

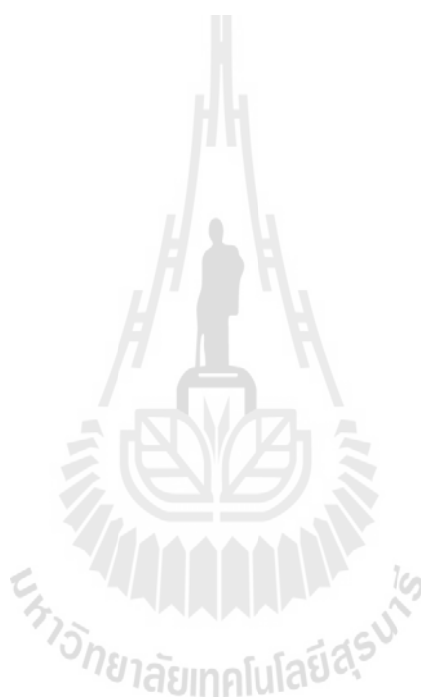
ศิริลักษณ์ กมลวรรณสิทธิ์ : การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดน้ำจากใบกฤษณา *AQUILARIA CRASSNA* (STUDY ON ANTIOXIDANT, ANTIHYPERGLYCEMIC AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF THE AQUEOUS EXTRACT OF *AQUILARIA CRASSNA* LEAVES)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. นวน้อย จุฑะพงษ์, 98 หน้า.

Agarwood หรือ กฤษณา (ไม้หอม) เป็นพืชจัดอยู่ในจันต Aquilaria (วงศ์ Thymelaeaceae) ในเอเชียพืชชนิดนี้ถูกนำไปผลิตเครื่องหอมและน้ำหอม นอกจากนี้ยังถูกนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณเพื่อสงบประสาท แก้ปวดและยาช่วยในการย่อยอาหารในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงและประเทศจีน มีการนำใบอ่อนของพืชกฤษณา สปีชีส์ *Aquilaria crassna* ที่ปลูกโดยเกษตรกรมาผลิตเป็นชาเพื่อสุขภาพกันอย่างแพร่หลายในประเทศเวียดนาม กัมพูชาและไทย ผู้ผลิตได้ทำการประชาสัมพันธ์เพื่อส่งเสริมการขายว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการโดยปราศจากข้อมูลสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากใบกฤษณา ได้แก่ ฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ยังได้ทำการตรวจสอบฤทธิ์เบี่ยงเบนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตลอดจนทดสอบความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันของสารสกัดด้วย

การตรวจสอบฤทธิ์เบี่ยงเบนพบว่าสารสกัดน้ำจากใบกฤษณา *A. crassna* ประกอบด้วยแทนนิน ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และสารประกอบฟีนอลิก การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซึ่งทำโดยวิธี DPPH ABTS และ FRAP scavenging methods แสดงให้เห็นว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างแรงเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid และ butylated hydroxytoluene การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธี macro-dilution พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ค่า MBC เท่ากับ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผู้วิจัยทำการสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางด้านสัณฐานวิทยาด้วยจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและศึกษาฤทธิ์ต่อการสร้างไบโอฟิล์มด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบเฟสคอนทราสต์ พบว่าสารสกัดไม่เพียงแต่มีผลทำให้เซลล์บวมและบิดเบี้ยวเท่านั้นแต่สามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มได้อีกด้วย และจากการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบว่าหลังจากบ่มสารสกัดนาน 24 ชั่วโมง ผนังเซลล์แบคทีเรียเกิดการแตกเสียหายขึ้น สำหรับการศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ทำการศึกษาโดยใช้หนูขาวที่ถูกชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานด้วยสเตปโตโซโตซิน จากการทดลองพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดไม่ลดลงหลังจากหนูได้รับสารสกัดเป็นเวลา 15 วัน ต่างจากกลุ่มของหนูที่ได้รับยาต้านเบาหวาน ไกลเบนคลาไมด์ ผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดน้ำจากใบกฤษณา

A. crassna ไม่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด การทดสอบพิษเฉียบพลันในหนูถีบจักร ไม่พบว่าหนูทดลองเกิดความเป็นพิษและไม่มีหนูทดลองตายในระหว่างการทดสอบ หลังจากได้รับสารสกัดในขนาด 2,000 และ 15,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว

จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า สารสกัดน้ำจากใบกฤษณา *A. crassna* มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* โดยไม่พบว่าเกิดพิษเฉียบพลันต่อหนูทดลอง สารสกัดมีกลไกการออกฤทธิ์ไปรบกวนการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียและยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้บ่งชี้ให้เห็นว่าสารสกัดไม่มีฤทธิ์ต้านเบาหวานที่ถูกชักนำด้วยสเตรปโตโซโตซิน



สาขาวิชาเภสัชวิทยา

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

SIRILAK KAMONWANNASIT : STUDY ON ANTIOXIDANT,
ANTIHYPERGLYCEMIC AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF
THE AQUEOUS EXTRACT OF *AQUILARIA CRASSNA* LEAVES. THESIS
ADVISOR : ASSOC. PROF. NUANNOI CHUDAPONGSE, Ph.D. 98 PP.

AQUILARIA CRASSNA/STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS/ANTIOXIDANT/
ANTIBACTERIAL/CELL WALL/ACUTE TOXICITY/ANTIDIABETIC

Agarwood or Krisana (Mai-Hom) is mainly produced by trees in the species of *Aquilaria* (family Thymelaeaceae). These plants are used for the production of incense and perfumes in Asia. It is also used as a traditional sedative, analgesic and digestive medicine throughout East Asia and China. The young leaves of cultivated *Aquilaria crassna* are widely used for production of Krisana health tea in Viet Nam, Cambodia and Thailand. It has been promoted by local manufacturers that agarwood tea possesses many pharmacological activities without any scientific evidences supporting the promotion. The main objectives of this study were to examine the antibacterial activity of the *A. crassna* leaf extract and its underlying mechanism. Anti-hyperglycemic action of the extract, as it is claimed, was also investigated. Moreover, phytochemical screening, antioxidant activity and acute toxicity were studied as well.

Phytochemical evaluation of *A. crassna* showed the presence of tannins, flavonoids, saponins, cardiacglycoside and phenolic compounds in the aqueous extract of *A. crassna* leaves. Antioxidant activities were examined by DPPH, ABTS, and FRAP scavenging methods. The results indicated that the extract exhibited quite considerable antioxidant activity compared to the standards, ascorbic acid and

butylated hydroxytoluene. By macro-dilution method, it was found that *Staphylococcus epidermidis* was susceptible to the extract with the MIC and MBC of 6 and 12 mg/ml, respectively. Morphological changes of the microbe were observed by scanning electron microscopy, while the inhibitory effect on biofilm formation was evaluated by phase contrast microscopic analysis. The extract not only caused swelling and distortion of bacterial cells but also inhibited bacterial biofilm formation. Rupture of bacterial cell wall occurred after treated with the extract for 24 h, observed by transmission electron microscopy. For anti-hyperglycemic examination, streptozotocin-induced diabetic rats were used. The results showed that after oral administration for 15 days, blood glucose level of the rats that received *A. crassna* leaves extract did not decrease compared to those of the groups that received glybenclamide, an antidiabetic drug. This result suggested that the aqueous extract of *A. crassna* leaves did not possess the hypoglycemic activity. Acute toxicity in mice was conducted in accordance with the OECD for Testing of Chemicals (2001) guidelines. It showed no sign of toxicity or death of the rats at the doses of 2,000 and 15,000 mg/kg body weight.

In conclusion, the aqueous extract of *A. crassna* leaves possesses an *in vitro* antibacterial activity against *S. epidermidis*, with no sign of acute oral toxicity in mice, probably by interfering with bacterial cell wall synthesis and inhibiting biofilm formation. However, the data from this study suggests that the extract does not have anti-diabetic activity induced by streptozotocin.

School of Pharmacology

Academic Year 2013

Student's Signature_____

Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____