

ปวีณ คันศร : เอกถลักษณ์และฤทธิ์ต้านเฮอร์ปีสซิมเพล็กซ์ไวรัสของต้นพญาขอและต้นลิ้นงูเห่า. (THE IDENTITIES AND ANTI HERPES SIMPLEX VIRUS ACTIVITY OF *CLINACANTHUS NUTANS* AND *CLINACANTHUS SIAMENSIS*) อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ. ดร. กาญจนา รังษีหิรัญรัตน์, อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ. ดร. วิมลมาศ ธิพิพันธ์, 108 หน้า.

พญาขอและลิ้นงูเห่าเป็นพืชในจีนัส *Clinacanthus* ที่พบได้ในประเทศไทย พญาขอมีชื่อเสียงและถูกใช้เป็นยาสมุนไพร โดยมีฤทธิ์แก้คันคันที่ผิวหนัง แก่ริ้ว รุสวัด นอกจากนี้พญาขอยังได้ถูกรับรองเป็นยาสมุนไพรตามประกาศบัญญัติยาจากสมุนไพร พ.ศ. 2549 โดยคณะกรรมการแห่งชาติด้านยา เนื่องจากพญาขอและลิ้นงูเห่ามีสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกัน การจำแนกพืชทั้งสองชนิดด้วยวิธีการประเมินทางเภสัชวิทยาและอนุพันธุศาสตร์ ซึ่งรวมถึงการประเมินทางทฤษฎี, การประเมินทางจุลทรรศน์ภาคตัดขวางลำต้นและเส้นกลางใบและภาคขยายของผิวใบ, การวัดค่าจำนวนและดัชนีปากใบ, การวัดค่าอัตราส่วนเซลล์รีว ด้านอนุพันธุศาสตร์ ใช้เทคนิคการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ internal transcribed spacer (ITS) ผลการศึกษาพบว่า ภาคตัดขวางลำต้นและเส้นกลางใบและภาคขยายผิวใบของพืชทั้งสองชนิดมีองค์ประกอบที่คล้ายคลึงกัน ค่าจำนวนปากใบของพญาขอและลิ้นงูเห่าเท่ากับ 168.32 ± 29.49 และ 161.60 ± 18.04 ตามลำดับ, ค่าดัชนีปากใบของพญาขอและลิ้นงูเห่าเท่ากับ 13.83 ± 0.86 และ 14.93 ± 0.81 ตามลำดับ และค่าอัตราส่วนเซลล์รีวของพญาขอและลิ้นงูเห่าเท่ากับ 6.84 ± 0.66 และ 3.37 ± 3.31 ตามลำดับ ส่วนลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS พบว่า เมื่อนำตัวอย่างพืชทั้งสองชนิด รวมทั้งสิ้น 6 ตัวอย่าง (ชนิดละ 3 ตัวอย่าง) มาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กันนั้น พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์อยู่ 33 จุด ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์โพลีมอร์ฟิซึม 23 ตำแหน่ง, การเพิ่มขึ้นหรือหายไปของนิวคลีโอไทด์ 11 ตำแหน่ง คิดเป็นความใกล้เคียง 97-99% นอกจากนี้ การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเฮอร์ปีสซิมเพล็กซ์ไวรัส โทปี 1 และ โทปี 2 (HSV-1 และ HSV-2) ของพืชทั้งสองชนิดด้วยวิธี Plaque reduction assay จากสารสกัดใบแห้งที่สกัดด้วยนอร์มอล-เฮกเซน, โคลลอโรมีเทน และเมทานอล ตามลำดับ พบว่าค่า IC_{50} ค่าสุดท้ายที่ยับยั้ง HSV-1 คือ 32.05 ± 3.63 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่าดัชนีความปลอดภัย (Selective index; SI) ซึ่งคำนวณจากค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 หารด้วยค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อร้อยละ 50 มีค่ามากกว่า 50.36 จากสารสกัดนอร์มอล-เฮกเซนของต้นพญาขอ ค่า IC_{50} ค่าสุดท้ายที่ยับยั้ง HSV-2 คือ 46.52 ± 4.08 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มี SI มากกว่า 34.53 จากสารสกัดนอร์มอล-เฮกเซนของต้นลิ้นงูเห่า การทดสอบค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay พบว่าสารสกัดด้วยนอร์มอล-เฮกเซนและเมทานอลของพืชทั้งสองชนิดมีค่า CC_{50} มากกว่า 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดด้วยโคลลอโรมีเทนของพญาขอและลิ้นงูเห่ามีค่า CC_{50} เท่ากัน 869 ± 141.93 และ 194 ± 3.56 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวจึงสรุปได้ว่าพืชทั้งสองชนิดมีความใกล้เคียงกัน การใช้วิธีการประเมินทางเภสัชวิทยาที่ค่าดัชนีปากใบและค่าอัตราส่วนเซลล์รีวสามารถ ใช้จำแนกพืชทั้ง 2 ชนิดนี้ได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาถึงลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS พบว่า ไม่สามารถใช้จำแนกได้ เนื่องจากพืชทั้ง 2 ชนิดมีความหลากหลายของบริเวณ ITS นอกจากนี้พืชเหล่านี้สามารถนำไปพัฒนาหรือใช้เป็นแหล่งสำหรับสารต้านเชื้อเฮอร์ปีสซิมเพล็กซ์ไวรัสได้

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สาธารณสุขลายมือชื่อผู้ผลิต.....
 ปีการศึกษา 2554ลายมือชื่อ อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ลายมือชื่อ อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5379304653 : MAJOR PUBLIC HEALTH SCIENCES

KEYWORDS : *CLINACANTHUS NUTANS*/*CLINACANTHUS SIAMENSIS*/HERPES SIMPLEX VIRUS/BIOMOLECULAR/POLYMERASE CHAIN REACTION/INTERNAL TRANSCRIBED SPACER

PAWEEN KUNSORN : THE IDENTITIES AND ANTI HERPES SIMPLEX VIRUS ACTIVITY OF *CLINACANTHUS NUTANS* AND *CLINACANTHUS SIAMENSIS*. ADVISOR : KANCHANA RUNGSIHIRUNRAT, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. VIMOLMAS LIPIPUN, Ph.D., 108 pp.

Clinacanthus nutans and *Clinacanthus siamensis* (Thai name Phaya Yo and Lin Nguu Hao, respectively) are plants in genus *Clinacanthus* that can be found in Thailand. *C. nutans* has been used as a herbal drug to relief of skin rashes, herpes simplex and herpes zoster lesion, moreover, this plant was accepted to be a herbal drug in the list of herbal medicinal products A.D. 2006 by national drug committee. Since some of morphologies of *C. siamensis* are somewhat similar to *C. nutans*, distinguishing these related plants by pharmacognostic evaluation and biomolecular technique which are including of macroscopic, microscopic evaluation of stem, midrib cross section and components in leaf epidermis, measurement of stomatal number, stomatal index and palisade ratio, biomolecular technique by comparing the nucleotide sequence in internal transcribed spacer (ITS) region, the result revealed that stem, midrib cross section, components in leaf epidermis of *C. nutans* and *C. siamensis* are familiar. Stomatal number of *C. nutans* and *C. siamensis* are 168.32 ± 29.49 and 161.60 ± 18.04 , respectively. Stomatal index of *C. nutans* and *C. siamensis* are 13.83 ± 0.86 and 11.93 ± 0.81 , respectively. Palisade ratio of *C. nutans* and *C. siamensis* are 6.84 ± 0.66 and 3.37 ± 3.31 , respectively. Comparison ITS region of all 6 samples of the two species (3 samples of each species), there are 33 polymorphisms which comprise of 23 nucleotide polymorphism and 11 Indels which indicated 97-99% similarity. Moreover, testing for the anti herpes simplex virus type 1 and type 2 (HSV-1 and HSV-2) by plaque reduction assay of dried leaves that extracted with n-hexane, dichloromethane and methanol, respectively. The result showed the lowest extract concentration that inhibited HSV-1 by 50% (IC_{50}) was $32.05 \pm 3.63 \mu\text{g/ml}$ and selective index (SI) which was calculated from the extract concentration that causes death of tested cells by 50% divided by extract concentration that inhibited 50% of the virus was more than 50.36 from *C. nutans* n-hexane extract, whereas the lowest IC_{50} that inhibited HSV-2 was $46.52 \pm 4.08 \mu\text{g/ml}$, SI was 34.53 from *C. siamensis* n-hexane extract. Cytotoxicity was tested by MTT assay, CC_{50} of n-hexane and methanol extract of both plants was more than 1,600 $\mu\text{g/ml}$. CC_{50} of dichloromethane extract of *C. nutans* and *C. siamensis* were 869 ± 141.93 and 194 ± 3.56 , respectively. According to these evidences, it could be concluded that these plants are closely related to each other. Pharmacognostic evaluation can distinguish these plants especially, stomatal index and palisade ratio. However, evolution of nucleotide sequence in ITS region cannot distinguish these closely related plants due to their sequence variation in the ITS region. Furthermore, these medicinal plants can be developed or used as a source for isolation of anti-HSV compounds.

Field of Study : Public Health Sciences Student's Signature..... *Paween Kunsorn*
 Academic Year : 2011 Advisor's Signature..... *Kanchana Rungsihirunrat*
 Co-advisor's Signature..... *Vimolmas Lipipun*