

บทคัดย่อ

พืชสมุนไพรในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี ถูกใช้ในการแพทย์พื้นบ้านมาเป็นระยะเวลาอันยาวนาน ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเลือกพืชสมุนไพรจำนวน 21 ชนิดตามการใช้ในทางการแพทย์พื้นบ้านเพื่อรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบต่างๆ เพื่อศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบและวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดเอทานอล และส่วนสกัดน้ำของพืชสมุนไพร การประเมินฤทธิ์ด้านการอักเสบทำโดยวิเคราะห์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) ที่เร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) และพรอสตาแกลนดิน E₂ (prostaglandin E₂) ที่เร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2) ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide, LPS) ทดสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจที่สัมผัสกับส่วนสกัดของพืชโดยวิธี MTT และตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu ผลการศึกษาพบว่าส่วนสกัดของพืชสมุนไพรที่ศึกษามีฤทธิ์ต้านอักเสบ ส่วนสกัดเอทานอลของพืชทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่สูงกว่าส่วนสกัดน้ำ ยกเว้นส่วนสกัดของใบมะฮึกจากส่วนสกัดทั้งหมดพบว่าส่วนสกัดใบสาบแร้งสาบกา และส่วนสกัดของรากมะฮึกมีฤทธิ์ในการลดการผลิตไนตริกออกไซด์ และพรอสตาแกลนดิน E₂ ที่สูง โดยไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้พบว่าความสามารถในการต้านอักเสบ และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดมีความสัมพันธ์ที่ต่ำ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าใบสาบแร้งสาบกา และรากมะฮึกเป็นแหล่งของสารต้านอักเสบตามธรรมชาติที่ดี ส่วนสกัดเอทานอลของใบสาบแร้งสาบกาถูกนำไปศึกษาต่อ เนื่องจากมีการรายงานว่าส่วนสกัดจากใบสาบแร้งสาบกา มีฤทธิ์ต้านอักเสบในสัตว์ทดลองหลายโมเดล แต่ยังไม่มีการอธิบายถึงกลไกการต้านอักเสบของมัน ดังนั้นเราจึงศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบและกลไกการต้านอักเสบของส่วนสกัดเอทานอลของใบสาบแร้งสาบกา (ACE) ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ ACE สามารถยับยั้งการผลิตไนตริก ออกไซด์ และพรอสตาแกลนดิน E₂ ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 22.69 ± 0.14 และ 25.92 ± 5.72 µg/mL ตามลำดับ ACE ที่ความเข้มข้น 3.125-50 µg/mL ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ และลดการแสดงออกของ mRNA และโปรตีนของ iNOS และ COX-2 ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น นอกจากนี้ ACE ยังลดการเคลื่อนที่เข้าสู่นิวเคลียสของหน่วยย่อย p65 ของ nuclear factor-KB (NF-KB) และลดการฟอสโฟรีเลชันของเอนไซม์ extracellular receptor kinase (ERK) และ p38 mitogen-activated protein kinases (MAPKs) ผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นว่า ฤทธิ์ต้านการอักเสบของ ACE อย่างน้อยเกิดผ่านทางกลไกการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ และพรอสตาแกลนดิน E₂ โดยลดการแสดงออกของเอนไซม์ iNOS และ COX-2 และลดการส่งสัญญาณชีวภาพของวิถี NF-KB และ MAPKs การค้นพบนี้เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยสนับสนุนการใช้ใบสาบแร้งสาบกาในทางการแพทย์พื้นบ้านเพื่อรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านอักเสบ, ไนตริกออกไซด์, พรอสตาแกลนดิน E₂, iNOS, COX-2, พืชสมุนไพร, สบประสมสบู่

ABSTRACT

Medicinal plants from Ban Ang-Ed official community forest, Chantaburi Province, have been used in traditional medicine for a long time. In this study, twenty one medicinal plants from Ban Ang-Ed official community forest were selected to extract with ethanol and hot water based on their ethnopharmacological uses to treat various inflammatory diseases. The water and ethanol extracts of the plants were evaluated their anti-inflammatory activity and total phenolic contents. The anti-inflammatory activities of the plant extracts were determined by measuring the inhibitory effect on inducible nitric oxide synthase (iNOS)-catalyzed nitric oxide (NO) and cyclooxygenase-2 (COX-2)-catalyzed prostaglandin E₂ (PGE₂) production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 macrophages. The cytotoxic activities against macrophages were determined by MTT assay. Total phenolic contents were estimated by Folin-Ciocalteu method. The results show that anti-inflammatory activity was observed in the studied plant extracts. The ethanol extracts showed more anti-inflammatory activity than the water extracts except the extract of *Clausena excavate* Burm F. leaves. Among all the extracts, the ethanol extracts of *Ageratum conyzoides* Linn leaves and *C. excavate* roots exhibited high inhibitory effects on NO and PGE₂ production with no significant cytotoxicity. The correlation of anti-inflammatory activity and total phenolic contents of the extracts was low. These obtained results indicated that leaves of *A. conyzoides* and the roots of *C. excavate* are good sources of natural anti-inflammatory agents. The ethanol extract of *A. conyzoides* leaves was selected to further study because the leaf extracts from *A. conyzoides* have been shown anti-inflammatory activity in several animal models. However, the mechanism of its action has not been described yet. Thus we determined the anti-inflammatory activity and the molecular mechanism of the ethanol extract of *A. conyzoides* leaves (ACE) in LPS-stimulated RAW264.7 macrophage model. ACE exhibited an inhibitory effect on NO and PGE₂ production in a concentration-dependent manner with IC₅₀ values of 22.69±0.14 and 25.92±5.72 µg/mL, respectively. ACE at concentrations of 3.125-50 µg/mL showed no significant cytotoxic effect. ACE attenuated the expression of iNOS and COX-2 at mRNA as well as protein levels in a concentration-dependent manner. Additionally, ACE suppressed the level of nuclear factor-κB (NF-κB) p65 subunit translocation and phosphorylation of extracellular

receptor kinase (ERK) and p38 mitogen-activated protein kinases (MAPKs). These results indicate that ACE inhibits inflammatory response, at least in part, by inhibition of NO and PGE₂ production through suppression of iNOS and COX-2 expression via a signaling pathway of NF-κB and MAPKs. These findings provide the scientific evidence to justify the anti-inflammatory therapeutic use of *A. conyzoides* leaves in traditional medicine.

Keywords: Anti-inflammatory activity, Nitric oxide, Prostaglandin E2, iNOS, COX-2, Medicinal plants, *Ageratum conyzoides*