ชื่อวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันและการป้องกันการเกิดพิษต่อตับที่เกิดจากพาราเซตามอลของเมล็ดสะตอในหนูขาวใหญ่

ผู้เขียน นางสาว มัลลิกา ชนะเกียรติ

สาขาวิชา เภสัชวิทยา

ปีการศึกษา 2547

บทคัดย่อ

พาราเซตามอล ในขนาดสูงอาจทำให้เกิดพิษต่อตับ โดยความเป็นพิษเกี่ยวข้องกับสารแปรรูปคือ *N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine, (NAPQI) ซึ่งจะจับกับโปรตีนที่อยู่ในร่างกายหลังจากเกิดการพร่องของ glutathione ดังนั้นการป้องกันการพร่องของ glutathione จึงเป็นทางหนึ่งที่สามารถป้องกันการเกิดพิษต่อตับจากพาราเซตามอลได้ ส่วนสะตอเป็นพืชตระกูลถั่วซึ่งพบได้มากในภาคใต้ของประเทศไทย เมล็ดสะตอเป็นที่นิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลายทั้งชนิดสดและนำมาปรุงเป็นอาหาร เมล็ดสะตอประกอบไปด้วยสารสารประกอบที่มี sulphur จำนวนมาก ซึ่งอาจใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ glutathione

วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันและการป้องกันการเกิดพิษต่อตับที่เกิดจากพาราเซตามอลของเมล็ดสะตอ โดยการตรวจวัดการทำงานของเอ็นไซม์ alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) และ alkaline phosphatase (ALP) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันวัดจาก ระดับ reduced glutathione, malondialdehyde ในตับ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระวัดโดยใช้ DPPH radical scavenging assay การทดลองกระทำในหนูขาวใหญ่พันธุ์ Wistar น้ำหนัก 200-250 กรัม โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มแรกได้รับ 0.9% NaCl ขนาด 1.5 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม กลุ่ม 2 ได้รับการป้อนสะตอสดหรือต้มขนาด 6 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมครั้งเดียว กลุ่ม 3 ป้อนสะตอสดหรือต้มขนาด 6 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม วันละครั้งติดต่อกันนาน 7 วัน กลุ่ม 4 ได้รับพาราเซตามอล ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องครั้งเดียว กลุ่ม 5 ป้อนสะตอสดหรือต้มขนาด 6 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมครั้งเดียว 1 ชั่วโมงก่อนฉีดพาราเซตามอลขนาด 500 มิลลิกรัมต่อ

น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเข้าทางช่องท้อง และกลุ่ม 6 ได้รับการป้อนสะตอสดหรือต้ม ขนาด 6 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมวันละครั้งติดต่อกันนาน 7 วัน ก่อนฉีดพาราเซตามอล ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเข้าทางช่องท้อง

ผลการศึกษาพบว่า พาราเซตามอลทำให้การทำงานของเอ็นไซม์ AST และ ALT เพิ่มขึ้น 3 เท่าหลังจากได้รับพาราเซตามอล 12 ชั่วโมง ระดับของ glutathione ลดลง เมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมงและกลับสู่ระดับปกติที่ 12 ชั่วโมงหลังจากฉีดพาราเซตามอล แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ lipid peroxidation และพยาธิสภาพของตับ เมื่อป้อนสะตออย่างเดียวทั้งสดและต้มให้แก่หนูพบว่า ไม่มีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์จากตับและไม่พบการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของตับ, lipid perixidation และ glutathione ในหนูกลุ่มที่ได้รับสะตอทั้งสดและต้ม 1 ชั่วโมงก่อนฉีดพาราเซตามอล พบว่าการทำงานของเอ็นไซม์จากตับเพิ่มขึ้นแต่ไม่ต่างจากกลุ่มที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว ในขณะที่หนูในกลุ่มที่ได้รับสะตอทั้งสดและต้มติดต่อกันเป็นเวลา 7 วันก่อนฉีดพาราเซตามอลมีแนวโน้มทำให้เกิดพิษมากขึ้น โดยพบว่าการทำงานของเอ็นไซม์จากตับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับพาราเซตามอลอย่างเดียว แต่ไม่มีผลต่อพยาธิสภาพของตับและ lipid peroxidation สำหรับ glutathione ในหนูกลุ่มที่ได้รับสะตอสดก่อนฉีดพาราเซตามอล 1 ชั่วโมง และ 7 วัน พบว่าระดับของ glutathione ลดลงที่ชั่วโมงที่ 3 และกลับสู่ระดับปกติเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ในขณะที่หนูในกลุ่มที่ได้รับสะตอต้มก่อนฉีดพาราเซตามอล 1 ชั่วโมง และ 7 วัน พบว่า glutathione ลดลงที่ชั่วโมงที่ 3 และยังไม่กลับสู่ระดับปกติเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง แต่กลับเข้าสู่ระดับปกติเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสะตอไม่พบว่าสะตอมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50} > 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

โดยสรุปสะตอไม่มีผลในการป้องกันการเกิดพิษต่อตับจากพาราเซตามอล แต่กลับมีแนวโน้มทำให้เกิดการเป็นพิษเพิ่มขึ้น ซึ่งให้ผลแตกต่างกันในระหว่างรูปแบบของสะตอที่ให้ ทั้งนี้อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบในเมล็ดสะตอในขณะที่ได้รับความร้อน ดังนั้นการรับประทานสะตอในขนาดสูงและเป็นเวลานานร่วมกับได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดอาจทำให้เกิดความเป็นพิษและในอนาคตอาจทำการศึกษาถึงกลไกในการเกิดพิษของสะตอและพาราเซตามอลต่อไป

Thesis Title	Antioxidant Activity and Protection against Paracetamol Induced Hepatotoxicity of *Parkia speciosa* Hassk. seeds in Rats
Author	Miss Mallika Chanakeat
Major Program	Pharmacology
Academic Year	2004

ABSTRACT

Paracetamol, in high dose, has been shown to cause hepatotoxicity. The toxicity is associated with the excess formation of reactive metabolite, *N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine (NAPQI), which covalently binds to cellular proteins after glutathione depletion. Prevention of glutathione depletion is one of the strategies of direct protection against paracetamol hepatotoxicity. *Parkia speciosa* ('Sator'), is a tropical leguminous tree in the family of Leguminosae predominantly found in the southern part of Thailand. Its seed, which is one of the most favorite foods, either fresh or cooked, has been shown to contain a lot of level of sulphur-containing compounds, which might be used as precursors for glutathione synthesis.

The objective of this study was to investigate the protective effect of *Parkia speciosa* seeds on paracetamol-induced hepatotoxicity by monitoring the serum enzymes (ALT, AST and ALP). Its antioxidant activity was also investigated by determining the hepatic reduced glutathione, malondialdehyde production in liver homogenate as well as DPPH radical scavenging activity. The experiments were carried out in male Wistar rats (200-250 g), which were divided into six groups. Group 1 served as control and received 0.9% saline at a single dose of 1.5 ml/kg intraperitoneally, group 2 was given *P. speciosa*

at a single dose of 6 g/kg orally, group 3 was given *P. speciosa* 6 g/kg orally daily for 7 days, group 4 was treated with paracetamol at a single dose of 500 mg/kg intraperitoneally, group 5 was pretreated with *P. speciosa* 6 g/kg orally 1 hour before giving a single dose of paracetamol, 500 mg/kg intraperitoneally, and group 6 was pretreated with *P. speciosa* 6 g/kg orally for 7 days before administration of a single dose of paracetamol, 500 mg/kg intraperitoneally.

This study has shown that paracetamol (500 mg/kg, i.p) caused about 3-fold increase in AST and ALT in rats at 12 hours and caused glutathione depletion at 3 hours after paracetamol injection and completely recovered at 12 hours. However, no change in lipid peroxidation as well as the histology of the liver was observed. Pretreatment of rats with *P. speciosa*, both fresh and boiled preparation did not affect the serum AST, ALT and ALP activities. No change in the histology of the liver, lipid peroxidation and hepatic glutathione was observed. Pretreatment of rats with both fresh and boiled *P. speciosa* 1 hour before paracetamol injection increase in the serum enzymes, but no difference form paracetamol treated group. Whereas pretreatment of rats with both fresh and boiled *P. speciosa* for 7 days before paracetamol injection increase paracetamol-induced toxicity as illustrated by significantly increased in liver enzymes, i.e. AST and ALT as compared with paracetamol alone, but lipid peroxidation and histology of the liver was not affected. In the fresh *P. speciosa* 1 hour and 7 days pretreatment group prior to paracetamol injection, hepatic glutathione was reduced at 3 hours and completely recovered at 12 hours. Whereas in the boiled *P. speciosa* 1 hour and 7 days pretreatment group prior to paracetamol injection, the hepatic glutathione was reduced at 3 hours and at 12 hours did not recovered, but completely recovered at 24 hours. The antioxidant activity of *P. speciosa* was not detectable, as the DPPH radical scavenging activity was negligible (EC50 > 100 µg/ml).

In conclusion, it is suggested that *P. speciosa* seeds did not cause hepatotoxicity, but it may increase the toxicity of paracetamol, which can be varied according to the preparation. This may be due to some changes of the ingredients in *P. speciosa* after boiling. Therefore, administration of *P. speciosa* at high dose and for prolong usage should be awared and further investigation on the mechanisms of the toxicity should be carried out.