



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาฤทธิ์ในการลดปวดอักเสบของสารสกัดจากผิวมะกรูดเพื่อพัฒนาเป็นตำรับยาทารักษาอาการปวดอักเสบ

ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ) Anti-inflammatory study of Kaffir lime peel extract for development of topical applications in inflammation treatment

โดย ดร.ภก. วุฒิชัย วิสุทธิพรต
วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดพิษณุโลก
๑๙ กุมภาพันธ์ ๒๕๖๓

การศึกษาฤทธิ์ในการลดปวดอักเสบของสารสกัดจากผิวมะกรูดเพื่อพัฒนาเป็นตำรับยาทารักษาอาการปวด อักเสบ

บทคัดย่อ

มะกรูด (*Citrus hystrix* D.C.) จัดเป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้กันมาตั้งแต่สมัยโบราณ โดยพบว่ามะกรูดถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร เครื่องสำอางและตำรับยาแผนโบราณหลายชนิด โดยมีงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดจากผิวมะกรูดมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบรวมถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพได้ดี จึงส่งผลให้มีผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของสารสกัดจากมะกรูดจำหน่ายในท้องตลาดจำนวนมาก จากการศึกษาวิจัยพบว่าสารสกัดจากเปลือกของผลมะกรูดมีองค์ประกอบสารกลุ่ม terpenoids และ coumarin หลายชนิดซึ่งส่งผลให้มะกรูดมีฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวมาข้างต้น โดยเฉพาะสารกลุ่ม furanocoumarin ที่พบในมะกรูดได้แก่ oxypeucedanin และ bergamottin ซึ่งมีรายงานวิจัยที่ระบุถึงฤทธิ์ในการต้านอักเสบของสารประกอบดังกล่าวข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีผลการรายงานผลการศึกษาที่แน่ชัดถึงฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการยับยั้งการอักเสบที่มีความสัมพันธ์กับองค์ประกอบของสารกลุ่ม furanocoumarin ในสารสกัดของผิวมะกรูด การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีความประสงค์ที่จะศึกษาถึงปริมาณสาร furanocoumarin ที่มีอยู่ในสารสกัดผิวมะกรูดที่เตรียมได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆและ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกระบวนการกลั่น รวมถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ ได้แก่ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase (COX) และ lipoxygenase (LOX) และ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดในกลุ่มแอลกอฮอล์มีองค์ประกอบของสารกลุ่ม furanocoumarin มากที่สุด โดยพบว่าสารสกัดจาก 50% ethanol 1 mg มีองค์ประกอบของ oxypeucedanin และ bergamottin คิดเป็น $150.77 \pm 15.63 \mu\text{g}$ และ $150.56 \pm 14.77 \mu\text{g}$ ตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบ oxypeucedanin ในน้ำมันหอมระเหย และพบ bergamottin เพียง $4.13 \pm 1.32 \mu\text{g}$ ในน้ำมันหอมระเหย 1 mg ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ เคราตินိုไซด์พบว่า สารสกัด 50% ethanol ไม่แสดงความเป็นพิษในช่วงความเข้มข้น $1.95 - 1000 \mu\text{g/mL}$ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยแสดงความเป็นพิษเมื่อมีความเข้มข้นมากกว่า $50 \mu\text{g/mL}$ ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า สารสกัด 95% ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่า IC₅₀ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ $1.80 \pm 0.02 \text{ mg/mL}$ และ $0.27 \pm 0.01 \text{ mg/mL}$ ตามลำดับ ในการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX พบว่าสารสกัด 50% ethanol มีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่สูงกว่าน้ำมันหอมระเหยเมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น ที่เท่ากัน ในขณะที่ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ LOX ของน้ำมันหอมระเหยมีสูงกว่าสารสกัด 50% ethanol เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นที่เท่ากัน สำหรับการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังเทียมของสาร furanocoumarin ที่อยู่ในสารสกัด 50% ethanol และน้ำมันหอมระเหยผ่านแผ่นผิวหนังจำลอง พบว่าสาร oxypeucedanin และ bergamottin ซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนังจำได้ไม่ถึง 10% และพบว่า bergamottin สามารถซึมผ่านผิวหนังจำลองได้ดีกว่า oxypeucedanin ประมาณ 2 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของค่า partition coefficient จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะเห็นได้ว่า สารสกัดผิวมะกรูดในแอลกอฮอล์มีองค์ประกอบของสาร furanocoumarin ทั้ง 2 ชนิดในปริมาณที่สูง และมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านการอักเสบที่

ดี แต่อย่างไรก็ตามคุณสมบัติ photosensitizer ของสาร furanocoumarin ทั้ง 2 ชนิดก็เป็นปัจจัยที่สำคัญที่ควรคำนึงถึงหากต้องการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับทาภายนอกบรรเทาอาการปวดอักเสบ นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดจัดเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์บรรเทาอาการปวดอักเสบสำหรับทาภายนอกทั้งนี้เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านการอักเสบเหมือนกับสารสกัดในแอลกอฮอล์ ถึงแม้จะมีประสิทธิผลที่น้อยกว่าแต่น้ำมันหอมระเหยก็มีปริมาณสาร furanocoumarin ที่น้อยกว่าสารสกัดในแอลกอฮอล์

คำสำคัญ: มะกรูด, ฤทธิ์ต้านการอักเสบ, ฟูแรนโนคูมาริน



Anti-inflammatory study of Kaffir lime peel extract for development of topical applications in inflammation

Abstract

Kaffir lime (*Citrus hystrix* D.C.) is the medicinal plant that has been traditionally used as ingredient in food, cosmetic products and traditional recipes. Previous researches reported that extract of kaffir lime peel showed anti-inflammatory and anti-microbial activities. They inspired the products containing kaffir lime extract widely distributed in the market. There were reports indicated that kaffir lime peel extract contained many terpenoids and coumarin compounds that influenced kaffir lime extract possessing bioactivity mentioned previously particularly furanocoumarin in kaffir lime, they are oxypeucedanin and bergamottin that have been reported as anti-inflammatory agent. However, no report has fully presented the correlation between furanocoumarin in kaffir lime and bioactivity associating with anti-inflammatory activity. Current study aimed to determine the content of furanocoumarin in kaffir lime peel extract performed by different solvents including essential oil prepared by distillation process, their bioactivity involving inflammation process such as inhibition of cyclooxygenase (COX) and lipoxygenase enzymes and antioxidant activity also were concerned.

The result revealed that ethanolic extracts presented the highest content of furanocoumarin. One milligram of 50% ethanol extract had $150.77 \pm 15.63 \mu\text{g}$ and $150.56 \pm 14.77 \mu\text{g}$ of oxypeucedanin and bergamottin respectively while oxypeucedanin was not presented in essential oil. Only $4.13 \pm 1.32 \mu\text{g}$ of bergamottin was found in 1 mg essential oil. In case of cytotoxic study examined in keratinocyte cells, 1.95 – 1000.00 $\mu\text{g/mL}$ of 50% ethanol extract did not show cytotoxic effect on keratinocyte cells while essential oil presented cytotoxic effect when the concentration was more than 50 $\mu\text{g/mL}$. Bioactivity screening showed that 95% ethanol extract presented the highest antioxidant activity determined by using DPPH and ABTS assays; the IC_{50} were $1.80 \pm 0.02 \text{ mg/mL}$ and $0.27 \pm 0.01 \text{ mg/mL}$ respectively. The comparison of COX inhibition activity indicated that 50% ethanol extract showed the higher inhibition activity than that essential oil when their concentrations were even. On the other hands, essential oil presented higher LOX inhibition than that 50% ethanol extract when their concentrations were even. Skin absorption were examined by using artificial skin membrane. The result revealed that less than 10% of both oxypeucedanin and bergamottin permeated through the membrane. However, bergamottin permeated through the membrane more than that oxypeucedanin 2 times. It was due to the difference of their partition coefficients. According to this result, the ethanolic

extracts contain high content of furanocoumarin, the bioactivities associating with anti-inflammation are also presented. However, photosensitizer property of furanocoumarin has to be concerned if the topical application for pain and inflammatory treatments containing ethanolic extracts will be developed. In addition, essential oil performed from kaffir lime peel is so interesting for developing as raw material of pain and inflammation treatment applications. Although it has less anti-inflammatory activity than that ethanolic extract, it also contains less content of furanocoumarin.

Keywords: Kaffir lime, anti-inflammatory activity, furanocoumarin

