

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : DIGSI80028
 ชื่อโครงการ : การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดจากใบรางจืด
 นักวิจัย : ผศ. ดร. ปราโมทย์ มหคุณากร, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
 E-mail Address : pramah@kku.ac.th
 ระยะเวลาโครงการ : 1 มีนาคม 2551 ถึง 28 กุมภาพันธ์ 2553 (ต่อโครงการถึง กันยายน 2553)

รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรไทยที่อยู่ในวงศ์ Acanthaceae ในตำรายาสมุนไพรรายงานว่ารางจืดมีสรรพคุณในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ชัดเจนเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ต้านอักเสบของสมุนไพรรางจืดดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบและกลไกการออกฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดใบรางจืดโดยการศึกษาในสัตว์ทดลองและเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ ซึ่งการศึกษาฤทธิ์แก้ปวดและต้านอักเสบของสกัดใบรางจืดในหนูถีบจักรพบว่าสารสกัดใบรางจืดด้วยเอทานอลขนาด 400 และ 1,000 mg/kg ฉีดเข้าใต้ผิวหนังสามารถลดจำนวนครั้งการเกิด writhing response ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยมียับยั้ง ได้ 46.26 และ 54.90 % ตามลำดับ ในการทดลอง formalin test พบว่าในช่วง early phase (0-5 นาทีหลังจากฉีด formalin) สารสกัดใบรางจืดขนาด 200, 400 และ 1,000 mg/kg ฉีดเข้าใต้ผิวหนังสามารถลดจำนวนครั้งที่หนูยกเท้าขึ้นเฉลี่ยลงได้อย่างมีนัยสำคัญโดยมีผลยับยั้งได้ 29.36, 32.31 และ 47.57 % ตามลำดับ สำหรับในช่วง late phase (20-30 นาทีหลังจากฉีด formalin) พบว่าสารสกัดใบรางจืดขนาด 200, 400 และ 1,000 mg/kg ฉีดเข้าใต้ผิวหนังสามารถลดจำนวนครั้งที่หนูยกเท้าขึ้นเฉลี่ยลงได้อย่างมีนัยสำคัญโดยมีผลยับยั้งได้ 52.12, 69.59 และ 74.76 % ตามลำดับ จากการทดลอง croton oil-induced ear edema พบว่าสารสกัดใบรางจืดขนาด 0.1, 0.3 และ 0.5 mg/ear ทาบริเวณใบหู สามารถลดการบวมของหูได้อย่างมีนัยสำคัญโดยมีผลยับยั้งอาการบวมได้ 36.89, 44.86 และ 58.22 % ตามลำดับ ในการทดลอง cotton pellet-induced granuloma พบว่าสารสกัดใบรางจืดขนาด 200, 400 และ 1,000 mg/kg ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง สามารถลดการเกิด tissue granulation ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีผลลดได้ 14.35, 16.55 และ 18.09 % ตามลำดับ จากการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดใบรางจืดในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) ที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร lipopolysaccharide (LPS) พบว่า LPS สามารถกระตุ้นมาโครฟาจเซลล์ให้หลั่งสาร inflammatory mediators หลายชนิดเช่น nitric oxide (NO), prostaglandin E₂ (PGE₂) และ tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดใบรางจืดความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25 μ g/ml เมื่อให้ร่วมกับสาร LPS สามารถลดการหลั่งสาร NO, PGE₂ และ TNF- α จากเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่เดียวกันสารสกัดใบรางจืดยังมีผลยับยั้งการแสดงออกของยีน inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2

(COX-2) และ TNF- α ภายในเซลล์มาโครฟาจด้วย จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า
สมุนไพรรางจืดมีฤทธิ์ต้านอักเสบ และฤทธิ์ต้านอักเสบนี้มีผลมาจากการยับยั้งการสร้าง NO,
PGE₂ และ TNF- α ซึ่งผลดังกล่าวคาดว่าจะเกิดจากการยับยั้งการแสดงออกของยีน iNOS, COX-2
และ TNF- α

คำสำคัญ : รางจืด, ฤทธิ์ต้านอักเสบ, iNOS, COX-2, TNF- α

ABSTRACT

Project Code : DIGSI80028

Project Title : Study on the anti-inflammatory mechanisms of *Thunbergia laurifolia* leaf extracts

Investigator : Assistant Professor Dr. Pramote Mahakunakorn
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

E-mail Address : pramah@kku.ac.th

Project Period : 1 March 2008 - 28 February 2010 (Extended to September 2010)

Thunbergia laurifolia Linn. (Acanthaceae) or Rang Chuet is used as a folk medicine in Thailand. Various parts of this plant are traditionally used for the treatment of inflammation. However, little is known about the mechanism(s) underlying its anti-inflammatory activities. In this study, the anticeptive and anti-inflammatory of ethanol extract of *Thunbergia laurifolia* leaf were determined by using writhing test, formalin test, croton oil-induced ear edema and cotton pellet-induced granuloma in mice. Using the writhing test, *Thunbergia laurifolia* leaf extract in a dose of 400 and 1,000 mg/kg (s.c.) significantly inhibited writhing response by 46.26 and 54.90 %, respectively. While the extract cause a significant inhibition of formalin-induced paw licking in mice both in early and late phase of the test. In early phase, the extract at dose of 200, 400 and 1,000 mg/kg (s.c.) significantly suppressed number of licking by 29.36, 32.31 and 47.57 %, respectively. In a late phase, the extract also significantly decreased a number of licking by 52.12, 69.59 and 74.76 %, respectively. Using croton oil-induced ear edema, *Thunbergia laurifolia* leaf extract in a dose of 0.1, 0.3 และ 0.5 mg/ear significantly inhibited ear edema by 36.89, 44.86 and 58.22 %, respectively. In cotton pellet-induced granuloma, *Thunbergia laurifolia* leaf extract at dose of 200, 400 and 1,000 mg/kg, (s.c.) resulted in a significant reduction in granuloma weight by 14.35, 16.55 and 18.09 %, respectively. To further investigate the mechanism(s) of the anti-inflammatory action of the extract, the inhibitory effect of the extract on the production of proinflammatory mediators in lipopolysaccharide (LPS) activated macrophage (RAW 264.7) were determined. *Thunbergia laurifolia* leaf extract (6.25, 12.5 and 25 µg/ml), significantly inhibited the production of nitric oxide (NO), prostaglandin E₂ (PGE₂) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. Consistent with these observations inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2) and TNF- α mRNA levels were decreased by *Thunbergia*

laurifolia leaf extract in a concentration-dependent manner. These results suggest that *Thunbergia laurifolia* exhibit the anti-inflammatory effect and its anti-inflammatory effect may results from the inhibition of NO, PGE₂ and TNF- α production probably by suppression of the iNOS, COX-2 and TNF- α mRNA expression.

Key Words: *Thunbergia laurifolia*, Anti-inflammatory, iNOS, COX-2, TNF- α