

กิตติพนัน สิริชัยเวชกุล :ฤทธิ์ของชากระทาเกลือในการยับยั้งกระบวนการสร้างไขมันในเซลล์ 3T3-L1 และการยับยั้งภาวะน้ำตาลและไขมันสูงในเลือดในหนูไมซ์ (THE EFFECTS OF *PLUCHEA INDICA* (L.) TEA ON ANTI-ADIPOGENESIS IN 3T3-L1 CELLS, ANTI-HYPERGLYCEMIC, AND ANTI-HYPERLIPIDEMIC ACTIVITIES IN MICE)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ เกศจักร ดร.เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ, 144 หน้า.

การศึกษาในครั้งนี้ขึ้นเพื่อวิจัยผลของชากระทาเกลือ (*Pluchea indica* (L.) Less.) ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งการสร้างไขมัน (anti-adipogenesis) ในเซลล์ 3T3-L1 ผลต่อเอนไซม์ไลเปสในตับอ่อน และการยับยั้งความผิดปกติของไขมันในเลือดของหนูไมซ์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะความผิดปกติของไขมันในเลือดด้วยอาหารไขมันสูง ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS), Hypochlorous acid (HOCl), Nitric oxide, Peroxynitrite และฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันต่อแอลดีแอล-คอเลสเตอรอลซึ่งได้มาจากการสกัดจากเลือดของอาสาสมัครสุขภาพดี พบว่าชากระทาเกลือ นั้นสามารถต่อต้านสารอนุมูลอิสระในทุกการทดลองได้เป็นอย่างดี ความสามารถมีชีวิตของเซลล์ 3T3-L1 ไม่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับชากระทาเกลือขนาด 200 ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$) ชากระทาเกลือที่ขนาด 750 ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรส่งผลให้การสะสมของไขมันในเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ชากระทาเกลือที่ขนาด 250 ถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลยับยั้งเอนไซม์ไลเปสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ผลจากการวิเคราะห์ด้วยเอฟทีไออาร์แสดงให้เห็นว่าพื้นที่ใต้กราฟรวมของไขมัน โปรตีน กรดนิวคลีอิก โกลโคเจน และคาร์โบไฮเดรตของเซลล์ 3T3-L1 ที่ได้รับชากระทาเกลือ นั้นน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับชากระทาเกลืออย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้จากการทดสอบความทนทานต่อน้ำตาลกลูโคสในหนูไมซ์พบว่าหนูที่ได้รับชากระทาเกลือที่ขนาด 400 และ 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นั้น แสดงให้เห็นถึงผลในการป้องกันภาวะน้ำตาลในเลือดสูงอย่างมีนัยสำคัญโดยการป้องกันดีขึ้นเมื่อขนาดของชามากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับชากระทาเกลือ นอกจากนี้หนูที่ได้รับชากระทาเกลือที่ขนาด 400 และ 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละ 1 ครั้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์สามารถป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูงและภาวะอ้วนที่เกิดจากการเหนี่ยวนำจากอาหารที่มีไขมันสูงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับชากระทาเกลือ นอกจากนี้การวิเคราะห์ทางเนื้อเยื่อ โดยการย้อมเซลล์ไขมันด้วยสีสีมาทอกไซลินและสีอีโอซินแสดงให้เห็นว่าหนูที่ได้รับชากระทาเกลือ นั้นจะมีขนาดของเซลล์ไขมันลดลงและจำนวนของเซลล์ไขมันต่อฟิลด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การทดสอบความเป็นพิษของชาต่อหนูไมซ์พบว่าค่า

เอนไซม์อะลานิน อะมิโนทรานส์เฟอเรส เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ครีเอทีนีน จำนวนเม็ดเลือดแดง จำนวนเม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด และน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์หลังจากได้รับชากระทาเกลือที่ขนาด 400 และ 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละ 1 ครั้งเป็น เวลา 4 สัปดาห์ นั้นไม่มีความแตกต่างระหว่างค่าพารามิเตอร์เหล่านี้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การหาปริมาณของสารออกฤทธิ์สำคัญในชานั้นได้มีการใช้เครื่องลิวิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (LC-MS/MS) วิเคราะห์และแยกสารสำคัญของชากระทาเกลือ ซึ่งพบว่ามีสาร 4-O-caffeoylquinic acid (4-CQ), 5-O-caffeoylquinic acid (5-CQ), 3,4-O-dicaffeoylquinic acid (3,4-CQ), 3,5-O-dicaffeoylquinic acid (3,5-CQ) และ 4,5-O-dicaffeoylquinic acid (4,5-CQ) เป็นองค์ประกอบหลัก โดยสรุปแล้ว การค้นพบของเราเป็นหลักฐานว่าชากระทาเกลือมีความปลอดภัยและมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นเครื่องดื่มสำหรับต้านอนุมูลอิสระหรือเป็นยารักษาโรค ซึ่งสามารถใช้ในการป้องกันภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ไขมันในเลือดสูง และโรคอ้วน



สาขาวิชาปรีคลินิก
ปีการศึกษา 2561

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

KITTIPOT SIRICHAIWETCHAKOON : THE EFFECTS OF *PLUCHEA INDICA* (L.) TEA ON ANTI-ADIPOGENESIS IN 3T3-L1 CELLS, ANTI-HYPERGLYCEMIC, AND ANTI-HYPERLIPIDEMIC ACTIVITIES IN MICE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. GRIANGSAK EUMKEB, Ph.D. 144 PP.

PLUCHEA INDICA / ADIPOGENESIS / 3T3-L1 CELLS / FTIR
MICROSPECTROSCOPY / DYSLIPIDEMIA / MICE / ANTI-OXIDATION / ANTI-LDL OXIDATION

The present study focused on the effect of *Pluchea indica* (L.) Less. tea on free radical scavenging activity, anti-adipogenesis in 3T3-L1 cells, activity on pancreatic lipase and anti-dyslipidemia in high-fat-diet-induced mice. The 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS), Hypochlorous acid (HOCl), Nitric oxide, Peroxynitrite scavenging activities and the scavenging activities of Copper (Cu^{2+}), Azobis hydrochloride (AAPH), 3-Morpholinosydnonimine hydrochloride (SIN-1) induced LDL oxidation which isolated from a healthy volunteer were performed. *P. indica* (L.) Less. tea exhibited good antioxidant activity in all test systems. The viability of 3T3-L1 cells was not significantly decreased after exposure to 200 to 1000 $\mu\text{g/ml}$ *P. indica* (L.) Less. tea compared to controls ($p > 0.05$). The *P. indica* (L.) Less. tea at 750 to 1000 $\mu\text{g/ml}$ exhibited a significantly reduced lipid accumulation compared to the control ($p < 0.05$). The inhibitory effects of the *P. indica* (L.) Less. tea at 250 to 1000 $\mu\text{g/ml}$ on lipase activity were significantly increased compared to control ($p < 0.05$). The FTIR results showed that the integrated areas of lipids, proteins, nucleic acids, glycogen and

carbohydrates of the *P. indica* (L.) Less. tea-treated 3T3-L1 adipocytes were significantly lower than the untreated 3T3-L1 adipocytes ($p < 0.05$). In addition, Oral glucose tolerance test (OGTT) in mice was performed and *P. indica* (L.) Less. tea at 400 and 600 mg/kg/d orally showed prevention of hyperglycemia with dose-dependent manner compared with the untreated group. Moreover, oral administration of *P. indica* (L.) Less. tea at 400 and 600 mg/kg once daily for 4 weeks could protect dyslipidemia and obesity from high fat diet induction with a dose-dependent manner when compared to the untreated group. Furthermore, histological analysis expressed that *P. indica* (L.) Less. tea treated group significantly reduced adipocyte size and increased number of adipocytes per field of Hematoxylin & Eosin stained perigonadal fat tissue. Toxicity of the tea was investigated, and the results revealed that ALT, ALP, Creatinine, RBC, WBC, Platelet and relative organ weight after feeding *P. indica* (L.) Less. tea at 400 and 600 mg/kg/d orally once daily for 4 weeks did not affect these parameters compared with the control group. *P. indica* (L.) Less. tea was identified and quantified the main active ingredients by LC-MS/MS technique. *P. indica* (L.) Less. tea was found 4-O-caffeoylquinic acid (4-CQ), 5-O-caffeoylquinic acid (5-CQ), 3,4-O-dicaffeoylquinic acid (3,4-CQ), 3,5-O-dicaffeoylquinic acid (3,5-CQ) and 4,5-O-dicaffeoylquinic acid (4,5-CQ). In conclusion, our findings provide evidence that *P. indica* (L.) Less. tea is safe, has potentials to develop to be antioxidant beverage or medicine, and use to prevent hyperglycemia, hyperlipidemia, and obesity.

School of Preclinic

Academic Year 2018

Student's Signature

Advisor's Signature

