



รายวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการ “การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดน้ำจากใบย่านางแดงในการยับยั้งเอมไซม์
แซนทีนออกซิเดสและฤทธิ์ลดระดับกรดยูริกในเลือดของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้
เกิดภาวะเกาต์โดยการให้สารออกโซเนท”

รหัสสัญญา กภท. 11/2559 ลงวันที่ 1 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2560

ผู้รับทุน มหาวิทยาลัยมหิดล

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ

ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย

บทคัดย่อ

จากคำบอกเล่าของผู้ป่วยโรคเกาต์ว่าการดื่มน้ำต้มใบย่านางแดง มีผลช่วยในการช่วยลดระดับกรดยูริกในเลือดอย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลและการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ยืนยันผลนี้ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดน้ำของใบย่านางแดง ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่สำคัญในการเปลี่ยนจากสารพิวรีนเป็นกรดยูริกในร่างกาย โดยทำการทดสอบทั้งในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลองซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะกรดยูริกในเลือดสูง โดยการฉีดสารโปแตสเซียมออกโซเนท และทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดลองในหลอดทดลองพบว่าสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยมีค่าความเข้มข้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสที่ 50% มีค่าเป็น 231 ไมโครกรัม / มล. และจากการวิเคราะห์หาจลนศาสตร์ของเอนไซม์โดยใช้ Lineweaver-Burk plot พบว่าสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสแบบไม่แข่งขัน โดยมีค่าคงที่การยับยั้งเอนไซม์มีค่าเป็น 177 ไมโครกรัม / มล. และผลการทดลองโดยการป้อนสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงในหนูเมซ ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะกรดยูริกในเลือดสูงโดยการฉีดสารโปแตสเซียมออกโซเนทขนาด 300 มก./กก. ติดต่อกันนาน 7 วัน พบว่าการป้อนด้วยสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงขนาด 100 และ 200 มก./กก. มีฤทธิ์ลดระดับกรดยูริกในเลือดหนูทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูทดลองกลุ่มที่ไม่ได้รับการป้อน ($p < 0.05$) นอกจากนี้หลังจากสิ้นสุดการทดลองนำตับของหนูทดลองแต่ละกลุ่มมาสกัดเป็นไมโครโซมและทดสอบฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในไมโครโซมนอกร่างกาย ผลการทดลองพบว่าหนูทดลองกลุ่มที่ได้รับการป้อนด้วยสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงขนาด 100 และ 200 มก./กก. มีประสิทธิภาพในการต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะยูริกในเลือดสูง คิดเป็นร้อยละ 56.9 และ 66.3 ตามลำดับ นอกจากนี้จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงมีปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ คิดเป็น 197.8 ± 5.8 มก. เมื่อเทียบกับประสิทธิภาพของกรดแกลิก/ กรัมของสารสกัด และ 32.2 ± 1.2 เมื่อเทียบกับประสิทธิภาพของกรดเคอร์ซีซิน/ กรัมของสารสกัดตามลำดับ และคำนวณความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ 50% มีค่าเป็น 44.32 ไมโครกรัม / มล. และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ประเมินโดยวิธีของ ABTS และ FRAP คำนวณได้เป็น 559.1 ± 23.8 มก. เมื่อเทียบกับประสิทธิภาพของสารมาตรฐานโทร็อก/ กรัมของสารสกัด และ 1.16 ± 0.07 มิลลิโมล เฟอร์รัสซัลเฟต / กรัมของสารสกัด ตามลำดับ

การทดลองนี้เป็นการทดลองแรกพบว่าสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงมีฤทธิ์ลดระดับกรดยูริกในเลือด โดยคาดว่าเกิดจากฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในตับ โดยมีกลไกในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบไม่แข่งขัน นอกจากนี้พบว่าสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย

คำสำคัญ: ใบย่านางแดง แซนทีนออกซิเดส ต้านอนุมูลอิสระ เกาต์

Abstract

There have been anecdotal reports from Thai hyperuricemic patients that the leaves of *Lysiphyllum strychnifolium* could reduce plasma uric acid level of gout. However, no research to support these effects has been conducted. The aims of this study were to evaluate hypouricemic effects of the water leaves extract of *L. strychnifolium*. The inhibitory effect on xanthine oxidase (XO) and its type of inhibition were examined *in vitro* and *in vivo* using potassium oxonate (PO)-induced hyperuricemic mice. Moreover, antioxidant activity of *L. strychnifolium* was also determined. *L. strychnifolium* exhibited a non-competitive inhibition on XO with IC_{50} and K_i of 231 $\mu\text{g/mL}$ and 177 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Administrations of *L. strychnifolium* (100 and 200 mg/kg) significantly lowered plasma uric concentration ($p < 0.05$) in PO-induced hyperuricemic mice and inhibited the hepatic XO activity about 56.9 and 66.3%, respectively, compared with control hyperuricemic mice ($p < 0.05$). Total phenolic and flavonoid contents were determined to be 197.8 ± 5.8 mg GAE/g extract and 32.2 ± 1.2 mg QE/g extract, respectively. The IC_{50} of the inhibition of DPPH radical was 44.32 $\mu\text{g/mL}$. Antioxidant activities assayed by ABTS and FRAP were 559.1 ± 23.8 mg TEAC/g extract and 1.16 ± 0.07 mmol FeSO_4/g extract, respectively.

The present study is the first to support anti-hyperuricemic by inhibiting XO and antioxidant effects of *L. strychnifolium*.

Keywords: *Lysiphyllum strychnifolium*, xanthine oxidase, antioxidant, gout