

## บทคัดย่อ

จาก bioassay-guided fractionation ของสารสกัดจากต้นกะเม็ง สามารถแยกสารสำคัญได้ 6 ชนิด ได้แก่ 5-hydroxymethyl-(2, 2': 5', 2'')-terthienyl tiglate (1), 5-hydroxymethyl-(2, 2': 5', 2'')-terthienyl agelate (2), 5-hydroxymethyl-(2, 2': 5', 2'')-terthienyl acetate (3), ecliptal (4), orobol (5) และ wedelolactone (6). ผลการทดลองพบว่า wedelolactone (6) มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ HIV-1 integrase ได้ดีที่สุด โดยให้ค่า  $IC_{50} = 4.0 \mu M$  รองลงมาได้แก่ orobol (5) มีค่า  $IC_{50} = 8.1 \mu M$  ในขณะที่ terthiophene compounds ไม่มีฤทธิ์ ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ) จากการศึกษาในครั้งนี้จึงสนับสนุนการใช้ต้นกะเม็งในการรักษาผู้ป่วยโรคเอดส์ โดยสอดคล้องกับตำรายาไทยที่ใช้ต้นกะเม็งในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบเลือด (blood-related disease)

*Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker เป็นพืชชนิดหนึ่งในวงศ์ Zingiberaceae ที่มีชื่อเรียกภาษาไทยว่า กระชายดำ ส่วนของเหง้าใช้ในการรักษาโรคเก๊าท์ แผลในปากและแผลฝีหนองต่างๆ สืบเนื่องจากการที่สารสกัดเหง้ากระชายดำมีฤทธิ์ในการรักษาอาการอักเสบและมีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งสาร nitric oxide ที่ดี ( $IC_{50} = 7.8 \mu g/ml$ ) คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์ด้านการหลั่ง nitric oxide ของสารสำคัญที่แยกได้จากเหง้ากระชายดำ โดยใช้ RAW264.7 cells จากการทำ bioassay-guided fractionation ของสารสกัดเหง้ากระชายดำ สามารถแยกสารสำคัญได้ 7 สาร ในกลุ่ม methoxyflavones จาก hexane fraction การศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบพบว่า สารตัวที่ 5 (5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone) มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง nitric oxide ได้ดีที่สุด โดยให้ค่า  $IC_{50} = 16.1 \mu M$  ตามด้วยสารตัวที่ 4 ( $IC_{50} = 24.5 \mu M$ ) และสารตัวที่ 3 ( $IC_{50} = 30.6 \mu M$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าสารตัวที่ 5 มีฤทธิ์ด้านการหลั่ง prostaglandin  $E_2$  ได้ดี โดยให้ค่า  $IC_{50} = 16.3 \mu M$  แต่ไม่มีผลยับยั้งการหลั่ง TNF- $\alpha$  ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ) จากการศึกษาในครั้งนี้จึงสนับสนุนการใช้เหง้ากระชายดำในตำรายาไทย ในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง nitric oxide แล  $PGE_2$  แต่มีผลเล็กน้อยต่อ TNF- $\alpha$

คำสำคัญ : HIV-1 integrase, *Eclipta prostrata*, RAW264.7 cells, Anti-inflammatory activity, *Kaempferia parviflora*

## Abstract

The bioassay-guided fractionation for anti-HIV-1 integrase activity led to the isolation of six compounds from the whole plant extract of *Eclipta prostrata* extract. They were identified as 5-hydroxymethyl-(2, 2': 5', 2'')-terthienyl tiglate (1), 5-hydroxymethyl-(2, 2': 5', 2'')-terthienyl agelate (2), 5-hydroxymethyl-(2, 2': 5', 2'')-terthienyl acetate (3), ecliptal (4), orobol (5) and wedelolactone (6). Of these, compound 6 showed the highest activity against HIV-1 integrase (IN) with an  $IC_{50}$  value of  $4.0 \pm 0.2 \mu M$ , followed by compound 5 ( $IC_{50} = 8.1 \pm 0.5 \mu M$ ), whereas the four terthiophene compounds (1-4) were inactive ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ). This is the first report of anti-HIV-1 IN activities for wedelolactone (6), a coumarin derivative, and orobol (5), an isoflavone derivative. This study, therefore supports the use of *E. prostrata* in AIDS patients, which is in accord with its traditional use by Thai traditional doctors for curing blood related diseases.

*Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker, is one of the plants in the Zingiberaceae family, locally known in Thai as kra-chai-dam. The rhizome of this plant has been used for treatment of gout, aphthous ulcer and abscesses. Since *K. parviflora* rhizomes have long been used for treatment of inflammation and possessed marked nitric oxide (NO) inhibitory activity ( $IC_{50} = 7.8 \mu g/ml$ ), we thus investigated the inhibitory activity of compounds isolated from this plant against lipopolysaccharide (LPS)-induced NO release in RAW264.7 cells. From bioassay-guided fractionation of *K. parviflora*, seven methoxyflavones were isolated from the hexane fraction and were tested for their anti-inflammatory effects. Among the isolated compounds, compound 5 (5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone) exhibited the highest activity against NO release with an  $IC_{50}$  value of  $16.1 \mu M$ , followed by 4 ( $IC_{50} = 24.5 \mu M$ ) and 3 ( $IC_{50} = 30.6 \mu M$ ). Compound 5 was also tested on LPS-induced prostaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) releases from RAW264.7 cells. It was revealed that 5 showed appreciable inhibitory effect on  $PGE_2$  release ( $IC_{50} = 16.3 \mu M$ ), but inactive on TNF- $\alpha$  ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ). These findings may support the use in Thai traditional medicine of *K. parviflora* for treatment of inflammatory-related diseases through the inhibition of NO and  $PGE_2$  releases but partly due to that of TNF- $\alpha$ .

Keywords: HIV-1 integrase, *Eclipta prostrata*, RAW264.7 cells, Anti-inflammatory activity, *Kaempferia parviflora*