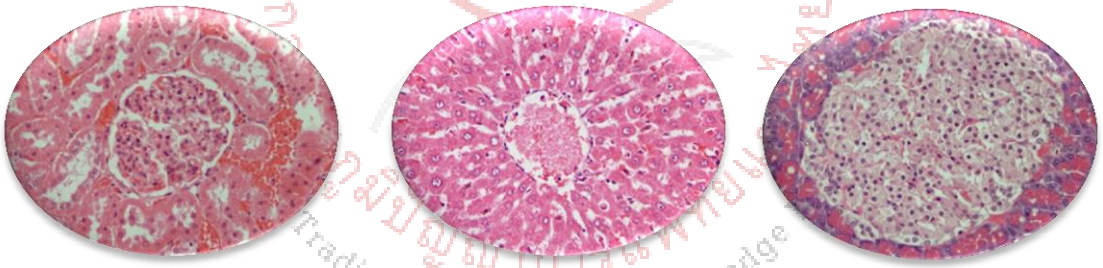
ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากครอบฟันสีและไมยราบ

Hypoglycemic Effect Mechanisms of Action of Extracts from *Abutilon indicum* (L.) Sweet and *Mimosa pudica* L.



ได้รับทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย
กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก
กระทรวงสาธารณสุข
พ.ศ. 2560

ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากครอบฟันสีและไมยราบ

Hypoglycemic Effect Mechanisms of Action of Extracts from *Abutilon indicum* (L.) Sweet and *Mimosa pudica* L.

อำภา	คนซื่อ
รศ.ดร.ชูศรี	ตลับมุข
จิราภรณ์	โสดาจันทร์
อารียา	สุฉันทบุตร
สิทธิชัย	วันแก้ว
ขวัญยืน	เลี่ยมสำโรง

กองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย
Thai Traditional Medical Knowledge Fund

ได้รับทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย
กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก
กระทรวงสาธารณสุข
พ.ศ. 2560

ชื่อเรื่อง ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด และกลไกการออกฤทธิ์ของสาร สกัดจากครอบฟันสีและไมยราบ

ผู้วิจัย นางสาวอำภา คนซื่อ, ผศ.ดร.ชูศรี ตลับมุข, นางสาวจิราภรณ์ โสดาจันทร์, นางสาวอารียา สุฉันทบุตร, นายสิทธิชัย วันแก้ว และนางสาวขวัญยืน เลี่ยมสำโรง

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ความเป็นพิษเฉียบพลัน ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง การวัดความทนต่อกลูโคส ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเคมีโลหิต ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือด ลักษณะของเนื้อเยื่อตับ ไต และตับอ่อนทั้งในหนูปกติ และหนูเบาหวาน และกลไกการออกฤทธิ์ ได้แก่ กลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสการยับยั้งดูดซึมกลูโคสในลำไส้เล็ก และกลไกในการนำกลูโคสไปใช้ของสารสกัดของสารสกัดจากครอบฟันสีผสมไมยราบที่สกัดด้วยน้ำ (AMA) เอทานอล 50% (AMHE) และ เอทานอล 80% (AMPE)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดโดยใช้วิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) มีสารสำคัญในกลุ่ม Phenolics ได้แก่ สาระสำคัญในกลุ่ม Hydroxybenzoic acids เช่น Gallic acid, Protocatechuic acid, *p*-Hydroxybenzoic acid และ Syringic acid สารสำคัญในกลุ่ม Hydroxycinnamic acids เช่น Caffeic acid, *p*-Coumaric acid, Ferulic acid และ Sinapic acid และยังพบสารประกอบในกลุ่ม Flavonoids ได้แก่ Rutin, Myricetin, Quercetin และ Kaempferol โดยสารสกัด AME มีปริมาณของสารสำคัญในกลุ่ม Phenolics และ Flavonoids มากกว่า สารสกัด AMHE และ สารสกัด AMA

การศึกษาพิษเฉียบพลัน โดยการป้อนสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ในขนาด 1,000, 1,500 และ 2,000 mg/kg.bw. แก่หนูทดลองครั้งเดียว พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิด ทุกขนาด ไม่ทำให้หนูทดลองตาย และหนูไม่แสดงอาการความเป็นพิษหลังจากได้รับสารสกัดภายใน 24 ชั่วโมง และเมื่อสังเกตอาการต่อเนื่อง 14 วัน ก็ไม่พบหนูที่แสดงอาการความเป็นพิษ และไม่พบหนูทดลองตาย สำหรับการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังโดยการป้อนสารสกัด ทั้ง 3 ชนิด ในขนาด 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมแก่หนู ทุกวัน เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่า สารสกัดไม่ทำให้หนูทดลองตาย และไม่ส่งผลกระทบต่อค่าเคมีโลหิต ค่าโลหิตวิทยา

สารสกัดไม่มีผลความทนต่อกลูโคสในหนูปกติ แต่สารสกัด AME, AMHE ทุกขนาด และ AMA 250 และ 500 mg/kg.bw. มีความทนต่อกลูโคสได้ดีกว่ายา Glybenclamide (ขนาด 0.5 mg/kg.bw.) ที่เวลา 30 นาที

ฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัด AMA, AMHE และ AME ขนาด 125, 250 และ 500 mg/kg.bw. ให้กับหนูปกติและหนูเบาหวานทุกวัน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิด ไม่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูปกติ แต่สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของหนูเบาหวานได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดย AMHE ขนาด 250 mg/kg.bw. และ AME ขนาด 125 mg/kg.bw. สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีที่สุด ในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง นอกจากนี้ ยังพบว่า สารสกัด AMA, AMHE และ AME ไม่มีผลต่อระดับอินซูลินในหนูปกติ แต่ในหนู

เบาหวาน AMA 250, 500 mg/kg.bw. AMHE 125, 250 mg/kg.bw. และ AME 500 mg/kg.bw. ปริมาณอินซูลินมีระดับเพิ่มขึ้นได้ดีกว่ายา Glybenclamide อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และยังพบว่า หนูปกติและเบาหวานมีค่าทางโลหิตวิทยาไม่แตกต่างกัน อีกทั้งสารสกัด AM. ไม่มีผลต่อค่าเคมีโลหิตในหนูปกติ แต่สารสกัด AM. ทำให้เพิ่ม HDL ลด TC, TG และ LDL ในหนูเบาหวานได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ค่าการทำงานของไต (Renal functions) พบว่าหนูปกติและหนูเบาหวานค่าการทำงานของไตไม่แตกต่างกัน การศึกษาค่าการทำงานของตับ (Liver functions) พบว่าสารสกัดไม่มีผลต่อค่าการทำงานของตับในหนูปกติ ส่วนหนูเบาหวาน พบว่า สารสกัด AM. สามารถลด Alkaline Phosphatase (ALP) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 อย่างไรก็ตาม AMA, AMHE และ MPA ไม่มีผลต่อรูปร่างลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดเซลล์ตับ เซลล์ไต แต่ช่วยทำให้ตับอ่อนฟื้นคืนสภาพโดยไปกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเบต้าเซลล์ในไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์

สารสกัดไม่มีผลต่อปริมาณอินซูลินของหนูปกติ แต่สารสกัด AMA 250, 500 mg/kg.bw. AMHE 125, 250 mg/kg.bw. และ AME 500 mg/kg.bw. ปริมาณอินซูลินมีระดับเพิ่มขึ้นในหนูเบาหวานได้เช่นเดียวกับ ยา Glybenclamide

AMA ขนาด 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการดูดซึมกลูโคสผ่านลำไส้เล็กของหนูขาวได้ดีกว่า Acarbose นอกจากนี้ AMA 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อกระบังลมมีการใช้กลูโคสได้มากกว่า Insulin

AMA มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคสซิเดสได้ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.041±0.050 mg/ml ได้ดีกว่า AME ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.018±0.007 และ AMHE มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.104±0.073 mg/ml ตามลำดับ สารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ดีกว่า อะคาโบส (Acarbose®) ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่มี IC_{50} เท่ากับ 0.649±0.026 mg/ml

สารสกัด AME มีปริมาณฟีนอลลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุด (1234.853±58.867 mgQE/gExt และ 61.472±2.335 mgGE/gExt) และยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.099±0.020 และ 0.230±0.018 mg/ml ตามลำดับ ส่วนสารสกัด AMA มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay โดยมี FRAP values เท่ากับ 4.269±0.120 mgTE/gExt อย่างไรก็ตาม สารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่า Ascorbic acid และ Trolox ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน

ผลจากการทดลอง สามารถสนับสนุนการนำสารสกัดจากครอบฟันสีผสมไมยราบไปใช้ในการรักษาเบาหวานที่มีมาแต่โบราณ สารสกัดมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของหนูเบาหวานได้โดยผ่านกลไกการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดส การยับยั้งการดูดซึมกลูโคสที่ลำไส้เล็ก การใช้กลูโคสของกล้ามเนื้อกระบังลม และช่วยเพิ่มจำนวนเบต้าเซลล์ในไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์ในตับอ่อน อีกทั้งยังช่วยลดไขมันในเลือดในหนูเบาหวานได้ ฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน่าจะขึ้นอยู่กับสารกลุ่ม Phenolic, Flavonoid อย่างไรก็ตาม ควรพึงระมัดระวัง หากนำไปใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน เพราะอาจจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับและไต และค่าทางโลหิตวิทยา

คำสำคัญ: ครอบฟันสี; ไมยราบ; ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ; ฤทธิ์ยับยั้งแอลฟากลูโคซิเดส

TITLE Hypoglycemic Effect and Mechanisms of Action of Extract from *Abutilon indicum* (L.) Sweet and *Mimosa pucida* L.

AUTHOR Miss Ampa Konsue, Assoc. Prof. Ph.D. Chusri Talubmook, Miss Areeya Suchantabud, Mr. Sitthichai Wankaew and Miss Kwanyuen Leumsamrong

ABSTRACT

The present study aimed to determine the chemical constituents, antioxidant activity, acute toxicity, sub chronic toxicity, oral glucose tolerance test, hypoglycemic effect, effects on blood cell characteristics and histological features of liver, kidney and pancreas, mechanism of action, including α-Glucosidase inhibitory activity, inhibition of glucose absorption from the intestine and peripheral glucose consumption of aqueous (AMA), 50% ethanol (AMHE) and 80% ethanol (AME) of whole plant extracts from *Abutilon indicum* mix *Mimosa pucida*.

Chemical constituents of the extract were identified using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. Many chemicals found in the extracts were Polyphenol compounds such as Hydroxybenzoic acids (Gallic acid, Protocatechuic acid, *p*-Hydroxybenzoic acid and Syringic acid), Hydroxycinnamic acids Caffeic acid, *p*-Coumaric acid, Ferulic acid, Sinapic acid by AME have quality of Flavonoid compounds. Rutin, Myricetin, Quercetin and Kaempferol more than AMHE and AMA.

The acute toxicity was tested by single oral administration of various doses of AMA, AMHE and AME (1000, 1500, and 2000 mg/kg b.w) to adult male albino Wistar rats. The results revealed that all doses of all extracts did not produce any sign and symptoms of toxicity during the first 24 h and no rat died in 14 days. Moreover, the body weight of control and treated rats were not different. The study on the sub chronic toxicity by oral administration all extract at a dose of 125, 250 and 500 mg/kg to the rats daily for 9 weeks. The results showed that the extract did not produce any signs or symptoms of toxicity.

All extracts don't show the oral glucose tolerance test (OGTT) in normal but AME, AMHE all dose AMA 250 and 500 mg/kg.bw. To be showed the OGTT in streptozotocin- induced diabetic more potent than glibenclamide (0.5 mg/kg.bw.) at 30 minutes.

The hypoglycemic effect of the extracts from AMA, AMHE and AME (125, 250, and 500 mg/kg) were studied in normal and Streptozotocin (65 mg/kg)–induced diabetic rats. were administered orally and daily to the rats for 8 weeks. The results showed that all the doses of all extracts could not decrease fasting blood glucose levels (FBG) in normal rats but could reduce in the diabetic rats AMHE (250 mg/kg) and AME (125 mg/kg) decreased the highest reduction of FBG in the diabetic tats at the fourth weeks of the experiment. Otherwise all extracts don't show the insulin levels in normal rats, but showed the increase of insulin levels in streptozotocin- induced diabetic AMA 250, 500 mg/kg.bw. AMHE 125, 250 mg/kg.bw. and AME 500 mg/kg.bw. more potent than glibenclamide (0.5 mg/kg.bw.). The extracts don't significantly hematological values in normal and diabetic rats and all extracts don't affected blood chemistry in normal rats. But the extracts affect significantly ($p<0.05$) increasing High-density lipoprotein (HDL), decreasing Total cholesterol (TC), Triglycerides (TG) and Low-density lipoprotein (LDL) in diabetic rats. The extracts don't significantly the renal function in normal and diabetic rat; the extracts don't show the Liver functions in normal rats, but the extracts affect significantly ($p<0.05$) decreasing Alkaline Phosphatase (ALP) in diabetic rats. However, all extracts did not affect the blood cell characteristics, histological features of hepatic tissues, renal tissues. In addition, all extracts recovered the diabetic pathology of pancreas by increasing the area of β-cells, which may be mediated by a recovery of partially destroyed β-cells, or regenerate β-cells.

All extracts don't show the serum insulin level in normal but AMA 250, 500 mg/kg.bw. AMHE 125, 250 mg/kg.bw. and AME 500 mg/kg.bw. show the serum insulin level Similar to glybenclamide.

AMA at the dose 2.5 mg/ml could inhibit glucose absorption through the small intestine of rats. AMA at a concentration of 0.625 mg/mL increased the peripheral glucose consumption. Never the less, this did not differ from that done by Insulin.

AMA showed the highest α-Glucosidase inhibitory activity with IC_{50} of 0.041±0.050 mg/ml whilst AME showed the inhibitory activity at the IC_{50} of 0.018±0.007 mg/ml) and AMHE IC_{50} 0.104±0.073 mg/ml respectively all extracts showed the more potent α-Glucosidase inhibitors activity comparable to Acarbose®, with IC_{50} of 0.649±0.026 mg/ml.

AME possessed the highest total phenolic compounds and total flavonoid compounds. (1234.853±58.867 mgQE/gExt and 61.472±2.335 mgGE/gExt) respectively and also exhibited the highest antioxidant capacity tested by using DPPH and ABTS. assay with IC_{50} value of 1.099±0.020 mg/mL and 0.230±0.018 mg/mL, respectively. AMA showed the highest reducing power when carried out by using the FRAP assay

(4.269±0.120mgTE/gExt). However all extracts exerted the antioxidant activity less than Ascorbic acid and Trolox (DPPH assay at 0.004±0.001 and 0.005±0.001 mg/mL and ABTS assay at 0.025±0.001 and 0.032±0.001 mg/mL) respectively.

The results of the present study support the traditional use of whole plant extracts from *Abutilon indicum* mix *Mimosa pucida* for the treatment of diabetes mellitus. The hypoglycemic effect of the extracts from *A. indicum* mix *M. pudica* may mediate by inhibiting α-Glucosidase, glucose absorption, increasing peripheral glucose consumption and the area of β-cells inIslets of Langerhans in the pancreas. The extracts also possess hypolipidemic and antioxidant activities. These activities may be based on the presence of Polyphenol and Flavonoid compounds in the extracts. However, long term administration of the extracts from *A. indicum* mix *M. pudica* for should be considered as it may cause the hepatic and renal dysfunction and pathology of hematological values.

Key Words: *Abutilon indicum* (L.) Sweet; *Mimosa pudica* L.; hypoglycemic effect; antioxidant activity; α-Glucosidase inhibitory activity

กองทุนวิจัยภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย
Thai Traditional Medical Knowledge Fund