ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาฤทธิ์การฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นไทยบางชนิด ความเป็นพิษและฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารที่มีผลต่อเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเหงือก

ผู้เขียน นางสาวทรงลักษณ์ ศรีสวัสดิ์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

ปีการศึกษา 2550

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของการทดลองนี้คือการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นไทยเจ็ดชนิด ได้แก่ ส่วนใบและเปลือกต้นมะม่วงหิมพานต์ เปลือกผลสมอพิเภก ใบหว้าและเปลือกหว้า เปลือกผลทับทิม และใบทองพันชั่ง ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) *Aggregatibactor actinomycetemcomitans* (*Aa*) และ *Prevotella intermedia* (*Pi*) ศึกษาความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเหงือกและศึกษาฤทธิ์การลดสารก่อการอักเสบชนิด Prostaglandin E_2 เตรียมสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบความสามารถเบื้องต้นในการต้านเชื้อโรคทั้งสามชนิดโดยวิธีการแพร่ในวุ้นเลี้ยงเชื้อ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการทดลองนี้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรคทั้งสามชนิด จึงทดสอบต่อเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าว โดยวิธีเจือจางด้วยน้ำเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนหนึ่งต่อสอง เปรียบเทียบกับเมโทรนิดาโซล ผลการทดลองพบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *Pg* ของเมโทรนิดาโซล สารสกัดเปลือกต้นและใบมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดใบหว้า สารสกัดเปลือกผลทับทิม สารสกัดเปลือกหว้า สารสกัดเปลือกผลสมอพิเภก และสารสกัดใบทองพันชั่ง มีค่าเท่ากับ 0.0008 0.48 1.56 3.125 3.125 6.25 7.81 และ 12.5 มก./มล. ตามลำดับ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *Aa* ของสารสกัดเปลือกต้นมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดใบหว้า สารสกัดเปลือกผลสมอพิเภก สารสกัดเปลือกหว้า สารสกัดเปลือกผลทับทิม สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ และสารสกัดใบทองพันชั่ง มีค่าเท่ากับ 0.97 3.125 3.9 6.25 12.5 25 และ 25 มก./มล. ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *Pi* ของสารสกัดเปลือกต้นมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดเปลือกผลสมอพิเภก สารสกัดใบและเปลือกหว้า สารสกัดเปลือกผลทับทิม และ สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ มีค่าเท่ากับ 0.12 0.12 0.78 0.78 0.78 และ 1.56 มก./มล. ตามลำดับ ยืนยันผลการทดลองด้วยการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ใน

การฆ่าเชื้อ *Pg* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งพบว่า เมโทรนิดาโซล สารสกัดเปลือกผลสมอพิเภก สารสกัดเปลือกต้นและใบมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดใบหว้า สารสกัดเปลือกผลทับทิม สารสกัดเปลือกหว้า และสารสกัดใบทองพันชั่ง มีค่าเท่ากับ 0.0016 0.24 0.97 3.125 3.125 3.125 12.5 และ 12.5 มก./มล. ตามลำดับ ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Aa* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง พบว่ามีเพียงสารสกัดเปลือกต้นมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดเปลือกผลสมอพิเภก และสารสกัดใบหว้าที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อดังกล่าว มีค่าเท่ากับ 0.97 7.8 และ 25 มก./มล. ตามลำดับ ในขณะที่พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Pi* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ซึ่งมีเพียงสารสกัดเปลือกต้นมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดเปลือกผลสมอพิเภก สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ และสารสกัดใบหว้าที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อดังกล่าว มีค่าเท่ากับ 0.97 15.62 25 และ 25 มก./มล. ตามลำดับ จึงทดสอบต่อในเรื่องความเป็นพิษของสารสกัดที่มีผลต่อเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเหงือก ด้วยวิธี MTT colorimetric assay ซึ่งพบค่าของขอบเขตความปลอดภัยของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดใบหว้า และสารสกัดเปลือกต้นมะม่วงหิมพานต์ มีค่าเท่ากับ 156.25 156.25 และ 48.5 มก./มล. ตามลำดับ ในขณะที่พบว่าสารสกัดใบทองพันชั่งและเปลือกหว้าเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเหงือก นอกจากนี้ยังพบว่าใบและเปลือกต้นมะม่วงหิมพานต์ ใบหว้ารวมถึงเปลือกสมอพิเภกสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเหงือกได้อีกด้วย การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดที่มีผลต่อเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเหงือกซึ่งใช้ specific enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) พบว่า สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดใบหว้าและสารสกัดเปลือกผลทับทิมมีแนวโน้มในการลดสารก่อการอักเสบชนิด Prostaglandin E_2 สรุปผลการศึกษาได้ว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยบางชนิดในการศึกษานี้น่าจะสามารถนำไปพัฒนาเสริมการรักษาโรคปริทันต์ต่อไปได้

Thesis Title	Effect of Some Thai Medicinal Plants Extracts on Antibacterial Activity of Periodontopathic Bacteria and their Anti-Inflammatory Activity and Toxicity to Gingival Connective Tissue Fibroblast
Author	Miss Songlak Srisawat
Major Program	Oral Health Sciences
Academic Year	2007

ABSTRACT

The objectives of the study were to study antibacterial activity of a selection of seven Thai medicinal plant extracts, namely *Anacardium occidentale (Ao)* leaves and bark, *Terminalia bellerica (Tb)* dried-fuit, *Syzygium cumini (Sc)* leaves and bark, *Punica granatum (Pn)* pericarp and *Rhinacanthus nasutus (Rn)* leaves, on three periodontopathic bacteria; *Aggregatibactor actinomycetemcomitans (Aa), Prevotella intermedia (Pi),* and *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), to investigate the toxic effect of these extracts on gingival connective tissue fibroblast and to investigate their anti-inflammatory activity. The plants were extracted with ethyl alcohol. Plate diffusion method was used to screen for antibacterial activity of these extracts under anaerobic conditions, at 37°C. The results showed antibacterial activity of these extracts against all three periodontopathic bacteria. Two-fold broth microdilution method was then used to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) for *Pg*, *Aa* and *Pi* of these extracts. The MIC for *Pg* of metronidazole, *Ao* bark and leaves, *Sc* leaves, *Pn* pericarp, *Sc* bark, *Tb* dried-fruit and *Rn* leaves extracts were 0.0008, 0.48, 1.56, 3.125, 3.125, 6.25, 7.81, and 12.5 mg/ml, respectively. The MIC for *Aa* of *Ao* bark, *Sc* leaves, *Tb* dried-fruit, *Sc* bark, *Pn* pericarp, *Ao* and *Rn* leaves extracts were 0.97, 3.125, 3.9, 6.25, 12.5, 25, and 25 mg/ml, respectively. The MIC for *Pi* of *Ao* bark, *Tb* dried-fruit, *Ao* leaves, *Sc* leaves and bark, and *Pn* pericarp extracts were 0.12, 0.12, 0.78, 0.78, 0.78, and 1.56 mg/ml, respectively. Determination of the minimal bacteriocidal concentration (MBC) using blood agar plates was done to confirm the results. The MBC for *Pg* of metronidazole, *Tb* dried-fruit, *Ao* bark and leaves, *Sc* leaves, *Pn* pericarp, *Sc* bark, and *Rn* leaves extracts were 0.0016, 0.24, 0.97, 3.125, 3.125, 12.5, and 12.5 mg/ml, respectively. The MBC for *Aa* of *Ao* bark, *Tb* dried-fruit, and *Sc* leaves extracts were 0.97, 7.8, and 25 mg/ml,

respectively. The MBC for *Pi* of *Ao* bark, *Tb* dried-fruit, *Ao* leaves and *Sc* leaves extracts were 0.97, 15.62, 25, and 25 mg/ml, respectively. To develop these medicinal plants as an adjunctive periodontal treatment in humans, not only their antimicrobial activity is of concern but also the safety. In this experiment, the toxicity of the studied plant extracts was investigated by MTT colorimetric assay in order to measure cell survival. The safety margins determined were *Ao* and *Sc* leaves extracts (up to 156.25 mg/ml) and *Ao* bark extracts (up to 48.5 mg/ml). *Rn* leaves and *Sc* bark extracts had cytotoxic effect. Interestingly, *Ao* leaves and bark, *Sc* leaves and *Tb* dried-fruit extracts can promote human gingival fibroblast proliferation *in vitro*. Within the respect of anti-inflammatory efficacy by specific enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA), *Ao* and *Sc* leaves and *Pn* pericarp extracts have trend to reduce Prostaglandin E_2. This data further implicates that some Thai medicinal plant extracts in this study have potential to use in periodontal therapy.

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to thank all the people who have assisted me while undertaking my Masters degree.

Firstly, I would like to express my deepest appreciation and sincerest gratitude to my supervisor, Assistant Professor Dr. Wilairat Worapamorn, Department of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, for her excellent suggestions and instruction.

My sincere thanks are also expressed to Dr. Chatchai Wattanapiromsakul, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, and Associate Professor Rawee Teanpaisan, Department of Stomatology, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, who are my co-advisors, for their kindness and valuable advice.

I also give my thanks to all the staff in the laboratory of Department of Oral diagnosis and the central laboratory of Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University for their help, support and valuable advice.

My thanks also go to the officers in the Department of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry and Graduate school, Prince of Songkla University, for their help, kindness and support.

I would like to thank my sponsor; Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University and Graduate school, Prince of Songkla University for financial support for this research.

Finally, my special gratitude and grateful thanks to my family, which includes my grand mother, my father, my mother, my sister, my brothers, and the Tanamoon family for their love, help, encouragement, patience, understanding and constant support all the time during my study.

Songlak Srisawat