51355201 : MAJOR : BIOPHARMACEUTICAL SCIENCES
KEY WORDS : *SONNERATIA CASEOLARIS*/ ANTIOXIDATIVE ACTIVITY/
HEPATOPROTECTIVE EFFECT/ ETHANOL

NIN PRAPONGSENA: ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF SEED EXTRACT *FROM SONNERATIA CASEOLARIS* AGAINST ETHANOL INDUCING HEPATOTOXICITY IN HEPG2 CELL. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. JUREE CHAROENTEERABOON, Ph D.. 115 pp.

Ethanol induces hepatotoxicity by generating free radicals that cause cell injury and cell death. Preliminary studies reported that several plant extracts can prevent free radicals causing cell damage. This study intended to investigate the hepatoprotective and the antioxidative activities of methanolic seed extract of *S. caseolaris* in human hepatocarcinoma (HepG2) cell culture that the cellular injury was induced by ethanol. The hepatoprotective effect of *S. caseolaris* seed extract on HepG2 cells treated with 1.7 M ethanol showed that the extract at the concentration of 10 to 30 µg/mL could incerase the number of cell survival measured by MTT assay and could reduce the number of cell injury measured by LDH leakage assay. Next, the antioxidative effects were analyzed against lipid peroxidation induced by 250 mM ethanol and hTNF-α secretion by 500 mM ethanol using TBARs assay and ELISA, respectively.. The results showed that treatment with 30 µg/mL of the extract significantly reduced the lipid peroxidation and the hTNF-α secretion. The hepatoprotective mechanisms of 10-30 µg/mL *S. caseolaris* extract against 500 mM ethanol were investigated by measuring activities of intracellular antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) and intracellular GSH level using spectrophotometric methods. *S. caseolaris* seed extract at the concentration of 20 and 30 µg/mL significantly activated CAT and GPx activities and at the concentration of 30 µg/mL significantly increased intracellular GSH level while slightly decreased the SOD activity. These findings indicated that the methanolic seed extract of *S. caseolaris* effectively prevents ethanol-induced oxidative damage in HepG2 cells. The hepatoprotective mechanism is owing to the activation of CAT and GPx activities as well as the prevention of intracellular GSH depletion.

Program of Biopharmaceutical Sciences Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2010

Student's signature .....Nin.....

Thesis Advisor's signature .....Juree Char.....

51355201 : สาขาวิชาเภสัชศาสตร์ชีวภาพ
คำสำคัญ : ลำพู/ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/ ฤทธิ์ปกป้องตับ/ เอทานอล

ณิณ ประพงศ์เสนา : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดลำพูต่อความเป็นพิษของเซลล์ตับ HepG2 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยเอทานอล. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ. ดร. จุรีย์ เจริญธีรบูรณ์. 115 หน้า.

เอทานอลเหนี่ยวนำความเป็นพิษต่อเซลล์ตับโดยสร้างอนุมูลอิสระที่ส่งผลให้เซลล์บาดเจ็บและตาย รายงานเบื้องต้นพบว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดสามารถป้องกันความเสียหายจากอนุมูลอิสระ งานวิจัยนี้มุ่งตรวจสอบฤทธิ์ปกป้องเซลล์ตับและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดลำพูต่อเซลล์มะเร็งตับมนุษย์เพาะเลี้ยง (HepG2) เมื่อถูกเหนี่ยวนำการบาดเจ็บด้วยเอทานอล ผลทดสอบฤทธิ์ปกป้องเซลล์ตับที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยเอทานอล 1.70 โมลาร์ พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 ถึง 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพิ่มปริมาณเซลล์รอดชีวิต ซึ่งวัดด้วยวิธี MTT assay และลดปริมาณเซลล์บาดเจ็บโดยลดการรั่วของเอนไซม์ LDH ออกจากเซลล์ จากนั้นทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อการเกิดลิพิด เพอร์ออกซิเดชัน ซึ่งเหนี่ยวนำด้วยเอทานอล 250 มิลลิโมลาร์ และต่อการหลัง hTNF-α ด้วยเอทานอล 500 มิลลิโมลาร์โดยใช้วิธี TBARs assay และ ELISA ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าการเติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดการเกิดลิพิด เพอร์ออกซิเดชันและลดการหลัง hTNF-α อย่างมีนัยสำคัญ กลไกปกป้องเซลล์ตับของสารสกัดลำพู 10 ถึง 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อเอทานอล 500 มิลลิโมลาร์ วิเคราะห์โดยวัดกัมมันตภาพของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (SOD) คะตะเลส (CAT) และกลูตาไทโอน เพอร์ออกซิเดส (GPx) และวัดระดับกลูตาไทโอน (GSH) ภายในเซลล์ด้วยวิธีทางสเปคโทรโฟโทเมทรี สารสกัดเมล็ดลำพูที่ความเข้มข้น 20 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กระตุ้นกัมมันตภาพของ CAT และ GPx อย่างมีนัยสำคัญ และที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเพิ่มระดับของ GSH อย่างมีนัยสำคัญในขณะที่ลดกัมมันตภาพของ SOD ลงเพียงเล็กน้อย ข้อมูลดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดลำพูปกป้องเซลล์ตับ HepG2 ต่อความเสียหายที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยเอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ กลไกปกป้องเซลล์ตับนี้มาจากการกระตุ้นกัมมันตภาพของ CAT และ GPx ตลอดจนการป้องกันการขาด GSH ภายในเซลล์

สาขาวิชาเภสัชศาสตร์ชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา .....Nin.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....Jvree Charoenteerabhon.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my gratitude and grateful thanks to my thesis advisor Assistant Professor Dr. Juree Charoenteeraboon for her helpful, valuable advices and kind encouragement.

I would like to thank Associate Professor Dr. Thawatchai Phaechamud, Assistant Professor Ariyaphong Wongnoppavich, Associate Professor Dr. Penpun Wetwitayaklung and Assistant Professor Dr. Sunee Techaarpornkul for their valuable suggestions and discussions.

I was grateful thanks to Thailand Research Fund (DBG 5080014), National Research Council of Thailand and Faculty of Pharmacy, Silpakorn University for their support.

I would like to thanks my friends, Mananya Teyarajkul and Ariya Chirawara for their encouragement and friendship.

Finally, I would like to express my deep gratefulness to my family, my father, mother and brother for their love and emotional support.

สำนักหอสมุดกลาง