

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

การอักเสบ (inflammation) เป็นกระบวนการที่ซับซ้อนเกิดจากปฏิกิริยาการตอบสนอง ของ เซลล์ภายในร่างกายต่อสิ่งกระตุ้นหรือสารที่มีอันตรายซึ่งจะเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันร่างกายทั้ง humoral และ cellular ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่หลอดเลือดเล็กๆ ส่งผลให้สารภายในหลอดเลือด เล็ดรั่วสู่ช่องว่างระหว่างเซลล์ ดังนั้น เม็ดเลือดขาวจึงเคลื่อนเข้าสู่บริเวณอักเสบ เกิดกระบวนการ ทำลายสิ่งแปลกปลอม ไลโซโซมแตก ปลั่งเอนไซม์ออกมาย่อยเซลล์ใกล้เคียง อาการที่ปรากฏคือ ปวด บวม แดง และร้อน อันเป็นผลมาจากการที่สารสื่อกลาง (mediators) หรือตัวกระตุ้นอื่นไป กระตุ้นปลายประสาททำให้รู้สึกปวด มีการเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดอาการบวม ขนาดและการไหลของเลือดในหลอดเลือดฝอยเปลี่ยนแปลงทำให้บริเวณนั้นแดง และร้อน

สาร nitric oxide (NO) และ prostaglandin E₂ (PGE₂) จัดเป็น inflammatory mediator ที่สำคัญในกระบวนการอักเสบ สารทั้งสองชนิดนี้ถูกสร้างมาจากเซลล์เม็ดเลือดขาว เช่น neutrophil และ macrophage โดยเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) ตามลำดับ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จัดเป็น inducible enzyme โดยจะถูกชักนำให้สร้างขึ้น เป็นปริมาณมากจากสาร pro-inflammatory cytokine และ endotoxin สาร PGE₂ มีบทบาทในการ เหนียวหน้าการสร้าง inflammatory mediator อื่นๆ อีกหลายชนิด ทำให้เกิดอาการปวด บวม แดง และมีไข้ ในขณะที่ NO มีผลทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดขยายตัว เพิ่มความสามารถในการซึมผ่าน ของผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดอาการบวมในบริเวณที่มีการอักเสบ

สาร tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) ถูกผลิตโดยเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันหลายชนิด โมโนไซต์ (monocyte) และแมคโครฟาจ (macrophage) ที่ถูกกระตุ้นโดยสิ่งแปลกปลอมหรือระบบ ภูมิคุ้มกัน ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ทั้งชนิดบีและที รวมทั้งไฟโบรบลาสต์ TNF- α จัดเป็นสาร ชัย โดไคน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ (proinflammatory cytokine) มีฤทธิ์ทำลายเนื้อเยื่อและกระตุ้นการผลิต สารตัวกลางสำหรับกระบวนการอักเสบ (inflammatory mediator) หลายชนิด เช่น interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) และ granulocyte monocyte colony stimulating factor (GM-CSF)

รายงานการศึกษาเกี่ยวกับ inflammatory mediators ดังกล่าวข้างต้นชี้ให้เห็นว่า การยับยั้ง การทำงานของ mediators ที่สำคัญในกระบวนการอักเสบ ได้แก่ NO, PGE₂ และ TNF- α จะเป็น แนวทางสำคัญในการควบคุมและบรรเทาอาการอักเสบ ดังนั้นยาหรือสารเคมีที่สามารถยับยั้งการ สร้างหรือยับยั้งการทำงานของ iNOS, COX-2 และ TNF- α ได้ก็จะสามารถยับยั้งหรือบรรเทาการ

อักเสบได้ด้วย ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เป็นกลไกในการออกฤทธิ์ของยาต้านอักเสบแผนปัจจุบันส่วนใหญ่ เช่น ยากลุ่ม NSAIDs และ steroids แต่ยาดังกล่าวมักมีฤทธิ์ข้างเคียงและผลไม่พึงประสงค์ต่อผู้ป่วยสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อระบบทางเดินอาหาร ส่วนยาที่มีผลข้างเคียงต่ำยังมีราคาค่อนข้างสูง ประชาชนที่มีรายได้น้อยยังไม่สามารถซื้อหามาใช้ได้ ดังนั้นการนำสมุนไพรพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบมาพัฒนาเป็นยาต้านอักเสบที่มีผลข้างเคียงน้อยน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษา เนื่องจากมีราคาถูกกว่ายาแผนปัจจุบันและยังสามารถนำทรัพยากรของประเทศมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพได้ ปัจจุบันการศึกษาผลของยาหรือสมุนไพรในการยับยั้ง iNOS, COX-2 และ TNF- α สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อใช้เป็น *in vitro* model ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบของยาหรือสารสกัดสมุนไพร ทำให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ต้านอักเสบของยาหรือสมุนไพรในระดับเซลล์ (Kim et al., 2003; Shin et al., 2004)

รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรที่อยู่ในวงศ์ Acanthaceae ในตำรายาสมุนไพรรายงานว่ารางจืดมีสรรพคุณเป็นยาถอนพิษ แก่พิษเบื่อเมาหรือใช้ปรุงเป็นยาเขียวถอนพิษไข้ แก่ร้อนในกระหายน้ำ เข้ายารักษาโรคอักเสบและปวดบวม (ชะลอ, 2539; นันทวัน และอรนุช, 2539) จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในรางจืดพบว่ามีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ เอพิจินิน (apigenin), โคสโมซิน (cosmosin) และ delphinidin-3, 5-di-O- β -D-glucose (นันทวัน และอรนุช, 2539; ภูมิพิชญ์, 2539) อย่างไรก็ตาม ยังขาดข้อมูลสนับสนุนกลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญเหล่านี้

รายงานการศึกษาปัจจุบันพบว่ารางจืดมีสรรพคุณทางยามากมาย เช่น ด้านแบคทีเรีย ต้านไวรัสเฮอร์ปีส์ ซิมเพลกซ์ ลดความดันโลหิต และลดพิษจากยาฆ่าแมลง จากการศึกษาของสกุลรัตน์ อุษณาวรรษ์ และคณะ (2543) รายงานว่าสารสกัดจากใบรางจืดสามารถช่วยลดพิษพาราควอตในหนูขาวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พาณี เตชะเสน และชัชวดี ทาบทอง (2523) พบว่าเมื่อให้หนูกินสารสกัดใบรางจืดสามารถลดอัตราการตายของหนูจากการได้รับสารฟิสิกัลซึ่งเป็นยาฆ่าแมลงกลุ่ม organophosphate ได้ดีกว่าการฉีด ส่วนฤทธิ์ต้านอักเสบของรางจืดนั้นได้มีรายงานการวิจัยหลายชิ้นดังนี้ Charumanee et al. (2001) พบว่าสารสกัดใบรางจืดด้วย ethanol และ hexane สามารถลดอาการอักเสบของอุ้งเท้าและใบหูของหนูทดลองโดยการทาได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดความเข้มข้น 30% สามารถลดอาการอักเสบได้เทียบเท่า 1% diclofenac จากการศึกษาของ มณเฑียร เปสึ และคณะ (2544) พบว่าในการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยใช้ rat ear edema model สารสกัดใบรางจืดด้วย ethanol ความเข้มข้น 50% สามารถลดอาการบวมแดงที่ใบหูของหนูทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ต่ำกว่า 0.1% triamcinolone จากการศึกษาโดยวิธี carageenan induced rat paw edema พบว่าสารสกัดรางจืด (1 g/kg) มีฤทธิ์ป้องกันการบวมของอุ้งเท้าหนูได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยลดการบวมได้มากกว่าร้อยละ 50 นอกจากนั้น การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากรางจืดนั้น พบว่าสารสกัดรางจืดหยابไม่มีพิษต่อสัตว์ทดลองจากการทดสอบความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรัง

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่ารังจิตเป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพ สามารถพัฒนาเป็นยาแก้ปวดและต้านอักเสบ เพื่อให้ได้รูปแบบยาที่มีฤทธิ์ในการรักษาที่ดีและมีผลข้างเคียงต่ำ สามารถใช้ทดแทนยาแก้ปวดและต้านอักเสบแผนปัจจุบันที่มีผลข้างเคียงต่อทางเดินอาหารค่อนข้างสูงและมีราคาแพง แต่ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานวิจัยในเชิงวิทยาศาสตร์ที่รับรองเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดจากรังจิตทั้งในระดับชีวเคมีและระดับโมเลกุล ดังนั้นการศึกษครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบและกลไกการออกฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดจากรังจิตโดยศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบในสัตว์ทดลองและศึกษาผลของสารสกัดต่อการสร้างสาร NO, PGE₂ และ TNF- α รวมไปถึงผลของสารสกัดต่อการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างสารเหล่านี้ อันได้แก่ inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 และ TNF- α ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) เนื่องจากสาร inflammatory mediators เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในพยาธิกำเนิดของการอักเสบ การทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ต้านอักเสบจะเป็นการยืนยันฤทธิ์ต้านอักเสบของสมุนไพรรังจิต และช่วยส่งเสริมการนำพืชสมุนไพรรังจิตมาใช้ในการงานสาธารณสุขมูลฐาน เพื่อพัฒนาเป็นยาแก้ปวด ต้านอักเสบ และศึกษาหาสารเคมีที่ออกฤทธิ์ต้านอักเสบต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก : เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบและกลไกการออกฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดจากรังจิต

วัตถุประสงค์รองที่ 1 : เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดจากรังจิตในสัตว์ทดลอง (Animal models)

วัตถุประสงค์รองที่ 2 : เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากรังจิตต่อการยับยั้งการสร้าง nitric oxide (NO) ภายในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

วัตถุประสงค์รองที่ 3 : เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากรังจิตต่อการยับยั้งการสร้าง prostaglandin E₂ (PGE₂) ภายในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

วัตถุประสงค์รองที่ 4 : เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากรังจิตต่อการยับยั้งการสร้าง tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) ภายในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

วัตถุประสงค์รองที่ 5 : เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากรังจิตต่อการยับยั้งการแสดงออกของยีน inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 และ TNF- α ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาเกี่ยวกับการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสกัดจากใบรางจืดและผลของสารสกัดใบรางจืดต่อการยับยั้งการอักเสบในสัตว์ทดลอง (*In vivo models*) นอกจากนี้ยังศึกษาผลของสารสกัดจากใบรางจืด (95% ethanol extract) ต่อการยับยั้งการสร้างสาร nitric oxide, prostaglandin E₂ และ TNF- α ภายในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) ที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร lipopolysaccharide (LPS) และศึกษาผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อ mRNA expression ของ iNOS, COX-2 และ TNF- α

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดจากใบรางจืด

1.4.2 ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดจากใบรางจืดต่อการสร้าง NO, PGE₂ และ TNF- α และผลต่อการทำงานของเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 และ TNF- α

1.4.3 เป็นข้อมูลยืนยันฤทธิ์ต้านอักเสบของพืชสมุนไพรรางจืด เพื่อนำไปใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน

1.4.4 สนับสนุนและส่งเสริมการนำพืชสมุนไพรรางจืดไปใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน เพื่อพัฒนาเป็นยาแก้ปวดและต้านอักเสบที่มีผลข้างเคียงน้อย

1.4.5 เป็นแนวทางสำหรับทำการศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับผลของสารสกัดรางจืดต่อการอักเสบและกลุ่มอาการโรคอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น rheumatoid arthritis, osteoarthritis และโรคมะเร็งเป็นต้น