

## บทคัดย่อภาษาไทย

สารสกัดลูกใต้ใบชนิดที่มีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Phyllanthus urinaria* Linn. ถูกนำมาใช้เป็นสมุนไพรโดยแพทย์แผนโบราณเพื่อรักษาโรคต่างๆ หลายโรคมาเป็นเวลานานแล้ว มีรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านอักเสบ ตลอดจนฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบ มีความเชื่อมาตั้งแต่ครั้งโบราณว่าลูกใต้ใบสามารถปกป้องตับจากพิษของสารเคมี และถูกนำมาใช้เป็นสมุนไพรเพื่อช่วยรักษาผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งตับให้มีอายุยาวขึ้น มีหลักฐานงานวิจัยอย่างต่อเนื่องที่ชี้แนะว่าสารสกัดจากลูกใต้ใบชนิด *P. urinaria* มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง นอกจากนี้ ผู้วิจัยเองยังพบว่าสารสกัดจากลูกใต้ใบชนิด *P. urinaria* สามารถฆ่าเซลล์มะเร็ง human hepatocellular carcinoma HepG2 ได้ เป็นที่ทราบดีว่าเส้นทางหนึ่งของกระบวนการตายของเซลล์ที่เรียกว่า apoptosis นั้นสามารถเกิดผ่านกลไกที่เกี่ยวกับไมโทคอนเดรีย งานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยต่อเนื่องซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากลูกใต้ใบต่อการทำงานของไมโทคอนเดรีย

สารสกัดลูกใต้ใบที่ใช้ในการทดลองได้จากการสกัดด้วย 50% เมทานอล นำมาทดสอบผลต่อการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียซึ่งแยกจากตับของหนูขาว โดยใช้ Clark oxygen electrode พบว่าสารสกัดออกฤทธิ์กระตุ้นการหายใจใน state 4 แบบอ่อนๆ แต่ไปกดการหายใจใน state 3 และทำให้ค่าดัชนีการควบคุมการหายใจลดลงอย่างมาก สารสกัดไม่มีผลต่อการควบคุมการผ่านเข้าออกสารและการหลั่ง cytochrome c ของไมโทคอนเดรีย จากการทดสอบด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตรและการใช้ Western blot ตามลำดับ ในการศึกษาเรื่องนี้ยังไม่ทราบผลของสารสกัดต่อความต่างศักย์ไฟฟ้าของไมโทคอนเดรีย เนื่องจากการดูดกลืนแสงของสารสกัดรบกวนวิธีวัดด้วย rhodamine 123 ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป

สรุป ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดของลูกใต้ใบด้วยน้ำและเมทานอลซึ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็งนั้นไปขัดขวางการทำงานของไมโทคอนเดรีย โดยไม่มีผลต่อการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารและไม่มีผลต่อการหลั่ง cytochrome c แต่ไปมีผลต่อการสร้างพลังงานของเซลล์โดยออกฤทธิ์เป็น uncoupler และยับยั้งกระบวนการ oxidative phosphorylation ของไมโทคอนเดรีย การศึกษาทดลองนี้ชี้แนะว่า ผลของสารสกัดลูกใต้ใบต่อการรบกวนการสร้างพลังงานนี้น่าจะเป็นกลไกที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ส่วนสารออกฤทธิ์ที่รับผิดชอบต่อผลดังกล่าวของไมโทคอนเดรียนั้นยังต้องมีการศึกษาต่อไป

คำสำคัญ: ลูกใต้ใบ, ไมโทคอนเดรีย, การใช้ออกซิเจน, การหายใจ

## Abstract

The extract of *Phyllanthus urinaria* Linn. has long been prescribed in traditional medicine for treating various diseases. Its antioxidant, anti-inflammatory and antispasmodic activities have been reported. It is believed that *P. urinaria* has hepatoprotective property against toxic chemicals and is used as an adjunctive treatment in patients with liver cancer. There is evidence suggesting that *P. urinaria* possess anticancer activity. Moreover, the principal investigator has found that *P. urinaria* extract decreases human hepatocellular carcinoma HepG2 cell viability. It is widely known that apoptosis signaling transduction can also be induced through mitochondrial pathway. The purpose of this study was to investigate the effect of *P. urinaria* extract on mitochondrial functions.

The whole plant of *P. urinaria* was extracted by 50% methanol. Rate of oxygen consumption of isolated mitochondria was determined with a Clark oxygen electrode. It was found that the hydromethanolic extract slightly stimulated mitochondrial state 4 respiration but profoundly depressed state 3 respiration and respiratory control ratio. The extract had no effect on mitochondrial permeability transition and cytochrome c release which were measured by spectrophotometry at 520 nm and Western blot method, respectively. However, in the present study, the measurement of the effect on transmembrane potential was failed because the absorbance of the extract interfered with fluorescence of the probe rhodamine 123.

In conclusion, the data showed that hydromethanolic extract of *P. urinaria* which has been shown to possess anticancer activity impeded mitochondrial function. The extract showed little effect on permeability transition and cytochrome c release whereas impaired hepatic energy metabolism by acting as uncoupler and inhibitor of mitochondrial oxidative phosphorylation. It is suggested that the latter effects may contribute to the cytotoxic action of *P. urinaria* extract. The active ingredients which are responsible for these effects on mitochondria need further investigation.

**Keywords:** *Phyllanthus urinaria*, Mitochondria, Oxygen consumption, Respiration