

EVALUATION ON IMMUNOMODULATORY ACTIVITIES OF MANGOSTEEN (*GARCINIA MANGOSTANA* L.)

PIMOLKAN KASEMWATTANAROJ 5336321 PYMI/M

M.Sc. in Pharm. (MICROBIOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: PRIMCHANIEN MOONGKARNDI, Dr.rer.nat. (IMMUNOLOGY), KOVIT PATTANAPANYASAT, Ph.D. (IRON METABOLISM), SUPACHOKE MANGMOOL, Ph.D. (PHARMACEUTICAL SCIENCES)

ABSTRACT

Mangosteen, *Garcinia mangostana* L., has been used as a traditional medicine for the treatment of many diseases. Several reports show that crude extract and active constituents of mangosteen exhibit miscellaneous activities including antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, cytotoxic and anticancer activities. Mangosteen contains a variety of phytochemicals in which xanthenes are the principal constituents exhibiting these activities. Based on these reported activities, a large amount of products derived from mangosteen has been widely used to improve health status as well as treat many diseases. However, the immunomodulatory evidence of mangosteen is limited. This study, therefore, aimed to investigate the immunomodulatory activity of two mangosteen extracts, purified α -mangostin and partially purified crude water extract, on human immune cells and cytokines *in vitro*.

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were cultured with the selected concentrations of α -mangostin (1, 2 and 4 μ g/ml), crude water extract (50, 100 and 200 μ g/ml), T cell mitogen concanavalin A (ConA; 10 μ g/ml), and α -mangostin (or crude water extract) plus ConA. After 24 h of incubation, the treated cells were enumerated in the percentages of CD3⁺ (T cells), CD19⁺ (B cells) and CD3⁺CD16⁺/CD56⁺ (NK cells) by immunophenotypic method, while the cell cultured supernatants were evaluated the primary cytokine (TNF- α , IL-1 β and IL-2) production by ELISA technique. The results demonstrated that three concentrations of α -mangostin or crude water extract could not change the expression level of three lymphocyte markers compared with unstimulated cells; moreover, the combinations of α -mangostin (or crude water extract) plus ConA could not change the expression level of these three lymphocyte markers compared with ConA-stimulated cells. On the contrary, α -mangostin could show an obvious tendency to inhibit IL-2 secretion; whereas, crude water extract could significantly induce TNF- α and IL-1 β secretion as much as ConA-stimulated cells produced. The crude water extract was further examined the stimulatory activity on proinflammatory cytokine expression by measuring intracellular TNF- α of monocytes. The whole blood was incubated with 50 and 100 μ g/ml of crude water extract, lipopolysaccharide (LPS), dexamethasone (Dex), and the combined substances between crude water extract and LPS (or Dex) for 4 h. The results showed that crude water extract could not induce intracellular TNF- α expression. This possibly suggested that crude water extract could exert its effect on other cells, but not monocytes, in whole blood to produce TNF- α .

These results indicated that α -mangostin could be developed into an immunosuppressant, suppressing IL-2 secretion, and crude water extract could be employed as an immunostimulant triggering proinflammatory cytokine production without activating via monocytes. Nevertheless, further studies of both extracts on other immune cells and cytokines with an increase sample size are necessary to deeply understand their mechanisms of actions.

KEY WORDS: *GARCINIA MANGOSTANA* L. / IMMUNOMODULATORY ACTIVITY / HUMAN IMMUNE CELLS / CYTOKINES

การประเมินฤทธิ์การปรับภูมิคุ้มกันของมังคุด (*GARCINIA MANGOSTANA* L.)

EVALUATION ON IMMUNOMODULATORY ACTIVITIES OF MANGOSTEEN (*GARCINIA MANGOSTANA* L.)

พิมลภานท์ เกษมวัฒนาโรจน์ 5336321 PYMI/M

ภ.ม. (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ปรีมเจนีชน มุ่งการดี, Dr.rer.nat. (IMMUNOLOGY), โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์, Ph.D. (IRON METABOLISM), สุภโชค มั่งมุล Ph.D. (PHARMACEUTICAL SCIENCES)

บทคัดย่อ

มังคุด, *Garcinia mangostana* L., ถูกใช้เป็นยาพื้นบ้านในการรักษาโรคมะเร็งหลายรายงานแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบและสารสำคัญจากมังคุดแสดงฤทธิ์ที่หลากหลาย ได้แก่ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ, ด้านออกซิเดชัน, ด้านการอักเสบ, เป็นพิษต่อเซลล์ และต้านมะเร็ง จากรายงานมังคุดประกอบไปด้วยสารเคมีจากพืชหลากหลายชนิดโดยมีสารกลุ่มแซนโทนเป็นสารหลักที่ออกฤทธิ์เหล่านี้ ทำให้ผลิตภัณฑ์จำนวนมากที่มาจากมังคุดถูกใช้อย่างกว้างขวางเพื่อส่งเสริมสุขภาพและรักษาหลายโรค อย่างไรก็ตามหลักฐานด้านการปรับภูมิคุ้มกันจากมังคุดยังมีจำกัด ดังนั้นการศึกษานี้มุ่งหมายที่จะค้นหาฤทธิ์การปรับภูมิคุ้มกันของสารสกัดมังคุดสองชนิด: สารแอลฟา-แมงโกสทินบริสุทธิ์ และสารสกัดหยาบชั้นน้ำที่ถูกต้องทำให้บริสุทธิ์บางส่วน ที่มีต่อเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันและไซโตไคน์ของมนุษย์ในหลอดทดลอง

เพอร์เฟอรินโมโนนิวเคลียสเซลล์ถูกเลี้ยงร่วมกับสารที่เลือกความเข้มข้นแล้วของแอลฟา-แมงโกสทิน (1, 2 และ 4 ไมโครกรัม/มล.), สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (50, 100 และ 200 $\mu\text{g/ml}$), สารคอนคานาวัลลิน เอ ที่กระตุ้นทีเซลล์ (คอนเอ; 10 ไมโครกรัม/มล.), และสารแอลฟา-แมงโกสทิน (หรือสารสกัดหยาบชั้นน้ำ) ร่วมกับคอนเอ หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมงเซลล์ที่ถูกทดสอบถูกนับจำนวนร้อยละของ CD3^+ (ทีเซลล์), CD19^+ (บีเซลล์) และ $\text{CD3}^+\text{CD16}^+/\text{CD56}^+$ (เอ็นเคเซลล์) โดยใช้วิธี immunophenotype ในขณะที่ส่วนสารละลายเหนือตะกอนของเซลล์ที่เลี้ยงถูกนำมาประเมินหาปริมาณสารไซโตไคน์หลักที่ถูกสร้างขึ้นหลังออกมา (ทีเอ็นเอฟ-แอลฟา, ไอแอล-1เบต้า และ ไอแอล-2) โดยใช้เทคนิค ELISA ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นทั้งสามของสารแอลฟา-แมงโกสทินหรือสารสกัดหยาบชั้นน้ำไม่สามารถเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของโมเลกุลเครื่องหมายของลิมโฟไซต์ทั้งสามได้เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับการกระตุ้น นอกจากนี้การใส่สารแอลฟา-แมงโกสทิน (หรือสารสกัดหยาบชั้นน้ำ) ร่วมกับคอนเอไม่สามารถเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของโมเลกุลเครื่องหมายของลิมโฟไซต์ทั้งสามได้เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยคอนเอ ในทางตรงกันข้าม สารแอลฟา-แมงโกสทินสามารถแสดงแนวโน้มที่ชัดเจนในการยับยั้งการหลั่งไอแอล-2 ขณะที่สารสกัดหยาบชั้นน้ำสามารถเหนี่ยวนำการหลั่งทีเอ็นเอฟ-แอลฟาและไอแอล-1เบต้าได้อย่างมีนัยสำคัญซึ่งมากเท่ากับเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยคอนเอสร้างได้ สารสกัดหยาบชั้นน้ำถูกตรวจสอบฤทธิ์กระตุ้นการแสดงออกของไซโตไคน์หลักที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเพิ่มเติมโดยการวัดทีเอ็นเอฟ-แอลฟาภายในโมโนไซต์ เลือกถูกบ่มร่วมกับ 50 และ 100 ไมโครกรัม/มล. ของสารสกัดหยาบชั้นน้ำ, ไลโปโพลีแซคคาไรด์ (แอลพีเอส), เดกซามิทาโซน (เดกซ์), และสารร่วมระหว่างสารสกัดหยาบชั้นน้ำและแอลพีเอส (หรือเดกซ์) นาน 4 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบชั้นน้ำไม่สามารถเหนี่ยวนำการแสดงออกของทีเอ็นเอฟ-แอลฟาภายในเซลล์ได้ ผลที่ได้นี้แนะนำให้เห็นว่าสารสกัดหยาบชั้นน้ำสามารถส่งผลต่อเซลล์อื่นแต่ไม่มีผลต่อโมโนไซต์ในเลือด ให้สร้างทีเอ็นเอฟ-แอลฟา

ผลการศึกษาเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าสารแอลฟา-แมงโกสทินสามารถถูกพัฒนามาเป็นสารกดภูมิคุ้มกันโดยยับยั้งการหลั่งไอแอล-2 และสารสกัดหยาบชั้นน้ำสามารถถูกใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่กระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบโดยปราศจากการกระตุ้นผ่านโมโนไซต์ อย่างไรก็ตามการศึกษาเพิ่มเติมของสารสกัดทั้งสองที่มีต่อเซลล์ภูมิคุ้มกันและไซโตไคน์อื่นๆ พร้อมกับการเพิ่มขนาดตัวอย่าง มีความจำเป็นอย่างมากต่อการเข้าใจอย่างลึกซึ้งถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสาร