

รหัสโครงการ: MRG508294
ชื่อโครงการ: การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเสี้ยวแดงและการป้องกันการทำงานของมิตochondria ของไตและหลอดเลือดในหนูเบาหวาน
ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร.สุภารัตน์ คำแดง
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
นักวิจัยที่ปรึกษา: ศ.ดร.ภาวิณี ปิยะจตุรวัฒน์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
E-mail Address: suparatkhamdang@hotmail.com
ระยะเวลาโครงการ: 2 กรกฎาคม 2550-1 กรกฎาคม 2552

บทคัดย่อ

ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเป็นเวลานาน เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญทำให้ร่างกายเกิดภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล และก่อให้เกิดความผิดปกติของหลอดเลือดทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคแทรกซ้อนต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดและไต งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดของสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดง และการป้องกันการทำงานของมิตochondria ของไตและหลอดเลือดในหนูเบาหวาน รวมถึงประเมินความเป็นพิษเบื้องต้น สกัดใบเสี้ยวแดงด้วย 95% ethanol โดยวิธี percolation ได้สารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงคิดเป็น 23.45% ของน้ำหนักผงแห้ง แยกสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้นด้วย column chromatography ได้สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์คิดเป็น 1.84 % ของสารสกัดหยาบ ผลการทดสอบทางเภสัชเวบบเบื้องต้นของสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์พบว่ามีส่วนประกอบ flavonoids เป็นส่วนประกอบสำคัญ และมี tannin ในปริมาณเล็กน้อย สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ของใบเสี้ยวแดงมีส่วนประกอบ phenol ในปริมาณสูงถึง $4162.6 \pm 81.9 \mu\text{g}/\text{mg}$ ผลจากการทดสอบด้วย DPPH และ ABTS assay และการทดสอบโดย FRAP assay ของสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงและสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ พบว่าสารสำคัญมีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระและเป็นตัวให้อิเล็กตรอน จากการทำ OGTT พบว่าสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงไม่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดในหนูปกติ แต่มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดหนูเบาหวาน การให้สารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงในขนาด 100 และ 200 mg/kg ติดต่อกัน 6 สัปดาห์ไม่แสดงฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด สารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงไม่สามารถลดระดับของ MDA ในสมองหนูเบาหวานได้แต่ลดระดับของ MDA ในตับได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับหนูเบาหวาน ผลการประเมินการทำงานของไตพบว่าหนูเบาหวานที่ได้รับ glyburide หรือ vitamin E ร่วมกับสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดง 100 mg/kg สามารถลดระดับ BUN ของหนูเบาหวานได้ในสัปดาห์ที่ 2 ระดับของ serum creatinine ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ค่า creatinine clearance ในหนูเบาหวานมีค่าสูงที่สุดและสูงกว่ากลุ่มอื่น สารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ตอบสนองต่อ phenylephrine และเพิ่มการคลายตัวตอบสนองต่อ acetylcholine ได้แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาพิษเฉียบพลันพบว่าสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงจัดว่ามีความปลอดภัย มีค่า $LD_{50} > 6,000 \text{ mg}/\text{kg BW}$ เมื่อให้สารทางปาก และมีค่า $LD_{50} > 4,000$ และ $2,765.5 \text{ mg}/\text{kg BW}$ เมื่อให้สารโดยฉีดเข้าช่องท้องในหนูถีบจักรเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ผลการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังเมื่อป้อนสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงที่ขนาด 250, 500 และ 1,000 mg/kg BW วันละ 1 ครั้งติดต่อกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในด้านน้ำหนักตัว น้ำหนักอวัยวะ ระดับเอนไซม์ ALT, AST, ALP ระดับ BUN และ SCr ระหว่างหนูที่ได้รับสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงกับหนูกลุ่มควบคุม สรุปได้ว่าสารสกัดหยาบใบเสี้ยวแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองที่แรง แต่มีฤทธิ์อ่อนในการป้องกันการทำงานของหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่และขนาดเล็กในหนูเบาหวาน อย่างไรก็ตามสารสกัดใบเสี้ยวแดงจัดว่าปลอดภัยและไม่มีพิษเมื่อทดสอบในสัตว์ทดลอง

Project Code: MRG 5080294
Project Title: Study of Anti-oxidative Effects of Siao Deang Extracts and Its Protection Effect on Vascular and Kidney Functions in Diabetic Rats
Investigator: Asst.Prof.Suparat Khamdang
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon-rajathanee University
Mentor: Prof.Pawinee Piyachaturawat
Faculty of Sciences, Mahidol University
E-mail Address: suparatkhamdang@hotmail.com
Project Period: July 2, 2007-July 1, 2009

Abstract:

Chronic hyperglycemia is a major cause of oxidative stress in human. High oxidative stress leads to macrovascular and microvascular dysfunction, which are the important cause of diabetic cardiovascular and renal complications. The present study aims to investigate the antioxidative and hypoglycemic effect of *Bauhinia penicilliloba* (BP) leaf extract and its effect on the protection of vascular and kidney dysfunction in diabetic rats including primary toxicity study. The 95% ethanolic extract of BP leaves (EEBP) were prepared using percolation techniques and obtained 23.45% of dried weight and consequence partial purified by column chromatography yielded active purified fraction (APBP) approximately 1.84%. The phytochemical screening revealed the presented of flavonoids contaminated with small amount of tannins. The phenolic content of APBP was 4,162.6±81.9 µg/mg. The EEBP and APBP demonstrated scavenging powers and reducing powers which were examined by DPPH and ABTS assays and FRAP assay, respectively. In OGTT study, the EEBP did not exhibit hypoglycemic effect in normal rat but could inhibit the increased blood glucose level in diabetic rat. The EEBP in the dose of 100 and 200 mg/kg consecutively 6 weeks did not show hypoglycemic activity. The EEBP could not significant reduced brain MDA of diabetic rats but significantly reduced liver MDA compared to diabetic control rats. The evaluation of kidney function of diabetic rats demonstrated that the week-2 BUN of diabetic rats received glyburide or vitamin E + BP 100 mg/kg significantly reduced when compared to diabetic rats. Serum creatinine level was not significant difference between groups. Creatinine clearance of diabetic control rats was highest and higher than those of other groups. The EEBP reduced the aortic contraction in response to phenylephrine and increased relaxation in response to acetylcholine of BP-treated diabetic rats but were not significant. In acute toxicity study, oral administration of the maximal dose of 6,000 mg/kg of the extract to both male and female mice showed neither clinical adverse effect nor animal death ($LD_{50} > 6,000$ mg/kg). Peritoneal administration of the maximal dose of 4,000 mg/kg of the extract to male mice did not cause 50% death ($LD_{50} > 4,000$ mg/kg). However, the dose of extract that causes 50% death in female mice was 2,765.5 mg/kg ($LD_{50} = 2,765.5$ mg/kg). The results of sub-chronic toxicity showed no difference in apparent adverse event, behavioral change, overall health and growth rate between the treatment and the control group. The animal body weight, major organ weight, ALT, AST, ALP, BUN and Cr serum levels were also not different between both groups. In conclusion, the ethanolic extracts of BP leaf exhibited potent antioxidative effect *in vitro* but low effect for protection of vascular and kidney functions. However, the BP extracts were safe and practically non toxic in mice.