

บทคัดย่อ

สารสกัดชั้นเอทานอล ชั้นน้ำ และน้ำมันหอมระเหยของพืชในตระกูล Zingiberaceae ทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Curcuma mangga* (ขมิ้นขาว), *Kaempferia galanga* (เผราะหอม), *Kaempferia parviflora* (กระชายดำ), *Zingiber cassumunar* (ไพล), *Zingiber officinale* (ขิง) และ *Zingiber zerumbet* (กระทือ) ได้ถูกนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านภูมิแพ้โดยใช้ RBL-2H3 cell line ผลการทดลองพบว่า สารสกัดชั้นเอทานอลของเหง้ากระชายดำ มีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ดีที่สุด โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 10.9 $\mu\text{g/ml}$ รองลงมาได้แก่สารสกัดชั้นเอทานอลของเหง้าไพล ($IC_{50} = 12.9 \mu\text{g/ml}$) และขมิ้นขาว (ชั้นน้ำ, $IC_{50} = 36.1 \mu\text{g/ml}$) แต่ไม่พบฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 6 ชนิด

จาก bioassay-guided fractionation ของสารสกัดชั้นเอทานอลของเหง้ากระชาย สามารถแยกสารสำคัญได้ 7 ชนิด ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม flavonoids การทดสอบฤทธิ์ต้านภูมิแพ้พบว่า 5-hydroxy-3, 7, 3', 4'-tetramethoxyflavone (**5**) มีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้สูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.0 μM รองลงมาได้แก่ 5-hydroxy-7-methoxyflavone (**2**, $IC_{50} = 20.6 \mu\text{M}$) และ 5-hydroxy-7, 4'-dimethoxyflavone (**4**, $IC_{50} = 26.0 \mu\text{M}$) ในขณะที่สารอื่นมีฤทธิ์ปานกลาง ($IC_{50} = 37.5-66.5 \mu\text{M}$). Structure-activity relationships ของอนุพันธ์ 7-methoxyflavones ต่อฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ สามารถสรุปได้ดังนี้ 1). การแทนที่ด้วย vicinal methoxyl group ที่ตำแหน่ง 3' และ 4' สามารถเพิ่มฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ได้ดีกว่า methoxylation เพียงตำแหน่งเดียว 2). Methoxylation ของ carbon ตำแหน่งที่ 3 จะทำให้ฤทธิ์ลดลง 3). Methoxylation ที่ตำแหน่งที่ 5 ทำให้ฤทธิ์เพิ่มขึ้นกว่า hydroxylation นอกจากนี้สารตัวที่ **2**, **4** และ **5** ได้ถูกนำมาทดสอบเพื่อหากลไกการออกฤทธิ์โดยวิธี ionomycin-induced β -hexosaminidase release ผลการทดลองพบว่า สารตัวที่ **2** และ **5** มีกลไกหลักในการยับยั้ง cell degranulation โดยการยับยั้ง calcium เข้า cells ในขณะที่สารตัวที่ **4** ยับยั้ง calcium เข้า cells เพียงบางส่วน

จากงานวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่า สารที่มีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ของเหง้ากระชายดำได้แก่ 5-hydroxy-3, 7, 3', 4'-tetramethoxyflavone (**5**), 5-hydroxy-7-methoxyflavone (**2**) และ 5-hydroxy-7, 4'-dimethoxyflavone (**4**) ดังนั้นผลงานวิจัยนี้จึงสนับสนุนการใช้เหง้ากระชายดำในการรักษาโรคภูมิแพ้ตามการใช้ทางแพทย์แผนไทย

คำสำคัญ : RBL-2H3 cells, Anti-allergic activity, Zingiberaceous plants, *Kaempferia parviflora*

Abstract

Ethanollic and water extracts, together with volatile oils from the rhizomes of six selected Zingiberaceous plants, including *Curcuma mangga*, *Kaempferia galanga*, *Kaempferia parviflora*, *Zingiber cassumunar*, *Zingiber officinale* and *Zingiber zerumbet* were investigated for their anti-allergic activities using a RBL-2H3 cell line. The ethanollic (EtOH) extract of *Kaempferia parviflora* exhibited the most potent anti-allergic effect against antigen-induced β -hexosaminidase release as a marker of degranulation in RBL-2H3 cells, with an IC_{50} value of 10.9 $\mu\text{g/ml}$, followed by *Zingiber cassumunar* (EtOH, IC_{50} = 12.9 $\mu\text{g/ml}$) and *Curcuma mangga* (water, IC_{50} = 36.1 $\mu\text{g/ml}$). The volatile oils of these six plants were apparently inactive (IC_{50} > 100 $\mu\text{g/ml}$).

Bioassay-guided fractionation led to the isolation of seven methoxyflavone derivatives (**1-7**) from *Kaempferia parviflora* extract and they were identified on the basis of spectroscopic methods. Among the compounds tested, 5-hydroxy-3, 7, 3', 4'-tetramethoxyflavone (**5**) possessed the highest anti-allergic activity against antigen-induced β -hexosaminidase release as a marker of degranulation in RBL-2H3 cells with an IC_{50} value of 8.0 μM , followed by 5-hydroxy-7-methoxyflavone (**2**, IC_{50} = 20.6 μM) and 5-hydroxy-7, 4'-dimethoxyflavone (**4**, IC_{50} = 26.0 μM), whereas others showed moderate activities (IC_{50} = 37.5-66.5 μM). Structure-activity relationships of 7-methoxyflavone derivatives on anti-allergic activity can be summarized as follow: (1) substitution with vicinal methoxyl groups at positions 3' and 4' conferred higher activity than only one methoxylation; (2) methoxylation at position 3 reduced activity; and (3) methoxylation at position 5 showed higher activity than hydroxylation. Compounds **2**, **4** and **5** were also tested on ionomycin-induced β -hexosaminidase release. The results indicated that the mechanism on inhibition of cell degranulation of compounds **2** and **5** may mainly involve the inhibition of Ca^{2+} influx to the cells, whereas that of **4** may be partly due to this inhibition.

In regards to the active constituents for anti-allergic activity of *K. parviflora*, 5-hydroxy-3, 7, 3', 4'-tetramethoxyflavone (**5**), 5-hydroxy-7-methoxyflavone (**2**) and 5-hydroxy-7, 4'-dimethoxyflavone (**4**) are responsible for anti-allergic effect of this plant. The findings support the traditional use of *K. parviflora* rhizomes for treatment of allergy and allergy-related diseases.

Key words: RBL-2H3 cells, Anti-allergic activity, Zingiberaceous plants, *Kaempferia parviflora*