

15 SEP 1999



INVESTIGATION OF ANTI-HERPES SIMPLEX VIRUS
ACTIVITIES OF *BARLERIA LUPULINA* LINDL.
AND *CLINACANTHUS NUTANS* (BURM. F.) LINDAU EXTRACTS
USING PLAQUE INHIBITION
AND YIELD REDUCTION ASSAYS

YAWALAK PANPISUTCHAI

With compliments
of
ศาสตราจารย์ น. นพรัตน์

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

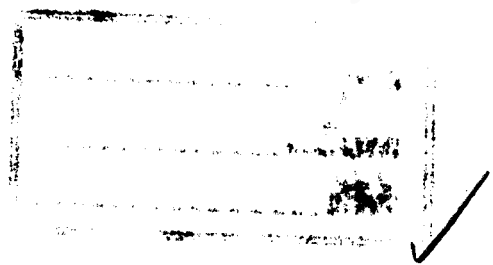
1999

ISBN 974-662-095-9

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
Y351
1999

311488 e.2



3836849 SCMI/M : MAJOR : MICROBIOLOGY : M.Sc. (MICROBIOLOGY)

KEY WORDS : ANTIVIRAL ACTIVITY / *BARLERIA LUPULINA* LINDL./
CLINACANTHUS NUTANS (BURM. F.) LINDAU/ PLAQUE
INHIBITION ASSAY / YIELD REDUCTION ASSAY

YAWALAK PANPISUTCHAI : INVESTIGATION OF ANTI-HERPES
SIMPLEX VIRUS ACTIVITIES OF *BARLERIA LUPULINA* LINDL. AND
CLINACANTHUS NUTANS (BURM. F.) LINDAU EXTRACTS USING PLAQUE
INHIBITION AND YIELD REDUCTION ASSAYS. THESIS ADVISORS:
CHALOBON YOOSOOK, Ph.D., SOMSAK PANTUWATANA, Ph.D. 88 P. ISBN
974-662-095-9

Thai folklore medicine has suggested *Barleria lupulina* Lindl. and *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau as remedies for treatment of herpes simplex virus (HSV) infections.

The present study investigated the anti-HSV activities of the aforementioned plant extracts.

The ability of the reconstituted extracts of these two plants to inactivate HSV-2 type 2 strain G [HSV-2 (G)] directly was tested. Plaque inhibition and yield reduction assays were then used to test intracellular anti-HSV activities against standard HSV-2 (G) and 5 clinical HSV-2 isolates. Acyclovir was used as a positive control and standard HSV-1 strains were also employed in certain assays. It should be noted that the doses of reconstituted extracts, used in both assays, were not toxic to uninfected culture cells.

The reconstituted extracts could inactivate HSV-2 (G) directly. By the plaque inhibition assay, *B. lupulina* exerted activities against all five HSV-2 isolates but not HSV-2 (G) while *C. nutans* did not show any activities at all. When the yield reduction assay was applied, it was found that *B. lupulina* could significantly reduce the yields of viruses in cells treated with the extract including those infected with HSV-2 (G). The activities were remarkably pronounced in cells treated with the extracts for at least 24 hours. Antiviral activities of *C. nutans* against these viruses were noted only for infected cells treated with the highest dose (2 mg/ml) of the extract.

This study has indicated anti-HSV-2 properties in *B. lupulina* rather than in *C. nutans* extract. Therefore, further research concerning the development of anti-herpes drug should be focused on *B. lupulina*.

3836849 SCMI/M : สาขาวิชา : จุลชีววิทยา ; วท.ม. (จุลชีววิทยา)

เยวาลักษณ์ พันธุ์พิศุทธิชัย: การตรวจสอบความสามารถในการต้านไวรัสเริมของสารสกัดสมุนไพรเสลดพังพอนและพญาอโดยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิด PLAQUE และผลผลิตของไวรัส (INVESTIGATION OF ANTI-HERPES SIMPLEX VIRUS ACTIVITIES OF *BARLERIA LUPULINA* LINDL. AND *CLINACANTHUS NUTANS* (BURM. F.) LINDAU EXTRACTS USING PLAQUE INHIBITION AND YIELD REDUCTION ASSAYS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์:ช โลบล อยู่สุข, ปร.ค., สมศักดิ์ พันธุ์วัฒนา, Ph.D. 88 หน้า. ISBN 974-662-095-9

การรักษาแผนโบราณของไทยได้มีการบ่งถึงสรรพคุณของสมุนไพรเสลดพังพอนและพญาอในการรักษาโรคเริมซึ่งมีสาเหตุเนื่องจากไวรัสเฮอร์ปีส์ซิมเพลกซ์

การศึกษานี้เป็นการทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรทั้งสองชนิดดังกล่าวว่ามีสรรพคุณจริงตามที่กล่าวอ้างหรือไม่

ได้ทำการศึกษาความสามารถของสารสกัดสมุนไพรในการทำลายเชื้อไวรัสเฮอร์ปีส์ซิมเพลกซ์ 2 สายพันธุ์มาตรฐาน จี โดยตรง การตรวจสอบความสามารถในการต้านไวรัสเริมทำโดยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดพลาแก และผลผลิตของไวรัสในเซลล์ที่ติดเชื้อ โดยใช้ยาด้านไวรัสอะซัยคลอเวียร์เป็นตัวควบคุม ไวรัสที่นำมาใช้ศึกษาในบางกรณีได้รวมไวรัสเฮอร์ปีส์ซิมเพลกซ์สายพันธุ์มาตรฐานซึ่งเป็นทัยป์ 1 เข้าไปด้วย นอกจากนี้ยังนำไวรัสทัยป์ 2 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรคเริมอวัยวะเพศชาวไทยจำนวน 5 สายพันธุ์มาศึกษาร่วมด้วย ขนาดความเข้มข้นของยาหรือสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงปกติ

ในการศึกษาพบว่า สารสกัดสมุนไพรทั้งสองชนิดสามารถทำลายไวรัสเฮอร์ปีส์ซิมเพลกซ์ทัยป์ 2 สายพันธุ์ จี ได้โดยตรง การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดพลาแกในเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส พบว่า สารสกัดเสลดพังพอนมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดพลาแกในไวรัส 5 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย แต่ไม่มีฤทธิ์ต่อไวรัสทัยป์ 2 สายพันธุ์ จี ในขณะที่สารสกัดพญาอไม่มีฤทธิ์ยับยั้งไวรัสทุกสายพันธุ์ดังกล่าวเลย ผลการทดสอบสารสกัดโดยดูฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไวรัสในเซลล์ที่ติดเชื้อและเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารสกัดอยู่ด้วย พบว่า สารสกัดเสลดพังพอนสามารถออกฤทธิ์ต่อไวรัสที่แยกได้จากผู้ป่วยและไวรัสสายพันธุ์ จี และแสดงฤทธิ์ชัดเจนเมื่อเซลล์ติดเชื้อสัมผัสกับสารสกัดไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง ส่วนสารสกัดพญาอพบฤทธิ์เฉพาะเมื่อทดสอบในระดับความเข้มข้นสูงสุด (2 มก/มล) ที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เท่านั้น

การศึกษานี้แสดงฤทธิ์ในการต้านไวรัสของสารสกัดสมุนไพรเสลดพังพอน ซึ่งอาจพัฒนาเป็นยารักษาโรคติดเชื้อไวรัสเฮอร์ปีส์ซิมเพลกซ์ต่อไปในอนาคต