บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การสกัดสารจากพืช

จากการสกัดลำต้นใต้ดินของว่านสาวหลงและเร่วหอมด้วยเอทานอล และสกัดแยกส่วนด้วยสารละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ตามลำดับ พบว่า ส่วนสกัดย่อยน้ำของลำต้นใต้ดินของว่านสาวหลงและเร่วหอมที่ได้มีร้อยละของน้ำหนักแห้งสูงสุด รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 น้ำหนักและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากลำต้นใต้ดินของเร่วหอมและว่านสาวหลง

ส่วนสกัดย่อย	เร่วหอม		ว่านสาวหลง	
	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง	สารประกอบฟีนอล (มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูล/กรัมของส่วนสกัด)[a]	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง	สารประกอบฟีนอล (มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูล/กรัมของส่วนสกัด)[a]
เฮกเซน	0.70	39.08 ± 0.94	1.72	26.08 ± 0.14
เอทิลอะซิเตท	2.83	198.33 ± 1.19	1.80	76.50 ± 0.50
น้ำ	12.60	50.50 ± 0.35	5.73	34.67 ± 0.14

3.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัด

จากนั้นนำส่วนสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากลำต้นใต้ดินของพืชทั้งสองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนสกัดย่อยจากสารอินทรีย์ชนิดอื่น โดยว่านสาวหลงและเร่วหอมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 76.50 ± 0.50 และ 198.33 ± 1.19 (มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูล/กรัมของส่วนสกัด) ตามลำดับ (ตารางที่ 3-1) จากนั้นได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง พบว่าส่วนสกัดย่อยทุกชนิดมีฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ และการทดสอบฤทธิ์การคีเลท Fe^{2+} ในลักษณะที่แปรผันตรงตามความเข้มข้น โดยแสดงค่า IC_{50} ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆไว้ในตารางที่ 3-2 ซึ่งพบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากลำต้นใต้ดินของพืชทั้งสองมีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดอนุมูล

DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ โดยสารควบคุมแบบบวกคือ กรดแอสคอร์บิกและ BHT มีค่า IC_{50} อยู่ที่ 0.012 ± 0.190 และ 0.026 ± 0.660 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

การทดลองถัดมาเป็นการทดสอบความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ พบว่าส่วนสกัดย่อยเฮกเซนของเร่วหอมมีฤทธิ์ดีที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 729.37 ±4.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ส่วนสกัดของลำต้นใต้ดินของว่านสาวหลงที่มีประสิทธิภาพสูงสุดการคีเลทไอออนของโลหะ คือ ส่วนสกัดส่วนสกัดย่อยน้ำของว่านสาวหลงมีค่า IC_{50} เท่ากับ 558.47±42.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงผลในตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-2 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดจากลำต้นใต้ดินของเร่วหอมและว่านสาวหลง

พืช	ส่วนสกัดย่อย	IC_{50} (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)[a]		ความสามารถในการรีดิวซ์ (มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูล/กรัมของส่วนสกัด)[a]
		การกำจัดอนุมูล DPPH	การคีเลทโลหะ Fe^{2+}	
เร่วหอม	เฮกเซน	> 800	729.37 ±4.35	25.83 ± 1.15
	เอทิลอะซิเตท	53.30±1.05	> 4000	94.00 ± 1.80
	น้ำ	353.54±2.65	1432.34 ±10.12	29.67 ± 1.89
ว่านสาวหลง	เฮกเซน	> 800	1362.51±58.75	17.17 ± 0.58
	เอทิลอะซิเตท	356.74±2.35	955.42±69.59	27.17 ± 0.29
	น้ำ	> 800	558.47±42.99	12.67 ± 0.29
กรดแอสคอร์บิก		0.012 ± 0.190	-	-
BHT		0.026 ± 0.660	-	-
EDTA		-	0.021 ± 0.0005	-

[a] ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งแต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

3.3 ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของส่วนสกัด

การทดลองถัดมา คือ การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลองพบว่าส่วนสกัดย่อยเฮกเซนของเร่วหอม และว่านสาวหลงที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 81.16 ±3.30 และ 77.14 ± 0.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนกรดโคจิกซึ่งเป็นสารควบคุม

แบบบวกที่ความเข้มข้น 50, 25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เท่ากับ 68.13 ± 6.72, 47.98 ± 5.13 และ 24.87 ± 3.98 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-3

ตารางที่ 3-3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากส่วนสกัดจากลำต้นใต้ดินของเร่วหอมและว่านสาวหลงที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

พืช	ส่วนสกัดย่อย	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส
เร่วหอม	เฮกเซน	81.16 ±3.30
	เอทิลอะซิเตท	46.22±3.11
	น้ำ	57.77±6.51
ว่านสาวหลง	เฮกเซน	77.14 ± 0.95
	เอทิลอะซิเตท	51.75 ± 0.55
	น้ำ	20.00 ± 0.95
กรดโคจิก (50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		68.13 ± 6.72-
กรดโคจิก (25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		47.98 ± 5.13-
กรดโคจิก (12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		24.87 ± 3.98-

[a] ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งแต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

3.4 การทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจหนูสายพันธุ์ RAW 264.7

ผลจากการศึกษาค่าการอยู่รอดของเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่สัมผัสกับส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำของลำต้นใต้ดินเร่วหอมและว่านสาวหลง ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยวิธี MTT พบว่าส่วนสกัดทุกส่วนสกัดของพืชทั้งสองชนิดไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม (control) หรือเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO เพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 3-3) นอกจากนี้ LPS ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม

3.5 ฤทธิ์ต้านการอักเสบของส่วนสกัด

นอกจากนี้นำส่วนสกัดทุกชนิดที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ ในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS โดยวิเคราะห์เป็นปริมาณไนไตรท์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชันของไนตริกออกไซด์ และมีความเสถียรมากกว่าไนตริกออกไซด์พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของลำต้นใต้ดินของเร่วหอมมีฤทธิ์ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือยับยั้งได้ 87.7±3.8 % รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเฮ

กเซนยับยั้งได้ 22.4±5.6 % และตามด้วยส่วนสกัดย่อยน้ำยับยั้งได้ 5.0±4.8 % (ตารางที่ 3-4) ในขณะที่ความสามารถในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของส่วนสกัดย่อยว่านสาวหลงมีค่าเท่ากับ 63.7±20.7, 8.1±20.0 และ -8.4±26.5 สำหรับส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน และส่วนสกัดย่อยน้ำ ตามลำดับ

จากการทดลองด้านบนทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดทุกชนิดจากลำต้นใต้ดินของเร่วหอมและว่านสาวหลงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง และฤทธิ์ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจหนู RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS

ตารางที่ 3-3 แสดงค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจที่สัมผัสกับส่วนสกัดจากลำต้นใต้ดินของเร่วหอมและว่านสาวหลง เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง		เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด[a, b]
พืช	ส่วนสกัดย่อย	
เร่วหอม	เฮกเซน+	101.7 ± 2.6
	เอทิลอะซิเตท	102.2 ± 2.7
	น้ำ	108.0 ± 2.8
ว่านสาวหลง	เฮกเซน	101.7 ± 2.4
	เอทิลอะซิเตท	106.6 ± 2.6
	น้ำ	104.6 ± 3.0
Control		100.0 ± 1.7
LPS (1 ug/ml)		101.2 ± 0.2
DMSO (0.2 %(v/v)		99.8 ± 0.2

[a] ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

[b] เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจที่สัมผัสกับส่วนสกัดเพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับความมีชีวิตรอดของเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสสารใด (Control)

ตารางที่ 3-4 แสดงการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของส่วนสกัดจากลำต้นใต้ดินของเร่วหอมและว่านสาวหลง ในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง		ความเข้มข้นของไนไตรท์ (μM)[a]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[b]
พืช	ส่วนสกัดย่อย		
เร่วหอม	เฮกเซน+LPS	26.61 ± 6.15	22.4±5.6
	เอทิลอะซิเตท+LPS	4.20 ± 1.32	87.7±3.8***
	น้ำ+LPS	32.56 ± 6.91	5.0±4.8
ว่านสาวหลง	เฮกเซน+LPS	31.50 ± 3.38	8.1±20.0
	เอทิลอะซิเตท+LPS	12.43 ± 6.69	63.7±20.7**
	น้ำ+LPS	37.16 ± 3.60	-8.4±26.5
Control		1.60 ± 0 .73	-
LPS (1 ug/ml)		34.27 ± 5.73	-
DMSO (0.2 %(v/v)		0.44 ± 0.75	-

[a] ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

[b] ค่าการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของแต่ละส่วนสกัดเปรียบเทียบกับปริมาณไนไตรท์ที่ได้จากเซลล์ที่สัมผัส LPS (1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เพียงอย่างเดียว

**, *** $P<0.01$ และ $P<0.001$ vs LPS ตามลำดับ

ต่อมาจึงทำการวิเคราะห์หาค่า IC_{50} ของการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมเนื่องจากเป็นส่วนสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์สูงที่สุด โดยให้เซลล์ที่สัมผัสส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของส่วนสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับปริมาณไนไตรท์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในตารางที่ 3-5 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.28 ± 9.16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ aminoguanidine ซึ่งเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ ที่รู้จักกันโดยทั่วไป ที่ความเข้มข้น 50 μM สามารถยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ได้ 76.73 ± 12.9 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมที่ความเข้มข้น 3.125 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3-5 แสดงการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		ความเข้มข้นของไนไตรท์ (μM)[a]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[b]
+LPS	3.125	43.53 ± 4.50	9.05±11.9*
	6.25	38.9 ± 4.76	18.72±10.4*
	12.5	29.13 ± 6.75	39.12±12.9*
	25	15.22 ± 4.04	68.20±8.0**
	50	6.44 ± 2.41	86.54±5.4***
	100	3.68 ± 5.24	92.30±5.1***
-LPS	3.125	10.34 ± 10.07	-
	6.25	5.68 ± 4.96	-
	12.5	3.18 ± 2.94	-
	25	1.91 ± 1.21	-
	50	1.66 ± 0.92	-
	100	0.89 ± 0.19	-
Control		10.81 ± 2.53	-
LPS (1 ug/ml)		47.17 ± 4.17	0.00
Aminoguanidine 50 μM + LPS		4.3 ± 3.2	76.73 ± 12.9

[a] ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

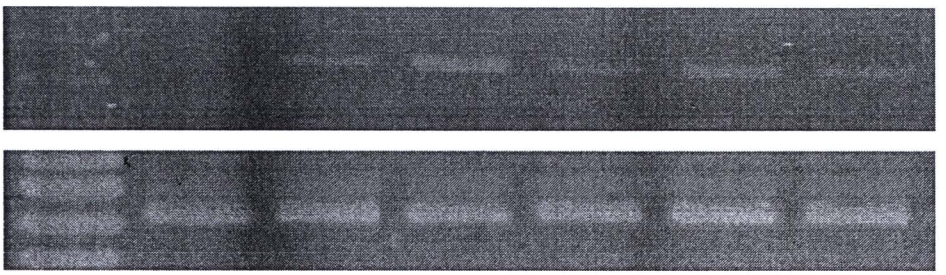
[b] ค่าการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของแต่ละส่วนสกัดเปรียบเทียบกับปริมาณไนไตรท์ที่ได้จากเซลล์ที่สัมผัส LPS (1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เพียงอย่างเดียว

*, **, *** $P<0.05$, $P<0.01$ และ $P<0.001$ vs LPS ตามลำดับ

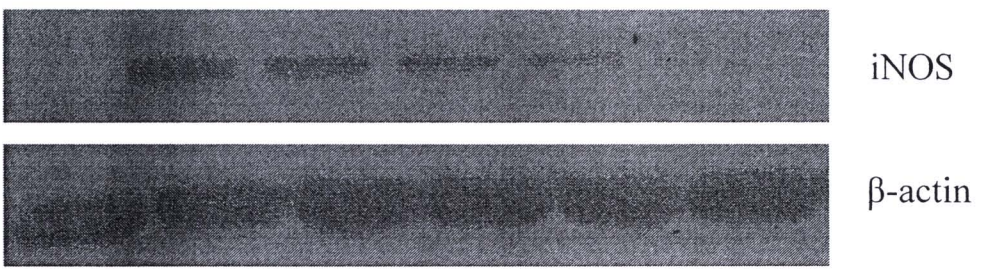
3.6 กลไกในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากเร่วหอม

จากการศึกษาข้างต้นพบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมเป็นส่วนสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ ดังนั้นจึงถูกเลือกมาศึกษากลไกในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ จากผลการศึกษาการแสดงออกของยีน iNOS ในระดับ mRNA ของเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่ถูกบ่มด้วยส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25 และ 50 μg/mL ในสภาวะที่มีและไม่มี LPS พบว่า LPS สามารถกระตุ้นให้มีปริมาณ mRNA ของ iNOS เพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม แต่เมื่อเซลล์สัมผัสกับ LPS และส่วนสกัด

ย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอม พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมสามารถลดปริมาณ mRNA ของ iNOS ได้ในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของส่วนสกัด นอกจากนี้ส่วนสกัดเพียงอย่างเดียวของเร่วหอมที่ความเข้มข้น6.25-50 μg/mL ไม่สามารถทำให้ปริมาณ mRNA ของ iNOS เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสกับส่วนสกัด หรือเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO ที่ความเข้มข้น 0.2% (ปริมาตร/ปริมาตร) เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3-1 นอกจากนี้ทำการวิเคราะห์ผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมต่อปริมาณโปรตีน iNOS พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับการทดสอบปริมาณ mRNA ของ iNOS นั่นคือ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมสามารถลดปริมาณโปรตีน iNOS ได้ในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของส่วนสกัด (รูปที่ 3-2)

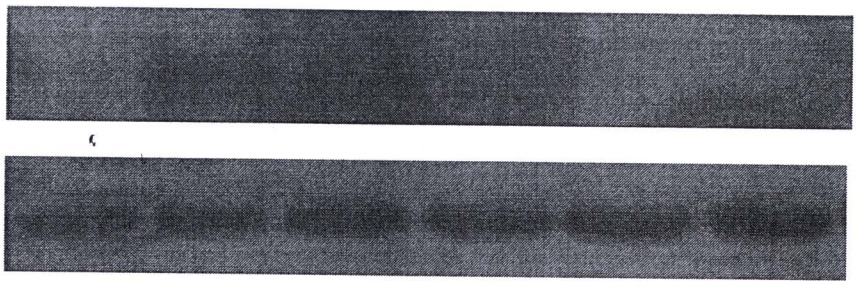


รูปที่ 3-1 การวิเคราะห์การแสดงออกของ iNOS ระดับ mRNA ในเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่ถูกบ่มด้วยส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอม (EPE) ทั้งที่มีและไม่มี LPS (1 μg/mL) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (6.25-50 μg/mL) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



รูปที่ 3-2 การวิเคราะห์ระดับโปรตีน iNOS โดยเทคนิค Western blot analysis ในเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่ถูกบ่มด้วยส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอม (EPE) ทั้งที่มีและไม่มี LPS (1 μg/mL) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภาพ immunoblot นี้เป็นตัวแทนของการทดลอง 3 ครั้งที่อิสระต่อกัน

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมต่อ transcription factor NF-KB ที่ควบคุมการแสดงออกของยีน iNOS และ COX-2 โดยเทคนิค Western blotting ด้วย antibody ที่จำเพาะต่อโปรตีน p65 ที่เป็นหน่วยย่อยของ NF-KB เนื่องจาก NF-KB มักจะปรากฏอยู่ในรูป heterodimer ระหว่าง p65 และ p50 จากการทดลองพบว่า LPS ทำให้มีการเคลื่อนที่ของ NF-KB p65 subunit เข้าสู่นิวเคลียส และส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอม ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดปริมาณโปรตีน p65 NF-KB ในนิวเคลียสในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น (รูปที่ 3-3)



รูปที่ 3-3 ผลการวิเคราะห์ผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอม (EPE) ต่อการเคลื่อนที่สู่นิวเคลียสของโปรตีน p65 NF-KB โดยบ่มเซลล์แมคโครฝาจ RAW 264.7 กับส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอม ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มี LPS เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นสกัดโปรตีนจากนิวเคลียสมาวิเคราะห์โดยเทคนิค Western blotting

3.7 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการผลิตโพรสตาแกลนดิน E2 ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากเร่วหอม

โพรสตาแกลนดิน E2 เป็น inflammatory mediator อีกตัวหนึ่งที่ถูกหลั่งออกมาในขณะที่มีการอักเสบขึ้น ดังนั้นจึงนำเซลล์ RAW 264.7 บ่มกับส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากเร่วหอม และ LPS พบว่าปริมาณโพรสตาแกลนดิน E2 ที่พบในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียวมีค่าเท่ากับ 6854.154± 1689.40 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าเซลล์ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับเซลล์ควบคุมที่มีปริมาณโพรสตาแกลนดิน E2 เท่ากับ 474.191± 242.70 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่เซลล์ที่สัมผัสกับส่วนสกัด และ LPS จะมีปริมาณโพรสตาแกลดิน E2 ลดลงในลักษณะที่ขึ้นกับความ

เข้มข้น (ตารางที่ 3-6) ในการทดลองนี้ใช้ยา Indomethacin เป็นตัวควบคุมแบบแบวก โดยเซลล์ที่สัมผัสกับ Indomethacin (10 μM) และ LPS มีปริมาณโพรสตาแกลนดิน E2 ลดลงเหลือเท่ากับ 72.981± 3.45 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 76.73 ± 12.9

ตารางที่ 3-6 แสดงการยับยั้งการผลิตโพรสตาแกลนดิน E2 (PGE_2) ของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของเร่วหอมในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอม ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		ความเข้มข้นของ PGE_2 (พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร)[a]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[b]
+LPS	1.56	4403.546 ± 1188.79	35.75±17.34
	3.125	3014.147 ± 1190.98	56.02±17.37
	6.25	1421.537 ± 623.32	79.26±9.09
	12.5	402.683 ± 87.78	94.12±1.28
-LPS	12.5	103.853 ± 6.64	-
Control		474.191± 242.70	-
LPS (1 ug/ml)		6854.154± 1689.40	0.00
Indomethacin 10 μM + LPS		72.981± 3.45	76.73 ± 12.9

[a] ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

[b] ค่าการยับยั้งการผลิตโพรสตาแกลนดิน E2 ของแต่ละส่วนสกัดเปรียบเทียบกับปริมาณโพรสตาแกลนดิน E2 ที่ได้จากเซลล์ที่สัมผัส LPS (1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เพียงอย่างเดียว