

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสาร curcumin ในการป้องกันและรักษาโรคในทางเดินอาหารที่เกี่ยวกับการอักเสบ
ผู้เขียน	นางศิริมา มหัทธนาคุณย์
สาขาวิชา	เภสัชศาสตร์
ปีการศึกษา	2548

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของ curcumin ซึ่งเป็นสารสีเหลืองที่เป็นองค์ประกอบสำคัญมาตรฐานของเหง้าขมิ้นชันในการป้องกันและรักษาโรคในทางเดินอาหารที่เกี่ยวกับการอักเสบในสัตว์ทดลอง เพื่อเป็นข้อมูลการทดลองทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์และเภสัชในการนำไปใช้ในทางคลินิกในการรักษาโรคหลอดอาหารอักเสบ เนื่องจากการไหลย้อนกลับของกรดและ/หรือน้ำดีจากกระเพาะอาหารและ/หรือลำไส้เล็กส่วนต้น (reflux esophagitis), กระเพาะอาหารอักเสบ (gastritis), แผลในกระเพาะอาหารแบบเรื้อรัง (chronic gastric ulcer) และลำไส้ใหญ่ส่วนปลายอักเสบ (ulcerative colitis)

ผลการศึกษาในหนูขาว พบว่า สาร curcumin ในขนาด 20 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เมื่อให้โดยการฉีดเข้าลำไส้เล็กส่วนต้น สามารถป้องกันการเกิดภาวะหลอดอาหารอักเสบเฉียบพลันเนื่องจากการไหลย้อนกลับของกรดจากกระเพาะอาหาร (acute acid reflux esophagitis) อย่างมีนัยสำคัญแต่มีประสิทธิผลต่ำกว่ายามาตรฐาน lansoprazole ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารอย่างสมบูรณ์โดยการยับยั้งโปรตอนปั๊ม (proton pump inhibitors) และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อ hydroxyl radical ในทางตรงกันข้ามพบว่า สาร curcumin มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดภาวะหลอดอาหารอักเสบเฉียบพลันเนื่องจากการไหลย้อนกลับของกรดและน้ำดีจากกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น (acute mixed reflux esophagitis) ได้สูงกว่ายามาตรฐาน lansoprazole อย่างมีนัยสำคัญ สาร curcumin เมื่อให้ทางปากไม่มีผลในการป้องกันการเกิดภาวะหลอดอาหารอักเสบเรื้อรังจากการไหลย้อนกลับของกรดจากกระเพาะอาหาร (chronic acid reflux esophagitis) อย่างไรก็ตาม เมื่อฉีดสาร curcumin ร่วมกับสารละลาย dimethyl sulfoxide ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเฉพาะต่อ hydroxyl radical เข้าช่องท้องโดยตรง สามารถลดอัตราการตายและความรุนแรงของการเกิดการอักเสบของหลอดอาหารในหนูขาวในการทดลองดังกล่าวโดยมีประสิทธิผลเทียบเท่ากับผลที่ได้จากการให้ยามาตรฐาน lansoprazole เข้าทางปาก สาร

aminoguanidine ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์เฉพาะในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) ไม่มีผลป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดอักเสบเฉียบพลันและเรื้อรังที่ทำการศึกษาแต่อย่างใด นอกจากนี้ยังกลับเพิ่มอัตราการตายของหนูขาวที่ถูกชักนำให้เกิดภาวะหลอดเลือดอักเสบเรื้อรังจากการไหลย้อนกลับของกรดจากกระเพาะอาหารอีกด้วย การฉีดสาร curcumin เข้าลำไส้เล็กส่วนต้น ในขนาด 5-20 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ให้ผลในการยับยั้งการหลังกรดในหนูขาวที่ศึกษาโดยวิธีการผูกบริเวณรอยต่อระหว่างกระเพาะอาหารส่วนปลายและลำไส้เล็กส่วนต้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เปปซิน (pepsin) แต่อย่างใด เมื่อให้ในช่วงขนาดยาเดียวกันเข้าทางปากของหนูขาวก่อนที่จะให้สาร ethanol พบว่า สาร curcumin สามารถป้องกันการเกิดแผลอักเสบเฉียบพลันในกระเพาะอาหารเนื่องจาก ethanol ได้อย่างมีนัยสำคัญ การให้สาร curcumin เข้าทางปากในขนาด 20-80 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถป้องกันการเกิดแผลอักเสบเฉียบพลันในกระเพาะอาหารเนื่องจากสาร serotonin และสาร compound 48/80 ในหนูขาวได้เช่นเดียวกันโดยขึ้นกับขนาดยาที่ให้ นอกจากนี้เมื่อให้ สาร curcumin เข้าทางปากของหนูขาวในขนาด 10-80 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม วันละสองครั้ง เป็นเวลาติดต่อกันนาน 10 วัน พบว่า สาร curcumin มีผลกระตุ้นการหายและการสร้างเยื่อกระเพาะอาหารบริเวณแผลในกระเพาะอาหารแบบเรื้อรังที่ถูกชักนำด้วยกรดแอสซิติคอย่างมีนัยสำคัญและมีประสิทธิภาพในการรักษาแผลสูงสุด ในขนาด 80 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน ยามาตรฐานรักษาแผลเปื่อยเปปติก cimetidine ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลังกรดผ่านทางตัวรับฮิสตามีน-2 (H_2 -receptor antagonist) สามารถป้องกันการเกิดแผลอักเสบเฉียบพลันในกระเพาะอาหารเนื่องจากสาร ethanol แต่ไม่มีผลป้องกันการเกิดแผลอักเสบเฉียบพลันในกระเพาะอาหารเนื่องจากสาร serotonin หรือ compound 48/80 ยามาตรฐาน cimetidine มีประสิทธิภาพในการรักษาแผลในกระเพาะอาหารแบบเรื้อรังใกล้เคียงกับผลการรักษาในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับสาร curcumin สาร aminoguanidine มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดแผลอักเสบเฉียบพลันในกระเพาะอาหารจากสาเหตุต่างๆที่ใช้ในการศึกษาใกล้เคียงกับการให้สาร curcumin แต่มีประสิทธิภาพในการเร่งการหายของแผลในกระเพาะอาหารแบบเรื้อรังต่ำกว่าสาร curcumin อย่างไรก็ตาม การให้สาร curcumin เข้าทางปากของหนูถีบจักรในขนาด 20-80 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันภาวะลำไส้ใหญ่ส่วนปลายอักเสบเนื่องจากการได้รับน้ำดื่มที่ผสมสาร dextran sulfate sodium ในขนาดความเข้มข้น 4% น้ำหนัก/ปริมาตร และเมื่อให้สาร curcumin ภายหลังจากชักนำให้เกิดภาวะลำไส้ใหญ่ส่วนปลายอักเสบ ก็ไม่มีผลลดอัตรา

การตาย การสูญเสียน้ำหนักตัว หรือการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อลำไส้ใหญ่แต่อย่างใด

จากการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสาร curcumin ต่อการกระตุ้นการตายของแผลในกระเพาะอาหารแบบเรื้อรังของหนูขาวที่ถูกชักนำโดยกรดแอสซิติคด้วยวิธี Western blotting, real-time reverse transcribed polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) และ immunohistochemistry พบว่า สาร curcumin มีผลกระตุ้นการตายของแผลโดยกลไกยับยั้งการสร้างเอนไซม์ iNOS และสารตัวกลางที่ชักนำให้เกิดการอักเสบ tumor necrosis factor (TNF)- α บริเวณเนื้อเยื่อที่เกิดแผลซึ่งส่งผลให้มีการกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ cyclooxygenase (COX)-2 และสาร interleukin (IL)-1 β ที่มีบทบาทสำคัญต่อการตายของแผล ในขณะที่สาร aminoguanidine มีผลลดระดับ protein expression ของเอนไซม์ iNOS โดยไม่มีผลต่อระดับการสร้างสาร TNF- α และเอนไซม์ COX-2 และพบว่าสาร aminoguanidine มีผลยับยั้งเฉพาะ protein expression ของเอนไซม์ iNOS ในขณะที่สาร curcumin มีผลยับยั้งต่อทั้ง mRNA และ protein expression ของเอนไซม์ iNOS

จากการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสาร curcumin ต่อการสร้างเอนไซม์ iNOS และ COX-2 รวมทั้งสาร TNF- α ในเซลล์เม็ดเลือดขาวของหนูถีบจักร (macrophage cell line RAW 264.7) ที่ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ด้วยวิธี Western blotting, RT-PCR และ real-time RT-PCR พบว่า สาร curcumin มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างเอนไซม์ iNOS และ COX-2 รวมทั้งสาร TNF- α โดยขึ้นกับความเข้มข้นที่ให้และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุดในความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ผลการทดลองชี้ว่าสาร curcumin มีผลยับยั้งการสร้างเอนไซม์ iNOS และ COX-2 ในระดับ transcription เนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้ง mRNA และ protein expression ของเอนไซม์ทั้งสองชนิด นอกจากนี้ สาร curcumin อาจยับยั้งการสร้างสาร TNF- α ในระดับ post-transcription เนื่องจากมีผลยับยั้งเฉพาะ protein expression ของสาร TNF- α สาร tetrahydrocurcumin ที่เกิดขึ้นจากการเผาผลาญสาร curcumin ภายในร่างกายและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเอนไซม์ iNOS และ COX-2 รวมทั้งสาร TNF- α แต่อย่างใด ในขณะที่สาร vanillin ที่เกิดจากการแตกสลายของสาร curcumin และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมีฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะ protein expression ของ iNOS แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำกว่าสาร curcumin

จากผลการศึกษาทั้งหมดที่ได้แสดงให้เห็นว่าสาร curcumin โดยตัวของมันเองมีฤทธิ์ในการป้องกันและรักษาภาวะทางเดินอาหารส่วนต้นอักเสบถึงแม้ว่าจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้น้อยและสารที่ถูกดูดซึมส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารอื่นในร่างกายก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสนับสนุนว่า สาร curcumin มีศักยภาพในการนำไปใช้ป้องกันและ

รักษาโรคในทางเดินอาหารส่วนต้นที่เกี่ยวกับการอักเสบ ประสิทธิภาพในการป้องกันภาวะ
หลอดอาหารหรือกระเพาะอาหารอักเสบจะเกิดในขนาดที่ต่ำกว่า 40 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1
กิโลกรัม โดยกลไกที่อาจเกิดจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ
เอนไซม์ iNOS และ/หรือฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งสารเมือกเคลือบกระเพาะอาหาร
ประสิทธิภาพในการรักษาแผลในกระเพาะอาหารแบบเรื้อรังจะเกิดในขนาดที่สูงกว่า 40
มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน โดยกลไกยับยั้งการสร้างสารตัวกลางที่สำคัญในการชัก
นำให้เกิดการอักเสบ TNF- α และการทำงานของเอนไซม์ iNOS รวมทั้งกลไกในการควบคุม
ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล อย่างไรก็ตามขนาดที่แนะนำให้ใช้ไม่ควรสูงเกินกว่า
160 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน เพราะจะทำให้เกิดผลตรงข้ามในการชะลอการหาย
ของแผลหรือกลับเพิ่มความรุนแรงของภาวะแผลอักเสบที่เกิดขึ้นได้

Thesis Title Pharmacological Study on Preventive and Curative Effects of
 Curcumin on Gastrointestinal Inflammatory Diseases

Author Mrs. Sirima Mahattanadul

Major Program Pharmaceutical Sciences

Academic Year 2005

ABSTRACT

Preventive and curative effects of curcumin, a yellow pigment isolated from the rhizome of *Curcuma longa*, on experimentally gastrointestinal inflammatory diseases in animal models were investigated to validate its clinical application as a remedy for reflux esophagitis, gastritis, chronic gastric ulcer and ulcerative colitis. Using rat model, intraduodenal administration of curcumin (20 mg/kg) inhibited the formation of acute acid reflux esophagitis, but is less potent than lansoprazole (a proton pump inhibitor and hydroxyl radical scavenger). Alternatively, curcumin is superior to lansoprazole in inhibiting acute mixed reflux esophagitis. Oral administration of curcumin was not effective in preventing chronic acid reflux esophagitis. However, intraperitoneal co-administration of curcumin and dimethyl sulfoxide (a specific hydroxyl radical scavenger) reduced the mortality rate and the severity of the esophagitis ulcer index to the same extent as that of orally administered lansoprazole. Aminoguanidine, a specific inhibitor of inducible nitric oxide synthase (iNOS), had no preventive effect against both types of acute reflux esophagitis models. In addition, it increased the mortality rate of the rats in the chronic acid reflux esophagitis model. Intraduodenal administration of curcumin (5-20 mg/kg) inhibited gastric acid secretion in pylorus-ligated rats but did not affect pepsin activity. Oral administration of curcumin (5-20 mg/kg) also prevented ethanol-induced acute gastric mucosal lesions in rats. In addition, oral administration of curcumin (20-80 mg/kg) dose-dependently prevented both serotonin-induced gastric mucosal lesions and compound 48/80-induced gastric mucosal lesions in rats. Furthermore, oral administration of curcumin, 10-80 mg/kg, twice daily for 10 days accelerated the healing of acetic acid-induced chronic gastric ulcer and promoted the mucosal regeneration in the

ulcerated portion in rats with the maximum potency at a dose of 80 mg/kg/day. Cimetidine (H_2 -receptor antagonist) prevented the formation of ethanol-induced gastric mucosal lesions, but not those of serotonin-induced or compound 48/80-induced gastric mucosal lesions. The potency of the ulcer healing for cimetidine in acetic acid-induced chronic gastric ulcer was almost the same as that of curcumin. Aminoguanidine showed anti-ulcerogenic effects similar to those observed for curcumin in acute gastritis models, but exerted weaker ulcer healing efficacy than curcumin on chronic gastric ulcer induced by acetic acid. On the other hand, oral administration of curcumin (20-80 mg/kg), had not been found to exert any preventive efficacy against the development of colon inflammation in 4% dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis in mice. Neither improvement of mortality rate nor body weight loss nor morphological changes was observed in curcumin therapy after the DSS-induced colitis.

The investigation using Western blotting and real-time reverse transcribed polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis including immunohistochemistry on the healing effect of curcumin against acetic acid-induced chronic gastric ulcer in rat, demonstrated that curcumin accelerated gastric ulcer healing by mechanisms involving the inhibition of iNOS and tumor necrosis factor (TNF)- α production at the ulcer area which leading to the up-regulation of endogenous cyclooxygenase (COX)-2 and interleukin (IL)-1 β , thereby contributing to gastric ulcer healing in rats. On the other hand, aminoguanidine decreased the level of iNOS protein expression but did not affect the levels of COX-2 or TNF- α production. In addition, aminoguanidine decreased only the level of iNOS protein expression, while curcumin decreased the level of iNOS protein and mRNA expression.

The investigation using Western blotting, RT-PCR and real-time RT-PCR analysis on the induction of iNOS, COX-2 and TNF- α in mouse macrophage cell line RAW 264.7 activated with lipopolysaccharide (LPS) for 16 h, demonstrated that curcumin dose dependently inhibited the induction of iNOS, COX-2 and TNF- α in LPS-activated macrophage cell line, with the greatest degree of inhibition at 10 μ M. The result indicated that curcumin inhibited the induction of iNOS and COX-2 at the transcriptional level since it inhibited both mRNA and protein expression of iNOS and COX-2. On the contrary,

curcumin may inhibit the induction of TNF- α at post-transcriptional level since it inhibited only the protein expression of TNF- α . Its active metabolite (tetrahydrocurcumin, a potent antioxidative agent) exerted no significant inhibitory effect on the induction of iNOS, COX-2, and TNF- α , while its degradation product (vanillin, a powerful scavenger of oxygen radicals) exerted weaker inhibition on the level of iNOS protein expression but not the level of iNOS mRNA expression.

Therefore, curcumin directly exerted its efficacy in attenuating the development of upper gastrointestinal inflammatory diseases even though it had low bioavailability. It seems likely that curcumin may be clinically beneficial as a potential therapeutic agent for preventing and treating upper gastrointestinal inflammatory diseases. The prevention of acute esophagitis or gastritis is effective at doses lower than 40 mg/kg probably by involvement of its antioxidant property, its inhibition of iNOS production and/or its increase mucin secretion. The acceleration of healing of chronic gastric ulcer is effective at higher doses than 40 mg/kg/day by mechanisms involving the inhibition of TNF- α and iNOS production including the regulation of healing-related factors. However, the therapeutic dosage level of curcumin for gastrointestinal inflammatory diseases should not be more than 160 mg/kg/day since curcumin can exert opposite effects in delay of ulcer healing or exacerbation of ulcer inflammation.