

ชื่อเรื่องโครงการวิจัย: “การตรวจหาสารในพืชสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2)”

ผู้ทำการวิจัย: รัชดา เกรสซี่

หน่วยงานที่สังกัด: แขนงวิชาเคมีคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

---

Cyclooxygenase (COX) enzyme เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาขั้น rate limiting step ของกระบวนการ สังเคราะห์ Prostaglandins มี 2 รูป ได้แก่ COX-1 และ COX-2 เมื่อเกิดการอักเสบหรือเป็นมะเร็ง จะมีการแสดงออกของ COX-2 ในบริเวณนั้นสูงขึ้น จึงได้มีการใช้ยาที่มีฤทธิ์ยับยั้ง COX เพื่อใช้ลดการอักเสบ เช่น แอสไพริน อย่างไรก็ตามพบว่า ยาต่างๆเหล่านี้ก่อให้เกิดผลข้างเคียงหากได้รับเป็นระยะเวลานานๆ ซึ่งสาเหตุหนึ่งเชื่อว่าเกิดจากการที่ยาเหล่านี้สามารถไปยับยั้ง COX-1 ได้นั่นเอง ถึงแม้ว่าในปัจจุบันนี้จะมีการผลิตและพัฒนาายาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX-2 อย่างจำเพาะออกมาจำหน่าย แต่ผลการวิจัยที่มีการเผยแพร่เมื่อไม่นานมานี้พบว่ายาเหล่านี้ อาจไปมีผลทำให้เซลล์มีการสร้างเอนไซม์ COX-2 ในระดับที่สูงขึ้น ซึ่งจะก่อให้เกิดผลเสียเมื่อใช้ยาไปนานๆ การทดลองครั้งนี้ได้ทำการศึกษาหาสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการสร้างโปรตีน COX-2 ได้อย่างจำเพาะ โดยไม่มีผลต่อ COX-1 ทำการทดลองโดยกระตุ้น U937 monocytic cells ให้เป็น macrophage ด้วย PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) จากนั้นกระตุ้นด้วย LPS (lipopolysaccharide) พร้อมกับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0-500  $\mu\text{g/ml}$  แล้วตรวจวัดระดับโปรตีน COX-1 และ COX-2 ด้วยเทคนิค Western blot analysis

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดกระเทียมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างเอนไซม์ COX-2 อย่างจำเพาะ โดยไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการสร้าง COX-1 ดังนั้นสารสกัดกระเทียม จึงน่าที่จะนำไปพัฒนาเป็นยาต้านการอักเสบและ/หรือยาด้านมะเร็งได้ต่อไปในอนาคต ในขณะที่สารสกัดกะเพรา ว่านหางจระเข้ และขิง ซึ่งพบว่าไม่มีผลต่อการสร้างเอนไซม์ทั้ง COX-1 และ COX-2 อย่างชัดเจนแต่อย่างใดถึงแม้ว่าจะมีรายงานก่อนหน้านี้ว่า พืชเหล่านี้ว่ามีฤทธิ์ในการต้าน การอักเสบ แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติดังกล่าวน่าจะเกิดจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX ในระดับโปรตีนไม่ใช่การลดการสร้างเอนไซม์หรือในระดับยีน ส่วนผลของสารสกัดขมิ้น สารสกัดหญ้าปักกิ่งที่สามารถกระตุ้นการสร้าง COX-2 ให้สูงขึ้นอย่างมี dose response โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารสกัดขมิ้น ซึ่งมีรายงานก่อนหน้านี้ถึงความสามารถในการต้านการอักเสบ และความสามารถในการลดการสร้าง COX-2 ในก้อนเนื้อเมะเร็งนั้น ดังนั้นควรมีการศึกษาศึกษา ลึกลง ไปในรายละเอียดไม่ว่าจะเป็นในแง่ของชนิดของเซลล์ และขนาดของ dose ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้สารสกัดขมิ้นนี้ออกฤทธิ์ตรงกันข้ามกันก็เป็นได้

---

**Project title:** Screening for Inhibitory Activity of Thai medicinal plants against expression of cyclooxygenase-2 (COX-2)

**Investigator:** Ratchada Cressey

**Affiliation:** Division of Clinical Chemistry, Department of Associated Medical Sciences,  
Chiang mai University

---

Cyclooxygenase (COX) is the rate-limiting enzyme plays a major role in Prostaglandin (PG) biosynthesis. Two COX isoforms have been identified. While COX-1 is constitutively expressed, expression of COX-2 is undetectable in most of the normal tissues, but increased in an inflamed and malignant tissue. Therefore, inhibitor of COX enzyme like aspirin has long been used as an anti-inflammatory and anti-cancer drug. However, long-term usage of this drug causes many side effects, which is believed to come from its inhibitory effect on COX-1 activity. Although a number of selective COX-2 inhibitors are now commercially available, a recent report has suggested that the inhibition effect of these drugs on COX-2 activity may result in an induction of COX-2 protein synthesis, which may cause a lot adverse effects for long-term user. Therefore, in this study the suppressive effect of Thai medicinal plant extract on COX-2 expression level was investigated.

The investigation was performed by treating human U937 monocytic cells with PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate), so that they differentiated into macrophage, after which they were stimulated with lipopolysaccharide (LPS) in the presence of various concentrations (0-500 µg/ml) of plant extract. Expression levels of COX-1 and COX-2 in treated cells were examined by Western blot analysis. The results showed that garlic crude extract selectively inhibited COX-2 expression in a dose dependent manner. While crude extract of basil leaves, ginger, alovera, lemon grass and *Centella asiatica* did not show any significant effect on the expression of these two enzymes. Interestingly, it was found that the crude extract from curcumin and dragon grass increased COX-2 expression level in relative to an increase of its concentration.

In conclusion, the selectivity of garlic crude extract on COX-2 expression without any effect on COX-1 expression make it a medicinal plant with a potential use as an anti-inflammation and anti-cancer agent. However, the induction effect of crude extract from dragon grass and curcumin on COX-2 expression should be further investigated.

---