

<b>Thesis Title</b>	Anti-inflammatory, Chondroprotective Activities and Toxicity of the Standardized Water Extract from the Fruit of <i>Phyllanthus emblica</i> Linn. Prepared According to Thai Herbal Pharmacopoeia	
<b>Author</b>	Miss Kanjana Jaijoy	
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy (Pharmacology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Assoc. Prof. Dr. Ampai Panthong	Advisor
	Assoc. Prof. Dr. Chaichan Sangdee	Co-advisor
	Assoc. Prof. Dr. Siriwan Ongchai	Co-advisor
	Dr. Natthakarn Chiranthanut	Co-advisor
	Dr. Parirat Khonsung	Co-advisor

### ABSTRACT

*Phyllanthus emblica* Linn. (Euphorbiaceae) is a herbal plant commonly used in Asian traditional medicine for the treatment of many disorders. The fresh or dry fruit is widely used for the treatment of diarrhea, jaundice and inflammatory disorder. Yet, no study has been performed on pharmacological activity and toxicity of the standardized water extract of *P. emblica* fruit prepared according to Thai Herbal Pharmacopoeia. In the present study, the *P. emblica* water extract was investigated for anti-inflammatory, analgesic, antipyretic, chondroprotective, and anti-ulcerogenic activities and toxicity. In preliminary investigation, the *P. emblica* water extract was found to exert an inhibitory activity on the acute phase of inflammation as seen in ethyl phenylpropiolate-induced ear edema as well as in carrageenan-induced hind paw edema in rats. On the other hand, the *P. emblica* water extract did not have inhibitory effect on arachidonic acid-induced ear edema in rats. The results suggest that the

anti-inflammatory activity of the *P. emblica* water extract may be due to an inhibition via cyclooxygenase pathway but not lipoxygenase pathway. In chronic inflammatory model, the *P. emblica* water extract did not reduce granuloma weight, serum alkaline phosphatase activity, body weight gain and thymus dry weight in cotton pellet-induced granuloma formation. These results point to non-steroidal anti-inflammatory activity of the *P. emblica* water extract. In the analgesic test, the *P. emblica* water extract showed a significant analgesic activity in both the early and late phases of formalin test, but exerted the most pronounced effect in the late phase. The analgesic activity of the *P. emblica* water extract may act via mechanism at peripheral and partly central nervous system. In antipyretic test, the *P. emblica* water extract significantly decreased rectal temperature of brewer's yeast-induced hyperthermia rats, probably by inhibiting synthesis and/or release of prostaglandin E<sub>2</sub> in the hypothalamus. Besides, the *P. emblica* water extract inhibited both cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 enzymes. Therefore, the key mechanism of anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activity of the *P. emblica* water extract likely involves the inhibition of the synthesis and/or release of inflammatory or pain mediators, especially prostaglandins. In addition, the *P. emblica* water extract decreased hyaluronan level in the cultured medium, suggesting a chondroprotective activity. In anti-ulcerogenic test, the *P. emblica* water extract reduced gastric lesion in acute gastric ulcer models (ethanol and hydrochloric acid-, indomethacin-, and restraint water immersion stress-induced gastric lesions in rats). These results suggest that the *P. emblica* water extract may also process a gastroprotective activity. Finally, the *P. emblica* water extract is relatively nontoxic, since the single oral administration of high dose (5,000 mg/kg) of the *P. emblica* water extract and the daily oral administration (300, 600 and 1,200 mg/kg) for 270 days in experimental rats did not produce any toxic signs and symptoms.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ปกป้องกระดูกอ่อน และความเป็นพิษของสารสกัดมาตรฐานน้ำจากผลของมะขามป้อมที่เตรียมขึ้นตามเภสัชตำรับสมุนไพรไทย	
ผู้เขียน	นางสาวกาญจนา ใจจ้อย	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชวิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.อำไพ ปั่นทอง รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี รศ.ดร.ศิริวรรณ องค์กรไชย ดร.ณัฐกานต์ จิรัธน์จ ดร.ปริรัตน์ คนสูง	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	บทคัดย่อ	

มะขามป้อมเป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้ทั่วไปในการแพทย์แผนโบราณของเอเชียสำหรับรักษาโรคต่างๆ ผลสดหรือแห้งใช้รักษาอาการท้องเสีย ดิซ่าน และการอักเสบ แต่ทว่ายังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและความเป็นพิษของสารสกัดมาตรฐานน้ำจากผลของมะขามป้อมที่จัดเตรียมขึ้นตามเภสัชตำรับสมุนไพรไทย งานวิจัยชิ้นนี้เป็นการศึกษาเพื่อประเมินฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ลดไข้ ฤทธิ์ปกป้องกระดูกอ่อน ฤทธิ์ด้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหารและความเป็นพิษของสารสกัดน้ำจากมะขามป้อม ผลการประเมินฤทธิ์เบื้องต้นพบว่า สารสกัดน้ำจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบเฉียบพลันซึ่งพบได้ในการเหนี่ยวนำการบวมของไบหูหนูขาวด้วยเอทิลฟีนิลโพรพิโอเลท และการเหนี่ยวนำการบวมของอุ้งเท้าหนูขาวด้วยคาร์จาจีแนน ส่วนการเหนี่ยวนำการบวมของไบหูหนูขาวด้วยกรดอะราซิโคนิกพบว่า สารสกัดน้ำจากมะขามป้อมไม่มีผลยับยั้งการบวมของไบหูหนูขาว ผลการศึกษาดังกล่าวเสนอแนะว่าฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมอาจเป็นผลจากการยับยั้งผ่านทางวิถีไซโคลออกซิจิเนสแต่ไม่ผ่านทาง

วิถีไลโปออกซิเจเนส ในแบบจำลองการอักเสบเรื้อรังพบว่า สารสกัดน้ำจากมะขามป้อมไม่ลดน้ำหนักแกรนูโลมา ระดับของอัลคาไลน์ฟอสฟาเทสในซีรัม การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวและน้ำหนักแห้งของไตในแบบจำลองการฝังก้อนลำไส้ ผลดังกล่าวแสดงว่าสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ต้านอักเสบแบบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ ในการทดสอบฤทธิ์ระงับปวดพบว่าสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมลดความเจ็บปวดของหนูถีบจักรที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเจ็บปวดโดยการฉีดฟอร์มัลินได้ทั้งในระยะแรกและโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะหลังที่เห็นผลอย่างชัดเจน การระงับปวดของสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมอาจมีกลไกผ่านทางระบบประสาทส่วนปลายและมีบางส่วนผ่านทางระบบประสาทส่วนกลาง ส่วนการศึกษาฤทธิ์ลดไข้พบว่าสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมสามารถลดอุณหภูมิร่างกายของหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดไข้โดยการฉีดอีสต์ได้ ซึ่งผลดังกล่าวอาจเกิดจากการยับยั้งการสร้างและ/หรือการหลั่งของพรอสตาแกลนดินในไฮโปทาลามัส ทั้งนี้สารสกัดน้ำจากมะขามป้อมยับยั้งเอนไซม์ทั้งไซโคลออกซิเจเนส-1 และไซโคลออกซิเจเนส-2 ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่ากลไกการออกฤทธิ์ต้านการอักเสบ ระงับปวดและลดไข้ของสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมเป็นผลจากการยับยั้งการสร้างและ/หรือการหลั่งของสารสื่อกลางการอักเสบและเจ็บปวดโดยเฉพาะพรอสตาแกลนดิน นอกจากนี้สารสกัดน้ำจากมะขามป้อมสามารถลดระดับของไฮยาลูโรแนนในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์กระดูกอ่อนซึ่งแสดงว่าสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการปกป้องกระดูกอ่อน การทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหารพบว่าสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมลดการเกิดแผลในกระเพาะอาหารได้ในแบบจำลองการเกิดแผลในกระเพาะอาหารแบบเหน็บปล้น ได้แก่ การให้สารผสมเอทานอลและกรดไฮโดรคลอริก ยาอินโดเมทาซิน และความเครียดที่เหนี่ยวนำโดยการขังกรงและแช่ในน้ำเย็น จากข้อมูลที่ได้แสดงว่าสารสกัดน้ำจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ปกป้องกระเพาะอาหารด้วย ท้ายสุดนี้สารสกัดน้ำจากมะขามป้อมไม่ก่อความเป็นพิษเนื่องจากการป้อนสารสกัดแก่หนูทดลองในขนาดสูง (5,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) ทางปากครั้งเดียว และการป้อนสารสกัด (300, 600 และ 1,200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) ทุกวันเป็นเวลา 270 วัน ไม่ก่อให้เกิดสัญญาณและอาการแสดงของความเป็นพิษ