

ผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อการป้องกัน  
ความเป็นพิษในเซลล์ตับเมื่อได้รับพาราเซตามอล

นางสาวภัทราพร กำเนิดสิทธิเสรี

นางสาวอารีย์รัตน์ ชุณหะชา

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2560

THE HEPATOPROTECTIVE OF *Thunbergia laurifolia*  
LEAF EXTRACT ON HEPATOCYTES TREATED WITH  
PARACETAMOL

MISS PATTRAPHORN KAMNIRDSITTISEREE

MISS AREERAT CHUNHACHA

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY  
FACULTY OF PHARMACY  
MAHIDOL UNIVERSITY

2017

โครงการพิเศษ

เรื่อง ผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อการป้องกันความเป็นพิษในเซลล์ตับเมื่อ  
ได้รับพาราเซตามอล

ลายเซ็น

.....  
(นางสาวภัทราพร กำเนิดสิทธิเสรี)

ลายเซ็น

.....  
(นางสาวอารีย์รัตน์ ชุณหะชา)

ลายเซ็น

.....  
(ผศ.ดร. คณิสส์ เสงี่ยมสุนทร)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ลายเซ็น

.....  
(อ.ดร. ปัทมพรรณ โลมะรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

### ผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อการป้องกันความเป็นพิษในเซลล์ตับเมื่อได้รับพาราเซตามอล

ภัทรพร กำเนิดสิทธิเสรี, อารีรัตน์ ชุณหะชา

อาจารย์ที่ปรึกษา: ผศ.ดร. คณิสส์ เสงี่ยมสุนทร, อ.ดร. ปัทมพรรณ โลมะรัตน์

ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ: paracetamol-induced hepatotoxicity, *Thunbergia laurifolia* leaf extract, hepatoprotective, hepatocyte-liked cell, HepaRG

พาราเซตามอลเป็นยาลดไข้ แก้อักเสบที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน แต่หากได้รับยาเกินขนาดอาจก่อให้เกิดเมตาบอลไลต์ที่เป็นพิษ เช่น NAPQI ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระ สมุนไพรรางจืดเป็นสมุนไพรที่นิยมใช้ในการถอนพิษรวมถึงมีการศึกษาบางการศึกษาพบว่าสารสำคัญในใบรางจืดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งอาจให้ผลดีในการปกป้องเซลล์ตับจากพิษจากการใช้พาราเซตามอลเกินขนาด

เพื่อทดสอบผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อการต้านพิษจากการได้รับพาราเซตามอลเกินขนาด นำพาราเซตามอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ บ่มร่วมกับเซลล์ตับ ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่ทำให้เซลล์ตาย 50% (IC50) ของเซลล์คล้ายเซลล์ตับเท่ากับ 15 mM (hepatocyte-like cells: HLCs) และ 10 mM สำหรับเซลล์มะเร็งตับ HepaRG และความเข้มข้นของสารสกัดจากใบรางจืด 0.25-0.50 mg/mL มีแนวโน้มลดอัตราการตายจากผลการต้านพิษได้ดีเมื่อให้พาราเซตามอลพร้อมกับสารสกัดจากใบรางจืด

เมื่อศึกษาการแสดงออกของยีนในเซลล์ตับเมื่อบ่มร่วมกับพาราเซตามอลภายใต้สภาวะดังกล่าวด้วยวิธี real-time PCR พบว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กลูตาไธโอนในเซลล์ HLC มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น ส่วนเซลล์ HepaRG มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ในขณะที่ยีนที่เกี่ยวข้องเอนไซม์ในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ทั้ง 2 ชนิดมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย รวมถึงเมื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูตาไธโอนในเซลล์ทั้ง 2 ชนิดพบว่าปริมาณลดลง เช่นเดียวกับฤทธิ์ของเอนไซม์ GST

อนึ่งการศึกษานี้ศึกษาเพียงผลของสารสกัดจากใบรางจืดซึ่งสกัดด้วยน้ำร้อนและทำให้แห้งโดยวิธีสเปรย์ไดร์ (spray dry) และใช้กาแฟกเป็นสารมาตรฐานแต่อาจมีสารสำคัญอื่นรวมอยู่ด้วย

## Abstract

# THE HEPATOPROTECTIVE OF *Thunbergia laurifolia* LEAF EXTRACT ON HEPATOCYTES TREATED WITH PARACETAMOL

Pattraphorn Kamnirdsittiseree, Areerat Chunhacha

Project Advisor: Khanit Sa-ngiamsuntorn\*, Pattamapan Lomarat\*\*

\* Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

\*\* Department of Food chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword: paracetamol-induced hepatotoxicity, *Thunbergia laurifolia* leaf extract, hepatoprotective, hepatocyte-liked cell, HepaRG

Paracetamol is widely used as antipyretics and analgesics. However, paracetamol overdose may generate toxic metabolites such as NAPQI, an oxidative agent. *Thunbergia laurifolia* is a medicinal plant that commonly used as antidote for toxic substances. The recent studies revealed that *Thunbergia laurifolia* leaf extract's has an antioxidant activity that could protect against paracetamol induced toxicity in hepatocytes.

To evaluate the antioxidant activity of *Thunbergia laurifolia* leaf extract that associated with paracetamol toxicity. We incubated hepatocytes with various concentrations of paracetamol. The results demonstrated that IC<sub>50</sub> in hepatocyte-like cells (HLCs) and HepaRG were 15 mM and 10 mM respectively. In HepaRG, *Thunbergia laurifolia* leaf extract showed hepatoprotective effect on cell viability at the concentration range 0.25-0.50 mg/mL after incubated paracetamol with *Thunbergia laurifolia* leaf extract.

The antioxidant genes expression of hepatocytes after treated with paracetamol and *Thunbergia laurifolia* leaf extract using real-time PCR technique showed that glutathione synthetic genes were increased in HLC and slightly increase in HepaRG. The antioxidative enzyme involved genes were slightly increased in both cells. Glutathione content was decreased in both cells same as GST enzyme activities.

However, this study used only leaf water extracted and spray dried of *Thunbergia laurifolia* using caffeic acid as a reference compound.