



**THE STUDY OF IMMUNOTOXIC EFFECTS OF  
*CLINACANTHUS NUTANS* EXTRACT  
IN MALE *WISTAR* RATS**

**SUMITRA SUNTARARUKS**

**With compliments  
of**  
วิมลพรวิมลพรวิมลพร น.วิมลพร

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (TOXICOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**1999**

**ISBN 974-662-133-5**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH

S955c

1999

**042746 e.1**



3736156 GRTX / M: MAJOR : TOXICOLOGY ; M.Sc. (TOXICOLOGY)

KEY WORDS : ANTI-INFLAMMATORY / GRANULOMA POUCH MODEL / PHARMACEUTICAL PREPARATION STABILITY / IMMUNOTOXICITY

SUMITRA SUNTARARUKS : THE STUDY OF IMMUNOTOXIC EFFECTS OF *CLINACANTHUS NUTANS* EXTRACT IN MALE *WISTAR* RATS. THESIS ADVISORS: JUTAMAAD SATAYAVIVAD, Ph.D., MOLVIBHA VONGSAKUL, Ph.D., CHAITHIP WANICHANON, Ph.D. 108 p. ISBN 974-662-133-5

The pharmaceutical preparation stability and immunotoxicity of crude water extract of fresh leaves of *Clinacanthus nutans* (*C. nutans*) were investigated in our study. A granuloma pouch model (chronic inflammatory model) was used as the test model. Over a period of 8 days, male Wistar rats received topical application of 5% *C. nutans* in 3 different forms: (A) in cold<sub>1</sub> cream (125 mg cream / rat / day), (B) in 95% ethanol and (C) ethanolic extract of *C. nutans* in water. It was found that the anti-inflammatory action of topical applications of 5% *C. nutans* in the various preparations were as potent as 0.25% prednisolone (D). These treatments (A, B, C, and D) decreased the exudate and granuloma formation 50.98%, 50.1%, 48.3%, 56.82%, respectively. However, *C. nutans* in cold<sub>1</sub> cream, when stored at 4°C for 3 months, lost its potency. When *C. nutans* in powder form was stored at 4°C for 6 months and then was macerated in 95% ethanol for 2 weeks before testing, it was still able to reduce the exudate, edema, and granuloma formation. These results showed that the anti-inflammatory activity of *C. nutans* is stable in crude powder form but not when it is prepared in cream base. Therefore, our results suggested that the active chemical(s) may be degraded when *C. nutans* is prepared in the form of cream. A suitable vehicle providing longer shelf-life of topical preparation should be found.

The immunotoxicity was studied by the measurement of thymus and spleen weights and a histological study of immune organs. Reduction of thymus and spleen weights, histological changes in thymus (a depleted lymphocyte density in thymic medulla and cortex), hyperplasia of the follicles and marginal zone in spleen, suppression of granuloma formation and reduction of monocytes in granulomatous tissue were detected when 0.25% prednisolone in cold<sub>1</sub> cream was used. The 5% *C. nutans* in 95% ethanol produced lesser reduction of lymphocyte density in thymus and spleen than 0.25% prednisolone in cold<sub>1</sub> cream and it had no effect on thymus weight. However, it had the same effects on the reduction of exudate, number of macrophages, and granulomatous tissue formation as 0.25% prednisolone in cold<sub>1</sub> cream. The morphology of thymocyte was investigated by Dapi's staining and it was found that all samples showed non-significant changes in the number of intact nucleus cells per total cells. The results of this study suggested that the immunotoxic effects of *C. nutans* at the doses used were much less than those of prednisolone. One of the mechanisms of this local anti-inflammation might be related to the reduction of vascular permeability which resulted in reduction of macrophages to the inflammatory area. Further studies on the local anti-inflammatory mechanisms of *C. nutans* and immunological effects of the pure compounds isolated from this water extract should be conducted.

3736156 GRTX / M : สาขาวิชา : พืชวิทยา; วท.ม. (พืชวิทยา)

สุมิตรา สุนทรารักษ์: การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากใบสดของเสลดพังพอนตัวเมียที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของหนูขาว (THE STUDY OF IMMUNOTOXIC EFFECTS OF *CLINACANTHUS NUTANS* EXTRACT IN MALE *WISTAR* RATS).

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์, Ph.D., มลวิภา วงษ์สกุล, Ph.D., ชัยทิพย์ วานิชานนท์, Ph.D., 108 หน้า. ISBN 974-662-133-5

การศึกษาความคงตัวของยาเตรียมใช้ภายนอกของสารสกัดด้วยน้ำจากใบสดของต้นเสลดพังพอนตัวเมีย ซึ่งถูกตรวจสอบโดยอาศัยฤทธิ์ในการลดอาการบวมอักเสบและความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน รูปแบบของการอักเสบหรือรังที่ใช้ในการทดลองคือการทำให้เกิดถุงแฉะนูลอมาที่หลังของหนูขาวตัวผู้ โดยใช้สารเคมีที่ก่อให้เกิดการอักเสบคือ “น้ำมันสลัดผสมในน้ำมันข้าวโพด” ผลการทดลองคือ 5% สารสกัดจากน้ำในรูปของครีม(ก) (ใช้ปริมาณ 125 มิลลิกรัมครีม ต่อ 1 วัน) หรือ ในรูปของสารสกัดละลายใน 95% แอลกอฮอล์(ข) หรือในรูปของสารสกัด 95% แอลกอฮอล์โดยละลายในน้ำ(ค) โดยทาบริเวณผิวหนังที่บวมอักเสบเป็นเวลา 8 วัน สามารถลดการบวมอักเสบได้เท่ากับ 0.25% เพรคนิโซโลนในครีมชนิดเดียวกัน โดยการวัดปริมาณของของเหลวในถุงบวมอักเสบ พบว่าปริมาณของเหลวลดลงเท่ากับ 51.0%, 50.1%, 48.3%, และ 56.8% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามไม่พบฤทธิ์ของการลดบวมน้ำที่เกิดจากการอักเสบในกรณีของสารสกัดในรูปครีมที่เก็บไว้อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 3 เดือน แต่ถ้านำมาแช่ในสารละลาย 95% แอลกอฮอล์เป็นเวลา 2 สัปดาห์ก่อนการใช้ก็ยังคงให้ฤทธิ์การต่อต้านการบวมอักเสบเหมือนเดิม จึงสรุปได้ว่าฤทธิ์จะยังคงถ้าอยู่ในรูปของสารสกัดเดิมโดยไม่สามารถคงฤทธิ์ได้เมื่อเก็บในรูปครีม ผลการทดลองของเราสรุปว่าสารที่ออกฤทธิ์ด้านการอักเสบของพืชชนิดนี้อาจเปลี่ยนรูปไปเมื่อเตรียมในรูปครีม คือไม่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ดังนั้นการศึกษาวิจัยเพื่อหาสารที่เหมาะสม ที่จะทำให้สารสกัดสามารถคงฤทธิ์ด้านการบวมน้ำของการอักเสบได้เป็นเวลานานในรูปยาเตรียมใช้ภายนอกซึ่งต้องศึกษากันไป ความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันทำการศึกษาโดยวัดน้ำหนัก, สังเกตดูโครงสร้าง, ลักษณะของเซลล์ภายในรัยมีส, ม้าม รวมทั้ง เนื้อเยื่อบริเวณที่มีการอักเสบ 0.25% เพรคนิโซโลนในครีมจะทำให้มีอาการลดน้ำหนักของรัยมีส ม้าม, มีการลดความหนาแน่นของเซลล์ลิมโฟไซต์ ในแต่ละส่วนของรัยมีส, มีการขยายขนาดโครงสร้างของม้าม และมีการยับยั้งการเกิดการเพิ่มขึ้นของเส้นใยคอลลาเจน, ไฟเบอร์ รวมทั้งการตอบสนองของเซลล์เม็ดเลือดขาวโมโนไซต์ต่อบริเวณที่อักเสบ 5% สารสกัดในสารละลาย 95% แอลกอฮอล์ แสดงผลความผิดปกติของ แต่ละส่วนของรัยมีส และม้ามน้อยกว่าเพรคนิโซโลนทั้งยังไม่มีอาการลดน้ำหนักรัยมีส และสามารถลดการเพิ่มขึ้นของเซลล์เม็ดเลือดขาวโมโนไซต์, การบวมน้ำ, และเนื้อเยื่อแฉะนูลอมาที่บริเวณอักเสบ ในการวิเคราะห์ความผิดปกติของเซลล์ในรัยมีสโดยการย้อมเซลล์ด้วยสารละลายDapi's ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติของจำนวนเซลล์ปกติคือ เซลล์ทั้งหมดในกลุ่มเซลล์ตัวอย่างของการทดลอง ผลการศึกษานี้ชี้แนะว่า ความเป็นพิษของสารสกัดในขนาดที่ใช้ต่อระบบภูมิคุ้มกัน จะมีน้อยกว่าเพรคนิโซโลนมาก อย่างหนึ่งในการลดอักเสบเฉพาะที่อาจเกิดจากการลดการเคลื่อนที่ผ่านผนังหลอดเลือดของเซลล์เม็ดเลือดขาวโมโนไซต์เข้าไปในบริเวณที่อักเสบ กลไกการออกฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ต่อไป.