

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง	การประเมินฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอล จากรำข้าวเก่าไทย
ผู้วิจัย	รองศาสตราจารย์ ดร.บุษบัน ศิริบุญญาลักษณ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
คำสำคัญ	ฤทธิ์ด้านการอักเสบ, ไนตริกออกไซด์, แกมม่า-โอโรซานอล

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ด้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์จากเซลล์ mouse macrophage RAW 264.7 ของสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลที่สกัดจากรำข้าวเก่าและรำข้าวแดงสายพันธุ์พื้นเมืองของไทย โดยทำการเก็บตัวอย่างข้าวเก่าเจดีย์โคะ (BR-1) ข้าวเก่าปั้ง (BR-2) และข้าวเก่าต๋อ (BR-3) จากจังหวัดตาก ตัวอย่างข้าวแดงจอมทอง (BR-4) ข้าวแดงดอยหล่อ (BR-5) และข้าวแดงอมก๋อย (BR-6) จากจังหวัดเชียงใหม่ นำรำข้าวที่ได้มาสกัดแยกสารสกัดหยาบน้ำมัน (crude rice bran oil) ด้วยเทคนิคการสกัดแบบซอกหักเล็ท จากนั้นจึงนำมาแยกสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี วิเคราะห์ปริมาณแกมม่า-โอโรซานอลในสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (reverse-phase HPLC) พบว่าสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลที่แยกสกัดจากรำข้าวทั้ง 6 ชนิดมีปริมาณแกมม่า-โอโรซานอลอยู่ในช่วงระหว่าง 1.17 – 10.80% สารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลจากรำข้าวแดงจอมทองมีปริมาณแกมม่า-โอโรซานอลสูงที่สุด ($10.80 \pm 0.25\%$) ตามมาด้วยรำข้าวเก่าปั้ง ($8.33 \pm 0.13\%$) รำข้าวเก่าต๋อ ($8.20 \pm 0.23\%$) รำข้าวแดงดอยหล่อ ($6.93 \pm 0.05\%$) รำข้าวแดงอมก๋อย ($6.25 \pm 0.17\%$) และรำข้าวเก่าเจดีย์โคะ ($1.17 \pm 0.11\%$) ตามลำดับ จากนั้นจึงคัดเลือกสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลที่มีปริมาณแกมม่า-โอโรซานอลมากกว่าร้อยละ 5 มาทำมาตรฐานของสารสกัด (standardization) และนำสารสกัดแกมม่าโอโรซานอลมาทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบผ่านกลไกการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์จากเซลล์ mouse macrophage RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS และ IFN- γ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแกมม่า-โอโรซานอลและสารมาตรฐานเคอร์คูมิน โดยสามารถเรียงลำดับความสามารถในการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์จากเซลล์ mouse macrophage RAW 264.7 สารมาตรฐานเคอร์คูมินมีความสามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ได้สูงที่สุดโดยมีความเข้มข้นที่สามารถการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ได้

ร้อยละ 50 (50% Inhibition concentration) = $11.78 \pm 1.59 \mu\text{g/ml}$ ตามมาด้วยสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลจากรำข้าวเก่าบั้ง (BR-2, $23.69 \pm 1.87 \mu\text{g/ml}$) สารมาตรฐานแกมม่า-โอโรซานอล ($24.12 \pm 1.67 \mu\text{g/ml}$) สารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลจากรำข้าวเก่าต่อ (BR-3, $24.66 \pm 2.31 \mu\text{g/ml}$) สารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลจากรำข้าวแดงจอมทอง (BR-4, $26.92 \pm 2.23 \mu\text{g/ml}$) สารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลจากรำข้าวแดงดอยหล่อ (BR-5, $34.20 \pm 2.14 \mu\text{g/ml}$) และสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลจากรำข้าวแกมมก้อย (BR-6, $41.22 \pm 3.09 \mu\text{g/ml}$) ตามลำดับ โดยช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ mouse macrophage RAW 264.7 จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ได้ร้อยละ 50 ของสารมาตรฐานแกมม่า-โอโรซานอล สารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลจากรำข้าวเก่าบั้ง รำข้าวเก่าต่อและรำข้าวแดงจอมทองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความน่าเชื่อมั่น 95% ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดแกมม่า-โอโรซานอลในกลไกระดับโมเลกุลต่อไป

ABSTRACT

TITLE Evaluation of Anti-inflammatory Activity of Gamma-Oryzanol
from Thai Purple Rice Bran

RESEARCHER Associate Prof. Dr. Busaban Sirithunyalug
Department of Pharmaceutical Sciences
Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University

KEYWORDS Anti-inflammatory activity, Nitric oxide, Gamma-oryzanol

This study was carried out to evaluate anti-inflammatory activity through the inhibition of nitric oxide production from mouse macrophage RAW 264.7 cell line of gamma-oryzanol extracts from Thai purple rice bran and red rice bran. Three cultivars of Thai purple rice were collected from Tak province, namely Kum Jadeekho (BR-1), Kum Boun (BR-2) and Kum Tor (BR-3). Three cultivars of Thai red-rice were collected from Chiang Mai province, namely Khao' Dang Jom Thong (BR-4), Khao' Dang Doi Lo (BR-5) and Khao' Dang Omkoi (BR-6). Crude rice bran was extracted to rice bran oil by Soxhlet's extraction technique. Then, crude rice bran oils were semi-purified by column chromatography to obtain the gamma-oryzanol rich extracts. The amount of gamma-oryzanol was analyzed by the reverse-phase HPLC. Gamma-oryzanol extracts from rice bran of 6 cultivars have gamma-oryzanol content between 1.17–10.80%. Gamma-oryzanol extract from Khao' Dang Jom Thong rice bran exhibited the highest gamma-oryzanol content ($10.80 \pm 0.25\%$), followed by Kum Boun rice bran ($8.33 \pm 0.13\%$), Kum Tor rice bran ($8.20 \pm 0.23\%$), Khao' Dang Doi Lo rice bran ($6.93 \pm 0.05\%$), Khao' Dang Om Koi rice bran ($6.25 \pm 0.17\%$) and Kum Jadeekho ($1.17 \pm 0.11\%$), respectively. Then, gamma-oryzanol extracts with gamma-oryzanol content more than 5% were selected to standardization before evaluation of anti-inflammatory activity through nitric oxide production from mouse macrophage RAW 264.7 cell line induced by lipopolysaccharide and interferon- γ . The activities were compared to gamma-oryzanol and curcumin. Curcumin exerted the highest inhibition on nitric oxide production with 50% inhibition concentration value of $11.78 \pm 1.59 \mu\text{g/ml}$, followed by gamma-oryzanol extract from Kum Boun rice bran (BR-

2, $23.69 \pm 1.87 \mu\text{g/ml}$), standard gamma-oryzanol ($24.12 \pm 1.67 \mu\text{g/ml}$), gamma-oryzanol extract from Kum Tor rice bran (BR-3, $24.66 \pm 2.31 \mu\text{g/ml}$), gamma-oryzanol extract from Khao' Dang Jom Thing rice bran (BR-4, $26.92 \pm 2.23 \mu\text{g/ml}$), gamma-oryzanol extract from Khao' Dang Doi Lo rice bran (BR-5, $34.20 \pm 2.14 \mu\text{g/ml}$) and gamma-oryzanol extract from Khao' Dang Om Koi rice bran (BR-6, $41.22 \pm 3.09 \mu\text{g/ml}$), respectively. The concentrations used to evaluate anti-inflammatory activity did not exhibit cytotoxic activity in mouse macrophage RAW 264.7. The 50% Inhibition concentration value of gamma-oryzanol and gamma-oryzanol extract from Kum Boun rice bran (BR-2), Kum Tor rice bran (BR-3) and Khao' Dang Jom Thong (BR-4) were insignificantly different at 0.05 level. Further investigations will determine the anti-inflammatory activity to understand the mechanism at molecular level.