

Thesis Title	Relationship Between Free Radical Scavenging and Anti-inflammatory Activities of Medicinal Plants in Northern Thailand
Author	Mr. Chalermpong Saenjum
Degree	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Chaiyavat Chaiyasut Chairperson Asst. Prof. Dr. Sunee Chansakaow Member

ABSTRACT

Several medicinal plants in Northern Thailand have been used in rheumatoid arthritis, hemorrhoid, and inflammatory symptom for use by traditional practitioners for a long time without the scientific support data. Therefore, it is worthy to study the inflammatory property assessed by free radical scavenging of such plants. The radical scavenging activities assay, which related to inflammation property were modified for this study.

Six kinds of medicinal plants, *Caesalpinia sappan* L., *Leea rubra* Blume ex Spreng., *Syzygium albiflorum* Bahodur & R.C. Guar ST., *Vernomia volkamerifolia* Wall.ex DC., *Schleichera oleosa* Merr. and *Holoptelea integrifolia* Planch. were collected from San Pa Thong, Chiang Mai, Thailand and extracted with 95% ethanol by soxhlet's apparatus to give the ethanolic extracts. The extracts were studied for free radical scavenging activity by ABTS^{•+} decolorizing assay, scavenging effect on superoxide anion and nitric oxide. *L. rubra* exhibited the highest ABTS^{•+} scavenging activity with the Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) = 0.6107 ±0.0038 gram L-ascorbic acid/gram of extract and Trolox Equivalent Antioxidant

Capacity (TEAC) = 0.9485 ± 0.0052 gram trolox/gram of extract. *C. sappan* showed the highest superoxide anion scavenging activity with an EC_{50} value of 7.73 ± 0.06 $\mu\text{g/ml}$, which is comparable to the activity of L-ascorbic acid ($EC_{50} = 6.65 \pm 0.07$ $\mu\text{g/ml}$) and rutin ($EC_{50} = 7.83 \pm 0.13$ $\mu\text{g/ml}$). Furthermore, it exhibited the highest nitric oxide scavenging activity with EC_{50} value of 4.24 ± 0.14 $\mu\text{g/ml}$, the activity was comparable to curcumin with an EC_{50} value of 5.70 ± 0.08 $\mu\text{g/ml}$ and it exhibited the highest peroxynitrite scavenging activity with an EC_{50} value of 178.3 ± 2.79 $\mu\text{g/ml}$, which comparable to epigallocatechin gallate (EGCG) with an EC_{50} value of 202.7 ± 2.17 $\mu\text{g/ml}$. All of extracts showed a concentration-dependent antiradical activity. *C. sappan* exhibited the highest efficient protection supercoiled DNA PUC18 damage from Fenton reaction at 5 $\mu\text{g/ml}$. The amount of total phenolic compound content was highest in *C. Sappan* with the gallic acid equivalent = 0.5540 ± 0.0192 mg gallic acid/mg of extract and pyrogallol equivalent = 0.3947 ± 0.0046 mg pyrogallol/mg of extract. Three extracts *C. sappan*, *L. rubra* and *S. albiflorum* were chosen to study cyclooxygenase-2 inhibition. As the results, all extracts can not inhibited cyclooxygenase-2 (COX-2) enzyme via the measurement of prostaglandin produced from mouse COX-2 null cell line, the activity was comparable to aspirin.

Taken together, these findings suggest that the anti-radicals activity is not relate to anti-inflammatory property via the measurement of prostaglandin produced from mouse COX-2 null cell line. The anti-inflammatory property of the Northern Thai medicinal plant extracts may be active in another pathway of inflammation, because of the inflammation process has the several pathways. In the future, the extracts will be studied for the anti-inflammatory property in the other pathways.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้าน

การอักเสบของสมุนไพรในภาคเหนือของประเทศไทย

ผู้เขียน

นายเฉลิมพงษ์ แสนจุ่ม

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร.ไชยวัฒน์ ไชยสุต

ประธานกรรมการ

ผศ.ดร.สุนีย์ จันทร์สกา

กรรมการ

บทคัดย่อ

สมุนไพรพื้นบ้านภาคเหนือถูกนำมาใช้รักษาอาการข้ออักเสบรูมาตอยด์ ริดสีดวงและอาการที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบโดยหมอฟันบ้านล้านนาสืบทอดต่อกันมาเป็นระยะเวลาอันยาวนาน โดยที่ยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รองรับ สมุนไพรล้านนาจึงน่าสนใจในการนำมาศึกษาคุณสมบัติด้านการอักเสบผ่านการขจัดอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบที่ได้ทำการคัดแปลงขึ้นมาใหม่

สมุนไพรพื้นบ้านภาคเหนือจำนวน 6 ชนิดประกอบด้วยฝาง เชียงแข้งม้า มะห้านก มะโหก โตน มะจึกและชะจาวนำมาสกัดด้วยเอทานอลโดยใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง หลังจากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+}, superoxide anion และ nitric oxide พบว่าสารสกัดเชียงแข้งม้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} สูงที่สุดโดยมีค่า Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) เท่ากับ 0.6107 ± 0.0038 กรัม L-ascorbic acid ต่อกรัมสารสกัด และ Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) เท่ากับ 0.9485 ± 0.0058 กรัม trolox ต่อกรัมสารสกัด สารสกัดฝางมีฤทธิ์การขจัดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์สูงที่สุดโดยมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 7.73 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีฤทธิ์ต่ำกว่าสารมาตรฐาน L-ascorbic acid ที่มีค่า EC₅₀ เท่ากับ $6.65 \pm$

0.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่มีฤทธิ์สูงกว่าสารมาตรฐาน rutin ที่มีค่า EC_{50} เท่ากับ 7.83 ± 0.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดฝางมีฤทธิ์ในการขจัดอนุมูลอิสระในตริกออกไซด์สูงที่สุดโดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 4.24 ± 0.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่ามีฤทธิ์สูงกว่าสารมาตรฐาน curcumin ที่มีค่า EC_{50} เท่ากับ 5.70 ± 0.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดฝางยังมีฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระเปอร์ออกซีไนไตรท์โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 173.8 ± 2.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบฤทธิ์กับสารมาตรฐาน epigallocatechin gallate (EGCG) ที่มีค่า EC_{50} เท่ากับ 202.7 ± 2.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดฝางแสดงฤทธิ์ที่ดีที่สุดในการป้องกันการทำงานดีเอ็นเอด้วยอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดฝางมีสารกลุ่มฟีนอลิกเป็นส่วนประกอบมากที่สุดโดยมีค่า gallic acid equivalent เท่ากับ 0.5540 ± 0.0192 มิลลิกรัม gallic acid ต่อมิลลิกรัมสารสกัด และ pyrogallol equivalent เท่ากับ 0.3947 ± 0.0046 มิลลิกรัม pyrogallol ต่อมิลลิกรัมสารสกัด หลังจากนั้นคัดเลือกสารสกัดสมุนไพรจำนวน 3 ชนิดได้แก่ ฝาง เหียงแข้งม้าและมะห้านกถูกคัดเลือกโดยผลการศึกษาข้างต้นนำมาศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพรทั้งสามไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ COX-2 เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแอสไพริน

ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์การขจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรไม่ได้สัมพันธ์กับคุณสมบัติด้านการอักเสบผ่านการยับยั้งเอนไซม์ COX-2 จึงอาจเป็นไปได้ว่าคุณสมบัติด้านการอักเสบของสารสกัดสมุนไพรอาจผ่านกลไกอื่น ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการอักเสบเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนมีหลายกลไก ในอนาคตจะนำสารสกัดสมุนไพรดังกล่าวมาศึกษาคุณสมบัติด้านการอักเสบโดยใช้กลไกการอักเสบที่แตกต่างจากเดิม