



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดของสารสกัดน้ำจากใบย่านางแดงและการพัฒนา
เป็นผลิตภัณฑ์ไมโครแคปซูล

(Determination of the mechanism of hypoglycemic effect of the water extract
of *Lysiphyllum strychnifolium* (Craib) A. Schmitz leaves extract and the
development to microcapsule product)

รหัสสัญญา กท. 42/2563 ลงวันที่ 4 ธันวาคม 2563 (กท. 63-59-3-10-41)

ผู้วิจัย

1. รศ.ดร. วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ
2. รศ.ดร. ศวิตา จิวจินดา
3. ผศ.ดร. จิราพร เลื่อนผลเจริญชัย

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

ที่มาและวัตถุประสงค์: ย่านางแดง หรือ ขยัน มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายฤทธิ์ อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีการทดสอบฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด

กระบวนการทดลอง: ทำการทดสอบหาสารสำคัญในสารสกัดย่านางแดง และทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการทดลองฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสในหลอดทดลอง รวมทั้งทดสอบเภสัชจลนศาสตร์ของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังทำการทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดในสัตว์ทดลองโดยทดสอบฤทธิ์การทนต่อน้ำตาลหลังการป้อนน้ำตาลขนาดสูง และผลการป้อนสารสกัดต่อเนื่องกันนาน 28 วัน ในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงด้วยสารสเตปโตโซโตซินและนิโคตินาไมด์ จากนั้นทำการทดสอบวัดระดับน้ำตาลในเลือดหลังการอดอาหาร ระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัม และระดับสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส 1 และมาลอนไดแอลดีไฮด์ในตับ ตับอ่อน และกล้ามเนื้อของหนูทดลอง

ผลการทดลองและสรุป: จากการวิเคราะห์โดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สารสำคัญที่พบในสารสกัดน้ำของใบย่านางแดงคือ กรดแกแลคิก ทีโลบาติน และย่านางแดงจิน โดยพบในปริมาณ 0.39 ± 0.01 , 15.08 ± 0.09 และ 3.28 ± 0.05 % น้ำหนัก/น้ำหนัก ตามลำดับ สารสกัดใบย่านางแดงออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดสแบบไม่แข่งขันโดยมีค่าคงที่การยับยั้งเอนไซม์ มีค่าเท่ากับ 1.32 ไมโครกรัม/มล. แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส การทดลองในหนูทดลองที่เป็นเบาหวานพบว่าหลังจากป้อนสารสกัดย่านางแดงขนาด 1,000 มก./กก. มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในการทดลองโดยการวัดการทนต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำตาล และหลังจากป้อนติดต่อกันนาน 28 วัน ($p < 0.05$) นอกจากนี้หนูทดลองที่เป็นเบาหวานที่ได้รับการป้อนด้วยสารสกัดย่านางแดงมีผลทำให้ระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมสูงขึ้น ทำให้ลดความเสี่ยงการต้อของอินซูลิน เพิ่มการแสดงออกของโปรตีนน้ำส่งกลูโคสชนิดที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูทดลองที่เป็นเบาหวานกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) และผลการป้อนสารสกัดย่านางแดงยังมีผลลดปริมาณสารอนุมูลอิสระชนิด SOD1 และ MDA ในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม การทดลองครั้งนี้เป็นการทดลองครั้งแรกที่บ่งบอกว่าสารสกัดย่านางแดงมีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยมีหลายกลไกการออกฤทธิ์ ได้แก่ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดส และลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการเพิ่มระดับโปรตีนน้ำส่งกลูโคสชนิดที่ 4 เพิ่มระดับฮอร์โมนอินซูลิน และต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้การศึกษานี้พบว่าการทำไมโครเอนแคปซูลชันให้แก่สารสกัดใบย่านางแดงโดยใช้สารเคลือบเป็นมัลติเดกตินและกัมอะราบิก อัตราส่วน 10 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก และใช้อุณหภูมิอากาศร้อนชาเข้า เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส ช่วยเพิ่มความคงสภาพให้แก่สารสกัด ซึ่งตำรับแคปซูลที่บรรจุผงยาของสารสกัดจากใบย่านางแดงที่ถูกไมโครเอนแคปซูลชันมีความคงสภาพทางกายภาพและเคมีที่ดีในสภาวะเร่ง ซึ่งแสดงถึงศักยภาพที่จะถูกนำไปพัฒนาต่อเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพเพื่อใช้ในผู้ป่วยโรคเบาหวานต่อไป

คำค้น: ย่านางแดง, ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด, แอลฟาไกลโคซิเดส, การนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์, อินซูลิน, อนุมูลอิสระ, เบาหวาน, ไมโครเอนแคปซูลชัน

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)

Background and aim: *Lysiphyllum strychnifolium* (Craib) A. Schmitz (Fabaceae), known as Ya-nang-daeng or Khayan in Thai, is one of Thai traditional medicine that has been prescribed by Thai traditional practitioners to treat some diseases. The previous studies have demonstrated several beneficial activities of this plant, but the investigation of pharmacological mechanisms as antihyperglycemic agent has not been done.

Experimental procedure: The effects of LS extract of on α -glucosidase and α -amylase were carried out *in vitro*. Furthermore, its antidiabetic effects were evaluated using an oral glucose tolerance test (OGTT) and 28-day consecutive administration to streptozotocin (STZ)-nicotinamide (NA)-induced type 2 diabetic mice. Glycemic parameters such as fasting blood glucose (FBG), serum insulin, glucose transporter type 4 (GLUT-4), and oxidative stress parameters, i.e., superoxide dismutase 1 (SOD1) and malondialdehyde (MDA) levels were evaluated.

Results and conclusion: Quantitative analysis of gallic acid, trilobatin and yanangdaengin, as the major active compound, in LS extract were quantified by HPLC to be 0.39 ± 0.01 , 15.08 ± 0.09 and 3.28 ± 0.05 % w/w, respectively. It noncompetitively inhibited α -glucosidase with the K_i value of $1.32 \mu\text{g/mL}$. However, it did not affect the activity of α -amylase. The LS extract at dose of 1,000 mg/kg significantly exhibited the hypoglycemic effect in both OGTT model and 28-day daily administration as compared with untreated STZ-NA-induced DM mice ($p < 0.05$). The enhancement of serum insulin, homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and GLUT-4 levels in muscle were found as a response of its hypoglycemic effect. Additionally, it significantly improved oxidative stress markers revealed by the reduction of SOD1 and MDA levels in muscle ($p < 0.05$) and attenuated MDA production *in vitro* with the IC_{50} value of $236.19 \mu\text{g/ml}$. These findings are the first to demonstrate anti-hyperglycemic activity of LS extract by the proximity mechanisms of inhibiting α -glucosidase and glucose uptake, improving oxidative stress condition and enhancing insulin and GLUT-4 levels. Thus, LS extract can be utilized as alternative medicine for the treatment of hyperglycemia-associated oxidative stress conditions. Furthermore, the present study is the first to develop LS extract using microencapsulation technique employed carriers as maltodextrin and gum arabic in the ratio of 10:1 w/w with inlet temperature at 80°C . The microcapsule product exhibited the stable physical and chemical stabilities. This LS product in the formulation of microcapsule could be promoted to use as nutraceutical product for treatment diabetes.

Keywords: *Lysiphyllum strychnifolium*, antidiabetics, alpha-glucosidase, glucose uptake, insulin, antioxidant, diabetic, microencapsulation