บทคัดย่อ

ไนตริกออกไซด์ในปริมาณมากที่ถูกผลิตขึ้นจากเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรคจากการอักเสบต่างๆ สาร *N*-acetyl-*O*-methyldopamine (NAMDA) และอนุพันธุ์สามารถยับยั้งแอกติวิตีของเอนไซม์ iNOS ในการวิจัยนี้ทำการศึกษากลไกระดับโมเลกุลในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของอนุพันธุ์ NAMDA ชนิดใหม่ที่ถูกเลือกมาศึกษา คือ BMC3 BMC12 BMC34 และ BMC41 อนุพันธุ์ NAMDA เหล่านี้ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฝาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ผลของ Western-blot และ RT-PCR แสดงให้เห็นว่าอนุพันธุ์ NAMDA ลดการแสดงออกของโปรตีนและ mRNA ของ iNOS ซึ่งสอดคล้องกับการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ อนุพันธุ์ NAMDA เหล่านี้ยังสามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของโปรตีนและ mRNA ของ heme oxygenase-1 (HO-1) ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้นและเวลา สาร BMC41 เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้ง iNOS สามารถลดการแสดงออกของ iNOS ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น เป็นผลให้มีการลดไนตริกออกไซด์ที่ถูกผลิตขึ้นจากเอนไซม์ iNOS สาร BMC41 ยังยับยั้งการเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสของ nuclear factor-κB (NF-κB) หน่วยย่อย p65 และลดแอกติวิตีของ iNOS promoter นอกจากนี้ยังพบว่า tin protoporphyrin IX (SnPP) ที่เป็นสารยับยั้ง HO-1 สามารถลดความสามารถในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของ BMC41 ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านการอักเสบของสาร BMC41 ในเซลล์แมคโครฝาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS โดยยับยั้งการแสดงออกของ iNOS และการผลิตไนตริกออกไซด์ เกิดโดยกลไกการยับยั้งการเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสของ NF-κB และการกระตุ้นเอนไซม์ HO-1 ดังนั้นสาร BMC41 จึงมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอักเสบชนิดใหม่ที่ใช้รักษาโรคจากการอักเสบที่ไนตริกออกไซด์มีส่วนร่วม

คำสำคัญ : แมคโครฝาจ, ไนตริกออกไซด์, inducible nitric oxide synthase, heme oxygenase-1, NAMDA

Abstract

High amount of nitric oxide (NO) produced by inducible nitric oxide synthase (iNOS) appears to be involved in pathogenesis of various inflammatory diseases. *N*-acetyl-*O*-methyldopamine (NAMDA) and its derivatives have been shown to inhibit iNOS activity. In this study, we evaluated the molecular mechanism underlying the inhibition of NO production of BMC3, BMC12, BMC34 and BMC41, selected newly synthesized NAMDA derivatives. All of selected NAMDA derivatives suppressed strikingly NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. Western-blot and RT-PCR data showed that down-regulation of iNOS protein and mRNA expression was coincident with inhibition of NO production. Interestingly, all of selected NAMDA derivatives induced the expression of heme oxygenase-1 (HO-1) mRNA and protein in a concentration- and a time-dependent manner. One of selected NAMDA derivatives, BMC41, the most potent iNOS inhibitor, suppressed the expression of iNOS in a dose-dependent manner resulting in the reduction of iNOS-derived NO formation. BMC41 also inhibited nuclear translocation of nuclear factor-κB p65 (NF-κB) and decreased LPS-stimulated iNOS promoter activity. Furthermore, the inhibitory effect on NO production of BMC41 was significantly reversed by a HO-1 inhibitor, tin protoporphyrin IX (SnPP). Taken together, these results suggest that BMC41 compound has anti-inflammatory effect in LPS-treated macrophages by inhibition of iNOS expression and NO production via mechanisms involving suppression of the NF-κB nuclear translocation and the activation of HO-1. Thus, BMC41 compound has potential to be used as a novel agent for the treatment of NO-related inflammatory diseases.

Keywords: inducible nitric oxide synthase, heme oxygenase-1, macrophage, NAMDA, nitric oxide.