

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของสารสกัดเอทานอลจากใบสะเดาและใบเซียงดาต่อการต้านการอักเสบในแมคโครฟาจและการต่อต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ไขมัน		
ผู้เขียน	นางสาว นุรีญา วาเลาะ		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)		
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผศ.ดร. อริยพงษ์ วงษ์นันทวิชัย	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	
	อ.ดร. อริสา บอนเนซซ์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	

### บทคัดย่อ

จากการศึกษารายงานเกี่ยวกับใบสะเดาและเซียงดาพบว่ามีฤทธิ์ด้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระในสัตว์ทดลอง แต่ปัจจุบันยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับกลไกของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสะเดาและเซียงดาต่อเซลล์ไขมัน ซึ่งเป็นเซลล์ที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับภาวะอ้วนและการต่อต้านอนุมูลอิสระ ภาวะอ้วนเหนี่ยวนำการอักเสบแบบเรื้อรังภายในเนื้อเยื่อไขมัน ในขณะที่แมคโครฟาจมีบทบาทสำคัญต่อการอักเสบของเซลล์ไขมันและความผิดปกติทางระบบเมตาบอลิซึมด้วยเช่นกัน จากนั้น สารก่ออักเสบหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ทีเอ็นเอฟ-แอลฟา สามารถเหนี่ยวนำการต่อต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ไขมัน วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือเพื่อศึกษาฤทธิ์ของผักสะเดาและผักเซียงดาต่อการต้านการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจและด้านการต่อต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ไขมัน

สารสกัดหยาบเอทานอลของใบสะเดาและใบเซียงดาถูกเตรียมขึ้นและวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีสูงมากในสารสกัด ทั้งจากใบสะเดาและใบเซียงดา สารสกัดเอทานอลนี้มีฤทธิ์กำจัดสารอนุมูลอิสระที่สูง จากนั้น สารสกัดจากพืชทั้งสองนี้ได้ถูกทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ อาร์เอดับบีว 264.7 และฤทธิ์ด้านการต่อต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ไขมัน 3ที3-แอล1 ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดแสดงฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ในแมคโครฟาจที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย

แอลพีเอสในลักษณะแปรผันตามปริมาณสารสกัด สารสกัดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไขมันจากการทดสอบด้วยวิธีดัมบิวเอสที-1 การเชื่อมต่ออินซูลินในเซลล์ไขมันเกิดขึ้นได้โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ร่วมกับแมคโครฟาจที่เกิดการอักเสบ ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดใบสะเดาและใบเชียงดา ที่ 12.5 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำให้การตอบสนองต่ออินซูลินของเซลล์ไขมันเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเพิ่มการขนส่งกลูโคสเข้าสู่เซลล์และลดการสลายไขมันให้กลับคืนเหมือนระดับปกติ นอกจากนี้ ผลการวิเคราะห์ด้วย อาร์ที-คิวพีซีอาร์ พบว่าสารสกัดทั้งสองสามารถลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ได้แก่ ไอแอล-1 และ ทีเอ็นเอฟ-แอลฟา

ท้ายสุดนี้ ผลจากการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ของใบสะเดาและใบเชียงดาต่อการต้านการอักเสบ ในเซลล์แมคโครฟาจและด้านการเชื่อมต่ออินซูลินในเซลล์ไขมัน จึงควรที่จะมีการส่งเสริมการใช้พืชเหล่านี้เป็นยาสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคเบาหวานต่อไป

<b>Thesis Title</b>	Effects of Ethanolic Extracts from <i>Azadirachta indica</i> and <i>Gymnema inodorum</i> Leaves on Anti-Inflammation in Macrophage and Anti-Insulin Resistance in Adipocyte		
<b>Author</b>	Miss Nureeya Waloh		
<b>Degree</b>	Master of Science (Biochemistry)		
<b>Advisory Committee</b>	Asst. Prof. Dr. Ariyaphong Wongnoppavich	Advisor	
	Lect.Dr. Arisa Bonness	Co-advisor	

## ABSTRACT

The leaves of *Azadirachta indica* (AI) and *Gymnema inodorum* (GI) have been reported on their anti-inflammatory and anti-diabetic potentials in animal model. However, there was no report studying the mechanism of bioactivities of AI and GI on adipocyte which directly involves in obesity and insulin resistance. Obesity induces a chronic local inflammation in adipose tissue, while macrophages also play a crucial role in adipocyte inflammation and systemic metabolic abnormalities. Subsequently, several inflammatory cytokines, especially TNF- $\alpha$  can induce the insulin resistance in adipocyte. The purpose of this study is to determine whether AI and GI have inhibitory effect on both inflammation and insulin resistance in macrophage and adipocyte, respectively.

Crude ethanolic extracts of AI and GI leaves were prepared and then analyzed for their phytochemical composition, and antioxidant activities. The results showed that total phenolic and flavonoid contents were more intensive both in the GI and AI extracts. The ethanolic extracts exhibited higher free radical scavenging effect on the DPPH assay. Next, the extract from these plant leaves were tested for their anti-inflammatory activity in RAW 264.7 macrophage and anti-insulin resistant activity in 3T3-L1 adipocyte. AI and GI exhibited the inhibitory effect against the nitric oxide production in LPS-activated macrophage in a dose-dependent manner. The extracts were not toxic to 3T3-L1 adipocyte as determined by WST-1 assay. Using a co-culture model, insulin resistance was induced in 3T3-L1 by the inflamed RAW 264.7 cells. Both AI and GI (12.5 and 25  $\mu\text{g/ml}$ ) significantly improved the insulin response of

3T3L-1 by increasing the cellular uptake of glucose, and decreasing the lipolysis closed to the basal levels. Moreover, using RT-qPCR analysis, both AI and GI (25 µg/mL) reduced the expression of several pro-inflammatory cytokines (IL-1 and TNF- $\alpha$ ).

Finally, the results of this study likely demonstrate their anti-inflammatory and anti-insulin resistant activities for a possible use of *Azadirachta indica* and *Gymnema inodorum* leaves as an effective herbal medicine for prevention and treatment of diabetes.