

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: PDF/54/2544

ชื่อโครงการ: การพัฒนายาจากขมิ้นเพื่อรักษาข้ออักเสบรูมาตอยด์: การศึกษาทางพรีคลินิก

ชื่อนักวิจัย: ดร.อรกัญญา วิบูลย์สวัสดิ์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Professor Dr IJsbrand M Kramer, Universite de Bordeaux I

E-mail Address: auragun@hotmail.com, i.kramer@iecb-polytechnique.u-bordeaux.fr

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (1 กรกฎาคม 2544 – 30 มิถุนายน 2546)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาว่าขมิ้น (*Curcuma domestica* Valetton) มีการออกฤทธิ์ที่แท้จริงอย่างไรในโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis)

ขมิ้นถูกสกัดเป็นสามรูปแบบ ได้แก่ สารสกัดหยาบ สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์กลุ่มมีขั้วและสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์กลุ่มไม่มีขั้ว เซลล์เพาะเลี้ยงพัฒนามาจากการแยก fibroblast-like synoviocyte (FLS) ออกจากเยื่อข้อของผู้ป่วยข้ออักเสบรูมาตอยด์จำนวน 7 ราย และเลี้ยงในสภาวะควบคุมในห้องปฏิบัติการ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการงอกขยาย (proliferation) ของ FLS กระทำโดยการให้สารสกัดขมิ้นแก่เซลล์ โดยมีเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดเป็นเซลล์ควบคุม มีเซลล์เปรียบเทียบได้แก่ เซลล์ที่ได้รับ etanercept และเซลล์ที่ได้รับสารสกัดรากเตยหอม (*Pandanus amaryllifolius*) หลังจากเลี้ยงเซลล์ต่อไประยะหนึ่งนับจำนวนเซลล์ด้วย counting chamber และด้วยเครื่องนับเซลล์ นอกจากนี้ยังทำ immunocytochemistry เพื่อสืบหา Ki-67 antigen ในนิวเคลียส (nucleus) การทดสอบนี้กระทำทั้งในสภาพแวดล้อมที่มีและไม่มี interleukin (IL)-1 β และ tumour necrosis factor (TNF)- α การทดสอบฤทธิ์ที่มีต่อการผลิตหรือหลั่ง matrix metalloproteinase (MMP)-1 และ tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP)-1 กระทำโดยให้สารแก่ระบบเซลล์เช่นเดียวกับการทดสอบการงอกขยาย วัดความเข้มข้นของ MMP-1 และ TIMP-1 ด้วย enzyme-linked immunosorbent assay

ผลการทดลองปรากฏว่าเซลล์ที่เจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่มี IL-1 β และ TNF- α เมื่อได้รับสารสกัดหยาบ สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์กลุ่มมีขั้วและสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์กลุ่มไม่มีขั้ว สามารถงอกขยายได้น้อยกว่าเซลล์ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเมื่อไม่มี cytokine ทั้งสองในสิ่งแวดล้อมพบว่าเฉพาะสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์กลุ่มมีขั้วสามารถยับยั้งการงอกขยายได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่เซลล์ที่ได้รับ etanercept และเซลล์ที่ได้รับสารสกัดรากเตยหอมมีการงอกขยายเท่ากับหรือมากกว่าเซลล์ควบคุม ระบบเซลล์ที่ได้รับสารสกัดกลุ่มมีขั้วมีระดับ MMP-1 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสิ่งแวดล้อมที่มี cytokine ทั้งสอง และเซลล์ที่ได้รับ etanercept หรือสารสกัดรากเตยหอมมีปริมาณ TIMP-1 ต่อ 1 เซลล์ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

สรุปได้ว่าขมิ้นออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการงอกขยายและลดปริมาณ MMP-1 ที่ปลดปล่อยจาก FLS โดยไม่มีผลต่อการผลิตหรือหลั่ง TIMP-1 นั่นคือขมิ้นน่าจะกลับกระบวนการดำเนินโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ได้ โดยอาจมีข้อดีเหนือกว่า etanercept ด้วย การวิจัยที่ควรกระทำขั้นต่อไปได้แก่ การพัฒนาตำรับยาจากขมิ้น ทดสอบพิษในสัตว์ทดลองและทดสอบระยะคลินิก

คำหลัก: ขมิ้น, *Curcuma domestica*, ข้ออักเสบรูมาตอยด์, fibroblast-like synoviocyte

Abstract

Project Code: PDF/54/2544

Project Title: Development of an Anti-Rheumatoid Arthritic Drug from *Curcuma domestica* Valeton: Preclinical Study

Investigator: Dr Auragun Wibulswas, Thammasat University
Professor Dr IJsbrand M Kramer, Universite de Bordeaux I

E-mail Address: auragun@hotmail.com, i.kramer@iecb-polytechnique.u-bordeaux.fr

Project Period: 2 years (1 July 2001 – 30 June 2003)

This study aims to determine the actual mechanism of actions of turmeric (*Curcuma domestica* Valeton) in rheumatoid arthritis (RA).

The turmeric rhizome was extracted into 3 forms, namely crude, polar semi-purified and non-polar semi-purified extracts. The synovium obtained from 7 RA patients was dissected, and fibroblast-like synoviocytes (FLSs) were isolated and cultured. The FLSs treated with the turmeric extracts were tested for their proliferation. Negative control was dimethyl sulfoxide-treated cells. Other FLSs were treated with etanercept or fragrant screw pine (*Pandanus amaryllifolius*) for comparison. After the treatment, the number of cells was determined using a counting chamber and an automatic counter. Immunocytochemistry for Ki-67 was also performed. All experiments were either done in the presence or absence of interleukin (IL)-1 β and tumour necrosis factor (TNF)- α . Identical cell systems were examined for the production/secretion of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP)-1, using enzyme-linked immunosorbent assays.

FLSs treated with any of the 3 turmeric extracts had significantly decreased number of cells in the presence of IL-1 β and TNF- α , but only the polar semi-purified extract significantly suppressed the cell proliferation in the absence of the cytokines. Etanercept and the fragrant screw pine did not show an inhibitory effect on the cell proliferation. The supernatant of FLSs treated with the polar semi-purified extract had significantly reduced levels of MMP-1 when the two cytokines were present while the etanercept- or fragrant screw pine-treated cells had significantly lower levels of TIMP-1 per cell.

It can be concluded that turmeric extracts act by inhibiting the proliferation and reducing the release of MMP-1 from FLSs without affecting the levels of TIMP-1 released from the cells. Turmeric is, therefore, likely to be able to reverse the progression of RA and to be superior to etanercept in regard to the effects on FLSs. Recommended further studies are formulation of turmeric products, toxicity test in animal models and clinical studies.

Keywords: turmeric, *Curcuma domestica*, rheumatoid arthritis, fibroblast-like synoviocyte