

ธนาภรณ์ เสงประถม : ผลของสารสกัดสมุนไพรบางชนิดต่อกระบวนการยับยั้งการสร้างไขมันในเซลล์ 3T3-L1 (THE EFFECTS OF SELECTED MEDICINAL PLANT EXTRACTS ON ANTI-ADIPOGENESIS OF 3T3-L1 CELLS)

อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ เกษัชกร ดร.เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ, 198 หน้า.

ภาวะโรคอ้วนเป็นปัญหาหลักทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญทั่วโลก ภาวะโรคอ้วนสามารถบ่งชี้ได้จากการเพิ่มจำนวนและขนาดของเซลล์ไขมันเต็มวัย (แอดิโพไซต์) ที่พัฒนามาจากเซลล์ไขมันต้นกำเนิด (พรีแอดิโพไซต์) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบฤทธิ์การยับยั้งกระบวนการสร้างและพัฒนาไปเป็นเซลล์ไขมันโดยใช้เซลล์ชนิด 3T3-L1 ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ 1) เพกา (*Oroxylum indicum*) 2) อบเชยเทศ (*Cinnamomum verum*) 3) ย่านาง (*Tiliacora triandra*) และ 4) เสาวรส (*Passiflora edulis*) โดยสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ที่ดีที่สุดในการยับยั้งกระบวนการพัฒนาไปเป็นเซลล์ไขมันชนิด 3T3-L1 จะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปวิจัยต่อไป รวมถึงศึกษากลไกการออกฤทธิ์และตรวจหาสารประกอบทางเคมีที่สำคัญ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการพัฒนาไปเป็นเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ชนิด 3T3-L1 โดยพบว่าสารสกัดจากเพกา (OIE) ที่ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 50 ถึง 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดีที่สุด โดยความเข้มข้นในช่วงนี้ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้การลดลงของระดับการสร้างไขมันในเซลล์ 3T3-L1 ที่ถูกใส่สารสกัดจากเพกา ได้รับการยืนยันจากการทดสอบด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FTIR) จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากเพกา ด้วยเทคนิค LC-MS และ GC-MS พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (ได้แก่ ไบคาไลน์) และไฟโตสเตอรอล (ได้แก่ แกมมา ซิโตสเตอรอล) เป็นองค์ประกอบหลัก การศึกษากลไกการยับยั้งกระบวนการพัฒนาไปเป็นเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ได้ทำการศึกษาโดยการตรวจสอบการแสดงออกของยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการพัฒนาไปเป็นเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ วัฏจักรเซลล์ การเผาผลาญกลูโคสและกิจกรรมของไมโทคอนเดรีย ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเพกาที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการแสดงออกของเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการพัฒนาไปเป็นเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ รวมถึง PPAR γ 2 และ SREBP-1c นำไปสู่การลดลงของการหลั่งเอนไซม์ Fatty acid synthetase (FAS) และ อดิโปเนคติน (adiponectin) นอกจากนี้ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันนี้พบว่าสารสกัดจากเพกา สามารถทำให้การดำเนินของวัฏจักรเซลล์ไปสู่ระยะ G2/M ช้าลงและซีดีเคสอง (Cdk2) ลดลง ยิ่งไปกว่านั้นการทดลองพบว่าสารสกัดจากเพกา สามารถลดปฏิกิริยาฟอสโฟริ

เลขชั้นของโปรตีนตัวรับอินซูลิน ชนิดที่ 1 และ 2 (IRS1 และ IRS2) ส่งผลให้การรับกลูโคสเข้าเซลล์ และการแสดงออกของ GLUT4 ในวันที่ 12 ของการทดลองลดลงด้วย ในการทดลองศักย์ไฟฟ้าของ เยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย (MMP) พบว่า สารสกัดจากเพกาททำให้ระดับ MMP ในเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ที่ได้รับสารสกัดเพกา มีค่าสูงขึ้นและต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญกว่าเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ที่ได้รับสารสกัดเพกา ที่เวลา 24 ชั่วโมงและวันที่ 12 ของการทดลองตามลำดับ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตาม ในวันที่ 12 ของการทดลองยังพบว่าเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ที่ได้รับสารสกัดเพกา มีระดับ MMP สูงกว่าในขณะที่ระดับเอทีพี (ATP) ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัดเพกา ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) พบว่าสารสกัดเพกาสามารถปกป้องการเสียหายของไมโทคอนเดรียในเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไมโทคอนเดรียยังคงเหมือนกับในเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ เมื่อเทียบกับเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ที่ไม่ได้รับสารสกัดเพกา โดยสรุปแล้วการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดจากเพกามีฤทธิ์ต่อต้านกิจกรรมของ กระบวนการสร้างและพัฒนาไปเป็นเซลล์ไขมันผ่านปัจจัยที่ช่วยเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมันแอดิโพไซต์ ได้แก่ การยับยั้งวงจรของเซลล์และลดการเกิด phosphorylation ของ kinase ยิ่งไปกว่านั้น สารสกัดจากเพกายังสามารถเพิ่มกิจกรรมของไมโทคอนเดรียได้อีกด้วย ดังนั้น สารสกัดจากเพกา จึงมีศักยภาพสูงในการพัฒนาในอนาคตเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ ยาสมุนไพรหรือยาแผนปัจจุบัน สำหรับการป้องกันและรักษาภาวะไขมันในเลือดสูงและโรคอ้วน

สาขาวิชาปริคลินิก

ปีการศึกษา 2561

ลายมือชื่อนักศึกษา ชนภรณ์ ไข่งประดม

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา IN

TANAPORN HENGPRATOM : THE EFFECTS OF SELECTED
MEDICINAL PLANT EXTRACTS ON ANTI-ADIPOGENESIS OF
3T3-L1 CELLS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. GRIANGSAK
EUMKEB, Ph.D. 198 PP.

*OROXYLUM INDICUM/CINNAMOMUM VERUM/TILIACTORA TRIANDRA/
PASSIFLORA EDULIS/CELL VIABILITY/ANTI-ADIPOGENESIS/3T3-L1
ADIPOCYTES*

Obesity is a major public health threat worldwide. It is characterized by an increase in the number and size of adipocytes. The present study aimed to screen the inhibitory effects of 4 selected medicinal plant extracts including 1) *Oroxylum indicum* (*O. indicum*), 2) *Cinnamomum verum* (*C. verum*), 3) *Tiliacora triandra* (*T. triandra*), and 4) *Passiflora edulis* (*P. edulis*) on adipogenesis using 3T3-L1 cells. The extract demonstrated the highest inhibitory effect on the development of 3T3-L1 adipocytes was chosen for further investigations. These consisted of determining the phytochemicals composition and mechanism of action. The results suggested that all of 4 selected medicinal plant extracts had anti-adipogenesis effects, but the most significant inhibitory effect was in *O. indicum extract* (OIE) at a concentrations of 50 to 200 µg/mL with no effect on the viability of 3T3-L1 cells. The reduction of lipid level in 3T3-L1 cells treated with OIE was confirmed by FTIR. The results from LC-MS and GC-MS revealed that the major phytochemical composition in OIE was composed of flavonoid (baicalein) and phytosterol (γ -sitosterol). The mechanism of action on anti-adipogenesis activity was evaluated through the study of adipogenic

transcription, cell cycle, glucose metabolism, and mitochondria activity. The OIE at 200 µg/mL inhibited adipogenic mRNA expression, including PPAR γ 2 and SREBP-1c led to decrease fatty acid synthetase (FAS) enzyme and adiponectin secretion. Also, the cell cycle transition to the G2/M phase was delayed and Cdk2 was decreased by OIE at this concentration. Furthermore, OIE decreased the phosphorylation of insulin receptor substrate 1 and 2 (IRS1 and IRS2) resulted in a decrease in glucose uptake level and GLUT4 expression at day 12. In mitochondrial activity experiment, the mitochondria membrane potential (MMP) level of OIE-treated differentiated cells was significantly higher, whereas lower than OIE-treated non-differentiated cells at 24 h and day 12 respectively ($P < 0.05$). Also, OIE-treated differentiated cells exhibited significantly higher MMP level, whereas lower ATP level compared to the untreated differentiated group at day 12, respectively. Transmission electron microscope results revealed that OIE could protect mitochondria deformation of differentiated cells, entirely similar to pre-adipocytes, compared to the untreated group. In summary, these findings provide evidence that OIE has anti-adipogenesis activity through adipogenic transcriptional factors, cell cycle inhibition, and decrease kinase phosphorylation. Furthermore, OIE can also improve mitochondria activity. Therefore, OIE exhibits a high potential for future development to be a novel health food supplement, herbal medicine, or modern drug for the prevention and treatment of hyperlipidemia and obesity.

School of Preclinic

Academic Year 2018

Student's Signature

T. Hengpratom

Advisor's Signature

G. Eumkeb