Thesis Title	Hypoglycemic Effect of Thai and Nigerian Medicinal Plants	
Author	Mr. Moses Zira Zaruwa	
Degree	Doctor of Philosophy (Pharmacy)	
Thesis Advisory Committee	Prof. Dr. Jiradej Manosroi	Advisor
	Prof. Dr. Aranya Manosroi	Co-advisor
	Prof. Dr. Toshihiro Akihisa	Co-advisor

Abstract

The aqueous extracts of twenty hypoglycemic medicinal plants and recipes from Thailand and Nigeria were screened for their hypoglycemic effects. The medicinal plants and recipes were as follows: *Anogeissus acuminata* (Roxb. ex DC) Guill. & Perr., *Catunaregam tormentosa* (DC.) Tirveng, *Dioecrescis erythroclada* (Kurz) Tirveng, *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq, *Mimosa pudica* Linn. var. *hispida* Bren, *Moringa oleifera* Linn., *Pterocarpus macrocarpus* kurz, *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth. ex. Kurz, Yamed Boraped Pungchang and Mai Tau Lusi from the Northern part of Thailand and *Anisopus mannii* N.E.Br, *Anogeissus leiocarpus* (D.C) Guill & Perr., *Daniella oliveri* (Rolfe) Hutch & Dalz., *Detarium macrocarpum* Harms, *Leptedenia hastata* (Pers) Dec'ne, *Mimosa invisa* var. inermis Adelb, *Moringa oleifera*, *Pterocarpus erinaceus*, *Rauwolfia serpentina* and Maganin Ciwon Suga recipe (comprising of *Ficus Thonningii*. Blume, *Raphia vinifera* P. Beauv and *Leptedenia hastata* (Pers) Dec'ne) from the Northeastern part of Nigeria. The phytochemistry showed the presence of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

anthraquinones, flavones, glycosides, saponins, xanthones, tannins and alkaloids in high intensities in the methanol extracts, while the free radical scavenging activities of the extracts where high in the methanolic extracts of both groups of the extracts. *A. acuminata* and *A. leiocarpus* showed 5 and 7 fold activities above the standards, ascorbic acid and tocopherol and 2 and 5 fold activities for *A. leiocarpus*, respectively. The Thai hypoglycemic medicinal plants, *M. pudica,* YBP*, P. macrocarpus, M. oleifera* and *R. serpentina* showed the highest significant ($p<0.05$) FBG reduction in normoglycemic mice with 47.43, 29.15, 44.71, 25.18 and 24.18% mostly at the 4 h representing between 0.21 – 0.68 and 0.33 – 1.04 fold range of insulin and glibenclamide, respectively. All the aqueous extracts tested in the alloxan induced diabetic mice showed significant hypoglycemic effects at various time intervals with the highest effects observed with the extracts of *A. acuminata, R. serpentina, C. tormentosa, P. macrocarpus, Yamed Boraped Pungchang* and *D. pentandra* which showed 78.96, 66.62, 57.00, 54.63, 45.02 and 49.00% at the 4 h with 0.58 – 0.9 and 1.22 – 1.76 fold of insulin and glibenclamide, respectively. The Nigerian medicinal plants, *R. serpentina, D. macrocarpum, P. erinaceous* and *A. mannii* showed the highest significant ($p<0.05$) FBG reduction of 49.75, 44.94, 36.37 and 21.63% which were 0.38 – 0.88 and 0.76 – 1.72 fold range of insulin and glibenclamide in normoglycemic mice, respectively. All aqueous extracts of the selected medicinal plants showed significant hypoglycemic effect at various time intervals in the alloxan induced diabetic mice, with the highest significant ($p<0.05$) FBG reduction in *A. mannii*, Maganin Ciwon Suga, *A. leiocarpus, D. macrocarpum, R. serpentina, P. erinaceous* and *L. hastata* of 70.39, 67.91, 64.53, 64.05, 58.88, 57.83 and

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

55.22% at the 4 h, representing 0.77 – 0.98 and 1.30 – 1.54 fold of insulin and glibenclamide, respectively. The *A. acuminata* and *A. mannii* showed significant FBG reduction of 35.15 and 21.63% with the ethyl acetate and chloroform sub-fractions in the normoglycemic mice, representing 0.53 and 0.82, 0.33 and 0.51 fold of insulin and glibenclamide, respectively. In the alloxan induced diabetic mice, the methanolic and chloroform-methanol sub-fractions showed 42.45 and 29.96% reduction in FBG, representing 0.48 and 0.95, and 0.34 and 0.67 fold of insulin and glibenclamide, respectively. OGTT was effective on the mice group fed with glucose and lactose. Intraperitoneal administration of the methanolic sub-fraction was more effective in the FBG reduction than the group treated by oral route with the *A. acuminata* sub-fraction, while the FBG reduction was equal in the *A. mannii* group. Ca^{2+} and K^{+} channel regulators indicated a possible mechanism of *A. acuminata* binding to beta cells to enhance insulin release, while the reverse was found in *A. mannii* sub-fraction. Alterations were observed in the body and organ weights of the mice and also in the levels of the biochemical parameters, blood urea nitrogen, creatinine, aspartate transaminases, alanine transaminases and total bilirubin in both groups. The isolation, purification and elucidation of the pure compounds from the two plants yielded 1, 2, 3, 5-nonahydroxytriphenoyl-4, 6-hexahydroxydiphenoyl-glucose (Castalagin) and a probably new compound (Manosrin) 3, 23, 28–Trihydroxy-12-oleanen-3-*O*-(β-D-glucopyranosyl-(1,6)-β-D-glucopyranosyl-(1,6)-β-D-xylopyranosyl)-28-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1,6)-β-D-glucopyranoside. Significant ($p<0.05$) reduction of FBG was observed in alloxan induced diabetic mice, of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

65.06% observed for castalagin at the 4 h with the 4 ug/kg bw, while 67.97% FBG reduction was observed with manosrin, at dose of 32 ug/kg bw, respectively.

The results from this study have confirmed the traditional use of the Thai and Nigerian hypoglycemic medicinal plants, *A. acuminata* and *A. mannii,* respectively, for the treatment of diabetes mellitus and the sulfonylurea and thiazolidiendiones mimicking hypoglycemic effects. The isolated compounds including castalagin and manosrin have been shown to have potentials for the development into modern hypoglycemic agents.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดของพืชสมุนไพรไทยและไนจีเรีย

ผู้เขียน นายโมเสส ซีรา ซารูวา

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศ. ดร.จีรเดช มโนสร้อย อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ศ.ดร.อรัญญา มโนสร้อย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ศ.ดร. โทชิฮิโร อากิฮิซา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

จากการศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดซึ่งสกัดด้วยน้ำของพืชสมุนไพรและตำรับยาสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานจำนวน 20 ชนิด โดยแบ่งเป็น พืชสมุนไพรจากภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ *Anogeissus acuminata* (Roxb. ex DC) Guill. & Perr., *Catunaregam tomentosa* (DC.) Triveng, *Dioecrescis erythroclada* (Kurz) Triveng, *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq, *Mimosa pudica* Linn. var. *hispida* Bren, *Moringa oleifera* Linn., *Pterocarpus macrocarpus* Kurz และ *Rauwolfia serpentina* (L.) Bth. ex. Kurz และพืชและตำรับยาสมุนไพรจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไนจีเรีย ได้แก่ *Anisopus mannii* N.E.Br, *Anogeissus leiocarpus* (D.C) Guill & Perr., *Daniella Oliveri* (Rolfe) Hutch & Dalz, *Detarium macrocarpum* Harms, *Leptedenia hastata* (Pers) Dec'ne, *Mi visa* var. *inermis* Adelb, *Moringa oleifera*, *Pterocarpus* ix *erinaceus*, *Rauwolfia serpentina* และตำรับยาสมุนไพร Maganin Ciwon Suga ซึ่งประกอบด้วยพืชสมุนไพรได้แก่ *Ficus thonningii*. Blume, *Raphia vinifera* P. Beauv และ *Leptedenia hastata* (Pers) Dec'ne

จากผลการทดสอบทางพฤกษเคมีพบว่า anthraquinones, flavones, glycosides, saponins, xanthones, tannin และ alkaloids เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ที่พบในสารสกัดพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยเมทานอล ขณะที่ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดซึ่งสกัดด้วยเมทานอลของพืชสมุนไพร *A. acuminata* และ *A. leiocarpus* เป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด โดยสารสกัดจากพืช *A. acuminata* มีฤทธิ์เป็น 5 และ 7 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซึ่งได้แก่ ascorbic acid และ tocopherol ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากพืช *A. leiocarpus* มีฤทธิ์เป็น 2 และ 5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซึ่งได้แก่ ascorbic acid และ tocopherol ตามลำดับ สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดพบว่า พืชสมุนไพรจากประเทศไทย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้แก่ *M. invisa, YBP, P. macrocarpus, M. oleifera* และ *R. serpentina* สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูปกติ (normoglycemic mice) ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เท่ากับ 44.71, 29.15, 26.46, 25.18 และ 23.71% ตามลำดับ ที่เวลา 4 ชั่วโมง โดยฤทธิ์ดังกล่าวคิดเป็น 0.21-0.68 และ 0.33-1.44 เท่าของ insulin และ glibenclamide ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดดังกล่าวมาทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูกลุ่มที่เป็นเบาหวาน (diabetic mice) พบว่า สารสกัดดังกล่าวสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญโดยสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ *A. acuminata, R. serpentina, C. tormentosa, P. macrocarpus,* Yamed Boraped Pungchang และ *D. pentandra* สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เท่ากับ 78.96, 66.62, 58.68, 54.63, 54.10 และ 50.81% ตามลำดับ ที่เวลา 4 ชั่วโมง โดยฤทธิ์ดังกล่าวคิดเป็น 0.58-0.9 และ 1.22-1.76 เท่าของ insulin และ glibenclamide ตามลำดับ สำหรับพืชสมุนไพรจากประเทศไนจีเรียทีมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ได้แก่ *R. serpentina, D. macrocarpum, P. erinaceous* และ *A. mannii* โดยสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูปกติ (normoglycemic mice) ได้เท่ากับ 49.75, 44.94, 36.37 และ 21.63% ตามลำดับ ที่เวลา 4 ชั่วโมง โดยฤทธิ์ดังกล่าวคิดเป็น 0.38-0.88 และ 0.76-1.72 เท่าของ insulin และ glibenclamide ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดดังกล่าวมาทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูกลุ่มที่เป็นเบาหวาน (diabetic mice) พบว่า สารสกัดดังกล่าวสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ *A. mannii,* Maganin Ciwon Suga, *A. leiocarpus, D. macrocarpum, R. serpentina, P. erinaceous* และ *L. histata* สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เท่ากับ 70.39, 67.91, 64.53, 64.05, 58.88, 57.83 และ 55.22% ตามลำดับ ที่เวลา 4 ชั่วโมง โดยฤทธิ์ดังกล่าวคิดเป็น 0.77-0.98 และ 1.30-1.54 เท่าของ insulin และ glibenclamide ตามลำดับ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ซึ่งสกัดแยกด้วย ethyl acetate และ chloroform จากพืช *A. acuminata* และ *A. mannii* พบว่า สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูปกติได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เท่ากับ 35.15 และ 21.63% ตามลำดับ และคิดเป็น 0.53 และ 0.82 เท่าของ insulin และ 0.33 และ 0.51 เท่าของ glibenclamide ตามลำดับ เมื่อทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูกลุ่มที่เป็นเบาหวานของสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ของพืชสมุนไพรดังกล่าวซึ่งสกัดแยกด้วย methanol และ chloroform-methanol พบว่า สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เท่ากับ 42.45 และ 29.96% ตามลำดับ และคิดเป็น 0.48 และ 0.95 เท่าของ insulin และ 0.34 และ 0.67 เท่าของ glibenclamide ตามลำดับ สำหรับการทดสอบการตอบสนองของฮอร์โมนอินซูลินต่อระดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำตาลในเลือดโดยวิธี Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) พบว่ามีประสิทธิภาพในหนูกลุ่มที่ได้รับ glucose และ lactose สำหรับการทดสอบเกี่ยวกับผลของวิธีการบริหารยา (Route of administration) พบว่า การให้ยาโดยการฉีดเข้าช่องท้องของสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ซึ่งสกัดแยกด้วย methanol จากพืช *A. acuminata* สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีกว่าการให้ทางปาก ขณะที่สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์จากพืช *A. mannii* พบว่า การให้ยาด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เท่ากัน สำหรับการทดสอบกลไกการออกฤทธิ์เกี่ยวกับ Ca^{2+} และ K^{+} channel regulators พบว่า มีความเป็นไปได้ที่ *A. acuminata* มีกลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการจับของ beta cell เพื่อกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง insulin ขณะที่ *A. mannii* จะเกี่ยวข้องกับกลไกดังกล่าวแบบย้อนกลับ นอกจากนี้จากการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพัน (Acute toxicity) ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวและอวัยวะของสัตว์ทดลอง และมีผลต่อระดับ blood urea nitrogen, creatinine, aspartate transaminase, alanine transaminase และ total bilirubin สำหรับการสกัดแยกเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ตลอดจนการพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของพืชสมุนไพร *A. acuminata* และ *A. mannii* ได้แก่ 1, 2, 3, 5-nonahydroxytriphenoyl-4, 6-hexahydroxydiphenoyl-glucose (Castalagin) และสารใหม่ (manosrin) 3, 23, 28-Trihydroxy-12-oleanen-3-O-(β-D-glucopyranosyl-(1,6)-β-D-xylopyranosyl)-28-O-β-D-glucopyranosyl-(1,6)-β-D-glucopyranoside ตามลำดับ โดย castalagin ในขนาด 4 มคก./กก. น้ำหนักตัว สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยคิดเป็น 65.06% ขณะที่ manosrin ในขนาด 32. น้ำหนักตัว สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานได้ โดยคิดเป็น 67.97% ตามลำดับ

จากการศึกษาดังกล่าวสามารถยืนยันได้ว่าสมุนไพรพื้นบ้านของประเทศไทยและไนจีเรียโดยเฉพาะ *A. acuminata* และ *A. mannii* สามารถนำไปใช้ในการรักษาโรคเบาหวานได้ โดยมีกลไกการออกฤทธิ์คล้ายกับยาในกลุ่ม sulfonylurea และ thiazolidinediones ดังนั้นพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นยาแผนปัจจุบันรักษาโรคเบาหวานได้ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved