

Thesis Title	Effects of Selected North-eastern Thai Medicinal Plants on Immune System		
Author	Mrs. Chutinun Prasitpuriprecha		
Degree	Doctor of Philosophy (Pharmacy)		
Thesis Advisory Committee	Dr. Jaratbhan Sanguansermisri	chairman	
	Assoc. Prof. Dr. Bung-orn Sripanidkulchai	member	
	Assoc. Prof. Dr. Viraphong Lulitanond	member	

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate for the immunomodulating activity of selected North-eastern Thai medicinal plants traditionally used in folklore medicines. An ethnobotanical survey on the utilization of medicinal plants in the treatment of immunological diseases or using as a tonic, aphrodisiac, restorative and health-promoting agents was carried out in Ubon Ratchathani and nearby areas during 2001-2002. The information was obtained from 21 professional traditional medicine practitioners by in-depth interviews. 47 medicinal plants belonging to 24 families were documented. 34 extracts of indigenous medicinal plants were prepared as described by the local traditional practitioners. Almost of them were generally made by decoction. These extracts were studied for *in vitro* mouse splenic lymphocyte proliferation in the absence and presence of mitogens (phytohemagglutinin and pokeweed mitogen) by colorimetric MTT assay. Among these extracts, six aqueous crude extract of *Dendrophthoe pentandra*, *Croton cascarilloides*, *Bauhinia penicilliloba*, *Crateva adansonii*, *Polygala chinensis* and *Chionanthus ramiflorus* displayed interesting immunomodulating activities. The six selected plant extracts were re-assayed for lymphocyte proliferation by BrdU assay. They were also studied for the effects on phagocytosis response of peritoneal mouse macrophages by NBT assay and the production of IL-4 and IFN- γ by ELISA method.

The findings showed that the aqueous extract *D. pentandra*, traditionally used in cervical cancer, with and without mitogen at the concentrations of 12.5-800 $\mu\text{g/ml}$ reduced the lymphocyte proliferation. It suppressed both T and B-lymphocytes. This extract with and without mitogen also increased IL-4 production in a dose-dependent manner with maximum response at concentration of 800 $\mu\text{g/ml}$. (40.66 pg/ml; control = 17.05 pg/ml) and 100 $\mu\text{g/ml}$ (75.67 pg/ml; control = 66.78 pg/ml), respectively. But it suppressed IFN- γ release. It also had phagocytic modulation with the maximum response at concentration of 100 $\mu\text{g/ml}$ (phagocytic index = 1.4785)

C. cascarilloides, used for treatment of viral infection, stimulated lymphocyte proliferation both with and without mitogen. The concentration of extract alone, incorporated with PHA and PWM giving optimum effect were 200 $\mu\text{g/ml}$ (P.I. = 13.896), 800 $\mu\text{g/ml}$ (P.I. = 12.202; control = 4.5191) and 100 $\mu\text{g/ml}$ (P.I. = 25.223; control = 19.358), respectively. The extract with Con A significantly decreased IFN- γ production in dose response manner (IFN- γ range = 794.35-5.745 pg/ml; control = 927.95 pg/ml).

B. penicilliloba, used as tonic and appetizer, at the concentration range of 12.5-400 µg/ml stimulated proliferation activity with the maximum activity at 200 µg/ml (P.I. = 2.9510). In the presence of PWM, the extract significantly increased lymphocyte proliferation at concentration of 12.5-100 µg/ml with the strongest activity at 50 µg/ml (P.I. = 5.6879; control = 4.2577). It also augmented IFN-γ production at concentration of 100 µg/ml (1076.20 pg/ml; control = 981.20 pg/ml) and showed inhibitory effects of IL-4 production with dose response relationship (IL-4 range = 13.64 -3.41 pg/ml; control = 34.32 pg/ml).

The aqueous extract of *C. ramiflorus*, used in cancer treatment, significantly decreased lymphocyte proliferation induced by either with and without mitogen in dose-dependence. The concentration of 400 µg/ml can increase IL-4 production of spleen cells stimulated with ConA (IL-4 range = 108-166 pg/ml; control = 92.75 pg/ml). It also decreased IFN-γ production in dose response relationship (IFN-γ range = 661.97-68.85 pg/ml; control = 819.35 pg/ml).

C. adansonii, used in cancer treatment, significantly suppressed both T-lymphocytes and B-lymphocytes proliferation in dose-dependence manner. *C. adansonii* with PHA at the concentration range of 100-800 µg/ml demonstrated the completely suppressive activity. It had no significant effect on IFN-γ and IL-4 production.

P. chinensis, using for aphrodisiac and restorative power, enhanced lymphocyte responses both with and without mitogen in dose-dependence. The concentration of extract alone, with PHA and PWM giving maximum response were 12.5 µg/ml (P.I. = 1.4417), 12.5 µg/ml (P.I. = 2.0404; control = 1.4629) and 25 µg/ml (P.I. = 2.9170; control = 1.2488), respectively. It could not affect IL-4 and IFN-γ production both absence and presence of ConA. *P. chinensis* gave significantly phagocytic modulation at concentration range of 100-800 µg/ml. (phagocytic index = 1.3623).

Moreover, the antioxidative activity of these selected plants by DPPH and FRAP assay were determined. The findings showed that the strongest antioxidant were *D. pentandra* > *B. penicilliloba* > *P. chinensis* > *C. ramiflorus* > *C. cascarilloides* > *C. adansonii*, respectively. The results of quantitative determination of total phenolic compounds by Folin-Ciocalteu method were *B. penicilliloba* (249.966 µg/mg) > *D. pentandra* (186.007 µg/mg) > *P. chinensis* (144.698 µg/mg) > *C. ramiflorus* (82.724 µg/mg) > *C. cascarilloides* (45.093 µg/mg) > *C. adansonii* (34.038 µg/mg), respectively.

In conclusion, *P. chinensis*, *C. cascarilloides* and *B. penicilliloba* displayed immunostimulating activities, while *D. pentandra*, *C. adansonii* and *C. ramiflorus* had immunosuppressant activity. This study supports the indigenous knowledge on the utilization of medicinal plants by traditional medicine practitioners and also demonstrated the potential immunological effects of these plants.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลของสมุนไพรไทยในภาคอีสานต่อระบบภูมิคุ้มกัน
ผู้เขียน	นางชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปริษา
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.จรัสพรรณ สงวนเสริมศรี ประธานกรรมการ
	รศ.ดร.บังอร ศรีพานิชกุลชัย กรรมการ
	รศ.ดร.วีระพงศ์ กุณิตานนท์ กรรมการ

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันของสมุนไพรไทยพื้นบ้านอีสานโดยศึกษาพฤกษศาสตร์พื้นบ้านเพื่อสำรวจการใช้สมุนไพรในการปรับภูมิคุ้มกันของร่างกาย ด้วยวิธีการสัมภาษณ์เชิงลึกหมอพื้นบ้านในจังหวัดอุบลราชธานีและพื้นที่ใกล้เคียง จำนวน 21 คนในปี.ศ. 2544-2545 ผลการวิจัยพบว่า มีการใช้สมุนไพรจำนวน 47 ชนิด จาก 24 วงศ์ เพื่อใช้ในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน หรือใช้เพื่อบำรุงร่างกาย เป็นยาอายุวัฒนะ และบำรุงกำลังทางเพศ การสกัดสมุนไพร 34 ชนิดทำโดยเลียนแบบวิธีของหมอพื้นบ้าน ส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีต้มน้ำดื่ม การทดสอบเบื้องต้นเพื่อศึกษาฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันของสารสกัดสมุนไพร ทำโดยวัดการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์จากม้ามหนูในสถานะที่ไม่มีและมีตัวกระตุ้น (phytohemagglutinin และ pokeweed mitogen) ด้วยวิธีการทดสอบด้วย MTT ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำ จำนวน 6 ชนิดที่มีฤทธิ์ดีในการปรับภูมิคุ้มกัน คือ กาฝากน้อยหน้า (*Dendrophthoe pentandra*), เปล้าน้ำเงิน (*Croton cascarilloides*), ใ้ช้แวแดง (*Bauhinia penicilliloba*), ก่าม (*Crateva adansonii*), ม้าอีค่า (*Polygala chinensis*) และพลูมาลี (*Chionanthus ramiflorus*) จากนั้นทำการทดสอบเพื่อยืนยันฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด โดยวัดการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ ด้วยวิธีการทดสอบด้วย BrdU และศึกษาความสามารถในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของแมคโครฟาจ ด้วยวิธีการทดสอบด้วย NBT และศึกษาความสามารถในการสร้าง IL-4 และ IFN- γ ด้วยวิธีการทดสอบด้วย ELISA

ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดของกาฝากน้อยหน้าที่หมอพื้นบ้านใช้ในการรักษามะเร็งปากมดลูก ที่ความเข้มข้น 12.5-800 $\mu\text{g/ml}$ ทั้งในสถานะที่มีและไม่มีตัวกระตุ้น สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ โดยมีฤทธิ์ทั้ง T-และ B-lymphocytes และ เพิ่มการสร้าง IL-4 โดยความ

เข้มข้นของสารสกัดในสถานะที่ไม่มีตัวกระตุ้น และมีตัวกระตุ้นที่ให้ผลตอบสนองที่ดีที่สุด คือ 800 $\mu\text{g/ml}$ (40.66 pg/ml เทียบกับตัวควบคุม คือ 17.05 pg/ml) และ 100 $\mu\text{g/ml}$ (75.67 pg/ml เทียบกับตัวควบคุม คือ 66.78 pg/ml) ตามลำดับ แต่สามารถยับยั้งการสร้าง IFN- γ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์สนับสนุนความสามารถในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของแมคโครฟาจ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 100 $\mu\text{g/ml}$ จะให้การตอบสนองที่ดีที่สุด (ค่าดัชนี = 1.4785)

สารสกัดเปล้าน้ำเงิน ใช้รักษาการติดเชื้อไวรัส สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนลิมโฟไซต์ ทั้งในสถานะที่ไม่มีตัวกระตุ้น และมีตัวกระตุ้น ความเข้มข้นของสารสกัดในสถานะที่ไม่มีตัวกระตุ้น และมีตัวกระตุ้นทั้ง PHA และ PWM ที่ให้ผลตอบสนองที่ดีที่สุด คือ 200 $\mu\text{g/ml}$ (P.I = 13.896), 800 $\mu\text{g/ml}$ (P.I = 12.202 เทียบกับตัวควบคุม คือ 4.5191) และ 100 $\mu\text{g/ml}$ (P.I = 25.223 เทียบกับตัวควบคุม คือ 19.358) ตามลำดับ สารสกัดในสถานะที่มีตัวกระตุ้น (ConA) สามารถลดการสร้าง IFN- γ อย่างมีนัยสำคัญ (794.35-5.45 pg/ml เทียบกับตัวควบคุม คือ 927.95 pg/ml)

สารสกัดเสี้ยวแดง ใช้เป็นยาอายุวัฒนะและเจริญอาหาร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนลิมโฟไซต์ ทั้งในสถานะที่ไม่มีตัวกระตุ้น และมีตัวกระตุ้น ความเข้มข้นของสารสกัดในสถานะที่ไม่มีตัวกระตุ้น และมี PWM ที่ให้ผลตอบสนองที่ดีที่สุด คือ 200 $\mu\text{g/ml}$ (P.I = 2.9510), 50 $\mu\text{g/ml}$ (P.I. = 5.6879 เทียบกับตัวควบคุม คือ 4.2577) ตามลำดับ และสามารถกระตุ้นการสร้าง IFN- γ ที่ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ (1,076.20 pg/ml เทียบกับตัวควบคุม คือ 981.20 pg/ml) แต่ยับยั้งการสร้าง IL-4 อีกด้วย

สารสกัดของพลูมาลีสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ ทั้งในสถานะที่ไม่มีตัวกระตุ้น และมีตัวกระตุ้น สารสกัดสามารถกระตุ้นการสร้าง IL-4 (108-166 pg/ml เทียบกับตัวควบคุม คือ 92.75 pg/ml) และยับยั้งการสร้าง IFN- γ (661.97-68.85 pg/ml เทียบกับตัวควบคุม คือ 819.35 pg/ml)

สารสกัดของก้ามใช้ในการรักษามะเร็ง สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ T- lymphocytes และ B-lymphocytes อย่างมีนัยสำคัญ โดยไม่มีผลต่อการสร้าง IFN- γ และ IL-4

สารสกัดม้าอีเก้า ใช้บำรุงร่างกายและบำรุงกำลังทางเพศ สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนลิมโฟไซต์ ทั้งในสถานะที่ไม่มีตัวกระตุ้น และมีตัวกระตุ้น ความเข้มข้นของสารสกัดในสถานะที่ไม่มีตัวกระตุ้น และมีตัวกระตุ้นทั้ง PHA และ PWM ที่ให้ผลตอบสนองที่ดีที่สุด คือ 12.5 $\mu\text{g/ml}$ (P.I = 1.4417), 12.5 $\mu\text{g/ml}$ (P.I = 2.0404 เทียบกับตัวควบคุม คือ 1.4629) และ 25 $\mu\text{g/ml}$ (P.I = 2.9170 เทียบกับตัวควบคุม คือ 1.2488) ตามลำดับ แต่ไม่มีผลต่อการสร้าง IL-4 และ IFN- γ นอกจากนี้สารสกัดที่ความเข้มข้น 100-800 $\mu\text{g/ml}$ ยังสามารถกระตุ้นความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของมาโครฟาจอย่างมีนัยสำคัญ (index = 1.3623)

นอกจากนี้ ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่า ความสามารถต้านออกซิเดชันจากมากไปน้อย คือ กาฝากน้อยหน้า, เสี้ยวแดง, ม้าอีค่า, พลูมาลี, เปล้าน้ำเงิน, และ ก่าม ตามลำดับ และเมื่อทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากมากไปน้อย คือ เสี้ยวแดง (249.966 $\mu\text{g}/\text{mg}$), กาฝากน้อยหน้า (186.007 $\mu\text{g}/\text{mg}$), ม้าอีค่า (144.698 $\mu\text{g}/\text{mg}$), พลูมาลี (82.724 $\mu\text{g}/\text{mg}$), เปล้าน้ำเงิน (45.093 $\mu\text{g}/\text{mg}$), และก่าม (34.038 $\mu\text{g}/\text{mg}$) ตามลำดับ

ผลการวิจัยพบว่า สมุนไพรที่มีศักยภาพในการปรับภูมิคุ้มกัน จำนวน 6 ชนิดนั้น สารสกัดที่มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน คือ ม้าอีค่า, เปล้าน้ำเงิน และเสี้ยวแดง ส่วนสารสกัดที่มีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกัน คือ กาฝากน้อยหน้า, ก่าม และพลูมาลี ซึ่งผลการวิจัยสอดคล้องกับภูมิปัญญาพื้นบ้านของการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคของหมอพื้นบ้าน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved