

242630

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



242630

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การประเมินศักยภาพของอนุพันธ์ ferulic acid ในการเป็นยาต้าน  
อักเสบชนิดใหม่

Potential evaluation of ferulic acid derivatives  
as novel anti-inflammatory agents

โดย

ผศ.ดร. กล่าวขวัญ ศรีสุข

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผศ.ดร. เอกรัฐ ศรีสุข

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ได้รับเงินอุดหนุนทุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

งบประมาณปี 2553



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

# การประเมินศักยภาพของอนุพันธ์ ferulic acid ในการเป็นยาต้าน อักเสบชนิดใหม่

## Potential evaluation of ferulic acid derivatives as novel anti-inflammatory agents



โดย

ผศ.ดร. กล่าวขวัญ ศรีสุข

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผศ.ดร. เอกรัฐ ศรีสุข

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ได้รับเงินอุดหนุนทุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

งบประมาณปี 2553

ไนตริกออกไซด์(NO) ที่ถูกผลิตขึ้นในปริมาณมากโดยเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรคที่เกิดจากการอักเสบต่างๆ ในการศึกษาทำการตรวจสอบกลไกระดับโมเลกุลในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของสาร BMC41 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ ferulic acid ที่สังเคราะห์ใหม่และมีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยพบว่าสาร BMC41 สามารถลดการผลิตไนตริกออกไซด์ได้ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $7.1 \mu M$  ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) ข้อมูลของ western-blot และ reverse transcription-polymerase chain reaction พบว่าสาร BMC41 สามารถลดปริมาณโปรตีน และ mRNA ของ iNOS ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้นเหมือนกับการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ การต้านอักเสบของสาร BMC41 เกิดขึ้นโดยการยับยั้ง iNOS promoter activity และการลดการเคลื่อนที่ของ nuclear factor KB p65 (NF-KB) เข้าสู่นิวเคลียส นอกจากนี้ยังพบว่าสาร BMC41 สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของโปรตีน และ mRNA ของ HO-1 ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้นของสารทดสอบและเวลาที่สัมผัสสารทดสอบ การยับยั้งแอกติวิตีของ HO-1 โดย zinc protoporphyrin IX (ZnPP IX) ซึ่งเป็นสารยับยั้งแอกติวิตีของ HO-1 และการกำจัดคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) โดยฮีโมโกลบิน (hemoglobin) สามารถลดการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของสาร BMC41 ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าสาร BMC41 มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ โดยอย่างน้อยเกิดผ่านการกระตุ้น HO-1.

## ABSTRACT

242630

High amount of nitric oxide (NO) produced by inducible nitric oxide synthase (iNOS) appears to be involved in pathogenesis of various inflammatory diseases. In this study, we evaluated the molecular mechanism underlying the inhibition of NO production of BMC41, the most potent newly synthesized ferulic acid derivatives. BMC41 compound suppressed strikingly NO production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 macrophage cells in concentration-dependent manner with an  $IC_{50}$  value of 7.1  $\mu$ M. Western-blot and reverse transcription-polymerase chain reaction data showed that down-regulation of iNOS protein and mRNA expression was coincident with inhibition of NO production. BMC41 has shown the anti-inflammatory action by suppression of iNOS promoter activity and blockade of nuclear translocation of nuclear factor  $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B). Interestingly, BMC41 induced the expression of HO-1 mRNA and protein in a concentration- and a time-dependent manner. Inhibition of HO-1 activity by HO-1 inhibitor, zinc protoporphyrin IX (ZnPP IX) and carbon monoxide (CO) scavenger, hemoglobin (Hb), reversed the suppression of NO production by BMC41. These data suggest that BMC41 exert an anti-inflammatory effect in macrophages, at least in part, via mediation of HO-1.

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือด้านต่างๆ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี ภาควิชาเคมี และภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับความอนุเคราะห์ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ศรารุณี จิตรภักดี ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับอนุเคราะห์หุสารเคมีและสถานที่ในการเตรียม iNOS promoter –luciferase plasmid และการทดสอบ iNOS promoter activity

นอกจากนี้ขอขอบคุณ นางสาวนาฏยา มงคล นางสาวสุพัตรา การกล้า และนางสาวมัลลิกา ปาละ โชติ นิสิตคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับความช่วยเหลือทางเทคนิค

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
ABSTRACT	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
บทนำ	1
ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง	19
ผลการทดลอง	23
อภิปรายผลการทดลอง	32
บรรณานุกรม	35