต่อไป ส่วนวิธีการที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ถือว่าเป็นวิธีตรวจสอบเบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพ สามารถใช้ตรวจสอบสารสกัดได้หลายชนิด ในเวลาอันรวดเร็ว และให้ผลที่เชื่อถือได้ ผลจากงานวิจัยนี้ เป็นการสนับสนุนแนวคิดเรื่องการบริโภคผลไม้ไทย เพื่อประโยชน์ในการสร้างเสริมสุขภาพ

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดด้วยน้ำ ด้วย gastric juice และด้วย gastric juice กับ intestinal fluid ของกล้วยสุกทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กล้วยไข่ กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 µg/ml ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ลำไส้เพาะเลี้ยง Caco-2 และเมื่อให้ร่วมกับ cholesterol สามารถยับยั้งการดูดซึม cholesterol เข้าสู่เซลล์ Caco-2 ได้ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 µg/ml ผลจากงานวิจัยชี้ให้เห็นว่า การรับประทาน

กล้วยสุกพร้อมกับอาหารที่มีไขมันสูง สามารถช่วยลดการดูดซึม cholesterol เข้าสู่ร่างกายได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการ Thai Fruits-Functional Fruits ของ สกว. ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Aurore, G., Parfait, B., & Fahrasmane, L. (2009). Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Science & Technology, 20*, 78-91.

Bhatnagar, D., Soran, H., & Durrington, P.N. (2008). Hypercholesterolaemia and its management. *British Medical Journal, 337*, 503-508.

Cabañero, A.I., Madrid, Y., & Cámara, C. (2004). Selenium and mercury bioaccessibility in fish samples: an *in vitro* digestion method. *Analytica Chimica Acta, 526*(1), 51-61.

Duangjai, A., Ingkaninan, K., & Limpeanchob, N. (2011) Potential mechanisms of hypocholesterolaemic effect of Thai spices/dietary extracts. *Natural Product Research, 25*, 341-52.

Garg, A., & Simha, V. (2007). Update on dyslipidemia. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 92*(5), 1581-1589.

Horigome, T., Sakaguchi, E., & Kishimoto, C. (1992). Hypocholesterolaemic effect of banana (*Musa sapientum* L. var. *Cavendishii*) pulp in the rat fed on a cholesterol-containing diet. *British Journal of Nutrition, 68*(1), 231-244.

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods, 65*(1-2), 55-63.

Pollex, R.L., Joy, T.R., & Hegele, R.A. (2008). Emerging antidyslipidemic drugs. *Expert Opinion on Emerging Drugs, 13*(2), 363-381.

Pompei, A., Cordisco, L., & Raimondi, S. (2008). *In vitro* comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. *Anaerobe, 14*, 280-286.

Sambuy, Y., De Angelis, I., Ranaldi, G., Scarino, M.L., Stammati, A., & Zucco, F. (2005) The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. *Cell Biology and Toxicology, 21*(1), 1-26.

Yamanashi, Y., Takada, T., & Suzuki, H. (2007). Niemann-Pick C1-like 1 overexpression facilitates ezetimibe-sensitive cholesterol and beta-sitosterol uptake in CaCo-2 cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 320*(2), 559-564.