

Kajian bioavailabiliti dan farmakokinetik dukung anak bagi menjamin rawatan herba yang berkesan (Bioavailability and pharmacokinetic studies of dukung anak towards guaranteeing effective herbal therapy)

Shazwan Abd Shukor

Pengenalan

Pada masa kini, pelbagai masalah kesihatan telah dihadapi oleh penduduk di serata dunia. Antaranya penyakit kardiovaskular dan diabetes yang menjadi punca utama kematian. Menurut Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO), lebih daripada 80% kematian di kalangan pesakit kardiovaskular dan diabetes dicatatkan di negara berpendapatan rendah dan sederhana. Peratusan ini menunjukkan bahawa kadar kematian di kalangan pesakit kardiovaskular dan diabetes sangat tinggi iaitu melebihi separuh daripada populasi pesakit-pesakit ini.

Menurut Pertubuhan Diabetes Antarabangsa (IDF) pula, empat daripada lima warga yang bekerja di negara membangun menghadapi penyakit diabetes. Tidak dinafikan terdapat pelbagai perubatan konvensional telah digunakan bagi tujuan mengawal penyakit ini. Namun, terdapat persoalan tentang kesan sampingan melalui penggunaan ubatan konvensional (statins) ini. Penggunaan statins telah dikaitkan dengan peningkatan kadar toksik kepada hati akibat peningkatan dalam penghasilan enzim hati. Oleh itu, menjadi satu keperluan untuk mencari sumber alternatif semula jadi daripada tumbuhan herba bagi mengurangkan kadar kolesterol dalam darah.

Sumber alternatif semula jadi ini adalah bagi menjamin kesihatan kardiovaskular yang juga dapat mengawal kadar gula dalam darah bagi mengawal diabetes. Secara menyeluruh, ramai yang memilih untuk kembali kepada penggunaan bahan sumber semula jadi dengan menggunakan suplemen herba untuk meningkatkan tahap kesihatan. Penggunaan bahan sumber semula jadi mampu mengurangkan risiko daripada pelbagai jenis penyakit terutamanya penyakit berkaitan kardiovaskular dan diabetes. Terdapat lambakan produk herba menembusi pasaran tempatan bagi tujuan perubatan alternatif. Antaranya adalah seperti misai kucing dan peria yang dapat menurunkan kadar gula dalam darah. Malah terdapat juga pelbagai produk herba lain yang juga dipromosikan bagi tujuan yang sama.

Bioavailabiliti adalah bidang kajian yang melibatkan pengenalpastian, kuantifikasi dan pengukuran kadar penyerapan kompaun daripada salur pemakanan badan ke dalam sistem sistemik tubuh. Bidang kajian ini lebih banyak menyentuh mengenai aspek penyerapan dalam satu proses yang lebih kompleks dinamakan farmakokinetik. Farmakokinetik adalah bidang kajian yang melibatkan proses penyerapan, penyebaran, metabolisme dan perkumuhan kompaun dalam sistem tubuh.

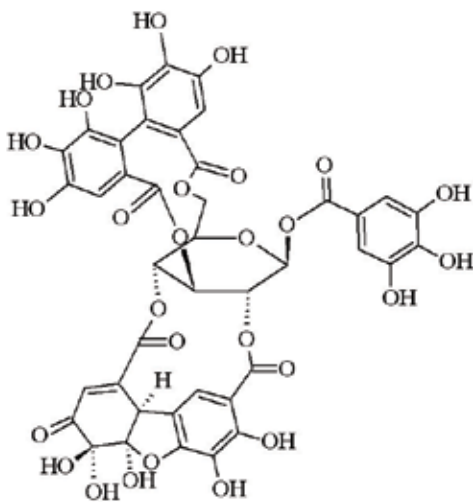
Bidang farmakokinetik menggambarkan perjalanan keseluruhan proses satu kompaun dari peringkat penyerapan hingga perkumuhan. Persamaannya adalah kedua-dua bidang kajian ini dapat dianalisis dengan menggunakan alat pemeriksaan *throughput* yang berprestasi tinggi seperti *liquid chromatography mass spectrophotometry/mass spectrophotometry* (LCMS/MS) di mana pengenalanpastian dan kuantifikasi kompaun ditentukan.

Pengambilan herba sebagai suplemen harian dapat membantu dalam pencegahan pelbagai penyakit. Namun, timbul pula isu mengenai keberkesanannya melalui penggunaan dos yang optimum. Ini bagi mengelak kemunculan kesan sampingan yang boleh mengganggu kesihatan. Oleh itu, kajian saintifik yang mendalam perlu dilaksanakan untuk tujuan seperti yang berikut:

- i) Mengenal pasti bahan aktif fitokimia yang berkepekatan tinggi dalam ekstrak
- ii) Menentukan kadar penyerapan, metabolisme dan perkumuhan fitokimia yang telah dikenal pasti
- iii) Mengenal pasti metabolit dan menentukan profil farmakokinetik fitokimia
- iv) Mengesahkan bioaktiviti metabolit secara *in vivo*

Profil fitokimia dukung anak

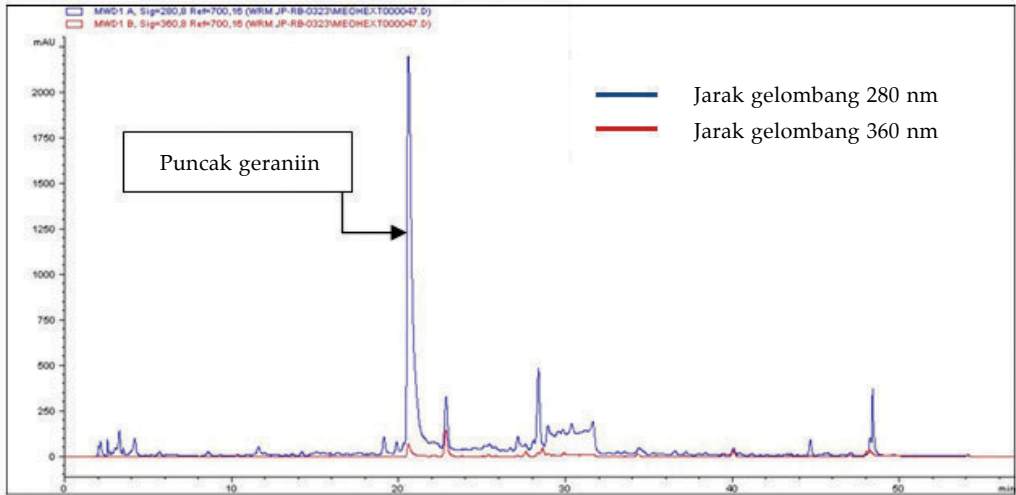
Kajian bioavailabiliti dan farmakokinetik telah dijalankan terhadap dukung anak daripada spesies *Phyllanthus watsonii*. Spesies ini dipilih daripada pelbagai spesies dukung anak yang lain atas dasar kandungan bahan bioaktif yang tinggi. Komponen-komponen aktif seperti geraniin, rutin, quercetin glukosid, korilagen, asid gallik, digalloylglukopironsid, asid kaffeoquinik dan amarin telah dijumpai dalam ekstrak dukung anak. Namun begitu, geraniin merupakan komponen aktif utama yang tergolong dalam kumpulan ellagitannin (*Gambar rajah 1*).



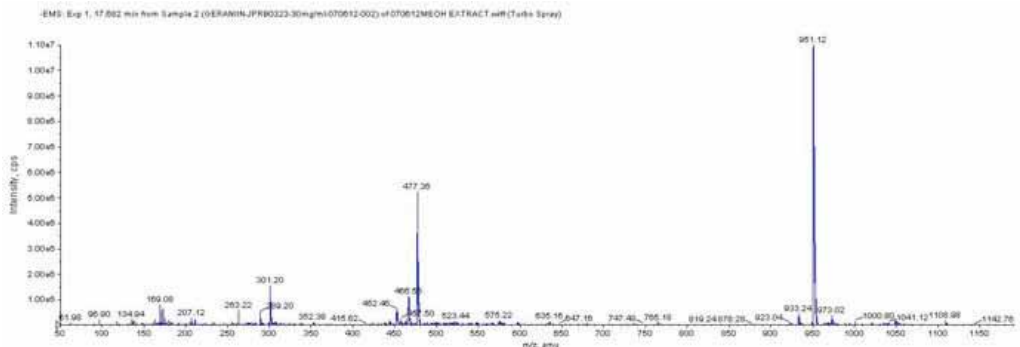
Gambar rajah 1. Struktur kimia geraniin

Ellagitannin dan pecahan metabolitnya mempunyai pelbagai fungsi yang berkaitan dengan kesihatan. Antaranya ialah antikanser, antimikrob dan antiradang. Aktiviti antiradang dan antioksidasi adalah penting untuk mengurangkan risiko penyakit kardiovaskular dan diabetes. Kajian yang dilaksanakan ini telah memberi banyak penekanan terhadap geraniin dan pecahan metabolitnya secara *in vivo* kerana ia mempunyai kebaikan dalam kesihatan.

daripada ekstrak metanol *P. watsonii* melalui kaedah kromatografi *flash*. *Rajah 1* memaparkan kromatogram ekstrak metanol *P. watsonii* yang menunjukkan kandungan geraniin telah dikenal pasti



Rajah 1. Kromatogram ekstrak metanol *Phyllanthus watsonii* melalui HPLC



Rajah 2. Identiti fragmentasi geraniin (m/z : 951, 301, 463, 169) melalui LCMS/MS

sebagai kandungan yang tertinggi berbanding dengan fitokimia lain. Selanjutnya, LCMS/MS telah digunakan untuk mengenal pasti sebatian geraniin (Rajah 2).

Kajian antioksidan *in vivo* terhadap tikus

Geraniin pada dos 35 mg/tikus telah diberi secara oral kepada tikus *Sprague-Dawley* (berat lebih kurang 300 g). Daripada pengekstraksian metabolit dan analisis LCMS/MS sampel darah dan air kencing, didapati sebatian geraniin dimetabolismekan kepada sembilan metabolit iaitu urolithin A, urolithin B, urolithin C, urolithin D, di-*O*-methylurolithin, hydroxyurolithin B, urolithin B glucuronide, methylurolithin A dan urolithin D glucuronide.

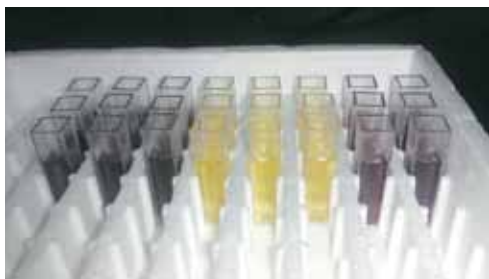
Kajian antioksidan dijalankan di mana asai antioksidan DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) pada gelombang 515 nm ditentukan bagi membuktikan aktiviti antioksidan dalam sampel air kencing. Aktiviti antioksidan sangat ketara dalam sampel air kencing khususnya selepas 4 jam diberikan dos 35 mg/tikus (Gambar 1). Data menunjukkan geraniin atau metabolitnya memberi kesan kepada aktiviti antioksidan secara *in vivo* yang tinggi. Ini membuktikan

bahawa geraniin telah diserap dalam darah dan mengalami proses metabolisme dan perkumuhan.

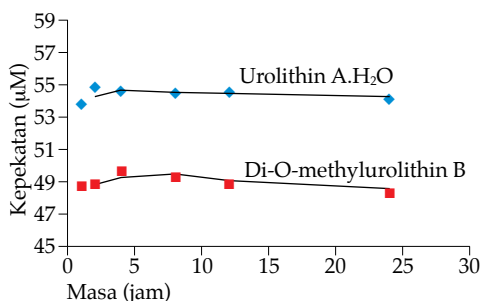
Profil bioavailabiliti dan farmakokinetik

Kajian profil farmakokinetik terhadap sampel plasma dan air kencing tikus yang telah diberi dos geraniin telah dikaji (Rajah 3, 4 dan 5). Kajian ini menunjukkan bahawa geraniin telah dimetabolismekan kepada sembilan metabolit antara 2 – 24 jam dalam sampel plasma dan air kencing tikus.

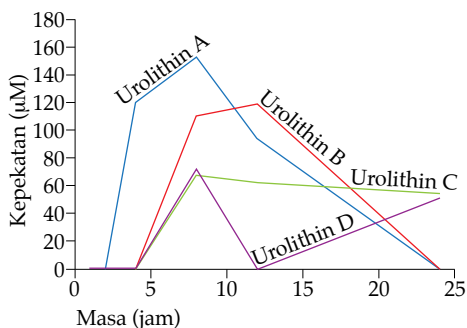
Penemuan penting dalam kajian ini adalah berdasarkan peratusan kadar penyerapan geraniin ke dalam sistem tubuh yang dapat ditentukan melalui jumlah kepekatan metabolit metabolisme geraniin yang berjaya dikenal pasti dalam darah (plasma) dan air kencing tikus kepada kepekatan geraniin yang diberi secara oral. Secara puratanya, kadar penyerapan metabolit geraniin adalah sebanyak 1.6%. Geraniin tidak dapat dikenal pasti dalam darah mahupun air kencing.



Gambar 1. Larutan bertukar daripada warna ungu kepada kuning dengan kehadiran antioksidasi



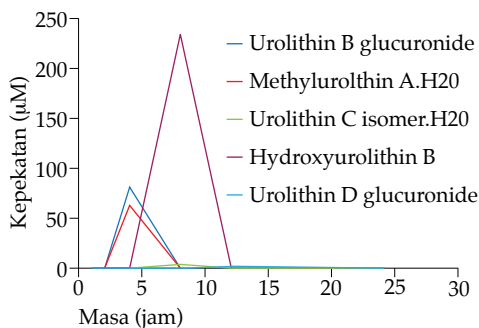
Rajah 3. Kepekatan pecahan geraniin (urolithins) yang dikenal pasti dalam sampel plasma



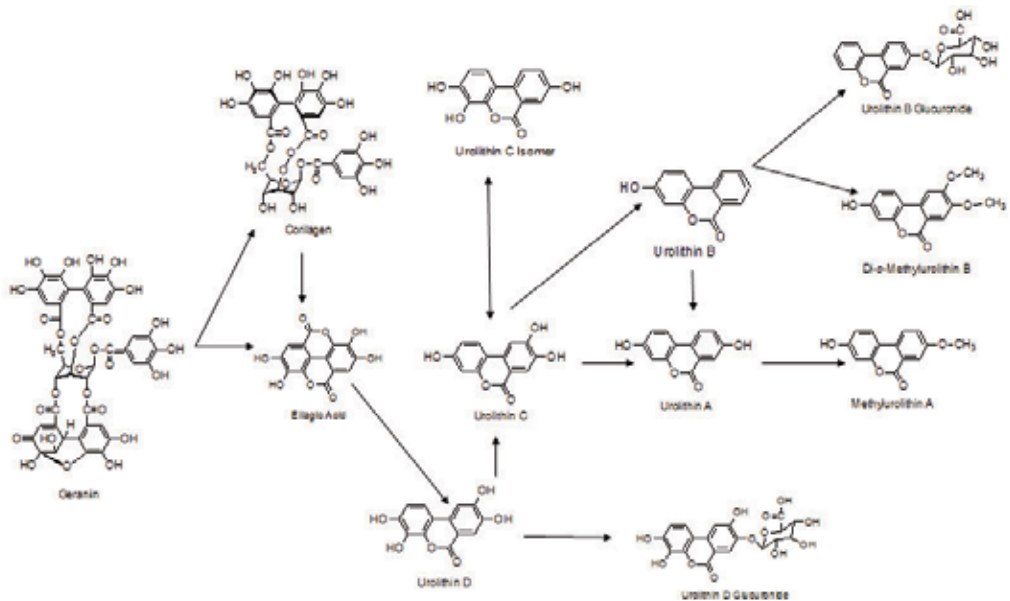
Rajah 4. Kepekatan pecahan geraniin (urolithins) yang dikenal pasti dalam sampel air kencing

Geraniin dimetabolisme kepada korilagin dan seterusnya kepada asid ellagik dan urolithin oleh mikrobiota yang terdapat di dalam salur pemakanan. Metabolit yang telah dipecahkan diserap masuk ke dalam saluran darah melalui dinding salur pemakanan. Di dalam salur darah, metabolit didistribusi dan bergabung dengan molekul seperti metil dan glukuronid melalui proses metabolisme. Gabungan proses-proses ini dipanggil farmakokinetik dan proses katabolisme ini ditunjukkan seperti dalam

Gambar rajah 2.



Rajah 5. Kepekatan pecahan geraniin (urolithins) yang dikenal pasti dalam sampel air kencing



Gambar rajah 2. Pecahan geraniin melalui kajian *in vivo* ini menghasilkan urolithin A, urolithin B, urolithin C dan urolithin D

Kesimpulan

Pengenalpastian dan bioaktiviti metabolit urolithin daripada geraniin secara *in vivo* memainkan peranan yang signifikan dalam memastikan manfaat kesihatan sebenar ekstrak herba. Geraniin bersaiz molekul besar (MW: 952) tidak dapat diserap secara terus ke dalam dinding saluran pencernaan. Oleh itu, hanya urolithin yang akan bertindak ke organ sasaran dan seterusnya mempamerkan bioaktivitinya.

Urolithin telah dikenal pasti mempunyai aktiviti antioksidan secara *in vivo* yang tinggi dan secara langsung menunjukkan urolithin memainkan peranan yang penting dalam sistem pertahanan badan terhadap radikal bebas yang terlibat dalam penyakit degeneratif seperti diabetik dan kardiovaskular.

Penemuan kajian ini dapat membantu industri herba melalui peningkatan pengetahuan sains terhadap keberkesanan fungsi herba kepada kesihatan. Kajian ini juga dapat mengenal pasti penanda kimia yang efisien dalam menetapkan piawaian ekstrak herba yang kini merupakan salah satu masalah utama yang dihadapi oleh industri herba di Malaysia. Pempiawaian herba ini amat penting untuk menembusi dan bersaing secara kompetitif dalam pasaran antarabangsa.

Bibliografi

- De Vries, H. (2011). Raised liver enzymes in patients taking statins. *Lancet* 377 (9771): 1075
- Landete, J.M. (2011) Ellagitannins, ellagic acid, and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International* 44(5): 1150 – 1160

- Larrosa, M., Garcia-Conesa, M.T., Espin, J.C. dan Tomas-Barberan, F.A. (2010). Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. *Molecular Aspects of Medicine* 31: 513 – 539
- Matheka, D.M., Alkizim, F.O., Kiama, T.N. dan Bukachi, F. (2012). Glucose-lowering effects of *Momordica charantia* (Karela) extract in diabetic rats. *African Journal of Pharmacology and Therapeutics* 1(2): 62 – 66
- Mohamed, E.A.H., Mohamed, A.J., Asmawi, M.Z., Sadikun, A., Ebrika, O. dan Yam, M.F. (2011). Antihyperglycemic effect of *Orthosiphon stamineus* benth leaves extract and its bioassay-guided fractions. *Molecules* 16: 3787 – 3801
- Yuan, T., Ding, Y., Wan, C., Li, L., Xu, J., Liu, K., Slitt, A., Ferreira, D., Khan, I. dan Seeram, N.P. (2012). Antidiabetic ellagitannins from pomegranate flowers: Inhibition of α -glucosidase and lipogenic gene expression. *Org. Lett.* 14(20): 5358 – 5361

Ringkasan

Penyakit kardiovaskular dan diabetes merupakan penyakit yang semakin mendapat perhatian di seluruh dunia. Penambahan bilangan kes penyakit ini yang semakin meningkat dalam kalangan penduduk yang bekerja di negara membangun sangat membimbangkan. Penggunaan ubatan secara konvensional bagi mengawal penyakit ini telah diguna pakai secara amnya. Namun, dalam kebanyakan kes, ubatan ini mempunyai kesan sampingan. Para saintis telah giat untuk mengenal pasti terapi alternatif daripada sumber herba bagi mengawal penyakit degeneratif seperti kardiovaskular dan diabetes. Dukung anak (*Phyllanthus watsonii*) ialah herba yang dipilih untuk kajian ini kerana ia berpotensi dalam menunjukkan kesan anti-kardiovaskular dan anti-diabetik. Daripada profil kimia, didapati bahawa geraniin (sejenis ellagitannin) merupakan metabolit aktif yang terdapat pada kepekatan tinggi dalam dukung anak. Keputusan kajian bioasai menunjukkan ekstrak dukung anak mempunyai aktiviti antikolesterol dan antidiabetik. Untuk membuktikan geraniin ialah bahan bioaktif, ia perlu diserap dan dijadikan *bioavailable* pada sistem tubuh. Kajian bioavailabiliti dan farmakokinetik telah dijalankan untuk menilai kadar penyerapan, metabolisme dan perkumuhannya dalam sistem tubuh. Geraniin akan dimetabolismekan secara *in vivo* kepada metabolit kecil yang telah dikenal pasti sebagai urolithin. Berdasarkan penemuan sains, urolithin telah dibuktikan mempunyai aktiviti antiinflamasi dan antioksidasi. Justeru, ini menyokong fakta bahawa geraniin ialah penanda kimia bioaktif dalam dukung anak. Maklumat ini juga boleh digunakan untuk mendapatkan dos yang berkesan dan selamat untuk digunakan bagi menjamin rawatan herba yang efektif.

Summary

Diabetes and cardiovascular disease are becoming more prevalent around the world. The trend in number of people contacting this disease is in the rise especially among the communities of the developing nation. To-date conventional drugs are being used to control these diseases. However, in many cases, these drugs have been reported to exhibit side effects. Therefore, scientists are constantly looking for alternative therapies from herbal sources to control the above degenerative diseases. One potential herb that has anti-cardiovascular and anti-diabetic properties is dukung anak (*Phyllanthus watsonii*). From the chemical profile of dukung anak, geraniin (a type of ellagitannin) was discovered to be present in significantly high amounts. Previous bioassay studies reveal that the dukung anak extract possess anticholesterol and antidiabetic activities. To proof that the geraniin is the bioactive ingredient in dukung anak, this metabolite has to

be absorbed and become bioavailable to the body to exert its bioactivity. Bioavailability and pharmacokinetic studies which include accessing the rate of absorption, metabolism and excretion in the body system are important study components of any herbal remedies. Geraniin will be metabolised *in vivo* into small metabolite which is known as urolithin. According to science findings, urolithin has been proven to possess anti-inflammation and antioxidant properties. Thus, this supports the fact that geraniin acts as an active biochemical marker in dukung anak. These information can also be used to obtain an effective and safe dosage to generate promising and guaranteed herbal therapy.

Pengarang

Shazwan Abd Shukor

Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,

Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur

E-mel: shazwan@mardi.gov.my