

นภาพร มั่งมี : ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบเอทานอลและน้ำจากฟรุติงบอดีของ *Phallus* sp. (ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF ETHANOLIC AND WATER CRUDE EXTRACTS FROM FRUITING BODIES OF *PHALLUS* SP.) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร. ศิริลักษณ์ ชุมเขียว, 48 หน้า

คำสำคัญ: *PHALLUS* SP., ฤทธิ์ต้านการอักเสบ, ฟรุติงบอดี, เห็ดเยื่อไผ่

ปัจจุบันการค้นหารสชาติชีวโมเลกุลต้านการอักเสบจากธรรมชาติที่ส่งผลข้างเคียงต่อร่างกายน้อยได้รับความนิยมทำการศึกษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดหยาบจากเห็ดเยื่อไผ่ *Phallus indusiatus* (*Dictyophora indusiata*) หรือเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีนซึ่งได้รับความนิยมนำมาเป็นวัตถุดิบในอาหารชั้นสูงของจีน ในขณะที่รายงานการทดสอบคุณสมบัติดังกล่าวพบน้อยในเห็ดเยื่อไผ่บริเวณได้สายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย (*Phallus* sp.) เพื่อเพิ่มโอกาสในการเพาะเลี้ยงเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยในเชิงพาณิชย์ ผ่านการศึกษาคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ในสารสกัดหยาบจึงมีความสำคัญ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณสมบัติฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบเอทานอลและสารสกัดหยาบน้ำของฟรุติงบอดีในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) และระบุชนิดของเห็ดเยื่อไผ่แยกได้ในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคระดับโมเลกุล วิเคราะห์สายวิวัฒนาการด้วยวิธี neighbor-joining (NJ) ประเมินระดับความเชื่อมั่นของความสัมพันธ์ดังกล่าวด้วยวิธี bootstrap วิเคราะห์จำนวน 1,000 ซ้ำ โดยใช้โปรแกรม MEGA version 11 งานวิจัยนี้ดำเนินการตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยการทดสอบ MTT กับสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 7.81 ถึง 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ประเมินคุณสมบัติการต้านการอักเสบจากการตรวจสอบระดับไนไตรต์จากการทดสอบ Griess และประเมินการแสดงออกของ mRNA ไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบได้แก่ IL-1 β , IL-6 และ TNF- α โดยใช้ qRT-PCR ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทยและเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีนที่แยกได้มีความแตกต่างกันทางวิวัฒนาการ โดยตัวอย่างเห็ดเยื่อไผ่กระโปรงสั้นจัดกลุ่มร่วมกับ *Phallus atrovolvatus* และ *Phallus merulinus* ด้วยค่า bootstrap เท่ากับ 100 และเห็ดเยื่อไผ่กระโปรงยาวมีความใกล้ชิดทางสายวิวัฒนาการร่วมกับ *Phallus Chiangmaiensis* และ *Phallus echinvolvatus* ที่ Bootstrap เท่ากับ 98 โดยเห็ดเยื่อไผ่เหล่านี้มีการรายงานพบในประเทศไทย และผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่าทั้งสารสกัดหยาบเอทานอลและน้ำร้อนไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ RAW 264.7 อีกทั้งไม่สามารถลดการแสดงออกในการผลิตไนไตรต์ รวมถึงการแสดงออกของ mRNA ประกอบด้วย IL-1 β , IL-6 และ TNF- α แม้ทดสอบด้วยความเข้มข้นสูง การศึกษานี้ให้ผลที่แตกต่างกับการศึกษาก่อนหน้า ซึ่งอธิบายถึงการลดการแสดงออกของ mRNA ไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบโดยสารสกัดหยาบจาก

P. indusiatus ข้อสังเกตที่พบคือการศึกษาก่อนหน้าเลือกใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเอทานอลของระยะไข่ *P. indusiatus* ที่สูงถึง 200 และ 2000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งอาจส่งผลให้ผลการศึกษาดังกล่าวแตกต่างกัน ดังนั้นในอนาคตการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดหยาบจากเห็ดเหื่อไผ่ ควรใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นและทำการทดลองเพื่อติดตามปริมาณสารชีวโมเลกุลในสารสกัดหยาบ และศึกษาเหตุการณ์ทางเคมีชีวภาพตามวิถีการส่งสัญญาณ (signaling pathway)



สาขาวิชาชีววิทยา
ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนักศึกษา เนทพร ช่างสี
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [Signature]
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม [Signature]
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม [Signature]

NAPAPORN MANGMEE : ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF ETHANOLIC AND WATER CRUDE EXTRACTS FROM FRUITING BODIES OF *PHALLUS* SP. THESIS
ADVISOR : SIRILAK CHUMKIEW, Ph.D. 48 PP.

Keyword: *PHALLUS* SPECIES/ ANTI-INFLAMMATORY/ FRUITING BODIES/ BAMBOO MUSHROOM

Currently, the search for natural anti-inflammatory biomolecules with minimal side effects is popular. Especially, the crude extract from the bamboo mushroom *Phallus indusiatus* (*Dictyophora indusiata*), or the Chinese bamboo mushroom, which has been popular to use as an ingredient in Chinese haute cuisine. While there are lacked scientific reports of any medicinal properties in edible bamboo mushroom species found in Thailand (*Phallus* sp.). To increase the opportunity for cultivating the Thai bamboo mushroom species as commercially, therefore the study of the properties on active ingredients in crude extracts is required. This study aimed to evaluate the anti-inflammatory properties of ethanol and hot water crude extracts from fruiting body in RAW 264.7 macrophage cells that were stimulated with lipopolysaccharide (LPS) and identify bamboo fungi isolated in Thailand using molecular techniques. The phylogenetic analysis by using neighbor-joining (NJ) and the confidence level of associations was assessed by bootstrap method, 1000 replicates using MEGA version 11. The cytotoxicity of crude extracts was investigated by MTT assay with 7.81 to 1000 $\mu\text{g/ml}$ concentrations. The anti-inflammatory properties were assessed by evaluating the nitrite levels using Griess assay and the mRNA expression of the pro-inflammatory cytokines, IL-1 β , IL-6 and TNF- α , using qRT-PCR. The results show that Thai bamboo mushroom and Chinese bamboo mushroom isolates are evolutionarily different, the short skirt bamboo mushroom samples grouping together with *Phallus atrovolvatus* and *Phallus merulinus* with 100 bootstrap values and long skirt bamboo mushrooms have a phylogenetic relationship closely with *Phallus Chiangmaiensis* and *Phallus echinvolvatus* with 98 bootstrap values. The cytotoxicity assay showed that both of ethanol crude extract and hot water were non cytotoxic to RAW 264.7 cells and they could not decrease the expression in nitrite production including the expression of mRNA containing IL-1 β , IL-6 and TNF- α even tested at high

concentrations. The results from this study showed the different finding from previous studies describing the downregulation of pro-inflammatory cytokine mRNA expression by crude extracts from *P. indusiatus*. It was noted that previous studies used concentrations of crude ethanol extract of *P. indusiatus* egg stage as high as 200 and 2000 $\mu\text{g/ml}$, which may result in different study results. Therefore, in the future, to study the anti-inflammatory activity of bamboo mushroom crude extracts should be considered at higher concentrations and the experiments should be conducted to monitor the biomolecule content and studying biochemical events along the signaling pathway.



School of Biology
Academic Year 2022

Student's Signature Napaporn
Advisor's Signature [Signature]
Co-advisor's Signature [Signature]
Co-advisor's Signature [Signature]