บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การสกัดสารจากพืช

จากการสกัดใบเบญจมาศน้ำเค็มและใบสำมะง่าด้วยเอทานอล และสกัดแยกส่วนด้วยสารละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ตามลำดับ พบว่า ส่วนสกัดย่อยน้ำของใบเบญจมาศน้ำเค็มและใบสำมะง่าที่ได้มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งสูงสุด รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเฮกเซน และส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-1

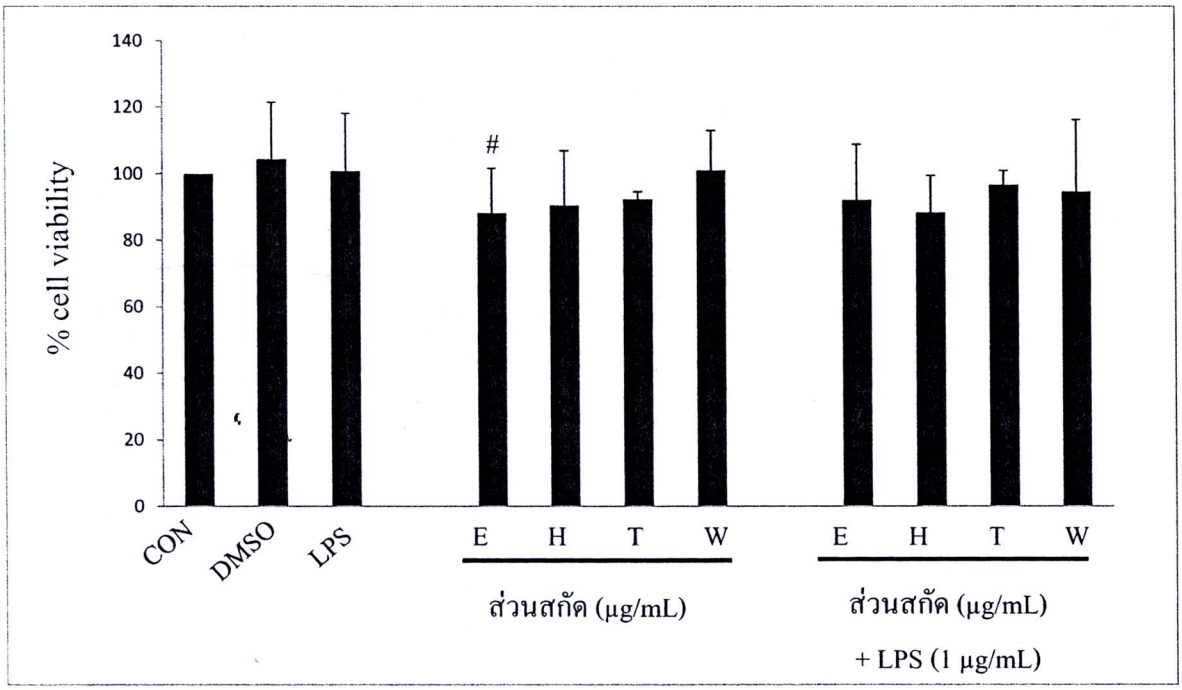
ตารางที่ 3-1 น้ำหนักและร้อยละน้ำหนักแห้งของส่วนสกัดของใบเบญจมาศน้ำเค็มและใบสำมะง่า

ส่วนสกัดย่อย	ใบสำมะง่า		เบญจมาศน้ำเค็ม	
	น้ำหนักสาร (กรัม)	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง	น้ำหนักสาร (กรัม)	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง
เฮกเซน	36.69	21.69	26.17	33.81
เอทิลอะซิเตท	26.69	15.78	4.16	5.37
น้ำ	98.55	58.26	36.74	47.47

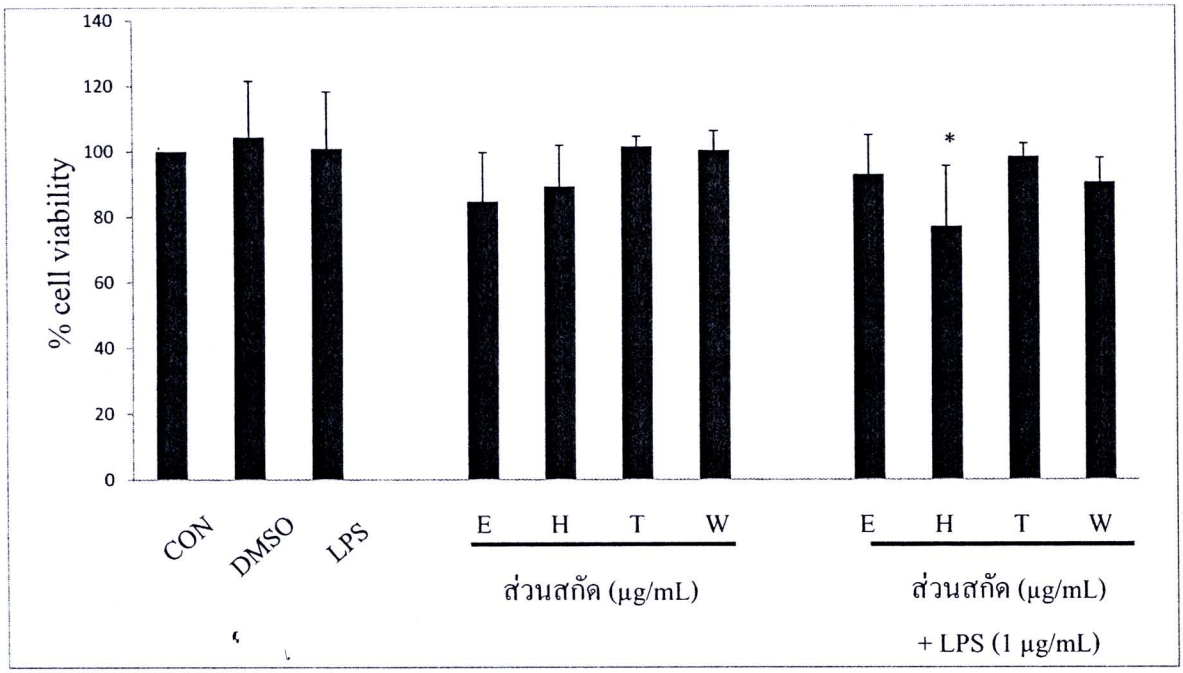
3.2 การทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์

ผลจากการศึกษาค่าการอยู่รอดของเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่สัมผัสกับส่วนสกัดเอทานอล เฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำของใบเบญจมาศน้ำเค็มและใบสำมะง่า ที่ความเข้มข้น 50 μg/mL เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยวิธี MTT พบว่าส่วนสกัดเอทานอลของใบเบญจมาศน้ำเค็มมีความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO เพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นตัวทำละลายส่วนสกัดสำหรับทดสอบ ในขณะที่ส่วนสกัดย่อยต่างๆ ของส่วนสกัดเอทานอลของใบเบญจมาศน้ำเค็ม ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 3-1) และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ที่สัมผัสกับส่วนสกัดต่างๆ ของใบสำมะง่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO แต่ความมีชีวิตรอดของเซลล์ลดลงเหลือ 76.92 ± 18.34% เมื่อสัมผัสกับส่วนสกัดย่อยเฮกเซนและ LPS เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่สัมผัสกับ

LPS เพียงอย่างเดียว ดังรูปที่ 3-2 นอกจากนี้ LPS ที่ความเข้มข้น 1μg/mL และ DMSO ที่ใช้เป็นตัวทำละลายไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม



รูปที่ 3-1 การมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่สัมผัสกับส่วนสกัดของใบเบญจมาศน้ำเค็ม ทั้งที่มีและไม่มี LPS (1 μg/mL) ที่ความเข้มข้น 50 μg/mL เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่อิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ โดยให้ E = ส่วนสกัดเอทานอล, H = ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน, T = ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท, W = ส่วนสกัดย่อยน้ำ, CON = เซลล์ควบคุม, DMSO = เซลล์ที่สัมผัสกับ 0.2% DMSO เพียงอย่างเดียว, LPS = เซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียว และ # $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO

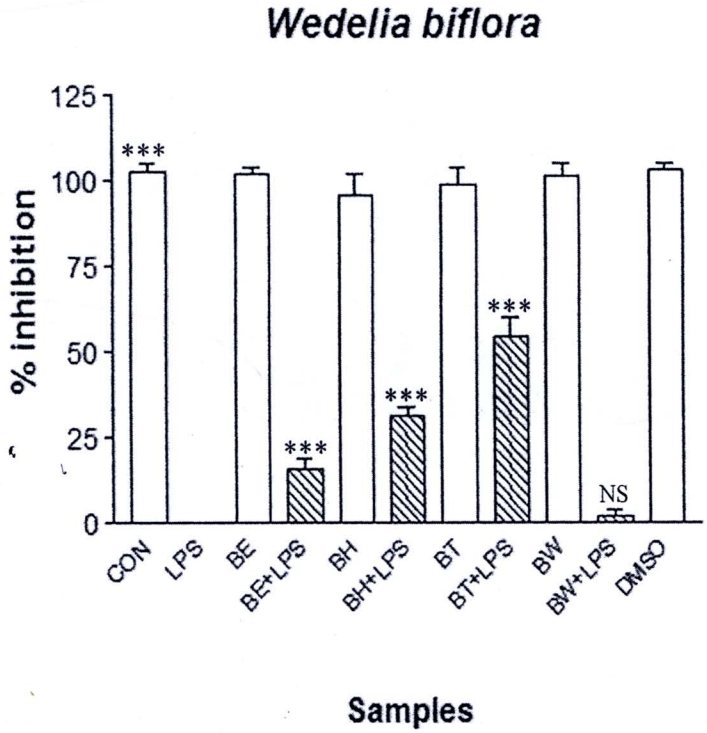


รูปที่ 3-2 การมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่สัมผัสกับส่วนสกัดของใบสำมะง่า ทั้งที่มีและไม่มี LPS (1 µg/mL) ที่ความเข้มข้น 50 µg/mL เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่อิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำโดยให้ E = ส่วนสกัดเอทานอล, H = ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน, T = ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท, W = ส่วนสกัดย่อยน้ำ, CON = เซลล์ควบคุม, DMSO = เซลล์ที่สัมผัสกับ 0.2% DMSO เพียงอย่างเดียว, LPS = เซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียว และ * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่สัมผัสกับ LPS

3.3 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของใบเบญจมาศน้ำเค็มและใบสำมะง่า

ผลการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของส่วนสกัดเอทานอล ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดย่อยน้ำของพืชทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 50 µg/mL ในเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ได้ดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 54.64 ± 7.86% และ 61.3 ± 30.23% สำหรับใบเบญจมาศน้ำเค็มและใบสำมะง่า ตามลำดับ รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ส่วนสกัดเอทานอล และส่วนสกัดย่อยน้ำ ตามลำดับ (รูปที่ -3-3 และรูปที่ 3-4) โดยที่เซลล์ควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสส่วนสกัด และเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO มีเปอร์เซ็นต์การผลิตไนตริกออกไซด์ เท่ากับ -2.64 ± 6.27 และ -3.59 ± 5.20 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียว ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การผลิตไนตริกออกไซด์เท่ากับ 100% และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของเซลล์ที่สัมผัสกับส่วนสกัดเพียงอย่าง

เดียวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม และเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO เพียงอย่างเดียว ดังรูปที่ 3-3 และรูปที่ 3-4



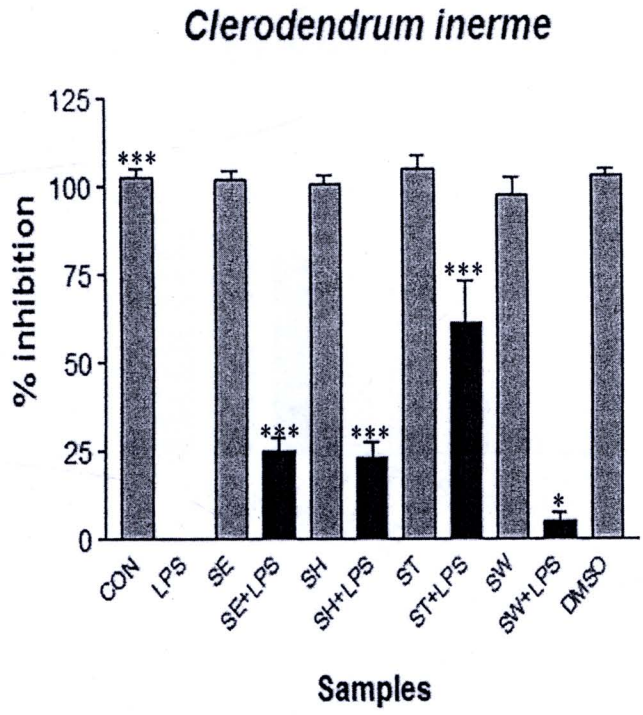
รูปที่ 3-3 ผลของส่วนสกัดของใบเบญจมาศน้ำเค็ม ต่อการลดการผลิตไนตริกออกไซด์ ทำการทดสอบในเซลล์แมคโครฝาจ RAW 264.7 ที่สัมผัสกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น 50 ug/ml และ LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำอาหารเลี้ยงเซลล์ไปทดสอบปริมาณไนไตรท์ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ ค่าการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของแต่ละส่วนสกัดเปรียบเทียบกับปริมาณไนไตรท์ที่ได้จากเซลล์ที่สัมผัส LPS เพียงอย่างเดียว (LPS) ***P<0.001 vs LPS, NS= P>0.05

BE= ส่วนสกัดเอทานอลของใบเบญจมาศน้ำเค็ม

BH= ส่วนสกัดย่อยเฮกเซนของใบเบญจมาศน้ำเค็ม

BT= ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของใบเบญจมาศน้ำเค็ม

BW= ส่วนสกัดย่อยน้ำของใบเบญจมาศน้ำเค็ม



รูปที่ 3-4 ผลของส่วนสกัดของใบสำมะง่า ต่อการลดการผลิตไนตริกออกไซด์ ทำการทดสอบในเซลล์แมคโครฝาจ RAW 264.7 ที่สัมผัสกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น 50 ug/ml และ LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำอาหารเลี้ยงเซลล์ไปทดสอบปริมาณไนไตรท์ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ ค่าการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของแต่ละส่วนสกัดเปรียบเทียบกับปริมาณไนไตรท์ที่ได้จากเซลล์ที่สัมผัส LPS เพียงอย่างเดียว (LPS)

*P<0.05 vs LPS, ***P<0.001 vs LPS

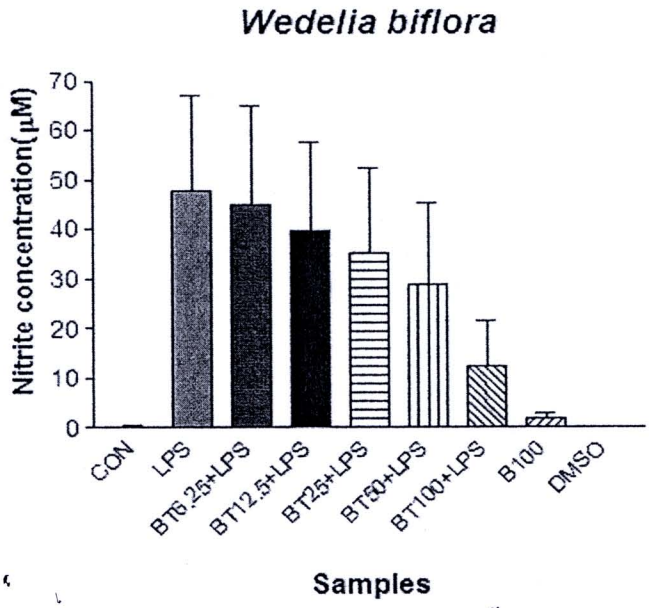
SE= ส่วนสกัดเอทานอลของใบสำมะง่า

SH= ส่วนสกัดย่อยเฮกเซนของใบสำมะง่า

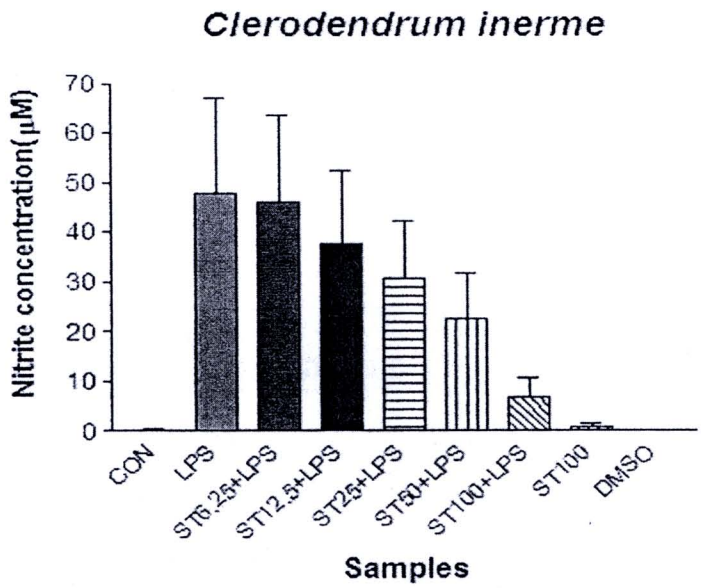
ST= ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของใบสำมะง่า

SW= ส่วนสกัดย่อยน้ำของใบสำมะง่า

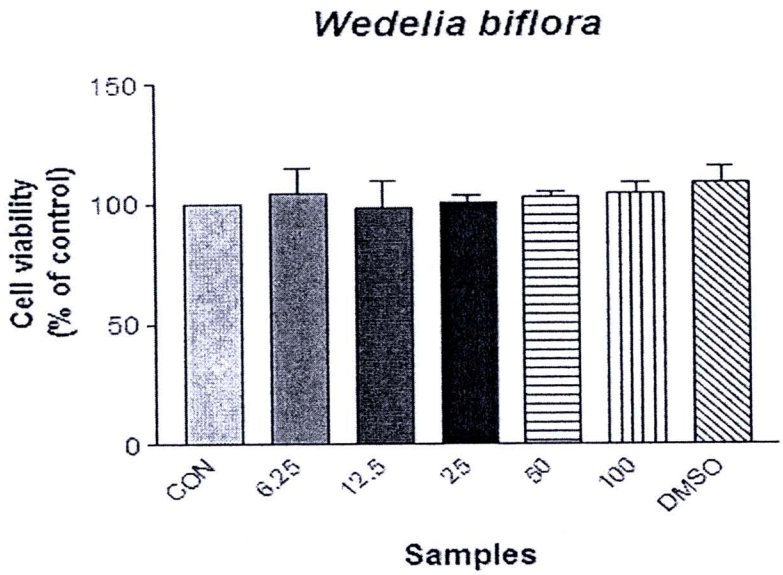
ต่อมาจึงทำการวิเคราะห์หาค่า IC_{50} ของการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของพืชทั้ง 2 ชนิด โดยให้เซลล์ที่สัมผัสส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 μg/mL) พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของพืชทั้ง 2 ชนิดสามารถยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของส่วนสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 3-5 และรูปที่ 3-6) ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบเบญจมาศน้ำเค็มมีค่า IC_{50} เท่ากับ 54.47 ± 11.01 μg/mL และส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 32.93 ± 3.95 μg/mL โดยที่ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของพืชทั้ง 2 ชนิดไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อทดสอบกับส่วนสกัดที่ความเข้มข้นสูงถึง 100 μg/mL (รูปที่ 3-7 และรูปที่ 3-8)



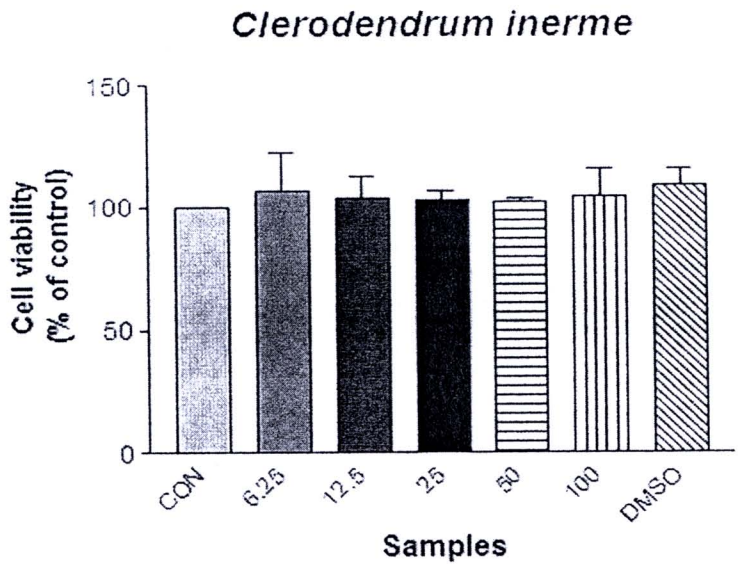
รูปที่ 3-5 ผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของใบเบญจมาศน้ำเค็ม ต่อการลดการผลิตไนตริกออกไซด์ ทำการทดสอบในเซลล์แมคโครฝาจ RAW 264.7 ที่สัมผัสกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น 6.25-100 μg/mL และ LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำอาหารเลี้ยงเซลล์ไปทดสอบปริมาณไนไตรท์ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3-6 ผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของใบสำมะง่า ต่อการลดการผลิตไนตริกออกไซด์ ทำการทดสอบในเซลล์แมคโครฝาจ RAW 264.7 ที่สัมผัสกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น 6.25-100 μg/mL และ LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำอาหารเลี้ยงเซลล์ไปทดสอบปริมาณไนไตรท์ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ



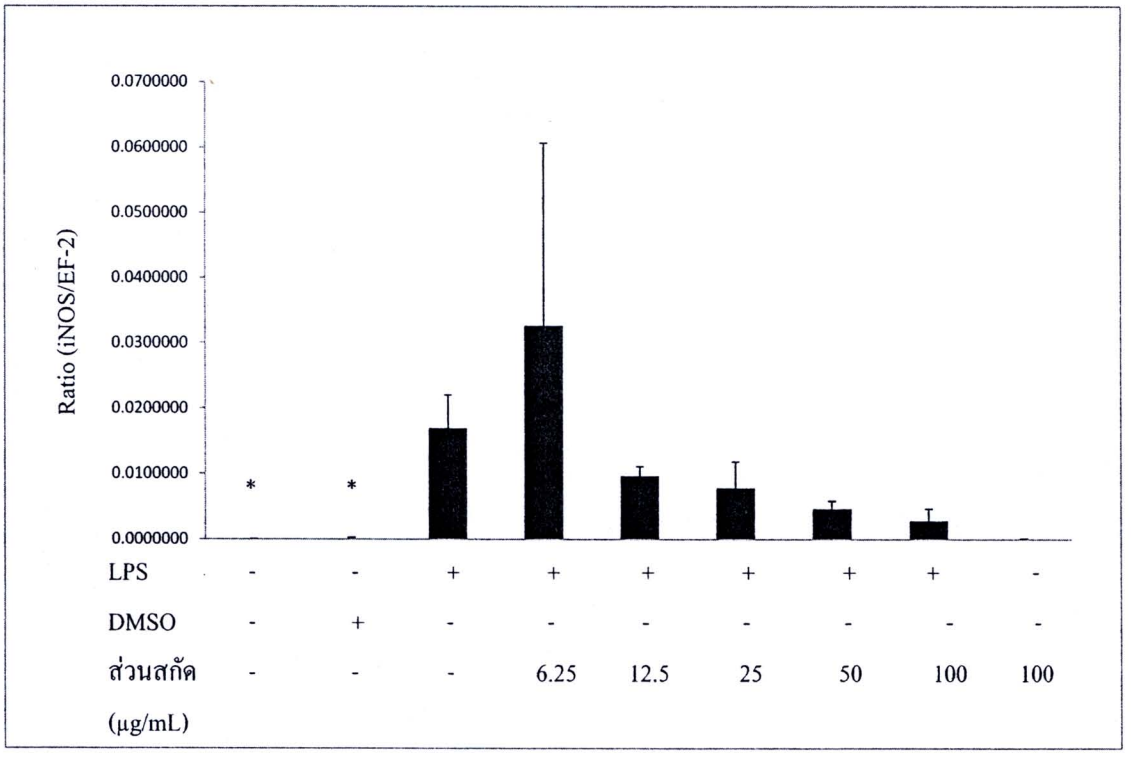
รูปที่ 3-7 ค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจที่สัมผัสกับส่วนสกัดจากใบเบญจมาศน้ำเค็ม ที่ความเข้มข้น 6.25-100 µg/mL เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจที่สัมผัสกับส่วนสกัดเพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับความมีชีวิตรอดของเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสสารใด (CON)



รูปที่ 3-8 ค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจที่สัมผัสกับส่วนสกัดจากใบสำมะง่า ที่ความเข้มข้น 6.25-100 µg/mL เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจที่สัมผัสกับส่วนสกัดเพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับความมีชีวิตรอดของเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้สัมมผัสสารใด (CON)

3.4 ผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่าต่อการแสดงออกของยีน iNOS ในระดับ mRNA

จากผลการศึกษาการข้างต้นพบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์สูงกว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบเบญจมาศน้ำเค็ม ดังนั้นจึงเลือกส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่ามาทดสอบกลไกในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ พบว่าการแสดงออกของยีน iNOS ในระดับ mRNA ของเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่ถูกบ่มด้วยส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่าที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 μg/mL ในสภาวะที่มีและไม่มี LPS พบว่า LPS สามารถกระตุ้นให้มีปริมาณ mRNA ของ iNOS เพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม แต่เมื่อเซลล์สัมผัสกับ LPS และส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท พบว่า สกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่าสามารถลดปริมาณ mRNA ของ iNOS ได้ในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของส่วนสกัด นอกจากนี้ส่วนสกัดเพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 100 μg/mL ไม่สามารถทำให้ปริมาณ mRNA ของ iNOS เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสกับส่วนสกัด หรือเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO ที่ความเข้มข้น 0.4% (ปริมาตร/ปริมาตร) เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3-9

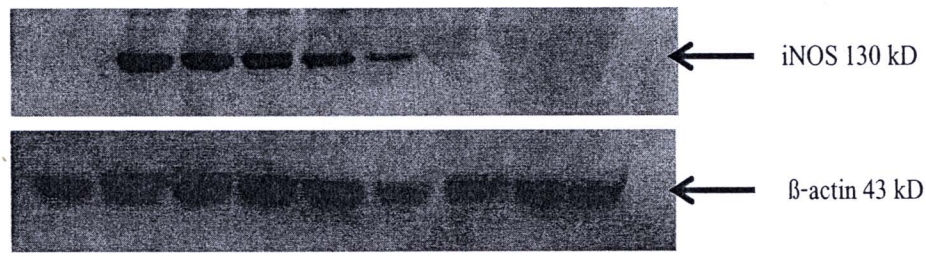


รูปที่ 3-9 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน iNOS ระดับ mRNA ในเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่ถูกบ่มด้วยส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่า ทั้งที่มีและไม่มี LPS (1 μg/ml) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (6.25-100 μg/mL) เป็นเวลา 9 ชั่วโมง ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 2 ครั้ง ที่อิสระต่อกัน โดยให้ CON = เซลล์ควบคุม, DMSO = เซลล์ที่สัมผัสกับ 0.4% DMSO

เพียงอย่างเดียว, LPS = เซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียว และ * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียว

3.5 ผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่าต่อปริมาณโปรตีน iNOS

จากผลการศึกษาปริมาณโปรตีน iNOS ของเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่บ่มด้วยส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของใบสำมะง่า ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 µg/mL ในสภาวะที่มีและไม่มี LPS พบว่า LPS สามารถกระตุ้นให้มีปริมาณโปรตีน iNOS เพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจน แต่เมื่อเซลล์สัมผัสกับ LPS และส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่า พบว่า ปริมาณโปรตีน iNOS ลดลง เมื่อความเข้มข้นของส่วนสกัดเพิ่มมากขึ้น (รูปที่ -3-10) ส่วนสกัดเพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 100 µg/mL ไม่ทำให้ปริมาณโปรตีน iNOS เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสกับส่วนสกัด หรือเซลล์ที่สัมผัสกับ DMSO ที่ความเข้มข้น 0.4% (ปริมาตร/ปริมาตร) เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ -3-10



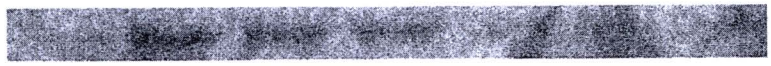
LPS	-	+	+	+	+	+	+	-	-
DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-	+
ส่วนสกัด (µg/mL)	-	-	6.25	12.5	25	50	100	100	-

รูปที่ 3-10 การวิเคราะห์ระดับโปรตีน iNOS โดยเทคนิค Western blot analysis ในเซลล์แมคโครฟาจหนู (RAW 264.7) ที่ถูกบ่มด้วยส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่า ทั้งที่มีและไม่มี LPS (1 µg/ml) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภาพ immunoblot นี้เป็นตัวแทนของการทดลอง 2 ครั้งที่อิสระต่อกัน

3.6 ผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่าต่อการเคลื่อนที่ของ NF-KB p65 subunit

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่าต่อ transcription factor NF-KB ที่ควบคุมการแสดงออกของยีน iNOS และ COX-2 ซึ่งในสภาวะที่เซลล์ไม่ถูกกระตุ้น NF-KB จะจับอยู่กับโปรตีน I-KB ทำให้อยู่ในไซโทซอล แต่เมื่อมีการกระตุ้นโดย LPS จะทำให้ I-KB ถูกสลายตัว และ NF-KB เคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียส ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์โปรตีน NF-KB p65 subunit จาก

นิวเคลียส 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 และส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่า สามารถลดปริมาณโปรตีน p65 NF-KB ในนิวเคลียสในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้นของส่วนสกัด (รูปที่ 3-11)



DMSO 0.2% (v/v)	-	-	-	-	-	-	+
LPS(1μg/ml)	-	+	+	+	+	+	-
ส่วนสกัด (μg/ml)	-	-	25	50	100	100	-

รูปที่ 3-11 ผลการวิเคราะห์ผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่าต่อการเคลื่อนที่สู่นิวเคลียสของโปรตีน p65 NF-KB บ่มเซลล์แมคโครฝาจ RAW 264.7 กับส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่าที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 μg/mL ในสภาวะที่มี LPS เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นสกัดโปรตีนจากนิวเคลียสมาวิเคราะห์โดยเทคนิค Western blotting

3.7 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการผลิตโพรสตาแกลดิน E2 ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่า

โพรสตาแกลดิน E2 เป็น inflammatory mediator อีกตัวหนึ่งที่ถูกหลั่งออกมาในขณะที่มีการอักเสบขึ้น ดังนั้นจึงนำเซลล์ RAW 264.7 บ่มกับส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากใบสำมะง่า และ LPS พบว่าปริมาณโพรสตาแกลนดิน E2 ที่พบในอาหารเลี้ยงเซลล์ควบคุมมีค่าเท่ากับ 176.23± 36.37 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเซลล์ที่สัมผัสกับ LPS เพียงอย่างเดียวมีค่าเท่ากับ 10655.62± 479.21 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าเซลล์ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่เซลล์ที่สัมผัสกับส่วนสกัด และ LPS จะมีปริมาณโพรสตาแกลนดิน E2 ลดลงในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น (ตารางที่ 3-2) ในการทดลองนี้ใช้ยา Indomethacin เป็นตัวควบคุมแบบแบวกสำหรับเอนไซม์ COX-2 โดยเซลล์ที่สัมผัสกับ Indomethacin (10 μM) และ LPS มีปริมาณโพรสตาแกลนดิน E2 ลดลงเหลือเท่ากับ 202.06± 55.92 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 74.43 ± 5.87

ตารางที่ 3-2 แสดงการยับยั้งการผลิตโพรสตาแกลนดิน E2 (PGE_2) ของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของใบสำมะง่าในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของสำมะง่า ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		ความเข้มข้นของ PGE_2 (พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร)[a]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[b]
+LPS	12.5	4270.66± 1939.28	59.92±18.20
	25	1325.90 ± 688.60	87.56±6.46
	50	200.47 ± 31.25	98.12±0.29
	100	277.65 ± 69.90	97.39±0.66
-LPS	100	329.43 ± 150.86	-
Control		176.23± 36.37	-
LPS (1 ug/ml)		10655.62± 479.21	0.00
Indomethacin 10 μM + LPS		202.06± 55.92	74.43 ± 5.87
Indomethacin 10 μM		121.63± 68.86	-

[a] ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

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