

ฮาว แวน ค็อง : การประเมินความเป็นพิษและฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดน้ำจากเปลือกต้นลูกน้ำนม (EVALUATION OF TOXICITY AND ANTIDIABETIC ACTIVITY OF THE AQUEOUS EXTRACT FROM *CHRYSOPHYLLUM CAINITO* L. STEM BARK.). อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.นวลน้อย จุฑะพงษ์, 116 หน้า

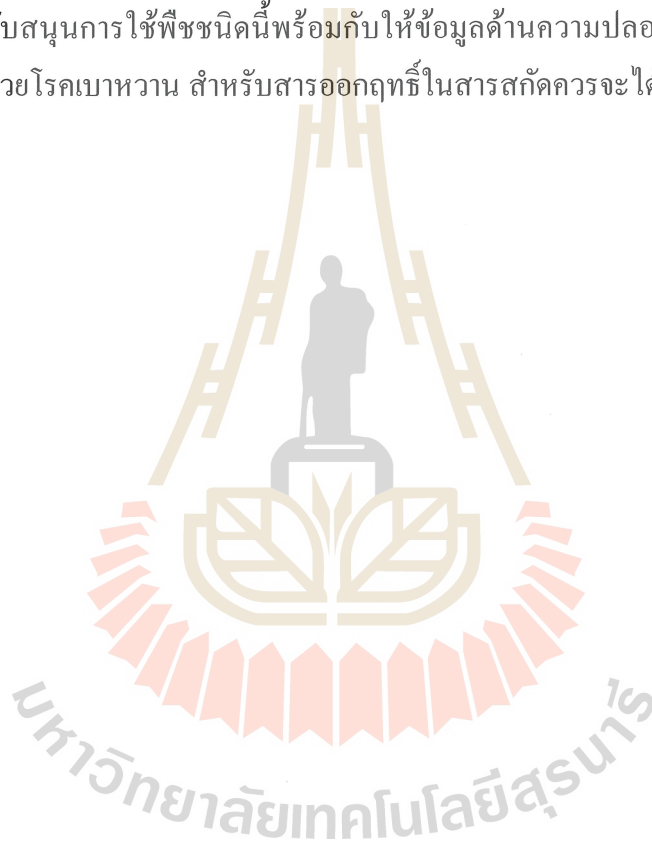
ต้นลูกน้ำนม (*Chrysophyllum cainito* L.) ถูกนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรเพื่อรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานในหลายประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศเวียดนาม อย่างไรก็ตามยังขาดหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนการใช้พืชดังกล่าว การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดน้ำจากเปลือกต้นลูกน้ำนมควบคู่ไปกับกลไกการออกฤทธิ์ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาพิษของสารสกัดอีกด้วย จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีที่ใช้ DPPH ABTS และ FRAP พบว่าสารสกัดจากเปลือกต้นน้ำนมมีฤทธิ์แรงในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับกรดแอสคอร์บิกและบิวทิลเลทไฮดรอกซีโทลูอิน จากนั้นจึงทำการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันในหนูขาว พบว่าไม่มีหนูขาวแสดงอาการพิษหรือตายจากการป้อนสารสกัดเป็นเวลา 14 วันแม้ในขนาดสูงสุดที่ 4000 มก./กก. สารสกัดจากเปลือกต้นลูกน้ำนมในขนาด 250 และ 500 มก./กก. สามารถลดพื้นที่ใต้กราฟของระดับน้ำตาลในเลือดจากการทดสอบความทนทานต่อน้ำตาลในหนูปกติได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ในการศึกษาด้วยโมเดลที่ใช้สาร alloxan ในการชักนำให้หนูเป็นเบาหวานพบว่า การป้อนสารสกัดเพียงครั้งเดียวในขนาด 250 และ 500 มก./กก. สามารถลดน้ำตาลในเลือดของหนูหลังอดอาหารได้อย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกับยา glibenclamide

จากนั้นได้ทำการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดในการลดน้ำตาลในเลือดแบบเฉียบพลัน พบว่า สารสกัดไม่สามารถยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสผ่านลำไส้เล็กส่วนกลางที่แยกจากร่างกายของหนูถีบจักรได้ อย่างไรก็ตามสารสกัดในขนาด 50 มก./มล. เพิ่มการนำกลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อหัวใจอย่างมีนัยสำคัญเมื่อให้ร่วมกับอินซูลิน ( $P < 0.05$ ) และพบว่าสารสกัดยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์  $\alpha$ -glucosidase ที่แรงกว่า acarbose เมื่อนำสารสกัดทดสอบเป็นระยะเวลานานขึ้นแบบ sub-chronic พบว่าทั้งสารสกัดและยา glibenclamide ไม่สามารถลดน้ำตาลในเลือดของหนูได้ ซึ่งคาดว่าระดับความรุนแรงของการเป็นเบาหวานของหนูในระยะหลังของการทดลองน่าจะสูงเกินกว่าประสิทธิภาพของยาที่จะให้ผลในการออกฤทธิ์



ในกรณีของการศึกษาพิษวิทยาในสัตว์ทดลอง ผู้วิจัยยังได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดต่อการพัฒนาการในปลาฆ่าตาย ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ตัวอ่อนตาย 50% คำนวณได้ที่  $25.75 \pm 1.51$  มก./มล. เมื่อทำการศึกษาความเป็นพิษในหลอดทดลองพบว่าสารสกัดทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ HepG2 ด้วยค่า  $IC_{50} = 121.75 \pm 7.98$  มก./มล. (โดยวิธี MTT) และ

169.38 ± 10.40 มก./มล. (โดยวิธี Trypan blue exclusive) สารสกัดทำให้เกิดการตายของเซลล์ เนื่องจากไปกระตุ้นกระบวนการแก่ ผลการทดลองจากการวิเคราะห์วัฏจักรของเซลล์แสดงให้เห็นว่าสารสกัดไปเพิ่มจำนวนเซลล์ที่อยู่ในระยะ sub-G1 ให้มากขึ้น สุดท้ายไม่พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ปกป้องการถูกทำลายภายใต้สภาวะความเครียดออกซิเดชันต่อเซลล์ HepG2

การศึกษานี้ เป็นการแสดงหลักฐานทางตรงต่อฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดน้ำจากเปลือกลำต้นลูกน้ำนมเป็นครั้งแรก พร้อมกับเสนอกลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้ของสารสกัดคือ การกระตุ้นการนำน้ำตาลกลูโคสเข้าเซลล์และการยับยั้งเอนไซม์  $\alpha$ -glucosidase ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สนับสนุนการใช้พืชชนิดนี้พร้อมกับให้ข้อมูลด้านความปลอดภัยและข้อควรระวังในการใช้รักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน สำหรับสารออกฤทธิ์ในสารสกัดควรจะได้มีการศึกษาต่อไป



สาขาวิชาปริคลินิก  
ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อนักศึกษา   
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

HAU VAN DOAN : EVALUATION OF TOXICITY AND ANTIDIABETIC  
ACTIVITY OF THE AQUEOUS EXTRACT FROM *CHRYSOPHYLLUM*  
*CAINITO* L. STEM BARK. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF.  
NUANNOI CHUDAPONGSE, Ph.D. 116 PP.

*CHRYSOPHYLLUM CAINITO*/ TOXICITY/ DIABETES/ ALLOXAN/ APOPTOSIS/  
GLUCOSE UPTAKE/  $\alpha$ -GLUCOSIDASE INHIBITION.

*Chrysophyllum cainito* L. has been used as an alternative medicine for the treatment of diabetic patients in many countries, especially in Vietnam. However, there is very limited scientific rationale for this medical use. The present study aimed to evaluate the antidiabetic activity of the extract from *C. cainito* stem bark (CE) and the possible mechanisms underlying this action. Furthermore, the toxicity of CE was also investigated. CE showed strong antioxidant activity comparable to the ascorbic acid and butylated hydroxytoluene in DPPH, ABTS, and FRAP assay. The acute toxicity study in rat showed no sign of toxicity or mortality after a single administration of CE up to 4000 mg/kg in 14 days of observation. The chosen doses of CE at 250 and 500 mg/kg significantly reduced the area under curve of blood glucose level in oral glucose tolerance test in normal mice ( $P < 0.05$ ). In alloxan-induced diabetic mice model, similar to glibenclamide, a single dose of both 250 and 500 mg/kg of CE significantly decreased fasting blood glucose level.

The mechanisms underlying the acute effect on blood glucose were evaluated. From the isolated rat jejunum experiment, the CE at any doses used did not inhibit glucose absorption. However, the CE at 50  $\mu$ g/ml significantly increased the amount of

glucose uptake by isolated abdominal muscles from mice in the presence of insulin ( $P < 0.05$ ). It was found that the CE produced stronger inhibition of  $\alpha$ -glucosidase activity than acarbose. The sub-chronic treatment of CE was examined and found that neither CE nor glibenclamide reduce blood glucose level after 21 days, possibly due to the high severity of the animal diabetic state.

In term of toxicology, *in vivo* study on development was also conducted in zebrafish models. It was demonstrated that the concentration that cause a half of embryos death was  $25.75 \pm 1.51 \mu\text{g/ml}$ . It was found from the *in vitro* cytotoxicity that CE significantly inhibited HepG2 cell growth with  $\text{IC}_{50} = 121.75 \pm 7.98 \mu\text{g/ml}$  (MTT assay) and  $\text{IC}_{50} = 169.38 \pm 10.40 \mu\text{g/ml}$  (Trypan blue exclusive assay). The action of CE that induced cells death was by triggering cell apoptotic program. Cell cycle analysis demonstrated that CE markedly increased the percentage of cells in sub-G1 phase. CE at non-toxic concentrations had no protective activity on oxidative stress-damaged HepG2 cells.

Direct evidence of antidiabetic activity of CE with possible modes of action, glucose uptake stimulation and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect was reported for the first time herein. These data support the potential use of this plant for the treatment of diabetic patients with safety and caution information.

School of Preclinic

Academic Year 2017

Student's Signature

Advisor's Signature

