

## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

### 1. ชื่อแผนงานวิจัยหรือชุดโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) : การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรที่ผู้ป่วยเอ็ดส์ใช้รักษาตนเอง

(ภาษาอังกฤษ) : Study on Pharmacological Activity of Medicinal Plants Used as Self Medication by AIDS Patients

### 2. รายนามคณะผู้บริหารแผนงานวิจัยหรือชุดโครงการวิจัย พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัด หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

#### 2.1 รศ. ดร.สนั่น ศุภธีรสกุล หัวหน้าชุดโครงการวิจัย

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่

จ. สงขลา 90110

โทรศัพท์และโทรสาร 074-428220

E-mail : sanan.s@psu.ac.th

#### 2.2 รศ. ดร.เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่

จ. สงขลา 90110

โทรศัพท์และโทรสาร 074-446661

E-mail : souwalak.p@psu.ac.th

#### 2.3 รศ. ดร. วราภรณ์ วุฑฒะกุล

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่

จ. สงขลา 90110

โทรศัพท์และโทรสาร 074-446661

E-mail : varaporn.v@psu.ac.th

#### 2.4 ผศ. นพ.วีรวัฒน์ มหัทธนะกุล

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่

จ. สงขลา 90110

โทรศัพท์และโทรสาร 074-446661

E-mail : werawatthana.m@psu.ac.th

### 3. ได้รับอนุมัติจัดสรรงบประมาณของหน่วยงานประจำปี 2545-2547 จำนวนเงิน 3,474,000.- บาท

### 4. ระยะเวลาตลอดโครงการ 3 ปี

### 5. เริ่มทำวิจัยเมื่อ เดือน ธันวาคม 2544

### 6. รายละเอียดเกี่ยวกับผลงานวิจัย

#### 6.1 วัตถุประสงค์ของแผนงานวิจัยหรือชุดโครงการวิจัย

เพื่อหาสารหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ หรือสมุนไพรที่สามารถนำมาใช้รักษาอาการของผู้ป่วยเอ็ดส์

#### 6.2 ผลการดำเนินงานวิจัย

# โครงการย่อยที่ 1 : สารเคมีในสมุนไพรที่ผู้ป่วยเอตส์ใช้รักษาตนเอง

## การสกัดสารสกัดหยาบจากสมุนไพร

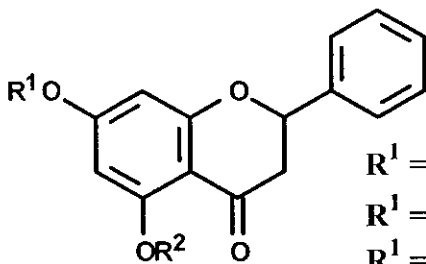
ได้ทำการหาตัวอย่างดังต่อไปนี้คือ กระเทียม (เหง้า) กระชาย (เหง้า) ดีปลี (ผล) กะเม็ง (ลำต้นและใบ) เสดดพังพอนตัวผู้ (ใบ) เสดดพังพอนตัวผู้ (ลำต้น) เหงือกปลาหมอ (ลำต้นและใบ) ชำ (เหง้า) พลู (ใบ) แก้ว (ใบ) ผักคราดหัวแหวน (ลำต้นและใบ) ตำลึง (ใบ) และว่านมหากาฬ (ใบ) มาทำการสกัดสารด้วย chloroform เป็นจำนวน 4 ครั้ง กากที่เหลือจากการสกัดด้วย chloroform นำมาสกัดต่อด้วย methanol เป็นจำนวน 4 ครั้ง เช่นกัน และ กากที่เหลือจากการสกัดด้วย methanol นำมาสกัดด้วยน้ำโดยการต้มกับน้ำ เป็นจำนวน 2 ครั้ง ทำสารสกัดแต่ละส่วนให้แห้งได้น้ำหนักตามตารางต่อไปนี้

## การแยกสารให้บริสุทธิ์

### กระชาย

แยกสารจากส่วนสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจากเหง้ากระชายได้ 5 ชนิด คือ pinostrobin, mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol, pinocembrin และ alpinetin

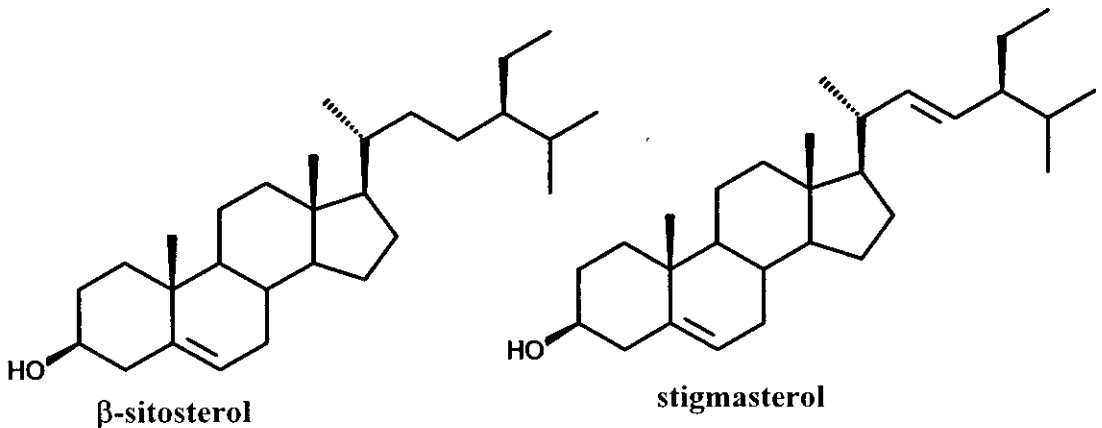
แยกสารจากส่วนสกัดด้วยเมทานอล ได้ทั้งหมด 10 ชนิด คือ panduratin C (1), panduratin A (2), hydroxypanduratin A (3), helichrysetin (4), 2', 4', 6'-trihydroxyhydrochalcone (5), uvangoletin (6) และ cardamonin (7), pinostrobin, pinocembrin และ alpinetin โดยที่ panduratin C เป็นสารใหม่ในกลุ่ม cyclohexenyl chalcone



R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = H; pinostrobin

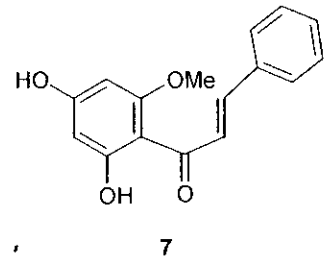
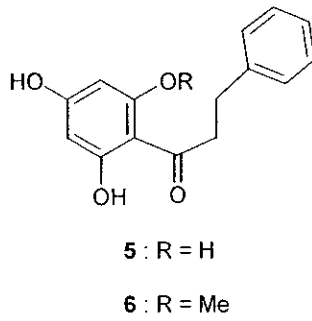
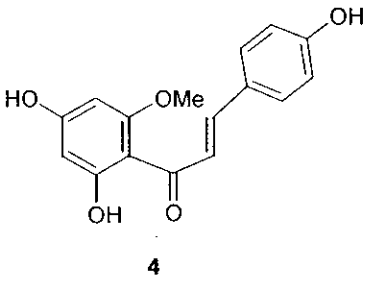
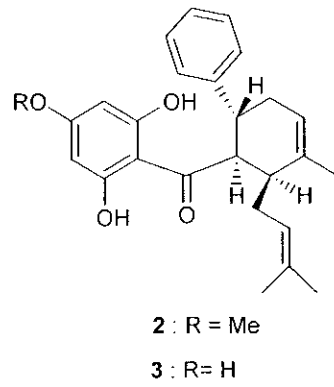
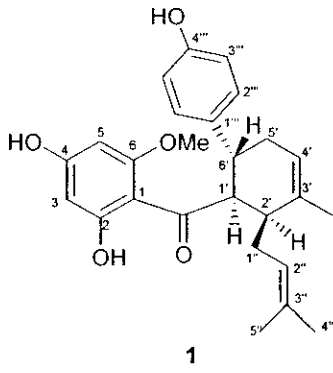
R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = H; pinocembrin

R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = CH<sub>3</sub>; alpinetin



$\beta$ -sitosterol

stigmasterol



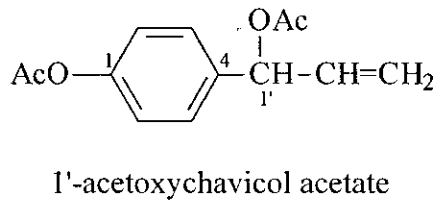
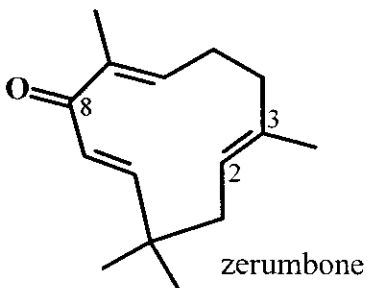
หมายเหตุ : **1** = Panduratin C, **2** = Panduratin A, **3** = Hydroxypanduratin A, **4** = Helichrysetin,  
**5** = 2', 4', 6'-trihydroxyhydrochalcone, **6** = Uvagoletin, **7** = Cardamonin

กระเทียม

แยกสารจากส่วนสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจากเหง้ากระเทียมได้ 1 ชนิด คือ zerumbone

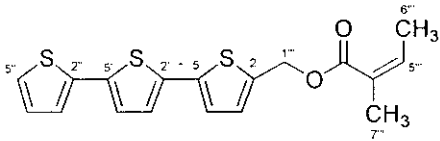
ข่า

แยกสารจากส่วนสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจากเหง้าข่า ได้ 1 ชนิด คือ 1'-acetoxychavicol acetate



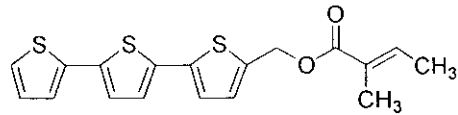
## กะเม็ง

แยกสารจากส่วนสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และ เมทานอล ได้ 6 ชนิด เป็นสาร terthiophenes จำนวน 4 ชนิด คือ ecliptal (**Ep156F**), 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl acetate (**Ep157I**), 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl agelate (**Ep157E**) and 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl tiglate (**Ep157B**) เป็นสาร isoflavonoid จำนวน 1 ชนิด คือ orobol (**Ep154B**) และสาร coumarin จำนวน 1 ชนิด คือ wedelolactone (**Ep154D**).



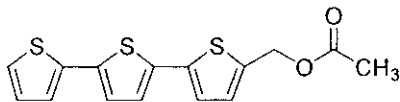
5-Hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl agelate

Ep157E:  $C_{18}H_{16}O_2S_3$



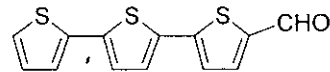
5-Hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl tiglate

Ep157B:  $C_{18}H_{16}O_2S_3$



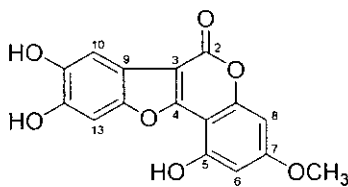
5-Hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl acetate

Ep157I:  $C_{15}H_{12}O_2S_3$



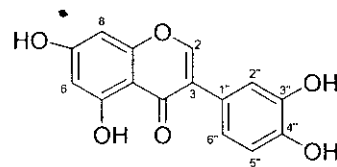
Ecliptal (Ep156F)

$C_{13}H_8OS_3$



Wedelolactone (Ep154D)

$C_{16}H_{10}O_7$



Orobol (Ep154B)

$C_{15}H_{10}O_6$

## การทดสอบฤทธิ์ต่อเชื้อ HIV-1

ได้ทำการทดสอบฤทธิ์กับเชื้อ HIV-1 โดยทดสอบฤทธิ์ต้าน HIV-1 protease enzyme และ HIV-1 integrase enzyme ของสารสกัดทั้ง 36 สารสกัด ของพืชสมุนไพร 12 ชนิด พบว่าสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และ เมทานอลจากเหง้ากระชาย และสารสกัดด้วยเมทานอลจากเหง้าข่ามีฤทธิ์ต้าน enzyme HIV-1 protease ได้ดี สารสกัดด้วยน้ำและเมทานอลจากกะเม็งมีฤทธิ์ต้าน HIV-1 integrase enzyme ได้ดี

เมื่อทดสอบฤทธิ์ต่อ HIV-1 protease enzyme ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเหง้ากระชายทั้ง 10 ชนิด พบว่า hydroxypanduratin A และ panduratin A มีฤทธิ์ต้าน HIV-1 protease ได้ดี โดยมีค่า  $IC_{50}$  เป็น 5.6 และ 18.7  $\mu M$  ตามลำดับ ส่วน cardamonin มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 31  $\mu g/ml$

### การทดสอบฤทธิ์ต้าน cyclooxygenase 2 enzyme

• จากการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของส่วนสกัดทั้ง 36 ตัวอย่าง โดยการทดสอบกับฤทธิ์ต้าน cyclooxygenase 2 enzyme พบว่า มีเฉพาะส่วนสกัดที่เป็นสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจากใบพลูเท่านั้น ที่สามารถยับยั้ง cyclooxygenase 2 enzyme ได้ 80% ที่ความเข้มข้น  $10^{-5}$  g/ml โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.58  $\mu$ g/ml

### ผลงานวิจัยตีพิมพ์

มีผลงานวิจัยตีพิมพ์แล้วจำนวน 4 เรื่อง และผลงานวิจัยที่ยื่นขอตีพิมพ์จำนวน 1 เรื่อง จากโครงการยอยสารเคมีในสมุนไพรที่ผู้ป่วยเอ็ดส์ใช้รักษาตนเอง ดังต่อไปนี้

1. Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S. and Kummee, S. HIV-protease inhibitory effects of medicinal plants used as self medication by AIDS patients. Songklanakarin J. Sci. Technol., 2003, 25(2) : 239-243.
2. Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Puripattanavong, J. and Panphadung, T. HIV-1 protease inhibitory substances from the rhizomes of *Boesenbergia pandurata* Holtt. Songklanakarin J. Sci. Technol., 2003, 25(4) : 503-508.
3. Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S. and Kummee, S. Anti-HIV; integrase activity of medicinal plants used as self medication by AIDS patients. Songklanakarin J. Sci. Technol., 2006, 28(4) : 785-790.
4. Cheenpracha, S., Karalai, K., Ponglimanont, C., Sanan Subhadhirasakul, S. and Tewtrakul, S. Anti-HIV-1 protease activity of compounds from *Boesenbergia pandurata*. Bioorg. Med. Chem., 2006, 14 : 1710-1714.
5. Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Cheenpracha, S., Karalai, C. and Craigie<sup>3</sup>, R. HIV-1 protease- and HIV-1 integrase inhibitory substances from *Eclipta prostrate*, Planta Med., 2006 (submitted)

### โครงการย่อยที่ 2 : ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ก่อโรคติดเชื้อฉวยโอกาสในผู้ป่วยเอ็ดส์

#### การทดสอบฤทธิ์ต้านวัณโรค

ทดสอบฤทธิ์ต้านวัณโรคโดยวิธี microtiterplate alamar blue กับเชื้อ *M. tuberculosis* H37Ra ของส่วนสกัดทั้ง 36 ตัวอย่าง พบว่าสารสกัดทุกตัวอย่างที่นำไปทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 1,000  $\mu$ g/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อวัณโรคได้ (ยกเว้นสารสกัดจากเหง้ากระเทียมด้วยน้ำที่ไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากปนเปื้อนเชื้ออื่น) สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ได้แก่ สารสกัดจากข่าด้วยคลอโรฟอร์ม มีค่า MIC เท่ากับ 0.122  $\mu$ g/ml รองลงมา ได้แก่ สารสกัดจากตีปัสด้วยคลอโรฟอร์ม มีค่า MIC 16  $\mu$ g/ml

เมื่อนำสารบริสุทธิ์จากข่า และกระชายมาทดสอบ พบว่า 1'-acetoxychavicol acetate จากข่ามี ประสิทธิภาพดีที่สุด ให้ค่า MIC 0.024 µg/ml ค่า MIC ของสารบริสุทธิ์จากกระชาย คือ pinostrobin, pinocembrin และ alpinetin เป็น 200, 25 และ 25 µg/ml ตามลำดับ

### การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียอื่น ๆ

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นโดยวิธี agar diffusion โดยวางแผ่นกระดาษกรองซุบสาร สกัดทั้ง 36 ตัวอย่าง (ความเข้มข้น 250 µg/แผ่น) ลงบนวุ้นอาหาร เพาะเลี้ยงที่สภาวะที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละ ชนิด ที่อุณหภูมิ 35 °C 16-18 ชั่วโมง พบว่ามีสารสกัด 6 ตัวอย่างที่ทำให้เกิดวงใส ได้แก่ สารสกัดจากเหง้า กระชายด้วยคลอโรฟอร์ม และเมธานอล สารสกัดจากผักคราดหัวแหวนด้วยคลอโรฟอร์ม สารสกัดจากเหง้าข่าด้วย คลอโรฟอร์ม สารสกัดจากใบพลูด้วยคลอโรฟอร์ม และสารสกัดจากเหง้ากระถือด้วยคลอโรฟอร์ม นำสารสกัดหยาบ ทั้ง 6 ตัวอย่างที่ทำให้เกิดวงใสมาทดสอบเพื่อหาค่า MIC โดยวิธี agar dilution ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ คือ 512 µg/ml พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้หรือยับยั้งได้น้อยมาก (MIC ≥512 µg/ml) มีเพียงสารสกัดจากเหง้าข่าด้วยคลอโรฟอร์มที่ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA ได้ดี ที่สุด มีค่า MIC 128 และ 256 µg/ml ตามลำดับ และค่า MBC เท่ากัน คือ 256 µg/ml

นำสารบริสุทธิ์ zerumbone จากกระถือ มาหาค่า MIC ต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA ที่ ความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ คือ 128 µg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้

### การทดสอบฤทธิ์ต้านรา

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านราเบื้องต้นกับยีสต์ *C. albicans* และ *C. neoformans* โดยวิธี agar diffusion โดยวางแผ่นกระดาษกรองซุบสารสกัดทั้ง 36 ตัวอย่าง (ความเข้มข้น 1000 µg/แผ่น) พบว่ามีสารสกัด 7 ตัวอย่าง ที่ทำให้เกิดวงใส โดยสารสกัด 5 ตัวอย่างเป็นชนิดเดียวกับที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ สารสกัดจากเหง้ากระชาย ด้วยคลอโรฟอร์ม เมธานอล สารสกัดจากผักคราดหัวแหวนด้วยคลอโรฟอร์ม สารสกัดจากเหง้าข่าด้วยคลอโรฟอร์ม และสารสกัดจากใบพลูด้วยคลอโรฟอร์ม ส่วนอีก 2 สาร คือ สารสกัดจากใบแก้วด้วยคลอโรฟอร์ม และสารสกัดจาก ต้นกระเม็งด้วยคลอโรฟอร์ม เมื่อนำมาทดสอบหาค่า MIC ด้วยวิธี agar microdilution พบว่าค่า MIC ของสารสกัด ต่อเชื้อ *C. albicans* มีค่ามากกว่า 512 µg/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ และค่า MIC ต่อเชื้อ *C. neoformans* อยู่ในช่วง 64 - 512 µg/ml

ทำการทดสอบเบื้องต้นกับเชื้อรา *Penicillium mameffeii* พบว่า มีสารสกัด 5 ตัวอย่าง จาก 36 ตัวอย่างที่ ทดสอบ แสดงฤทธิ์การยับยั้ง *P. mameffeii*

เมื่อนำสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งในเบื้องต้นมาหาค่า EC<sub>50</sub> โดยวิธี agar dilution แล้วคำนวณจากกราฟ พบว่ามีเพียง 3 สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งได้ดี และมีค่า EC<sub>50</sub> ใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 141.5-180.2 µg/ml ได้แก่ กระ เม็ง ข่า และ พลู ที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม

ได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมกับเชื้อ *Microsporium gypseum* ซึ่งเป็นเชื้อราก่อโรคกลากด้วย พบว่ามีสาร สกัด 7 ตัวอย่าง จาก 36 ตัวอย่างที่ทดสอบมีฤทธิ์ยับยั้ง *M. gypseum* และ 5 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างเดียวกับที่ ยับยั้ง *P. mameffeii* ได้ทดสอบหาค่า MIC ของสารสกัด 7 ตัวอย่าง ตามวิธีของ NCCLS พบว่ามีค่า MIC อยู่ ในช่วง 16 - 512 µg/ml สารสกัดจากข่าที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มมีฤทธิ์ยับยั้งได้ดีที่สุด มีค่า MIC 16 µg/ml

เมื่อทดสอบกับสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จาก ข่า กระชาย และกระมื่อ พบว่า 1'-acetoxychavicol acetate จากข่ายับยั้ง *M. gypseum* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC 16 µg/ml รองลงมาได้แก่สาร pinocembrin จากกระชาย MIC 32 µg/ml

### การทดสอบฤทธิ์ต้านโปรโตซัว

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านโปรโตซัว *Entamoeba histolytica* โดยผสมสารสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ และเชื้อ ( $2 \times 10^5$  cell/ml) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดเท่ากับ 1,000 µg/ml ใน tissue culture plate บ่มในที่ที่ไม่มียอกซิเจนโดยใช้ Anaerocult®P ที่อุณหภูมิ 37 °C 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยนับจำนวนเซลล์ที่ตายภายใต้กล้อง inverted microscope เปรียบเทียบกับหลุมควบคุม พบว่าสารสกัด 8 ตัวอย่างจาก 36 ตัวอย่างที่ทดสอบมีฤทธิ์ต้าน *E. histolytica* โดยสามารถทำให้เชื้อตายได้มากกว่า 90% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ได้แก่ สารสกัดจากตีปัส กระชาย ต้นเสลดพังพอน ใบแก้ว ข่า พลุ กระทือ ที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และกระชาย ที่สกัดด้วยเมทานอล

### ผลงานวิจัยตีพิมพ์

มีผลงานวิจัยตีพิมพ์จำนวน 5 เรื่อง จากโครงการย่อย ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ก่อโรค ติดเชื้อฉวยโอกาสในผู้ป่วยเอดส์ ดังต่อไปนี้

1. Voravuthikunchai, S.P., Phongpaichit, S. and Subhadhirasakul, S. Evaluation of antibacterial activities of medicinal plants widely used among AIDS patients in Thailand, *Pharmaceutical Biology*, 2005, 43(8) : 701-706.
2. Sawangjaroen, N., Subhadhirasakul, S., Phongpaichit, S., Siripanth, C., Jamjaroen, K. and Sawangjaroen, K. The in vitro anti-giardial activity of extracts from plants that are used for self-medication by AIDS patients in southern Thailand. *Parasitol Res*, 2005, 95 : 17-21.
3. Phongpaichit, S., Subhadhirasakul, S., and Wattanapiromsakul, C. Antifungal activities of extracts from Thai medicinal plants against opportunistic fungal pathogens associated with AIDS patients. *Mycoses*, 2005, 48 : 333-338.
4. Phongpaichit, S., Vuddhakul, V., Subhadhirasakul, S. and Wattanapiromsakul, C. Evaluation of the Antimycobacterial Activity of Extracts from Plants Used as Self-Medication by AIDS Patients in Thailand. *Pharmaceutical Biology*, 2006, 44 : 71-75.
5. Sawangjaroen, N., Phongpaichit, S., Subhadhirasakul, S., Visutthi, M., Srisuwan, N. and Thammapalerd, N. The anti-amoebic activity of some medicinal plants used by AIDS patients in southern Thailand, *Parasitol. Res.*, 2006, 98 : 588-592.

### โครงการย่อยที่ 3 : การทดสอบสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในหลอดทดลอง

ได้ศึกษาและเปรียบเทียบ การแสดงออกของ CD 69 และการสร้าง IL-2 เมื่อ กระตุ้น lymphocytes ด้วย phytohemagglutinin (PHA), staphylococcus enterotoxin B (SEB) และ phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) และได้ทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพรในการกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว lymphocytes โดยดูการแสดงออกของ CD 69 และการสร้าง IL-2 ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 12 ชนิด รวม 36 ตัวอย่าง เทียบกับ PHA พบว่าสมุนไพรที่สามารถกระตุ้น lymphocytes ให้มีการแสดงออก CD69 มากขึ้น คือ สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มของตีปาลี กระชาย ข่า และกระเทียม ส่วนสารสกัดที่กระตุ้นการสร้าง IL-2 คือ สารสกัดด้วยน้ำของตีปาลี และกระเทียม สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มของกระชายและกระเทียม และสารสกัดด้วยเมธานอลของกระชาย

ทดสอบสารสกัดจากสมุนไพร 12 ชนิด เพื่อดูความสามารถของสารสกัดสมุนไพรในการกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว polymorphonuclear cells ซึ่งโดยปกติเมื่อมีการติดเชื้อเม็ดเลือดขาวนี้จะเดินทางเข้าไปจับกินและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 12 ชนิด รวม 36 ตัวอย่าง สามารถกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว polymorphonuclear cells

ศึกษาผลของ Pinostrobin, Pinocebrin, Alpinetin ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์จากสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มของกระชาย 1'-acetoxychavicol acetate จากข่า Zerumbone จากกระเทียม ในการกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว lymphocytes โดยวัดการแสดงออกของ CD 69 บนผิว lymphocytes เทียบกับการกระตุ้น lymphocytes ด้วย phytohemagglutinin (PHA) พบว่าสารบริสุทธิ์ทั้ง 5 ชนิดไม่มีฤทธิ์กระตุ้น lymphocytes แต่อาจยับยั้งการทำงานของ lymphocytes เนื่องจากทำให้การแสดงออก CD69 น้อยลงเมื่อเทียบกับ control

#### ผลงานวิจัยตีพิมพ์

มีผลงานวิจัยได้รับการตีพิมพ์จำนวน 1 เรื่อง และผลงานวิจัยที่ยื่นขอรับการตีพิมพ์จำนวน 1 เรื่อง จากโครงการย่อย การทดสอบสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในหลอดทดลอง ดังต่อไปนี้

1. Vuddhakul, V., Bhoopong, P., Hayeebilan, F. and Subhadhirasakul, S. Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus* , *Food Microbiology*, 2006, in press.
2. Vuddhakul, V., Phoopong, P., Subhadhirasakul, S. and Suthinee Bhuvanath, S. In vitro immunomodulatory activities of extracts from some Thai medicinal plants, *Pharmaceutical Biology*, 2006 (submitted)

### โครงการย่อยที่ 4 : การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและเรื้อรังของสมุนไพรที่ใช้เป็นยาต้านจุลชีพในผู้ป่วยโรคเอดส์

ทำการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพคือข่าในหนูขาว โดยการป้อนสารสกัดของสมุนไพรให้หนูขาวทางปาก พบว่าขนาดของสารสกัดจากข่าด้วย chloroform ที่ทำให้หนูขาวตายร้อยละ 50 (LD<sub>50</sub>) ในหนูขาวเพศผู้ คือ 3,200 มก./กก. ส่วนในหนูขาวเพศเมียคือ 6,300 มก./กก. การศึกษาความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังในหนูขาวเพศผู้และเพศเมีย แบ่งหนูออกเป็นเพศละ 3 กลุ่ม



คือ กลุ่มควบคุม (ป้อนสารละลาย gum arabic) กลุ่มทดลองที่ป้อนสารสกัดจากข้าวขนาด 24 มก./กก./วัน และ 240 มก./กก./วัน (ขนาดประมาณ 10 และ 100 เท่าของขนาดที่คนรับประทาน) ติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน ผลการศึกษาพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข้าวในขนาด 24 มก./กก./วัน มีอัตราการเจริญเติบโตและการกินอาหารไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมทั้ง 2 เพศ แต่หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข้าวในขนาด 240 มก./กก./วัน มีอัตราการเจริญเติบโตและการกินอาหารลดลง อย่างไรก็ตามไม่พบความผิดปกติทางด้านพฤติกรรมในหนูที่ได้รับสารสกัดจากข้าวทุกกลุ่ม ผลการตรวจทางชีวเคมีของเลือดและโลหิตวิทยาไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ยกเว้นมีการเพิ่มขึ้นของระดับเอนไซม์จากตับในหนูชาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข้าวในขนาด 240 มก./กก./วัน ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในของหนูชาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข้าวขนาด 24 มก./กก./วัน วันละครั้งเป็นเวลานาน 3 เดือน พบพยาธิสภาพที่ตับในระดับเกรด 1 จำนวน 2 ตัวจาก 10 ตัว(20 %) และ พบกรวยไตอักเสบเรื้อรังเฉพาะที่ (Focal chronic pyelonephritis) 1 ตัว จาก 10 ตัว(10%)แต่ไม่พบพยาธิสภาพในหนูชาวที่ได้รับสารสกัดจากข้าวในขนาด 240 มก./กก./วัน ส่วนในหนูชาวเพศผู้พบพยาธิสภาพที่หัวใจ คือกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบเฉพาะที่ (Focal myocarditis) ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข้าวในขนาด 24 มก./กก./วัน กลุ่มละ 1 ตัว จาก 10 ตัว (10%) และ 15 ตัว (6.7%) ตามลำดับ แต่ไม่พบพยาธิสภาพในหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดจากข้าวในขนาด 240 มก./กก./วัน

โดยสรุป การศึกษานี้พบว่าหนูชาวเพศผู้มีโอกาสเสี่ยงต่อพิษแบบเฉียบพลันจากสารสกัดจากข้าวมากกว่าหนูชาวเพศเมีย แต่ไม่มีความแตกต่างกันในด้านพิษแบบเรื้อรัง และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสารสกัดกับความเสียหายแบบเรื้อรัง อย่างไรก็ตามการใช้สารสกัดดังกล่าวเพื่อต้านจุลชีพควรให้ในขนาดที่ใช้ตามปกติในชีวิตประจำวัน.

ผลงานวิจัยตีพิมพ์